



საქართველოს ტექნიკური
უნივერსიტეტი
1922 წლიდან

თეა ნინუა

მცენარეული ინგრედიენტების გამოყენებით ახალი სასურსათო
პროდუქციის შექმნა მათთვის ფუნქციური დანიშნულების
გაუმჯობესების მიზნით

წარმოდგენილია დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სადოქტორო პროგრამა : ქიმიური და ბიოლოგიური ინჟინერია

შიფრი -0711

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი თბილისი, 0160, საქართველო

2025 წ

საავტორო უფლება © 2025 წელი თეა ნინუა

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტი

ჩვენ, ქვემოთ ხელისმომწერნი ვადასტურებთ, რომ გავცანით თეა ნინუა მიერ შესრულებულ სადისერტაციო ნაშრომს დასახელებით:

„მცენარეული ინგრედიენტების გამოყენებით ახალი სასურსათო პროდუქციის შექმნა მათთვის ფუნქციური დანიშნულების გაუმჯობესების მიზნით“

და ვაძლევთ რეკომენდაციას საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის საინჟინრო ტექნოლოგიური და საბუნებისმეტყველო სადისერტაციო საბჭოში მის განხილვას დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად.

-----,----- 2025 წელი

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: პროფ. ედიშერ კვესიტაძე

პროფ. თეიმურაზ ბუაჩიძე

რეცენზენტი:_____

რეცენზენტი:_____

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

2025 წ

ავტორი: თეა ნინუა

დასახელება: მცენარეული ინგრედიენტების გამოყენებით ახალი სასურსათო პროდუქციის შექმნა მათთვის ფუნქციური დანიშნულების გაუმჯობესების მიზნით

სადოქტორო პროგრამა: ქიმიური და ბიოლოგიური ინჟინერია

მისანიჭებელი კვალიფიკაცია: ქიმიური და ბიოლოგიური ინჟინერიის

დოქტორი

სხდომა ჩატარდა _____

ინდივიდუალური პიროვნებების ან ინსტიტუტების მიერ ზემომოყვანილი დასახელების დისერტაციის გაცნობის მიზნით მოთხოვნის შემთხვევაში მისი არაკომერციული მიზნებით კოპირებისა და გავრცელების უფლება მინიჭებული აქვს საქართველოს ტექნიკურ უნივერსიტეტს.

ავტორის ხელმოწერა _____

ავტორი ინარჩუნებს დანარჩენ საგამომცემლო უფლებებს და არც მთლიანი ნაშრომის და არც მისი ცალკეული კომპონენტების გადაბეჭდვა ან სხვა რაიმე მეთოდით რეპროდუქცია დაუშვებელია ავტორის წერილობითი ნებართვის გარეშე. ავტორი ირწმუნება, რომ ნაშრომში გამოყენებული საავტორო უფლებებით დაცულ მასალებზე მიღებულია შესაბამისი ნებართვა (გარდა იმ მცირე ზომის ციტატებისა, რომლებიც მოითხოვენ მხოლოდ სპეციფიურ მიმართებას ლიტერატურის ციტირებაში, როგორც ეს მიღებულია სამეცნიერო ნაშრომების შესრულებისას) და ყველა მათგანზე იღებს პასუხისმგებლობას.

რეზიუმე

სადოქტორო ნაშრომი ეხება ვაზის ბუნებრივი ჰიბრიდული ჯიშის - იზაბელას (*Vitis Labrusca L.*) ფოთლებში პროტეოლიზური ფერმენტის აღმოჩენას, მისი ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური თვისების შესაწავლასა და პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივას ხორბლოვნების გლუტენის დაშლის მიზნით.

რა არის ცელიაკია? ცელიაკია (მემკვიდრული გლუტენური ენტეროპათია) არის ქრონიკული მულტიფაქტორული ანთებითი დაავადება, რომელიც ხასიათდება ნაწლავური და არანაწლავური გამოვლინებებით- სისხლის შრატის სპეციფიური ანტისხეულების წარმოქმნითა და აუტოიმუნური პასუხით, წვრილი ნაწლავის ლორწოვანი გარსის დაზიანებებითა და სხვა. ცელიაკია ითვლება სისტემურ დარღვევად და უკავშირდება გლუტენის მიღებას, რომელსაც შეიცავს პური და პურპროდუქტები, მაკარონისა და საკონდიტრო ნაწარმი, ლუდი, ბურღული (მანანის, შვრიის, კუსკუსი და ა.შ.). გლუტენის კვალს შეიცავს ზოგიერთი საკვები პროდუქტი: ნაყინი, იოგურტი, რძის ფხვნილი, ნაღები, შესქელებული რძე, ყველეული, მაიონეზი, მარგარინი. ცელიაკიის მრავალფეროვანი სიმპტომებიდან ყველაზე თვალსაჩინოა საკვების მოწელების დარღვევა და იმუნური რეაქციები. ეს დაავადება უმეტესწილად ვლინდება გლუტენზე გენეტიკურად მგრძნობიარე ადამიანებში. ცელიაკია ვლინდება მსოფლიო მოსახლეობის 0.6-დან 1.0 %-ში. ზრდასრულ მოსახლეობაში მისი შეხვედრის სტატისტიკა შემდეგნაირია: აშშ-0,7%, სამხრეთ ამერიკა-0,5%, აფრიკის ქვეყნები-1,1%, აზიის ქვეყნები-1-1,23%, (აღსანიშნავია გავრცელების მაღალი მაჩვენებელი ინდოეთსა და საუდის არაბეთში). ცელიაკიით დაავადებულ ადამიანთა რიცხვი საკმაოდ მაღალია ევროპის ქვეყნებში-ფინეთში 2,4%, გერმანიაში-0,5%, საბერძნეთში-0,18%, იტალიაში-1,3%. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ მონაცემები ასახავს მხოლოდ სეროლოგიურ-სკრინინგული კვლევების მონაცემებს, რაც შეადგენს გამოვლინებული შემთხვევების დაახლოებით ოცდაერთ პროცენტს. დაავადების დიაგნოსტიკა არც-თუ ისე მარტივია, რადგან ყოველთვის არ ვლინდება კლასიკური კლინიკური სურათი. ცელიაკიის გამომწვევ მთავარ ფაქტორს წარმოადგენს გლუტენი-ნატივური ან მოდიფიცირებული და ე.წ. გლუტენური პეპტიდები. თანამედროვე ხორბლის ჯიშები გენეტიკურად მნიშვნელოვნად განსხვავდება ადრე მოხმარებულებისაგან. მათ შორის დიდია იმ ჯიშების ხვედრითი წილი, რომლებიც მიღებულია გენური ინჟინერიის გზით. სამაგიეროდ, მნიშვნელოვნადაა ამაღლებული მოსავლიანობა, პროდუქტიულობა, ყუათიანობა, შენახვის ვადის ხანგრძლივობა, აგრეთვე იმუნოგენური თვისებები. ამავდროულად, ხორბლოვნები (ჭვავი, ქერი, ხორბალი) შეიცავენ პროლინითა და გლუტამინით მდიდარ ცილებს-პროლაშინებს, რომლის მოხმარებას რიგ ადამიანებში შეუძლია გლუტენდამოკიდებული ისეთი დაავადებების ინიცირება, როგორიცაა ცელიაკია, ალერგია ხორბალზე, ხაბაზის ასთმა, ანაფილაქსია. ამ ცილების შემცველობაზე გავლენას ახდენს როგორც გენომი, ასევე რეგიონი, რომელშიც მოჰყავთ ხორბალი, კლიმატური პირობები, აგრონომული მეთოდები- აზოტშემცველი სასუქების მოხმარება, რომლებიც ზრდიან სამარაგო ცილების, კერძოდ გლიადინების ხვედრით წილს მარცვალში. პროლინი და გლუტამინი განსაზღვრავენ ხორბლოვნების ცილის სტრუქტურას, რომელსაც ადამიანის საჭმლის მომწელებელი ტრაქტის ფერმენტები სრულად ვერ შლიან. არასათანადო ფერმენტაციის შედეგად ჩნდება ე.წ. გლუტენური პეპტიდები, რომლებიც შეიცავენ

საკვებთან ერთად მიღებული გლუტენის 10%. დაუშლელი გლუტენური პეპტიდები ხშირად შთაინთქმება წვრილი ნაწლავის ლორწოვანი გარსის მიერ და ცელიაკიით დაავადებულ ადამიანებში ააქტიურებს ნაწლავის იმუნურ უჯრედებს. ყაითნოვანი ეპითელიუმის უჯრედებში მკვეთრად ქვეითდება შეწოვის უნარი, რასაც მოჰყვება წვრილი ნაწლავის ლორწოვანი გარსის გადაგვარება. ასეთი ტიპის აქტივაცია არ შეინიშნება ჯანმრთელ ადამიანებში-ხდება დაუშლელი პეპტიდური ფრაგმენტების ექსკრეცია მაგ. შარდთან ერთად. ამგვარად, პათოგენური მოქმედების თავიდან არიდება შეიძლება, თუ გლუტენს დავშლით ამინომჟავურ კომპონენტებად.

თანამედროვე კვების მრეწველობის ერთ-ერთ აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს სპეციალიზებული ფუნქციური საკვები პროდუქტების მიღების ახალი და უფრო სრულყოფილი გზების ძიება, შესაბამისი ტექნოლოგიების შემუშავება, რათა მოახდინონ კონკრეტული დაავადებების პრევენცია და უკეთ მართვა. უგლუტენო პროდუქტები სპეციალიზირებული საკვები პროდუქტების წარმოება - რეალიზაციის თვალსაზრისით ერთ-ერთ მნიშვნელოვან სეგმენტს წარმოადგენს. ამის დამადასტურებლად კმარა თუნდაც ის ფაქტი, რომ ბოლო 20 წელიწადში მსოფლიოს მასშტაბით უგლუტენო პროდუქციის წარმოება გაზრდილია 125 %-ით. პროგნოზების თანახმად, უგლუტენო პროდუქტების გლობალური ბაზარი 2030 წლისთვის შთამბეჭდავ 15,1 მილიარდ აშშ დოლარს მიაღწევს.

ცნობილია, რომ პროტეოლიზური ფერმენტების დახმარებით შესაძლებელია სხვადასხვა ცილოვანი სუბსტრატის დაშლა მცირე ზომის პეპტიდებად და ამინომჟავებად, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს სხვადასხვა ბიოტექნოლოგიურ პროცესში. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მოძიებულ იქნას ისეთი პროტეაზები, რომლებიც დაშლიან ხორბლოვნების გლუტენურ ფრაქციას მცირე ზომის პეპტიდურ ფრაგმენტებად და ამინომჟავებად და ამავდროულად შეუნარჩუნებენ ან გაუუმჯობესებენ საკვებ პროდუქტს საგემოვნო თვისებებს.

აქტუალურობას იძენს ის ფაქტი, რომ პროტეაზების წყაროს წარმოადგენდეს იაფი, ფართოდ ხელმისაწვდომი უსაფრთხო ნედლეული, როგორცაა საკვებად ვარგისი და სამკურნალო მცენარეები.

სადოქტორო სამუშაოს ფარგლებში, ჩატარდა საქართველოში გავრცელებული რიგი სამკურნალო და საკვებად ვარგისი მცენარეების სკრინინგი მათში პროტეაზული აქტივობის მქონე ცილების გამოვლენის მიზნით. შერჩეულ იქნა ისეთი ნედლეული, რომელშიც მაღალი იყო პროტეოლიზური აქტივობა, დადგენილ იქნა მათი ზოგიერთი ფიზიკური და ქიმიური მახასიათებელი (მინერალური შედგენილობა, მძიმე მეტალების შემცველობა, პროტეოლიზური მოქმედების ხარისხი, ტემპერატურული და pH-ოპტიმუმი და ა.შ.) საბოლოოდ, შეირჩა შესაბამისი ნედლეული - იზაბელა (*Vitis Labrusca L.*), რომელიც წარმოადგენს ჰიბრიდულ კულტურულ მცენარეს და გამოირჩევა თავისი მდგრადობით სხვადასხვა დაავადების გამომწვევისა თუ სასოფლო-სამეურნეო მავნებლის მიმართ, ნაყოფი ხასიათდება კარგი საგემოვნო თვისებებით, თუმცა ფოთოლს ჯერჯერობით არ აქვს ფართო გამოყენება.

იზაბელას ფოთლების ბიოლოგიური თვისებების შესწავლისას დადგინდა მათში პროტეოლიზური ფერმენტის არსებობა. უნდა აღინიშნოს, რომ ვაზის ფოთოლი წარმოადგენს აგრარული მრეწველობის ნარჩენ პროდუქტს, რომელიც დიდი რაოდენობით გროვდება და ჯერჯერობით მათი უტილიზაცია სრულად ვერ ხერხდება. ნედლეულის სიიაფის გათვალისწინებით, ამოცანად დაისახა ამ ფოთლების ბიოლოგიური თვისებების გამოყენება სხვადასხვა დარგში. ერთ-ერთი

ასეთი მიმართულება აღმოჩნდა გლუტენის დაშლა პურპროდუქტების წარმოებისას, რათა თავიდან იქნას არიდებული ისეთი დაავადების ეფექტი, როგორიცაა ცელიაკია.

სადოქტორო კვლევის მომდევნო ეტაპზე განხორციელდა ხორბლის ფქვილით დამზადებული ცომიდან გლუტენის ცილოვანი კომპლექსის მიღება, ტრადიციულ ცომში გლუტენის ფერმენტული გზით დაშლა იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენებით და პროტეოლიზური ეფექტის შეფასება სარეაქციო არეში ცილის კონცენტრაციის ცვლილების მიხედვით, ვინაიდან პროტეაზას ზემოქმედებით სარეაქციო არეში დაგროვდებოდა გლუტენის დაშლის შედეგად წარმოქმნილი პეპტიდები და ამინომჟავები.

გლუტენის დაშლის ეფექტი შეფასებულია ფერმენტაციის შემდგომ განხორციელებული SDS ელექტრო-ფორეზის მონაცემებით.

შემუშავებულ იქნა რეკომენდაციები იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენების პერსპექტივაზე ისეთი უგლუტენო პროდუქციის წარმოებისათვის, როგორიცაა ლუდი, ორცხობილა, ნამცხვარი და სხვა.

Abstract

The doctoral thesis refers to the discovery of a proteolytic enzyme in the leaves of the natural hybrid variety of grape - Isabella (*Vitis Labrusca* L.), the study of some of its physico-chemical properties, and the prospect of its practical use for breaking down wheat gluten.

What is celiac disease? Celiac disease (hereditary gluten enteropathy) is a chronic multifactorial inflammatory disease characterized by intestinal and non-intestinal manifestations - production of specific blood serum antibodies and autoimmune response, lesions of the small intestine mucosa, and others. Celiac disease is considered a systemic disorder and is associated with the intake of gluten, which is contained in bread and bakery products, pasta and confectionery, beer, cereals (mannan, oats, couscous, etc.). Traces of gluten are contained in some food products: ice cream, yogurt, milk powder, cream, condensed milk, cheese, mayonnaise, margarine. Among the various symptoms of celiac disease, the most visible are food digestion disorders and immune reactions. This disease mostly often affects people who have a genetic predisposition to gluten-related diseases. About 0.6-1% of the world's population suffers from celiac disease. The statistics of its occurrence in the adult population are as follows: USA-0.7%, South America-0.5%, African countries-1.1%, Asian countries-1-1.23% (a high rate of prevalence in India and Saudi Arabia should be noted). The number of people with celiac disease is quite high in European countries - 2.4% in Finland, 0.5% in Germany, 0.18% in Greece, and 1.3% in Italy. It is worth noting that the data only reflect data from serological screening studies, which account for approximately twenty-one percent of the detected cases. Diagnosing the disease is not so easy, because the classic clinical picture is not always revealed.

The main factor causing celiac disease is gluten-native or modified and so-called gluten peptides. Modern wheat varieties are genetically significantly different from those used in the past. Among them, there is a large share of those varieties obtained through genetic engineering. Instead, the yield, productivity, durability, shelf life, and immunogenic properties are significantly increased. At the same time, wheat grains (rye, barley, wheat) contain proteins rich in proline and glutamine - prolamins, the consumption of which in some people can initiate gluten-dependent diseases, such as celiac disease, wheat allergy, asthma, anaphylaxis. The content of these proteins is influenced by both the genome and the region in which wheat is grown, climatic conditions, agronomic methods - the use of nitrogen-containing fertilizers, which increase the share of storage proteins, especially gliadins, in the grain. Proline and glutamine determine the structure of wheat protein. The enzymes of the human digestive tract cannot completely break down them. As a result of improper fermentation, there are the so-called Gluten peptides, which comprise 10% of dietary gluten. Insoluble gluten peptides are often absorbed by the lining of the small intestine and activate immune cells in the gut in people with celiac disease. The ability of the intestinal epithelial cells to absorb nutrients is dramatically reduced, leading to degeneration of the small intestinal mucosa. This type of activation is not observed in healthy people - insoluble peptide fragments are excreted with urine, for example. Thus, pathogenic action can be avoided if we break down gluten into amino acid components. One of the urgent issues of the modern food industry is the search for new and more complete ways of obtaining specialized functional food products, the development of appropriate technologies in order to prevent and better manage specific diseases. Gluten-free products represent one of the important segments from the point of view of production

and sale of specialized food products. The fact that the production of gluten-free products worldwide has increased by 125% in the last 20 years is enough to confirm this. According to forecasts, the global market for gluten-free products will reach an impressive 15.1 billion USD by 2030.

As it is well known that with the help of proteolytic enzymes we are possible to break down various protein substrates into small peptides and amino acids, which is of great importance in various biotechnological processes. It is especially important to find proteases that break down the gluten fraction of wheat to small peptide fragments and amino acids, while maintaining or improving the taste properties of the food product. The fact that the source of proteases is cheap, widely available and safe raw materials, such as edible and medicinal plants, is gaining relevance. .

Within the framework of the doctoral work, a number of medicinal and edible plants distributed in Georgia were screened in order to detect proteins with protease activity in them. Raw materials with high proteolytic activity were selected, some of their physical and chemical characteristics were determined (mineral composition, heavy metal content, degree of proteolytic activity, temperature and Ph-optimum, etc.). Finally, the appropriate raw material was selected - Isabella (*Vitis Labrusca* L.), which is a hybrid cultural plant and stands out for its resistance to causing various diseases or As an agricultural pest, the fruit is characterized by good taste, although the leaf has not yet been widely used.

During the study of the biological properties of Isabella leaves, the presence of proteolytic enzyme was determined. It should be noted that the vine leaves are a waste product of the agricultural industry, which is collected in large quantities and so far it is not possible to fully utilize them. Considering the cheapness of the raw materials, the task was set to use the biological properties of these leaves in various fields. One such direction has been the breakdown of gluten in the production of bakery products to avoid the effects of diseases such as celiac disease.

The next stage of the doctoral work was to obtain the gluten protein fraction from wheat flour and treat it with the proteolytic enzyme of Isabella leaf. The proteolytic effect would be assessed based on the change in protein concentration in the reaction zone, since as a result of gluten hydrolysis, amino acids and low-molecular soluble peptides would inevitably accumulate in the reaction zone.

The degree of hydrolytic degradation of gluten by the action of Isabella leaf protease was assessed using data obtained by disk electrophoresis.

Recommendations were developed on the prospect of using Isabella's proteolytic enzyme for the production of gluten-free products such as beer, biscuits, cakes and others.

შინაარსი

რეზიუმე	4
შესავალი.....	19
1. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	22
1.1 „პური ჩვენი არსობისა“	22
1.2 . ხორბლის ცილები.....	24
1.3 ცელიაკია	27
1.4 პროტეაზები.....	355
1.4.1 მცენარეული პროტეაზები	39
1.4.1.1 ცისტეინური პროტეაზები.....	40
1.4.1.2. სერინული პროტეაზები.....	40
1.4.1.3. ასპარაგინული პროტეაზები.....	41
1.4.2. პროტეაზების გამოყენება ფქვილნაწარმებში	41
1.5. ვაზი და მისი პროდუქტები	42
1.5.1 იზაბელას აღწერა	44
1.5.2. საქართველოში გავრცელებული ვაზის ზოგიერთი ენდემური ჯიშის მოკლე აღწერა	477
1.6. საქართველოში გავრცელებული ზოგიერთი სამკურნალო მცენარის მოკლე აღწერა	522
2. მეთოდოლოგიური კვლევა.....	555
2.1 .იზაბელას ფოთლების კვლევა მძიმე მეტალებისა და ზოგიერთი მინერალის შემცველობაზე.....	555
2.1.1.ნედლეულის მომზადება ანალიზისათვის	555
2.1.2. ატომურ-აბსორბციული სპექტროფოტომეტრია.....	55
2.2 . პროტეოლიზური აქტივობის მქონე პრეპარატის მიღება	577
2.2.1 .ნედლეულიდან ფერმენტული ნიმუშების გამოყოფა.....	577
2.2.2 . პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრა.....	588
2.3. ცილის განსაზღვრის მეთოდი	600
2.3.1. ცილის განსაზღვრა ბრედფორდის მეთოდით	600
2.3.2. ცილის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით	611
2.4. პროტეაზების ტექნიკური პრეპარატების მიღება	611
2.4.1. პროტეაზული პრეპარატის მიღება სპირტით გამოლექვით.....	61
2.4.2. პროტეაზული პრეპარატის მიღება გამომარილების მეთოდით.....	62
2.5.გასუფთავებული ფერმენტის ფიზიკური და ქიმიური მახასიათებლების შესწავლა.....	622
2.5.1. პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრა გელ-დიფუზიური მეთოდით	622

2.5.2.ელექტროფორეზი.....	63
2.5.3. ოპტიმალური ტემპერატურისა და pH -ის დადგენა ფერმენტული პრეპარატების მოქმედებისათვის	65
2.6. გლუტენის მიღება.....	655
2.7. გლუტენის დაშლა პროტეაზას ზემოქმედებით.....	655
2.8. ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული (FRAP) მეთოდით	666
2.9. ჯამური ფენოლური ნაერთების განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრულად ფოლინ-ჩიკოლტეს მეთოდით.....	677
2.10. საერთო შაქრების განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით	688
3. შედეგები და მათი განსჯა	699
3.1.მძიმე მეტალებისა და მინერალური ნივთიერებების შემცველობის საკვლევი ხსნარების მიღება	699
3.1.1. მძიმე მეტალებისა და მინერალური ნივთიერებების შემცველობის გან- საზღვრა საკვლევი ხსნარებში.....	69
3.2. პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა იზაბელას ფოთლებიდან მიღებულ ექსტრაქტში.....	788
3.2.1. ტემპერატურისა და pH- ოპტიმუმის დადგენა იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტისათვის	800
3.3. პროტეაზას ტექნიკური პრეპარატის მიღება	822
3.4. ელექტროფორეზი.....	833
3.5.იზაბელას ფოთლის პროტეაზას თვისებების განსაზღვრა გელ- დიფუზიური მეთოდით	855
3.6. იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის მოქმედება გლუტენზე....	877
3.6.1. გლუტენის პროტეოლიზური დაშლის იდენტიფიცირება ელექტროფორეზის გზით	911
3.7. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენებით უგლუტენო პურის მომზადება.....	93
3.8. ჯამური ფენოლებისა და შაქრების რაოდენობის განსაზღვრა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენებით მიღებულ უგლუტენო ცომში.....	95
3.9. საქართველოში გავრცელებული ზოგიერთი ენდემური ჯიშის ვაზის ფოთლების პროტეაზური და გლუტენაზური აქტივობის სკრინიგი.....	96
3.10. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას საშუალებით პურის დამზადების ზოგადი ტექნოლოგიური სქემა.....	98
3.11.იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენების პერსპექტივა უგლუტენო პურის დამზადების პროცესში და არა მხოლოდ.....	100
დასკვნა.....	1077
გამოყენებული ლიტერატურა	10909

ცხრილების ნუსხა

ცხრილი 1. მეღვინეობის ნარჩენების გადამუშავებით	
მიღებული პროდუქტები.....	43
ცხრილი 2. კადმიუმის შთანთქმის ცვლილება	70
ცხრილი 3. თუთიის შთანთქმის ცვლილება	71
ცხრილი 4 . სპილენძის შთანთქმის ცვლილება	73
ცხრილი 5. ტყვიის შთანთქმის ცვლილება	75
ცხრილი 6 . მძიმე მეტალების კონცენტრაცია იზაბელას ფოთლებში.....	77
ცხრილი 7 . ზოგიერთი მინერალის შემცველობა იზაბელას	
ფოთლის ექსტრაქტში.....	78
ცხრილი 8 . იზაბელას ფოთლის პროტეაზას პარამეტრები.....	79
ცხრილი 9 . იზაბელას ფოთლის პროტეაზას მიღების ეტაპები.....	83
ცხრილი 10. იზაბელას პროტეაზას გავლენა სხვა ფერმენტის	
პროტეაზულ აქტივობაზე.....	85
ცხრილი 11 . სარეაქციო არეში ცილის დაგროვების ხარისხი გლუტენის იზაბელას	
ფოთლის პროტეაზათი დამუშავებამდე და დამუშავების შემდეგ...	90
ცხრილი 12. კლასიკური ცომის და ხორბლის უგლუტენო ცომის	
ბიოქიმიური პარამეტრები.....	96
ცხრილი 13. ქართული ვაზის ზოგიერთი ჯიშის ფოთლებში პროტეაზული და	
გლუტენაზური აქტივობის დადგენა.....	97

ნახაზების ნუსხა

ნახაზი 1. თიროზინის სტანდარტული საკალიბრო მრუდი.....	59
ნახაზი 2. ცილის სტანდარტული საკალიბრო მრუდი.....	61
ნახაზი 3. FRAP-მეთოდით ანტოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის საკალიბრო მრუდი.....	67
ნახაზი 4. გლუკოზის სტანდარტული საკალიბრო მრუდი.....	68
ნახაზი 5. კადმიუმის შთანთქმის მაჩვენებელი.....	71
ნახაზი 6. თუთიის შთანთქმის მაჩვენებელი.....	73
ნახაზი 7. სპილენძის შთანთქმის მაჩვენებელი.....	75
ნახაზი 8. ტყვიის შთანთქმის მაჩვენებელი.....	77
ნახაზი 9. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტული აქტივობა.....	79
ნახაზი 10. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტული აქტივობა-Km,.....	80
ნახაზი 11. ტემპერატურის გავლენა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას აქტივობაზე.....	81
ნახაზი 12. ცილის რაოდენობის ცვლილება დროში სარეაქციო არეში.....	90

დიაგრამების ნუსხა

დიაგრამა 1. ცელიაკიის გავრცელება მსოფლიოში.....	29
დიაგრამა 2: გლობალური პროტეაზას გაყიდვის სავარაუდო ევოლუცია მომდევნო წლებში.....	37
დიაგრამა 3 . ტემპერატურის გავლენა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტულ აქტივობაზე.....	81
დიაგრამა 4. pH- ის გავლენა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტულ აქტივობაზე.....	82

სურათების ნუსხა

სურათი 1 გლუტენით გამოწვეული ნაწლავური რეაქცია.....	28
სურათი 2 . უგლუტენო პროდუქცია საქართველოს სამომხმარებლო ბაზარზე.....	33
სურათი 3. უგლუტენო პური.....	34
სურათი 4. პროტეაზას მიერ შესრულებული ჰიდროლიზი.....	38
სურათი 5. მცენარეული პროტეაზები და მათი გამოყენების სფერო	40
სურათი 6 . იზაბელა შავი და თეთრი(ნოა)	45
სურათი 7.თავკვერი.....	47
სურათი 8. ცოლიკოური.....	48
სურათი 9. რქაწითელი.....	48
სურათი 10. ხიხვი.....	49
სურათი 11. კლარჯულა.....	49
სურათი 12. მესხური შავი.....	50
სურათი 13. ცხენისძუძუ თეთრი.....	50
სურათი 14. მეკრენჩხი.....	51
სურათი 15. ჭვიტელური.....	51
სურათი 16. ჩინური.....	52
სურათი 17. მინდვრისნემსა.....	52
სურათი 18. თხაწართხალა.....	53
სურათი 19. ყვითელი ძიძო.....	54
სურათი 20. Buck Model 210VGP ატომურ-აბსორბციული სპექტროფოტომეტრი.....	56
სურათი 21. იზაბელას ფოთლები.....	57
სურათი 22. Perkin Elmer lambda EZ150 UV/vis. სპექტროფოტომეტრი	58
სურათი 23. ცილის განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდი.....	60
სურათი 24. გლუტენური მასა.....	69
სურათი 25. ნიმუშები მინერალიზაციის შემდეგ.....	69
სურათი 26. ელექტროფორეზის მიმდინარეობა.....	84
სურათი 27. იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის ელექტროფოროგრამა.....	84
სურათი 28. გელ-დიფუზიური მეთოდით პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრა.....	86
სურათი 29. ფერმენტ-სუბსტრატული ურთიერთქმედება გლუტენსა და იზაბელას პროტეაზას შორის.....	88
სურათი 30. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას შემცველი ექსტრაქტის მოქმედება გლუტენზე	89
სურათი 31. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ტექნიკური პრეპარატის მოქმედება გლუტენზე.....	90
სურათი 32. იზაბელას ფოთლის ფერმენტით გლუტენის პროტეოლიზი დენატურირებადი პოლიაკრილამიდის გელში (SDS-PAGE).....	92
სურათი 33. ჩვეულებრივი ცომი ხორბლის ფქვილისაგან.....	93
სურათი 34. უგლუტენო ცომი მიღებული იზაბელას ფოთლის პროტეაზას დამატებით.....	94

სურათი 35. ჩვეულებრივი პური	94
სურათი 36. უგლუტენო პური, მიღებული იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის დამატებით.....	95
სურათი 37. უგლუტენო პროდუქციის სპექტრი.....	101

სქემების ნუსხა

სქემა 1. გლუტენური ცილების კლასიფიკაცია.....	25
სქემა 2. დაავადებები,რომლებიც დაკავშირებულია ხორბლოვნების გლუტენის მიღებასთან.....	31
სქემა 3. უგლუტენო პურის წარმოების სარეკომენდაციო ტექნოლოგიური სქემა.....	99

გამოყენებული აბრევიატურების ნუსხა

დმს-მ/ს- დაბალმოლეკულური სუბერთეული, რომელიც შეიცავს

მეთიონინს ან სერინს

EWMP - Egg White Modified Protein (კვერცხის თეთრი მოდიფიცირებული ცილა)

SDS – PAGE - დენატურირებადი პოლიაკრილამიდის გელის ელექტროფორეზი

ზ.დ.კ. – ზღვრული დასაშვები კონცენტრაცია

FRAP - (Ferric Reducing Antioxidant Power - რკინის ჟანგვის შემამცირებელი

ანტიოქსიდანტური ძალა)

მადლიერების გვერდი

მადლობას ვუხდით ჩემს ხელმძღვანელებს, პროფესორ ედიშერ კვესიტაძეს და პროფესორ თემურ ბუაჩიძეს გაწეული დახმარებისთვის, რჩევა დარიგებებისთვის და ხელმძღვანელობისთვის. ასევე ჩემს მეგობრებს და კოლეგებს, პროფესორებს თამარ ხობელიასა და ქრისტინე მუსელიანს, აგრეთვე სასურსათო ტექნოლოგიის დოქტორს ტრიფონ ფარჯანაძეს თანადგომისთვის და დახმარებისთვის.

შესავალი

თანამედროვე ადამიანის კვებით რაციონში მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება პურსა და პურპროდუქტებს. მათი მოხმარება დამოკიდებულია ინდივიდის ჩვევებზე, სოციალურ და ეთნიკურ კუთვნილებაზე, აგრეთვე- მისი, როგორც მომხმარებლის ეკონომიკურ შესაძლებლობაზე. პურისა და პურპროდუქტების წარმოებისათვის ძირითად ნედლეულს წარმოადგენს მარცვლოვნები, კერძოდ, ხორბლოვნები, რომელთა ძირითად სტრუქტურულ ცილოვან კომპლექსს წარმოადგენს გლუტენი (წებოგვარა). მას ახასიათებს მსუბუქი და მყარი ტექსტურა, რაც მნიშვნელოვანია პურის ცხოვისათვის. გლუტენი პურს სძენს ელასტიურობასა და ხდის ადვილად ღეჭვადს, ხელს უწყობს ცომის ამოსვლასა და ფორმის შენარჩუნებას. ამავდროულად, აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ მის მოხმარებას რიგ ადამიანებში შეუძლია გლუტენდამოკიდებული ისეთი დაავადებების ინიცირება, როგორიცაა ცელიაკია.

ცელიაკია (მემკვიდრული გლუტენური ენტეროპათია) არის ქრონიკული მულტიფაქტორული ანთებითი დაავადება, რომელიც ხასიათდება ნაწლავური და არანაწლავური გამოვლინებებით- სისხლის შრატის სპეციფიური ანტისხეულების წარმოქმნითა და აუტოიმუნური პასუხით, წვრილი ნაწლავის ლორწოვანი გარსის დაზიანებებითა და სხვა. ცელიაკია ითვლება სისტემურ დარღვევად და უკავშირდება გლუტენის მიღებას, რომელსაც შეიცავს პური და პურპროდუქტები, მაკარონისა და საკონდიტრო ნაწარმი, ლუდი, ბურღული (მანანის, შვრიის, კუსკუსი და ა.შ.). გლუტენის კვალს შეიცავს ზოგიერთი საკვები პროდუქტი: ნაყინი, იოგურტი, რძის ფხვნილი, ნაღები, შესქელებული რძე, ყველეული, მაიონეზი, მარგარინი. ცელიაკიის მრავალფეროვანი სიმპტომებიდან ყველაზე თვალსაჩინოა საკვების მონელების დარღვევა და იმუნური რეაქციები. ცელიაკია ჯერჯერობით ერთადერთი აუტოიმუნური განკურნებადი დაავადებაა. პაციენტების მართვა წარმატებით ხორციელდება უგლუტენო დიეტის დაცვით მთელი სიცოცხლის მანძილზე. ამდენად, მათთვის სასიცოცხლო მნიშვნელობას იძენს უგლუტენო პროდუქციის მოხმარება, განსაკუთრებით ეს ეხება უგლუტენო პურს.

მნიშვნელოვანია, თუ უგლუტენო პური თავისი საგემოვნო და სხვა თვისებებით მიმსგავსებული იქნება კლასიკური მეთოდებით დამზადებულ

პურთან. ამ მიზნით აუცილებელია პური დამზადდეს ისეთი ცომიდან, რომელსაც უკვე მოშორებული იქნება გლუტენი. ამით თავიდან იქნება არიდებული ცელიაკიისათვის დამახასიათებელი სიმპტომები და ხელი შეეწყობა დაავადების პრევენციას.

სადისერტაციო ნამუშევრის მიზანია:

- პროტეოლიზური ფერმენტის მიღება იზაბელას ფოთლებიდან.
- გლუტენის დაშლა პროტეოლიზური ფერმენტული პრეპარატის მეშვეობით, რომელიც მიღებულია იზაბელას ფოთლებიდან.
- უგლუტენო პურის დამზადება, რომელიც მაქსიმალურად მიახლოებული იქნება ტრადიციული გზით მიღებულ პურთან თავისი ორგანოლეპტიკური და რეოლოგიური მახასიათებლებით

კვლევის ამოცანები:

1. იზაბელას ფოთლებიდან ექსტრაქტის მიღება
2. მისი შემოწმება მძიმე მეტალებისა და ზოგიერთი მინერალური ნივთიერების შემცველობაზე
3. პროტეოლიზური ფერმენტული პრეპარატის მიღება .
4. მიღებული პრეპარატის ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური მახასიათებლის შესწავლა.
5. გლუტენური კომპლექსის მიღება ხორბლის ფქვილიდან
6. გლუტენის დაშლა იზაბელას პროტეაზას გამოყენებით
7. გლუტენის სიღრმისეული დაშლის დადასტურება ელექტროფორეზის გზით
8. პროტეოლიზური რეაქციისათვის ზოგიერთი პარამეტრის დადგენა (დრო, ტემპერატურული რეჟიმი, ფერმენტის რაოდენობის დადგენა (აქტივობის მიხედვით) 1 გრ. გლუტენურ მასაზე გადაანგარიშებით)
9. მცენარეული პროტეაზას გამოყენებით უგლუტენო ცომის მიღება ხორბლის ფქვილიდან .

კვლევის ობიექტს წარმოადგენს: 1. ვაზის ბუნებრივი ჰიბრიდული ჯიშის-იზაბელას ფოთლებიდან მიღებული პროტეოლიზური აქტივობის მქონე პრეპარატი. 2. ხორბლის უგლუტენო ცომი, რომელიც მიღებულ იქნა

გლუტენზე იზაბელას ფოთლებში არსებული პროტეოლიზური ფერმენტის ზემოქმედების შედეგად.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე: დისერტაციასთან დაკავშირებული კვლევების შედეგად მოხდა იზაბელას ფოთლებში პროტეოლიზური ფერმენტის აღმოჩენა და მისი ზოგიერთი პარამეტრის შესწავლა.

