

УТВЕРЖДАЮ

И.о. ректора МГТУ им. Н.Э. Баумана,

К.Т.Н.

Гордин М. В.



09 2022 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Филатова Никиты Алексеевича

«Разработка микрофлюидной платформы для синтеза монодисперсных макроэмульсий и гидрогелевых микрочастиц»,

представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 – «Приборы и методы экспериментальной физики»

**Актуальность тематики диссертации.** Диссертация Н. А. Филатова посвящена разработке микрофлюидной платформы для синтеза монодисперсных капель эмульсии «вода-в-масле» и гидрогелевых микрочастиц. Платформа состоит из микрофлюидных чипов с фокусировкой потока и контроллера давлений для ввода и управления течением жидкостей. Тема диссертации безусловно является актуальной, а результаты работы применимы для перспективных и востребованных биомедицинских направлений: скрининга лекарственных препаратов, тканевой инженерии, 3D биопечати и др.

**Структура и общая характеристика работы.** Диссертация состоит из введения, двух глав и заключения. Общий объем диссертации составляет 167 страниц, включая 1 таблицу, 66 рисунков и список цитируемых источников из 170 наименований.

Во **введении** обоснована актуальность и практическая значимость темы диссертации, указаны цель и задачи исследования, сформулированы научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту, приводится список научных конференций, на которых были представлены

результаты работы, описывается личный вклад Н. А. Филатова в диссертационное исследование.

**Первая глава** диссертации является обзорной. В ней описываются преимущества «капельной микрофлюидики», а также развитие микрофлюидных систем и чипов для исследования и анализа биообъектов/клеток в каплях. Указывается какое периферийное оборудование используется и разрабатывается для генерации капель, в частности, системы формирования капель с помощью отрицательного давления, прикладываемого к выходному каналу чипа. Отдельное внимание уделено формированию стабильных капель макроэмульсии в чипах и перемешиванию реагентов в таких каплях. Показана актуальность синтеза гидрогелевых микрочастиц, которые можно сочетать с живыми клетками для 3D биопечати тканей и органов, создания систем «орган-на-чипе».

**Вторая глава** посвящена экспериментальным исследованиям и состоит из 6 разделов. В **первом разделе** приведены общие формулы и теоретические основы образования капель. Указываются составы дисперсной и непрерывной фаз и способы придания гидрофильных и гидрофобных свойств поверхностям микроканалов. Во **втором разделе** описаны процессы изготовления микрофлюидных чипов с генераторами капель с фокусировкой потока с помощью методов фотолитографии и «мягкой литографии». Указано количество произведённых мастер-форм и чипов, а также их ключевые геометрические параметры: апертура, ширина и высота.

В **третьем разделе** представлена разработка и характеристика микрофлюидного контроллера давления (МФКД) с «открытым исходным кодом» для ввода жидкостей в микрофлюидные чипы при постоянном давлении. Указано, что контроллер изготовлен на базе 4х электропневматических регуляторов серии SMC ITV00X0 и позволяет работать на диапазоне 0 – 100 кПа (ITV-0010) и 0 – 500 кПа (ITV-0030). Дополнительно МФКД управляется с компьютера через приложение или в ручном режиме, имеет вакуумный насос для ввода жидкостей при отрицательном давлении, релейные выходы, аналоговые входы, шину I2C и UART для подключения внешних функциональных элементов (клапаны,

расходомеры, нагреватели, источники высокого напряжения и т. д.). Также показаны разработки пневмоинтерфейсов для лабораторных пробирок 1,5 мл, 15 мл и 50 мл для подачи реагентов в микрочип. Характеризация устройства МФКД была оценена в ряде экспериментов. Так, представлены данные экспериментов по стабильности формирования капель с помощью МФКД в течение 4 часов, а также данные зависимостей диаметра капель и частоты их образования от отношения давлений дисперсной и непрерывной фаз (в режиме контроля давления без учета обратной связи по расходам). Полученные результаты в режиме контроля давления сравнивались с данным в режиме контроля расхода (получены с использованием шприцевых насосов), что позволило впервые оценить вязкость эффективной эмульсии в выходном микроканале.

**В четвертом разделе** показаны результаты исследований по стабильной генерации капель в режиме образования монодисперсных капель «вода-в-масле» в микрофлюидном устройстве с фокусировкой потока, течение жидкостей в котором было вызвано созданием отрицательного давления в выходном резервуаре, в то время как входные резервуары находились при атмосферном давлении. Также были представлены исследования влияния гидравлических сопротивлений и прикладываемого отрицательного давления на размер получаемых капель, которые позволили сделать вывод о том, что при уровнях давления от -30 кПа до -80кПа диаметр капель в основном определяется гидравлическими сопротивлениями и не зависит от давления.

