

სსიპ – ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტი
ქიმიის დეპარტამენტი



ინგა ქარცივაძე

აჭარაში ინტროდუცირებული ციტრუსოვნების ბიოლოგიურად
აქტიური ნივთიერებები

წარდგენილია ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად
სპეციალობა: ბუნებრივ ნაერთთა ანალიზი

ა ნ ო ტ ა ც ი ა

ბათუმი - 2022

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის ქიმიის დეპარტამენტში.

დისერტაციის კვლევითი ნაწილი შესრულდა პროექტის ფარგლებში, რომელიც განხორციელდა მსოფლიო ბანკისა და სსიპ შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდის ფინანსური ხელშეწყობით გრანტი CARYS-19-615 „ფუნქციური საკვები პროდუქტების ტექნოლოგია“, გრანტი AP/96/13 და ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის „დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული ციტრუსოვნების ბიოაქტიური ნაერთების შესწავლა, მანდარინის ანარჩენის ქიმიური შედგენილობის კვლევა და მისი გადამუშავების მცირენარჩენიანი და ეკოლოგიურად სუფთა ტექნოლოგიის შემუშავება“ მეშვეობით.

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ალეკო კალანდია

პროფესორი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი.

შემფასებლები:

რუსუდან ხუხუნაიშვილი

პროფესორი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი, ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი;

ელენე გამყრელიძე

ასოცირებული პროფესორი, ქიმიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი, ქიმიური და გარემოსდაცვითი ტექნოლოგიების დეპარტამენტი, აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი;

ნანული ნადარაია

ქიმიის აკადემიური დოქტორი, იოველ ქუთათელაძის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტის მცენარეული ბიოპოლიმერების და ბუნებრივ ნაერთთა ქიმიური მოდიფიკაციის დეპარტამენტი, მთავარი მეცნიერ თანამშრომელი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი.

სადისერტაციო ნაშრომის დაცვა შედგება 2022 წლის ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოს სხდომაზე.

მისამართი: ბათუმი ნინოშვილის ქ. № 35

სადისერტაციო ნაშრომის გაცნობა შესაძლებელია ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში, ასევე უნივერსიტეტის ვებ გვერდზე www.bsu.edu.ge

შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო

მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის

სადისერტაციო საბჭოს მდივანი:

ნანა ზარნაძე

შესავალი

თემის აქტუალობა. მეციტრუსეობა დასავლეთ საქართველოს სოფლის მეურნეობის განვითარების პერსპექტიული დარგია. დასავლეთ საქართველოში, როგორც წესი 20-30 წელიწადში ერთხელ ცივი ზამთარია და ციტრუსოვნების ნარგაობანი მნიშვნელოვნად ზიანდება. ნოემბერში ხშირია სეტყვა და ყინვები, რაც ასევე ძალზე აზიანებს მცენარეს და მოსავალს. აქედან გამომდინარე, წლების განმავლობაში პლანტაციების გაშენება ხდებოდა მაღალი ყინვაგამძლეობის, ძირითადად სამირე ტრიფოლიატზე დამყნობილი ციტრუსოვანთა ნერგებით. ციტრუსოვანთა ნაყოფი არაკონკურენტულ გარემოში შეუცვლელი ხილი იყო და დეფიციტურიც. ქვეყნის ევროპული პერსპექტივები და დასავლეთთან ინტეგრირება გარკვეული გამოწვევების წინაშე აყენებს მეციტრუსეობს. ქვეყანაში მეციტრუსეობის განვითარება არა რაოდენობაზე უნდა იყოს გათვლილი (როგორც ეს ადრე ხდებოდა), არამედ ციტრუსები უნდა გაშენდეს იქ, სადაც ეს ნიადაგობრივ-კლიმატური პირობებითაა განპირობებული და უნდა გაშენდეს ისეთი ჯიშები, რომლებიც მაქსიმალურად მოერგება ჩვენს კლიმატს და მოგვცემს ისეთი ნაყოფის მოსავალს, რომლის ქიმიური შედგენილობა ევროპული რეგულაციების შესაბამისი იქნება.

აჭარის რეგიონში სოფლის მეურნეობის განვითარების სახელმწიფო გეგმის ფარგლებში შეიქმნა რამდენიმე საწარმო, მათ შორის ა(ა)იპ აგროსერვის ცენტრი, რომლის რამდენიმე ნაკვეთში გაშენებულია მსოფლიოს მრავალი ქვეყნიდან შემოტანილი და ადგილობრივი სხვადასხვა ჯიშის ციტრუსოვანთა ნერგი 20-მდე ჯიშის მანდარინი: ივასაკი, ოკუტუ ვასე, მიხო ვასე, სატსუმა, ნიჩინანი, №1, კლემენტინი, ნოვა, ამაკუსა, მურკუტი, ორტანიგუი, ქართული ტიახარა უნშიუ, კოვანო ვასე, კლემენტინი, იურა ვასე, მიკაიამა, ტაგუჩი, მიაგავა ვასე, უენო, ოპოცუ, 10-მდე ლიმონი, 5 ფორთოხალი, 5 გრეიფრუტი. ასევე მრავლადაა ვაზის, ფეიჰოას, ხურმის, ლურჯი მოცვის, ვაშლის, მსხლისა და სხვა კულტურათა ნერგები. ცნობილია, რომ მცენარის ზრდა-განვითარებაზე მოქმედებს მისი მოყვანის არა მარტო აგროტექნიკა, არამედ ნიადაგობრივ-კლიმატური პირობები. განსაკუთრებით მგრძნობიარენი ასეთ ცვლილებებზე სუბტროპიკული მცენარეებიდან ციტრუსოვნებია. ცენტრის ტერიტორიაზე გაშენებულ კულტურათა უმრავლესობა მსხმოიარეა და ბუნებრივია მნიშვნელოვანია ქიმიური შედგენილობის, სამეურნეო და ტექნოლოგიური მახასიათებლების და სხვა მონაცემთა დადგენა. შემოტანილ მცენარეთა გამრავლება უნდა მოხდეს მხოლოდ ამ მახასიათებლების დადგენით, მიღებული შედეგების შეჯერებით და ჯიშური სიწმინდის დაცვით.

პრობლემის კვლევის თანამედროვე მდგომარეობა საქართველოში, შეიძლება ითქვას, ძალზე მწირია. პრაქტიკულად არ არსებობს მონაცემები საქართველოს პირობებში ახალი ინტროდუცირებული მცენარეების ქიმიური შედგენილობის შესახებ. არსებობს არასრული ფიზიკო-ქიმიური მონაცემები დასავლეთ საქართველოს აგრო-კლიმატურ პირობებში ადრე გავრცელებული ციტრუსების ნაყოფების შესახებ. კვლევები ძირითადად ჩატარებულია 20-30 წლის წინ, ბუნებრივია მაშინ შესაძლო ტექნიკური საშუალებებით. რაც შეეხება ინფორმაციას საქართველოში ახალი ინტროდუცირებული მცენარეების შესახებ ის არ არსებობს. მცენარე კლიმატური და ნიადაგობრივ-ეკოლოგიური მდებარეობის შეცვლის შედეგად იცვლის ქიმიურ შედგენილობასაც. მცენარის სრულფასოვანი ინტროდუცირება, დარაიონება და გავრცელება შესაძლებელია მხოლოდ მისი სრული ფიზიკო-ქიმიური შესწავლის შემდეგ. ასეთი ინფორმაცია არა მარტო თეორიული მნიშვნელობისაა, არამედ აქვს უდიდესი პრაქტიკული დატვირთვა.

მიღებული შედეგებით შესაძლებელია მცენარეთა პასპორტიზაცია, დარაიონება და პრაქტიკული რჩევების გაცემა.

ასევე უდიდესი მნიშვნელობა აქვს ციტრუსოვანთა გადამუშავების ნარჩენების შესწავლას, კერძოდ, მანდარინის ნაყოფების სამრეწველო გადამუშავების ნარჩენები დაბალი ღირებულებებისა და ადვილი ხელმისაწვდომობის გამო, რომელიც სხვა მხრივ შეიძლება გადაიყაროს გარემოში, შეიძლება მივიჩნიოთ ნუტრიცევტიკების მნიშვნელოვან წყაროდ. ბიოაქტიური ნაერთებით მდიდარი წარმოებისათვის არასასურველი ნარჩენები შეიძლება გადამუშავდეს, როგორც დამატებითი ღირებულების საკვებ დანამატებად, რომლებიც თავის მხრივ შეიძლება გამოვიყენოთ ფუნქციონალური დანიშნულების კვების პროდუქტების შემუშავებაში.

