

### Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Marka Zdaniewicza pt: „Intensyfikacja procesu fermentacji brzezki piwnej przy użyciu głowicy rotacyjnej w technologii wielko zbiornikowej” przedstawiona Radzie Wydziału Technologii Żywności, Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

W ostatnich dziesięcioleciach nastąpiła znaczna modernizacja i unowocześnienie konstrukcji zbiorników przeznaczonych do prowadzenia procesów technologicznych produkcji piwa. Wprowadzenie tankofermentorów umożliwiło skrócenie czasu fermentacji i dojrzewania, przez stworzenie możliwości prowadzenia obu tych etapów w jednym zbiorniku. Tankofermentory znalazły szerokie zastosowanie w wielu browarach regionalnych, jak i w zakładach międzynarodowych koncernów produkujących na rynki światowe. Ze względów ekonomicznych w browarach stosujących technologię wielozbiornikową dąży się, do skrócenia czasu poszczególnych etapów produkcji piwa, oczywiście z zachowaniem wysokiej jakości oraz powtarzalności składu chemicznego i cech sensorycznych. Jest to argumentem za poszukiwaniem nowych, skutecznych metod intensyfikacji procesu fermentacji i dojrzewania. Nowe technologie i urządzenia tworzą również problemy eksploatacyjne nie występujące dotychczas, a związane z wpływem procesu wymuszonego mieszania na przebieg fermentacji brzezki.

W dotychczas stosowanych technologiach stosowano jedynie naturalne mieszanie wywołane działalnością fermentacyjną drożdży. Badania cytometryczne wykazały, że mieszanie mechaniczne nie powoduje uszkodzeń komórek drożdży, a poprzez zapewnienie lepszej cyrkulacji składników odżywczych brzezki i przemieszczania się komórek drożdży, przyczynia się do skrócenia czasu oraz skuteczniejszego przebiegu procesu fermentacji. Do zintensyfikowania procesu mieszania zaproponowano nowe urządzenie, to jest głowicę rotacyjną, stosowane początkowo do mycia tanków. Pozytywne rezultaty prowadzonych badań stały się czynnikiem zachęcającym do prowadzenia prac badawczo-wdrożeniowych w krajowych browarach. Intensywne mieszanie brzezki w tankofermentorach przyspiesza procesy fermentacji i dojrzewania piwa, co może zwiększyć moc produkcyjną browaru. W odniesieniu do produktu końcowego ograniczając tworzenie aldehydu octowego i diacetylu, może spowodować poprawę jakości organoleptycznej.

W recenzowanej rozprawie doktorskiej podjęto próby oceny procesów produkcji piwa w tanko- fermentorach stosując głowicę rotacyjną umożliwiającą prowadzenie wymuszonego mieszania brzezki konwencjonalnej. Dokonano porównania wprowadzonej modyfikacji procesu produkcyjnego z metodą fermentacji bez wymuszonego mieszania

brzezki, dotychczas powszechnie stosowaną. Ocenę efektów tak zmodernizowanego procesu produkcji oparto na porównaniu nie tylko przebiegu procesu, ale także jakości produktu finalnego, przeprowadzając pomiar zawartości aldehydu octowego, diketonów oraz składu chemicznego i cech sensorycznych piwa. Na podkreślenie zasługuje fakt wykonania badań w skali technicznej, w browarze prowadzącym normalną produkcję przemysłową, co ma duże znaczenie praktyczne i umożliwia szybsze wykorzystanie w praktyce rezultatów przeprowadzonych badań.

Rozprawa doktorska mgr. M. Zdaniewicza jest starannie przygotowanym pod względem graficznym, naukowym i aplikacyjnym opracowaniem. Obejmuje 156 stron druku, podzielona jest zgodnie z zasadami pisania prac naukowych na rozdziały: wstęp, przegląd literatury, cel badań, charakterystyka doświadczeń, materiały i metody, wyniki i ich omówienie, dyskusja, wnioski, streszczenie, literatura oraz załączniki. Uzyskane w badaniach rezultaty eksperymentów zamieszczono w 9 tabelach, przedstawiono na 42 rysunkach i wykresach oraz udokumentowano 11 fotografiami. W części załączniki zamieszczono w 9 tabelach uzyskane wyniki analizy wariancji dla poszczególnych badanych parametrów oceny piwa. Praca oparta jest na obszernej literaturze przedmiotu, Autor korzystał z 186 pozycji, w tym 30% najnowszych publikacji naukowe z lat 2010-14, dotyczących omawianej problematyki. W przeglądzie piśmiennictwa zamieszczono najważniejsze informacje dotyczące technologii procesów fermentacji ich kontroli oraz mieszania brzezki, uwzględniając wykorzystanie głowicy rotacyjnej w browarnictwie. Rozdział ten oparty jest na aktualnych naukowych publikacjach zamieszczonych w indeksowanych czasopismach fachowych. Zakres przeglądu literatury oraz dobór treści poszczególnych podrozdziałów jest merytorycznie uzasadniają i dobrze wprowadza w problematykę prowadzonych badań.

