

Wrocław, 30.09.2024

prof. dr hab. inż. Joanna Kawa-Rygielska,  
Katedra Technologii Fermentacji i Zbóż  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

## **RECENZJA**

pracy doktorskiej mgr inż. Olgi Hrabia

pt. „**Chmielenie piwa na zimno – wybrane aspekty technologiczne i jakościowe**”

wykonanej pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Aleksandra Poredy, prof. URK,

na Wydziale Technologii Żywności

Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

### **1. Podstawa opracowania recenzji**

Podstawą formalną opracowania niniejszej recenzji jest pismo Przewodniczącego rady dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK, z dnia 30 lipca 2024.

### **2. Dobór i znaczenie tematu**

Praca doktorska mgr inż. Olgi Hrabia pt. „Chmielenie piwa na zimno – wybrane aspekty technologiczne i jakościowe” stanowi spójny tematycznie cykl sześciu publikacji.

Obecnie zarówno przemysł jak i świat nauki koncentruje się na poszukiwaniu nowych rozwiązań technologicznych, które wpływają, na jakość i stabilność produktu gotowego oraz kształtują jego cechy sensoryczne. W technologii piwowarstwa jednym z kluczowych surowców wpływającym na cechy sensoryczne i jakość produktu jest niewątpliwie chmiel. W tradycyjnej technologii browarniczej proces chmielenia z udziałem chmieli goryczkowych czy aromatycznych odbywa się podczas procesu gotowania brzezki. W procesie tym, ze względu na wysoką temperaturę część związków, zwłaszcza aromatycznych jest tracona. Dlatego też w technologii piwowarstwa wprowadzono technikę chmielenia na zimno m.in. w celu zapewnienia wyraźnego aromatu i smaku chmielowego w piwie. Wprowadzenie nowych rozwiązań technologicznych wymaga szczegółowej analizy wpływu czynników i parametrów na przebieg procesu i jego efekty. Uzyskane rezultaty mogą przyczynić się do

lepszego poznania zjawisk towarzyszących wprowadzanym rozwiązaniom w praktyce. Ta idea badań przyświecała również przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej. Tematyka pracy wpisuje się w trendy poszukiwania nowych rozwiązań technologicznych i oceny ich wpływu na cechy produktu gotowego. Oprócz aspektów naukowych, wybór tematyki badawczej jest trafny i wartościowy pod względem aplikacyjnym. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań wpisują się w trendy i założenia rozwoju technologii piwowarstwa, a szczególnie uzupełniają dostępną wiedzę na temat wpływu procesu chmielenia na zimno na jakość produktu gotowego. Uzyskane wyniki w istotny sposób mogą posłużyć do rozwoju dyscypliny technologia żywności i żywienia.

### **3. Formalna ocena pracy**

Przedstawiona do oceny rozprawa liczy 41 stron tekstu i zawiera: streszczenie, słowa kluczowe w języku polskim i angielskim, wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, wstęp i przegląd literatury, cel pracy, metody analityczne wykorzystane w pracy, omówienie wyników, wnioski, literaturę oraz dodatkowo kserokopie artykułów stanowiących cykl publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami współautorów. Cytowane piśmiennictwo obejmuje 62 pozycje, w tym zdecydowana większość stanowi oryginalne prace twórcze o zasięgu międzynarodowym. Literatura z ostatnich 5 lat obejmuje kilkanaście pozycji. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o sześć publikacji wydanych w latach 2019-2024 w recenzowanych czasopismach naukowych, w tym w dwóch z listy JCR: 1 publikacja w czasopiśmie *Food Chemistry* (IF=8,8, MEiN=200 pkt), 1 publikacja w *Journal of the American Society of Brewing Chemistry* (IF=2,062, MEiN=40 pkt) oraz w 4 publikacjach spoza listy listy JCR w czasopiśmie *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo - Warzywny* (MEiN = 20pkt). Sumaryczny wskaźnik IF publikacji wynosi 10,862; a liczba punktów MEiN = 320. Dwie publikacje stanowią prace przeglądowe, cztery eksperymentalne. Wszystkie publikacje są opracowaniami zbiorowymi (od 2 do 6 autorów), w 6 pracach mgr inż. Olga Hrabia jest pierwszym autorem. Z oświadczeń współautorów wynika, że Autorka niniejszej rozprawy miała znaczący udział w realizacji prac na poziomie od 60 do 80%, polegał on na m.in. na współtworzeniu koncepcji pracy, wykonaniu przeglądu literatury, wykonaniu eksperymentów, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptów oraz pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

