

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Mateusza Czoka

pt. „Czujniki i mikrosystemy ceramiczne wykorzystujące optyczne metody detekcji”

wykonana dla Rady Dyscypliny Naukowej Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika

Politechniki Wrocławskiej na podstawie uchwały wwym. Rady

i pisma Przewodniczącego Rady Dyscypliny Naukowej Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika

prof. dra hab. inż. Andrzeja Dziedzica

z dnia 20.07.2022r.

Zapotrzebowanie na zintegrowane mikrosystemy analityczne do badań biologicznych, chemicznych, medycznych sprawia, że mimo znacznych osiągnięć ciągle prowadzone są prace w tym zakresie. Wiązą się one między innymi z dążeniem do zastąpienia dotychczas stosowanej w ich wytwarzaniu technologii krzemowej oraz szklanej inną. Takie możliwości stwarza, rozwijana od wielu lat w Politechnice Wrocławskiej, technologia oparta na wykorzystaniu niskotemperaturowej ceramiki współwypalanej (LTCC). Te fakty stanowiły przesłanki do podjęcia tematyki badawczej realizowanej przez mgr inż. Mateusza Czoka i przedstawionej w rozprawie. O jej aktualności świadczy również fakt, że część prac realizowana była w ramach grantu badawczego Preludium finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, którego Doktorant był kierownikiem.

Rozprawa ma formę przewodnika i uzupełnienia informacji zawartych w siedmiu publikacjach i trzech patentach, których współautorem jest mgr inż. Mateusz Czok. Składa się z siedmiu rozdziałów (rozdziały 1-7) i bibliografii, wszystko poprzedzone jest streszczeniem w języku polskim i angielskim, spisem treści, spisem rysunków, spisem tabel, spisem akronimów, spisem wybranych symboli i związków chemicznych.

W rozdziale 1 „Wprowadzenie - cel i zakres pracy” Autor w oparciu o syntetyczną analizę informacji literaturowych (jednak bez podania źródeł, takie źródła pojawiają się dopiero w wprowadzeniach do rozdziałów 3 - 6) sformułował cel zrealizowanych badań jako „Opracowanie konstrukcji i technologii wytwarzania prostych czujników i mikrosystemów ceramicznych wykorzystujących zjawisko fluorescencji oraz absorpcji z zastosowaniem względnie tanich i powszechnie dostępnych elementów i podzespołów optoelektronicznych mogących mieć

zastosowanie do pomiarów ilościowych komórek prokariotycznych i eukariotycznych, w detekcji zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi, oceny mechanizmów warunkujących oporność na leki, a także do monitorowania namnażania kolonii bakterii”.

W rozdziale 2 Doktorant przedstawia podstawowe informacje dotyczące czujników i metod detekcji. Zwraca uwagę na rolę czujników w życiu człowieka, podaje ich definicję, przedstawia klasyfikację czujników ze względu na charakter pracy, rodzaj generowanego sygnału wyjściowego, stosowane metody detekcji, wykorzystujące wybrane zjawiska fizyczne lub chemiczne. Określa parametry pracy czujnika: funkcję przetwarzania, zakres pomiarowy, czułość, rozdzielczość, nieliniowość sygnału wyjściowego. Opisuje podstawy fizyczne zjawiska absorpcji światła i fluorescencji, które są podstawą detekcji w czujnikach optycznych stanowiących przedmiot badań rozprawy. Charakteryzuje także dostępne do konstrukcji nowoczesnych czujników optycznych główne elementy jak źródła promieniowania i fotodetektory oraz przedstawia możliwe konfiguracje układu pomiarowego w spektroskopii fluorescencyjnej.

Rozdziały 3-6 zawierają wyniki prac magra inż. Mateusza Czoka związanych z projektowaniem, konstrukcją i testowaniem zrealizowanych czujników i mikrosystemów.

