

POLITECHNIKA WARSZAWSKA  
Wydział Mechatroniki

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Andrzej Peplowski

**Drukowane czujniki potencjometryczne do  
monitorowania pH w leczeniu ran**

Promotor:  
Prof. dr hab. inż. Małgorzata Jakubowska

Promotor pomocniczy:  
dr inż. Robert Ziółkowski

Warszawa 2019



*Mojej Żonie i Córce*



## Podziękowania

Wiele osób przyczyniło się do tego, że napisałem tę rozprawę. Bez rad, wiedzy i sił, które dostałem, nie byłbym tu, gdzie jestem teraz. W pierwszej kolejności dziękuję Pani Profesor Małgorzacie Jakubowskiej za to, że przyjęła mnie Pani jako swojego studenta i wskazywała aż do teraz drogę. Dziękuję również Robertowi Ziółkowskiemu za to, że podjąłeś się roli promotora, za wnikliwą i krytyczną ocenę tekstu oraz wiele słów zachęty. Danielowi Janczakowi – za wiele godzin spędzonych w laboratorium, bez których ja nie mógłbym zdobyć własnego doświadczenia. Łucji Dybowskiej-Sarapuk, Jakubowi Krzemińskiemu oraz reszcie Zespołu – za Wasze wsparcie i rady, bez których musiałbym wiele razy wyważać otwarte drzwi. Bardzo serdecznie dziękuję Pani Profesor Elżbiecie Malinowskiej za wieloletnią współpracę, otwartość i podjęcie ryzyka wpuszczenia do laboratorium studenta spoza Wydziału Chemii – bez tego nie mógłbym zgłębić tej części Natury, która tak bardzo mnie interesuje. Panu dr Łukaszowi Górskiemu za całą wiedzę i doświadczenie, które przekazał mi Pan podczas wielu godzin pracy w laboratorium, konsultacji i wykładów. Jest Pan świetnym nauczycielem. Marcie Jarczewskiej za wiele rad, chęć pomocy i wyrozumiałość wobec mojej ignorancji. Dziękuję również moim Rodzicom – szczególnie za zdanie: „*Spróbuj teraz, potem może już nie być okazji.*” Dziękuję mojemu Bratu, Konradowi za to, że pokazałeś mi inne spojrzenie na naukę. *Kurz* częściowo już opadł. Dziękuję Marysi za godziny spędzone wspólnie w chuście, kiedy Ty spałaś, a ja mogłem pracować. To były jedne z najpiękniejszych godzin mojego życia. Wreszcie dziękuję mojej Żonie, Paulinie – za to, że dostrzegłaś moje marzenie i za decyzję, którą podjęliśmy kiedyś wspólnie; za ogrom wsparcia oraz konstruktywną krytykę. Za to, że zawsze przy mnie jesteś. Bez Ciebie nie miałbym po co się tak starać.



## 1. Streszczenie

W pierwszej części pracy na podstawie analizy literaturowej zidentyfikowano pomiar pH ran jako potencjalne rozwiązanie problemu monitorowania stanu ran przewlekłych. Określono przewidywany zakres wartości pH oraz wybrano potencjometryczną metodę jego pomiaru za pomocą drukowanych elektrod tlenkowych. Celem badań było opracowanie technologii wytwarzania elektrod wskaźnikowych oraz odniesienia, które byłyby możliwe do zastosowania w pomiarze pH bezpośrednio na powierzchni rany. Jako główne kryteria przyjęto przy tym czułość przetworników, powtarzalność oraz liniowość ich odpowiedzi, a także odporność na odkształcenia mechaniczne oraz inne czynniki zakłócające. Istotnym warunkiem postawionym w pracy była możliwość integracji opracowanych czujników z materiałami opatrunkowymi.

Punktem wyjścia dla prac badawczych było opracowanie czujników planarnych na bazie  $\text{RuO}_2$  oraz PMMA, o standardowej topologii, wytwarzanych na folii polimerowej. Pozwoliło to na wstępny dobór proporcji pasty drukarskiej oraz na identyfikację dodatkowego źródła zmienności sygnału czujników, jakim jest promieniowanie ultrafioletowe. W celu eliminacji tego zakłócenia zastosowano dodatek fazy funkcjonalnej w postaci nanocząstek węglowych, spośród których wytypowane zostały nanopłatki grafenowe (GNP). Przeprowadzono następnie badanie wpływu geometrii cząstek wypełniacza oraz ich proporcji w paście na gruncie teorii perkolacji. Wykazano eliminację zakłóceń związanych z promieniowaniem UV na czujniki oparte o kompozyt składający się z PMMA,  $\text{RuO}_2$  oraz GNP.

Po zastosowaniu opracowanych materiałów do wytwarzania czujników na materiałach opatrunkowych zaobserwowano ograniczenia technologii związane z wchłanianiem badanych roztworów przez opatrunki oraz kruchością kompozytów na bazie PMMA. W kolejnym etapie badań opracowano nową topologię czujników, wykorzystującą pojedyncze włókna materiału powlekane warstwą pH-czułą oraz warstwą stanowiącą elektrodę odniesienia. Pozwoliło to wyeliminować problem związany z nasiąkaniem podłoża roztworem. Z kolei zastosowanie osnowy polimerowej z TPU nadało wytwarzanym kompozytom odpowiednią odporność mechaniczną.

Osiągnięto zamierzony cel pracy, co potwierdziły badania odpowiedzi czujników w roztworach o znanym składzie. Uzyskano czułość  $-47,08 \pm 2,09$  mV/pH przy wysokiej liniowości oraz powtarzalności pomiaru. Wytworzone czujniki nie wykazywały zmian sygnału po 100 cyklach zginania o kąt  $180^\circ$ . Wytworzone elektrody były wykorzystywane w pomiarach z użyciem systemu bezprzewodowego odczytu pH, opartego o protokół komunikacji NFC oraz dedykowaną aplikację mobilną. Ponadto przeprowadzono badania odpowiedzi czujników w próbie biologicznej. Na podstawie zebranych w ten sposób informacji sformułowano wnioski zamykające niniejszą rozprawę, dotyczące dalszych prac o charakterze wdrożeniowym, a wykraczające poza jej zakres.

**Słowa kluczowe:** Elektronika drukowana; inteligentne opatrunki; kompozyty grafenowe





## Abstract

In the first part of the thesis, basing on the literature studies, measurement of pH was identified as potential solution to the problem of chronic wounds monitoring. Range of predicted pH changes was determined. As the method for pH measurements, potentiometry with printed metal-oxide electrodes was chosen. The aim of the study was development of a technology for manufacturing of indicator and reference electrodes, which could be applied to measurements of pH directly on the wound surface. As the main criteria, transducers' sensitivity, repeatability and linearity of response, as well as sensors' resistance for mechanical deformation and other distorting factors were named. Substantial requirement set in this work was also the possibility to integrate sensors with wound dressing textiles.

Development of planar, standard-topology sensors based on RuO<sub>2</sub> and PMMA fabricated on polymer foil was the starting point of the work described herein. It allowed preliminary selection of the printing paste proportions and identification of unpredicted previously source of signal distortion, namely ultraviolet radiation. To eliminate its influence, another material was added to the paste as the functional phase – carbon nanoparticles, among which graphene nanoplatelets (GNP) were selected. Next, influence of particles' geometry was assessed as well as proportions of pastes' components, basing on the percolation theory. Elimination of UV-induced distortion for PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP composite was subsequently demonstrated.

After applying developed material for fabricating sensors on wound dressing textiles, limitations of the employed technology resulting from soaking of the textile fibres was observed as well as the PMMA-based composite's brittleness. Hence, in the next stage of research, new topology of the sensors was developed, employing single fibres coated with pH-sensitive and reference electrode layers. It allowed overcoming of the substrate's soaking issue. On the other hand, utilization of TPU matrix in the composite improved its elasticity.

The aim set in this thesis was accomplished, which was confirmed by examination of the sensors' response in solutions of known composition. Sensitivity of  $-47,08 \pm 2,09$  mV/pH with high linearity and reproducibility was achieved. Developed sensors did not exhibit response change after 100 cycles of 180° bending. Fabricated electrodes were employed in measurements using a wireless NFC read-out module and dedicated mobile application. Moreover, sensors' performance was tested in a biological sample. Basing on the collected data, conclusions to the research were formulated, outlining further tasks for development and implementation of presented solution which exceed scope of this thesis.

**Keywords:** Printed electronics; smart bandage; graphene composites



## 2. Wykaz najważniejszych symboli i skrótów

CNT – nanorurki węglowe (ang. *carbon nanotubes*)

DMF – dimetyloformamid

$E_o$  – potencjał standardowy (siła elektromotoryczna ogniwa zbudowanego z elektrody badanej oraz elektrody wodorowej)

GNP – nanopłatki grafenowe (ang. *graphene nanoplatelets*)

MWCNT – wielościenne nanorurki węglowe (ang. *multi-walled carbon nanotubes*)

OKB – octanu 2-(2-butoksyetoksy)etylu (nazwa zwyczaj. octan karbitolu butylowego)

PET – poli(tereftalanu etylenu)

PMMA – poli(metakrylan metylu)

$R^2$  – współczynnik determinacji

$RuO_2$  – tlenek rutenu(IV)

$S$  – czułość

SEM – siła elektromotoryczna

SWCNT – jednościenne nanorurki węglowe (ang. *single-walled carbon nanotubes*)

THF – tetrahydrofuran

TPU – poliuretan termoplastyczny

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

$\rho$  – współczynnik korelacji liniowej Pearsona

## Spis treści

1. Streszczenie .....	7
2. Wykaz najważniejszych symboli i skrótów .....	11
Spis treści.....	12
3. Wprowadzenie.....	14
3.1. Epidemiologia, etiologia oraz kryteria oceny stanu ran przewlekłych .....	14
3.2. Znaczenie pH w równowadze biochemicznej skóry oraz gojeniu się ran .....	16
4. Stan wiedzy .....	21
4.1. Metody pomiaru pH.....	22
4.1.1. Elektroda szklana .....	23
4.1.2. Elektrody z membraną polimerową .....	26
4.1.3. Elektrody tlenkowe.....	28
4.1.4. pH-czułe tranzystory polowe .....	31
4.2. Wybór metody pomiarowej oraz technologii wytwarzania czujników .....	34
5. Cel pracy .....	37
6. Badania właściwości drukowanych elektrod tlenkowych .....	41
6.1. Technologia wytwarzania drukowanych elektrod tlenkowych .....	41
6.2. Badanie wpływu promieniowania ultrafioletowego na odpowiedź elektrod .....	49
7. Badania past do wytwarzania drukowanych elektrod tlenkowo-węglowych.....	51
7.1. Badanie odpowiedzi pH-metrycznej drukowanych elektrod na bazie nanomateriałów węglowych.....	52
7.2. Badanie wpływu wymiarów nanopłatków grafenowych na odpowiedź pH-metryczną elektrod.....	54
7.3. Badanie odpowiedzi pH-metrycznej elektrod tlenkowo-węglowych.....	62
7.3.1. Teoria perkolacji a udział fazy funkcjonalnej w warstwie drukowanych elektrod pH-metrycznych.....	62

7.3.2. Określenie zależności czułości elektrod od udziału objętościowego fazy funkcjonalnej .....	64
7.3.3. Badanie wpływu promieniowania UV na odpowiedź elektrod tlenkowo-węglowych	69
7.4. Badanie elastyczności drukowanych elektrod pH-metrycznych.....	73
8. Badania planarnych czujników pH drukowanych na opatrunkach medycznych.....	77
8.1. Technologia druku planarnych czujników pH na opatrunkach .....	77
8.2. Technologia wytwarzania i badanie właściwości elektrochemicznych warstwy elektrody pseudoreferencyjnej.....	78
8.3. Badanie odpowiedzi pH-metrycznej czujników planarnych drukowanych na opatrunkach .....	81
9. Technologia wytwarzania czujników pH na bazie pojedynczych włókien opatrunkowych .....	86
9.1. Technologia wytwarzania elastycznych elektrod włóknowych.....	87
9.2. Badanie odpowiedzi potencjometrycznej włóknowych czujników pH.....	94
9.3. Badania odpowiedzi potencjometrycznej czujników włóknowych w materiale biologicznym .....	97
10. Podsumowanie i wnioski .....	102
Literatura.....	104

### **3. Wprowadzenie**

Leczenie ran jest elementem rutynowej opieki zdrowotnej. Jej przedmiotem są zarówno uszkodzenia tkanek będące wynikiem różnego rodzaju urazów i chorób, jak również naruszenia powłok organizmu w wyniku interwencji medycznych. Leczenie ran jest w istocie procesem biologicznej przebudowy, w którym jednocześnie zachodzi obumieranie uszkodzonych tkanek, degradacja martwych i budowa nowych. Rana jest w efekcie obszarem o wzmożonej aktywności metabolicznej [1]. Aktywność ta ma różny charakter na różnych etapach gojenia się, wśród których można wyróżnić trzy zasadnicze fazy [2, 3]:

1. zapalną, w trakcie której dochodzi do wytworzenia hemostazy (zespołu mechanizmów zapobiegających wypływowi krwi [4]) oraz stanu zapalnego (procesu zwiększenia ukrwienia tkanki w celu zwalczania i wydalania czynnika chorobotwórczego [5]),
2. rozrostu, kiedy powstaje tkanka ziarninowa (rodzaj nowej tkanki łącznej, zawierającej gęstą sieć naczyń włosowatych [6]) wypełniająca ubytek,
3. ostatecznej przebudowy poprzez dojrzewanie tkanki kolagenowej i pokrycie rany naskórkiem [7].

Czas leczenia rany uznawany za prawidłowy to według różnych źródeł od 4-6 [8] do 6-8 [9] tygodni. Powyżej tego czasu ranę uznaje się za przewlekłą.

#### **3.1. Epidemiologia, etiologia oraz kryteria oceny stanu ran przewlekłych**

Pogorszenie się stanu ranu do przewlekłej wiąże się przede wszystkim ze znaczącym wzrostem śmiertelności pacjentów – do około 5%, nasilenia bólu doświadczanego przez chorych, jak również znacznie większymi kosztami socjoekonomicznymi [10]. Problem ten dotyka około 6 milionów Amerykanów [11] i około 20 milionów ludzi na całym świecie [12]. Według badań zespołu dr. Sen z The Ohio State University [13], około 2% populacji w krajach rozwiniętych będzie w ciągu swojego życia cierpiało z powodu ran przewlekłych. Najbardziej narażone na ten rodzaj schorzenia są osoby powyżej 60 roku życia, wśród których niemal 15% cierpi z powodu niegojących się ubytków skóry [14]. Tym samym ryzyko chronicznych ran będzie problemem o rosnącej wadze – zgodnie z przewidywaniami EUROSTATU, według których

do 2020 rok odsetek osób po 65 roku życia będzie wynosił w Polsce 18,4% a do 2030 – 23,2% [15].

Rany o charakterze przewlekłym to w większości owrzodzenia żyłne goleni (ok. 75%). Rzadziej są to rany na tle niedokrwinnym (14%) oraz tzw. zespół stopy cukrzycowej (5%) [9]. Pozostałe 6% przypadków to inne schorzenia o niejednorodnym charakterze. Powstawanie owrzodzenia żylnego goleni wynika z zaburzeń krążenia żylnego, szczególnie na tle nadciśnienia żylnego. To ostatnie prowadzi do zniszczenia zastawek żylnych a w konsekwencji do cofania się krwi żyłnej, zastoju krwi a ostatecznie do martwicy tkanek [16]. Owrzodzenia o etiologii niedokrwiennej związane są głównie z występowaniem miażdżycy tętnic kończyny dolnej. Ryzyko jego wystąpienia zwiększają: palenie tytoniu, otyłość, hiperlipidemia oraz nadciśnienie tętnicze [17]. Ryzyko wystąpienia zespołu stopy cukrzycowej u osoby chorej na cukrzycę jest szacowane między 12 a 25% [18].

W leczeniu ran konieczna jest kontrola aktualnego stanu rany w celu wykrycia ewentualnych nieprawidłowości i wdrożenia odpowiedniego postępowania [19]. Istotne jest, aby rodzaj leczenia był dostosowany do fazy gojenia się uszkodzenia [20]. Jako najczęściej stosowane w praktyce klinicznej można wymienić następujące kryteria oceny stanu ran:

- rozmiar [21],
- barwę [22],
- wysięk z rany [23],
- ból odczuwany przez chorego [24],
- zapach [25],
- obecność bakterii [26].

Pomiar rozmiaru rany pozwala ustalić, czy ubytek tkanki zmniejsza się, a tym samym, czy postępuje jej regeneracja. Ocena barwy z kolei odnosi się do obecności stanu zapalnego. W obu przypadkach wymagane jest zdjęcie opatrunku założonego na ranę, co wiąże się z ryzykiem jej zanieczyszczenia, uszkodzenia lub zakażenia. To ostatnie jest szczególnie groźne w przypadku leczenia szpitalnego, gdyż wystawia ranę na działanie wieloopornych szczepów bakterii obecnych w placówkach medycznych. Według raportu Światowej Organizacji Zdrowia na temat infekcji związanych z opieką zdrowotną (HCAI,

ang. *healthcare-associated infections*), ryzyko nabycia HCAI w krajach rozwiniętych wynosi ok. 7%, a w krajach rozwijających się ok. 10% [26]. W Europie są one bezpośrednią przyczyną 37 000 zgonów rocznie oraz przyczyniają się do kolejnych 110 000 zgonów [27]. Oprócz tego zakażenia związane z interwencjami chirurgicznymi przekładają się na wydłużenie pobytu pacjentów w szpitalu o nawet 21 dni [28].

Obecność oraz charakter wysięku, czyli płynu przedostającego się do rany z naczyń włosowatych, mogą nieść istotne informacje o procesie gojenia lub jego zaburzeniach [29]. Zbyt gęsty i lepki wysięk może oznaczać zakażenie, obecność obumarłych komórek lub przetoki jelitowej. Z kolei niska lepkość może być symptomem chorób serca, przetoki moczowej, limfatycznej lub z jamy stawowej. Jest to zatem kryterium niejednoznaczne [30]. Oceniana jest również barwa oraz zapach wysięku, przy czym to drugie kryterium podawane jest w sposób nieostry – w literaturze funkcjonuje jedynie określenie zapachu jako nieprzyjemny, co podlega subiektywnej ocenie. Jedynie ocena zabarwienia pozwala na jednoznaczną identyfikację źródła ewentualnego zaburzenia procesu gojenia. Jednakże zbadanie wysięku ponownie wiąże się z ryzykiem zakażenia opisanym wyżej.

Ból odczuwany przez pacjenta, stosowany jako kolejne kryterium oceny stanu rany [24], jest podwójnie subiektywną informacją: ze względu na różne odczuwanie bólu przez pacjentów oraz ze względu na konieczność oceny tego odczucia przez pracownika opieki medycznej. Obiektywnej informacji na temat stanu rany dostarczają natomiast badania analityczne na obecność bakterii w obszarze uszkodzenia. Stosowane są w tym celu metody laboratoryjne takie jak testy immunologiczne [31] lub reakcja łańcuchowa polimerazy [32]. Niestety, metody te wymagają dodatkowych nakładów czasu i środków, przez co nie nadają się do doraźnej oceny.

### **3.2. Znaczenie pH w równowadze biochemicznej skóry oraz gojeniu się ran**

Skala pH służy do ilościowego określania kwasowości i zasadowości roztworów wodnych [33]. Przyjmuje ona wartości od 0 do 14, przy czym wartość 7 określana jest jako obojętna (odczyn chemicznie czystej wody), wartości od 0 do 7 odpowiadają roztworom kwaśnym a od 7 do 14 – zasadowym. Na potrzeby niniejszego rozdziału powyższe określenie jest wystarczające, natomiast szerzej definicja pH oraz metody jego oznaczania zostały opisane w rozdziale 4.



Zdrowa, nienaruszona skóra posiada odczyn kwaśny, co jest związane z dwoma aspektami: mechanizmami jego utrzymywania oraz roli, jaką spełnia on w funkcjonowaniu skóry. Najczęściej wymieniane i wskazywane jako najistotniejsze czynniki wpływające na poziom pH skóry to:

- pocenie się [34]
- wydzielanie sebum [35]
- wiek [36]
- umiejscowienie na ciele [37]
- płeć [38]

Oprócz powyższych, endogennych i osobniczych składowych, na poziom pH składają się również stosowane kosmetyki [34] czy choroby skóry [39]. W przytoczonych pracach wartości pH obserwowane dla powierzchni skóry zawierały się w przedziale 4-5,5.

Z drugiej strony odczyn kwaśny obserwowany na skórze wiąże się z funkcją bariery naskórkowej [40] w dwojaki sposób. Po pierwsze konieczny jest on dla funkcjonowania w tej powłoce ciała enzymów z grupy hydrolaz [41]:  $\beta$ -glukocerebrozydazy, kwaśnej sfingomielinazy, kwaśnych lipaz, fosfataz i fosfolipidaz. Pełnią one szereg funkcji związanych z syntezą lipidów pokrywających naskórek. Te z kolei przyczyniają się do utrzymywania wilgoci wewnątrz tkanek (poprzez wypełnianie przestrzeni międzykomórkowych), zapewnianie gładkości, jak również pełnią rolę immunologiczną, hamując rozwój niektórych gatunków bakterii i grzybów [42]. Dla działania enzymów zapewniających syntezę lipidów z kolei optymalne pH wynosi ok. 5,6 [41]. Po drugie, oprócz warunkowania przebiegu istotnych reakcji biochemicznych, sam kwaśny odczyn skóry powoduje supresję namnażania się np. rinowirusów [43], będących najpowszechniejszym wirusowym czynnikiem zakaźnym u ludzi [44, 45].

Opisany wyżej stan równowagi biochemicznej powierzchni ciała zostaje zaburzony w momencie naruszenia skóry tj. zranienia. Jak opisano na początku niniejszego rozdziału, proces gojenia rozpoczyna się od powstania stanu zapalnego [3]. Jest on związany m.in. ze zwiększoną aktywnością metaboliczną, która pociąga za sobą znaczny wzrost zapotrzebowania tkanek na tlen. Zachodząca w tym czasie intensywne produkcja kolagenu w macierzy pozakomórkowej zwiększa również zapotrzebowanie na kwas pirogronowy, będący substratem w syntezie adenozy-5'-trifosforanu (ATP) –

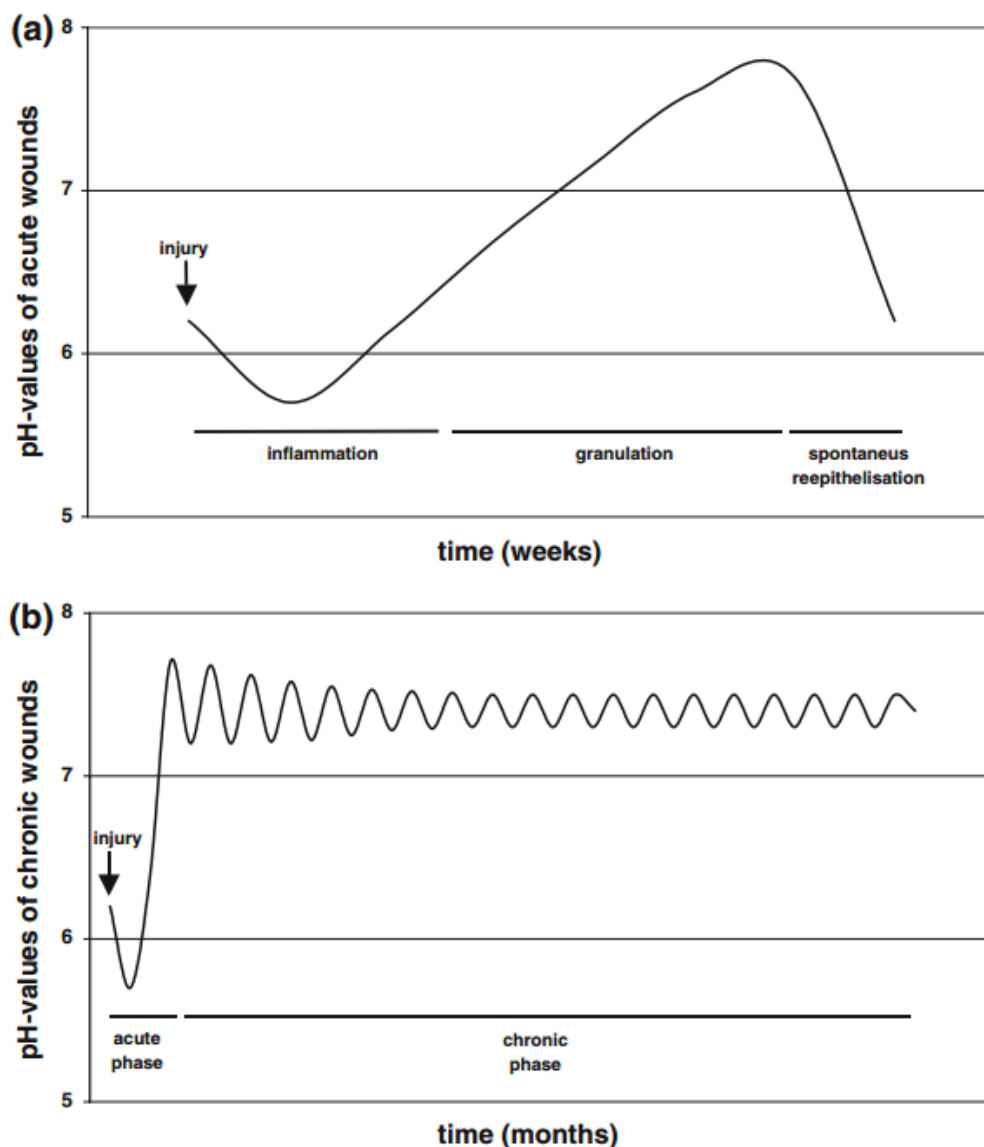
podstawowego nośnika energii w procesach komórkowych [46]. Pomimo wzrostu perfuzji, w otaczających ranę komórkach powstaje niedobór tlenu, przez co znaczna część cząsteczek pirogronianu nie może zostać przekształcona na ATP w cyklu Krebsa [47]. Energia jest natomiast wytwarzana w procesie fermentacji mlekowej (tzw. oddychania beztlenowego) [48]. Produktem tej ostatniej jest m.in. kwas mlekowy, który wpływa na spadek pH otoczenia rany względem stanu wyjściowego. Oprócz tego w macierzy pozakomórkowej na skutek niedoboru tlenu następuje wzrost ciśnienia parcjalnego CO<sub>2</sub>, co również powoduje zmianę odczynu rany na bardziej kwaśny. Jednocześnie ten stan przyczynia się do szybszej regeneracji tkanki poprzez pobudzenie proliferacji fibroblastów [49] oraz przyspieszenie syntezy DNA i migracji komórek [50]. Niższy poziom pH powoduje również tzw. efekt Bohra, który sprawia, że hemoglobina wykazuje mniejsze powinowactwo względem tlenu, co pozwala łatwiej pobierać go tkankom a tym samym w pewnym stopniu zrównoważyć stan niedotlenienia opisany wyżej. Dodatkowym efektem obniżenia pH jest pogłębione działanie bakteriostatyczne, które spełnia odczyn kwaśny na skórze zdrowej [25, 51, 52].

Faza zapalna w prawidłowo przebiegającym procesie gojenia się prowadzi ostatecznie do oczyszczenia rany [5]. Stwarza to warunki do wzrostu tkanki ziarninowej, będącej przejściową formą tkanki łącznej, która w ostatniej fazie gojenia stanowi podłoże do nabłonkowania i całkowitego zamknięcia rany. Tworzą ją głównie fibroblasty, odpowiedzialne za syntezę włókien kolagenowych oraz proteoglikany, wypełniające macierz kolagenową i nadające tkance sprężystość [53]. Oprócz tego ziarnina jest mocno ukrwiona dzięki gęstej sieci naczyń włosowatych. Jednocześnie oczyszczenie rany prowadzi do szybkiego wzrostu pH. Wykazały to m.in. badania opublikowane przez Tsukadę wraz z zespołem [54]. W eksperymencie mierzono najpierw pH ran przed oczyszczeniem, pokrytych tkanką nekrotyczną oraz złogami osocza i ropy, uzyskując wartości od 5,5 do 6,7. Następnie dokonywano chirurgicznego oczyszczenia rany i powtarzano pomiar, obserwując wartości z przedziału 5,7÷8,4, przy czym dla każdego przypadku odnotowany został wzrost pH. Podobny efekt obserwowano również przy zastosowaniu tzw. biochirurgii, czyli procedury oczyszczenia rany z użyciem larw muchówek *Lucilia sericata* z rodziny plujkowatych [55]. Jakkolwiek w obu przytoczonych pracach nie podano jednoznacznego wyjaśnienia tego zjawiska, wyniki przeglądu przedstawionego przez Schneidera i in. [1], jasno wskazują, iż większość enzymów z klasy proteaz, służących oczyszczaniu ran, posiada optimum aktywności dla pH powyżej 7. Na

tej podstawie można zatem stwierdzić, że w drugim stadium gojenia się rany – w fazie rozrostu – następuje zmiana odczynu rany na zasadowy, co służy usunięciu pozostałości tkanek obumarłych i innych zanieczyszczeń (ropy, skrzepów, białek, martwych leukocytów), powstałych na skutek wcześniejszego stanu zapalnego.

W prawidłowym procesie po wstępnym zamknięciu rany przez ziarninę następuje stopniowa migracja komórek od brzegów rany. Jednocześnie postępuje różnicowanie tkanki na powierzchni w komórki naskórka. Od momentu, w którym tempo produkcji kolagenu i degradacji tkanki martwiczej zrównują się ze sobą, przyjmowane jest, iż proces gojenia się rany wchodzi w trzecią fazę – ostatecznej przebudowy [56]. W tym czasie kolagen typu I, dominujący w trakcie fazy rozrostu, zostaje zastąpiony przez kolagen typu III [57], którego włókna układają się zgodnie z liniami naprężeń i sieciują [58], wzmacniając wytwarzającą się warstwę naskórka. Dochodzi również do apoptozy (naturalnego procesu zaprogramowanej śmierci komórek) naczyń krwionośnych, co prowadzi do obkurczenia się tkanki [56]. Po zakończeniu przebudowy, tkanka uzyskuje ok. 80% wytrzymałości na rozciąganie w porównaniu do skóry przed naruszeniem [59]. Jednakże wspomniane podniesienie się pH do wartości zasadowych powoduje również zanik działania bakteriostatycznego i wzrost ryzyka zakażenia rany przez bakterie lub grzyby [60]. W takim wypadku może dojść do przejścia w stan rany przewlekłej, której pH będzie utrzymywało się na poziomie alkalicznym, do czego przyczyniają się również produkty metabolizmu bakterii [61]. Odpowiedź immunologiczna organizmu może być natomiast osłabiona przez czynniki takie jak hiperglikemia (w przypadku zespołu stopy cukrzycowej) [18], nadciśnienie tętnicze lub palenie tytoniu [17]. Tym samym można mówić o pewnego rodzaju oscylacji wartości pH, która z jednej strony wzrasta na skutek działania naturalnych mechanizmów dążących do oczyszczenia rany jak również ze względu na infekcję, natomiast z drugiej – jest obniżana przez odnawianie się stanu zapalnego. Schematycznie opisane wyżej zmiany zostały podsumowane w pracy Schneidera i zespołu [1] na dwóch poniższych wykresach:

Dla niniejszej pracy przytoczone informacje stanowią kluczowy punkt wyjścia, którym jest przyjęcie pH jako obiektywnego, mierzalnego kryterium oceny stanu rany. Tym samym opracowanie urządzenia pozwalającego na pomiar pH rany można uznać za rozwiązanie trudności przedstawionej w rozdz. 3.2 – braku narzędzi do jednoznacznej kontroli procesu gojenia się ran. Z tego powodu dokonano przeglądu stosowanych współcześnie technik pomiaru pH, które przedstawiono w kolejnym rozdziale celem doboru metody odpowiadającej wymogom przedmiotowego problemu niniejszej rozprawy. Istotnym wnioskiem, pozwalającym sformułować wymagania dla projektowanego urządzenia, jest przedział wartości pH, obserwowanych w procesie gojenia się ran. Na podstawie przytoczonych wyżej badań przedział ten można określić jako  $4 \div 8,4$ . Stanowi to zatem docelowy zakres pracy urządzenia pomiarowego.



Rys. 3.1. Schematyczny przebieg zmian pH rany w przypadku a) rany ostrej i b) rany przewlekłej [1]

## 4. Stan wiedzy

Koncepcja skali pH została wprowadzona w 1909 roku przez duńskiego biochemika Sørensa Sørensen, badającego zmiany aktywności enzymów w zależności od stężeń jonów. Wyróżnił on jony wodorowe, których obserwowany wpływ był najistotniejszy. Zgodnie z obowiązującą ówczesnie teorią Arrheniusa [62], substancje, których produktami dysocjacji w roztworze są jony wodorowe uznał on za kwasy. Tym samym rząd wielkości stężenia  $H^+$ , wyrażony jako ujemna potęga (niem. „*potenz*”) została przez Sørensen określona jako  $p_H$  i zdefiniowana w następujący sposób [63]:

$$p_H = -\log_{10}[H^+] \quad (4.1),$$

gdzie  $[H^+]$  oznacza stężenie jonów wodorowych w badanym roztworze wodnym, wyrażone w  $\text{mol}/\text{dm}^3$ . Tak określona wartość  $p_H$  została przez niego przyjęta jako miara kwasowości lub zasadowości roztworów. Jednocześnie powyższe równanie można uściślić w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy.

Po pierwsze, jony  $H^+$  nie występują w roztworach wodnych w postaci wolnej, gdyż od razu ulegają solwatacji do jonów  $H_3O^+$ . Mimo to, notacja wprowadzona przez Sørensen funkcjonuje do dziś jedynie w zmienionym zapisie jako pH. Po drugie, pH należy rozumieć raczej jako funkcję aktywności jonów hydroniowych niż ich stężenia [64]. Tym samym pierwotną definicję Sørensen można zapisać następująco:

$$pH = -\log_{10}(a_{H_3O^+}) \quad (4.2).$$

Powyższe ujęcie należy jednak również uznać za niewystarczające ze względu na fakt, iż w praktyce aktywność pojedynczego jonu nie może być wyznaczona w sposób niezależny [65]. Tym samym równanie (4.2) może stanowić jedynie definicję pojęciową, określającą pewien uproszczony model rzeczywistości. Ze względu na praktyczne znaczenie odczynu roztworów, Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC) wprowadziła definicję praktyczną, odnoszącą się do podstawowej metody pomiaru pH, za którą uznana została metoda potencjometryczna [65, 66]. Polega ona na pomiarze siły elektromotorycznej (SEM) pomiędzy dwiema elektrodami – platynową i chlorosrebrową – wchodzącymi w skład następującego ogniwa, w którym natężenie prądu wynosi 0:



Wartość pH buforu jest następnie definiowana jako [67]:

$$\text{pH} = \text{pH}(\text{S}) + \frac{(E_{\text{S}} - E)F}{RT \ln 10} \quad (4.3), \text{ gdzie:}$$

$\text{pH}(\text{S})$  – pH roztworu wzorcowego, określonego przez IUPAC,

$E_{\text{S}}$  – SEM ogniwa zanurzonego w roztworze wzorcowym, określonym przez IUPAC,

$E$  – SEM zmierzona dla ogniwa pomiarowego,

$F$  – stała Faradaya,

$R$  – stała gazowa,

$T$  – temperatura roztworu w Kelwinach.

Istotnym jest, że skala pH jest określona jedynie dla roztworów wodnych. Mimo praktycznej możliwości pomiaru SEM ogniw zawierających roztwory innych rozpuszczalników, wynik takiego pomiaru nie będzie mówił o kwasowości czy zasadowości próbki. Wynika to z faktu, jony hydroniowe w takich roztworach podlegają innym reakcjom.

Z powyższej definicji (4.3) wynika również, że pH jest wielkością bezwymiarową. Z tego powodu wyrażenie zmienności SEM ogniwa pomiarowego względem zmiany pH w jednostkach układu SI jest *sensu stricto* niemożliwe. Jednakże w literaturze dotyczącej pomiarów pH metodami galwanometrycznymi istnieje konsensus co do stosowania pseudojednostki zmienności:  $\frac{\text{mV}}{\text{pH}}$ . Oznacza ona ilościową zmianę SEM ogniwa pomiarowego wyrażoną w miliwoltach na jednostkę skali pH, tj. według uproszczonej definicji (4.2) – zmianę SEM wywołaną zmianą aktywności jonów hydroniowych o jeden rząd wielkości. Z uwagi na intuicyjny charakter powyższej pseudojednostki oraz jej powszechność w piśmiennictwie w niniejszej pracy również przyjęto taką notację.

#### 4.1. Metody pomiaru pH

Ze względu na duże znaczenie kwasowości lub zasadowości wielu roztworów, pomiar pH jest jednym z podstawowych badań próbek wodnych w wielu gałęziach nauki i przemysłu. Począwszy od medycyny [68] i biotechnologii [69], przez kontrolę bezpieczeństwa żywności [70] i systemy dostarczania wody [71] aż po nauki o środowisku [72]. Jak wspomniano wyżej, za metodę wzorcową uznano pomiar

potencjometryczny. Jednakże zastosowanie tej metody nie zawsze jest możliwe (z uwagi choćby na objętość próbek czy okoliczności wykonywania pomiaru) lub też nie zawsze wymagana jest tak wysoka dokładność pomiaru. Z tego też powodu opracowano wiele metod oznaczania pH.

Jako najprostszą i często wystarczającą można wymienić metodę wskaźnikową. Polega ona na obserwacji zabarwienia roztworu substancji, które zmienia się pod wpływem zmiany pH. Najczęściej dzieje się to skokowo, na skutek reakcji cząsteczek wskaźnika z roztworem. Metoda ta znajduje zastosowanie np. w miareczkowaniu lub przy wytwarzaniu tzw. papierków wskaźnikowych, które nasączone są zestawem substancji barwnych. Po nałożeniu badanego roztworu na papierek, jego zabarwienie ulega zmianie i może być odczytane w połączeniu ze skalą porównawczą. W ten sposób jednak uzyskuje się jedynie orientacyjne określenie pH próbki, co przy stosunkowo wąskim przedziale zmienności w procesie leczenia ran wyklucza tego rodzaju podejście [73].

Z tego powodu zdecydowano o wyborze potencjometrii do pomiaru pH środowiska ran. Elektrody wykorzystywane w tej technice można podzielić ze względu na funkcję w ogniwie pomiarowym na elektrody odniesienia (których potencjał jest stały niezależnie od pH środowiska) oraz elektrody wskaźnikowe. W tej drugiej grupie można natomiast wyróżnić dwie szeroko pojęte podgrupy – elektrody z membranami jonoselektywnymi oraz elektrody metaliczne. Pierwsze charakteryzują się potencjałem zależnym od równowagi konkretnych jonów (w tym wypadku  $H^+$ ) na granicach fazowych roztwór-membrana. Można wyróżnić wśród nich elektrodę z membraną szklaną oraz elektrody z membranami polimerowymi. W przypadku elektrod metalicznych źródłem zmian potencjału są reakcje typu redoks zachodzące na ich powierzchni.

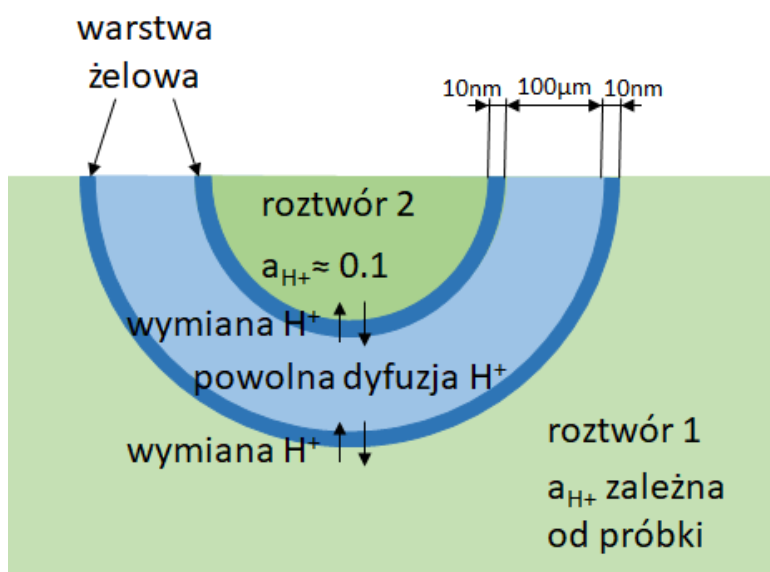
#### **4.1.1. Elektroda szklana**

Pośród standardowo stosowanych metod pomiaru pH, jako najczęstszą i zapewniającą dużą dokładność należy wymienić pomiar z użyciem elektrody szklanej [74]. Jest to metoda powszechnie wykorzystywana jako referencyjna względem pomiarów pH przy użyciu innego rodzaju przetworników [75–77]. Spowodowane jest to szerokim zakresem liniowym elektrody szklanej (pH 1÷11) oraz dużą powtarzalnością.

