



Poznań, 20.12.2023

Prof. UPP dr hab. inż. Małgorzata Gumienna  
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego  
Pracownia Fermentacji i Biosyntezy  
e-mail: malgorzata.gumienna@up.poznan.pl

### **Recenzja**

**osiągnięć naukowych, w tym osiągnięcia z tytułu: „Aktywność metaboliczna drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w procesie biokonwersji hydrolizatów lignocelulozowych uzyskiwanych z biomasy wywarów gorzelniczych poddanych różnym metodom obróbki wstępnej”, stanowiącego podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauki biologiczne oraz ocena całokształtu aktywności naukowej, dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej Pana dr. Dawida Mikulskiego**

### **Podstawa prawna opracowania recenzji**

Recenzję wykonano w oparciu o Uchwałę Rady Dziedziny Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego nr 4/2023/2023 z dnia 17 października 2023 r., zgodnie z którą zostałam powołana na Recenzenta dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego Pana dr. Dawida Mikulskiego, ubiegającego się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Oceny osiągnięć dokonałam zgodnie z art. 219 ust. 1 (pkt 1, pkt 2, pkt 3) ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. 2022 r. poz. 574), na podstawie otrzymanych dokumentów zawierających: dane wnioskodawcy, kopie dokumentu potwierdzającego uzyskanie stopnia doktora, autoreferat prezentujący opis osiągnięć i dorobku naukowo-badawczego, wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiący znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne oraz cykl siedmiu powiązanych tematycznie prac stanowiących główne osiągnięcie naukowe. Do dokumentów dołączono oświadczenia współautorów opisujące wkład każdego z nich w powstanie publikacji stanowiących główne osiągnięcie Habilitanta, kopie siedmiu prac do cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego oraz stosowne zaświadczenia i certyfikaty.

### **Podstawowe dane o Kandydacie**

Dr Dawid Mikulski jest absolwentem Wydziału Nauk Przyrodniczych (obecnie Biotechnologicznych) Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy. Studia drugiego stopnia na Wydziale ukończył w 2007 roku. W 2006 roku podniósł swoje kwalifikacje pedagogiczne poprzez ukończenie kursu w Kujawsko-Pomorskim Centrum Edukacji Nauczycieli w Bydgoszczy. W trakcie studiów drugiego stopnia (2007-2008) został już zatrudniony na etacie starszego technika naukowo-technicznego w Zakładzie Fizjologii i Toksykologii Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy. Następnie w latach 2008-2009 zatrudniony był w Zakładzie Biotechnologii jako starszy technik naukowo-techniczny oraz w latach 2009-2015 r. w tym samym zakładzie, kontynuował pracę na etacie asystenta naukowo-technicznego. W 2015 roku Habilitant uchwałą Rady Wydziału Nauk Przyrodniczych, uzyskał stopień naukowy doktora nauk biologicznych w dyscyplinie naukowej biologia, nadany na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Wpływ hydrolizy kompleksów fitynowych w podłożach skrobiowych o wysokim ekstrakcie (HG) na aktywność fermentacyjną drożdży *Saccharomyces cerevisiae*”. Promotorem rozprawy był dr hab. inż. Grzegorz Kłosowski prof. uczelni. Od października 2015 r. do chwili obecnej Kandydat pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Biotechnologii na Wydziale Nauk Biologicznych, Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Osiągnięciem naukowym dr Dawida Mikulskiego, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, jest cykl siedmiu powiązanych tematycznie oryginalnych publikacji naukowych pt. „Aktywność metaboliczna drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w procesie biokonwersji hydrolizatów lignocelulozowych uzyskiwanych z biomasy wywarów gorzelnicznych poddanych różnym metodom obróbki wstępnej” opublikowanych w latach 2018-2022 w czasopismach przypisanych do dyscypliny nauki biologiczne (zgodnie z listą czasopism punktowanych MEiN z dnia 9 lutego 2021 r.):

1. Mikulski D., Kłosowski G. 2018. Efficiency of dilute sulfuric acid pretreatment of distillery stillage in the production of cellulosic ethanol. *Bioresource Technology*, 268, 424-433.
2. Mikulski D., Kłosowski G., Menka A., Koim-Puchowska B. 2019. Microwave-assisted pretreatment of maize distillery stillage with the use of dilute sulfuric acid in the production of cellulosic ethanol. *Bioresource Technology*, 278, 318-328.
3. Mikulski D., Kłosowski G. 2020. Microwave-assisted dilute acid pretreatment in bioethanol production from wheat and rye stillages. *Biomass and Bioenergy*, 136, 105528.
4. Mikulski D., Kłosowski G. 2020. Hydrotropic pretreatment on distillery stillage for efficient cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, 300, 122661.

