

Wrocław, 25.06.2025

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. Darii Cichej -Wojciechowicz

pt. „Analiza związków aktywnych zapachowo kształtujących aromat polskich miodów
pitnych: wpływ surowca oraz procesów fermentacji i dojrzewania”

wykonanej pod kierunkiem Pani promotor Prof. dr hab. inż. Małgorzaty Anny Majcher
w Katedrze Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, na Wydziale Nauk o Żywności
i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

1. Podstawa opracowania recenzji

Podstawą formalną opracowania niniejszej recenzji jest pismo Przewodniczącej Rady Naukowej dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, prof. UPP dr hab. Doroty Cais-Sokolińskiej z dnia 25.04.2025.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie cykl trzech artykułów naukowych:

1. Cicha-Wojciechowicz, D., Frank, S., Steinhaus, M., Majcher, M.A., 2024. Key Odorants Forming Aroma of Polish Mead: Influence of the Raw Material and Manufacturing Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72 (18), p. 10548-10557, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c01276>,
2. Cicha-Wojciechowicz, D., Drabińska, N., Majcher, M.A., 2024. Influence of Honey Varieties, Fermentation Techniques and Production Process on Sensory Properties and Odor-Active Compounds in Meads. *Molecules*, 29 (24), <https://doi.org/10.3390/molecules29245913>
3. Cicha-Wojciechowicz, D., Kaczmarek, A., Juzwa, W., Drabińska, N., Majcher, M.A., Fermentation Strategies in Mead Production: A Multitechnique Approach to Volatile and Odor-active Compound Characterization.– publikacja załączona do cyklu jako manuskrypt wysłany do recenzji.

2. Dobór i znaczenie tematu

Tematyka rozprawy doktorskiej dotyczy analizy związków aktywnych zapachowo kształtujących aromat polskich miodów pitnych. Miód pitny to jeden z najstarszych napoi fermentowanych, definiowany jako tradycyjny napój alkoholowy powstały w wyniku fermentacji brzezki miodowej. Od 2008 r. polskie miody pitne zostały zarejestrowane przez Komisję Europejską, jako Gwarantowana Tradycyjna Specjalność. Pomimo długiej tradycji produkcji napojów fermentowanych na bazie brzezki miodowej, badania związane z kształtowaniem jakości tego napoju są przedmiotem licznych eksperymentów naukowych. Na jakość produktu, cechy organoleptyczne i fizykochemiczne miodów pitnych wpływa bardzo szeroka gama czynników, m.in.: rodzaj miodu, technologia produkcji, rodzaj zastosowanych dodatków oraz dobór odpowiednich drobnoustrojów. Tym ostatnim przypisuje się szczególne znaczenie. Stąd też badania nad wpływem materiału biologicznego do produkcji miodów pitnych, pozwalające na efektywne i wydajne przeprowadzenie procesu technologicznego stanowią przedmiot wielu prac naukowych. Badania prowadzone przez Doktorantkę doskonale wpisują się w ten obszar badawczy. W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Daria Cicha-Wojciechowicz przeprowadziła kompleksowe badania związane z identyfikacją oraz formowaniem związków aktywnych zapachowo w polskich tradycyjnych miodach pitnych fermentowanych z udziałem różnych grup mikroorganizmów. Ponadto Doktorantka oceniła wpływ surowca oraz wybranych aspektów technologicznych, w tym procesu sycenia oraz dojrzewania na kształtowanie jakości miodów pitnych typu trójniak. Na tle dostępnych prac naukowych badania prowadzone przez Doktorantkę wyróżnia podejście sensomiczne w badaniu związków zapachowych miodów pitnych, które dostarczyło szczegółowej wiedzy na temat molekularnych podstaw aromatu badanego produktu. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są cennym osiągnięciem naukowym, istotnym dla rozwoju dyscypliny technologii żywności i żywienia.

