



Warszawa, 12.09.2023

dr hab. inż. Renata Toczyłowska-Mamińska, prof. SGGW

---

Szkoła Główna  
Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Biologii  
Katedra Fizyki i Biofizyki

ul. Nowoursynowska 159  
02-776 Warszawa  
+48 22 59 38611  
kfb@sggw.edu.pl  
www.sggw.edu.pl  
kf.sggw.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Mateusza Jackowskiego p.t. :  
„Produkcja piwa o obniżonej zawartości alkoholu”**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. inż. Anny Trusek z Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Praca liczy 149 stron i zawiera wszystkie przewidziane ustawą elementy, z podziałem na część teoretyczną (60 stron) i część doświadczalną (61 stron) obejmującą metodykę badań, opis uzyskanych wyników doświadczeń oraz ich dyskusję. Spis literatury obejmuje 300 pozycji, głównie odniesień do czasopism z listy JCR. Dobór literatury jest poprawny i obejmuje w większości pozycje z ostatnich 10 lat.

Celem rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Mateusza Jackowskiego było porównanie i optymalizacja powszechnie stosowanych oraz nowatorskich technologii produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu. Tematyka podjęta w niniejszej pracy jest aktualna i podąża za najnowszymi trendami we współczesnym browarnictwie. Piwo jest trzecim najpopularniejszym napojem na świecie, po wodzie i herbacie, z roczną produkcją sięgającą 191 mln m<sup>3</sup> w roku 2018 i jest ono napojem o bardzo złożonym składzie chemicznym. Szacuje się, że piwo zawiera około 2 tysięcy różnych związków chemicznych. Ogromna większość tych substancji dobroczynnie wpływa na ludzki organizm, a jedyną toksyczną substancją jest etanol. Ogólnoświatowa kampania mająca na



celu promocję zdrowego trybu życia spowodowała spadek sprzedaży w segmencie piw mocnych na rzecz wzrostu w segmencie piw bezalkoholowych. Stąd też w ostatnich latach branża piwowarska stanęła przed wyzwaniem zwiększonego popytu na najtrudniejszy w produkcji gatunek piwa, jakim jest piwo bezalkoholowe. Piwo o obniżonej zawartości alkoholu produkowane jest przez usunięcie etanolu z gotowego piwa lub poprzez taką modyfikację produkcji piwa, aby nie dopuścić do wytworzenia etanolu. Oba te sposoby wpływają na właściwości organoleptyczne produktu końcowego, często obniżając jego walory smakowe. Produkcja piwa bezalkoholowego z zachowaniem parametrów organoleptycznych jego alkoholowego odpowiednika jest trudnym wyzwaniem i stanowi główną myśl przewodnią przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej.

We wstępie do rozprawy Autor wprowadza czytelnika w tematykę pracy oraz przedstawia streszczenia poszczególnych jej części. W części zatytułowanej „Przegląd piśmiennictwa” przedstawiono szczegółowo historię piwa od neolitu do współczesności, omówiono szczegółowo surowce do produkcji piwa, proces jego produkcji oraz rynek produkcji piwa. Następnie opisano wpływ piwa na zdrowie człowieka przedstawiając występujące w piwie związki mające działanie przeciwnowotworowe jak i wpływ występującego w piwie etanolu na organizm ludzki. W końcowym podrozdziale części literaturowej uwagę skupiono na piwie bezalkoholowym i metodach jego produkcji. Omówiono dwa typy metod produkcji piwa bezalkoholowego, t.j. metody fizyczne takie jak destylacja, dializa, odwrócona osmoza czy perwaporacja oraz metody biologiczne, wśród których jest przerwana fermentacja, zamiana w reżimie zacierania czy zastosowanie alternatywnych mikroorganizmów. Chociaż przedstawiony w pracy opis historii piwa jest bardzo ciekawy, to w mojej ocenie Autor poświęca zbyt dużą uwagę na to zagadnienie (ok. 5 stron), podczas gdy opis metod otrzymywania piwa bezalkoholowego, zwłaszcza biologicznych (ok. 4 stron), jest dosyć pobieżny.

