

Dr hab. inż. **Dorota G. Pijanowska**, Prof. nadzw. IBIB PAN
Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej im. M. Nałęczka PAN
ul. Księcia Trojdena 4, 02-109 Warszawa
Tel.: +48 22 659 9143 w. 141
Faks: +48 22 659 7030
E-mail: dpijanowska@ibib.waw.pl

Warszawa, 21 maja 2019r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Tytuł rozprawy:

„Drukowane czujniki potencjometryczne do monitorowania pH w leczeniu ran”

Doktorant: mgr inż. Andrzej Peplowski

Promotor rozprawy: prof. dr hab. inż. Małgorzata Jakubowska

Promotor pomocniczy: dr inż. Robert Ziółkowski

Mgr inż. Andrzej Peplowski ukończył studia magisterskie na kierunku inżynieria biomedyczna na Wydziale Mechatroniki Politechniki Warszawskiej w roku 2015. Badania związane z rozprawą doktorską były realizowane w Instytucie Metrologii i Inżynierii Biomedycznej Wydziału Mechatroniki PW pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Małgorzaty Jakubowskiej, jako promotora i dr inż. Roberta Ziółkowskiego – promotora pomocniczego, pracownika Katedry Biotechnologii Medycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej.

TEMATYKA PRACY

Tematyka rozprawy doktorskiej jest związana z badaniami z obszaru technologii grubowarstwowych i jej wykorzystaniem do opracowania różnego rodzaju układów i struktur czujnikowych do zastosowań biomedycznych. Obecnie technologie związane z wytwarzaniem tanich, jednorazowych układów czujnikowych rozwijają się bardzo intensywnie, ze względu na duże zapotrzebowanie, m.in. w obszarze ochrony zdrowia, na rozwiązania pozwalające na szybkie pomiary jednokrotne lub monitorowanie ciągłe/punktowe określonych parametrów. W rozprawie doktorskiej została podjęta ważka tematyka związana z leczeniem ran, które stanowi istotny problem opieki zdrowotnej występujący w leczeniu urazów, schorzeń i powikłań współwystępujących w wielu chorobach.

Leczenie ran jest bardzo skomplikowanym procesem regeneracji, związanym z częściową degradacją, ponowną organizacją i odbudową tkanki łącznej i naskórka. pH w otoczeniu rany wpływa pośrednio i bezpośrednio na wszystkie reakcje biochemiczne zachodzące w procesie leczenia rany. Dlatego też, parametrem chemicznym często wykorzystanym do monitorowania i oceny stanu ran jest pH, będący ilościową miarą

zasadowości i kwasowości roztworów. Ogólnie przyjmuje się, że szybkiemu gojeniu się ran sprzyja niska wartość pH, taka jak jest w miejscu skóry niezmienionej, zdrowej. Jednak istnieją przypadki, takie jak na przykład przeszczep skóry, w których gojenie się ran wymaga środowiska zasadowego. Zatem można stwierdzić, że pH rany jest istotnym czynnikiem wpływającym na proces gojenia, jak również, że różne zakresy pH są wymagane w poszczególnych fazach gojenia się ran. Zatem wybór tego parametru jest w pełni uzasadniony, ponieważ pozwala na szybką, ogólną ocenę stanu rany, jak również daje możliwość wprowadzania odpowiedniego leczenia w kolejnych fazach gojenia się ran.

Historia elektrod jonoselektywnych jest długa i sięga pierwszej dekady XX wieku (publikacją z 1906 autorstwa Maxa Cremera z Monachijskiego Instytutu Fizjologii, w której stwierdza, że różnica potencjałów powstała na membranie szklanej, rozdzielającej 2 roztwory, zależy od różnicy pH tych roztworów). Wraz z rozwojem technologii obserwuje się ciągły rozwój tych przyrządów analitycznych. Opracowano wiele odmian konstrukcyjno-technologicznych elektrod jonoselektywnych, istotną zmianą było wprowadzenie elektrod opartych na ciele stałym - ang. *solid-state ion selective electrodes*. Dzięki rozwojowi technologii grubo- i cienkowarstwowych, w tym technologii krzemowej, powstały pierwsze planarne odmiany elektrody typu *coated wire* - CWE (US Patent US4053381A 1977, Eastman Kodak Company – D.P. Hamblen, C.P. Glover, S.H Kim oraz U. Lemke and K. Cammann 1989). Elektrody ze stałym kontaktem (ang. *solid contact ion selective electrodes*) są narzędziem analitycznym, często wykorzystywanym w zastosowaniach specjalnych, takich jak pomiary w warunkach wysokiego ciśnienia (A.W. Weber i wsp. 2017).

