



Wroclaw, 19 marca 2024

dr hab. inż. Bartłomiej M. Szyja
Politechnika Wroclawska

Recenzja dorobku naukowego, osiągnięć organizatorskich
i autoreferatu habilitacyjnego zatytułowanego

**Fermentacyjna produkcja wodoru i średniołańcuchowych
kwasów tłuszczowych z udziałem substratów złożonych**

dr Romana Zagrodnika

Wprowadzenie

Dr Roman Zagrodnik ukończył studia magisterskie – dwa różne kierunki na dwu różnych wydziałach Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w 2011 roku. Obie prace dotyczyły immobilizacji bakterii na układach krzemionkowych. Tematykę tę kontynuował jako doktorant pod opieką prof. Łaniewskiego, a stopień doktora uzyskał w 2015 roku w wyniku obrony rozprawy zatytułowanej „Immobilizowane kultury bakteryjne do produkcji wodoru w fermentacyjnych systemach ciągłych”. Rozprawa została wyróżniona przez Radę Wydziału Chemii UAM.

Dr Roman Zagrodnik jest zatrudniony na stanowisku adiunkta na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu od 2017. Od 01.2017 do 06.2018 oraz od 02.2022 do 06.2023 był zatrudniony dodatkowo na Wydziale Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Poznańskiej w ramach projektów NCBR.

W dniu 21.08.2023 dr Roman Zagrodnik złożył wniosek o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie1 nauki chemiczne. Jako podstawę wniosku habilitant określił osiągnięcie naukowe „Fermentacyjna produkcja wodoru i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych z udziałem substra-



tów złożonych”, na które składa się cykl 8 powiązanych tematycznie artykułów opublikowanych w latach 2017-2023. Autoreferat został mi przedłożony do recenzji razem z wymaganymi przepisami Ustawy załącznikami.

Ocena osiągnięcia stanowiącego podstawę habilitacji

Publikacje wchodzące w skład cyklu stanowiącego podstawę osiągnięcia są – z wyjątkiem jednej [H7] – wynikiem współpracy habilitanta z ośmioma innymi badaczami. W ramach osiągnięcia habilitant współpracował z dr inż. Anną Duber z Politechniki Poznańskiej – 4 wspólne publikacje, a także dr hab. Krysztyną Seifert – 3 wspólne publikacje. Ponadto, prof. Piotr Oleśkiewicz-Popiel jest współautorem 2 publikacji w cyklu, a nazwiska pozostałych współpracowników pojawiają się na liście współautorów jeden raz. Wspomniana publikacja [H7] jest jedyną monoautorską publikacją habilitanta.

Oświadczenia współautorów są w mojej ocenie spójne, z wyjątkiem publikacji [H4]. W oświadczeniu dotyczącym tego artykułu habilitant zadeklarował swoją rolę jako autora wiodącego, co nie jest spójne z oświadczeniem prof. Piotra Oleśkiewicza-Popiela – autora korespondencyjnego – deklarującego kierowanie prowadzeniem badań. Jednakże pozostałe oświadczenia nie budzą wątpliwości, a znaczący wkład habilitanta w powstanie wszystkich artykułów jest ewidentny.

Z obowiązku wspominać również o stosunkowo ograniczonej współpracy habilitanta z innymi ośrodkami badawczymi – wszyscy współautorzy publikacji [H1-H8] pracują (pracowali) na uczelniach poznańskich.

Tematyka badawcza dra Romana Zagrodnika jest mu bliska już od czasu studiów magisterskich, podczas których podjął się syntezy i charakterystyki kserozeli krzemionkowych, które były następnie wykorzystane w procesie immobilizacji bakterii oraz analizy produkcji wodoru przez bakterie fotofermentujące. Tego właśnie tematu dotyczy osiągnięcie przedłożone mi do recenzji. Wytwarzanie H₂ przez mikroorganizmy jest w mojej ocenie bardzo ważną alternatywą dla procesu dekompozycji wody wymagającego znacznych nakładów energetycznych, a w szczególności dla procesów reformingu wykorzystujących paliwa kopalne. Technologia produkcji biowodoru wciąż nie została wdrożona w skali przemysłowej w biorafineriach, do czego w głównej mierze przyczyniają się niska wydajność i mała stabilność procesu.