5. Mikulski D., Kłosowski G. 2021. Microwave-assisted hydrotropic pretreatment as a new and highly efficient way to cellulosic ethanol production from maize distillery stillage. *Applied Microbiology and Biotechnology* 105, 3381-3392.
6. Kłosowski G., Mikulski D. 2021. Impact of lignocellulose pretreatment by-products on *S. cerevisiae* strain Ethanol Red metabolism during aerobic and anaerobic growth. *Molecules*, 26(4), 806.
7. Mikulski D., Kłosowski G. 2022. Integration of first- and second-generation bioethanol production from beet molasses and distillery stillage after dilute sulfuric acid pretreatment. *BioEnergy Research* 15, 454-465.

Sumaryczny *Impact Factor* (IF) publikacji (1-7) stanowiących najważniejsze osiągnięcie w dorobku naukowym Habilitanta według *Jornal Citation Reports* (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **43,250**, a liczba punktów prac opublikowanych w latach 2019-2021 liczona według komunikatu Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) z dnia 9 lutego 2021 r. oraz komunikatu MEiN z 25 stycznia 2017 dotycząca publikacji opublikowanej w 2018 r. wynosi łącznie **765**. Prace stanowiące osiągnięcie naukowe były cytowane według *Web of Science* **132** razy (według bazy *Scopus* 158 stan na 08.05.2023 r.), co zdaniem recenzenta potwierdza wysoki poziom naukowy i trafność podjętych badań.

W 6 z 7 publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe dr Dawid Mikulski jest pierwszym autorem, natomiast w jednej - drugim. We wszystkich pracach Kandydat pełnił rolę wiodącą, co zostało potwierdzone stosownymi oświadczeniami współautorów (zał. od 3.1 do 3.7). Jego udział w każdej publikacji składającej się na oceniane osiągnięcie polegał na opracowaniu koncepcji badań, hipotez badawczych, planowaniu doświadczeń, jak również wykonaniu ich znacznej części. Ponadto był współodpowiedzialny za opracowanie statystycznie wyników, ich interpretację oraz współredakcję manuskryptu, w jednym przypadku dodatkowo Habilitant był autorem korespondencyjnym (publikacja nr 6).

Cykl przedłożonych do oceny publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe obejmuje kompleksowe opracowanie wyników badań dotyczących oceny aktywności metabolicznej drożdży *S. cerevisiae* w trakcie procesu fermentacji alkoholowej hydrolizatów celulozowych uzyskanych z biomasy wywarów gorzelnicznych (żytniego, pszennego i kukurydzianego) po obróbce wstępnej z użyciem rozcieńczonego kwasu siarkowego lub hydrotropu (kumenosulfonianu sodu), w zmiennych warunkach procesowych przy zastosowaniu ogrzewania konwencjonalnego lub mikrofalowego.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dotyczy aktualnych zagadnień zmierzających do zwiększenia produkcji odnawialnych nośników energii, będących alternatywą dla konwencjonalnych paliw kopalnych, których zasoby niewątpliwie uszczuplają się. Dotychczasowe źródła wykorzystywane w procesie produkcji biopaliw, poprzez fermentację alkoholową, to głównie ziarna zbóż, kukurydzy, zawierające węglowodany (sacharoza, skrobia). Wzrost popytu na alternatywne źródła energii może spowodować wzrost cen tych podstawowych surowców żywnościowych. Rozwiązaniem dla tego problemu w produkcji bioetanolu jest wykorzystanie łatwo dostępnej biomasy lignocelulozowej.

Kluczowym czynnikiem jednak odpowiadającym za efektywną biokonwersję węglowodanów w procesie fermentacji alkoholowej jest aktywność metaboliczna drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Aktualnie prowadzone badania nad efektywnością biokonwersji hydrolizatów celulozowych w procesie fermentacji, dotyczą głównie podatności lignocelulozy na degradację enzymatyczną i jej fermentację, jak również oceny skuteczności stosowanych metod obróbki wstępnej i jej wpływu na efektywność metaboliczną wykorzystywanych w procesie fermentacji drożdży.

Habilitant w swoich badaniach nad aktywnością metaboliczną drożdży w biokonwersji celulozowych podłoży fermentacyjnych słusznie skupił się nad oceną źródła biomasy lignocelulozowej, jaką jest frakcja stała wywaru gorzelniczego, jednego z produktów odpadowych przemysłu fermentacyjnego w procesie produkcji destylatu rolniczego, powstającego w ilości 10 do 12 krotnie przewyższającej ilość wytwarzanego spirytusu, wciąż jeszcze nie do końca zagospodarowanego.

Jednym ze sposobów jego zagospodarowania jest bezpośrednie przeznaczenie na cele paszowe dla zwierząt hodowlanych lub alternatywne zagospodarowanie z wykorzystaniem fermentacji metanowej. Dlatego badania zmierzające do wykorzystania wywaru gorzelniczego jako źródła biomasy lignocelulozowej wydają się celowe i uzasadnione. Tym bardziej, gdyż Kandydat w swoich badaniach zaproponował metody obróbki wstępnej fasy stałej biomasy lignocelulozowej, mające bezpośredni wpływ na efektywność samego procesu fermentacji. Zgadzam się z dr Dawidem Mikulskim, iż zaproponowane rozwiązania mogą dać podstawę do rozszerzenia technologii wykorzystujących klasyczne surowce skrobiowe o etap produkcji bioetanolu drugiej generacji, poprawiając tym samym stopień wykorzystania tego produktu odpadowego.