Podsumowując można stwierdzić, że recenzowana rozprawa doktorska wpisuje się w aktualny nurt badań nad tworzeniem potencjometrycznych przyrządów analitycznych do pomiarów w warunkach pozalaboratoryjnych.

Celem rozprawy doktorskiej było opracowanie miniaturowych czujników pH do zastosowań biomedycznych, takich jak monitorowanie bądź kontrola warunków lub stanu gojenia się ran. Do pomiaru pH została wybrana metoda potencjometryczna, a zatem konieczne było opracowanie miniaturowego czujnika elektrochemicznego typu *all-solid-state*, którego metoda wytwarzania opiera się na technologii druku na podłożach elastycznych i tekstyliach (ang. *wearable sensor technology*), przystosowanego do pomiarów w warunkach powierzchniowego kontaktu z badaną próbką. Badania z tego zakresu mogą wnieść nowe dane i informację mające wpływ na opracowanie metod monitorowania gojenia się ran.

STRUKTURA I ZAWARTOŚĆ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Przedłożona rozprawa doktorska zawiera 118 stron, 46 rysunków i 14 tabel, obejmuje 10 rozdziałów, wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i wymagane streszczenie w języku angielskim. Elementy pracy są logicznie powiązane, a ich umieszczenie w tekście pracy jest uzasadnione. Rozprawa jest w postaci tradycyjnej monografii składającej się z dwóch części zwanymi w rozprawie: teoretyczną i doświadczalną. W części 1. przedstawiono kolejno: wprowadzenie omawiające aspekty i uwarunkowań związanych z planowanym zastosowaniem opracowanych czujników, w szczególności monitorowaniu leczenia ran (rozdział 3) i podstawy metod potencjometrycznych, przegląd rozwiązań elektrod i czujników jonoselektywnych oraz technologii ich wytwarzania (rozdział 4), a następnie szczegółowy cel pracy (rozdział 5).

W części 2. – doświadczalnej, omówiono technologię wytwarzania drukowanych elektrod tlenkowych i wyniki ich badań (rozdział 6), badania past do wytwarzania drukowanych elektrod tlenkowo-węglowych (rozdział 7), badania czujników pH wykonanych na opatrunkach medycznych (rozdział 8) oraz technologię wytwarzania czujników pH na pojedynczych włóknach opatrunkowych (rozdział 9). Rozdział 10 stanowi podsumowanie rozprawy. Bibliografię stanowi 219 dobrze dobranych pozycji literaturowych, z których duża część - 62 pozycje (28%), to publikacje z ostatnich 5 lat (2014-2019).

Cel badań został przez Doktoranta wyraźnie określony jako opracowanie technologii wytwarzania czujników pH dostosowanych do pomiarów bezpośrednio w otoczeniu rany. Sformułowane zostały kryteria i wymagania, które powinny spełniać czujniki: czułość (nachylenie krzywej kalibracji w określonym zakresie pomiarowym) – 59,17 mV/pH z wysoką liniowością charakterystyki ($R^2 \geq 0,99$), niepewność pomiarowa $\Delta\text{pH} \leq 0,3$, możliwość integracji czujnika z materiałem opatrunkowym i wynikającą z tego stabilność odpowiedzi czujnika podczas odkształceń mechanicznych.

W ramach rozprawy został zbadany wpływ składu past, z których wykonywano warstwy chemoczułe i metod ich wytwarzania, na odpowiedź czujników.

W pierwszym etapie badań oceniono wpływ promieniowania ultrafioletowego na odpowiedź pehametryczną czujników z warstwą dwutlenku rutenu, w których zaobserwowano dryft czasowy odpowiedzi. Stwierdzono większy rozrzut parametrów, takich jak: nachylenie i liniowość krzywej kalibracji, potencjał standardowy, przypadku czujników eksponowanych na promieniowanie UV (np. nachylenie przed i po ekspozycji na UV wynosiło odpowiednio $-57,9 \pm 2,2$ mV/pH i $-48,8 \pm 6,8$ mV/pH). Przypuszcza się, że zmiany ww. parametrów wynikają ze zmian szerokości przerwy energetycznej w tlenku rutenu(IV).

Drugi etap badań obejmował przygotowanie past z osnową PMMA, w których fazę funkcjonalną stanowiły nanomateriały węglowe w postaci: nanorurek węglowych (CNT), grafitu i nanopłatków grafenowych (GNP) o grubości 6, 15 i 19 nm, i o różnej wielkości, wytwarzanych metodą eksfoliacji z grafitu (XG Sciences Inc., USA).

