

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Bartłomieja FILIPA pt. "Badanie przepływów płynów w chromatografii cieczowej metodą Numerycznej Mechaniki Płynów", wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Doroty Antos, oraz promotora pomocniczego dr. inż. Romana Bochenka, w Katedrze Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Rzeszowskiej

### 1. Podstawa wykonania recenzji

Podstawę prawną wykonania poniższej recenzji stanowi pismo dr. hab. Łukasza Byczyńskiego, prof. PRz., z-cy Przewodniczącego Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna w Politechnice Rzeszowskiej, z dnia 21 lipca 2023 r., zlecające mi jej wykonanie na podstawie decyzji w/w Rady. Informuję, że nie znane mi są przyczyny dla których przedstawiona recenzja mogłaby budzić wątpliwości odnośnie obiektywizmu.

### 2. Przedmiot oceny

Przedmiotem oceny jest treść zeszytu naukowego pt. „Badania przepływu płynów w chromatografii cieczowej metodą Numerycznej Mechaniki Płynów”, autorstwa pana Bartłomieja FILIPA, wydanego przez Wydział Chemiczny Politechniki Rzeszowskiej w serii prace doktorskie. Pierwsza, licząca 74 str., część opracowania zawiera zwięzłe wprowadzenie w tematykę przeprowadzonych badań oraz wskazanie i uzasadnienie ich celu, następnie opisy zrealizowanego programu zarówno badań eksperymentalnych jak i odpowiadających im symulacji/obliczeń komputerowych, łącznie z prezentacją wyników, a wieńczy ją podsumowanie oraz wnioski końcowe. Część tę kończą spisy: cytowanej literatury (liczący 100 pozycji, głównie z ostatnich lat), stosowanych oznaczeń i symboli, streszczenie w języku angielskim, oraz ogłoszonego dorobku naukowego Doktoranta. Składają się na niego dwa artykuły w renomowanym czasopiśmie naukowym o zasięgu globalnym (oficyny Elsevier), szczegółowo opisujące przeprowadzone badania i uzyskane wyniki, oraz pięć wystąpień konferencyjnych, w tym jedno zagraniczne. W drugiej części zeszytu zamieszczono kopie wyżej wspomnianych artykułów, opublikowanych w prestiżowym czasopiśmie *Journal of Chromatography A* w latach 2021 i 2023, co obiektywnie świadczy o ich wartości poznawczej i wysokiej ocenie przez recenzentów. W obu artykułach Doktorant wymieniony jest na pierwszym miejscu.

### 3. Tematyka rozprawy

Przedmiotem rozprawy doktorskiej pana Bartłomieja Filipa są badania eksperymentalne i analiza matematyczna przepływu płynów w różnych zestawach aparaturowych cieczowej chromatografii, przeprowadzone celem określenia czynników aparaturowych i operacyjnych posiadających kluczowy wpływ na efektywność rozdzielania białek, traktowanych jako modelowe makrocząstki o dużym znaczeniu farmaceutycznym. W ocenie recenzenta, zakres przeprowadzonych badań znacznie wykracza poza ramy wcześniejszych prac. Istotną nowością jest gruntowne przebadanie wpływu istotnych parametrów architektury zastawu chromatograficznego: pustych przestrzeni tak poza- jak i wewnątrz kolumnowych, zmienności średnic oraz krętości drogi przepływu (w tym stosowania różnych pętli iniekcyjnych oraz tzw. superpętli), jak również zmiennych operacyjnych: natężenia przepływu eluanta oraz znacznej różnicy lepkości między fazą ruchomą a próbką, na kształt/deformację profilu stężenia - piku chromatograficznego rozdzielania białek. Symulacje matematyczne przepływu płynów przeprowadzone zostały z wykorzystaniem tzw. numerycznej mechaniki płynów (ang. Computation Fluid Dynamics, CFD), to jest numerycznych metod rozwiązania klasycznego równania Naviera-Stokesa w całej przestrzeni stosowanego/badanego zastawu

chromatograficznego, a nie tylko wybranych jego elementach, szczególnie kolumnie, jak to robiono poprzednio.