W ramach przedstawionego osiągnięcia naukowego Kandydat przedstawił 4 hipotezy badawcze, a mianowicie: (H1) Hydrolizaty celulozowe uzyskane z biomasy wywarów gorzelnicznych zawierają składniki troficzne umożliwiające uzyskanie wysokiej aktywności metabolicznej drożdży *S. cerevisiae*, gwarantującej całkowitą konwersję cukrów fermentujących na etanol. (H2) Występowanie inhibitorów fermentacji w hydrolizatach celulozowych uzyskanych z biomasy wywarów gorzelnicznych wpływa na aktywność metaboliczną drożdży oraz generuje stres toksyczny. (H3) Optymalizacja warunków obróbki wstępnej biomasy wywarów gorzelnicznych ma kluczowe znaczenie dla efektywnej hydrolizy polisacharydów strukturalnych oraz biokonwersji cukrów fermentujących zawartych w hydrolizatach do etanolu celulozowego. (H4) Skuteczna delignifikacja biomasy wywarów gorzelnicznych umożliwia uzyskanie hydrolizatów celulozowych o wysokiej zawartości cukrów fermentujących oraz przeprowadzenie efektywnej fermentacji alkoholowej z użyciem drożdży *S. cerevisiae*. W celu weryfikacji powyższych hipotez Habilitant zaplanował pięć celów szczegółowych realizowanych w poszczególnych etapach badań.

W pierwszej publikacji składającej się na osiągnięcie dr Dawid Mikulski dokonał oceny aktywności fermentacyjnej drożdży na hydrolizatach celulozowych uzyskanych z wywarów gorzelnicznych (żytniego, pszenicznego, kukurydzianego) z udziałem biomasy po

obróbce wstępnej z użyciem rozcieńczonego kwasu siarkowego, w podwyższonej temperaturze uzyskanej w wyniku zastosowania ogrzewania konwencjonalnego. Habilitant dokonał oceny przydatności biomasy wywarów gorzelnicznych jako źródła lignocelulozy w procesie fermentacji alkoholowej z użyciem drożdży *S. cerevisiae*. Przeprowadzone badania wykazały wpływ warunków samej obróbki wstępnej na ilość uzyskiwanej glukozy nie mając jednocześnie tak wyraźnego wpływu na podatność celulozy na hydrolizę enzymatyczną. Zastosowanie natomiast procesu zateżnienia hydrolizatów pod obniżonym ciśnieniem, w celu uzyskania podłoża fermentacyjnych o podwyższonej zawartości węglowodanów, skutkowało zwiększeniem stężenia inhibitorów metabolizmu komórkowego drożdży (głównie 5-hydroksymetylofurfuralu), w zależności od stosowanego wywaru. Habilitant wykazał, iż w podłoża fermentacyjne uzyskane z wywaru pszenicznego i żytniego nie powoduje konieczności stosowania detoksykacji, gdyż przeprowadzone badania nie wykazały ograniczenia aktywności metabolicznej drożdży i umożliwiły pełne odfermentowanie glukozy po 48 h procesu, w odróżnieniu od wywaru gorzelnicznego kukurydzianego, w którym proces fermentacji musi być poprzedzony detoksykacją, który gwarantuje obniżenie stężenia 5-HMF w podłożu fermentacyjnym.

Kolejny etap badań na który składały się dwie kolejne publikacje (nr 2 i 3) zakładał wykorzystanie również kwasu siarkowego w połączeniu z promieniowaniem mikrofalowym do obróbki wstępnej biomasy wspomnianych trzech wywarów gorzelnicznych oraz oceny efektywności zaproponowanego sposobu przygotowania surowca w procesie fermentacji alkoholowej. W tym etapie badań Habilitant wykorzystał wiedzę uzyskaną w wyniku badań opisanych w publikacji 1 i zastosował te same parametry obróbki kwasowej biomasy wywaru kukurydzianego oraz dodatkowo promieniowanie mikrofalowe (publikacja nr 2). Kandydat analizował wpływ mocy generatora mikrofal (300, 600, 1200 W), ciśnienia (54, 93, 152 PSI) oraz czasu obróbki wstępnej (10, 15, 20 min) na skuteczność degradacji biomasy oraz jej podatność na dalszą hydrolizę enzymami celulolitycznymi. Habilitant wykazał, że mikrofalowa obróbka wstępna okazała się skutecznym procesem wspomagającym enzymatyczny rozkład kukurydzianego wywaru gorzelnicznego. Dobrał parametry procesu, tj. moc generatora mikrofal, ciśnienie i czasu ekspozycji, które pozwoliły uzyskać wysokie stężenie glukozy oraz wysoką wydajność enzymatycznej hydrolizy celulozy (powyżej 75%), po niezbędnym procesie detoksykacji (węglem aktywnym), jako elementu niezbędnego do obniżenia inhibitorów obecnych w podłożach fermentacyjnych uzyskanych z biomasy wywaru kukurydzianego.

