

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

**24.1.029.01 (Д002.034.01) НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО
ПРИБОРОСТРОЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН), Г.
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**

**ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «7» октября 2022 г. № 13

о присуждении Филатову Никите Алексеевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата технических наук.

Диссертация «Разработка микрофлюидной платформы для синтеза монодисперсных макроэмульсий и гидрогелевых микрочастиц» по специальности 1.3.2 (01.04.01) – Приборы и методы экспериментальной физики принята к защите 15.07.2022 г., протокол № 9, диссертационным советом 24.1.029.01 (Д002.034.01) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д.31-33, лит.А, приказ 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель: Филатов Никита Алексеевич, 1992 года рождения, окончил в 2016 году магистратуру Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет Российской академии наук», а в 2020 году окончил аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет имени Ж.И. Алфёрова Российской академии наук». В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории Возобновляемых источников энергии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет имени Ж.И. Алфёрова Российской академии наук».

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный

исследовательский Академический университет имени Ж.И. Алфёрова Российской академии наук», г. Санкт-Петербург.

Научный руководитель: Букатин Антон Сергеевич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории Возобновляемых источников энергии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет имени Ж.И. Алфёрова Российской академии наук», г. Санкт-Петербург.

Официальные оппоненты:

1) Смирнов Евгений Михайлович, доктор физико-математических наук, профессор, профессор Высшей школы прикладной математики и вычислительной физики Федерального государственного автономного образовательного учреждения, высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», представил на диссертацию и автореферат **положительный отзыв**, в котором содержатся следующие замечания:

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), вводится (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.

2) Ященко Алексей Михайлович, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник Центра фотоники и фотонных технологий Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», представил на диссертацию и автореферат **положительный отзыв**, в котором содержатся следующие замечания:

1. Глава 1. Обзор литературы. В конце обзора автор вновь формулирует цель и задачи работы, что на мой взгляд выглядит лишним, с учетом того, что ранее уже были обозначены цели и задачи работы.
2. Глава 1. Обзор литературы, стр. 26. Предложение «В качестве ПАВ, как правило, выбирают амфифильные молекулы с гидрофобными и гидрофильными группами». На мой взгляд не совсем подходит определение гидрофобные и гидрофильные группы к определению амфифильного вещества. Более правильно говорить о гидрофобной и гидрофильной части молекулы.
3. Глава 2. Раздел 2.6.3. Из текста работы не ясно каким образом оценивался выход вещества из микрочастиц полиакриламида и PEGDA. Автор приводит изображения микрочастиц (Рисунок 2.6.3.1), полученные очевидно методом конфокальной микроскопии. Однако не понятно, как проводилась оценка выхода вещества, по профилю интенсивности или общей интенсивности, либо с использованием другой методики.
4. Имеется ряд орфографических ошибок, например, стр. 25, стр. 37, стр. 144.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (МГТУ им. Н.Э. Баумана), Москва, в своем положительном заключении, утвержденном Гординым Михаилом Валерьевичем, кандидатом технических наук, и. о. ректора МГТУ им. Н.Э. Баумана, подписанном Родионовым Ильей Анатольевичем, кандидатом технических наук, директором Научно-образовательного центра Функциональные Микро/Наносистемы (НОЦ ФМН) МГТУ им. Н.Э. Баумана, указала, что диссертация Филатова Н.А. соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 (01.04.01), и отметила следующие замечания:

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: а) чем именно обусловлен выбор конфигурации каналов с фокусировкой потока, б) чем обусловлен выбор ввода симметричных входных микроканалов только под углом 45 °, 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 моодисперсных капель в течение 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.

Соискатель имеет **24 (двадцать четыре)** опубликованные работы в рецензируемых научных изданиях. Из них **1 (один)** патент на полезную модель, **10 (десять)** работ входят в перечень ВАК РФ, **10 (десять)** публикаций входят в Международные библиометрические базы SCOPUS и/или Web of Science, а также **13 (тринадцать)** публикаций в материалах всероссийских и международных научных конференций.

К наиболее значительным работам, отражающим основное содержание диссертации, относятся:

1. Патент на полезную модель № 199373 U1 Российская Федерация, МПК G 01 N 1/10 /Микрофлюидное устройство для формирования моодисперсной макроэмульсии вакуумным методом / А. С. Букатин, Н. А. Филатов, Д. В.

