

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pana mgr inż. Kacpra Kuta
pt. „Wybrane aspekty metodyczne oznaczeń aktywności
antyoksydacyjnej produktów żywnościowych
zawierających białka i polifenole”**

Rozprawa doktorska, której autorem jest Pan mgr inż. Kacper Kut złożona została celem uzyskania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. Tematyka badań opisanych w tej dysertacji dotyczy aktywności antyoksydacyjnej produktów spożywczych ze szczególnym uwzględnieniem polifenoli oraz białek. Doktorant zwrócił szczególną uwagę na aspekty metodyczne oznaczania wyżej wymienionej aktywności. Praca ta dobrze wpisuje się zatem w zakres tematyczny objęty przez wybraną dyscyplinę naukową.

Oceniana rozprawa ma formę dość nietypową. Z jednej strony składa się z trzech artykułów naukowych opublikowanych w języku angielskim w międzynarodowych czasopismach (dwa artykuły w *Processes* oraz jeden w *International Journal of Molecular Sciences*); Pan mgr inż. Kacepr Kut jest pierwszym autorem we wszystkich tych pracach a bardzo dobrze i precyzyjnie

przygotowane oświadczenia nie pozostawiają wątpliwości, że odegrał on kluczową rolę w powstaniu tych publikacji. Z drugiej jednak strony, wyniki przeprowadzonych badań są opisane w pierwszej części rozprawy w postaci tradycyjnego manuskryptu przedstawionego w języku polskim. Co prawda taka forma pracy doktorskiej spełnia wszystkie wymagania formalne, w tym warunki opisane w art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 poz. 1571), jednak zaskakujące jest powtórzenie opisu rezultatów badań praktycznie w tym samym zakresie zarówno w przedstawionym opisie w języku polskim jak i w artykułach stanowiących podstawę rozprawy. Nawet ryciny w obu przypadkach są identyczne (różnią się jedynie językiem podpisów). Nie rozumiem czemu takie powtórzenie (w praktyce dwukrotne opisanie tych samych wyników badań) miało służyć? W rozprawach doktorskich mających postać cyklu artykułów często przedstawiane jest krótkie podsumowanie badań, wskazanie spójności prac opisanych w poszczególnych artykułach czy wymienienie najważniejszych wniosków. Natomiast z dwukrotnym przedstawieniem tego samego materiału w dysertacji na stopień naukowy spotykam się po raz pierwszy (a jest to 171. rozprawa doktorska, którą recenzuję). Powtórzę raz jeszcze, że nie jest żaden błąd i w niczym nie umniejsza wartości merytorycznej ocenianej rozprawy, jednak nurtujące się to, dlaczego Doktorant zdecydował się na dodanie sobie dodatkowej pracy w postaci dwukrotnego opisanie tego samego materiału badawczego? Według mnie, wybranie jednej z tych dwóch form (manuskrypt opracowania albo cykl artykułów) byłoby całkowicie wystarczające a merytorycznie identyczne z aktualną formą rozprawy.

Oceniając merytoryczną wartość pracy doktorskiej, którą przedstawił Pan mgr inż. Kacper Kut należy wskazać kilka najważniejszych osiągnięć naukowych opisanych w tej dysertacji. Doktorant przeprowadził analizę właściwości antyoksydacyjnych różnych naparów, uzyskanych z wykorzystaniem żywnościowych produktów roślinnych i przypraw. Najbardziej interesujące w tej analizie było określenie zawartości związków fenolowych w badanym materiale, zmierzenie w tymże materiale całkowitej zdolności antyoksydacyjnej oraz poziomu produkowanego nadtlenku wodoru, a w szczególności określenie korelacji między wyżej wymienionymi parametrami. Pan mgr inż. Kacper Kut stwierdził występowanie korelacji pomiędzy zawartością polifenoli a całkowitą zdolnością antyoksydacyjną. Ten drugi z parametrów był określany za pomocą szeregu metod, w szczególności redukcji kwasu 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego), zdolności do redukcji jonów miedzi (II), zdolność do redukcji żelaza (III), a także redukcji 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu. W tym miejscu należy zaznaczyć bardzo dobre przygotowanie metodyczne Doktoranta. Pan mgr inż. Kacper Kut zastosował różne podejścia eksperymentalne, użył różnorodnych metod badawczych, a wszystkie pomiary wykonał bardzo rzetelnie i precyzyjnie, co jest udokumentowane w artykułach Jego współautorstwa.