W związku z tym zostały podjęte badania na wykonaniem nad przygotowaniem past kompozytowych z osnową polimerową z poli(metakrylanu metylu), PMMA. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż do badań wykorzystano pasty wytwarzane we własnym zakresie, co dało możliwość eliminacji niekorzystnego wpływu niektórych składników czy też wprowadzenie nowych składników. W ten sposób tworzono chemoczułe warstwy kompozytowe z osnową PMMA, o odpowiedniej adhezji do podłoża (podłoża elastycznych), zawierające dwutlenek rutenu i nanopłatki grafenowe (GNP) o grubości 19 nm i średnicy 25 μm (XG Sciences Inc., USA). Skład fazy funkcjonalnej został ustalony biorąc pod uwagę parametry reologiczne pasty, wpływ promieniowania UV (w dawkach o gęstości mocy 700 i 1300 mJ/cm^2) na właściwości warstwy chemoczułej i stabilność odpowiedzi czujników. Zgodnie z przypuszczeniami zawartość tlenku rutenu(IV) ma wpływ na zmianę na odpowiedzi czujników. Stwierdzono również, że znaczący wpływ ma również zawartość PMMA, który ulega degradacji pod wpływem promieniowania UV. W wyniku kompromisu między czułością i stabilnością odpowiedzi czujników w warunkach okresowej ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe przyjęto następujący skład pasty: 5,74% GNP, 3,38% RuO_2 i 6,16% PMMA - ozn. RG-4.

Dzięki nawiązaniu do teorii perkolacji, utworzono model odnoszący się do warstw kompozytowych (pierwotnie odnoszący się do struktur porowatych), składających się z fazy przewodzącej oraz izolującej, umożliwiającą ocenę jednorodności warstwy, a dokładniej właściwej proporcji cząsteczek wypełniacza / fazy funkcjonalnej.

Ze względu na drukowanie na podłożach elastycznych dalsze badania dotyczyły oceny właściwości mechanicznych, a w szczególności odporności na zginanie, do których wybrano czujniki przygotowane z pasty RG-4 na folii polimerowej, o odpowiedzi stabilnej po ekspozycji na promieniowanie UV. Podłoże z naniesionymi czujnikami poddane było zginaniu (2000 do 10000 cykli). Zachowanie odpowiedzi nernstowskiej czujników pH zostało zachowane, z dopuszczalnym błędem dla pomiarów w gojeniu się ran, w przypadku do 2000 odkształceń. Na podstawie wyników badań zostały określone wymagania dotyczące materiałów, z których wykonano czujniki.

Zwykle w badaniach potencjometrycznych, a w szczególności w przypadku miniaturyzacji czujników potencjometrycznych, trudnym zagadnieniem jest przygotowanie odpowiedniej elektrody odniesienia. Również w tym zakresie Doktorant podjął działania nad konstrukcją miniaturowej chlorosrebrowej elektrody pseudo-referencyjnej, które wykonano na podłożu z włókniny opatrunkowej. Elektroda pseudo-referencyjna wykonana w postaci warstwy naniesionej z wykorzystaniem pasty z PMMA jako osnowy zawierającej płatki Ag, które następnie chemicznie chlorkowano w roztworze FeCl_3 . W badanym zakresie pH (5,7 do 7,9), pokrywającym zakres zmian pH w przypadku gojących się ran, błąd pomiaru wynosił $\pm 0,12$ dekady.

We wstępnej wersji czujników do zastosowań w opatrunkach wykonano z włókien pokrywanych warstwą PMMA/Ag z warstwą chlorku srebra – elektroda pseudo-referencyjna oraz PMMA/ RuO_2 /GNP – elektroda wskaźnikowa. Natomiast docelowe czujniki do zastosowań we włókninach opatrunkowych zostały wykonane w postaci odpowiednio pokrytych pojedynczych włókien pokrytych kompozytem o składzie fazy funkcyjnej RG-4 z nośnikiem z poliuretanu termoplastycznego w dimetyloformamidzie (DMF), wplecionych we włókninę. Przygotowane w ten sposób czujniki wraz elektrodą odniesienia wykonaną wg zmodyfikowanej metody zostały wplecione do warstwy opatrunkowej. Opracowane czujniki były poddane testom na zginanie (kąąt 180° , 100 cykli) i ekspozycji na promieniowanie UV (gęstość mocy 1000 i 2000 mJ/cm^2), z których wynika, że nachylenie krzywej kalibracji jest stabilne (ok. 48 mV/pH), natomiast zmianom ulega potencjał – dryft potencjału w czasie.