#### 4. Ocena merytoryczna rozprawy

Tytuł recenzowanej pracy doktorskiej koresponduje z jej treścią. W streszczeniu Doktorantka przedstawiała: genezę, cel badań, oraz główne osiągnięcia pracy. Wprowadzeniem w tematykę badawczą realizowaną w ramach pracy doktorskiej są rozdziały zatytułowane „wstęp i przegląd literatury”. W rozdziałach tych Doktorantka nakreśliła wyzwania współczesnego browarnictwa. Zwróciła uwagę na kluczową rolę jednego z surowców w procesie technologicznym, jakim jest chmiel i jego przetwory. Doktorantka przedstawiła charakterystykę chmielu oraz jego skład. Znaczną część opracowania poświęciła analizie czynników wpływających na stabilność przechowalniczą i jakość chmielu. Ponadto opisała wpływ tego surowca na cechy jakościowe i sensoryczne gotowego piwa. Zwróciła uwagę na wzrost zainteresowania procesem chmielenia na zimno, wskazując jednocześnie na potencjał jego wykorzystania w technologii projektowania piw o wysokim potencjale antyoksydacyjnym, bogatym i zróżnicowanym smaku i aromacie. Na tle dostępnej literatury uzasadniła potrzebę podjęcia badań mających na celu poznanie zjawisk towarzyszących procesowi chmielenia na zimno, takich jak np. wpływ procesu na stabilność oksydacyjną piwa, czy występowanie zjawiska wtórnej fermentacji (*hop creep*).

Analiza i charakterystyka dostępnej literatury skłoniła Doktorantkę do podjęcia prac badawczych ukierunkowanych na szczegółową charakterystykę procesu zimnego zacierania w kontekście opisanych powyżej zjawisk. Rozdział ten został przygotowany z należytą starannością w oparciu o przegląd literatury i stanowi dobre wprowadzenie do części eksperymentalnej.

Przedmiotem pracy było poszerzenie wiedzy na temat praktycznych aspektów chmielenia na zimno z uwzględnieniem wpływu tego procesu na zmiany jakościowe produktu gotowego. Autorka sformułowała cel główny oraz 8 hipotez badawczych. Cel pracy poddano weryfikacji w ramach kolejno zaplanowanych eksperymentów, które Doktorantka zrealizowała w pięciu etapach badań. Podczas lektury tej części pracy nasuwa się pytanie, dlaczego Autorka podkreśla, że głównym celem pracy było określenie „niepożądanych” zmian jakościowych piwa po procesie chmielenia na zimno w kontekście postawionych hipotez 2 i 3 podkreślających wpływ procesu na zwiększenie stabilności oksydacyjnej piwa.

Zakres prac prowadzonych przez Doktorantkę w ramach przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej był wystarczający do zweryfikowania postawionych hipotez badawczych. Do jego realizacji wykorzystano rekomendowane techniki badawcze, w tym również metody rekomendowane w analityce EBC, oraz odpowiednią aparaturę. Wśród wielu badań na podkreślenie zasługują m.in.: analiza współczynnika starzenia chmielu (HSI), pomiar

stabilności oksydacyjnej piwa poprzez monitorowanie intensywności tworzenia się w piwie wolnych rodników w czasie metodą ERS (spektroskopii elektronowego rezonansu spinowego), analiza zawartości polifenoli, wybranych jonów metali za pomocą optycznej spektrometrii emisyjnej ze sprzężoną indukcyjnie plazmą (ICP-OES), ocena parametrów fizykochemicznych piwa, posiewy mikrobiologiczne, identyfikacja obecności drożdży dzikich *Brettanomyces* (metodę Viriflow BREWDEK opartą na metodzie PCR). Materiałem wyjściowym do badań były preparaty chmielowe różnych odmian.

Kluczową częścią autoreferatu jest syntetyczne omówienie osiągnięć badawczych opisanych w poszczególnych pracach składających się na przedstawioną do oceny rozprawę doktorską.

