INSTYTUT TECHNOLOGII FERMENTACJI i MIKROBIOLOGII

Instytut
Technologii Fermentacji
i Mikrobiologii
Politechnika Łódzka
ul. Wólczańska 171/173
90-924 Łódź
Tel. (0-42) 631-34-79
Fax. (0-42) 631-32-74

Łódź, 09.01.2019

Dr hab. inż. Maria Balcerek
Politechnika Łódzka
Instytut Technologii
Fermentacji i Mikrobiologii
Zakład Technologii Spirytusu i Drożdży

Recenzja pracy doktorskiej
mgr inż. Magdaleny Januszek
pt. Wpływ odmiany jabłek oraz wybranych zabiegów technologicznych na skład chemiczny i profil związków lotnych destylatów jabłkowych

wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Pawła Satory, prof. UR
w Katedrze Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej
Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

1. Celowość podjęcia problemu naukowego

Przedstawioną mi do recenzji pracę doktorską mgr inż. Magdaleny Januszek pt. „Wpływ odmiany jabłek oraz wybranych zabiegów technologicznych na skład chemiczny i profil związków lotnych destylatów jabłkowych" oceniam bardzo pozytywnie. Za niezwykle trafny i wartościowy, pod względem naukowym i aplikacyjnym, uważam wybór tematyki rozprawy.

Od początku rozwoju polskiego sadownictwa jabłonie i jabłka zawsze odgrywały ważną rolę w produkcji rolnej i ogrodniczej. W ostatnich latach, przy produkcji oscylującej wokół 3 mln ton, udział jabłek w produkcji wszystkich owoców wynosił ok. 73%. Nie dziwi zatem fakt, że Polska jest wiodącym producentem i eksporterem jabłek w Unii Europejskiej. Pod względem produkcji zagęszczonego soku jabłkowego i drzewek jabłoni, od kilku lat zajmujemy na świecie drugą pozycję po Chinach. Dla przykładu, w 2018 r. w Polsce wyprodukowano ponad 4,81 mln t jabłek (najwięcej od 10 lat), co stanowiło prawie 37% całej unijnej produkcji jabłek w tym sezonie. Niestety, lata obfitych zbiorów nie przekładają się na zyski dla polskich producentów, a wręcz odwrotnie. Ponadto, znacząca część owoców nie zostaje zagospodarowana. Zasadne więc wydaje się poszukiwanie innych, alternatywnych rynków zbytu. Jednym z nich może być produkcja napojów alkoholowych, w tym tzw. wódek naturalnych.

Wódki naturalne owocowe (brandy, okowita) należą do wyrobów spirytusowych rozpowszechnionych i cenionych na świecie, ze względu na ich walory smakowo-zapachowe. W wielu krajach europejskich, produkcja tego rodzaju wyrobów spirytusowych (m. in. Cognac, Armagnac, Calvados, Kirschwasser) oparta jest na wielowiekowych tradycjach i stanowi ważny dział gospodarki. W Polsce, wytwarzanie tego rodzaju napojów spirytusowych prowadzone jest na niewielką skalę i od wielu lat sprowadza się prawie wyłącznie do produkcji śliwowicy. Należy jednak w tym miejscu przypomnieć, iż w Polsce, w latach 70. XX wieku pod kierunkiem prof. Bolesława Bachmana w Zakładzie Technologii Spirytusu i Drożdży Politechniki Łódzkiej została opracowana i wdrożona do praktyki przemysłowej technologia produkcji spirytusu jabłkowego wykorzystywanego do zestawiania wyrobów typu Calvados (pn. Złota jesień i Ognisty ptak). Z kolei, w roku 1977 opracowana została technologia produkcji destylatu wiśniowego przez prof. Tadeusza Tuszyńskiego.

Wybór tematyki badawczej podjętej przez mgr inż. Magdalenę Januszek na temat wpływu odmiany jabłek oraz wybranych zabiegów technologicznych na skład chemiczny i profil związków lotnych destylatów jabłkowych należy uznać za aktualny i uzasadniony. Opracowanie technologii produkcji destylatu jabłkowego z ukierunkowaniem na jego wykorzystanie do wytwarzania wódek naturalnych to szansa dla małych polskich przetwórni i gorzelni. Wprowadzenie przez gorzelnie rolnicze do swojej oferty produkcyjnej destylatów jabłkowych, może przyczynić się do zwiększenia konkurencyjności tej grupy przedsiębiorstw i ułatwić pozyskiwanie nowych klientów zainteresowanych niestandardowymi destylatami. Rozpoczęcie produkcji nowej gamy okowit owocowych daje możliwość wprowadzenia na rynek produktów o charakterze regionalnym i tradycyjnym. Produkty o takim charakterze stają się aktualnie bardzo modne i popularne.

