



prof. dr hab. inż. Dariusz Butrymowicz

Katedra Budowy Maszyn i Techniki Ciepłej
Wydział Mechaniczny
Politechnika Białostocka
ul. Wiejska 45C, 15-950 Białystok,
tel. 571 443 089
505 835 170
e-mail: d.butrymowicz@pb.edu.pl

Białystok, 08.09.2018

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Przemysława Smakulskiego
*Use of the cryogenic particulate spray cooling method
for biological material long-term preservation*

Opinia została opracowana na zlecenie Dziekana Wydziału Mechaniczno-Energetycznego Politechniki Wrocławskiej, Pana Prof. dr hab. inż. Zbigniewa Gnutka.

Promotorem rozprawy doktorskiej jest Dr hab. inż. Sławomir Pietrowicz – Profesor nadzwyczajny oraz Prodziekan Wydziału Mechaniczno-Energetycznego Politechniki Wrocławskiej.

I. Zawartość rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska obejmuje 168 stron. Rozprawa została napisana w całości w języku angielskim. Rozprawa składa się z następujących części: zestawienia oznaczeń, wstępu (rozdział 1), sformułowania tezy oraz zakresu rozprawy (rozdziału 2), rozdziałów 3-6 prezentujących własny materiał badawczy, podsumowanie, dwa załączniki oraz zestawienie literatury. Zawartość poszczególnych rozdziałów obejmuje:

1. **Wstęp (Introduction)**, w którym Autor scharakteryzował zagadnienia krioprezerwacji (kriokonserwacji) tkanek biologicznych wraz z omówieniem aktualnego stanu wiedzy w zakresie zamrażania tkanek oraz przedstawił koncepcję zastosowania rozpylania mikrocząstek zestalonego azotu do chłodzenia tkanek.
2. **Teza i zakres pracy (Doctoral thesis and scope of the disseration)**. W rozdziale tym Doktorant sformułował tezę rozprawy, a także uszczegółowił zakres realizowanej pracy doktorskiej.
3. **Badania eksperymentalne (Experimental research)**. W rozdziale przedstawiono stanowisko badawcze, zastosowane techniki pomiarów, metodykę badawczą, analizę błędów.
4. **Wyniki badań eksperymentalnych (Results of experiments)**. W rozdziale przedstawiono wyniki badań w zakresie: rozkładów rozmiarów cząstek; wymiany ciepła; identyfikacji propagacji frontu zestalania; badania procesu zeszklenia.
5. **Modelowanie numeryczne (Numerical simulations)**. W rozdziale tym Doktorant przedstawił propozycję własnego modelu numerycznego opisującego proces zestalania w odniesieniu do analizy procesu krystalizacji w pobliżu powierzchni błony komórkowej.

6. **Wyniki modelowania numerycznego (*Numerical simulation results*).** W rozdziale tym Doktorant zamieścił szczegóły w zakresie modelowania procesu zamrażania czerwonych płytek krwi, zamieścił i omówił uzyskane rezultaty.
7. **Podsumowanie (*Summary*).** W Rozdziale tym Doktorant dokonał syntetycznego podsumowania uzyskanych wyników i wskazał na potrzebę kontynuacji prac.
8. **Załączniki.** Zamieszczono w Załączniku A rozwiązanie analityczne problemu Stefana wraz ze szczegółowym algorytmem obliczeniowym, w Załączniku B zamieszczono kod obliczeniowy dla sformułowanego modelu numerycznego w języku OpenFOAM.
9. **Zestawienie literaturowe** zawierające wykaz 188 pozycji literatury, obejmujący zarówno pozycje klasyczne, jak również najnowsze publikacje, głównie z renomowanych czasopism międzynarodowych. W spisie literatury znalazło się 118 artykułów naukowych z renomowanych czasopism specjalistycznych z listy JCR oraz międzynarodowych czasopism specjalistycznych, 22 pozycje książkowe i monograficzne, 2 referaty konferencyjne. 80 cytowanych opracowań pochodzi z ostatnich 10 lat. Autor cytuje 2 własne publikacje: artykuł opublikowany w czasopiśmie indeksowanym w JCR oraz referat opublikowany w materiałach renomowanej międzynarodowej konferencji.

