

Warszawa, 22.12.2021

Dr hab. Sławomir Jakiela, prof. SGGW
e-mail: slawomir_jakiela@sggw.edu.pl
tel.: +48 22 59 38626

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana 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.

Promotor: Prof. Dr hab. Piotr Garstecki

Promotor pomocniczy: Dr Karol Makuch

Przedstawiona do recenzji praca doktorska składa się z pięciu rozdziałów podzielonych na podrozdziały, spisu treści, podziękowań, streszczenia, list tabel i wykresów, literatury, oraz życiorysu i listy publikacji Doktoranta - liczy 161 stron. Napisana została w języku angielskim i ubogacona wykresami, kolorowymi schematami, i rysunkami, a także tabelami. Styl pracy jest dobry, nieliczne są literówki, czy błędy gramatyczne.

Tematyka rozdziałów przedstawionych w pracy doktorskiej podzielona została na pięć części: 1 - stanowi wstęp teoretyczny i omawia pobieżnie dominujące zjawiska i prawa fizyczne w mikroskali, 2 - opisuje zautomatyzowany eksperyment pomiaru względnej prędkości kropeł poruszających się w kapilarze o przekroju kołowym, 3 - przedstawia zautomatyzowany pomiar stężenia tlenu i zmian pH w fazie wodnej zawierającej różne kultury bakteryjne, 4 – opisuje zautomatyzowaną mikroprzepływową platformę sprzężoną z spektroskopią NMR, 5 – zawiera podsumowanie i dyskusję otrzymanych wyników. Tematyka pracy doktorskiej dotyczy pokazania wpływu automatyzacji eksperymentów przeprowadzanych

w mikroskali na jakość, skuteczność i szybkość otrzymywanych wyników przy badaniach fizycznych, chemicznych, jak i biologicznych. Praca nie ma układu klasycznego doktoratu, w którym Autor uzasadnia hipotezę badawczą. Celem pracy jest pokazanie jak automatyzacja mikroprzepływów dwufazowych umożliwia szybkie i klarowne uzyskanie odpowiedzi na postawione pytania badawcze, na przykładzie trzech różnych doświadczeń. Przeprowadzone eksperymenty zostały opisane według schematu: motywacja Autora byając się opisanym zjawiskiem, uzyskane wyniki, wykorzystane materiały i metody oraz podsumowanie. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że opisane badania stały się podstawą czterech recenzowanych publikacji oraz kilku wystąpień na konferencjach krajowych i zagranicznych.

Odniesienie rozdziału pierwszego – „From physics of fluids in a microliter scale to automation of microfluidic systems“

Pierwsza część stanowi wprowadzenie do tematyki badań jaką zajmuje się Doktorant. Opisane w tej części zostały dominujące zjawiska fizyczne, jak i prawa fizyczne, występujące w mechanice płynów w mikroskali, a także przedstawiono kilka przykładów wykorzystania automatyzacji w układach mikroprzepływowych. Autor wspomina o takich zjawiskach i prawach jak: oddziaływanie dwóch niepolarnych cząsteczek, hipotezie ciągłości w cieczach, lepkości, napięciu powierzchniowym, zjawisku zwilżania, dyfuzyjnym transporcie masy, prawie Stokesa-Einsteina, prawie Hagen’a-Poiseuille’a i porównuje przepływy płynów z przepływem prądu elektrycznego. Ponadto, Pan mgr inż. Michał Horka omawia charakterystyczne liczby bezwymiarowe, które są często wykorzystywane przy opisie mikroprzepływów.

W tej części recenzentowi brakuje: i) powiązania zwilżalności z siłami kohezji i adhezji, ii) lepszego opisanie liczb charakterystycznych, np. dla jakiego zakresu liczb Reynoldsa definiujemy przepływ laminarny w mikroskali, jakiemu zakresowi liczb kapilarnych to odpowiada w nawiązaniu do badanych układów eksperymentalnych, iii) co oznacza mała – to znaczy jaka, a co duża liczba Bondy.