ციტრუსოვანთა ნარჩენები წყლის მაღალი შემცველობის გამო მალფუჭებადია, სწრაფად იწყება მიკრობული დუდილის, ამჟავების და სხვა პროცესები, მათი შენახვა შესაძლებელია მხოლოდ 2-3 დღე-ღამე. საქართველოში არსებულ წვენების დამამზადებელ საწარმოებში დღე-ღამის განმავლობაში წარმოიქმნება დაახლოებით 160-180 ტონა ნარჩენი, რომლის უწყვეტ რეჟიმში გადამუშავება, რაციონალური ტექნოლოგიის არსებობის შემთხვევაშიც კი შეუძლებელია. სწორედ ამიტომაც აუცილებელია, მანდარინის გადამუშავების ნარჩენების შენახვის გახანგრძლივების მიზნით გამოყენებული იყოს დამუშავების (შენახვის) სხვადასხვა მეთოდი, მოხდეს ფიზიკო-ქიმიური მაჩვენებლების შესწავლა მათი შემდგომი გამოყენების მიზნით, მცირენარჩენიანი ან უნარჩენო ტექნოლოგიების შემუშავება.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თანამედროვე ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით შეგვესწავლა საქართველოში გავრცელებული მანდარინის (Unshiu) და (ა(ა)იპ აჭარის ა.რ. სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ცენტრის ტერიტორიაზე ინტროდუცირებული, ახალი სხვადასხვა ჯიშის ციტრუსოვანთა ნაყოფების ქიმიური შედგენილობა და შეგვეფასებინა მიღებული ცვლილებები; სამრეწველოდ გაშენებული მანდარინის ნაყოფის წვენის წარმოების დროს წარმოქმნილი ანარჩენის ქიმიური შედგენილობის შესწავლა; მაქსიმალურად ეკოლოგია დამზოგავი და მაქსიმალურად გამარტივებული ტექნოლოგიის გამოყენება ანარჩენიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მისაღებად; მიღებული პრეპარატების ქიმიური შედგენილობის შესწავლა.

მეცნიერული სიახლე - საქართველოში პირველად შესწავლილ იქნა ინტროდუცირებული და ადგილობრივი ციტრუსოვნების: მანდარინის 11 და ვაშინგტონის 5 ჯიშის ბიოაქტიური ნაერთების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობა HPLC-UV, RI, კონდუქტომეტრული და UPLC-PDA, MS მეთოდების გამოყენებით, პრეპარატიული და ანალიზური სვეტების, სხვადასხვა სორბენტის და გამხსნელის მეშვეობით. თითოეულ ჯიშში დადგენილ იქნა ფენოლური ნაერთების, ნახშირწყლების, ორგანული მჟავების, ვიტამინების, მინერალური ნივთიერებების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემადგენლობა. თანამედროვე ფიზიკო-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით ინდივიდუალურად გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული იქნა 8 ფლავონოიდი და 3 ანტოციანი, ციტრუსოვანთა კანისაგან მიღებული ეთერზეთის შემადგენლობაში დაფიქსირებული იქნა 82-მდე კომპონენტი, ამათგან იდენტიფიცირებულია 23 კომპონენტი. დადგინდა მათი რაოდენობრივი შემცველობა. სხვადასხვა მეთოდების, მათ შორის სუპერკრიტიკული წნევის ფლუიდური, ულტრაბგერითი, მაღალი წნევის და ტემპერატურის წყლით ექსტრაქციის გამოყენებით, შემუშავდა ციტრუსოვანთა წვენის

წარმოების ანარქიზების გადამუშავების, პრაქტიკულად უნარჩენო ტექნოლოგია და მიღებული იქნა სხვადასხვა ბიოაქტიური პრეპარატი.

ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა - აღნიშნულ კვლევებს აქვს არა მარტო სამეცნიერო, არამედ პრაქტიკული და სოციალური ღირებულება. კერძოდ, მიღებული შედეგების დამუშავებითა და შეჯერებით შესაძლებელი გახდება მეცნიერულად დასაბუთებული კვლევების საფუძველზე შეიქმნას რეგიონის ბუნებრივი პირობების გათვალისწინებით მისადაგებული ციტრუსოვანთა მცენარეები. ჯიშების შერჩევას ასევე გათვალისწინებული უნდა იყოს ნაყოფის არა მარტო კარგი საგემოვნო თვისებები, არამედ ის უნდა გამოირჩეოდეს ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მაღალი შემცველობით. დღემდე ასეთი ინფორმაცია არ არსებობდა. მიღებული სამეცნიერო ინფორმაცია ხელს შეუწყობს ფერმერებს განაახლონ თავიანთი პლანტაციების ფართობები ადრეული საადრეო, საადრეო და საგვიანო ციტრუსთა ახალი ჯიშებით და გაზარდონ გასაყიდი მოსავლის პარტიების მოცულობა. საქმიანობის სწორად დაგეგმვისა და კარგი მენეჯმენტის პირობებში ციტრუსის პლანტაცია ძალიან მომგებიანია და მას მცირემიწიანი ფერმერებისთვის სერიოზული ეკონომიკური ეფექტის მოტანა შეუძლია. ასევე ციტრუსის ნაყოფის გადამამუშავებელი კომპანიებისათვის მნიშვნელოვანია ანარქიზის ფიზიკო-ქიმიური მაჩვენებლების შესწავლა მათი შემდგომი გამოყენების მიზნით, მცირეანარქიზიანი ან უნარჩენო ტექნოლოგიების შემუშავება.

კვლევის ობიექტი, მასალა და მეთოდთა კომპლექსი: კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული (ა)იპ აგროსერვის ცენტრის ტერიტორიაზე (მსოფლიოს მეციტრუსეობის ზონებიდან შემოტანილი) და კერძო ნაკვეთებში გაშენებული ციტრუსოვანთა ნაყოფები (მანდარინის 10: ივასაკი, ოკუცუ ვასე, სატსუმა, ნანკანი-20, კლემენტულესი, იურა ვასე, მუკოიამა, ტაგუჩი, მიაგავა ვასე, ტიახარა უნშიუ, ფორთოხლის 4 ჯიში: სეიკე ნაველი, ფუკუმოტო, სანგვინელი, ვალენსია დელტა). შედარებისათვის ავიღეთ ჩვენში გავრცელებული ადგილობრივი მანდარინი უნშიუ და ვაშინგტონ ნაველი. ასევე კვლევებისათვის გამოყენებული იქნა შ.პ.ს. GIAMGI (ქობულეთი) ციტრუსის წვენის სამრეწველო მიღების შემდგომ წარმოქმნილი მანდარინის ნარჩენი (გამონაწეხი-კანი, რბილობის ნაწილებით).

ნაყოფები ავიღეთ 2016-2018 წლებში სხვადასხვა თვეში სამომხმარებლო სიმწიფის პერიოდში, კერძოდ, მანდარინის საადრეო ჯიშები (იურა ვასე, მიაგავა ვასე, ტაგუჩი, ოკუცუ ვასე, ივასაკი) ოქტომბრის პირველ ნახევარში და საგვიანო ჯიშები (მუკოიამა, ტიახარა, კლემენტულესი, ნანკანი 20 და სატსუმა კლაუზელინა, ადგილობრივი უნშიუ) ნოემბრის შუა რიცხვებში. ჭიპიანი ანუ ნაველების ჯგუფის საგვიანო (ვალენსიას) ჯიშის ფორთოხლებისგან ვალენსია დელტა აღებულ იქნა დეკემბრის ბოლოს, საადრეო (ნაველინა) და საშუალო მწიფადი (ფუკუმოტო ნაველი, სეიკე ნაველი) ჯიშები კი ნოემბრის ბოლოს, ხოლო წითელნაყოფა ფორთოხალი სანგვინელი დეკემბრის ბოლოს. საკვლევი ობიექტები გაშენებულია ზღვის დონიდან 350მ² სიმაღლეზე (ა)იპ აგროსერვის ცენტრის ტერიტორიაზე ჩრდილო დასავლეთ ნაწილში. აღნიშნული ჯიშები დამყნობილ იყო საძირე ტრიფოლიატაზე. ნაყოფები მოიკრიფა მცენარის ოთხივე მხრიდან, როგორც შიგნითა, ასევე გარე პერიფერიებიდან. საანალიზოდ ავიღეთ მათი საშუალო ნიმუშები.

ნივთიერებების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია განხორციელდა მაღალი წნევის სითხური და ულტრამაღალი წნევის სითხური მასს-სპექტრალური ქრომატოგრაფირების (UPLC) მეთოდით; ნაერთების (საერთო ფენოლები, ფლავონოიდები, ანტოციანინები, კაროტინოიდები, პექტინი)

რაოდენობრივი შემცველობა და ანტიოქსიდანტური აქტიურობა განისაზღვრა სპექტრალური მეთოდით;

სამუშაოს აპრობაცია - კვლევის შედეგები ასახულია 3 სამეცნიერო სტატიასა და 8 საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენციის მასალებში.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა - დისერტაცია შედგება 118 ნაბეჭდი გვერდისაგან, დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაციის გაფორმების ინსტრუქციის მიხედვით და მოიცავს სატიტულო და ხელმოწერების გვერდებს, შინაარსს, სურათს 67, ცხრილის ნუსხას 20, დიაგრამას 14, სქემას 3 და გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხას - 145 ერთეულს. ძირითადი ტექსტის შემადგენლობაშია: შესავალი, ლიტერატურული მიმოხილვა, შედეგების განსჯა, ექსპერიმენტული ნაწილი, დასკვნა და გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალი.

ლიტერატურული მიმოხილვა - ნაშრომის პირველ თავში განხილულია მცენარე ციტრუსოვნების ბიოაქტიური ნაერთები, ფლავონოიდური გლიკოზიდები, ფენოლური ნაერთების გავრცელება მცენარეებში, მათი ფიზიოლოგიური აქტივობა და დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული ციტრუსოვნების ბიოლოგიური დახასიათება. დისერტაციას თან ახლავს გამოყენებული ლიტერატურის სია.