იზაბელას პროტეაზას ზემოქმედებით მოხდა ხორბლის ფქვილის გლუტენური ფრაქციის სიღრმისეული დაშლა. დადგენილ იქნა ფერმენტის რაოდენობა(აქტივობის მიხედვით) 1 გ. გლუტენურ მასაზე გადაანგარიშებით.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება: პროტეაზას წყაროს წარმოადგენს ე.წ. სასოფლო -სამეურნეო ნარჩენი, რომლის უტილიზაცია მნიშვნელოვანია ეკოლოგიური თვალსაზრისით. იზაბელას პროტეაზას ზემოქმედების შედეგად მიღებული უგლუტენო პური მაქსიმალურად მიახლოებულია ტრადიციული რეცეპტურით მიღებულ პურთან თავისი საგემოვნო და სხვა ტიპის მახასიათებლებით. მიღებული შედეგები მნიშვნელოვან წვლილს შეიტანს მეცნიერების თეორიული და პრაქტიკული ცოდნის გაღრმავებაში და სამომავლოდ

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 „პური ჩვენი არსობისა“

პურის მნიშვნელობის შეფასება ადამიანის ცხოვრებაში შეუძლებელია. უძველესი დროიდან პური, ხორბლის პური ითვლებოდა ძირითად საკვებად და ეს არ ხდება შემთხვევით-რადგან ხორბლის, ქერის, ჭვავის მარცვლები შეიცავს ყველაფერ აუცილებელ კომპონენტს ადამიანის ცხოვრებისეული საქმიანობისათვის. ამიტომ გალობს მეფე და წინასწარმეტყველი დავითი ფსალმუნებში:

"14.რომელმან აღმოუცენა თივაი პირუტყუთა, და მწუანე სამსახურებელად კაცთა, გამოღებად პური ქუეყანით.

15. და ღვინოი ახარებს გულსა კაცისასა, საცხებელითა მხიარულყოფად პირი და პური გულსა კაცისასა განამტკიცებს"[1].

მთელ მსოფლიოში კვებითი უსაფრთხოება მნიშვნელოვანწილადაა დამოკიდებული მარცვლოვან კულტურებზე, რომელთაც იყენებენ კვებით მრეწველობაში. პური და პურპროდუქტები საკმაოდ დიდ როლს ასრულებენ ადამიანის რაციონში. პურპროდუქტების მოხმარების წილი დამოკიდებულია ინდივიდის ჩვევებზე, აგრეთვე მის სოციალურ-ეკონომიკურ პირობებზე. განვითარებული ქვეყნების დიდ ნაწილში პური შეადგენს მოხმარებული საკვების მასის 20-25%-ს. 250-300 გ. პურპროდუქტის (პური, ბურღულეული, მაკარონაწარმი და ა.შ.) მიღება საკვებზე დღიურ მოთხოვნილებას აკმაყოფილებს 25-30%-ით, სასიცოცხლო ენერგეტიკულ მოთხოვნილებას- 30%-ით, B-ჯგუფის ვიტამინებისა- 50-%, ხოლო E ვიტამინისა-80%-ით. პურის, პურპროდუქტების, მაკარონაწარმების, საკონდიტრო და ალკოჰოლური პროდუქციის, აგრეთვე მეცხოველეობაში გამოყენებული საკვების წარმოებისათვის ძირითადად გამოიყენება ხორბლის მარცვალი[2].

ხორბალი, რომელსაც დღეს ფართო და მრავალმხრივი გამოყენება აქვს, გენეტიკურად მნიშვნელოვნად განსხვავდება იმ მარცვლოვანი კულტურისაგან, რომელსაც საკვებად იყენებდა ჩვენი წინაპარი. ისევე როგორც სხვა მრავალმა საკვებმა მცენარემ, ხორბალმაც მნიშვნელოვანი ევოლუცია განიცადა გენური ინჟინერიის მანიპულაციების შედეგად, რათა ამაღლებულიყო მისი

პროდუქტიულობა, მოსავლიანობა, ყუათიანობა და შენახვის ვადები [3-5]. მარცვლის შედგენილობა ცვალებადია მცენარის გენოტიპის მიხედვით, რაც ართულებს მათში საკვები ალერგენების შემცველობის კვლევას ხელსაყრელი გენოტიპის შერჩევის მიზნით.

პურისა და პურპროდუქტების წარმოებისათვის ხორბალი მოიხმარება ფქვილის სახით. ხორბლის მოყვანის ზონებში დღეისათვის ფართოდაა გავრცელებული შემდეგი ორი ჯიში: ჩვეულებრივი ანუ რბილი ხორბალი (*Triticum aestivum*), რომელიც მსოფლიოში წარმოებული ხორბლის 90-95%-ს შეადგენს (დაახლოებით 600 მლნ. ტონა) და მაგარი ხორბალი (*Triticum turgidum*). პირველი მათგანი, რომელიც ცნობილია პურის მარცვლის სახელით გამოირჩევა ცილისა და წებოგვარას მაღალი შემცველობით. რბილი ხორბალი მოდის ტენიანი ჰავის მქონე რეგიონებში. მაგარი ხორბალი ხასიათდება მარცვლის მკვრივი სტრუქტურით, სასიამოვნო სუნით, აგრეთვე კარგი პურსაცხოზი თვისებებით. მსოფლიოში მისი წარმოების მოცულობაა 25-30 მლნ. ტონა, რაც შეადგენს საერთო წარმოების 4%-ს. მაგარი ხორბლის გარკვეული ნაწილი გადამუშავდება ფქვილის სახით და მზადდება საშუალო სიმკვრივის პური (ხმელთაშუა ზღვისა და ახლო აღმოსავლეთის ქვეყნები), ნაწილი- ბურღულად, რომელსაც არაბულ ქვეყნებში იყენებენ კუსკუსის დასამზადებლად. ამ ხორბლის მოდიფიკაცია- *Triticum turgidum* var *durum* გამოიყენება მაკარონნაწარმებისა მანანის ბურღულის დასამზადებლად. [6].

მაგარი ჯიშის ხორბალი ძირითადად მოჰყავთ მშრალი, კონტინენტური ჰავის პირობებში. ხორბალი, სიმინდი და ბრინჯი წარმოადგენენ მსოფლიოში ყველაზე ფართოდ გავრცელებულ მარცვლელ კულტურებს, მილიონობით ადამიანის ძირითად საკვებ პროდუქტს. ხორბლის ფქვილისაგან დამზადებული პური გაცილებით მეტ საკვებ ნივთიერებას აწვდის მსოფლიო მოსახლეობას, ვიდრე ნებისმიერი სხვა საკვები პროდუქტი. ჯანსაღი კვების პრინციპების მიხედვით, პური მეტად მნიშვნელოვანია, როგორც ნახშირწყლების, ცილებისა და B და E ვიტამინების წყარო [7].

ხორბლის პური შეიცავს 34% ნახშირწყლებს, 34% ცილას, 24% საკვებ ბოჭკოებს და 13-32% მინერალებსა და B ჯგუფის ვიტამინებს ამ ნივთიერებათა დღიური სარეკომენდაციო მოთხოვნილებისა [8].

ხორბლის ბიოლოგიურად აქტიური კომპონენტები მოიცავს საკვებ ბოჭკოებს, ფიტოქიმიურ ნივთიერებებს (კაროტინოიდები, პოლიფენოლები, ფენოლური მჟავები, ფლავონოიდები და ლიგნანები), ვიტამინებს. მსოფლიოში ცნობილია პურის მრავალი სახეობა. ამ მხრივ საქართველო ერთ-ერთ მოწინავე ადგილზეც შეიძლება განიხილებოდეს, რადგან სამყაროში არსებულ ხორბლის გვარში შემავალ 27 სახეობიდან, საქართველოში გვხვდება და აღწერილია 14 სახეობა, რომ აღარაფერი ვთქვათ სხვა პურეულ მცენარეებზე (ჭვავი, ქერი და სხვა). თითოეული ტიპის პური განსხვავებულია სპეციფიური თვისებებით, დამუშავების პირობებითა და მარცვლის მიმართ წაყენებული მოთხოვნების მიხედვით. განვითარებულ ქვეყნებში შეინიშნება მზარდი ტენდენცია ცეხვილი და მრავალკომპონენტური პურის მოხმარებისა, რაც აიხსნება იმით, რომ მოსახლეობის დიდი ნაწილი ირჩევს ჯანსაღ რაციონს, რომელშიც მკვეთრადაა შემცირებული მარტივი ნახშირწყლების, ცხიმებისა და ქოლესტერინის მოხმარება რთული ნახშირწყლების, მცენარეული ცილებისა და საკვები ბოჭკოების წილ [9].

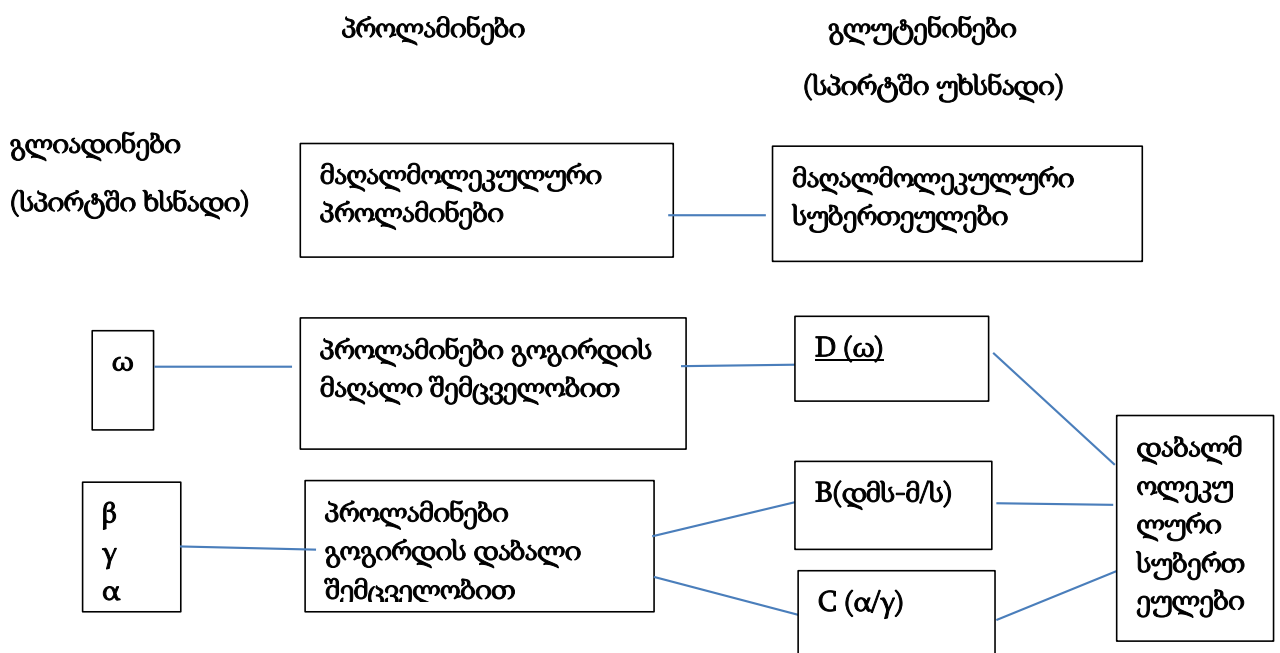
1.2 . ხორბლის ცილები

ცილები შეადგენს ხორბლის მარცვლისა და მისგან მიღებული ფქვილის მშრალი მასის 10-13%-ს. ამ ცილებიდან ალბუმინისა და გლობულინის წილ მოდის 10-15 %, ხოლო დანარჩენი ნაწილი არის გლუტენი. ესაა რთული ცილოვანი კომპლექსი-ე.წ. წებოგვარა, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პურის ცხობაში. სტრუქტურისა და თვისებების მიხედვით გლუტენის ცილოვანი კომპლექსის კომპონენტები შეგვიძლია დავყოთ ორ ქვეჯგუფად-გლუტენინები და გლიადინები. ხსნადობის მიხედვით ხორბლის ცილები განსხვავდება ერთმანეთისაგან:

1. ალბუმინები იხსნებიან წყალში;
2. გლობულინები იხსნებიან მარილხსნარებში;
3. გლიადინები იხსნებიან სპირტხსნარებში (70% ეთანოლი);
4. გლუტენინები თითქმის უხსნადები არიან, მხოლოდ ნაწილობრივ იხსნებიან მჟავების განზავებულ ხსნარებსა და შარდოვანაში.

სწორედ წებოგვარას უკავშირდება ადამიანში გლუტენდამოკიდებული

ისეთი დაავადებების განვითარება, როგორიცაა ცელიაკია, ალერგია ხორბალზე, ხაბაზის ასთმა და ხორბლის მოხმარებით გამოწვეული ანაფილაქსია. უკანასკნელ წლებში მკაფიოდ განისაზღვრა და გამოვლინდა ახალი ალერგენები და ანტიგენური კომპონენტები, რომლებიც გვხვდება ხორბლის, ჭვავისა და ქერის პროლინითა და გლუტამინით მდიდარ ცილებში-პროლამინებში. გლუტენი არის ხორბლის მარცვლების მთავარი სამაგო ცილა, შედგება 50-ზე მეტი კომპონენტისაგან, რომლებშიც გვხვდება 200-600 ამინომჟავიანი ჯაჭვები. ცხოვისას გლუტენინები „გადაეკერებიან“ ერთმანეთს და წარმოქმნიან ფაფუკ ღრუბლოვან სტრუქტურას, რაც ანიჭებს გამომცხვარ პროდუქტს ჰაეროვან სირბილეს. გლიადინები უზრუნველყოფენ ღრუებისა და ბადისებრი სტრუქტურების სტაბილიზაციას. გლიადინების ეს ღრუბლისებრი სტრუქტურები იკავებენ წყალსა და ნახშირორჟანგს, რაც მნიშვნელოვანია ცომის მომზადებისა და ცხობის პროცესში. ამინომჟავური შედგენილობისა და დაბალ pH-ზე ელექტროფორეზისას ძვრადობის მიხედვით გლიადინებს ყოფენ α -, β -, γ - და ω - ტიპებად, ხოლო გლუტენინის აღდგენილ სუბერთეულებს-მარალი და დაბალი მოლეკულური მასის ჯგუფებად [10-12].



სქემა 1. გლუტენური ცილების კლასიფიკაცია

დიდი ხნის განმავლობაში ითვლებოდა, რომ მხოლოდ გლიადინები იწვევენ ცელიაკიას და თუ გენური ინჟინერიის მეთოდებით ხორბლის გენომიდან მოვაცილებდით მათ, ცელიაკიით დაავადებულ პაციენტებს შეეძლებოდათ ხორბლისაგან დამზადებული პროდუქტების მიღება შესაბამისი სიმპტომების განვითარების გარეშე. თუმცა აღმოჩნდა, რომ გლუტენდამოკიდებული დაავადებების პათოგენეზში მონაწილეობენ გლუტენინებიც, ხოლო გლიადინები მნიშვნელოვნად აუმჯობესებენ პურის ორგანოლეპტიკურ მახასიათებლებს. გლუტენის ცილებს აქვთ საერთო სტრუქტურული მახასიათებლები-მათი პირველადი სტრუქტურა იყოფა ცალკეულ დომენებად, რომლებსაც აქვთ განმეორებადი ამინომჟავური თანმიმდევრობები-პროლინითა (P) და გლუტამინით (Q) მდიდარი, მაგრამ დამუხტული გვერდითი განშტოებების მქონე ამინომჟავების დაბალი შემცველობით [13-16], ცისტეინი შეადგენს გლუტენური ცილების მხოლოდ 2%-ს, მაგრამ მას დიდი მნიშვნელობა აქვს წებოგვარას სტრუქტურისა და ფუნქციისათვის, რადგან წარმოქმნიან დისულფიდურ ბმებს და ხელს უწყობენ გლუტენის პოლიმერიზაციას [17].

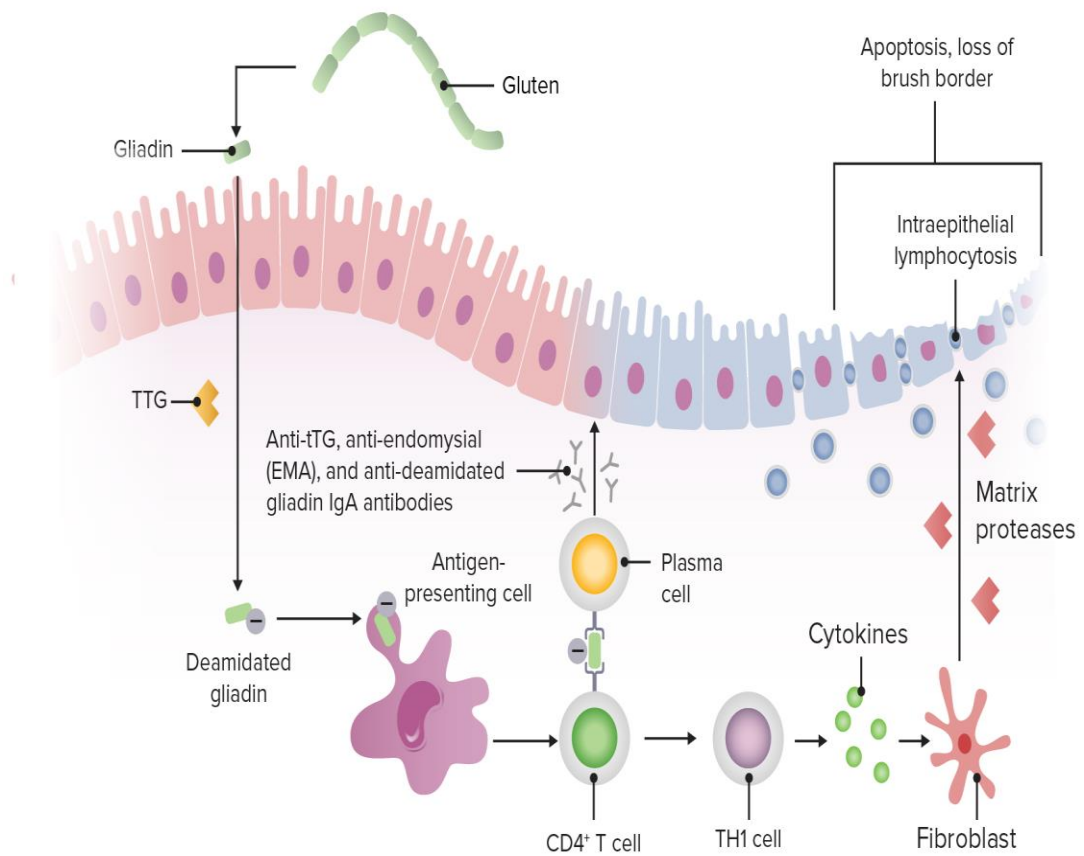
წებოგვარას ცალკეული ცილების ამინომჟავური შედგენილობისა და მოლეკულურ თვისებებზე დაყრდნობით გამოიყო ცილების ისეთი ჯგუფი, როგორიცაა პროლამინები- ხორბლის სამარაგო ცილები. გლიადინებში გვხვდება გოგირდის მაღალი (α , β , γ) და დაბალი(ω) შემცველობის, აგრეთვე მაღალმოლეკულური პროლამინები (იხ.სქემა 1). მათი შესწავლისას დადგინდა, რომ მარცვლოვნებიდან მიღებული პროლამინები მდიდარია პროლინის, გლუტამინისა და ფენილალანინის ნაშთებით. სწორედ ისინი წარმოადგენენ ძირითად ეპიტოპებს, რომელთაც უკავშირდება ცელიაკია და ალერგია ხორბალზე. პროლინი და გლუტამინი განსაზღვრავენ ხორბლის ცილის სტრუქტურას, რომელსაც ადამიანის ფერმენტები სრულად ვერ შლიან. ე.წ. დეფექტური ფერმენტაციის შედეგად მიიღება გლუტენური პეპტიდების ნაშთები, რომელიც მოიცავს საკვებიდან მიღებული გლუტენის 10%-ს. დაუშლელი გლუტენური პეპტიდები ნაწილობრივ შთაინთქმება ნაწლავის ლორწოვანი გარსის მიერ და ცელიაკიით დაავადებულ ადამიანებში ააქტიურებენ ნაწლავის იმუნურ უჯრედებს. მსგავსი აქტივაცია არ შეინიშნება ჯანმრთელ ადამიანებში, რადგან მათ ორგანიზმში მოუწელებელი პეპტიდები გამოიყოფა ექსკრეტორული სისტემით, მაგ. შარდთან ერთად. ამგვარად, გლუტენის

პათოგენური ეფექტი შეიძლება აცილებულ იქნას მათი სრული დაშლით ამინომჟავურ კომპონენტებამდე. მოცემული დებულება დაედო საფუძვლად ახალ პოტენციურ თერაპიას-უგლუტენო საკვებში გამოყენებულ იქნას სრულად დაშლილი გლუტენური პეპტიდები.

1.3 ცელიაკია

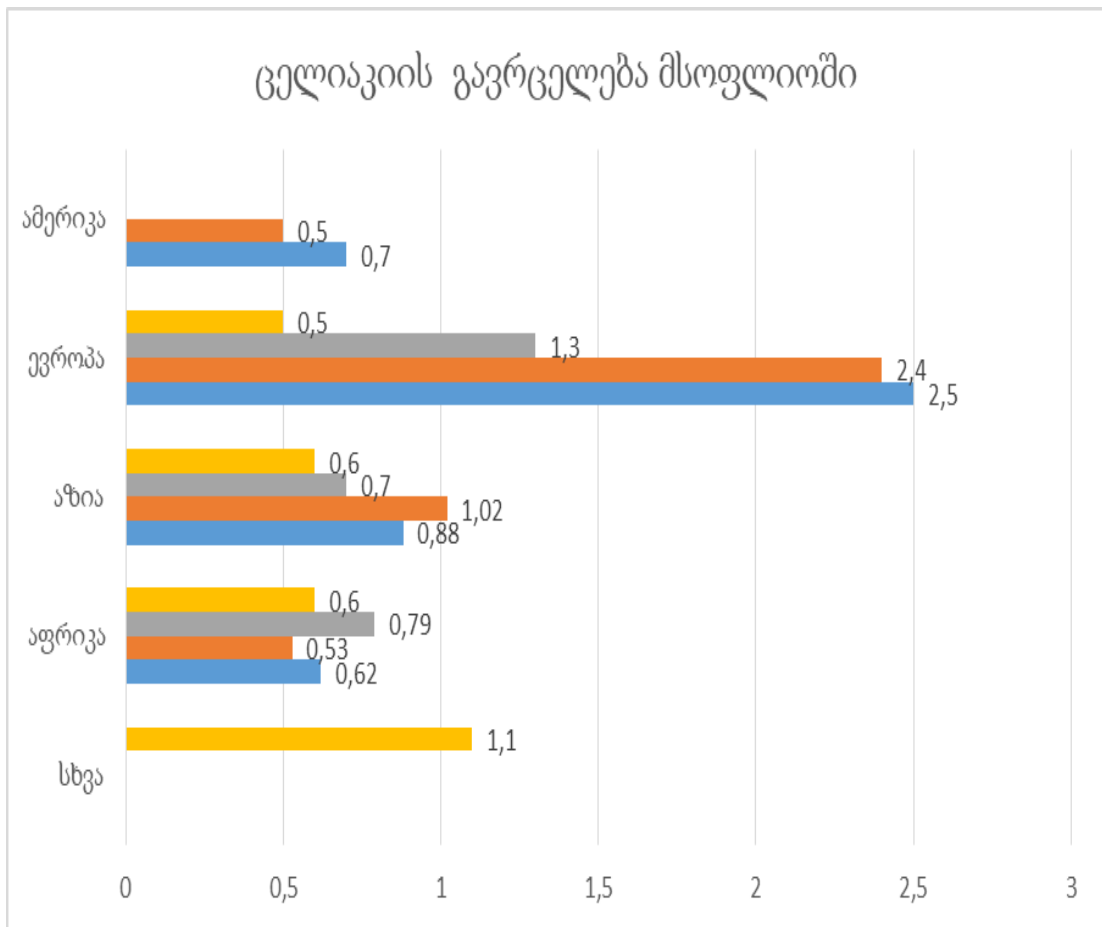
ჯერ კიდევ 15-ე საუკუნეში აღწერილი იყო ნაწლავური დაზიანების ფორმები, რომლებიც სიმპტომატიკით ძალიან ჰგავს ცელიაკიას. ამ დაავადების სიმპტომების აღწერის ყველაზე ზუსტი ადრეული სურათი ეკუთვნის სემუელ გიის (1888 წ.). მანვე ივარაუდა, რომ გარკვეული დიეტის დაცვა მნიშვნელოვნად შეამსუბუქებდა ავადმყოფის მდგომარეობას. 1924 წელს ამერიკელმა პედიატრმა სიდნი ჰაასმა გამოაქვეყნა ბანანის დიეტის დადებითი შედეგები გლუტენური ენტეროპათიის მქონე ბავშვებში. ეს დიეტა დიდი პოპულარობით სარგებლობდა ათწლეულების განმავლობაში. 1960-იანი წლების დასაწყისში დადგინდა სამი მნიშვნელოვანი ასპექტი: ცელიაკიის განვითარებას იწვევს გლუტენის აუტანლობა; პათოგენეზის საფუძველს წარმოადგენს წვრილი ნაწლავის პათოგენური დაზიანება და ბოლოს, ბიოპსიის ჩატარების ინსტრუმენტის გამოჩენამ მეცნიერებს საშუალება მისცა დაეწყოთ გლუტენური ენტეროპათიის პათოგენეზის საიდუმლოებების ამოხსნა.

ცელიაკია (მემკვიდრული გლუტენური ენტეროპათია) წარმოადგენს ქრონიკულ მულტიფაქტორულ ანთებით დაავადებას აუტოიმუნური კომპონენტებით, რომელსაც ახასიათებს შექცევადი ატროფიული ენტეროპათია და ზოგიერთი სახის ნაწლავური და არანაწლავური გამოვლინება. ცელიაკია ითვლება სისტემურ დაავადებად, რომელიც უკავშირდება გლუტენის მიღებას. გენეტიკურად მგრძნობიარე ადამიანებში ხორბლოვნებში (ხორბალი, ქერი, ჭვავი) არსებული გლუტენის სპეციფიურ პეპტიდებზე ვითარდება CD4 T-უჯრედული იმუნური რეაქციები [18].



სურათი 1. გლუტენით გამოწვეული ნაწლავური რეაქცია. (Pignata C. 2014).

დღეისათვის დადგენილია, რომ ცელიაკია ვლინდება მსოფლიო მოსახლეობის 0.6-დან 1.0%-ში. ზრდასრულ მოსახლეობაში მისი შეხვედრის სტატისტიკა შემდეგნაირია: აშშ-0,7%, სამხრეთ ამერიკა-0,5% ,აფრიკის ქვეყნები-1,1%, აზიის ქვეყნები-1-1,23% (აღსანიშნავია გავრცელების მაღალი მაჩვენებელი ინდოეთსა (1,02%) და საუდის არაბეთში (0,88%)). ცელიაკიის მაჩვენებელი განსაკუთრებით მაღალია ევროპაში, სადაც დაავადებულთა რიცხვი ქვეყნების მიხედვით ვარირებს (მაგ : გერმანიაში - 0.5 %, იტალიაში-1,3%, ხოლო ფინეთში - 2.4 %).



დიაგრამა 1. ცელიაკიის გავრცელება მსოფლიოში

მონაცემები ასახავს მხოლოდ სეროლოგიურ-სკრინინგული კვლევების მონაცემებს, რომლითაც იდენტიფიცირებულია ცელიაკიის შემთხვევების მხოლოდ მცირე ნაწილი (დაახლოებით, 21 %). დაავადების დიაგნოსტიკა არც-თუ ისე მარტივია, რადგან ყოველთვის არ ვლინდება კლასიკური კლინიკური სურათი.

ბოლო დროს საგრძნობლად ამაღლდა მოსახლეობის ცნობიერება ცელიაკიის შესახებ. მდგომარეობისა და მისი სიმპტომების უკეთ გაცნობიერების გამო, უფრო მეტი ადამიანი მიმართავს სამედიცინო მკურნალობას და ხდება დაავადების სწორად იდენტიფიცირება. ამან ხელი შეუწყო ცელიაკიის დაავადების ბაზრის მთლიან გაფართოებას. დიაგნოსტიკურმა მიღწევებმა ასევე მნიშვნელოვანი გავლენა მოახდინა ცელიაკიის დაავადების ბაზრის დინამიკაზე. გაუმჯობესებული დიაგნოსტიკური მეთოდები, როგორცაა სეროლოგიური ანალიზი და გენეტიკური ტესტირება, გაზარდა ცელიაკიის დაავადების გამოვლენის სიზუსტე და ეფექტურობა. ამ მოვლენებმა გააუმჯობესა ადრეული იდენტიფიკაცია და დროული სამედიცინო ჩარევა, რის შედეგადაც გაუმჯობესდა დაავადების მართვა. კიდევ

ერთი ასპექტი, რომელიც ამლიერებს ბაზარს, არის ცელიაკიის გაზრდილი სიხშირე მთელ მსოფლიოში. რამდენიმე კვლევამ აჩვენა ცელიაკიის გავრცელების ზრდა როგორც ინდუსტრიულ, ისე განვითარებად ქვეყნებში. გავრცელების ზრდის გამო, მნიშვნელოვნად გაიზარდა იმ პაციენტთა ფონდის რიცხოვნობა, რომელიც საჭიროებს სამედიცინო მკურნალობას, რამაც თავის მხრივ, გაზარდა მოთხოვნა დიაგნოსტიკური ტესტებზე, უგლუტენო საკვებზე და ადმინისტრაციის სხვა მარშრუტებზე.

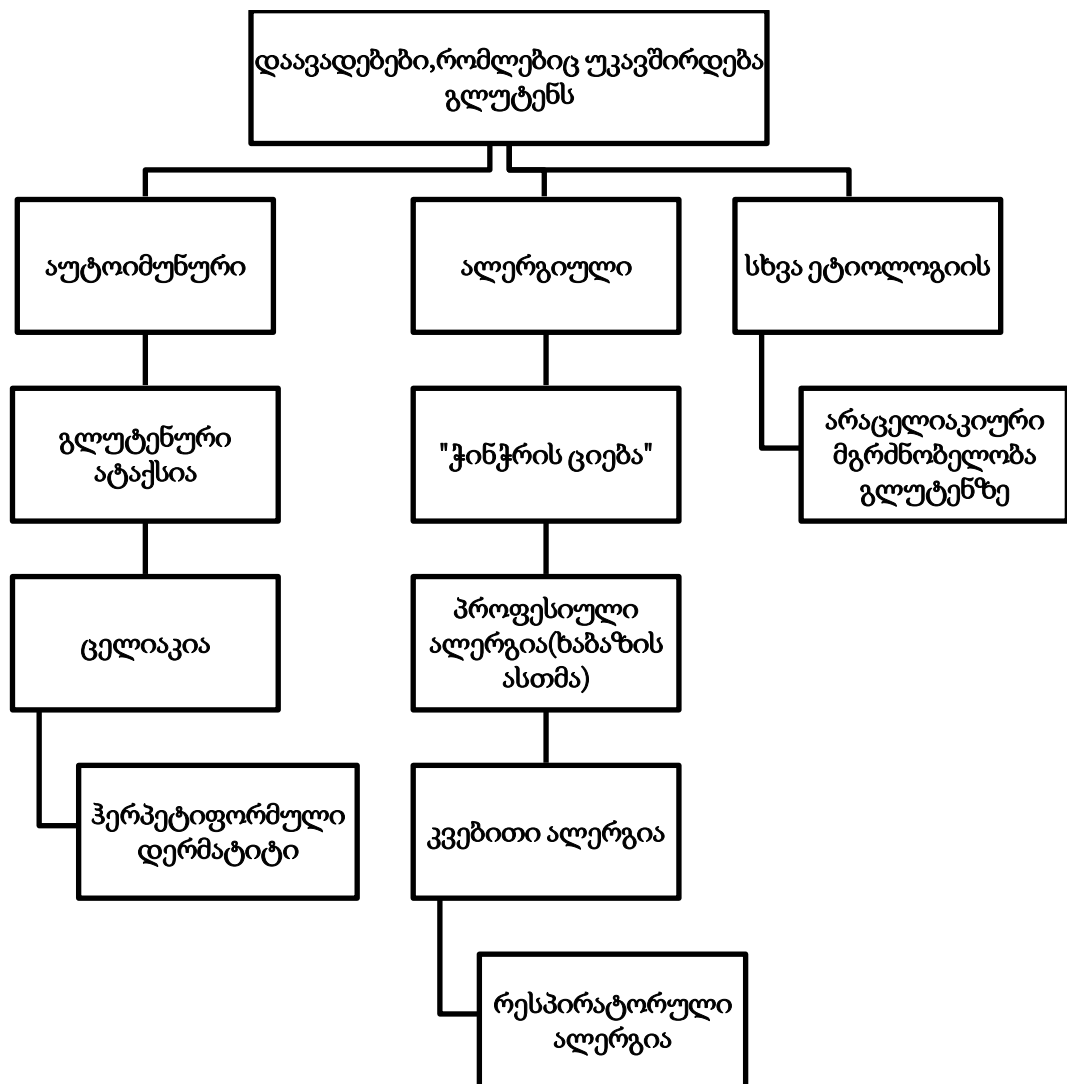
კიდევ ერთი მამოძრავებელი ფაქტორია უგლუტენო საქონელზე მზარდი მოთხოვნა. რაც უფრო მეტი ადამიანი აცნობიერებს გლუტენის უარყოფით გავლენას ცელიაკიით დაავადებულ პაციენტებზე, მით უფრო იზრდება მოთხოვნა უგლუტენო ალტერნატივებზე საკვებისა და სასმელის ბიზნესში. ამან გამოიწვია უგლუტენო პროდუქტების დიდი ასორტიმენტის შექმნა ცელიაკიით დაავადებული პაციენტების მოთხოვნების დასაკმაყოფილებლად. საუბარია ისეთ პროდუქტებზე, როგორიცაა პური, მაკარონი, საკონდიტრო ნაწარმი და სასმელები,

თუმცა, არსებობს რამდენიმე შეზღუდვა, რომელიც გავლენას ახდენს ცელიაკიის ინდუსტრიაზე. ცელიაკიის მქონე პირებს უჭირთ უგლუტენო პროდუქტების შეძენა მათი სიმცირისა და მაღალი ღირებულების გამო. უგლუტენო ვარიანტები ხშირად უფრო ძვირია და შეიძლება ძნელად იპოვოთ, განსაკუთრებით ზოგიერთ ადგილას. ამან შეიძლება გამოიწვიოს ფინანსური და ლოგისტიკური სირთულეები პაციენტებისთვის, რაც ართულებს მათ მიერ უგლუტენო დიეტის დაცვას.

ცელიაკიის სექტორი რამდენიმე პერსპექტივას გვთავაზობს. ყურადღებას იპყრობს ცელიაკიის დაავადების ინოვაციური მედიკამენტების და მკურნალობის ვარიანტების შემუშავება, როგორიცაა შესაძლო ფარმაცევტული საშუალებები და იმუნოთერაპია. ეს საშუალებები მიზნად ისახავს გლუტენზე იმუნოლოგიური პასუხის შემცირებას. გარდა ამისა, უგლუტენო საკვებისა და სასმელების ბიზნესის ზრდა იძლევა პროდუქტის განვითარებისა და ინოვაციის შანსებს.

გენეტიკური და ეკოლოგიური ფაქტორების ურთიერთქმედება იწვევს ხორბლოვნების, განსაკუთრებით ხორბლის ცილების მიმართ ტოლერანტობის დაკარგვასა და ნაწლავების დაზიანებას, რაც გამოიხატება ლიმფოციტების ინფილტრაციით, ლორწოვანი გარსის რემოდელიზაციითა და ეპითელიუმის

დაშლით. ხორბლოვნების (ხორბალი, ქერი, ჭვავი, შვრია) გლუტენური ცილების შეყვანა ახდენს წვრილი ნაწლავის ყაითნოვანი ეპითელიუმის ჰიპერრეგენერატორულ ატროფიას, რასაც დღეისათვის ამ დაავადებას თვლიან აუტოიმუნიტეტის მოდელად, რომელიც მოქმედებაში მოჰყავს რაციონის ეკოლოგიურ ანტიგენს [19].



სქემა 2. დაავადებები, რომლებიც დაკავშირებულია ხორბლოვნების გლუტენის მიღებასთან

ცელიაკია ერთადერთი ცნობილი განკურნებადი აუტოიმუნური დაავადებაა, მაგრამ იმ პირობით, რომ დიაგნოზი სწორადაა დასმული და სიცოცხლის ბოლომდე პაციენტი დაიცავს უგლუტენო დიეტას. რადგან ასეთი ტიპის დიეტის დაცვა წარმოადგენს ქვაკუთხედს როგორც სიმპტომების მქონე, ასევე უსიმპტომო პაციენტებისათვის, დიეტოლოგის მიერ უნდა კონტროლდებოდეს საკვები

ნივთიერებების საკმარისი რაოდენობით მიღება, რათა თავიდან ავირიდოთ მიკროელემენტებისა და ვიტამინების დეფიციტი, ჭარბი შაქრების, ცხიმებისა და მარილის მოხმარება და სხვა [20.21].

მიუხედავად იმისა, რომ პრობლემის გადაჭრა ერთი შეხედვით მარტივად გვეჩვენება, თვალი უნდა გავუსწოროთ ისეთ ფაქტორებს, როგორიცაა საკვები პროდუქტების ფარული დაბინძურება გლუტენით. მოთხოვნა უგლუტენო პროდუქტებზე მზარდია, თუმცა ისიც უნდა აღინიშნოს, რომ გარკვეულ შემთხვევებში ადამიანები ირჩევენ უგლუტენო პროდუქციას თავის დაზღვევის მიზნით და არა იმიტომ, რომ მათ აქვთ სამედიცინო ხასიათის ჩვენება-მაგ, ცელიაკია, ნაწლავური უკმარისობის სინდრომი და ა.შ.

