

ОТЗЫВ

официального оппонента 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

Диссертация Н.А.Филатова посвящена разработке комплекса вопросов, связанных с развитием микрофлюидных технологий, востребованность которых для проведения биологических и биомедицинских исследований в последнее время только усиливается. Более конкретно, диссертационное исследование Н.А.Филатова лежит в области «капельной микрофлюидики» и нацелено на разработку новых методов и устройств для синтеза стабильных монодисперсных макроэмульсий и гидрогелевых микрочастиц с применением микрофлюидных устройств. Актуальность диссертационной работы соискателя несомненна, а ее результаты обладают большим потенциалом для применения в скрининге лекарственных препаратов, тканевой инженерии, 3D био-печати и в других биомедицинских приложениях.

Диссертационная работа состоит из введения, двух глав, заключения и списка цитируемой литературы. Материал диссертации изложен на 167 страницах, включающих 66 рисунков и одну таблицу. Список цитируемой литературы включает 170 наименований.

Во *введении* обосновывается актуальность темы исследований, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Представлены основные результаты, выносимые на защиту, даны сведения об апробации работы, приведены данные о публикациях автора и его личном вкладе в выполненные исследования

Первая глава диссертационной работы представляет собой обстоятельный литературный обзор по актуальному состоянию и научно-техническим проблемам, связанным с развитием микрофлюидных систем для исследования биообъектов и клеток в микрокаплях жидкости. Освещаются физические аспекты формирования стабильных макроэмульсий в микрофлюидных чипах и перемешивания реагентов в каплях макроэмульсий, вопросы применения методов компьютерного моделирования в микрофлюидике, основные составляющие микрофлюидных чипов и материалы для их изготовления, вопросы создания гидрогелевых микрочастиц на основе капель макроэмульсии, методы исследования биомолекул и клеток в каплях жидкости и новые методы использования капель макроэмульсии для развития технологий биомедицинской направленности. По итогам рассмотрения предыдущих исследований и разработок, автором формулируются основные задачи диссертационного исследования по разработке микрофлюидной платформы,

включающей в себя микрофлюидный чип для формирования капель эмульсии, систему перемешивания реагентов, систему ввода и управления жидкостями, а также собственно методики использования платформы для синтеза монодисперсных микрочастиц

Во *второй главе*, состоящей из 6 разделов, излагаются примененные автором подходы к решению поставленных задач и полученные им результаты, основные из которых заключаются в следующем.

1. Разработан и изготовлен экспериментальный образец 4-х канального микрофлюидного контроллера давления на базе современных электропневматических регуляторов. Контроллер обеспечивает управление воздушными каналами в ручном или автоматическом режиме и, в применении к чипам с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм, обеспечивает воспроизводимое формирование стабильной макроэмульсии с каплями диаметром от 5 до 200 мкм с коэффициентом вариации диаметра капель не более 9%.

2. Для случая микрофлюидного чипа с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм и организации ввода жидкостей при контроле давления во входных резервуарах (без обратной связи по расходам) получены экспериментальные зависимости диаметра капель и частоты формирования капель макроэмульсий «вода-в-масле» от отношения между приведенными входными давлениями дисперсной и непрерывной фаз. Установлено, что в этом случае диаметр линейно, в пределах от 2 до 60 мкм, зависит от отношения между приведенными давлениями фаз, изменявшегося в пределах от 0,5 до 0,9, и не зависит от размерных значений приведенных давлений (в пределах 5-25кПа). Показано, вместе с тем, что частота генерации капель сильно зависит как от уровня приведенных значений давления фаз, так и от их отношения.

3. Для проведения исследований по теме диссертации разработаны и изготовлены микрофлюидные чипы (25 различных модификаций) с фокусировкой потока для формирования макроэмульсий (в том числе двойных эмульсий) и гидрогелевых микрочастиц диаметром 15 – 200 мкм.

4. Установлено, что при организации асимметричного подвода жидкостей в место формирования капель в микрофлюидном чипе с шириной выходного микроканала 60 мкм и с генератором капель по типу фокусировки потока с апертурой 15 мкм удастся до шести раз увеличить скорость перемешивания реагентов в микрокаплях «вода-в-масле» по сравнению со случаем симметричного ввода жидкостей.

5. Показано, что переход к гидравлической схеме ввода жидкостей в микрофлюидный чип с заданием на выходе из чипа отрицательного приведенного давления (входное давление – атмосферное) позволяет формировать стабильную и монодисперсную эмульсию в течении длительного времени (более 4 часов) с малыми вариациями диаметра (менее 1 мкм), как при электропневматическом, так и при ручном способе регулирования давления. В примененных микрофлюидных чипах с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм диаметр капель при значениях выходного

приведенного давления, изменявшихся от -30кПа до -80кПа , определяется гидравлическими сопротивлениями входных микроканалов.

6. С применением разработанной микрофлюидной платформы отработаны методы создания стабильных гидрогелевых микрочастиц из различных материалов (полиэтиленгликоль диакрилата (PEGDA), полиакриламида, альгината натрия, агарозы, желатина метакрилоила (GelMA)). Показана работоспособность метода упаковки клеток млекопитающих и бактерий в капли эмульсии и гидрогелевые микрочастицы на базе разработанной микрофлюидной платформы. Для случая микрочастиц из альгината натрия установлено, что клетки в них способны жить в течении более 5 дней в инкубаторе при 5% CO_2 и 37°C .