თავი 2. დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის ტექნიკური მახასიათებლები და წვენი ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური მაჩვენებლები

ჩვენ შევისწავლეთ, როგორც ადგილობრივი მანდარინ უნშიუსა და ვაშინგტონ ნაველის ნაყოფები, ასევე რეინტროდუცირებული მანდარინისა (10 ჯიში) და ფორთოხლის (4 ჯიში) ნაყოფები.

ნაყოფები მრგვალი ფორმისაა, ხასიათდებიან მოყვითალო - მომწვანო ფერით, მოტკბო - მომჟავო და ტკბილი გემოთი. ოკუცუ ვასეს, მუკოიამასა და ივასაკის ნაყოფები შედარებით დიდი ზომისაა და მათი საშუალო მასა 91გ-100 გ, ხოლო იურა ვასეს ნაყოფები მასით ყველაზე პატარაა-45გ, მაგრამ ხასიათდება კარგი ორგანოლექტიკური მაჩვენებლებით (გემო) (ცხრილი №1). კვლევისათვის აღებულ იქნა 1კგ ნიმუში და განისაზღვრა მათი ორგანოლექტიკური და ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური მახასიათებლები: ნაყოფის ზომა, ფერი, ფორმა, მასა, მოცულობა, წვენი გამოსავალი, აქტიური მჟავიანობა (pH), ტიტრული მჟავიანობა, მშრალი ნივთიერება (Brix), შაქარმჟავა ინდექსი.

მანდარინის ნაყოფებიდან წვენი გამოსავალმა შეადგინა 29,2 – 58,0 %, კერძოდ ყველაზე დაბალია მაჩვენებელი ივასაკის ნაყოფიდან 29,2 % და მაღალია ნანკანი - 20 ის შემთხვევაში (58 %).

დიაგრამებზე №1, №2-ზე წარმოდგენილია სამი წლის (2016-2018) საშუალო მონაცემები (როგორც საგვიანო, ისე საადრეო) (იხ. დანართი №1). ტაგუჩი ვასეს, ნანკანი-20-ს, სატსუმას, ტიხარა უნშიუს, ივასაკისა და კლემენტულესის ნიმუში გამოირჩეოდა მშრალი ნივთიერებების მაღალი (9,7 – 10,2 %) და ტიტრული მჟავების დაბალი შემცველობით (0,59 – 0,96 %), რაც განსაზღვრავს შაქარმჟავა ინდექსის მაღალ მაჩვენებელს (10,1 – 17,28) და შესაბამისად მანდარინის ნაყოფის ხარისხს. ყოველივე ეს კი ჩვენში წარმოებულ მოსავალს მისაღებს ხდის

ვეროპული ბაზრისათვის, ხოლო მუკოიამასა და მიაგავა ვასეს წვენში ტიტრული მჟავიანობის მაღალი კონცენტრაცია (1,22 და 1,03 %) განაპირობებს შაქარმჟავა ინდექსის დაბალ მაჩვენებელს (8,03 – 8,6), რაც არ არის შესაბამისობაში სტანდარტთან (ბაზრის მოთხოვნა). რაც შეეხება ადგილობრივ უნშიუს , ტიტრული მჟავიანობა 1%-ია, ხოლო შაქარმჟავა ინდექსი 9 -ზე მეტია.

მანდარინის ნაყოფების ტექნიკური მახასიათებლები

ცხრილი № 1

ნიმუშის დასახელება	მანდარინის ნაყოფის ტექნიკური მაჩვენებლები						
	გემო	ფერი	ფორმა	ზომა,მმ		მასა ერთი ცალის, გ	მოცულობა ერთი ცალის, მლ.
				სიგრძე	სიგანე		
ტაგური ვასე	მოტკბო-მომჟავო	ყვითელი	მრგვალი	42.33±0.51	51.33±0.62	80±0.76	86±0.82
ოკუცუ ვასე	მოტკბო	ყვითელი	მრგვალი	65.08±0.78	75.80±0.91	91±0.86	95±0.83
მიაგავა ვასე	მომჟავო	მოყვითალო-მომწვანო	მრგვალი	50.23±0.60	67.69±0.81	87±0.83	91±0.77
ივასაკი	მოტკბო	მოყვითალო	მრგვალი	73.13±0.88	100.22±1.2	100±0.95	108±0.92
იურა ვასე	ტკბილი	ყვითელი	მრგვალი	40.73±0.49	51.55±0.62	45±0.43	49±0.67
ნანკანი-20	მომჟავო-მოტკბო	ყვითელი, ლაქებით	მრგვალი	43.95±0.53	58.84±0.71	85±0.81	89±0.80
მუკოიამა	მომჟავო	მომწვანო-მოყვითალო	მრგვალი	60.58±0.73	74.01±0.89	96±0.91	103±0.87
სატსუმა	მომჟავო-მოტკბო	მოყვითალო	მრგვალი	66.36±0.80	70.78±0.85	81±0.77	87±0.73
ტიახარა	მომჟავო	მოყვითალო მომწვანო	მრგვალი	57.23±0.69	67.36±0.81	79±0.75	85±0.71
კლემენტულესი	მომჟავო-მოტკბო	მომწვანო-მოყვითალო	მრგვალი	52.39±0.63	57.90±0.69	86±0.82	92±0.77
უნშიუს	მომჟავო-მოტკბო	მოყვითალო-მომწვანო	მრგვალი	55.34±0.66	60.21±0.72	98±0.93	104±0.92

ფორთოხლის ნიმუშები აღებულ იქნა ნოემბრის ბოლოს სრული სიმწიფის პერიოდში. ნაყოფები მომრგვალო, მოგრძო-ოვალური ფორმისა, მოყვითალო-ნარინჯისფერი იყო, მომჟავო-მოტკბო გემოთი. ნაყოფის საშუალო მასა შედარებით დიდი აქვს ფუკუმოტოსა (208გ) და სანგვინელის (224 გ) ნაყოფებს, ხოლო დანარჩენი ნაყოფების მასები თითქმის თანაბარია (182 გ-195 გ) (ცხრილი №2).

ფორთოხლის ნიმუშებისგან მშრალი ნივთიერებების მაღალი (9.2%) და ტიტრული მჟავიანობის დაბალი შემცველობით ხასიათდება ფუკუმოტო. ხოლო მშრალი ნივთიერების შედარებით დაბალი და მჟავიანობის მაღალი მაჩვენებლით ხასიათდება ვალენსია დელტა-8.1%, შესაბამისად დაბალია შაქარმჟავა ინდექსის რაოდენობა, რაც აისახება მის გემურ თვისებებზე. მაღალია წვენის გამოსავალი ფუკუმოტოს შემთხვევაში (54%), დანარჩენი ნიმუშები კი გამოირჩევიან წვენის გამოსავლიანობის თითქმის თანაბარი რაოდენობით (45-48%) (დიაგრამა №3, იხ.დანართი №1).

ფორთოხლის ნაყოფების ტექნიკური მახასიათებლები

ცხრილი №2

№	ნიმუშის დასახელება	ფორთოხლის ნაყოფის ტექნიკური მაჩვენებლები						
		გემო	ფერი	ფორმა	ზომა,მმ		მასა ერთი ცალის, გ	მოცულობა ერთი ცალის, მლ
					სიგრძე	სიგანე		
1	ვალენსია დელტა	მოტკბო-მომჟავო	მოყვითალო-მომწვანო	მრგვალი	69.3±0.83	75.7±0.91	192±1.82	200±1.90
2	სეიკე ნაველი	მოტკბო-მომჟავო	ნარინჯისფერი	მოგრძო-ოვალური	73±0.88	70±0.84	195±1.85	204±1.80
3	ნაველი	მოტკბო-მომჟავო	მოყვითალო-მომწვანო	მოგრძო-ოვალური	80±0.96	86±1.03	182±1.73	189±1.69
4	ფუფუმოტო ნაველი	მოტკბო-მომჟავო	ნარინჯისფერი	მომრგვალო	70±0.84	71±0.85	208±1.98	212±1.94
5	სანგვინელი	მოტკბო-მომჟავო	მწვანე-მოყვითალო ელფერით	ოვალური	73.3±0.88	63.8±0.77	224±2.13	230±2.19

ნაყოფის ქიმიური შემცველობა დამოკიდებულია მთელ რიგ ფაქტორზე, მათ შორის კლიმატურ პირობებზე. კერძოდ, ნაყოფის ვეგეტაციისას, დამწიფების პროცესში არსებული ტემპერატურული რეჟიმი მნიშვნელოვნად მოქმედებს, როგორც შაქრების დაგროვებაზე, ასევე მჟავიანობის შემცირებაზე.

როგორც დაკვირვების შედეგებმა გვიჩვენა, 2016–2018 წლებში შეგროვილი ნიმუშების წვენებში Brix მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა. ტიტრული მჟავიანობა მაღალი იყო ფორთოხლის წვენში, ვიდრე მანდარინის წვენში. მანდარინის საადრეო ჯიშებისგან შაქარმჟავა ინდექსი დაბალი იყო მიაგავა ვასეს წვენში- 8,6%, საგვიანო ჯიშებისგან მუკოიამაში -8,03 %, რაც პირდაპირ კავშირშია მაღალ მჟავიანობასთან. (ტიტრული მჟავიანობის მაღალი მაჩვენებელი საადრეო ჯიშებისგან მიაგავა ვასეს წვენში 1%-ია, ხოლო საგვიანო ჯიშებისგან მუკოიამას წვენში- 1,22%) (დიაგრამა №3, იხ.დანართი №1).

