

STRESZCZENIE

Profil wolnych aminokwasów *Stellaria media* (L.) Vill. i *Viola tricolor* L. jako wskaźnik reakcji na czynniki środowiskowe”

Słowa kluczowe: wolne aminokwasy; chwasty; LC-MS/MS; chromatografia; właściwości gleby

Prezentowana praca doktorska ma charakter metodyczno-badawczy i składa się z dwóch etapów. W I Etapie została opracowana metoda oznaczania wolnych aminokwasów w świeżym materiale roślinnym z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej z analizatorem mas typu potrójny kwadrupol (LC-MS/MS). W II Etapie badań wykorzystano opracowaną metodę do oceny wpływu warunków środowiskowych na zawartość wolnych aminokwasów w powszechnie towarzyszących człowiekowi popularnych chwastach segetalnych, często będących wartościowym materiałem zielarskim wykazującym właściwości lecznicze.

Badano profil wolnych aminokwasów białkowych w gwiazdnicy pospolitej, fiołku trójbarwnym i fiołku polnym. Pomimo, że pula wolnych aminokwasów jest średnio o 100 - 1000 razy mniejsza niż aminokwasów wbudowanych w białka, to ich rola w metabolizmie roślin jest znacząca. Oprócz funkcji budulcowej białka, stanowią one materiał do biosyntezy innych związków azotowych, takich jak nukleotydy, fitohormony lub metabolity wtórne. W przyrodzie występuje ponad 300 aminokwasów, wśród których 20 uważa się za podstawowe aminokwasy białkowe. W prezentowanej pracy oznaczono jakościowo i ilościowo 19 z nich, za wyjątkiem cysteiny.

W ramach I Etapu badań przeprowadzono optymalizację i walidację opracowanej metody oznaczania aminokwasów. Na optymalizację składało się określenie procedury przygotowania próbki, dobór parametrów chromatograficznych i parametrów spektrometru mas. Przy walidacji uwzględniono dobór przejść jonowych dla każdego związku, krzywą kalibracyjną, precyzję, dokładność, LOD i LOQ. Walidację przeprowadzono w oparciu o wytyczne zawarte w dokumencie ICH Q2(R1) (2005) i SANCO (2014). Opracowana metoda okazała się powtarzalna, wiarygodna i czuła. Dzięki temu mogła być z powodzeniem użyta w dalszym etapie badań do oznaczania profili wolnych aminokwasów w badanych chwastach.

W II Etapie materiałem badawczym była gwiazdnica pospolita, fiołek trójbarwny i fiołek polny, pochodzące z kilku siedlisk naturalnych w rejonie Dolnego Śląska, a także rośliny hodowane w warunkach kontrolowanych w komorach klimatycznych. Czynnikiem różnicującym była gleba o zmiennych właściwościach fizykochemicznych takich jak odczyn, skład granulometryczny, zawartość węgla organicznego oraz przyswajalnego fosforu i potasu. Do badań pobierano całe rośliny w pełnej dojrzałości (BBCH 5).

Przeprowadzone badania wykazały, że wszystkie trzy gatunki chwastów zawsze zawierały pełny komplet 19 aminokwasów. Stwierdzono również, że większa zawartość węgla organicznego i frakcji iłu, a co za tym idzie większa zawartość azotu, powodowały wzrost całkowitej zawartości aminokwasów w badanych roślinach, w stosunku do gleb charakteryzujących się mniejszą żyznością. Dzięki temu zawartość wolnych aminokwasów w chwastach mogła być wskaźnikiem żyzności gleb, na których chwasty te rosły. Ponadto zauważono, że warunki glebowe wyraźnie różnicowały poziom całkowitej zawartości wszystkich aminokwasów łącznie, nie wpływając znacząco na procentowy udział poszczególnych aminokwasów w ich całkowitej puli, który pozostawał względnie stały dla danego gatunku. Dominującymi aminokwasami, mającymi ponad 70% udziału w puli wszystkich 19 badanych, były w przypadku gwiazdnicy - glutamina, kwas glutaminowy i asparaginowy, a w przypadku fiołka trójbarwnego i polnego - alanina i walina. Dodatkowo stwierdzono, że fiołek trójbarwny i fiołek polny charakteryzowały się większym udziałem aminokwasów egzogennych niż gwiazdnica pospolita, co świadczy o większej wartości odżywczej fiołków.

Możliwość przyszłego wykorzystania wyników rozprawy związana jest głównie z zastosowaniem opracowanej metody analitycznej w różnego rodzaju badaniach naukowych,

głównie związanych z monitorowaniem stresu oksydacyjnego u roślin, który objawia się zmianami w profilu aminokwasowym. Jednym z ciekawszych zagadnień może być użycie metody do monitorowania stresu herbicydowego w roślinach uprawnych.