Научная новизна работы заключается в следующем:

1. Впервые для микрофлюидных чипов с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм выявлена линейная зависимость диаметра капель макроэмульсий «вода-в-масле» от отношения между входными приведенными давлениями фаз (изменявшегося в пределах от 0,5 до 0,9), и не зависит от размерных значений приведенных давлений (в пределах 5-25кПа).

2. Посредством модельного представления системы микроканалов чипа в виде эквивалентных электрических схем и сравнения расчетных данных, полученных для режимов формирования капель эмульсии «вода-в-масле» при постоянном входном давлении и постоянном расходе жидкостей, впервые оценена эффективная вязкость эмульсии в выходном микроканале шириной 200 мкм микрофлюидного чипа с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм; установлена зависимость эффективной вязкости эмульсии от фактора заполнения канала каплями.

3. Экспериментально установлено, что при отрицательных значениях приведенного выходного давления в интервале от -30кПа до -80кПа диаметр капель, формирующихся в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм, преимущественно определяется гидравлическими сопротивлениями входных микроканалов; это позволяет значительно упростить метод формирования эмульсии.

4. Впервые экспериментально показано, что при асимметричной фокусировке потока в области формирования микрокапель микрофлюидного генератора с апертурой 15 мкм структура и направление дисперсного потока зависят от соотношения ширины и глубины микроканалов, и при подходящем выборе этого соотношения время перемешивания реагентов в каплях можно сократить до 6 раз по сравнению с вариантом генератора с симметричной фокусировкой потока.

Достоверность полученных результатов обусловлена приведенным в диссертации обоснованием применимости использованных и разработанных автором подходов и исследовательских методик для условий, при которых изучаются процессы формирования микрокапель в микрофлюидном генераторе рассматриваемого типа, а также воспроизводимостью получаемых результатов и их внутренней непротиворечивостью.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в том, что представленные в ней результаты могут быть непосредственно использованы во многих научно-исследовательских организациях и на высокотехнологичных предприятиях, связанных с разработками и применением «капельных» микрофлюидных технологий.

При прочтении диссертационной работы возник ряд вопросов и замечаний:

1. Автор весьма «вольно» обращается с термином «абсолютное давление», фактически подразумевая под этим не абсолютное физическое давление, а размерное значение т.н. приведенного (редуцированного) давления, отсчитываемого от референсного (атмосферного).

2. Неоднократно встречающиеся в тексте диссертации выражения/конструкции вида «Формирование капель отрицательным давлением» в физическом отношении очень неудачны. Словесные конструкции данного вида, возможно, и допустимы в «рабочих моментах», однако на страницах диссертации следовало бы использовать более аккуратные формулировки, отражающие тот факт, что речь идет о методе формирования капель при задании/поддержании отрицательного (приведенного) давления на выходе из чипа.

3. По итогам расчетно-экспериментальной оценки эффективной вязкости макроэмульсии при ее течении в выходном канале микрофлюидного чипа (подраздел 2.3.3) автор делает следующее заключение (стр.89): «... вязкость зависит от абсолютного давления и скорости потока фаз, что указывает на то, что монодисперсная эмульсия «вода-в-масле» является неньютоновской жидкостью». С этим вряд ли можно согласиться, поскольку понятия «ньютоновская» и «неньютоновская» жидкости введены для случая гомогенных текучих сред, а автор оценивал эффективную вязкость гетерогенной среды.

4. При изучении влияния, которое на время перемешивания реагентов в каплях оказывает соотношение ширины и глубины микроканалов в области формирования капель (в генераторе с асимметричной фокусировкой потоков), водится (стр.109) «аспектное» отношение в виде $\langle D/(A)^{0.5}$, где D – глубина каналов, а A – площадь места образования капель». Не раскрывается, однако, как конкретно вычислялась «площадь места образования капель» в условиях нетривиальной геометрии этого «места».

5. На стр. 98 в формуле для определения расхода имеется опечатка.

Высказанные замечания относятся к представлению материала на страницах диссертации и не изменяют общую положительную оценку диссертационной работы соискателя. Представленная Н.А.Филатовым диссертация является научно-исследовательской работой, содержащей значительный объем результатов и методических рекомендаций, совокупность которых можно квалифицировать как весомое научное достижение в областях, связанных с развитием и применением микрофлюидных технологий.

Тема диссертации и характер выполненных исследований соответствует специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики.

Результаты, полученные соискателем по теме диссертации, достаточно полно опубликованы в реферируемых журналах и в трудах конференций (24 публикации). Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам из представленной диссертационной работы.

Диссертационная работа выполнена в Санкт-Петербургском Академическом Университете им. Ж.И. Алферова. Личный вклад автора достаточно полно отражен во вводной части диссертации и на страницах автореферата.

Считаю, что диссертация Филатова Никиты Алексеевича является завершенной научно-квалификационной работой, соответствующей критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук согласно пунктам 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013, ред.11.09.2021 г. Автор диссертации Филатов Никита Алексеевич заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики.

Официальный оппонент,
доктор физико-математических наук
(01.02.05 – Механика жидкости, газа и плазмы), профессор,
профессор Высшей Школы прикладной математики
и вычислительной физики ФГАОУ ВО «СПбПУ»,

Смирнов Евгений Михайлович

Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого,
192251, С.-Петербург, Политехническая улица, д.29,
тел./факс (812) 552-66-21, email: aero@phmf.spbstu.ru