Część doświadczalną rozpoczyna przedstawienie szczegółowych celów pracy. Założono (1) wykonanie wstępnej analizy rynku piwa o obniżonej zawartości alkoholu oraz przygotowanie wstępnego planu komercjalizacji technologii jego produkcji z zastosowaniem wybranych metod fizycznych i biologicznych; (2) opracowanie metodyki analizy walorów konsumenckich piwa; (3) optymalizację wybranych procesów otrzymywania piwa o obniżonej zawartości alkoholu i napojów piwopodobnych; (4) analizę walorów konsumenckich piwa o obniżonej zawartości alkoholu otrzymanego po optymalizacji procesu jego produkcji oraz (5) zaproponowanie



najkorzystniejszych rozwiązań pozwalających na produkcję piwa o obniżonej zawartości alkoholu mającego cechy organoleptyczne jak najbardziej zbliżone do jego alkoholowego odpowiednika. W części „Materiały i metodyka badań” przedstawiony został opis użytej aparatury, metod otrzymywania badanego piwa, metod analitycznych stosowanych w celu charakterystyki jego składu chemicznego oraz testów organoleptycznych. W badaniach wykorzystano instalację browarniczą Politechniki Wrocławskiej oraz metody analityczne takie jak spektrofotometria, chromatografia gazowa i cieczowa czy metody kolorymetryczne. Opis metodyki badań jest poprawny i nie budzi zastrzeżeń.

Badania w ramach niniejszej pracy rozpoczynają eksperymenty dotyczące produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu z wykorzystaniem metod biologicznych. Wykorzystano trzy komercyjnie dostępne szczepy drożdży browarniczych, które użyto do produkcji piwa w zmienionym reżimie zacierania oraz tradycyjnym – jako kontroli. W próbach kontrolnych z udziałem wszystkich badanych szczepów piwo miało porównywalną zawartość etanolu, stopień odfermentowania i współczynnik wydajności produktu. Po zastosowaniu zmiany reżimu zacierania w przypadku dwóch szczepów zaobserwowano zdolność do produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu. Najniższą zawartość alkoholu na poziomie 1.2 % obj. zanotowano dla szczepu Voss Kveik, czemu towarzyszył spadek współczynnika wydajności produktu w stosunku do kontroli do wartości 0.5. Wyższy współczynnik wydajności produktu 0.73 otrzymano dla szczepu S-33, z udziałem którego wyprodukowano piwo zawierające 1.56 % obj. etanolu. Wyniki badań wskazują na różnice w przebiegu fermentacji z udziałem różnych mikroorganizmów w przypadku wykorzystania brzezki otrzymanej z wykorzystaniem zmienionego reżimu zacierania. W kolejnym kroku badano produkcję piwa metodą przerwanej fermentacji z zastosowaniem komercyjnie dostępnego szczepu drożdży browarniczych Fermentis WB-06. Fermentację zatrzymano, gdy zawartość alkoholu w piwie osiągnęła pożądany poziom 0.54%, ale wysoka zawartość cukrów w produkcie końcowym, niski stopień odfermentowania oraz wyniki testów organoleptycznych doprowadziły do wniosku, że zastosowana metoda produkcji nie pozwala na otrzymanie piwa bezalkoholowego pożądanej jakości. Zastosowano też metodę zimnego kontaktu z wykorzystaniem szczepu drożdży Mauribrew lager 497, co pozwoliło na otrzymanie piwa o wyższej niż pożądanej zawartości alkoholu, ok. 2%. Modyfikacja metody zimnego kontaktu poprzez wykorzystanie w niej brzezki uzyskanej metodą zmiany reżimu zacierania pozwoliła na redukcję zawartości etanolu



jedynie do 1%, ale przy zachowaniu zadowalających walorów smakowych. Doktorant wnioskował, że fermentacja metodą zimnego kontaktu nie jest ekonomicznie uzasadniona w skali przemysłowej, ze względu na długi czas trwania procesu.

Ciekawą częścią pracy były badania fermentacji z udziałem alternatywnego szczepu pleśni *Monascus ruber*, wykorzystanej w patencie na produkcję piwa bezalkoholowego. Jako kontrole zastosowano dwa komercyjne szczepy drożdży piwowskich. Zaobserwowano, że szybkość metabolizowania cukrów przez szczepy kontrolne jest wyższa niż dla szczepu *Monascus*, co skutkowało niższą produkcją etanolu do około 15-go dnia fermentacji w przypadku zastosowania alternatywnego szczepu. Wyniki testów organoleptycznych wskazują na zbliżone walory smakowe piwa otrzymanego z użyciem alternatywnego szczepu z piwami otrzymanymi z użyciem szczepów kontrolnych. Mimo tego, że zawartość alkoholu w otrzymanym produkcie 1.08% nie pozwala uznać go za bezalkoholowe, wolniejszy metabolizm *Monascus ruber* może zostać wykorzystany do produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu na drodze przerwanej fermentacji. Podobne obserwacje uzyskano z udziałem alternatywnego względem przemysłowo stosowanych szczepu drożdży *Saccharomyces ludwigii*. Niższe tempo metabolizowania cukrów, niższy współczynnik wydajności produktu oraz porównywalne cechy organoleptyczne w stosunku do szczepów kontrolnych wskazują na możliwość wykorzystania tego szczepu do produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu metodą przerwanej fermentacji.

