

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА**  
**Д 002.034.01 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 «23» декабря 2019 г. № 18  
о присуждении Белоусову Кириллу Ильичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Моделирование конвективно-диффузионного массопереноса веществ в микрофлюидных устройствах при анализе жидких биологических проб» по специальности 01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики принята к защите 21.10.2019 г., протокол № 13-2 диссертационным советом Д002.034.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), 190103, Санкт-Петербург, Рижский пр. 26, приказ 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель, Белоусов Кирилл Ильич, 1992 года рождения, закончил Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий механики и оптики» в 2015 году, работает инженером в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургском национальном исследовательском университете информационных технологий механики и оптики», где и была выполнена диссертация.

Официальные оппоненты:

1. Абиев Руфат Шовкет оглы (Шовкетович), доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», заведующий кафедрой оптимизации химической и биотехнологической аппаратуры;
2. Белова Ольга Владимировна, кандидат технических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана», доцент кафедры вакуумной и компрессорной техники

дали положительные отзывы на диссертацию, при этом сделали ряд замечаний.

Абиев Руфат Шовкет оглы:

1. В работе встречаются терминологические неточности. Например, на с. 38 использовано слово «перемешиватель» (лучше - перемешивающее устройство, смеситель). На с. 99, 102 и далее вместо «поток концентрации» следовало бы использовать «массовый поток вещества» или «поток вещества». С. 31 «уменьшение шага времени и сетки» – здесь не ясно, что означает «шаг сетки».
2. В гл. 3 некорректно используется понятие «эффективность перемешивания», определяемое по коэффициенту вариации концентрации. В действительности определялась степень перемешивания, а эффективность перемешивания характеризуется долей энергии, затрачиваемой непосредственно на перемешивание.
3. На с. 94, в уравнении (31.1) коэффициент, представляющий собой по существу поверхностный коэффициент массоотдачи, назван «константа, масштабирующая величину разности между поверхностной и объемной концентрациями». То же касается уравнения (117.1), где использован устаревший термин «коэффициент скорости растворения».
4. Объяснение механизма возникновения вихрей Дина на с. 14 «из-за центростремительных сил создается градиент давления с большим значением у внутренней стороны канала, что вызывает вторичное движение жидкости, наложенное на первичный поток» неточное. Здесь не учтена роль вязкости и обусловленное вязким трением гашение кинетической энергии вблизи стенок канала. Центростремительным является ускорение, а силы инерции, согласно принципу Д'Аламбера, – центробежные.
5. С. 26. Аппроксимацию уравнений в частных производных в методе конечных разностей получают не только разложением в ряд Тейлора. Чаще применяют метод контрольного объема и интегро-интерполяционный.
6. В подписи к Рис. 112.2 указано «в случае приложения переменного давления при фазовых углах 0 (сверху) и  $\pi/2$  (снизу)». Здесь следовало пояснить, между какими векторами отсчитывался фазовый угол.
7. На с. 51 и далее обсуждаются численные ошибки диффузионного и дисперсионного типов. Следовало бы указать источники этих ошибок в уравнениях, используемых для численного решения – частные производные четных и нечетных порядков. Это позволило бы принять превентивные меры по уменьшению указанных ошибок и оптимизации вычислительного алгоритма.

Белова Ольга Владимировна:

1. На с. 14 автор утверждает «Отношение характерных времён диффузии и конвекции описывается числом Пекле», однако речь в данном случае идет о так называемом диффузионном коэффициенте подобия. В научной новизне также идет речь о сеточном числе Пекле, хотя опять же необходимо добавить «диффузионное».
2. В работе отсутствует описание реологии жидкостей, применяемых в микрофлюидике (нет обоснования допущения о ньютоновской жидкости), а также описание температурных режимов в микрофлюидных устройствах и их влияние на конвективно-диффузионные процессы (нет обоснования допущения об изотермичности процессов).
3. В уравнении неразрывности (111.2) отсутствует нестационарный член (далее по тексту во всей диссертации, где упоминается уравнение неразрывности, он также отсутствует), при этом система уравнений Навье-Стокса записана в нестационарном виде.
4. Отсутствует изображение расчетной сетки для всех расчетных областей во 2 и 3 главе, также не рассмотрено влияние расчетной сетки на результаты моделирования при исследовании процессов выхода FMN геля.
5. В 3 и 4 главах не обоснован выбор допущения об адекватности моделирования в двумерной постановке процессов активного перемешивания и перемешивания с помощью формирования микрокапель. Также не обосновано задание средней скорости жидкости на входе в расчетную область при исследовании пассивного перемешивания и при капельном перемешивании;
6. В четвертом положении научной новизны предложена оригинальная процедура нахождения параметра мобильности метода фазового поля, обеспечивающего заданную точность расчета профиля скоростей и смещения границы раздела фаз. Однако заданная точность расчета будет ограничена точностью вычислительного метода с явным выделением границы раздела фаз.
7. К сожалению, в обзоре литературы не отражен уровень исследований других отечественных научных коллективов по исследуемой тематике, отсутствуют ссылки на статьи и другие публикации автора.
8. Автор работы часто использует узкоспециализированную терминологию, которая явным образом не раскрывает сущность явления (пробка пробы на с. 5, воспроизводимый выход компонентов реакции - с. 37, латеральные координаты - с. 106, анализ - с. 34 и т.п.).
9. В работе часто встречаются сравнительные характеристики параметров (число Рейнольдса обычно мало на с. 14, большое увеличение объема - с.24, достаточно просто решить - с. 26, результаты изменяются незначительно - с. 31, ухудшился значительно сильнее - с. 59, является хорошей точкой – с. 61, которые легче заметить - с. 65,