**Rozdział „cel badań”** właściwie odzwierciedla zadania jakie planując eksperymenty postawił Autor rozprawy. Przeprowadził badania naukowe, mające wzbogacić wiedzę z zakresu usprawnienia procesów fermentacji i dojrzewania piwa. Prace nad nowatorskim zastosowaniem głowicy rotacyjnej, uzasadnił również potrzebami przemysłu krajowego. Obserwowany wzrost produkcji piwa wymaga określonych nakładów inwestycyjnych, zwiększa energochłonność produkcji, a także może stanowić obciążenie dla środowiska. Badane rozwiązania usprawniające proces, powinny poprawić wyniki ekonomiczne browarów, zmniejszając również zagrożenia ekologiczne. Przedstawiając w tym rozdziale 5 tez badawczych Autor sprecyzował szczegółowo stawiane zadania, analizując jednocześnie najważniejsze parametry zmodernizowanego procesu oraz wymagania odnośnie produktu finalnego z punktu widzenia przemysłu.

**W rozdziale „charakterystyka doświadczeń”** omówiono wykonane prace przygotowawcze i modernizację aparatury użytej w badaniach. W przemysłowym tankofermentatorze zainstalowano głowicę rotacyjną, a następnie sprawdzono jej przydatność do chłodzenia zawartości tanku. Pozytywna ocena działania pozwoliła na przeprowadzenie właściwych badań nad wpływem mieszania na rozwój drożdży,

fermentację główną i dojrzewanie piwa. Przeprowadzono także próby fermentacji brzezki przy obniżonej zawartości inokulum drożdży. W dalszych próbach sprawdzono skuteczność działania głowicy rotacyjnej do mycia zbiornika fermentacyjnego.

W kolejnym rozdziale omówiono zastosowane w badaniach „**materiały i metody**”. Dokonano szczegółowej charakterystyki użytych brzeczek fermentacyjnych i technologii ich przygotowania. W procesie fermentacyjnym stosowano drożdże piwowarskie dolnej fermentacji *Saccharomyces carlsbergensis* szczep W34/70. Głowica rotacyjna została zamontowana w tanku cylindrycznym o pojemności 3 856 hl na wysokości 3,5 m od podstawy stożka. Stosowane w pracy metody analityczne obejmowały oznaczenia fizykochemiczne takich parametrów jak ekstrakt, alkohol etylowy oraz pH. Związki lotne w piwie oznaczano przy użyciu chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Wicynole, diketony oraz pozostałe związki jak estry, alkohole wyższe, DMS, aldehyd octowy oznaczano stosując metodę head space. Oznaczenia mikrobiologiczne obejmowały liczebność oraz żywotność komórek drożdżowych, określone za pomocą licznika automatycznego Nucleocounter. Zawartość badanych jonów metali w fermentowanej brzezce piwnej oznaczono metodą adsorpcyjnej spektrometrii płomieniowej. Analiza sensoryczna piwa została wykonana według procedury stosowanej w browarach, polegającej na porównaniu próby właściwej z próbą kontrolną. W ocenie uwzględniono 12 wyróżników piwa. Zastosowane techniki analityczne zostały dobrane w sposób właściwy, a w części były oparte na nowoczesnych metodach, podanych w normach zakładowych. Rezultaty uzyskane w trakcie prowadzonych badań poddano analizie statystycznej. Dokonano analizy wariancji (ANOVA) – w celu zbadania istotności wpływu głowicy rotacyjnej na poszczególne parametry fizyko-chemiczne piwa.