Dalsze badania (publikacja 3) Habilitant kontynuował z użyciem wywaru pszenicznego i żytniego. W tych badaniach Kandydat zwrócił szczególną uwagę na wpływ produktów ubocznych powstających w wyniku mikrofalowej obróbki wstępnej prowadzonej w różnych warunkach (czas ekspozycji, ciśnienie) na aktywność fermentacyjną drożdży. Uzyskane wyniki w tej części eksperymentu potwierdziły zarówno przydatność wywaru gorzelnicznego pszenicznego i żytniego do produkcji etanolu, jak i skuteczność proponowanych parametrów obróbki wstępnej wspomaganą mikrofalami. Optymalizacja przez dr Dawida

Mikulskiego czynników: czasu ekspozycji oraz ciśnienia, pozwoliła na osiągnięcie wysokich wydajności hydrolizy celulozy i tym samym wysokiej wydajności biosyntezy etanolu dla badanych wywarów przy ograniczonym występowaniu inhibitorów procesu fermentacji.

Habilitant kontynuując badania nad wykorzystaniem frakcji stałych wywarów gorzelnicznych wykorzystał hydrotropu – kumenosulfonian sodu (NaCS) jako czynnik umożliwiający ekstrakcję składników biomasy wywarów oraz dokonał oceny ich przydatności jako substratów w procesie otrzymywania bioetanolu II generacji (publikacja nr 4).

Ważnym rezultatem tego etapu badań było wykazanie, że obróbka hydrotropowa jest skutecznym sposobem wstępnej obróbki biomasy wywaru gorzelnicznego i zapewnia wysoki stopień biokonwersji biomasy, nie mając negatywnego wpływu na aktywność metaboliczną drożdży oraz nie sprzyja powstawaniu toksycznych produktów ubocznych podczas obróbki wstępnej.

Powyższe badania dr Dawid Mikulski wykorzystał do opracowania nowatorskiej metody obróbki wstępnej lignocelulozy (publikacja nr 5), które stanowi kluczowe osiągnięcie Habilitanta. Kandydat skupił się na określeniu wpływu parametrów mikrofalowej obróbki wstępnej z użyciem różnych stężeń hydrotropu NaCS, ciśnienia oraz czasu na efektywność ekstrakcji składników biomasy wywaru kukurydzianego oraz składu uzyskanej lignocelulozy. Zastosowana metoda badawcza okazała się bardzo skuteczna i zapewniła wysoki poziom enzymatycznej degradacji celulozy, prowadząc do uzyskania pożywki o wysokiej zawartości cukrów ulegających biokonwersji do etanolu, przy jednocześnie bardzo niskiej zawartości (poniżej progu oznaczalności) inhibitorów wpływających na aktywność metaboliczną drożdży. W konsekwencji pozwoliło to na uzyskanie wysokiego poziomu biosyntezy etanolu na poziomie ok. 95% wydajności teoretycznej.

Dążąc do wyjaśnienia wpływu produktów ubocznych powstających w trakcie obróbki wstępnej lignocelulozy na aktywność metaboliczną drożdży Kandydat wykonał badania nad indykatorami stresu toksycznego u drożdży *S. cerevisiae* (szczep Ethanol Red) (publikacja 6). Badanie przeprowadził na podłożach modelowych w warunkach zarówno tlenowych jak i beztlenowych (warunki fermentacji alkoholowej) przy dodatku do podłoża pojedynczych stresorów (kwas lewulinowy, 5-hydroksymetylofurfural, furfural, kwas ferulowy, aldehyd syryngowy i wanilina). Na uwagę zasługuje fakt, iż dr Dawid Mikulski w ramach niniejszych badań dodatkowo podjął próbę określenia udziału białek szoku cieplnego HSP (Hsp 32p, Hsp 60) w specyficznej odpowiedzi komórki drożdży na substancje toksyczne znajdujące się w podłożu fermentacyjnym, a będące wynikiem obróbki wstępnej lignocelulozy, co jest kluczowym elementem decydującym w uzyskaniu linii drożdży o podwyższonej odporności na dany czynnik stresowy, jak sam podkreślił Habilitant w prezentowanej publikacji. Równie istotnym z punktu widzenia zarówno naukowego jak i aplikacyjnego są wyniki przedstawiające zdolność drożdży do detoksykacji *in situ* podłoża fermentacyjnych w trakcie 72 godzin fermentacji w warunkach zarówno tlenowych jak i beztlenowych. Wykorzystany w niniejszych badaniach szczep drożdży był w stanie całkowicie metabolizować produkty uboczne obróbki wstępnej frakcji stałej wywaru. Z pewnością, co również zaznaczył sam

Habilitant, uzyskane wyniki tej części przedstawianego do oceny osiągnięcia naukowego mogą być pomocne w optymalizacji parametrów produkcji bioetanolu, tak aby ograniczyć powstawanie i toksyczne działanie inhibitorów procesu fermentacji.