Pierwszym rozwiązaniem problemem (Rozdział 3) była konieczność odpowiedniego przygotowania powierzchni niskotemperaturowej ceramiki współwypalanej (LTCC), pod kątem jej wykorzystania do wytworzenia układów mikroprzepływowych. Porowatość ceramiki LTCC stanowi bowiem niebezpieczeństwo osadzania na powierzchniach kanałów czy komór pomiarowych barwników, substancji biologicznych bądź chemicznych, które się w nich znajdują. Może to mieć wpływ na działanie tych urządzeń. Rozwiązaniem jest zastosowanie warstw zol-żel do pokrycia powierzchni ceramiki. Doktorant wykorzystując informacje literaturowe wybrał skład zolu i zbadał wpływ technologii jego przygotowania (proporcje składników, czas i temperatura mieszania, czas od przygotowania roztworu do naniesienia warstwy na podłoże, liczba nakładanych warstw) na chropowatość podłoża mierzoną profilometrem mechanicznym. Pomiary przeprowadził dla podłoża ceramiki LTCC od trzech producentów: DuPont 951, CeramTape GC, Keko SK47. Okazało się, że naniesienie na podłoże jednej warstwy roztworu mieszanego w temperaturze pokojowej, po 24 h od momentu wytworzenia prowadzi do zmniejszenia chropowatości o połowę dla ceramik DuPont 951 i CeramTape GC. Nanoszenie większej ilości warstw nie poprawia rezultatów. Technologia została przetestowana w zaprojektowanym i wykonanym przez Autora podłożu testowym z wbudowanym kanałem fluidycznym, który pokryto częściowo warstwą zol-żel. W eksperymencie z roztworem fluoresceiny rozpuszczonej w etanolu zauważono znacznie mniejszą jej sedymentację na powierzchni ceramiki z warstwą ochronną niż bez tej warstwy. Kolejno wykazano, że kąt zwilżania wodą dejonizowaną powierzchni z warstwą ochronną ceramiki LTCC wszystkich producentów jest mniejszy dwukrotnie, a wartość energii powierzchniowej rośnie

o ponad 20%, w porównaniu do powierzchni bez pokrycia. Spowoduje to zmniejszenie oporów w kanałach cieczowych. W ostatnim etapie, przy współpracy z Zakładem Technik Molekularnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, zbadano wpływ obecności ceramiki w mieszaninie reakcyjnej na możliwość inhibicji łańcuchowej reakcji polimerowej. Zaobserwowano dla wszystkich podłoży ceramiki LTCC z warstwą zol-żel dodatni wynik PCR (namnażanie materiału genetycznego), w przeciwieństwie do tych bez warstwy. Daje to możliwości zastosowania mikrosystemów wykonanych z ceramiki LTCC z warstwą zol-żel do diagnostyki biologicznej i medycznej.

W rozdziale 4 mgr inż. Mateusz Czok przedstawia przepływowy mikrosystem cieczowy wykorzystujący zjawisko fluorescencji. Zrealizowany w technologii LTCC układ zawiera strukturę złożoną z 12 warstw folii ceramicznej, w której wycięto kanał cieczowy, kanały światłowodowe, wnękę na źródło światła i detektor, wyprowadzenia cieczowe oraz przygotowano metalizację do zasilania diody i detektora. W kolejnych etapach wprowadzono ochronną warstwę zol-żel do kanału cieczowego (wykonano także strukturę bez takiej warstwy), zamontowano światłowody polimerowe, diodę świecącą oraz fotodetektor usytuowane w konfiguracji prostopadłej. Wykonano również dodatkowe wyjście sygnału optycznego do zewnętrznego cyfrowego czujnika światła. Do testowania układu Autor użył kilku roztworów o różnym stężeniu fluoresceiny rozpuszczonej w alkoholu etylowym. Fluoresceina stosowana jest między innymi jako znacznik białek i przeciwciał. Pomiar sygnału fluorescencji w funkcji stężenia roztworu, przeprowadzone w odstępie 24 h, wykazały powtarzalność wyników powyżej 95 % dla struktury z ochronną warstwą zol-żel i brak powtarzalności dla struktury bez takiej warstwy. Zaobserwowano również wysoką stabilność mierzonych sygnałów w czasie.