Wyniki obliczeń numerycznych, prezentowane zasadniczo w postaci tzw. rozkładów czasu przebywania, czyli rozmycia profili/pików stężenia składnika w eluencie i kwantyfikowane wielkościami wariancji pików, Doktorant konfrontował z wynikami przeprowadzonych eksperymentów rozdziału modelowych białek: albuminy surowicy bydlęcej (BSA) oraz immunoglobuliny typu G (mAb2), reprezentujących białka o małej (BSA) oraz dużej masie cząsteczkowej (mAb2). Ujęcie takie pozwoliło na ilościową ocenę tak wpływu geometrii i wielkości różnych składników układu chromatograficznego (objętości i krętości poszczególnych elementów stosowanego zestawu chromatograficznego (f-my Ākta), jak też parametrów operacyjnych: natężeń przepływu i lepkości stosowanych eluentów oraz masy cząsteczkowej rozdzielanych związków, na rozmycie profilu stężenia uwalnianego adsorbentu w eluencie. Symulacje prowadzone zostały z pomocą komercyjnego pakietu CFD firmy ANSYS, z dyskretyzacją przestrzeni operacyjnej analizowanych układów chromatograficznych metodą elementów skończonych (ang. MES) lub metodą objętości skończonych (MOS). Zarówno temat pracy, koncepcję badań jak i stosowane narzędzia i metody oceniam bardzo pozytywnie i wysoko. Nie są mi znane żadne wcześniejsze prace o podobnym charakterze i zbliżonym zakresie badań.

#### 4. Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki – zakres i ocena

Badania wpływu pustych przestrzeni poza kolumnowych prowadzono stosując w zestawach eksperymentalnych:

- kapilarne pętle iniekcyjne o różnej wielkości: objętości w zakresie 0.01-1mL, średnicach (I.D.) 0.25 – 0.75mm i długościach 204-2264mm; ponadto przebadano efekt stosowania tzw. superpętli (ang. superloop) o wymiarach odpowiednio: 10mL, 30mm, 14mm,
- kapilary łączące o średnicy 0.5mm i długościach od 100 do 1273mm.

Celem określenia indywidualnego wpływu pustych objętości obecnych w instalacji tak w części poza kolumnowej jak i części wewnątrz kolumnowej, oraz samego złoża chromatograficznego, na rozmycie profilu stężenia, w obliczeniach numerycznych geometrię zestawu chromatograficznego przybliżono za pomocą trzech różnych konfiguracji, przy czym wpływ najważniejszej z nich – poza kolumnowej, aproksymowano czterema wariantami geometrycznymi, w tym prostych kapilar o różnych, także zmiennych, średnicach i różnych długościach dróg przepływu, a także zakrzywionych pętli, uwzględniając ich krzywiznę.

Dla geometrii osiowosymetrycznych (2D) numeryczne obliczenia prowadzono stosując siatki o zmiennej gęstości, w zakresie 0.01-0.1 mm w kierunku osiowym oraz 0.005-0.05mm w kierunku promieniowym – liczba elementów siatki sięgała kilkuset tysięcy. Natomiast, w przypadkach braku symetrii osiowej (stosowanie pętli iniekcyjnej) symulacje prowadzono w domenie 3D metodą MOS; wówczas liczba elementów siatki sięgała 900 tysięcy. Takie gęstości siatek umożliwiały detekcję nawet drobnych zaburzeń przepływu w mikrokanalach wykorzystywanego zestawu chromatograficznego, a w konsekwencji także ich wpływu na analizowane profile stężeniowe.