Odniesienie rozdziału drugiego – „An automated microfluidic system to measure relative mobility difference of non-wetting droplets in a capillary with circular cross-section“

W drugim rozdziale Autor opisuje zautomatyzowany pomiar prędkości względnej dwóch mikrokropelek umieszczonych w kapilarze o przekroju kołowym. Jako fazę ciągłą wykorzystano fluorinert FC-40, a fazę rozpraszającą generowano z destylowanej wody (kropla referencyjna), oraz mieszaniny wody i gliceryny (kropla pomiarowa), a także z wykorzystaniem żywej kultury mikrobiologicznej (również kropla pomiarowa). Układ zautomatyzowano do stanowiska bezobsługowego, tak by wyeliminować maksymalnie ludzkie błędy doświadczalne. Podczas

wykonywania doświadczenia monitorowano zmiany gęstości optycznej żywych kultur bakterii, jak i temperaturę układu, która przy pomiarach lepkościowych jest bardzo kluczowa. Doktorant pokazał między innymi, że względna prędkość kropeł o różnych lepkościach dla liczb kapilarnych z przedziału od 10^{-4} do 10^{-1} , ma małą zmienność – maksymalnie do 4% - przy analizie całego zakresu zmienności, a przy analizie konkretnej liczby kapilarnej sięga maksymalnie 2%. Przy porównaniu wyników empirycznych z modelem teoretycznym widać zbieżność. Szkoda, że w tym przypadku nie podano żadnej statystyki liczbowej opartej chociażby na współczynniku korelacji. Pan mgr inż. Michał Horka pokazał zależność czasu płynięcia kropli pomiędzy dwoma czujnikami od zmian temperaturowych jakim układ eksperymentalny był poddawany w sposób naturalny podczas długich pomiarów. Zaprezentowane wyniki wskazują na dużą zależność głównie lepkości fazy ciągłej od temperatury oraz wskazują możliwości aplikacyjne wykonania precyzyjnego pomiaru temperatury w mikroprzepływowych układach dwufazowych. Wyniki otrzymane dla kropeł, z rozwijającą się kulturą bakterii, uświadomiły Doktorantowi wpływ zmian międzyfazowego napięcia powierzchniowego na otrzymywane wyniki. Szkoda, że nie wyeliminowano tego efektu poprzez dodanie surfaktantu do fazy ciągłej, czy zmianę fazy ciągłej na inny olej ze surfaktantem. Ciekawe byłoby również sprawdzenie zależności międzyfazowego napięcia fazowego układu olej – mieszanina wody i gliceryny od zmian temperatury. Cześć opisująca wykonanie układu, jego działanie i automatyzacja poszczególnych elementów zasługuje na wyróżnienie.

Drobne nieścisłości w tej części rozprawy doktorskiej dotyczą wzoru na β na stronie 41.

Odnosnie rozdziału trzeciego – “An automated microfluidic system to monitor oxygen concentration and pH change in micro bioreactors during culturing of bacteria”

W trzecim rozdziale Doktorant opisał zautomatyzowany system mikroprzepływowy umożliwiający hodowlę bakterii w mikrolitrowych kroplach, z których każda stanowi osobny bioreaktor. System oparty był na elastycznych rurkach wykonanych z teflonu FEP, który umożliwiał: i) łatwą integrację czujników optycznych do pomiaru gęstości optycznej, stężenia tlenu oraz pH, ii) generację fazy rozproszonej zawierającej różne gatunki bakterii, oraz iii) inkubację w długoczasowych eksperymentach. Pan mgr inż. Michał Horka wykazał, że przepuszczalność gazowa kapilar wykonanych z teflonu FEP oraz zastosowanie jako fazy ciągłej oleju fluorowanego (FC-40) jest w stanie zapewnić wystarczające warunki tlenowe do hodowli bakterii w mikrokroplach podczas długich kilkudniowych hodowli. Zaprezentowane wyniki w tej części doktoratu wskazują na duże możliwości wykorzystania pomiaru stężenia tlenu do monitorowania wzrostu bakterii na podstawie ich aktywności metabolicznej. W tej części rozprawy zaprezentowano również potencjalne zastosowania jednoczesnego pomiaru OD,