2. Formalna ocena pracy

Praca doktorska jest opracowaniem obejmującym 149 stron, w którym zamieszczono 41 tabel, 12 rycin i 5 załączników z widmami masowymi związków zidentyfikowanych w badanych destylatach. Opracowanie rozpoczyna się spisem treści obejmującym wykaz rozdziałów i podrozdziałów, których układ jest klasyczny dla prac eksperymentalnych i zawiera: Wstęp, Przegląd Literatury, Cel pracy, Materiały i metody, Wyniki i dyskusję, Podsumowanie, Wnioski, Streszczenie, Wykaz literatury oraz Załączniki.

Cytowane piśmiennictwo obejmuje 185 pozycji, z czego 158 pozycji stanowią publikacje w czasopismach naukowych polskich i zagranicznych, rozdziały w książkach i w monografiach, zaś pozostałe 27 pozycji to źródła internetowe, przy których wg mojej opinii należałoby zamieścić daty dostępu. Ponadto, w przypadku kilku pozycji literaturowych (7, 100, 103, 119, 120) brak pełnego opisu bibliograficznego, co może utrudniać dotarcie do tych pozycji. Generalnie, piśmiennictwo jest dobrane poprawnie, zarówno pod kątem części teoretycznej, jak również metodycznej i dyskusji wyników.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Celem pracy było określenie wpływu odmiany jabłek i wybranych zabiegów technologicznych na skład chemiczny, cechy sensoryczne i profil związków lotnych destylatów jabłkowych.
Zakres badań obejmował:
- określenie wpływu odmiany jabłek na przebieg i wydajność fermentacji oraz jakość uzyskanych spirytusów,
- ocenę wpływu rodzaju fermentacji moszczu jabłkowego (spontaniczna, bądź z udziałem drożdży szlachetnych) na skład chemiczny i cechy smakowo-zapachowe destylatów jabłkowych,
- charakterystykę składu jakościowego i ilościowego związków lotnych w frakcjach otrzymanych po destylacji korekcyjnej,
- określenie wpływu defekacji na profil i stężenia związków aromatu w destylatach jabłkowych,
- próby uszlachetniania frakcji środkowych destylatu jabłkowego poprzez starzenie z udziałem zrębków drewna różnego pochodzenia.

W pracy postawiono cztery tezy badawcze, które poddano weryfikacji w ramach prowadzonych badań.

Wprowadzeniem w tematykę badawczą realizowaną w ramach pracy jest przegląd literatury. Jest on interesujący, dobrze przemyślany, a jego lektura dostarcza czytelnikowi wielu informacji potwierdzających zasadność prowadzenia zaplanowanych prac badawczych.
Podczas lektury tego rozdziału pojawiły się pewne drobne nieścisłości, m.in.:
- str. 13, Doktorantka pisze, że wg przepisów Unii Europejskiej „wino to produkt otrzymywany wyłącznie na drodze częściowej lub całkowitej fermentacji alkoholu ze świeżych winogron [...]". Zapewne Autorce pracy chodziło o fermentację alkoholową.