II. Cel i zakres rozprawy

Doktorant sformułował cel rozprawy w Rozdziale 2 jako rozpoznanie zjawisk fizycznych związanych z zastosowaniem rozpylania mikrocząstek zestalonego azotu (*Micro-Solid Nitrogen*, w skrócie stosowanym w rozprawie i dalej w niniejszej recenzji: *MSN2*) do krioprezerwacji tkanek biologicznych. Doktorant zamieścił cele szczegółowe:

- rozpoznanie zjawiska zamrażania z zastosowaniem *MSN2* i jego wpływu na tkanki biologiczne;
- pomiar charakterystyk procesu zamrażania z zastosowaniem *MSN2*;
- badania testowe nowego rozwiązania komory kriostatycznej dedykowanej dla zeszklenia tkanek biologicznych;
- badania procesu zamrażania wolnego oraz zeszklenia w aspekcie krioprezerwacji;
- opracowanie metody do badań procesu *MSN2*;
- rozpoznanie procesu wymiany ciepła w warunkach zastosowania *MSN2*;
- modelowanie numeryczne interakcji błony komórkowej z propagacją frontu zestalania i rozpoznanie możliwości przeżycia komórki po zamrożeniu.

Doktorant sformułował następującą tezę (Rozdział 2): Chłodzenie za pomocą rozpylania cząstek zestalonego azotu redukuje wpływ wymiany ciepła w warunkach wrzenia błonowego w niebezpiecznym zakresie temperatury dla komórek biologicznych, intensyfikuje wymianę ciepła i pomaga uniknąć zjawiska krystalizacji wewnątrzkomórkowej w obydwu metodach zamrażania: wolnego zamrażania oraz zeszklenia (witryfikacji); (*Nitrogen solid-particles spray cooling process reduces the influence of the film boiling heat transfer in dangerous cell temperature zone, enhances heat transfer performance and helps to avoid intracellular ice formation (IIF) in both: slow freezing and vitrification methods*).

W Rozdziale 2 Doktorant sformułował szczegółowy zakres rozprawy, który obejmuje: identyfikację aktualnego stanu wiedzy w zakresie krioprezerwacji, projekt i budowę stanowisk badawczych do badań wymiany ciepła, wizualizacji propagacji frontu zestalania, badań procesu zeszklenia, opracowania modelu numerycznego propagację frontu zestalania w warunkach ośrodka przechłodzonego i jego walidację z zastosowaniem rezultatów badań eksperymentalnych.

Cel, teza oraz zakres rozprawy zostały sformułowane na podstawie analizy dotychczasowego stanu wiedzy w zakresie zagadnień krioprezerwacji tkanek biologicznych. Niewątpliwie sformułowana teza, cel oraz wskazany szczegółowy zakres rozprawy ze sobą w pełni korespondują. Z uwagi na specyficzny temat rozprawy – zagadnienia związane z uwarunkowaniami biologicznymi, w tym metabolicznymi, odnośnie zamrażania tkanek biologicznych - leżą poza ścisłym zakresem rozprawy, w związku z czym są one reprezentowane poprzez sprecyzowane wymagania procesowe i w tym zakresie są one ujęte w sformułowanych celach oraz zakresie rozprawy.

Cel rozprawy jest sformułowany w sposób jasny i precyzyjny, zaś program prac o charakterze analitycznym oraz eksperymentalnym zaproponowany przez Doktoranta ze sformułowaniem celem zasadniczo koresponduje. Co więcej, w układzie pracy, przy tak postawionym celu oraz zakresie, znajdują się zarówno wątki o charakterze prac w zakresie zaawansowanego modelowania numerycznego oraz szerokiego zakresu badań eksperymentalnych. Należy wziąć pod uwagę, że rozprawa podejmuje nowe, w zasadzie nie podejmowane na szerszą skalę w proponowanym ujęciu zagadnienia badawcze: rozpoznanie złożonej wymiany ciepła w warunkach *MSN2*, będącego szczególnym przypadkiem przepływu wielofazowego, a także opracowanie oryginalnego, zaawansowanego modelu numerycznego wyjątkowo złożonego zjawiska. Proponowany cel oraz zakres prac dotyczą zatem prac mających na celu dokonanie kluczowego wkładu poznawczego oraz metodycznego w dziedzinie kriotechniki i nie mają znamion prac o charakterze przyczynkarskim, rozwijających istniejące paradygmaty.

Wskazane cele szczegółowe oraz zakres rozprawy w pełni korespondują ze sformułowaniem tezą rozprawy i pozwalają na uzyskanie rezultatów pozwalających na jej udowodnienie.

Biorąc pod uwagę zawarte w rozprawie rezultaty badań eksperymentalnych w zakresie wymiany ciepła w warunkach *MSN2*, identyfikacji przebiegu procesu wolnego zamrażania oraz zeszklenia, sformułowany model zestalania w warunkach interakcji z błoną komórkową na przykładzie komórki erytrocytu – stwierdzam, że odpowiadają one sformułowaniem celowi oraz zakresowi rozprawy i w pełni umożliwiają udowodnienie postawionej w rozprawie tezy.