Działanie elektrody szklanej opiera się na wymianie jonów wodorowych z roztworem w dwóch warstwach uwodnionego szkła, znajdujących się po obu stronach

membrany szklanej. Uwodnione szkło ma postać żelową, w którego strukturę mogą wnikać jony wodorowe. Warstwa ta ma ok. 10nm grubości. Pomiedzy dwiema warstwami żelowymi znajduje się szkło niewodnione („suche”), w którego strukturze jedynie z bardzo ograniczoną prędkością może zachodzić dyfuzja  $H^+$ . Jednocześnie dzięki grubości rzędu  $100\mu m$ , szkło suche nie stanowi zupełnej izolacji obu warstw żelowych, co pozwala spełnić warunek połączenia elektrycznego granic fazowych:

roztwór 1 | warstwa żelowa | szkło suche | warstwa żelowa | roztwór 2



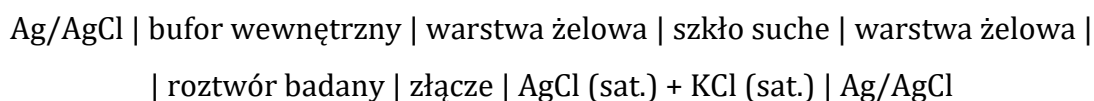
Rys. 4.1. Schemat konstrukcji i działania membrany szklanej w elektrodzie do potencjometrycznego pomiaru pH.

Widoczna na Rys. 4.1 membrana z zewnętrznej strony wystawiona jest na kontakt z badanym roztworem, zatem jej potencjał zależy w teorii jedynie od aktywności  $H^+$ . Z drugiej strony membrany znajduje się *roztwór wewnętrzny* o stałej aktywności jonów wodorowych. Jeśli więc w roztworze wewnętrznym, odizolowanym od próbki (nie licząc dyfuzji  $H^+$  przez szkło), zanurzona zostanie elektroda, to jej potencjał elektrochemiczny będzie sumą potencjałów obu warstw żelowych, a tym samym – zależny będzie jedynie od aktywności  $H^+$  w roztworze badanym. Jako elektrodę stosowany jest najczęściej drut srebrowy pokryty pastą z chlorku srebra.

Najczęściej elektroda szklana wykorzystywana jest w urządzeniach do pomiaru pH (pH-metrach) w konfiguracji pozwalającej na zastosowanie jedynie pojedynczej sondy do pełnego pomiaru pH. Schemat całego przyrządu przedstawiono na Rys. 4.2. Jak wspomniano wyżej, do przeprowadzenia tego niezbędna jest również elektroda odniesienia. W drugiej części korpusu, znajduje się nasycony roztwór chlorku srebra

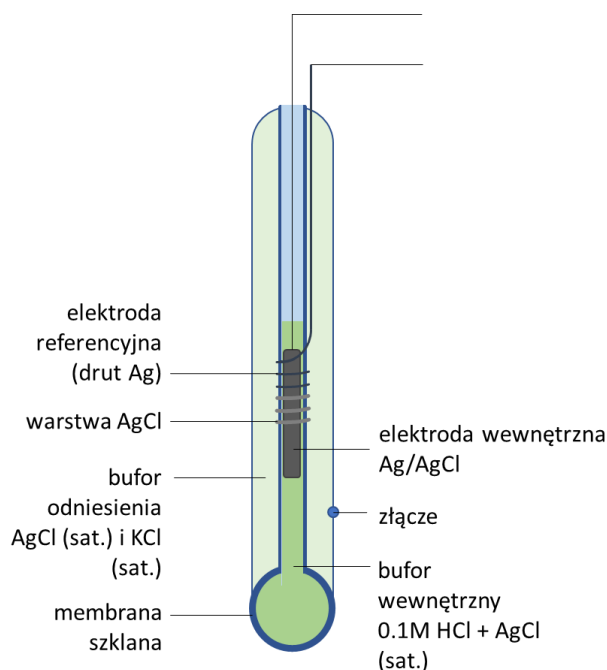


i chlorku potasu (*roztwór odniesienia*). Zanurzona w nim jest elektroda srebrowa pokryta warstwą chlorku srebra (Ag/AgCl). Jej potencjał – z racji stałego stężenia jonów w otoczeniu – jest również stały. Za pomocą porowatego spieku w ścianie korpusu zapewniane jest połączenie roztworu odniesienia z roztworem badanym. Niewielka przepustowość tego złącza sprawia, iż zmiany w składzie roztworu AgCl i KCl – a tym samym potencjału zanurzonej w nim elektrody Ag/AgCl – są pomijalne. Tym samym, obie elektrody – wewnętrzna i referencyjna – pozwalają na pomiar SEM następującego ogniwa:



Zależność SEM od pH próbki dla powyższego układu w zakresie  $\text{pH} \in \langle 1; 11 \rangle$  ma postać:

$$\text{SEM} = -59,16 \cdot \text{pH} + E_0 \quad (4.4)$$



Rys. 4.2. Z lewej: Schemat budowy sondy do pomiaru pH z użyciem elektrody z membraną szklaną; z prawej: zdjęcie sondy pH-metru z membraną szklaną – model CP-505 firmy Elmetron

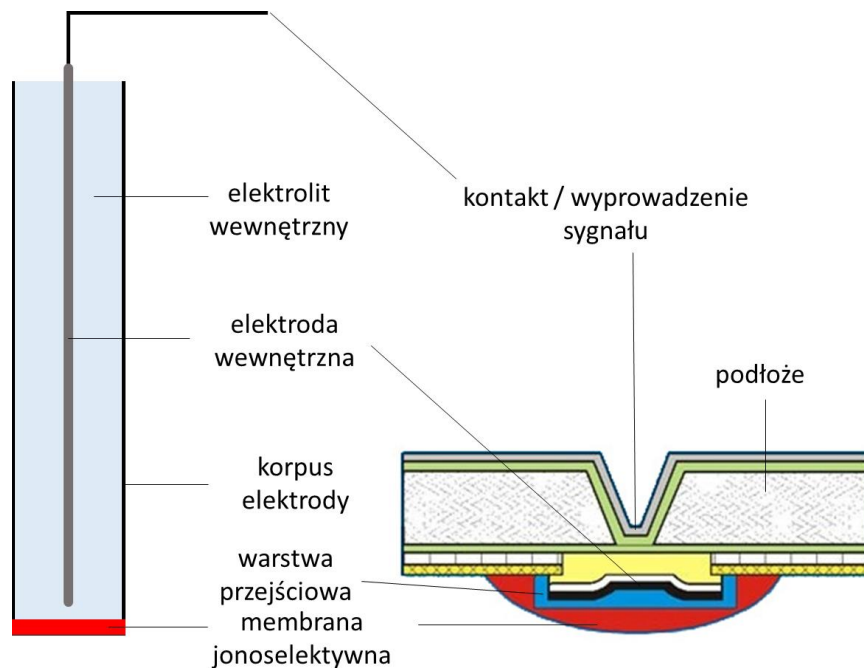
Powyższe wyjaśnienie należy uściślić, uwzględniając możliwą interferencję innych jonów. Ma ona miejsce z uwagi na fakt, że w warstwie żelowej miejsca wymiany jonów z otoczeniem mogą zajmować również jony lekkich litowców:  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ . Dla niskich stężeń  $\text{H}^+$  (tj. przy wartościach  $\text{pH} > 11$ ), wpływ tych jonów powoduje mniejszą zmianę potencjału elektrody względem pH niż przewidywana (tzw. błąd zasadowy). Z kolei dla

niskich wartości pH (<1) dostępność miejsc wymiany jonowej w warstwie żelowej jest zbyt niska, co również skutkuje wypłaszczeniem charakterystyki (błąd kwasowy) [78].

Znaczącym ograniczeniem w stosowaniu elektrod z membraną szklaną do pomiaru pH jest ich podatność na uszkodzenia mechaniczne (wynikająca z kruchości oraz małej grubości szkła) jak również skomplikowana struktura sondy, opisana wyżej. W przeszłości podejmowane były prace nad miniaturyzacją elektrod szklanych, również do monitorowania *in vivo* tkanek [79–81]. W niniejszej pracy pH-metr wyposażony w elektrodę z membraną szklaną był wykorzystany do referencyjnego pomiaru pH w badaniach odpowiedzi opracowywanych elektrod. Przed każdą serią pomiarową przeprowadzano czteropunktową kalibrację urządzenia dla wartości pH = 2, 4, 7 i 9.

#### **4.1.2. Elektrody z membraną polimerową**

W odróżnieniu od membrany szklanej, której selektywność względem jonów  $H^+$  wynika z ich rozmiarów i możliwości wnikania w strukturę szkła, membrany polimerowe charakteryzuje selektywna wymiana jonowa w oparciu o oddziaływania międzycząsteczkowe. Analogicznie do poprzedniej metody korpus sondy pomiarowej wypełnia roztwór wewnętrzny, w którym umieszczona jest elektroda pomiarowa Ag/AgCl. Pomiedzy nim a roztworem badanym umieszczana jest membrana składająca się z matrycy polimerowej oraz dodatkowych związków zapewniających selektywne wiązanie oznaczanych jonów w membranie. Spośród tych dodatków funkcjonalnych najistotniejszą rolę pełnią tzw. składniki elektroaktywne – jonofory lub wymiennicze jonowe, tzn. związki, których cząsteczki posiadają zdolność wiązania oznaczanych jonów. Najczęściej dokonuje się to na zasadzie oddziaływań kulombowskich lub koordynacyjnych. Udział jonoforu jest nieodzowny z uwagi na lipofilowy charakter macierzy polimerowej, który uniemożliwia wnikanie większości jonów do jej wnętrza. Jest to konieczne z uwagi na fakt, iż różnica aktywności wszystkich rodzajów jonów między roztworem badanym a membraną pozbawioną tych jonów nie jest selektywna względem żadnego z nich. Natomiast w momencie umożliwienia dyfuzji wybranego jonu w głąb membrany, różnica jego aktywności między obiema fazami odpowiada za rejestrowany potencjał elektrochemiczny. Tym samym, zakładając, iż aktywność jonów w roztworze wewnętrznym, odpowiedź elektrody zostaje uzależniona od ich aktywności w roztworze badanym [82]. Konstrukcję elektrody zgodną z powyższym opisem przedstawiono na Rys. 4.3. po lewej stronie.



Rys. 4.3. Porównanie konstrukcji elektrod z jonoselektywnymi membranami polimerowymi (rysunki nie zostały przedstawione w skali); po lewej – elektroda konwencjonalna z membraną mocowaną do korpusu za pomocą o-ringa; po prawej – elektroda zminiaturyzowana, wytworzona na podłożu krzemowym

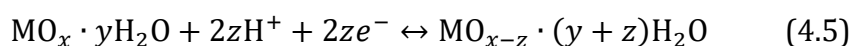
Powyższą zasadę działania elektrod jonoselektywnych (ISE, ang. *ion-selective electrode*) można zrealizować również dla odmiennej architektury, umożliwiającej znaczącą miniaturyzację urządzenia. Jak przedstawiono to na Rys. 4.3., zasadnicza różnica między tymi dwiema topologiami polega na wyeliminowaniu roztworu elektrolitu wewnętrznego. W tym celu konieczne jest zapewnienie innego rodzaju połączenia pozwalającego na zamianę przewodnictwa jonowego (występującego w membranie) na przewodnictwo elektronowe (pozwalającego na wyprowadzenie sygnału elektrycznego z przetwornika). W przeciwnym wypadku obserwowana jest znacząca niestabilność odpowiedzi czujnika [83]. Jest to tzw. warstwa przejściowa elektrody jonoselektywnej. Do najpowszechniejszych rozwiązań należy w tym wypadku zastosowanie pomiędzy elektrodą wewnętrzną a membraną lub dodatek do samej membrany polimerów przewodzących [84]. Inne podejścia wykorzystują w tym celu redoks-aktywne samoorganizujące się monowarstwy [85, 86], pary redoks metali lub nanorurki węglowe [87]. Wreszcie warstwa pośrednia może zostać w pełni wyeliminowana poprzez dodatek kompleksów jonów srebra do membrany [88].

Do wytwarzania membran elektrod pH-czułych stosowane są różnego rodzaju plastyfikowane polimery, z których w literaturze można spotkać najczęściej poli(chlorek

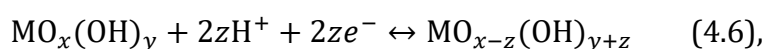
winylu) (PVC) [89]. Jako składnik elektroaktywny z kolei najpowszechniejsza jest tridodecyloamina [87, 89], choć stosowane są również triamidofosforan heksabutyłu czy tetrakis(4-chlorofenylo)boran potasowy [90]. Jako warstwa przejściowa stosowane są najczęściej powłoki z przewodzącego polimeru poli(3,4-etyleno-1,4-dioksytiofenu) (PEDOT) [89, 91–93] lub polianiliny (PANI) [94, 95]. Tym samym zminiaturyzowane ISE stanowią jedno z podejść stwarzających możliwość monitorowania pH w otoczeniu ran [96, 97].

#### 4.1.3. Elektrody tlenkowe

Innym rodzajem przetworników służących do pomiaru pH są elektrody na bazie tlenków metali o właściwościach półprzewodnikowych [98], w skrócie nazywane elektrodami tlenkowymi. Takie właściwości tych materiałów wynikają z ich niestechiometrycznej budowy. Oznacza to, że cząsteczki tych związków nie spełniają prawa Prousta, zwanego inaczej prawem stosunków stałych. Mówi ono o tym, że dany związek chemiczny zawiera tworzące go pierwiastki niezmiennych proporcjach masowych, niezależnie od źródła i metody jego otrzymania [99]. Prawo to jest podstawą współczesnej stechiometrii [100], jednakże wspomniane związki stanowią od niego wyjątek ze względu na defekty (nadmiarowe lub brakujące atomy) występujące w tworzonych przez nie sieciach krystalicznych [101]. Defekty te kompensowane są zwiększeniem lub zmniejszeniem stopnia utlenienia niektórych atomów w materiale. Przykładowo dla tlenku żelaza (II) część atomów Fe przechodzi na trzeci stopień utlenienia, przez co wzór tego związku można zapisać jako  $Fe_{1-x}O$ , gdzie  $x \in <0,054;0,185>$  [102]. Stosunek ten nie jest stały ze względu na fakt, że procesy utleniania i redukcji atomów Fe pozostają w równowadze. W kontakcie z roztworem wodnym cząsteczki tlenków metali ulegają hydratacji (uwodnieniu) [103]:

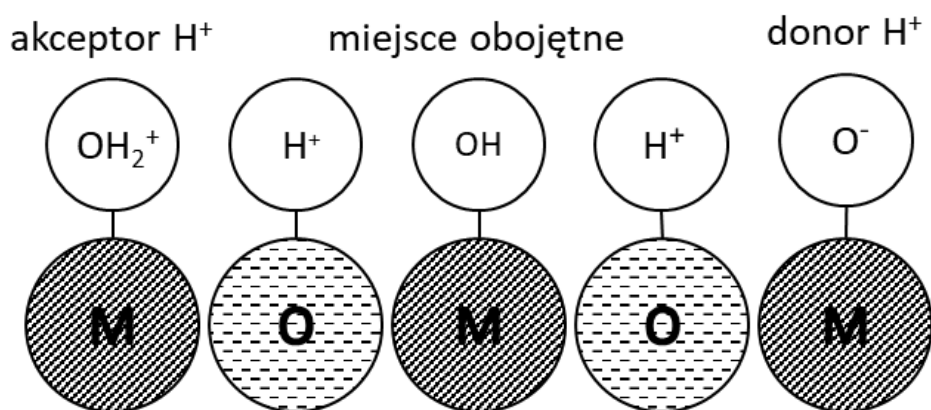
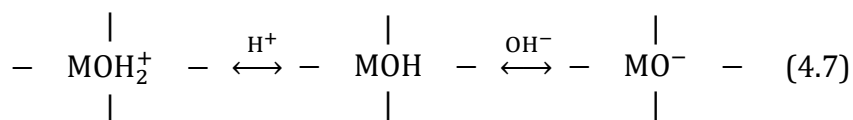


lub w równoważnej, uproszczonej postaci [104, 105]:



gdzie  $MO_x$  i  $MO_{x-z}$  oznaczają odpowiednio tlenek metalu na wyższym i niższym stopniu utlenienia. Uwodnienie następuje poprzez adsorpcję dysocjacyjną (ang. *dissociative adsorption*), tj. wiązanie jonów  $H^+$  oraz  $OH^-$ , powstałych z autodysocjacji cząsteczek wody. Proces ten opisuje model wiązań miejscowych (ang. *site-binding model*), przy czym jony

$\text{OH}^-$  wiążą się jedynie z jonami metalu, natomiast jony  $\text{H}^+$  wiążą się z jonami  $\text{O}^-$  (Rys. 4.4). Zgodnie z powyższymi równaniami (4.5) i (4.6), zależnie od stopnia utlenienia atomu metalu, z którym związany jest jon  $\text{OH}^-$ , może on dążyć do przyłączenia lub uwolnienia dodatkowego protonu [73]. Może to być zobrazowane w strukturze sieci krystalicznej według poniższego równania [106]:

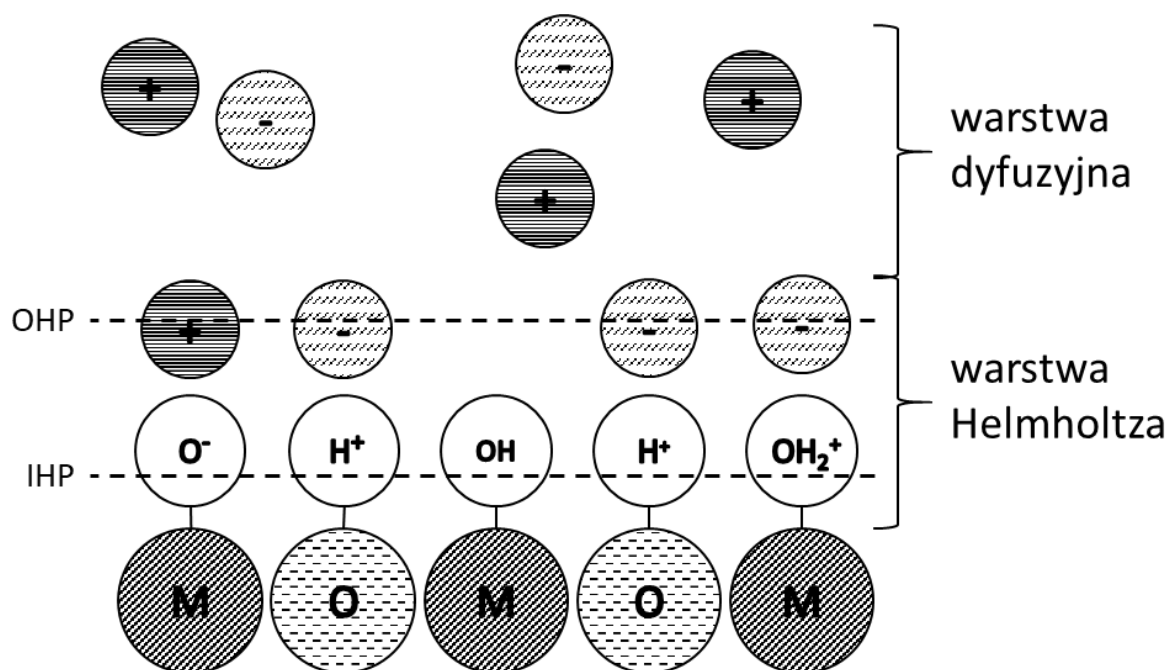


Rys. 4.4. Adsorpcja dysocjacyjna jonów  $\text{OH}^-$  oraz  $\text{H}^+$  na powierzchni tlenku metalu

Tworzenie wiązań jonowych pomiędzy atomami metalu a jonami  $\text{H}^+/\text{OH}^-$  wiąże się jednocześnie z przesunięciem ładunków w tych drugich [98, 107], co z kolei powoduje przyciąganie przeciwjonów z roztworu do odpowiednich miejsc na powierzchni elektrody [108, 109]. W ten sposób powstaje podwójna warstwa elektryczna (Rys. 4.5), składająca się z warstwy Helmholtza oraz warstwy dyfuzyjnej. Warstwa Helmholtza [110] składa się z dwóch płaszczyzn [73, 98]:

- wewnętrznej (IHP, ang. *inner Helmholtz plane*), złożonej z jonów hydratujących, oraz
- zewnętrznej (OHP, ang. *outer Helmholtz plane*), na którą składają się jony związane elektrostatycznie z tymi pierwszymi.

W warstwie dyfuzyjnej natomiast jony mogą poruszać się swobodnie, zgodnie z oddziaływaniami kulombowskimi oraz termicznymi [107, 108].



Rys. 4.5. Schemat podwójnej warstwy elektrycznej powstałej na skutek hydratacji tlenku metalu

Podwójna warstwa elektryczna gromadzi zatem ładunek elektryczny na zasadzie wiązania jonów. Mechanizm ten nazywany jest pseudopojemnością elektrochemiczną (ang. *pseudocapacitance*) [111, 112] ze względu na fakt, iż nie jest on pojemnością *sensu stricto*. Jednocześnie – analogicznie do kondensatora – zjawisko to skutkuje spadkiem potencjału pomiędzy obiema płaszczyznami Helmholtza. Jak wynika z równania (4.7), wypadkowy ładunek zgromadzony w tak rozumianym pseudokondensatorze elektrochemicznym, zależy od punktu równowagi, w jakim znajduje się sieć krystaliczna elektrody, tj. od stosunku występujących w niej różnych stopni utlenienia atomów metalu. Tym samym potencjał granicy fazowej elektroda | roztwór spełnia równanie Nernsta [113]:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}} \quad (4.8),$$

gdzie:  $E^0$  – potencjał standardowy elektrody,  $R$  – stała gazowa,  $T$  – temperatura wyrażona w kelwinach,  $z$  – liczba elektronów biorących udział w reakcji elektrodowej,  $F$  – stała Faradaya,  $\frac{a_{ox}}{a_{red}}$  – stosunek aktywności molowej form utlenionej i zredukowanej tlenku metalu. Tym samym na podstawie równań (4.6) i (4.7), opisujących wymianę jonów  $H^+$  oraz  $OH^-$  w warstwie zawierającej grupy hydroksylowe, powyższe można wyrazić

następująco, przybliżając aktywność molową stężeniami odpowiednich związków [86, 95]:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{MO}_x(\text{OH})_y]}{[\text{MO}_{x-z}(\text{OH})_{y+z}]} + \frac{RT}{F} \ln[\text{H}^+] \quad (4.9)$$

Zakładając natomiast (zgodnie z definicją pomiaru potencjometrycznego [65, 66]) zerowe natężenie prądu płynącego przez ogniwo pomiarowe, można stwierdzić, iż wzajemny stosunek form utlenionej i zredukowanej, tj. argument pierwszego logarytmu w powyższym równaniu, pozostaje stały. Tym samym, podstawiając:

$$\hat{E}^0 = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{MO}_x(\text{OH})_y]}{[\text{MO}_{x-z}(\text{OH})_{y+z}]} = \text{const.} \quad (4.10),$$

otrzymujemy:

$$E = \hat{E}^0 + \frac{RT}{F} \ln[\text{H}^+] \quad (4.11)$$

Z kolei zamieniając logarytm naturalny na dziesiętny:

$$E = \hat{E}^0 + \frac{2,303 RT}{F} \log_{10}[\text{H}^+] \quad (4.12)$$

dla temperatury  $T = 25^\circ\text{C}$ :

$$E = \hat{E}^0 + 59,17 \log_{10}[\text{H}^+] \quad (4.13),$$

co po podstawieniu (4.1) daje ostatecznie równanie Nernsta odpowiedzi potencjometrycznej elektrody tlenkowej na zmiany pH:

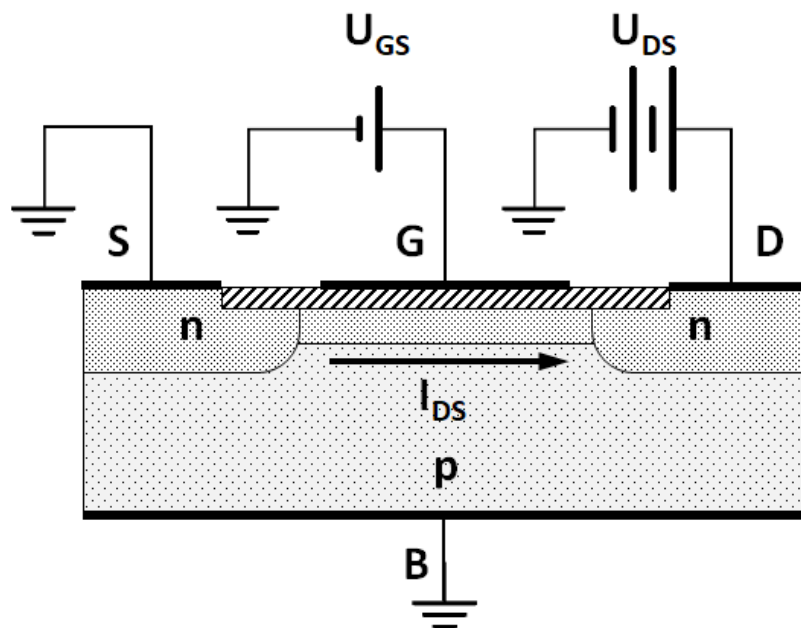
$$E = \hat{E}^0 + -59,17 \text{ pH} \quad (4.14)$$

#### 4.1.4. pH-czułe tranzystory polowe

Pomiar pH z użyciem tranzystorów polowych (FET, ang. *field-effect transistor*) nie stanowi podgrupy metod potencjometrycznych, jednak został uwzględniony w niniejszym rozdziale ze względu na powszechnie użycie. FET to rodzaj tranzystorów wykorzystujący do sterowania natężeniem prądu pole elektryczne wewnątrz materiału półprzewodnikowego. Pierwsze tego rodzaju urządzenie zostało opatentowane w 1926r. przez kanadyjskiego badacza Juliusa E. Lilienfelda [115], którego rozwiązanie zostało następnie udoskonalone przez niemieckiego inżyniera Oskara Heila [116]. W ogólności w tranzystorach FET można wyróżnić trzy obszary (por. rys. 4.6):

- podłoże (B, ang. *body*) – obszar słabo domieszkowanego półprzewodnika typu p lub n,
- źródło (S, ang. *source*) oraz dren (D, ang. *drain*) – silnie domieszkowane obszary półprzewodnika przeciwnego typu niż podłoże,
- bramkę (G, ang. *gate*) – dielektryk (np. tlenek metalu lub półmetal) pokrywający podłoże pomiędzy drenem a źródłem.

Na wszystkie trzy obszary – z jednej strony na podłoże, a z drugiej na źródło, dren oraz bramkę – napyłane są cienkie warstwy przewodnika (metal) Umożliwiają one doprowadzenie odpowiednich napięć między elektrodą B a elektrodami S, D i G.



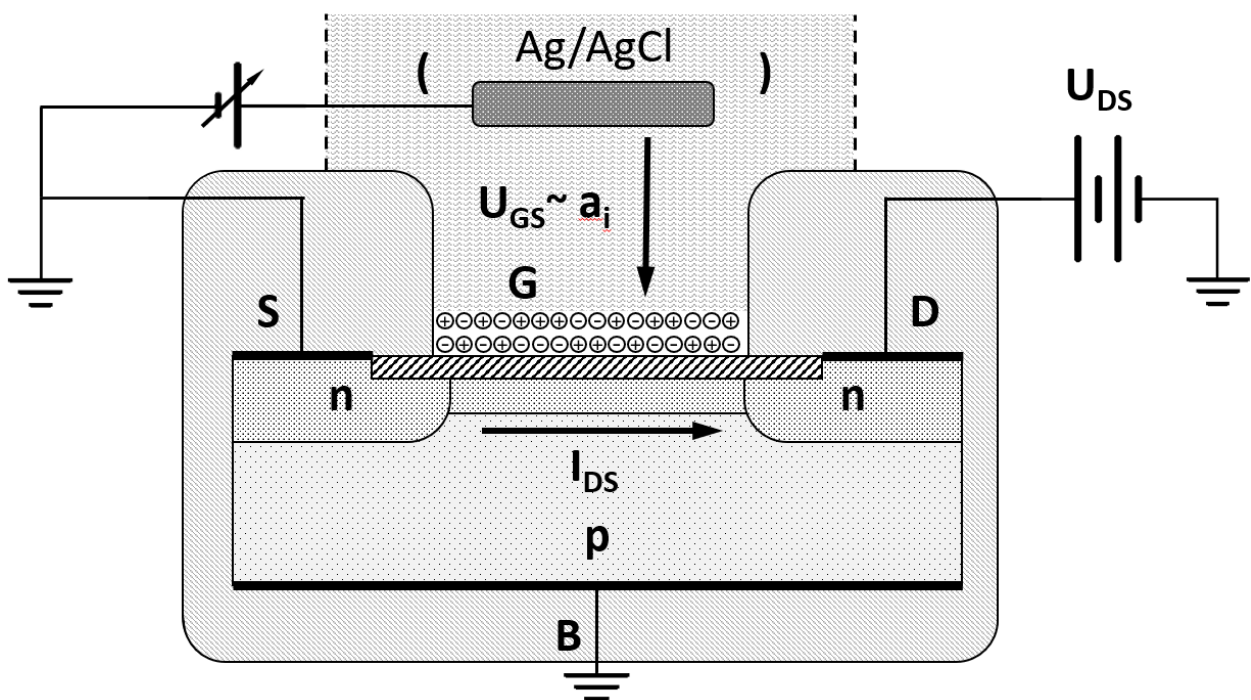
Rys. 4.6. Schemat elektryczny tranzystora FET na przykładzie podłoża o przewodnictwie typu p z otwartym kanałem przewodnictwa

Zależnie od typu przewodnictwa występującego w podłożu napięcie przyłożone między złączem bramki a źródła ( $U_{GS}$ ) powoduje na zasadzie indukcji elektrostatycznej powstawanie (typ n) lub zanikanie (typ p) tzw. obszaru zubożonego. Jest to obszar, w którym występuje ten sam typ przewodnictwa, co w źródle i złączu, tj. przeciwny do podłoża. Obszar ten nazywany jest kanałem, ponieważ umożliwia on przepływ nośników pomiędzy źródłem i drenem ( $I_{DS}$ ). Z racji tego, że szerokość kanału – a tym samym jego rezystancja – kontrolowana jest poprzez oddziaływania kulombowskie, tranzystory FET cechuje bardzo szybka odpowiedź  $I_{DS}$  na zmiany  $U_{GS}$ . Z uwagi na niewielkie znaczenie dla niniejszej pracy mechanizmów tej odpowiedzi w różnych stanach oraz charakterystyk prądowo-napięciowych elementów FET, nie zostaną one tutaj dalej omówione. Istotny



jest jedynie fakt, że przy w pełni otwartym kanale dla powyżej pewnej wartości napięcia dren-źródło ( $U_{DS}$ ) natężenie prądu  $I_{DS}$  nie zależy od  $U_{DS}$ . Prąd płynący przez tranzystor jest więc kontrolowany jedynie napięciem bramki [117].

Zjawisko to posłużyło Pietowi Bergveldowi do opracowania jonoselektywnego tranzystora polowego (ISFET, ang. *ion-selective field-effect transistor*) [118]. W tym rodzaju tranzystora rolę złącza bramki pełni roztwór wodny. Zawarte w nim jony, których aktywność jest mierzona, biorą udział w tworzeniu podwójnej warstwy elektrycznej (patrz rys. 4.5) na skutek uwodnienia materiału izolacji bramki (tlenku metalu). W pierwotnym rozwiązaniu Bergvelda [119] jedynie potencjał tej warstwy, zależny od pH, wpływał na pole elektryczne wewnątrz tranzystora zgodnie z zasadą działania FET opisaną wyżej. Jakkolwiek stabilność tego układu jest wystarczająca do wyznaczenia pH, we współczesnych ISFET napięcie  $U_{GS}$  kontrolowane jest dodatkowo poprzez włączenie do obwodu elektrody Ag/AgCl, która pełni rolę złącza bramki w układzie FET (rys. 4.7).



Rys. 4.7. Schemat działania tranzystora ISFET; jako złącze bramki G występuje podwójna warstwa elektryczna, której potencjał zależy od aktywności oznaczonych jonów  $a_i$  w roztworze, w niektórych rozwiązaniach napięcie bramka-źródło  $U_{GS}$  kontrolowane jest dodatkowo za pomocą elektrody Ag/AgCl.

ISFET jako czujniki pH charakteryzuje czas narastania odpowiedzi znacznie krótszy niż w przypadku pozostałych opisanych w niniejszym rozdziale typów elektrod. W przypadku tych pierwszych podawane są wartości czasu  $t_{95\%} = 5ms$  (dla zmiany pH o

12 jednostek), podczas gdy dla elektrod szklanych czas  $t_{95\%}$  waha się od 0,5s do 20s (dla zmiany pH o 7 jednostek). Kolejną zaletą czujników ISFET jest możliwość ich wytwarzania przy użyciu wysokowydajnej technologii CMOS [120, 121]. Jednocześnie ich znaczącą wadą jest duża podatność na zakłócenia wywołane falami elektromagnetycznymi [122]. W praktyce uniemożliwia to więc stosowanie tego typu sensorów w zminiaturyzowanych urządzeniach do monitorowania pH, jakie są przedmiotem niniejszej pracy.

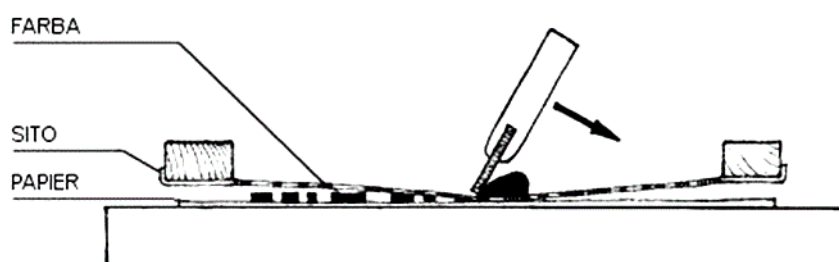
#### **4.2. Wybór metody pomiarowej oraz technologii wytwarzania czujników**

Spośród wymienionych we wcześniejszej części niniejszego rozdziału metod pomiaru pH jedynie elektrody z membraną polimerową oraz elektrody tlenkowe uznano za możliwe do zastosowania w projektowanych czujnikach. Istotny przy wyborze techniki pomiarowej jest jednorazowy charakter docelowego urządzenia, które powinno być zintegrowane z opatrunkiem. Ten z kolei może być w procesie leczenia wymieniany wielokrotnie, co stanowi poważne ograniczenie kosztów produkcji czujników. Przy porównaniu pod tym względem elektrody z membraną polimerową oraz elektrody tlenkowe, te drugie zdają się mieć przewagę wynikającą z mniej skomplikowanej architektury. W wytwarzaniu elektrod z membraną konieczne jest bowiem zastosowanie trzech warstw samego przetwornika (membrany, warstwy przejściowej oraz wyprowadzenia elektrycznego), podczas gdy elektrody tlenkowe wymagają jedynie dwóch warstw. Oprócz potencjalnego zmniejszenia kosztów związanych z użytymi substratami, umożliwia to również ograniczenie liczby kroków procesu technologicznego, co także przekłada się istotnie na koszt końcowego produktu. Dodatkowym argumentem przemawiającym na niekorzyść elektrod z membraną jest ryzyko jej oderwania od reszty przetwornika na skutek odkształcenia. Wreszcie membrany jonoselektywne wymagają dla stabilnej pracy kondycjonowania przed użyciem, co stanowi kolejną komplikację w procesie wytwarzania oraz przechowywania. Wziąwszy pod uwagę powyższe rozwiązania, zdecydowano zatem wykorzystać elektrody tlenkowe.

Spośród wymienianych w literaturze metod uzyskiwania warstw tlenków metali o właściwościach pH-metrycznych najczęstsze są techniki cienko- i grubowarstwowe. Do pierwszej grupy należą naporowywanie próżniowe oraz powlekanie elektrochemiczne [123]. Z kolei najpowszechniejszą z technik grubowarstwowych jest sitodruk [123, 124]. Uwzględniając specyfikę zastosowania materiału opatrunkowego jako podłoża dla

działania czujników wydaje się niemożliwe zastosowanie technik cienkowarstwowych, wymagających wysokiej czystości oraz dokładnego przygotowania powierzchni. Z tego względu do wytwarzania elektrod projektowanych czujników wybrano druk sitowy.

Podstawą tej techniki jest zastosowanie pasty drukarskiej, przeciskanej przez formę poligraficzną w postaci siatki o drobnych otworach, z których część jest zamaskowana, tworząc negatyw drukowanego wzoru [125] (Rys. 4.8). Pasta wykorzystywana w sitodruku składa się z dwóch zasadniczych faz: nośnika oraz wypełniacza.



Rys. 4.8. Schemat techniki sitodruku [125]

Nośnik pasty jest roztworem polimeru, który po odparowaniu rozpuszczalnika stanowi osnowę kompozytu, stabilizującą w nadrukowanej warstwie cząstki wypełniacza. Rodzaj zastosowanego polimeru oraz jego stężenie wpływają na właściwości mechaniczne nadruku. Z kolei właściwości rozpuszczalnika odpowiadają za parametry procesów technologicznych takich jak utwardzanie naniesionej na podłoże warstwy czy konieczność czyszczenia sita.

Wypełniacz jest fazą funkcjonalną pasty, odpowiedzialną za dodatkowe właściwości wytwarzanego kompozytu. Dzięki zastosowaniu materiałów przewodzących, półprzewodnikowych lub dielektrycznych powszechne jest stosowanie techniki sitodruku w wytwarzaniu układów elektronicznych [126]. Do nadawanych kompozytom cech należy nie tylko przewodność elektryczna [127], ale również przezroczystość dla światła widzialnego [128] czy elektroluminescencja [129]. Jak wspomniano wyżej, sitodruk służy również do wytwarzania warstw zawierających tlenki metali o właściwościach pH-metrycznych [130–132].

Najprostszą odmianą sitodruku jest sitodruk płaski, w którym na podłoże znajdujące się na stoliku opuszczane jest sito. Następnie rakiel przesuwany jest z odpowiednim naciskiem po nieruchomym sicie, co prowadzi do przecięnięcia pasty

przez niezamaskowane otwory siatki. Z racji prostoty tej odmiany oraz możliwości wykorzystania płaskich podłoży, została ona zastosowana w dalszej części niniejszej pracy.

Ponadto druk sitowy należy do technik wysokowydajnych, pozwalających na wytwarzanie serii wielkoformatowych [126]. Pozwoli to zminimalizować koszty wytwarzania czujników i tym samym koszt jednostkowy końcowego urządzenia. Odpowiada to wspomnianemu wyżej jednorazowemu charakterowi docelowego rozwiązania.

## 5. Cel pracy

W rozdziale 3 niniejszej pracy przedstawiono problem ran trudno gojących się i niegojących się. Jak wynika z badań przeprowadzonych przez liczne grupy badawcze w zakresie leczenia ran, jednym z kluczowych czynników dla przebiegu tego procesu oraz ważnym wyznacznikiem jego postępu jest pH. Jednocześnie w przytoczonych badaniach [79–81] główną metodą pomiaru pH była elektroda szklana. Nowsze rozwiązania natomiast bazują wciąż na pobieraniu próbki do badania [133], co stwarza ryzyko ekspozycji rany na zakażenie. Celem postawionym w niniejszej pracy było wobec tego opracowanie technologii wytwarzania czujników pH dostosowanych do pomiarów bezpośrednio w otoczeniu rany. Dzięki temu możliwe będzie udostępnienie pracownikom ochrony zdrowia nowego narzędzia w postępowaniu leczniczym w przypadkach ran przewlekłych. Może przyczynić się to do zwiększenia skuteczności terapii, a co za tym idzie – do zmniejszenia poważnych konsekwencji zdrowotnych i życiowych, jakie ponoszą w związku z tym chorzy.

Czujniki, aby spełnić wymogi nieinwazyjności pomiaru, rozumianej jako brak konieczności odsłaniania ran w celu ich kontroli, muszą być zintegrowane z opatrunkiem. Wiąże się to z jednorazowym charakterem sensorów, ponieważ ponowne używanie czujników z kolejnymi opatrunkami stwarzałoby ryzyko przenoszenia patogenów pomiędzy kolejnymi użyciami. Oprócz tego, ze względu na ich połączenie z opatrunkiem, sensory powinny być elastyczne i odporne na wielokrotne odkształcenia, które będą związane z użytkowaniem materiału.