Początkowe prace eksperymentalne Doktorantki dotyczyły oceny stabilności przechowalniczej granulatu chmielowego dwóch odmian ( Sybilla, Cascade) w różnych warunkach przechowalniczych (czynnikiem różnicującym była temperatura oraz dostęp lub brak dostępu powietrza). Kryterium oceny jakości przechowywanych chmieli była m.in.: analiza współczynnika HSI (Hops Storage Index). W efekcie przeprowadzonych badań Doktorantka wykazała, że utlenienie związków goryczkowych w badanych odmianach chmielu zachodziło z różną intensywnością i było skorelowane nie tylko z warunkami przechowywania, ale także z odmianą chmielu. W warunkach najbardziej sprzyjających utlenianiu (w temp. 25°C z dostępem powietrza) prawie dwukrotnie większe straty alfa – kwasów obserwowano w odmianie Sybilla w porównaniu z chmielem Cascade. Wykazano, iż w niższych temperaturach przechowywania wzrost wskaźnika HSI obserwowano wyłącznie w obecności dostępu powietrza. W próbach referencyjnych, przechowywanych w warunkach próżniowych, pogorszenie parametrów jakościowych chmielu obserwowano jedynie w najwyższej temperaturze.

Przedmiotem kolejnych badań była ocena wpływu procesu chmielenia na zimno na stabilność oksydacyjną i potencjał antyoksydacyjny produktu gotowego. W tym celu komercyjne piwo typu lager poddano chmieleniu na zimno sześcioma odmianami chmielu (trzema polskimi i trzema amerykańskimi), w różnych wariantach temperatury (5 i 20°C). Autorzy wykazali, że stasowane parametry procesu wpływały na ekstrakcję związków chmielu do piwa oraz jego stabilność oksydacyjną. Ponadto Autorzy wykazali istotny wzrost zawartości polifenoli w próbach chmielonych na zimno z udziałem wszystkich badanych chmieli w porównaniu do próby kontrolnej. Istotnym czynnikiem wpływającym na ekstrakcję polifenoli z chmielu była temperatura procesu, w wyższej temperaturze obserwowano wzrost zawartości polifenoli nawet o 25%, niezależnie od użytej odmiany chmielu. Ponadto zbadano

stężenie jonów żelaza, miedzi i manganu w preparatach chmielowych i uzyskanych piwach. Wykazano, że chmielenie na zimno w temp. 20°C spowodowało spadek poziomu żelaza w piwach nawet o 30 % oraz wzrost zawartości jonów manganu. W efekcie przeprowadzonych badań wykazano, że proces chmielenia na zimno wpłynął pozytywnie na stabilność oksydacyjną piwa, mierzoną za pomocą spektroskopii ESR. Wartości parametrów „lag time” (czasu po którym następuje tworzenie wolnych rodników) oraz *oxidation rate* (tempa powstawania wolnych rodników) były zależne od odmiany użytego chmielu. W badaniach wykazano także silną dodatnią korelację pomiędzy: stężeniem jonów żelaza w piwie a szybkością tworzenia rodników (*oxidation rate*), oraz stężeniem polifenoli a czasem, po którym następuje tworzenie wolnych rodników w piwie (*lag time*). Powyższe badania zostały zrealizowane we współpracy z naukowcami z zagranicznych ośrodków naukowych z Belgii i Danii, a ich efekty opublikowano w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania IF, Food Chemistry.

W kolejnych doświadczeniach Doktorantka oceniła wpływ odmiany i ilości chmielu na intensywność zjawiska wtórnej fermentacji (*hop creep*), podczas chmielenia na zimno. Przedmiotem badań były cztery polskie odmiany chmielu, dwie dawki chmielenia (5 i 15 g/l), czas procesu wynosił 72 h. Podczas procesu chmielenia Autorzy obserwowali wpływ badanego procesu na obniżenie zawartości ekstraktu pozornego, wzrost zawartości etanolu czy zmiany wartości pH produktu gotowego w porównaniu do prób referencyjnych. Autorzy wykazali wpływ dawki chmielu na badane parametry. Wraz ze wzrostem dawki chmielu w procesie chmielenia na zimno obserwowano wyższy stopień odfermentowania oraz wzrost wartości pH produktu gotowego.

Następnie Doktorantka kontynuowała badania nad wpływem warunków procesu na intensywność zjawiska „*hop creep*” (wtórnej fermentacji). Prowadzono badania na piwach przed i po procesie pasteryzacji, stosując dwie odmiany chmielu. Zmiany ekstraktu obserwowano do momentu usunięcia chmielu z piw niepasteryzowanych. W próbach piw pasteryzowanych zjawisko wtórnej fermentacji nie zachodziło, a jego parametry fizykochemiczne nie uległy zmianie.

