

ОТЗЫВ

официального оппонента

о диссертации Трифановой Екатерины Максимовны

«Спектральное преобразование лазерного излучения биосовместимыми матричными структурами», представленной на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 2.2.2 – Электронная компонентная база микро- и наноэлектроники, квантовых устройств

Развитие технологических возможностей привело недавно к появлению так называемых нанокомпозитов - материалов со средним размером одной из фаз, например, в виде малых частиц, менее ста нанометров. Субмикронный размер частиц, инкорпорированных в несущую матрицу, придаёт нанокомпозиту уникальные электрические и оптические характеристики. Несущая матрица обычно контролирует форму, размер, пространственное распределение наночастиц, либо служит капсулирующим покрытием, либо является функциональным компонентом за счет собственных электрических, оптических или химических свойств. В силу различной конструкции и областей применения (механика, теплотехника, электроника, СВЧ техника, химия, сенсорика и наноантенная техника, медицина, биотехнология), методы формирования и свойства нанокомпозитов интенсивно исследуются в настоящее время во многих ведущих научных лабораториях. Результаты исследований составили основу разработок новых искусственных материалов и устройств. Среди них, изотропные метаматериалы и оболочки на резонансах Ми [Q. Zhao et al. *Mat. Today*, 12 (2009) 60], наноантенны [X. Xiong et al. *Sci Rep*, 6 (2016) 18872] и устройства спинтроники [M. Grunewald et al. *Org. Electron*, 14 (2013) 2082].

Отдельное направление составляет разработка и исследование свойств искусственных материалов, таких как фантомы биологических тканей, содержащих наноразмерные апконвертирующие наночастицы, также известные как наноразмерные апконвертирующие фосфоры (НАФ). Уникальные фотофизические свойства НАФ, как то: поглощение в ближнем ИК диапазоне в "окне прозрачности" биотканей, антистоксов характер люминесценции с большим частотным сдвигом, высокая фотостабильность, отсутствие мерцания, незначительная цитотоксичность, обуславливают их перспективность для развития неинвазивных методов диагностики, протекающих в биотканях физико - химических процессов, визуализации объектов в биотканях, терапии в современной медицинской практике.

Механизмы антистоксовой люминесценции нанофосфоров в «свободном пространстве» изучены достаточно детально. Например, в работе [W. Zou et al. *Nature*

Photonics 6 (2012) 560] показано гигантское (на два порядка) увеличение интенсивности люминесценции апконверсии (возбуждение на длине волны 800 нм, излучение в видимом диапазоне длин волн) композитных нанофосфоров.

Другая постановка проблемы, практически отсутствующая в периодической научной литературе, состоит в изучении процессов спектрального преобразования излучения наноразмерными апконвертирующими фосфорами, находящимися в биосовместимых полимерных матриксах и исследование изменения фотолюминесцентных характеристик нанофосфоров в процессе взаимодействия с живыми объектами (клетками и биотканями). Именно это вызывает несомненный интерес как с фундаментальной, так и с прикладной точек зрения и обуславливает актуальность работы, представленной к защите Е.М. Трифановой.

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка цитированной литературы. Главы работы завершаются выводами. Диссертация изложена на 129 страницах, содержит 52 рисунка, 7 таблиц и список цитированной литературы из 196 наименований.

Во **введении** отражены актуальность темы, сформулированы цели и задачи работы, показана её научная новизна и практическая значимость, приведены положения, выносимые на защиту, обоснована степень достоверности и апробация результатов. Указан личный вклад автора диссертации. Введение завершается списком из восьми статей автора, опубликованных в рецензируемых журналах из перечня ВАК. Описана структура диссертационной работы.

В **первой** главе рассмотрены различные аспекты визуализации биологических тканей, т.н. биоимиджинга, и, в частности, метод визуализации, основанный на фотолюминесценции наномаркеров. Описаны свойства органических материалов в виде флуоресцентных красителей и полимерных наночастиц. Среди неорганических наномаркеров рассмотрены наночастицы золота, оксида графена, квантовые точки. В конце главы вводятся, т.н. наноразмерные апконвертирующие фосфоры (НАФ), способные люминесцировать в различных диапазонах спектра за счет легирования ионами редкоземельных элементов. Сдвиг длины волны регистрируемого оптического сигнала в более коротковолновую от длины волны возбуждения область спектра позволяет исключить вклад автолюминесценции исследуемых объектов.