ზოგჯერ ადამიანები თავს უკეთ გრძნობენ უგლუტენო დიეტაზე გადასვლით, რადგან მათი კვების რაციონიდან ქრება ან მკვეთრად მცირდება ისეთი პრობლემური პროდუქტების მოხმარება, როგორიცაა ლუდი, ე.წ. “სნექები” და სხვა ანუ პროდუქტები, რომელთაც ხშირ შემთხვევაში უკავშირდება გაღიზიანებული ნაწლავის და მასთან დაკავშირებული მონელების პრობლემები. თუ უგლუტენო დიეტა ამცირებს გარკვეულ სიმპტომებს კონკრეტულ ადამიანებთან, სხვებთან მას შეიძლება მოჰყვეს არასრულფასოვანი კვების სირთულეები, რადგან რაციონში მნიშვნელოვნად იკლებს ვიტამინი B₁₂, ფოლიუმის მჟავა, თუთია, მაგნიუმი, კალციუმი და სელენი, აგრეთვე - უჯრედისი. ცხადია, ყოველივე ეს გავლენას იქონიებს ნაწლავის მიკრობიომზე და არაა გამორიცხული, რომ გამოიწვიოს შორს მიმავალი ნეგატიური შედეგები.

ხშირად უგლუტენო პროდუქტები მაღალკალორიულია იმ რთული ქიმიური დანამატების გამო, რომელთა დამატებაც აუცილებელია იმ ტექსტურისა და კონსისტენციის მისაღწევად, რომელსაც უზრუნველყოფს გლუტენი.

ბოლო პერიოდის კვლევებმა აჩვენა, რომ უგლუტენო მაკარონნაწარმების სტაბილური მოხმარება იწვევს სისხლში გლუკოზის დონის უფრო მკვეთრ მატებას, ვიდრე ჩვეულებრივი ხორბლის ფქვილიდან მომზადებული მაკარონების მოხმარება. სავარაუდოდ, ეს აიხსნება იმით, რომ ხორბლის ტექსტურის იმიტირება ხდება ძლიერ რაფინირებული ნახშირწყლებით. ამიტომ აღარ უნდა გაგვიკვირდეს, რომ მათი მოხმარება მკვეთრად ზრდის ორგანიზმში შაქრის წარმოქმნას ანუ გრძელვადიან პერსპექტივაში ისახება წონის მატება და დიაბეტის განვითარების

მაღალი რისკი.

ტრადიციულად, ცელიაკიით დაავადებული ადამიანებისათვის უგლუტენო პურპროდუქტები მზადდება ნედლეულიდან, რომელიც არ შეიცავს ან ძალიან მცირე რაოდენობით შეიცავს გლუტენს. ასეთია წიწიბურა, ბრინჯი, კარტოფილის ან სიმინდის სახამებელი, გვხვდება ცნობები კანაფის ფოთლებისა და შოთხვის ნაყოფებიდან მიღებული ფქვილის გამოყენების შესახებ [22].

თანამედროვე ბაზარზე ბევრია უგლუტენო პურპროდუქტები, რომლებიც დამზადებულია სხვადასხვა სახის უგლუტენო მასალითა და დანამატებით.



სურათი 2. უგლუტენო პროდუქცია საქართველოს სამომხმარებლო ბაზარზე

უნდა ითქვას, რომ თითოეულ ასეთ შემთხვევაში სააჭირო ხდებოდა დამატებითი ძალისხმევა ბუნებრივი ტექსტურის, საგემოვნო თვისებებისა და სხვა პარამეტრების შენარჩუნებისათვის. თუმცა მომხმარებლისათვის საინტერესოა და მოთხოვნადი პური, რომელსაც შენარჩუნებული ექნება ტრადიციული პურის საგემოვნო თვისებები, ტექსტურა, არომატი და სხვა.



სურათი 3. უგლუტენო პური

ამდენად, აქტუალურია მოინახოს ტექნოლოგიური გზა, რომლის მეშვეობითაც მომხმარებელთა ფუნქციური ჯგუფი მიიღებს უგლუტენო პროდუქტს სხვადასხვა არასასურველი დანამატების გარეშე, რომელსაც შენარჩუნებული ექნება სასურველი საგემოვნო თუ სხვა თვისებები.

უგლუტენო პროდუქციის წარმოების თვალსაზრისით კვებით მრეწველობაში გამოიყოფა ორი მიმართულება: 1) საკვები პროდუქტის წარმოებაში ბუნებრივი უპირატესად, მცენარეული წარმოშობის უგლუტენო ნედლეულის გამოყენება (უგლუტენო მარცვლეული, ფსევდომარცვლეული (სორგო, წიწიბურა), პარკოსნები, კაკლოვან მცენარეთა ნაყოფები (ნიგოზი, თხილი, ნუში), ბოლქვები, ძირხვენები და ა.შ.). თამამად შეიძლება ითქვას, რომ უგლუტენო საკვები პროდუქტების თითქმის მთელი ასორტიმენტი ამჟამად იწარმოება ამ მიმართულებასთან დაკავშირებული ტექნოლოგიებით. 2) ბიოკატალიზური მიმართულება, როდესაც ხდება გლუტენის მოცილება ან გლუტენშემცველ ნედლეულში მისი მოდიფიცირება.

პრობლემის გადაჭრის მრავალ გზას შორის გამოვყოფდი ორს-

1. გლუტენის ნაწლავშიდა მონელება გლუტენაზებით. აღწერილია გლუტენაზები, რომლებიც მიღებულია სხვადასხვა წყაროდან-

ბაქტერიებიდან და სოკოებიდან (*Aspergillus niger*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulate*, *Actinoallomurus*, *Streptomyces lividans*), მცენარეებიდან (ქერი), ინჟინერინგის გზით მიღებული რეკომბინანტული ცილები სხვადასხვა ბიოლოგიური აქტივობით *in vitro* (ლატიგლუტენაზა -IMGX003) [23].

2. გლუტენის წინასწარი დამუშავება ბაქტერიული/ სოკოს/ მცენარეული/ სინთეზური ენდოპეპტიდაზებით. ხორბლის ფქვილი ან ფქვილის ნაწარმი შესაძლოა დავუქვემდებაროთ ფერმენტაციის გზით ბაქტერიებით ან სოკოებით მოდიფიკაციას. ეს ორგანიზმები გამოყოფენ პროტეოლიზურ ფერმენტებს, რომლებით დამუშავების შედეგად გლუტენი ხდება ნაკლებტოქსიური.

სწორედ ამ მიმართულებით ანუ პროტეოლიზური ფერმენტების მეშვეობით გლუტენის დაშლის შესაძლებლობამ მიიპყრო ჩვენი ყურადღება.

1.4 პროტეაზები

ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქტების წარმოებასა და საწარმოო ნარჩენების გარდაქმნაში ქიმიურ პროცესებს ეფექტურად ანაცვლებენ ფერმენტული პროცესებით, რომელთა შორის პროტეოლიზურ რეაქციებს მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია.

პროტეაზები მიეკუთვნება ფერმენტთა ჯგუფს, რომლებიც უზრუნველყოფენ ცილების ჰიდროლიზური დაშლის კატალიზს. აქტიური ცენტრის მოქმედების სპეციფიკის მიხედვით ისინი კლასიფიცირდება შვიდ ჯგუფად:

1. ასპარტატპეპტიდაზებად, 2. მეტალოპეპტიდაზებად(იყენებენ ლითონის იონებს, უპირატესად-თუთიას), 3. ცისტეინპეპტიდაზებად, 4.სერინპეპტიდაზებად, 5. ტრეონინპეპტიდაზებად, 6. გლუტამინურ პროტეაზებად და ჯერჯერობით კლასიფიკაციის გარეშე დარჩენილ პეპტიდაზებად (ამ ჯგუფში შედის 2011 წელს აღწერილი ასპარაგინპეპტიდაზა, რომელიც ელიმინაციის რეაქციისათვის იყენებს ასპარაგინს და არ საჭიროებს წყალს). პროტეაზების მიერ პეპტიდური ბმის დაშლის მექანიზმი მოიცავს ამინომჟავური ნაშთის გარდაქმნას ნუკლეოფილურ

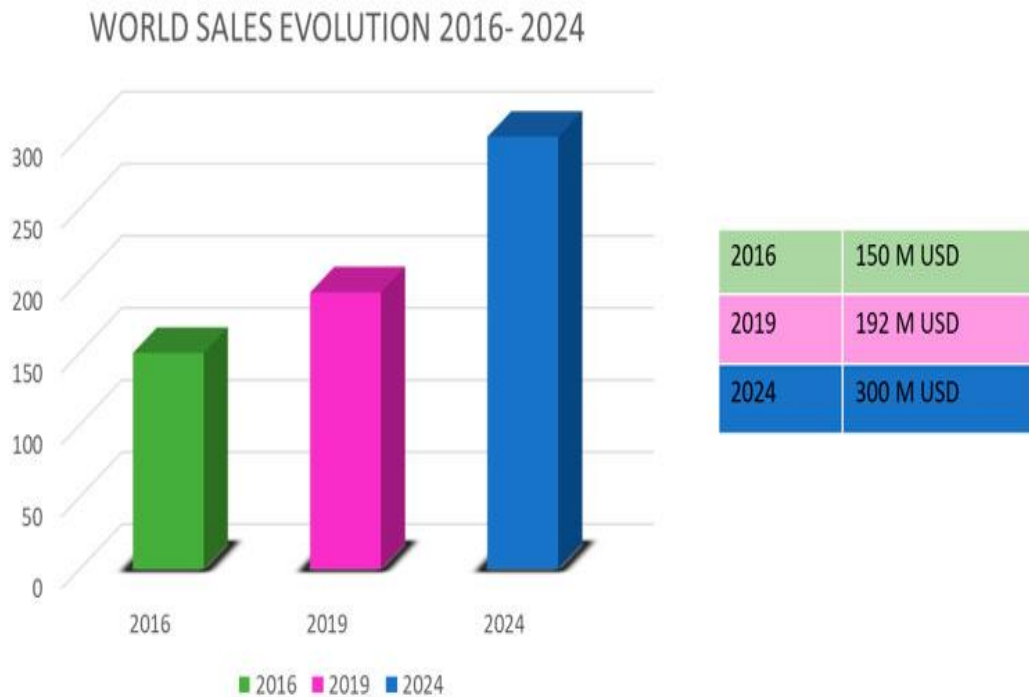
ჯგუფად, რათა მან შეძლოს პეპტიდის კარბონილური ჯგუფის შტურმი.

ნუკლეოფილური ჯგუფის მიღების ერთ-ერთი ხერხია კატალიზური ტრიადა, სადაც ჰისტიდინის ნაშთი გამოიყენება სერინის, ცისტეინის ან ტრეონინის აქტივაციის მიზნით.

პროტეაზების გარკვეული ნაწილი სინთეზდება არააქტიური ფერმენტული წინამორბედის-ზიმოგენის სახით, რომელთა გააქტიურება დამოკიდებულია გარემოზე და მის ცვლილებებზე (პეპსინოგენი, ტრიპსინოგენი, ფიბრინოგენი და ა.შ.).

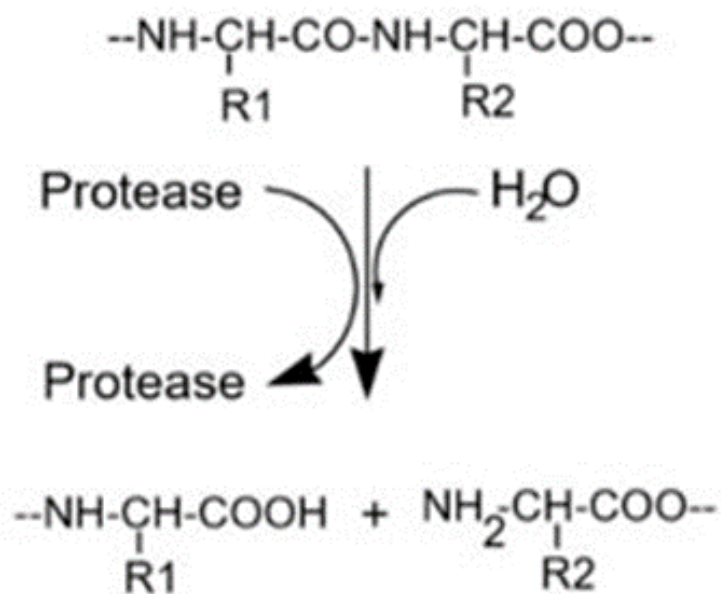
ინტერესი პროტეოლიზური ფერმენტების მიმართ დიდია. მათი მოქმედებით ჩქარდება პეპტიდური ბმების ჰიდროლიზური დაშლა ცილებსა და პეპტიდებში. პეპტიდოჰიდროლაზები ხასიათდებიან შერჩევითი მოქმედებით: ისინი ხლეჩენ მხოლოდ მათთვის სპეციფიური ბმებს. მაგ. პეპსინი მოქმედებს მხოლოდ არომატული ამინომჟავებით შექმნილ ბმებზე, ტრიპსინი შლის ბმას არგინინსა და ლიზინს შორის და ა.შ. მათგან $\text{pH}=1.5-3.7$ აქტიური-მჟავა პროტეაზები, $\text{pH}=6.5-7.5$ - პროტეაზები, ხოლო $\text{pH}>8.0$ - ტუტე პროტეაზები.

პროტეაზების გამოყენების სპექტრი მეტად ფართოა: რძის პროდუქტების წარმოებაში-ხაჭოს, ყველის მიღება, ხორცისა და ხორცპროდუქტების წარმოებაში-ხორცის დარბილება, ტყავსაგალანტერეო წარმოებაში- ტყავიდან ბალნიანი საფარველის მოშორება და დარბილება, ფოტოკინონდუსტრიაში-ფირებზე არსებული ქელატინური ფენის გახსნა მისი აღდგენისას, პარფიუმერიაში-ბიოაქტიური დანამატი საცხებში, კბილის პასტებში, ლოსიონებში; სინთეზური სარეცხი საშუალებების წარმოებაში-ცილოვანი ბუნების დამაბინძურებლების გამომრეცხი დანამატი, მედიცინაში-დამწვრობების, თრომბოზების, ანთებითი პროცესების მკურნალობა და სხვა. კომერციული პროტეაზების წარმოება-გაყიდვა სერიოზულ მასშტაბებს აღწევს. 2016 წელს პროტეაზების რეალიზაციამ მიაღწია 150 მილიონ დოლარს, რაც წარმოადგენს ფერმენტების მთლიანი ბაზრის 15%-ს. ეკონომიკური თანამშრომლობისა და განვითარების ორგანიზაცია (OECD) პროგნოზირებს ამ ტიპის ფერმენტების ბაზრის ზრდას მომავალი წლებისთვის, გლობალურად დაახლოებით 1280 მილიონი აშშ დოლარი 2019 წელს და 2000 მილიონი აშშ დოლარი 2024 წლისთვის.



დიაგრამა 2: გლობალური პროტეაზის გაყიდვის საგარეო ევოლუცია მომდევნო წლებში (წყარო: OECD).

პროტეაზების საკმაოდ დიდი წვლილი მიუძღვით ცოცხალი ორგანიზმის მეტაბოლიზმში. მათი მოქმედების მექანიზმი არის ცილოვანი პეპტიდური ბმების დაშლა წყლის მოლეკულის გამოყენებით და პროდუქტის სახით უფრო მარტივი პეპტიდების ან ამინომჟავების მიღება. (სურათი 4).



სურ. 4. პროტეაზის მიერ შესრულებული ჰიდროლიზი

პროტეაზები კლასიფიცირდება სხვადასხვა კრიტერიუმების მიხედვით, როგორცაა:

- წარმოშობა: ცხოველური, მცენარეული, ბაქტერიული ან სოკოვანი.
- კატალიზური მოქმედების რეჟიმი: ენდოგენური (ახდენენ არაკიდურა-მოლეკულის სიღრმეში მდებარე პეპტიდური ბმების ჰიდროლიზის, რის შედეგადაც წარმოიქმნება უფრო მოკლე პეპტიდები) ან ეგზოგენური (სუბსტრატის კიდურა ბმების ჰიდროლიზი) მოქმედებენ იმ პეპტიდურ ბმებზე, რომლებიც მდებარეობს სუბსტრატის ბოლოებზე) აქტივობა, იმისდა მიხედვით, არღვევენ თუ არა ისინი პეპტიდურ ბმებს, რომლებიც მდებარეობს ბოლოებში ან პეპტიდური ჯაჭვის შიგნით. თავის მხრივ, ეგზოპეპტიდაზები იყოფა ამინოპეპტიდაზებად (მოქმედებენ პეპტიდური ჯაჭვის N-ბოლოში) და კარბოქსიპეპტიდაზებად (მოქმედებენ პეპტიდური ჯაჭვის C-ბოლოში) [24-28].

ეგზოპეპტიდაზების მოქმედების შედეგად წარმოიქმნება ამინომჟავები, დიპეპტიდები ან ტრიპეპტიდები.

- აქტიურ ცენტრში არსებული ამინომჟავის მიხედვით, რომელიც პასუხისმგებელია რეაქციის კატალიზებაზე; ამის მიხედვით მათ ყოფენ ექვს ძირითად ჯგუფად: სერინულ, ცისტეინულ, ტრეონინულ, ასპარაგინულ, გლუტამინულ და მეტალოპროტეაზებად.
- პეპტიდური ბმის დაშლისას პროტეაზების ოპტიმალური აქტივობის pH-დან გამომდინარე, მათ მოიხსენიებენ მჟავე, ნეიტრალური ან ტუტე პროტეაზებადაც. (Rao et al., 1998) მჟავა პროტეაზების ოპტიმალური აქტივობის pH=2-4. ისინი გამოიყენება მედიცინაში, სოიას სოუსის წარმოებაში სოიას ცილის გადამუშავებისათვის და პურპროდუქტების წარმოებაში ხორბლის წებოგვარას დაშლის მიზნით. ამ კატეგორიაში შედის რენინის ტიპის პროტეაზები სოკოებიდან, რომელთაც ძირითადად იყენებენ ყველის წარმოებაში. ნეიტრალური პროტეაზები არ გამოირჩევიან სტაბილურობით, მაქსიმალური სტაბილიზაციისათვის მათ უმატებენ კალციუმს, ნატრიუმს, ქლორიდს. აქტივობის pH-დიაპაზონი არაა ფართო. ამ ტიპის პროტეაზებს

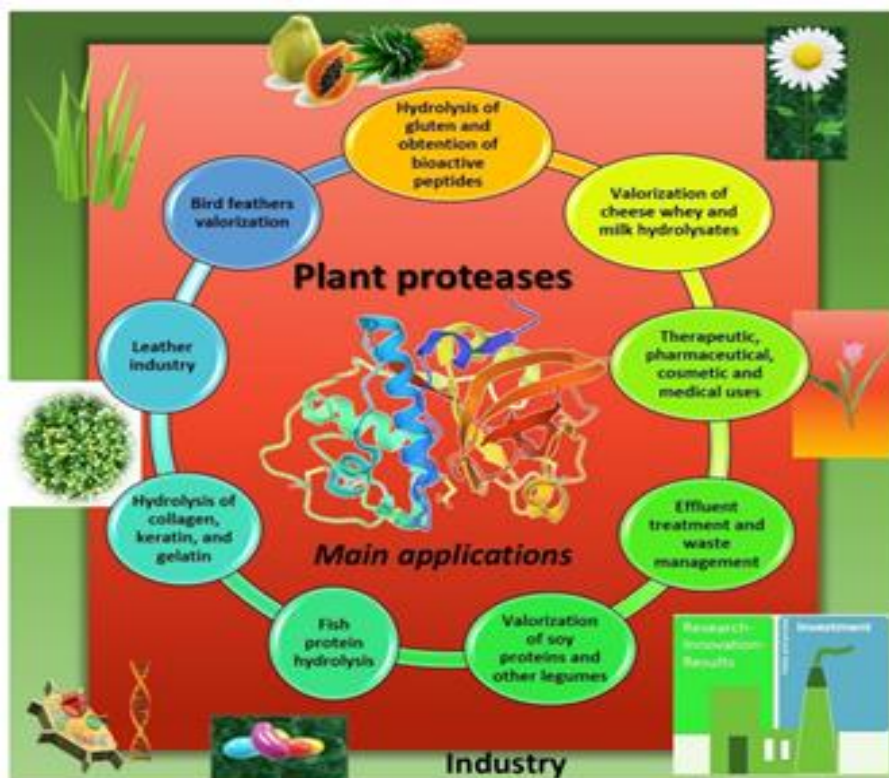
გამოიშვებენ ბაქტერიები *B.subtilis*, *B.cereus*, *B.megaterium* და სოკოები *A.oryzae*, *A.sojae*. ნეიტრალური პროტეაზები სწრაფად ინაქტივირდებიან ტუტე პროტეაზებით. ამის გამო მათი სამრეწველო გამოყენება შედარებით შეზღუდულია, თუმცა ტყავსაგალანტერეო და კვების მრეწველობის ზოგიერთ დარგში ისინი საკმაოდ ეფექტურნი არიან. ტუტე პროტეაზები აქტიურ ცენტრში შეიცავენ სერინს. მათ იყენებენ სარეცხ საშუალებების წარმოებაში, რადგან ინარჩუნებენ სტაბილურობას მაღალ ტემპერატურასა და ტუტე (pH 8-9). დიაპაზონში ხელატური აგენტების თანაობისას. ამ ტიპის პროტეაზებს გამოიშვებენ ბაქტერიები *B.licheniformis*, *B.amyloliquifaciens*, *B.megaterium*, *S.griseus*. და სოკოები *A.oryzae*, *A.niger*.

მრავალი პროტეაზა თავდაპირველად სინთეზირდება არააქტიური წინაფერმენტული ფორმით, რომელსაც ზიმოგენი ეწოდება (პეპსინოგენი, ფიბრინოგენი და სხვა). ზოგიერთი ზიმოგენის აქტივაცია პირდაპირაა დამოკიდებული გარემოს ცვლილებებაზე [29-37].

1.4.1 მცენარეული პროტეაზები

მცენარეული პროტეაზები წარმოადგენენ ცილების ფართო სპექტრს, რომელთა მიღება ხდება მცენარეების სხვადასხვა ორგანოებიდან. მათი უმეტესობა განსხვავდება ტემპერატურული და pH-ოპტიუმით. გამოირჩევიან უსაფრთხოებით და წარმატებით შეიძლება გამოყენებულ იქნას კვებით მრეწველობაში. ერთგვარ შეზღუდვას წარმოადგენს მათი სეზონური ხელმისაწვდომობა, აგრეთვე ის ფაქტი, რომ ზოგიერთი სახეობის მცენარის გამოყენება არაა მიზანშეწონილი იმ რეგიონებში, სადაც ისინი ბუნებრივად არ იზრდება [38-39].

მიუხედავად მცენარეული ფერმენტების უამრავი უპირატესობისა და მრავალფეროვნებისა, მათი გამოყენება არაა სათანადოდ ფართომასშტაბიანი, რადგან თითოეული მათგანი საჭიროებს საგულდაგულო შესწავლას, ეფექტურობის შეფასებასა და ა.შ.



სურათი . 5. მცენარეული პროტეაზები და მათი გამოყენების სფერო

მცენარეული პროტეაზების უმეტესობა მიეკუთვნება ცისტეინურ, სერინულ და ასპარტატპროტეაზებს.

1.4.1.1 ცისტეინური პროტეაზები

ცისტეინურ პროტეაზებში ნუკლეოფილურ სეგმენტს ქმნის ცისტეინის ნაშთის სულფჰიდრილური ჯგუფი, ხოლო პროტონის დონორს-ჰისტიდინის ნაშთი. აქტიურნი არიან საკმაოდ ფართო ტემპერატურულ და pH-დიაპაზონში (5-8). მათი მოლეკულური მასა მერყეობს 25-30 კდა. ცისტეინური პროტეაზები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ცილების მობილიზებასა და მცენარის დაცვაში სხვადასხვა ბიოტური და აბიოტური ფაქტორისაგან.

1.4.1.2. სერინული პროტეაზები

სერინულ პროტეაზებში ნუკლეოფილურ აგენტს ქმნის სერინის ნაშთი. პროტონის დონორად აქაც გვევლინება ჰისტიდინის ნაშთი. მცენარეული სერინპროტეაზები მონაწილეობენ მრავალ ფიზიოლოგიურ პროცესში, როგორცაა

მიკროსპოროგენეზი, პათოგენებზე შეტევა და ქსოვილთა სპეციალიზაცია.. მათი მოლეკულური მასა მერყეობს 20-120 კდა. (უმეტესობაში მასური დიაპაზონია 60-80 კდა.). აქტივობას ავლენენ ტუტე არესა (pH: 7-11) და ტემპერატურულ დიაპაზონში 25- 50 °C. (გამონაკლისია Ara12 A. Thaliana-დან, RSIP სიმინდიდან და C1 სოიდან, რომელთა ოპტიმალური pH მერყეობს 3,5-დან 6,5-მდე).

1.4.1.3. ასპარაგინული პროტეაზები

მცენარეებში ასპარაგინული პროტეაზები აღმოჩენილია თესვებში, ყვავილებსა და ფოთლებში. ნუკლეოფილურ აგენტს წარმოადგენს წყლის გააქტივებული მოლეკულა და არა ამინომჟავას გვერდითი ჯაჭვი. უმეტესობას აქვს ასპარაგინის მჟავას 2 ნაშთი, რომლებიც ააქტიურებენ წყალს და წარმოადგენენ აქტიურ ცენტრს. ასპარტატპროტეაზების პირველად სტრუქტურაში ვხვდებით სასიგნალო თანმიმდევრობას N-ბოლოზე, რომელიც შედგება 100 ამ.მჟ. ნაშთისაგან და პასუხს აგებს ფერმენტის ვაკუოლურ ტრანსპორტზე. მცენარის ამ სპეციფიურ ჩანართ იცნობენ PSI-ის სახელით. ასპარტატპროტეაზები ხასიათდებიან ჰიდროფობური ამ.მჟ. ნაშთებს შორის პეპტიდური ბმის გახლეჩის მაღალი სპეციფიურობით. თუმეტესობა აქტიურია მჟავა პირობებსა (pH 4-6,5) და ტემპერატურაზე მოლეკულური მასა მერყეობს 35-65 კდა. ფერმენტის მასა დამოკიდებულია იმაზე, PSI-ფრაგმენტის მოშორება მოხდა (ჰეტერომერული) თუ არა (მონომერული) აქტივაციამდე. ასპარტატპროტეაზების უმეტესობა წარმოადგენს ჰეტეროდიმერს მოლეკულური მასით 35-51 კდა [40-48].

1.4.2. პროტეაზების გამოყენება ფქვილნაწარმებში

კვებითი მრეწველობის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ასპექტს წარმოადგენს პროტეაზების გამოყენება პურფუნთუშეულის წარმოებაში ფქვილში არსებული გლუტენის ჰიდროლიზისა და უგლუტენო პროდუქციის მიღებისათვის, აგრეთვე ცომის მახასიათებლების გაუმჯობესებისათვის (ელასტიურობის გაზრდა, ზელების დროის შემცირება, მოცულობის გაზრდა და სხვა). ისეთი მცენარეული პროტეაზები, როგორიცაა პაპაინი, კარიკაინი და ბრომელაინი წარმატებით გამოიყენება პურისა და საკონდიტრო ნაწარმის ცხობისას. ბრომელაინი შლის გლუტენის IgE ეპიტოპს და

პურს ანიჭებს ჰიპოალერგენულ თვისებებს [49], ხოლო პაპაინი ახდენს რა გლუტენის ჰიდროლიზს, ცვლის ცომის წებოვნებას [50]. ცომში მნიშვნელოვნად მცირდება გლიადინური კომპონენტები და იზრდება დაბალმოლეკულური ფრაგმენტების ხვედრითი წილი, რაც ნანახია ელექტროფორეზის მეშვეობით. რაც შეეხება კარიკაინს, მას შეუძლია მნიშვნელოვნად შეამციროს გლიადინების შემცველობა ფქვილში, თუ მოხდება წინასწარი დამუშავება აღნიშნული ფერმენტით [51].

1.5. ვაზი და მისი პროდუქტები

თანამედროვე მსოფლიო საქართველოს იცნობს როგორც ვაზისა და ღვინის სამშობლოს და ეს არ არის შემთხვევითი: საქართველოში ველური ვაზი 15 მლნ.წელს ითვლის, ხოლო კულტურული მევენახეობა-8000 წელს. ადგილობრივი ვაზის ჯიშების რაოდენობა (536-მდე ჯიში) 2-ჯერ მეტია, ვიდრე მევენახეობის მოწინავე ქვეყნებში (ჯავახიშვილი ი. 1986) [52].

ქართველ მეურნეს ხშირად უხდებოდა მტრისაგან განადგურებული ბაღ-ვენახის აღდგენა, აჩეხილის ნაცვლად ახალი ვაზის გაშენება. ალბათ, ამიტომაც არის ამ პატარა ტერიტორიაზე ასე უხვად ვაზის სხვადასხვა ჯიშები, რომლებიც გამოირჩევიან თავიანთი ხარისხით, უხვმოსავლიანობითა და სხვა. ქართული მეღვინეობა -მევენახეობის უდიდეს აღიარების დასტურია 1999 წელს ლონდონში გახსნილი მსოფლიოში უდიდესი და მუდმივმოქმედი ღვინის გამოფენა „ვინოპოლისი“ (ღვინის ქალაქი), რომელშიც ქართულ პავილიონს- „ღვინის აკვანს“ საპატიო ადგილი უკავია [53].

საქართველოს რიგი რაიონების მოსახლეობისათვის მევენახეობა წარმოადგენს მატერიალური კეთილდღეობის ძირითად წყაროს. უნდა ითქვას, რომ არანაკლებ აქტუალურია ყურძნის გადამუშავების პროდუქტების ნარჩენების უტილიზაციის ორგანიზაციას. ვაზის ნაყოფი წარმოადგენს შესანიშნავ ჩაროხს, მისი გადამუშავების შედეგად მიიღება ქიშმიში, ბადაგი, წვენი, ჩურჩხელა, ფელამუში, ტკბილიკვერი, მურაბა, ხოლფაფა, კომპოტი, ცუკატი და სხვა. ცალკე უნდა აღინიშნოს არაჩვეულებრივი ქართული ღვინოები. მევენახეობის მეორად პროდუქტებს მიეკუთვნება საკონიაკე სპირტი, წიპწის ზეთი, ძმარი, ძმარმჟავა და ღვინის მჟავა, ეთანოლი და მის ბაზაზე დამზადებული მედიკამენტები, საკვები ფერის

მიმცემი დანამატები და საფუარები, სასუქი. ვაზის ანასხლავები გამოიყენება ქაღალდის, პლასტმასის, მეცხოველეობის საკვები ფქვილის, სათბობისა და სხვა პროდუქციის წარმოებისათვის. ყურძნის გადამუშავების შემდეგ დარჩენილი ჭაჭა, კლერტი, წიპწა, ლექი და ა.შ შეიძლება გადამუშავდეს და მივიღოთ მნიშვნელოვანი პროდუქტები [54-57].

ცხრილი 1.პროდუქტები,რომელთა მიღება შესაძლებელია მეღვინეობის

ნარჩენების გადამუშავებით

მეღვინეობის ნარჩენები	მეღვინეობის ნარჩენების გადამუშავებით მიღებული პროდუქტები
კლერტი	ტანინი, სასუქები
ჭაჭა	ეთილის სპირტი, ღვინომჟავა მარილები, პოლიფენოლური კონცენტრატები, სასმელები
წიპწა	ზეთი, საფურაჟე, საკვები ფქვილი, ტანინი
კანი	სასუქები, საღებავი ნივთიერებები
ლექი	სპირტი, B-ჯგუფის ვიტამინების ბიოკონცენტრატები, ცილები, ენანტის ეთერი
ღვინის ქვა	ღვინომჟავა მარილები

დროა ყურადღება დაეთმოს მევენახეობის ისეთ მეორად პროდუქტს, როგორიცაა ვაზის ფოთოლი.მართალია, მას ფართო გამოყენება აქვს აღმოსავლეთის ქვეყნების სამზარეულოსა და ხალხურ მედიცინაში, მაგრამ დღესდღეობით ჩვენი ქვეყანა არ იყენებს ტონობით ისეთ ნედლეულს, რომელიც მდიდარია ფერმენტებით, ვიტამინებით, ანტოქსიდანტებით და წარმოადგენს დიეტურ პროდუქტს.მას იყენებენ პარფიუმერიაში და მედიცინაში. დღეისათვის, თუ არ ჩავთვლით ყურძნის ნაყოფისაგან დამზადებულ პროდუქტებს (წვენი, ღვინო, არაყი), ვაზის ფოთოლი წარმოადგენს მნიშვნელოვან საექსპორტო ნედლეულს, რომლის საბაზრო ფასია 500-650\$/ტ. ვაზის ფოთოლი არის მნიშვნელოვანი საკვები პროდუქტი, დაბალკალორიული, კონსერვირების შემთხვევაშიც ინარჩუნებს ვიტამინებსა და მინერალებს (Mg,Mn,Ca,K,Na,Fe). დადგენილია, რომ 30 გ. ვაზის ფოთოლი ადამიანს აწვდის A ვიტამინის დღიურ ნორმას.მისი რეგულარული მოხმარება აწესრიგებს გულსისხლძარღვთა სისტემას,ამცირებს ინსულტის რისკს, ლიტერატურული

მონაცემებიდან ცნობილია, რომ შეიცავს ერთ-ერთ ძლიერ ანტიოქსიდანტს-რესვერატროლს განსაკუთრებით მდიდარია შავი ყურძნის ჯიშების ფოთლები.

ვაზის ფოთოლი არ შეიცავს კოფეინსა და სხვა ძლიერად აღმგზნებ ალკოლოიდებს, რომლებიც უარყოფითად მოქმედებს ცენტრალური ნერვული სისტემისა და გულის მუშაობაზე. ცნობილია, რომ ჯერ კიდევ შორეულ წარსულში საქართველოში, ეგვიპტესა და საბერძნეთში სამკურნალოდ და კვების საქმეში იყენებდნენ არა მარტო ყურძენს, არამედ ვაზის დუყებსაც. ხალხურ მედიცინაში ვაზის ფოთლის ფხვნილი იხმარება, როგორც შინაგანი სისხლდენის სამკურნალო საშუალება. ფიტონციდების მაღალი შემცველობის გამო ვაზის ფოთლის ექსტრაქტი გამოყენებულია ჩირქოვანი ჭრილობების მოსაბანად. იგი სპობს დაჩირქების გამომწვევ ბაქტერიებს.

უნდა აღინიშნოს, რომ დღესდღეობით გამოუყენებელი რჩება ვაზის უზარმაზარი ბიომასა, რომელიც მდიდარია სხვადასხვა ბიოლოგიურად მნიშვნელოვანი ნივთიერებებით და რომლის გონივრული გამოყენებაც მნიშვნელოვნად გააფართოებს კვების პროდუქტთა წარმოების სანედლეულო ბაზას. დადგინდა, რომ ვაზის მწვანე ბიომასისგან, აგრეთვე მელვინეობის მეორადი ნედლეულისაგან შეიძლება ვაწარმოოთ შემდეგი სახის პროდუქცია: 1. ვაზის პოლივიტამინური, გრანულირებული ჩაი; 2. თხევადი საკვები კონცენტრატები; 3. ვაზის მშრალი, სწრაფხსნადი საკვები კონცენტრატები; 4. ბუნებრივი საკვები საღებავები; 5. ვაზის ნორჩი დუყებით ვიტამინიზებული მწვანე, ყვითელი, წითელი და შავი ჩაი; 6. ცილოვან-ვიტამინური საკვები მეცხოველეობისთვის [58].

1.5.1 იზაბელას აღწერა

იზაბელა (*Vitis Labrusca L.*) წარმოადგენს ვაზის ერთ-ერთ ყველაზე გავრცელებულ ჯიშს თითქმის მთელ მსოფლიოში, რადგან შეუძლია იხაროს ისეთ ადგილებში, სადაც ვაზის სხვა ჯიშებისათვის პირობები არაა დამაკმაყოფილებელი; გამოირჩევა სიცხისა და სიცვიისადმი გამძლეობით, ფილოქსერასა და სოკოვანი დაავადებების მიმართ დიდი მდგრადობით, ამიტომაც არ ითხოვს შეწამვლას. ესაა ბუნებრივი ჰიბრიდი, რომელიც, ძირითადად გვხვდება მაღლარის ან ველურად ხეზე გასული სახით, აგრეთვე მას რგავენ ეზოებისა და თაღარების გამწვანების

მიზნით. ხშირად იზაბელას სახელით მოიხსენებენ ყურძნის ჯიშებს, რომელთაც ახასიათებთ მსგავსი ორგანოლეპტიკური თვისებები.

საქართველოში იზაბელას „ადესას“ სახელითაც იცნობენ. ადესა არის შავი და თეთრი. მისგან დაწურული ღვინის მიმართ არაერთგვაროვანი დამოკიდებულებაა, თუმცა არავინ უარყოფს მისი ნაყოფისა და წვენი უვნებლობას, ამიტომ ყურძნის ამ ჯიშის ფოთლის გამოყენება მნიშვნელოვან როლს შეასრულებს ეკონომიკაში.



სურათი 6 .იზაბელა შავი და თეთრი(ნოა)

კვლევამ აჩვენა, რომ *Vitis labrusca* ავლენს ბიოაქტიური ნაერთების მდიდარ პროფილს, მათ შორის ფენოლურ ნაერთებს და რესვერატროლს, რომლებიც ცნობილია მათი ანტიოქსიდანტური თვისებებით [59-62] .