Poza parametrami związanymi z dostosowaniem czujników do warunków działania, niezbędne jest też osiągnięcie odpowiednich parametrów ich odpowiedzi pH-metrycznej. Z punktu widzenia diagnostyki oraz wdrażania leczenia najistotniejszymi spośród tych parametrów są liniowość odpowiedzi oraz jej powtarzalność. Tę pierwszą można w łatwy sposób ocenić przy użyciu kryterium takiego jak np. współczynnik determinacji ( $R^2$ ) czy współczynnik korelacji Pearsona ( $\rho$ ), których wartości nie powinny być niższe niż 99%. Ocena powtarzalności sygnału jest natomiast bardziej subiektywna, gdyż nie ma wystarczających danych literaturowych, pozwalających wyznaczyć graniczną rozdzielczość monitorowania pH ran, powyżej której pomiar nie posiada wartości diagnostycznej. Na podstawie jednak przytoczonych wcześniej wyników badań nad

zależnością poziomu pH od stadium procesu gojenia się rany można sformułować następujący wniosek:

Poziom pH pomiędzy zasadniczymi fazami gojenia się rany (zapalną, rozrostu i przebudowy) różni się znacząco, przyjmując dla fazy pierwszej wartości z przedziału 4,5 – 6,7, dla fazy drugiej: 7 – 8,7, a w fazie trzeciej dążąc do wartości ok. 4 – 5,5.

Dzięki temu można stwierdzić, że przejście z jednej fazy do drugiej wiąże się ze skokiem pH o przynajmniej 0,3 dekady (przejście z fazy zapalnej do rozrostu). Wartość tę przyjęto zatem jako graniczną wartość niepewności pomiarowej dla końcowego rozwiązania.

Ostatnim kryterium jest czułość opracowanych elektrod, która, zgodnie z równaniem (4.14), powinna wynosić  $-59,17\text{mV}$  na jednostkę pH. Przyjęto zatem tę wartość jako docelową. Z punktu widzenia monitorowania stanu ran jednak, nachylenie to nie jest niezbędne, aby móc na podstawie pomiaru wnioskować o pH. Istotna jest natomiast niepewność wyznaczenia tej zależności, która ma przełożenie na niepewność całego pomiaru.

Opisane wyżej wymagania stawiane czujnikom pH można zatem podsumować następująco:

1. Możliwość integracji czujnika z materiałem opatrunkowym;
2. Stabilność odpowiedzi pH-metrycznej po poddaniu czujnika odkształceniom mechanicznym oraz innym zidentyfikowanym czynnikom zkłócającym;
3. Liniowość odpowiedzi:  $R^2, \rho \geq 99\%$  ;
4. Niepewność pomiarowa  $\Delta pH \leq 0,3$  ;
5. Nachylenie krzywej zależności SEM czujnika od pH:  $S \rightarrow -59,17\text{mV}/\text{pH}$

Z uwagi na fakt, iż ogniwo pomiarowe czujnika potencjometrycznego składa się z dwóch elektrod – wskaźnikowej oraz odniesienia – opisany wyżej cel badań zakłada opracowanie obu elektrod. Uzyskanie jednak stabilnej i powtarzalnej, liniowej odpowiedzi elektrody wskaźnikowej jest zadaniem znacznie bardziej wymagającym niż uzyskanie stałego potencjału elektrody odniesienia. Z tej racji w przeważającej części niniejszej rozprawy skupiono się na badaniach nad kompozytami pH-czułymi, a dopiero

po osiągnięciu zadowalających parametrów dla elektrod wskaźnikowych podjęto prace nad elektrodami odniesienia.

W opracowaniu technologii wytwarzania elektrod czujników konieczne są:

1. Określenie warunków brzegowych dla składu pasty, w ramach których może ona być użyta do druku (ograniczenia reologiczne);
2. Przeprowadzenie badań odpowiedzi potencjometrycznej elektrod wytworzonych z użyciem pasty na zmiany pH w celu określenia zależności tej odpowiedzi od składu pasty oraz wytypowanie takiej kompozycji, która pozwoli na wytworzenie czujników spełniających powyższe kryteria;
3. Zbadanie wpływu czynników zakłócających na działanie elektrod oraz modyfikacja składu pasty lub innych elementów procesu technologicznego w celu eliminacji zakłóceń;
4. Weryfikacja możliwości wytwarzania na materiałach opatrunkowych warstw pH-czułych z użyciem opracowanej pasty i ewentualne dostosowanie jej składu;
5. Sprawdzenie przydatności czujników w zakładanym zastosowaniu poprzez wykonanie serii pomiarów w próbce symulującej skład wysięku z rany lub w próbce rzeczywistego płynu.

Zadania 1-3 zdecydowano się przeprowadzić dla elektrod wskaźnikowych drukowanych na foliach polimerowych oraz typowej topologii spotykanej w literaturze dotyczącej czujników potencjometrycznych. Miało to na celu wyeliminowanie nieznanego wpływu interakcji elektroda-opatrunek oraz roztwór-opatrunek. Zadania 4 i 5 stanowią zatem częściowe odtworzenie poprzednich etapów jednak z uwzględnieniem nowego czynnika, czyli integracji elektrod z materiałem tekstylnym.

Istotnym elementem powyższych kroków było zbadanie oraz wyjaśnienie mechanizmu zależności odpowiedzi czujników od składu past wykorzystanych do ich wytworzenia. W tym celu posłużono się teorią perkolacji, stosowaną w modelowaniu przewodności kompozytów drukowanych, którą odniesiono do zmian wskazań czujników. Dzięki temu ujęciu możliwe było również wyjaśnienie wpływu działania promieniowania ultrafioletowego na właściwości pH-metryczne wytworzonych elektrod. W doborze rodzaju cząstek węglowych jako drugiego rodzaju materiału fazy

funkcjonalnej dostępne dane literaturowe okazały się niewystarczające. Z tego powodu opracowano nowy model zależności odpowiedzi potencjometrycznej elektrod od geometrii cząstek. Pozwolił on dobrać

W kontekście przydatności opracowanych czujników istotna jest również metoda odczytu ich wskazań. W celu jej weryfikacji zaprojektowany został układ komunikacji bezprzewodowej podłączany do opracowanych czujników. Za jego pomocą wykonano serie pomiarów pH i porównano je z pomiarami kontrolnymi. Komplementarnym elementem do elektronicznego układu komunikacji była aplikacja zainstalowana na telefonie komórkowym, która pozwalała na odczyt wskazań czujników. Dalsze prace w zakresie udoskonalenia systemu odczytu bezprzewodowego mają charakter *stricte* wdrożeniowy i z tego powodu nie zostały przedstawione w niniejszej pracy.

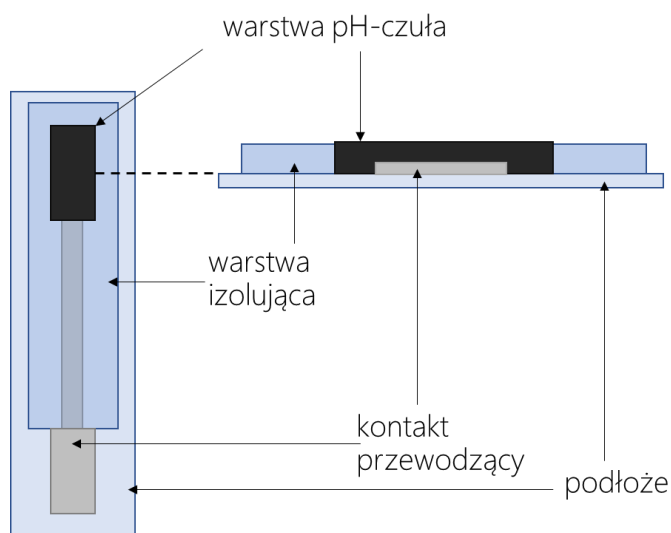


## 6. Badania właściwości drukowanych elektrod tlenkowych

Jak określono w poprzednim rozdziale, zagadnieniem, które należało rozwiązać, było znalezienie składu pasty drukarskiej, który pozwoliłby z jednej strony na wytwarzanie elektrod wybraną metodą druku, a z drugiej – gwarantowałby odpowiednie właściwości odpowiedzi tych elektrod. Z tego powodu zdecydowano się z użyciem przygotowanej serii past wytwarzać elektrody planarne, których topologia odpowiada powszechnym rozwiązaniom spotykanym w literaturze przedmiotowej. Niniejszy rozdział opisuje zarówno technologię przygotowania past drukarskich, wytwarzania elektrod wskaźnikowych, oraz badania ich odpowiedzi pH-metrycznej.

### 6.1. Technologia wytwarzania drukowanych elektrod tlenkowych

Elektrody tlenkowe do pomiarów potencjometrycznych pH wytwarzane były na foliach polimerowych z użyciem techniki sitodruku. W pierwszej kolejności drukowane były kontakty przewodzące, zapewniające połączenie elektryczne z warstwami elektrod. Następnie wytwarzana była warstwa elektrodowa, stanowiąca zasadniczy przetwornik potencjometryczny. Na koniec na obie warstwy nakładany był materiał izolujący. Powyższe ilustruje schemat pokazany na Rys. 6.1.

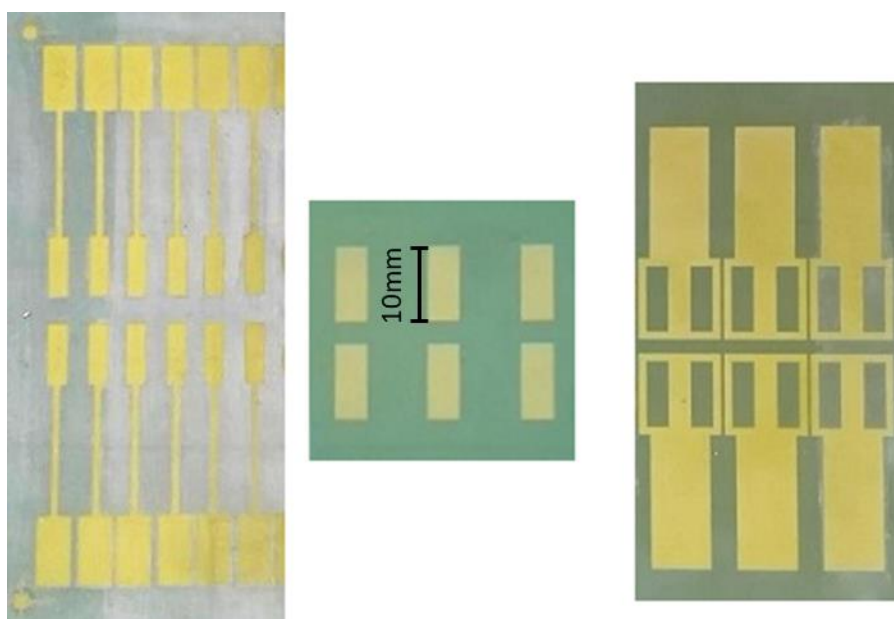


Rys. 6.1. Topologia drukowanej elektrody tlenkowej do potencjometrycznego pomiaru pH: z lewej - widok z góry, z prawej - przekrój

Jako podłoże w pierwszej serii wytwarzanych elektrod stosowano folię z poli(tereftalanu etylenu) (PET) o grubości 100 $\mu$ m. Folia została zakupiona pod nazwą handlową Melinex 453 od firmy TEKRA (USA). Zdecydowano się wykorzystać ten materiał ze względu na dobrą adhezję past drukarskich, odporność na temperatury

utwardzania, obojętny charakter chemiczny oraz elastyczność. Dzięki wymienionym właściwościom możliwe było wykonanie badań odpowiedzi wytwarzanych elektrod zarówno w seriach kalibracyjnych jak również w późniejszych etapach prac – w trakcie badania wpływu odkształceń na czułość przetworników. Ze względu na odporność na temperatury do 190°C oraz wyjściową dobrą adhezję do stosowanych past, materiał podłoża nie wymagał dodatkowego przygotowania przed dalszymi etapami wytwarzania elektrod.

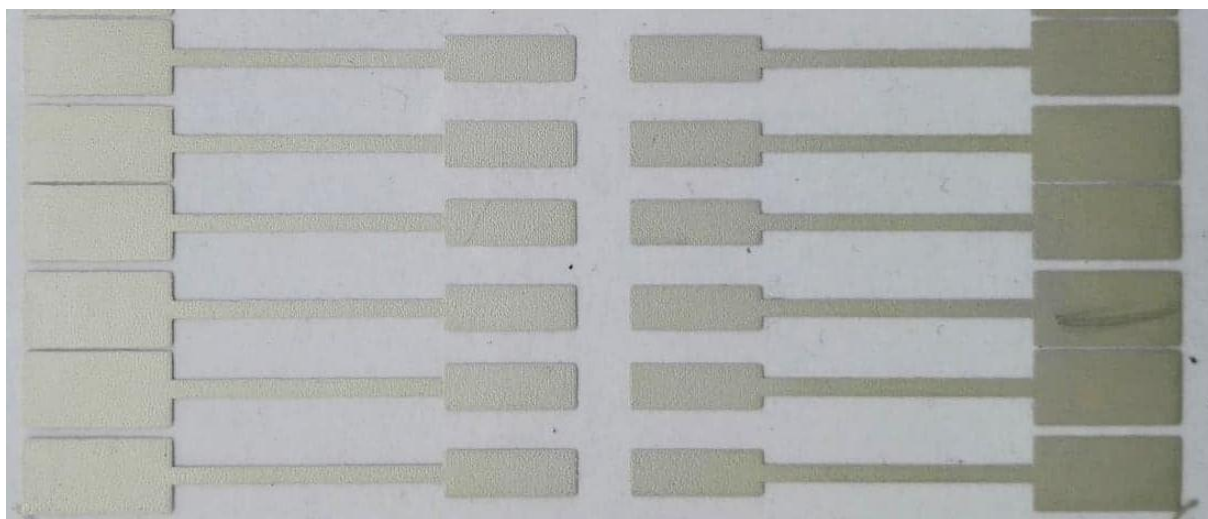
Do druku wszystkich warstw wykorzystano sitodrukarkę półautomatyczną MSP-485 firmy AMI-Presco (USA). Podłoża umieszczane były na stoliku próżniowym zapewniającym unieruchomienie folii podczas drukowania. Sita drukarskie do nakładania wszystkich warstw wykonane zostały z siatki poliestrowej o gęstości 77T (77 włókien na jeden cal kwadratowy). Wzór masek naniesionych na sita użyte do druku ilustruje Rys. 6.2. Sita wykonywane były przez firmę Maroka S.C. (Warszawa).



Rys. 6.2. Zdjęcia gotowych sit; od lewej: wzór kontaktów srebrnych, wzór warstw elektrodowych, wzór warstwy izolacyjnej

Jako pierwsza, drukowana była warstwa przewodząca, której celem było wyprowadzenie sygnału potencjometrycznego z właściwej elektrody do aparatury pomiarowej. Do druku kontaktów zastosowano pastę na bazie roztworu poli(metakrylanu metylu) (PMMA) oraz mikropłatków srebrnych o średnicy ok. 3 $\mu$ m. Po nadrukowaniu, warstwa była utwardzana termicznie poprzez suszenie w temperaturze 120°C przez 20 min. Gotową serię podłoży z kontaktami elektrycznymi, na które nanoszona była warstwa materiału elektrod przedstawiono na Rys. 6.3.

Następnie na tak przygotowane kontakty srebrowe nanoszona była warstwa elektrodowa z pasty zawierającej tlenek rutenu(IV) ( $\text{RuO}_2$ ). Materiał ten należy do grupy tlenków metali o właściwościach półprzewodnikowych, wykazujących również interakcję z jonami wodorowymi, co pozwala na pomiar potencjometryczny pH (patrz rozdz. 4.1.4) [73, 98]. Do wytwarzania pasty zawierającej  $\text{RuO}_2$  wykorzystywany był nanoproszek tego materiału o powierzchni właściwej  $45\text{-}65\text{m}^2/\text{g}$ , zakupiony od firmy Alfa Aesar (Niemcy) oraz nośnik z PMMA. Nośnik pasty opracowano w ramach wcześniejszych badań [127]. Został on przygotowany według następującej procedury: Granulat PMMA (śr. masa cząsteczkowa  $M = 350\,000$ , zakupiony od firmy Sigma-Aldrich (Niemcy)) dodano do octanu 2-(2-butoksyetoksy)etylu (nazwa zwyczaj. octan karbitolu butylowego, OKB) w proporcjach wagowych 8% PMMA, 92% OKB. Roztwór mieszany był mieszadłem magnetycznym przez 48h w temperaturze  $60^\circ\text{C}$ .



Rys. 6.3. Kontakty przewodzące wydrukowane z użyciem pasty PMMA/Ag

Następnie w celu otrzymania pasty z fazą funkcjonalną w postaci dwutlenku rutenu przeprowadzono następujące kroki:

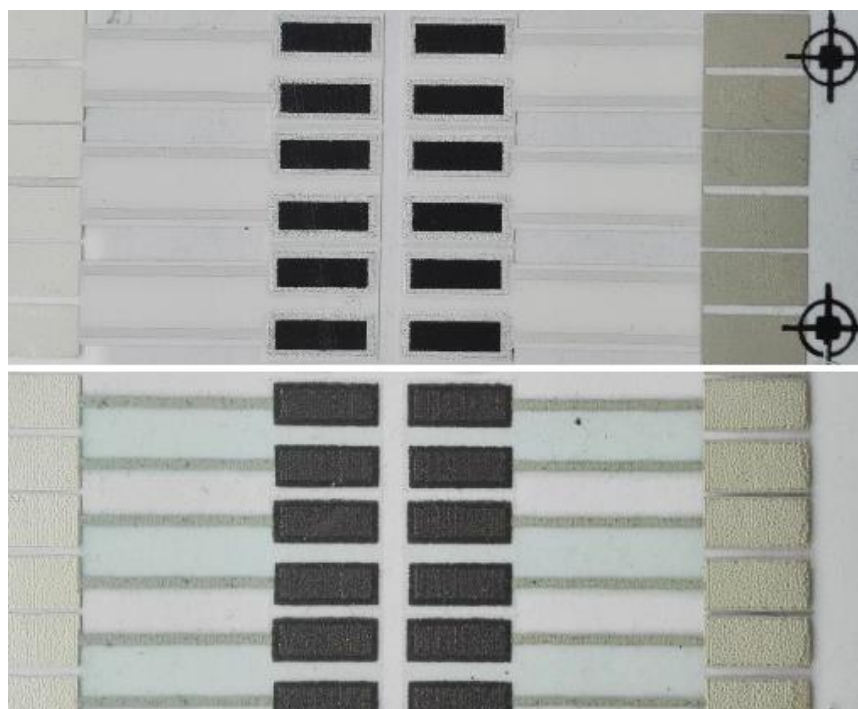
1. Do nośnika dodano nanoproszek  $\text{RuO}_2$  w ilości odpowiadającej 10% wag. całej mieszaniny.
2. Składniki pasty mieszane były w młynku agatowym przez 10 min. w celu wstępnego ujednoczenia.
3. Pastę dwukrotnie przewalcowano w trójwalcarce z wałkami z węgla krzemowego i szczeliny  $5\mu\text{m}$  w celu rozbicia aglomeratów oraz lepszego zwilżenia proszku.

Procedurę powtarzano, każdorazowo dodając kolejne 10% wag. RuO<sub>2</sub>, aż do osiągnięcia reologii uniemożliwiającej druk sitowy, tzn. współczynnik lepkości  $\mu > 100\text{Pa}\cdot\text{s}$  przy szybkości ścinania  $\dot{\gamma} = 25\text{s}^{-1}$  [133, 134]. Miało to na celu umożliwienie wytworzenia spójnej warstwy RuO<sub>2</sub>, która stanowi źródło sygnału potencjometrycznego nadrukowanego kompozytu. Najwyższy udział dwutlenku rutenu w przygotowanej według powyższej procedury paście wynosił 40% wag. Pastę tę naniesiono na przygotowane wcześniej podłoża z kontaktami przewodzącymi i suszono w temperaturze 120°C przez 20 min.

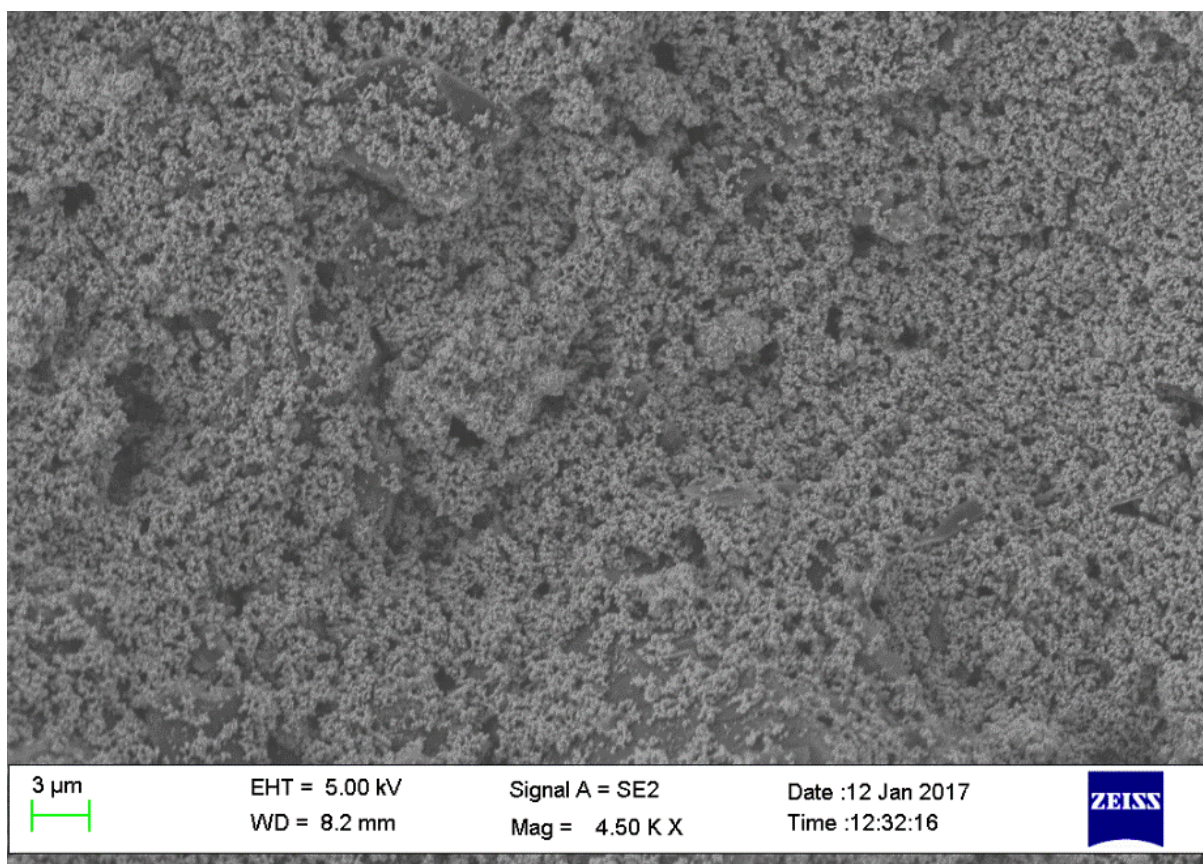
Ostatnim etapem wytwarzania elektrod pH-metrycznych było zabezpieczenie połączeń elektrycznych przed kontaktem z roztworami badanymi. W przeciwnym wypadku niezabezpieczone warstwy przewodzące byłyby źródłem niepożądanego sygnału potencjometrycznego, wprowadzając błąd pomiaru. Jako izolację zastosowano dwa rodzaje komercyjnych past dielektrycznych, zakupionych od firmy DuPont (USA):

- 5018G – pasta utwardzalna termicznie, po naniesieniu suszona była w temperaturze 130°C przez 10min.
- 8155 – pasta utwardzalna za pomocą promieniowania ultrafioletowego, suszona była w tunelu UV model AKTIPRINT mini (Technigraf, Niemcy): jedno przejście przy mocy 120W/cm<sup>2</sup> i prędkości pasa transmisyjnego 4,5m/s. Dla powyższych parametrów dawka promieniowania UV wynosiła:  $D = 700\text{mJ}/\text{cm}^2$ .

Gotowe elektrody przedstawiono na Rys. 6.4, natomiast powierzchnię wytworzonego kompozytu w skaningowej mikroskopii elektronowej przedstawia Rys. 6.5.

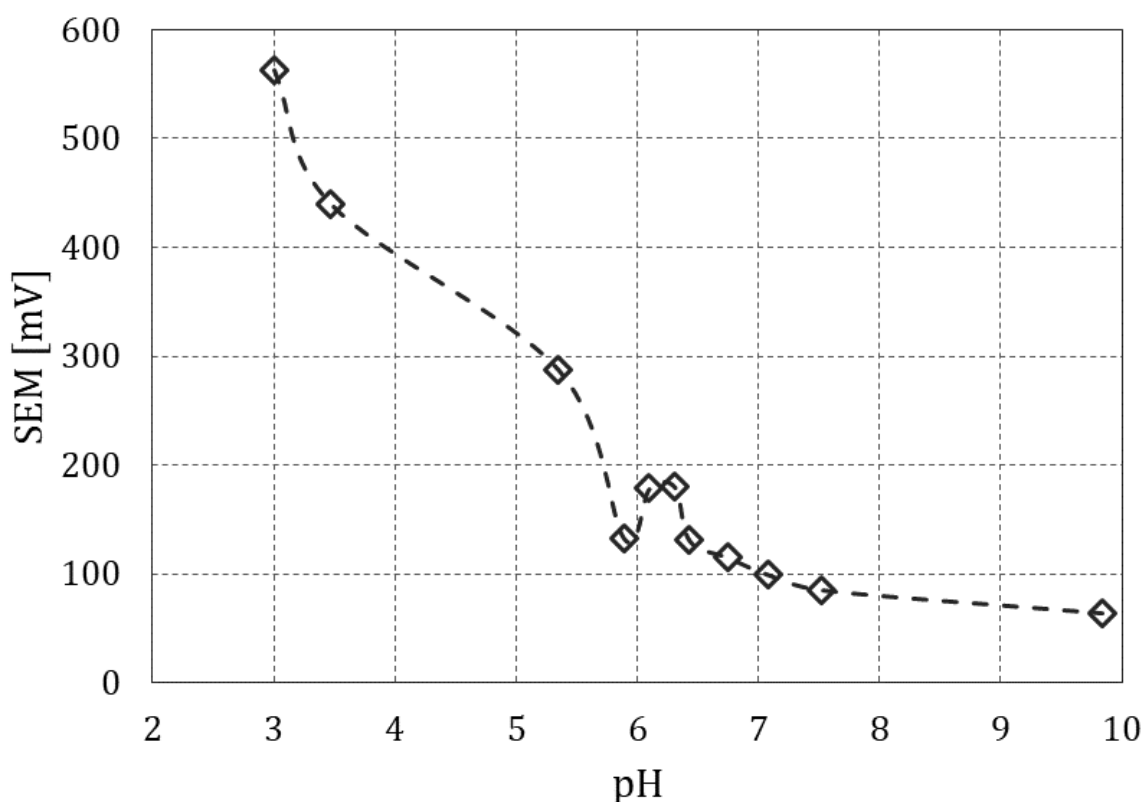


Rys. 6.4. Gotowe elektrody pH-metryczne na bazie kompozytu PMMA/RuO<sub>2</sub>; na górze – elektrody z warstwą izolacyjną utwardzaną termicznie (5018G), na dole: elektrody z warstwą izolacyjną utwardzaną UV (8155)



Rys. 6.5. Obraz skaningowej mikroskopii elektronowej powierzchni elektrody z kompozytu RG-4 bezpośrednio po wytworzeniu

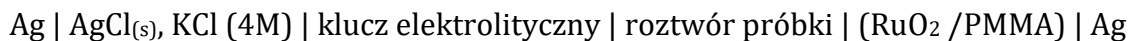
Elektrody, wytworzone w procesie technologicznym opisanym w rozdz. 6.1, były następnie badane pod kątem odpowiedzi potencjometrycznej na zmienny poziom pH roztworu. Miało to na celu wstępną weryfikację zaprojektowanego rozwiązania – zarówno ze względu na parametry pracy przetworników jak również na ich funkcjonalność. Parametry pracy takie jak liniowość odpowiedzi oraz nachylenie krzywej potencjometrycznej mogą świadczyć o poprawnym wytworzeniu elektrody lub o ewentualnych nieprawidłowościach. Przykładowo, zbyt wysoki opór elektryczny między kontaktem a warstwą elektrodową może prowadzić do silnych zakłóceń sygnału. Z kolei niewłaściwe wykonanie warstwy izolującej, powodującej wystawienie ścieżek przewodzących na kontakt z roztworem, prowadzi od uśrednienia potencjału z elektrody oraz z warstwy srebrowej. W efekcie obserwowana jest nieliniowa zmienność sygnału (Rys. 6.6).



Rys. 6.4. Przykład odpowiedzi potencjometrycznej w przypadku kontaktu roztworu z warstwą przewodzącą przetwornika

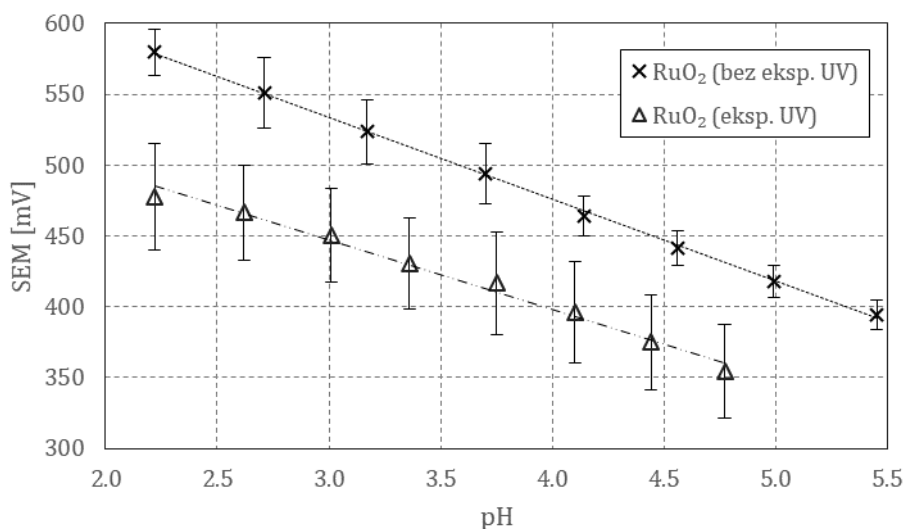
W pomiarach potencjometrycznych wykorzystano wielokanałowy miliwoltomierz EMF-16 firmy Lawson Labs Inc. (USA), udostępniony przez Katedrę Biotechnologii Medycznej Wydziału Chemicznego PW. W pomiarach jako elektrodę referencyjną stosowano elektrodę z drutem srebrowym pokrytą warstwą chlorku srebra,

zanurzonym w 4-molowym roztworze chlorku potasu. Jako klucz elektrolityczny wykorzystywano 1M roztwór KCl. Mierzona była zatem siła elektromotoryczna (SEM) następującego ogniwa galwanicznego:



Równoległe pH roztworów rejestrowane było przy użyciu pH-metru CP-505 firmy Elmetron (Polska) z elektrodą szklaną, kalibrowanego czteropunktowo. W ten sposób określono zależność potencjałów drukowanych elektrod tlenkowych, mierzonych względem elektrody chlorosrebrowej, od pH roztworu badanego.

W pomiarach wykorzystywano roztwory buforowe kwasu cytrynowego o stężeniu 50 mM. W celu stopniowego zwiększania pH próbek, dodawano do nich pod kontrolą pH-metru nasycony roztwór wodorotlenku sodu. Zmierzone wartości SEM rejestrowane były do momentu przekroczenia pojemności buforowej roztworu. Wyniki pomiarów przedstawione zostały na Rys. 6.7.



Rys. 6.5. Zmierzone wartości SEM ogniw składających się z elektrody chlorosrebrowej oraz z drukowanych elektrod zawierających RuO<sub>2</sub> - odpowiednio dla izolacji termoutwardzalnej i utwardzanej promieniowaniem ultrafioletowym; w jednej serii badano 4 przetworniki, wokół punktów zaznaczono wartości  $\pm 1\sigma$ .

Zgodnie z przewidywaniami, wartość mierzonej SEM wykazywała cechy zależności liniowej od wartości pH. Jako miarę czułości wykonanych przetworników przyjęto zatem współczynnik nachylenia prostej regresji liniowej. Wyznaczone parametry regresji zebrano w Tabeli 6.1.

Tab. 6.1. Współczynniki regresji liniowej dla pomiarów SEM drukowanych elektrod tlenkowych;  $S_R$  - współczynnik kierunkowy prostej (czułość),  $E_{OR}$  - punkt przecięcia z osią rzędnych (potencjał standardowy elektrody PMMA/RuO<sub>2</sub>),  $R^2$  - współczynnik determinacji; wartości współczynników oraz niepewności oszacowano dla poziomu istotności  $\alpha = 0,02$  [136].

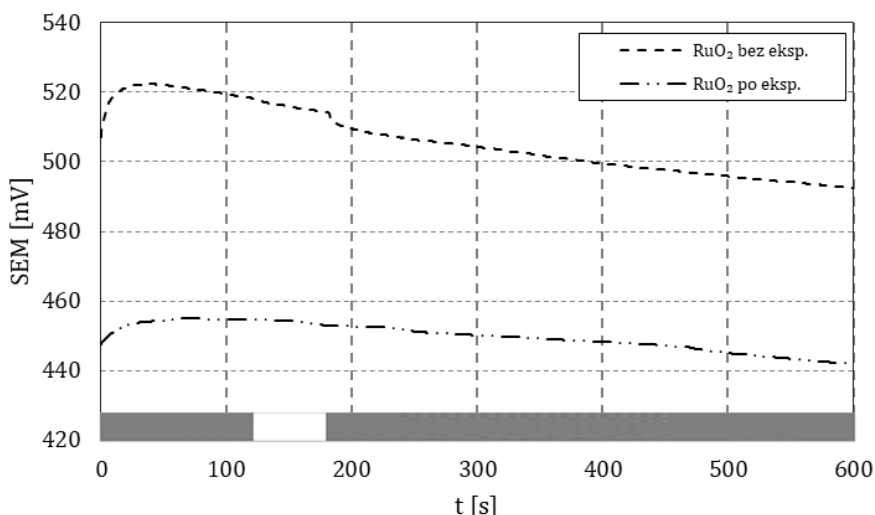
	<b>bez ekspozycji UV</b>	<b>po ekspozycji UV</b>
$S_R$ [mV/pH]	$-57,9 \pm 2,2$	$-48,8 \pm 6,8$
$E_{OR}$ [mV]	$707,4 \pm 2,3$	$593,4 \pm 65,5$
$R^2$	99,92%	98,83%

Jak wynika z powyższych danych, między seriami przetworników wytwarzanych w procesach różniących się stopniem ekspozycji na promieniowanie UV występują istotne różnice. Najważniejsza z nich dotyczy nachylenia prostej aproksymującej odpowiedź potencjometryczną, co wskazuje na inną aktywność powierzchni elektrod względem jonów, opisaną w rozdz. 4.1. Oprócz tego elektrody poddane działaniu ultrafioletu wykazały znacznie większe wartości niepewności dla współczynników regresji oraz o ponad 1% niższy współczynnik determinacji. Można zatem stwierdzić, że promieniowanie UV zmienia zdolność do wiązania jonów obecnych w próbce. Oprócz tego w badanych warstwach wpływ ten ma charakter niedeterministyczny, na co wskazuje znaczące zwiększenie rozproszenia otrzymanych wyników. Fakt zmiany aktywności cząsteczek RuO<sub>2</sub> względem jonów można wytłumaczyć w odniesieniu do półprzewodnikowych właściwości tego materiału. W badaniach prowadzonych przez Ko i in. [137] cząsteczki RuO<sub>2</sub> wykazywały większą absorbancję dla światła o długości fali poniżej 450nm. Fotony z tego zakresu mogą powodować przeniesienie elektronów w paśmie walencyjnym do wyższych, metastabilnych stanów [137], co przekłada się na zmianę szerokości przerwy energetycznej w materiale. Tym samym zmianie ulega również energia wiązań jonów do powierzchni RuO<sub>2</sub> i potencjał podwójnej warstwy elektrycznej. Obserwowany wzrost rozrzutu parametrów pracy przetworników można wytłumaczyć statystycznym charakterem oddziaływania fotonów z cząsteczkami tlenku rutenu oraz ich niejednorodnym rozmieszczeniem w kompozycie. Podobny wpływ obserwowany był również dla elektrod wytwarzanych z innych rodzajów materiałów półprzewodnikowych [138–140].



## 6.2. Badanie wpływu promieniowania ultrafioletowego na odpowiedź elektrod

W celu dokładnego zbadania charakteru zmian w pracy przetworników postanowiono przeprowadzić ciągły pomiar SEM ogniów przy zmiennym oświetleniu ultrafioletem. Elektrody umieszczano w zlewce z roztworem o stałym pH a następnie pod osłoną nieprzepuszczającą promieni ultrafioletowych. SEM ogniów była rejestrowana przez 600s. Po 120s osłona była zdejmowana, wystawiając elektrody na promieniowanie UV. W tym celu wykorzystano lampę FC-100/D UV-A (365nm) (Spectronics Inc., USA). Po 60s ekspozycji osłona była ponownie nakładana. Z racji niedeterministycznego wpływu promieniowania UV wyniki pomiarów nie były uśredniane, co prowadziło do odfiltrowania badanych zakłóceń z zarejestrowanych sygnałów. Przebiegi zmian SEM dla najbardziej reprezentatywnych przypadków obu typów elektrod zostały przedstawione na Rys. 6.8.



Rys. 6.6. Porównanie sygnałów SEM zarejestrowanych dla dwóch elektrod tlenkowych: bez wcześniejszego naświetlania ultrafioletem (linia kreskowana) oraz po naświetleniu (linia kropkowana), przy zmiennej ekspozycji UV, zaznaczonej wzdłuż osi czasu: obszar zacieniony – brak ekspozycji, obszar niezacieniony – elektrody wystawione na promieniowanie UV

Jak widać, potencjał elektrody tlenkowej niepoddanej wcześniej naświetleniu, spadł skokowo bezpośrednio po ponownym zasłonięciu układu pomiarowego przed promieniowaniem. Dla elektrody z warstwą izolacyjną fotoutwardzalną obserwowany skok potencjału był wyraźnie mniejszy oraz występował dopiero po ok. 300s od ponownego nałożenia osłony. W przypadku obu rodzajów elektrod czas narastania odpowiedzi potencjometrycznej wynosił 40,2s oraz 72,2s, odpowiednio dla elektrod bez i po wcześniejszej ekspozycji na promieniowanie UV. Są to wartości kilkakrotnie przekraczające typowy czas odpowiedzi wymieniany w literaturze [141–143]. Jednakże dla planowanego zastosowania tak długi czas narastania sygnału nie został uznany za

uniemożliwiający monitorowanie wolnozmiennych wartości pH ran. Jednocześnie po tym czasie obserwowany był znaczący dryft potencjału, odpowiednio -191,1mV/h oraz -88,7mV/h dla elektrod bez i po wcześniejszej ekspozycji. Są to wartości zdecydowanie przekraczające przyjmowane w literaturze wartości graniczne [144], pozwalające uznać odpowiedź za możliwą do stosowania w czujnikach pH.

Ze względu na uzyskaną wcześniej zgodną z przewidywaniami teoretycznymi czułość elektrod na bazie RuO<sub>2</sub>, postanowiono przeprowadzić dalsze badania. Miały one na celu wyeliminowanie zakłócającego wpływu promieniowania UV na odpowiedź przetworników oraz dryftu tej odpowiedzi przy zachowaniu parametrów czułości i liniowości. Jako rozwiązanie zaproponowane zostało wykorzystanie innego rodzaju materiałów fazy funkcjonalnej o potwierdzonych w literaturze właściwościach pH-metrycznych. Z racji przewidywanego podobnego charakteru oddziaływania światła ultrafioletowego na inne półprzewodnikowe tlenki metali, zdecydowano się wykorzystać jako składnik fazy funkcjonalnej cząstki węglowe.

