Prof. dr hab. inż. Marek Tłaczała
Wydział Elektroniki Mikrosystemów i Fotoniki
Politechniki Wrocławskiej

Wrocław, 15.09.2017 rok

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Silicon Photomultipliers Applied for Fluorescence Detection of Biomarkers in the System with Self Calibrated Gain"

autor rozprawy: mgr inż. Piotr Dorosz

Obserwowany dynamiczny rozwój szeregu dziedzin, do których można zaliczyć medycynę nuklearną, obrazowanie medyczne, fizykę zjawisk wysokoenergetycznych, bezpieczeństwo i ochronę, pomiary DNA, cytometrię przepływową, sensory biologiczne, ma istotne znaczenie dla dalszego rozwoju społecznego. Przez długi okres postęp w tych obszarach związany był z pomiarami sygnałów optycznych przy zastosowaniu tradycyjnych fotopowielaczy lampowych. Rozwój technik pomiarowych wymaga opracowania i stosowania nowych układów detekcji. W ostatniej dekadzie istotnym stało się opracowanie nowych detektorów promieniowania zapewniających możliwość pomiaru niskich sygnałów natężenia promieniowania, aż do sczytywania pojedynczych fotonów, pracę z niskimi napięciami, rozdzielczością na poziomie pojedynczego fotonu, wysokim wzmocnieniem sygnału pomiarowego na poziomie 10^5 – 10^6, wysoką stabilnością temperaturowa, odpornością na zakłócenia polem magnetycznym. Rozwijano technologie fotopowielaczy RGB-SiPM, NUV-SiPM czy RGB-HD, które zapewniają optymalizację szeregu parametrów detektorów, takich jak szybkość sczytywania prądu ciemnego, jednorodność napięcia przebicia, wysoką sprawność fotodetekcji, niski poziom szumów i odpowiedni zakres dynamiki pomiarów. Równoległym nurtem badawczym istotnym dla rozwoju technologii detektorów pomiarowych są badania, prowadzone w wielu ośrodkach, mające na celu stworzenie systemów pomiarowych wyposażonych w te detektory. Badania te związane są z opracowaniem dedykowanych urządzeń elektronicznych (Front-End Electronics), systemów przetwarzania i akwizycji sygnałów oraz rejestracji sygnału wyjściowego. Autor rozprawy doktorskiej w swoich badaniach skoncentrował się na opracowaniu nowej generacji takich systemów elektronicznych, kompleksowej analizie wpływu czynników takich jak temperatura, szumy czy stabilizacja wzmocnienia na użyteczność mierzonego sygnału wyjściowego. Zaproponował szereg optycznych układów pomiarowych, które w końcowej fazie zostały poddane ocenie na podstawie przeprowadzonych pomiarów.

Dlatego uważam, że z naukowego punktu widzenia oraz potrzeb metod i technik pomiarowych rozprawa jest bardzo aktualna i jednocześnie ma bardzo duże znaczenie

praktyczne. Tematyka pracy mieści się w głównym nurcie badań z dziedziny elektroniki, nowych konstrukcji przyrządowych i układów pomiarowych dla potrzeb mikro- i nanooptoelektroniki oraz dziedzin silnie powiązanych z elektroniką - medycyny i biologii.

Swoje rozważania, rezultaty badań teoretycznych, projektowych, eksperymentalnych oraz wyniki ich analizy Autor przedstawił na 143 stronach, wliczając w to wykaz literatury (wykaz zawiera 105 źródeł literaturowych, w tym 10 na 38 prac własnych, których mgr inż. Piotr Dorosz jest współautorem), wydzielone spisy rysunków oraz tabel oraz dwa załączniki. Pierwszy zawiera podstawowe informacje stosowanego modelu EKV, drugi natomiast dotyczy określenia wpływu rozmiarów tranzystora L i wielkości prądu I_{ds} na wielkość szumu białego.