W ocenie recenzenta Doktorant wykazał dużą wiedzę i staranność by przybliżyć prowadzone symulacje matematyczne do realiów prowadzonych eksperymentów wykorzystując dostępne informacje. Wielkości fizykochemiczne i hydrodynamiczne takie jak współczynniki dyfuzji, lepkości cieczy i efektywnego współczynnika dyspersji (anizotropia dyspersji), na każdym etapie obliczeń określał z najlepszych formuł matematycznych dostępnych w literaturze, z uwzględnieniem wpływu lokalnie zmiennego stężenia. W ten sposób uwzględniał nie tylko tzw. efekty drugorzędowe, ale i trzeciorzędowe, które w szczególnych przypadkach aparaturowo-procesowych istotnie wpływały na charakter przepływu, a przeto rozmycie profilu stężeniowego.

Wydaje się, że takie podejście w pełni przyczyniło się do osiągnięcia zademonstrowanej wysokiej precyzji odwzorowania kształtu pików elucji białek. Precyzję tę obserwowano bowiem w bardzo złożonych przypadkach rozdzielania chromatograficznego, np. znacznej różnicy lepkości między fazą ruchomą, a próbką, jak też złożonej geometrii stosowanego zestawu, skutkującego np. dużą krzywizną początkowego fragmentu drogi przepływu (duża pętla iniekcyjna); każdorazowo, choć z różnych powodów, powodujących silne deformacje kształtu profili prędkości.

Za kluczowe osiągnięcie opiniowanej pracy uważam opracowanie systemu symulacji rozmycia profili w złożonych procesach rozdzielania chromatograficznego metodą CFD, wykorzystującego, w tym przypadku narzędzia firmy ANSYS, ale z zasady nie ograniczonego do produktów tej firmy, i uzupełnionego zestawem niezbędnych procedur, niezbędnych dla uzyskania bardzo wysokiego stopnia odwzorowania zjawiska. Opracowany system pozwala przewidywać przebieg procesów rozdzielania chromatograficznego związków makrocząsteczkowych, szczególnie białek, w konkretnych, postulowanych sytuacjach aparaturowo-procesowych, w konsekwencji także planowanie i projektowanie optymalnych rozwiązań aparaturowych i operacyjnych rozdzielania białek.

Symulacje numeryczne dostarczyły także szereg interesujących informacji, czasem intuicyjnie oczywistych, ale teraz jednoznacznie skwantyfikowanych, na temat wpływu szeregu zmiennych procesowych i elementów zestawu, na rozmycie profilu stężeniowego. Dotyczy to np.:

- wpływu krętości drogi przepływu w strefie przed kolumnowej, jako czynnika wpływającego na symetrię pików elucji białek, a także wpływu wzrostu natężenia eluentu na poprawę wydajności całego układu,
- dominującego wpływu hydrodynamiki w pętli iniekcyjnej na rozmycie profilu stężenia, niezależnie od długości złoża,
- procesowych uwarunkowań występowania zjawiska tzw. palcowania lepkościowego (ang. VF).

Wysoko cenię także świadomość Doktoranta celowości dalszego doskonalenia modelu, szczególnie uwzględnienia aspektów termodynamicznych i kinetycznych procesu desorpcji adsorbentu.

## 5. Uwagi krytyczne

Jak wspomniano, przedstawione opracowanie składa się z dwóch zasadniczych części: opisowej oraz dwóch publikacji. O ile ta druga reprezentuje bardzo wysoki poziom, w każdym aspekcie, to styl języka części pierwszej - opisowej, nazbyt często nie grzeszy precyzją. Moim zdaniem, jest bardziej dziennikarsko-reporterski, obliczony na przekazanie informacji, niekoniecznie z zachowaniem dbałości o jej dokładność, niż język suchy, ale precyzyjny, który cechujący publikacje naukowe. Przy całym uznaniu dla wykonanej pracy badawczej, uważam, że na tym etapie moim obowiązkiem jest zwrócenie Doktorantowi na to uwagi.