## 7. Badania past do wytwarzania drukowanych elektrod tlenkowo-węglowych

Spośród materiałów węglowych, właściwości pH-metryczne opisywane są w literaturze dla nanorurek węglowych [145–147] oraz grafenu [148–150]. Tworzenie się na powierzchni cząstek tych materiałów podwójnej warstwy elektrycznej (zob. rozdz. 4.1.4) możliwe jest dzięki obecnym tam grupom funkcyjnym, głównie hydroksylowym. Są one pozostałością wynikającą z procesów chemicznych otrzymywania tych cząstek [151] i w zastosowaniach materiałów węglowych jako faza stricte przewodząca traktowane są jako zanieczyszczenie [152]. Jednocześnie, grupy te pełnią funkcje donorów lub akceptorów jonów wodorowych z roztworu, analogicznie do zasady tworzenia podwójnej warstwy elektrycznej na powierzchni elektrod tlenkowych (patrz rozdz. 4.1). Oprócz tego, na potencjał warstwy mają wpływ właściwości półprzewodnikowe materiałów. Zarówno w przypadku CNT jak i grafenu opisywane jest balistyczne lub quasi-balistyczne przewodnictwo elektronowe [153–156], związane z wysoką ruchliwością ładunków w tych materiałach. Ruchliwość ta może ulegać zmianie na skutek wiązania jonów do cząstek węglowych, które może być traktowane analogicznie do domieszkowania półprzewodników [147, 156]. Tym samym potencjał zgromadzony w podwójnej warstwie elektrycznej oraz przewodnictwo elektryczne w materiale węglowym będą dążyły do stanu równowagi, która może różnić się od przewidywań teoretycznych, wynikających z zależności opisanej w równaniu Nernsta (4.14). Biorąc powyższe pod uwagę, przeprowadzono eksperymenty mające na celu ustalenie charakteru odpowiedzi pH-metrycznej elektrod kompozytowych zawierających jako fazę funkcjonalną MWCNT (Chep Tubes Inc., USA) oraz nanopłatkę grafenową (GNP, XG Sciences Inc. USA) o grubości 19nm oraz średnicy 10 $\mu$ m. Jako próbę kontrolną, przygotowano również elektrody na bazie cząstek grafitu, co do którego brak doniesień literaturowych o właściwościach pH-metrycznych.

W przygotowaniu past do sitodruku wykorzystywany był nośnik w postaci 8% wag. roztworu PMMA w OKB, opisany w rozdz. 6.1. Do nośnika dodawane były cząstki trzech rodzajów materiałów węglowych: nanorurek, nanopłatek grafenowych oraz grafitu. W celu rozbicia aglomeratów, GNP przed dodaniem do nośnika poddawane były przez 20 minut sonikacji w acetonie, przy czym po 10min. w proporcji 2% wag. dodawany był do zawiesiny środek powierzchniowo czynny, zapobiegający ponownemu

aglomerowaniu płatków (Malialim AKM-0531, firmy NOF Corp. (Japonia)). W przypadku CNT oraz grafitu do usunięcia aglomeratów wystarczające jest zastosowanie trójwalcarki. Cząstki wszystkich rodzajów wypełniaczy dodawane były w maksymalnych ilościach pozwalających na naniesienie ciągłych warstw kompozytu metodą sitodruku (patrz rozdz. 6.1). Składy przygotowanych past przedstawiono w Tabeli 7.1. Po dodaniu, nośnik z wypełniaczem był wstępnie mieszany w moździerzu agatowym przez 5 min., a następnie dwukrotnie ucierany z użyciem trójwalcarki o rolkach z węgla krzemu oraz szczelinie 5µm. Pozostałe etapy procesu technologicznego wytwarzania elektrod były identyczne z opisanymi w rozdz. 6.1.

Tab. 7.1. Składy past na bazie materiałów węglowych użytych do druku elektrod pH-metrycznych

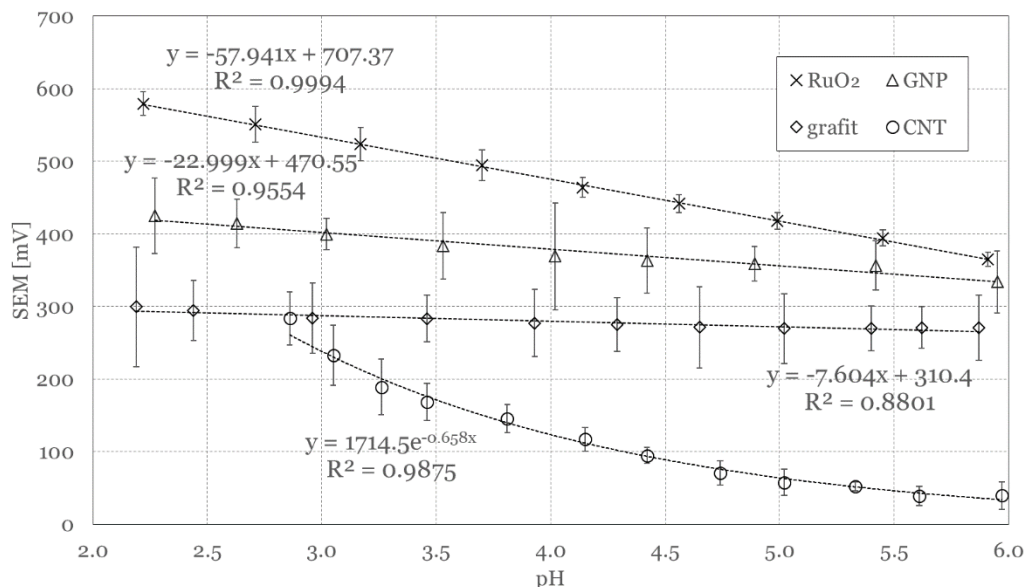
materiał wypełniacza	zawartość w paście [% wag.]	
	wypełniacz	PMMA
GNP	12,5	7,0
CNT	5,4	7,6
Grafit	8,1	7,4

### 7.1. Badanie odpowiedzi pH-metrycznej drukowanych elektrod na bazie nanomateriałów węglowych

Przetworniki wytworzone z użyciem past na bazie CNT, GNP oraz grafitu wykorzystane zostały jako elektrody wskaźnikowe w ogniwach o następującej konstrukcji:



gdzie (C/PMMA) oznacza warstwę kompozytową składającą się z osnowy PMMA oraz cząstek danego rodzaju materiału węglowego. Następnie, analogicznie do procedury opisanej w rozdz. 6.2., do roztworu buforowego kwasu cytrynowego dodawany był stopniowo nasycony roztwór NaOH i rejestrowana była SEM ogniwa pomiarowego. Wyniki pomiarów dla trzech serii elektrod węglowych, zestawionych z wynikami uzyskanymi dla elektrod zawierających RuO<sub>2</sub>, ilustruje Rys. 7.1.



Rys. 7.1. Zależność SEM od pH roztworu dla ogniw składających się z elektrody chlorosrebrowej (elektroda odniesienia) oraz elektrod wskaźnikowych na bazie RuO<sub>2</sub>, nanorurek węglowych (CNT), nanopłatków grafenowych (GNP) oraz grafitu.

Tab. 7.2. Funkcje zależności SEM ogniw od pH roztworu, dopasowane do wyników pomiarów dla elektrod na bazie materiałów węglowych: nanorurek węglowych (CNT), nanopłatków grafenowych (GNP) oraz grafitu. Współczynniki regresji liniowej oraz wykładniczej (dla elektrody na bazie CNT) oszacowano na poziomie istotności  $\alpha = 0,02$ .

materiał	zależność SEM (pH) [mV]	R <sup>2</sup>
CNT	$1714,5 \cdot e^{-0,658 \cdot \text{pH}}$	98,8%
GNP	$-23,0 \cdot \text{pH} + 470,6$	95,5%
grafit	$-7,6 \cdot \text{pH} + 310,4$	88,0%

Przybliżenia zależności SEM ogniw pomiarowych od pH roztworów zebrano w Tabeli 7.2. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi zarówno elektrody na bazie nanorurek węglowych jak i nanopłatków grafenowych wykazały zmienność potencjału w zależności od poziomu pH. Również zgodnie z przewidywaniami, potencjał elektrod grafitowych wykazywał niemal stałą wartość w badanym zakresie. Z kolei potencjał elektrod CNT najlepiej aproksymowała zależność wykładnicza [158], która jednak dla wartości z przedziału odpowiadającego projektowanemu zastosowaniu zmienność sygnału również osiągała niskie wartości. Jedynie elektrody zawierająca nanopłatki grafenowe charakteryzowała się zależnością liniową potencjału od pH. Jednakże

oszacowane nachylenie prostej regresji, przyjęte jako miara czułości, było znacząco niższe od wartości otrzymanej dla elektrody tlenkowej. Z tego powodu postanowiono wytworzyć elektrody wskaźnikowe przy użyciu past zawierających GNP o różnej geometrii.

## **7.2. Badanie wpływu wymiarów nanopłatków grafenowych na odpowiedź pH-metryczną elektrod**

Nanopłatki grafenowe to określenie grupy materiałów węglowych o właściwościach zbliżonych do grafenu, a składających się z niewielkiej liczby warstw atomów. Inne nazwy dla tych materiałów, występujące w literaturze to nanoarkusze grafenowe (ang. *graphene nanosheets*) [159], grafen kilkuwarstwowy (ang. *few-layers graphene*) [160] lub wielowarstwowy (ang. *multilayer graphene*) [161]. Grafen, będący materiałem, którego cząstki składają się z pojedynczej warstwy atomów węgla [154, 155], wykazuje unikatowe właściwości mechaniczne [162] oraz przewodnictwa cieplnego [163] i elektrycznego [164]. Z punktu widzenia projektowanego rozwiązania, najistotniejsze są te ostatnie, które w pewnym stopniu charakteryzują również nanopłatki grafenowe.

Elektrony w cząstkach grafenu podlegają tzw. transportowi balistycznemu, to znaczy przemieszczają się pod wpływem przyłożonego pola elektrycznego bez interakcji z siecią atomową [155]. Rozpraszanie zachodzi w tym wypadku jedynie na defektach i naładowanych elektrycznie zanieczyszczeniach w materiale oraz na skutek odbicia wewnętrznego od fononów sieci atomowej [165]. To ostatnie zjawisko może być również wytłumaczone na podstawie pracy wyjścia, która stanowi barierę energetyczną, uniemożliwiającą elektronom opuszczenie cząstki. Efekt odbicia wewnętrznego elektronów, według modelu zaproponowanego przez X.Y. Fanga i współprac. [160], zachodzi jedynie w tzw. powierzchniowych kanałach przewodnictwa (ang. *surface channels*). Są to obszary, w których elektrony z orbitali  $p$  tworzą wiązania  $\pi$ . Elektrony w tych wiązaniach z kolei mogą poruszać się swobodnie, tworząc dwuwymiarowy gaz elektronowy. Zgodnie z tym modelem, dla pojedynczej warstwy atomów istnieją dokładnie dwa takie kanały, pokrywające się z dwiema powierzchniami dwuwymiarowej cząstki grafenu. Tym samym rezystywność w płaszczyźnie cząstki grafenu staje się niemal pomijalna [166], co odpowiada efektowi nadprzewodnictwa. Podobny efekt został również zaobserwowany dla tzw. grafenu dwuwarstwowego (ang. *bilayer graphene*)

[167]. Pozostaje to w zgodzie z przytoczonym modelem kanałów przewodnictwa, przy czym dla dwóch warstw atomów konieczne jest uwzględnienie kanału przewodnictwa międzywarstwowego (ang. *interlayer channel*). Wewnątrz tego kanału ruch elektronów odpowiada ruchom termicznym cząsteczek gazu idealnego, skutkując mniejszą przewodnością w tym kanale. Jeśli zatem przewodność kanału powierzchniowego wynosi  $\sigma_{SLG}$ , a kanału międzywarstwowego  $\sigma_{IC}$ , to przewodność grafenu dwuwarstwowego wynosi:

$$\sigma_{BLG} = \frac{2\sigma_{SLG} + \sigma_{IC}}{2} \quad (7.1)$$

Natomiast dla uogólnionego przypadku  $n$ -warstwowej struktury atomów węgla, w której występują zawsze dokładnie dwa kanały powierzchniowe oraz  $n-1$  kanałów międzywarstwowych, przewodność można wyrazić równaniem:

$$\sigma_n = \frac{2}{n}\sigma_{SLG} + \frac{n-1}{n}\sigma_{IC} \quad (7.2)$$

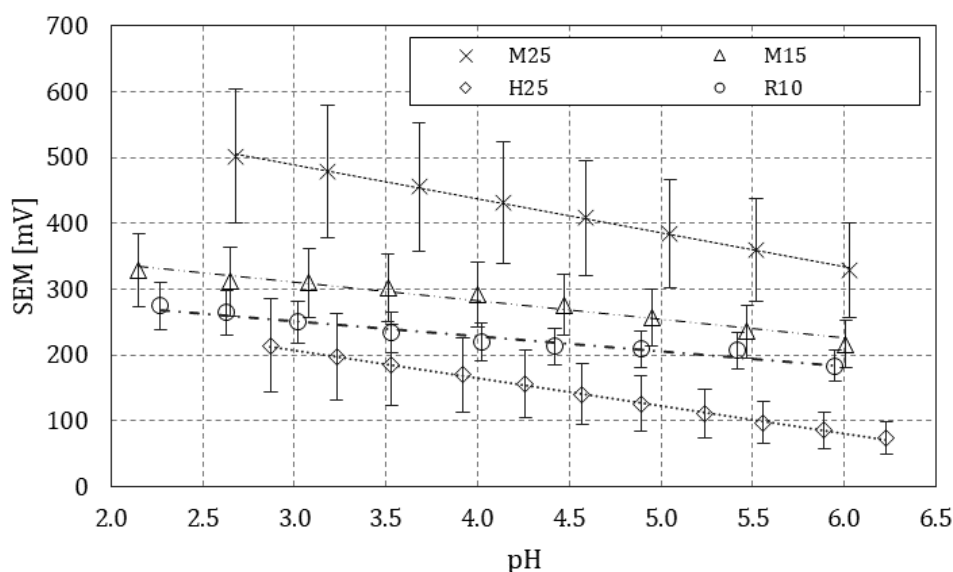
Tak więc przewodność elektryczna cząstek wielowarstwowych spada wraz ze wzrostem liczby warstw. Według symulacji numerycznych w pracy Fanga i in. [160], spadek ten jest najszybszy dla cząstek o grubości do 4,4nm (co odpowiada 13 warstwom atomów). Następnie dla cząstek do 55nm (165 warstw) spadek jest znacznie wolniejszy (ok. 1%/nm), stanowiąc obszar przejściowy do wartości obserwowanych dla cząstek grafitu (grubość powyżej 160 $\mu$ m) [168]. Pokrywa się to z danymi doświadczalnymi uzyskanymi wcześniej przez grupę prof. Bolanda [169].

Jednocześnie, mimo dużego zainteresowania środowiska naukowego zarówno grafenem jedno-, dwu- i wielowarstwowym [147, 158, 159, 169], rozbieżności w nazewnictwie materiałów węglowych o wysokim współczynniku kształtu (tj. stosunku średnicy do grubości) są znaczące – zarówno wśród komercyjnie dostępnych materiałów [171–174], jak i w publikacjach naukowych. W tych ostatnich spotykane są nazwy grafenu wielowarstwowego [160, 174, 175] lub kilkuwarstwowego [177–179]. Oprócz tego stosowane są też terminy nanopłatki [180–182] czy nanoarkusze grafenowe [183–185], przy czym między wymienionymi grupami nie występują podziały ani ze względu na wymiary ani też inne właściwości. W literaturze zarówno dla cząstek o grubości poniżej 5nm [177, 180, 184, 185] jak i tych przekraczających 30nm [178, 179, 182, 186] stosowane są wszystkie wymienione wyżej terminy. W dalszej części niniejszej pracy, dla zachowania klarowności, zdecydowano arbitralnie o stosowaniu jedynie nazwy

„nanopłatki grafenowe” (GNP). Jednocześnie postanowiono przeprowadzić badania wpływu wymiarów cząstek węglowych na odpowiedź drukowanych elektrod.

W celu przeprowadzenia badań przygotowano pasty drukarskie, zawierające GNP o grubości 6, 15 oraz 19nm, zakupione od firmy XG Sciences Inc. (USA). Grubościom płatków odpowiadają symbole handlowe producenta, czyli kolejno: M, H i R. Oprócz tego, dla najcieńszych nanopłatków zastosowano dwie serie nanopłatków – o średnicy 15 i 25 $\mu$ m. Zdecydowano się na użycie GNP pochodzących jedynie z jednego źródła, aby zminimalizować wpływ różnic w metodzie wytwarzania. Zakupione nanopłatki wytwarzane były metodą bezpośredniej eksfoliacji z grafitu. Pasty przygotowano według procedury opisanej w rozdz. 7.2., tj. do nośnika (8% wag. PMMA w OKB) dodawano GNP do osiągnięcia maksymalnej zawartości pozwalającej na nanoszenie pasty sitodrukiem. Po nadrukowaniu na kontaktach srebrowych, warstwy elektrod suszone były przez 20min. w 120°C. Jako izolację zastosowano termoutwardzalną pastę DuPont 5018G. Elektrody z naniesioną warstwą izolującą suszone były przez 20min. w 130°C. Elektrody następnie stosowane były w ogniwach pomiarowych, analogicznych do opisanych w rozdz. 6.2. i 7.1. Jako roztwór badany stosowano 50mM roztwór buforowy kwasu cytrynowego, do którego dodawano nasycony roztwór NaOH w celu zwiększania pH. Poziom pH rejestrowany był równoległe pH-metrem z elektrodą szklaną. Wyniki pomiarów SEM ogniw zawierających elektrody wskaźnikowe na bazie GNP przedstawione są na Rys. 7.2.



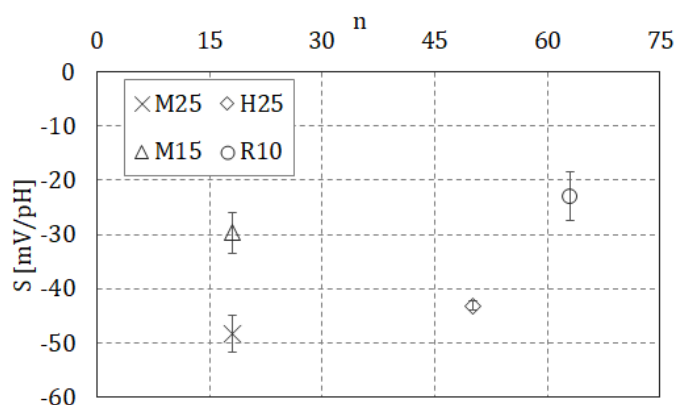


Rys. 7.2. Wartości SEM zarejestrowane dla ogniw pomiarowych zawierających elektrody wytwarzane z użyciem past drukarskich na bazie GNP o różnych wymiarach; M25 – grubość 6nm, średnica 25 $\mu$ m, M15 – grubość 6nm, średnica 15 $\mu$ m, H25 – grubość 15nm, średnica 25 $\mu$ m, R10 – grubość 19nm, średnica 10 $\mu$ m

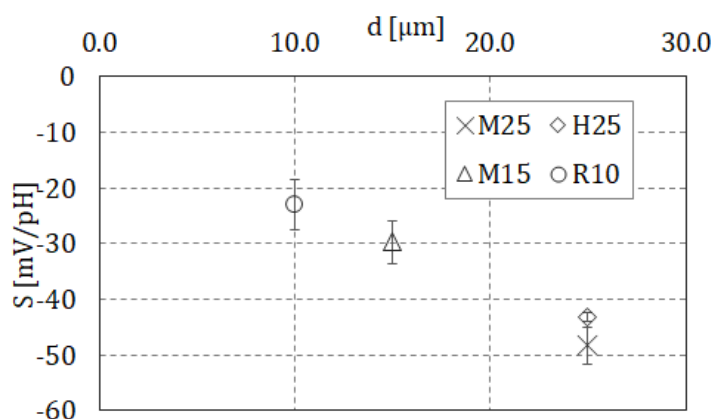
Wszystkie badane elektrody wykazywały liniową odpowiedź na zmiany pH roztworu, co potwierdzają współczynniki determinacji zawarte w Tabeli 7.2. obok współczynników nachylenia dopasowanych funkcji liniowych. Zebrane dane ilustrują również wykresy na Rys. 7.3-4., gdzie przedstawiono oszacowane wartości czułości w odniesieniu do liczby warstw atomów węgla w GNP, średniej średnicy cząstek oraz współczynnika kształtu (stosunku najmniejszego i największego wymiaru cząstki).

Tab. 7.2. Zależności SEM ogniw od pH roztworu (czułość,  $S$ ), dopasowane do wyników pomiarów dla elektrod na bazie GNP o różnej liczbie warstw atomów węgla ( $n$ ), średnicy ( $d$ ) oraz powierzchni właściwej ( $A_{wt.}$ ); wartości nachylenia prostej zależności SEM od pH oraz współczynników determinacji zostały oszacowane dla poziomu istotności  $\alpha = 0,05$ .

oznaczenie	$n$	$d$ [ $\mu$ m]	$A_{wt.}$ [ $m^2/g$ ]	$S$ [mV/pH]	$R^2$
M25	19	25	140	$-48,31 \pm 3,33$	99,29%
M15	19	15	130	$-29,68 \pm 3,81$	97,59%
H25	50	25	65	$-43,13 \pm 0,83$	99,94%
R10	63	10	45	$-23,00 \pm 4,44$	95,54%



Rys. 7.3. Oszacowane wartości czułości elektrod pH-metrycznych na bazie GNP w odniesieniu do liczby warstw atomów węgla w cząstkach nanopłatków



Rys. 7.4. Oszacowane wartości czułości elektrod pH-metrycznych na bazie GNP w odniesieniu do średnicy nanopłatków

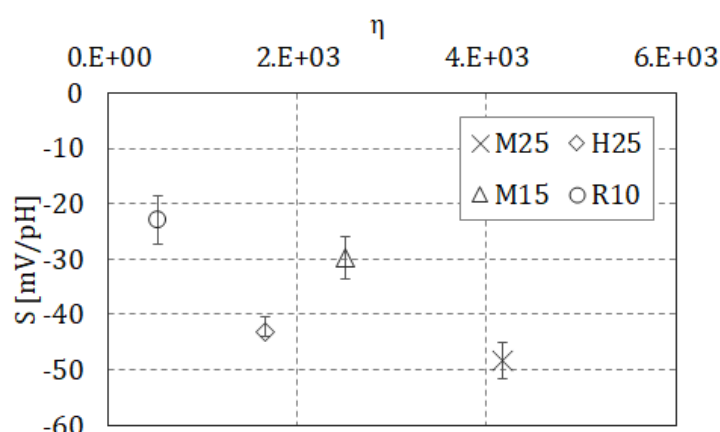
Na podstawie przedstawionych wyżej danych można wywnioskować, że czułość przetworników w największym stopniu zależy od średnicy nanopłatków grafenowych. Największe wartości czułości osiągnięto bowiem dla GNP o największej średnicy. Może to zostać wytłumaczone na podstawie opisanego wcześniej mechanizmu ustalania potencjału elektrochemicznego na powierzchni materiałów węglowych. Zachodząca wówczas interakcja z jonami obecnymi w roztworze ma miejsce na powierzchni czołowej nanopłatków grafenowych. Dzieje się tak z uwagi na fakt, iż to tam, w trakcie procesu eksfoliacji dołączane są grupy funkcyjne. Na powierzchni brzegowej natomiast, grup tych jest znacznie mniej. Przyjmując zatem uproszczony model, w którym każdy nanoplatek grafenowy będzie traktowany jako bardzo cienki walec o średnicy  $d$  i wysokości  $t$  (odpowiadającej grubości pojedynczego płatka), można sformułować następującą hipotezę dotyczącą mikrostruktury powierzchni wytwarzanych elektrod:

Przy stałej grubości nanopłatków  $t$  oraz identycznym udziale masowym GNP w warstwie elektrody, większa średnica pojedynczej cząstki  $d$  przekłada się na większą powierzchnię GNP eksponowaną na kontakt z roztworem próbki. Wynika to z faktu, iż w przypadku płatków o większej  $d$  stosunek powierzchni czołowej pojedynczego nanopłatka do jego powierzchni bocznej będzie większy, gdyż:

$$A_{czołowa} = \frac{\pi d^2}{4} \quad (7.3), \text{ oraz}$$

$$A_{boczna} = \pi dt \quad (7.4).$$

Dlatego postanowiono wprowadzić, stosowany powszechnie w literaturze dotyczącej drukowanych kompozytów węglowych [187, 188], współczynnik kształtu  $\eta$ , będący miarą wzajemnego stosunku tych dwóch powierzchni. Współczynnik kształtu zdefiniowano następująco:



Rys. 7.5. Czulość elektrod na bazie GNP w zależności od współczynnika kształtu  $\eta$  (stosunku grubości do średnicy) zastosowanych nanopłatków grafenowych

$$\eta = \frac{d}{t} \quad (7.5)$$

Ponieważ, jak wynika z Rys. 7.5, nie znaleziono zależności czulości elektrod od współczynnika kształtu GNP, postanowiono zastosować drugą opisywaną w literaturze miarę związaną z geometrią cząstek wypełniacza, mianowicie powierzchnię właściwą materiału,  $A_{wł.}$ . W pracy Malmströma i zespołu [190] dla cząstek o równoległościennym kształcie została ona dana wzorem:

$$A_{wł.} = \frac{2\lambda \cdot (ab+ac+bc)}{abc \cdot \rho} \quad (7.6),$$

gdzie:

$\lambda$  – współczynnik chropowatości powierzchni

$a, b, c$  – długości boków równoległoscianu

$\rho$  – gęstość materiału.

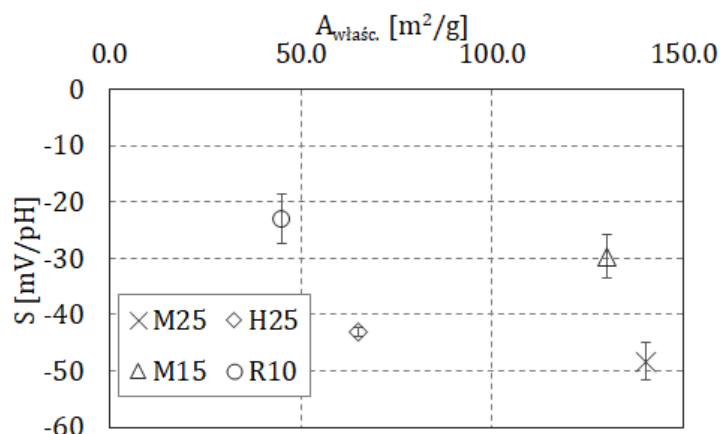
Można zatem uogólnić ten wzór, zastępując wyrazy związane z wymiarami cząstek do następującej postaci:

$$A_{wł.} = \frac{2\lambda \cdot A_{cząstki}}{V_{cząstki} \cdot \rho} \quad (7.7),$$

co w przypadku GNP o grubości  $t$  i średnicy  $d$  można przedstawić jako:

$$A_{wł.} = \frac{2\lambda}{\rho} \cdot \frac{2 \cdot \frac{\pi d^2}{4} + \pi dt}{\frac{\pi d^2 t}{4}} = \frac{2\lambda}{\rho} \cdot \frac{2d + 4t}{dt} \quad (7.8).$$

Powierzchnia właściwa jest zatem parametrem uwzględniającym nie tylko wymiary samej cząstki, ale również relację masy do objętości, tj. gęstość. Tak zdefiniowana  $A_{wł.}$  jest dobrym przybliżeniem danych uzyskanych od producenta (Tab. 7.1): Przy założeniu  $\lambda = 1,1$  [190, 191] uzyskany błąd średniokwadratowy przybliżenia powierzchni właściwej wyniósł  $33,27 \text{ m}^2/\text{g}$ . Jak jednak wynika z wykresu na Rys. 7.6, czułość elektrod nie wykazuje bezpośredniej zależności od powierzchni właściwej GNP.

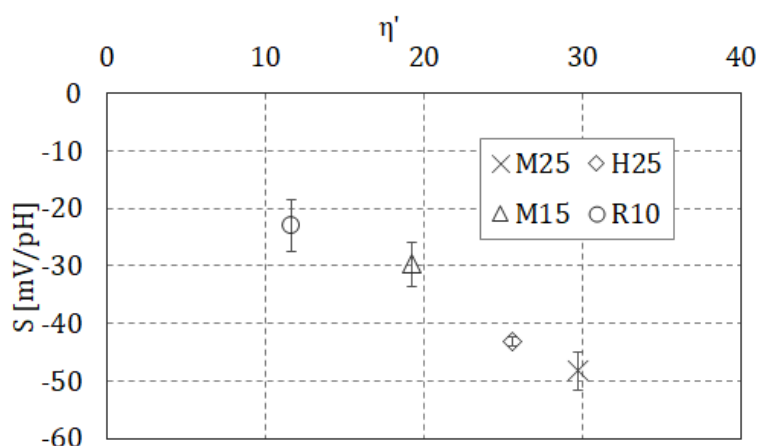


Rys. 7.6. Oszacowane wartości czułości elektrod pH-metrycznych na bazie GNP w odniesieniu do powierzchni właściwej nanopłatków grafenowych

Wobec powyższych rozważań postanowiono wprowadzić parametr wiążący współczynnik kształtu  $\eta$  oraz powierzchnię właściwą zastosowanych nanopłatków grafenowych. Zgodnie z przytoczonymi wcześniej rozważaniami na temat wpływu

stosunku powierzchni czołowej do bocznej cząstek wypełniacza, przewidywano, iż większe wartości  $\eta$  będą skutkowały lepszym dostępem roztworu do GNP, a tym samym większą czułością elektrod. Jednocześnie rozwinięcie powierzchni wymaga porównania z gęstością materiału, ponieważ zarówno powierzchnia właściwa cząstek jak i ich masa determinują strukturę kompozytu: większa powierzchnia cząstek przy takiej samej ich masie oznacza korzystniejszą pod względem parametrów sensorycznych dystrybucję materiału w warstwie. Zdefiniowano zatem nowy współczynnik  $\eta'$  opisany wzorem:

$$\eta' = \frac{\eta}{A_{wt.}} \quad (7.9)$$



Rys. 7.7. Zmienność czułości elektrod pH-metrycznych w zależności od wartości parametru  $\eta'$  (stosunku współczynnika kształtu do powierzchni właściwej) zastosowanych GNP

Stwierdzono wysoce liniową zmienność odpowiedzi pH-metrycznej elektrod na bazie GNP względem powyższego współczynnika. Na poziomie istotności  $\alpha = 0,02$  oszacowano współczynnik korelacji liniowej między czułością a parametrem  $\eta'$  równy  $\rho_{S-\eta'} = -0,9853$ . Z kolei współczynnik determinacji wynosi  $R^2 = 97,01\%$ . Zależność tę ilustruje Rys. 7.7. Powyższe wyniki uznano za potwierdzające zaproponowany model zależności czułości elektrod od objętości i powierzchni GNP w paście drukarskiej a tym samym w wytwarzanej warstwie kompozytowej. W świetle tego stwierdzenia, oraz licznych badań [188, 192, 193], w tym współprowadzonych przez autora niniejszej pracy [130], uznano zawartość objętościową fazy funkcjonalnej w drukowanych kompozytach jako kluczową w kształtowaniu ich właściwości, w tym pH-metrycznych (por. rozdz. 6.1). Może to być wytłumaczone na gruncie teorii perkolacji [195], co stanowi przedmiot kolejnego rozdziału.

### **7.3. Badanie odpowiedzi pH-metrycznej elektrod tlenkowo-węglowych**

Po określeniu wpływu geometrii cząstek wypełniacza na odpowiedź czujników oraz wytypowaniu GNP, dla których osiągnięte zostały najlepsze wyniki, przeprowadzono badania mające na celu znalezienie takiej kompozycji pasty drukarskiej, dla której uzyskana zostanie najwyższa czułość względem pH przy jednoczesnym zminimalizowaniu wpływu promieniowania UV. Jak wynika z danych zebranych we wcześniejszych eksperymentach, elektrody zawierające jedynie RuO<sub>2</sub> jako materiał funkcjonalny wykazały czułość zbliżoną do teoretycznie przewidywanej w równaniu Nernsta (4.14). Z drugiej strony elektrody na bazie nanopłatków grafenowych charakteryzowała czułość o blisko 10mV/pH niższa. W związku z tym przygotowano serię past, zawierających jako materiał wypełniacza GNP M25 oraz RuO<sub>2</sub> w różnych proporcjach.

#### **7.3.1. Teoria perkolacji a udział fazy funkcjonalnej w warstwie drukowanych elektrod pH-metrycznych**

Wpływ udziału objętościowego wypełniacza na właściwości drukowanych kompozytów określa teoria perkolacji [192, 195, 196]. Teoria ta została pierwotnie sformułowana dla opisu przepływu cieczy przez porowate medium [198]. W teorii tej każdy elementarny punkt medium może być „pusty” lub „wypełniony” co odpowiada możliwości przepływu przez dany punkt (miejsce „puste”, pory) lub jej braku (miejsce „wypełnione”). Tak więc medium w modelu matematycznym odpowiada trójwymiarowy graf losowy, między którego sąsiednimi elementami połączenia (możliwość przepływu cieczy z jednego punktu do drugiego) występują z określonym prawdopodobieństwem. Podstawowym zagadnieniem w teorii perkolacji jest prawdopodobieństwo istnienia takiej sieci połączeń między porami, która umożliwi przepływ (perkolację) cieczy przez materiał wzdłuż rozważanego kierunku. Przepływ ten jest zjawiskiem progowym i może zajść jedynie powyżej pewnej liczby połączeń między elementami. Innymi słowy, dla określonego prawdopodobieństwa wystąpienia połączenia między sąsiednimi elementami medium istnieje pewien minimalny udział porów w całej objętości materiału, powyżej którego możliwe jest wystąpienie sieci połączeń z zachowaniem ciągłości wzdłuż określonego wymiaru. Minimalny udział porów (miejsz „pustych”) wspomniany wyżej zwany jest natomiast progiem perkolacji.

Model ten z łatwością można odnieść również do kompozytów, składających się z fazy przewodzącej oraz izolującej [194, 198]. W takim wypadku porom, odpowiadają cząstki fazy przewodzącej, natomiast obszar zajmowany przez fazę izolującą składa się z miejsc „zajętych”. Rzecz jasna, konstruowany model musi uwzględniać specyfikę zarówno wszystkich składowych kompozytu, ich budowę cząsteczkową, jak również naturę połączeń i zjawisk determinujących przewodnictwo w danym materiale. I tak, w określanym współcześnie jako klasyczny, modelu perkolacji dla kompozytu będącego mieszaniną w pełni izolującej osnowy i przewodzącego wypełniacza, przewodność kompozytu dana jest wzorem:

$$\sigma_c = \sigma_0(v_0 - v_p)^\beta \quad (7.10),$$

gdzie:  $\sigma_0$  – przewodność wypełniacza,  $v_0$  – udział objętościowy wypełniacza,  $v_p$  – próg perkolacji,  $\beta$  – krytyczny wykładnik, zależny od właściwości elektrycznych kompozytu. Dwie ostatnie wielkości określane są eksperymentalnie, na podstawie dopasowania do danych zebranych dla danego kompozytu. Równanie to można przekształcić do następującej postaci liniowej:

$$\ln(\sigma_c) = \ln(\sigma_0) + \beta \cdot \ln(v_0 - v_p) \quad (7.11)$$

Oprócz tego modelu proponowane są również inne, oparte bądź na statystyce tworzenia się połączeń między cząstkami wypełniacza [200], zjawiskach termodynamicznych zachodzących w kompozycie [201] albo geometrii cząstek przewodzących [202]. Dla rozważań dotyczących funkcjonalności elektrod na bazie drukowanych kompozytów istotny jest wszakże fakt, że właściwości wynikające z połączeń między cząstkami wypełniacza zależą od jego objętościowego udziału w materiale. Tylko bowiem odpowiednio jednorodna warstwa materiału o właściwościach pH-metrycznych będzie pozwalała na wytworzenie podwójnej warstwy elektrycznej o potencjale zależnym od aktywności protonów w roztworze. W przeciwnym wypadku, tj. przy zbyt małym udziale fazy funkcjonalnej, rejestrowany potencjał pochodził będzie w równym stopniu od cząstek fazy dielektrycznej lub znajdującego się poniżej srebrowego kontaktu elektrycznego, a tym samym nie będzie wykazywał pożądanej zmienności wraz ze zmianami pH.

### 7.3.2. Określenie zależności czułości elektrod od udziału objętościowego fazy funkcjonalnej

Pasty zawierające RuO<sub>2</sub> oraz GNP przygotowywane były w procesach technologicznych opisanych wcześniej w rozdz. 6.1. oraz 7.1. i 7.2. z tą różnicą, że po dodaniu każdego rodzaju cząstek wypełniacza wykonywane było dwukrotne przewalcowanie past z użyciem trójwalcarki w celu ujednorodnienia past (rozbicia aglomeratów oraz zwilżenia proszków). Po nadrukowaniu tych past na kontakty srebrowe, warstwy elektrodowe suszone były w temperaturze 120°C przez 20 min. Proporcje objętościowe uzyskanych past oraz zawartość poszczególnych faz kompozytu po wysuszeniu przedstawiono w Tabeli 7.3. W następnym kroku na elektrody nanoszona była warstwa izolująca utwardzana za pomocą UV. Pomiary pH prowadzone były analogicznie do opisanych wyżej, tzn. z użyciem elektrody referencyjnej Ag/AgCl oraz w roztworze buforowym 50mM kwasu cytrynowego z dodatkiem nasyconego roztworu NaOH przy jednoczesnym kontrolnym pomiarze za pomocą pH-metru. Dla każdego rodzaju kompozytu w pomiarach wykorzystano 5 elektrod. Otrzymane wyniki ilustrują wykresy na Rys. 7.8., natomiast wyznaczone współczynniki regresji liniowej zebrano w Tabeli 7.4.

Tab. 7.3. Składy past drukarskich oraz warstw elektrodowych po utwardzeniu kompozytu

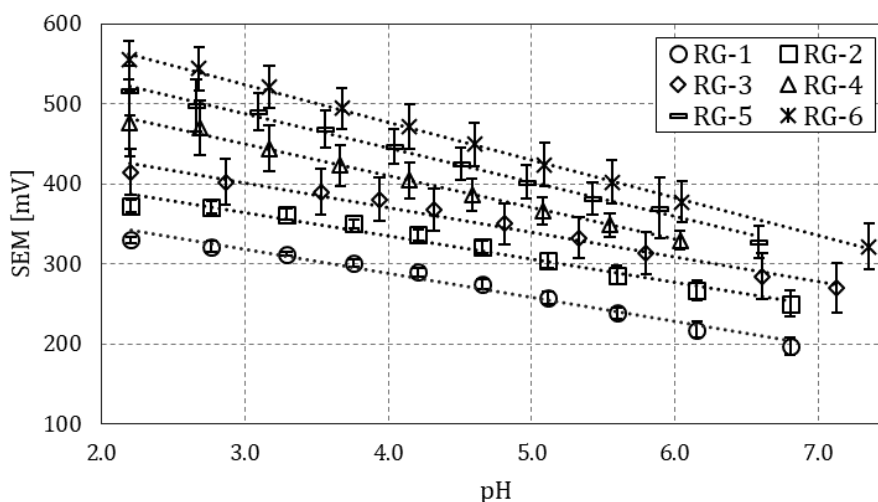
materiał	zawartość w paście [% obj.]			zawartość w warstwie [% obj.]		
	RuO <sub>2</sub>	GNP	PMMA	RuO <sub>2</sub>	GNP	PMMA
RG -1	1,43	5,08	6,34	11,17	39,51	49,32
RG -2	2,87	4,51	6,28	21,00	33,03	45,96
RG -3	4,30	3,95	6,22	29,74	27,28	42,98
RG -4	5,74	3,38	6,16	37,55	22,14	40,31
RG -5	7,17	2,82	6,10	44,57	17,52	37,91
RG -6	8,61	2,26	6,04	50,91	13,35	35,74



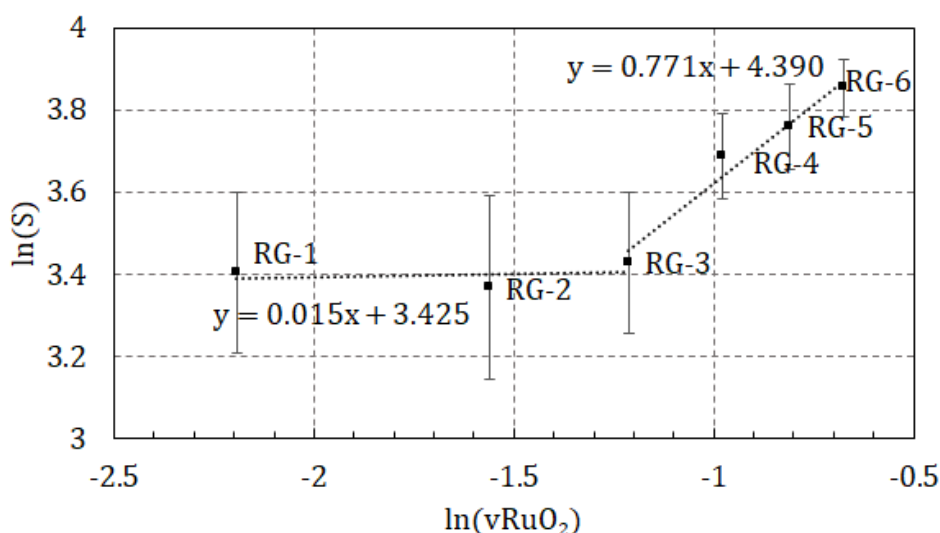
Tab. 7.4. Współczynniki regresji liniowej zależności SEM ogniwi zawierających elektrody na bazie kompozytów PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP wyznaczone na podstawie pomiarów: czułość ( $S_{RG}$ ), potencjał standardowy elektrod ( $E_{ORG}$ ) oraz współczynnik korelacji liniowej ( $\rho$ ) i determinacji ( $R^2$ ). Niepewności  $S_{RG}$  zostały oszacowane na poziomie istotności  $\alpha = 0,02$ .

materiał	$S_{RG}$ [mV/pH]	$E_{ORG}$	$\rho$	$R^2$
RG -1	-30,06 ± 5,85	407,86	-98,99%	97,98%
RG -2	-28,97 ± 6,46	450,86	-98,67%	97,36%
RG -3	-30,83 ± 5,29	493,88	-99,21%	98,42%
RG -4	-39,87 ± 4,11	569,46	-99,77%	99,54%
RG -5	-42,96 ± 4,47	616,85	-99,71%	99,41%
RG -6	-47,14 ± 3,34	640,76	-99,86%	99,73%

Opisane wyżej zastosowanie klasycznego modelu perkolacji do zmian czułości elektrod pH-metrycznych zweryfikowano w następujący sposób: na podstawie danych przedstawionych na Rys. 7.9 przeprowadzono test statystyczny hipotezy zerowej o liniowej zależności logarytmu czułości elektrod PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP od logarytmu objętości RuO<sub>2</sub> w warstwie przetwornika. Hipotezę alternatywną stanowiło stwierdzenie, iż nie ma związku liniowego między tymi dwiema wielkościami. Z uwagi na progowy charakter opisywanej zależności, dane z Rys. 7.9 podzielono na dwa podzbiory: dla próbek RG-(1-3) oraz dla próbek RG-(3-6). Następnie wyznaczono parametry regresji liniowej dla obu podzbiorów, również przedstawione na Rys. 7.9. Dla podzbioru RG-(3-6), tj. powyżej przewidywanego na podstawie obserwacji progu perkolacji, potwierdzono hipotezę zerową na poziomie istotności  $\alpha = 0,02$ . Natomiast dla podzbioru RG-(1-3) i przy tym samym poziomie istotności, hipotezę o liniowej zależności logarytmu czułości od logarytmu objętości RuO<sub>2</sub> odrzucono. Odpowiadają temu również przedstawione na wykresie zakresy niepewności wartości  $\ln(S)$ . Potwierdzenie związku czułości elektrod z udziałem objętościowym RuO<sub>2</sub> pozwoliło na zastosowanie teorii perkolacji do wyznaczenia dokładnej zależności czułości elektrod od zawartości RuO<sub>2</sub>.