შაქარმჟავა ინდექსის მაღალი მაჩვენებელი, როგორც ციტრუსის ნაყოფის ხარისხის ერთ-ერთი მთავარი მახასიათებელი მიუთითებს მანდარინის მაღალ ხარისხზე. აღმოჩნდა, რომ pH-ის მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად იცვლება სეზონებს შორის(2016- 2018წელს) და ასევე ჯიშებს შორის. 2018 წლის შემოდგომაზე აღებული ნიმუშების უმრავლესობაში pH უფრო მაღალი იყო, ვიდრე 2016 წელს. ეს შეიძლება მიუთითებდეს იმაზე, რომ სეზონური განსხვავებები გავლენას ახდენს პარამეტრებზე, როგორცაა ხილის pH. გარდა ამისა, ცხადია, რომ ციტრუსის წვენის ამ მახასიათებლებისათვის მიღებული შედეგების ცვალებადობაში, ჯიშებს შორის სხვაობა უფრო მეტ როლს ასრულებს, ვიდრე სეზონური განსხვავებები (დიაგრამა №4, იხ.დანართი №1).

თავი 3. ჰესპერიდინის და სხვა ფლავონების ექსტრაქციის ოპტიმიზაცია და მეთოდის მოდიფიცირება ციტრუსოვანთა ნედლეულთან მიმართებაში

დღეისათვის არ არსებობს ვალიდირებული მეთოდიკა ფლავონოიდური გლიკოზიდების განსაზღვრის დროს ექსტრაგენტის გამოყენებასთან დაკავშირებით.

ექსტრაქციის პირობების დასადგენად გამოყენებული იყო ჩვენ ხელთ არსებული სტანდარტული ჰესპერიდინი (Sigma-Aldrich), ასევე ჩვენ მიერ მიღებული და გადაკრისტალებული ნაერთები. ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობების დასადგენად აღებული იყო თითო მგ ჰესპერიდინი და სხვადასხვა გამხსნელი: ეთანოლი, ეთანოლში DMSO–ს (დიმეთილსულფოქსიდი) სხვადასხვა კონცენტრაციის (10, 20, 30, 40 და 50%-იანი) ხსნარები და ულტრაბგერითი დამუშავებით. ჰესპერიდინის სრული ხსნადობის დასადგენად ჩატარდა მიღებული ხსნარების UV სპექტრის სკანირება და UPLC-PDA-MS ანალიზი (ცხრილი № 3).

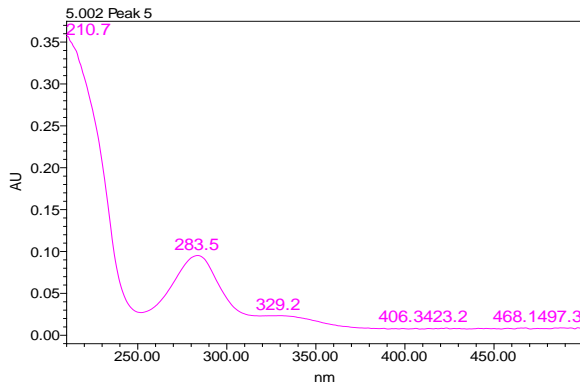
ჰესპერიდინის ხსნადობა სხვადასხვა გამხსნელში UPLC-PDA-MS და UV სპექტრის მახასიათებლები

ცხრილი №3

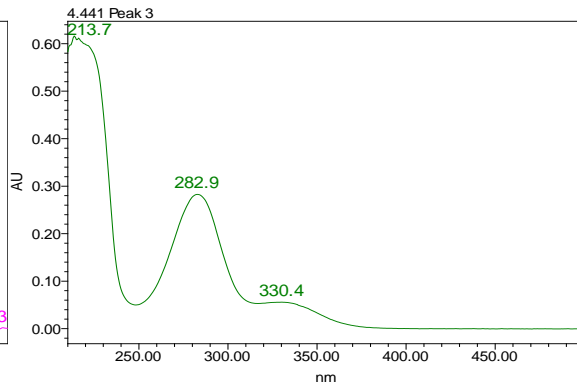
დასახელება	ექსტრაქცია	შეკავების დრო	პიკის ფართობი	რაოდ. მგ/მლ	%	λ მაქს. 283 ნმ
ჰესპერიდინი 1	1.04 მგ/მლ +96%ეთანოლი	5,054	4777205	0,269	31,64	0,1
ჰესპერიდინი 2	1.03მგ/მლ+20%DMSO/ეთანოლი	4,739	9053003	0,509	59,95	0,3
ჰესპერიდინი 3	1.03მგ/მლ+30%DMSO/ეთანოლი	4,743	10226226	0,575	67,72	1,3
ჰესპერიდინი 4	1.11მგ/მლ+50%DMSO/ეთანოლი	4,749	10559702	0,594	84,68	1,7
ჰესპერიდინი 5	1.11მგ/მლ+50%DMSO/ეთანოლი ულტრაბგერითი აბაზანა	4,745	15100697	0,849	100,00	2,1

ჰესპერიდინის ხსნადობა წყალში პრაქტიკულად არ შეიმჩნევა. ხსნარზე 96%-იანი სპირტის დამატება ხსნადობას ზრდის, მაგრამ ეს შედეგი ჯერ კიდევ ძალიან მცირეა, რადგან პრეპარატის აღებული 1 მგ მასიდან მხოლოდ 30-35 %-მდე იხსნება (0.27 მგ/მლ; შთანთქმა 283 ნმ-ზე -0.1 -ია) (სურათი 1). გამხსნელში წყლის ნაცვლად 20%-იანი DMSO/ეთანოლის დამატება, ჰესპერიდინის ხსნადობას მნიშვნელოვნად ზრდის - 60%-მდე (0.51 მგ/მლ, შთანთქმა 283 ნმ-ზე 0.3-ია) (სურათი 2), ხსნარში 30% DMSO/ეთანოლის კი 70%-მდე ზრდის მაჩვენებლებს (0.57 მგ/მლ, შთანთქმა 283 ნმ-ზე -1.3) (სურათი 3), 40%-იანი DMSO/ეთანოლის 75%-მდე, 50 %-იანი DMSO/ეთანოლის დამატება კი მაჩვენებელს 85%-მდე (0.59მგ/მლ, შთანთქმა 283 ნმ-ზე -1.7) (სურათი 4), ხოლო 50% DMSO/ეთანოლის და გამოყენებისას ხსნარის ულტრაბგერით აბაზანაში დამუშავებისას მიიღება სრული ხსნადობა (0.85მგ/მლ, შთანთქმა 283 ნმ-ზე 2.0-ზე მეტი)

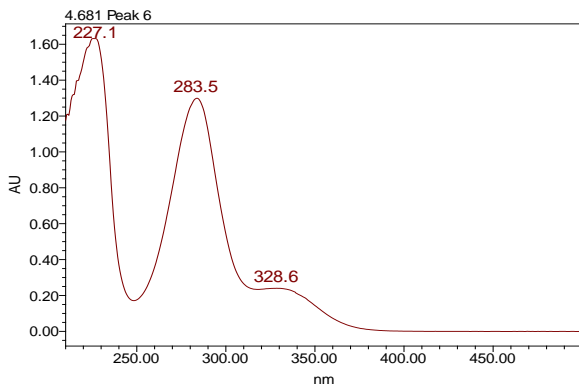
(სურათი 5). მიღებული შედეგებით გაკეთდა დასკვნა, რომ საუკეთესო შედეგი მიიღება ნიმუშის 50%-იანი DMSO/ეთანოლის ულტრაბერითი დამუშავებით.



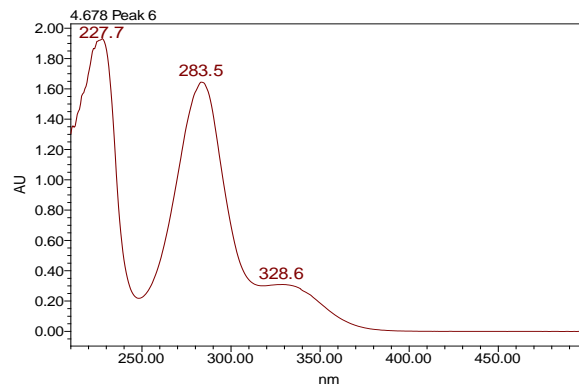
სურ.1 ჰესპერიდინი 1, სპექტრი 210-500 ნმ



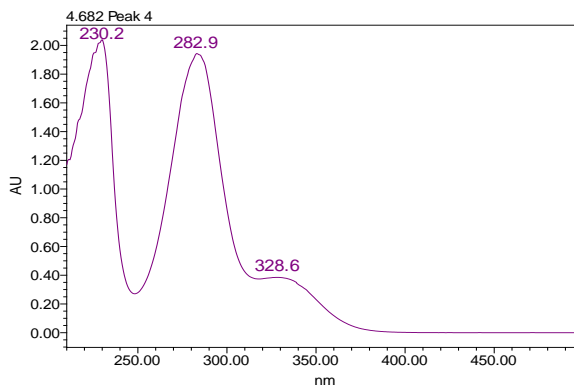
სურ.2 ჰესპერიდინი 2, სპექტრი 210-500 ნმ



სურ.3 ჰესპერიდინი 3, სპექტრი 210-500 ნმ



სურ.4 ჰესპერიდინი 4, სპექტრი 210-500 ნმ



სურ.5 ჰესპერიდინი 5, სპექტრი 210-500 ნმ

კვლევები ჩატარდა მანდარინის წვენების კვლევის ოპტიმალური პირობების დასადგენად. წვენი აუცილებლად შეიცავს შეწონილ ნაწილაკებს და მისი დამუშავების სხვადასხვა მეთოდი იძლევა განსხვავებულ შედეგებს. კვლევის დროს ცენტრიფუგირების და ნალექის მოცილების სხვა საშუალებების გამოყენება არ იძლევა ფენოლური ნაერთების შემცველობის რეალურ სურათს, რადგანაც ფლავონოიდური გლიკოზიდების, მათ შორის ჰესპერიდინის ძირითადი ნაწილი სწორედ შეწონილ კოლოიდურ ნაწილაკებშია. მანდარინის წვენში ჰესპერიდინის შემცველობის დასადგენად შევადარეთ 5 ვარიანტი: 1- მანდარინის წვენი; 2-მანდარინის წვენი DMSO/წყალი

(1/1); 3-მანდარინის წვენი ეთანოლი; 4-მანდარინის წვენი 50%-იანი DMSO/ეთანოლი; 5-მანდარინის წვენი 50%-იანი DMSO/ეთანოლი ულტრაბგერითი აბაზანა (ცხრილი №4).