W ostatnim etapie badań w przedstawionym do oceny osiągnięciu naukowym (publikacja nr 7) Kandydat oceniał aktywność metaboliczną drożdży na podłożu fermentacyjnym otrzymanym w wyniku połączenia melasy buraczanej oraz roztworu po kwasowej obróbce wstępnej biomasy wywaru gorzelniczego kukurydzianego z wykorzystaniem technologii jednoczesnego scukrzania i fermentacji (SSF). Połączenie przez Kandydata dwóch sposobów produkcji bioetanolu I i II generacji okazało się skutecznym sposobem produkcji etanolu, a końcowa wydajność procesu wynosiła ponad 94% wydajności teoretycznej. Podjęta przez Habilitanta próba zwiększenia puli cukrów fermentujących poprzez zastosowanie nowej generacji celulaz w celu prowadzenia jednoczesnej hydrolizy i fermentacji nie powiodła się z powodu inhibicji produktowej białek enzymatycznych. Rozwiązanie takie wpłynęło jednak na zwielokrotnienie obecności lotnych produktów ubocznych procesu fermentacji, co na pewno wymaga dalszych badań i wyjaśnień.

**Oceniając niniejsze** osiągnięcie naukowe odniosę się w pierwszej kolejności do tytułu osiągnięcia naukowego. W mojej opinii nie do końca trafne jest użycie w tytule osiągnięcia określenia „różnym metodom obróbki wstępnej”, gdyż sugeruje to zastosowanie bardzo wielu rozwiązań i możliwości, począwszy od metod fizycznych, chemicznych poprzez biologiczne i ostatecznie metody łączone. Po lekturze prezentowanych publikacji bardziej właściwe wydaje się być tu słowo „wybranych” metodom lub użycie zwrotu „w zależności od stosowanej obróbki wstępnej, gdyż właściwie Habilitant stosował głównie kwasową obróbkę wstępną części stałej wywaru w kombinacji z obróbką termiczną podwyższonego ciśnienia oraz obróbki mikrofalowej czy z użyciem hydrotropu. W drodze eliminacji ostatecznie hydrotropu i obróbki mikrofalowej, czyli skupił się na fizyko-chemicznej obróbce wstępnej biomasy.

Pewną konsternację wzbudziło stwierdzenie „W tych badaniach zwrócono szczególną uwagę na wpływ produktów ubocznych powstających w wyniku mikrofalowej obróbki wstępnej prowadzonej w źle dobranych warunkach na aktywność fermentacyjną drożdży” (*Autoreferat str. 14, pkt 4.3.3 Omówienie uzyskanych wyników badań*). W opinii recenzenta nastąpił zbitek niefortunnych sformułowań, które deprecjonują istotę badań mających na celu optymalizację warunków stosowanego procesu.

**Podsumowując** cykl publikacji jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego ma zarówno charakter poznawczy jak i aplikacyjny. Przedstawione publikacje (1 – 7) mają wysoką wartość merytoryczną i stanowią spójny cykl opracowań mających na celu określenie aktywności metabolicznej drożdży w trakcie fermentacji alkoholowej podłoża celulozowych uzyskanych z biomasy wywarów gorzelnicznych. Zaprezentowane badania obejmujące wybrane sposoby przygotowania substratu lignocelulozowego, stanowią kompleksowe opracowanie możliwości wykorzystania biomasy wywarów gorzelnicznych jako substratów w produkcji bioetanolu II generacji. Tym samym po dokonaniu oceny jako recenzent mogę stwierdzić, że badania ujęte pod wspólnym

tytułem „*Aktywności metabolicznej drożdży Saccharomyces cerevisiae w procesie biokonwersji hydrolizatów lignocelulozowych uzyskiwanych z biomasy wywarów gorzelniczych poddanych różnym metodom obróbki wstępnej*” wykonane zostały z wykorzystaniem metod badawczych i zaawansowanej aparatury analitycznej pozwalającej Habilitantowi na pełną weryfikację założonych hipotez i realizację poszczególnych celów szczegółowych.

Opublikowane wyniki badań wnoszą istotny wkład w rozwój wiedzy dotyczącej wykorzystania źródła lignocelulozy, jakim jest biomasa wywaru gorzelniczego w produkcji bioetanolu. Za szczególnie istotne osiągnięcie Kandydata, uważam opracowanie nowej metody obróbki wstępnej biomasy z jednoczesnym wykorzystaniem mikrofal oraz hydrotropów oraz identyfikacji czynników oddziałujących na efektywność biosyntezy etanolu przez drożdże i ich zdolność do detoksykacji *in situ*.

W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe **stanowi znaczny wkład** w rozwój dyscypliny naukowej – nauki biologiczne.