Rys. 7.8. Pomiary SEM ogniw zawierających elektrody drukowane na bazie kompozytów PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP; elektroda referencyjna: Ag/AgCl<sub>(s)</sub>, KCl (4M), roztwór badany: 50mM bufor kwasu cytrynowego, pomiar kontrolny pH wykonywany z użyciem elektrody szklanej; zawartość RuO<sub>2</sub>/GNP – patrz Tab. 7.3.; dla zachowania czytelności punkty pomiarowe dla kompozytu RG-6 zostały przesunięte o +25mV.



Rys. 7.9. Zależność czułości elektrod PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP od zawartości objętościowej RuO<sub>2</sub> w kompozycie w skali logarytmicznej; niepewności widoczne na wykresie zostały oszacowane na podstawie funkcji propagacji błędów dla funkcji logarytmicznej oraz wartości niepewności  $S_{RG}$  podanych w Tab. 7.4.

Przytoczone wyżej równanie (7.11), zaadaptowano następnie jako model zależności czułości elektrod od zawartości RuO<sub>2</sub> w warstwie elektrody:

$$\ln|S_{RG}| = \ln|S_R| + \beta \cdot \ln|v_R - v_p| \quad (7.12),$$

gdzie:  $S_{RG}$  – czułość elektrody na bazie kompozytu PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP,  $S_R$  – czułość elektrody na bazie PMMA/RuO<sub>2</sub>,  $v_R$  – udział objętościowy RuO<sub>2</sub> w warstwie elektrody. Z konieczności wartości  $S_{RG}$  i  $S_R$ , przyjmujące wartości ujemne, zostały ujęte w moduły. Podobnie różnica  $v_R - v_p$ , której znak zależy od tego, czy w danym kompozycie

przekroczony został próg perkolacji. Jednakże, aby móc zastosować powyższą zależność – a tym samym, aby dokonać dopasowania funkcji liniowej do danych eksperymentalnych – konieczne jest wyznaczenie zarówno krytycznego wykładnika  $\beta$  jak i samego progu perkolacji  $v_p$ . Jest to zatem problem nieoznaczony. Ze względu na to zastosowano procedurę numeryczną przybliżania obu parametrów. W tym celu zastosowano narzędzie Solver (Frontline Systems Inc., USA) dla środowiska MS Excel™ 2016. Jako kryterium dopasowania zależności przyjęte zostało suma kwadratów błędów:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\ln|S_i| - \ln|\hat{S}_i|)^2}{\ln(\sigma_i)} \quad (7.13),$$

gdzie  $S_i$  – czułość elektrody dla  $i$ -tego kompozytu,  $\hat{S}_i$  – estymator czułości  $i$ -tego kompozytu oszacowany na podstawie parametrów przyjętych w danym kroku obliczeniowym,  $\sigma_i$  – niepewność oszacowania czułości dla  $i$ -tego kompozytu. Wszystkie kroki obliczeniowe przeprowadzono dla zbioru danych dla kompozytów RG-(3-6).

Z uwagi na najmniejszą niepewność wyznaczenia czułości elektrody PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP, w obliczeniach przyjęto wartości  $S_{RG}$  i  $v_R$  dla materiału RG-6, odpowiednio z tabel 7.4 i 7.3. Jako  $S_R$  przyjęto czułość wyznaczoną w rozdz. 6.2 dla elektrody PMMA/RuO<sub>2</sub> niepoddanej ekspozycji UV, tj. -57,9mV/pH.

Ze względu na zależność końcowego wyniku dopasowania od przyjętych wartości wejściowych, konieczne było wykonanie kroków wstępnych. W pierwszym z nich jako estymator progu perkolacji przyjęto punkt przecięcia dwóch prostych wyznaczony dla danych z Rys. 7.9., tj.  $\hat{v}_{p0} = 27,87\%$ . Następnie, możliwe było obliczenie logarytmu różnicy  $v_R$  i  $v_p$ , stanowiącego argument równania (7.12). Dysponując tą wartością, obliczono estymator krytycznego wykładnika, występującego jako współczynnik nachylenia w (7.12). W tym celu posłużono się wzorem:

$$\hat{\beta}_0 = \frac{\sum(\ln|v_{Ri}| - \ln|\bar{v}_R \ln|)(\ln|S_i| - \ln|\bar{S}|)}{\sum(\ln|v_{Ri}| - \ln|\bar{v}_R \ln|)^2} \quad (7.14)$$

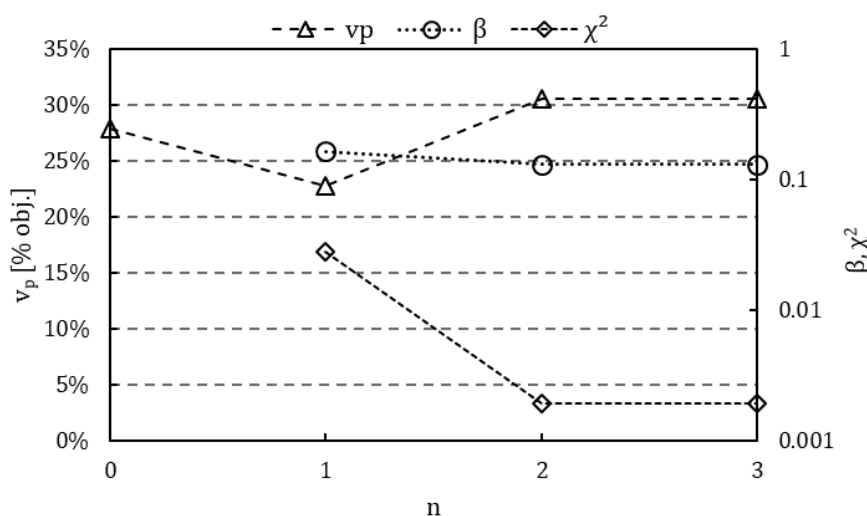
gdzie  $\bar{v}_R$  i  $\bar{S}$  oznaczają średnie wartości odpowiednio zawartości objętościowej RuO<sub>2</sub> i czułości elektrod dla całego zbioru danych wejściowych. Następnie przeprowadzono właściwą procedurę dopasowania numerycznego zmiennych  $v_p$  i  $\beta$ . Jak pokazuje Rys. 7.10, procedura wykazała zbieżność już w drugim kroku obliczeniowym. Obserwowano to niezależnie od przyjętej metody rozwiązywania problemu:

- gradientu sprzężonego (ang. *Generalized Reduced Gradient, GRG*),
- algorytmu sympleksowego,
- algorytmu ewolucyjnego (szybkość mutacji: 0,075, rozmiar populacji: 100)

Osiągnięto tym samym następujące wyniki oszacowania:

$$\hat{\beta} \approx 0,1297 \quad (7.15)$$

$$\hat{v}_p \approx 30,52\% \quad (7.16)$$



Rys. 7.8. Przebieg numerycznego dopasowania parametrów  $v_p$  i  $\beta$ . Oś lewa: wartości progu perkolacji  $v_p$  w kolejnych krokach obliczeniowych (krok  $n = 0$  odpowiada obliczeniu wejściowej wartości parametru); oś prawa: krytyczny wykładnik  $\beta$  oraz  $\chi^2$  (funkcja odchylenia wyznaczonej zależności od punktów doświadczalnych), z uwagi na niewielkie wartości, oba parametry wykreślono w skali logarytmicznej.

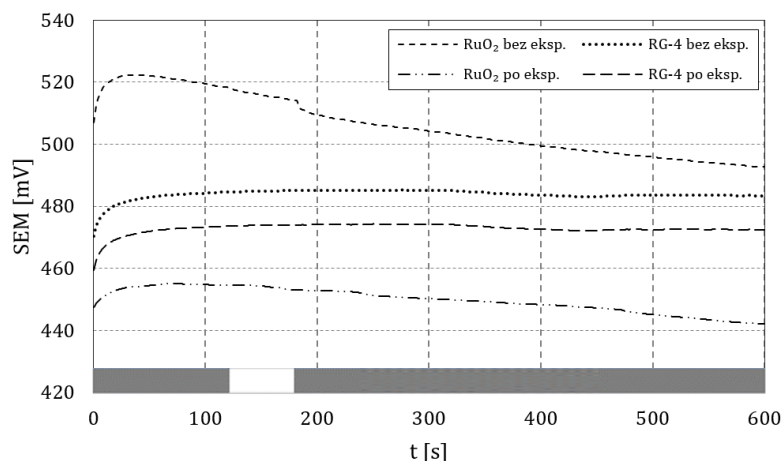
Pozostaje to w zgodzie z danymi eksperymentalnymi, dla których czułości elektrod wykonanych z kompozytów o zawartości  $\text{RuO}_2$  poniżej 30,52% obj., nie wykazywały istotnych ( $\alpha = 0,02$ ) różnic (patrz. Tab. 7.4 oraz Rys. 7.9). Z kolei na tym samym poziomie istotności czułość elektrod na bazie kompozytów powyżej wartości  $\hat{v}_p$  wykazywała zależność zgodną z równaniem perkolacji (7.12), co potwierdzają wartości współczynnika  $R^2 > 99\%$ . Zatem określono równanie zależności czułości elektrod z kompozytu PMMA/ $\text{RuO}_2$ /GNP ( $S_{RG}$ ), wyrażoną w mV/pH. Można ją zapisać jako następującą funkcję udziału objętościowego dwutlenku rutenu w warstwie elektrody ( $v_R$ ):

$$S_{RG} = -57,9(v_R - 0,3052)^{0,1297} \quad (7.17)$$

Biorąc pod uwagę powyższe równanie, w którym wykładnik  $\beta < 1$ , oczywiste jest, iż kompozycje pasty o coraz większym udziale RuO<sub>2</sub> będą wykazywały coraz mniejsze przyrosty czułości. Jednocześnie zwiększenie udziału RuO<sub>2</sub> wiąże się ze zmniejszeniem udziału GNP, jeśli zachowane mają być optymalne parametry reologiczne pasty oraz maksymalna zawartość całości fazy funkcjonalnej. Tym samym można przypuszczać – w oparciu o wyniki przedstawione w rozdz. 6.3 – iż zwiększenie proporcji objętości RuO<sub>2</sub> w stosunku do GNP w warstwie elektrody może prowadzić do zwiększenia podatności odpowiedzi na zakłócenia związane z promieniowaniem UV. Jednocześnie wobec powyższego zdecydowano się przeprowadzić dalsze badania odpowiedzi elektrod dla kompozytu RG-4 poddanego oddziaływaniu światła ultrafioletowego.

### **7.3.3. Badanie wpływu promieniowania UV na odpowiedź elektrod tlenkowo-węglowych**

Tak jak opisano wcześniej w rozdz. 6.3, wytworzone elektrody wskaźnikowe (na bazie kompozytu RG-4) oraz elektrodę referencyjną umieszczono w roztworze o stałym pH (50mM buforze kwasu cytrynowego), tworząc ogniwo pomiarowe. Następnie całość została zakryta osłoną blokującą dostęp promieniowania ultrafioletowego do układu. SEM ogniw mierzona była przez 10 minut, przy czym po 2 min. osłona była zdejmowana, a układy wystawiane były na promieniowanie UV pochodzące z lampy użytej we wcześniejszym eksperymencie. Po 60s ekspozycji osłona była z powrotem nakładana, a SEM rejestrowana była do końca trwania eksperymentu. Do pomiarów zastosowano dwie serie elektrod – z warstwą izolującą utwardzaną termicznie (elektrody bez wcześniejszej ekspozycji UV) oraz z warstwą izolującą utwardzaną światłem ultrafioletowym (elektrody po ekspozycji). Zarejestrowane wyniki ilustruje wykres na Rys. 7.9. Ponownie, uzyskane wyniki nie były uśredniane, co prowadziło do filtracji obserwowanych zakłóceń. W zamian przedstawiono najbardziej reprezentatywne przebiegi, zestawione z wcześniejszymi, zarejestrowanymi dla kompozytu PMMA/RuO<sub>2</sub>.



Rys. 7.9. Porównanie sygnałów SEM rejestrowanych przez 10min. dla kompozytów PMMA/RuO<sub>2</sub> oraz PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP przy zmiennym oświetleniu promieniowaniem ultrafioletowym, zaznaczonym wzdłuż osi czasu: obszar zacieniony – brak ekspozycji, obszar niezacieniony – elektrody wystawione na promieniowanie UV; *bez eksp.* – elektrody niepoddane wcześniej działaniu UV, *po eksp.* – elektrody z warstwą izolacyjną utwardzaną ultrafioletem.

Analiza sygnałów uzyskanych z użyciem elektrod wykazała niewielki dryft sygnału obserwowany dla obu serii elektrod (z warstwą izolacyjną utwardzaną termicznie i za pomocą światła UV), który wynosił:

$$d_{SEM} < 2,5\text{mV/h} \quad (7.18)$$

Natomiast zmienność potencjału (trzy wartości odchylenia standardowego) po czasie narastania równym 60s wynosiła:

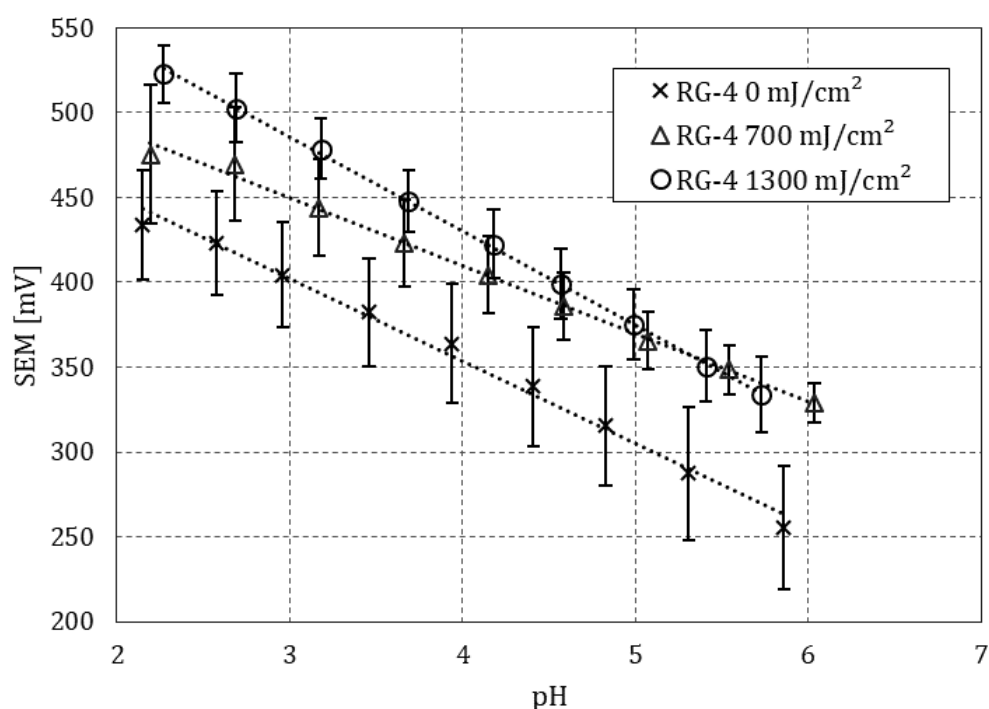
$$\sigma_{SEM} \approx 0,77\text{mV} \quad (7.19)$$

co przekłada się na niepewność pomiaru pH

$$\Delta\text{pH} \approx \pm 0,01 \quad (7.20)$$

Tym samym można stwierdzić, że osiągnięty został cel zastosowania dodatku fazy węglowej (GNP) do kompozytu PMMA/RuO<sub>2</sub>, jakim była eliminacja zakłóceń związanych ze zmiennym oświetleniem promieniowaniem UV.

Z uwagi na fakt, iż elektroda na bazie kompozytu RG-4 z warstwą izolacyjną utwardzaną ultrafioletem wykazała istotnie niższą czułość niż w przypadku elektrod węglowo-tlenkowych opisanych w rozdz. 7.2, przeprowadzono badanie czułości elektrod w zależności od zastosowanej dawki promieniowania. W tym celu wytworzono trzy serie elektrod z izolacją utwardzaną termicznie. Następnie dwie z nich poddawane były ekspozycji UV dla dwóch różnych dawek: 700 oraz 1300 mJ/cm<sup>2</sup>. Dla każdej serii przeprowadzono pomiary SEM przy zmiennym pH. Ponownie wykorzystano 50mM bufor kwasu cytrynowego, do którego pod kontrolą pH-metru z elektrodą szklaną dodawany



Rys. 7.10. Pomiary SEM ogniw zawierających elektrody na bazie kompozytu RG-4, poddane działaniu trzech różnych dawek promieniowania UV; w każdej serii badanych było pięć elektrod; dla czytelności punkty pomiarowe serii „RG-4 0 mJ/cm<sup>2</sup>” zostały przesunięte o -50mV.

był nasycony roztwór NaOH. Również analogicznie do wcześniejszych eksperymentów, w ogniwach pomiarowych zastosowano elektrody referencyjne Ag/AgCl. Wyniki pomiarów dla wszystkich trzech serii zestawione zostały na Rys. 7.12, natomiast parametry regresji liniowej zebrano w Tabeli 7.5.

Tab. 7.5. Parametry odpowiedzi pH-metrycznej wyznaczone dla trzech serii elektrod potencjometrycznych na bazie kompozytu RG-4, po ekspozycji UV o różnej dawce ( $D_{UV}$ ); czułości elektrod ( $S$ ) oraz niepewności ich oszacowania zostały wyznaczone dla poziomu istotności  $\alpha = 0,02$ .

$D_{UV}$ [mJ/cm <sup>2</sup> ]	0	700	1300
$S$ [mV/pH]	-48,48±4,97	-39,87±3,06	-55,30±1,73
$E_0$ [mV]	597,37	569,46	651,43
$R^2$	99,19%	99,54%	99,92%

Fakt, iż dla elektrod poddanych dawce 700mJ/cm<sup>2</sup> osiągnięto czułość znacznie niższą od elektrod bez wcześniejszej ekspozycji, zdaje się potwierdzać wcześniejsze wnioski o charakterze oddziaływania promieniowania UV na fazę RuO<sub>2</sub>. Wnioski te znajdują z resztą potwierdzenie w literaturze [136, 140]. Tym większą uwagę zwraca fakt, iż dla elektrod poddanych większej dawce promieniowania UV osiągnięta została najwyższa czułość ( $\Delta S > 6,8\text{mV/pH}$  pomiędzy elektrodami bez ekspozycji i po ekspozycji 1300mJ/cm<sup>2</sup>). Jednocześnie elektrody te wykazywały największą powtarzalność. Sugeruje to zajście pewnej progowej zmiany w mechanizmie oddziaływania warstwy elektrody z roztworem.

Wyjaśnieniu tej zmiany może posłużyć, potwierdzona przez badania m.in. Eve i Mohra [203], degradacja PMMA pod wpływem promieniowania UV. W kontekście przedstawionych wyżej obliczeń potwierdzających zależność czułości elektrod od zawartości objętościowej RuO<sub>2</sub> w kompozycie, potencjalny ubytek osnowy kompozytu może stanowić wytłumaczenie obserwowanych zmian czułości. Problematiczne może być przy tym określenie dokładnej dawki promieniowania UV potrzebnej do rozłożenia cząstek PMMA na mniejsze cząsteczki. Jeśli bowiem to ubytek polimeru na skutek degradacji był istotną przyczyną zmiany proporcji objętościowych składowych warstwy elektrod, to zjawisko to powinno mieć charakter progowy. Oznacza to, że poniżej dawki granicznej degradacja zachodzi jedynie z niewielką intensywnością lub nie zachodzi w ogóle, natomiast powyżej zachodzi z dużym natężeniem. Taki przebieg zjawiska wynika z konieczności dostarczenia do materiału pewnej minimalnej energii niezbędnej do rozerwania istniejących w cząsteczkach wiązań.

Przypuszczenie to potwierdzają badania G. Balleta [204], w których opisano istotne zmiany w widmach ramanowskich filmów PMMA poddanych ekspozycji UV o dawce

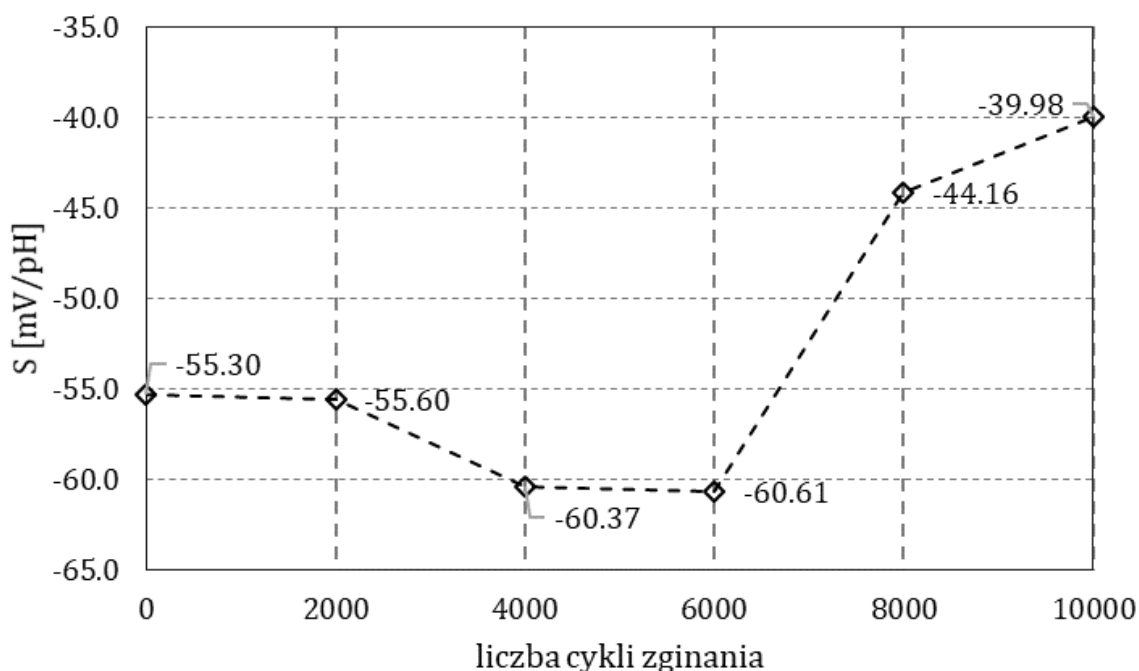


$D = 1500\text{mJ}/\text{cm}^2$ . Natomiast eksperymenty przeprowadzone przez Çaykarę i Güvena [205] wykazały, że średnia długość łańcuchów PMMA w filmach polimerowych poddanych naświetlaniu UV spadała z 116'000 do 8'000 g/mol. Świadczy to o rozpadaniu się cząstek tego polimeru na cząstki podatne na wymywanie z warstw elektrod.

Wziąwszy pod uwagę zarówno pomijalnie małą zmienność sygnału pochodzącego od elektrod RG-4 pod wpływem promieniowania UV oraz osiągniętą wartość czułości, uznano powyższy kompozyt za spełniający wymogi postawione w rozdz. 5.

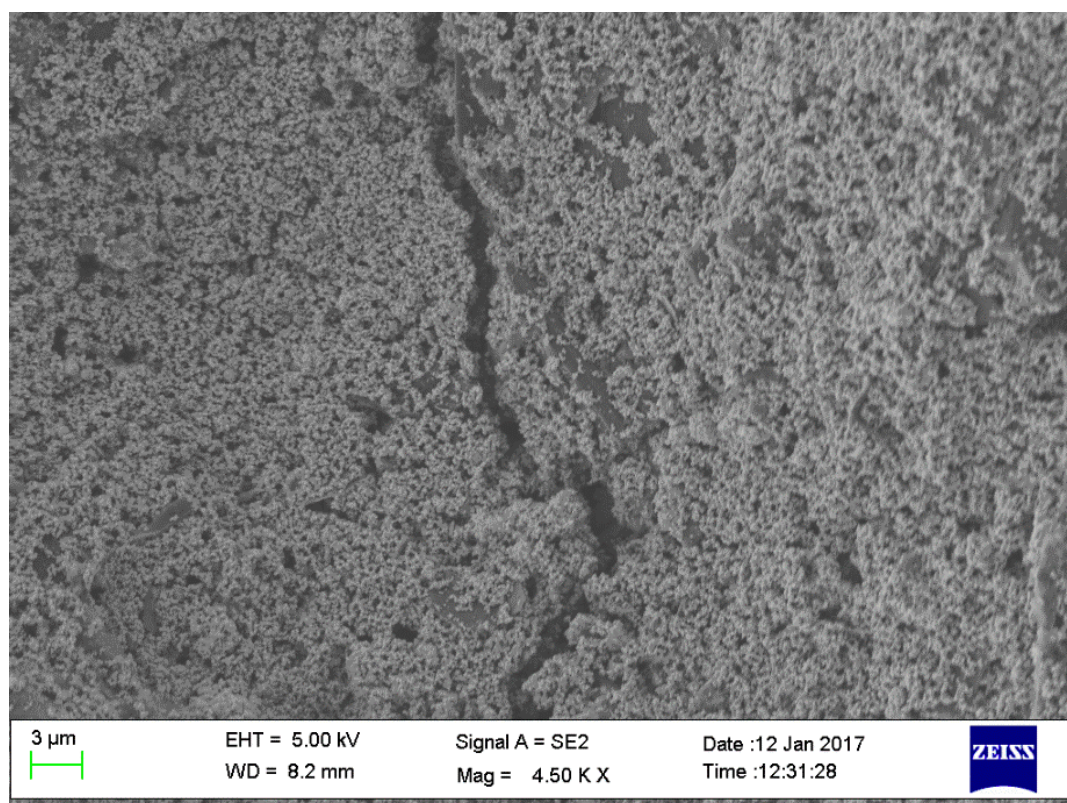
#### 7.4. Badanie elastyczności drukowanych elektrod pH-metrycznych

Elektrody wytworzone zgodnie z procesem opisanym w rozdz. 7.3.2., z użyciem pasty RG-4 oraz poddane naświetlaniu UV o dawce  $1300\text{mJ}/\text{cm}^2$  zostały następnie przebadane pod kątem odporności na odkształcenia mechaniczne. W tym celu elektrody poddawano cyklicznemu zginaniu o kąt  $180^\circ$ , przy czym warstwa elektrody znajdowała się na wewnętrznej stronie zginanej folii. Po każdym 2000 cyklach zginania przeprowadzano pomiar SEM przy zmiennym pH, analogicznie do procedur opisanych dla



Rys. 7.11. Czułość elektrod z kompozytu RG-4 poddawanych cyklicznemu zginaniu o kąt  $180^\circ$  poprzednich eksperymentów. Zmienność oszacowanej czułości elektrod w zależności od liczby cykli zginania przedstawiono na Rys. 7.11.

W pierwszych 6000 cyklach zginania następowała poprawa czułości, co widoczne jest na wykresie jako zmiana wartości aż do 109,6% wartości wyjściowej. Można ten fakt wytłumaczyć łatwo jako skutek kompresji warstwy elektrod w trakcie zginania, co przekłada się na zwiększenie objętościowego udziału  $\text{RuO}_2$  oraz GNP w kompozycie kosztem mniejszej objętości porów. Następujące powyżej 6000 cykli gwałtowne pogorszenie nachylenia odpowiedzi przetworników z kolei związane jest z przekroczeniem granicznej wytrzymałości kompozytu PMMA/ $\text{RuO}_2$ /GNP i jego pęknięciem, co potwierdzają obrazy SEM próbek przed zginaniem (Rys. 6.6) oraz po 8000 cyklach (Rys. 7.12). Pęknięcie to powoduje odsłonięcie warstwy kompozytu PMMA/Ag, znajdującej się pod spodem. Powierzchnia ta, z uwagi na obecność w materiale cząstek srebra, wykazuje niedeterministyczną zmienność potencjału względem pH. W konsekwencji jako potencjał elektrody jest wtedy rejestrowana wartość uśredniona powierzchni obu kompozytów (PMMA/Ag i PMMA/ $\text{RuO}_2$ /GNP), co skutkuje obserwowanym spadkiem czułości.



Rys. 7.12. Obraz skaningowej mikroskopii elektronowej powierzchni elektrody z kompozytu RG-4 po 8000 cyklach zginania

Z punktu widzenia diagnostyki każda zmiana czułości przetwornika – tak wzrost jak i spadek – jest niepożądana. Aby określić wpływ zginania na odczyt urządzenia, sformułowano ogólną zależność SEM przetwornika od pH badanej próbki:

$$E = S \cdot pH + E_0 \quad (7.21)$$

gdzie  $E$  – SEM przetwornika,  $S$  – czułość,  $E_0$  – potencjał standardowy elektrody wskaźnikowej. Powyższe przekłada się na odczyt pH dany wzorem:

$$pH = \frac{E - E_0}{S} \quad (7.22)$$

Jeśli zatem znajdzie zmiana nachylenia zależności (7.21) o  $\Delta S$ , to przyjmuje ona postać:

$$E' = (S + \Delta S) \cdot pH + E_0 \quad (7.23)$$

To z kolei pozwala obliczyć różnicę między pH odczytanym w obu przypadkach:

$$\Delta pH = E' - E \quad (7.24)$$

$$\Delta pH = \frac{E - E_0}{S + \Delta S} - \frac{E - E_0}{S} \quad (7.25)$$

$$\Delta pH = \frac{\Delta S}{S^2 + S \cdot \Delta S} \cdot (E_0 - E) \quad (7.26)$$

Zgodnie z powyższym błąd wskazania urządzenia zależny jest od rzeczywistego pH badanej próbki. W Tabeli 7.6. zestawiono oszacowane wartości błędów odczytu dla omawianych liczb cykli zginania oraz dla trzech punktów skali pH: 1, 5, 7 oraz 14.

Tab. 7.6. Zmiana czułości elektrod RG-4 oraz oszacowania błędów wyznaczenia pH w zależności od liczby cykli zginania oraz pH badanej próbki.

liczba cykli	$\Delta S$ [mV/pH]	$\Delta pH$			
		pH = 1	pH = 5	pH = 7	pH = 14
2000	-0,30	0,005	0,027	0,0379	0,076
4000	-5,07	0,084	0,420	0,588	1,177
6000	-5,32	0,088	0,439	0,614	1,228
8000	11,14	-0,252	-1,261	-1,766	-3,531
10000	15,32	-0,383	-1,916	-2,682	-5,364

Z powyższych rozważań wynika, że maksymalny błąd pomiarowy, wynikający z odkształcenia drukowanej elektrody po 2000 cykli zginania nie przekracza jednej dziesiątej części jednostki pH. W projektowanym zastosowaniu, wykrywane zmiany pH ran o tak małych amplitudach nie są istotne. Z tego powodu można uznać, iż opracowany kompozyt spełnia wszystkie stawiane wymagania, tj.:

- Cechuje się odpowiedzią potencjometryczną na zmiany pH zbliżoną do teoretycznie przewidywanej przez równanie Nernsta.
- Wykazuje niezależność wskazań od warunków oświetlenia.
- Jest odporny na odkształcenia w zakresie pozwalającym na zastosowanie w opatrunkach przylegających do powierzchni ciała.

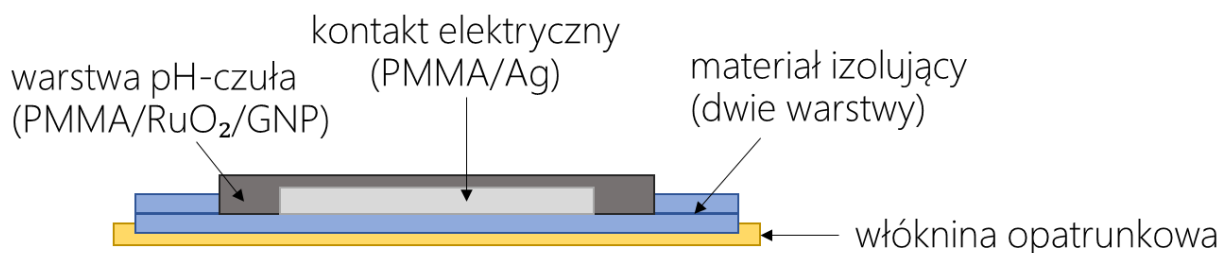
Tym samym przystąpiono do następnego etapu badań, którym było opracowanie technologii wytwarzania potencjometrycznych czujników pH na materiałach opatrunkowych, co zostało opisane w następnym rozdziale.

## **8. Badania planarnych czujników pH drukowanych na opatrunkach medycznych**

### **8.1. Technologia druku planarnych czujników pH na opatrunkach**

W poprzednim rozdziale przedstawiono prace prowadzące do opracowania kompozycji pasty służącej do wytwarzania warstw pH-czułych spełniających kryteria stabilności i czułości odpowiedniej dla pomiarów na powierzchni materiałów opatrunkowych. Następnie przystąpiono do badań nad technologią wytwarzania czujników potencjometrycznych pH. Główną różnicą między drukiem elektrod na folii polimerowej a analogicznym procesem dla podłoża tekstylnego jest fakt, iż tkaniny lub włókniny stosowane do wyrobu opatrunków medycznych przeznaczonych do bezpośredniego kontaktu z ranami charakteryzuje zazwyczaj wysoka chłonność. Stanowi to duże utrudnienie dla stosowania past drukarskich, z uwagi na, będącą skutkiem wchłaniania pasty przez podłoże, niejednorodną strukturę warstwy. W efekcie jej właściwości zostają zaburzone, a odpowiedź przetwornika jest różna od przewidywanej.

Jako rozwiązanie dla powyższego problemu przyjęto nadruk dodatkowej warstwy pasty dielektrycznej, na której następnie wykonywano wszystkie procesy, opisane wcześniej dla elektrod drukowanych na folii polimerowej. Celem takiej modyfikacji procesu wytwarzania było wstępne nasycenie włókien i porów materiałem izolującym, uniemożliwiając tym samym dalsze wchłanianie pasty. Posłużono się przy tym pastą 8155 firmy DuPont, utwardzaną za pomocą światła ultrafioletowego, analogicznie do wytwarzania warstw izolacyjnych elektrod omawianych w poprzednich rozdziałach. Jako podłoże posłużył plaster Viscoplast Prestopor® z bawełnianym opatrunkiem włókninowym firmy 3M Poland. Oprócz tego proces technologiczny wytwarzania elektrod pH-czułych pozostał niezmienny względem wcześniej opisanego. W druku kontaktów elektrycznych użyto zatem pasty na bazie mikropłatów srebrowych oraz 8% wag. roztworu PMMA w OKB. Jako warstwa pH-czuła zastosowany został kompozyt PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP, oznaczony wcześniej symbolem RG-4. Jako wierzchnią izolację zastosowano ponownie pastę 8155, przy czym do jej utrwalenia użyto dwukrotności minimalnej dawki, zgodnie z wynikami przedstawionymi w rozdz. 7.3.3. Strukturę tak wytworzonej elektrody przedstawiono na Rys. 8.1.



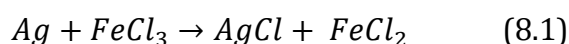
Rys. 8.1. Topologia przekroju elektrody pH-metrycznej drukowanej na włókninie opatrunkowej; nachodzenie na siebie dolnej warstwy izolującej i podłoża odpowiada nasączeniu włókniny pastą, co umożliwia nadruk kolejnych materiałów.

## 8.2. Technologia wytwarzania i badanie właściwości elektrochemicznych warstwy elektrody pseudoreferencyjnej

Wykonanie pomiaru z użyciem elektrod drukowanych na materiale opatrunkowym zakłada użycie niewielkiej objętości badanej próbki. Zanurzenie bowiem całości urządzenia w roztworze mogłoby skutkować zwarcieniem warstw przewodzących, co uniemożliwiłoby pomiar. Aby zatem go wykonać, konieczne było, w odróżnieniu od poprzednich etapów prac, gdzie stosowano elektrodę zewnętrzną, zapewnienie elektrody odniesienia wykonanej również jako elektroda planarna. Zgodnie ze standardami stosowanymi w pomiarach potencjometrycznych, postanowiono wykonać elektrodę chlorosrebrową [206–208]. W konwencjonalnych rozwiązaniach takie elektrody mają postać drutu srebrowego pokrytego warstwą chlorku srebra. Jest on z kolei zanurzony w nasyconym roztworze chlorku potasu, co gwarantuje stałą aktywność jonów chlorkowych w otoczeniu elektrody. Tym samym wymiana jonów Cl<sup>-</sup> między warstwą AgCl na elektrodzie a otoczeniem właściwie nie zachodzi, przez co potencjał elektrody można uznawać za stały w szerokim zakresie pH. W wypadku jednak elektrod planarnych drukowanych na opatrunkach, brak jest możliwości zanurzenia elektrody w roztworze o kontrolowanym składzie. Mimo to postanowiono wykorzystać elektrodę złożoną z pary Ag/AgCl, posiadającą w przybliżeniu stały potencjał w szerokim zakresie pH. Istotną wadą tego rozwiązania jest zależność potencjału elektrody Ag/AgCl od stężenia jonów chlorkowych w roztworze badanym. Tym samym w równaniu krzywej kalibracji czujników potencjał podstawowy  $E_0$  ogniwa pomiarowego może ulec zmianie. Postanowiono mimo to wykorzystywać warstwy Ag/AgCl jako elektrody pseudoreferencyjne, tj. zapewniające potencjał odniesienia przy założeniu w przybliżeniu

stałego stężenia  $\text{Cl}^-$  w próbce. Kwestię weryfikacji tego założenia omówiono dalej w rozdz. 9.3. w ramach badań nad odpowiedzią czujników w próbkach biologicznych.

Do druku warstw elektrodowych i jednocześnie połączeń elektrycznych użyto sit przedstawionych na Rys. 6.2.a. W procesie wykorzystano ponownie pastę na bazie mikropłatków srebra. W celu uzyskania na powierzchni kompozytu PMMA/Ag warstwy chlorku srebra na warstwę srebrową nanoszono roztwór zawierający 0,25M  $\text{FeCl}_3$  co pozwoliło przeprowadzić reakcję redoks (8.1), prowadzącą do powstania warstwy PMMA/Ag/AgCl. Dodatkowo dla przyspieszenia reakcji, roztwór zakwaszano poprzez dodatek 0,2M HCl.