W pierwszym rozdziale autor wprowadza nas w tematykę badań i zakres tematyki badawczej rozprawy. Rozważa niedogodności i ograniczenia związane ze stosowaniem w pomiarach fluorescencji tradycyjnych fotopowielaczy PMT, proponując jako alternatywę w układach pomiarowych fotopowielacze półprzewodnikowe z zastosowaniem krzemu SiPM. Pierwsze doniesienia o ich aplikacji pochodzą z końca ubiegłego wieku. Stosowanie tych detektorów ma istotne znaczenie w wypadku detekcji pojedynczych fotonów, ich odporności na zakłócenia zewnętrznym polem magnetycznym oraz w innych obszarach detekcji sygnałów. Jak słusznie autor podkreśla wprowadzenie detektora SiPM to nie tylko prosta zamiana elementu na wejściu toru pomiarowego, ale stworzenie zupełnie nowej możliwości pomiarowych w różnych obszarach zastosowań. W szczególności istotnym jest możliwość miniaturyzacji układów pomiarowych oraz stworzenie warunków do ich integracji. Bazując na przeprowadzonej analizie możliwości i zalet tych dwóch fotopowielaczy oraz wstępnych wyników badań zaproponował dwie tezy, którym podporządkowana była metodologia badań oraz sprecyzowane zadania szczegółowe przedstawione jako tytuły poszczególnych rozdziałów. Zaproponowane przez autora tezy rozprawy (podaję w wersji oryginalnej) uważam za poprawne - nie budzą żadnych moich wątpliwości:

1. The data acquisition system equipped with a designed application specific integrated circuit can be successfully used in measurements with the Silicon Photomultiplier. Silicon Photomultiplier's gain stabilization method can be implemented in the system, hence improving its parameters.
2. The Silicon Photomultiplier can be applied in the measurements of fluorescence of biomarkers.

Rozdział drugi poświęcony jest omówieniu podstaw fluorescencji. Omówiono stosowane fotopowielacze, koncentrując się na krzemowej konstrukcji SiPM oraz na wcześniej stosowanym fotopowielaczu PMT. Autor przeprowadził wnikliwą analizę porównawczą

obydwu detektorów, koncentrując się przede wszystkim na tych zaletach detektora SiPM, które decydują o postępie w zakresie małych sygnałów (związanych z detekcją pojedynczych fotonów) oraz ich przyszłej układowej integracji.

Szczegółowa analiza działania detektora SiPM, zasada działania, kluczowe parametry detektora półprzewodnikowego, jego elektroniczny model (schemat zastępczy), wraz z dyskusją o możliwościach zastosowania i występujących ograniczeń pomiarowych jest przedmiotem rozważań przez mgr inż. Piotra Dorosza w rozdziale trzecim.

W rozdziale czwartym autor przedstawił wyniki prac dotyczących konstrukcji i analizy dedykowanych układów elektronicznych przeznaczonych do odczytu sygnałów generowanych przez krzemowy fotopowielacz. Jest to jeden z trzech kluczowych rozdziałów dla przedstawionej do recenzji pracy (rozdziały 4, 5 oraz 6). Należy podkreślić, że autor projektując, analizując układy elektroniczne koncentruje się na wszystkich istotnych dla pomiaru wielkościach sygnału na wejściu SiPM i jego odpowiedzi w postaci sygnału elektronicznego na wyjściu. Analiza układów oparta jest na przyjętym założeniu, że zaproponowany układ elektroniczny (Front-End Electronics) nie może w żadnym stopniu ograniczać możliwości pomiarowych zastosowanego fotopowielacza krzemowego. Autor wstępnie wymienia bloki funkcjonalne projektowanej elektroniki układu pomiarowego niezbędne do detekcji, wzmocnienia, kształtowania i przetwarzania sygnału pomiarowego. Analiza dotyczy układów pomiarowych z zastosowaniem czterokanałowego specjalizowanego układu scalonego. Idea pomiaru i kształtowania sygnału pomiarowego w celu konwersji sygnału analogowego na cyfrowy opiera się na zastosowaniu układu ASIC zawierającego dwa stopnie wzmacniacza rozdzielone układem do wymiany biegunów. Ta konfiguracja zapewnia zgodnie z przeprowadzoną analizą duże wzmocnienie napięciowe sygnału z dużym współczynnikiem SNR. Przy tej konfiguracji wzmacniacza ładunkowego szczegółowa analiza poszczególnych szumów i poziomu sygnału wg autor jest niepotrzebna, z czym trudno się nie zgodzić. Zupełnie inne problemy występują w wypadku wielokanałowego układu ASIC'a, który został zaprojektowany przy znacznym współudziale autora rozprawy. Zastosowanie tylko jednostopniowego wzmacniacza zapewnia sygnał wyjściowy na niskim poziomie i należy spodziewać się małego współczynnika SNR. W końcowej części tego rozdziału autor rozprawy przeprowadził szczegółową analizę wpływu opracowanych parametrów układów elektronicznych i powiązanie ich z poziomem szumów dla wzmacniacza ładunkowego. Uwzględniono konfiguracje zaproponowanych układów elektronicznych w powiązaniu z szerokością i długością bramek tranzystorów oraz ich indywidualnych parametrów takich jak transkonduktancja czy prąd dren – źródło. Te zależności są istotne dla projektowania ASIC