W rozdziałach 9.3 omówiono wstępne wyniki badań próbek rzeczywistych w postaci płynów wysiękowych z trudno gojącej się rany pooperacyjnej, o objętości 3 ml, które uzyskano we współpracy z Kliniką Ortopedii, Traumatologii i Centralnego Szpitala MSWiA w Warszawie. Wyniki porównano z wynikami pomiarów z klasyczną pH-metryczną kombinowaną elektrodą szklaną. Wyniki te znacząco się różnią, czego można było się spodziewać ze względu na stosowaną pseudo-referencyjną miniaturową elektrodę, która nie była wyposażona w elektrolit wewnętrzny zapewniający stały jej potencjał. Zatem potencjał ten był zależny od zmieniającego się stężenia jonów chlorkowych w próbce.

Ponadto ważne od strony użytkowej jest opracowanie we współpracy z Zakładem Projektowania Układów Scalonych i Systemów Instytutu Technologii Elektronowej w Warszawie, układu odczytowego, a w szczególności transpondera, umożliwiającego

przesyłanie danych i zasilanie układu elektronicznego z wykorzystaniem fal radiowych tzw. technologia RFID (ang. *radio frequency identification*).

Podsumowując, należy podkreślić utylitarny charakter pracy, którego wynikiem jest opracowanie czujnika pH ze zminiaturyzowaną elektrodą referencyjną wbudowanego do włókniny opatrunkowej oraz układu odczytowego z bezprzewodową transmisją danych i zasilaniem.

Rozprawa jest starannie zredagowana, jednakże pojawiają się w niej pewne nieścisłości jak również niejasności, które przedstawię w uwagach krytycznych i edytorskich.

UWAGI KRYTYCZNE I PYTANIA

1. W rozprawie nie zostały sformułowane tezy, natomiast wyraźnie podkreślono cele utylitarne. Jednakże, w przypadku prac o charakterze technologiczno-konstrukcyjnym, a takie elementy występują w omawianej rozprawie - tezy nie są konieczne. Niemniej jednak rozwiązanie takie pozwala podkreślić poruszane w rozprawie zagadnienia naukowe.
2. Wskazane byłoby rozbudowanie części omawiającej technologie wykorzystywane do wytwarzania elektrochemicznych, porównania właściwości warstw chemoczułych wykonanych z różnych materiałów oraz zbiorcza lista materiałów i odczynników.
3. W rozdziale 6.1 i 6.2 pojawiają się krótkie odniesienia do wpływu promieniowania ultrafioletowego na odpowiedź czujników z warstwą RuO₂, dobrze byłoby rozszerzyć tę interpretację w odniesieniu do zjawisk zachodzących w podwójnej warstwie elektrycznej i w nawiązaniu do teorii centrów wiążących.
4. Prosiłabym również o szersze wyjaśnienie interpretacji wyników przedstawionych w rozdziale 6.2 w odniesieniu do stwierdzenia niedeterministycznym wpływie promieniowania UV na wyniki pomiarów.
5. Wyjaśnienia wskazane byłoby również podanie szerszego uzasadnienia wyboru cząstek węglowych jako wypełniacza i składnika fazy funkcjonalnej, przypadku podjęcia badań nad elektrodami tlenkowo-węglowymi.
6. W opisie wyników (rozdział 8.3) związanych z badaniami czujników pH-metrycznych drukowanych na włókninie opatrunkowej pojawia się stwierdzenie, iż obniżenie odpowiedzi czujnika pośrednio wynika z niskiej reaktywności cząstek srebra, co wymaga szerszego wyjaśnienia.

Uwagi redakcyjne

Poniżej wymieniam niektóre z błędów/pomyłek stylistycznych, które występują w rozprawie.