3. Formalna ocena pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa liczy 51 stron tekstu i zawiera: wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel i zakres badań, materiał i metody badawcze, wyniki badań i ich interpretację, podsumowanie i wnioski, spis literatury oraz dodatkowo kserokopie prac będących przedmiotem rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia doktorantki i współautorów. Cytowane piśmiennictwo obejmuje 38 pozycji, 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 trzy publikacje, z których jedna została wysłana do redakcji zaś dwie zostały opublikowane w 2024 roku w recenzowanych czasopismach naukowych z listy JCR: 1 publikacja w czasopiśmie *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (IF=5,7, MEiN=140 pkt), 1 publikacja w *Molecules*, (IF=4,2, MEiN=140 pkt). Sumaryczny wskaźnik IF publikacji wynosi 9,9; a liczba punktów MEiN = 280. Wszystkie prace są opracowaniami zbiorowymi (od 3 do 5 autorów), we wszystkich pracach mgr inż. Daria Cicha-Wojciechowicz jest pierwszym autorem. Z oświadczeń współautorów wynika, że Autorka niniejszej rozprawy miała znaczący udział w realizacji prac na poziomie od 60 do 75%, polegał on na m.in. na: przygotowaniu projektu badań, opracowaniu założeń i metod, przeprowadzeniu badań, w tym zbieraniu danych, analizie wyników, interpretacji wyników i sformułowaniu wniosków, opracowaniu grafik, opracowaniu manuskryptu.

Badania przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, w ramach grantu Preludium Bis 1(UMO-2019/35/O/NZ9/00788). Częściowo były realizowane w trakcie 3-miesięcznego stażu zagranicznego Doktorantki w Leibniz Institute for Food Systems Biology at the Technical University of Munich we Fraisingu, w ramach programu NAWA Preludium Bis 1.

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Tytuł rozprawy doktorskiej został sformułowany poprawnie i odpowiada zakresowi wykonanych przez Doktorantkę badań oraz odzwierciedla treści zawarte w publikacjach stanowiących cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych. W streszczeniu Doktorantka w sposób syntetyczny przedstawiła główne założenie i osiągnięcia pracy. Wprowadzeniem w tematykę badawczą był wstęp, w rozdziale tym Doktorantka przedstawiła klasyfikację miódów pitnych, kluczowe surowce i wybrane aspekty technologiczne (w tym proces sycenia, fermentacji i dojrzewania), wpływające na jakość miódów pitnych. Ponadto Autorka skupiła się na opisanu tzw. podejścia sensomicznego wykorzystującego zaawansowane techniki analityczne do kompleksowej oceny aromatu produktów spożywczych. Opisała metody badawcze niezbędne do pełnego określenia kluczowych związków odpowiedzialnych za aromat produktów. Na tle dostępnej literatury uzasadniła potrzebę podejmowanych w ramach pracy doktorskiej badań, wskazując na ich pionierski charakter. Rozdział ten stanowi wprowadzenie do części eksperymentalnej.

Głównym celem rozprawy doktorskiej była identyfikacja kluczowych związków zapachowych kształtujących aromat polskich tradycyjnych miódów pitnych, a także

określenie wpływu surowca oraz procesów fermentacji i dojrzewania na ich powstawanie. Cel główny został właściwie sformułowany i uzupełniony o trzy cele szczegółowe, 1 hipotezę badawczą oraz trzy hipotezy szczegółowe. Cel pracy poddano weryfikacji w ramach kolejno zaplanowanych eksperymentów. Do realizacji badań wykorzystano specjalistyczną aparaturę badawczą oraz zaawansowane techniki analityczne (w tym m.in.: chromatografię gazową z olfaktometrią (GCO), chromatografię gazową ze spektrometrią mas (GC/MS), pełną dwuwymiarową chromatografię gazową ze spektrometrią mas (GCxGC/MS), wykorzystano różne metody ekstrakcji związków lotnych (SPE, SPME, SAFE), ponadto obliczono: współczynnik rozcieńczenia zapachu (FD factor), stężenie progu wyczuwalności aromatu (OAV) oraz zastosowano analizę głównych składowych (PCA). Materiałem wyjściowym do badań były miody pitne wielokwiatowe (publikacja 1) oraz miody pitne odmianowe (akacjowy, gryczany, lipowy), (publikacje 2 i 3). Zakres prowadzonych badań był szeroki i adekwatny do zweryfikowania celu i postawionych hipotez badawczych.