მანდარინის წვენში ჰესპერიდინის შემცველობა

ცხრილი №4

#	ნიმუში	შეკვების დრო	პიკის ფართობი	რაოდენობა მგ/მლ
1	მანდარინის წვენი	4,727	802306	0,09
2	მანდარინის წვენი + DMSO/წყალი (1/1)	4,731	1391705	0,30
3	მანდარინის წვენი + ეთანოლი	4,735	1326592	0,29
4	მანდარინის წვენი + 50%DMSO/ეთანოლი	4,727	4187768	0,92
5	მანდარინის წვენი + 50%DMSO/ეთანოლი ულტრაბგერითი აბაზანა	4,718	4416754	0,97

მანდარინის წვენის ანალიზისას ყოველგვარი დანამატის გარეშე მხოლოდ ცენტრიფუგირებით და გაფილტვრით, ჰესპერიდინის შემცველობა მხოლოდ 0,09 მგ/მლ-შია. მანდარინის წვენზე DMSO/წყალი დამატებით ეს მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად მატულობს და 0,3 მგ/მლ შეადგინა; მანდარინის წვენზე ეთანოლის დამატებით მაჩვენებელი უმნიშვნელოდ იცვლება 0,29 მგ/მლ; 50%-იანი DMSO/ეთანოლი ნარევის დამატებით ჰესპერიდინის შემცველობა 3-ჯერ მეტია (0,92 მგ/მლ), ხოლო მანდარინის წვენზე 50%-იანი DMSO/ეთანოლის დამატებით ულტრაბგერითი აბაზანაში დამუშავებით ჰესპერიდინის შემცველობის მაჩვენებელი 0,97 მგ/მლ შეადგენს.

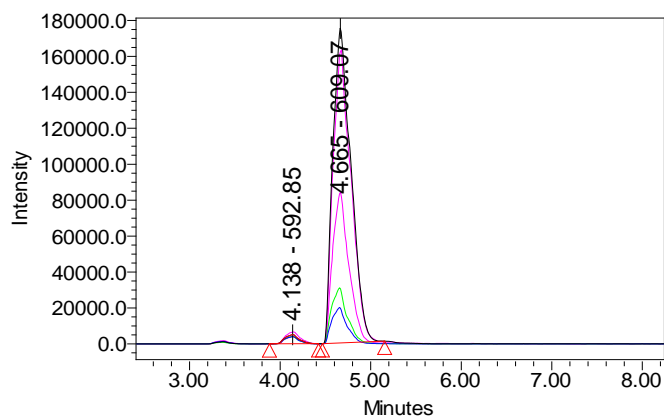
ასევე საინტერესო იყო დაგვედგინა ფლავონოიდური გლიკოზიდების სრული ექსტრაქციის პირობა ციტრუსის სხვა ნაწილებიდან (კანი, რბილობი, გამონაწნეხი). ჰესპერიდინის და სხვა ფლავონების შემცველობის დასადგენად შევადარეთ 5 ვარიანტი: 1- მანდარინის კანის ექსტრაქცია წყლით, 2-მანდარინის კანი 50%-იანი DMSO/წყალი, 3-- მანდარინის კანი 96%-იანი ეთანოლი, 4- მანდარინის კანი 50%-იანი DMSO/ეთანოლი, 5- მანდარინის კანი 50%-იანი DMSO/ეთანოლი ულტრაბგერითი აბაზანა (ყველა შემთხვევაში თანაფარდობა ნიმუშსა და გამხსნელს შორის იყო 1:10) (ცხრილი №5).

მანდარინის კანში ჰესპერიდინის შემცველობა

ცხრილი № 5

#	ნიმუშის ექსრაქცია	შეკვების დრო	ფართობი	რაოდენობა მგ/კგ ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით
1	მანდარინის კანი+წყალი	4,654	237383	124,43
2	მანდარინის კანი+ DMSO/წყალი (1/1)	4,663	1052559	510,25
3	მანდარინის კანი+ ეთანოლი	4,654	374670	247,84
4	მანდარინის კანი +50%DMSO/ეთანოლი	4,668	2266385	1386,12
5	მანდარინის კანი+ 50%DMSO/ეთანოლი ულტრაბგერითი აბაზანა	4,665	2434763	1397,61

მიღებული შედეგებით დადგინდა, რომ ნიმუშებზე 50%-იანი DMSO/ეთანოლის დამატებით ულტრაბგერით აბაზანაში დამუშავებით ჰესპერიდინის შემცველობის მაქსიმალურ მაჩვენებელი მიიღება და ეს ოპტიმალურ პირობად მივიჩნიეთ (სურათი 6).



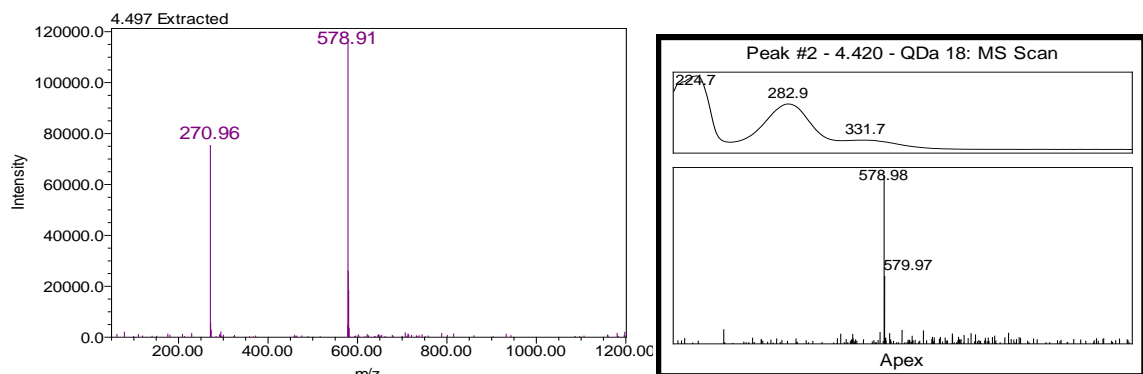
სურათი 6. მანდარინის კანის ჰესპერიდინის ქრომატოგრამა სხვადასხვა გამსხნელით დამუშავებისას

თავი 4. აჭარაში ინტროდუცირებული ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის ქიმიური შემადგენლობის თვისობრივი კვლევა UPLC PDA-MS დეტექტორით

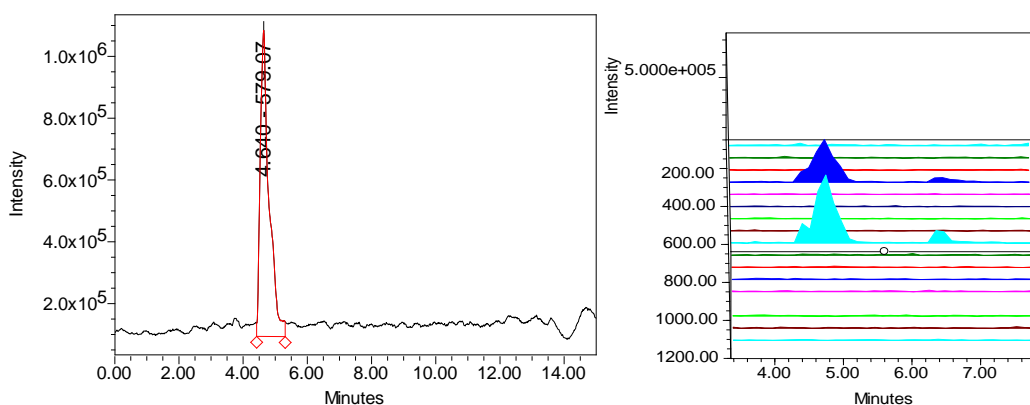
4.1 ფენოლურ ნაერთთა კვლევა

ციტრუსოვანთა ნაყოფებისგან ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა ხდებოდა სვეტის ქრომატოგრაფირებით, ასევე პრეპარატიული მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდით, ულტრაიისფერი, რეფრაქტომეტრული ინდექსის დეტექტირების მეშვეობით, ხოლო იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული იყო ულტრა ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფირება (UPLC) მას (MS) და ფოტოდოდური მატრიცული (PDA) დეტექტორი. ნაერთების რაოდენობრივი ანალიზი ჩატარდა UPLC-PDA-MS, HPLC-UV, IR, Conductivity დეტექტირების მეთოდის გამოყენებით.