- str. 18, w akapicie dotyczącym metanolu napisano, że „Metanol powstaje głównie w wyniku działania pektynoesterazy w rozdrobnionych owocach pestkowych." Z doświadczeń i wiedzy recenzenta wynika, że metanol jest także uwalniany podczas fermentacji owoców ziarnkowych i jagodowych.
W tym samym akapicie, podano limit zawartości metanolu w spirytusach owocowych, powołując się na dwie pozycje literaturowe, jedną z roku 1983 a drugą z roku 2008. Najlepiej byłoby przywołać aktualnie obowiązujące Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 110/2008 z dnia 15 stycznia 2008 r. w sprawie definicji, opisu, prezentacji, etykietowania i ochrony oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 1576/89 *(OJ L 39, 13.2.2008, p. 16–54).*
- str. 18, w akapicie dotyczącym alkoholi wyższych podano, że „Zgodnie z przepisami UE, całkowita zawartość tych związków powinna wynosić od 2250 do 6000 mg/l spirytusu 100% obj.", nie podając do jakiej grupy napojów spirytusowych te wymagania się odnosiły, zważywszy na to, że jako źródło literaturowe podano uchylone rozporządzenie 1576/89. W aktualnie obowiązującym rozporządzeniu nr 110/2008, zawarte zostały jedynie limity zawartości alkoholi wyższych w alkoholu etylowym rolniczym, czyli w spirytusie rektyfikowanym. Rozporządzenie to natomiast określa minimalną zawartość substancji lotnych (w tym alkoholi wyższych) na poziomie równym lub przekraczającym 200 gramów w hektolitrze alkoholu 100 % obj.
- str. 24, użycie słowa „przegapienie" wydaje się nie być najfortunniejsze. Właściwsze byłoby użycie synonimu, np. „przeoczenie".
- str. 25, podano, że „[...] mniejsze początkowe stężenie etanolu powoduje wzrost stężenia alkoholu podczas dojrzewania, zaś wysokie stężenie początkowe powoduje jego spadek". Proszę o doprecyzowanie, jakie stężenia alkoholu autorka pracy miała na myśli. Ponadto, należy mieć na uwadze, że zmiany stężenia alkoholu w starzonym trunku są uzależnione od wielu czynników, w tym od wilgotności i temperatury pomieszczeń, o czym doktorantka pisze w dalszej części pracy. Gwoli uzupełnienia, w pomieszczeniach wilgotnych (o wilgotności względnej powyżej 70-80%) i w niskich temperaturach (6-12 °C) obserwuje się zazwyczaj spadek mocy, zaś w pomieszczeniach o wilgotności poniżej wyżej podanej i w temp. powyżej 12 °C następuje najczęściej wzrost stężenia alkoholu. Zjawisko to tłumaczy się większą lotnością etanolu niż wody w pomieszczeniach o dużej wilgotności, natomiast w pomieszczeniach suchych woda dyfunduje szybciej przez klepki, wobec czego moc wzrasta, chociaż globalna ilość alkoholu w beczce maleje (*Cieślak J., Lasik H.: Technologia wódek, WNT, Warszawa 1979, s. 222*).

Cel i zakres pracy, który Doktorantka nazwała celami szczegółowymi, zostały sprecyzowane prawidłowo. Sformułowane zostały także hipotezy badawcze, których weryfikacji dokonano na podstawie wyników prac eksperymentalnych.

Kolejny rozdział Materiały i Metody został opracowany bardzo starannie. Doktorantka sekwencyjnie opisała przebieg prowadzonych prac badawczych oraz zastosowane metody.
Ciekawość recenzenta budzi nazwa handlowa używanych drożdży gorzelniczych Red Ethanol (str. 30). Czy są to te same drożdże gorzelnicze, które produkuje firma Lesaffre, pod nazwą Ethanol Red®? Na str. 31, w akapicie opisującym przygotowanie prób do defekacji, podano, że stosowano dodatek pektynoesterazy. Jaką dawkę tego enzymu stosowano?
Dalej na str. 31 Doktorantka opisuje proces destylacji prostej i frakcyjnej. Proszę o odpowiedź, czy wielkość odbioru poszczególnych frakcji określono w % w stosunku do objętości próby poddawanej destylacji frakcyjnej (czyli np. jeśli do destylacji frakcyjnej użyto 1000 ml próby, to 2% v/v wynosiłoby 20 ml, a 83% -830 ml), czy też wielkość odbioru frakcji obliczano w stosunku do ilości spirytusu 100% obj. zawartego w próbie kierowanej do destylacji frakcyjnej (czyli jeśli np. użyto 1000 ml destylatu o mocy 20% obj., to w przeliczeniu na spirytus 100% daje to 200 ml; wtedy licząc 2% z 200 ml to wielkość odbioru frakcji przedgonowej wynosiłaby 4 ml, a frakcja środkowa stanowiąca 83% całości byłaby odebrana w ilości 166 ml).

Z kolei w akapicie poświęconym leżakowaniu zabrakło informacji skąd pochodziły zrębki drewna użyte do starzenia spirytusów.