Drugim zrealizowanym układem była konstrukcja z półotwartą komorą detekcyjną, dzięki czemu unika się konieczności stosowania pompy wymuszającej przepływ badanego roztworu, dedykowana dla potrzeb ilościowego oznaczania komórek biologicznych (miniaturowy ceramiczny analizator komórek). Wykonany z 11 warstw folii moduł zawiera: komorę pomiarową, diodę i fotodetektor, dwa światłowody oraz metalizację do zasilania diody i detektora. Autor przeprowadził badanie jego przydatności wykonując pomiary sygnału fluorescencji roztworów zawierających różne koncentracje prokariotycznych komórek *Escherichia coli* i eukariotycznych *Saccharomyces cerevisiae* zawieszonych w 0.9% NaCl. Jako czynnik fluorescencyjny do zabarwienia komórek został zastosowany dihydrochlorek 4', 6-diamidino-2-fenylindolu, który po związaniu z kwasem deoksyrybonukleinowym daje odpowiedni sygnał fluorescencyjny. Tą część badań mgr inż. Mateusz Czok wykonał przy współpracy z innymi jednostkami. Przygotowanie roztworów bazowych oraz barwienie komórek wykonał zespół składający się z pracowników Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej

Akademii Nauk oraz Centrum Badań Zakażeniami im. Helmholtza (Brunszwik, Niemcy). Pomiar wykazały, że intensywność fluorescencji zależy od typu komórek w roztworach testowych - była większa dla komórek eukariotycznych, gdyż ze względu na budowę mogą związać znacznie więcej barwnika. Równocześnie sygnał pomiarowy był proporcjonalny do liczby komórek w badanym roztworze. Uzyskane rezultaty pokazują przydatność opracowanego układu do ilościowych pomiarów komórek, np. bakterii Gram-ujemnych. Może on pracować jako samodzielny czujnik fluorescencyjny bądź jako składnik złożonych systemów.

W Rozdziale 5 Doktorant przedstawia miniaturowy, uniwersalny czujnik wykorzystujący zjawisko absorpcji światła. Opracowana konstrukcja stanowi mikroprzepływowy moduł złożony z 13 warstw folii ceramicznych, który zawiera: kanały wlotowy i wylotowy, obszar absorpcyjny, komorę źródła światła, komorę detekcyjną i dwie szczeliny, w których umieszczone są płytki szklane separujące obszar absorpcyjny od komory źródła światła i komory detekcyjnej i umożliwiające kontakt optyczny, zintegrowane ze strukturą podczas jej wypalania. Źródło światła stanowią trzy diody LED emitujące promieniowanie o długości fali odpowiadającej barwie czerwonej, zielonej i niebieskiej jest umieszczone na oddzielnym podłożu, umożliwiającym także zamontowanie sprzęgacza światłowodowego dla przesłania promieniowania z wybranego źródła światła do komory detekcyjnej. Fotodetektor jest również zamontowany na oddzielnym podłożu. Do testowania wykonanej konstrukcji został wykorzystany układ pomiarowy złożony z modułu mikroprzepływowego, źródeł promieniowania, fotodetektora oraz układu elektronicznego (wykonanego przez Doktoranta) do sterowania źródłami światła i detektorem przy pomocy dedykowanego programu komputerowego napisanego przez Pawła Bembnowicza. Rejestrowano wskazania fotodetektora (odpowiedź układu) w funkcji czasu dla kilku różnych stężeń nadmanganianu potasu KMnO_4 w wodzie destylowanej przy oświetleniu diodą zieloną i na ich podstawie znaleziono liniową zależność absorpcji w funkcji stężenia roztworu (krzywa kalibracyjna). Umożliwia to wyznaczenie stężenia roztworu z pomiarów absorpcji. W kolejnym etapie badano wskazania fotodetektora w funkcji czasu, na różnych kanałach, przy oświetleniu każdą z diod osobno jak i kombinacji dwóch lub trzech diod świecących jednocześnie dla dwóch mediów powietrza i wody. Zaobserwowano bardzo dobrą stabilność sygnału i różne jego wartości, które Doktorant interpretuje. Przetestowano także odpowiedź fotodetektora dla trzech źródeł światła przy różnych stężeniach barwnika rodaminy 6G. Zarejestrowane sygnały i w tym przypadku są stabilne, dla wszystkich źródeł światła i kanałów fotodetektora. Wyznaczona zależność absorpcji od stężenia rodaminy, dla światła barwy niebieskiej na niebieskim kanale detektora jest liniowa, natomiast na czerwonym i zielonym występuje nasycenie sygnału. Dla obu badanych roztworów nadmanganianu potasu i rodaminy zmierzona absorpcja jest proporcjonalna do stężeń roztworów. Uzyskane rezultaty wskazują, że zastosowanie trzech źródeł światła o różnej