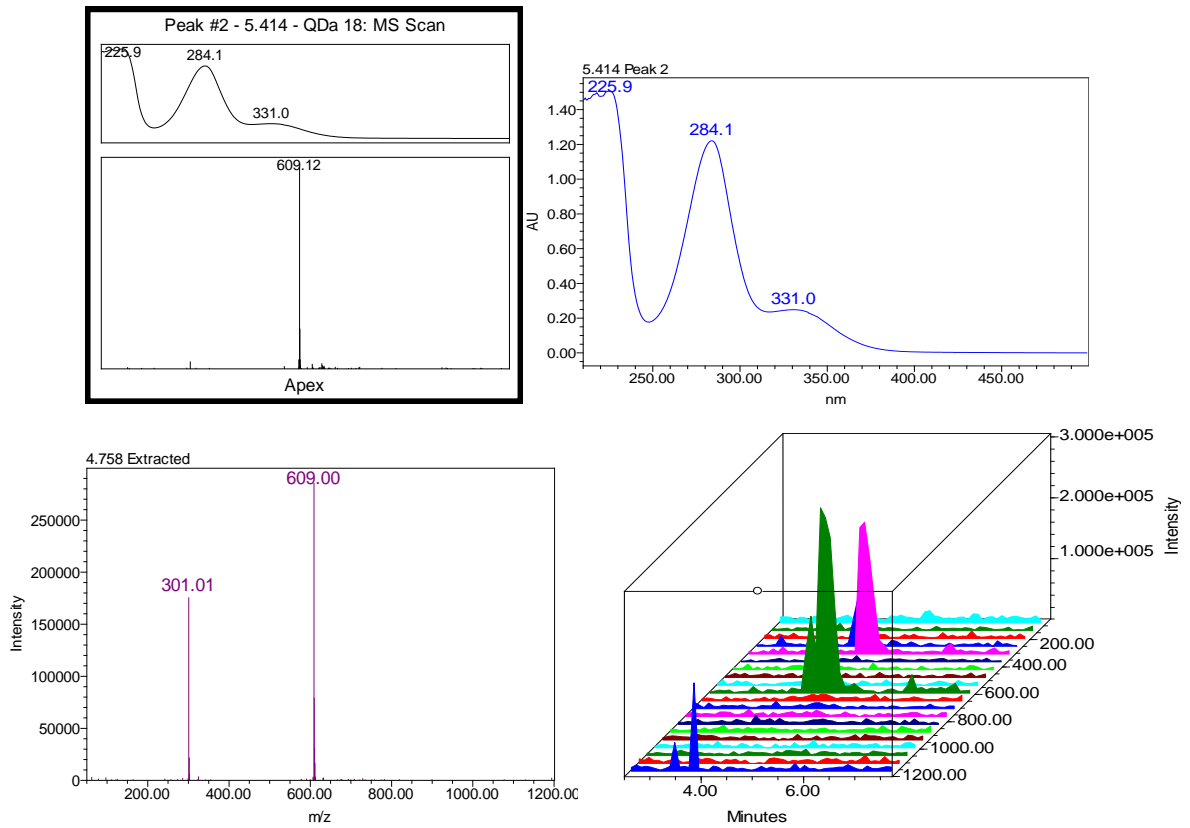
ნივთიერებათა იდენტიფიკაციისა და რაოდენობრივი ანალიზისათვის გამოყენებული იქნა ჩვენ ხელთ არსებული სტანდარტული ნაერთები (ჰესპერიდინი, ნარინგინი) და ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზა, ასევე რეცენზირებული ლიტერატურული გამოცემების მონაცემები (სურათი 7–9).



სურათი 7. სტანდარტული ნარინგინის UPLC-PDA-MS სპექტრი



სურათი 8. სტანდარტული ნარინგინის LC-MS საერთო ქრომატოგრამა LC-MS ქრომატოგრამა და 3D ფორმატი

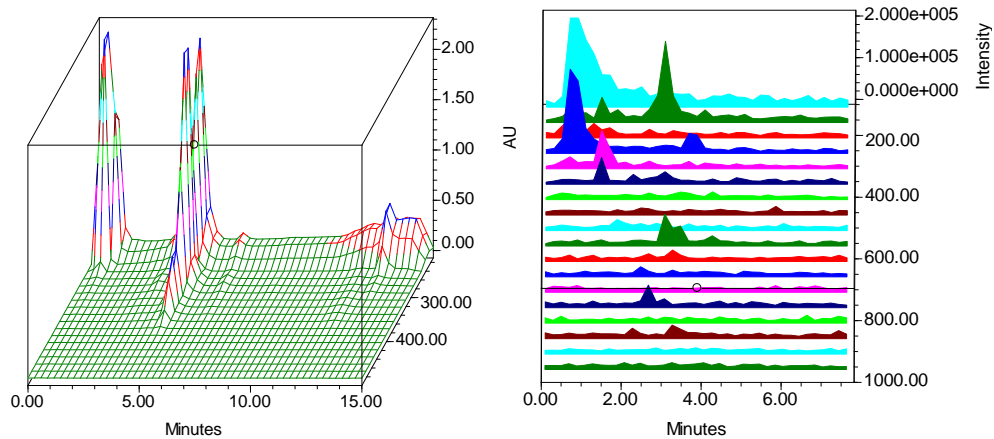


სურათი 9. სტანდარტული ჰესპერიდინის UPLC-PDA-MS სპექტრი შთანთქმის max 284.1.

ქრომატოგრაფიულ დაყოფამდე ვახდენდით ნიმუშის მომზადებას ქრომატოგრაფირებისათვის მყარ ფაზოვანი ექსტრაქციით, რაც მოიცავს ნიმუშის გატარებას სვეტზე (C18 Waters). ნიმუშების დატანამდე ვახდენდით სვეტის აქტივაციას მეთანოლით. შემდეგ გააქტიურებულ სორბენტს ვაწონასწორებდით გამოხდილი წყლით. მხოლოდ ამის შემდეგ დაგვექონდა კარტრიჯზე ნიმუში ვაკუუმის მეშვეობით. შემდეგ ეტაპზე ხდებოდა სორბენტზე დარჩენილი არაფენოლური კომპონენტების მოცილება წყლით. დაკონცენტრირებული ნივთიერებების ელუირებას ვახდენდით მეთანოლით. შესაძლებელი გახდა რამდენიმე ნაერთის იდენტიფიკაცია.

ნაერთების იდენტიფიკაციისათვის მნიშვნელოვანია მათი ფრაგმენტაცია და ასევე მათი მასების ცვლილება (იონთა მიმატების ხარჯზე) და შთანთქმის მაქსიმუმების მნიშვნელობა UV არეში.

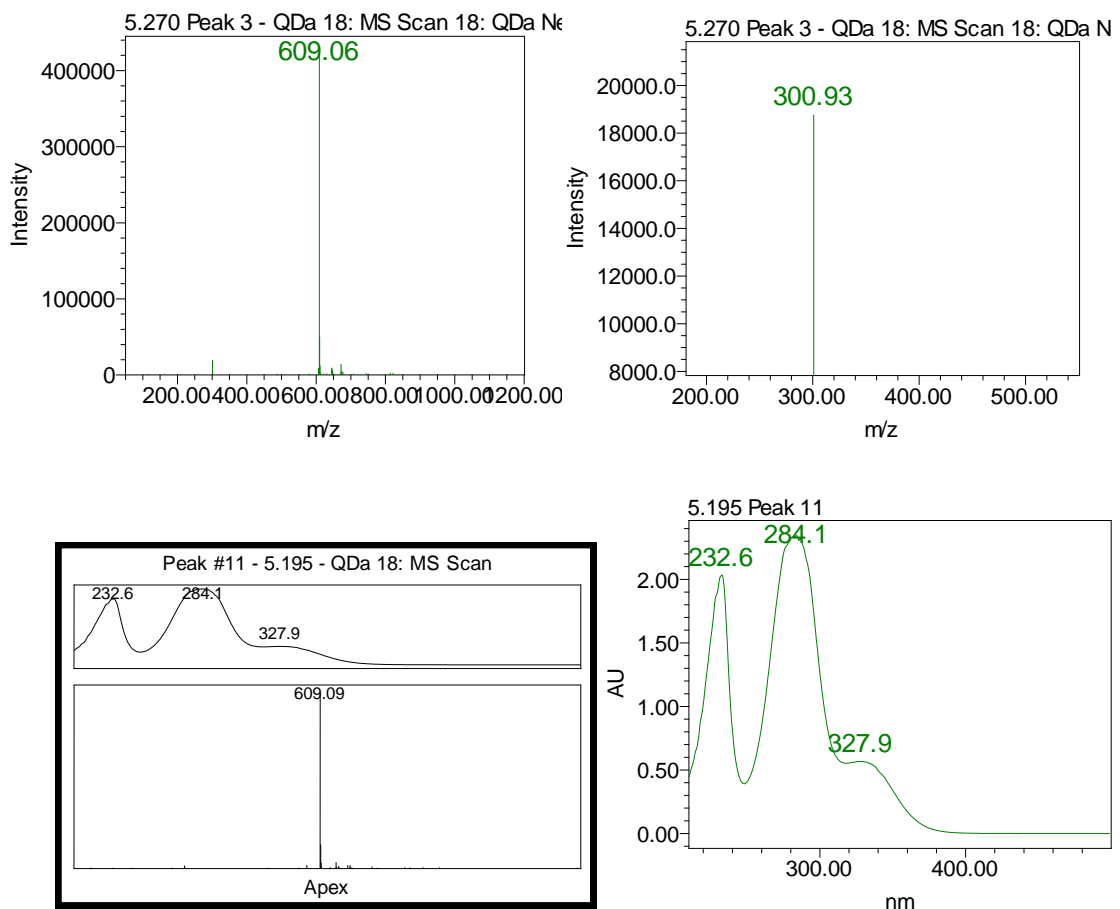
ციტრუსოვანთა კანი ნაყოფის სხვა ნაწილებთან შედარებით ფენოლური ნაერთებით ყველაზე მდიდარია, ამიტომაც ნაერთების იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული იყო როგორც უნშიუს, ასევე ინტროდუცირებული მანდარინისა და ფორთოხლის კანის ექსტრაქტები (სურათი 10).