Из первой главы диссертации очевидно следуют требования к наномаркерам для оптической визуализации. Они должны быть не токсичными, гидрофильными и обладать способностью достаточно долго находится внутри организма. Эти требования со-

гласуются с основными характеристиками неинвазивных методов исследования, как то: эффективность, невредность, сохранение целостности исследуемой системы без вмешательства в режим естественного протекания её процессов.

Во **второй** главе диссертации приводится описание типов наноразмерных апконвертирующих фосфоров (НАФ), экспериментальных методов синтеза и исследования морфологии наночастиц, а также методов измерений оптических свойств ансамблей люминесцирующих наночастиц.

Подчеркивается, что интенсивность пиков фотолюминесценции НАФ определяется в основном составом кристаллической матрицы наночастиц. Спектральное же положение пиков зависит от энергетических уровней легирующих ионов активаторов (эрбий, тулий и др.) и соответствующих сенсбилизаторов (например, ион иттербия).

Обсуждается один основных параметров НАФ, т.н. коэффициент конверсии, и зависимость эффективности конверсии от размеров наночастиц, антистоксовой люминесценции, кросс – релаксации и поверхностного тушения излучения. Вклад последнего из перечисленных эффектов уменьшается не только посредством увеличения размера частиц, но и за счет покрытия наночастиц оболочкой.

Во втором подразделе главы кратко описан метод синтеза трех вариантов фторидных нанокристаллов $\text{NaYF}_4:\text{Yb};\text{Er}$ в гексагональной фазе, легированных редкоземельными элементами, и методы экспериментального исследования наночастиц, в том числе с оболочкой. Оценку размеров частиц, распределение частиц по размерам, исследование морфологии поверхности частиц проводили методом сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии. Наночастицы I типа со структурой «ядро» и «ядро/оболочка» имели практически монодисперсное распределение по размерам (средний диаметр «ядра» 13 ± 4 нм) и инертную эпитаксиальную оболочку NaYF_4 толщиной 3 нм. Частицы II типа аналогичны частицам типа I, но приблизительно в двадцать раз больше. Они представляют собой гексагональные кристаллы со средним размером 265 нм и толщиной оболочки 45 нм.

Отмечается решающее значение достаточной степени монодисперсности ансамбля синтезированных наночастиц для последующего фотолюминесцентного анализа. Описаны методики измерения интенсивности и времени затухания фотолюминесценции наночастиц.

При изучении эффективности конверсии излучения выяснилась критическая важность определения оптимального размера наночастиц, при котором наблюдается резкий рост коэффициента конверсии излучения с увеличением плотности мощности воз-

буждающего излучения. Для уточнения этого вопроса были синтезированы наночастицы типа III со структурой «ядро/оболочка» и характерным диаметром 21 ± 6 нм при толщине оболочки NaYF_4 1,2 нм (рисунок 2.11). Оказалось, что коэффициент конверсии «красной» полосы (658 нм) к «зелёной» (544 нм) в режиме насыщения по мощности накачки различается в два раза для однотипных частиц со структурой «ядро/оболочка» (тип I и III), различающихся по среднему размеру на 10% (19 нм и 21 нм, соответственно).

Таким образом во второй главе показано, что время жизни, интенсивность и коэффициент конверсии излучения апконвертирующих фторидных нанокристаллов зависят от структуры и размеров самих наночастиц, наличия инертной оболочки, микроокружения и плотности мощности возбуждения.

Третья глава начинается с описания методов изготовления фантомов, имитирующих оптические свойства биологических тканей, и матриц, содержащих НАФ. Фантомы толщиной 1 и 2 мм изготавливались на основе агарозы. Рассеивающие и поглощающие свойства придавались фантомам добавлением молока или меланина, соответственно. Спектры фотолуминесценции образцов изучали при возбуждении непрерывным лазерным излучением (976 нм) сквозь фантом. Измерение оптических характеристик фантома проводили, располагая фантом между двух интегрирующих сфер с диффузно рассеивающей внутренней поверхностью и освещая его белым светом, а регистрируя рассеянное излучение в диапазоне длин волн 200 – 1100 нм.