Po wytworzeniu się warstwy chlorku srebra, widocznej dzięki zmianie zabarwienia materiału, elektrodę spłukiwano trzykrotnie wodą destylowaną. Na koniec w celu wysuszenia pozostałości roztworów, opatrunek z naniesionymi wszystkimi warstwami elektrod referencyjnych oraz pH-czułych umieszczana była na 20 min. w temperaturze  $110^\circ\text{C}$  w celu odparowania wilgoci. Tak przygotowane czujniki, składające się z elektrody pH-czułej oraz pseudoreferencyjnej przedstawiono na Rys. 8.2. Następnie, w celu weryfikacji funkcjonalności warstwy elektrody odniesienia, pojedyncze elektrody wycięto z materiału i mierzono ich potencjał względem konwencjonalnej elektrody Ag/AgCl stosowanej w poprzednio opisanych eksperymentach. Jako roztworu badanego ponownie użyto 50mM buforu kwasu cytrynowego, do którego dodawano stężony roztwór NaOH pod kontrolą pH-metru. Wyniki pomiarów przedstawiono na Rys. 8.3. Średni potencjał elektrody PMMA/Ag/AgCl w badanym przedziale pH (5,7÷7,9) oszacowano na  $\bar{E} = 62,08 \pm 6,90\text{mV}$  (poziom istotności 0,005). Podaną niepewność wartości potencjału ( $\Delta E$ ) można przełożyć na niepewność pomiaru pH w następujący sposób: Zakładając, że wartość prawdziwa pH może zostać obliczona ze wzoru (7.22), wartość oszacowana na podstawie pomiaru obciążonego błędem wynosi:

$$pH' = \frac{E - E_0 \pm \Delta E}{S} \quad (8.2)$$

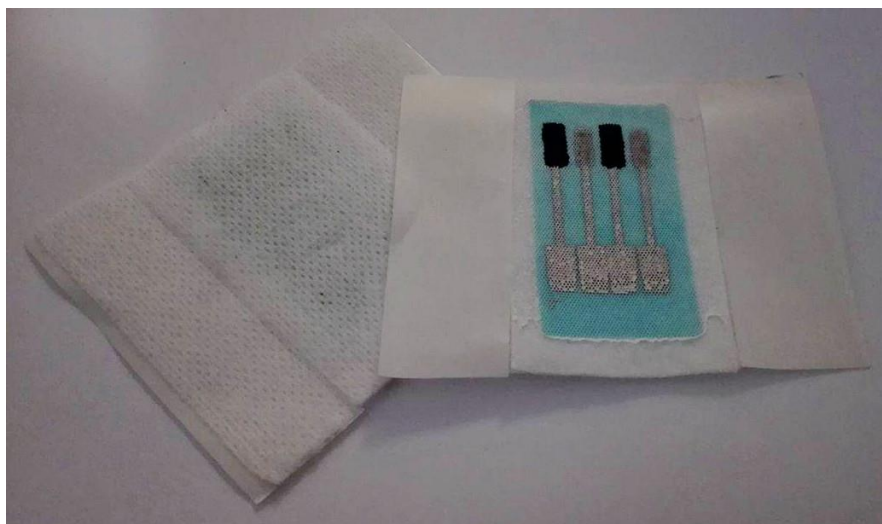
Zatem w takim wypadku błąd pomiaru  $\Delta pH$  będzie stanowił różnicę (7.22) – (8.2), tj.:

$$\Delta pH = \pm \frac{\Delta E}{S} \quad (8.3)$$

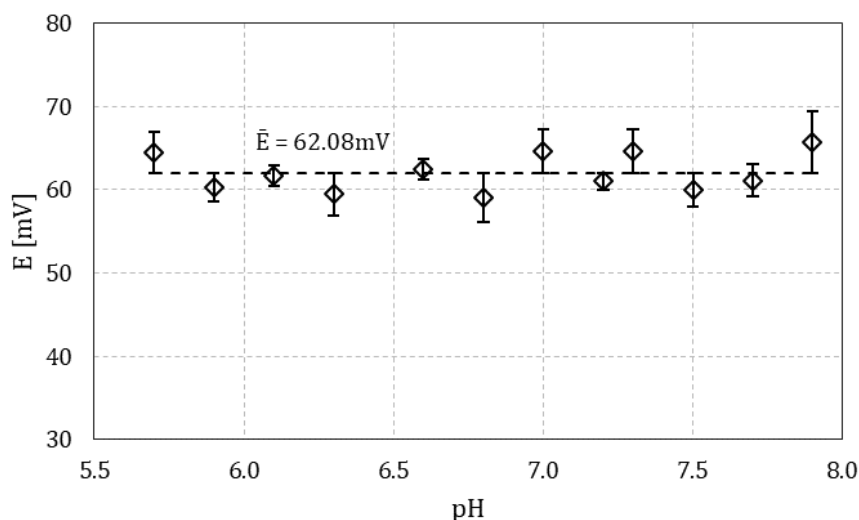
Co dla czułości uzyskanej dla kompozytu RG-4 daje wartość maksymalną błędu pomiaru pH wynikającą z odchylenia potencjału elektrody pseudoreferencyjnej:

$$\Delta pH = \pm 0,12 \quad (8.4)$$

Podobnie jak w przypadku niepewności spowodowanej odkształceniem kompozytu (rozdz. 7.4), powyższa wartość nie jest istotna w porównaniu ze zmianami pH, obserwowanymi przy przejściach pomiędzy kolejnymi fazami gojenia się ran. Na tej podstawie uznano, iż opracowana metoda wytwarzania elektrody pseudoreferencyjnej do pomiarów pH ran w zakresie 5,5÷8,0 spełnia stawiane jej warunki. Tym samym możliwe było przejście do kolejnego etapu prac, zakładającego pomiar pH przy użyciu wytworzonych elektrod.



Rys. 8.3. Elektrody pH-metryczne (PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP) i referencyjne (PMMA/Ag/AgCl) drukowane na standardowym opatrunku medycznym.



Rys. 8.2. Potencjał elektrody PMMA/Ag/AgCl rejestrowany względem elektrody Ag | AgCl<sub>(s)</sub>, KCl (4M) | KCl (1M)



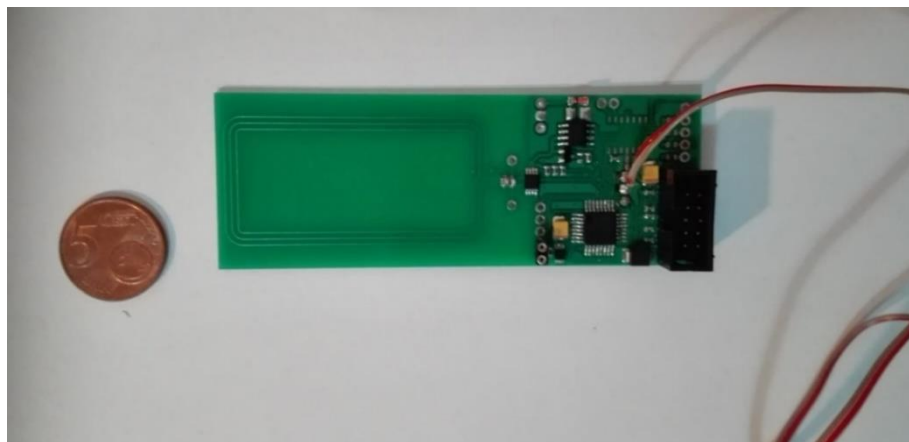
### **8.3. Badanie odpowiedzi pH-metrycznej czujników planarnych drukowanych na opatrunkach**

Z uwagi na charakter badań, mających na celu weryfikację funkcjonalności czujnika pH jako elementu systemu monitorowania stanu ran, zastosowano również inną metodę pomiaru samej wartości SEM przetwornika. Do odczytu tej odpowiedzi użyte zostało urządzenie wyposażone w system komunikacji NFC (ang. *near-field communication*). Ze względu na fakt, iż opracowanie urządzenia odczytującego wskazanie sensora pH nie należy do zakresu niniejszej pracy, zostanie ono jedynie skrótowo opisane poniżej. NFC jest standardem z zakresu technologii RFID (ang. *radio frequency identification*), wykorzystującej modulację sygnału radiowego o częstotliwości z pasma  $13,56\text{MHz} \pm 7\text{kHz}$  [209]. Cechą charakterystyczną tego protokołu, ze względu na którą zdecydowano się zastosować w projektowanym rozwiązaniu, jest komunikacja jedynie w polu bliskim, co w praktyce oznacza odległość nie większą niż 20cm. W ten sposób, pomijając możliwość szyfrowania danych, utrudniony jest niepożądany zdalny dostęp do przesyłanej informacji przy zachowaniu funkcjonalnych zalet komunikacji bezprzewodowej. W komunikacji NFC wykorzystanej w poniższym rozwiązaniu zastosowano protokół „czytnik-transponder”. Oznacza to, iż jedno z urządzeń biorących udział w komunikacji – czytnik – funkcjonuje jako aktywne, nadając inicjujący sygnał radiowy poprzez wbudowaną antenę. Drugie urządzenie – transponder – jest elementem biernym, nie posiadającym wewnętrznego źródła energii. Działa on jedynie w sytuacji, kiedy dostarczona zostanie do niego na zasadzie indukcji elektromagnetycznej energia w postaci sygnału z czytnika. Energia ta jest zazwyczaj magazynowana w kondensatorze i następnie wykorzystywana do zapisu lub odczytu danych w układzie transpondera, a w końcu do przesłania zmodulowanej fali radiowej z powrotem do czytnika, który z trybu nadawania przestawia się na odbiór sygnału.

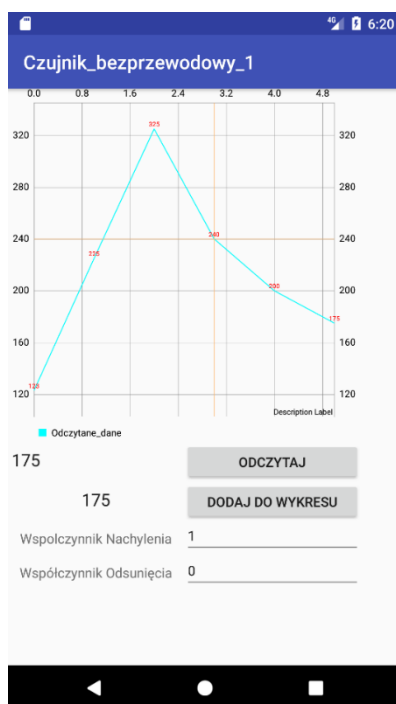
Upowszechnienie komunikacji RFID, chociażby w postaci zbliżeniowych kart płatniczych czy systemów pobierania opłat drogowych stało się również punktem wyjścia dla wprowadzenia standardu NFC. Technologia ta znajduje coraz szersze zastosowanie w wielu dziedzinach życia, o czym świadczy m.in. coraz częstsze wyposażanie telefonów komórkowych w interfejs NFC czy stosowanie tzw. „tagów NFC” (ang. *tag* – znacznik), czyli niewielkich naklejek, składających się odpowiednio dostrojonej anteny oraz zminiaturyzowanego mikroprocesora, który umożliwia zapis lub odczyt danych

przechowywanych w rejestrze pamięci. Służy to np. identyfikacji tożsamości, ewidencji towarów czy przesyłek lub wywoływaniu aplikacji zainstalowanych na urządzeniu czytnika. Z drugiej strony, interfejs NFC wbudowany w telefony komórkowe jest również wykorzystywany m.in. do dokonywania płatności zbliżeniowych z użyciem aplikacji bankowych.

W opisywanych badaniach jako transponder wykorzystywany był układ zaprojektowany we współpracy z Zakładem Projektowania Układów Scalonych i Systemów Instytutu Technologii Elektronowej (ITE) w Warszawie. Urządzenie (widoczne na Rys. 8.4) zostało wykonane w technologii PCB, z dwoma zaciskami pozwalającymi na włączenie elektrod sensora do układu pomiarowego. Głównym elementem systemu był układ scalony NT3H2211 z rodziny NTAG, amerykańskiej firmy NXP®. Zdecydowano się na wybór tego modelu ze względu na kilka czynników. Z jednej strony mikrokontroler posiada niewielkie rozmiary oraz wymaga do pracy minimalnej liczby elementów biernych, co umożliwia potencjalną miniaturyzację rozwiązania w przyszłości. Jednocześnie układ NT3H2211 posiada wszelkie funkcjonalności taga NFC, tj. obsługę magistrali I<sup>2</sup>C, 2kB pamięci EEPROM oraz 64 bajty pamięci SRAM, służącej jako bufor do transmisji danych. Do pomiaru wartości SEM czujnika zastosowano 8-bitowy mikroprocesor ATmega88V z rodziny AVR firmy Microchip (USA) z wbudowanym 10-bitowym przetwornikiem A/C. Jako czytnik użyty został telefon komórkowy z systemem operacyjnym Android™, wyposażony w interfejs NFC oraz opracowaną w tym celu (również we współpracy z ITE) aplikację konwertującą sygnał z transpondera na wartość liczbową, wyświetlaną na wykresie. Zrzut ekranu z aplikacji przedstawiono na Rys. 8.5.

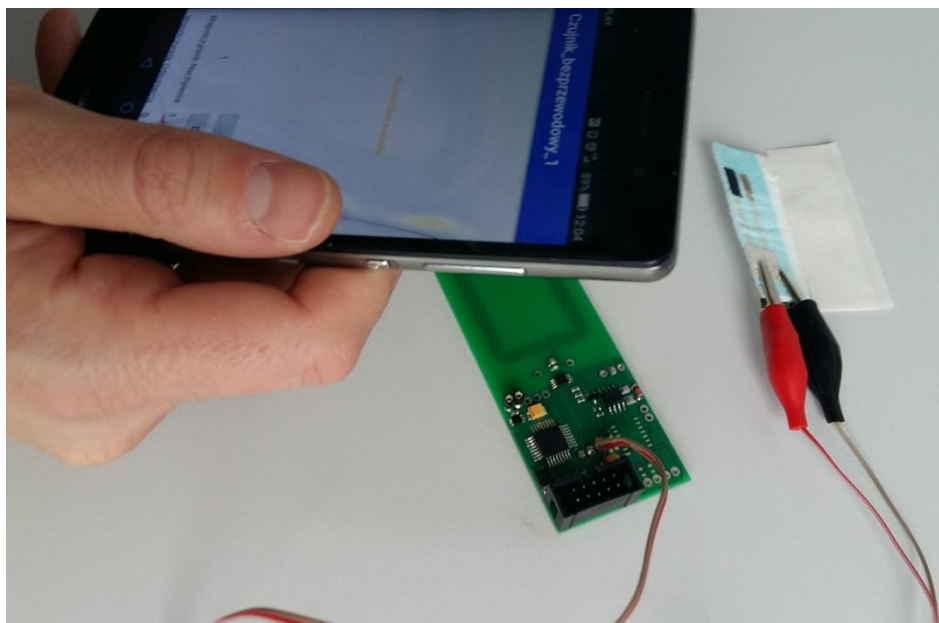


Rys. 8.4. Układ komunikacji NFC z mikroprocesorem NTAG oraz anteną w postaci cewki indukcyjnej dla częstotliwości 13,56MHz, wykonany w Zakładzie Projektowania Układów Scalonych i Systemów Instytutu Technologii Elektronowej (ITE) w Warszawie



Rys. 8.5. Zrzut ekranu z aplikacji mobilnej w systemie Android™ służącej do pomiaru SEM czujnika pH; na wykresie widocznych jest kilka przykładowych punktów pomiarowych, poniżej – możliwość wprowadzenie współczynników służących do kalibracji odczytu. Aplikacja również została opracowana we współpracy z ITE.

Po wytworzeniu czujników przystąpiono do badań ich odpowiedzi na zmienny poziom pH. Ponownie wykorzystano 50mM bufor kwasu cytrynowego, którego pH zwiększane było stopniowo poprzez dodatek nasyconego roztworu NaOH pod kontrolą pH-metru. W odróżnieniu jednak od poprzednich eksperymentów, jako punkt początkowy przyjęto pH = 5,7. Dodatkowo, z uwagi na fakt, iż tym razem pomiar nie mógł odbywać się w naczyniu z badanym roztworem, jak to opisano wyżej, próbka buforu była przy każdym kroku podawana z użyciem pipety na opatrunek z czujnikiem. Odczyt wartości SEM sensora wykonywany był za pomocą komunikacji NFC, co przedstawiono na Rys. 8.6. Wyniki pomiarów odpowiedzi potencjometrycznej sensorów dla 5 badanych przetworników przedstawiono na Rys. 8.7.

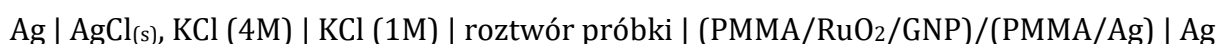


Rys. 8.6. Procedura pomiaru pH na opatrunku medycznym z użyciem komunikacji bezprzewodowej NFC

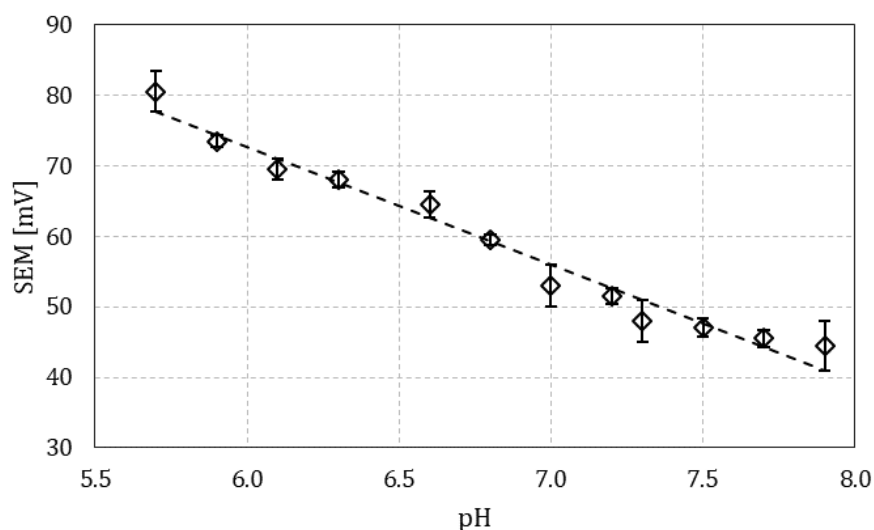
Tab. 8.1. Parametry regresji liniowej dla wyników pomiaru odpowiedzi potencjometrycznej czujników pH drukowanych na opatrunku, oszacowane dla poziomu istotności  $\alpha = 0,02$

$S$ [mV/pH]	$E_0$ [mV]	$\rho$	$R^2$
$-16,66 \pm 3,27$	172,61	-98,53%	97,09%

Jak wynika z Tabeli 8.1, czujniki wykonane na podłożu w postaci materiału opatrunkowego, wykazały zarówno mniejszą linowość odpowiedzi, jak również ponad trzykrotnie niższą czułość. Tak duży spadek funkcjonalności można przypisać topologii elektrod. Warstwa przewodząca, nadrukowana pomiędzy warstwą elektrody a warstwą izolującą, może bowiem, w przypadku nieszczelności jednej z warstw przyległych, również zostać wystawiona na kontakt z badanym roztworem. W takiej sytuacji kompozyt PMMA/Ag jest w równym stopniu źródłem odpowiedzi elektrody. Wynika to z faktu, iż rejestrowany potencjał stabilizuje się na granicach wszystkich składowych ogniwa, które w rozważanym przypadku miałyby następującą postać:



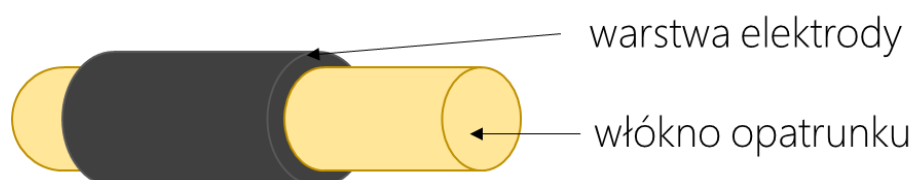
Tym samym sygnał pochodzący od właściwej warstwy pH-czułej oraz sygnał pochodzący od warstwy przewodzącej zostają uśrednione. To natomiast, ze względu na niską reaktywność cząstek srebra, powoduje znaczące zaniżenie nachylenia odpowiedzi. W celu zweryfikowania tego przypuszczenia oraz zniwelowania wpływu nasiąkania materiału podłoża roztworem badanym postanowiono opracować nową topologię elektrod, co jest przedmiotem kolejnego rozdziału.



Rys. 8.7. Wartości SEM zmierzone dla czujnika pH drukowanego na opatrunku włókninowym: elektroda wskaźnikowa: PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP, elektroda odniesienia: PMMA/Ag/AgCl

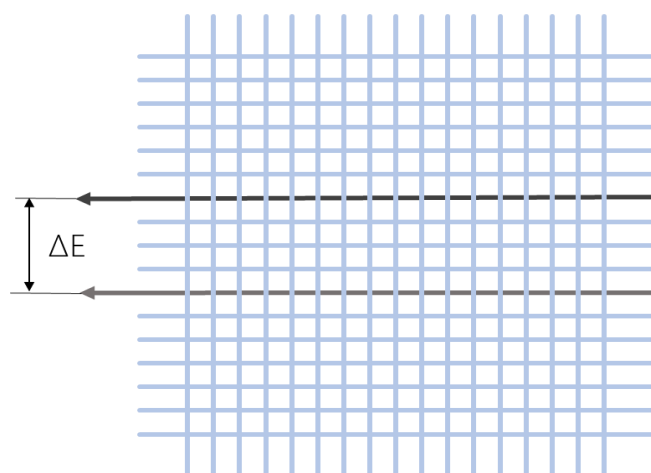
## 9. Technologia wytwarzania czujników pH na bazie pojedynczych włókien opatrunkowych

W poprzednim rozdziale przedstawiono problem niestabilności odpowiedzi elektrod wytwarzanych na tkaninach opatrunkowych. Jako wyjaśnienie tego zjawiska określono występowanie bezpośredniego styku kontaktów elektrycznych elektrod z badanym roztworem. W celu sprawdzenia tej hipotezy oraz rozwiązania opisanej trudności zaproponowano topologię elektrod wytwarzanych bezpośrednio na pojedynczych włóknach tkaniny. Zakłada to wykorzystanie włókna jako podłoża, które pokrywane jest warstwą kompozytową o właściwościach pH-metrycznych. Tym samym warstwa materiału elektrody, pokrywająca włókno, przy jego ewentualnym nasiąkaniu, wystawiona byłaby na kontakt z roztworem zarówno od strony zewnętrznej jak i wewnętrznej, co ilustruje poniższy rysunek:



Rys. 9.1. Schemat topologii elektrody czujnika wytwarzanej na pojedynczym włóknie tekstylnym

W przypadku omawianego w niniejszej pracy zastosowania elektrod pH-metrycznych do monitorowania gojenia się ran, elektrody tego typu stwarzałyby możliwość bezpośredniej integracji z opatrunkiem poprzez wplecenie modyfikowanych włókien w tkaninę opatrunkową. Przy założeniu, iż zarówno elektroda wskaźnikowa jak



Rys. 9.2. Wizualizacja pomiaru SEM ogniwa pH-metrycznego z wykorzystaniem elektrod włóknowych wplecionych w tkaninę opatrunkową

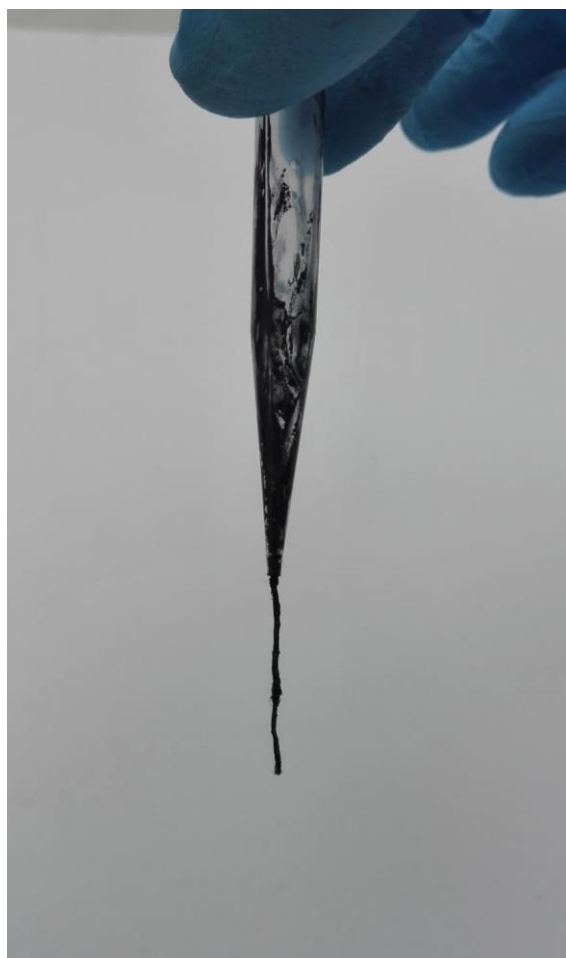
i odniesienia będą posiadały tę samą topologię, ideę odczytu SEM ogniwa pomiarowego w tak zaprojektowanym opatrunku można przedstawić następująco:

Należy jednocześnie podkreślić, że choć jest to rozwiązanie zbliżone do technologii wytwarzania elektrod membranowych typu drutu powlekanego (ang. *coated wire*), to jest to topologia wcześniej niewystępująca w literaturze dotyczącej czujników pH ani ISE. Ta druga topologia stanowi technikę wykorzystywaną jedynie we wstępnych badaniach membran jako prosta w wykonaniu natomiast niedoskonała ze względu na brak warstwy przejściowej (patrz. rozdz. 4.1.2). Z tego powodu pomiędzy membraną ISE a drutem przewodzącym powstaje cienka warstwa roztworu dyfundującego przez membranę. Tym samym, ponieważ dyfuzja ta zachodzi ciągle, elektrody *coated wire* wykazują znaczący dryft potencjału. Wobec powyższego można uznać rozwiązanie w postaci elektrody tlenkowej wytwarzanej na włóknie opatrunkowym za zupełnie nowe. Z tego powodu dalszym etapem pracy było opracowanie technologii pozwalającej osiągnąć parametry pracy czujników pH na bazie elektrod włóknowych – czułość, powtarzalność, stabilność – porównywalne z wynikami uzyskanymi dla elektrod planarnych drukowanych na folii polimerowej.

### **9.1. Technologia wytwarzania elastycznych elektrod włóknowych**

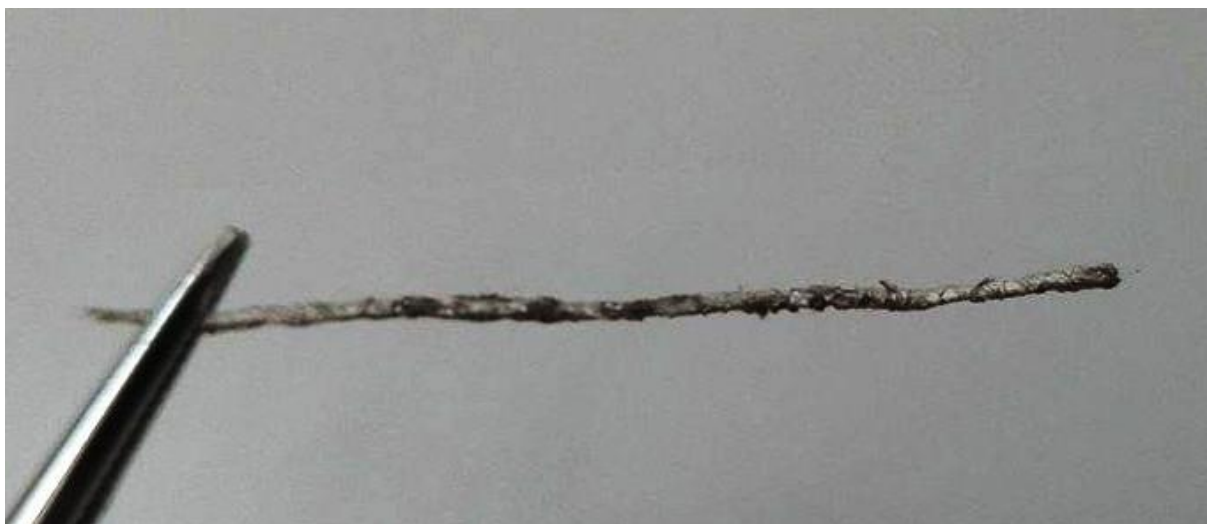
Przebieg procesu pokrywania włókien pastą drukarską zależy w największym stopniu od użytego nośnika. Odpowiada on w znacznej mierze za reologię pasty, wymaganą temperaturę i czas utwardzania oraz końcowe właściwości mechaniczne i morfologię warstwy. Z tego powodu w niniejszym rozdziale przedstawiono jako jedno zagadnienie procesy wytwarzania zarówno elektrod wskaźnikowych jak i referencyjnych. W celu weryfikacji zastosowanych procesów technologicznych przedstawiono również wyniki badań analogicznych do zamieszczonych w poprzednich rozdziałach. Do wytwarzania elektrod włóknowych zastosowane zostały włókna jednofilamentowego poliestru 051 firmy Karl Otto Braun GmbH (Niemcy) [210]. Materiał ten przeznaczony jest do wytwarzania opatrunków medycznych stosowanych do transdermalnego podawania leków. Zapewnia to jego odpowiednią chłonność oraz biogodność w kontekście projektowanego rozwiązania. Jednocześnie wcześniejsze wykorzystanie włókien poliestrowych do przygotowywania sit drukarskich potwierdziło odporność tego materiału na działanie rozpuszczalników zawartych w stosowanych pastach.

Jako pierwsze wytwarzane były włóknowe elektrody pH-czułe. Opracowana pasta RG-4 rozcieńczana była poprzez dodatek 5% obj. acetonu w celu ułatwienia pokrywania włókien przez materiał. Następnie pojedyncze włókno zanurzane było całkowicie w paście i pozostawiane na 5 min. w celu nasączenia substratu (Rys. 9.3a). Dla uzyskania równomiernej warstwy i zebrania nadmiaru pasty w kolejnym kroku włókno było przeciągane przez końcówkę pipety automatycznej o średnicy otworu wyjściowego 0,83 mm [211], co przedstawiono na Rys. 9.3b. Kompozytu utwardzany był w następnej kolejności poprzez suszenie włókien w temperaturze 120°C przez 20 min. W ostatnim etapie procesu technologicznego elektrody wskaźnikowe poddawane były naświetlaniu promieniowaniem UV zgodnie z rozdz. 7.3.3. W celu wytworzenia elektrod referencyjnych włókna poliestrowe poddawane były analogicznemu procesowi z użyciem pasty zawierającej nośnik 8% wag. PMMA w OKB oraz mikropłatki srebrowe. Po wysuszeniu włókna pokryte warstwą PMMA/Ag zanurzane były w roztworze 0,25M FeCl<sub>3</sub> oraz 0,2M HCl w celu wytworzenia warstwy AgCl (Rys. 9.4) zgodnie z równaniem 8.1.



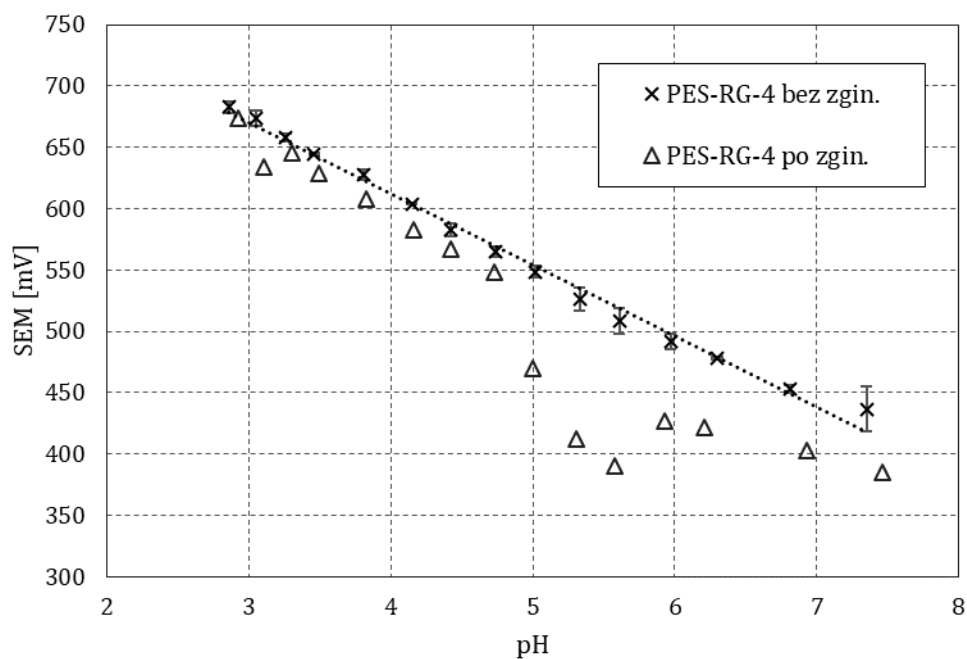
Rys. 9.3. Pokrywanie włókna opatrunkowego pastą PMMA/RuO<sub>2</sub>/GNP



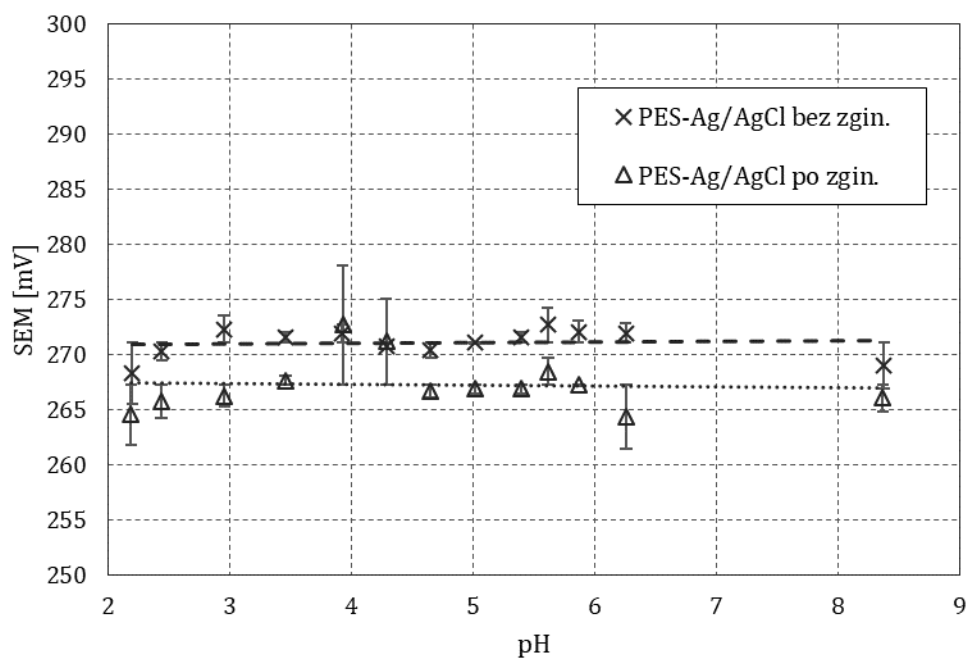


Rys. 9.4. Włókno opatrunkowe pokryte warstwą kompozytu PMMA/Ag oraz wytworzoną chemicznie warstwą AgCl

Po wytworzeniu włókien poliestrowych z warstwą kompozytu RG-4 (elektrody PES-RG-4) oraz PMMA/Ag/AgCl (PES-Ag/AgCl), badano ich odpowiedź potencjometryczną na zmiany pH analogicznie do procedur opisanych w poprzednich rozdziałach. W pierwszej kolejności zastosowano układ ze stacją pomiarową EMF-16 oraz konwencjonalną elektrodą odniesienia Ag/AgCl. Miało to na celu wyeliminowanie ewentualnych zakłóceń pomiaru związanych z nową topologią elektrod. Analizę odpowiedzi elektrod wskaźnikowej i pseudoreferencyjnej przedstawiają odpowiednio tabele 9.1. i 9.2. Jednocześnie z uwagi na obserwowaną kruchość kompozytu postanowiono zbadać zmianę parametrów odpowiedzi elektrod po poddaniu włókien odkształceniom mechanicznym analogicznie do procedury opisanej w rozdz. 7.4. Ze względu na widoczne naruszenie kompozytu, ponowny pomiar odpowiedzi potencjometrycznej elektrod wykonano po 100 cyklach zginania elektrod o kąt  $180^\circ$ . Zarejestrowane wartości SEM ogniw pomiarowych złożonych z elektrody Ag/AgCl z ciekłym elektrolitem oraz z elektrod PES-RG-4 i PES-Ag/AgCl przedstawione zostały odpowiednio na Rys. 9.5. i 9.6.



Rys. 9.6. Wartości SEM ogniw zawierających elektrody włóknowe PES-RG-4 przed i po 100 cyklach zginania o kąt 180°. Z uwagi na występowanie zakłóceń odpowiedz pH-metrycznej, wykres „Δ” przedstawia wartości dla pojedynczej elektrody.



Rys. 9.5. Potencjały elektrod PES-Ag/AgCl rejestrowane względem elektrody Ag | AgCl<sub>(s)</sub>, KCl (4M) | KCl (1M)

Tab. 9.1. Parametry odpowiedzi potencjometrycznej elektrod PES-RG-4 na zmiany pH

PES-RG-4	$S$ [mV/pH]	$E_0$	$\rho$	$R^2$
przed testem zginania	$-57,83 \pm 3,83$	407,86	-98,99%	97,98%
po teście zginania	$-71,45 \pm 19,27$	450,86	-98,67%	97,36%

Tab. 9.2. Średnie potencjały oraz wynikające z nich niepewności pomiarowe dla elektrod pseudoreferencyjnych PES-Ag/AgCl przed i po 100 cyklach zginania o kąt 180°

PES-Ag/AgCl	$E_0$	$\Delta pH$
przed testem zginania	$271,08 \pm 3,06$	$\pm 0,05$
po teście zginania	$267,32 \pm 5,00$	$\pm 0,09$

Jak wynika z Tab. 9.2, dla elektrod pseudoreferencyjnych o topologii opartej na włóknach opatrunkowych uzyskano mniejsze wartości niepewności pomiaru pH niż dla elektrod planarnych drukowanych na włókninie. Jest to zgodne z przewidywaniami przedstawionymi na początku niniejszego rozdziału. Jednocześnie po poddaniu odkształceniom elektrody pseudoreferencyjne nie wykazały znaczących zmian średniej wartości potencjału. Przedstawione parametry analityczne elektrod PES-Ag/AgCl uznano tym samym za spełniające stawiane im wymagania.

Włóknowe elektrody wskaźnikowe również zgodnie z przewidywaniami wykazały wzrost czułości na zmiany pH. Jak opisano wcześniej, można to powiązać z eliminacją efektu nasiąkania podłoża roztworem badanym, co pozwala na szybkie ustabilizowanie się równowagi elektrochemicznej na powierzchni elektrod. Jednocześnie, jak ilustruje to Rys. 9.5, elektrody poddane odkształceniom wykazywały zakłócenie odpowiedzi uniemożliwiające wykorzystanie ich w pomiarach. Miało to miejsce mimo dużo mniejszej liczby cykli zginania niż w przypadku elektrod planarnych. Można wytłumaczyć to obserwowaną kruchością kompozytu, która prowadzi do powstania pęknięć. W efekcie warstwa zawierająca GNP, odpowiedzialna za przewodnictwo elektryczne materiału, zostaje przerwana, a opór elektryczny elektrody znacząco wzrasta. Prowadzi to do

wzmocnienia zakłóceń sygnału, związanych z transportem ładunków między elektrodą a podwójną warstwą elektryczną (por. rozdz. 6.2). Taka właściwość kompozytu wyklucza jego zastosowanie w projektowanym rozwiązaniu, gdyż czujnik zintegrowany z opatrunkiem medycznym docelowo poddawany będzie odkształceniom w trakcie użytkowania. Tym samym uznano, iż konieczne jest opracowanie nowego kompozytu o większej elastyczności.