Ноздриухин; заявитель и патентообладатель ФГБУВОиН СПбАУ РАН им. Ж.И. Алфёрова. – № 2018143407; заявл. 07.12.2018; опубл. 28.08.2020, Бюл. №25.

2. **Filatov, N. A.** Open-Source pressure controller based on compact electro-pneumatic regulators for droplet microfluidics applications / N. A. Filatov, I. A. Denisov, A. A. Evstrapov, A.S. Bukatin // IEEE Tr. On Inst and Meas. – 2022. – Vol.71. – P. 1-10.

3. **Filatov, N. A.** Negative Pressure Provides Simple and Stable Droplet Generation in a Flow-Focusing Microfluidic Device / N. A. Filatov, A. A. Evstrapov, A. S. Bukatin // Micromachines. – 2021. – Vol. 12. – № 6. – P. 662.

4. Belousov, K. I. An asymmetric flow-focusing droplet generator promotes rapid mixing of reagents / K. I. Belousov, **N. A. Filatov**, I. V. Kukhtevich, V. Kantsler, A. A. Evstrapov, A. S. Bukatin // Scientific reports. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 1-10.

5. **Filatov, N. A.** Study of droplet formation regimes in a pressure control mode in microfluidic chip for screening cell libraries / N. A. Filatov, A. S. Bukatin // Journal of Physics: Conference Series. – 2020. – Vol. 1695. – № 1. – P. 012053.

6. Nozdriukhin, D. V. Formation and manipulation of polyacrylamide spheroids doped with magnetic nanoparticles in microfluidic chip / D. V. Nozdriukhin, **N. A. Filatov**, A. S. Bukatin // Journal of Physics: Conference Series. – 2018. – Vol. 1124. – № 3. – P. 031026.

7. **Filatov, N. A.** Comparison of step and flow-focusing emulsification methods for water-in-oil monodisperse drops in microfluidic chips / N. A. Filatov, D. V. Nozdriukhin, A. A. Evstrapov, A. S. Bukatin // Journal of Physics: Conference Series. – 2018. – Vol. 1124. – № 3. – P. 031028.

8. Nozdriukhin, D. V. Formation of Polyacrylamide and PEGDA Hydrogel Particles in a Microfluidic Flow Focusing Droplet Generator / D. V. Nozdriukhin, **N. A. Filatov**, A. A. Evstrapov, A. S. Bukatin // Technical Physics. – 2018. – Vol. 63. – № 9. – P. 1328-1333.

9. Nozdriukhin, D. V. The study of monodisperse water-in-oil macroemulsion dynamics in a microfluidic chip / D. V. Nozdriukhin, K. I. Belousov, **N. A. Filatov**, A. S. Bukatin // Journal of Physics: Conference Series. – 2017. – Vol. 917. – № 4. – P. 042015.

10. **Filatov, N. A.** The kinetic study of solidification PEGDA microparticles in flow- focusing microfluidic chip / N. A. Filatov, D. V. Nozdriukhin, A. S. Bukatin // Journal of Physics: Conference Series. – 2017. – Vol. 917. – № 4. – P. 042024.

11. **Filatov, N. A.** The study of mixing of reagents within a droplet in various designs of microfluidic chip / N. A. Filatov, K. I. Belousov, A. S. Bukatin, I. V. Kukhtevich, A. A. Evstrapov // Journal of Physics: Conference Series. – 2016. – Vol. 741. – № 1. – P. 012052.

На автореферат диссертации поступили следующие отзывы:

1. От Терехова Станислава Сергеевича, кандидата химических наук, с.н.с. лаборатории биоинформационных методов комбинаторной химии и биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Замечания:

- Недостаточно подробно описана химическая природа использованного эмульсификатора AbilEM 180, не описан процесс рационализации выбора этого агента, стабилизирующего эмульсии.
- Большинство экспериментов по формированию микрофлюидных эмульсий выполнены с использованием растворов без ионов солей и компонентов ростовых сред, что может осложнить адаптацию полученных результатов для практических приложений, основанных на использовании живых клеток.

2. От Долгушина Сергея Анатолиевича, кандидата физико-математических наук, директора инжиниринговой компании ООО «Айвок».