- Wskazania w bibliografii niektórych cytowanych pozycji literaturowych są niepełne, m.in. pozycja 23, 33, 43, 86, 183 etc.
- W rozprawie często pojawia się sformułowanie „na bazie ...” np. w tytule rozdziału 7.1 - „na bazie nanomateriałów węglowych”, otóż jest ono określeniem potocznym i powinno być zastąpione np. „z wykorzystaniem nanomateriałów węglowych”

- Str. 46 – sformułowanie „Elektrody (...) badane pod kątem odpowiedzi potencjometrycznej na zmiany poziomu pH roztworu” powinno być zastąpione „Elektrody (...) badano odpowiedź potencjometryczną w zależności od zmian pH roztworu”, ponieważ „pod kątem” – jest określeniem potocznym a „poziom pH” nie jest terminem poprawnym.
- Str. 50 – sformułowanie „wpływu promieniowania UV na odpowiedź przetwornika i dryftu tej odpowiedzi” powinno być zastąpione „wpływu promieniowania UV na odpowiedź przetwornika i dryft tej odpowiedzi”.
- Str. 51 – sformułowanie „potencjał zgromadzony w podwójnej warstwie elektrycznej” powinno być zastąpione „potencjał podwójnej warstwy elektrycznej”.
- Str. 54 – sformułowanie „w tym wypadku” powinno być zastąpione sformułowaniem „w tym przypadku”.
- Pojawiły się błędy w pisowni tzw. literówki m.in. str. 44 w wyrazie między brakuje liter „a” w wyrazie „past”; str. 56: „XG Sciencses” – bez „s” wewnątrz wyrazu; str. 69: „warstwą” zamiast „warstwo”.

Na koniec przypomnienie, iż wielkości mianowane zapisuje się ze spacją pomiędzy liczbą i jednostkami (str. 99 i w całej pracy) oraz, że skróty jednostek zapisuje się bez kropek np. zamiast „10 min.” Powinno być „10 min” lub pełny wyraz (str. 43).

PODSUMOWANIE

Podsumowując, recenzowana rozprawa jest opracowaniem, świadczącym o dużym zaangażowaniu Doktoranta w wykonanie czasochłonnych badań, związanych z uzyskaniem odpowiedniego doświadczenia technologicznego umożliwiającego opracowanie czujników oraz przeprowadzeniem pomiarów. Należy również podkreślić, iż Doktorant podejmując badania w laboratorium analitycznym musiał zapoznać się z nowymi dla niego zagadnieniami z zakresu chemii analitycznej, niezbędnymi w prowadzeniu pomiarów z wykorzystaniem metod stosowanych w potencjometrii. Doktorant wykazał się umiejętnym wykorzystaniem łączeniem wiedzy z różnych obszarów, w tym technologii umożliwiającej wykonanie czujników pH i chemii analitycznej dotyczącej potencjometrii.

Istotnymi wynikami przedstawionymi w rozprawie są: (1) opracowanie miniaturowych czujników pH-metrycznych typu *all-solid-state*, z warstwą węglowo-tlenkową wykonanych techniką drukowania na podłożach elastycznych, o dobrych parametrach analitycznych, (2) opracowanie technologii tworzenia elektrod wskaźnikowej i pseudo-referencyjnej metodą pokrywania pojedynczych włókien opatrunkowych warstwami przewodzącymi i chemoczułymi oraz (3) układu odczytowego z bezprzewodową transmisją danych i zasilaniem.

Badania te mogą być wykorzystane w dalszych pracach mających na celu tworzenie różnego rodzaju czujników tworzonych na podłożach elastycznych i tekstylnych.

DOROBEK NAUKOWY DOKTORANTA

Dodatkowo wspomnę o dorobku publikacyjnym Doktoranta, który jest dobry. Doktorant jest współautorem 3 artykułów w czasopismach z bazy *Journal Citation Report* (JCR), w tym: *NANOMATERIALS* (1 art., IF2017 = 3,501, 35 pkt. lista A MNiSW), *JOURNAL OF SENSORS* (1 art., IF2017 = 2,057, 25 pkt. lista A MNiSW), *CIRCUIT WORLD* (1 art., IF2017 = 0,404, 20 pkt. lista A MNiSW) oraz 4 artykułów zamieszczonych w *Proceedings of SPIE*. W sześciu z ww. siedmiu publikacji (oprócz publikacji w *JOURNAL OF SENSORS*) mgr inż. A. Peplowski jest pierwszym autorem. Sumaryczny współczynnik wpływu czasopism wynosi 5,962.

WNIOSEK KOŃCOWY

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Andrzeja Peplowskiego spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 roku wraz z późniejszymi zmianami podanymi w Ustawie "Prawo o szkolnictwie wyższym" z roku 2018. Doktorant ma również dobry dorobek publikacyjny. Zatem wnoszę o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uwzględniając zakres pracy badawczej związanej z rozprawą oraz dorobek publikacyjny Doktoranta, którego główną częścią są 3 artykuły opublikowane w czasopismach z listy JCR o sumarycznym współczynniku wpływu wynosi 5,962, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