Publikacja [H1] miała na celu osiągnięcie wydajnej produkcji wodoru z zastosowaniem bakterii *C. acetobutylicum* oraz *R. sphaeroides* w wyniku połączenia ciemnej i jasnej fermentacji w systemie hybrydowym, w którym oba procesy przebiegają jednocześnie w tym samym bioreaktorze. Badania wykazały, że bakterie ciemnej fermentacji – *C. acetobutylicum*, są w stanie długookresowo wytwarzać wodór w warunkach neutralnego pH, które jednak nie było optymalne dla *R. sphaeroides* – między 5,0 a 6,0. Dodatkowe testy wykazały, że obniżenie pH do 6,5 skutkowało wzrostem całkowitej wydajności względem H₂.



Kontynuacją tej pracy są artykuły [H2] oraz [H3], które opisują badania nad wykorzystaniem celulozy, która jest również biopolimerem glukozy i stanowi główny składnik trudno biodegradowalnej biomasy lignocelulozowej. Jej złożona struktura utrudnia uwalnianie składników węglowodanowych, które mogłyby być wykorzystane przez mikroorganizmy fermentujące, jednak może być ona hydrolizowana z udziałem mikroorganizmów anaerobowych.

W artykule [H2] habilitant opisuje badania nad wpływem obróbki wstępnej inokulum i składu pożywki na produkcję wodoru z celulozy. Habilitant wskazuje, że obróbka wstępna osadu fermentacyjnego w temperaturze 90°C nie była wystarczająca do zahamowania aktywności bakterii konsumujących wodór zarówno dla skrobi, jak i celulozy, i dopiero obróbka wstępna w temperaturze 100°C doprowadziła do wysokiej produkcji wodoru poprzez inhibicję aktywności mikroorganizmów konsumujących wodór. Należy zwrócić uwagę, że dalsza optymalizacja procesu doprowadziła do efektywności wytwarzania H_2 wyraźnie przekraczającej dane literaturowe.

Mieszane kultury bakteryjne były również tematem badań opublikowanych w pracy [H3], której celem była dalsza optymalizacja procesu poprzez zmianę stężenia celulozy, temperatury i stężenia buforu. Optymalizacja funkcji wielu zmiennych została przeprowadzona z wykorzystaniem metody powierzchni odpowiedzi (RSM). Najwyższą produkcję wodoru osiągnięto przy $13,5 \text{ g}_{\text{celulozy}}/\text{L}$, $79,5 \text{ mM}$ buforu i temperaturze równej $32,6^{\circ}\text{C}$. Habilitant stwierdza ponadto, że szczepy *Ruminiclostridium papyrosolvens* i *Paraclostriidium bifermentans* były prawdopodobnie odpowiedzialne za hydrolizę celulozy, na co wskazuje analiza składu kultury bakteryjnej. Habilitant wskazuje ponadto na wysoką względną ilość *Caproiciproducens* sp. – powyżej 60% w kilku próbach, co według jego wiedzy, było najwyższą ilością w konsorcjum bakteryjnym produkującym wodór w danych literaturowych.