### **Ocena pozostałych osiągnięć naukowych - badawczych oraz całokształtu dorobku naukowego**

Całościowy dorobek dr Dawida Mikulskiego stanowią 33 artykułów (w tym 9 przed uzyskaniem stopnia doktora), głównie oryginalne prace twórcze o zasięgu międzynarodowym, znajdujące się w bazie *JCR* (31) oraz 2 publikacje o zasięgu krajowym. Należy również wspomnieć o 3 realizowanych projektach: projekt badawczy finansowany w ramach konkursu Opus 19 NCN (2020/37/B/NZ9/00372), projekt badawczy finansowany w ramach konkursu Preludium 3 NCN (2012/05/N/NZ9/02436) oraz projekt badawczy finansowany przez MNiSW (N311 052 31/3420), w których w dwóch pierwszych przypadkach był kierownikiem, a uzyskane rezultaty znalazły finał w postaci licznych publikacji w renomowanych międzynarodowych czasopismach i materiałach konferencyjnych. Habilitant zaprezentował również 34 doniesienia konferencyjne głównie na konferencjach międzynarodowych – 27 (j. angielski), w tym 12 przed doktoratem (5 w j. angielskim).

Całkowita punktacja przypisana tym pracom na podstawie list czasopism punktowanych MEiN wynosi 2610 (przed doktoratem 222). Sumaryczny współczynnik wpływu *Impact Factor* dla wszystkich opublikowanych artykułów wynosi 131,985 (18,026 przed doktoratem). Łączna liczba cytowań (z dnia 08.05.2023 r.) opublikowanych prac wynosi 416 (bez autocytowań = 348) według bazy *Scopus* oraz 365 (bez autocytowań = 301) według bazy *Web of Science*. Liczba cytowani przed uzyskaniem stopnia doktora to odpowiednio 51 (40) według bazy *Scopus* oraz 47 (38) według bazy *Web of Science*. Index Hirscha wynosi 10 (przed uzyskaniem stopnia doktora 3).

W opinii recenzenta prezentowane wartości parametrów bibliometrycznych dla kandydata do stopnia naukowego doktora habilitowanego są wystarczające. Dodatkowym wartym podkreślenia aspektem jest to, iż dorobek publikacyjny Habilitanta stanowią głównie publikacje anglojęzyczne o znacznej liczbie cytowań, co na pewno przekłada się na



rozpoznawalność dr Dawida Mikulskiego jako naukowca w Jego wiodącej tematyce badawczej. Wyrazem tego jest również pełnienie roli edytora w dwóch czasopismach *Catalysts (Special Issue: Microwave-Assisted Catalysis)* oraz *Processes (Special Issue: Advances in Biomass Pretreatment)*, a także obecność w roli członka w reviewer Board czasopisma *Food* oraz wykonanie 80 recenzji artykułów naukowych.

Dr Dawid Mikulski wykonał ponad 200 ekspertyz oraz analiz zleconych dla podmiotów z otoczenia społeczno -gospodarczego, co świadczy także o ugruntowanej Jego roli jako eksperta. Za swoją działalność naukową był wielokrotnie wyróżniany i nagradzany przez władze Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy w latach 2013, 2015, 2017, 2019.

Oceniając merytoryczny dorobek publikacyjny Habilitanta można stwierdzić, iż od początku pracy naukowej zainteresowania dr Dawida Mikulskiego były związane z badaniami dotyczącymi aktywności metabolicznej drożdży w trakcie procesów fermentacyjnych i obejmowały badania nad efektywnością biosyntezy etanolu jak i wytwarzania lotnych produktów ubocznych procesu fermentacji alkoholowej. Przebieg Jego kariery jak i zainteresowania naukowe można podzielić na okres przed i po uzyskaniu stopnia doktora, zawsze jednak pozostawały w kręgu zainteresowań głównego zakresu badawczego przedstawionego w osiągnięciu naukowym.

Prace badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora skupiały się głównie wokół efektywności biosyntezy etanolu I generacji z użyciem podłoży uzyskanych z surowców skrobiowych. Natomiast po uzyskaniu stopnia doktora, tematyka badawcza dotyczyła m. in. aktywności metabolicznej drożdży wykorzystywanych w produkcji etanolu celulozowego, degradacji biomasy lignocelulozowej, oceny efektywności różnych grup mikroorganizmów w biosyntezie wybranych metabolitów oraz charakterystyce różnych procesów fermentacyjnych.

**Podsumowując** biorąc pod uwagę wskaźniki naukometryczne uważam, że dorobek naukowy Pana Dawida Mikulskiego jest wartościowy. Większość (24 z 33) prac naukowych została opublikowana po uzyskaniu stopnia doktora, co wskazuje na znaczny progres w rozwoju naukowym Habilitanta.

### **Opinia o wykazaniu przez Habilitanta istotnej aktywności naukowej albo artystycznej realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej**

Aktywność naukowa poza miejscem zatrudnienia Pana dr Dawida Mikulskiego, związana była głównie z dwoma krajowymi wyjazdami naukowymi do Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Politechniki Łódzkiej (potwierdzone załącznikami 3.9 oraz 3.10).