Doktorant badał też produkcję piwa z wykorzystaniem kofermentacji z użyciem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* oraz bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus brevis*. Założeniem eksperymentu było otrzymanie piwa o niższej zawartości alkoholu ze względu na konkurowanie mikroorganizmów o cukry zawarte w brzeczce i przekształcenie ich części w kwas mlekowy przez bakterie. Jednakże za wyjątkiem próby kontrolnej, w której zastosowano jedynie *L. brevis*, piwa uzyskane z udziałem obu szczepów cechowała zawartość etanolu powyżej 2%. W ramach pracy zaproponowano również sposób produkcji bezalkoholowego substytutu piwa wytwarzanego na bazie słodu i chmielu.

Kolejnym etapem prac było zbadanie przez Doktoranta produkcji piwa bezalkoholowego metodami fizycznymi, poprzez separację etanolu. Pierwszą z badanych metod była perwaporacja, podczas której badano zawartość etanolu, antyoksydanta 4-winylogwajakolu oraz maltolu.



Potwierdzono możliwość otrzymania piwa bezalkoholowego tą metodą, uzyskując redukcję stężenia etanolu w produkcie końcowym z 3.53% do 0.57% oraz zwiększenie stężenia maltolu i kwasu ferulowego w produkcie końcowym. Wyniki testów organoleptycznych wskazują na zachowanie walorów smakowych otrzymanego za pomocą perwaporacji piwa w porównaniu z jego alkoholowym odpowiednikiem. Ze względu na długi czas trwania procesu i niską wydajność Autor wskazuje na jego ograniczone zastosowanie w skali przemysłowej. Badana była również możliwość otrzymywania piwa metodą destylacji prostej, ale otrzymany produkt zawierał więcej etanolu niż wartość określona prawem dla piwa bezalkoholowego. W wyniku destylacji termicznemu rozkładowi uległy także substancje goryczkowe, co znalazło odbicie w pogorszeniu walorów smakowych produktu. Badania nad otrzymywaniem piwa bezalkoholowego metodą rektyfikacji pozwoliły na otrzymanie produktu końcowego o zawartości etanolu 0.48%, ale o zmienionych parametrach organoleptycznych w stosunku do alkoholowego odpowiednika. Zanotowano wzrost odczucia goryczki, wyeksponowanie aromatu słodkiego i mniejsze uczucie orzeźwienia, co wskazuje na obniżenie walorów smakowych piwa. Autor wnioskuje, że zarówno destylacja jak i rektyfikacja pod ciśnieniem atmosferycznym nie powinny być stosowane do produkcji piw o obniżonej zawartości alkoholu ze względu na znaczącą zmianę jego cech organoleptycznych. W badaniach otrzymywania piwa bezalkoholowego z wykorzystaniem destylacji próżniowej badano wpływ ciśnienia, temperatury i czasu trwania destylacji na skład produktu końcowego. Piwo o pożądanej zawartości alkoholu, nieprzekraczającej 0.5%, otrzymano w przypadku zastosowania niższej wartości ciśnienia, t.j. 90 mbar i dla wszystkich badanych temperatur. Najlepsze parametry piwa bezalkoholowego otrzymano dla procesu prowadzonego w najniższej badanej temperaturze, t.j. 50°C przy dłuższym czasie prowadzenia procesu, t.j. 40 i 60 minut. Zaobserwowano, że im niższe ciśnienie i temperatura procesu tym piwo ma bliższe parametry do swojego alkoholowego odpowiednika. Rozprawę kończy podsumowanie otrzymanych wyników przez Autora, chociaż zasadna byłaby ich głębsza analiza, zwłaszcza w przypadku metod stosowanych przemysłowo. Brakuje też w pracy informacji czy wyniki badań będących podstawą niniejszej rozprawy zostały gdzieś opublikowane.

Poniżej zamieszczam uwagi i pytania do rozprawy i proszę Autora o ustosunkowanie się do nich podczas obrony.