ამ ნაერთებს შეუძლიათ გავლენა მოახდინონ პროტეაზების აქტივობაზე, სუბსტრატების სახით მოქმედებით ან ფერმენტის აქტივობის მოდულირებით სხვადასხვა ბიოქიმიური გზებით. მაგალითად, ყურძნის ექსტრაქტებში ფენოლური ნაერთების არსებობა აძლიერებს გარკვეული ფერმენტების, მათ შორის პროტეაზას, სტაბილურობას და აქტივობას სპეციფიკურ პირობებში. ეს ვარაუდობს, რომ *Vitis labrusca*-დან პროტეაზების ექსტრაქცია შეიძლება ოპტიმიზირებული იყოს ამ ბიოაქტიურ ნაერთებსა და თავად ფერმენტებს შორის ურთიერთქმედების გათვალისწინებით. გარდა ამისა, *Vitis labrusca*-დან სპეციფიკური პროტეაზების გამოყოფა შეიძლება გაადვილდეს ყურძნის უჯრედული სტრუქტურის უნიკალური მახასიათებლების გამოყენებით. ყურძნის მეზოკარპი, რომელიც შეიცავს სხვადასხვა ფერმენტებს, მათ შორის გლუკოზილტრანსფერაზას, იდენტიფიცირებულია, როგორც პროტეაზას ექსტრაქციის პოტენციური წყარო [63] .

ეს ფერმენტები შეიძლება იყოს იზოლირებული და დახასიათებული მათი სპეციფიკური აქტივობით, რომელიც შეიძლება შეიცავდეს პროტეოლიზურ ფუნქციებს, რომლებიც სასარგებლოა საკვების გადამუშავებაში, როგორიცაა ხორცის დარბილება ან წველების გამწმენდი. ამ ფერმენტების ფუნქციონირების უნარი pH-ის ფართო დიაპაზონში კიდევ უფრო აძლიერებს მათ გამოყენებას სხვადასხვა ინდუსტრიულ პროცესებში.

გარდა მათი პოტენციური სამრეწველო გამოყენებისა, პროტეაზები *Vitis labrusca*-დან იქნა შესწავლილი მათი ჯანმრთელობის სარგებლობისთვის.

მაგალითად, *Vitis labrusca*-ს ფოთლებს აქვთ დამცავი ეფექტი ოქსიდაციური სტრესისგან, რაც შეიძლება დაკავშირებული იყოს პროტეაზების აქტივობასთან უჯრედულ თავდაცვის მექანიზმებში [64]. ყურძნის ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური თვისებები შეიძლება დაეხმაროს ჟანგბადის რეაქტიული სახეობების მავნე ზემოქმედების შერბილებას, რითაც შეინარჩუნებს პროტეაზას აქტივობას და სტაბილურობას. ეს ურთიერთქმედება ანტიოქსიდანტებსა და პროტეაზებს შორის ხაზს უსვამს ბიოქიმიური გარემოს გაგების მნიშვნელობას, რომელშიც ეს ფერმენტები მოქმედებენ.

გარდა ამისა, მიკრობული დინამიკა, რომელიც ასოცირდება *Vitis labrusca*-სთან ფერმენტაციის პროცესების დროს, ასევე შეუძლია გავლენა მოახდინოს პროტეაზას აქტივობაზე. კვლევებმა აჩვენა, რომ ძირძველ საფუარის პოპულაციებს, რომლებიც გავრცელებულია *Vitis labrusca* musts-ში, შეუძლიათ წარმოქმნან ფერმენტები, პროტეაზას ჩათვლით, რომლებიც ხელს უწყობენ ღვინის საერთო გემოსა და ხარისხს [65].

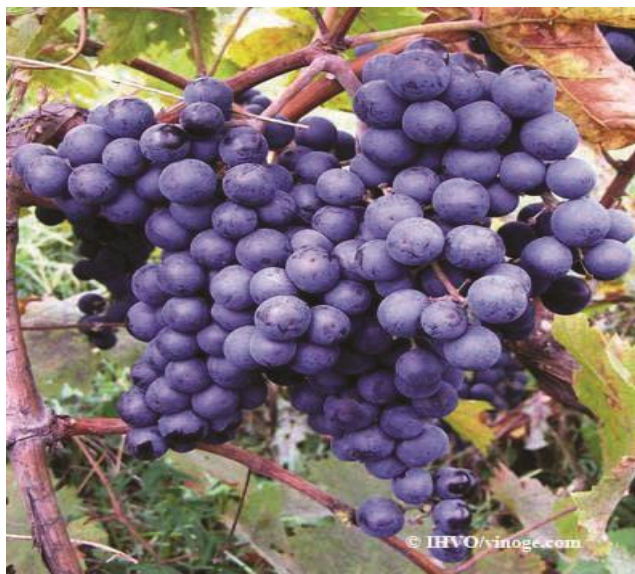
საფუარის და ყურძნის ფერმენტებს შორის ურთიერთქმედებამ შეიძლება გამოიწვიოს გემოს ნაერთების გაძლიერება, როგორიცაა რესვერატროლი, გლიკოზირებული წინამორბედების ჰიდროლიზის გზით [66]. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ დუღილის პროცესი არა მხოლოდ გავლენას ახდენს პროტეაზას აქტივობაზე, არამედ შედეგად მიღებული პროდუქტის მთლიან ბიოქიმიურ პროფილზე.

Vitis labrusca პროტეაზას გამოყენების პოტენციური ვრცელდება ნანოტექნოლოგიის სფეროზე, სადაც ყურძნის ექსტრაქტები გამოიყენება, როგორც ბუნებრივი დამფარავი აგენტები ნანონაწილაკების სინთეზში. ამ ექსტრაქტების ბიოთავსებადობა და ეკოლოგიურობა მათ შესაფერისს ხდის წამლის მიწოდების

სისტემებში და ბიოსენსორებში გამოსაყენებლად, სადაც პროტეაზებს შეუძლიათ როლი შეასრულონ წამლის გათავისუფლების მიზანმიმართულ მექანიზმებში. პროტეაზების უნარი გაანადგუროს კონკრეტული პეპტიდური ობლიგაციები შეიძლება გამოიყენოს მედიკამენტების მიწოდების ჭკვიანი სისტემების შესაქმნელად, რომლებიც რეაგირებენ ფიზიოლოგიურ პირობებზე [67] .

1.5.2. საქართველოში გავრცელებული ვაზის ზოგიერთი ენდემური ჯიშის მოკლე აღწერა

თავკვერი წარმოადგენს წითელყურძნიანი ვაზის აბორიგენულ ჯიშს. ძირითადად, გვხვდება აღმოსავლეთ საქართველოში. ნაყოფი მგრძნობიარეა ნაცრისფერი სიდამპლისა და ჭრაქის მიმართ. ფოთოლი ნაყოფთან შედარებით იჩენს უფრო მეტ მდგრადობას [68].



სურათი 7. თავკვერი

ცოლიკოური დასავლეთ საქართველოში გავრცელებული ვაზის ჯიშის წარმოადგენს. კარგად ეგუება გარემო პირობებს, ყინვის მიმართ ამტანობა საშუალოა, ამჟღავნებს ჭრაქის მიმართ მაღალ, ხოლო ნაცრის მიმართ საშუალო გამძლეობას .



სურათი 8. ცოლიკოური

რქაწითელი ფართოდაა გავრცელებული საქართველოში. კარგად უძლებს სოკოვან დაავადებებს- იგი ჭრავს უკეთ უძლებს, ვიდრე ნაცარს. ასევე კარგად იტანს ზამთრის ყინვებს და ადვილად ეგუება გარემო პირობებს.



სურათი 9. რქაწითელი

ხიხვი აღმოსავლეთ საქართველოში,უპირატესად, კახეთში გავრცელებული ვაზის ჯიშია. თელავისა და ახმეტის რაიონებში მას “ჯანანურას” სახელწოდებითაც იცნობენ. ვაზის ეს ჯიში ავლენს ნაცრის მიმართ სუსტ და ჭრავის მიმართ საშუალო გამძლეობას.



სურათი 10. ხიხვი

კლარჯული/კლარჯულა –ვაზის ეს ჯიშში გამოირჩევა თავისი საგემოვნო თვისებებით, ხანგრძლივად შენახვისა და ტრანსპორტაბელობის მაღალი უნარით. გარემო პირობებისადმი მომთხოვნელობა საშუალოა. მგრძნობიარეა სოკოვან ავადმყოფობათა და ფილოქსერის მიმართ.



სურათი 11. კლარჯულა

მესხური შავი წარმოადგენს მესხეთში გავრცელებული აბორიგენული წითელყურძნიანი ვაზის ჯიშს. კარგად ეგუება გვალვასა და ყინვას. ახასიათებს საკმაოდ მაღალი გამძლეობა სოკოვანი დაავადებების მიმართ.



სურათი 12. მესხური შავი

ცხენისძეძუ თეთრი წარმოადგენს მესხეთში გავრცელებული აბორიგენული თეთრყურძნიანი ვაზის ჯიშს. გამოირჩევა სოკოვან დაავადებათა მიმართ დიდი გამძლეობით.[69]



სურათი 13. ცხენისძეძუ თეთრი/მესხური თეთრი

მეგრენჯი უპირატესად გურია-აჭარაში გავრცელებული წითელყურძნიანი ვაზის ჯიშია. მგრძნობელობას ამჟღავნებს ნაცრისა და ფილოქსერის მიმართ.



სურათი 14. მეგრენჯი

ჭვიტლური - აბორიგენული თეთრყურძნიანი ვაზის ჯიშია. გავრცელებულია სამეგრელოში. ეს ჯიში ადვილად ავადდება ჭრატით, მგრძნობიარობას იჩენს ფილოქსერასადმი. საინტერესოა ის ფაქტი, რომ ვაზზე დატოვებული მტევნები დიდხანს ინახება და არ ლპება.



სურათი 15. ჭვიტლური

ჩინური - ვაზის ამ ჯიშს ზოგჯერ „ჩინებულის“ სახელითაც მოიხსენებენ შიდა ქართლის სოფლებში. გამოირჩევა ეკოლოგიური პირობებისადმი ნაკლები

მომთხოვნელობით, გამძლეობას იჩენს ნაცრისა და სხვა სოკოვანი დაავადებების მიმართ [70].



სურათი 16. ჩინური

1.6. საქართველოში გავრცელებული ზოგიერთი სამკურნალო მცენარის მოკლე აღწერა

მინდვრისნემსა (*Galium verum*) -ენდროსებრთა ოჯახის მრავალწლოვანი მცენარე. ხალხურ მედიცინაში იყენებენ ნაყენს (ტკივილგამაყუჩებელი, კუჭში შემკვრელი, შარდმდენი) და ნედლი მცენარიდან გამოწურულ წვეს(კანზე გამონაყარი,კანის კიბო).ითვლება სისხლდენის შემაჩერებელ ეფექტურ საშუალებად.

ახალგამოწურულ წვეს შეუძლია რძის აჭრა და მას ზოგ ქვეყანაში იყენებენ განსაკუთრებული ყველის მოსამზადებლად [71,72].



სურათი 17.მინდვრისნემსა

თხაწართხალა (*Chamaenerium augustifolium*) -ონაგრასებრთა ოჯახის მრავალწლოვანი თაფლოვანი მცენარე. თხაწართხალას ანთების საწინააღმდეგო საშუალებად იყენებენ კუჭის წყლულოვანი დაავადებების,გასტრიტის და კოლიტის დროს. ხალხურ მედიცინაში თხაწართხალათი მკურნალობენ სიყვითლეს, თავის ტკივილს,ყელ-ყურ-ცხვირის ანთებას, მის ფხვნილს აყრიან ჭრილობებზე, ნაყენს იყენებენ როგორც სედატიურ საშუალებას.მას აქვს უნარი ორგანიზმიდან გამოდევნოს ტოქსინები, ხელს უწყობს ნაწლავური მიკროფლო-რის აღდგენას, ეფექტურია სისხლნაკულობის დროს, იმუნიტეტის გასაძლიერებლად [71,72].



სურათი 18 .თხაწართხალა

ყვითელი ძიძო (*Melilotus officinalis*) -პარკოსანთა ოჯახის ოწლიანი ბალახოვა-

ნი მცენარე. მას იყენებენ როგორც დამამშვიდებელ და ტკივილგამაყუჩებელ საშუალებას მომატებული აგზნებისა და უძილობის დროს. ხალხურ მედიცინაში ძიძო ცნობილია როგორც ამოსახველებელი საშუალება. მას აგრეთვე იყენებენ როგორც გარეგან საშუალებას დაჩირქებული ჭრილობებისა და შუა ყურის ანთების დროს, პოდაგრისა და სახსრების შეშუპებისას მიმართავენ მცენარის აბაზანებს. თავის ტკივილისა და სისხლის მაღალი წნევის შემთხვევაში იყენებენ მის სპირტიან ნაყენს.



სურათი 19. ყვითელი ძიძო

2. მეთოდოლოგიური კვლევა

2.1 .იზაბელას ფოთლების კვლევა მძიმე მეტალებისა და ზოგიერთი მინერალის შემცველობაზე

იზაბელა არის ე.წ. უწყამლო ჯიში, ამიტომ თავდაპირველად შევამოწმეთ ნედლეულის ვარგისიანობა მძიმე მეტალების შემცველობაზე. სამუშაოში გამოყენებული იყო იზაბელას ჯიშის ვაზის გაზაფხულის, ზაფხულისა და შემოდგომის ფოთლის ნიმუშები აღმოსავლეთ (მანავი) და დასავლეთ (ჩოხატაური) საქართველოდან, აგრეთვე შესაბამისი ნიადაგების ნიმუშები .

2.1.1. ნედლეულის მომზადება ანალიზისათვის

ნიადაგის მომზადება მეტალების მჟავური ექსტრაქციისათვის ხდება შემდეგნაირად: წინასწარ გამომშრალ და კოლბაში გადატანილ 2 გ. ნიადაგს ემატება 10 მლ. 5 N HNO_3 . კოლბა შიგთავსით ცხელდება წყლის აბაზანაზე 3 სთ-ის განმავლობაში უკუმაცივრის თანაობისას. ოთახის ტემპერატურამდე გაცივებული ხსნარი იფილტრება წითელ ან თეთრზოლიან ფილტრის ქაღალდზე და ფილტრზე დარჩენილი ნიადაგი ირეცხება გამოხდილი წყლით. ფილტრატის მოცულობა ივსება 50 მლ-მდე გამოხდილი წყლით. მიღებულ ხსნარში მძიმე მეტალების განსაზღვრა ხდება ატომურ-აბსორბციული სპექტრომეტრის გამოყენებით [73- 75].

ფოთლებში მძიმე მეტალების განსაზღვრისათვის თავდაპირველად ხდება მათი საფუძვლიანი გაშრობა მშრალი მინერალიზაციისათვის. 20%-ზე ნაკლები ტენიანობის მქონე მასალა იწონება, თავსდება ქურაზე და ხდება დანახშირება ბოლის გამოყოფის შეწყვეტამდე. დანახშირების შემდეგ წარმოებს დანაცრება ღუმელში 450 °C-ზე. პროცედურის დასრულების შემდეგ მინერალიზაციის დასრულების შემდეგ, როცა ნაცარი მიიღებს თეთრ ან ბაც ნაცრისფერ შეფერილობას, იგი იხსნება HNO_3 -ით შემჟავებულ წყალში, ხდება სასურველ მოცულობამდე მიყვანა და მძიმე მეტალების განსაზღვრა ატომურ აბსორბციული სპექტრომეტრის გამოყენებით.

2.1.2 .ატომურ-აბსორბციული სპექტროფოტომეტრია

სამუშაო ჩატარდა სტუ აგრარული მეცნიერებებისა და ბიოსისტემების

ინჟინერინგის ფაკულტეტზე სურსათის უვნებლობის ლაბორატორიაში, სინჯების შემოწმება მეტალების შემცველობაზე წარმოებდა Buck Model 210VGP ატომურ-აბსორბციულ სპექტროფოტომეტრზე.



სურათი 20. Buck Model 210VGP ატომურ-აბსორბციული სპექტროფოტომეტრი

რეაქტივები მეთოდის შესაბამისად: ქიმიურად სუფთა აზოტმჟავა ; დეიონიზირებული წყალი; ქიმიურად სუფთა აცეტილენი; მეტალთა შემადგენლობის სახელმწიფო სტანდარტული ნიმუშები (ფირმა Perkin Elmer-ის სტანდარტულ ხსნარები).

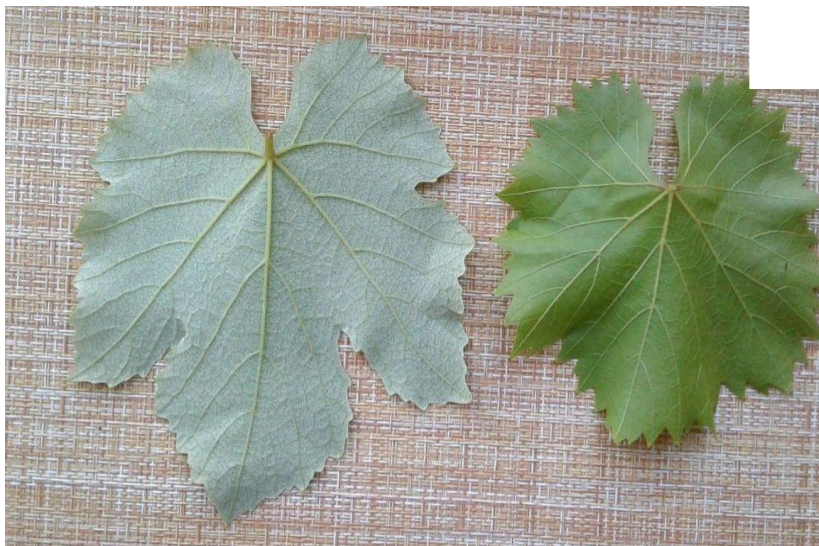
მეტალთა განსაზღვრის ატომურ-აბსორბციული სპექტროფოტომეტრული მეთოდი (აას) დამყარებულია მეტალთა ატომების თვისებებზე არააგზნებულ მდგომარეობაში შთანთქმის გარკვეული სიგრძის სინათლის ტალღა და გამოსხივოს იგი აღგზნებულ მდგომარეობაში. ხსნარში არსებული მეტალების იონები ალში მოხვედრისას გადადიან ატომურ მდგომარეობაში. ამ დროს წარმოქმნილ აეროზოლში განსაზღვრი მეტალები ერთმანეთს ხელს არ უშლიან. სპექტრული ნათურის დაყენება ხდება საძიებელი მეტალის შესაბამისად. ნათურადაც სინათლე გაივლის ალს, ატომური ღრუბელი განათდება და მეტალის ატომები შთანთქმევენ გამოსხივების ნაწილს. ამის შემდეგ სხივი ხვდება მონოქრომატორში-დეტექტორში,

სადაც მოხდება სინათლის იმ ენერგიის გაზომვა, რომელიც შთანთქმა მეტალის ატომებმა ალში. სინათლის შთანთქმის ინტენსივობა დამოკიდებულია ალში არსებული თავისუფალი არაადგზნებული ატომების რიცხვზე ძირითად მდგომარეობაში. შთანთქმული ატომების კონცენტრაციასა და სინათლის სხივის შთანთქმის უნარიანობას შორის დამოკიდებულება გამოისახება ლამბერტ-ბუგერ-ბერის კანონით: $A = Lg(1/T) = Lg(10/I)$ სადაც T არის ალის გამტარობა, $10/I$ – არის დაცემული და გასული გამოსხივების ინტენსივობა. A – შთანთქმული სხივის სიდიდე.

2.2 . პროტეოლიზური აქტივობის მქონე პრეპარატის მიღება

2.2.1 .ნედლეულიდან ფერმენტული ნიმუშების გამოყოფა

ნედლეულად გამოიყენება იზაბელას ფოთოლი(ახალმოკრეფილი, ჩრდილში გამშრალი ან გაყინული). ნედლეული იჭონება, შემდეგ საგულდაგულოდ ქუცმაცდება ექსტრაქტორში ან ფაიფურის როდინში, ემატება 0,1M კალიუმის ფოსფატის ბუფერი (PBS) $pH=7,2$. თანაფარდობით 1/10 (მასა/მოცულობა), გრძელდება ჰომოგენიზაცია თითქმის ერთგვაროვანი მასის მიღებამდე. ნარევი იფილტრება და ცენტრიფუგირდება 3000ბრ/წთ 10 წთ. სუპერნატანტი გროვდება პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრისათვის.



სურათი 21. იზაბელას ფოთლები

2.2.2 . პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრა

აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი დამუშავებულია სამეცნიერო-კვლევით ცენტრში „ბიომედი“ და წარმოადგენს ორიგინალურ პროდუქტს. პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრისათვის სუბსტრატად გამოყენებულია EWMP-მოდულიზირებული კვერცხის ცილა, რომელიც წარმოადგენს ბუფერულ ხსნარში პრაქტიკულად უხსნად კომპლექსს. ამავე დროს, პროტეაზებით დამუშავებისას იგი განიცდის ჰიდროლიზურ გარდაქმნას [76].

30 მგ EWMP სუბსტრატს ემატება 1 მლ. საექსტრაქციო ბუფერი (PBS) და 0,01მლ. ფერმენტული ხსნარი, ფერმენტისა და სუბსტრატის ინკუბაციის მიზნით ნარევი ყოვნდება სანჯღრეველიან წყლის აბაზანაზე 27°C ტემპერატურაზე 20 წთ. ამ დროის გასვლის შემდეგ ნიმუშები რამოდენიმე წუთით გადატანილ უნდა იქნას ყინულში რეაქციის გაჩერების მიზნით. ნიმუშები ცენტრიფუგირდება 1500 ბრ/წთ-ზე .მიღებულ სუპერნატანტებს ემატება 20% ნატრიუმის კარბონატისა და ფოლინ-ჩიკოლტეს რეაგენტი თანაფარდობით 2:5:1 და ნახევარი საათით თავსდება საინკუბაციოდ 37°C-ზე [77].

ოპტიკური მაჩვენებლის განსაზღვრა ხდება UV-VIS სპექტროფოტომეტრის გამოყენებით (პერკინ ელმერი, აშშ) $\lambda=660$ ნმ-ზე ე.წ. reagent-blank-ის წინააღმდეგ. ჩვენს შემთხვევაში, ესაა 30 წთ-ის განმავლობაში ინკუბირებული სუბსტრატის ნიმუში ფერმენტის გარეშე, რათა გამოირიცხოს ფერმენტის შთანთქმის მაჩვენებელი.



სურათი 22. Perkin Elmer lambda EZ150 UV/vis. სპექტროფოტომეტრი

ფერმენტის პროტეოლიზური აქტივობის გამოთვლა ერთეულებში ხდება შემდეგი ფორმულების გამოყენებით :

$$A(U) = \frac{[PR]_{\mu mol} * [V_t]_{ml}}{[R_t]_{min} * [V_m]_{ml}}$$

$$A(U / ml) = \frac{[PR]_{\mu mol} * [V_t]_{ml}}{[R_t]_{min} * [V_m]_{ml} * [V_E]_{ml}} = \frac{A(U)}{[V_E]_{ml}}$$

$$A(U / mg) = \frac{A(U / ml)}{E(mg / ml)}$$

$[PR]_{\mu mol}$ – პროდუქტი მიკრომოლებში

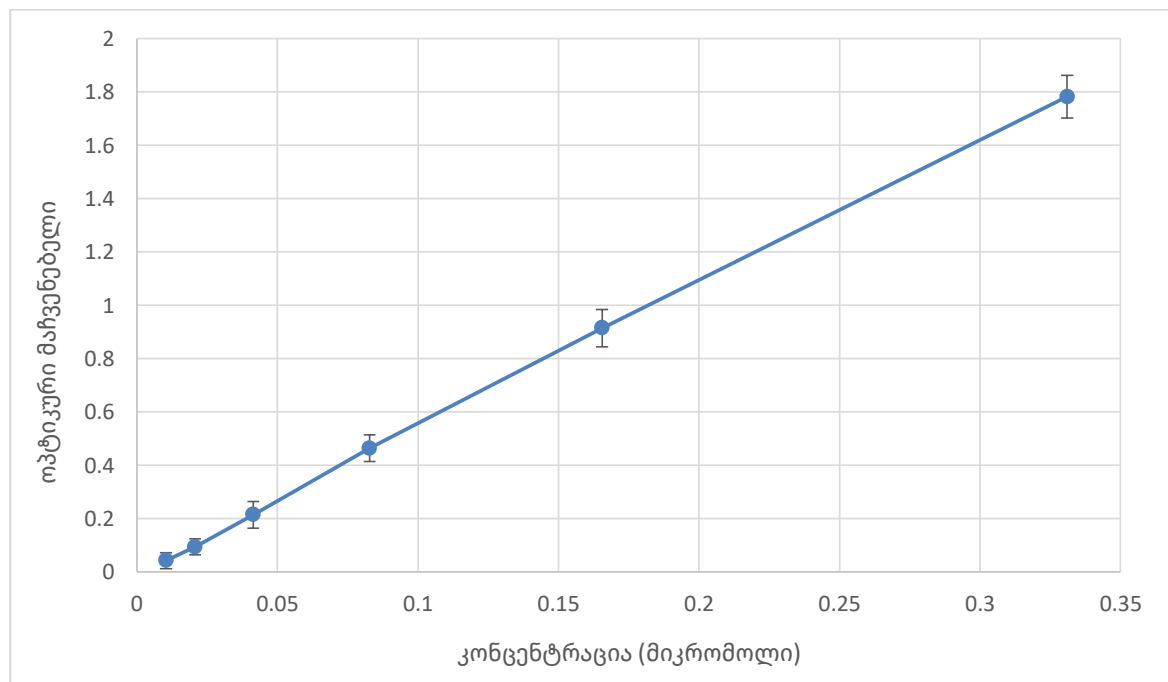
$[V_t]_{ml}$ – რეაქციის საერთო მოცულობა მიკრომოლებში

$[R_t]_{min}$ – რეაქციის დრო წუთებში

$[V_m]_{ml}$ – კოუვეტის საზომი მოცულობა მილილიტრებში

$[V_E]_{ml}$ – ფერმენტის მოცულობა მილილიტრებში

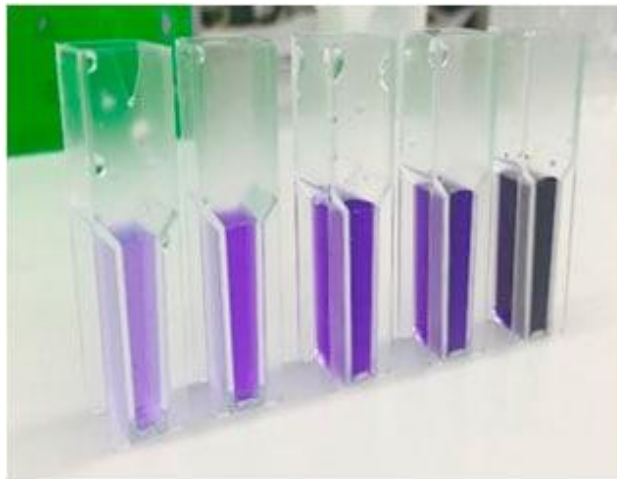
პროტეოლიზური აქტივობის გამოთვლისათვის (ერთეული /მგ) ვხელმძღვანელობთ ზემოთ მოცემული ფორმულებითა და თიროზინის სხვადასხვა კონცენტრაციების მიმართ აგებული საკალიბრო მრუდით (ნახაზი 1).



ნახაზი 1. თიროზინის საკალიბრო მრუდი (Cupp-Enyard, C., 2008)

2.3. ცილის განსაზღვრის მეთოდი

ბიოქიმიური კვლევების დროს ცილის რაოდენობრივი მაჩვენებლის ცვლილების მიხედვით მკვლევარი იღებს მნიშვნელოვან ინფორმაციას მიმდინარე პროცესის დინამიკასა და თუნდაც, ექსპერიმენტის სწორი მსვლელობის ცილის განსაზღვრის სხვადასხვა მეთოდს შორის სიმარტივის, სისწრაფისა და ხელმისაწვდომობის გამო ყველაზე ხშირად იყენებენ სპექტროფოტომეტრულ მეთოდებს-ლოურის, ბრედფორდისა და ბიურეტის მეთოდებს [78-81] .

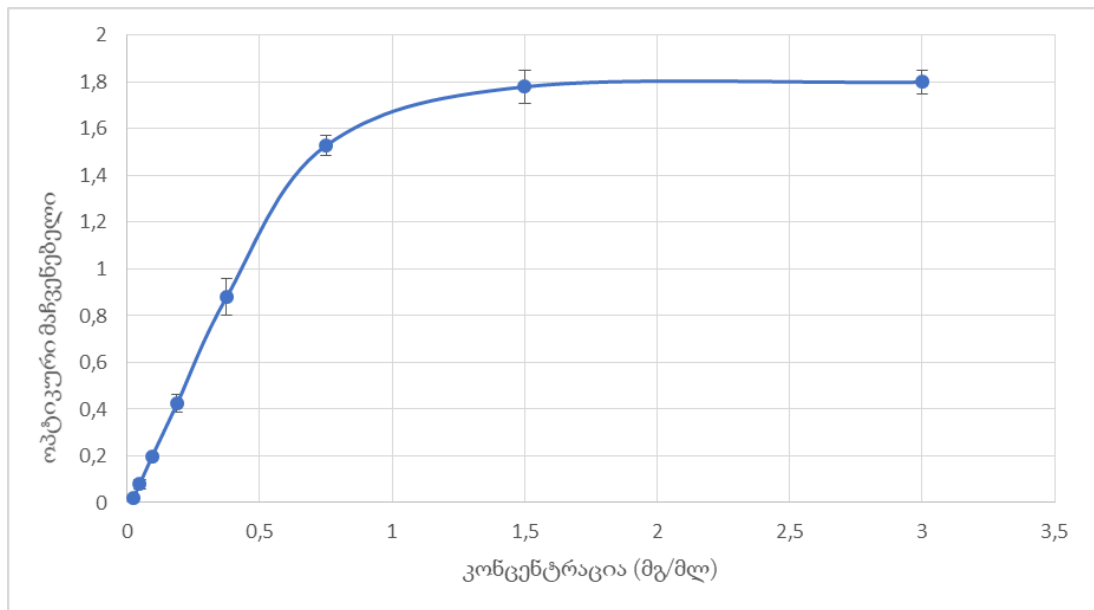


სურათი 23. ცილის განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდი

2.3.1. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ბრედფორდის მეთოდის მიხედვით

საკვლევ მასალაში ამ მეთოდის გამოყენებით ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ემყარება შემჟავებულ გარემოში კუმასი G-250 საღებავთან ცილის მოლეკულების შეკავშირებას, რის შედეგადაც ხდება ხსნარის შეფერილობის ცვლილება ყავისფერიდან ლურჯამდე. ბრედფორდის მეთოდით ნიმუშში ძირითადად იზომება ლიზინი, არგინინი და ჰისტიდინი. ცილის მიერ სინათლის ტალღის შთანთქმის მაჩვენებელი იზომება სპექტრომეტრულად 578-595 ნმ-ზე.

ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრის მიზნით 1 მლ ბრედფორდის რეაქტივს ემატება 100-100 მკლ საკვლევი ხსნარები, სინჯები 10 წუთით ყოვნდება 25° C-ზე და ამ დროის გასვლის შემდეგ სინჯების შთანთქმის მაჩვენებელი იზომება სპექტომეტრზე (578 ნმ) საკონტროლო ხსნარის მიმართ [82].



ნახაზი 2. ცილის სტანდარტული საკალიბრო მრუდი (ხარის შრატის ალბუმინის ბაზაზე)

2.3.2. ცილის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით

ცილის რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდებს შორის ლოურის მეთოდი წარმოადგენს ყველაზე მგრძნობიარე და ზუსტ მეთოდს. იგი აერთიანებს ბიურეტის რეაქციას (ე.ი. რეაქციას პეპტიდურ ბმეებზე) და ფოლინის რეაქციას (თიროზინსა და ტრიფტოფანზე). საჭირო რეაქტივები: რეაქტივი A- NaHCO_3 -ის (უწყლო) 2%-იანი ხსნარი დამზადებული 0.1 M NaOH -ზე), რეაქტივი B- 0.5%-იანი $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ დამზადებული 1 %-იან ნატრიუმის ციტრატზე. ეს ორი რეაქტივი გაზომვის წინ ერევა ერთმანეთს თანაფარდობით 50/1 (რეაქტივი C). 0,5 მლ. საკვლევ ხსნარს ემატება 2,5 მლ. რეაქტივი C, ყოვდება 10 წთ. ოთახის ტემპერატურაზე და შემდეგ ემატება 0,25 მლ. ფოლინის რეაგენტი, ერევა ერთმანეთს და ყოვდება 30 წთ. შთანთქმის მაჩვენებელი იზომება 750 ნმ. სიგრძის ტალღაზე. გაზომვა წარმოებს საკონტროლო ხსნარის მიმართ, რომელსაც ცილის გარდა ყველა კომპონენტი. ფერის ინტენსივობისა და საკალიბრო მრუდის მიხედვით ვსჯელობთ ცილის კონცენტრაციაზე [83] . (ნახაზი 1).

2.4. პროტეაზების ტექნიკური პრეპარატების მიღება

2.4.1. პროტეაზული პრეპარატის მიღება სპირტით გამოლექვით

ფერმენტული პრეპარატის მისაღებად ექსტრაქციის შედეგად მიღებულ

სუპერნატანტს ემატება -15°C -ზე გაცივებული ეთილის სპირტი თანაფართობით 1:4. ხსნარი ერთი საათით თავსდება მაცივარში 2°C -ზე. შემდგომ ხდება ხსნარის ცენტრიფუგირება 6000 ბრ/წთ 20 წთ. ნალექის მიღების მიზნით. მიღებული ნალექი წარმოადგენს ფერმენტულ პრეპარატს, რომელიც შემდგომ შრება ლიოფილური საშრობით ან ინახება საყინულეში.

2.4.2. პროტეაზული პრეპარატის მიღება გამომარილების მეთოდით

ფერმენტული პრეპარატის მიღება ასევე ხორციელდება გამომარილების მეთოდის საშუალებითაც: ექსტრაქციის შედეგად მიღებულ სუპერნატანტს ემატება $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20%, 40%, 60%, 80% -იანი გაჯერებით (ყოველ მომდევნო ფრაქციას წინა ფრაქცია შორდება ცენტრიფუგირების საშუალებით). თითოეული ხსნარი ყოვანდება მაცივარში 4 საათით 2°C -ზე, ცენტრიფუგირების შედეგად (6000 ბრ/წთ 20 წთ) მიღებული ნალექები თავსდება სადიალიზო პარკში და უტარდება დიალიზი მარილების მოცილების მიზნით. მიღებული ფერმენტული პრეპარატი იყინება გამოყენებისათვის ან შრება ლიოფილურად [84].

2.5. გასუფთავებული ფერმენტის ფიზიკური და ქიმიური მახასიათებლების შესწავლა

2.5.1. პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრა გელ-დიფუზიური მეთოდით

გელ-დიფუზიური მეთოდით პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრის მიზნით გამოიყენება აგარის გელში პოლიმერიზებული კაზეინი-რძის მთავარი ცილა. ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია მოხდეს ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა. მისი არსი მდგომარეობს შემდეგში: მოახდენენ კაზეინის, როგორც სუბსტრატის პოლიმერიზებას აგარის გელში. აგარში „ჩაკერებულ“ სუბსტრატზე $\text{CO}-\text{NH}$ პეპტიდური ბმების მქონე მაკრომოლეკულაზე პროტეაზების ზემოქმედებით დაიწყება პეპტიდური ბმების ჰიდროლიზი, რის შედეგადაც მივიღებთ სხვადასხვა ზომის ფრაგმენტებს: პოლიპეპტიდებს, დიპეპტიდებს ან ამინომჟავებს. პროტეოლიზური ფერმენტების მოქმედების შედეგად აგარის გელზე წარმოიქმნება გამჭვირვალე უბნები. მათი ზომის მიხედვით ფასდება ფერმენტის მოქმედების ხარისხი.

საწყის ფერმენტშემცველ ხსნარში და გამოსპირტულ და გამომარილებულ

ფრაქციებში ხდება ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა, შემდგომ ცილები და გელ-დიფუზიური მეთოდით მოწმდება ნიმუშების პროტეაზული აქტივობა. ამ მიზნით ხდება 1 % კაზეინის არჩევა სუბსტრატად მისი „ჩაკერება“-პოლიმერიზება 1 % აგაროზის გელში (პეტრის ფინჯნებში). გელის გამყარების შემდგომ ამოიჭრება 3 მმ. დიამეტრის რგოლები, რომლებშიც ხდება 10 მკლ საკვლევი ხსნარების შეტანა. ნიმუშები საინკუბაციოდ თავსდება თერმოსტატში 37°C-ზე 18 საათით [85].