Kluczową częścią autoreferatu było syntetyczne omówienie uzyskanych wyników badań i ich interpretacja. W pierwszym etapie badań Doktorantka dokonała szczegółowej analizy związków lotnych budujących aromat modelowego, wielokwiatowego miodu pitnego typu trójniak, wytworzonego w warunkach przemysłowych. Autorka zastosowała podejście sensoromiczne zgodnie, z którym wykonała szereg analiz i obliczeń, co pozwoliło ostatecznie na wyodrębnienie 9 kluczowych związków zapachowych odpowiadających za aromat badanego miodu pitnego. Doktorantka określiła profil zapachowy oraz monitorowała zmiany stężeń związków zapachowych w czasie procesu produkcyjnego (w 1 i 30 dniu fermentacji) oraz w gotowym produkcie po zakończonym 12 miesięcznym procesie dojrzewania. Doktorantka wskazała na kluczową rolę procesu fermentacji oraz dojrzewania w kształtowaniu aromatu miodów pitnych. Wyniki opublikowano w publikacji 1.

W kolejnym etapie badań Doktorantka przeprowadziła szczegółową analizę przygotowanych 12 modelowych miodów różniących się odmianą miodu pszczelego (akacjowy, gryczany, lipowy), rodzajem fermentacji (spontaniczna, drożdżowa, inokulacja pleśniami *Galactomyces geotrichum*) oraz różnym sposobem przygotowania brzezki (z syceniem lub bez). Doktorantka oceniła istotne związki aktywne zapachowo i ich profile aromatyczne, co pozwoliło na ocenę wpływu poszczególnych zmiennych produkcyjnych na ostateczny charakter aromatu miodu pitnego. Doktorantka wykazała, że największy wpływ na różnice w profilu zapachowym miała odmiana miodu pszczelego. Wyniki opublikowano w publikacji 2.

W publikacji 3 Doktorantka przeanalizowała różnice pomiędzy fermentacją spontaniczną, a fermentacją prowadzoną z udziałem drożdży *S. cerevisiae* BC s103 brzeczek niesyconych.

W celu określenia różnic między wariantami fermentacji, zastosowano połączenie zaawansowanych technik instrumentalnych, takich jak niecelowana analiza profilu związków lotnych oraz ocena stężeń związków aktywnych zapachowo, w połączeniu z monitorowaniem zmian w mikrobiocie za pomocą cytometrii przepływowej. Uzyskane wyniki Doktorantka opracowała przy pomocy adekwatnych analiz statystycznych, w celu wykazania zachodzących interakcji, próby wyjaśnienia możliwych przyczyn różnic w ocenie sensorycznej prób oraz wykazania różnic wynikające z procesu produkcyjnego przy zastosowaniu dwóch metod fermentacji. Przeprowadzenie szczegółowych badań na każdym etapie produkcji pozwoliło na lepsze poznanie procesów zachodzących w produkcie podczas jego wytwarzania, a także pozwoliło na określenie wagi poszczególnych parametrów i etapów produkcyjnych, na jakość sensoryczna wyrobu.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała 10 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 3, jak Doktorantka tłumaczy „wpływ procesu ogrzewania” (proponuję zamienić na procesu sycenia) na „ przyrost alkoholu fenyloetylowego (79- krotny). We wniosku 7 warto podać pełną nazwę badanego szczepu drożdży *S. cerevisiae* BC s103.

Po lekturze przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej nasuwają się pewne pytania, do których proszę, aby Doktorantka odniosła się podczas publicznej obrony.