Punktem wyjścia dla opracowania nowego kompozytu pH-metrycznego były proporcje objętościowe podane dla kompozytu RG-4 w Tab. 7.3. Na ich podstawie przygotowano pastę zawierającą jako nośnik 8% wag. roztwór poliuretanu termoplastycznego (TPU) w dimetyloformamidzie (DMF). Polimer ten został wyselekcjonowany na podstawie jego biogodności oraz dużej odporności na wielokrotne odkształcanie. Analogicznie do wcześniej opisanych procesów przygotowania past, pasta TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP poddawana była najpierw wstępnemu ucieraniu w moździerzu agatowym a następnie walcowaniu z użyciem trójwalcarki z wałkami z węgliku krzemu o szczelinie 5µm. Przed dodaniem do pasty GNP poddawane były sonikacji w acetonie z dodatkiem surfaktanta w proporcji 2% wag. Następnie tak przygotowana pasta (ozn. TRG-4) posłużyła do wytworzenia elektrod włóknowych w procesie technologicznym analogicznym do opisanego wyżej dla pasty RG-4. Jedyne różnice polegały na zastosowaniu innego rozpuszczalnika w celu rozrzedzenia pasty przed zanurzeniem włókna oraz na zastosowaniu niższej temperatury suszenia. Zamiast acetonu wykorzystany został tetrahydrofuran (THF), natomiast z uwagi na niższe temperatury wrzenia DMF i THF w porównaniu z OKB, do suszenia elektrod zastosowano temperaturę 80°C. Jedną z wytworzonych w ten sposób elektrod przedstawiono na Rys. 9.7. Przygotowano pastę zawierającą fazę srebrową: do nośnika 8% wag. TPU w DMF dodano mikropłatki srebrowe AX 20LC o średniej średnicy 2µm (Amepox Microelectronics Sp. z o.o., Łódź), poddane wcześniej 10min. sonikacji w acetonie. Mieszanina była ucierana w moździerzu agatowym, a następnie przewalcowano z użyciem trójwalcarki. Uzyskana w ten sposób pasta posłużyła do pokrycia włókien opatrunkowych, które po wysuszeniu w temperaturze 80°C zanurzane były w roztworze 0,25M FeCl<sub>3</sub> oraz 0,2M HCl w celu wytworzenia warstwy AgCl. Wytworzono w ten sposób elektrody pseudoreferencyjne PES-TAgAgCl.

Następnie przeprowadzono badania odpowiedzi potencjometrycznej elektrod PES-TRG-4 przed i po 100 cyklach zginania o kąt  $180^\circ$ . Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 9.3. Pomiary ponownie przeprowadzono z użyciem elektrody  $\text{Ag} | \text{AgCl}_{(s)}$ ,  $\text{KCl}$  (4M) |  $\text{KCl}$  (1M) jako elektrody odniesienia. Jak wynika z przeprowadzonej analizy czułość elektrod przed i po teście odkształcenia nie uległa istotnej zmianie (poziom  $\alpha = 0,01$ ). Świadczy to o zachowaniu przez kompozyt struktury odpowiedzialnej za tworzenie się podwójnej warstwy elektrycznej. Na tej podstawie stwierdzono, iż technologia wytwarzania warstwy kompozytu pH-czułego na powierzchni włókien opatrunkowych spełnia stawiane jej wymagania elastyczności oraz liniowości i powtarzalności odpowiedzi. Jednocześnie uzyskane wyniki są porównywalne w zakresie niepewności oszacowania z danymi dla elektrody z kompozytu RG-4 niepoddanego działaniu promieniowania UV (por. tab. 7.5). Potwierdza to hipotezę o zależności czułości elektrody składu objętościowego materiału ją tworzącego.



Rys. 9.7. Elektroda pH-metryczna na bazie włókna poliestrowego oraz kompozytu  $\text{TPU}/\text{RuO}_2/\text{GNP}$

Tab. 9.3. Parametry odpowiedzi potencjometrycznej elektrod PES-TRG-4 na zmiany pH przed i po 100 cyklach zginania (oszacowanie czułości dla poziomu istotności  $\alpha = 0,01$ )

PES-TRG-4	$S$ [mV/pH]	$E_0$	$\rho$	$R^2$
przed testem zginania	$-48,01 \pm 2,61$	759,82	-99,55%	99,41%
po teście zginania	$-48,42 \pm 4,72$	704,38	-98,64%	97,30%

Tak samo jak w przypadku elektrod na bazie kompozytów o osnowie z PMMA, również dla elektrod PES-TRG-4 obserwowano znaczące zmiany sygnału pod wpływem promieniowania UV. Postanowiono zatem, analogicznie do procesu opisanego w rozdz. 7.3.3., poddać elektrody naświetlaniu ultrafioletem.

## 9.2. Badanie odpowiedzi potencjometrycznej włóknowych czujników pH

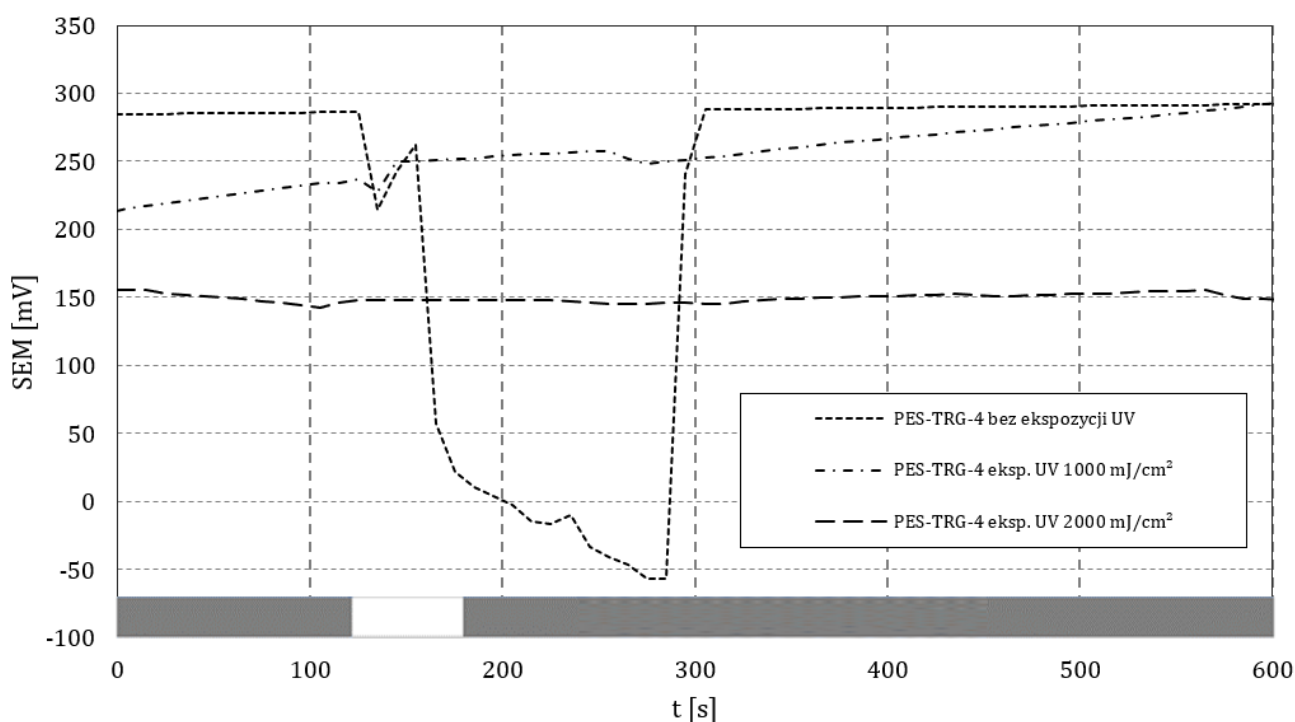
W pierwszej kolejności zastosowano dawkę  $1000\text{mJ}/\text{cm}^2$ . Następnie elektrody wskaźnikowe (niepoddane ekspozycji oraz naświetlone UV) umieszczono w buforze pomiarowym (50mM roztwór kwasu cytrynowego) i poddano zmiennej ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe, mierząc jednocześnie SEM ogniw (analogicznie do eksperymentów opisanych w rozdz. 7.3.3). We wszystkich poniższych pomiarach jako elektrodę odniesienia zastosowano elektrody włóknowe PES-TAgAgCl. Zaobserwowano jednak jedynie zmniejszenie zakłóceń, a nie ich brak, dlatego elektrody poddano powtórnemu naświetleniu. Zarejestrowane wartości SEM przedstawiono na Rys. 9.8. Jak wynika z poniższych danych, stabilność odpowiedzi elektrod PES-TRG-4 poddanych naświetleniu dawką  $2000\text{mJ}/\text{cm}^2$  uległa znaczącej poprawie względem elektrod nienaświetlanych oraz poddanych działaniu dwukrotnie niższej dawki. Oszacowano następnie dryft sygnału oraz odchylenie standardowe SEM ogniwa pomiarowego zawierającego te elektrody i związaną z tym niepewność pomiaru pH z użyciem czujnika włóknowego (8.1-8.3). Jednocześnie po wykonaniu pomiaru SEM ogniwa dla elektrod poddanych naświetlaniu UV w roztworze o zmiennym pH nie zaobserwowano zmiany czułości elektrod (tab. 9.4), jak to miało miejsce w przypadku kompozytu RG-4 po naświetleniu dawką  $1300\text{mJ}/\text{cm}^2$  (tab. 7.5).

$$d_{SEM} < 20\text{mV/h} \quad (9.1)$$

$$\sigma_{SEM} \approx 0,77\text{mV} \quad (9.2)$$

co przekłada się na niepewność pomiaru pH

$$\Delta\text{pH} \approx \pm 0,2 \quad (9.3)$$



Rys. 9.8. Porównanie sygnałów SEM rejestrowanych przez 10min. dla elektrod włóknowych z kompozytu TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP przy zmiennym oświetleniu promieniowaniem ultrafioletowym, zaznaczonym wzdłuż osi czasu: obszar zacieniony – brak ekspozycji, obszar niezacieniony – elektrody wystawione na promieniowanie UV; *bez eksp.* – elektrody niepoddane wcześniej działaniu UV, *po eksp.* – elektrody po naświetleniu dawką 2000mJ/cm<sup>2</sup>

Tab. 9.4. Parametry odpowiedzi potencjometrycznej elektrod PES-TRG-4 na zmiany pH w zależności od zastosowanej dawki promieniowania UV (oszacowanie czułości dla poziomu istotności  $\alpha = 0,01$ )

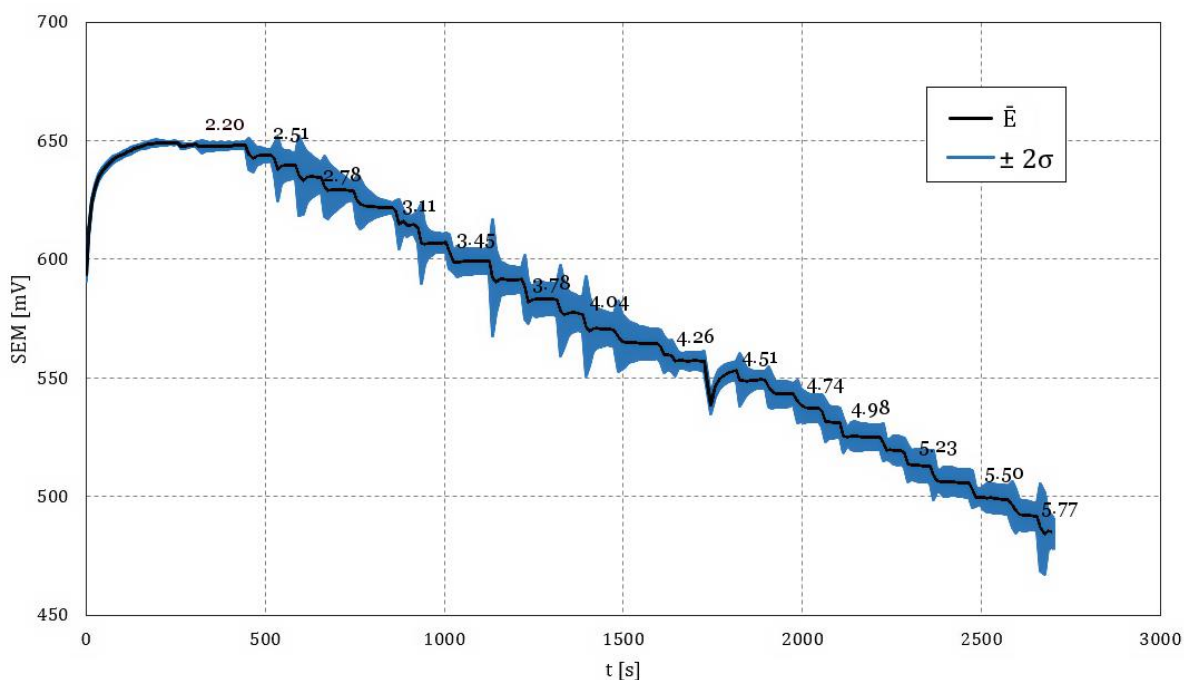
$D_{UV}$ [mJ/cm <sup>2</sup> ]	$S$ [mV/pH]	$E_0$ [mV]	$\rho$	$R^2$
0	-48,01 ± 2,61	759,82	-99,55%	99,41%
1000	-48,10 ± 2,19	722,24	-99,56%	99,11%
2000	-47,08 ± 2,09	753,37	-99,67%	99,33%

Brak obserwowanej zmiany czułości elektrod wskaźnikowych na bazie kompozytów z osnową z TPU po naświetleniu ultrafioletem można wyjaśnić następująco: Polimery z rodziny poliuretanów oraz kompozyty z ich udziałem wykazują odporność na degradację pod wpływem działania promieniowania UV [212–215]. Wynika ona z odwrotnego niż w przypadku PMMA oddziaływania materiału ze światłem ultrafioletowym, które polega na tworzeniu się nowych wiązań między cząsteczkami poliuretanu (siecienianie) [216], a nie rozpadzie makrocząsteczek. Efektem tego jest co

prawda zwiększona kruchość polimeru, wynikająca z usztywnienia połączeń międzycząsteczkowych, oraz zmiana zabarwienia [216]. Jednocześnie zastosowana dawka 2000mJ/cm<sup>2</sup> nie spowodowała zmiany właściwości mechanicznych elektrod oraz zmiany parametrów ich odpowiedzi po poddaniu ich odkształceniom. Zarejestrowaną krzywą zmian SEM oraz zależność SEM od pH dla ogniów pomiarowych:

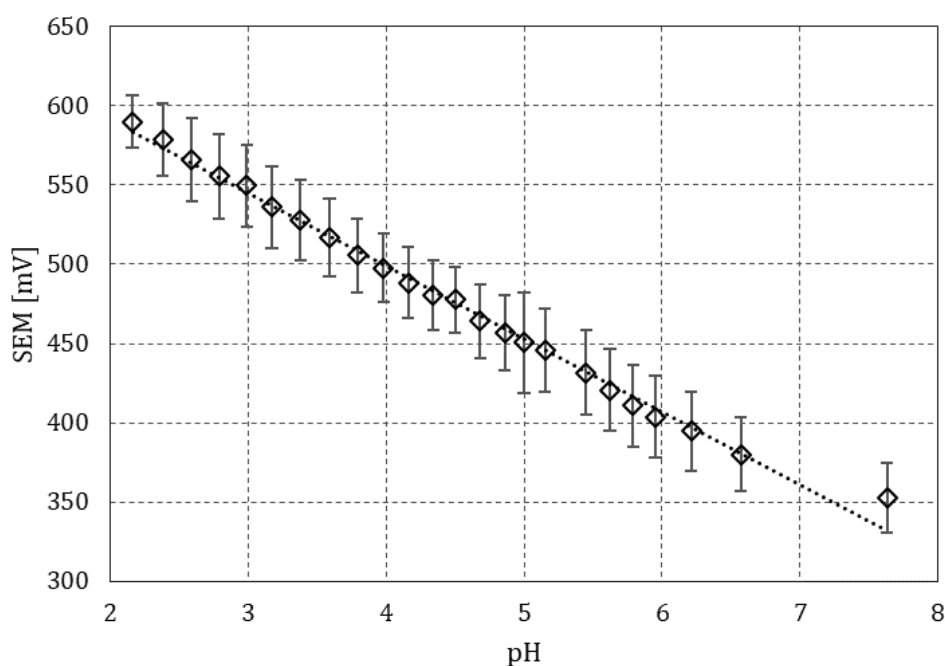
(TPU/Ag/AgCl) | roztwór próbki | (TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP)

przedstawiono na Rys. 9.9. i 9.10.



Rys. 9.9. Przebieg zmian SEM ogniwa pomiarowego złożonego z dwóch elektrod włóknowych: wskaźnikowej PES/TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP i pseudoreferencyjnej PES/TPU/Ag/AgCl w 50mM buforze kwasu cytrynowego przy zmianach pH zaznaczonych powyżej; linia ciągła – wartość średnia SEM obliczona dla 5 elektrod wskaźnikowych (wspólna elektroda odniesienia), obszar zaznaczony na niebiesko – przedział 95,5% pewności





Rys. 9.10. Zależność SEM od pH dla ogniwa pomiarowego złożonego z dwóch elektrod włóknowych: wskaźnikowej na bazie kompozytu TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP oraz pseudoreferencyjnej TPU/Ag/AgCl w 50mM buforze kwasu cytrynowego

Na podstawie powyższych danych uznano, iż osiągnięty został cel postawiony w rozdz. 5. niniejszej pracy: opracowano technologię wytwarzania elektrod wskaźnikowej oraz odniesienia, wchodzących w skład potencjometrycznego czujnika pH. Elektrody wykazały brak zakłóceń odpowiedzi pod wpływem zarówno odkształceń mechanicznych jak i zmiennego oświetlenia. Czujniki wykazały również wysoką liniowość odpowiedzi. Ograniczenie czułości elektrody wskaźnikowej, wynikające z reologii pasty drukarskiej (por. rozdz. 7.3.2) uznano za mniej znaczące z uwagi na wysoką powtarzalność pomiaru.

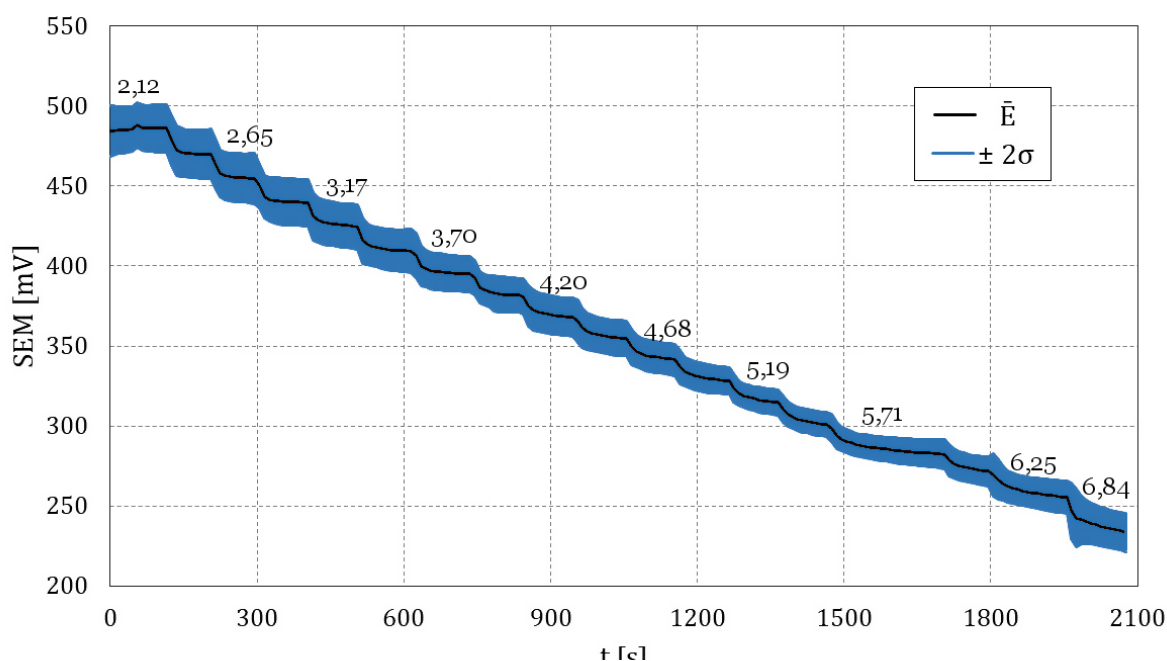
### 9.3. Badania odpowiedzi potencjometrycznej czujników włóknowych w materiale biologicznym

Aby zbadać przydatność opracowanych czujników w monitorowaniu pH ran przeprowadzono pomiary w próbce rzeczywistej. Pierwszym krokiem w tym celu było zbadanie zależności sygnału czujników od pH dla roztworu o stężeniu jonów chlorkowych odpowiadającym stężeniu w wysięku z rany. Jest to związane z opisaną w rozdz. 8.2. zależnością potencjału elektrody Ag/AgCl od aktywności jonów Cl<sup>-</sup>. Dostępne na ten temat prace badawcze [216, 217] nie podają niestety wyczerpujących informacji, ograniczając

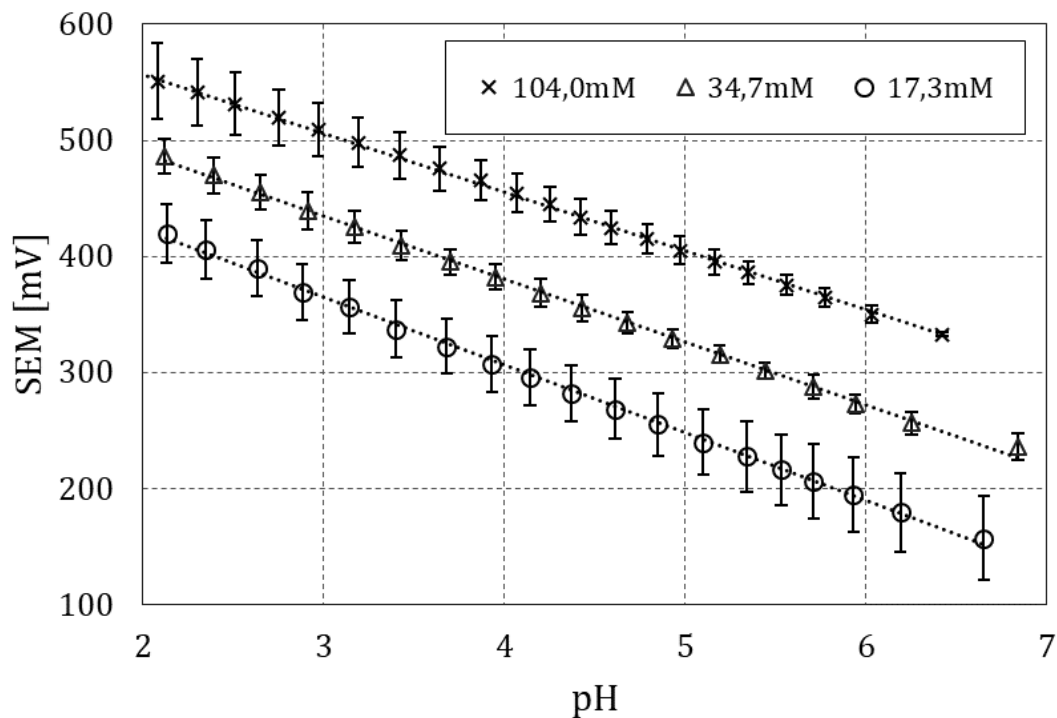
się jedynie do stwierdzenia, iż stężenie  $\text{Cl}^-$  w wysięku z ran jest identyczne ze stężeniem w płynie surowiczym. Normą dla tego stężenia jest z kolei przedział wartości 98-110mM [219]. Z uwagi na możliwą gęstą konsystencję wysięku z ran, przewidywano konieczność rozcieńczenia próbki. W przeciwnym wypadku niemożliwe byłoby umieszczenie w próbce zbyt wiotkich elektrod włóknowych. Z tego powodu przeprowadzono badanie zależności SEM od pH dla roztworów 50mM kwasu cytrynowego o różnym stężeniu  $\text{Cl}^-$ . Były to kolejno: 104,0mM, 34,7mM oraz 17,3mM, odpowiadające próbce nierozcieńczonej, rozcieńczeniu 1:2 oraz 1:4. Przebieg SEM czujnika dla roztworu o zmiennym pH, zawierającego  $\text{Cl}^-$  w stężeniu 34,7mM przedstawiono na Rys. 9.11 natomiast parametry zależności wyznaczone dla wszystkich trzech prób zebrano w tabeli 9.5. oraz zilustrowano na Rys. 9.12.

Tab. 9.5 Parametry odpowiedzi potencjometrycznej czujników włóknowych pH w zależności od stężenia jonów  $\text{Cl}^-$  w roztworze (oszacowanie czułości dla poziomu istotności  $\alpha = 0,01$ )

$C_{\text{Cl}^-}$ [mM]	$S$ [mV/pH]	$E_0$ [mV]	$\rho$	$R^2$
104,0	$-50,72 \pm 0,98$	608,14	-99,95%	99,91%
34,7	$-54,20 \pm 1,47$	597,25	-99,93%	99,86%
17,3	$-58,39 \pm 1,42$	589,50	-99,94%	99,89%



Rys. 9.11. Przebieg zmian SEM ogniwa pomiarowego złożonego z dwóch elektrod włóknowych: wskaźnikowej PES/TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP i pseudoreferencyjnej PES/TPU/Ag/AgCl w 50mM buforze kwasu cytrynowego przy stężeniu  $[\text{Cl}^-] = 34,7\text{mM}$  oraz zmianach pH zaznaczonych powyżej; linia ciągła – wartość średnia SEM obliczona dla 5 elektrod wskaźnikowych (wspólna elektroda odniesienia), obszar zaznaczony na niebiesko – przedział 95.5% pewności



Rys. 9.12. Porównanie zależności SEM od pH dla ogniwa pomiarowego złożonego z dwóch elektrod włóknowych: wskaźnikowej na bazie kompozytu TPU/RuO<sub>2</sub>/GNP oraz pseudoreferencyjnej TPU/Ag/AgCl w roztworach o różnym stężeniu jonów Cl<sup>-</sup>; parametry zależności – patrz tab. 9.5; dla zachowania czytelności serie 104,0mM oraz 17,3mM zostały przesunięte odpowiednio o +50mV i -50mV

Po wykonaniu powyższych pomiarów przeprowadzono pomiar pH wysięku pochodzącego z trudno gojącej się rany pooperacyjnej. Próbkę została pobrana w trakcie planowego zabiegu oczyszczania rany w Klinice Ortopedii, Traumatologii i Medycyny Sportowej Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie. Objętość pobranej próbki wynosiła 3ml. Przed wykonaniem pomiarów próbkę rozcieńczono poprzez dodatek 6ml wody destylowanej, co według analizy literaturowej odpowiada stężeniu chlorków ok. 34,7mM. Jednakże ze względu na obecność w próbce dużej ilości aglomeratów cząstek biologicznych tylko część objętości wysięku została w pełni rozcieńczona, co wprowadziło niepewność pomiaru. Ponieważ nierozcieńczone aglomeraty stanowiły poniżej połowy objętości próbki badanej, można przyjąć, iż stężenie Cl<sup>-</sup> w niej zawiera się pomiędzy 17,3mM a 34,7mM. W pierwszej kolejności wykonano pomiar pH próbki za pomocą pH-metru wyposażonego w elektrodę z membraną szklaną. Uzyskano w ten sposób wynik:

$$pH = 7,41 \quad (9.4)$$

Następnie w próbce umieszczono elektrody włóknowe opracowanego czujnika i wykonano pomiar z użyciem opisanego w rozdz. 8.3. modułu bezprzewodowego odczytu. Jednocześnie elektrody podłączone były do woltomierza cyfrowego w celu określenia stabilizacji sygnału. Zmierzone wartości SEM czujników zostały następnie przeliczone na wartości pH na podstawie wzoru (7.22). Z uwagi na opisaną wyżej niepewność wynikającą ze stężenia  $\text{Cl}^-$  oraz na niepewności dopasowania zależności SEM od pH (tab. 9.5), wyznaczono granice przedziałów 99,5% prawdopodobieństwa dla granicznych stężeń chlorków w próbce. Wyniki obliczeń przedstawiono w tab. 9.6. Zmierzona wartość SEM czujnika włóknowego dla 3 elektrod wskaźnikowych wynosiła:

$$\bar{E} = 299,8 \pm 11,4 \quad (9.5)$$

Tab. 9.6. Wartości pH próbki wysięku z rany oszacowane dla wyników pomiaru z użyciem czujnika włóknowego dla granicznych wartości stężeń  $\text{Cl}^-$  w próbce (poziom istotności  $\alpha = 0,05$ )

$C_{\text{Cl}^-}$ [mM]	17,3	34,7
pH	$4,97 \pm 0,28$	$5,64 \pm 0,32$

Jak wynika z powyższych obliczeń, wartość pH próbki, oszacowana na podstawie pomiarów, zawiera się z 99,5% prawdopodobieństwem w przedziale:

$$pH \in < 4,70 \div 5,96 > \quad (9.6)$$

Rozbieżność wyników uzyskanych powszechnie stosowaną metodą oraz za pomocą opracowanego rozwiązania jest bardzo duża. Pierwszy wynik odpowiada ranie w fazie ziarninowania i stanu zakażenia bakteryjnego [1], drugi natomiast – ranom o dużym udziale ropy oraz tkanki nekrotycznej [54]. Możliwym wyjaśnieniem tej niezgodności wyników jest udział fazy nierozcieńczonej w próbce. Na podstawie oceny wizualnej można stwierdzić, iż faza ta składała się w znacznej mierze z tkanki ziarninowej. Zatem w przypadku zetknięcia membrany szklanej z tą tkanką wskazanie pH-metru odpowiadałoby wartościom alkalicznym. Z drugiej strony w przejrzystej, prawidłowo rozcieńczonej fazie próbki, mogły być obecne inne produkty metaboliczne gojenia się ran, np. ropa, limfa. W tej sytuacji przeprowadzone rozcieńczenie próbki mogło spowodować rozdzielanie dwóch faz – ziarninowej oraz nekrotycznej, których pH znacząco się różnią. Dodatkową trudność w interpretacji uzyskanego wyniku jest bardzo duża (ok. 0,63) niepewność pomiaru pH wynikająca w znacznej mierze z braku informacji o rzeczywistym stężeniu jonów chlorkowych w badanej próbce.

Aby wyeliminować powyższe niepewności, konieczne jest przede wszystkim opracowanie dokładnej metodologii pobierania próbek wysięku z ran o różnym charakterze i na różnych etapach procesu gojenia. Tylko w ten sposób możliwe będzie uzyskanie wiarygodnych wyników zarówno techniką standardową jak i przy użyciu opracowanych czujników. Kolejnym etapem jest przeprowadzenie badania w celu ustalenia poziomu jonów chlorkowych w wydzielinie ran. Informacja ta stanowi istotny brak w dostępnej literaturze, a jednocześnie, jak pokazują przeprowadzone pomiary, ma decydujący wpływ na interpretację wyników. Wreszcie, w celu weryfikacji przydatności diagnostycznej czujników, konieczne jest przeprowadzenie badań z ich użyciem na dużej liczbie próbek. Wszystkie powyższe prace mają charakter *stricte* wdrożeniowy, związany z pracą interdyscyplinarnego zespołu lekarzy, pielęgniarek, inżynierów i analityków chemicznych. Z tego powodu wykraczają one poza zakres niniejszej pracy, która niemniej może stanowić punkt wyjścia dla dalszego rozwoju opracowanej technologii.

## 10. Podsumowanie i wnioski

W pracy przedstawiono ciąg eksperymentów, które pozwoliły na wytworzenie elastycznych i odpornych na zakłócenia zewnętrzne czujników pH. Dzięki zastosowaniu nowatorskiej topologii elektrod, możliwa jest łatwa integracja urządzenia z opatrunkami medycznymi w celu monitorowania procesu gojenia się ran. Stwarza to możliwość prostego, nieinwazyjnego i obiektywnego (w odróżnieniu do obecnej praktyki medycznej) kontrolowania stanu urazu. Jest to warunkiem wdrożenia odpowiednich zabiegów leczniczych w odpowiednim czasie.

Jako metodę pomiaru pH przyjęto pomiar SEM ogniwa elektrochemicznego (potencjometrię) z użyciem elektrod wskaźnikowych na bazie  $\text{RuO}_2$  oraz PMMA. Drukowane elektrody planarne posłużyły do badań właściwości kompozytów pH-czułych, co pozwoliło na wyeliminowanie zakłócającego wpływu promieniowania UV na odczyt mierzonych wielkości. W tym celu zastosowano dodatek fazy węglowej w postaci nanopłatków grafenowych oraz wykorzystano teorię perkolacji odnoszącą się do modelowania przewodności kompozytów jako narzędzie w doborze składu pasty do druku sensorów o odpowiednio wysokiej czułości. Na gruncie tej teorii wyjaśniono również nieobecne w literaturze przedmiotowej zjawisko wzrostu czułości elektrod kompozytowych pod wpływem odpowiednio wysokiej dawki promieniowania UV. Z kolei przy doborze materiału wypełniacza węglowego posłużono się wyprowadzonym w niniejszej pracy modelem teoretycznym opisującym wpływ geometrii cząstek fazy funkcjonalnej na odpowiedź potencjometryczną. Opracowane kompozyty drukowane wykazały również odporność na wielokrotne odkształcenia mechaniczne.

Technologia druku czujników planarnych na foliach polimerowych wykazała jednak znaczące ograniczenia przy przeniesieniu na podłoża tekstylne. Jako przyczynę niezadawalającego działania przetworników zidentyfikowano nasiąkanie całego materiału opatrunkowego roztworem, co prowadzi do zetknięcia wyprowadzeń elektrycznych z badaną próbką. W efekcie obserwowano odpowiedź stłumioną przez uśrednianie sygnału od warstw pH-metrycznej oraz przewodzącej. Stało się to punktem wyjścia dla opracowania nowej topologii elektrod.

Zaproponowana architektura czujnika pH, oparta na pojedynczych włóknach materiału opatrunkowego (jednofilamentowego poliestru) okazała się rozwiązaniem dla

napotkanego problemu. Wytworzenie kompozytu o odpowiedniej przewodności elektrycznej oraz czułości na zmiany pH było możliwe na gruncie przeprowadzonych wcześniej badań nad proporcjami objętościowymi past drukarskich. W efekcie dalszych badań stwierdzono niewystarczającą elastyczność elektrod włóknowych, która skutkowałą zmianą charakteru odpowiedzi czujników. W celu osiągnięcia lepszych właściwości mechanicznych kompozytów opracowano pasty oparte o nowy materiał osnowy polimerowej (TPU), ale o identycznych proporcjach fazy funkcjonalnej jak wyselekcjonowane wcześniej. Z użyciem nowego rodzaju kompozytów uzyskano wyniki spełniające kryteria zarówno odporności na odkształcenia oraz promieniowanie UV jak i czułości i powtarzalności odpowiedzi.

W toku badań opracowano również prostą i efektywną metodę wytwarzania pseudoreferencyjnych elektrod chlorosrebrowych (Ag/AgCl), które postanowiono wykorzystać w projektowanych czujnikach jako elektrody odniesienia. Elektrody te również wytwarzano w formie włókien opatrunkowych pokrywanych warstwą kompozytową.

Przedstawiono również po krótkce architekturę modułu elektronicznego służącego do bezprzewodowego odczytu wskazań czujników. Wykorzystano w tym celu protokół NFC oraz dedykowaną aplikację zainstalowaną na urządzeniu mobilnym. Stanowi to potwierdzenie przydatności opracowanych czujników w kontekście zaproponowanej w pracy metodologii monitorowania stanu ran w sposób nieinwazyjny i niewymagający specjalistycznego przeszkolenia.

W końcowej fazie badań przeprowadzono pomiary w rzeczywistej próbce wysięku z rany. Uzyskane wyniki pozostają niejednoznaczne ze względu na niejednorodny, heterofazowy charakter matrycy próbki, konsystencję uniemożliwiającą bezpośredni pomiar oraz brak wystarczających danych z zakresu fizjologii na temat składu samej wydzieliny. Jednocześnie oszacowane na podstawie pomiarów wartości pH pozostają w zgodzie z przewidywaniami literaturowymi, świadcząc o potencjalnej przydatności opracowanych czujników. Na podstawie zebranych wyników zaproponowano dalsze prace wdrożeniowe, ukierunkowane na uzyskanie w pełni funkcjonalnego urządzenia medycznego. W trakcie realizacji pracy nawiązano współpracę z przedstawicielami przemysłu medycznego, która stanowi kontynuację opisanych powyżej badań.

## Literatura

1. L. A. Schneider, A. Korber, S. Grabbe, and J. Dissemond, "Influence of pH on wound-healing: A new perspective for wound-therapy?," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 298, no. 9, pp. 413–420, 2007.
2. J. Misztal-Knyra, M. Rogal, M. Kucharzewski, and H. Koziółek, "Proces gojenia ran," *Probl. Med. Rodz.*, vol. 9, no. 4, pp. 53–58, 2007.
3. M. Potempa, P. Jonczyk, M. Janerka, M. Kucharzewski, and A. Krawczyk-Krupka, "Determinants and epidemiology of chronic wounds," *Leczenie Ran*, vol. 11, no. 2, pp. 43–50, Sep. 2014.
4. S. Konturek, *Fizjologia człowieka*. Elsevier Urban & Partner, 2007.
5. T. Krzymowski, J. Przała, and L. Dusza, *Fizjologia zwierząt: podręcznik dla studentów wydziałów medycyny weterynaryjnej, wydziałów biologii i hodowli zwierząt akademii rolniczych i uniwersytetów: praca zbiorowa*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 2005.
6. S. Bhat, *SRB's manual of surgery*. Jaypee Brother Medical Pub, 2013.
7. K. S. Midwood, L. V. Williams, and J. E. Schwarzbauer, "Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix," *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 36, no. 6, pp. 1031–1037, Jun. 2004.
8. A. Jawien, T. Grzela, and A. Ochwat, "Prevalence of chronic venous insufficiency in men and women in Poland: Multicentre cross-sectional study in 40,095 patients," *Phlebology*, vol. 18, no. 3, pp. 110–122, 2003.
9. K. Skórkowska-Telichowska, A. Bugajska-Prusak, P. Pluciński, Z. Rybak, and J. Szopa, "Fizjologia i patologia przewlekłe niegojących się owrzodzeń oraz sposoby ich miejscowego leczenia w świetle współczesnej wiedzy medycznej," *Dermatologia Prakt.*, vol. 5, pp. 15–29, 2009.
10. J. Posnett, F. Gottrup, H. Lundgren, and G. Saal, "The resource impact of wounds on health-care providers in Europe," *J. Wound Care*, vol. 18, no. 4, pp. 154–154, Apr. 2009.
11. C. E. Attinger *et al.*, "How to make a hospital-based wound center financially viable: the Georgetown University Hospital model," *Gynecol. Oncol.*, vol. 111, no. 2 Suppl, pp. S92-7, Nov. 2008.
12. K. Bumpus and M. A. Maier, "The ABC's of Wound Care," *Curr. Cardiol. Rep.*, vol. 15, no. 4, p. 346, Apr. 2013.
13. C. K. Sen *et al.*, "Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy," *Wound Repair Regen.*, vol. 17, no. 6, pp. 763–771, Nov. 2009.
14. C.-F. Cheng *et al.*, "A fragment of secreted Hsp90 $\alpha$  carries properties that enable it to accelerate effectively both acute and diabetic wound healing in mice," *J. Clin. Invest.*, vol. 121, no. 11, Oct. 2011.
15. "Eurostat - Data Explorer," 2017-02-24. Available:



- <http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/submitViewTableAction.do>. [Accessed: 22-Oct-2018].
16. T. Szewczyk Maria, "Leczenie zachowawcze owrzodzeń żylnych goleni," *W Zakazenia*, vol. 2, pp. 94–98, 2004.
  17. NICE, "Lower limb peripheral arterial disease : diagnosis and management," 2012. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg147/documents/lower-limb-peripheral-arterial-disease-nice-guideline2>. [Accessed: 08-Mar-2018].
  18. N. Singh, D. Armstrong, B. L.- Jama, and undefined 2005, "Preventing foot ulcers in patients with diabetes," *jamanetwork.com*.
  19. R. G. Frykberg and J. Banks, "Challenges in the Treatment of Chronic Wounds," *Adv. Wound Care*, vol. 4, no. 9, pp. 560–582, Sep. 2015.
  20. Lawall, "Treatment of chronic wounds," *Vasa*, vol. 41, no. 6, pp. 396–409, Nov. 2012.
  21. H. Thawer, P. Houghton, ... M. W.-O., and undefined 2002, "Computer-assisted and manual wound size measurement," *researchgate.net*.
  22. S. S.-H. H. Now and undefined 1983, "Wound Healing... An Assessment Tool," *journals.lww.com*.
  23. B. A. Lipsky and C. Hoey, "Topical Antimicrobial Therapy for Treating Chronic Wounds."
  24. E. H. de Laat, W. J. Scholte op Reimer, and T. van Achterberg, "Pressure ulcers: diagnostics and interventions aimed at wound-related complaints: a review of the literature," *J. Clin. Nurs.*, vol. 14, no. 4, pp. 464–472, Apr. 2005.
  25. C. a Fleck, "Palliative Dilemmas : Wound Odour," *Clin. Pract.*, vol. 4, no. 3, pp. 10–14, 2006.
  26. B. Allegranzi, S. B. Nejad, C. Gabriela Garcia, C. Kilpatrick, E. Kelley, and E. Mathai, "Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide, Clean Care is Safer Care," 2011.
  27. ECDC, "Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2010," *Eur. Cent. Dis. Prev. Control*, pp. 75–77, 2010.
  28. S. Thongpiyapoom, M. N.-J. M. A. Thai, and undefined 2005, "Extra charge and extra length of postoperative stay attributable to surgical site infection in six selected operations," *thaiscience.info*.
  29. "Classifications for wound bed preparation and stimulation of chronic wounds," *Wound Repair Regen.*, vol. 8, no. 5, p. 347, Sep. 2000.
  30. Expert working group; Satellite expert working group., "Wound exudate and the role of dressings. A consensus document.," *Int. Wound J.*, vol. 5 Suppl 1, p. iii-12, 2008.
  31. G. J. Worsley, S. L. Attree, J. E. Noble, and A. M. Horgan, "Rapid duplex immunoassay for wound biomarkers at the point-of-care," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 34, no. 1, pp. 215–220, Apr. 2012.
  32. J.-P. Pirnay *et al.*, "Quantitation of *Pseudomonas aeruginosa* in wound biopsy

- samples: from bacterial culture to rapid 'real-time' polymerase chain reaction," *Crit. Care*, vol. 4, no. 4, p. 255, Jul. 2000.
33. M. Nic, "pH," in *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, Research Triangle Park, NC: International Union of Pure and Applied Chemistry.
  34. G. A. Talbert, "EFFECT OF WORK AND HEAT ON THE HYDROGEN ION CONCENTRATION OF THE SWEAT," *Am. J. Physiol. Content*, vol. 50, no. 3, pp. 433–442, Dec. 1919.
  35. M.-K. Kim *et al.*, "Comparison of sebum secretion, skin type, pH in humans with and without acne," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 298, no. 3, pp. 113–119, Aug. 2006.
  36. M. O. Visscher, R. Chatterjee, K. A. Munson, W. L. Pickens, and S. B. Hoath, "Changes in Diapered and Nondiapered Infant Skin Over the First Month of Life," *Pediatr. Dermatol.*, vol. 17, no. 1, pp. 45–51, Jan. 2000.
  37. A. Zlotogorski, "Distribution of skin surface pH on the forehead and cheek of adults," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 279, no. 6, pp. 398–401, Aug. 1987.
  38. S. Luebberding, N. Krueger, and M. Kerscher, "Skin physiology in men and women: *in vivo* evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH," *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 35, no. 5, pp. 477–483, Oct. 2013.
  39. H. Farwanah, K. Raith, R. H. H. Neubert, and J. Wohlrab, "Ceramide profiles of the uninvolved skin in atopic dermatitis and psoriasis are comparable to those of healthy skin," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 296, no. 11, pp. 514–521, May 2005.
  40. M.-H. Schmid-Wendtner and H. C. Korting, "The pH of the skin surface and its impact on the barrier function.," *Skin Pharmacol. Physiol.*, vol. 19, no. 6, pp. 296–302, 2006.
  41. D. Redoules, R. Tarroux, and J. Périé, "Epidermal Enzymes: Their Role in Homeostasis and Their Relationships with Dermatoses," *Skin Pharmacol. Physiol.*, vol. 11, no. 4–5, pp. 183–192, 1998.
  42. A. Pappas, "Epidermal surface lipids.," *Dermatoendocrinol.*, vol. 1, no. 2, pp. 72–6, Mar. 2009.
  43. R. Turner, K. Biedermann, ... J. M.-A. agents, and undefined 2004, "Efficacy of organic acids in hand cleansers for prevention of rhinovirus infections," *Am Soc Microbiol.*
  44. J. Cianciara and J. Juszczyk, *Choroby zakaźne i pasożytnicze. T. 2*, 2nd ed. Lublin: Wydawnictwo Czelej, 2012.
  45. P. Gajewski, E. Augustynowicz-Kopeć, and Wydawnictwo Medycyna Praktyczna., *Interna Szczeklika: podręcznik chorób wewnętrznych 2014*. Kraków: Medycyna Praktyczna, 2014.
  46. J. R. Knowles, "Enzyme-Catalyzed Phosphoryl Transfer Reactions," *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 49, no. 1, pp. 877–919, Jun. 1980.
  47. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, and L. Stryer, "Cykl kwasu cytrynowego," in *Biochemia*, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2007, pp. 465–490.
  48. N. A. Campbell and J. B. Reece, *Biology*. Pearson, Benjamin Cummings, 2005.