Wyniki opisane w artykułach [H4] i [H5] stanowią drugą część zagadnienia stanowiącego podstawę wniosku habilitacyjnego, która w mojej ocenie jest najciekawsza. W artykule [H4] habilitant opisuje zastosowanie syntetycznego odpadu składającego się z laktozy, etanolu oraz kwasu mlekowego i octowego jako substratów, podczas gdy w pracy [H5] wykorzystano rzeczywisty odpad o podobnym składzie w postaci serwatki kwaśnej. W wyniku badań określono, że termiczna obróbka wstępna osadu fermentacyjnego prowadzi do produkcji wodoru i kwasu kapronowego. Wszystkie badane kultury bakteryjne wykazywały wysokie stężenia kwasu kapronowego ($7,7\text{--}9,1 \text{ g/L}$) oraz produkcję wodoru w zakresie od 0,8 do $1,3 \text{ L/L}_{\text{medium}}$ w pierwszym cyklu procesu. W drugim cyklu uzyskane stężenia kwasu kapronowego były jeszcze większe, co habilitant tłumaczy wcześniejszą adaptacją do substratów w pierwszym cyklu.

Kontynuację badań nad pozyskiwaniem kwasu kapronowego z serwatki opisuje habilitant w publikacji [H5]. Dotyczy ona badań procesu długookresowego, który był prowadzony przez 130 dni w trybie ciągłym. Produktami okazały się głównie kwas octowy i masłowy. Lepsze wyniki udało się osiągnąć poprzez skrócenie czasu retencji i zmiana składu substratu, ponieważ umożliwiło to otrzymywanie kwasu kapronowego o stężeniu do $8,5 \text{ g/L}$. Przyznam, że nie do końca jest jasne dla mnie stwierdzenie „W warunkach krótszego HRT



nadmiar elektronów był wykorzystywany do produkcji wodoru.”

Artykuły [H6]-[H8] opisują badania, w których habilitant skoncentrował się na hydrolizatach lignocelulozowych jako potencjalnych źródłach węgla. Materiał ten zdaniem habilitanta jest obiecującym substratem do produkcji biowodoru z uwagi na odnawialność i powszechną dostępność. Niemniej jednak, ze jego złożona struktura wymaga poddania go obróbce wstępnej za pomocą metod fizycznych, chemicznych lub biologicznych.

W artykule [H6] habilitant przedstawia produkcję H_2 w procesie fermentacji przy zmiennych wartościach HRT w bioreaktorach działających w różnych warunkach pH (5,0, 5,5, 6,0 i 6,5), dzięki czemu możliwe było zbadanie wzajemnych zależności między tymi dwoma parametrami. Współzależność ta miała różne podłoża – niska wydajność przy pH 5.0 wynikała głównie z niecałkowitego wykorzystania arabinozy, podczas gdy w wyższym pH ulegała całkowitej konwersji. Habilitant przedstawia również analizę mikrobiomu, która wykazała przewagę bakterii należących do rodzajów *Clostridium*, *Caproiciproducens* i *Haloimpatiens*, co jest skorelowane z pH w bioreaktorze.

Zależność ta leżała u podstaw kontynuacji prac i rozszerzenia ich o dodatkowe wartości pH – pomiędzy 4,0 a 7,5, które stanowiły materiał opublikowany w H7. Wyniki ujawniły złożony wpływ warunków pH na strukturę mikrobiomu, a przez to na wydajność procesu ciemnej fermentacji. Co ciekawe, między pH 5,0 a pH 7,0 zaobserwowana została drastyczna zmiana składu konsorcjum, ale przełożyła się ona tylko nieznacznie na wydajność H_2 . Zdaniem autorów świadczy to o redundancji kultury bakteryjnej i zastępowaniu funkcji niektórych mikroorganizmów przez inne.

Dopełnieniem tej części badań jest publikacja [H8], w której opisano wpływ składu hydrolizatu lignocelulozowego przy optymalnym pH wynoszącym 6,0, a ustalonym w wyniku prac [H6] oraz [H7]. Habilitant opisał proces, który prowadzony był w CSTR i charakteryzował się stabilną długookresową pracą z różnymi substratami. Najwyższą wydajność uzyskano dla pentoz jako substratów i wynosiła ona odpowiednio 8,80 i 8,09 $L/L-d$ dla arabinozy i ksylozy. Na podstawie analizy składu mikroorganizmów, określono że rodzaj *Clostridium* dominował niezależnie od zastosowanego substratu, a głównymi gatunkami bakterii były *C. beijerinckii* i *C. guangxiense*.