Proszę o uzasadnienie dlaczego w celu zweryfikowania wpływu „gotowania brzezki” (procesu sycenia) na zawartość związków zapachowych, próby pobierano 1 dnia fermentacji, a nie przed jej rozpoczęciem. W jakim odstępie czasu od momentu dozowania drożdży pobierano próby, czy można wykluczyć wpływ procesu fermentacji na analizowane parametry (np. na wyniki opisane we wniosku 3).

W jaki sposób przygotowano drożdże *S. cerevisiae* BC s103 do procesu fermentacji, w opisie wskazano, że zgodnie z instrukcją producenta, ta podaje kilka sposobów przygotowania drożdży, proszę o doprecyzowanie. Poproszę o uzasadnienie wyboru szczepu drożdży do fermentacji oraz temperatury 15C do prowadzenie procesu dojrzewania miodów pitnych.

Jakie była wartość pH brzezki nastawnej do fermentacji, czy mierzono i korygowano wartość tego parametru, czy jest to istotny aspekt technologiczny. Poproszę o komentarz do wartości pH brzezek w pierwszej dobie fermentacji, był on na poziomie ok 4,0 (publikacja 3, tab. S4, supplementary material). Czy było to pH początkowe.

W celu kontroli przebiegu procesu fermentacji analizie parametrów fizykochemicznych miódów pitnych uwzględniono pomiar zawartości cukrów (glukoza, fruktoza) oraz glicerolu czy wykonano oznaczenia zawartości głównego produktu fermentacji - etanolu.

Jak Doktorantka odnosi się do ilości bakterii w próbach fermentowanych z udziałem drożdży (publikacja 3, rys.6). Proszę o szerszą interpretację i analizę tego wyniku. Czy wyznaczono całkowitą/ sumaryczną liczbę komórek bakterii i drożdży jtk. w czasie procesu. Czy w kontekście tych wyników właściwym jest użycie określenia „fermentacja kontrolowana z udziałem drożdży”, stosowanego przez Doktorantkę w opisie i interpretacji uzyskanych wyników (np. str. 40 i 42 itp).

Oznaczenie i opis prób miódów pitnych z pleśniami *Galactomyces geotrichum* różnią się w p. 1.2 (ANSM, BNSM, TNSM), a na rys. 2 autoreferatu (ANM, BNM, TNM/ fermentacja spontaniczna + pleśnie).

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, w szczególności umiejętność posługiwania się nowoczesnymi metodami analitycznymi w zakresie analizy związków lotnych budujących aromat produktów. Dogłębna analiza aromatu miódów pitnych, oparta na podejściu sensomicznym pozwoliła zarówno na określenie kluczowych związków zapachowych odpowiadających za jego charakterystyczny aromat, a także na określenie etapu ich powstawania podczas procesu produkcyjnego. Zaawansowane metody analityczne pozwoliły na precyzyjne określenie zmian związków zapachowych na poziomie molekularnym. 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

Reasumując stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska mgr inż. Darii Cichej - Wojciechowiec jest oryginalnym i wartościowym opracowaniem, spełnia wymagania formalne i merytoryczne stawiane rozprawom na stopień doktora. Rozszerza wiedzę na temat analizy związków aktywnych zapachowo kształtujących aromat polskich miódów pitnych. Charakteryzuje się oryginalnością naukową i jednocześnie łączy aspekty naukowe z praktycznymi. Doktorantka umiejętnie wykorzystwała narzędzia badawcze, analityczne, a potwierdzeniem tego są publikacje naukowe wchodzące w skład recenzowanej dysertacji. Wyniki pracy mają dużą wartość poznawczą i wnoszą oryginalny wkład do rozwoju wiedzy

z zakresu nauk o żywności. Przedłożoną do recenzji rozprawę doktorską oceniam pozytywnie i stwierdzam, że rozprawa ta spełnia wszystkie ustawowe wymogi i kryteria określone w art.187 ustawy z dnia 20 marca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020, poz.85 z późn. zm.). Na tej podstawie wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr inż. Darii Cichej -Wojciechowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, dnia 25.06.2025 r.


Joanna Kawa-Rygielska