49. Y. Liu, A. Kalen, O. Risto, and O. Wahlstrom, "Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent," *Wound Repair Regen.*, vol. 10, no. 5, pp. 336–340, Sep. 2002.
50. A. Lengheden and L. Jansson, "PH effects on experimental wound healing of human fibroblasts in vitro," *Eur. J. Oral Sci.*, vol. 103, no. 3, pp. 148–155, Jun. 1995.
51. L. V. Thomas, J. W. T. Wimpenny, and J. G. Davis, "Effect of three preservatives on the growth of *Bacillus cereus*, Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, on plates with gradients of pH and sodium chloride concentration," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 17, no. 4, pp. 289–301, Feb. 1993.
52. R.-C. Mercier, C. Stumpo, and M. J. Rybak, "Effect of growth phase and pH on the in vitro activity of a new glycopeptide, oritavancin (LY333328), against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium*," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 50, no. 1, pp. 19–24, Jul. 2002.
53. J. L. Monaco and T. W. Lawrence, "Acute wound healing: an overview," *Clin. Plast. Surg.*, vol. 30, no. 1, pp. 1–12, 2003.
54. K. Tsukada, "The pH changes of pressure ulcers related heading process of wound," *Wounds*, vol. 4, pp. 16–20, 1992.
55. J. Dissemond, M. Witthoff, T. C. Brauns, D. Haberer, and M. Goos, "pH-Wert des Milieus chronischer Wunden," *Der Hautarzt*, vol. 54, no. 10, pp. 959–965, Oct. 2003.
56. D. G. Greenhalgh, "The role of apoptosis in wound healing," *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 30, no. 9, pp. 1019–1030, Sep. 1998.
57. C. Dealey, "The care of wounds: A guide for nurses," 2008.
58. H. P. Lorenz and M. T. Longaker, "Wounds: Biology, Pathology, and Management," in *Surgery*, New York, NY: Springer New York, 2008, pp. 191–208.
59. L. M. Morton and T. J. Phillips, "Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 74, no. 4, pp. 589–605, Apr. 2016.
60. S. O'Meara, N. Cullum, M. Majid, and T. Sheldon, "Systematic reviews of wound care management:(3) antimicrobial agents for chronic wounds;(4) diabetic foot ulceration," 2000.
61. G. Stüttgen and H. Schaefer, "Haut und Alter," in *Funktionelle Dermatologie*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1974, pp. 312–317.
62. J. C. Kotz, P. M. Treichel, J. R. Townsend, and Treichel. D. A., "Acids and Bases: The Arrhenius Definition.," in *Chemistry and Chemical Reactivity, Instructor's Edition*, 9th ed., Stamford: CT: Cengage Learning, 2015, p. 116.
63. S. P. L. Sørensen, "Ergänzung zu der Abhandlung: Enzymstudien. II. Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen.," *Biochem. Z.*, vol. 21, pp. 131–304, 1909.
64. A. K. Covington, R. G. Bates, and R. A. Durst, "Definition of pH scales, standard reference values, measurement of pH and related terminology (Recommendations 1984)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 3, pp. 531–542, Jan. 1985.

65. M. Nic, J. Jirat, and B. Kosata, "pH," in *IUPAC Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")*, 2.3.3., A. D. McNaught, A. Wilkinson, and A. Jenkins, Eds. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2014, pp. 1088–1090.
66. the International Organization for Standardization, "ISO 80000-9:2009," in *Quantities and units*, 1st ed., L. Pendrill and M. F. Hernández, Eds. Lawrenceville: International Organization for Standardization, International Electrotechnical Commission, 2009.
67. A. K. Covington, R. G. Bates, and R. A. Durst, "Definition of pH scales, standard reference values, measurement of pH and related terminology (Recommendations 1984)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 3, pp. 531–542, Jan. 1985.
68. D. R. Moore *et al.*, "Chronic alterations in blood pH affect fasting-state amino acid oxidation and myofibrillar and albumin protein synthesis in healthy young men," *FASEB J.*, vol. 31, no. 1, pp. 1036–14, Apr. 2017.
69. S. Mross, T. Zimmermann, N. Winkin, M. Kraft, and H. Vogt, "Integrated multi-sensor system for parallel in-situ monitoring of cell nutrients, metabolites, cell density and pH in biotechnological processes," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 236, pp. 937–946, Nov. 2016.
70. L. O'Sullivan, R. . Ross, and C. Hill, "Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality," *Biochimie*, vol. 84, no. 5–6, pp. 593–604, May 2002.
71. P. Jiang *et al.*, "Design of a Water Environment Monitoring System Based on Wireless Sensor Networks," *Sensors*, vol. 9, no. 8, pp. 6411–6434, Aug. 2009.
72. K. S. Johnson *et al.*, "Deep-Sea DuraFET: A Pressure Tolerant pH Sensor Designed for Global Sensor Networks," *Anal. Chem.*, vol. 88, no. 6, pp. 3249–3256, Mar. 2016.
73. P. Kurzweil, Kurzweil, and Peter, "Metal Oxides and Ion-Exchanging Surfaces as pH Sensors in Liquids: State-of-the-Art and Outlook," *Sensors*, vol. 9, no. 6, pp. 4955–4985, Jun. 2009.
74. P. Riddle, "pH meters and their electrodes: calibration, maintenance and use," *Biomed. Sci.*, vol. April, pp. 202–205, 2013.
75. J. Aguilera-Sigalat and D. Bradshaw, "A colloidal water-stable MOF as a broad-range fluorescent pH sensor via post-synthetic modification," *Chem. Commun.*, vol. 50, no. 36, pp. 4711–4713, Apr. 2014.
76. Z. L. Wu, M. X. Gao, T. T. Wang, X. Y. Wan, L. L. Zheng, and C. Z. Huang, "A general quantitative pH sensor developed with dicyandiamide N-doped high quantum yield graphene quantum dots," *Nanoscale*, vol. 6, no. 7, pp. 3868–3874, Mar. 2014.
77. T. Kim, S. Hong, S. Yang, T. Y. Kim, S. A. Hong, and S. Yang, "A Solid-State Thin-Film Ag/AgCl Reference Electrode Coated with Graphene Oxide and Its Use in a pH Sensor," *Sensors*, vol. 15, no. 3, pp. 6469–6482, Mar. 2015.
78. R. G. Bates and A. K. Vijh, "Determination of pH: theory and practice," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 120, no. 8, p. 263C, 1973.
79. L. R. Pucacco and N. W. Carter, "A glass-membrane pH microelectrode," *Anal.*

- Biochem.*, vol. 73, no. 2, pp. 501–512, Jun. 1976.
80. L. R. Pucacco and N. W. Carter, "A submicrometer glass-membrane pH microelectrode," *Anal. Biochem.*, vol. 89, no. 1, pp. 151–161, Aug. 1978.
  81. G. Gebert and S. M. Friedman, "An implantable glass electrode used for pH measurement in working skeletal muscle.," *J. Appl. Physiol.*, vol. 34, no. 1, pp. 122–4, Jan. 1973.
  82. P. Upreti, L. E. Metzger, and P. Bühlmann, "Glass and polymeric membrane electrodes for the measurement of pH in milk and cheese," *Talanta*, vol. 63, no. 1, pp. 139–148, May 2004.
  83. Ł. Górski, E. Grygołowicz-Pawlak, A. Rudzka, K. Płachecka, and E. Malinowska, "Monolayer modified back-side contact silicone-based miniaturized sensors for electrochemical applications," *Chem. Analityczna*, vol. 51, no. 6, pp. 909–921, 2006.
  84. A. Matusевич, M. Pietrzak, and E. Malinowska, "Miniaturized F<sup>-</sup>-selective all-solid-state potentiometric sensors with conductive polymer as an intermediate layer," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 168, pp. 62–73, Jun. 2012.
  85. E. Grygolowicz-Pawlak, K. Plachecka, Z. Brzozka, and E. Malinowska, "Further studies on the role of redox-active monolayer as intermediate phase of solid-state sensors," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 123, no. 1, pp. 480–487, Apr. 2007.
  86. † Monia Fibbioli *et al.*, "Redox-Active Self-Assembled Monolayers for Solid-Contact Polymeric Membrane Ion-Selective Electrodes," 2002.
  87. G. A. Crespo, D. Gugsá, S. Macho, and F. X. Rius, "Solid-contact pH-selective electrode using multi-walled carbon nanotubes," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 395, no. 7, pp. 2371–2376, Dec. 2009.
  88. D. Liu, R. K. Meruva, R. B. Brown, and M. E. Meyerhoff, "Enhancing EMF stability of solid-state ion-selective sensors by incorporating lipophilic silver-ligand complexes within polymeric films," *Anal. Chim. Acta*, vol. 321, no. 2–3, pp. 173–183, Mar. 1996.
  89. J. Zhang, Y. Guo, S. Li, and H. Xu, "A solid-contact pH-selective electrode based on tridodecylamine as hydrogen neutral ionophore," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 27, no. 10, p. 105101, Oct. 2016.
  90. E. N. Samsonova, V. M. Lutov, and K. N. Mikhelson, "Solid-contact ionophore-based electrode for determination of pH in acidic media," *J. Solid State Electrochem.*, vol. 13, no. 1, pp. 69–75, Jan. 2009.
  91. Z. Mousavi, J. Bobacka, A. Lewenstam, and A. Ivaska, "Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) doped with carbon nanotubes as ion-to-electron transducer in polymer membrane-based potassium ion-selective electrodes," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 633, no. 1, pp. 246–252, Aug. 2009.
  92. F. Sundfors, R. Bereczki, J. Bobacka, K. Tóth, A. Ivaska, and R. E. Gyurcsányi, "Microcavity Based Solid-Contact Ion-Selective Microelectrodes," *Electroanalysis*, vol. 18, no. 13–14, pp. 1372–1378, Jul. 2006.
  93. N. Zine *et al.*, "All-solid-state hydrogen sensing microelectrodes based on novel

- PPy[3,3'-Co(1,2-C<sub>2</sub>B<sub>9</sub>H<sub>11</sub>)<sub>2</sub>] as a solid internal contact," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 26, no. 2–3, pp. 399–404, Mar. 2006.
94. P. Mostafalu *et al.*, "Smart Bandage for Monitoring and Treatment of Chronic Wounds," *Small*, vol. 14, no. 33, p. 1703509, Aug. 2018.
  95. R. Rahimi, M. Ochoa, A. Tamayol, S. Khalili, A. Khademhosseini, and B. Ziaie, "Highly Stretchable Potentiometric pH Sensor Fabricated via Laser Carbonization and Machining of Carbon–Polyaniline Composite," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 9, no. 10, pp. 9015–9023, 2017.
  96. M. Novell, M. Parrilla, G. A. Crespo, F. X. Rius, and F. J. Andrade, "Paper-Based Ion-Selective Potentiometric Sensors," *Anal. Chem.*, vol. 84, no. 11, pp. 4695–4702, Jun. 2012.
  97. R. Rahimi *et al.*, "A low-cost flexible pH sensor array for wound assessment," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 229, pp. 609–617, 2016.
  98. P. Kurzweil, "Precious metal oxides for electrochemical energy converters: Pseudocapacitance and pH dependence of redox processes," *J. Power Sources*, vol. 190, no. 1, pp. 189–200, 2009.
  99. J. L. Proust, "Recherches sur le bleu de Prusse," *J. Phys. Chim. d'Histoire Nat. des Arts*, vol. 23, pp. 85–101, 1797.
  100. J. Dalton, "On the Constitution of Bodies," in *A New System of Chemical Philosophy Volume 1.*, Cambridge: Cambridge University Press, 2010, pp. 142–143.
  101. H. Y. Geng, H. X. Song, and Q. Wu, "Anomalies in nonstoichiometric uranium dioxide induced by a pseudo phase transition of point defects," *Phys. Rev. B*, vol. 85, no. 14, p. 144111, Apr. 2012.
  102. A. Bielański, *Podstawy chemii nieorganicznej*, 6th ed. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2012.
  103. H. N. McMurray, P. Douglas, and D. Abbot, "Novel thick-film pH sensors based on ruthenium dioxide-glass composites," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 28, no. 1, pp. 9–15, Jul. 1995.
  104. S. Ardizzone, A. Daggetti, L. Franceschi, and S. Trasatti, "The point of zero charge of hydrous RuO<sub>2</sub>," *Colloids and Surfaces*, vol. 35, no. 1, pp. 85–96, Jan. 1989.
  105. S. Trasatti, "Physical electrochemistry of ceramic oxides," *Electrochim. Acta*, vol. 36, no. 2, pp. 225–241, Jan. 1991.
  106. D. E. Yates, S. Levine, and T. W. Healy, "Site-binding model of the electrical double layer at the oxide/water interface," *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases*, vol. 70, no. 0, p. 1807, Jan. 1974.
  107. M. Chen, Y. Jin, X. Qu, Q. Jin, and J. Zhao, "Electrochemical impedance spectroscopy study of Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> based EIOS pH sensors in acid environment," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 192, pp. 399–405, Mar. 2014.
  108. V. F. Lvovich, *Impedance spectroscopy : applications to electrochemical and dielectric phenomena*. John Wiley & Sons, 2012.

109. R. E. Moss, *Investigation of Porous Metal Oxide Coatings for a Novel Electrochemical Sensor for Orthophosphate [Rozprawa doktorska]*. Madison: University of Wisconsin-Madison, 2012.
110. H. von Helmholtz, "Über einige Gesetze der Vertheilung elektrischer Ströme in körperlichen Leitern, mit Anwendung auf die thierisch-elektrischen Versuche (Schluss.)," *Ann. der Phys. und Chemie*, vol. 165, no. 7, pp. 353–377, 1853.
111. B. E. Conway, "Transition from 'Supercapacitor' to 'Battery' Behavior in Electrochemical Energy Storage," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 138, no. 6, p. 1539, Jun. 1991.
112. S. Trasatti and P. Kurzweil, "Electrochemical Supercapacitors as Versatile Energy Stores," *Platin. Met. Rev.*, vol. 38, no. 2, pp. 46–56, 1994.
113. C. Chambers and A. K. Holliday, *Modern inorganic chemistry*. London: Butterworth & Co Publishers Ltd, 1975.
114. J. A. Mihell and J. K. Atkinson, "Planar thick-film pH electrodes based on ruthenium dioxide hydrate," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 48, no. 1–3, pp. 505–511, May 1998.
115. J. E. Lilienfeld, "Method and apparatus for controlling electric currents," US1745175A, 22-Oct-1925.
116. O. Heil, "Improvements in or relating to electrical amplifiers and other control arrangements and devices," GB 439457, 1934.
117. J. Hennel, *Podstawy elektroniki półprzewodnikowej*, 2nd ed. Warszawa: Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, 1995.
118. P. Bergveld, "Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. BME-17, no. 1, pp. 70–71, Jan. 1970.
119. P. Bergveld, "Development, Operation, and Application of the Ion-Sensitive Field-Effect Transistor as a Tool for Electrophysiology," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. BME-19, no. 5, pp. 342–351, Sep. 1972.
120. J. Bausells, J. Carrabina, A. Errachid, and A. Merlos, "Ion-sensitive field-effect transistors fabricated in a commercial CMOS technology," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 57, no. 1–3, pp. 56–62, Sep. 1999.
121. J.-R. Zhang *et al.*, "CMOS 3D-Extended Metal Gate ISFETs with Near Nernstian Ion Sensitivity," in *2018 76th Device Research Conference (DRC)*, 2018, pp. 1–2.
122. A. Haemmerli, J. Janata, and J. J. Brophy, "Equilibrium Noise in Ion Selective Field Effect Transistors," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 129, no. 10, p. 2306, Oct. 1982.
123. X. Yu, T. J. Marks, and A. Facchetti, "Metal oxides for optoelectronic applications," *Nat. Mater.*, vol. 15, no. 4, pp. 383–396, Apr. 2016.
124. D. Ogończyk, Ł. Tymecki, I. Wyzkiewicz, R. Koncki, and S. Głąb, "Screen-printed disposable urease-based biosensors for inhibitive detection of heavy metal ions," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 106, no. 1 SPEC. ISS., pp. 450–454, 2005.

125. B. Stankiewicz and G. Czech, *Sitodruk*. Warszawa: Centralny Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Przemysłu Poligraficznego, 2001.
126. M. Jakubowska, *Techniki drukarskie w elektronice: materiały i technologie*. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 2013.
127. D. Janczak, *Opracowanie technologii wytwarzania kompozytów polimerowych z nanopłatkami grafenowymi do zastosowań w elektronice drukowanej [Rozprawa doktorska]*. Warszawa: Politechnika Warszawska, Wydział Mechatroniki, 2015.
128. M. Sloma, G. Wroblewski, D. Janczak, and M. Jakubowska, "Transparent Electrodes with Nanotubes and Graphene for Printed Optoelectronic Applications, Transparent Electrodes with Nanotubes and Graphene for Printed Optoelectronic Applications," *J. Nanomater. J. Nanomater.*, vol. 2014, 2014, p. e143094, 2014.
129. M. Sloma, D. Janczak, G. Wroblewski, A. Mlozniak, and M. Jakubowska, "Electroluminescent structures printed on paper and textile elastic substrates," *Circuit World*, vol. 40, no. 1, pp. 13–16, 2014.
130. D. Janczak, A. Peplowski, G. Wroblewski, L. Gorski, E. Zwierkowska, and M. Jakubowska, "Investigations of Printed Flexible pH Sensing Materials Based on Graphene Platelets and Submicron RuO<sub>2</sub> Powders," *J. Sensors*, vol. 2017, 2017.
131. M. Li, Y.-T. Li, D.-W. Li, and Y.-T. Long, "Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays—A review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 734, pp. 31–44, Jul. 2012.
132. R. Koncki and M. Mascini, "Screen-printed ruthenium dioxide electrodes for pH measurements," *Anal. Chim. Acta*, vol. 351, no. 1–3, pp. 143–149, Sep. 1997.
133. C. Schaudé, E. Fröhlich, C. Meindl, J. Attard, B. Binder, and G. J. Mohr, "The development of indicator cotton swabs for the detection of pH in wounds," *Sensors (Switzerland)*, vol. 17, no. 6, 2017.
134. Łucja Dybowska-Sarapuk, J. Szałapak, G. Wróblewski, I. Wyżkiewicz, M. Słoma, and M. Jakubowska, "Rheology of inks for various techniques of printed electronics," *Adv. Intell. Syst. Comput.*, vol. 393, pp. 447–451, 2016.
135. Ł. Dybowska-Sarapuk, D. Janczak, G. Wróblewski, M. Słoma, and M. Jakubowska, "The influence of graphene screen printing paste's composition on its viscosity," vol. 9662, p. 966242, 2015.
136. C. Zaiontz, "Real Statistics Using Excel," 2018. [Online]. Available: <http://www.real-statistics.com/regression/hypothesis-testing-significance-regression-line-slope/>. [Accessed: 17-Aug-2018].
137. D.-S. Ko *et al.*, "Understanding the structural, electrical, and optical properties of monolayer h-phase RuO<sub>2</sub> nanosheets: a combined experimental and computational study," *NPG Asia Mater.*, vol. 10, no. 4, pp. 266–276, Apr. 2018.
138. J.-L. Chiang, J.-C. Chou, and Y.-C. Chen, "Study on Light and Temperature Properties of AlN pH-Ion-Sensitive Field-Effect Transistor Devices," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 44, no. 7A, pp. 4831–4837, Jul. 2005.



139. L. Bousse, H. Van DenVlekkert, De Rooij B, and U. 1990, "Hysteresis in Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-gate ISFETs," *Sensors and Actuators*, 1990.
140. J. C. Chou and Y. F. Wang, "Preparation and study on the drift and hysteresis properties of the tin oxide gate ISFET by the sol-gel method," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 86, no. 1, pp. 58-62, Aug. 2002.
141. L. Manjakkal, K. Cvejic, J. Kulawik, K. Zaraska, D. Szwagierczak, and G. Stojanovic, "Sensing mechanism of RuO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> thick film pH sensors studied by potentiometric method and electrochemical impedance spectroscopy," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 759, pp. 82-90, Dec. 2015.
142. M. Jović, J. Hidalgo-Acosta, ... A. L.-J. of, and undefined 2018, "Large-scale layer-by-layer inkjet printing of flexible iridium-oxide based pH sensors," *Elsevier*.
143. N. Uria, N. Abramova, A. Bratov, F. M.-P.- Talanta, and U. 2016, "Miniaturized metal oxide pH sensors for bacteria detection," *Elsevier*.
144. Y. Qin, A. Alam, ... M. H.-A. F., and undefined 2016, "Inkjet Printing of a Highly Loaded Palladium Ink for Integrated, Low-Cost pH Sensors," *Wiley Online Libr.*
145. J. H. Back and M. Shim, "pH-Dependent Electron-Transport Properties of Carbon Nanotubes," *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 47, pp. 23736-23741, Nov. 2006.
146. P. Gou *et al.*, "Carbon Nanotube Chemiresistor for Wireless pH Sensing," *Sci. Rep.*, vol. 4, no. 1, p. 4468, May 2015.
147. M. Kaempgen, S. R.-J. of E. Chemistry, and undefined 2006, "Transparent and flexible carbon nanotube/polyaniline pH sensors," *Elsevier*.
148. P. K. Ang, W. Chen, A. T. S. Wee, and K. P. Loh, "Solution-Gated Epitaxial Graphene as pH Sensor," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, no. 44, pp. 14392-14393, Nov. 2008.
149. N. Lei, P. Li, W. Xue, and J. Xu, "Simple graphene chemiresistors as pH sensors: Fabrication and characterization," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 22, no. 10, pp. 1-23, 2011.
150. Y. Ohno, K. Maehashi, Y. Yamashiro, and K. Matsumoto, "Electrolyte-Gated Graphene Field-Effect Transistors for Detecting pH and Protein Adsorption," *Nano Lett.*, vol. 9, no. 9, pp. 3318-3322, Sep. 2009.
151. S. Stankovich, D. Dikin, R. Piner, K. K.- carbon, and undefined 2007, "Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide," *Elsevier*.
152. S. Stankovich, D. Dikin, G. Dommett, K. K.- nature, and undefined 2006, "Graphene-based composite materials," *nature.com*.
153. H. W. Lee *et al.*, "Selective dispersion of high purity semiconducting single-walled carbon nanotubes with regioregular poly(3-alkylthiophene)s," *Nat. Commun.*, vol. 2, no. 1, p. 541, Sep. 2011.
154. L. S. Liyanage *et al.*, "Wafer-Scale Fabrication and Characterization of Thin-Film Transistors with Polythiophene-Sorted Semiconducting Carbon Nanotube Networks," *ACS Nano*, vol. 6, no. 1, pp. 451-458, Jan. 2012.
155. K. S. Novoselov *et al.*, "Electric field effect in atomically thin carbon films," *Science*

- (80-), vol. 306, no. 5696, pp. 666–9, Oct. 2004.
156. K. S. Novoselov *et al.*, “Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene,” *Nature*, vol. 438, no. 7065, pp. 197–200, Nov. 2005.
  157. G. Dukovic *et al.*, “Reversible Surface Oxidation and Efficient Luminescence Quenching in Semiconductor Single-Wall Carbon Nanotubes,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 126, no. 46, pp. 15269–15276, Nov. 2004.
  158. K. F. Lei, K.-F. Lee, and S.-I. Yang, “Fabrication of carbon nanotube-based pH sensor for paper-based microfluidics,” *Microelectron. Eng.*, vol. 100, pp. 1–5, Dec. 2012.
  159. Z. Gu *et al.*, “An ultrasensitive electrochemical biosensor for glucose using CdTe-CdS core-shell quantum dot as ultrafast electron transfer relay between graphene-gold nanocomposite and gold nanoparticle,” *Electrochim. Acta*, vol. 56, no. 25, pp. 9162–9167, 2011.
  160. X. Y. Fang, X. X. Yu, H. M. Zheng, H. B. Jin, L. Wang, and M. S. Cao, “Temperature- and thickness-dependent electrical conductivity of few-layer graphene and graphene nanosheets,” *Phys. Lett. Sect. A Gen. At. Solid State Phys.*, vol. 379, no. 37, pp. 2245–2251, Oct. 2015.
  161. J. Hass, W. A. de Heer, and E. H. Conrad, “The growth and morphology of epitaxial multilayer graphene,” *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 20, no. 32, p. 323202, Aug. 2008.
  162. C. Lee, X. Wei, J. Kysar, J. H.- science, and undefined 2008, “Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene,” [science.sciencemag.org](http://science.sciencemag.org).
  163. A. Balandin, S. Ghosh, W. Bao, ... I. C.-N., and undefined 2008, “Superior thermal conductivity of single-layer graphene,” *ACS Publ.*
  164. F. Schedin, A. Geim, S. Morozov, E. Hill, P. B.-N. materials, and undefined 2007, “Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene,” [nature.com](http://nature.com).
  165. V. Perebeinos and P. Avouris, “Inelastic scattering and current saturation in graphene,” *Phys. Rev. B*, vol. 81, no. 19, p. 195442, May 2010.
  166. Y. Cao *et al.*, “Unconventional superconductivity in magic-angle graphene superlattices,” *Nature*, vol. 556, no. 7699, pp. 43–50, Mar. 2018.
  167. Y. Cao *et al.*, “Correlated insulator behaviour at half-filling in magic-angle graphene superlattices,” *Nature*, vol. 556, no. 7699, pp. 80–84, Mar. 2018.
  168. H. O. Pierson, *Handbook of carbon, graphite, diamond and fullerenes: processing, properties and applications*. Park Ridge: Noyes Publications, 1993.
  169. P. N. Nirmalraj, T. Lutz, S. Kumar, G. S. Duesberg, and J. J. Boland, “Nanoscale Mapping of Electrical Resistivity and Connectivity in Graphene Strips and Networks,” *Nano Lett.*, vol. 11, no. 1, pp. 16–22, Jan. 2011.
  170. J. Wang *et al.*, “Detection of hydrogen peroxide at a palladium nanoparticle-bilayer graphene hybrid-modified electrode,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 230, pp. 690–696, 2016.
  171. “Graphene nanoplatelets powder | Sigma-Aldrich.” [Online]. Available:

- [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/799084?lang=pl&region=PL&gclid=CjwKCAjwtnbBRA5EiwAcRvnpuDGFGrHD3W687Pjyvhw0l9\\_UNwp1CGifZ71nW9Uj\\_Eqaylq7rrOhxoCEusQAvD\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/799084?lang=pl&region=PL&gclid=CjwKCAjwtnbBRA5EiwAcRvnpuDGFGrHD3W687Pjyvhw0l9_UNwp1CGifZ71nW9Uj_Eqaylq7rrOhxoCEusQAvD_BwE). [Accessed: 23-Aug-2018].
172. "Graphene Nanoplatelets Products." [Online]. Available: <https://www.cheaptubes.com/product-category/graphene-nanoplatelets/>. [Accessed: 23-Aug-2018].
  173. "Nanomaterials | Nanoparticles | Nanopowders." [Online]. Available: <https://www.strem.com/catalog/gl/44/nanomaterials>. [Accessed: 23-Aug-2018].
  174. "Graphene Nano-Platelets - World-Leading Graphene Company - XG Sciences." [Online]. Available: <https://xgsciences.com/materials/graphene-nano-platelets/>. [Accessed: 23-Aug-2018].
  175. J. Hass, F. Varchon, J. Millan-Otoya, ... M. S.-P. review, and undefined 2008, "Why Multilayer Graphene on Behaves Like a Single Sheet of Graphene," *APS*.
  176. K. M. F. Shahil and A. A. Balandin, "Graphene–Multilayer Graphene Nanocomposites as Highly Efficient Thermal Interface Materials," *Nano Lett.*, vol. 12, no. 2, pp. 861–867, Feb. 2012.
  177. D. Mateo, I. Esteve-Adell, J. Albero, ... A. P.-A. C. B., and undefined 2017, "Oriented 2.0. 0 Cu2O nanoplatelets supported on few-layers graphene as efficient visible light photocatalyst for overall water splitting," *Elsevier*.
  178. J. Benítez, J. Hernández-cordero, S. M.-O. letters, and undefined 2016, "Few layers graphene as thermally activated optical modulator in the visible-near IR spectral range," *osapublishing.org*.
  179. A. Martinez, K. Fuse, and S. Yamashita, "Mechanical exfoliation of graphene for the passive mode-locking of fiber lasers," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 99, no. 12, p. 121107, Sep. 2011.
  180. L. Seveyrat, A. Chalkha, D. Guyomar, and L. Lebrun, "Preparation of graphene nanoflakes/polymer composites and their performances for actuation and energy harvesting applications," *J. Appl. Phys.*, vol. 111, no. 10, p. 104904, May 2012.
  181. X. Mu, H. Zhang, H. Cai, Q. Fan, ... Z. Z.-M. S. and, and undefined 2017, "Microstructure evolution and superior tensile properties of low content graphene nanoplatelets reinforced pure Ti matrix composites," *Elsevier*.
  182. S. Amirfakhri, D. Binny, J. Meunier, D. B.-J. of P. Sources, and undefined 2014, "Investigation of hydrogen peroxide reduction reaction on graphene and nitrogen doped graphene nanoflakes in neutral solution," *Elsevier*.
  183. W. Sun *et al.*, "Embedding nano-silicon in graphene nanosheets by plasma assisted milling for high capacity anode materials in lithium ion batteries," *Elsevier*.
  184. E. Yoo, T. Okada, T. Akita, M. Kohyama, ... I. H.-J. of power, and undefined 2011, "Sub-nano-Pt cluster supported on graphene nanosheets for CO tolerant catalysts in polymer electrolyte fuel cells," *Elsevier*.
  185. W. Yuan, B. Li, L. L.-A. surface science, and undefined 2011, "A green synthetic approach to graphene nanosheets for hydrogen adsorption," *Elsevier*.

186. A. Mansour, S. Dey, ... A. A.-A. applied materials, and undefined 2015, "Bromination of graphene: a new route to making high performance transparent conducting electrodes with low optical losses," *ACS Publ.*
187. L. Hurtado, R. Natividad, H. G.-C. Communications, and undefined 2016, "Photocatalytic activity of Cu<sub>2</sub>O supported on multi layers graphene for CO<sub>2</sub> reduction by water under batch and continuous flow," *Elsevier.*
188. C. Shearer, "High aspect ratio printing of sintering pastes using layered stencils," *2016 6th Electron. Syst. Technol. Conf. ESTC 2016*, 2016.
189. L. Wang and Z.-M. Dang, "Carbon nanotube composites with high dielectric constant at low percolation threshold," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 87, no. 4, p. 042903, 2005.
190. I. Dubois, S. Holgersson, ... S. A.-...-R. I. B., and undefined 2010, "Correlation between particle size and surface area for chlorite and K-feldspar," *publications.lib.chalmers.se.*
191. C. Zheng, X. Zhou, H. Cao, G. Wang, Z. L.-J. of power sources, and undefined 2014, "Synthesis of porous graphene/activated carbon composite with high packing density and large specific surface area for supercapacitor electrode material," *Elsevier.*
192. Y. Wei, C. J.- Carbon, U. 2015, and C. Q. Jia, "Intrinsic wettability of graphitic carbon," vol. 87, pp. 10–17, Jun. 2015.
193. A. Noël, J. Faucheu, M. Rieu, J. P. Viricelle, and E. Bourgeat-Lami, "Tunable architecture for flexible and highly conductive graphene-polymer composites," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 95, pp. 82–88, 2014.
194. E. Lago, P. S. Toth, G. Pugliese, V. Pellegrini, and F. Bonaccorso, "Solution blending preparation of polycarbonate/graphene composite: boosting the mechanical and electrical properties," *RSC Adv.*, vol. 6, no. 100, pp. 97931–97940, 2016.
195. D. Stauffer and A. Aharony, "Introduction to percolation theory: revised second edition," 2014.
196. M. Park *et al.*, "Highly stretchable electric circuits from a composite material of silver nanoparticles and elastomeric fibres," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 12, pp. 803–809, 2012.
197. L. Hu, D. S. Hecht, and G. Grüner, "Percolation in Transparent and Conducting Carbon Nanotube Networks," *Nano Lett.*, vol. 4, no. 12, pp. 2513–2517, Dec. 2004.
198. C. Zangar, "Theory and problems of water percolation," 1953.
199. X. Wu, S. Qi, J. He, and G. Duan, "High conductivity and low percolation threshold in polyaniline/graphite nanosheets composites," *J. Mater. Sci.*, vol. 45, no. 2, pp. 483–489, Jan. 2010.
200. I. Balberg, C. H. Anderson, S. Alexander, and N. Wagner, "Excluded volume and its relation to the onset of percolation," *Phys. Rev. B*, vol. 30, no. 7, pp. 3933–3943, Oct. 1984.
201. F. Lux, "Percolation in electrical conductive polymer / filler systems. I: Density/filler curves according to a new thermodynamic percolation model," *Polym. Eng.*

- Sci.*, vol. 33, no. 6, pp. 334–342, Mar. 1993.
202. J. Helsing and A. Helte, “Effective conductivity of aggregates of anisotropic grains,” *J. Appl. Phys.*, vol. 69, no. 6, pp. 3583–3588, Mar. 1991.
  203. S. Eve, J. M.-P. Engineering, and undefined 2009, “Study of the surface modification of the PMMA by UV-radiation,” *Elsevier*.
  204. G. Ballet, “Photodegradation of Organic Photochromes in Polymers - Naphthopyrans and Naphthoxazines Series -,” *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol. Sect. A. Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, vol. 298, no. 1, pp. 75–82, May 1997.
  205. T. Caykara, O. G.-P. degradation and Stability, and U. 1999, “UV degradation of poly (methyl methacrylate) and its vinyltriethoxysilane containing copolymers,” *Elsevier*.
  206. W. Gao *et al.*, “Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis,” *Nature*, vol. 529, no. 7587, pp. 509–514, Jan. 2016.
  207. W. Lan *et al.*, “Paper-Based Reference Electrode And Potentiometric Ion Sensing,” US20160033438A1, 04-Feb-2016.
  208. M. Sophocleous and J. K. Atkinson, “A review of screen-printed silver/silver chloride (Ag/AgCl) reference electrodes potentially suitable for environmental potentiometric sensors,” *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 267, pp. 106–120, Nov. 2017.
  209. the International Organization for Standardization and the International Electrotechnical Commission, “ISO/IEC TR 18047-3:2011,” in *Information technology -- Radio frequency identification for item management*, 2nd ed., H. Barthel, A. C. Rossi, and A. Gigant, Eds. Lawrenceville: International Organization for Standardization, International Electrotechnical Commission, 2011.
  210. Karl Otto Braun GmbH & Co. KG, “Bandages & fabrics · Pharma Solutions · 051,” 2018. [Online]. Available: <https://www.kob.de/en/bandages-fabrics/pharma-solutions/fabrics/051/>. [Accessed: 24-Jan-2019].
  211. “Pipette tips Eppendorf | Lab Unlimited.” [Online]. Available: <https://www.labunlimited.com/s/ALL/4AJ-9409410/Pipette-tips-epT.I.P.S.-Standard-0.1-ul---10-ul-0030000811-Eppendorf>. [Accessed: 24-Jan-2019].
  212. S. Chandra and N. Karak, “Environmentally Friendly Polyurethane Dispersion Derived from Dimer Acid and Citric Acid,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 6, no. 12, pp. 16412–16423, Dec. 2018.
  213. T. V. Duncan, “Release of Engineered Nanomaterials from Polymer Nanocomposites: the Effect of Matrix Degradation,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, no. 1, pp. 20–39, Jan. 2015.
  214. W. Wohlleben *et al.*, “Elastic CNT–polyurethane nanocomposite: synthesis, performance and assessment of fragments released during use,” *Nanoscale*, vol. 5, no. 1, pp. 369–380, Dec. 2013.
  215. C. Bernard, T. Nguyen, B. Pellegrin, R. D. Holbrook, M. Zhao, and J. Chin, “Fate of graphene in polymer nanocomposite exposed to UV radiation,” *J. Phys. Conf. Ser.*,

vol. 304, no. 1, p. 012063, Jul. 2011.

216. A. Boubakri, N. Guermazi, K. Elleuch, and H. F. Ayedi, "Study of UV-aging of thermoplastic polyurethane material," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 527, no. 7–8, pp. 1649–1654, Mar. 2010.
217. K. F. Cutting, "Wound exudate: composition and functions," *Br. J. Community Nurs.*, vol. 8, no. Sup3, pp. S4–S9, Sep. 2003.
218. C. Vickery, "Exudate—what is it and what is its function in acute and chronic wounds," in *Management of Wound Exudate. Proceedings Joint Meeting European Wound Management Association and European Tissue Repair Society*, 1997.
219. R. G. Schoenfeld and C. J. Lewellan, "A Colorimetric Method for Determination of Serum Chloride," *Clin. Chem.*, vol. 10, no. 6, 1964.