III. Treść rozprawy

We Wstępie Doktorant w sposób ogólny scharakteryzował zagadnienia krioprezerwacji (kriokonserwacji) tkanek biologicznych, zagadnienia przemian fazowych w trakcie procesu ochładzania tkanek, a w tym zamrażania wolnego (*slow freezing*) oraz zeszklenia. Omówił wpływ tychże procesów na trwałość oraz zdolność do przeżycia komórek, wskazał na istotne znaczenie wewnątrzkomórkowej krystalizacji. Zostały omówione fizyczne aspekty procesu wolnego zamrażania oraz przedstawione podstawowe ujęcia modelowe opisujące to zjawisko. Następnie zostały omówione fizyczne aspekty procesu zeszklenia oraz stosowane rozwiązania techniczne stosowane do uzyskania zeszklenia w celu krioprezerwacji tkanek biologicznych. Wskazano na konieczność intensyfikacji wymiany ciepła w celu uzyskania pożądanego zakresu tempa spadku temperatury – optymalnego z uwagi na uwarunkowania o charakterze biologicznym. Wskazano przy tym na niekorzystne uwarunkowania wystąpienia ustroju wrzenia błonowego, występującego w warunkach natrysku ciekłym azotem. Wskazano na istniejące możliwości znaczącej intensyfikacji wymiany ciepła oraz uzyskania pożądanego

tempa spadku temperatury poprzez zastosowanie rozpylania mikrocząstek zestalonego azotu MSN_2 . Przedstawiono ideowe rozwiązanie tejże metody.

W Rozdziale 2 został sformułowany cel i zakres rozprawy, a także sformułowano tezę rozprawy, do czego odniosłem się w sekcji II niniejszej recenzji.

W Rozdziale 3 Doktorant przedstawił ramowy program badań eksperymentalnych. Przedstawiono stanowisko badawcze, własne rozwiązania badawczych komór krioskopowych zastosowanych w badaniach, sposób pomiaru temperatur, gęstości strumienia ciepła, a także rozkładów wielkości rozpylanych cząstek. Została następnie przedstawiona procedura pomiaru współczynnika wnikania ciepła oparta na pomiarze bezpośrednim gęstości strumienia ciepła, temperatury powierzchni ścianki oraz założonej temperaturze czynnika 63 K (temperaturze rozpylanych cząstek azotu). Zaprezentowano procedurę pomiaru krzywej chłodzenia w warunkach zamrażania wolnego. Przedstawiono także metodykę badań identyfikacji propagacji frontu zestalania oraz procesu zeszklenia opartą na identyfikacji obszaru fazy stałej z zastosowaniem obrazu uzyskiwanego z kamery CCD oraz jego obróbki z zastosowaniem oprogramowania pozwalającego na analizę stopnia szarości poszczególnych pikseli. Przedstawiono analizę błęd pomiaru współczynnika wnikania ciepła oraz propagacji frontu zestalania z zastosowaniem metody różniczki zupełnej.

W Rozdziale 4 przedstawiono wyniki badań rozkładu wielkości rozpylanych cząstek zetłonego azotu. Uzyskano w badaniach stosunkowo wąski zakres wielkości cząstek rozpylanych z dyszy o średnicy 2.0 mm. Średnia średnica cząstki $d_{50\%} = 5.00 \mu\text{m}$, jakkolwiek podano średnią średnicę Sautera wynoszącą aż $42.24 \mu\text{m}$.

Zamieszczono wyniki badań krzywej chłodzenia dla ceramicznego grzejnika dla trzech poziomów temperatury początkowej i temperatury końcowej wynoszącej około 100 K. Przeanalizowano uzyskiwane wartości tempa chłodzenia oraz tendencję do uzyskiwania plateau w zakresie najniższych temperatur. Analogiczne badania wykonano dla jednej z komór krioskopowych wypełnionej destylowaną wodą w zakresie temperatur 280 K – 114 K. Dokonano oceny wizualizacyjnej struktur przepływu dwufazowego formującego się w obszarze oddziaływań termicznych, w tym warstwy ciekłego azotu oraz kropeł.

