

dr hab. inż. Robert Cherbański, prof. uczelni  
Zakład Kinetyki i Termodynamiki Procesowej  
Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej  
Politechnika Warszawska,  
e-mail: robert.cherbański@pw.edu.pl

Warszawa, 14 września 2023 r.

## Recenzja

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Bartłomieja Filipa  
pt. „Badanie przepływu płynów w chromatografii cieczowej metodą  
Numerycznej Mechaniki Płynów”**

### Podstawa opracowania

Podstawą opracowania tej recenzji jest pismo Pana dr hab. inż. Łukasza Byczyńskiego, profesora PRz – Zastępcy Przewodniczącej Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna w Politechnice Rzeszowskiej z 21 lipca 2023 r.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Badanie przepływu płynów w chromatografii cieczowej metodą Numerycznej Mechaniki Płynów” mgr inż. Bartłomieja Filipa została wykonana w Katedrze Inżynierii Chemicznej i Procesowej na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Doroty Antos oraz dr. inż. Romana Bochenka jako promotora pomocniczego.

### Informacje o Doktorancie

Dorobek publikacyjny Doktoranta obejmuje dwa współautorskie artykuły w czasopiśmie *Journal of Chromatography A* z listy *Journal Citation Reports*, w których jest pierwszym autorem. Wartości wskaźników bibliometrycznych za te publikacje wynoszą: IF=4,6, MNiSW=100 pkt. za publikację z 2021 r. oraz IF=4,1, MNiSW=140 pkt. za publikację z 2023 r.

Aktywność konferencyjna mgra inż. Bartłomieja Filipa oceniam pozytywnie. Jego dorobek w tym obszarze obejmuje pięć wystąpień konferencyjnych, z czego cztery na konferencjach krajowych i jedno na sympozjum międzynarodowym. Za swoje wystąpienia Doktorant uzyskał dwie nagrody:

- Wyróżnienie za referat B. Filip, R. Bochenek, D. Antos „Badanie hydrodynamiki w przestrzeniach pozakolumnowych układów w chromatografii cieczowej metodą CFD” na konferencji Analiza Zagadnienia, Analiza Wyników – Wystąpienie Młodego Naukowca w 2020 r.

- III miejsce za referat „Determination of the fluid phase behaviour in liquid chromatography by the CFD method” na 24th Polish Conference of Chemical and Process Engineering w Szczecinie w 2023 r.

## Tematyka pracy i zawartość

Tematyka pracy doktorskiej ma bezpośredni związek z procesem oczyszczania biofarmaceutyków metodą chromatograficzną. Biofarmaceutyki są stosowane w profilaktyce, diagnostyce i leczeniu różnych chorób, w tym autoimmunologicznych, nowotworowych, metabolicznych i rzadkich chorób genetycznych. Przykładami biofarmaceutyków są: rekombinowana ludzka insulina, rekombinowany hormon wzrostu, rekombinowane interferony czy rekombinowana szczepionka WZW typu B. Nakłady finansowe na badania i produkcję biofarmaceutyków ciągle rosną, co jest związane między innymi z rozwojem medycyny spersonalizowanej (terapię celowane). Uważam więc, że wybór tej tematyki jest jak najbardziej uzasadniony i ma ważny aspekt społeczny.

Typowy proces produkcji biofarmaceutyków obejmuje dwa główne etapy. W pierwszym prowadzi się fermentację mikrobiologiczną lub hodowlę komórek ssaków, natomiast w drugim oddziela się komórki, wychwytuje produkt i go oczyszcza. Chromatografia zajmuje ważne miejsce obok innych metod separacji takich jak: wirowanie, ultra- i mikrofiltracja, strącania, krystalizacja czy ekstrakcja. Chociaż może być wykorzystywana również do separacji komórek, to jednak najczęściej jest używana do oczyszczania białek. Metodę chromatograficzną charakteryzuje wysoka selektywność i czystość produktu końcowego, chociaż metoda ma również swoje wady, do których niewątpliwie można zaliczyć duży stopień skomplikowania aparatury oraz wysokie koszty produkcji. Wysiłki podjęte w pracy na rzecz lepszego zrozumienia procesów zachodzących w trakcie rozdziału chromatograficznego mogą przyczynić się do poprawy wydajności procesu i obniżenia kosztów produkcji biofarmaceutyków. Z tej perspektywy praca ma również aspekt poznawczy i praktyczny.