достаточно однородное распределение реагентов - с. 116, сильная неоднородность распределения - с. 121)

10. Многие термины некорректно переведены (шаг времени на с. 7 и далее, Лагранж-Эйлеров метод с. 7, параметр мобильности с. 127, капиллярное число с. 16, физико-химия поверхностей с. 19, диффузионный транспорт с. 21, пристенный слой с. 23, близость сетки геля к диффундирующим молекулам с. 24, простые геометрии с. 26, обратная дифференциация с. 32, миграционное расстояние с. 35, сила на единицу площади, обусловленная поверхностным натяжением с. 43, эволюция фазового поля с. 44, разрешение анализа с. 72, уравнения записываются на единицу площади с. 94, продуцируются значительные вихри с. 103, концентрация полностью спадает с. 107, водоподобная жидкость с. 118, серпантинный канал с. 125, коэффициент ошибки с. 142)
11. Также в работе используется ненаучная терминология (игнорировалась диффузионная составляющая с. 50, процесс уширения пика с. 54, безусловно стабильная задача с. 110, путем вычисления между ними с. 110)
12. В работе отсутствует номенклатура сокращений и обозначений, некоторые переменные обозначаются одной и той же буквой.

Ведущая организация – ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», в своем положительном заключении, подписанном профессором Высшей школы прикладной математики и вычислительной физики Института прикладной математики и механики Зайцевым Дмитрием Кирилловичем, доктором физико-математических наук, и профессором Высшей школы прикладной математики и вычислительной физики Института прикладной математики и механики Смирновым Евгением Михайловичем, доктором физико-математических наук, обсужденном на научном семинаре Высшей школы прикладной математики и вычислительной физики Института прикладной математики и механики 13 ноября 2019, протокол № 3/1ГГТ и утвержденном проректором по научной работе, доктором технических наук, чл.-корр. РАН Сергеевым Виталием Владимировичем указала на следующие замечания:

1. Использование коэффициента корреляции (222.1) приводит автора к излишне оптимистичным выводам о степени соответствия расчетных и экспериментальных данных. Например, при обсуждении рис. 432.2, исходя из высокого значения коэффициента корреляции  $R=0.98$ , автор делает вывод о хорошем согласии результатов моделирования с экспериментальными данными, хотя, как видно на рис. 432.2, они местами отличаются в два раза! В такой ситуации следовало бы говорить лишь о качественном согласии результатов и о правильном моделировании основных