Całość autoreferatu przeczytałem z zainteresowaniem; opis osiągnięcia stanowiącego podstawę habilitacji jest precyzyjny, poprawny zarówno pod względem formalnym jak i stylistycznym, a układ logiczny nie budzi żadnych zastrzeżeń. Z redaktorskiego obowiązku zwracam uwagę na nietrzymanie się poprawności zapisu ułamków dziesiętnych w autoreferacie w języku polskim. Habilitant stosuje kropkę jako separator dziesiętny, podczas gdy w języku polskim używa się przecinka.

Pewien niedosyt pozostawia całkowite pominięcie przez habilitanta w opisie problemu składowania wodoru cząsteczkowego, który jest owszem paliwem zeroemisyjnym – przy założeniu, że CO_2 powstający jako produkt uboczny procesu został uprzednio zaabsorbowany w procesie fotosyntezy. Praktyczne wykorzystanie wodoru jako paliwa jest wysoce problematyczne i w mojej



ocenie – przynajmniej obecnie – znacznie bardziej pożądanymi produktami procesów biorafineryjnych są biopaliwa zawierające węgiel (np. MeOH). Niemniej jednak, uważam że tematyka badań jest aktualna i ważna dla dalszego rozwoju technologii wodorowych, a problem jego składowania zostanie prędzej czy później rozwiązany.

Uważam że prace przeprowadzone przez dr Romana Zagrodnika są bardzo wartościowe i w dużej mierze przyczyniają się do zrozumienia zależności między tak wieloma parametrami procesu. Zależności te są dalekie od trywialnych, a wielu przypadkach optymalizacja jednego czynnika wpływa negatywnie na inny.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Poza cyklem publikacji stanowiącym podstawę osiągnięcia habilitacyjnego, dr Roman Zagrodnik opublikował 9 artykułów po uzyskaniu stopnia doktora. Zastanawiające jest dlaczego niektóre z nich nie zostały włączone do osiągnięcia habilitacyjnego – np. *Co-production of hydrogen and caproate for an effective bioprocessing of waste*. *Bioresource Technology*, 2020; czy *Biohydrogen production from chewing gum manufacturing residue in a two-step process of dark fermentation and photofermentation*. *Renewable Energy*, 2018, 122, 526–532. Publikacje te wydają się ściśle związane tematycznie z cyklem [H1]-[H8], można przypuszczać, że habilitant ocenił zbyt nisko swój wkład w powstanie tych prac, lecz nie znalazłem stosownego wyjaśnienia w autoreferacie.

Niekorzystnie wygląda brak jakichkolwiek staży zagranicznych poza odbytym w czasie studiów doktoranckich 3-miesięcznym stażem w Tampere University of Technology. Nie znalazłem też żadnej deklaracji habilitanta o współpracy z jednostkami zagranicznymi, tym bardziej, że jako członek akcji COST habilitant ma możliwość wyjazdu na Short Term Scientific Mission. Stwarza to niestety wrażenie, że dr Roman Zagrodnik stroni od nawiązywania nowych kontaktów i współpracuje głównie ze znanym sobie dobrze zespołem.

Zdecydowanie pozytywnie oceniam grant, jaki zdobył habilitant w konkursie SONATA, finansowanym przez NCN. W projekcie tym habilitant kierował 3-osobowym zespołem badawczym, a zgodnie z bazą projektów NCN wynikiem projektu było 7 publikacji (5 opublikowanych i 2 złożone). Habilitant deklaruje ponadto udział w projektach finansowanych przez NCBR (POLNOR i LIDER), lecz należy zauważyć, że nie był on kierownikiem a jedynie wykonawcą.

Dodatkowo dr Roman Zagrodnik kierował kilkoma mniejszymi projektami finansowanymi wewnątrz przez Wydział Chemii UAM. Nie znalazłem niestety w dokumentacji informacji na temat powstałych w wyniku tych projektów artykułów, lecz domyślałem się że jako ściśle związane tematycznie z cyklem stanowiącym podstawę habilitacji, przyczyniły się w znacznym stopniu do powstania publikacji w cyklu habilitacyjnym.

