



**POLITECHNIKA WARSZAWSKA**  
**WYDZIAŁ CHEMICZNY**  
**Katedra Biotechnologii Medycznej**



prof. dr hab. inż. Artur Dybko  
ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel.: 022-234- 5825  
E-mail: dybko@ch.pw.edu.pl

---

Warszawa 2021.12.17

**RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Michała Horki**  
**pt. „Automated microfluidic systems for performing physical, chemical**  
**and biological experiments in FEP/PTFE microtubings”.**

wykonanej w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk  
pod kierunkiem prof. dr hab. Piotra Garsteckiego oraz dr Karola Makucha

Od początku lat 90-tych ubiegłego wieku dynamicznie rozwija się wybitnie interdyscyplinarna dziedzina nauki mająca na celu doprowadzenie do pełnej integracji wszystkich etapów związanych z pobieraniem próbki, jej przygotowaniem do analizy, przeprowadzeniem pomiaru a następnie wysłaniem/zaprezentowaniem wyniku. W literaturze tego typu urządzenia nazywane są laboratorium na chipie, ang. lab-on-a-chip. Współczesne mikrosystemy analityczne wykorzystują wiedzę z zakresu inżynierii materiałowej, mikromechaniki, fizyki, chemii, biologii czy medycyny. Podstawową zaletą konstruowanych urządzeń jest istotne zmniejszenie objętości próbki jaka jest analizowana (rzędu mikro czy nanolitrów) a także zmniejszenie objętości odczynników wymaganych w trakcie pomiarów. Niebagatelne jest również znaczne skrócenie czasu i zmniejszenie kosztów wykonania pojedynczej analizy.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa dotyczy opracowania automatycznych systemów pomiarowych do zastosowań w fizyce, biologii oraz chemii z wykorzystaniem mikrosystemów przepływowych.

W dalszej części recenzji przedstawię moje uwagi dotyczące zarówno strony redakcyjnej jak i wartości merytorycznej pracy doktorskiej.

### ***Strona redakcyjna***

Rozprawa doktorska napisana jest w języku angielskim. Styl i poprawność językową oceniam bardzo wysoko. Można dostrzec jedynie nieliczne nieścisłości językowe np. „paragraph” zamiast „chapter” (str. 2).

Rozdziały eksperymentalne napisane są w stylu, którego nie potrafię zaakceptować. Od razu pojawiają się wyniki a dopiero pod koniec rozdziału umieszczone są szczegóły dotyczące przygotowania eksperymentu i sposobu mierzenia danych wielkości. Preferuję odwrotną kolejność.

Mam również zastrzeżenia do opisu rysunków. Dla przykładu, odniesienie do rys. 1.1 pojawia się na stronie 4, zaś sam rysunek jest umieszczony na stronie 5, jako końcowy paragraf podrozdziału. Z powodzeniem ten rysunek można było umieścić na stronie 4. Takich przykładów jest wiele i nie ułatwia to śledzenia głównej myśli autora.

W wielu przypadkach nie ma wyjaśnionych wszystkich oznaczeń, które są umieszczone na rysunku (np. 2.17). Nie podoba mi się rys. 2.21, który ciągnie się przez 4 strony (brak jest na każdej stronie podpisu, że jest to ten sam rysunek). Ponadto rysunek ten przypomina zadanie dla spostrzegawczych – znajdź jakimi szczegółami różnią się kolejne wersje. Moim zdaniem, wystarczy jeden diagram i ewentualnie opis lub tabela ze stanem odpowiednich zaworów.

Przed każdym rozdziałem eksperymentalnym, Autor charakteryzuje swój udział w pracy zespołowej. To jest niezwykle cenna informacja przy tego rodzaju zespołowych pracach interdyscyplinarnych.

W cytowanej przez Doktoranta literaturze można znaleźć powtórzone pozycje: nr. 6 i nr. 10 to ten sam artykuł.