W badaniach wymiany ciepła realizowanych dla trzech temperatur początkowych uzyskano zależność gęstości strumienia ciepła od przegrzania ścianki wskazujące na podobieństwo z krzywymi o niemonotonicznym przebiegu, charakterystycznymi dla ustroju wrzenia pęcherzykowego, punktu pierwszego kryzysu wrzenia i dalej wrzenia przejściowego. W badaniach uzyskano maksymalny poziom gęstości strumienia ciepła wynoszący 41.5 kW/m^2 . Zaproponowano proste zależności opisujące zależność gęstości strumienia ciepła od przegrzania ścianki dla trzech różnych temperatur początkowych, wzorując się na klasycznych podejściach do opisu danych eksperymentalnych w procesie wrzenia. Przedstawiono uzyskane wartości współczynników wnikania ciepła w funkcji przegrzania ścianki uzyskane dla trzech temperatur początkowych. Uzyskano maksymalne wartości współczynnika wnikania ciepła na poziomie około $1 \text{ kW}/(\text{m}^2 \cdot \text{K})$, maksimum tego współczynnika uzyskiwano dla przegrzania ścianki na poziomie około 70 K, w badaniach uzyskiwano przegrzania w przedziale od około 30 K do około 300 K.

Zaprezentowano wyniki badań propagacji frontu zestalania uzyskane dla warunków wody destylowanej oraz roztworu soli. Badania dotyczyły czasu eksperymentu do 50 s. Uzyskano

zasadniczo zbliżone przebiegi tempa propagacji frontu zestalania dla obydwu warunków (nieco szybsze tempo dla przypadku wody destylowanej). Wyniki porównano z wartościami uzyskanymi z rozwiązania analitycznego problemu Stefana (zaprezentowanego w Załączniku A). Biorąc pod uwagę założenia upraszczające właściwe dla modelu analitycznego, w tym jednowymiarowość i mechanizm wyłącznie dyfuzyjny w zakresie transportu energii cieplnej, uzyskano zadawalającą zgodność.

Badania identyfikacyjne zeszklenia prowadzono dla przypadków:

- roztworów gliceryny o stężeniach: 3, 5, 6 oraz 7 mol/dm³;
- roztworów dimetylosulfotlenku (DMSO) o stężeniach: 5, 6 oraz 7 mol/dm³.

W badaniach uzyskano obszerny materiał wizualizacyjny obrazujący rozwój strefy zeszklenia oraz pojawienie się jej zaburzeń. Przedstawiono krzywe chłodzenia dla badanych roztworów wskazujące na zbliżone przebiegi tychże krzywych dla roztworów gliceryny oraz DMSO dla stężenia 6 mol/dm³. Dla wyższych badanych stężeń uzyskiwano tempo spadku temperatury na poziomie 240 K/min.

W Rozdziale 5 został sformułowany model numeryczny propagacji frontu zestalania dla układu komórka wraz z półprzepuszczalną błoną – roztwór wodny. Zadeklarowano ujęcie w opisie modelowym trzech zjawisk fizycznych: liniowej propagacji frontu zestalania, dyfuzji składników odpowiadającej własnościom formującej się fazy stałej oraz lokalnego stężenia, a także zmiany położenia błony komórkowej w wyniku działania ciśnienia osmotycznego.

Zagadnie nie podjęto od analizy najprostszego modelu, czyli rozwiązania analitycznego problemu Stefana (opisanego w Rozdziale 5.3 oraz Załączniku A). Następnie dokonano oceny możliwego opisu dwuwymiarowego analizowanego zjawiska z zastosowaniem dostępnych w literaturze podstawowych modeli:

- modelu *Volume of Fluid*, stosowanego powszechnie w opisie przepływów dwufazowych z powierzchnią swobodną;
- metody zbiorów poziomujących (*Level Set Method*);
- metody pola faz (*Phase Field Method*).

Dokonano porównania wskazanych podejść modelowych i na tej bazie wyspecyfikowano ostatni z modeli (*PFM*) jako najodpowiedniejszy dla celów rozwoju własnego ujęcia modelowego. Przedyskutowano kluczowe dla tejże metody przyjęcie parametru η opisującego „symetrię” poszczególnych faz (*order parameter*), a w zasadzie opisującego w sposób abstrakcyjny poziom występowania danej fazy w danej lokalizacji, a także zależności na energię swobodną. Omówiono konstrukcję modelu dla przypadku izotermicznego procesu formowania się nowej fazy dla ośrodka jednoskładnikowego. Dokonano walidacji tego opisu modelowego poprzez porównanie z rezultatem analitycznym – uzyskując bardzo dobrą zgodność. Dokonano walidacji tego modelu poprzez porównanie z wynikami własnych badań eksperymentalnych uzyskując bardzo dobrą zgodność dla tempa spadku temperatury 1200 K/min. Opracowany model nie jest jednakże w stanie opisać formowania się bardziej złożonych struktur fazy stałej, w tym o postaci dendrytycznej, których opis ma istotne znaczenie z punktu widzenia niekorzystnego oddziaływania na błonę komórkową w procesie zestalania. Doktorant zastosował w rozwijanym modelu kolejny skalarny parametr wprowadzający anizotropię rozwoju frontu zestalania. Bazując na dostępnych w literaturze analizach wskazujących na istotne fluktuacje temperatury występujące przy formowaniu się struktury dendrytycznej – wprowadził dodatkową modyfikację do równania opisującego parametr η poprzez zastosowanie parametru opisującego losową amplitudę jego fluktuacji. Zadeemonstrowane zostało działanie tak skonstruowanego modelu na przykładzie czystej