2.5.2. ელექტროფორეზი

ელექტროფორეზი არის ნიმუშში არსებული ცილების განცალკევების ერთ-ერთი მთავარი მეთოდი. მიმდინარე ელექტროფორეზის უმეტესი ნაწილი არის ნიმუშის გამოყოფა მობილურ ფაზაში იმობილიზებულ გარემოში, რის საშუალებასაც წარმატებით იძლევა პოლიაკრილამიდის გელი. ეს არის ფოროვანი სრტუქტურა, რომლის ფორების ზომა ახლოს არის ცილის მოლეკულების ზომასთან, რაც აუმჯობესებს ცილების გარჩევადობას. გარდა ამისა, პოლიაკრილამიდის გელს აქვს კარგი ქიმიური სტაბილურობა, ძლიერი განმეორებადობა, მდგრადობა pH-ისა და ტემპერატურის ცვლილებების მიმართ და ფერის დაკვირვების შესანიშნავი საშუალება. SDS პოლიაკრილამიდის გელის ელექტროფორეზს (SDS-PAGE) აქვს მარტივი მოქმედების და კარგი განმეორებადობის უპირატესობები ცილის მოლეკულური წონის განსაზღვრასა და სპეციფიკური ცილების გამოვლენაში. პოლიაკრილამიდის გელი შედგება აკრილამიდისა და ჯვარედინ-მაკავშირებელი აგენტ N, N'-მეთილენბისაკრილამიდისაგან კატალიზატორების ამონიუმის პერსულფატის (AP) და N, N, N', N'-ტეტრამეთილეთილენდიამინის (TEMED) მოქმედებით. ესაა სამგანზომილებიანი ქსელის მქონე გელი. PAGE-ს შეუძლია ცილების რამდენიმე ზოლად გამოყოფა მდგრადობის მიხედვით, რომელიც გამოწვეულია ცილის მოლეკულების განსხვავებული მუხტითა და მოლეკულური წონით. SDS არის ანიონური სურფაქტანტი, რომელსაც შეუძლია დაარღვიოს ცილებში წყალბადური და ჰიდროფობური ბმები β-მერკაპტოეთანოლის ან დითიოტრეიტოლის (DTT) თანაობისას, გაერთიანდეს ცილის მოლეკულებთან გარკვეული თანაფარდობით და შექმნას მოკლე კომპოზიტები. სხვადასხვა მოლეკულური მასის ცილების მიერ

წარმოქმნილი კომპლექსის სიგრძე განსხვავებულია. SDS ხელს უწყობს, რომ უარყოფითად დამუხტული ცილებში მოხდეს თავდაპირველი მუხტის რაოდენობრივი გადაჭარბება, რაც ფარავს ბუნებრივ მუხტის განსხვავებას სხვადასხვა ცილის მოლეკულებს შორის. ამრიგად, ელექტროფორეზის დროს სხვადასხვა პროტეინ-SDS კომპლექსების მობილურობაზე აღარ მოქმედებს თავდაპირველი მუხტი და მოლეკულური ფორმა, არამედ დამოკიდებულია მხოლოდ ფარდობით მოლეკულურ მასაზე.

პოლიაკრილამიდის გელი ჩვეულებრივ შედგება ჩატვირთვის გელისგან ზედა ფენაში და გამყოფი გელისგან ქვედა ფენაში. განსხვავება ზედა და ქვედა გელებს შორის არის აკრილამიდის კონცენტრაცია და Tris-HCl-ის pH. ელექტროფორეზის დროს, ელექტრული ველი ვრცელდება გელზე და უარყოფითად დამუხტული ცილები გადადიან გელის გასწვრივ უარყოფითი ელექტროდიდან დადებით ელექტროდზე. ელექტროფორეზის ყველაზე გავრცელებული ბუფერი შედგება ტრისისა და გლიცინისგან. ჩატვირთვის გელში $\text{pH} = 6.8$ და გლიცინის მხოლოდ რამდენიმე მოლეკულა იშლება. ამიტომ, SDS-ით დამუშავებული ცილის მოლეკულები მოძრაობენ ზედა გლიცინის მოლეკულასა და ქვედა Cl^- იონს შორის. ეს პროცესი „კუმშავს“ ცილის ნიმუშს გელში ზოლებად, რომლებიც გაცილებით მცირეა, ვიდრე თავდაპირველად ჩატვირთული მოცულობა. ელექტროფორეზის პროგრესირებასთან ერთად ცილა გადადის გამყოფ გელში ($\text{pH} = 8.8$), სადაც გლიცინის მოლეკულები იშლება. მოძრაობის სიჩქარე იზრდება და აჭარბებს ცილას. გამყოფ გელში თითოეული ცილის მოძრაობის სიჩქარე დამოკიდებულია მის მოლეკულურ მასაზე. მცირე მოლეკულური მასის ცილებს შეუძლიათ ადვილად გაიარონ გელის ფორებში, ხოლო დიდი მოლეკულური მასის მქონე ცილებს უფრო უჭირთ გავლა. გარკვეული პერიოდის შემდეგ, ცილები აღწევენ სხვადასხვა დისტანციას ზომის მიხედვით და აღწევენ ცილების გამოყოფის მიზანს.

SDS-PAGE არის ძირითადი მეთოდი უცნობი ცილების მოლეკულური მასის დასადგენად. ცნობილი მოლეკულური მასის ცილა და უცნობი ნიმუში ერთდროულად ელექტროფორეზირდება. შედეგის შემდეგ, სტანდარტული ცილის ფარდობითი მობილურობისა და მოლეკულური წონის ლოგარითმის მიხედვით, შეიძლება მივიღოთ ზოლი და განვსაზღვროთ უცნობი ნიმუშის მოლეკულური მასა მისი ფარდობითი მობილურობის გამოყენებით [86-89].

2.5.3. ოპტიმალური ტემპერატურისა და pH-ის დადგენა

ფერმენტული პრეპარატისათვის

გასუფთავებული ფერმენტული პრეპარატის მოქმედების ოპტიმალური ტემპერატურის დასადგენად ფერმენტი იხსნება pH=7,2 -ის მქონე 0,1M ფოსფატურ ბუფერში. პროტოლიზური აქტივობა იზომება 25-40° C-ზე, 5° C-ის ინტერვალით. რაც შეეხება ფერმენტების მოქმედების ოპტიმალური pH-ის დადგენას, ამ შემთხვევაში სარეაქციო არეში pH იცვლება pH 5.0-დან – pH 8.0-მდე, 0,5-ის ინტერვალით. ფერმენტის აქტივობა აქტივობები ისაზღვრება ზემოთაღნიშნული პრინციპით [76].

2.6. გლუტენის მიღება

ხორბლის გლუტენური ფრაქციის მისაღებად მზადდება ცომი ,რომელიც საგულდაგულოდ ირეცხება გამდინარე წყალში,ვიდრე არ გაქრება სიმღვრივე. ამ გზით მასალას შორდება ფქვილში შემავალი სახამებელი,სხნადი ცილები და სხვა. მიღებული უხსნადი წებოვანი მასა წარმოადგენს გლუტენურ კომპლექსს. ამგვარად გამოყოფილ გლუტენს ემატება ფერმენტული ხსნარი.



სურათი 24. გლუტენური მასა

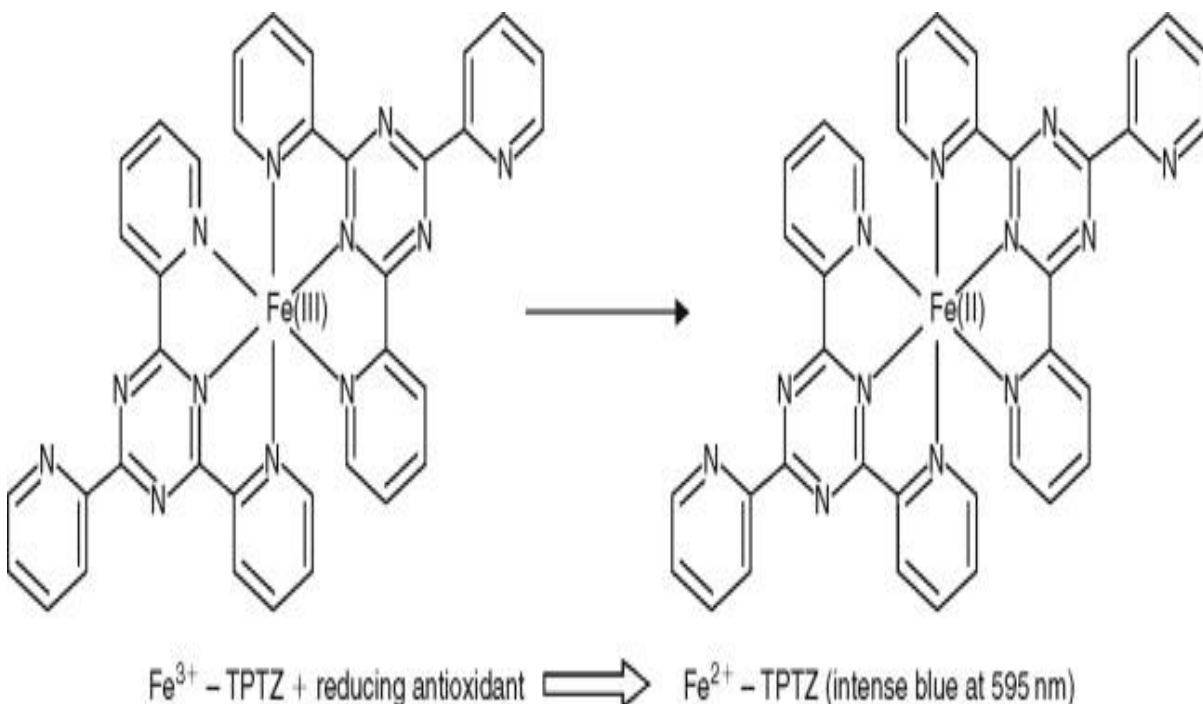
2.7. გლუტენის დაშლა პროტეაზას ზემოქმედებით

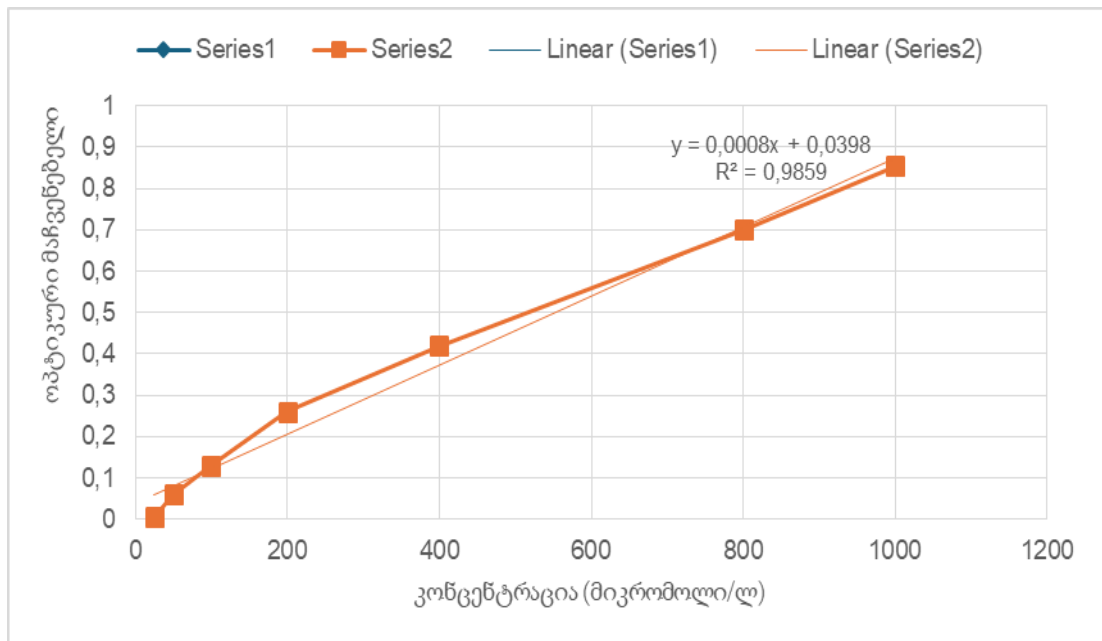
გლუტენის პროტეოლიზური დაშლის მიზნით გლუტენურ კომპლექსს ემატება ფერმენტული ხსნარი თანაფარდობით 1/10 (მასა/მოცულობა) და თავსდება საინკუბაციოდ 27 ° C ტემპერატურაზე. გლუტენის დაშლის ხარისხი ფასდება როგორც თვისობრივად (გლუტენშემცველი სუბსტრატის ზომაში შემცირება,

ელექტროფორეზი), ასევე- რაოდენობრივად (ცილის შემცველობის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით).

2.8. ნიმუშის ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრა FRAP მეთოდით

მეთოდის არსი მდგომარეობს ნიმუშის მიერ რკინის ტრიპირიდილტრიაზინის კომპლექსის ინტენსიური ლურჯი შეფერილობის შემცირებაში მის ფერად ფორმამდე, რითაც იცვლება მისი შთანთქმა. საწყისი ხსნარები მოიცავს 300 mM აცეტატის ბუფერს (3.1 გ $C_2H_3NaO_2 \cdot 3 H_2O$ და 16 მლ $C_2H_4O_2$)- pH 3.6; 10 Mm TPTZ (2,4,6-ტრიპირიდილ-ს-ტრიაზინი) ხსნარი 40 Mm HCl –ში და 20 mM $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ ხსნარი. ახალი სამუშაო ხსნარი მზადდება 25 მლ აცეტატის ბუფერის, 2,5 მლ TPTZ ხსნარის და 2,5 მლ $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ ხსნარის შერევით და თბება 37 °C-ზე გამოყენებამდე. საკვლევ ნიმუშს ემატება სამუშაო ხსნარი 1/10 თანაფარდობით, 5 წთ-იანი დაყოვნების შემდეგ შთანთქმის მაჩვენებელი ისაზღვრება $\lambda=595$ ნმ. სიგრძის ტალღაზე. საკონტროლოდ გამოიყენება სამუშაო ხსნარი, შესადარებლად კი რკინის სულფატი, მონაცემები ისაზღვრება მლ-ში (რკინის სულფატის ეკვივალენტი 1 მლ-ში) [90].





ნახაზი 3. FRAP-მეთოდით ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის საკალიბრო მრუდი

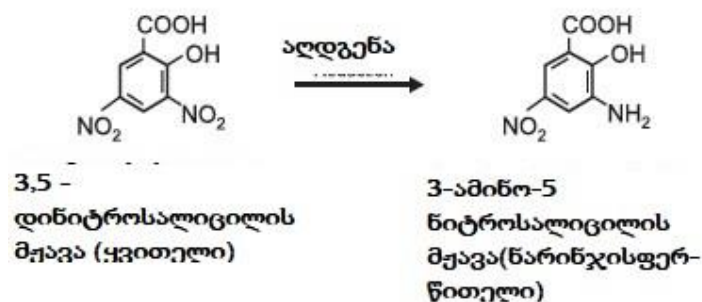
2.9. ფენოლური ნაერთების ჯამური შემცველობის განსაზღვრა ფოლინ-ჩიკოლტეს ანალიზის გამოყენებით

მცენარეული ფენოლები, მათ შორის მარტივი ფენოლები, ფენოლის მჟავები, ფლავონოიდები, კუმარინები, სტილბენები, ტანინები, ლიგნანები და ლიგნინები ყველაზე მრავალრიცხოვანი მეორადი მეტაბოლიტებია, რომლებიც წარმოიქმნება L-ფენილალანინიდან და L-თიროზინიდან. ფენოლური ნაერთები პირდაპირ უზრუნველყოფენ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, რადგან ისინი კარგი ელექტრონების დონორები არიან მათი ჰიდროქსილის ჯგუფების გამო. გარდა ამისა, ზოგიერთი მათგანი ასტიმულირებს უჯრედში ენდოგენური ანტიოქსიდანტური მოლეკულების სინთეზს.

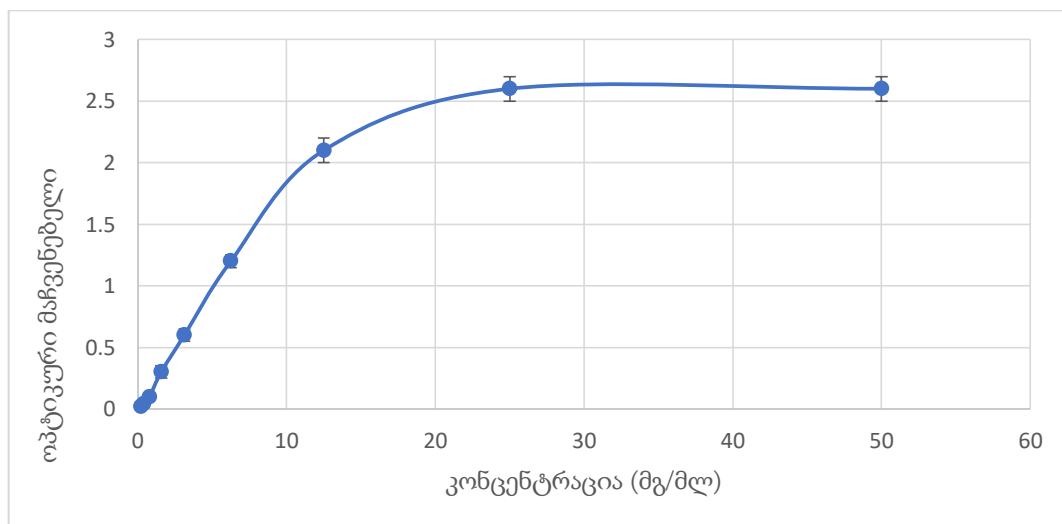
აღნიშნული მეთოდი ეფუძნება ტუტე გარემოში ფოლინ-ჩიკოლტეს რეაგენტის ურთიერთქმედებისას ფენოლებთან ლურჯი შეფერილობის გამოვლენას. ფერის ინტენსივობის ცვლილება იზომება სპექტროფოტომეტრულად $\lambda=660$ ნმ. სიგრძის ტალღაზე. ფენოლის შემცველობა ისაზღვრება თიროზინის სტანდარტული მრუდის საფუძველზე (იხ. გრაფიკი 1). მთლიანი ფენოლის შემცველობა გამოიხატება მგ თიროზინის ეკვივალენტი /გრ მშრალი ნივთიერება [91].

2.10. საერთო შაქრების განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით

მეთოდი ეფუძნება შაქრების მიერ 3,5- დინიტროსალიცილის მჟავას აღდგენის უნარს, რომელიც ტუტე ხსნარში აღდგება 3-ამინო-5-ნიტროსალიცილის მჟავამდე. საერთო შაქრების განსაზღვრა წარმოებს DNS-ის მეთოდით. [92] .



ნიმუშის 0,5 მლ-ს, ხოლო საკონტროლო სინჯარაში გამოხდილი წყლის 0,5 მლ-ს ემატება 1 მლ. DNS- რეაგენტი. სინჯები ყოვნდება მდულარე წყლის აბაზანაზე 5 წთ-ით, გრილდება ოთახის ტემპერატურამდე და იზომება სპექტოფოტომეტრზე $\lambda=540$ ნმ სიგრძის ტალღაზე საკონტროლო ხსნარის მიმართ. საერთო ნახშირწყლების კონცენტრაციის განსაზღვრა ხდება გლუკოზის სტანდარტული ხსნარებით აგებულ საკალიბრო მრუდის მეშვეობით. (ნახაზი 4)

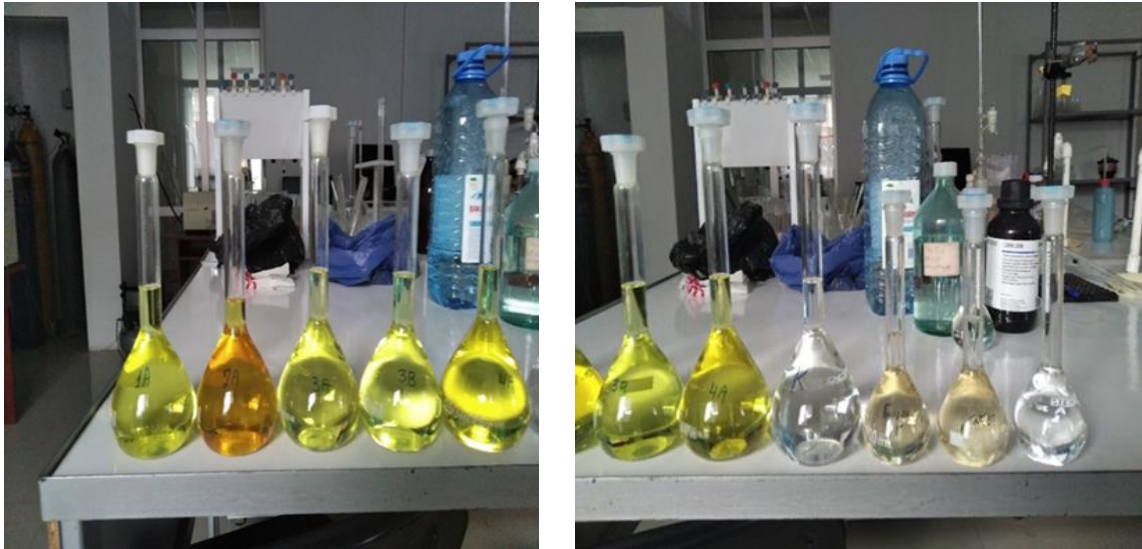


ნახაზი 4. გლუკოზის სტანდარტული საკალიბრო მრუდი

3. შედეგები და მათი განსჯა

3.1. მძიმე მეტალებისა და მინერალური ნივთიერებების შემცველობის საკვლევი ხსნარების მიღება

მძიმე მეტალებისა და ზოგიერთი მინერალური ნივთიერების შემცველობის კვლევის მიზნით შესაბამისი მეთოდის მიხედვით განხორციელდა საკვლევი ხსნარების მიღება.



სურათი 25. ნიმუშები მინერალიზაციის შემდეგ

3.1.1. მძიმე მეტალებისა და მინერალური ნივთიერებების შემცველობის განსაზღვრა საკვლევი ხსნარებში

დეიონიზებულ წყალზე დამზადებული სხვადასხვა ლითონის სხვადასხვა კონცენტრაციის საკალიბრო ხსნარებით ვზომავთ შთანთქმის მაჩვენებელს და ვქმნით მათემატიკურ მოდელს, სხვადასხვა მეტალისათვის შეირჩევა შესაბამისი ნატურა, შთანთქმის ტალღისა და ხელსაწყოს სამუშაო რეჟიმის განსაზღვრა ხდება საექსპლუატაციო სახელმძღვანელოს მიხედვით. ატომიზატორის დაყენება და სიზუსტის დაცვა ხდება ხელსაწყოს კომპიუტერული პროგრამული უზრუნველყოფის შესაბამისად [93].

ქვემოთ წარმოდგენილი ცხრილები გვიჩვენებს საკალიბრო ხსნარების სხვადასხვა კონცენტრაციაზე შთანთქმის მაჩვენებელს.

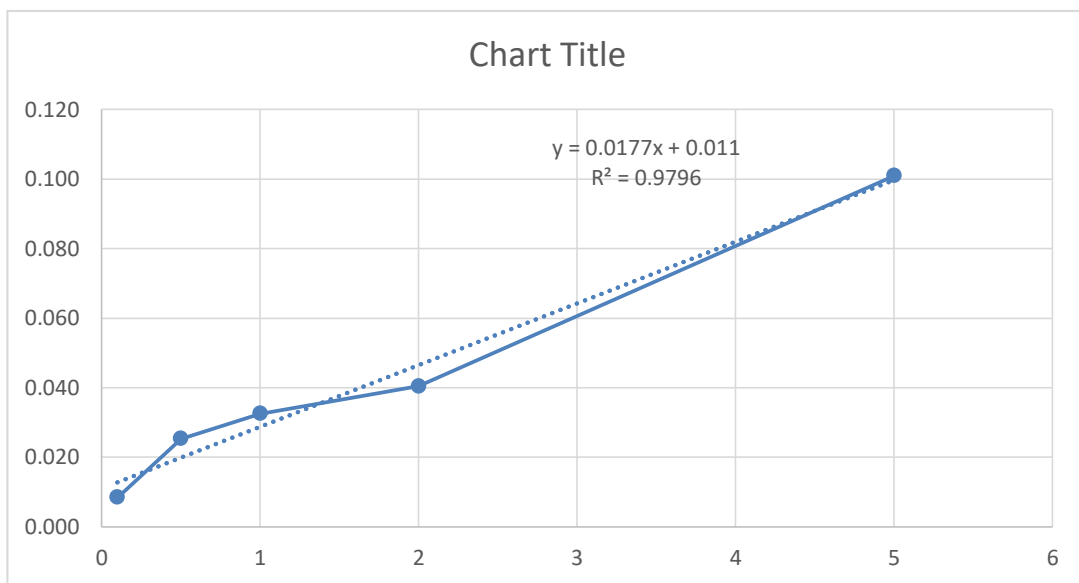
გრაფიკებზე ჰორიზონტალურ ღერძზე მოცემულია ხსნარის კონცენტრაცია, ხოლო ორდინატა ღერძზე-შთანთქმის მაჩვენებელი.

ზ.დ.კ. –ზედა დასაშვები კონცენტრაცია-ის ზღვრული კონცენტრაცია, რომლის დროსაც ნივთიერება არ ახდენს პირდაპირ ან არაპირდაპირ მოქმედებას მოსახლეობის ჯანმრთელობის მდგომარეობაზე ორგანიზმზე მთელი ცხოვრების მანძილზე მოქმედებისას.

*Cd-ის ნიმუშების ცხრილი არაა წარმოდგენილი, რადგან შთანთქმის მაჩვენებელი სტანდარტებზე დაბალი იყო.

ცხრილი 2. კადმიუმის შთანთქმის ცვლილება $\lambda=228,8$ ნმ

0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	2 ppm	5 ppm			
						0.1	0.008
0.006	0.023	0.030	0.046	0.133		0.500	0.025
0.007	0.022	0.031	0.049	0.087		1.000	0.033
0.008	0.021	0.030	0.043	0.097		2.000	0.040
0.007	0.021	0.029	0.042	0.107		5.000	0.101
0.010	0.022	0.032	0.039	0.098			
0.003	0.025	0.033	0.031	0.105			
0.006	0.021	0.031	0.040	0.098			
0.004	0.023	0.034	0.043	0.092			
0.006	0.027	0.033	0.035	0.100			
0.007	0.024	0.030	0.036	0.107			
0.012	0.029	0.032	0.044	0.109			
0.006	0.028	0.033	0.045	0.104			
0.007	0.026	0.032	0.039	0.100			
0.014	0.027	0.031	0.037	0.093			
0.008	0.024	0.030	0.044	0.092			
0.006	0.029	0.034	0.045	0.103			
0.010	0.028	0.035	0.037	0.086			
0.011	0.026	0.037	0.032	0.090			
0.013	0.027	0.032	0.030	0.103			
0.014	0.029	0.032	0.045	0.101			
0.013	0.028	0.043	0.040	0.098			
0.011	0.026	0.034	0.048	0.107			
0.005	0.027	0.030	0.040	0.111			
0.008	0.025	0.033	0.040	0.101			



ნახაზი 5. კადმიუმის შთანთქმის მაჩვენებელი

ცხრილი. 3. თუთიის შთანთქმის ცვლილება $\lambda=213,9$ ნმ

0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm
0.003	0.015	0.031	0.268	0.946	1.050
0.004	0.014	0.032	0.286	0.956	1.051
0.002	0.015	0.033	0.270	0.961	1.047
0.003	0.016	0.032	0.284	0.937	1.062
0.004	0.017	0.033	0.294	0.944	1.072
0.003	0.016	0.032	0.292	0.939	1.062
0.004	0.015	0.034	0.289	0.935	1.064
0.005	0.016	0.032	0.301	0.926	1.058
0.006	0.015	0.030	0.298	0.934	1.065
0.007	0.018	0.030	0.283	0.943	1.070
0.004	0.017	0.031	0.285	0.953	1.061
0.003	0.015	0.033	0.293	0.960	1.050
0.006	0.016	0.031	0.306	0.951	1.051
0.008	0.015	0.030	0.293	0.956	1.056

0.015714 0.031714 0.288714 0.9457857 1.0585

0.004429

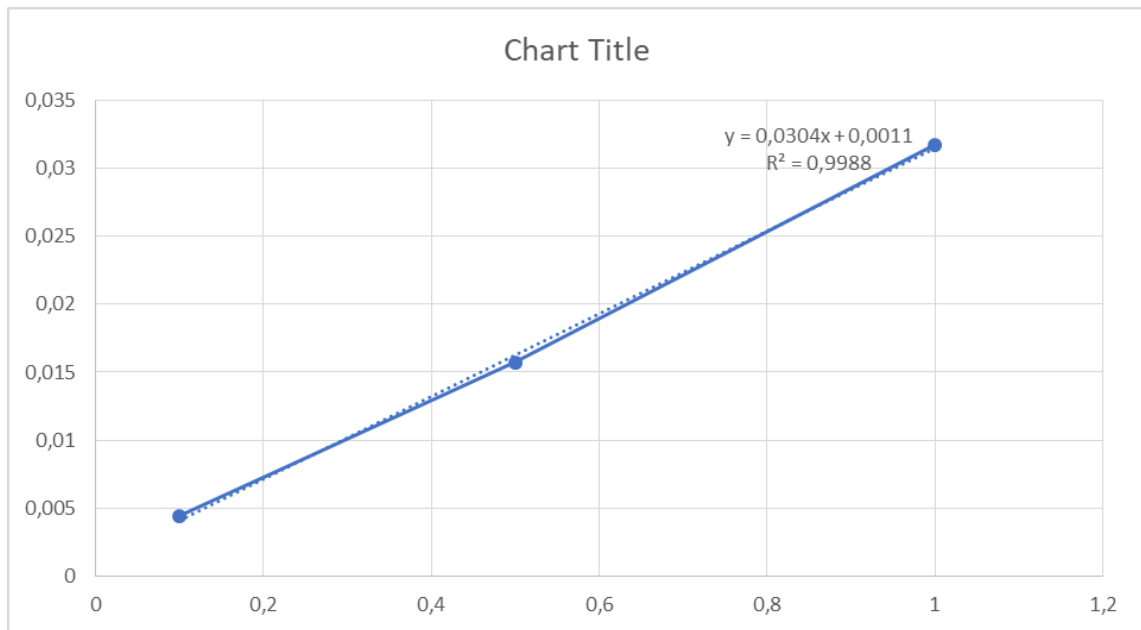
საშუალო

სტდ.

გადახრა	0.001742	0.001069	0.001267	0.010622	0.0107502	0.007911
%	39.32513	6.803013	3.993933	3.679205	1.136638	0.747337

1a	1b	2a	2b	3a	3b	Blank
0.008	0.012	0.006	0.011	0.02	0.015	0.008
0.009	0.01	0.007	0.01	0.018	0.013	0.009
0.007	0.007	0.004	0.008	0.02	0.014	0.01
0.005	0.008	0.005	0.009	0.019	0.016	0.008
0.009	0.01	0.01	0.01	0.02	0.017	0.009
0.012	0.012	0.011	0.012	0.018	0.02	0.01
0.008	0.012	0.01	0.013	0.019	0.02	0.008
0.01	0.011	0.011	0.014	0.02	0.018	0.009
0.011	0.013	0.008	0.012	0.021	0.017	0.011
0.009	0.013	0.008	0.013	0.018	0.016	0.01
0.008	0.014	0.011	0.014	0.02	0.016	0.012
0.007	0.01	0.009	0.013	0.019	0.019	0.018
0.008	0.009	0.007	0.014	0.022	0.019	0.009
0.009	0.01	0.008	0.015	0.02	0.016	0.013
0.011	0.008	0.007	0.012	0.0222	0.015	0.012
0.012	0.01	0.007	0.011	0.02	0.016	0.012
0.012	0.009	0.006	0.013	0.02	0.016	0.013
0.008	0.012	0.008	0.011	0.018	0.015	0.013
0.009	0.011	0.007	0.011	0.019	0.016	0.01

A	-0.00165	-0.0002	-0.0028	0.0013	0.00906	0.00595	0.0106
ppm	-0.09046	-0.04276	-0.12829	0.0065789	0.261842	0.159539	0.3125
გ/100გ				0.0000329	0.0013	0.000798	



ნახაზი 6. თუთიის შთანთქმის მაჩვენებელი

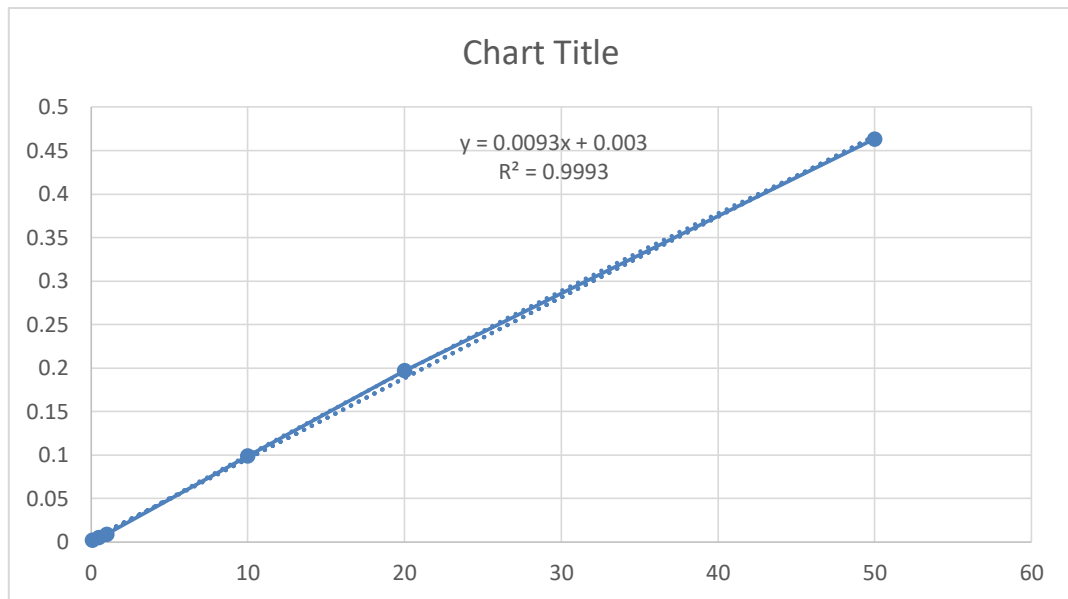
ცხრილი 4. სპილენძის შთანთქმის ცვლილება $\lambda=324,7$ ნმ

0.1 ppm	0.5 ppm	1 ppm	10 ppm	20 ppm	50 ppm
0.002	0.004	0.009	0.1	0.181	0.454
0.003	0.006	0.011	0.101	0.203	0.49
0.002	0.007	0.01	0.091	0.22	0.428
0.003	0.005	0.009	0.098	0.2	0.431
0.001	0.007	0.007	0.099	0.206	0.468
0.002	0.004	0.009	0.094	0.202	0.474
0.002	0.005	0.007	0.106	0.196	0.486
0.003	0.006	0.009	0.097	0.202	0.48
0.004	0.007	0.011	0.101	0.185	0.483
0.003	0.005	0.01	0.091	0.198	0.461
0.002	0.006	0.009	0.1	0.173	0.446
0.002	0.004	0.006	0.1	0.182	0.452
0.003	0.005	0.008	0.103	0.186	0.436
0.001	0.002	0.009	0.092	0.197	0.455
0.002	0.005	0.01	0.11	0.21	0.468
0.003	0.004	0.01	0.106	0.2	0.484
0.002	0.006	0.009	0.092	0.205	0.479

საშუალო	0.002353	0.005176	0.009	0.098882	0.196824	0.463235
სტდ.						
გადახრა	0.000786	0.001334	0.001369	0.0056	0.011912	0.019923
%	33.40097	25.76941	15.21452	5.663322	6.052307	4.300921

1a	1b	2a	2b	3a	3b	blank
0.003	0.001	0.001	0.003	0.002	0.002	0.002
0.004	0.001	0.000	0.002	0.004	0.005	0.000
0.003	0.003	0.000	0.001	0.005	0.004	0.003
0.004	0.001	0.000	0.003	0.006	0.005	0.001
0.003	0.002	0.000	0.002	0.003	0.007	0.002
0.002	0.001	0.002	0.003	0.002	0.006	0.002
0.003	0.002	0.004	0.004	0.004	0.002	0.001
0.001	0.003	0.003	0.003	0.002	0.004	0.003
0.002	0.001	0.001	0.004	0.004	0.007	0.002
0.004	0.001	0.001	0.003	0.005	0.005	0.003
0.002	0.001	0.000	0.001	0.002	0.006	0.000
0.006	0.002	0.001	0.002	0.002	0.005	0.003
0.003	0.000	0.000	0.002	0.001	0.006	0.003
0.003	0.001	0.001	0.001	0.002	0.003	0.001
0.004	0.000	0.000	0.001	0.005	0.004	0.000
0.004	0.001	0.001	0.003	0.004	0.004	0.001
0.006	0.001	0.002	0.004	0.002	0.005	0.000
0.003	0.002	0.001	0.002	0.003	0.005	0.000
0.005	0.001	0.003	0.002	0.003	0.006	

A	0.0019	-0.00015	-0.00035	0.001	0.00165	0.00335	0.0015
ppm	-0.11828	-0.33871	-0.36022	-0.21505	-0.14516	0.037634	-0.16129
g/100g						0.000188	



ნახაზი 7. სპილენძის შთანთქმის მაჩვენებელი

ცხრილი 5. ტყვიის შთანთქმის ცვლილება $\lambda=283,258$

	1 ppm	5 ppm	10 ppm	20 ppm	50 ppm
	0.003	0.003	0.007	0.013	0.037
	0.002	0.002	0.006	0.016	0.037
	0.002	0.003	0.006	0.01	0.039
	0.001	0.004	0.007	0.011	0.038
	0.002	0.003	0.006	0.015	0.035
	0.002	0.003	0.007	0.017	0.034
	0.001	0.004	0.007	0.014	0.036
	0.003	0.004	0.008	0.017	0.034
	0.001	0.003	0.006	0.016	0.034
	0.001	0.002	0.007	0.01	0.035
	0.005	0.004	0.006	0.008	0.033
	0.003	0.005	0.007	0.009	0.036
	0.000	0.006	0.008	0.009	0.037
	0.004	0.007	0.006	0.01	0.035

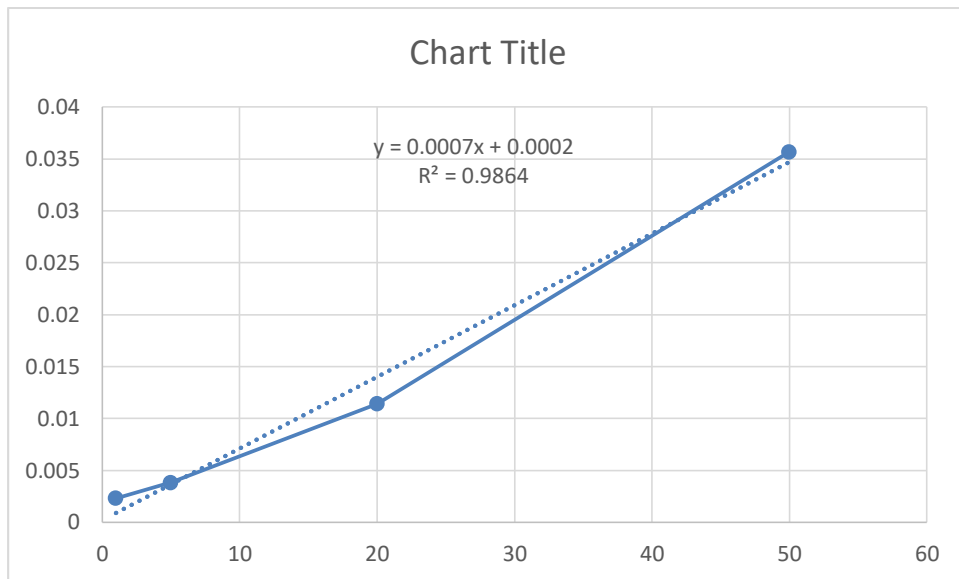
	0.002	0.006	0.007	0.009	0.034
	0.001	0.005	0.006	0.007	0.036
	0.002	0.004	0.008	0.008	0.038
	0.005	0.003	0.008	0.008	0.036
	0.004	0.002	0.008	0.01	0.034
საშუალო	0.002316	0.003842	0.010211	0.011421	0.035684

სტდ.