wielokanałowego.

Rozdział piąty rozprawy dotyczy dyskusji sposobu pozyskiwania danych pomiarowych z detektora SiMP, przy zastosowaniu opracowanych przez autora rozprawy algorytmu pomiaru oraz zastosowanych technik ograniczenia szumu, zastosowanej metodologii analizy wyników pomiarów dla zastosowanego detektora SiPM oraz stosowanych metod detekcji. Autor jako podstawę do analizy wyników pomiarowych w proponowanej konfiguracji układu pomiarowego przyjmuje histogramy wyznaczone z obliczeń sygnału z detektora PDH. Szkoda, że nie przytoczył przynajmniej podstawowych zależności wykorzystywanych do wyznaczenia histogramów. W moim odczuciu opis tworzenia histogramów jest zbyt skromny, co może utrudniać jego zrozumienie osobom bezpośrednio nie związanych z tematyką pracy. Następnie bazując na wyznaczonych histogramach i funkcji dopasowania stwierdza, że możliwe jest wyznaczenia wzmocnienia zastosowanego fotopowielacza. Stabilizacja wzmocnienia według autora staje się kluczowym parametrem istotnym dla dokładności pomiarów sygnału wyjściowego SiPM wspólnie z układem elektronicznym toru pomiarowego.

W następnym kroku analizuje wpływ temperatury na dokładność wyznaczenia mierzonego sygnału detektora. Zakładając, że proces termicznej generacji ma charakter stochastyczny, autor zakłada, że w wypadku stosowania dwóch detektorów sygnał związany z termiczną generacją powinien pojawić się tylko na jednym z detektorów. Autor uważa, że gwarantuje to poprawność wyznaczenia sygnału właściwego z zastosowaniem komparatora na bazie bramek typu NAND. Niestety, ale proponowane rozwiązanie wymaga zastosowania dwóch lub więcej fotopowielaczy i dodatkowo bloku porównawczego zaimplementowanego w architekturze FPGA. Drugim rozważanym rozwiązaniem jest zastosowanie synchronizacji między sygnałem pobudzającym a pomiarowym. Z zależności przedstawionych na rys 5.7 wynika, że zastosowanie metody synchronizacji daje znacznie lepsze wyniki dla mierzonych sygnałów na wyjściu. Następnie na bazie tych rozważań autor proponuje oryginalną metodę stabilizacji wzmocnienia. Na podstawie analizy danych pomiarowych stwierdza, że zależność między wzmocnieniem i temperaturą ma charakter liniowy i to w znacznym zakresie temperaturowym. Wpływ zmian temperatury na wzmocnienie można bezpośrednio kompensować wielkością napięcia polaryzującego złącze. Wyniki tej analizy przedstawiono na rys. 5.10 i 5.11. Zależność wzmocnienia od zmian temperatury z wymuszoną zmianą napięcia polaryzacji opisana jest wzorem 5.4. Autor omawia metodykę wyznaczenia kluczowych dla tej zależności parametrów a, b i c. Analizuje kilka sposobów wyznaczenia tych parametrów i ocenia ich skuteczność porównując błędy w wyznaczaniu wzmocnienia na jeden foton. Wynik tej analizy porównawczej autor przedstawił w tab. 5.3. i tab. 5.4. Bazując na doświadczeniach powyższej