wody i wskazano na znaczną zgodność jakościową uzyskanych wyników numerycznych z rezultatami literaturowymi w zakresie opisu morfologii frontu zestalania. Aby model mógł być zastosowany do analizy procesu zestalania w obszarze przyległym do błony komórkowej, powinien on opisywać zagadnienie formowania się fazy stałej dla przypadku roztworu, nie zaś substancji jednoskładnikowej. W związku z tym w modelu uwzględniono równanie zachowania ilości składnika rozpuszczonego i dokonano stosownej modyfikacji w równaniu opisującym parametr η , dokonano również odpowiednich modyfikacji w równaniach opisujących własności termodynamiczne oraz energię swobodną uwzględniając stężenie składnika roztworu. W dalszej części Doktorant podjął się opisu modelowego erythrocytu, a w tym zwłaszcza błony komórkowej. Został przedstawiony opis transportu masy przez błonę komórkową w sposób kompatybilny z formułowanym modelem procesu zestalania. Zostały przeanalizowane własności numeryczne modelu z zastosowaniem przykładowego rozwiązania - wskazującego na możliwość wystąpienia osobliwości. W ramach pracy doktorskiej został opracowany kod w programie OpenFOAM 2.4.0, który zamieszczono w Załączniku B.

W Rozdziale 6 zamieszczono opis przyjętych parametrów termodynamicznych, transportowych i geometrycznych opisujących warunki modelowe do analizy numerycznej dla erythrocytu, w tym także szczegóły dotyczące warunków brzegowych oraz geometrii modelowanego obszaru. Przedstawiono wyniki obliczeń numerycznych formowania się fazy stałej w obszarze wewnątrzkomórkowym w postaci rozkładów parametru η , stężenia soli oraz temperatury. Dalej przeanalizowano numerycznie trzy różne scenariusze procesów zestalania, w których założono wstępne przechłodzenie na powierzchniach obszaru modelowania zbliżone do temperatury rozpoczęcia homogenicznej nukleacji fazy stałej, umożliwiającej powstanie i rozwój struktury dendrytycznej – mogącej doprowadzić do zniszczenia komórki. W analizie uwzględniono różne średnice zarodka fazy stałej inicjującego dalszy jej rozrost. Przedstawiono wyniki obliczeń numerycznych w postaci rozkładów parametru η oraz stężenia soli. Uzyskane rezultaty porównano także w zakresie efektu kurczenia się komórki w wyniku jej odwadniania. Przedyskutowano uzyskane wyniki w aspekcie zagrożenia pojawieniem się efektów krystalizacji wewnątrzkomórkowej. Wskazano, że w analizowanych trzech przypadkach nie zachodzi ryzyko zainicjowania krystalizacji wewnątrzkomórkowej. Zwrócono jednakże uwagę na fakt, że model nie opisuje zestalania heterogenicznego, które może zostać zainicjowane organellami komórkowymi bądź nawet warstwą lipidową błony komórkowej.

W Rozdziale 7 przedstawiono syntetyczne podsumowanie wyników w aspekcie postawionej tezy. Doktorant po przeprowadzeniu tej dyskusji sformułował stwierdzenie, iż zaprezentowany materiał badawczy stanowi podstawę do poglądu, iż postawiona w rozprawie teza została udowodniona. Wskazano na konieczność podjęcia dalszych badań, w tym uwzględniających zjawisko krystalizacji heterogenicznej w aspekcie zagrożenia krystalizacji wewnątrzkomórkowej, a także konieczność podejmowania dalszych badań w zakresie rozpoznania fizycznych aspektów wymiany ciepła przy rozpylaniu cząstek zestalonego azotu.