გადახრა	0.001416	0.001425	0.014501	0.003388	0.001668
%	61.15753	37.07639	142.0227	29.66579	4.675514

	1a	1b	2a	2b	3a	3b	Blank
	0.005	0.003	0.001	0.005	0.002	0.007	0.002
	0.004	0.004	0.004	0.004	0.002	0.006	0.004
	0.001	0.005	0.008	0.004	0.003	0.005	0.005
	0.006	0.007	0.002	0.002	0.003	0.003	0.000
	0.008	0.006	0.002	0.003	0.001	0.005	0.000
	0.005	0.008	0.001	0.005	0.006	0.007	0.000
	0.003	0.005	0.006	0.008	0.007	0.011	0.000
	0.004	0.006	0.006	0.007	0.009	0.008	0.000
	0.002	0.006	0.008	0.004	0.003	0.010	0.000
	0.004	0.003	0.002	0.004	0.003	0.007	0.000
	0.005	0.001	0.003	0.003	0.004	0.006	0.000
	0.007	0.002	0.006	0.003	0.006	0.012	0.000
	0.002	0.003	0.008	0.002	0.007	0.012	0.001
	0.003	0.010	0.005	0.003	0.010	0.013	0.001
	0.006	0.011	0.009	0.003	0.012	0.014	0.000

A	0.003412	0.004941	0.004294	0.002941	0.004353	0.007235	0.000765
ppm	2.016807	4.201681	3.277311	1.344538	3.361345	7.478992	-1.76471
g/100g	0.01008	0.021008	0.016387	0.006723	0.016807	0.037395	-



ნახაზი 8. ტყვიის შთანთქმის მაჩვენებელი

შეჯამებული სახით მძიმე მეტალების შემცველობის ამსახველ ცხრილს მიეცა შემდეგი სახე:

ცხრილი 6. მძიმე მეტალების კონცენტრაცია იზაბელას ფოთლების ნიმუშებში

მეტალი	ზ.დ.კ.მგ/კგ	მიღებული შედეგი მგ/კგ
სპილენძი	3,0	< 0,00188
თუთია	23	< 0,00798
ტყვია	6,0	< 0,00373
კადმიუმი	0,15	---

როგორც ლიტერატურიდან ცნობილია, ვაზის ფოთლები და ნაყოფები მდიდარია მაკრო და მიკროელემენტებით, რაც ესოდენ მნიშვნელოვანია ადამიანის ჯანმრთელობისათვის.[94]

პირველადი მონაცემებით, სინჯში შევამოწმეთ შემდეგი მეტალების შემცველობა

ცხრილი 7. ზოგიერთი მინერალის შემცველობა იზაბელას ფოთლის ექსტრაქტში

მეტალი	ტალლის სიგრძე ნმ.	შეიცავს/არ შეიცავს
რკინა	248,3	+
კალციუმი	422,7	+
მაგნიუმი	285,2	+
კალიუმი	766,5	+
ნატრიუმი	589,0	+
მანგანუმი	285,3	-
ვერცხლისწყალი	253,7	-
ვერცხლი	328,1	-
ნიკელი	232,0	-
კალა	286,3	-
ქრომი	425,5	-

3.2. პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა იზაბელას ფოთლებიდან მიღებულ ექსტრაქტში

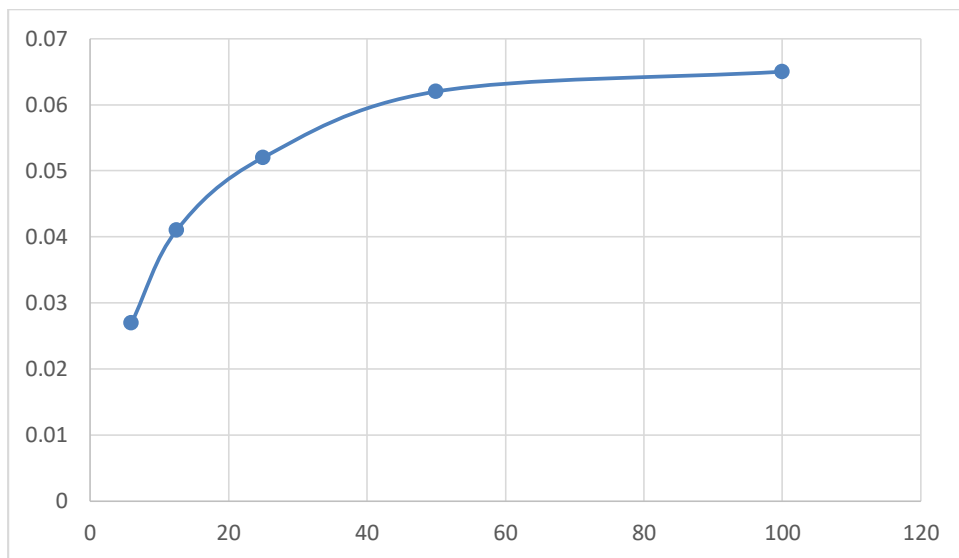
იზაბელას ფოთლებისდან მიღებული ფერმენტის პროტეოლიზური აქტივობის შემოწმების მიზნით გამოყენებულ იქნა EWMP- სუბსტრატი, რომელსაც ახასიათებს მაღალი მდგრადობა-პრაქტიკულად უხსნადი რჩება 30 წთ-ის განმავლობაში, რაც საკმარისია პროტეაზული აქტივობის გაზომვისათვის. მასში ცილის რაოდენობა თიროზინზე გადათვლით 30 წთ-ში შეადგენს 0.0057 მიკრომოლს, რაც იმდენად დაბალი მაჩვენებელია, რომ შესაძლოა მივიჩნიოთ ნულოვან წერტილად ფერმენტული აქტივობის გაზომვისას. [95,96]

იზაბელას ფოთლებიდან ზემოთაღწერილი მეთოდით მიღებულ ექსტრაქტში მოხდა პროტეაზული აქტივობის გაზომვა. შედეგები მოცემულია ცხრილში:

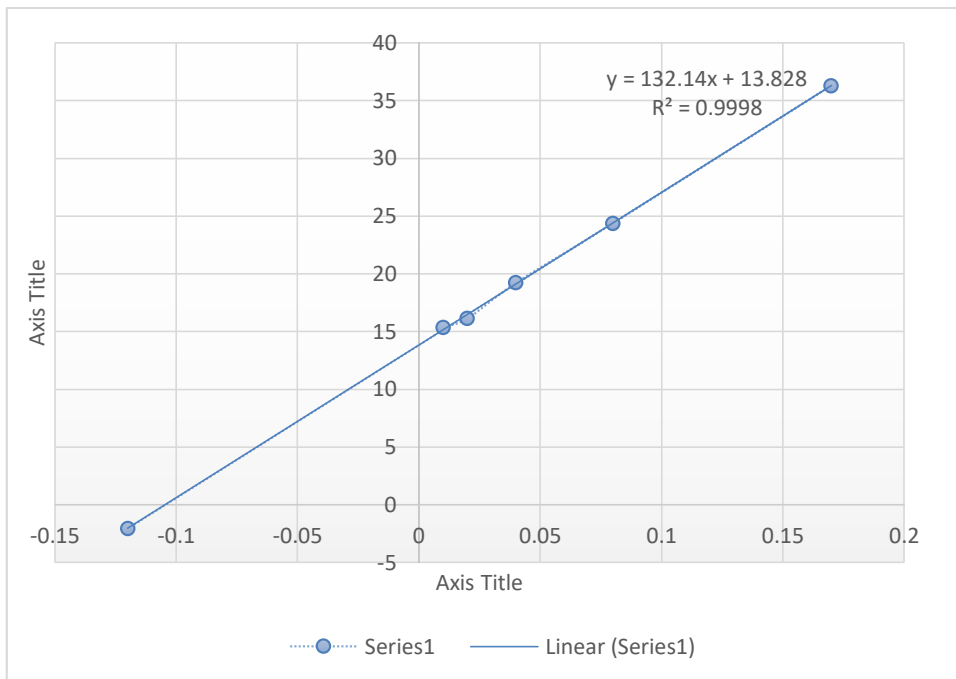
ცხრილი 8. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას პარამეტრები

ფერმენტის წყარო	A U/100	ცილა მგ/მლ	U/მლ	Total U/მლ* მოცულობა	U/mg	მგ.ცილა/ჯამური ცილა	ჯამური აქტივობა
იზაბელას ფოთლები	0.00285	0.043	0.143	25.65	0.33	77.4	25.65

ბრედორდის მეთოდით გაზომილი ცილის საკალიბრო მრუდის მიხედვით გამოთვლილი გვაქვს კოეფიციენტი, რომელიც აკავშირებს შთანთქმის მაჩვენებელსა და ცილის რაოდენობას მგ/მლ. (OD 1,52-0,75მგ/მლ).



ნახაზი 9. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტული აქტივობა

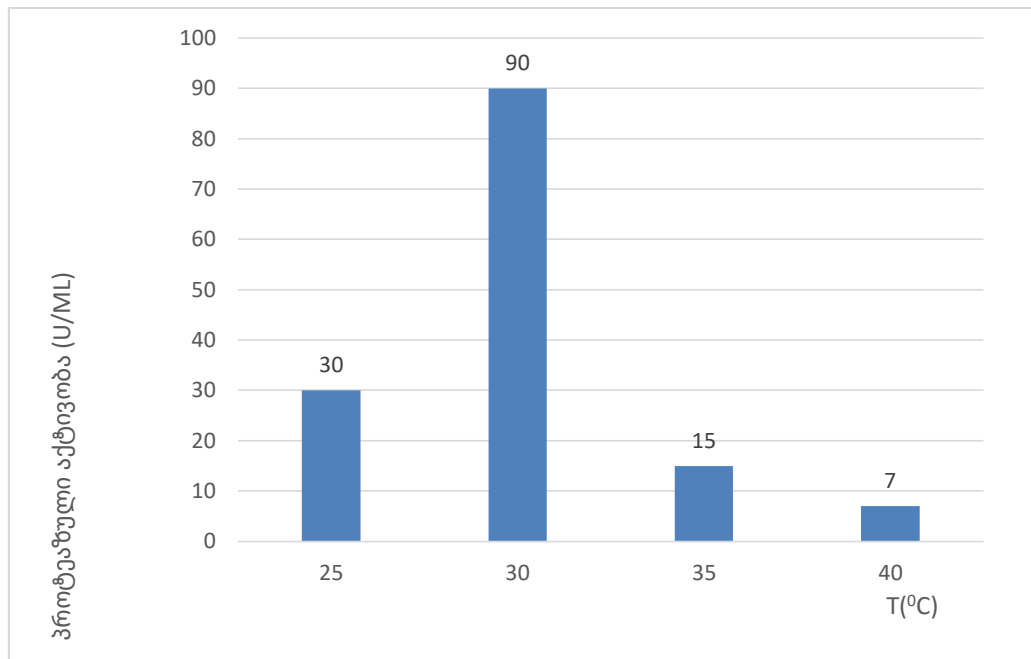


ნახაზი 10. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტული აქტივობა-K_m

როგორც ცხრილიდან და გრაფიკებიდან ჩანს, იზაბელას ფოთლის ექსტრაქტში არის მაღალი პროტეოლიზური აქტივობის მქონე ფერმენტი.

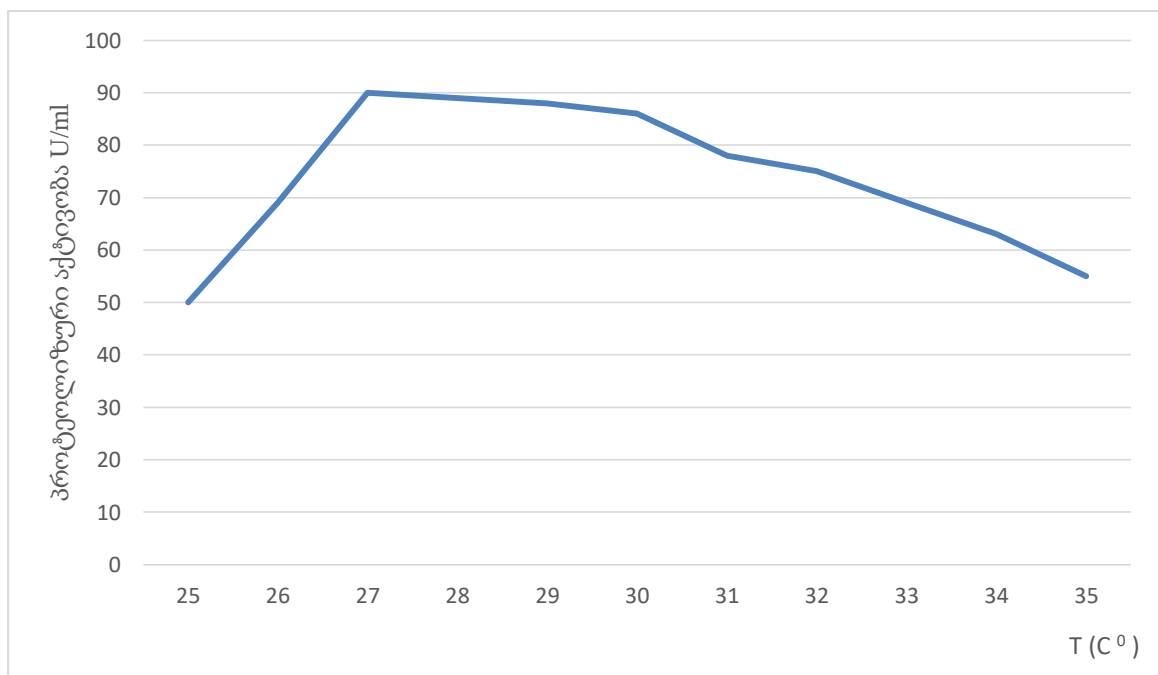
3.2.1. ტემპერატურისა და pH- ოპტიუმის დადგენა იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტისათვის

ტემპერატურის ცვლილება მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ფერმენტულ აქტივობაზე. ამ მიზნით შესწავლილ იქნა იზაბელას ფერმენტის პროტეოლიზური აქტივობის ცვლილება ტემპერატურულ დიაპაზონში 25°C-40°C-ზე, 5°C-ის ინტერვალით. შედეგები წარმოდგენილია დიაგრამაზე.



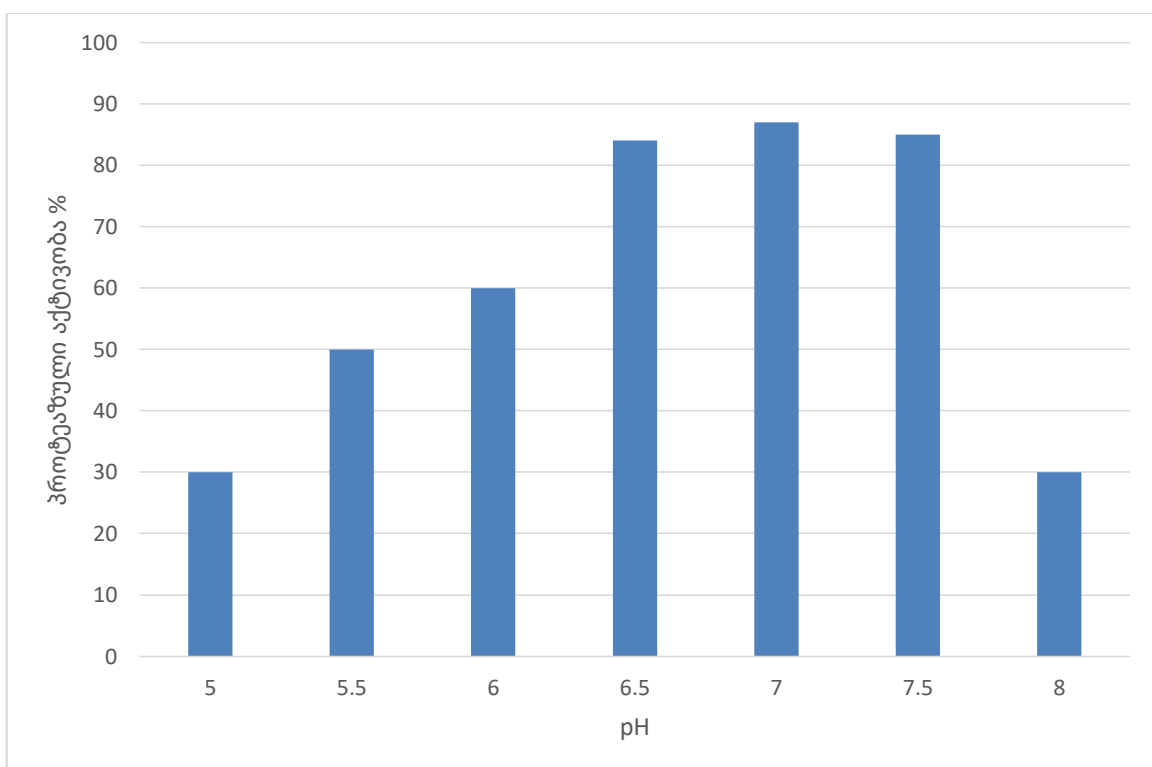
დიაგრამა 3. ტემპერატურის გავლენა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტულ აქტივობაზე

25-35° C დიაპაზონში 1° C-იანი ცვლილებებით დადგინდა, რომ ფერმენტი თავის მაქსიმალურ აქტივობას ავლენს 27° C-ზე. (ნახაზი 11).



ნახაზი 11. ტემპერატურის გავლენა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას აქტივობაზე

pH წარმოადგენს იმ უმნიშვნელოვანეს პარამეტრს, რომელსაც გადამწყვეტი როლი ენიჭება ფერმენტების აქტივობაში, აგრეთვე უჯრედული რეაქციების მახასიათებლების განსაზღვრაში. ექსპერიმენტის მომდევნო ეტაპზე შესწავლილ იქნა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილება pH =5-დან pH =8.0-მდე საზღვრებში. როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს, პროტეაზას მაქსიმალური აქტივობა ვლინდება pH 6.5-7,5 დიაპაზონში, რაც საშუალებას გვაძლევს, რომ იზაბელას პროტეაზა გამოვიყენოთ შედარებით დაბალი pH-ის მქონე გარემოშიც. (დიაგრამა 3).



დიაგრამა 4. pH - ის გავლენა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ფერმენტულ აქტივობაზე

3.3. იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის სამუშაო პრეპარატის მიღება

იზაბელას ფოთლის პროტეაზას სამუშაო პრეპარატის მიღების მიზნით ჩატარდა ექსტრაქტში ცილების გამოლექვა $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ის სხვადასხვა პროცენტული გაჯერებით. (იხ.ცხრილი 9). ცხრილში მოცემული მაჩვენებლები ასახავს ამონიუმის სულფატით შესაბამის გაჯერებებს. სამუშაო პრეპარატის მიღების პროცესში

გამომარილებით მიღებული ფრაქციებიდან ყველაზე მაღალი ფერმენტული აქტივობა აჩვენა $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ის 40% გაჯერებისას ($2.01 \pm 0.15 \text{ U/mg}$) მიღებულმა ნიმუშმა, თუმცა დიალიზის შემდეგ აქტივობა თითქმის აღარ შეინიშნებოდა. სამაგიეროდ, ფერმენტული აქტივობა ნარჩუნდებოდა ცილის ყინულოვანი ეთანოლით 1:4 თანაფარდობით გამოლექვის შემთხვევაში .

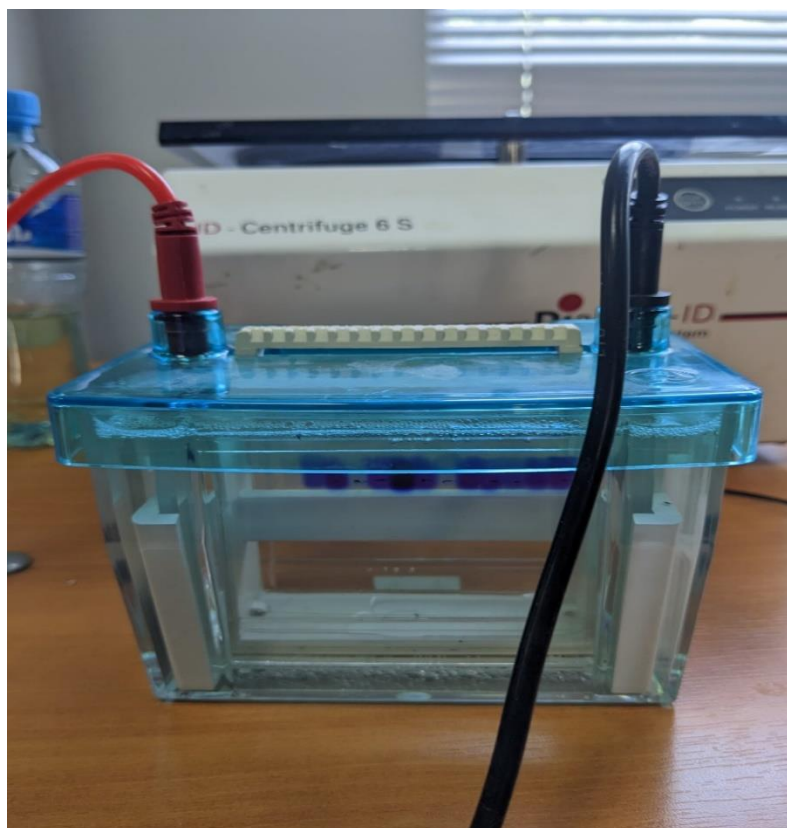
ცხრილი 9. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას პრეპარატის მიღების ეტაპები. (მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით $\pm$ სტანდარტული გადახრა , $p < 0.05$)

გაწმენდის ეტაპები	პროტეაზური აქტივობა (U/ml)	ჯამური პროტეაზური აქტივობა (U)	ცილა (mg/ml)	ხვედრითი აქტივობა (U/mg)
ექსტრაქტი	0.27 ± 0.01	135 ± 7	2.5 ± 0.1	0.67 ± 0.012
ამონიუმის სულფატის ფრაქციები				
20%	0.085 ± 0.0012	4.25 ± 0.18	0.7 ± 0.012	0.06 ± 0.001
40%	1.68 ± 0.10	84 ± 3.01	1 ± 0.1	2.01 ± 0.15
60%	0.97 ± 0.08	48.5 ± 2.5	1.2 ± 0.10	1.9 ± 0.14
80%	0.72 ± 0.001	43.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	0.072 ± 0.001
სპირტის ფრაქციები თანაფარდობით				
1:4	1.5 ± 0.1	75 ± 3	1.2 ± 0.1	1.8 ± 0.12

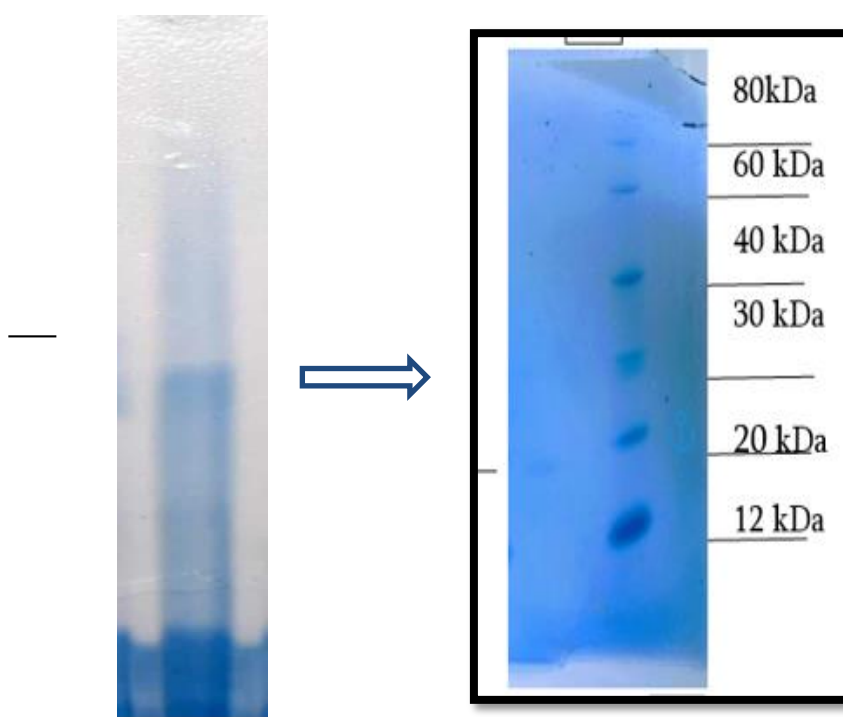
3.4. ელექტროფორეზი

იზაბელას ფოთლის პროტეაზული პრეპარატის სისუთავე შემოწმებულ იქნა SDS-PAGE ელექტროფორეზის მეშვეობით. თვალსაჩინოებისა და მოლეკულური მასის დადგენის მიზნით გამოყენებულ იქნა სხვადასხვა მოლეკულური მასის მქონე

ცილოცანი მარკერები. მათი გამოყენებით განისაზღვრა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას მოლეკულური მასა, რომელიც შეადგენდა -23 kDa-ს.



სურათი 26. ელექტროფორეზის მიმდინარეობა



სურათი 27. იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის ელექტროფოროგრამა

აღსანიშნავია, რომ იზაბელას პრეპარატში კვალის სახით მაინც რჩება დაბალმოლეკულური არაპროტეაზული მინარევები.

3.5.იზაბელას ფოთლის პროტეაზას თვისებების განსაზღვრა გელ-დიფუზური მეთოდით

პროტეოლიზურ ფერმენტებს ახასიათებთ გარკვეული სპეციფიურობა. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას თვისებების კვლევის პროცესში ჩვენს მიერ დაფიქსირებულ იქნა საინტერესო ფაქტი- იზაბელას ფოთლის პროტეაზა შერჩევითად მოქმედებდა სხვა ფერმენტებზე და იწვევდა მათი აქტივობის გაძლიერებას ან დათრგუნვას. ეს ფაქტი თავდაპირველად დავაფიქსირეთ EWMP-სუბსტრატის შემცველ არეში ფერმენტების ურთიერთქმედებისას (იხილე ცხრილი 10), ხოლო შემდგომ იდენტიფიცირება მოვახდინეთ გელ-დიფუზური მეთოდით (იხ.სურ. 15).აღებული იყო მცენარეული პროტეაზები(ძიძო, მინდვრისნემსა), სოკოს პროტეაზა (*penicillium candidum* 5-1-ის მიერ წარმოებული ფერმენტი) და ცხოველური (ქიმოტრიპსინი) .

ცხრილი 10. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გავლენა სხვადასხვა ფერმენტის პროტეაზულ აქტივობაზე

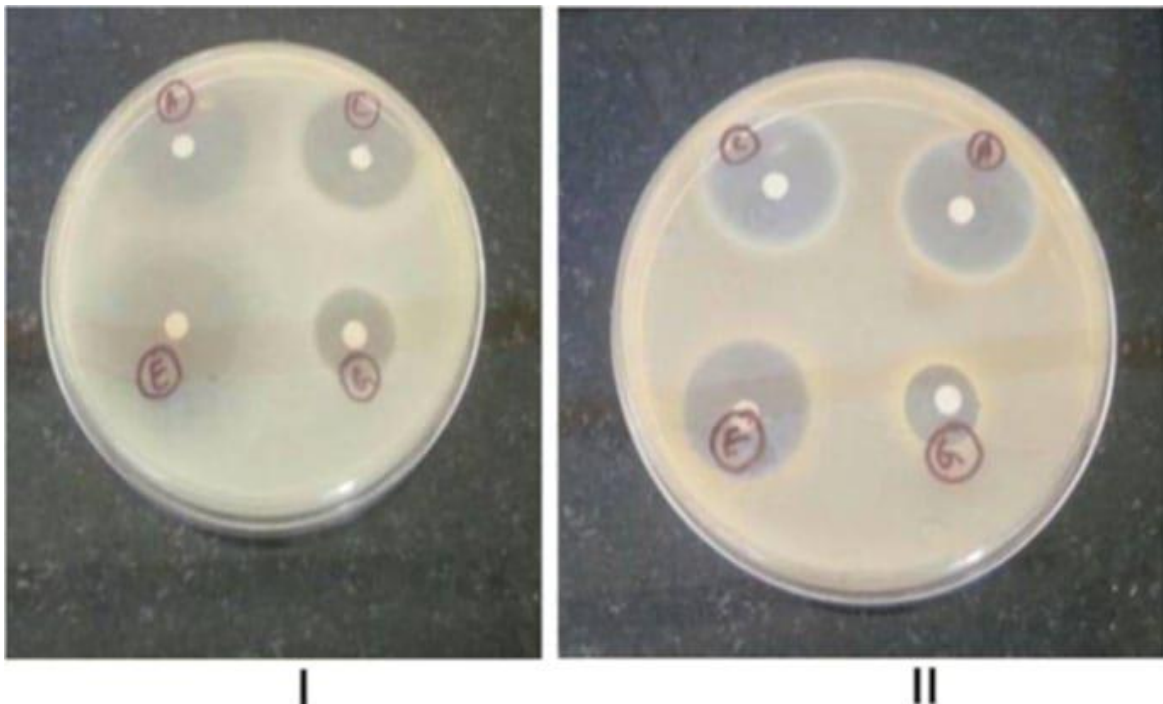
პროტეაზას წყარო	protein mg/ml დამუშავებამდე	U/mg	protein mg/ml დამუშავების შემდეგ
ძიძო	0.0064	40,63	0,005
მინდვრისნემსა	0.043	40.47	0,031
<i>penicillium candidum</i> 5-1-	2,5	55,5	3,7
თხაწართხალა	0.077	14.84	0,06
ქიმოტრიპსინი	1,2	62,2	1,5

ცხრილიდან თვალნათლივ ჩანს, რომ აღნიშნულ ფერმენტებს აქვთ მაღალი პროტეაზული აქტივობა, რაზეც მოწმობს მათ მიერ გარდაქმნილი უხსნადი სუბსტრატის ხსნად ფრაგმენტებამდე მიყვანა და შუქსთანთქმის მაჩვენებლის მატება ექსპერიმენტის დროს. იზაბელას ფერმენტის დამატებით ჩვენს მიერ

აღებული პროტეაზები ანელებდნენ სუბსტრატზე ზემოქმედებას, რაზეც მოწმობდა ცილის კონცენტრაციის „დაქვეითება“ სარეაქციო არეში. (უხსნადი სუბსტრატის სთანთქმის მაჩვენებელი პრაქტიკულად ნულის ტოლად მიიჩნევა). სხვაგვარი სურათი მივიღეთ, როდესაც მოვახდინეთ ცხოველური და სოკოს ფერმენტების ინკუბირება იზაბელას პროტეაზასთან. ისინი უფრო აქტიურად გარდაქმნიდნენ სუბსტრატს, რაზეც მეტყველებდა შთანთქმის მაჩვენებლის მატება და ცილის კონცენტრაციის ზრდა სარეაქციო არეში.

სხვა ფერმენტებზე იზაბელას ფოთლიდან გამოყოფილი ფერმენტის ზეგავლენის ვიზუალიზაციისათვის გამოვიყენეთ გელ-დიფუზიური მეთოდი (იხ. სურათი 25). სუბსტრატად გამოყენებულ იქნა კაზეინი, ჩაპოლიმერიზებული აგარში. (A-ძიძოს პროტეაზა, C-მინდვრისნემსას პროტეაზა, E- სოკოს პროტეაზა, G-ცხოველური პროტეაზა.

I - ცალკეული ფერმენტის ფერმენტული აქტივობა; II- ფერმენტული აქტივობა იზაბელას ფოთლის პროტეაზათი დამუშავების შემდეგ.)



სურათი 28. გელ-დიფუზიური მეთოდით პროტეაზული აქტივობის განსაზღვრა

როგორც სურათიდან ჩანს, კონტროლთან შედარებით რგოლების დიამეტრი შემცირებულია A და C რგოლებში, ხოლო მომატებულია E და G- რგოლებში, რაც მოწმობს პირველ შემთხვევაში ფერმენტული აქტივობის დაქვეითებაზე, ხოლო

მეორე შემთხვევაში კი -მატებაზე.

აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ იზაბელას ფოთოლში პროტეაზული აქტივობა ნარჩუნდება ნედლეულის შრობის ან გაყინვის შედეგად, ასევე, მაჩვენებელი თითქმის არ იცვლება სეზონების მიხედვით.რაც საკმაოდ მნიშვნელოვანია ნედლეულის შენახვა გამოყენების თვალსაზრისით.

3.6. იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის მოქმედება გლუტენზე

სადისერტაციო კვლევის დასკვნით ეტაპზე ჩატარებულ იქნა კვლევა იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენების შესაძლებლობაზე კვებით მრეწველობაში, კერძოდ უგლუტენო პროდუქციის მიღების თვალსაზრისით. ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, გადავწყვიტეთ, გვესინჯა ხორბლის ფქვილის გლუტენური ფრაქციის დაშლის შესაძლებლობა იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენებით.

თავდაპირველად შევამოწმეთ, რამდენად „მიიღებდა“ იზაბელას პროტეაზა გლუტენს, როგორც სუბსტრატს (ხომ არ გამოავლენდა სუბსტრატ-სპეციფიურობას). ამ მიზნით მოხდა გლუტენის დამუშავება იზაბელას პროტეაზას შემცველი ექსტრაქტით. (ექსტრაქციისათვის ნედლეულს ემატებოდა საექსტრაქციო ბუფერი-0,1Mm PBS 1/10 თანაფარდობით, როდინში ან ექსტრაქტორში დამუშავების შემდეგ ხდებოდა ცენტრიფუგირება 3000g 10 წთ. და სუპერნატანტში დგინდებოდა ფერმენტული აქტივობა). 10 მლ.პროტეაზას შემცველ ექსტრაქტს ემატებოდა 1გ. სუბსტრატი (გლუტენის შემცველი მასა), ხდებოდა დაყოვნება 27° C ტემპრატურაზე (იზაბელას ფერმენტის აქტივობის ოპტიმალური ტემპერატურა). კონტოლის დაყენება ხდებოდა როგორც სუბსტრატის (1გ. გლუტენშემცველ მასას ემატებოდა 10 მლ.საექსტრაქციო ბუფერი), ასევე-ფერმენტის (10 მლ. ფერმენტული ხსნარი სუბსტრატის გარეშე). სუბსტრატის გარდაქმნის ხარისხი ფასდებოდა როგორც თვისობრივად (გლუტენის შემცველი მასის დაფლეთა და ზომაში შემცირება), ასევე - რაოდენობრივად (ცილის განსაზღვრის გზით). დაახლოებით 2 საათში შეიმჩნეოდა ფერმენტ-სუბსტრატული ურთიერთქმედების ვიზუალური ნიშნები-სუბსტრატული მასა იწყებდა ზომაში შემცირებას,ხსნარში ჩნდებოდა მცირე ზომის

სუბსტრატული ფრაგმენტები.



სურათი 29. ფერმენტ-სუბსტრატული ურთიერთქმედება გლუტენსა და იზაბელას ფოთლის პროტეაზას შორის

გლუტენის მისაღებად მზადდებოდა ელასტიური ცომი ფქვილითა და წყლით. ფქვილში არსებული სახამებლის, ხსნადი ცილებისა და სხვა თანმდევი ნივთიერებების მოცილების მიზნით ცომი ირეცხებოდა გამდინარე წყალში, ვიდრე წყლის ფერი გახდებოდა გამჭვირვალე. ასეთი ხერხით მიღებულ გლუტენს ემატებოდა ფერმენტული ხსნარი თანაფარდობით 1/10 (მასა/მოცულობა) და ხდებოდა ინკუბაცია. სარეაქციო არეში იზაბელას ფერმენტის კონცენტრაცია 1 გ. გლუტენზე გადაანგარიშებით შეადგენდა 1.43 U/მლ.