სურათი 10. მანდარინ Unshiu ნაყოფის კანის UPLC-PDA- MS ქრომატოგრამა

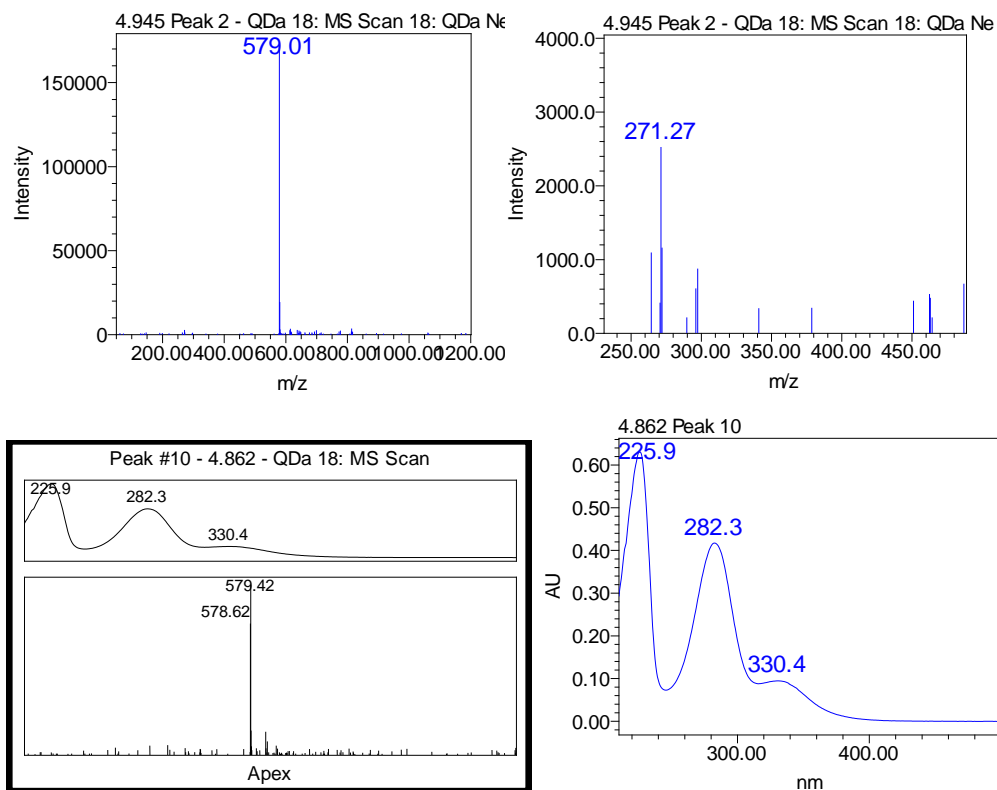
ფლავონოიდური გლიკოზიდების LC-MS-PDA კვლევამ საშუალება მოგვცა მოგვეხდინა შემდეგი ნაერთების იდენტიფიკაცია:

ნივთიერება 1 [M-H]⁻ - m/z 609,09 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 5,195 ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 300,93, შთანთქმის მაქსიმუმით 284,1 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 1 შეესაბამება ჰესპერიდინს, მოლეკულური მასით 610,1898 გ/მოლი (C₂₈H₃₄O₁₅) (სურათი 11).



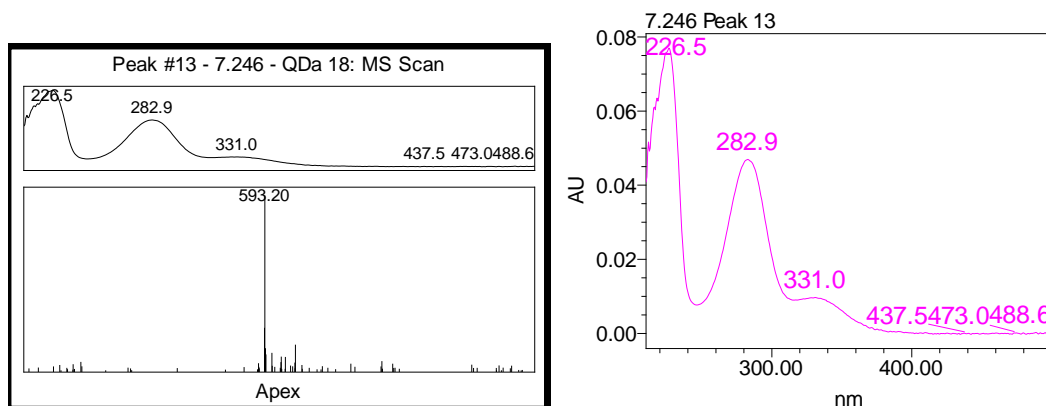
სურათი 11. ნივთიერება 1-ის UPLC-MS სპექტრი SIR 609,09 Da, შთანთქმის max 284,15ნმ.

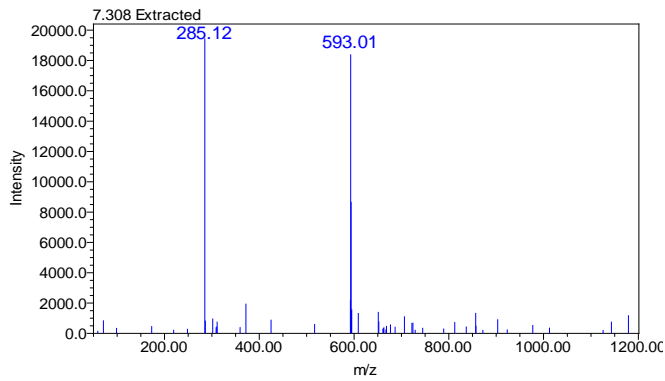
ნივთიერება 2 $[M-H]^-$ - m/z 579,42 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 4,862 ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 271,27. შთანთქმის მაქსიმუმით 282,3 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 2 შეესაბამება ნარირუთინს, მოლეკულური მასით 580.54გ/მოლი ($C_{27}H_{32}O_{14}$) (სურათი 12).



სურათი 12: ნივთიერება 2-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი შთანთქმის max 282,3 ნმ.

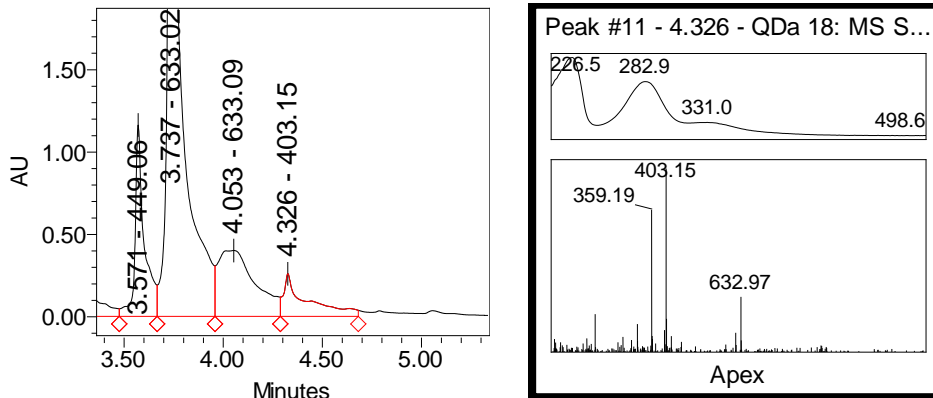
ნივთიერება 3 $[M+H]^+$ - m/z 593,20 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7.246 ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 285.12. შთანთქმის მაქსიმუმით 282,9 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 3 შეესაბამება დიდიმინს მოლეკულური მასით 594.56გ/ მოლი ($C_{28}H_{34}O_{14}$) (სურათი13).





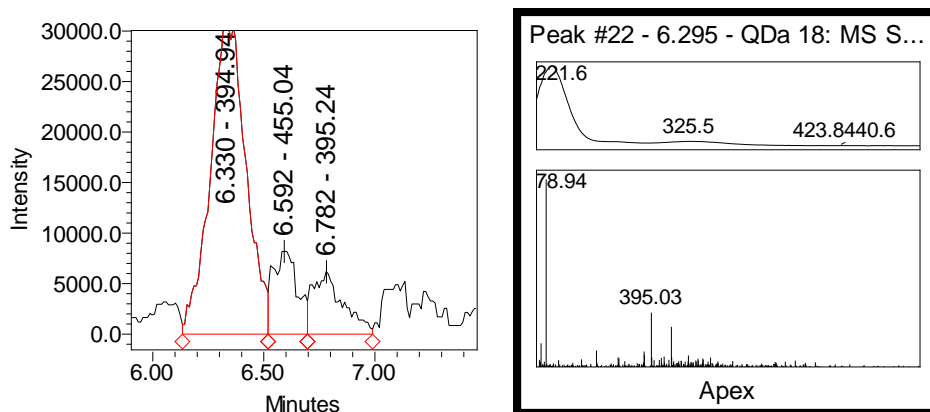
სურათი 13. ნივთიერება 3-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი, შთანთქმის max 283.5 ნმ.

