

Bydgoszcz 07.07.2023 r.

dr hab. inż. Grzegorz Kłosowski, prof. uczelni
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy
Wydział Nauk Biologicznych
Katedra Biotechnologii
ul. Księcia Józefa Poniatowskiego 12

RECENZJA

**pracy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Kobus, wykonanej na
Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej,
pod kierunkiem promotor dr hab. inż. Edyty Kordialik-Bogackiej, prof. PŁ,
pt.: "STRATY EKSTRAKTU
W PROCESIE PRODUKCJI PIWA"**

Recenzja została przygotowana na wniosek Dziekan Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej dr hab. inż. Anny Diowks prof. uczelni, w związku z uchwałą nr 47/2023 Rady ds. Stopni Naukowych Politechniki Łódzkiej z 23 maja 2023 r.

PODSTAWOWE DANE O KANDYDATCE

Pani Katarzyna Kobus 11 października 2016 uzyskała tytuł zawodowy magistra na kierunku biotechnologia w specjalności technologia fermentacji i mikrobiologia techniczna, na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej. Z otrzymanej dokumentacji wynika, że kandydatka nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora.

PRZEDSTAWIENIE INFORMACJI O OCENIANEJ ROZPRAWIE DOKTORSKIEJ

Podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora przez mgr inż. Katarzynę Kobus, jest rozprawa doktorska w formie monografii zatytułowana: "Straty ekstraktu w procesie produkcji piwa".

Rozprawa jest obszerna i liczy łącznie 146 stron maszynopisu. Spis treści jest precyzyjny i obejmuje 11 rozdziałów (podzielonych na podrozdziały): Wstęp; Wprowadzenie; Geneza i cel pracy (uzasadniający potrzebę realizacji przedmiotowych badań); Hipotezy badawcze; Charakterystyka prac badawczych; Materiały i metody; Wyniki i dyskusja (obszerny rozdział, liczący 59 stron); Wnioski; Bibliografia oraz Streszczenie i Abstract. Zatem układ rozprawy jest typowy, nie odbiega od standardu spotykanego w typowych rozprawach o charakterze naukowo-badawczym. Generalnie rozprawa cechuje się logicznym, uporządkowanym układem treści. Nietypowe wydaje się przywoływanie w podrozdziale 2.4. *Straty techniczne i operacyjne w procesie produkcji piwa*, należącym do wstępu, niektórych wyników uzyskanych w efekcie prac badawczych, np.: *Przeprowadzone badania pokazały, że największe straty ekstraktu powstają podczas filtracji zacieru (str. 36). Porównano straty ekstraktu występujące podczas filtracji zacieru przed i po wymianie płócien filtracyjnych*

(Tabela 1.). W ramach pracy doktorskiej ograniczono straty ekstraktu w procesie produkcji brzeczki 24 °Plato (str.37).

Cytowane w treści rozprawy piśmiennictwo, w znacznej części anglojęzyczne, obejmuje zarówno starsze doniesienia jak też liczne, najnowsze publikacje z ostatnich pięciu lat opublikowane w renomowanych periodykach naukowych. Wykaz ten obejmuje 181 pozycji, dobranych w pełni adekwatnie do tematyki rozprawy.

Forma i sposób przedstawienia rezultatów, zostały w sposób umiejętny dostosowane do wybitnie wdrożeniowego charakteru pracy. Treść rozprawy została generalnie zaprezentowana w sposób zwięzły i zrozumiały, poprawny pod względem językowym. Sposób formułowania myśli i język są precyzyjne. Szata graficzna (w tym i tabele) jest estetyczna i dobrze zaprojektowana. Drobne usterki edytorskie, zwłaszcza tzw. literówki pojawiają się na różnych stronach, podobnie jak usterki językowe i interpunkcyjne, niezręczne sformułowania i skrótomyślowe, których przykłady przedstawiam poniżej:

- str. 6 - „Straty ekstraktu mogą być określane nie tylko dla całego procesu produkcyjnego, ale także w kolejnych etapach przetwarzania”. Biorąc pod uwagę, że proces produkcyjny/technologiczny w browarnictwie kończy się uzyskaniem gotowego, najczęściej konfekcjonowanego wyrobu w postaci piwa, nie jest jasne, jakiego rodzaju kolejne etapy przetwarzania miała na myśli Doktorantka.
- str. 10 – „ β -amylaza rozszczepia maltozę od nieredukującego końca łańcuchów amylozy i amylopektyny...”; „Natomiast α -amylaza jest enzymem rozkładającym skrobię do dekstryn”. Sądzę, że w przypadku pierwszego stwierdzenia właściwe byłoby wskazanie, że β -amylaza powoduje odłączenie cząsteczki maltozy od nieredukującego końca łańcuchów amylozy i amylopektyny. Z kolei opisując biokatalizatory uczestniczące w procesie hydrolizy enzymatycznej polisacharydów, właściwsze wydaje się określenie, że efektem ich działania jest degradacja a nie rozkład, w tym przypadku skrobi.
- str. 17 – „Takie strategie obejmują fermentowanie brzeczki o dużym stężeniu, metody zapewniającej wysoką wydajność konwersji cukru do alkoholu etylowego oraz skrócenie czasu cyklu produkcji”. Jest to zapewne skrót myślowy i niefortunna składnia. Doktorantka miała zapewne na myśli wzrost produktywności z jednostki objętości kadzi fermentacyjnych, gdyż sama technologia HGB nie gwarantuje wysokiej wydajności biokonwersji cukrów fermentujących na etanol. Czynniki stresu środowiskowego (osmotyczny, etanolowy) mogą wręcz wpływać negatywnie na efektywność fermentacyjną drożdży.
- Str. 25 – „Zapewnienie koloidalnej, jest jednym z kluczowych wyzwań dla piwowarów, biorąc pod uwagę modyfikacje składu surowcowego i użycie innych dodatków”. Po słowie zapewnienie brakuje rzeczownika *stabilności*.
- Str. 28 – „Pomiary laboratoryjne powinny odbywać się na urządzeniach kalibrowanych na wzorzec”. Niefortunny styl w zdaniu.
- Str. 46, hipoteza 11 – „Wdrożenie zmian technicznych i technologicznych doprowadzi optymalizacja procesu filtracji prowadzi do całkowitego wyeliminowania strat ekstraktu na tym etapie.” Zdanie to wymaga przeformułowania, aby przekaz był jednoznaczny i w pełni zrozumiały.

Powyższe usterki, których trudno całkowicie uniknąć w tego typu opracowaniach, nie mają wpływu na wartość merytoryczną rozprawy, zatem nie widzę potrzeby ich szczegółowego wyliczania.

Ogólny cel recenzowanej rozprawy doktorskiej obejmował ocenę procesu produkcji piwa pod kątem zidentyfikowania etapów procesu charakteryzujących się wysokimi stratami ekstraktu oraz wdrożenie działań polegających na minimalizowaniu strat bez negatywnego wpływu na jakość piwa, stan fizjologiczny drożdży i produktywności zakładu.

Niewątpliwym wyzwaniem podjętym przez Doktorantkę jest analiza krytyczna licznych elementów istniejącej technologii, które mogą być przedmiotem modyfikacji lub optymalizacji dla uzyskania założonego celu. Biorąc pod uwagę brak wpływu producentów piwa na niestabilność cen podstawowych surowców niezbędnych do produkcji, cele wskazane przez Doktorantkę i podjęta problematyka technologiczna i badawcza przedstawiają się niezwykle aktualnie. W tym aspekcie zakres zrealizowanych prac badawczych jest bardzo obszerny (obejmuje aż 12 zadań) i właściwie dobrany pod względem możliwości uzyskania wskazanych celów. Obejmuje kluczowe elementy procesu technologicznego, mogące mieć wpływ na straty ekstraktu. Należy zauważyć w pozytywnym aspekcie, że pomimo wdrożeniowego charakteru rozprawy doktorskiej, autorka nie zrezygnowała ze sformułowania hipotez badawczych, co nie jest powszechne dla tego rodzaju rozpraw. Jest ich jedenaście, co wynika zapewne z bardzo szerokiego spektrum zidentyfikowanych i opisanych poprawnie problemów technologicznych.