### ***Wartość merytoryczna rozprawy***

W niniejszej rozprawie Doktorant zaprojektował, skonstruował i przetestował trzy zautomatyzowane systemy mikroprzepływowe do zastosowań w eksperymentach fizycznych, biologicznych i chemicznych. Recenzent, jako inżynier elektronik, spodziewał się jednak bardziej pogłębionego opisu stosowanych układów pomiarowych. Tym bardziej, że można tego oczekiwać po absolwencie wydziału fizyki, który ukończył specjalność elektronika cyfrowa i mikroprocesory. Mogę jedynie podejrzewać, że

Doktorant jest lepszym eksperymentatorem niż pisarzem i z trudem przychodzi mu opisanie swojej pracy w sposób wyczerpujący. Po lekturze całości pracy uważam, że tytuł rozprawy jest mylący. Systemy opisane w rozdziałach drugim oraz trzecim nie są systemami automatycznymi. Do ich budowy wykorzystano zawory sterowane ręcznie co przeczy idei systemów automatycznych. Wydaje się, że bardziej właściwe jest określenie systemy półautomatyczne.

Rozdział pierwszy rozprawy można potraktować jako wstęp do zjawisk fizycznych, które występują w układach mikroprzepływowych. Słuszność i poprawność równań dostępna jest w literaturze podstawowej. Jako recenzent spodziewałem się jednak bardziej pogłębionej analizy danych literaturowych dotyczących głównego aspektu rozprawy a więc automatyzacji. Nie znalazłem w tym rozdziale krytycznego podsumowania stosowanego oprogramowania. Doktorant nie dokonał również przeglądu technologii wytwarzania mikrosystemów ani nie podał jakie materiały są używane do wytwarzania mikrosystemów. Dziwny jest wykres 1.23 (str.31). Nie wiadomo co jest na osi pionowej i jak ten wykres powstał. Być może Doktorant jest tak dumny ze swojego dzieła, że zapomniał je dokładnie opisać. Zwykle rozdział wstępny pokazuje stan wiedzy w dziedzinie, w której pracuje Doktorant. Kończy się wnioskami na jakim etapie są prace światowe, aby postawić cel lub też hipotezę pracy doktorskiej. W recenzowanej rozprawie tego fragmentu nie znalazłem. Ten fakt uważam za duży mankament rozprawy.

Rozdział drugi opisuje system mikrofluidyczny do pomiaru wpływu lepkości i napięcia powierzchniowego niezwilżającej kropli na jej względną różnicę mobilności w kanale o przekroju kołowym. Zastosowano komercyjnie dostępne rurki o wewnętrznej średnicy 0,8 mm. Doktorant przeprowadził szereg eksperymentów, których wartość merytoryczną oceniam bardzo wysoko. Do tego rozdziału mam kilka uwag:

- a) str. 46 dlaczego na rys. 2.8 podano ciśnienie w mbar a nie w bar. Wartości ciśnień są od 1 do 6 bar (u autora rozprawy od 1000 do 6000 mbar),
- b) str. 52 lepkość mierzono w zakresie 19-25°C a nie 10-25 °C, jak opisał to Autor,
- c) str. 53 – brak odniesienia w tekście do rys. 2.14,