długości fali, łatwo zmienianych dzięki użyciu sprzęgacza światłowodowego umożliwia zastosowanie wykonanego czujnika jako uniwersalnego układu szybkiej diagnostyki, na przykład do pomiarów absorbancji czy monitorowania namnażania kolonii bakterii.

W rozdziale 6 przedstawiona jest technologia i wykonanie ważnych elementów układów mikroprzepływowych jakimi są zawór i pompa. W literaturze opisane są różne konstrukcje mikrozaworów, ale tylko nieliczne są wykonane w technologii ceramicznej. Wynika to ze sztywności i kruchości ceramiki. Stosuje się więc konstrukcje hybrydowe. Doktorant zrealizował mikrozawór w hybrydowej technologii ceramiczno - polimerowej. Jego zasada działania polega na wzajemnym oddziaływaniu między magnesem neodymowym przymocowanym do elastycznej membrany i trójwymiarową cewką co wywołuje ugięcie membrany i zatrzymanie przepływu cieczy. Projekt zakładał, aby kanały mikroprzepływowe, gniazdo zaworu oraz cewka były wytworzone w jednej strukturze ceramicznej. Do wykonania membrany wybrał polidimetylosiloksan PMDS. Proces wytwarzania mikrozaworu składał się z trzech etapów - wykonanie korpusu zaworu z ceramiki LTCC, wykonanie membrany oraz łączenie obu materiałów przy użyciu plazmy tlenowej w wyładowaniu barierowym. Korpus zaworu zawiera wlot i wylot, kanały fluidyczne, gniazdo zaworu, zagrzebaną cewkę z dwoma komplementarnymi uzwojeniami oraz elektryczne otwory przelotowe. Ze względu na złożoność konstrukcji proces wytworzenia korpusu przeprowadzono za pomocą wieloetapowej laminacji folii LTCC. Membrana została wykonana z wymieszanej bazy polimerowej i utwardzacza firmy Dow Corning wlanej do formy z ceramiki LTCC i utwardzonej. Na końcu do membrany przymocowano magnes trwały dobierając eksperymentalnie przyklejenie go za pomocą taśmy adhezyjnej jako najlepsze rozwiązanie. Do określenia parametrów pracy zaworu Autor zestawiał układ pomiarowy złożony z mikrozaworu, zbiornika wody działającego jako pompa hydrostatyczna, wagi analitycznej oraz zasilacza prądu stałego. Określał objętość wody, która przepływa przez zawór w stanie otwartym i zamkniętym dla różnych napięć zasilania cewki. Zaobserwował całkowite zamknięcie zaworu dla napięcia od 10 V przy ciśnieniu hydrostatycznym wody 0.9 kPa. Poniżej 10V zawór spełnia rolę regulatora przepływu cieczy.

Drugim zrealizowanym układem jest mikropompa. Autor przedstawił klasyfikację pomp ze względu na zasadę działania, metody pobudzania, opisał konstrukcje prezentowane w literaturze. W swojej konstrukcji zastosował hybrydową technologię ceramiczno-polimerową analogicznie jak do mikrozaworu. Stanowi ją korpus pompy z ceramiki LTCC zawierający dwa obszary: komorę pompy, w której przepływ cieczy jest wymuszany ugięciami membrany oraz drugi obszar, przypominający pułapkę na ryby, gdzie ciecz jest zbierana i wypychana na zewnątrz, a także mikrokanały oraz gniazda wlotowe i wylotowe portów cieczowych. Membrana PMDS z zamocowanym magnesem umieszczona jest w centralnym punkcie pompy. W odróżnieniu od