Задача исследования рассеяния излучения ансамбля НАФ, помещенного в среду, имитирующую биологическую ткань, объёмная, экспериментально и теоретически весьма сложная. Достаточно отметить, что проблему рассеяния классических волновых полей в плотных средах (а также в мутных средах типа молока, льда, морской воды), связанную с т.н. слабой или строгой локализацией классических волн, пытались решить на протяжении практически века (см., например, Yamilov A., Skipetrov S.E., Hughes T.W. et al. Anderson localization of electromagnetic waves in three dimensions. *Nat. Phys.* 19, 1308–1313 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41567-023-02091-7>). Тем не менее, в этой главе представлен ряд интересных результатов. В частности, на примере модельных сред различной толщины и с разной концентрацией рассеивающих и поглощающих компонентов возможна имитация оптических свойств (частотно зависимое диффузное рассеяние и пропускание, полный коэффициент экстинкции рис.3.7) конкретной биоткани. Кроме того, показаны результаты экспериментов по визуализации мат-

риков (полилактогликолид с 1 масс % НАФ) в видимом диапазоне частот света через «молочные» фантомы разной «мутности».

В **четвертой** главе представлены результаты по исследованию визуализации биологических тканей на основе мультимодальных апконвертирующих нанофосфоров, легированных ионами лантанидов (Ln^{3+}). Поиск условий фотолюминесценции на нескольких длинах волн обусловлен интенсивным поглощением ИК излучения (1500 – 1870 нм) водой, которая неизбежно содержится в тканях.

Проведенные эксперименты показали, что монодисперсные частицы $\alpha\text{-NaYbF}_4:\text{Er}_{0.02}\text{Ce}_{0.02}\text{Zn}_{0.1}$ неправильной формы со средним размером 36 нм могут быть использованы в качестве фотолюминесцентных наномаркеров в двух окнах прозрачности биотканей, т.е. в диапазонах длин волн 650 – 950 и 1500 – 1870 нм.

Для увеличения пространственного разрешения в случае сильно рассеивающих сред разработана фотолюминесцентная система визуализации в ИК-диапазоне с использованием временного стробирования. Возможность использования стробирования появляется в результате установления факта большой длительности (более 5 мс) затухания фотолюминесценции НАФ на длине волны 1530 нм. Это время жизни люминесценции намного превосходит время затухания сигнала лазерного возбуждения и автолюминесценции.

Глава завершается интересными результатами по исследованию визуализации, на примере двух бумажных полос, покрытых НАФ, с зазором, через среду с высоким содержанием воды.

Пятая глава, по существу, является основной главой диссертации. В ней описано формирование и исследование свойств биосовместимых матриц для тканевой инженерии на основе полилактогликолида (ПЛГ) и коллагена I типа (КОЛ) с внедрёнными в них НАФ III типа для возможного использования в визуализации биологических тканей. Среди ряда методов изготовления биосовместимых матричных структур особое внимание уделяется двум разным методам - электроспиннингу (ЭС) и трехмерной печати, нацеленные на решение различных задач тканевой инженерии. Описано изготовление матричных структур этими двумя методами, формирование полимерных структур, содержащих НАФ, и исследованы оптические свойства фосфоров. Разработаны методы формирования матриц с улучшенными механическими свойствами и контролируемой скоростью биодеградации *in vitro* и *in vivo*.

В диссертационной работе получен ряд важных с научной и практической точек зрения результатов, которые могут быть использованы для разработки новых подхо-

дов к оптической визуализации и диагностике тканеинженерных конструкций и мониторинга происходящих с ними процессов в реальном масштабе времени. Среди них выделю следующие:

1. Показано эффективное преобразование лазерного излучения из ближнего ИК в видимый диапазон длин волн наноразмерными фторидными нанокристаллами со структурой ядро (β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb:Er}$)/оболочка (NaYF_4), находящимися в высокопористых коллагеновых, полиэфирных и гиалуроновых матриксах.

2. Метод изучения кинетики высвобождения наноразмерных апконвертирующих фосфоров со структурой ядро (β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb:Er}$)/оболочка (NaYF_4) из полимерных матриц в окружающую среду в ходе их гидролитической деградации посредством наблюдения за изменением соотношения интенсивностей «красного» (в области 658 нм) и «зеленого» (в области 544 нм) пиков фотолюминесценции нанофосфоров.