თავდაპირველად, საინკუბაციო ტემპერატურად განისაზღვრა 27°C-ესაა იზაბელას პროტეაზას მოქმედების ოპტიმალური ტემპერატურა, ხოლო საინკუბაციო დროდ-6 სთ. პროტეოლიზური ზემოქმედების შემოწმება მოხდა ცილის რაოდენობის ცვლილების მიხედვით. უხსნადი გლუტენის ფერმენტული ხსნარით დამუშავების შემდეგ, ხსნარში გადადიოდა ამინომჟავები და დაბალმოლეკულური პეპტიდური ფრაგმენტები, რომელთა თანაობა ცილის გაზომვისას იწვევდა შუქშთანთქმის მაჩვენებლის მატებას. კონტროლის სახით აღებული იყო გლუტენი გამოხდილ წყალში და იზაბელას პროტეაზული პრეპარატი.



სურათი 30. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას შემცველი ექსტრაქტის მოქმედება გლუტენზე

მეორე ჯერზე ზემოქმედება მოვახდინეთ დაკონცენტრირებული ფერმენტშემცველი ხსნარებით. სუბსტრატის დამუშავება ხდებოდა ამონიუმის სულფატის გამომარილებული და შემდგომ დიალიზით გასუფთავებული, აგრეთვე ეთანოლით დაკონცენტრირებული ფერმენტშემცველი ხსნარებით. სინჯების შეგროვება ხდებოდა 0,5 საათიანი ინტერვალებით. გარდაქმნის სიჩქარემ მოიმატა და შესაბამისად, გახდა 0,18-0,2 მგ/მლ/სთ)(იზაბელა). იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის ზეგავლენით გლუტენური ფრაქციის ცილები სწრაფად და ეფექტურად იშლებოდნენ, რაზეც მეტყველებდა ცილის კონცენტრაციის ცვლილება სარეაქციო არეში. (იხ ცხრილი 11)

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, გლუტენს დავამატეთ იზაბელას ფერმენტის ხსნარი 1/10 (მასა/მოცულობის) თანაფარდობით, ამიტომ სარეაქციო არეში პროტეოლიზური აქტივობა იყო 1,43 ე/მლ 1 გ. გლუტენზე . პროტეაზას გავლენით გლუტენი, როგორც ცომის უხსნადი ცილოვანი ნივთიერება, სწრაფად და ეფექტურად იშლება ხსნად პეპტიდურ ფრაგმენტებად. ცილის დაგროვების სიჩქარე რეაქციის არეში განისაზღვრა ლოურის მეთოდით.

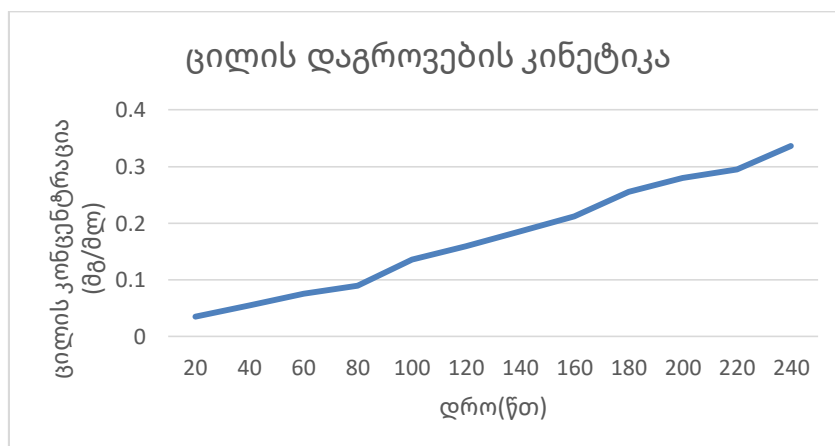


სურათი 31. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ტექნიკური პრეპარატის მოქმედება გლუტენზე

ცხრილი 11. სარეაქციო არეში ცილის დაგროვების ხარისხი გლუტენის იზაბელას ფოთლის პროტეაზათი დამუშავებამდე და დამუშავების შემდეგ

პარამეტრი	მაჩვენებელი (მგ/მლ)
ცილის კონცენტრაცია სარეაქციო არეში ჰიროლიზამდე	19,420
ცილის კონცენტრაცია სარეაქციო არეში ჰიდროლიზის შემდეგ	31,0611

სარეაქციო არეში ცილის დაგროვების კინეტიკა დროში ასახულია ნახაზზე 12. ცილის კონცენტრაციის გამოსათვლელად ვიყენებდით შესაბამის საკალიბრო მრუდს.



ნახაზი 12 . ცილის რაოდენობის ცვლილება დროში სარეაქციო არეში

სარეაქციო არეში ცილის კონცენტრაციის ნაზრდი ($\Delta C \approx 11.64$ მგ/მლ) თვალნათლივ გვიჩვენებს, რომ იზაბელას პროტეაზას ჰიდროლიზური ზემოქმედების შედეგად გლუტენური ფრაქციის უხსნადი ცილები გარდაქმნილია ხსნად კომპონენტებად.

ჩნდება კითხვა: რა ზომისაა პროტეოლიზის შედეგად მიღებული პეპტიდური ფრაგმენტები? ხომ შესაძლებელია, რომ გლუტენის მაღალმოლეკულური ფრაგმენტები, თუნდაც ხსნადი, ასევე იწვევდეს ალერგულ ეფექტს. როგორც ავტორები ამტკიცებენ [97-102].

ძირითადად, ალერგული ეფექტით ხასიათდებიან გლუტენური ფრაქციის უხსნადი პეპტიდები. შესაბამისად, რაც უფრო დაბალია გლუტენის მოლეკულური ფრაქციები, მით უფრო დიდია მისი ალერგული ეფექტის თავიდან აცილების ალბათობა იმის გათვალისწინებით, რომ ჩვენი ჰიდროლიზატი მთლიანად და კარგად იხსნება წყალში.

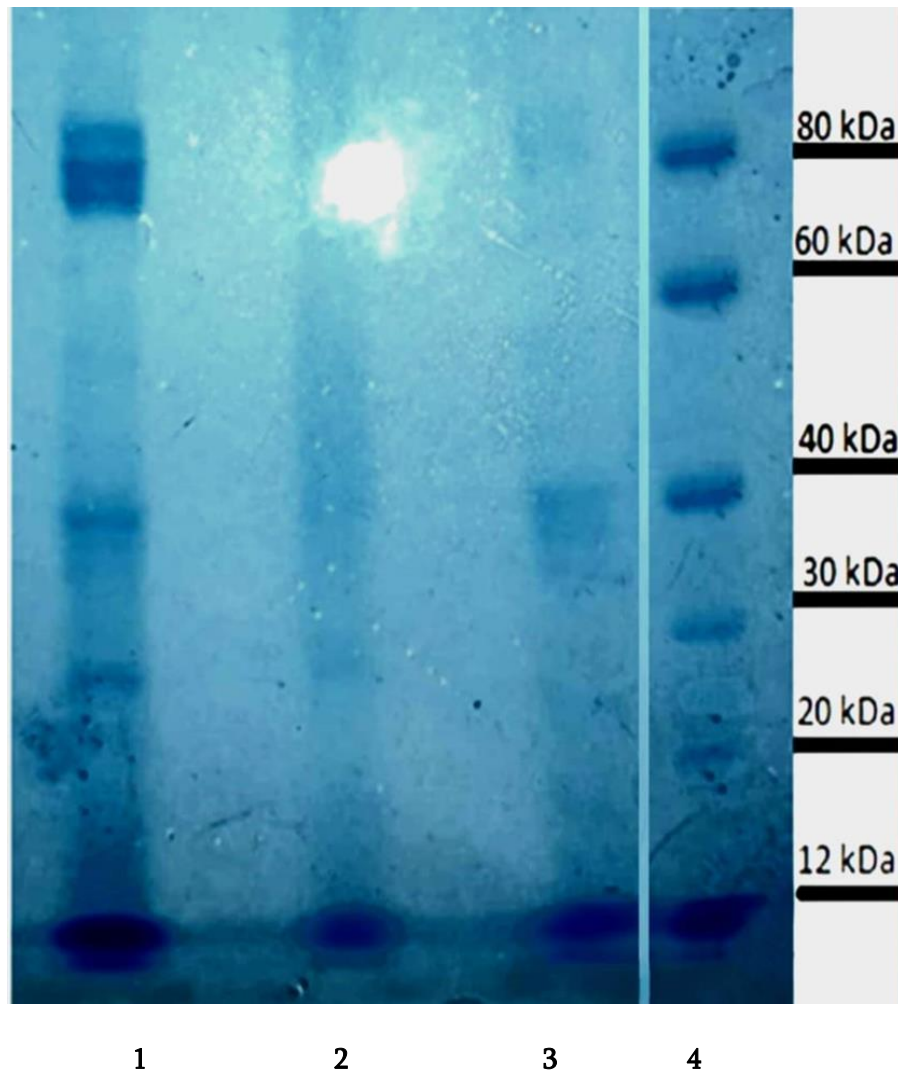
3.6.1. გლუტენის პროტეოლიზური დაშლის იდენტიფიცირება ელექტროფორეზის გზით

გლუტენის დაშლა პროტეაზას დამატებით და პროტეინის მატება რეაქციის არეში არ იყო სრული მაჩვენებელი, გაურკვეველი რჩებოდა რამდენად სიღრმისეულად შლის იზაბელას პროტეაზა გლუტენს, რომლის კომპლექსი შედგება სხვადასხვა ცილებისგან [103].

ამ კითხვაზე პასუხის გაცემის მიზნით ჩატარებულ იქნა დისკ-ელექტროფორეზი 12% პოლიაკრილამიდის გელში (SDS-PAGE). ნიმუშებად აღებული იყო როგორც გლუტენი და იზაბელას ფერმენტი, ასევე გლუტენის ჰიდროლიზატი იზაბელას პროტეაზათი დამუშავების შემდეგ. (იხ. სურათი 18). ელექტროფოროგრამაზე ნათლად ჩანს გლუტენური ფრაქციისა (ბილიკი 1) და იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის (ბილიკი 3) ანაბეჭდები, ხოლო მათ შორის- გლუტენის ჰიდროლიზებული ნაწილების ანაბეჭდები.

როგორც ელექტროფოროგრამიდან ჩანს, იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტი თავისი სპეციფიკით ახდენს წებოგვარას ყველა ფრაქციის ღრმა ჰიდროლიზს და მიჰყავს საბოლოო პროდუქტებამდე - დაბალმოლეკულურ

პეპტიდებამდე და ამინომჟავებამდე, რაზეც მიუთითებს ჰიდროლიზატის ბილიკებზე გლუტენის ფრაგმენტების გაქრობა (ბილიკი 2). პროტეოლიზური ეფექტის ვიზუალიზებისათვის გამოყენებულია ცილოვანი მოლეკულური მასის მარკერები.(ბილიკი 4).



სურათი 32 . იზაბელას ფოთლის ფერმენტით გლუტენის პროტეოლიზის ელექტროფოროგრამა

ბილიკი 1 - გლუტენი(დენატურირებული ელექტოფორეზის მიზნით);

ბილიკი 2 - იზაბელას პროტეაზით გლუტენის დამუშავების შედეგი; ბილიკი 3 - იზაბელას ფერმენტშემცველი ექსტრაქტის ელექტროფორეზი დენატურულ პირობებში; ბილიკი 4 - მოლეკულური მასის მარკერები.

ბილიკების ფუძეში არსებული ზოლები მეტყველებს ამინომჟავების თანაობაზე. აღნიშნული ფაქტები საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ შესაძლებელია უგლუტენო პურის პროდუქტების წარმოების ტექნოლოგიის შემუშავება. [104]

3.7. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენებით უგლუტენო პურის დამზადება

მნიშვნელოვანია, რომ დღეს უგლუტენო პური მზადდება ნედლეულისგან, რომელიც არ შეიცავს გლუტენს, მაგ. წიწიბურა, კარტოფილი, ბრინჯი და სხვა. ამ ნედლეულისგან დამზადებული პროდუქტების გემოვნური თვისებები განსხვავდება ხორბლის ფქვილისგან დამზადებული პურისგან. ანუ მოთხოვნაა ისეთ უგლუტენო პურზე, რომელსაც ხორბლის ფქვილისგან დამზადებული პურის გემოვნური თვისებები ექნება. ეს არის გზა, რომელსაც ჩვენ ვთავაზობთ, რომელიც საშუალებას გვაძლევს განვახილოთ უგლუტენო პურის წარმოების ტექნოლოგია იზაბელას (*Vitis*). *Labrusca* L,) ფოთლის პროტეაზების გამოყენებით.

შედარების მიზნით გამოვაცხვეთ ორი სახის პური- როგორც ჩვეულებრივი, ასევე უგლუტენო. ჩვეულებრივი პურის ცომთან შედარებით, უგლუტენო პურის ცომი იყო უფრო თხევადი კონსისტენციის, ნაკლებ წებოვანი.



სურათი 33. ჩვეულებრივი ცომი ხორბლის ფქვილისაგან



სურათი 34. უგლუტენო ცომი, მიღებული იზაბელას ფოთლის პროტეაზას დამატებით

გამომცხვარი პროდუქტი გამოირჩეოდა მეტი ფხვიერებით, ადვილად იფშვნებოდა. რაც შეეხება საგემოვნო თვისებებს, ახლადგამომცხვარ უგლუტენო პურს ჰქონდა სასიამოვნო არომატი, ოდნავ მოტკბო გემო, ფერი კი - ოდნავ მუქი, რადგან იზაბელას ფერმენტის პრეპარატს თან მიჰყვება მცენარეული პიგმენტების კვალი.



სურათი 35. ჩვეულებრივი პური



სურათი 36. უგლუტენო პური, მიღებული იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის დამატებით

იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენებით ჩვენს მიერ დამზადებული უგლუტენო ხორბლის პური შეფასდა ისეთი პარამეტრების მიხედვით, როგორიცაა სუნი, გემო, ფერი, არომატი და ტექსტურა. ჩვენს მიერ დამზადებულ პურს ჰქონდა ხორბლის ფქვილისაგან დამზადებული პურის სასიამოვნო სუნი და არომატი ოდნავ მცენარეული არომატის ნოტებით, მოტკბო გემო. ტრადიციული რეცეპტურით დამზადებულ ხორბლის პურთან შედარებით ეს პური იყო ოდნავ უფრო ნოტიო და ფერიც ჰქონდა უფრო რუხი, რაც იმით აიხსნება, რომ იზაბელას ფოთლის ფროტეაზული პრეპარატი შეიცავდა მცენარეული პიგმენტების კვალს.

3.8. ჯამური ფენოლებისა და შაქრების რაოდენობის განსაზღვრა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენებით მიღებულ უგლუტენო ცომში

ცნობილია, რომ მთელ რიგ შემთხვევებში ფენოლური ნაერთების შემცველობა უკავშირდება ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, თუმცა ფენოლური პროფილი შესაძლოა, განსხვავებული იყოს ანტიოქსიდანტური შესაძლებლობებისაგან. [105-111]. განსაკუთრებით უნდა აღინიშნოს ფენოლური ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობა ვაზის სხვადასხვა ვეგეტატიური ორგანოებიდან მიღებულ მასალებში,

რაც ზრდის მათ სასარგებლო თვისებებსა და შესაბამისად, სამკურნალო-პროფილაქტიკურ ღირებულებას. იზაბელას ფოთლიდან მიღებული ექსტრაქტები ხასიათდება ფენოლური ნაერთების შემცველობით. როდესაც ვახდენდით ცომის დამუშავებას პროტეაზებით გლუტენის დაშლის მიზნით, იზაბელას ექსტრაქტის შემთხვევაში ჩვენი ყურადღება მიიპყრო სასიამოვნო არომატის გაჩენამ. შემდგომმა გაზომვებმა დაადასტურა, რომ ადგილი ჰქონდა ფენოლური ნაერთების კონცენტრაციის მატებას.

რაც შეეხება შაქრების რაოდენობის ცვლილებას, სავარაუდოდ, ამით უნდა აიხსნებოდეს უგლუტენო პურპროდუქტის მოტკბო გემო ჩვეულებრივ პურთან შედარებით (თუმცა ამ ეტაპზე ჩვენ მხოლოდ ფაქტის დადასტურებით შემოვიფარგლებით, რადგან არ ჩაგვიტარებია სიღრმისეული კვლევა). ცხრილში წარმოდგენილია ჩვენს მიერ ჩატარებული გაზომვების შედეგები:

ცხრილი 12. კლასიკური ცომის და ხორბლის უგლუტენო ცომის ბიოქიმიური პარამეტრები

პარამეტრი ცომი	საერთო შაქრები მგ/მლ	გლუკოზა მგ/მლ	საერთო ფენოლები მგ/მლ
ჩვეულებრივი ცომი	1,418	0,177	0.14
უგლუტენო ცომი	1,607	0,948	0,7

3.9. საქართველოში გავრცელებული ზოგიერთი ენდემური ჯიშის ვაზის ფოთლების პროტეაზური და გლუტენაზური აქტივობის სკრინინგი

ჩვენ მიერ შესწავლილ იქნა იზაბელას პროტეაზას ზემოქმედებით გლუტენის დაშლა. გაჩნდა ლოგიკური კითხვა: ვაზის სხვა ჯიშებშიც ხომ არ არის მსგავსი მოქმედების პროტეაზები? ამ მიზნით ჩატარდა სკრინინგი. უპირატესობა მივანიჭეთ ქართული ვაზის იმ ენდემურ ჯიშებს, რომლებიც გამოირჩეოდნენ

თავიანთი მდგრადობით პათოგენური მიკროორგანიზმებისა და მავნე მწერების მიმართ, აგრეთვე იზაბელას მსგავსად, წარმოადგენდნენ ე.წ. უწყამლ ჯიშებს.

მასალა აღებულ იქნა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში . განისაზღვრა როგორც პროტეაზული აქტივობა, ასევე მათი უნარი, ზეგავლენა მოეხდინათ გლუტენის დაშლაზე. პროტეაზული აქტივობა და გლუტენის ჰიდროლიზი დადგენილია ზემოთაღწერილი მეთოდებით. სამუშაო ტემპერატურად აღებულია 27°C , ხოლო ჰიდროლიზისათვის განისაზღვრა დრო 6 სთ.

ცხრილში წარმოდგენილია ჩვენს მიერ ჩატარებული სამუშაოს შედეგები:

ცხრილი 13. ქართული ვაზის ზოგიერთი ჯიშის ფოთლებში პროტეაზული და გლუტენაზული აქტივობის დადგენა

ვაზის ჯიში	ცილა მგ/მლ	პროტეა ზული აქტივო- ბა U/მლ	ცილა ჰიდრო- ლიზამ- დე მგ/მლ	ცილა ჰიდრო- ლიზის შემდეგ მგ/მლ	ΔC მგ/მლ
თავკვერი	0,32	0,01	17,61	20,1	2,49
ცოლიკოური	0,35	0,014	20,07	24,15	4,08
რქაწითელი	0,31	0,016	16,15	17,8	1,65
ხიხვი	0,37	0,013	18,21	19,76	1,55
მესხური შავი	0,37	0,016	29,31	33,7	3,39
ცხენისძუძუ თეთრი	0,39	0,016	26,65	28,06	1,41
მეკრენჩხი	0,35	0,023	25,1	30,7	5,6
ჭვიტოლური	0,37	0,018	31,48	34,39	2,91
ჩინური	0,36	0,014	19,49	21,91	2,42
კლარჯულა	0,38	0,021	25,28	28,91	3,63

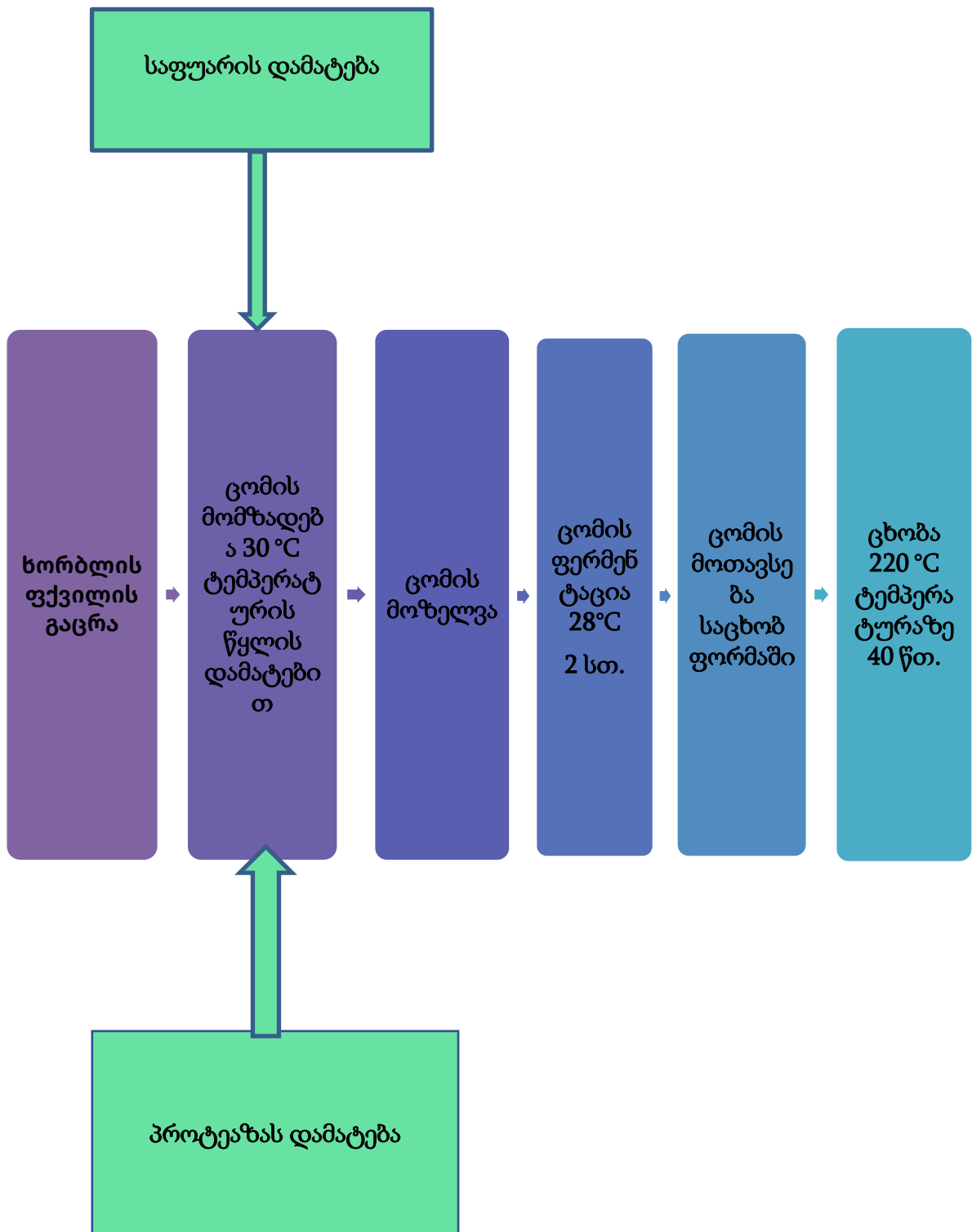
როგორც ცხრილიდან ჩანს, ცილების შემცველობა ყველა აღებულ ობიექტში თითქმის ერთნაირია, ოდნავ მაღალი პროტეაზული აქტივობით გამოირჩევიან კლარჯულა და მეკრენჩხი, რაც შესაბამისად აისახა კიდევ მათ მიერ გლუტენის ჰიდროლიზის თვალსაზრისით.

3.10. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას საშუალებით პურის დამზადების სარეკომენდაციო ტექნოლოგიური სქემა

ჩვენს მიერ ჩატარებულ სამუშაოში აღწერილია და დასაბუთებულია იზაბელას ფოთლებიდან გამოყოფილი ახალი თვისებების მქონე პროტეაზის არსებობა. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ აღნიშნული ფერმენტის მიღება ხდება მევენახეობის ნარჩენი პროდუქტიდან- ძირითად ვაზის ფოთლებიდან. მოცემული სამუშაო წარმოადგენს აღნიშნული ფერმენტის შესწავლის პირველი ნაბიჯს, ამიტომ ამ ეტაპზე არ მივიჩნევთ მიზანშეწონილად, წარმოვადგინოთ ტექნოლოგიური სქემის დეტალური ვერსია, არამედ შემოვიფარგლებით მხოლოდ იმ ზოგადი ტექნოლოგიური მიდგომების წარმოდგენით, რომელიც ასახავს აუცილებელ სამრეწველო ტექნოლოგიურ ეტაპებს და არ წარმოადგენს საბოლოოდ ჩამოყალიბებულ სამრეწველო ტექნოლოგიურ სქემას .

ჩვენს მიერ გადაანგარიშებულ იქნა ნედლეულის- იზაბელას ფოთლის გამოსავლიანობა პროტეოლიზური ფერმენტის მიღების თვალსაზრისით. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, პროტეოლიზური ფერმენტის შემცველობის თვალსაზრისით იზაბელას ფოთლი შეგვიძლია გამოვიყენოთ როგორც ნედლი, ასევე გამშრალი ან გაყინული, ნებისმიერ სეზონზე შეგროვილი. ყოველი 100 გ. ფოთლიდან მიიღება ≈ 20 მგ. ფერმენტი. 100 გ. გლუტენის ჰიდროლიზისათვის საჭიროა 14,3 U/მლ ფერმენტი, რაც მასაზე გადაანგარიშებით შეადგენს 430 მგ-ს. სხვადასხვა ხარისხის ხორბლის ფქვილში გლუტენის შემცველობა მერყევობს 15-35%-მდე ანუ ≈ 20 გ. ფერმენტი საკმარისი იქნება 17-20 კგ. ფქვილიდან უგლუტენო პურის მისაღებად.

ვინაიდან, პირველი შეფასებით მიღებული პროდუქტი-იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენებით მიღებული უგლუტენო პური შესაძლოა შედარებულ იქნას ტრადიციული გზით დამზადებულ ხორბლის პურთან, გთავაზობთ უგლუტენო პროდუქტის მიღების ზოგად ტექნოლოგიურ სქემას:



სქემა 3 . იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენებით უგლუტენო პურის მიღების
სარეკომენდაციო ტექნოლოგიური სქემა

3.11. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენების პერსპექტივა უგლუტენო პურის დამზადების პროცესში და არა მხოლოდ...

ცელიაკიის ძირითადი მკურნალობა არის მკაცრი, უგლუტენო დიეტა, რომელიც დაფუძნებულია გლუტენის შემცველი საკვების, როგორცაა ხორბალი, ჭვავი, ქერი და, იშვიათ შემთხვევებში, შვრიის. სიმინდი, ბრინჯი, სორგო ან ფეტვი შესაფერისია უგლუტენო დიეტისთვის, ისევე როგორც კარტოფილი და ისეთი კულტურები, როგორცაა ამარანტი, ქინოა და წიწიბურა. [112-115] .ნატურალური უგლუტენო ნედლეულისგან დამზადებულ პროდუქტებს ხშირად აქვთ მკვებავი, ტექსტურული და სენსორული თვისებები, რომლებიც ჩამორჩება შესაბამისი გლუტენის შემცველ პროდუქტებს. აქედან გამომდინარე, საჭიროა ვიპოვოთ მიდგომები გლუტენის შემცველი ნედლეულის გადამუშავებისთვის ისე, რომ გლუტენის ცილები შეწყვიტონ იმუნოგენური ცელიაკიის მქონე ადამიანებისთვის, მათი სასარგებლო თვისებების შენარჩუნებით.

თანამედროვე ქართულ ბაზარზე უხვადაა უგლუტენო პროდუქცია, რომელიც თავისი ფასისა და შემცველობის მიხედვით არაა ფართოდ მოხმარებული შესაბამისი სამიზნე ჯგუფის წარმომადგენლების მიერ. ჩვენს შემთხვევაში გლუტენის დამშლელი პროტეაზას პროდუცენტი არის საყოველთაოდ ხელმისაწვდომი ვაზის ფოთოლი, რომელიც თავადაც საკვები პროდუქტია, ახდენს გლუტენის ცილოვანი კომპლექსის ღრმა და საფუძვლიან ჰიდროლიზს, პროდუქტი აღარ შეიცავს დაუშლელ უხსნად გლუტენურ ცილებს-ძირითად ალერგენებს ცელიაკიით დაავადებულებისათვის. რაც მთავარია, ასეთი გზით მიღებული პური სრულად აკმაყოფილებს მომხმარებლის საგემოვნო თუ სხვა მოთხოვნებს.

პერსპექტიულად გვესახება იზაბელას პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენება სხვა ისეთი სახის უგლუტენო პროდუქციის მისაღებად, როგორცაა ლუდი, ფუნთუშეული და მაკარონნაწარმები, საკონდიტრო ნაწარმი და სხვა.



სურათი 37. უგლუტენო პროდუქციის სპექტრი

ლუდი წარმოადგენს ფერმენტირებულ სასმელს, რომელსაც ჯერ კიდევ უძველესი ცივილიზაციების დროიდან აწარმოებდნენ და იყენებდნენ მსოფლიოს ყველა რეგიონში. ლუდი წარმოადგენს უძველეს სასმელს და მისი ისტორია რამოდენიმე ათასწლეულს მოიცავს. რიგი ავტორები თვლიან, რომ ლუდი უკვე 5000 წლის წინათ იყო ცნობილი ადამიანებისათვის, თუმცა არსებობს მოსაზრება, რომ ლუდი ჩვენს წელთაღრიცხვამდე 7000 წლით ადრეც იხარშებოდა. ლუდი და პური ძველ სამყაროში ძლიერ ფასობდა, როგორც პირველადი მოხმარების პროდუქტები. კერძოდ ლუდი (ისევე როგორც ზოგიერთ ქვეყანაში ღვინო) გამოიყენებოდა როგორც ადამიანის ორგანიზმისათვის მავნე მიკროფლორის არშემცველი სითხე წყურვილის მოსაკლავად. ამიტომ ლუდი, როგორც წყურვილის მოკვლის საშუალება, გამოიყენებოდა ყოველდღიურად.

რაც შეეხება საქართველოში ლუდის ხარშვის ისტორიას, უპირველეს ყოვლისა უნდა აღინიშნოს ის, რომ მომზადების ბაბილონურმა ხელოვნებამ შეაღწია კავკასიაში დასახლებულ ხალხებში და მათ შორის ქართველებშიც, სადაც

საქმიანობის ამ სფეროს ნოყიერი ნიადაგი დახვდა, იმიტომ რომ ლუდი მარცვლეულიდან მიიღება, საქართველო კი მარცვლეულის წარმოშობის ერთ-ერთ კერად მიიჩნევა, რადგან მსოფლიოში ცნობილი პურეულის ცხრამეტი ჯიშიდან აქ ცნობილი ყოფილა თოთხმეტი. საქართველოს ორ ნაწილად, მთად და ბარად იყოფოდა იმის მიხედვით, თუ სად ხარობდა ყურძენი. ბუნებრივად შეირჩა ისე, რომ ხორბალი დაბლობ ადგილებში ითესებოდა, ქერი კი მაღლობებზე, რადგან იგი საკმაოდ კარგად ხარობს ზღვის დონიდან 2000 მეტრამდე. ამიტომ, ლუდის წარმოება საქართველოში უფრო მეტად მთიან მხარეში იყო გავრცელებული, განსაკუთრებით აღმოსავლეთ საქართველოს მთიანეთში.

ლუდი წარმოადგენს ცქრიალა, გამაგრებელ სასმელს, სვიის დამახასიათებელი არომატითა და სასიამოვნო მომწარო გემოთი. ნახშირბადის დიოქსიდით გაჯერებისა და ალკოჰოლის მცირე შემცველობის გამო ლუდი არამარტო კარგად კლავს წყურვილის გრძნობას, არამედ აუმჯობესებს ადამიანის ორგანიზმის საერთო ტონუსს. წარმოადგენს კარგ ემულგატორს, ლუდი ხელს უწყობს ნივთიერებათა სწორ ცვლას და აუმჯობესებს სურსათის შეთვისების პროცესს. იგი აუმჯობესებს მადას და გააჩნია კვებითი ღირებულება.

ლუდი მზადდება მარცვლოვნებისაგან, ძირითადად დაალაოებული ქერისაგან. სვია და საფუარი წარმოადგენენ აუცილებელ დამატებით ინგრედიენტებს. სვია ლუდს ანიჭებს სიმწარესა და არომატს, ხოლო საფუარი გარდაქმნის ალაოს შაქრებს სპირტად და ნახშირორჟანგად. გარდა დაალაოებული მარცვლოვნებისა, ლუდი შეიძლება იწარმოებოდეს სხვა ფერმენტირებული ინგრედიენტებიდან იმის მიხედვით, თუ როგორია რეგიონის ლუდის ხარშვის წესები და სტილი [116]. ლუდის ხარშვისას გამოყენებული მარცვლოვნები-ხორბალი, ჭვავი და ქერი ენდოსპერმში შეიცავენ დიდი რაოდენობით გლუტენს [117]. ეს კი წარმოადგენს სერიოზულ პრობლემას ცელიაკიით დაავადებული და გლუტენის მიმართ მგრძნობიარე ადამიანებისათვის, რადგან მათთვის გლუტენის მოხმარება დაკავშირებულია აუტოიმუნურ რეაქციებთან, რომლებიც იწვევენ წვრილი ნაწლავის დაზიანებასა და ისეთი სიმპტომების გამოვლენას, როგორიცაა მუცლის შებერილობა, დიარეა და მუცლის ტკივილი. აქედან გამომდინარე, მოთხოვნა უგლუტენო პროდუქციაზე და მათ შორის, ლუდზე მზარდია, რათა დაკმაყოფილებულ იქნას გლუტენდამოკიდებული დაავადებების მქონე

ადამიანების მოთხოვნები. ეს მნიშვნელოვანია, რადგან ლუდი ხშირად ასოცირდება სოციალურ ურთიერთობებთან, ერთიანობასთან ან კომუნიკაციასთან.

ცელიაკიისა და გლუტენისადმი მგრძნობიარობის გავრცელების ზრდამ მოახდინა უგლუტენო და დაბალგლუტენური საკვები პროდუქციის, მათ შორის ლუდის წარმოების სტიმულირება. უგლუტენო ლუდის მარკირების წესები განსხვავებულია მთელ მსოფლიოში. ტრადიციულ ლუდში გლუტენის შემცველობა აღემატება უვნებლობის დასაშვებ ზღვარს- 20 ppm. აშშ და ევროკავშირი უფრო მკაცრ სტანდარტებს აწესებს-ალერგენების მარკირების წესების გაფართოვება მწარმოებელს ავალდებულებს ეტიკეტზე მიუთითოს გლუტენის წყარო ან მიაწოდოს, რომ პროდუქტი შეიცავს გლუტენს. მწარმოებელი დაინტერესებულია, გამოიყენოს გლუტენშემცველი მასალის დამუშავების მეცნიერულად დასაბუთებული მეთოდები, რათა ეფექტურად იქნას მოცილებული ეს ალერგენი პროდუქტებიდან ან გამოიყენოს ალტერნატიული უგლუტენო/ გლუტენის დაბალი შემცველობის ნედლეული.[119-122]

ტრადიციული ლუდის ხარშვისას გამოყენებული ნედლეულის-ქერის ჩანაცვლებას ბრინჯით, სორგოთი, სიმინდით, წიწიბურათი თან სდევს დაალაოებისა და შელესვის პროცედურების დროისა და ტემპერატურის ცვლილება. ქერის ჩანაცვლების თვალსაზრისით სორგო წარმოადგენდა მისაღებ ვარიანტს, რადგან ის ფართოდ გამოიყენება აფრიკის ქვეყნებში ტრადიციული გაუმჟვრვალე ლუდის მოსამზადებლად, მაგრამ მას არ აღმოაჩნდა საკმარისი ოდენობით α -და β -ამილაზების სინთეზის უნარი, რაც სჭირდება სახამებლის ჟელატინიზაციას. იგივე შეიძლება ითქვას ბრინჯზე, წიწიბურასა და სიმინდზე.

უგლუტენო მარცვლოვნები ან სხვა ნედლეული ან არ ვარგა ლუდის ხარშვისათვის, ან პროდუქტს სძენს უჩვეულო გემოს. ამ ნედლეულის გამოყენება ლუდის წარმოებაში უარყოფითად აისახება ლუდის არომატზე, გემოსა და სხვა სენსორულ მახასიათებლებზე, რომ აღარაფერი ვთქვათ ტექნოლოგიურ პრობლემებზე. ჩვენს მიერ შეთავაზებული ფერმენტული დამუშავება წარმოადგენს კარგ გამოსავალს როგორც გლუტენის შემცველობის მკვეთრი შემცირების თვალსაზრისით, ასევე პროლინით მდიდარი ცილების მოცულობითი ჰიდროლიზის თვალსაზრისითაც, რაც თავიდან აგვარიდებს ლუდის შემღვრევას.

იზაბელას ფოთლის პროტეაზას დამატება ალაოს მომზადების პროცესში მოახდენს

გლუტენური ცილების ჰიდროლიზს. თუმცა დამატება უნდა მოხდეს ე.წ.შელესვის პროცესში (წყლის დამატება და დადუღებისათვის მომზადება), რადგან იზაბელას პროტეაზა 35C⁰-ზე უფრო მაღალ ტემპერატურაზე იწყებს ინაქტივაციას.