- тенденций реального процесса (что, с учетом применяемых упрощений, безусловно можно считать хорошим результатом).
2. Оценка степени соответствия расчетных и экспериментальных изображений на рис. 222.1 и 222.2 выполнена без исключения из рассмотрения «пустых» областей вне каналов и без точного совмещения границ каналов, что непредсказуемым образом влияет на значение коэффициента корреляции и, соответственно, снижает степень достоверности приведенной оценки. Более последовательным было бы непосредственное сравнение одинаково нормированных полей яркости по картинкам изолиний и/или профилям в характерных сечениях каналов.
  3. Из текста диссертации неясно, как именно проводилось сравнение эффективности различных вариантов активного перемешивания реагента с помощью колебаний расхода жидкости (разд. 3.3). В частности:
    - 3.1. Какой параметр сохранялся для вариантов с разной частотой синусоидальных колебаний расхода – амплитуда колебаний (максимальный расход) или объем жидкости, вбрасываемой в камеру за один импульс (полупериод)?
    - 3.2. Что понимается под «амплитудой расхода» при импульсном изменении расхода с возрастающей частотой? Если это объем жидкости в импульсе, то почему на рис. 331.2, при длительности прямоугольных импульсов 0,05с и амплитуде 80мкл/с, «амплитуда расхода» равна 2мкл, а не 4?
    - 3.3. Судя по рис. 331.7, повышение «амплитуды расхода» с 1,5 до 2мкл влияет на эффективность перемешивания гораздо сильнее, чем переход от синусоидальных колебаний к импульсным. Почему же тогда не были проверены варианты с синусоидальными колебаниями увеличенной амплитуды? Без такой проверки вывод автора о том, что «использование импульсного сигнала переменной частоты от 1 до 10 Гц обеспечивает лучшее перемешивание», выглядит недостаточно убедительным.
  4. Почти все данные представлены в диссертации в размерном виде, что затрудняет перенос результатов и выводов исследования на условия, отличные от рассмотренных.

Соискатель имеет всего **58 (пятьдесят восемь)** публикаций, из них **23 (двадцать три)** публикации по теме диссертации, из которых **7 (семь)** в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень ВАК РФ и в изданиях индексируемых в Международных библиометрических базах WoS и Scopus, **12 (двенадцать)** докладов на международных и всероссийских конференциях.

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

1. **Belousov K.I.**, Filatov N.A., Evstrapov A.A., Kukhtevich I.V., Bukatin A.S. The study of mixing of reagents within a droplet in various designs of microfluidic chip // *Journal of Physics: Conference Series*. – 2016. – Vol. 741. – № 1. – P. 012052.
2. **Belousov K.I.**, Denisov I.A., Lukyanenko K.A., Yakimov A.S., Bukatin A.S., Kukhtevich I.V., Sorokin V.V., Esimbekova E.N., Belobrov P.I., Evstrapov A.A. Dissolution and mixing of flavin mononucleotide in microfluidic chips for bioassay // *Journal of Physics: Conference Series*. – 2016. – Vol. 741. – № 1. – P. 012058.
3. Lukyanenko K.A., **Belousov K.I.**, Denisov I.A., Yakimov A.S., Esimbekova E.N., Bukatin A.S., Evstrapov A.A., Belobrov P.I. Active mixing of immobilised enzymatic system in microfluidic chip // *Micro & Nano Letters*. – 2017. – Vol. 12 – № 6 – P. 377-381.
4. Lukyanenko K.A., Denisov I.A., Yakimov A.S., Esimbekova E.N., **Belousov K.I.**, Bukatin A.S., Kukhtevich I.V., Sorokin V.V., Evstrapov A.A., Belobrov P.I. Analytical Enzymatic Reactions in Microfluidic Chips // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2017. – Vol. 53. – № 7. – P. 775-780.
5. **Белоусов К.И.**, Евстрапов А.А., Буляница А.Л. Моделирование концентрационных зависимостей распределения пробы в каналах микрофлюидного чипа при электрокинетической инжекции // *Научное приборостроение*. – 2013. – Т. 23. – № 4. – С. 76–84
6. Кухтевич И.В., Посмитная Я.С., **Белоусов К.И.**, Букатин А.С., Евстрапов А.А. Принципы, технологии и устройства "капельной" микрофлюидики // *Научное приборостроение*. – 2015. – Т. 25. – № 3. – С. 65–109
7. Лукьяненко К.А., Денисов И.А., Якимов А.С., Есимбекова Е.Н., **Белоусов К.И.**, Букатин А.С., Кухтевич И.В., Сорокин В.В., Евстрапов А.А., Белобров П.И. Аналитические и ферментативные реакции в микрофлюидных чипах // *Биотехнология*. – 2016. – Т. 32. – № 5. – С. 69-76

Соискателем сформулированы задачи исследований, осуществлен обзор и анализ литературных данных и организовано проведение научных исследований в области моделирования, совершенствования и создания микрофлюидных устройств для электрофоретического разделения компонент пробы, анализа на месте забора пробы и капельной микрофлюидики. Обоснованы уравнения, граничные и начальные условия, адекватно описывающие рассматриваемые физические процессы с учетом принятых упрощений и допущений. Определены параметры их численного решения, обеспечивающие приемлемую точность результатов моделирования. С помощью