mikrozaworu elementem, który wymusza ruch membrany jest zewnętrzna cewka wykonana w technologii LTCC. Procesy technologiczne zostały zrealizowane podobnie jak w przypadku zaworu. Podstawowy problem stanowił dobór rozmiarów magnesu oraz warunków zasilania cewki tak, aby uzyskać możliwie duże odkształcenie membrany, a jednocześnie unikać dużego poboru mocy. W tym celu przeprowadzono pomiary odkształcenia membrany z wykorzystaniem laserowego czujnika odległości, dla różnych napięć cewki i różnych magnesów w specjalnie zestawionym układzie. Zawierał on również skonstruowany przez Doktoranta dedykowany sterownik elektroniczny, umożliwiający zmianę kierunku przepływu prądu przez cewkę, dla wywołania oscylacji membrany. Na podstawie wykonanych pomiarów znaleziono, że optymalna częstotliwość pobudzenia membrany wynosi 5 Hz, dla magnesu $\phi 3 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ uzyskano stabilne odkształcenie membrany 120 μm , przy napięciu zasilania 10V.

Rozdział 7 zawiera podsumowanie i wnioski końcowe. Autor zasugerował również kierunek dalszych badań, które mogą być rozwinięciem Jego prac.

Rozprawę kończy bibliografia zawierająca 105 pozycji, w tym 7 prac i 3 patenty, których współautorem jest mgr inż. Mateusz Czok. Publikacje związane są ściśle z tematyką rozprawy i aktualne, około połowa z nich ukazała się po roku 2011.

Drugą część opracowania stanowią kopie wyżej wymienionych prac i patentów oraz oświadczenia ich 7 współautorów określające wkład merytoryczny do publikacji i wyrażające zgodę na przedłożenie publikacji przez mgra inż. Mateusza Czoka jako część rozprawy doktorskiej. Do każdego materiału dołączony jest też szczegółowy opis samodzielnego wkładu Autora rozprawy do publikacji lub patentu oraz jaki stanowi to udział procentowy. Udział Doktoranta w publikacjach zawiera się w granicach 60% - 75%, za wyjątkiem pierwszej z 2011 roku z udziałem 35%, można więc uznać go za znaczący. Są cytowane 23 krotnie według bazy Scopus. Prace ukazały się w okresie 2011 – 2016. Nasuwa się zatem pytanie, dlaczego rozprawa pojawiła się dopiero w roku 2022?

W rozprawie został zawarty bogaty materiał eksperymentalny, dobrze udokumentowany. Autor szczegółowo opisał złożone procesy technologiczne realizacji układów i sprawdzanie ich działania. Schematy poszczególnych warstw ceramiki, przekroje przez wykonane układy, zdjęcia gotowych struktur, wyniki pomiarów testujących zostały zaprezentowane na 40 rysunkach i w 5 tabelach. Doktorant wykazał się umiejętnością projektowania i wytwarzania złożonych struktur w technologii LTCC, umiejętnością planowania eksperymentów sprawdzających ich działanie, prowadzenia pomiarów testujących oraz analizy uzyskanych rezultatów. Przygotowanie stanowisk do pomiarów wymagało umiejętności projektowania i wykonania dedykowanych układów elektronicznych. Sposób realizacji pracy i uzyskane efekty świadczą o dobrym rozeznaniu w literaturze przedmiotu i umiejętnym wykorzystaniu tej wiedzy. Godna podkreślenia jest również

umiejętność współpracy mgr inż. Mateusza Czoka z różnymi zespołami badawczymi z jednostek poza Politechniką Wrocławską, w pewnym zakresie badań.

Praca napisana jest poprawnym językiem, została starannie opracowana pod względem edycyjnym. Autor wykonał samodzielnie komputerowy skład tekstu w systemie LATEX i wydrukował w poręcznym formacie B5, co jest rzadkim przypadkiem.