**В пятом разделе** показаны результаты экспериментальных исследований усиления скорости перемешивания реагентов в микрокаплях «вода-в-масле» в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока, где входные микроканалы в месте образования капель имели симметричную или асимметричную конфигурацию. В данной работе проведено сравнение экспериментальных данных с результатами двумерного численного моделирования процесса образования капель, проведенного в программе Comsol Multiphysics. Экспериментально установлено, что использование асимметричной конструкции микроканалов приводит к формированию одиночного асимметричного рециркуляционного вихря в

дисперсной фазе на стадии образования капель, который увеличивает скорость перемешивания. Обнаружено, что направление и структура вихря напрямую зависят от аспектного отношения области фокусировки потока. Для изучения увеличения скорости перемешивания, вызванного асимметричными вихрями в области образования капель, представлено исследование распределения красителя в каплях во время их движения в выходном канале. Показано, что оно основано на измерениях интенсивности света внутри капель, соответствующей концентрации красителя, и включало в себя расчет индекса перемешивания и коэффициента распределения красителя в верхней и нижней половинах капель.

**Шестой раздел** посвящен апробации разработанной микрофлюидной платформы (МФКД в сочетании с микрофлюидными чипами). Представлены результаты синтеза микрочастиц из гидрогелевых материалов: полиэтиленгликоль диакрилат (PEGDA), полиакриламид, альгинат натрия, желатин метакрилоил (GelMA) и агароза. Указано, что такие гидрогели были выбраны исходя из их биосовместимости, инертности и возможности реализовать технологию полимеризации гидрогеля в микрофлюидном чипе. Дополнительно эти гидрогели перспективны для применения в тканевой инженерии и 3D биопечати. Для частиц из PEGDA и полиакриламида отдельно приведены исследования их упругих свойств (методом атомно-силовой спектроскопии) и данные экспериментов по анализу выхода малых молекул из таких микрочастиц на примере модельного флуоресцентного красителя Rhodamine B в концентрации 0,1 мг/мл для анализа их применимости в качестве контейнеров для доставки лекарств.

Также представлено применение разработанной микрофлюидной платформы (в том числе с применением метода генерации микрокапель эмульсии «вода-в-масле» отрицательным давлением) для синтеза гидрогелевых микрочастиц из альгината натрия, GelMA и агарозы в диапазонах диаметров 30-200 мкм. Дополнительно проведены исследования инкапсулирования клеток в капли эмульсии по типу «вода-в-масле» и культивирования клеток внутри и на поверхности гидрогелевых микрочастиц.



В **заключении** диссертации перечислены основные результаты работы.

**Научная новизна работы** состоит в том, что (1) впервые проведен анализ зависимости диаметра капель «вода-в-масле» от соотношения давлений дисперсной и непрерывной фаз в случае образования эмульсии под постоянным давлением без обратной связи по расходам жидкости; (2) проведено сравнение режимов формирования капель эмульсии при постоянном давлении и постоянном расходе жидкостей с помощью представления микроканалов эквивалентными электрическими схемами позволило впервые оценить эффективную вязкость эмульсии в выходном микроканале; (3) впервые экспериментально показано, что в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока диаметр капель при уровнях отрицательного давления от  $-30$ кПа до  $-80$ кПа преимущественно определяется гидравлическими сопротивлениями входных микроканалов; (4) впервые экспериментально показано, что в асимметричном генераторе капель с фокусировкой потока структура и направление дисперсного потока зависят от аспектного соотношения ширины и глубины микроканалов, что при определенных диаметрах капель может до шести раз усиливать скорость перемешивания реагентов в каплях по сравнению с генератором с симметричной фокусировкой потока.

**Практическая значимость результатов работы** состоит в том, что разработан прототип коммерческого прибора – 4х каналный контроллер давления и пневмоинтерфейсы для лабораторных пробирок объемом от 1,5 мл до 50 мл для стабильного формирования монодисперсных микрокапель «вода-в-масле» и гидрогелевых микрочастиц в микрофлюидных чипах. Дополнительно для способа формирования монодисперсной макроэмульсии отрицательным давлением в микрофлюидном устройстве для эффективного формирования гидрогелевых микрочастиц со сложной внутренней структурой получен патент на полезную модель № 199373 от 28 августа 2020 года.

**Использование результатов и выводов диссертации.** Результаты диссертации использованы при подготовке и проведении лабораторных работ по курсу «Микрофлюидные технологии» в СПбАУ РАН им. Ж.И. Алфёрова. Также

результаты использованы при разработке микрофлюидных чипов для проведения экспериментов по созданию новых типов 3D биочернил в проекте РНФ «Создание и исследование трехмерных клеточных структур для регенеративной медицины и разработки «органов-на-чипе» (руководитель А.С. Букатин).

Полученные в диссертации результаты и выводы могут быть использованы в российских образовательных и научных организациях, которые ведут исследования и разработки в области микрофлюидной аппаратуры, а также осуществляют подготовку высококвалифицированных специалистов: ИАП РАН, МГТУ им. Н.Э. Баумана, Сибирский федеральный университет, СПбАУ РАН им. Ж.И. Алферова, Университет ИТМО, Сколковский институт науки и технологий, ИБХ РАН, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Институт цитологии РАН и др.