численного моделирования проведена оценка дисперсии пробки пробы при различных вариантах электрокинетического ввода на микрофлюидном чипе с целью выбора условий уменьшения дисперсии; исследовано качество пассивного и активного механического перемешивания реагентов в конструктивных элементах микрофлюидного чипа для определения условий его повышения; оценено влияние расположения каналов и расходов фаз на перемешивание реагентов на этапе формирования капель в микрофлюидном устройстве с фокусировкой потока и найдены условия, обеспечивающие необходимое качество перемешивания. Проведено сравнение результатов моделирования с экспериментальными данными, которые показали их соответствие. Таким образом, соискателем выполнены все стадии разработки и верификации предложенных математических моделей и методов. В работах, опубликованных в соавторстве, автору принадлежат результаты, связанные с проведенным моделированием, его вклад сопоставим со вкладом других соавторов.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. От Долгушина Сергея Анатолиевича, кандидата физико-математических наук, старшего научного сотрудника лаборатории трансляционной биомедицины ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Замечания:
  - 1.1. В автореферате не представлены результаты моделирования электрокинетической загрузки фрагментов ДНК в инжектор микрофлюидного чипа, а только приводится ссылка на вторую часть второй главы диссертации, в то время как именно моделирование является основной темой работы.
  - 1.2. Из рисунка 5 автореферата не ясно, где именно расположены ввод пробы, буфера и слив.
  - 1.3. На рисунке 7,б автореферата не понятны используемые обозначения режимов расходов жидкости.
2. От Гареева Камиля Газинуровича, кандидата технических наук, доцента кафедры микро- и нанoeлектроники, научного сотрудник Инжинирингового центра «ЦМИД» ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного электротехнического университета «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина). Замечания:
  - 2.1. в основных результатах и выводах указано, что работа выполнена при поддержке государственного задания Минобрнауки России, в то время как в разделе о внедрении результатов работы фигурирует грант РФФИ, что представляется не вполне корректным с учетом отсутствия уточнений касательно финансирования проведенных в рамках диссертационной работы исследований.

- 2.2. в тексте автореферата встречаются опечатки, а качество оформления иллюстраций, включая прифты, рамки, индексы и обозначения на графиках, представляется недостаточным.
3. От Кратасюк Валентины Александровны, доктора биологических наук, профессора, заведующей кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Сибирского федерального университета». Замечаний нет.
4. От Черньшёва Василия Сергеевича, кандидата технических наук, старшего научного сотрудника центра фотоники и квантовых материалов АНОО ВО «Сколковского института науки и технологий». Замечания:
- 4.1. при описании первой части второй главы следовало бы уделить внимание природе возникающих ошибок счёта и объяснению ступенчатой формы зависимости «ошибок осцилляций» от числа Куранта;
- 4.2. в описании исследования влияния положения боковых каналов и расходов фаз на качество перемешивания в процессе формирования капли не указаны вязкости используемых жидкостей;
- 4.3. помимо предоставления коэффициентов корреляции, было бы полезно представить сравнения результатов моделирования с экспериментальными данными в форме графика (например, перемешивание при различных частотах колебаний жидкости).
- Все отзывы, как содержащие, так и не содержащие замечаний, положительны.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается большим опытом работы в областях, относящихся к проблематике диссертационной работы, таких как: методы экспериментальной физики, приборостроение, гидродинамика, микрофлюидика, математическое и численное моделирование, вычислительная гидродинамика, вопросы перемешивания веществ и течения двухфазных потоков.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

для решения нестационарных уравнений в частных производных второго порядка параболического типа с нелинейными членами в числах Куранта и сеточном числе Пекле **введена** замена размера элемента сетки на среднее квадратичное отклонение, характеризующее ширину переходной области концентрации, что позволяет определить шаг времени метода конечных элементов, который обеспечивает уменьшение ошибки, связанной с нефизическими осцилляциями значений при наименьших затратах расчетных ресурсов;

**установлено**, что значительное уменьшение величины дисперсии размеров пробки жидкой пробы при её загрузке под действием электрического поля в микрофлюидном чипе для



электрофоретического разделения её компонентов, достигается использованием схемы «простой крест», уменьшением ширины каналов и двухстадийным регулированием запирающих потенциалов: их повышением относительно потенциала в месте пересечения каналов при загрузке пробы в инжектор и понижением при её вводе в сепарационный канал; на основе численного моделирования **найден** и экспериментально **подтвержден** режим активного механического перемешивания с использованием импульсных колебаний жидкости с равномерным возрастанием частоты в течение 3 секунд с 1 до 10 Гц и амплитудой расхода 2 мкл, который позволяет достичь равномерного распределения концентрации компонентов реакции (коэффициент вариации 0,03) в замкнутой восьмиугольной реакционной камере микрофлюидного чипа объемом порядка 20 мкл;