Oceniam rozprawę mgr inż. Mateusza Czoka bardzo wysoko, stwierdzam, że zaplanowany cel badań został osiągnięty i potwierdzony efektami przeprowadzonych prac w postaci:

- zaprojektowania i wykonania podłoża testowego z wbudowanym kanałem fluidycznym do oceny wpływu warstwy zol-żel na sedymentację roztworu fluoresceiny na powierzchni ceramiki LTCC,
- opracowania technologii i konstrukcji przepływowego ceramicznego czujnika fluorescencyjnego,
- opracowania technologii i konstrukcji ceramicznego czujnika fluorescencyjnego z zamkniętą komorą detekcyjną,
- opracowania technologii i konstrukcji ceramicznego czujnika absorpcyjnego,
- opracowania technologii i konstrukcji ceramicznego mikrozaworu elektromagnetycznego,
- opracowania technologii i konstrukcji ceramicznej mikropompy elektromagnetycznej,
- integracji z opracowanymi strukturami pomiarowymi względnie tanich i ogólnie dostępnych elementów i podzespołów elektronicznych i optoelektronicznych.

Do oryginalnych rezultatów można zaliczyć :

- opracowanie i wykonanie konstrukcji przepływowego ceramicznego czujnika fluorescencyjnego w technologii LTCC,
- opracowanie i wykonanie konstrukcji ceramicznego czujnika fluorescencyjnego z zamkniętą komorą detekcyjną w technologii LTCC,
- opracowanie i wykonanie konstrukcji ceramicznego mikrozaworu elektromagnetycznego,

które zostały opatentowane.

W rozprawie zauważyłem pewne błędy:

- na str. 38 w.13 i nast. czytamy „Projekt czujnika składał się ... z komory optycznej dla trzech źródeł światła...” , podczas gdy trzy źródła światła zostały zamontowane na oddzielnym podłożu ceramicznym,
- na str. 45 występuje podpis ”Rysunek 5.8 Wyniki pomiarów absorbancji światła w powietrzu (a) i wodzie (b)”. Na rysunku pokazane są wartości rejestrowane przez fotodetektor (nie absorbancja). Autor w innych miejscach nazywa je „Odpowiedź fotodetektora....”, na Rys.4.6 lub „Odpowiedź mikrosystemu...” na Rys. 5.6,

- na str. 51 w.8 i nast. czytamy „Prace oraz wyniki ... opublikowano na łamach trzech ... czasopism”, podczas gdy występują tylko dwa odnośniki [78, 79],
- na str. 59 w. 13 jest „bakterii gram ujemnych...” winno być „... bakterii Gram ujemnych...”,
- na str. 60 w. 8 i nast. czytamy „W wyniku wzajemnego oddziaływania między zagrzebaną cewką a membraną z przymocowanym magnesem trwałym ... dochodzi do odkształcenia membrany”, podczas gdy w w. 14 i nast. stwierdzono „W odróżnieniu od zaworu, elementem wymuszającym ruch membrany jest zewnętrzna cewka ...”,
- na str. 60 w.22 występuje określenie „... namagnesowany pionowo magnes ...”. Co to znaczy?
- po wpisaniu adresu pozycji literaturowej [105] <http://dx.doi.org/10.1039/C2LC40210F> pojawia się komunikat „podana fraza nie została odnaleziona”

Wymienione uwagi nie zmieniają wyrażonej wcześniej wysokiej oceny pracy, której efektem są oryginalne konstrukcje do zastosowań praktycznych jak: pomiary ilościowe komórek prokariotycznych i eukariotycznych, pomiary absorbancji, monitorowanie namnażania kolonii bakterii, detekcja zakażenia bakteriami Gram ujemnymi. Autor zrealizował cel badań, wykazał się dobrą znajomością problematyki, której dotyczy rozprawa oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Stwierdzam, że rozprawa mgr inż. Mateusza Czoka spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, które określa Ustawa z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz. U. 2018 poz. 1668 i stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Naukowej Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Autora do publicznej obrony.

Wnioskuje równocześnie o wyróżnienie rozprawy.

M. Kochowski