В качестве замечаний по диссертации следует отметить:

- 1) Представленные результаты недостаточно структурированы.
- 2) В работе представлены результаты по манипулированию с водными растворами, не описана в достаточной мере возможность работы с агрессивными, слабо кислыми или щелочными средами.
- 3) Из текста работы ясно, что разработанная микрофлюидная платформа обеспечивает стабильное формирование капель диаметром 15-200 мкм. Большой научный интерес представляет возможность расширения диапазона как в большую сторону от 200 мкм, так и в меньшую 1-5 мкм. Необходимо сформулировать проблемы получения капель в диапазоне размеров 0,5-3 мкм, т.к. они перспективны с точки зрения практического применения в биомедицинских системах, например, доставки лекарственных средств.
- 4) В подразделе 2.5, где приводятся экспериментальные исследования перемешивания реагентов в каплях, сравниваются только два типа генераторов с фокусировкой потока – симметричный и асимметричный. Причем углы ввода жидкостей жестко фиксированы для симметричного ввода под углом 45°. В такой ситуации возникают вопросы: 2.1) чем именно обусловлен выбор конфигурации каналов с фокусировкой потока, 2.2) чем обусловлен выбор ввода симметричных

входных микроканалов только под углом  $45^\circ$ , что будет если их располагать под другими углами? Данные вопросы не освещены в работе.

5) В подразделе 2.5, где приводятся экспериментальные исследования перемешивания реагентов в каплях, указывается, что индекс перемешивания непосредственно после образования капли не зависит от конструкции генератора капель. Но из-за различного начального распределения, вызванного асимметричным вихревым движением, перемешивание реагентов в асимметричном устройстве фокусировки потока происходит до шести раз быстрее, чем в обычном симметричном. Эффективное перемешивание происходит только в узком диапазоне объемов капель, близких к объему области образования капель. Чтобы преодолеть это, площадь образования капель может быть увеличена для достижения требуемых размеров капель. При этом данные исследования касаются случаев высоты микроканалов только 40 и 60 мкм. В такой ситуации возникает вопрос, а существует ли оптимальная высота микроканалов для эффективного перемешивания реагентов, можно ли привести график зависимости индекса перемешивания от различных высот? Данный вопрос не освещен в работе.

6) Исследования стабильности формирования микрокапель с применением отрицательного давления на выходном микроканале чипа показывают наилучший результат по образованию монодисперсных капель в течении более 4 часов с коэффициентом вариации диаметра менее 0,5%. При этом диапазон давлений варьируется от 0 до -80 кПа. Возникает ли кавитация в микроканалах при больших значениях давления, и нарушает ли она стабильное образование капель? Данный вопрос не освещен в работе.

Указанные замечания не снижают научной ценности полученных результатов и общего положительного впечатления о представленной Н. А. Филатовым диссертации. Работа представляет собой завершённое научное исследование, актуальное по тематике, цели и задачам, и содержит ряд новых научных результатов, имеющих весомое практическое значение. Работа прошла широкую апробацию на российских и международных научных конференциях, ее

результаты опубликованы в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК, включая издания, индексируемые в международных наукометрических базах данных Scopus и Web of science. В частности, три статьи опубликованы в высокорейтинговых журналах 1 и 2 квартиля: Micromachines (Q2), Scientific Report (Q1), IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement (Q1).

Представленная диссертация соответствует паспорту специальности 1.3.2 (ранее 01.04.01) по следующим пунктам:

п.1. Изучение физических явлений и процессов, которые могут быть использованы для создания принципиально новых приборов и методов экспериментальной физики.

п.4. Разработка и создание экспериментальных установок для проведения экспериментальных исследований в различных областях физики.

п.6. Разработка и создание средств автоматизации физического эксперимента.

На основании этого можно заключить, что диссертационная работа соответствует выбранной специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики».

Диссертация Н. А. Филатова «Разработка микрофлюидной платформы для синтеза монодисперсных макроэмульсий и гидрогелевых микрочастиц» удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (ред. от 11.09.2021), предъявляемые к кандидатским диссертациям, а ее автор, Никита Алексеевич Филатов, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 – «Приборы и методы экспериментальной физики».



Настоящий отзыв обсужден на научном семинаре в НОЦ «Функциональные Микро/ Наносистемы» ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет) (протокол № 1 от 13 сентября 2022 года).

Родионов Илья Анатольевич, к.т.н.,  
директор НОЦ Функциональные Микро/Наносистемы  
МГТУ им. Н.Э. Баумана  
e-mail: irodionov@bmstu.ru  
Телефон: +7 (499) 263-6531



Дата: « 13 » сентябре 2022 г.