- d) str. 54 – pojawiają się zawory o sterowaniu ręcznym – trochę to przeczy idei konstruowania systemów automatycznych. Nie jest podana przyczyna dla jakiej zastosowano takie zawory,
- e) str. 55/56 i rys. 2.17 przedstawiają moduł do pomiarów prędkości przepływu. Opis jest bardzo ogólnikowy i niejasny, a jest to kluczowy element całego systemu pomiarowego. Proszę o wyjaśnienie dlaczego Doktorant uważa, że zastosowanie PMMA gwarantuje uzyskanie dużego stosunku sygnał szum. Dlaczego zastosowano czerwoną diodę LED? Jak ta dioda była zasilana? Czy zastosowano modulację? Dlaczego zastosowano filtr Butterwortha o częstotliwości odcięcia 5 kHz? Jaki przetwornik analogowo – cyfrowy stosowano w pomiarach? Dlaczego odległości pomiędzy parami detekcyjnymi były dobrane dla 3 par 6,25 mm a następne już 12,5 mm? Skąd takie wymiary? Jaki zastosowano czujnik temperatury? Jaka była wersja LabView (oczekiwałem przykładowych projektów z LabView np. w formie dodatku do pracy). Skąd wynikał dobór częstotliwości próbkowania czujników ciśnienia i temperatury a skąd częstotliwość próbkowania przetwornika A/C. Nie podano jaki typ zaworów stosowano w systemie przepływowym.

Pozwolę sobie na ogólną dygresję – ta część pracy oraz pozostałe opisujące układy oraz systemy pomiarowe napisana jest przez Doktoranta jako typowy „pamiętnik doktoranta”. Pojawiają się dane liczbowe związane z różnymi parametrami urządzeń czy pomiarów, ale brak jest jakiegokolwiek uzasadnienia na podstawie jakiej wiedzy, danych literaturowych czy serii własnych eksperymentów ustalono takie a nie inne wartości. Jest to bardzo często spotykany błąd doktorantów, którzy koncentrują się wyłącznie na pisaniu, podaniu wyników a nie na dogłębnej analizie całości eksperymentu.

- f) str. 59 do stabilizacji temperatury zastosowano grzejnik rezystancyjny (jaki?) oraz regulator PID – z jaką dokładnością stabilizowano temperaturę?
- g) str. 68 – na rys. 2.23 przedstawiono wyniki analiz sygnałów z wykorzystaniem programu napisanego w Pythonie, ale na str. 32 Doktorant stwierdził, że tym zajmowali się Karol Makuch oraz Mahsa Sahebdivani. Nie są to więc oryginalne prace Doktoranta. Czy tego typu obliczeń nie można było wykonać w LabView?

Proszę o wyjaśnienia. Proszę również o wyjaśnienie dlaczego w wielu przypadkach sygnał przybiera wartości ujemne.

- h) str. 68 Doktorant podaje, że rys. 2.23 ilustruje pomiary prędkości kropli, ale jest to wykres zależności znormalizowanej amplitudy w funkcji czasu. Podobnie rys. 2.24 – nie jest to wykres względnej ruchliwości.

W trzecim rozdziale przedstawiono system mikroprzepływowych wykorzystany do hodowli bakterii w mikrobioreaktorach. Zaprojektowany system mierzył gęstość optyczną, stężenie tlenu oraz wartość pH. W badaniach wykorzystano nanocząstki wykazujące zmiany fluorescencji w zależności od stężenia tlenu i pH. Ponadto Doktorant zbadał szybkość transferu tlenu z fazy ciągłej do kropelek oraz przez ściankę rurki, z której zbudowano system mikroprzepływy.

Jak podaje Doktorant, przeważająca część tego rozdziału została opublikowana w *Analytical Chemistry* w 2016 roku. W podrozdziale 3.1 Doktorant przytacza pozycję literaturową [88] z roku 2016 jako „recent tutorial review”. Rozumiem, że od tego czasu nie pojawił żaden przegląd z tej dziedziny.