analizy autor rozprawy zaproponował metodę stabilizacji wzmocnienia proponując własny algorytmie auto-kalibracji. Idea tej propozycji zakłada, że stabilizacja dla serii fotopowielaczy opiera się na wyznaczeniu podstawowych parametrów tylko jednego detektora. Zaproponowany autorski skrypt auto-kalibracji dopasowuje parametry do wyników pomiarów, przeliczają automatycznie parametry. Dokładność pomiarów z zastosowaniem tego algorytmu wynosi ok. 0,01%.

Dla dalszych pomiarów autor zdecydował się stosować detektor czterokanałowy, ze względu na lepsze parametry w porównaniu z detektorem wielokanałowym. Przedyskutowano zaproponowane układy pomiarowe w różnej konfiguracji oraz metodologię prowadzenia pomiarów dla każdej zaproponowanej konfiguracji. Autor przeprowadził również analizę dwóch metod wyznaczania całkowitego sygnału z SiPM. Ze względu na prostotę wyznaczania sygnału z zastosowaniem obliczania sumy ważonej z poszczególnych sygnałów przedstawionych na histogramie, metoda ta została zastosowana we wszystkich pomiarach, wyniki których zostały omówione w rozdziale 6.

W rozdziale 6 mgr inż. Piotr Dorosz omówił wyniki pomiarów fluorescencji wybranych materiałów z zastosowaniem opracowanego systemu akwizycji DAQ. Autor przedstawił metodykę przygotowania próbek oraz opracowaną metodologię prowadzenia pomiarów. Do pomiarów wytypował dwa materiały fluoresceinę CF488 oraz związek oznaczony jako Anti-NPR1CF488. Mierząc szereg krzywych kalibracyjnych zaproponował stacjonarny optyczny system do pomiarów fluorescencji oraz wytypował dwa mikrofluidyczne systemy optyczne dla tych samych pomiarów. Przeprowadzone badania i otrzymane wyniki pomiarów są podstawą dla autora do sprecyzowania dalszych badań aplikacyjnych, w tym z zastosowaniem wielokanałowego AISIC'a opracowanego w ramach przedstawionej pracy do pomiarów równoległego różnych biomarkerów.

W podsumowaniu autor przedstawił swoje osiągnięcia zarówno z zakresu projektowania i uruchomienia poszczególnych układów (bloków) systemów oraz perspektywy rozwoju systemów aplikacyjnych. Podsumowując wyniki autor w pełni udowodnił słuszność zaproponowanych tez pracy. Autor prowadził badania wielowątkowe, bardzo kompleksowe co dla recenzenta jest ogromnym wyzwaniem W swojej recenzji skoncentrowałem się tylko na wybranych wątkach badawczych. Nie przytaczam szczegółowych wyników czy parametrów układów elektronicznych zakładając, że autor przedstawi szczegółowe końcowe wyniki w swoim referacie.

Uwagi dyskusyjne:

- Na ile jest uprawnione i jakim obarczone jest błędem założenie, że proces termicznej generacji w detektorze jest procesem stochastycznym i pojawienie się sygnału od generacji termicznej będzie obserwowane tylko na jednym detektorze
- Mało zrozumiała jest rola układu włączonego między pierwszym i drugim stopniem wzmacniania w układzie przedwzmacniacza – układu wymiany bieguny PZC
- Co było przyczyną wyznaczania aproksymacji funkcji dla kilku pomiarów na podstawie tylko trzech punktów pomiarowych (rys. 6.17, 6.18)?