Metody badawcze zostały szczegółowo opisane w rozdziałach *V. Charakterystyka prac badawczych* oraz *VI. Materiały i metody*. Wskazana przez Doktorantkę metodologia realizacji prac badawczych w skali pełnotechnologicznej browaru o zdolności produkcyjnej na poziomie 1 miliona hektolitrowo rocznie, jest właściwa dla osiągnięcia zaplanowanych celów i weryfikacji sformułowanych hipotez badawczych. Ciąg technologiczny obejmował dwie kadzie zacierne, kadź filtracyjną i filtr zacierowy, kocioł warzelny, kadź wirową, 12 fermentorów o objętości 2700 hl brutto oraz 9 kadziach otwartych o objętości 450 hl brutto. Miesięczna produkcja kształtowała się na poziomie 110 000 hl piwa młodego. Wykorzystane surowce zostały opisane właściwie. Pewna niejasność w rozdziale *VI Materiały i metody*, podrozdział. *6.1. 6Materiały badawcze, pkt. 1. Surowce skrobiowe*, pojawia się na stronie 49 w podpunkcie *e) Płynny cukier, Do produkcji piw i brzeczek stosowano płynny cukier o zawartości suchej masy wynoszącej od 68,5 do 70% i o pH 4,0*. Powszechnie używa się określenia cukier płynny w odniesieniu do produktów uzyskanych na bazie cukru buraczanego, zawierających sacharozę. Ponieważ w w/w punkcie nr 1 wymienione są surowce skrobiowe, w tym hydrolizaty w postaci syropu glukozowego, przypisanie tego produktu wydaje się niepoprawne, chyba, że jest to jakaś inna forma surowca zawierającego cukry fermentujące uzyskane z przetwórstwa skrobi, co wymaga doprecyzowania. Również woda jako podstawowy surowiec dla procesu browarniczego nie została scharakteryzowana w stopniu adekwatnym do roli jaką odgrywa w procesie technologicznym produkcji piwa (str. 49). Metody analityczne zostały poprawnie dobrane do rodzaju prac badawczych i obejmują zarówno analizy klasyczne parametrów fizykochemicznych piwa, właściwe dla technologii browarniczej (podano stosowne odnośniki referencyjne), jak również nowoczesne metody analizy instrumentalnej oparte na chromatografii gazowej ze spektrometrią mas oraz wykorzystaniem techniki headspace. Te ostatnie wykorzystano do analizy lotnych produktów ubocznych fermentacji zawartych

w piwie. Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu R-Studio (jednokierunkowa analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a, $p < 0,05$).

OCENA CZĘŚCI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ DOTYCZĄCEJ OMÓWIENIA WYNIKÓW BADAŃ

Oceniana rozprawa doktorska obejmuje obszerny zakres danych eksperymentalnych przedstawionych i omówionych na 59 stronach. Pomimo tego Doktorantka zaprezentowała uzyskane rezultaty w sposób przejrzysty, jednoznaczny i zrozumiały. Dane zestawiono w poprawnie skonstruowanych tabelach (w liczbie 28), zamieszczonych w bezpośrednim sąsiedztwie opisu i interpretacji danych, co znacznie ułatwia lekturę. Zwraca uwagę umiejętność wyselekcjonowania najważniejszych oryginalnych ustaleń naukowych, których jest wiele, są znaczące i zostały precyzyjnie opisane. Wymienianie ich wszystkich byłoby trudne bez zwiększenia objętości recenzji ponad przyjęte standardy, zatem poniżej przytaczam wybrane, oryginalne osiągnięcia Doktorantki, które uważam za najistotniejsze:

- W zakresie oceny możliwości użycia pyłu słodowego do zacierania Doktorantka wykazała, że jego dodatek w ilości 80 kg na warkę powodował obniżenie strat ekstraktu brzezki o odpowiednio 0,5 i 0,6 p.p. w produkcji brzezki 16,5 °Plato z użyciem śruty o wielkości cząstek 2,5 mm i stosunku wody do śruty 2,50:1 i 2,65:1.
- Zwiększono wydajność pozyskania ekstraktu poprzez optymalizację procesu śrutowania słodu i surowców niesłodowanych z zastosowaniem drobniejszego przemiału. Jednakże, drobniejszy przemiał wydłużył czas filtracji brzeczek z 45% udziałem jęczmienia w zasypie oraz powodował szybsze zatykanie się płócien filtracyjnych, natomiast nie miał wpływu na mętność zimnej brzezki, z wyjątkiem brzezki 17,1 °Plato.
- Wykazano wpływ zużycia bijaków w śrutowniku młotkowym na wydajność pozyskania ekstraktu. Najwyższe poziomy ekstraktu niewymywalnego odnotowano przed wymianą bijaków, gdy zacier był przygotowywany ze śruty słodowej o wielkości cząstek 2,5 mm. Nadmierna eksploatacja bijaków i grubszy przemiał surowca skutkowało podwyższoną zawartością ekstraktu niewymywalnego w młócie.
- W efekcie zwiększenia gęstości zacieru uzyskano zmniejszenie strat ekstraktu w brzezce zarówno przy filtracji w filtrze zacierowym jak i kadzi filtracyjnej. Jednak zwiększenie stosunku śruty do wody w produkcji brzeczek o 45% zawartości jęczmienia spowodowało wydłużenie filtracji zacieru spowodowane blokowaniem płócien filtracyjnych. Najniższe straty ekstraktu podczas produkcji, odnotowano gdy brzezki o 17,1 °Plato były przygotowywane metodą dekokcyjną ze śruty zmieszanej z wodą w proporcjach 2,75:1 i filtrowany w filtrze zacierowym oraz 2,85:1, gdy był filtrowany w kadzi filtracyjnej.
- Wykazano, że dodatek osadów gorących do młóta znajdującego się w kadzi filtracyjnej podczas wysładzania nie wpłynął na zwiększenie ilości ekstraktu w brzezce. Obserwowano wzrost zmętnienia zimnej brzezki, lecz bez wpływu na wzrost zmętnienia piwa po fermentacji. Zaobserwowano też wyższy przyrost biomasy drożdży po procesie fermentacji, co miało związek ze skróceniem czasu jej trwania o pół doby.

Ocena sensoryczna piw po fermentacji głównej nie wykazała różnic pomiędzy piwem wyprodukowanym z dodatkiem i bez dodatku osadów gorących.