Moje uwagi do tego rozdziału:

- a) str. 76 – pojawiają się określenia „oxygen-free” i „air-saturated aqueous solution”, nie ma informacji jak uzyskano takie roztwory i jakie jest rzeczywiste stężenie tlenu w takich próbkach? Czy w przypadku „bulk solution” mierzono stężenie tlenu za pomocą metody referencyjnej, np. elektrody Clarka?
- b) str. 76 – ostatnie zdanie pierwszego paragrafu: skąd Doktorant uzyskał dane dotyczące rozdzielczości pomiaru tlenu?
- c) str. 78 – brak jest oznaczeń na rys. 3.2
- d) str. 78 – Doktorant podaje, że w celu obniżenia stężenia tlenu wodę dejonizowaną trzymano w atmosferze argonu przez 15 min. Skąd wiadomo, że po tym czasie nastąpiło odtlenienie? Jaka była objętość wody? Czy sprawdzono stężenie tlenu po tym procesie?
- e) str. 79 – rys. 3.3 jak wyznaczone są stężenia tlenu na rys. a oraz b? Rys. 3.3 a – dlaczego przerwano pomiary – sygnał się nie ustabilizował
- f) Str. 90 w tekście znajduje się odniesienie do rys. 3.9a, który pojawia się dopiero na stronie 94

- g) Dla tego rozdziału musiałbym powtórzyć wszystkie swoje uwagi dotyczące rozdziału drugiego – podane są dane liczbowe, parametry, ale bez żadnego uzasadnienia skąd takie wartości.
- h) str. 94 rys. 3.9c przedstawia detektor Piccolo - jest komercyjny element zastosowany do pomiarów. Jego połączenie do układu przepływowego jest oczywiste i nic nie wnosi do rozprawy. Za to brakuje zdjęcia całego systemu pomiarowego.

Pomimo tych uwag, wysoko oceniam wartość merytoryczną przedstawionych eksperymentów. Wyciągnięte wnioski wydają się wartościowe i mogą być bardzo przydatne dla przyszłych prac z tego zakresu.

Trzeci system, opisany w rozdziale czwartym, umożliwił badanie reakcji chemicznych z precyzyjną kontrolą proporcji reagentów i pomiarem widma NMR. Każdy chemik organik syntetyk jest potencjalnym odbiorcą opracowanego przez Doktoranta systemu. Głównym elementem nowości wprowadzonym przez Doktoranta jest prowadzenie i monitorowanie reakcji z zastosowaniem segmentowego przepływu przy użyciu dodatkowej niemieszającej się cieczy. Takie rozwiązanie znacząco zmniejszyło przenikanie między segmentami doświadczalnymi o precyzyjnie zdefiniowanym składzie chemicznym. Zaprojektowany system został przetestowany w czasie prowadzenia modelowej reakcji.

Typowy styl opisu Doktoranta nie podaje żadnych uzasadnień dla przyjętych stężeń, przepływów i innych parametrów. Typowy jest również brak korelacji pomiędzy tekstem opisującym rysunek a miejscem umieszczenia rysunku w rozprawie, np. na str. 111 pojawia się opis rys. 4,7, zaś sam rysunek jest na str. 113. O ile sama spektroskopia NMR jest poza moimi zainteresowaniami zawodowymi, o tyle z punktu widzenia metrologicznego mogę ocenić, że Doktorant zaprezentował wartościowe wyniki pomiarów. Nie chcę również powtarzać poprzednich zarzutów to tego rozdziału. Pragnę jednak zwrócić uwagę, że stosowanie rurek o średnicy wewnętrznej 1 mm to już nie jest skala mikro.

### ***Podsumowanie***

Mimo opisanych przeze mnie uchybień, z treści rozprawy widać Doktorant wykazuje się znajomością szeregu zjawisk z pogranicza fizyki, chemii i biologii. Nie jest łatwe dla Doktoranta, który jest fizykiem, nawiązanie efektywnej współpracy badawczej z tak interdyscyplinarnym zespołem badawczym. Autor wykazał się również znajomością techniki i metod pomiarowych oraz umiejętnością opracowania i implementacji algorytmów sterujących systemami pomiarowymi. Na przyszłość pozostaje mu życzyć większej staranności przy opisywaniu efektów swoich prac.

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Michała Horki spełnia wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim (zgodnie z art.13 ustawy z dn. 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz.U.nr. 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej PAN o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