**предложена** процедура выбора параметра мобильности фазового поля, обеспечивающего расчет профиля скоростей жидкостей в двухфазной системе с заданной точностью, и основанная на оценке и сравнении скоростей на границе фаз с данными, вычисленными методом с явным выделением границы;

**определено**, что перемешивание реагентов (с равномерностью распределения концентрации, соответствующей коэффициенту вариации менее 0,2) на этапе формирования капель пиколитровых объемов в микрофлюидных устройствах достигается за счет использования асимметричных геометрий генераторов с фокусировкой потоков в системе пересекающихся каналов. При этом основное влияние на качество перемешивания оказывают отношение величин потоков дисперсной и непрерывной фаз и расстояние между точками присоединения боковых каналов к центральному вдоль его оси.

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

**модифицированы** число Куранта и сеточное число Пекле, которые в своем новом виде позволяют при принятии решения о выборе условий счета (пространственные и временной шаги дискретизации, обеспечивающие требуемую точность численного решения) в уравнениях массопереноса, учитывать ширину переходной зоны концентрации движущегося вещества;

впервые на основе двумерной модели **оценена** величина дисперсии пробки пробы при электрокинетическом вводе аналита в микрофлюидный чип для электрофоретического разделения, что позволило учесть эффект поперечного массопереноса в каналах при различных схемах загрузки («простой крест», Z- и П-ввод);

к задаче исследования процесса активного механического перемешивания в замкнутой реакционной камере микрофлюидного чипа объемом порядка двадцати микролитров впервые **применена** численная модель, основанная на произвольном методе Лагранжа-Эйлера (методе подвижной сетки), позволяющая сохранить постоянным количество растворенного реагента в области моделирования;

**предложена** оригинальная комбинация двух методов: фазового поля и явного выделения границы — на основе которой определяется параметр мобильности в методе фазового поля, что позволяет обеспечить заданную точность расчета профиля скоростей и смещения границы раздела фаз.

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

**определены** размеры каналов и величины управляющих потенциалов, позволяющие уменьшить дисперсию пробки пробы и улучшить разрешение разделения её компонентов;

**оценено** качество пассивного перемешивания в изогнутых каналах при растворении реагентов с поверхности микрофлюидного чипа и **продемонстрированы** принципиальные ограничения для его улучшения;

**установлен** режим колебаний жидкости при активном механическом перемешивании реагентов в замкнутой камере микрофлюидного чипа, позволяющий добиться равномерного распределения их концентрации по камере за время менее 3 с;

**найден** форма и размеры каналов и расходы потоков дисперсной и непрерывной фаз, обеспечивающие качественное перемешивание растворенных реагентов на стадии формирования капель пиколитровых объемов в асимметричных конструкциях микрофлюидных генераторов при режимах, соответствующих числам Рейнольдса около 0,5.

Достоверность научных результатов обеспечивается корректностью постановки задач исследования, получением устойчивых решений при моделировании, сходящихся с уменьшением размера элементов расчетной сетки, соответствием расчетных и экспериментальных данных. Полученные результаты воспроизводимы и соответствуют признанным теоретическим положениям и аналитическим решениям в случаях, когда такое сравнение осуществимо; подтверждены экспериментами по электрокинетической загрузке пробы флуоресцеина, активному механическому перемешиванию красителя и перемешиванию красителя на этапе формирования капли. Результаты были представлены на международных и всероссийских конференциях, а также опубликованы в журналах (ВАК, Scopus).

Личный вклад автора заключается в постановке цели и задач исследования, определении базовых физических и математических моделей, допустимых упрощений, области расчетов, уравнений, граничных и начальных условий, параметров численного решения для проведения моделирования методом конечных элементов в пакете программ COMSOL Multiphysics процессов электрокинетического ввода пробы, пассивного и активного перемешивания в однофазных и двухфазных системах и выборе на его основе конструкций микрофлюидных устройств и режимов анализа, обеспечивающих заданную точность и воспроизводимость.

На заседании 23.12.2019 г. Диссертационный совет принял решение присудить Белоусову Кириллу Ильичу ученую степень кандидата физико-математических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 16 докторов наук, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 16, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель Диссертационного совета,  
д.т.н., проф.

В.Е. Курочкин

Ученый секретарь Диссертационного совета,  
д.ф.-м.н.

А.И. Буляница