1. Pobyty naukowe w okresie 21.09.- 02.10.2020 r. Katedra Technologii Fermentacji i Zbóż, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Opiekun naukowy: prof. dr hab. Joanna Kawa-Rygielska. Celem pobytu było uczestniczenie w realizacji badań dotyczących wpływu dodatku wycieków z białych winogron odmiany *Solaris* do fermentującego piwa na skład lotnych produktów ubocznych fermentacji alkoholowej oraz związków

fenolowych w gotowym piwie. W trakcie w pobytu Habilitant miał możliwość doskonalić warsztat analityczny w szczególności badań związanych z: lotnymi produktami ubocznymi procesu fermentacji oznaczanych metodą GC-FID, składem węglowodanów, etanolu, glicerolu oraz kwasów organicznych oznaczanych metodą HPLC-RID oraz stężenie związków fenolowych i właściwości antyoksydacyjne otrzymanych piw wykorzystując metody spektrofotometryczne. Efektem zrealizowanych badań w trakcie pobytu na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu była wspólna publikacja naukowa. – Gasiński A., Kawa-Rygielska J., Mikulski D., Kłosowski G., Głowacki A., 2022. *Application of white grape pomace in the brewing technology and its impact on the concentration of esters and alcohols, physicochemical parameters and antioxidative properties of the beer. Food Chemistry, 367, 130646 (IF2021 – 9,231; pkt MEiN2021 – 200).*

2. Staż naukowy w okresie od 9 lipca do 10 października 2021 r. (3 miesiące) w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej. Opiekun naukowy dr hab. Maria Balcerk, prof. uczelni. Celem badań była ocena zdolności szczepów bakterii *Bacillus subtilis* izolowanych z fermentowanej soi „natto” do biosyntezy szerokiego spektrum alkilopirazyń. W trakcie badań wyizolowano 40 szczepów bakterii zaliczanych do gatunku *B. subtilis*. W efekcie realizacji stażu Habilitant miał możliwość poznać nową technikę analityczną HS-GC/MS wykorzystywaną w analizach biologicznych oraz powstała wspólna publikacja – Kłosowski, G., Mikulski, D., Pielech-Przybylska, K. 2021. *Pyrazines biosynthesis by Bacillus strains isolated from natto fermented soybean. Biomolecules 11, 1736 (IF2021 – 6,064; pkt. MEiN2021 – 100).*

Wiedze i doświadczenie zawodowe Habilitant pozyskiwał również w ramach kontaktów z renomowanym ośrodkiem zagranicznym w Department of Biotechnology and Food Science, Durban University of Technology (współpraca naukowa z prof. Santhosh Pillai). Uzyskane wyniki badań pozwoliły Habilitantowi na opracowanie w zespole badawczym artykułu naukowego opublikowanego w czasopiśmie z listy *JCR* oraz ośmiu doniesień konferencyjnych.

Habilitant uczestniczył również w licznych seminariach i szkoleniach w ramach, których podnosił swoje kwalifikacje i poszerzał swoje zainteresowania naukowe.

Należy także zaznaczyć, że pewną formą działalności naukowej Kandydata było członkostwo w Komitecie Doradczym w międzynarodowej konferencji International Conference on Fuel, Energy and Environment (ICFEE 2022) 9-10.06.2022 organizowanej przez Department of Automobile Engineering Kongu Engineering College.

**W opinii Recenzenta** Habilitant wykazał się aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni (w tym zagranicznej). Zdobyte na stażach i współpracy naukowej doświadczenie jest zbieżne z metodologią badań stosowaną w publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe będące przedmiotem recenzji.

## Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

### Działalność dydaktyczna

Habilitant od początku zatrudnienia uczestniczy w kształceniu studentów na Uniwersytecie Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy. Od samego początku zaangażowany był w opracowanie i prowadzenie zajęć laboratoryjnych na kierunkach studiów biotechnologia (I stopnia) oraz ochronie środowiska (I stopnia). Brał aktywny udział w przygotowaniu zaplecza dydaktycznego oraz opracowania zajęć laboratoryjnych dla przedmiotów: *Biotechnologia ogólna*, *Inżynieria bioprosesowa*, *Chemia fizyczna*, *Technologie fermentacyjne*, *Enzymologia dla kierunku biotechnologia I stopnia*; *Optymalizacja procesów fermentacyjnych dla kierunku biotechnologia II stopnia*; *Problemy inżynierii procesowej dla kierunku ochrona środowiska I stopnia*; *Techniki chromatograficzne w monitoringu środowiska*, *Biopaliwa – technologie dla zrównoważonego rozwoju dla kierunku ochrona środowiska II stopnia* oraz *Biotechnologia dla kierunku biologia I stopnia* i *Technologie bioenergetyczne dla kierunku biologia II stopnia*. Po uzyskaniu awansu naukowego stopnia doktora i zatrudnieniu na stanowisku adiunkta badawczo-dydaktycznego, Habilitant zaangażowany był w opracowanie i prowadzenie wykładów oraz zajęć laboratoryjnych na I i II stopniu studiów dla przedmiotów tj.: *Odnawialne źródła energii* (wykłady), *Degradacja związków wielkocząsteczkowych* (wykłady i laboratoria), *Biosurfaktanty otrzymywane metodami biotechnologicznymi* (wykłady), *Podstawy biokatalizy* (wykłady i laboratoria), *Metody doskonalenia szczepów przemysłowych* (wykłady). Kandydat pełnił również rolę promotora prac licencjackich (6 prac) i magisterskich (6 prac), a także rolę opiekuna. Ponadto był recenzentem 7 prac licencjackich oraz 10 prac magisterskich, a także 4-krotnie opiekunem rocznika kierunku biotechnologia I lub II stopnia. W ramach aktywności dydaktycznej od 2017 roku Habilitant jest członkiem Rady Kierunku Biotechnologia.