IV. Oryginalność i wartości poznawcze rozprawy

Recenzowana rozprawa dotyczy rozpoznania wymiany ciepła w procesie rozpylania stałych cząstek azotu w zastosowaniu do krioprezervacji tkanek biologicznych. Należy podkreślić, że recenzowana rozprawa dotyczy rozpoznania zespołu zjawisk o bardzo złożonym charakterze. Zagadnienie intensywnego schładzania z zastosowaniem rozpylania mikro-cząstek

zestalonego azotu jest zupełnie nowym wątkiem badawczym, w zasadzie nie podejmowanym jak dotąd w literaturze w tak kompleksowy sposób. W zakresie zagadnień modelowania procesu zestalania w aspekcie oceny ryzyka formowania się struktur fazy stałej zagrażających tkankom biologicznym – w ramach pracy doktorskiej podnoszone są zagadnienia zaawansowanego modelowania wykraczające poza obszar istniejącej wiedzy w tym zakresie. W tym sensie recenzowana rozprawa nie stanowi pracy o charakterze przyczynkarskim, lecz raczej podejmuje nowe, otwarte i w pełni aktualne obszary badawcze. Zaawansowane badania eksperymentalne oraz opracowanie nowego zaawansowanego modelu numerycznego procesu zestalania komórki erythrocytu w warunkach zestalania homogenicznego – możliwe były dzięki intensywnej długotrwałej współpracy z wiodącym ośrodkiem naukowym w Japonii - Tohoku University.

W ramach rozprawy doktorskiej zostały podjęte prace o charakterze kompleksowym, wnoszące znaczący wkład w rozwój podejmowanego zagadnienia zarówno w aspekcie rzeczowym, jak i metodycznym. W ramach pracy doktorskiej podjęto zagadnienia w zakresie modelowania analitycznego, modelowania numerycznego, zagadnienia badań eksperymentalnych obejmujących różne zjawiska fizyczne. Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska wyróżnia się w zakresie tak kompleksowego programu podejmowanych prac w odniesieniu do zwyczajowych wymagań formułowanych dla prac doktorskich w obszarze nauk technicznych.

Za szczególne osiągnięcia Doktoranta uważam:

- przeprowadzenie kompleksowych badań eksperymentalnych identyfikujących wymianę ciepła w procesie zamrażania tkanek biologicznych z zastosowaniem rozpylania mikrocząstek zestalonego azotu;
- opracowanie zaawansowanego modelu numerycznego procesu zestalania komórki erythrocytu w warunkach zestalania homogenicznego.

Prezentowane w rozprawie rezultaty prac mają niewątpliwie w pełni oryginalny charakter. Uzyskany materiał badawczy w pełni pozwala na stwierdzenie, że cel oraz zakres recenzowanej rozprawy zostały w całości zrealizowane, zaś wskazana teza została w pełni dowiedziona.

Zaprezentowane w rozprawie rezultaty wnoszą istotny wkład poznawczy w dziedzinie kriotechniki – zwłaszcza w zakresie zagadnień inżynierii zamrażania tkanek biologicznych – mieszczących się w obszarze dotyczącym dyscypliny: Mechanika.

V. Wartości użytkowe rozprawy

Recenzowana rozprawa ma niewątpliwie walor aplikacyjny, wynikający wprost z jej tematyki oraz charakteru. W rozprawie doktorskiej zaproponowano innowacyjne rozwiązanie sposobu zamrażania tkanek biologicznych z zastosowaniem rozpylania cząstek zestalonego azotu. Uzyskano znaczny materiał badawczy pozwalający na zastosowanie w praktyce kriotechnicznej parametrów opisujących warunki wymiany ciepła oraz uzyskiwane tempo schładzania. Zostały opracowane przez Doktoranta własne rozwiązania konstrukcyjne komór kriostatycznych zastosowane w badaniach eksperymentalnych. Opracowany zaawansowany model numeryczny stanowi bazę do dalszych prac pozwalających na predykcję warunków niezbędnych do bezpiecznego, długotrwałego przechowywania tkanek biologicznych, w tym zwłaszcza tkanek o znacznej objętości. Niewątpliwie przeprowadzone prace badawcze

przyczyniają się do intensywnego rozwoju zastosowań kriotechniki, w tym zwłaszcza do przechowywania tkanek biologicznych, na przykład w zastosowaniach medycznych.

VI. Uwagi krytyczne i dyskusyjne

VI.1. Uwagi o charakterze merytorycznym (w kolejności zgodnej z układem rozprawy)

W rozprawie zaprezentowano oryginalne oraz kompleksowe ujęcie podejmowanego zagadnienia. Zaprezentowany w rozprawie materiał analityczny oraz eksperymentalny wymagał znacznego nakładu pracy oraz inwencji i stanowi niewątpliwie oryginalne i twórcze osiągnięcia naukowe Doktoranta. Poniższe uwagi, mające w dużej mierze charakter komentarzy bądź sugestii - nie umniejszają mojej jednoznacznie pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej i w znacznej mierze mają raczej charakter porządkowy, formalny bądź dyskusyjny.