Powracając do analizy samych opisanych wyników, to interesujący jest wskazany w pracy brak korelacji pomiędzy zawartością polifenoli w badanych produktach żywnościowych a ilością tworzonego nadtlenku wodoru. Pan mgr inż. Kacper Kut tłumaczy to tym, że pomimo iż polifenole wpływają na powstawanie

nadtlenku wodoru (głównie w procesie autooksydacji), to jego poziom w próbce zależy także od zdolności antyoksydacyjnej związków zawartych w produktach żywnościowych (co prowadzi do efektywnego usuwania nadtlenku wodoru). Ta hipoteza jest jak najbardziej prawdopodobna. Chciałbym jednak w ramach dyskusji zapytać Doktoranta czy widzi także inne potencjalne możliwości wytłumaczenia wykazanego i opisanego braku korelacji między stężeniem polifenoli a poziomem nadtlenku wodoru?

W dalszej części pracy Pan mgr inż. Kacper Kut skupił się na badaniu antyoksydacyjnej aktywności białek (używając modeli albuminy surowicy bydlęcej i białka jaja kurzego) oraz produktów ich degradacji. Przedstawione wyniki jasno wskazują, że zarówno denaturacja jak i trawienie enzymatyczne białek zwiększa aktywność antyoksydacyjną. Pan mgr inż. Kacper Kut proponuje, że zjawisko to spowodowane jest zwiększeniem dostępności aminokwasów, które w postaci wolnej mogą efektywniej usuwać reaktywne formy tlenu niż znajdując się w łańcuchu polipeptydowym. W szczególności dotyczyć to może następujących aminokwasów: tyrozyna, tryptofan, cysteina, cystyna, histydyn i arginina. Jest to kolejny bardzo ciekawy wniosek, natomiast poproszę doktoranta o wytłumaczenie dlaczego – biorąc pod uwagę budowę chemiczną – wolne aminokwasy mogą być efektywniejszymi antyoksydantami niż te same związki występujące w łańcuchach peptydowych? Czy chodzi o dostępność reszt aminokwasowych czy raczej grup funkcyjnych tworzących wiązania peptydowe?

Bardzo ciekawą obserwacją Doktoranta było stwierdzenie powstawania fioletowego produktu w reakcji rodników kwasu 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego) z białkami. Powstały barwny produkt nie jest rodnikiem, co Pan mgr inż. Kacper Kut potwierdził stosując metodę spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego. Doktorant słusznie zauważa, że wykryte zjawisko może prowadzić do zafałszowania wyników oznaczeń całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, w szczególności jeżeli badana próbka produktu żywnościowego zawiera stosunkowo dużą ilość białka. Zasadne było także stwierdzenie, że konieczne jest krytyczne podejście do interpretacji wyników oznaczeń aktywności antyoksydacyjnych w produktach żywnościowych, a także wybór odpowiednich metod analitycznych. W tym miejscu chciałbym poprosić Doktoranta o zaproponowanie optymalnego – według Niego – postępowania metodycznego w zakresie oznaczania całkowitej zdolności antyoksydacyjnej badanych produktów o wysokiej zawartości białka.

W podsumowaniu mojej oceny stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 poz. 1571). Autor wykazał się ogólną wiedzą teoretyczną, umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, a także rozwiązał problem naukowy. Wnoszę zatem do Rady Dyscyplin Rolnictwo i ogrodnictwo oraz Technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie Pana mgr inż. Kacpra Kuta do dalszych etapów postępowania doktorskiego.