- Ustalono, że zwiększanie dawki drożdży i redukcja intensywności napowietrzania brzezki wpływały na zmniejszenie przyrostu biomasy drożdży oraz liczby komórek zawieszonych w fermentującym piwie. Zastosowanie dużej dawki inokulum pozwoliło obniżyć straty ekstraktu. Co istotne, w gęstwie drożdżowej po fermentacji piw wyprodukowanych z użyciem dużej dawki drożdży liczba komórek martwych nie przekraczała 5%.
- Redukcja intensywności napowietrzenia brzezki i zwiększenie dawki drożdży nastawnych w badanych zakresach nie wywarły istotnego wpływu na cechy sensoryczne piwa, zwłaszcza smak oraz stężenie etanolu.
- Badania wpływu wprowadzonych zmian technologicznych na skład i stężenie lotnych produktów ubocznych fermentacji wykazały, że najwyższe stężenie wyższych alkoholi, estrów i aldehydu octowego występowało, gdy do fermentacji użyto drożdży w ilości 1,0 kg/hl i ograniczono napowietrzanie z 15 m³ do 12 m³. Natomiast redukcja ilości powietrza i wzrost dawki drożdży nastawnych w zakresie od 1,0 do 1,3 kg/hl przyczyniły się do redukcji stężeń alkoholi wyższych, estrów i aldehydu octowego odpowiednio o 52%, 32% i 15%.
- Stwierdzono, że duże dawki drożdży ograniczają przyrost ich biomasy, ale nie wpływa to na liczbę komórek martwych do piątej generacji. Oceniano wpływ partii zebranych drożdży na szybkość przeprowadzania procesu fermentacji stwierdzając, że czas fermentacji piwa zależy od ilości komórek drożdży nastawnych, czynników stresowych podczas fermentacji oraz partii drożdży użytych do fermentacji. Dodatkowo skład surowcowy brzezki ma znaczenie przy seryjnym przeszczepianiu drożdży do kolejnych brzezek nastawnych, między innymi na możliwość hamowania adsorpcji maltozy i maltotriozy z uwagi na występowanie mechanizmu represji przez glukozę.
- Stwierdzono, że proces fermentacji z udziałem drożdży pochodzących z pierwszego zbioru zachodził szybciej niż z udziałem drożdży z drugiego zbioru. Czas fermentacji był krótszy, gdy stosowano kolejne generacje drożdży z wyjątkiem generacji piątej. W pokoleniach drożdży od drugiego do piątego nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w zawartości komórek martwych w kolejnych pokoleniach. Najwyższa zawartość komórek martwych wynosiła 4,5%, spełniając tym samym kryteria stawiane drożdżom nastawnym. Generacja użytych drożdży nie wpłynęła istotnie na stężenie estrów i wyższych alkoholi w piwie. Zawartość wyższych alkoholi zależała od składu brzezki i była istotnie wyższa w przypadku piwa B otrzymywanego ze słodu, syropu glukozowego i grysu kukurydzianego. Zawartość aldehydu octowego była zależna od składu surowcowego i generacji użytych drożdży.
- Ocena rodzaju użytych surowców skrobiowych i środków pomocniczych na stabilność koloidalną piwa wykazała, że częściowe zastąpienie słodu śrutą kukurydzianą i syropem cukrowym lub jęczmieniem browarnianym oraz dodatek egzogennych proteaz i karagenu wpływa na powstawanie zmętnienia podczas przechowywania piwa. Pomiar i regulacja zawartości azotu koagulującego daje możliwość oszacowania i zmniejszenia potencjału tworzenia się zmętnień. Ustalono, że stabilność koloidalną piwa

produkowanego z niesłodowanego jęczmienia można poprawić poprzez uzupełnienie zacieru/brzezki i/lub brzezki nastawnej egzogennymi proteazami i karagenem. Piwa z dodatkiem śruty kukurydzianej i syropu skrobiowego wykazały również znacząco zwiększoną trwałość koloidalną. Wyniki tych badań pokazują, że staranny dobór surowców i środków pomocniczych może znacząco poprawić stabilność koloidalną piw produkowanych na skalę przemysłową.

- Optymalizacja warunków wirowania piwa młodego wykazała, że dawka wapnia wynosząca od 60 do 80 mg/dm³ jest wystarczająca, aby utrzymać właściwą flokulację drożdży. Wirowanie piwa w temperaturze fermentacji 13°C oraz podczas chłodzenia w temperaturze od 5 do 9 °C generowało najmniejsze straty ekstraktu.
- Odzyskiwanie piwa z drożdży niewykorzystanych do procesu fermentacji zmniejszyło straty ekstraktu piwa o 0,3 p.p. w skali roku. Wyznaczono minimalny poziom ekstraktu produkowanych piw, aby stężenie alkoholu mieściło się w zakresie dopuszczalnego odchylenia, co pozwoliło na obniżenie strat technologicznych do -1,74%. Wytypowano piwa, których produkcja powoduje zwiększone straty ekstraktu ze względu na otrzymanie piwa o zbyt małej zawartości alkoholu po standaryzacji piwa stężonego. W toku przeprowadzonych prac wyznaczono nowe parametry dla piw stężonych oraz wdrożono procedury produkcji piw przynoszących straty ekstraktu.