Praca doktorska liczy 96 stron i ma klasyczny układ. Pracę podzielono na trzy główne części: 1) teoretyczną, 2) badawczą oraz 3) omówienie i dyskusję wyników badań. W pracy wyodrębniono również następujące rozdziały: wstęp (bez numeru rozdziału), cel i zakres pracy (bez numeru rozdziału), podsumowanie i wnioski (rozdział 4), spis rysunków (rozdział 5), spis tabel (rozdział 6), nomenklatura (rozdział 7), bibliografia (rozdział 8), streszczenie (rozdział 9), summary (rozdział 10), dorobek naukowy (rozdział 11), udział w badaniach naukowych (rozdział 12).

We wstępie swojej pracy Doktorant krótko, ale treściwie przedstawia chromatografię jako podstawową metodę izolacji, rozdzielania i oczyszczania białek, zwracając szczególną uwagę na negatywny skutek miniaturyzacji kolumn chromatograficznych, tj. duży stosunek objętości wolnych występujących w geometrii zestawu chromatograficznego (SVV) do objętości samego złoża kolumny chromatograficznej. Taki stosunek może powodować deformację profilu stężenia (piku chromatograficznego). Doktorant objaśnia również zjawisko palcowania lepkościowego (VF), które pojawia się w przypadku dużej różnicy lepkości fazy ruchomej i badanej próbki. Jest to dodatkowy efekt, potęgujący deformację profilu stężenia. Doktorant zwrócił uwagę na możliwość przewidywania optymalnych warunków rozdzielania chromatograficznego przy pomocy modeli dynamicznych. W grupie tych metod szczególne miejsce zajmuje metoda obliczeniowej mechaniki płynów (ang. *Computational Fluid Dynamics, CFD*). W tej części pracy Doktorant zaznaczył elementy nowości swojej pracy, jej zawartość i znaczenie otrzymanych wyników.

Celem pracy było opracowanie modeli matematycznych hydrodynamiki przepływu podczas elucji różnych związków w zestawie chromatograficznym o różnych konfiguracjach oraz rozwiązanie modeli metodą CFD. Do rozwiązania modelu matematycznego Doktorant wykorzystał komercyjne oprogramowanie ANSYS Fluent, natomiast do weryfikacji wyników obliczeń wykorzystał wyniki własnych badań doświadczalnych.

Część teoretyczna zawiera starannie dobrane treści, które w większości dotyczą istotnych kwestii związanych bezpośrednio z pracą. Niektóre podrozdziały, jak na przykład te dotyczące przetwarzania produktów biotechnologicznych oraz metod numerycznych w chromatografii cieczowej, mają charakter bardziej ogólny, ale są moim zdaniem potrzebne, żeby spojrzeć na szczegółowe i specjalistyczne zagadnienia z szerszej perspektywy. W podrozdziale 1.6.4. *Problem badawczy będący przedmiotem pracy* Doktorant ponownie zwraca uwagę na przedmiot i znaczenie swoich badań, a także elementy nowości.

W części badawczej Doktorant szczegółowo i klarownie przedstawił swoje badania doświadczalne oraz symulacje numeryczne. W części poświęconej badaniom doświadczalnym omówił: zastosowane materiały, aparaturę i sprzęt badawczy, zestawy chromatograficzne w konfiguracjach bez oraz z kolumną chromatograficzną, analizę frakcji metodą SEC-HPLC, procedury i warunki prowadzenia procesu. W części poświęconej symulacjom numerycznym opisał: opracowanie modeli numerycznych badanych zestawów chromatograficznych, dyskretyzację modelu geometrycznego oraz zastosowane metody numeryczne.

W rozdziale trzecim Doktorant rzeczowo i systematycznie omówił i przedyskutował wyniki swoich badań. Zaprezentował w nim wyniki dotyczące hydrodynamiki związków mało-

i wielkocząsteczkowych w konfiguracji zestawu bez kolumny chromatograficznej oraz te dotyczące hydrodynamiki roztworów białek w konfiguracji z kolumną chromatograficzną. W tej pierwszej części przedstawił: wpływ czasu przebywania i dyfuzyjności na rozmycie profili stężenia, model geometrii w konfiguracji bez kolumny, porównanie wyników obliczeń i doświadczeń dla konfiguracji bez kolumny z małą i dużą objętością iniekcji oraz graficzną prezentację konturów profilu stężenia. W części dotyczącej hydrodynamiki roztworów białek Doktorant przedstawił: ewolucję profili stężenia mAb2, analizę wariancji profili stężenia mAb2 oraz wpływ lepkości próbki na hydrodynamikę w układzie chromatograficznym.

### Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Praca jest napisana bardzo dobrym językiem naukowym, który jest klarowny i logiczny. Język wypowiedzi jest zwięzły i obiektywny. Po uważnej lekturze pracy stwierdzam, że praca zawiera jedynie pojedyncze uchybienia i błędy językowe, które nie wpływają na czytelność pracy.

Wszystkie rysunki i wykresy mają prawidłowo dobraną wielkość czcionki, kolor i grubość linii, wielkość znaczników itp. Jediną usterką, którą zgłaszam w odniesieniu do Rys. 2.2 i 2.4 są praktycznie niewidoczne objaśnienia elementów zestawu chromatograficznego prezentowanych na zdjęciach. Wynika to z niefortunnie wybranego koloru czcionki oraz jej małego rozmiaru. Dodatkowo rysunek 1.4 jest bardzo prosty i uważam, że prezentacja tych informacji w formie graficznej jest niepotrzebna. Numeracja rysunków uwzględnia podział na rozdziały pracy, co ułatwia czytelnikowi odnalezienie właściwego rysunku (praca zawiera 47 rysunków). Podpisy pod rysunkami są zwięzłe i logiczne. W spisie rysunków zastosowano większą czcionkę, co jest pewnym ułatwieniem dla czytelnika. W pracy jest kilka tabel, które w prawidłowy sposób porządkują szczegółowe informacje. Doktorant konsekwentnie zastosował taki sam format numeracji tabel, jak w przypadku rysunków. Odnośniki do elementów pracy takich jak: równania, rysunki, tabele są prawidłowe. Liczne akronimy używane w pracy oraz symbole zostały wyjaśnione w rozdziale 7. *Nomenklatura*. Symbole zostały dodatkowo objaśnione bezpośrednio pod równaniami. Jedinym dostrzeżonym przeze mnie błędem dotyczy symbolu  $J_i$ , który powinien być prawidłowo wyjaśniony jako gęstość strumienia dyfuzji z prawidłowym mianem  $[\frac{kg}{m^2s}]$ .

## Uwagi merytoryczne i dyskusyjne

Rozprawę doktorską Pana mgr. inż. Bartłomieja Filipa oceniam bardzo dobrze. Analiza pracy pozwala stwierdzić, że została ona zrealizowana prawidłowo po względem merytorycznym. Doktorant napisał swoją pracę poprawnym językiem naukowym, prezentując informacje w sposób jasny, precyzyjny i zwięzły. Główny nacisk w pracy został położony na część obliczeniową, co nie jest żadną wadą tej pracy, bo jest to przecież jej główny temat. Pewien niedosyt pozostawia u mnie doświadczalna część pracy. Uważam, że ta część mogłaby być wzbogacona chociażby o krzywe kalibracyjne acetonu, mAb2 i BSA dla detektora UV czy, wspomnianą na 41. stronie pracy, opracowaną krzywą wzorcową dla mAb2 w analizie *SEC-HPLC*.

Chociaż ogólna ocena rozprawy jest jednoznacznie pozytywna, to w trakcie lektury nasunęły mi się następujące pytania o charakterze merytorycznym i dyskusyjnym, które będę chciał zadać Doktorantowi w trakcie publicznej obrony:

1. Przyjmuje się dość powszechnie, że praca doktorska powinna zawierać tezy, które autor pracy doktorskiej stara się udowodnić za pomocą wyników swoich badań i odpowiedniej argumentacji. Tezy powinny wyznaczać cel i zakres pracy. W swojej rozprawie Doktorant poprzestał jedynie na sformułowaniu celu i zakresu pracy. W związku z tym proszę, żeby Doktorant sprecyzował tezy swojej pracy.
2. W pierwszej linii podrozdziału *1.2.2.1. Dyfuzja molekularna* Doktorant pisze, że „Dyfuzja to samorzutny, nieodwracalny proces makroskopowy...”, co jest oczywistym błędem. Chociaż efekty dyfuzji mogą być obserwowane na poziomie makroskopowym, to jednak dyfuzja jest typowym zjawiskiem mikroskopowym.
3. W ostatnim zdaniu w podrozdziale *1.5.1.1. Metoda różnic skończonych* Doktorant stwierdza, że „Z uwagi na ograniczenia stosowania tej techniki do przypadków jednowymiarowych, metoda ta nie daje możliwości obliczeń numerycznych uwzględniających rozkład pewnych wartości w kierunku nie tylko osiowym, ale także promieniowym”. Metoda różnic skończonych nie jest ograniczona jedynie do przypadków jednowymiarowych i co do zasady może być z powodzeniem wykorzystana do przypadków wielowymiarowych. Ponieważ w ślad za tym stwierdzeniem Doktorant nie cytuje żadnej literatury, to być może ma na myśli jakieś konkretne przypadki, w których można napotkać trudności obliczeniowe, stosując tą metodę. Proszę o komentarz i wyjaśnienie.
4. Pewne cechy języka oraz cytowana przez Doktoranta literatura pokazują, że rozdział *1.5.3. Oprogramowanie firmy ANSYS* został napisany w głównej mierze w oparciu

- o materiały firmy ANSYS. Dojrzała praca naukowa powinna odnotowywać oprócz zalet jakiegoś rozwiązania, metody czy produktu, również jego wady. Nie kwestionując licznych zalet tego oprogramowania, czy dostrzegł Pan jakieś wady tego narzędzia?
5. W rozdziale 2.1.6.3. *Wyznaczanie porowatości fryt oraz złoża w kolumnie* Doktorant pisze, że „Rozwiązanie modelu CFD (rozdz. 2.2.1.2) dopasowywano do doświadczalnego profilu stężenia poprzez zmianę porowatości [fryt]”. W zaproponowanym podejściu porowatość fryt jest dodatkowym parametrem modelu matematycznego. Czy porównano obliczoną porowatość ( $\varepsilon_t = \varepsilon_e = 0,26$ ) z rzeczywistą?
  6. Na 48. stronie pracy Doktorant przedstawił warunki brzegowe w sposób opisowy, który może być różnie interpretowany. Uważam, że ten opis powinien być uzupełniony o odpowiednie równania matematyczne.
  7. Na 50. stronie pracy Doktorant stwierdza, że krok czasowy obliczeń dobrano na podstawie wartości liczby Couranta. Definicja tej liczby kryterialnej nie została przedstawiona w pracy.

## Wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra inż. Bartłomieja Filipa pt. „Badanie przepływu płynów w chromatografii ciekowej metodą Numerycznej Mechaniki Płynów” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, które polegało na opracowaniu, rozwiązaniu i doświadczalnej weryfikacji modeli matematycznych służących do przewidywania i opisu hydrodynamiki na drodze elucji typowego zestawu chromatograficznego stosowanego do separacji i oczyszczania białek. Dodatkowym elementem nowości jest przeprowadzona przez Doktoranta analiza wpływu dyspersji w złożu porowatym z uwzględnieniem anizotropii współczynnika dyspersji oraz uwzględnienie wpływu lepkości płynu.

W swojej pracy mgr inż. Bartłomiej Filip wykazał się ogólną wiedzą teoretyczną w dyscyplinie inżynieria chemiczna. Doktorant wykorzystał swoją wiedzę między innymi do sformułowania odpowiednich modeli matematycznych, analizy wpływu różnych parametrów na rozmycie pików chromatograficznych oraz prawidłowej interpretacji uzyskanych wyników. Doktorant wykazał się również umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, co udowodnił, planując i prowadząc badania doświadczalne oraz obliczenia numeryczne w różnych konfiguracjach zestawów chromatograficznych.

Stwierdzam, że praca doktorska mgra inż. Bartłomieja Filipa spełnia wszystkie wymagania określone w art. 187 ustawy - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. z 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i wnoszę do Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna w Politechnice Rzeszowskiej o dopuszczenie mgra inż. Bartłomieja Filipa do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, biorąc pod uwagę, że recenzowana praca została zrealizowana na wysokim poziomie merytorycznym i posiada ważne walory praktyczne, zwracam się z wnioskiem do Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Rzeszowskiej o rozważenie wyróżnienia przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej.

A handwritten signature in black ink, reading "Cherbański", written over a dotted line.

(dr hab. inż. Robert Cherbański, prof. uczelni)