W rozdziale Wyniki i dyskusja w sposób przejrzysty, jednoznaczny i zrozumiały przedstawiono uzyskane wyniki. Zilustrowano je czytelnymi wykresami, a kluczowe informacje zestawiono w bardzo dobrze skonstruowanych tabelach. Zastosowany sposób prezentacji wyników ułatwia przedstawienie najważniejszych efektów pracy, mimo obszernego zakresu danych eksperymentalnych będących podstawą tego opracowania. To bardzo ważna umiejętność zasługująca na podkreślenie, która ułatwi wyselekcjonowanie wyników do publikacji naukowych, które będą zapewne efektem tej dysertacji.

Prezentację wyników badań Doktorantka rozpoczęła od oceny wpływu odmiany jabłek na przebieg fermentacji i skład chemiczny destylatów. Na podstawie krzywej dynamiki fermentacji, Autorka pracy stwierdziła, że „najbardziej pożądanym przebiegiem fermentacji charakteryzowały się moszcze otrzymane z odmiany Golden Delicious". Proszę o odpowiedź, jakie kryterium przyjęto w tej ocenie, czy tym kryterium był tylko ubytek masy na 100 ml moszczu? Jednocześnie dalej podano, że „W przypadku tych prób fermentacja trwała osiem dni [...]". Czy Autorka miała na myśli fermentację główną, ponieważ całkowity czas, w którym dokonywano pomiarów ubytku masy był znacznie dłuższy i wynosił 24 dni? To z kolei nie jest zgodne z informacją ze str. 30, że fermentacje prowadzono przez 30 dni. Ponadto, wyniki zamieszczone w tabeli 4 wskazują, że wydajność fermentacji moszczu z Golden Delicious była relatywnie niska. Jak zatem wytłumaczyć brak kompatybilności wyników dynamiki (Ryc. 1) z wynikami wydajności fermentacji?

Na str. 51, Doktorantka kolejny raz przytacza limit zawartość metanolu w spirytusach owocowych, tym razem jednak powołując się na Ustawę z dnia 13 września 2002 r. o napojach spirytusowych, ogłoszoną w Dzienniku Ustaw z rok 2002. Oczywiście jest to właściwe źródło. Jednak zapis tej pozycji (33) w Wykazie literatury jest nieprecyzyjny. Można zrozumieć, że dziennik ustaw jest o napojach spirytusowych. Najpierw należało podać pełny tytuł ustawy, a następnie informacje dotyczące Dziennika Ustaw, w którym ustawa ta została ogłoszona.

Na podstawie wyników uzyskanych w pierwszym etapie badań wytypowano trzy odmiany jabłek (Eliza, Rubin, Topaz) do oceny wpływu rodzaju fermentacji na jakość destylatów jabłkowych. Na etapie tym oceniano przebieg fermentacji oraz jakość destylatów jabłkowych fermentowanych z udziałem różnych ras drożdży (gorzelniczych Red Ethanol i cydrowych Cider Yeast), jak również prowadzono fermentacje spontaniczne bez dodatku drożdży szlachetnych. Mimo, iż jak podano na stronie 55, w przypadku moszczów fermentowanych spontanicznie proces przebiegał wolniej, to jednak jak wynika z danych zawartych w tabeli 15 (str. 58), wydajność fermentacji prób fermentowanych spontanicznie nie różniła się statystycznie istotnie od wydajności w tych z udziałem drożdży szlachetnych, a nawet w przypadku moszczu z odmiany Topaz była wyższa. Jednak ostatecznie po przeprowadzeniu oceny sensorycznej, do dalszych eksperymentów obejmujących badania wpływu defekacji, jaki i do prowadzenia oceny wpływu leżakowania z udziałem zrębków drewnianych wytypowano odmianę Topaz.

W ostatnim podrozdziale Wyników i dyskusji, zatytułowanym „Wpływ dodatku zrębków drewna na cechy sensoryczne i skład związków lotnych leżakowanych spirytusów jabłkowych" za niezbyt fortunne uważam zamieszczanie na początku podrozdziału wyników fermentacji (rys. 9, tabele 36-37) odmiany jabłek, z których otrzymano destylaty poddane następnie leżakowaniu.

Na etapie badań dotyczących wpływu dodatku zrębków drewna różnego pochodzenia na zmiany składu chemicznego i cech organoleptycznych destylatów jabłkowych, oceniano intensywność i atrakcyjność barwy. W części metodycznej pracy nie podano jakimi metodami przeprowadzono tę ocenę, więc można domyślać się, że za pomocą zmysłu wzroku. Podczas przygotowywania materiału do publikacji z tego zakresu sugerowałabym wykorzystać do oceny intensywności barwy spirytusu metody instrumentalne, np. z zastosowaniem systemu CIELAB.