Obszernie prezentuje się rozdział „**wyniki i ich omówienie**” zawiera 12 podrozdziałów, poddano w nich szczegółowej analizie rezultaty przeprowadzonych badań. Jako najważniejszy efekt badań uznano wykazanie wpływu zastosowania głowicy rotacyjnej do mieszania zawartości zbiornika, na skrócenie czasu fermentacji. Stwierdzono, że efektywność jej działania wystąpiła od 5 doby fermentacji, co potwierdza statystycznie obniżenie poziomu ekstraktu w brzezce fermentowanej z zastosowaniem głowicy, w porównaniu do kontroli. Użycie głowicy w technologii wielko zbiornikowej skraca całkowity czas prowadzenia procesu produkcji piwa o około 10 – 15 %, natomiast czas fermentacji i dojrzewania ulega skróceniu od 8 do 20 h, a czas chłodzenia brzezki około 35 h. Zastosowanie głowicy nie wykazało jednak istotnego wpływu na końcowy poziom alkoholu w badanych próbach. Zastosowanie wymuszonego mieszania brzezki wpływa natomiast znacząco na proces syntezy i redukcji związków lotnych piwa. Zaobserwowano wzrost stężenia estrów i przyrost zawartości alkoholi wyższych, a także korzystne zjawisko obniżenia stężenia aldehydu octowego, który przyczynia się do powstania niepożądanego smaku i bukietu piwa. Użycie głowicy rotacyjnej umożliwiło cyrkulację komórek drożdży w fermentującej brzezce, zapobiegało ich osiadaniu, przyczyniło się także do zwiększenia przyrostu biomasy komórek. Produkt finalny uzyskany zmodyfikowaną technologią nie różnił

się w badaniach sensorycznych od piwa produkowanego standardową metodą, bez mieszania brzezki. Umieszczenie głowicy rotacyjnej w dolnej części tankofermentora spowodowało jednak trudności w myciu zbiornika, po jego opróżnieniu. Można zatem zaproponować zmianę jej położenia na nieco wyższy poziom. Uzyskane wyniki badań należy uznać za interesujące i ważne z technologicznego punktu widzenia. Wnoszą one istotne informacje praktyczne umożliwiające wprowadzenie badanej modernizacji procesów fermentacji i dojrzewania piwa w tankofermentorach. Skrócenie czasu produkcji może również usprawnić procesy technologiczne, podnieść wskaźniki ekonomiczne, decydujące o lepszych wynikach pracy browaru. Przedstawiając wyniki analizy sensorycznej uzyskanego w zmodernizowanej technologii piwa, Autor wykazał, że produkt uzyskany przy użyciu głowicy rotacyjnej charakteryzował się cechami organoleptycznymi zbliżonymi do próby kontrolnej.

„Dyskusja wyników badań” została przeprowadzona w sposób dojrzały, bardzo szczegółowo i rzeczowo. Autor dokonał wielokierunkowej analizy wyników badań porównując uzyskane rezultaty z wynikami opisanymi w publikacjach naukowych dotyczącymi podobnych zagadnień. Dotychczas prowadzone badania procesu mieszania fermentowanej brzezki, prowadzone były jedynie w skali laboratoryjnej lub półtechnicznej. Wykazały jednak, że mieszanie mechaniczne miało korzystny wpływ na przebieg reakcji enzymatycznych w komórkach drożdży co znacząco skracało czas prowadzenia fermentacji. Zjawisko to tłumaczono jako rezultat lepszej wymiany ciepła i masy w środowisku oraz lepszą dostępność składników odżywczych podłoża dla drożdży. Fermentacja bez mieszania przebiega wolniej z mniejszym wykorzystaniem węglowodanów. Heterogenny rozkład biomasy w zbiorniku utrudnia wykorzystanie składników odżywczych. Powodowało to pasywny transport pożywki do komórek drożdżowych oraz słabsze odprowadzanie metabolitów. Oceniając rezultaty badań przeprowadzonych przy zastosowaniu głowicy, Autor sugeruje zwiększenie ilości dodawanego inokulum, co przyspieszy proces fermentacji. W efekcie powinno to zapewnić korzyści ekonomiczne uzyskane z racji dalszego skrócenia czasu fermentacji głównej. W przeprowadzonej dyskusji wyników Autor wykazał szeroką znajomość problematyki procesów technologicznych produkcji piwa. Zaproponowaną modernizację polegającą na wykorzystaniu głowicy rotacyjnej do mieszania brzezki w tankofermentorze dokładnie przeanalizował i wykazał jej główne zalety i korzyści dla przemysłu. Na podstawie wykonanych badań zaproponował również interesujące usprawnienia technologiczne, co świadczy o wnikliwym podejściu i zrozumieniu aspektów praktycznych omawianej metody.

Podsumowując przeprowadzone badania Autor sformułował 7 **wniosek** końcowych, syntetycznie ujmujących najważniejsze rezultaty i efekty wykonanej pracy. Wnioski oparte są na przeprowadzonych badaniach i analizach. Zawierają podsumowanie korzystnych efektów technologicznych uzyskanych przez zastosowanie głowicy rotacyjnej. Podkreślono jej wpływ na skrócenie czasu fermentacji i dojrzewania piwa. Uwzględniono również przebieg procesu syntezy redukcji związków lotnych w proponowanej technologii. Zaproponowano także możliwość poprawy skuteczności działania głowicy podczas mycia zbiornika. Zwięzła forma

opracowania wniosków pozwala na szybkie zapoznanie się z najważniejszymi rezultatami wykonanych badań.