1. Na Rys. 1.5 zamieszczono schemat ideowy układu do rozpylania cząstek zestalonego azotu, który nazwano kriogeniczną dyszą de Lavalą (*de Laval cryogenic nozzle*). Przyjęcie wskazanego kształtu oraz zastosowana nomenklatura wskazują, że do gardła przepływu ma charakter podkrytyczny, zaś w części rozbieżnej – zakłada się istnienie przepływu nadkrytycznego (naddźwiękowego). W obszarze dyskutowanej dyszy występuje złożony przepływu dwufazowy gaz-cząstki stałe, dla którego precyzyjne rozpoznanie własności przepływu krytycznego jest złożonym zagadnieniem. W rozprawie w ogóle nie podjęto tego wątku. W obszarze dyszy zachodzi, w przeciwieństwie do klasycznych dysz rozważanych w gazodynamice, proces mieszania charakterystyczny dla strumieni naddźwiękowych, następuje zatem proces mieszania wywołany transportem pędu pomiędzy dwiema fazami, dalej – następuje przemiana fazowa z fazy ciekłej w fazę stałą. We wskazanym urządzeniu następuje zatem bardzo złożony zespół zjawisk fizycznych, czego w rozprawie także nie podjęto. W rozprawie nie zamieszczono szczegółowych informacji dotyczących rozwiązania technicznego oraz przyjętej geometrii dyszy rozpylającej. Nie przedstawiono zatem rozwiązania technicznego pozwalającego na uzyskanie strumienia rozpylonych cząstek zestalonego azotu, jakkolwiek można uznać, że zagadnienie to z racji swojej złożoności – może wykraczać poza ramy rozprawy doktorskiej.
2. W Rozdziale 3, str. 35, Doktorant wskazał, że jest autorem niezbędnych modyfikacji stanowiska badawczego. Należałoby wskazać zakres tych modyfikacji, które wiążą się z udziałem Doktoranta.
3. W Rozdziale 3.1, str. 37, wskazana została konieczność dobrania proporcji gazowego oraz ciekłego azotu w urządzeniu rozpylających do uzyskania strumienia cząstek zestalonego azotu. Nie wskazano jednakże na optymalny poziom tychże proporcji.
4. Nie podjęto w rozprawie dyskusji w zakresie uzyskania cząstek zestalonego azotu dla innego poziomu średniej średnicy Sautera, niż dla zastosowanej wartości w przedstawionych badaniach.
5. W rozprawie nie podniesiono kwestii związanej z wystąpieniem substancji pobocznych: powietrza wilgotnego w badaniach rozpylania cząstek azotu oraz zastosowania helu w badaniach zeszklenia oraz tempa propagacji frontu zestalania - czy i jak może potencjalnie obecność tych gazów wpłynąć na uzyskiwane wyniki.
6. W badaniach współczynnika wnikania ciepła przyjęto arbitralnie temperaturę rozpylanych cząstek azotu równą około 63 K. Nie wskazano podstaw do przyjęcia tej

- temperatury oraz nie uwzględniono możliwej niepewności oszacowania tejże temperatury w analizie błędu pomiaru współczynnika wnikania ciepła.
7. W Rozdziale 3.4.1 na str. 47 wskazano na uzyskiwane znaczne niestabilności przy uzyskiwaniu temperatur poniżej 100 K. Nie wskazano na możliwe przyczyny wystąpienia tego efektu.
 8. Nie przeanalizowano znacznej różnicy pomiędzy średnią średnicą cząstek $d_{50\%} = 5.00 \mu\text{m}$ a popadną średnią średnicę Sautera wynoszącą aż $42.24 \mu\text{m}$.
 9. W Rozdziale 4.2.2 zaproponowano zależności empiryczne wiążące gęstość strumienia ciepła z przegrzaniem ścianki – osobno dla różnych badanych temperatur początkowych. Należałoby raczej się spodziewać opracowania wspólnej zależności, w której stałe byłyby uzależnione od temperatury początkowej.
 10. W Rozdziale 4.2.3 zamieszczono wyniki badań współczynnika wnikania ciepła, jednakże nie dokonano uogólnienia uzyskanych wyników w postaci równań empirycznych.
 11. Odnośnie rozwijanego modelu *PFM* (Rozdział 5), model oparty jest na minimalizacji swobodnej entalpii (potencjału termodynamicznego Gibbsa), co z formalnego punktu widzenia ma zastosowanie dla układów izobarycznych. Zjawisko osmozy zachodzące przez półprzepuszczalną błonę komórkową związane jest z fizycznie występującą różnicą ciśnień pomiędzy płynem wewnątrzkomórkowym i płynem (roztworem) zewnętrznym. Z uwagi na fakt, że efektu tego nie bierze się pod uwagę w przedstawionym modelu, należałoby wskazać, czy potencjalnie miałyby on wpływ na uzyskiwane rezultaty obliczeń numerycznych.