- Do pracy nie dołączono streszczeń w języku polskim oraz angielskim.



- W rozprawie pojawiają się liczne błędy literowe, edycyjne i stylistyczne oraz skróty myślowe wskazujące na duży pośpiech przy jej tworzeniu, np. s. 86, 88 – skrót „odfermentowanie” zamiast „stopień odfermentowania”, s.96 „pH ustawione na 4.5”; s. 99 – „szczep...osiągnął ...pH na poziomie 4.85”, s.115 „ekstrakt czyli zawartość cukrów”.
- Nie znajduję uzasadnienia do zamieszczania w przeglądzie literatury szczegółowego opisu budowy komórki drożdży.
- Niedosyt zostawiają opisy metod produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu w przeglądzie literatury. Zwłaszcza metody biologiczne dobrze byłoby rozszerzyć w kontekście biotechnologicznym i mikrobiologicznym. Podobnie, warto byłoby rozszerzyć i pogłębić w kontekście biologicznym rozdział 3 zatytułowany „Walory zdrowotne piwa”, a także omówić szczegółowo skład chemiczny piwa.
- Brakuje jasnego wskazania które metody produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu wykorzystane w ramach badań w niniejszej pracy są przemysłowo stosowane, a które nowatorskie. Jeśli stosowano w ramach pracy metody przemysłowe – czy w ramach niniejszych badań były one modyfikowane w stosunku do praktyki przemysłowej?
- W przeglądzie literatury Autor pisze, że przemysłowo najpowszechniej stosowaną metodą produkcji piwa bezalkoholowego jest przerwana fermentacja. Tymczasem w części badawczej zamieszczono następujący wniosek z badań nad tą techniką produkcji piwa: „Metoda przerywanej fermentacji okazała się niedostateczną metodą produkcji piwa bezalkoholowego”. Czym zastosowana w pracy metoda różni się od tej stosowanej przemysłowo?
- Moje wątpliwości budzi metodyka testów organoleptycznych badanego piwa. Wykorzystano bardzo małą liczbę respondentów (10 osób, a dla eksperymentów z perwaporacji i destylacji próżniowej tylko 3 respondentów). Na s. 65 Autor pisze, że perwaporacji poddano 30,45 litrów piwa, a na s. 80 zamieszczono informację, że ilość respondentów w przypadku perwaporacji i destylacji próżniowej zmniejszono z 10 do 3 ze względu na niewielką objętość otrzymanych próbek. Jaka liczba respondentów wykorzystywana jest w podobnego typu testach według literatury? Wskazany byłby komentarz tej kwestii.



- Brak jest jasnego wytłumaczenia na czym polegała optymalizacja każdej ze stosowanych metod produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu przeprowadzona w ramach niniejszej pracy.
- W części teoretycznej przedstawiono szczep *Saccharomyces ludwigii* jako używany do produkcji piwa bezalkoholowego. Co było elementem nowości w badaniach z użyciem tego szczepu w ramach niniejszej pracy?
- Czy sposób produkcji bezalkoholowego substytutu piwa został opracowany przez Doktoranta czy wykorzystano metodę komercyjną?
- Przy otrzymywaniu piwa metodą perwaporacji badano stężenie 4-winylogwajakolu i maltolu, a na przykład w przypadku piwa otrzymywanego metodą destylacji próżniowej – alkoholu fenyletylowego, mleczanu etylu czy izobutanolu. Czym podyktowany był wybór związków oznaczanych w piwach otrzymanych różnymi metodami?

Pan mgr inż. Mateusz Jackowski przeprowadził badania przemysłowo stosowanych oraz alternatywnych metod produkcji piwa bezalkoholowego. W rozprawie Autor wykazuje zadowalającą wiedzę z podejmowanej tematyki, wystarczającą do prowadzenia pracy badawczej. W toku prac Doktorant przedstawił spektrum możliwości produkcji piw o pożądanej zawartości alkoholu i cechach organoleptycznych bliskich ich alkoholowym odpowiednikom. Za najciekawszą część pracy uważam wykorzystanie alternatywnych mikroorganizmów do przemysłowo stosowanych szczepów w procesie produkcji piwa bezalkoholowego metodą przerwanej fermentacji. Praca ma charakter aplikacyjny i może znaleźć zastosowanie w zakładach przemysłu browarniczego produkujących piwo bezalkoholowe.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr inż. Mateusza Jackowskiego spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r., poz. 478 z późn. zm.) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Renata Toczyłowska - Mamińska*