Za działalność dydaktyczną został nagrodzony w 2019 medalem *Komisji Edukacji Narodowej* (potwierdzenie załącznik 3.11).

### Działalność organizacyjna

Habilitant od 2010 roku jest koordynatorem „Dni Nauki”, imprezy popularyzującej naukę z ramienia Instytutu Biologii Eksperymentalnej Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy (UKW), pełnił (2011, 2012) rolę koordynatora „Bydgoskiego Festiwalu Nauki” z ramienia Instytutu Biologii Eksperymentalnej UKW oraz w roku 2012 był koordynatorem „Drzwi Otwartych” dla kierunku biotechnologia. Od 2014 do 2016 r. był członkiem Rady Wydziału Nauk Przyrodniczych (obecnie Biologicznych) UKW. Od roku 2015 był zaangażowany w pracę zespołów funkcjonujących przy Instytucie Biologii Eksperymentalnej UKW: Zespołu Projakościowego, Zespołu ds. Dydaktyki i Jakości Kształcenia oraz Zespołu ds. Nagród dla Studentów. W latach 2017 - 2019 pełnił również funkcję Zastępcy Dyrektora Instytutu Biologii Eksperymentalnej (IBE), jak również był: Członkiem Wydziałowej Komisji ds. Studenckich i Jakości Kształcenia, Członkiem Wydziałowej Komisji ds. Nagród i

Wyróżnień dla Studentów i Absolwentów, Członkiem Wydziałowej Komisji ds. Nagród dla Pracowników Niebędących Nauczycielami Akademickimi, Przewodniczącym Instytutowego Zespołu ds. Dydaktyki i Jakości Kształcenia. Kandydat był również (2019-2020) członkiem Rady Naukowej Wydziału Nauk Biologicznych, obecnie w kadencji 2020-2024 jest członkiem uczelnianej Komisji Wyborczej, w której pełni rolę zastępcy przewodniczącego. Od roku 2021 jest koordynatorem Wydziału Nauk Biologicznych ds. Współpracy z Gospodarką i w ramach tych obowiązków był członkiem Doraźnej Komisji ds. Opracowania Strategii Rozwoju Dyscypliny Naukowej Wydziału Nauk Biologicznych. Za swoją działalność organizacyjną w latach 2019, 2021 oraz 2022 otrzymał nagrody Rektora UKW.

### **Działalność popularyzująca naukę**

W działalność popularyzującą naukę habilitant był zaangażowany od samego początku pracy na stanowisku naukowo-technicznym w Zakładzie Biotechnologii UKW. W latach 2009-2018 w ramach „Dni Nauki”, czy „Bydgoskiego Festiwalu Nauki” wygłaszał szereg wykładów oraz organizował warsztaty (9) promując wiedzę na tematy zbieżne z jego aktywnością naukową. Brał czynny udział Partnerskim Projekcie Szkół Comenius LLP 2013-2015 w ramach programu ERASMUS+, gdzie wygłaszał wykłady i organizował warsztaty dla młodzieży i dzieci. W latach 2019 – 2022 zrealizowałem serię warsztatów w ramach współpracy uczelni ze szkołami z regionu kujawsko-pomorskiego w projekcie „Z przyrodą za pan brat”. Dodatkowo Habilitant sprawował opiekę naukową na studentami prezentującymi wyniki swoich badań w trakcie cyklicznie organizowanej konferencji studenckiej „Biotechnologia: dziś na Uniwersytecie Technologiczno-Przyrodniczym, jutro w regionie kujawsko-pomorskim” (2011 – 2014 oraz 2017 – 2018).

### **Wniosek końcowy**

Na podstawie dokonanej oceny dorobku naukowego dr Dawida Mikulskiego, w tym wydzielonego cyklu powiązanych tematycznie publikacji, stanowiących osiągnięcie naukowe oraz dorobku dydaktycznego, organizacyjnego, działań na rzecz popularyzacji nauki stwierdzam, że osiągnięcia i dorobek naukowy stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne. Tym samym spełnianie zostały wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt 2. i 3. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (tekst jednolity Dz. U. 2022 r. poz. 574).

W związku z powyższym **wyrażam pozytywną opinię** i wnoszę o dopuszczenie Pana dr Dawida Mikulskiego do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauki biologiczne.

*Wojciech Gurnfema*

Poznań, 20.12.2023 r.