VI. 2. Uwagi porządkowe (w kolejności zgodnej z układem rozprawy)

Należy podkreślić staranne przygotowanie rozprawy doktorskiej pod względem edytorskim. Zwraca uwagę przejrzystość tekstu, a także wysoka jakość rysunków. Poniżej zawarte uwagi nie wpływają na moją jednoznacznie bardzo wysoką ocenę rozprawy i mają w dużej mierze charakter sugestii, które pozwalam sobie wypunktować mając na uwadze potencjalne wykorzystanie materiału zawartego w rozprawie w dalszych publikacjach Doktoranta.

- W Rozdziale 1 przedstawiono kilka wybranych opisów modelowych procesu wolnego zamrażania (*slow freezing*) w postaci równań (1.1), (1.2) oraz (1.3). Równanie (1.2) nie zostało jednak szerzej skomentowane i nie dotyczy opisu prawdopodobieństwa wystąpienia krystalizacji wewnątrzkomórkowej, jak na to miałyby wskazywać tekst na str. 17. Nie zamieszczono w rozprawie definicji wszystkich oznaczeń zastosowanych w tychże równaniach.
- Nie zostały wskazane źródła literaturowe dla zależności (1.4) oraz (1.6) w Rozdziale 1.
- Zamiast określenia *spray boiling* raczej należałoby zastosować *spray evaporation* z racji na możliwy do wystąpienia w analizowanym przypadku szerszy zakres zjawisk, niż wrzenie.
- Dla źródeł literaturowych: 114, 118, 124, 146, 178, 186 nie podano pełnych danych bibliograficznych.

VII. Uwagi końcowe

Praca jest starannie zredagowana, stosowana jest poprawna nomenklatura naukowa oraz techniczna. W pracy zamieszczono w niej wiele informacji pozwalających na szczegółowe przeanalizowanie materiału badawczego. Podane uwagi krytyczne mają charakter dyskusyjny bądź porządkowy i powinny być traktowane raczej jako pomoc w zakresie wykorzystania uzyskanego materiału w dalszej pracy nad złożonymi zagadnieniami przemian fazowych w

warunkach intensywnego chłodzenia z zastosowaniem rozpylania cząstek zestalonego azotu dla zamrażania tkanek biologicznych. Uwagi te nie pomniejszają bardzo wysokiej wartości merytorycznej opiniowanej rozprawy.

VIII. Wniosek do Rady Wydziału Mechaniczno-Energetycznego Politechniki Wrocławskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest poważną, wnoszącą istotny wkład poznawczy oraz metodyczny pracą naukową. Doktorant wykazał się umiejętnością formułowania problemów badawczych i rozwiązywania ich przy użyciu metod właściwych dla zagadnień badawczych termodynamiki i mechaniki płynów. Wymaga szczególnego podkreślenia fakt opracowania analizy w sposób bardzo kompleksowy, w zasadzie same badania eksperymentalne mogłyby stanowić podstawę do sformułowania rozprawy doktorskiej. W moim przekonaniu przedstawiona do recenzji rozprawa znacznie wykracza poza zwyczajowe ramy stawiane pracom doktorskim tak pod względem zakresu rzeczowego, jak i wysokiemu poziomowi oryginalności osiągnięć poznawczych oraz metodycznych. Pracę tę wykonano we współpracy z wiodącym ośrodkiem naukowym (Tohoku University w Japonii), Doktorant już posiada w dorobku artykuł opublikowany w prestiżowym czasopiśmie naukowym. Zaprezentowana w rozprawie analiza stanowi rozwiązanie zadania naukowego i spełnia w moim przekonaniu z nadmiarem wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdzam, że:

1. Rozprawa doktorska mgr inż. Przemysława Smakulskiego spełnia wymagania Art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595) i wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony.
2. Zakres rozważań rozprawy kwalifikuje ją do dyscypliny naukowej: Mechanika.
3. Wnioskuje o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Das Anonim