Na podobnie pozytywną ocenę zasługuje zgłoszenie patentowe do Europejskiego Urzędu Patentowego „Method for one-pot co-production of caproic acid



and hydrogen”, choć nie znalazłem informacji na jakim etapie jest procedura przyznawania patentu.

Słabo wygląda wykaz prezentacji konferencyjnych habilitanta. Wśród 27 prezentacji (licząc po uzyskaniu stopnia doktora) dr Roman Zagrodnik jest pierwszym autorem tylko sześciu, z których 3 to prezentacje ustne – jedna *contributed*, jedna *online* i jedna *keynote*. Pozostałe prezentacje to prezentacje posterowe, których habilitant jest współautorem.

Zastanawiająca jest lista zrecenzowanych przez habilitanta artykułów, z której można dowiedzieć się, że dr Roman Zagrodnik recenzuje średnio 4-5 artykułów rocznie, jednakże tylko dla 2 czasopism. Dla *Int. J. Hydrog. Energy* zrecenzował aż 25 artykułów, co stanowi blisko 90% wszystkich recenzji.

Pozytywnie należy ocenić udział w pracach Zespołu Ekspertów oceniających wnioski w trzech edycjach konkursu Miniatura (Narodowe Centrum Nauki) oraz zaproszenie do zrecenzowania jednego projektu OPUS.

Ocena działalności organizacyjnej

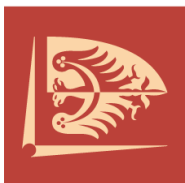
Dr Roman Zagrodnik jest członkiem Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne (UAM). Ponadto bierze udział w życiu akademickim Wydziału poprzez członkostwo w poszerzonym składzie RDN dla rekomendacji w wyborach Dziekana. Na tym niestety kończy się działalność organizacyjna po uzyskaniu przez niego stopnia doktora. Pozostałe informacje w autoreferacie dotyczą działalności organizacyjnej kiedy dr Roman Zagrodnik był jeszcze doktorantem.

Jest to niewątpliwa szkoda, gdyż udział w akcji COST stwarza możliwość organizacji spotkań, finansowanych właśnie w ramach programu Co-Operation in Science and Technology. Brak informacji o partycypowaniu przez habilitanta w komitetach organizacyjnych konferencji, sympozjów lub innych spotkań naukowych.

Podsumowanie i rekomendacja

W podsumowaniu stwierdzam, że cykl stanowiący podstawę do ubiegania się przez dra Romana Zagrodnika o stopień doktora habilitowanego jest w mojej ocenie znacznym wkładem w rozwój dyscypliny naukowej Nauki Chemiczne. Zastrzegam jednak, że warunek nałożony przez Ustawę jest spełniony w mojej ocenie w stopniu minimalnym.

Pozytywnie oceniam wkład dra Romana Zagrodnika w badaniach dotyczących badań nad rozwojem metody produkcji H_2 i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych z wykorzystaniem mikroorganizmów. Z drugiej jednak strony aktywność dra Romana Zagrodnika w działalność organizacyjną nawet na poziomie uczelni jest znikoma, uczestnictwo w konferencjach naukowych ograniczone, a grupa stałych współpracowników niewielka. Na tej podstawie syl-



wetka habilitanta jaka się rysuje, to osoba na wczesnym jeszcze etapie kariery naukowej, która nie do końca usamodzielniała się w kwestii podejmowanej tematyki badawczej.

Mimo wspomnianych powyżej zastrzeżeń, stwierdzam, że dr Roman Zagrodnik spełnia warunek nałożony przez Ustawę Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018, Art. 219, do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk chemicznych. Wnoszę zatem o dalsze procedowanie w tej sprawie.

Bartłomiej M. Szyja