Podsumowując ocenę rozdziału Wyniki i dyskusja, uważam ten rozdział za źródło wielu cennych informacji o charakterze naukowym, jak i aplikacyjnym. Ponadto, należy zauważyć,

że w literaturze przedmiotu brak tak szerokiego podejścia do technologii produkcji destylatu jabłkowego, z ukierunkowaniem na wytwarzanie okowit, jakie zostało zaprezentowane w niniejszej rozprawie. Wyniki tych badań stanowią niewątpliwie oryginalny wkład Doktorantki w rozwój wiedzy dotyczącej wpływu różnych czynników na kształtowanie profilu smakowo-zapachowego destylatów jabłkowych. Przedstawiona przez Autorkę pracy dyskusja jest elementem rozprawy, który zwraca uwagę w pozytywnym aspekcie. Nie tylko sposób omawiania poszczególnych elementów będących przedmiotem analizy w pracy, ale układ i kolejność omawianych zagadnień zasługują na uznanie. Niemalże jak doświadczony naukowiec z długoletnim stażem. Doktorantka sprawnie omówiła i przeanalizowała uzyskane wyniki, biorąc pod uwagę różne zmienne. Świadczy to również o umiejętności sprawnego prowadzenia dyskusji na temat niezwykle złożony, jakim są mechanizmy biochemiczne i czynniki wpływające na powstawanie związków lotnych podczas fermentacji alkoholowej.

Rozdział Podsumowanie Doktorantka poświęciła zebraniu najważniejszych wyników z odniesieniem do przyjętych hipotez badawczych. Jedna z hipotez zakładała, że drożdże dzikie wytwarzają duże ilości związków aromatu, ale nie gwarantują prawidłowego przebiegu fermentacji. Weryfikacji tej hipotezy dokonała na podstawie wyników uzyskanych po fermentacji moszczu jabłkowego metodą spontaniczną. Pojawia się zatem pytanie, na jakiej podstawie stwierdzono, że fermentacja spontaniczna była faktycznie prowadzona przez drożdże dzikie? Literatura przedmiotu podaje, że mikroflora bytująca na owocach składa się zarówno z drożdży dzikich, jak i szlachetnych. Mikroorganizmy te rywalizują o opanowanie środowiska fermentacyjnego i przy prawidłowo przebiegającym procesie, bez zakażeń mikrobiologicznych, już w fazie fermentacji głównej zaczynają dominować drożdże z rodzaju *Saccharomyces*. Zatem, aby w pełni zweryfikować hipotezę o wpływie drożdży dzikich na wydajność fermentacji moszczu jabłkowego i jakość uzyskiwanego spirytusu, należałoby tak poprowadzić proces, by faktycznie drożdże dzikie zdominowały środowisko.

W rozdziale Wnioski Doktorantka przedstawiła najważniejsze osiągnięcia z przeprowadzonych badań. Sposób zredagowania wniosków jest generalnie poprawny, a ich strona merytoryczna znajduje uzasadnienie w analizie prezentowanych wyników badań.

Podsumowanie i wniosek końcowy

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Januszek jest oryginalnym i wartościowym opracowaniem. Zawarte w niej wyniki badań stanowią rozszerzenie aktualnej wiedzy na temat czynników determinujących profil i skład ilościowy związków aromatu oraz walory smakowo-zapachowe destylatów jabłkowych, ale również są cennym źródłem informacji o charakterze aplikacyjnym. Doktorantka sprawnie sformułowała temat i cel pracy, poprawnie zaplanowała i przeprowadziła prace eksperymentalne służące jego realizacji, umiejętnie wykorzystała narzędzia badawcze, analityczne i statystyczne, co podnosi znacząco wiarygodność ustaleń naukowych prezentowanych w rozprawie.

Przedłożoną do recenzji dysertację oceniam bardzo pozytywnie i mimo kilku uwag o charakterze dyskusyjnym, z uwagi na złożoność omawianych zagadnień, stwierdzam, że rozprawa ta spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim zgodnie z obowiązującym prawem. Na tej podstawie wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr inż. Magdaleny Januszek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Zwracam się jednocześnie do Wysokiej Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z wnioskiem o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr inż. Magdaleny Januszek.