Замечания:

- Поскольку степень коалесценции определяется свойствами диспергированной и непрерывной фаз (плотностью, вязкостью, ионной силой, рН и т.д.), рекомендуется обосновать выбор минерального масла № 330779 Merck (стр. 9).
- Автор пишет, что в случае МФКД коэффициент вариации диаметра капель не превышал 4,3%, что соответствует монодисперсной эмульсии и сопоставимо с генерацией капель с помощью коммерческих шприцевых насосов (стр. 9). Рекомендуется указать коэффициент вариации диаметра капель, полученных с помощью коммерческих шприцевых насосов, для доказательства сопоставимости результатов.

3. От Кратасюк Валентины Александровны, доктора биологических наук, профессора, заведующей кафедрой биофизики Сибирского Федерального университета.

Замечаний нет.

4. От Колесова Дмитрия Валерьевича, кандидата физико-математических наук, генерального директора ООО «Микрофлюидные технологии».

Замечания:

- Насколько можно судить из рисунка 2в, забор жидкости происходит со дна резервуара. При этом на жидкость в месте забора помимо создаваемого МФКД избыточного давления действует также гидростатическое давление столба жидкости в резервуаре, уменьшающееся по мере его опустошения. Для длительных экспериментов и больших резервуаров (50 мл) разница гидростатического давления в начале и в конце эксперимента может быть существенна. Учитывается ли как-то это дополнительное давление и не влияет ли данный эффект на стабильность размера капель (например, на рисунке 3в наблюдается монотонное увеличение размера)?

5. От Зюзина Михаила Валерьевича, кандидата физико-математических наук, старшего научного сотрудника Физического Факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Замечание:

- В работе не хватило биологического применения синтезированных микрочастиц. Например, если автор говорит о потенциальном применении синтезированных микрочастиц из биосовместимых материалов в тканевой инженерии, то напрашиваются эксперименты по выживаемости, пролиферации, дифференцировке релевантных клеток на синтезированных частицах.

6. От Басманова Дмитрия Викторовича, руководителя Центра технологий и микрофабрикации ФНКЦ ФХМ ФМБА России.

Замечания:

- В качестве замечания к автореферату хотелось бы отметить значительное

количество пунктуационных неточностей, которые, впрочем, не мешают восприятию материала. Также хочется указать на недосказанность при подаче материала на странице 9 автореферата. Речь идет о графике зависимости диаметра капель от времени для регулятора ITV0010, на котором видна явная зависимость размера капель от времени, что никак не поясняется в тексте. При этом приводится среднее значение диаметра капель и отклонение для эксперимента длительностью 4 часа.

7. От Мухиной Ирины Васильевны, доктора биологических наук, профессора, директора института Фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Замечаний нет.

Все отзывы на автореферат диссертации положительные.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их большим опытом работы в областях физики, микрофлюидных технологий, моделирования гидродинамических процессов, исследований микрочастиц и их синтеза, приборостроения, что подтверждается публикациями, в которых рассматриваются вопросы, связанные с тематикой диссертационного исследования соискателя.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан прототип коммерческого прибора – 4-х канальный микрофлюидный контроллер давления и пневмоинтерфейсы для пробирок с реагентами объемом от 1,5 мл до 50 мл для стабильного формирования монодисперсных микрокапель объемами от 65 фл до 2,6 нл (диаметр 5 – 170 мкм) в микрофлюидных устройствах. При этом прибор обеспечивает управление воздушными каналами в ручном или автоматическом режиме по заданным протоколам;

разработано микрофлюидное устройство для формирования монодисперсной макроэмульсии путем прикладывания отрицательного давления к выходному микроканалу микрофлюидного чипа для эффективного формирования

монодисперсной эмульсии и гидрогелевых микрочастиц со сложной внутренней структурой. Получен патент на полезную модель № 199373 от 28 августа 2020 года. Авторы патента: А.С. Букатин, Н.А. Филатов, Д.В. Ноздрюхин;

впервые показано, что управление потоками жидкости с помощью контроля давления в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм и шириной выходного микроканала 200 мкм позволяет формировать микрокапли «вода-в-масле» с диаметром в пределах от 2 до 60 мкм. При этом диаметр линейно зависит от соотношения между давлениями дисперсной и непрерывной фаз в пределах значений 0,5–0,9 и не зависит от их приведенных значений (в пределах 5–25кПа);

впервые выявлено, что метод контроля давлений непрерывной и дисперсной фаз обеспечивает получение более широкого диапазона (на 45%) диаметров микрокапель по сравнению с использованием метода контроля расходов на одинаковых микрофлюидных чипах при фокусировке потока с апертурой 15 мкм;