W recenzowanej pracy kilka zagadnień wymaga wyjaśnienia lub **korekty**;

-wydaje się, że umieszczenie niektórych fotografii (np. fot.4, 5) nie ma merytorycznego uzasadnienia, są to raczej ilustracje do popularnych publikacji,

- na str. 62, wiersz 8, „stężenie ilościowe”, a są inne?

- str. 62, wiersz 8, „stężenia były kalkulowane (chyba obliczane) na podstawie wyliczonych powierzchni pików”, czy nie robiono kalibracji? Nie stosowano wzorca wewnętrznego?

- str. 62, wiersz 13, określenie „zasada oznaczenia polegała na osiągnięciu stanu równowagi fazy ciekłej i gazowej”, jest mało precyzyjne i niezrozumiałe,

- str. 64, wiersz 4-5, co to jest „światło fluorescencyjne”?

- w omówieniu wyników często występuje termin „kinetyka”. W pracy nie podano jednak żadnego równania kinetycznego opisującego szybkość procesów, przedstawione dane mają charakter opisowy, czego nie można określać kinetyką. Jest to raczej śledzenie zmian stężenia w trakcie procesu. Pod pojęciem kinetyka rozumie się badanie szybkości reakcji czy procesu, określenie wpływu różnych czynników na tą szybkość. Zbadanie kinetyki polega na ustaleniu zależności szybkości powstawania (lub ubytku) produktów od początkowych stężeń, temperatury, ciśnienia, rodzaju rozpuszczalnika, katalizatora, itp. Uzyskane dane pozwalają określić postać równania kinetycznego reakcji chemicznej i wyznaczenie wartości jego współczynników oraz mogą umożliwić poznanie mechanizmu reakcji,

- kilka rysunków (rys.24, 25, 33, 37) ma źle dobraną skalę na osi y . Powoduje to brak możliwości interpretacji wykresów. Na rys. 33 jest to prawie linia prosta, należało przyjąć skalę od 0 – 10, a nie 0 - 100.

Przedstawione powyżej zastrzeżenia mają raczej charakter korektorski i powinny przyczynić się do lepszego przygotowania wyników pracy do publikacji. Nie umniejszają one wysokiej oceny jaką stawiam recenzowanej rozprawie doktorskiej.

#### **Podsumowanie.**

Praca doktorska mgr. inż. Marka Zdaniewicza jest interesującą, wartościową rozprawą naukową dotyczącą możliwości wprowadzenia modernizacji procesu fermentacji i dojrzewania piwa w tankofermentorze. Jak wykazano w badaniach zastosowanie głowicy do mieszania brzezki istotnie skraca czas obu tych procesów, a także przyczynia się do poprawy niektórych cech sensorycznych produktu finalnego. Przygotowanie rozprawy świadczy o dojrzałości Autora, dobrym przygotowaniu i znajomości procesów technologicznych oraz metod analitycznych. Praca zawiera obszerną, najnowszą literaturę, starannie opracowane szczegółowe wyniki badań, rzetelnie przeprowadzoną dyskusję oraz właściwie sformułowane wnioski końcowe.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt przeprowadzenia badań w browarze, prowadzącym normalną produkcję. Było to zapewne dużym utrudnieniem do wprowadzania zmian w konstrukcji zbiornika, ale pozwoliło jednocześnie skonfrontować proponowane rozwiązania z możliwościami praktycznego ich zastosowania. Uzyskane pozytywne rezultaty badań staną się zapewne krokiem w kierunku usprawnienia procesów technologicznych

prowadzonych na skalę przemysłową. Uwzględniając znaczenie naukowe i aplikacyjne wykonanych badań można stwierdzić, że doktorant wykazał bardzo dobre przygotowanie, wiedzę fachową i umiejętności pozwalające na kontynuację i dalszy rozwój pracy naukowej. Podsumowując całokształt badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej mgr. inż. Marka Zdaniewicza stwierdzam, że spełnia ona wymagania stawiane w „Ustawie o stopniach i tytule naukowym” z 2003r. i zwracam się do Rady Wydziału Technologii Żywności UR w Krakowie o dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Uznając ocenianą pracę za wykonaną na wysokim poziomie naukowym, wartościową również pod względem aplikacyjnym, stawiam wniosek o wyróżnienie nagrodą.

  
Prof. dr hab. Bohdan Achrem-Achremowicz