Uwagi redakcyjne

➢ Wyraźnie brakuje, na wstępie pracy, wykazu stosowanych skrótów i akronimów. Obecnie w literaturze źródłowej stosuje się tak ogromną ilość skrótów i akronimów utrudniających szybką lekturę i dlatego dla ułatwienia wykaz taki wydaje się niezbędnym. Brak takiego wykazu w recenzowanej pracy skutkuje koniecznością poszukiwania wyjaśnień często stosowanych skrótów przez autora.

➢ Nie mogę oceniać poprawności redakcji rozprawy w języku angielskim, Uważam że moja znajomość języka angielskiego nie upoważnia mnie do tej oceny. Pragnę tylko zwrócić uwagę doktoranta na jeden problem. Bardzo częstym błędem spotykanym przy recenzowaniu prac jest nadużywanie stwierdzenia, że cytuję „ Rysunek przedstawia ....). Również autor nie ustrzegł się przed zastosowaniem tej formy w języku angielskim. Wg mnie rysunek jest tylko formą prezentacji wyników badań i dlatego bardziej poprawne jest stwierdzenie, że „Na rys. przedstawiono....".

➢ W redakcji pracy wyraźnie brakuje mi krótkich podsumowań i wniosków wynikających z dyskusji prowadzonych w poszczególnych rozdziałach

➢ Uważam, że oprócz spisu cytowanej w pracy literatury, dobrze byłoby zamieścić wykaz dorobku publikacyjnego autora rozprawy.

Niezależnie od powyższych uwag poziom redakcji oceniam bardzo wysoko, praca napisana jest logicznie i zrozumiale. Konstrukcja pracy, podział na poszczególne rozdziały i podrozdziały oraz dobór cytowanych prac źródłowych nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Dyskusja otrzymanych wyników badań eksperymentalnych nie budzi zastrzeżeń. Omówione i zaproponowane układy pomiarowe, analiza parametrów czterokanałowego i wielokanałowego detektora, analiza wzmocnienia na jeden foton z uwzględnieniem wpływu wahań temperatury w trakcie pomiaru, analiza możliwych szumów i ich wpływu na stosunek SNR oraz zastosowana metodologia stabilizacji wzmocnienia na jeden foton wraz z auto-kalibracją układów pomiarowych dają nam pełny obraz możliwości zastosowania tego detektora w zaawansowanych pomiarach pojedynczych fotonów oraz jego istotne zalety w porównaniu do

PMT.

Przedstawione wyniki badań i wnioski będące rezultatem badań rozszerzają wiedzę na temat możliwości pomiarowych układów zastosowanych i opisanych w pracy przez mgr inż. Piotra Dorosza.

Tym samym mogę stwierdzić, że Autor osiągnął proponowany cel rozprawy doktorskiej oraz rozwiązał przedstawione w rozprawie zadania szczegółowe. Ze względu na duże walory poznawcze i potencjalne możliwości aplikacyjne przedstawioną rozprawę uważam za bardzo dobrą. Postawione tezy rozprawy zostały w pełni udowodnione.

Recenzent stwierdza, że rozprawa mgr inż. Piotra Dorosza stanowi oryginalny i samodzielny dorobek Autora oraz spełnia z wyraźnym nadmiarem wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez obowiązujące przepisy.

Biorąc pod uwagę dorobek naukowy mgr inż. Piotra Dorosza i pozytywną ocenę Jego rozprawy doktorskiej uważam, **że spełnione są wszystkie wymagania wynikające z Ustawy z 14.03.2003r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki wraz ze wszystkimi późniejszymi nowelami.** Mgr inż. Piotr Dorosz **spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora nauk technicznych i wnioskuję o dopuszczenie do publicznej obrony przedstawioną rozprawę doktorską.**

Mając na uwadze poziom przedstawionej rozprawy doktorskiej i jej wysoką ocenę, wysoki poziom prezentacji osiągnięć naukowych autora oraz wykazanie, że przeprowadzone badania mają wyraźny aspekt praktyczny, wnioskuję o wyróżnienie przez Radę Naukową recenzowaną pracę.