3. Процесс химической стабилизации структуры и механических свойств коллагеновых матриц, позволяющий использовать матрицы для высококонтрастной визуализации. Матрицы формировали методом электроспиннинга, который, с одной стороны, позволяет контролировать скорость их биodeградации *in vitro* и *in vivo*, а с другой - не влияет на фотолюминесцентные свойства содержащихся в них наноразмерных апконвертирующих нанокристаллов.

Представленные в диссертационной работе результаты являются вполне обоснованными, достоверными и надежными, поскольку получены с использованием комплексов современных методов исследования, выполнены на современном оборудовании, сопровождались разносторонним анализом результатов и сопоставлением с известными литературными данными.

Есть несколько замечаний.

1. Во второй главе работы обсуждается зависимость эффективности конверсии НАФ, в частности, от размеров наночастиц и поверхностного тушения излучения. Вклад тушения излучения уменьшается посредством увеличения размера наночастиц и за счет покрытия их оболочкой, поскольку оболочка сокращает поверхностные дефекты. На мой взгляд, следовало бы привести некоторые соображения об отсутствии или реализации резонансного рассеяния, типа объёмного резонанса Ми или поверхностного резонанса Фрелиха на сферической частице, возбуждающего излучения на наночастицах и сдвига резонансной частоты, обусловленного изменением радиуса наночастицы и наличия оболочки. Возбуждение резонансных мод наночастицы может изменить условия передачи энергии внутри неё.

2. На стр.34 указано, что коэффициент конверсии «красной» полосы (658 нм) к «зелёной» (544 нм) в режиме насыщения по мощности накачки различается в два раза для однотипных частиц со структурой «ядро/оболочка» (тип I и III), различающихся по среднему размеру на 10% (19 нм и 21 нм, соответственно). При этом толщины оболочек различались до 5 раз. Не связано ли изменение коэффициента конверсии с ролью оболочки в смысле изменения условий рассеяния возбуждающего излучения на частице со структурой ядро/оболочка (см. замечание 1)?
3. В разделе 3.2.1 нечетко описано различие и предназначение фантомов, матриц и их композиции. Нужно следовать далее по тексту для понимания. Например, фантом из агарозы без добавления молока или меланина не рассеивающая и не поглощающая среда?
4. Нет раздела Основные результаты.

Эти замечания несколько не снижают высокий научный уровень проведенного исследования.

Диссертация Трифионовой Е.М. является законченной научно-исследовательской работой, выполненной на высоком научном уровне. Работа актуальна, а её результаты отличаются новизной, научной и практической значимостью. Поставленные цель и задачи достигнуты и решены полностью. Материалы диссертации изложены логично и корректно. Все научные положения обоснованы в достаточной степени, их достоверность не вызывает сомнения. Результаты диссертационной работы представляют интерес для специалистов, работающих в области лазерной техники, нанооптики, комбинационного рассеяния, биотехнологий, современной медицины. Автореферат достаточно полно отображает содержание диссертационной работы.

В целом работа написана ясным, технически грамотным языком, хорошо оформлена и структурирована. Основные научные результаты диссертационной работы изложены в 21 материале, в том числе в 8 статьях, опубликованных в журналах, включенных ВАК РФ в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий для публикации результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, и доложены на 10 российских и 3 международных конференциях.

Диссертация Трифановой Е.М. «Спектральное преобразование лазерного излучения биосовместимыми матричными структурами», представленная на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 2.2.2 – Электронная компонентная база микро- и наноэлектроники, квантовых устройств, отвечает

требованиям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции утвержденной постановления Правительства РФ от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Трифанова Екатерина Максимовна **заслуживает** присуждения искомой учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 2.2.2 – Электронная компонентная база микро- и нанoeлектроники, квантовых устройств.

Официальный оппонент
доктор физико-математических наук,
г.н.с. ИПТМ РАН

"13" Ноября 2023 г.



Барабаненков Михаил Юрьевич

Подпись Барабаненкова Михаила Юрьевича заверено
Ученый секретарь ИПТМ РАН
кандидат физико-математических наук **В. Фактимова**