Kilka przykładów:

- Autor kilkakrotnie w podpisach pod rysunkami: np. 3.10, 3.11, 3.12, 3.16, myli pojęcie objętościowego natężenia przepływu cieczy -  $Q$  ( $\text{mL min}^{-1}$ ) z prędkością jej przepływu, co jest oczywistym nieporozumieniem. Ponadto, opisu symbolu  $Q$  brak w ich spisie na str. 80/81, podobnie jak symbolu  $V$  - objętości retencji (opis taki znajduje się na str. 52).
- Na str. 63 pisze: „Model CFD wykorzystano.” – Uwaga recenzenta: CFD nie jest modelem, to rodzina metod numerycznego rozwiązywania równań bilansowych przenoszenia pędu (tzw. równania Naviera-Stokesa, ale nie tylko) podczas przepływu płynu.
- Rys. 1.6 jest fundamentalnie błędny, cząstki usypanego złoża nie są ułożone liniowo jedna nad/za drugą, tylko ułożone losowo w trakcie upakowywania kolumny.

- Merytorycznie błędna jest informacja na str. 36, że dyskretyzacja domeny przepływu metodą różnic skończonych (w pracy oznaczonej symbolem MRS) ograniczona była do przypadków jednowymiarowych. MRS była szeroko stosowana w symulacji przepływów dwu-, a także trój-wymiarowych, w tym stanów niestacjonarnych, w latach 70. (tj. u zarania powstawania CFD) i jeszcze na początku 80. Dopiero w drugiej połowie lat 80. została szerzej wyparta przez MES. Istotnym ograniczeniem metody różnic skończonych były wielkie trudności (w istocie niemożliwość) odwzorowania nieregularnych obiektów całkowania, bez uszczerbku dla precyzji obliczeń (rzędu poprawności stosowanego schematu różnicowego, duże trudności 'sklejania' obszarów całkowania i konsekwencje matematyczne takiego postępowania, itp.). Ponadto, dopiero prace Stranga i Fiksa, z końca lat 70., nadały metodzie elementów skończonych solidne podstawy matematyczne.

## 6. Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona rozprawa doktorska prezentuje oryginalny, kompletny, eksperymentalnie zweryfikowany system obliczeń/symulacji rozmywania pików chromatograficznego rozdziału białek, o dużym znaczeniu poznawczym i praktycznym.

Wykonując z dużym sukcesem ambitny, złożony i zróżnicowany program badawczy, pan Bartłomiej Filip wykazał dużą wiedzę, upór i umiejętności tak w symulacjach matematycznych skomplikowanego procesu jak i prowadzenia złożonych eksperymentów, uzyskując wyniki o istotnym znaczeniu dla pełniejszego zrozumienia i dalszego rozwoju technik chromatograficznego rozdziału białek. O wartości uzyskanych wyników dowodnie świadczą publikacje ogłoszone w kluczowym czasopiśmie poświęconym tematyce technice i metodom chromatograficznego rozdziału.

Powyższe konstatacje upoważniają mnie do wyrażenia opinii, że recenzowana rozprawa pana Bartłomieja Filipa spełnia bezwarunkowo wszystkie wymogi oryginalnego opracowania o wysokim poziomie naukowym, zwyczajowo wymaganego od rozpraw doktorskich. Co więcej, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy ocenianego opracowania i dużą wartość uzyskanych wyników (*vide Supra*), wyrażam pełne przekonanie, że oceniana rozprawa doktorska pana Bartłomieja Filipa zasługuje na wyróżnienie. Rezerwuję sobie przeto prawo do złożenia stosownego wniosku do Rady Dyscypliny w przypadku wzorowego przebiegu jej obrony.

Konkludując, zarówno recenzowana rozprawa doktorska, a także jej procedowanie przez Radę Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Rzeszowskiej spełniają wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez zapisy Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. „Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. z 2018 r, poz.1669 z późn. zm.), oraz Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.).

W obliczu powyższego, stawiam wniosek o przyjęcie rozprawy mgr. inż. Bartłomieja FILIPA przez Radę Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Rzeszowskiej oraz dopuszczenie jej do publicznej obrony.