Przedmiotem ostatniej części badań było porównanie wtórnej fermentacji piw chmielonych na zimno w skali pilotażowej (20 l) i komercyjnej (10 hl) oraz zbadanie wpływu ciśnienia w tanku na przebieg zjawiska „*hop creep*”. Stopień odfermentowania piw przygotowanych w skali pilotażowej i komercyjnej był taki sam, parametrem różnicującym był czas trwania procesu. Określenie wpływu warunków procesu i przeniesienie badań z skali laboratoryjnej, pilotażowej do skali komercyjnej jest niezwykle cenne i podnosi wartość aplikacyjną

przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej. Opisane przez Autorów spostrzeżenia i wskazówki praktyczne są cennym źródłem wiedzy dla praktyki przemysłowej w zakresie stosowania procesu chmielenia na zimno w warunkach browaru.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała 11 wniosków. Sposób zredagowania wniosków jest czytelny, a ich strona merytoryczna znajduje uzasadnienie w analizie prezentowanych wyników badań. Treść wniosków potwierdza dokonanie przez Doktorantkę weryfikacji przyjętych założeń badawczych. Wyjaśnienia wymaga wniosek 9, proszę o doprecyzowanie sformułowania „Zjawisko *hop creep* ma charakter ciągły.....”

Zdaniem Recenzenta wnioski powinny być sformułowane w czasie przeszłym, ponieważ odnoszą się do wyników uzyskanych w określonych warunkach, w których prowadzono badania w ramach realizacji pracy doktorskiej.

Uwagi ogólne i szczegółowe:

Pkt. 1 zatytułowany „struktura pracy” powinien być zatytułowany „wykaz publikacji”. W pkt. 6.4 brak podpisu rys. 1, ponadto rys. 1 i 2 są fragmentaryczne, częściowe (nie przedstawiają pełnego schematu). W autoreferacie w części metodycznej brak charakterystyki materiału badawczego. Dobrym uzupełnieniem byłyby również schematy poszczególnych etapów pracy. Tytułem uzupełnienia bądź dyskusji proszę o odpowiedź na nurtujące pytania. Warunki prowadzenia procesu chmielenia na zimno różniły się w każdym eksperymencie jak Doktorantka uzasadnia takie podejście?. Proszę o uzasadnienie wyboru odmian chmielu do poszczególnych etapów prowadzonych eksperymentów, dlaczego w każdym eksperymencie stosowano różne dawki i parametry procesu chmielenia?. Czy oceniano trwałość przechowalniczą piw po procesie chmielenia na zimno?. Jaka jest opinia Doktorantki na temat potencjalnych efektów. Jak proces chmielenia na zimno wpłynął na cechy sensoryczne piwa, czy przeprowadzono ocenę sensoryczną produktów ?.

W pracy pojawiają się błędy stylistyczne czy językowe, tzw. skróty myślowe, określenia potoczne takie jak, np.: „chmiel zaczyna zmieniać swoje właściwości goryczkowe” (str.14); „Na uzyskanych piwach oznaczono...” (str.26); „lag time **mówi o** czasie w jakim piwo **broni** się przed reakcjami utlenienia” (str. 27); „jedna z trzech publikacji skupiających się na temacie **hop creepu**” (str. 28); „różnych dawek chmielenia na zimno” - czy różnych dawek chmielu w procesie chmielenia na zimno (str. 28 pkt. 6.3).

Powyższe uwagi i pytania nie umniejszają wartości pracy i mają charakter dyskusyjny. Oceniana praca doktorska jest oryginalnym dziełem naukowym, w którym Doktorantka wykazała dobre przygotowanie teoretyczne, samodzielność w prowadzeniu badań naukowych, umiejętność posługiwania się nowoczesnymi metodami

analitycznymi. Określony w pracy cel badawczy został zrealizowany. Większość uzyskanych wyników stanowi autorski wkład Doktorantki w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia.

#### **Podsumowanie i wniosek końcowy**

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Olgi Hrabia, pt. „Chmienie piwa na zimno - wybrane aspekty technologiczne i jakościowe” jest oryginalnym i wartościowym opracowaniem. Zawarte w niej wyniki badań są źródłem wiedzy o charakterze naukowym, jak i aplikacyjnym, na temat potencjału wykorzystania procesu chmienia na zimno w technologii piwowarstwa. Doktorantka umiejętnie wykorzystywała narzędzia badawcze, analityczne, a potwierdzeniem tego są publikacje naukowe wchodzące w skład recenzowanej dysertacji. Przedłożoną do recenzji rozprawę doktorską oceniam pozytywnie i stwierdzam, że rozprawa ta spełnia wszystkie ustawowe wymogi i kryteria określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki ( Dz.U. z 2017, poz.1789).

Na tej podstawie wnioskuję do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Olgi Hrabia do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, dnia 30.09.2024 r.

  
Joanna Kawa-Rygielska