stężenia tlenu i pH w kulturach bakteryjnych. Uzyskane wyniki wskazują również na potencjalne zastosowanie tej technologii do monitorowania postępu reakcji chemicznych.

Nieścisłości jakie pojawiają się w tej części rozprawy doktorskiej, według recenzenta, dotyczą stężenia rozpuszczonego tlenu w pożywce (czyli właściwie w wodzie). Użyta jednostka – mM – nie jest standardową jednostką stężenia rozpuszczonego tlenu w wodzie. Jakie są maksymalne możliwe stężenia rozpuszczonego tlenu w wodzie w użytej przez Doktoranta jednostce?

Odnosnie rozdziału czwartego – “An automated fluidic platform conjugated with NMR spectroscopy for performing multiple chemical reactions with precise control of the ratio of reagents and in-line measurement of its yield”

W czwartym rozdziale Pan mgr inż. Michał Horka opisał zautomatyzowaną platformę mikroprzepływową do badania przebiegu kilku reakcji organicznych w trakcie jednego eksperymentu z precyzyjną kontrolą proporcji wykorzystanych reagentów i przy jednoczesnym pomiarze widma ^1H NMR w pętli sprzężenia zwrotnego bez nadzoru człowieka. Stworzony system umożliwia: i) sterowanie parametrami reakcji chemicznej tak by zmaksymalizować jej wydajność, ii) kontrolę przepływu płynów oraz iii) cykliczny pomiar składu chemicznego wygenerowanych segmentów. Wadą prezentowanego rozwiązania jest wykorzystanie stacjonarnego NMR, które ograniczone jest do wykrywania reakcji chemicznych o stosunkowo prostych strukturach. Autor wskazał, że jednym z kierunków zwiększenia selektywności prezentowanego rozwiązania jest wykorzystanie spektroskopii fluorescencyjnej i/lub absorpcyjnej w celu poprawy możliwości badania reakcji organicznych z bardziej złożonymi produktami.

Odnosnie rozdziału piątego – „Summary and discussion”

W tej części Doktorant w sposób zwarty i treściwy zawarł najważniejsze wnioski, i krytyczne uwagi dotyczące uzyskanych przez siebie wyników.

Podsumowując, chciałbym stwierdzić, że praca doktorska wyróżnia się wysokim poziomem naukowym dokonany przy analizie rozważanych problemów badawczych. O znaczeniu i jakości prezentowanych wyników świadczy fakt, że uzyskane wyniki zostały opublikowane w czterech publikacjach z listy filadelfijskiej. Niestety Autor znajduje się na pierwszym miejscu tylko w jednej publikacji, co świadczy o różnym poziomie zaangażowania w badania.



Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej Pana mgr. inż. Michała Horki stwierdzam, że oceniana praca doktorska **spełnia kryteria** stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora, określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami). Na podkreślenie zasługuje bardzo dobre opanowanie i wykorzystanie przez Doktoranta szerokiego zakresu nowoczesnych metod badawczych, które wykorzystuje się podczas badań w mikroprzepływach wielofazowych, prawidłowe wnioskowanie, oraz znajomość bibliografii dotyczącej problematyki podjętej w pracy doktorskiej.

W związku z przedstawioną powyżej pozytywną oceną całej pracy doktorskiej wnoszę do Rady Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk **o dopuszczenie Pana mgr. inż. Michała Horki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Recenzent,

.....
Dr hab. Sławomir Jakięła, prof. SGGW