впервые экспериментально выявлено, что в режиме контроля давления в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм эффективная вязкость эмульсии растет (в 3,8–9,4 раза) с увеличением отношения давлений фаз, что до 3,5 раз снижает частоту генерации капель;

реализован метод формирования капель поддержанием отрицательного приведенного давления на выходе из чипа в пределах до -80 кПа в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм позволяет стабильно формировать монодисперсные капли в течение более 4 часов с коэффициентом вариации диаметра менее 0,5%;

предложено использовать асимметричный микрофлюидный генератор капель с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм и шириной выходного микроканала 60 мкм, который формирует стабильную эмульсию «вода-в-масле» в диапазоне диаметров 35–70 мкм и способен одновременно до 6 раз быстрее производить перемешивание реагентов в микрокаплях по сравнению с симметричной фокусировкой потока.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что применительно к проблематике диссертации эффективно, с получением обладающих новизной результатов:

предложены эквивалентные электрические схемы микрофлюидного чипа для анализа режимов формирования микрокапель;

впервые оценена эффективная вязкость эмульсии в выходном микроканале 200 мкм в микрофлюидных чипах с фокусировкой потока с апертурой 15 мкм, которая составила 50 – 750 мПа·с, в зависимости от фактора заполнения, что позволяет проводить расчет режимов формирования эмульсий в микрофлюидных устройствах;

установлено, что диаметр микрокапель, которые формируются за счет приложения отрицательного давления к выходному микроканалу, при уровнях отрицательного давления от –30кПа до –80кПа, преимущественно определяется гидравлическими сопротивлениями входных микроканалов и не зависят от приложенного давления.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

они были 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). Помимо этого, полученные в диссертации результаты могут быть использованы на российских предприятиях (Гознак, Роснефть и др.), в биотехнологических и инжиниринговых компаниях (Биокад, Герофарм, Айвок и др.), российских образовательных и научных организациях, которые ведут исследования и разработки в области микрофлюидной аппаратуры, синтеза микрочастиц и новых материалов, осуществляют подготовку высококвалифицированных специалистов: ИАП РАН, МГТУ им. Н.Э. Баумана, Сибирский Федеральный университет, СПбАУ РАН им. Ж.И. Алфёрова, Университет ИТМО, Сколковский институт науки и технологий, ИБХ РАН, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Институт цитологии РАН и др.

Кроме того результаты исследований были использованы при подготовке и проведении лабораторных работ по курсу «Микрофлюидные технологии» в СПбАУ РАН им. Ж.И. Алфёрова.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что научные положения, выводы и результаты, содержащиеся в диссертационной работе, подтверждаются использованием общеизвестных, апробированных и обоснованных физических методов, комплексным характером выполненных экспериментальных исследований и численных расчетов с использованием корректных допущений и приближений, а также воспроизводимостью получаемых экспериментальных данных. Достоверность экспериментальных данных подтверждается использованием современного оборудования. Результаты эксперимента согласуются с аналитическими исследованиями/результатами моделирования, а также с данными, полученными другими научными группами исследователей, где возможно сравнение.

Основные результаты докладывались и обсуждались на следующих конференциях: 8th International School and Conference «Saint Petersburg OPEN 2021», (HSE University, St. Petersburg), Вторая российская конференция с международным участием и Третья международная конференция «Физика — наукам о жизни», 2017, 2019 (СПб.: ФТИ им. А.Ф. Иоффе), 3th, 4th, 5th and 6th International School and Conference «Saint Petersburg OPEN» 2016, 2017, 2018, 2019 (Санкт-Петербург), Skoltech Young Scientists Cross-Disciplinary Conference Gen-Y 2.0, 2019 (Sochi, Russia), EMBL Conference Microfluidics 2018 (Heidelberg, Germany), две международные конференции «Физика.СПб», 2015, 2017 (Санкт-Петербург), научная конференция с международным участием «Неделя науки», 2017 (СПбПУ Петра Великого, Санкт-Петербург), 5th International Scientific Conference STRANN, 2016 (Saint Petersburg).

Личный вклад соискателя заключается:

- Формулировке цели и формулировке задач исследования.
- Написании обзора литературы по тематике проекта.
- Разработке чертежей микрофлюидных микрочипов в AutoCAD программе. Изготовлении микрочипов методами мягкой литографии.
- Изготовлении и испытании автоматизированной системы управления потоками в микрочипах. Изучении режимов работы прибора.
- Исследовании вакуумного метода формирования микрокапель. Создании экспериментальной установки.