უგლუტენო ნამცხვრები

საკონდიტრო მრეწველობაში ცნობილია ორი სახის ნამცხვარი: ბისკვიტოვანი და ფენოვანი. უგლუტენო ნამცხვრების ტექსტურა რამდენადმე განსხვავდება ტრადიციული რეცეპტურით დამზადებული ნაწარმისაგან-უფრო მკვრივია და გამოირჩევა მარცვლოვანი ფხვნადი სტრუქტურით. მათ დასამზადებლად უმეტესწილად გამოიყენება ხორბლის ფქვილის გლუტენარშემცველი ჩამნაცვლებლები-ბრინჯის, კარტოფილის, სორგოს, ქინოას და სხვა ფქვილები. უგლუტენო ნედლეულისაგან მღებული ფქვილის გამოყენებით წარმოიშვება რიგი პრობლემები: წიწიბურას ფქვილი ცომს უნარჩუნებს ერთგვაროვნებას, მაგრამ უკარგავს სიფაფუკეს; ბრინჯის ფქვილი პროდუქტს უკარგავს სირბილესა და ღეჭვადობას. შედარებით უკეთეს შედეგს იძლევა ხანჭკოლას, სოიასა და ამარანტის ფქვილის დამატება ხორბლის ფქვილთან ერთად ან ე.წ.მიქსი, თუმცა პროდუქტის სარგებლიანობის საპირწონედ დგება საგემოვნო და რეოლოგიური თვისებები.[123-125]. დღეისათვის გამამდიდრებელი დანამატების სახით უგლუტენო ფქვილოვანი საკონდიტრო პროდუქციის წარმოებაში ფართოდ გამოიყენება ხილისა და ბოსტნეულის ფქვილები: ვაშლის,ქაცვის, ჭნავის, გოგრის, კარტოფილის, სტაფილოს, ჭარხლისა და ა.შ. მათი გამოყენებით ხდება პროდუქტების გამდიდრება სასარგებლო ნუტრიენტებით .

ისევე როგორც უგლუტენო პურის წარმოების შემთხვევაში, აქაც გვექნება შეთავაზება, რომ მოხდეს ცომის წინასწარი დამუშავება იზაბელას პროტეაზას გამოყენებით, ვიდრე ცომს დაემატება ცხიმი,კვერცხი,მაქარი და სხვა ინგრედიენტები.

ტკბილღვეულები წარმოადგენენ უგლუტენო ტკბილეულის საუკეთესო ვარიანტს. მათი უმრავლესობა ჩანართის სახით შეიცავს ხილს, ხილფაფას, თხილეულს, ჩირეულს, კრემს, რაც თავისთავად უცვლის ფერს პროდუქტის ცომს. ამდენად, იზაბელას პროტეაზას გამოყენება ყველაზე ნაკლებშესამჩნევი იქნება ასეთ

ტკბილღვეულებში, სამაგიეროდ, მნიშვნელოვანი იქნება ის სარგებელი, რომელსაც მოუტანს მომხმარებელს ასეთი ჯანსაღი პროდუქტი.

უგლუტენო ორცხობილა

ორცხობილა/ ნახში წარმოადგენს უნიკალურ და შეუცვლელ საკვებ პროდუქტს შენახვის გაზრდილი ვადის გამო. მისი დამზადების ისტორია საუკუნეებს ითვლის. ცნობილია ორცხობილი ორი ტიპი: მარტივი და გამდიდრებული. თეთრი პურის ორცხობილა მარტივი შესათვისებელია, ამიტომ მას ურჩევენ ადამიანებს, რომელთაც აქვთ საჭმლის მონელებასთან დაკავშირებული პრობლემები. გარდა ამისა, ორცხობილა მდიდარია B1, B2, PP და E ვიტამინებით, რომლებიც ხელს უწყობენ თავის ტვინისა და გულის მუშაობას, კანის ჯანსაღ მდგომარეობას და ა.შ.

ორცხობილა შეიძლება დამზადდეს როგორც მზა პურისაგან, ასევე აფუებული ცომისაგან და გამდიდრდეს სხვადასხვა ინგრედიენტებით. მოწოდებულია უგლუტენო ორცხობილის წარმოების უამრავი ვარიანტი როგორც ნედლეულის, ასევე ტექნოლოგიური მოდიფიკაციების გათვალისწინებით. [126,127]

იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენებით უგლუტენო ორცხობის წარმოებაც ამის მიხედვით შეიძლება წარიმართოს ორგვარი სქემით: ან ჯერ დამზადდეს პური, რომელიც შემდგომ დაიჭრება და გამოშრება, ან როგორც ნამცხვრის შემთხვევაში-მოხდეს ცომის წინასწარი დამუშავება იზაბელას პროტეაზას გამოყენებით, ვიდრე ცომს დაემატება ცხიმი, კვერცხი, შაქარი და სხვა ინგრედიენტები.

არაცხოზადი ფქვილოვანი კულინარული ნაწარმი

იმ უგლუტენო ნაწარმს შორის, რომელსაც არ ესაჭიროება ცხოზა მნიშვნელოვან ადგილს იკავებს ატრია, პასტა, ვერმიშელი და სხვა მსგავსი მაკარონნაწარმი. მათი უმეტესოზა დამზადებულია ბრინჯის ფქვილის გამოყენებით და სხვა მსგავს ნედლეულთან შედარებით, ხასიათდება საგემოვნო უპირატესოზითაც. ხშირია ბრინჯისა და ოსპის ფქვილების კომბინაცია, რომელიც ფერით განსხვავდება ტრადიციული პროდუქტის ფერისაგან, ამიტომ ტკბილღვეულების მსგავსად, აქაც შეგვიძლია მეტი თავისუფლება გამოვიჩინოთ. იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენებით შესაძლოა მომხმარებლისათვის შეთავაზებულ იქნას ოდნავ მუქი ფერის პროდუქტი, მაგრამ ეს არ გამოიწვევს მომხმარებლის შეცზუნებას, რომელიც

კვებით რაციონში იყენებს სხვადასხვა დანამარების შემცველ ატრიასა და მაკარონს.

დღეისათვის ჯერ კიდევ არაა სათანადოდ დამუშავებული ისეთი უგლუტენო ფქვილოვანი კულინარული ნაწარმის რეცეპტურა, როგორიცაა ხინკალი, პელმენი, ვარენიკი და სხვა. მსგავსი სპეციალიზებული კერძების რეცეპტურის დამუშავება აქტუალურად მიგვაჩნია, რადგან დამატებით უპირატესობას მისცემს კაფეებს, რესტორნებსა და საზოგადოებრივი კვების ობიექტებს მიზნობრივი მომხმარებლების მომსახურების თვალსაზრისით. მთავარია დამზადდეს უგლუტენო ცომი იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის გამოყენებით.

დასკვნა

- სადოქტორო კვლევის ფარგლებში პირველად იქნა იდენტიფიცირებული იზაბელას (*Vitis Labrusca L.*) ფოთლებში პროტეოლიზური აქტივობის მქონე ცილა ;
- დადგინდა იზაბელას (*Vitis Labrusca L.*) ფოთლებში მძიმე მეტალების შემცველობა;
- დადგენილ იქნა იზაბელას (*Vitis Labrusca L.*) ფოთლებში არსებული პროტეოლიზური ფერმენტის აქტივობის ხარისხი კაზეინისა და EWMP-ის მიმართ ;
- შესწავლილ იქნა იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის ზოგიერთი მახასიათებელი, როგორცაა ტემპერატურისა და pH-ოპტიმუმი ;
- გელ-დიფუზური მეთოდით დადგენილ იქნა იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის ინჰიბიტორული გავლენა მცენარეულ პროტეაზებზე ;
- გელ-დიფუზური მეთოდით ასევე დადგენილ იქნა იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტის გამააქტივებელი გავლენა მცენარეულ პროტეაზებზე ;
- მიღებულ იქნა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ტექნიკური პრეპარატი ;
- სადოქტორო კვლევის ფარგლებში პირველად იქნა იდენტიფიცირებული იზაბელას (*Vitis Labrusca L.*) ფოთლის პროტეაზას ზემოქმედება ხორბლის გლუტენური ფრაქციის უხსნად ცილებზე ;
- იზაბელას ფოთლის პროტეაზას მიერ გლუტენური ცილების სიღრმისეული დაშლა დადასტურებულ იქნა რაოდენობრივი და თვისობრივი პარამეტრების მიხედვით ;
- გლუტენზე იზაბელას ფოთლის პროტეაზას ზემოქმედების ხარისხის შესაფასებლად ჩატარდა ელექტროფორეზი და დადგინდა, რომ აღნიშნული პროტეაზა ხსნად დაბალმოლეკულურ ფრაგმენტებამდე შლის გლუტენს, რასაც დიდი პერსპექტივა აქვს უგლუტენო პროდუქციის წარმოებისათვის ;

- იზაბელას ფოთლის პროტეოლიზური ფერმენტით გლუტენის დაშლის შედეგად მიღებულ იქნა ხორბლის ფქვილის უგლუტენო ცომი, რომელშიც განისაზღვრა მოხდა ხორბლის უგლუტენო ცომის მიღება და მასში განისაზღვრა ცილების, ფენოლებისა და შაქრების ჯამური შემცველობა ;
- დადგენილ იქნა 1გ. გლუტენზე იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენების ოპტიმალური დოზა(1,43 U/მლ) და ინკუბაციის დრო- 2 სთ;
- ჩამოყალიბდა ხორბლის უგლუტენო პურის ზოგადი ტექნოლოგიური სქემა ;
- დადგენილ იქნა იზაბელას ფოთლის გამოსავლიანობა პროტეოლიზური ფერმენტის თვალსაზრისით და გამოთვლილ იქნა პროტეაზას საორიენტაციო რაოდენობა 1 კგ. ხორბლის ფქვილზე გადაანგარიშებით;
- დაისახა იზაბელას ფოთლის პროტეაზას გამოყენების პერსპექტივა უგლუტენო პროდუქციის წარმოებაში, რომელსაც შენარჩუნებული ექნება ტრადიციული პროდუქტის საგემოვნო თვისებები და ხელმისაწვდომი იქნება ცელიაკიით დაავადებული პირებისათვის .

გამოყენებული ლიტერატურა

1. ფსალმუნნი. კანონი 14. ფსალმუნი 103. ფსალმუნი დავითისი, სოფლის
შესაქმისათვის. 14, 15. თბილისი. გამომცემლობა „პალიტრა L“. 2019 წ.
2. Khan K, Shewry PR, editors. Wheat: Chemistry and Technology. 4th ed. Woodhead
Publishing and AACCI International Press; 2009. p. 480
3. Pomeranz Y, editor. Modern Cereal Science and Technology. New York: VCH
Publishers; 1987. 486 p.
4. Vojdani A, Gushgari LR, Vojdani E. Interaction between food antigens and the
immune system: Association with autoimmune disorders. Autoimmun Rev.
2020;19(3):102459. doi: [10.1016/j.autrev.2020.102459](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102459)
5. Mehmet Karaman, Hüsrev Mennan, Celaleddin barutçular, Kadriye Caglayan.
THEORETICAL AND PRACTICAL NEW APPROACHES IN CEREAL SCIENCE
AND TECHNOLOGY. THEORETICAL AND PRACTICAL NEW APPROACHES
IN CEREAL SCIENCE AND TECHNOLOGY EDITED BY AUTHORS. Publisher:
Iksad Publishing house. 2021. ISBN: 978-625-7562-37-9.
6. Curtis BC, Rajaram S, Macpherson HG. Bread Wheat – Improvement and
Production, FAO Plant Production and Protection Series. , 2022. no. 30 Rome.
7. Khalid A, Hameed A, Muhammad F. Wheat quality: A review on chemical
composition, nutritional attributes, grain anatomy, types, classification, and
function of seed storage proteins in bread making quality. PMCID:
PMC9998918 PMID: [36908903](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36908903/). Front Nutr. 1 2023 Feb 24;10:1053196.
8. Zentgraf H. Unser Brotgetreide Nr. 1. Mehl Rep. 2013;22(2):1. German
9. Faridi H, Faubion M, editors. (1995) Wheat usage in Eastern Europe. St Paul, MN:
American Association of Cereal Chemists; 2013. p. . 292
10. Shewry PR, Halford NG. Cereal seed storage proteins: structures, properties and
role in grain utilization. J Exp Bot. ;2002. 53(370):947–958.
11. Shewry PR, Tatham AS. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and
evolution. Biochem J. 1990. 267(1):1–12.
12. Seibel W. Wheat usage in Western Europe. In: Faridi H, Faubion JM, editors. Wheat
end uses around the world. St Paul, MN: American Association

- of Cereal Chemists; 1995. . p. 93–125.
13. . Tatham AS, Gilbert SM, Fido RJ, Shewry PR. Extraction, separation, and purification of wheat gluten proteins and related proteins of barley, rye, and oats. *Methods Mol Med.* 2000;41:55–73. doi: 10.1385/1-59259-082-9:055.
 14. Haraszi R, Chassaigne H, Maquet A, Ulberth F. Analytical methods for detection of gluten in food – method developments in support of food labeling legislation. *J AOAC Int.* 2011;94(4):1006–1025.
 15. Abedi E. , Pourmohammadi. K. Chemical modifications and their effects on gluten protein: An extensive review. *Food Chemistry Volume 343*, 1 May 2021, 128398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128398>
 16. Kłosok k. Welc . R . Fornal E. Nawrocka A. Effects of Physical and Chemical Factors on the Structure of Gluten, Gliadins and Glutenins as Studied with Spectroscopic Methods. *Molecules* **2021**, *26*(2), 508;
 17. Weiss W, Huber G, Engel KH, Pethran A, Dunn MJ, Gooley AA, Gorg A. Identification and characterization of wheat grain albumin/globulin allergens. *Electrophoresis.* 1997;18(5):826–833. doi: 10.1002/elps.1150180529.
 18. Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, Castillejo G, Sanders DS, Cellier C, Mulder CJ, Lundin KEA. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroenterol J.* 2019;7(5):583–613. doi: 10.1177/2050640619844125
 19. Arranz E, Montalvillo E, Garrote JA. Immunopathogenesis of Celiac Disease [Internet]. 2014. doi: 10.3926/oms.213.
 20. Rosell, Barro, Sousa, (). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science.* January 2013. 59(3)
 21. Polanco I, Celiac Disease: Background. In: Amil-Dias J, Polanco I, editors. *Advances in Celiac Disease: Improving Paediatric and Adult Care.* Springer; 2022.
 22. Анашкина П.Ж. Москвичева Е.В. Тимошенкова И.А. Москвичев А.С. ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЗГЛЮТЕННЫХ ВИДОВ МУКИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ. (retrived January 22 2021 from <https://research-journal.org/en/archive/1-103>
 23. Lahdeaho ML, Kaukinen K, Laurila K, Vuotikka P, Koivurova OP, Karja-Lahdensuu T, Marcantonio A, Adelman DC, Maki M. Glutenase ALV003 attenuates gluten-induced mucosal injury in patients with celiac disease. *Gastroenterology.*; 2014. 146(7):1649–1658. doi: 10.1053/j.gastro.2014.02.031.

24. Naveed, M., Nadeem, F., Mehmood, T., Bilal, M., Zahid, A., Fazeha, A.
Protease - a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. – Catal. Lett.2021. 151: 307-323.
25. Rao MB, Tanksale AM, Ghatge MS et al. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Microbiol Mol Biol Rev .1998. 62:597–635.
26. Shah, M. A. Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: a review / M. A. Shah, S. A. Mir, M. A. Paray // Dairy Sci. Technol. –2014. – Vol. 94. – P. 5–16.
27. https://www.researchgate.net/publication/345985669_Basic_Enzymology_Part_I
28. Imene Leulmi ,Mohammed Nasreddine Zidoune, Kahina Hafid ,Fairouz Djeghim, Hayat Bourekoua ,Dariusz Dziki , Renata Różyło (2023). New Coagulant Proteases for Cheesemaking from Leaves and Latex of the Spontaneous Plant Pergularia tomentosa: Biochemical Characterization of Coagulants and Sensorial Evaluation of Cheese. Foods 2023, 12(13), 2467;
29. Mohamed_kotb Kotb-El-Sayed. Basic Enzymology (Part II). 2020.
30. Amir R. Khan, Micael N. G. James.Molecular mechanisms for the conversion of zymogens to active proteolytic enzymes. Protein Science: 2008. Volume 7, Issue 4 Pages: 815-1066
31. Хазиев А.Ф., Михайлова НА., Алсынбаев М.М. Изучение свойств высокоочищенной металлопротеазы, продуцируемой *Bacillus subtilis* II Журн. микробиол. -2003,3:91-93.
32. Великорецкая И. А. Создание новых комплексных ферментных препаратов грибных протеаз на основе штамма *Penicillium canescens* для эффективной конверсии белоксодержащего растительного сырья. 2019. <https://www.mgupp.ru/upload/iblock/42f/42ffceecc0a33724afdbfb20d862358a>.
33. Баик А. С.(Характеристика пролин-специфичной аминопептидазы в клетках цианобактерии *Synechocysts* sp.Доклад на конференции Научная конференция, посвященная 70-летию КарНЦ РАНИнститут биологии Карельского научного центра.2018.
34. Nabindra Shresthaю Buntу Maskeyю(2023). Effect of purified *Calotropis gigantea* latex protease on the cheese quality. Tribhuvan University Journal of Food Science and Technology .2023. 2(2):7-16

35. Meyer Megan, Jaspers Ilona. Respiratory protease/antiprotease balance determines susceptibility to viral infection and can be modified by nutritional antioxidants. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015 Apr 17;308(12):L1189–L1201
36. Schmidt R., Bukau. B. Mogk A. Principles of general and regulatory proteolysis by AAA+ proteases in *Escherichia coli*. *Research in Microbiology* 2009. Volume 160, Issue 9, Pages 629–636
37. Vigyasa Singh & Ujjal Jyoti Phukan. Interaction of host and *Staphylococcus aureus* protease-system regulates virulence and pathogenicity. *Medical Microbiology and Immunology*. 2019/ Volume 208, pages 585–607
38. Manzoor A.Shabir M () Plant Proteases in Food Processing. In book: *Bioactive Molecules in Food* January 2018 (pp.443–464)
39. Dely R. Chávez-Garay,Néstor Gutiérrez-Méndez,Miriam E. Valenzuela-Soto &Antonio García-TrianaFacultad de Ciencias Quí. Partial characterization of a plant coagulant obtained from the berries of *Solanum elaeagnifolium*. *CyTA - Journal of Food* Volume 14, 2016 - Issue 2.
40. Carlos López-Otín , Judith S Bond. Proteases: Multifunctional Enzymes in Life and Disease. *J Biol Chem*. 2008 Nov 7;283(45):30433–30437.
41. Troncoso Franco David, Sánchez Daniel Alberto , Ferreira María Luján. Production of Plant Proteases and New Biotechnological Applications: An Updated Review.2023.
42. Kirti Rani, Rachita Rana and Sanchi Datt . Review on latest overview of proteases. *International Journal of Current Life Sciences* -2012. Vol.2, Issue, 1, pp. 12– 18
43. Valmiki Aruna, V. Chandrakala , Gangadhara Angajala , E.R. Nagarajan. Proteases: An overview on its recent industrial developments and current scenario in the revolution of biocatalysis. *Materials Today: Proceedings*. 2023. Volume 92, Part 2, , pp. 565-573
44. https://www.atamanchemicals.com/proteases_u26405
45. Renier A L van der Hoorn, Marina Klemenčič. Plant proteases: from molecular mechanisms to functions in development and immunity. *Journal of Experimental Botany*, 2021. Volume 72, Issue 9, 13 April 2021, Pages 3337–3339
46. Hira Sundus, Hamid Mukhtar, Ali Nawaz. Industrial applications and production sources of serine alkaline proteases: a review. *Journal of Bacteriology & Mycology*: 2016. Volume 3 Issue 1. eISSN: 2469 – 2786.
47. Vijay Kumar, Anjana, Poonam, Sapna Sharma . Latest Overview of Proteases: A Review. *Asian J. Adv. Basic Sci.:* 2019, 7(2), 20-28. <https://www.ajabs.org/articles/latest-overview-of--proteases-a-review>.

48. Lorkowski G. Gastrointestinal absorption and biological activities of serine and cysteine proteases of animal and plant origin:review on absorption of serine and cysteine proteases . Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol 2012;4(1):10-27.
49. Tanabe S. , Arai S. , Watanabe M. Modification of Wheat Flour with Bromelain and Baking Hypoallergenic Bread with Added Ingredients. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry (Bioscience Biotechnology & Biochemistry) 1996. Volume : 60 Issue : 8 Page : 1269-1272 .
50. CHEN Jian-sheng, TIAN Ji-chun, DENG Zhi-ying , Ying-xiang ZHANG, Shou-li FENG, Zuo-chen YAN, Xin-ye ZHANG, Hui-qing YUAN. Effects of Papain Hydrolysis on the Pasting Properties of Wheat Flour. Journal of Integrative Agriculture. 2012. Volume 11, Issue 12, , Pages 1948-1957
51. Buddrick O, Cornell HJ, Small DM. Reduction of toxic gliadin content of wholegrain bread by the enzyme caricain. Food Chem. 2015. 170:343-7.
52. ჯავახიშვილი ი.“მევენახეობა და მეღვინეობა საქართველოში“. „საქართველოს ეკონომიური ისტორია“ტ.II.1986. .გამომცემლობა „მეცნიერება“
53. კობაიძე თ.(2018). „მევენახეობა-მეღვინეობის ენციკლოპედიური ლექსიკონი“.გამომცემლობა“წიგნი+ერი“.2018. თბილისი.
54. დურმიშიძე ს., ხაჩიძე ო. “ვაზის ბიოქიმია“,1985. გამომცემლობა „მეცნიერება“. თბილისი
55. გაფრინდაშვილი რ. „საკვები პროდუქტების დანამატები“. 2008. საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი.
56. ნავარი კ, ლანგლადი ფ. (2005)-„ენოლოგია“.2016. გამომცემლობა „დიოგენე“.თბილისი
57. წულაია დ. სარჯველაძე ე. - „სურსათის ქიმია“.2016. თბილისი.
58. Oganesyants Lev, Panasyuk Aleksander, Kuzmina Helen -“Study of features of the biochemical composition of red vine leaves of autonomous varieties of Russia”. 38th World Congress of Vine and Wine.2015. Bio Web Conferences
59. KOCA I. TEKGULER*B, TURKYILMAZ B. “Bioactive Properties of Different Parts of Vitis labrusca L. Fruit”. Comm. J. Biol. 2021. 5(2), 193-198

60. Ky, Isabelle . Characterisation of Grape and Grape pomace Polyphenolics: Their Absorption and Metabolism and Potential Effects on Hypertension in a SHR Rat Model.2013. <http://theses.gla.ac.uk/4942/>
61. Mehboob Sheikh, Katam Ramesh, Vasanthaiah Hemanth, Matta Frank. Proteome analysis of muscadine grape leaves. International Journal of Wine Research .2009. [https://www.researchgate.net/publication/49606023 Proteome analysis of muscadine grape leaves](https://www.researchgate.net/publication/49606023_Proteome_analysis_of_muscadine_grape_leaves)
62. Gerasimova, Elena; Salimgareeva, Elena; Shabunina, Olga et al. Antioxidant screening of red grape pomace extracts from Isabella (*Vitis labrusca* × *Vitis vinifera*) by potentiometric method. Chemical Papers, 2023. Vol. 77, No. 12, 01.12.2023, p. 7483-7493. <https://link.springer.com/10.1007/s11696-023-03021-w>
63. Hall & Luca “Mesocarp localization of a bi-functional resveratrol/hydroxycinnamic acid glucosyltransferase of Concord grape (*Vitis labrusca*).the Plant Journal. January 2007
64. Kim et al.,Protective Effect of *Vitis labrusca* Leaves Extract on Cardiovascular Dysfunction through HMGB1-TLR4-NFκB Signaling in Spontaneously Hypertensive Rats. October 2020. MDPI Nutrients (10)
65. Eder María Laura Raymond, Cristina Reynoso , Santiago C. Lauret. Alberto Luis Rosa. Isolation and Identification of the Indigenous Yeast Population during Spontaneous Fermentation of Isabella (*Vitis labrusca* L.) Grape Must”. March 2017 8:532
66. Gaensly F, Braga D, Agustini B, Eliz Guimarães da Silva, “Evaluation of phenolic compounds content and in vitro antioxidant activity of red wines produced from *Vitis labrusca* grapes”.Food Science and Technology (Campinas) September 2011. 31 (3):783-800
67. Özgan H. Dalmaz A. Özdiñer M. Zenkin K. Biosynthesis and characterization of α-FeOOH nanoparticles using Isabella grape (*Vitis Labrusca* L. extract. Turkish Journal of Analytical Chemistry .2023. 5(1)
68. უჯმაჯურიძე ლ., კაკაბაძე გ. , ლონდა მამასახლისაშვილი ლ. „ქართული ვაზის ჯიშები“ გამომცემლობა: პეგასი. 2018. თბილისი
69. წიქვაძე შ. „მევენახეობის თანამედროვე მდგომარეობა და განვითარების პერსპექტივები მესხეთში“. 1958. საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის გამომცემლობა, თბილისი.

70. კეცხოველი ნ. რამიშვილი მ. ტაბიძე დ.
საქართველოს ამპელოგრაფია. 1960. რედაქცია „აგროკავკასია“.
71. ხიდაშელი შალვა . პაპუნძე ვანო - „საქართველოს ტყის სამკურნალო მცენარეები“ 1985. გამომცემლობა „საბჭოთა აჭარა“ .
72. „სამკურნალო მცენარეული ნედლეულის დამზადების საფუძვლები“ განათლების ხარისხის განვითარების ეროვნული ცენტრი (2016) . თბილისი .
73. Atomic Absorption Spectrometry. (2005) Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition). https://www.sciencedirect.com/topics/chemical-engineering/_atomic-absorption-spectrometry
74. <https://image.indotrading.com/co186019/pdf/p635824/210.pdf>
75. Физико- химические методы анализа Атомно-абсорбционная спектроскопия from <https://portal.tpu.ru/SHARED/s/SHAGALOV/KNU/>
76. Khobelia Tamriko, Museliani Kristine ,Tea Ninua Tea, Kvesitadze Edisher. - Colorimetric Assay To Determine Total Proteolytic Activity.BULLETIN OF THE GEORGIAN NATION-AL ACADEMY OF SCIENCES. 2022. Vol.16 no.2p.106-113
77. Kupina Steve, Fields Chris, Roman Mark C, Brunelle Sharon L Determination of Total Phenolic Content Using the Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation, First Action 2017.13, Journal of AOAC INTERNATIONAL, September 2018. Volume 101, Issue 5, 1Pages 1466–1472, <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031>
78. Kielkopf, Clara L., William Bauer, and Ina L. Urbatsch. : "Bradford assay for determining protein concentration." Cold Spring Harbor Protocols ,2020. no. 4 pdb-prot.102269.
79. Chang, S. K., & Zhang, Y. Protein analysis. Food analysis, 2017. 315-331
80. Sapan, Christine V., Roger L. Lundblad, and Nicholas C. Price. "Colorimetric protein assay techniques." Biotechnology and applied Biochemistry .1999. 29, no. 2): 99-108.
81. ღოღობერიძე ს. გორგილაძე მ. შაინძე ჯ. ხოსიტაშვილი მ., მიგდალია ა. კატსანტონის დ.ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა. (2021) from https://dspace.nplg.gov.ge/bitstream/1234/330574/1/Cilis_Koncentraciis_Gansazgvr_a.pdf
82. Protocol for Bradford protein assay from <https://www.creative-proteomics.com/resource/.htm>

83. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1950. V. 193. №1. P. 265-275.
84. Green, A. A., & Hughes, W. L. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solutions of salts and organic solvents. 1955 Chemistry, Biology. Methods in Enzymology
85. Zhang X., Shuai Y., Tao H., Li C., He L. (2021) Novel Method for the Quantitative Analysis of Protease Activity: The Casein Plate Method and Its Applications. ACS omega. 2021. 6, 5: 3675-3680.
86. Laemmli. U. K . Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature, 1970. 227, 680-685.
87. Schagger H., von Jagow G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa // Anal. Biochem., 1987. 166, 368-379.
88. Guide to Polyacrilamide Gel Electrophoresis and Detection.available from https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_6040.
89. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elps.1150180529>
90. Iris F.F. Benzie , J.J. Strain (1996 . July) , The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry.1996. Volume 239, Issue 1, 15 p. 70-76
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003269796902924>
91. Steve Kupina, Chris Fields, Mark C Roman, Sharon L Brunelle, Determination of Total Phenolic Content Using the Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation, First Action 2017.13 (2018 Sep)PMID: 29895350
92. Miller, G.L. “ Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar”. Journal of Analytical Chemistry 1959. 31, p. 426-428.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
93. Ninua T. Buachidze T..Khokhonishvili S. ”Mineral qualities of Isabella grapevine (Vitis Labrusca L.) leaf.” Annals of Agrarian Science. 2021. vol.19.No.3.p.220-222.
94. Sebastian Cug Valerie,Lemetter Didier Kleiber&Cecile Levasseur-Garcia-“Assessing macro-element content in vine leaves and berries of vitis vinifera by using near-infrared spectroscopy and chemometers”. International Journal of Environmental Analytical Chemistry.2019 August . 100(10):1-17.DOI:[10.1080/03067319.2019.1648644](https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1648644)

95. Ninua T.Khobelia T.Museliani K.Kvesitadze E.Buachidze T. "Study of proteins with protease activity from some plants growing in Georgia and preparation of highly-active preparation" . Annals of Agrarian Science.2022. vol.20.No.4.p.213-215
96. Нинуа Теа, Квеситадзе Эдишер, Хобелия Тамрико, Муселиани Кристина. „ПРОТЕАЗА ЛИСТЬЕВ ИЗABELЛЫ (VITIS LABRUSCA L.), ЕГО БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ“. University of Vienna. The international scientific and technical online conference „Modern Scientific Method“. November 14-15.2024. ISBN 978-0-5583-1303-6 DOI 10.5281/zenodo.14176940 pp.221-223
97. Lebowohl B. , Rubio-Tapia A. "Epidemiology, Presentation, and Diagnosis of Celiac Disease". Gastroenterology. 2021. Volume 160, Issue 1,1 DOI:[10.1053/j.gastro.2020.06.098](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.06.098)
98. Rubin, J. E., & Crowe, S. E., "Celiac Disease". Annals of Internal Medicine.2020. 172(1) . PMID: 31905394 DOI: [10.7326/AITC202001070](https://doi.org/10.7326/AITC202001070)
99. Watkins Runa D. Zawahir Shamila. Celiac Disease and Nonceliac Gluten Sensitivity. Pediatric Clinics of North America.2017 Jun;64(3):563-576. PMID: 28502438 DOI: [10.1016/j.pcl.2017.01.013](https://doi.org/10.1016/j.pcl.2017.01.013)
100. Cabanillas Beatriz. Gluten-related disorders: Celiac disease, wheat allergy, and nonceliac gluten sensitivity. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020.60(15):2606-2621. PMID: 31402697 DOI: [10.1080/10408398.2019.1651689](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651689)
101. Burkhardt J. G, Chapa-Rodriguez A, Bahna S. L. Gluten sensitivities and the allergist: Threshing the grain from the husks. Allergy.J.2018. 73(7):PMID: 29131356 DOI: [10.1111/all.13354](https://doi.org/10.1111/all.13354)
102. Balakireva AV, Zamyatnin AA. Properties of Gluten Intolerance: Gluten Structure, Evolution, Pathogenicity and Detoxification Capabilities. Nutrients; 2016. 8(10):644. PMID: 27763541 PMCID: [PMC5084031](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC5084031/) DOI: [10.3390/nu8100644](https://doi.org/10.3390/nu8100644)
103. Wieser H.,Koehler P.,Scherf K.A. Chemistry of wheat gluten proteins: Qualitative composition. Cereal Chemistry: Volume 100, Issue 1. May 2022 <https://doi.org/10.1002/cche.10572>
104. Ninua Tea. Degradation of gluten using plant proteases. International Journal of Science and Research Archive, 2024, 13(02), 394–400. <https://doi.org/10.30574/ijsra.2024.13.2.2107>
105. Afjalus Siraj, Jamil A. Shilpi, Golam Hossain, Shaikh Jamal Uddin, Khirul Islam, Ismet Ara Jahan, Hemayet Hossain. Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Acalypha hispida Leaf and Analysis of its Major Bioactive Polyphenols by HPLC. Adv Pharm Bull, 2016, 6(2), 275-283 doi: 10.15171/apb.2016.039
106. Muhammad B. Y , Adamu R.M , Enemali M.O, Abba Babandi. Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Anti-proliferative and Anti-microbial activities (In vitro) of Indigofera hirsuta and Afrormosia laxiflora. Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences. Journal homepage: <http://scholarsmepub.com/sjmps/>

107. Azantsa Kingue Gabin Boris, Djuikoo Nouteza Imelda¹, Takuissu Guy, Kuikoua Tchetmi Wilfred, Temdemnou Ethelle, Judith Laure Ngondi, Julius Oben. Antioxidant Activity of Leaves' Extracts of Citrus Sinensis: Determination of Radical Scavenging Capacity, Antiradical Power, Total Polyphenols and Flavonoids Content. American Journal Of Pharmacy And Health Research. 2017, Volume 5, Issue 5 ISSN: 2321-3647(online)
108. Mir Zahoor Gul, Sambamurthy Chandrasekaran et.al. Antioxidant and enzyme inhibitory activities of Cissampelos pareira L. leaf extracts. Annals of Phytomedicine 5(1): 91-98, 2016. ISSN: 2393-9885
109. Omenna, Emmanuel Chukwuma. ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF THE ALMOND LEAVES (TERMINALIA CATAPPA). International Journal of Nursing, Midwife and Health Related Cases.2015. Vol.1, No.2, pp.29-40,
110. Mohammad Shahriar, Mohiuddin Ahmed Bhuiyan, Sohel Rana. Characterization of Phytoconstituents and Exploration of Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Citrus assamensis Leaf. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018. 17(1) DOI:[10.3329/dujps.v17i1.37115](https://doi.org/10.3329/dujps.v17i1.37115)
111. Sima Kumari, R Elancheran, Rajlakshmi Devi. (2018) Phytochemical screening, antioxidant, antityrosinase, and antigenotoxic potential of Amaranthus viridis extract. Indian J Pharmacol; 2018. 50(3):130-138.
112. Римарева Л. Серба. Соколова Е. Борщева Ю. Игнатова Н. „Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности” ж. „Вопросы питания”.2017. т.86 №5. с. 63-70
113. Бакулин И.Г., Авалуева Е.Б., Семенова Е.А., Орешко Л.С., Серкова М.Ю., Ситкин С.И. Перспективы лечения глютен-ассоциированных заболеваний: о хлебе насущном, целиакии, белках глютена и не только...**Альманах клинической медицины** 2022. Том 50, № 6 С 367-376 <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2022-50-053>
114. Juhasz A, Haraszi R, Bekes F. Effects of Environmental Changes on the Allergen Content of Wheat Grain. In: Igrejas G, Ikeda TM, Guzman C, editors. Wheat Quality For Improving Processing And Human Health. Springer;. 2020. p. 453-470. doi: [10.1007/978-3-030-34163-3_19](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34163-3_19)
115. Juhasz A, Haraszi R, Maulis C. ProPepper: A curated database for identification and analysis of peptide and immune-responsive epitope composition of cereal grain protein families.Database (Oxford)2015. DOI:[10.1093/database/bav100](https://doi.org/10.1093/database/bav100)
116. Hans Michael Eßlinger. Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets.2009. DOI:[10.1002/9783527623488.ch8](https://doi.org/10.1002/9783527623488.ch8)
117. Biesiekierski Jessica R.. What is gluten? Journal of Gastroenterology and

118. Dymchenko Alan · Kirilenko Yulia · Ochkolyas Olena · Bal-Prylypko Larysa
Gluten-free beer with unmalted millet. January 2024. European Food Research and Technology 250(8):1-7
119. Nazarena Cela , Nicola Condelli , Marisa C. Caruso , Giuseppe Perretti , Maria Di Cairano , Roberta Tolve and Fernanda Galgano .(2020). Gluten-Free Brewing: Issues and Perspectives. Fermentation **2020**, 6(2), 53;
120. Partichelli C. Costa Conter Silveira V., Manfroí V. , Rodrigues R.C.
Exogenous enzymes for gluten-free beer production: A review of the industrial practice and its implications for scientific research. Innovative Food Science & Emerging Technologies **2024. Volume 95**.(2)
121. Monica Rubio-Flores & Sergio O. Serna-Saldivar. Technological and Engineering Trends for Production of Gluten-Free Beers. Food Engineering Reviews. 2016. Volume 8, pages 468–482
122. Mauro Fanari ,Mauro Forteschi ,Manuela Sanna ,Manuel Zinellu ,Maria Cristina Porcu ,Luca Pretti . Comparison of enzymatic and precipitation treatments for gluten-free craft beers production. Innovative Food Science & Emerging Technologies. Volume 49, October 2018, Pages 76-81.
123. Ronie, M.E. Zainol, M.K. Mamat, H. A review on the recent applications of gluten-free flour, functional ingredients and novel technologies approach in the development of gluten-free bakery products. Food Research.2021. 5(5):43-54
124. Šmídová Zuzana . Rysová Jana. Gluten-Free Bread and Bakery Products Technology. Foods .2022 .11(3):480 DOI:10.3390/foods11030480
125. Siminiuc Rodica . Țurcanu Dinu.(2023). Technological approaches applied in the design of gluten-free bakery products. Czech J. Food Sci., 2023, 41(3):155-172 |
126. Alibašić, H., Junuzović, H., Selimović, A., Selimović, A., & Brčina, T., (2020). Chemical Composition and Sensory Properties of Gluten-Free Crackers with Buckwheat Sourdough. International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology 2020 . 7(4):108-113
127. Perrault Lavanya, J., Gowthamraj, G., Hemalatha, V., Sadashiv, S. O., Sharath, R., & Sangeetha, N. (2023). Physicochemical, techno-functional and structural properties of gluten-free crackers developed from sorghum (*Sorghum bicolor* (L.)) International Journal of Food Science and Technology. May 2022 58(1) <https://www.researchgate.net/journal/International-Journal-of-Food-Science-Technology-1365-2621?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19>