Doktorantka wykazała też, że wdrożenie wymienionych wyżej efektów optymalizacji technologii produkcji piwa pozwoliło na obniżenie strat ekstraktu w procesie produkcji piwa o 1,7% w skali roku, przy wzroście produkcji o 13% bez zmiany infrastruktury działu warzelni i fermentacji oraz bez pogorszenia jakości piwa. Ponadto wskazano, że działania ograniczające straty ekstraktu brzezki i piwa przyczyniają się do redukcji strat środków chemicznych, wody i energii elektrycznej podczas mycia w systemie CIP oraz strat ditlenku węgla w trakcie napełniania zbiorników BBT piwem.

Dyskusja wyników jest elementem rozprawy, który zawiera uwagę w pozytywnym aspekcie. Doktorantka sprawnie omawia i analizuje uzyskane wyniki, biorąc pod uwagę różne analizowane zmienne. Potwierdza to umiejętność prowadzenia merytorycznej dyskusji na temat niezwykle złożony jakim jest identyfikacja czynników procesowych na poszczególnych etapach produkcji piwa, charakteryzujących się wysokimi stratami ekstraktu oraz wdrożenie działań je ograniczających bez negatywnego wpływu na jakość piwa, stan fizjologiczny drożdży i produktywność zakładu. Sprawnie poprowadzona dyskusja świadczy też o dobrej znajomości literatury w obszarze tematyki rozprawy. Sformułowane wnioski są liczne, co wynika z konieczności odniesienia się do równie licznych hipotez badawczych.

PODSUMOWANIE RECENZJI

Przedłożona do oceny dysertacja Pani mgr inż. Katarzyny Kobus ma formę oryginalnej pracy wdrożeniowej (Art. 187. 3. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce) i jest efektem szerokiego zakresu prac badawczych zrealizowanych w skali pełnoprodukcyjnej. Rozprawa doktorska została napisana w sposób zwięzły i zrozumiały oraz sprawnie zredagowana pod względem językowym i edytorskim. Stwierdzam, że dysertacja stanowi oryginalne i wieloaspektowe opracowanie naukowe, w którym Autorka uwzględniła

w sposób kompleksowy uwarunkowania surowcowe, mikrobiologiczne i technologiczne mogące wpływać na straty ekstraktu podczas procesu technologicznego produkcji piwa. Prezentowane rezultaty stanowią nie tylko poszerzenie aktualnej wiedzy w tym obszarze, ale cechuje je wybitnie wdrożeniowy charakter. Doktorantka sprawnie sformułowała temat, cel główny i hipotezy badawcze, poprawnie zaplanowała i przeprowadziła prace eksperymentalne, umiejętnie wykorzystwała narzędzia badawcze, analityczne i statystyczne, co podnosi znacząco rangę ustaleń naukowych prezentowanych w rozprawie.

Przedłożona do oceny praca doktorska stanowi wartościowe, oryginalne podejście do rozwiązania trafnie sformułowanych problemów badawczych i technologicznych, jak również potwierdza zaawansowaną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie przedmiotu rozprawy i wskazanej dyscypliny naukowej tj. technologii żywności i żywienia. Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, wysokimi kompetencjami i umiejętnością użycia nowoczesnego zestawu metod badawczych i analitycznych oraz interpretacji wyników. Pomimo kilku krytycznych uwag, głównie natury redakcyjnej i interpretacyjnej uważam, że oceniana rozprawa stanowi opracowanie spełniające wymagania stawiane pracom doktorskim określone w ustawie. W związku z powyższym wnioskuję do Rady ds. Stopni Naukowych Politechniki Łódzkiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Kobus do dalszych etapów postępowania.

Z uwagi na aktualność podjętej tematyki badawczej, szeroki zakres zrealizowanych zadań badawczych, wybitnie wdrożeniowy charakter i wynikające z niego efekty ekonomiczne dla browaru, zgłaszam wniosek o wyróżnienie przedłożonej rozprawy doktorskiej, stosownie do zasad obowiązujących w Politechnice Łódzkiej.

dr hab. inż. Grzegorz Kłosowski, prof. uczelni