ნივთიერება 4 $[M+H]^+$ - m/z 403.15 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 4.326, ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 359, შთანთქმის მაქსიმუმით 282.9 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 4 შეესაბამება ნობილეტინს, მოლეკულური მასით 402.01 გ/მოლი ($C_{21}H_{22}O_8$) (სურათი 14).



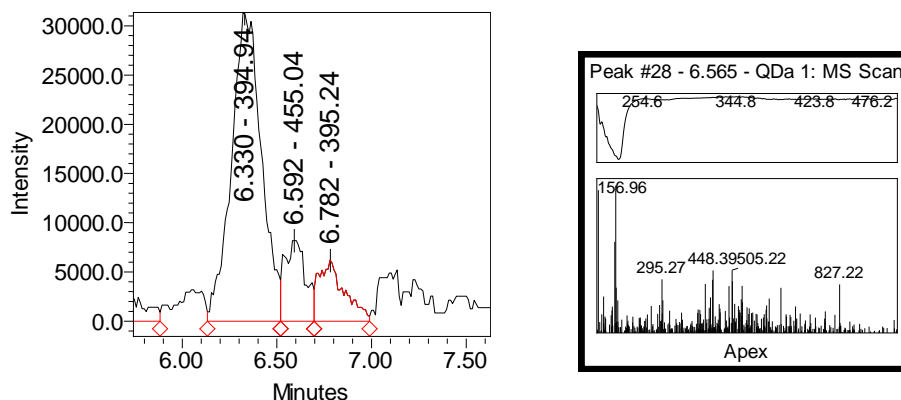
სურათი 14. ნივთიერება 4-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი, შთანთქმის max 282.9 ნმ.

ნივთიერება 5 $[M+H]^+$ - m/z 394.94 ($372.12+Na$) ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 6.330, შთანთქმის მაქსიმუმით 325.5 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 5 შეესაბამება სინენსეტინს, მოლეკულური მასით 372.12 გ/მოლი ($C_{20}H_{20}O_7$) (სურათი 15).



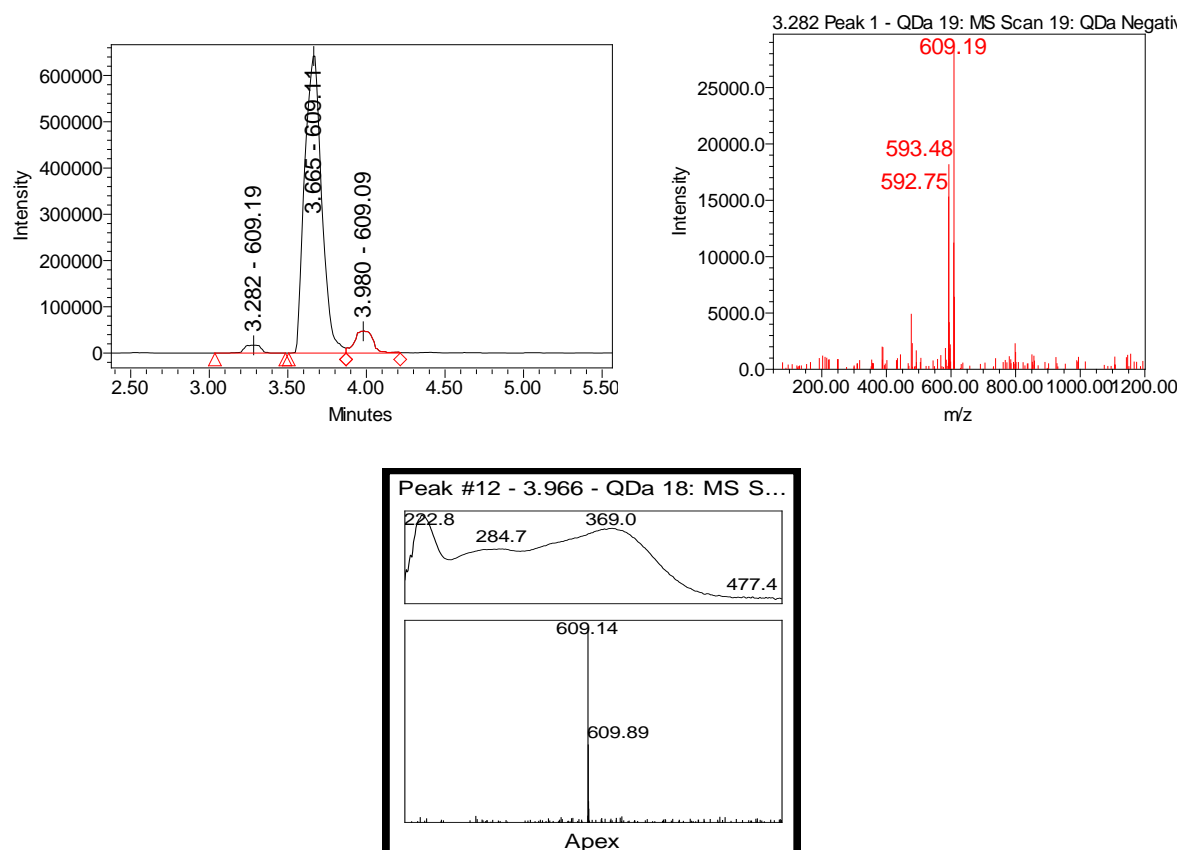
სურათი 15. ნივთიერება 5-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი, შთანთქმის max 325.5 ნმ.

ნივთიერება 6 $[M+H]^+$ - m/z 395.24 ($372.12+Na$) ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 6.565 ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 156.96, შთანთქმის მაქსიმუმით 284,1 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 6 შეესაბამება ტანგერეტინს, მოლეკულური მასით 372.12 გ/მოლი ($C_{20}H_{22}O_7$) (სურათი 16).



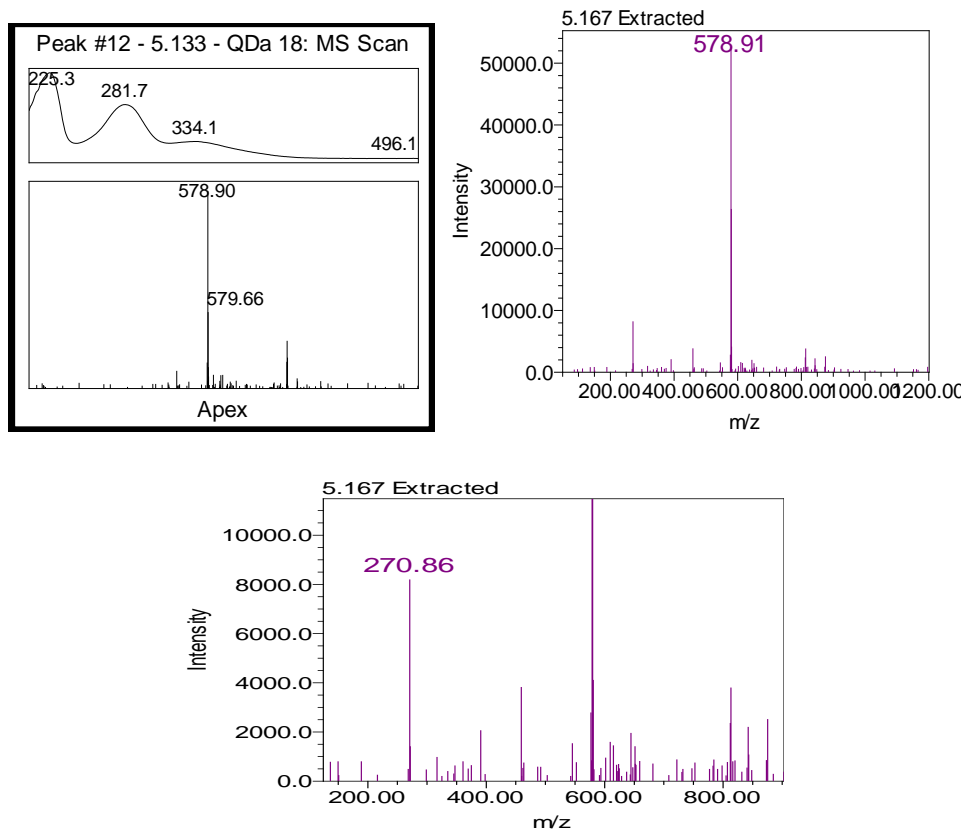
სურათი 16. ნივთიერება 6–ის UPLC-PDA-MS სპექტრი, შთანთქმის max 283.5 ნმ.

ნივთიერება 7 $[M-H]^-$ - m/z 609.19 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 3,282, შთანთქმის მაქსიმუმი 284.7 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 7 შეესაბამება, მოლეკულური მასით ნეოჰესპერიდინს მოლეკულური მასით 326.29 გ/მოლი ($C_6H_{10}O_7$) (სურათი 17).



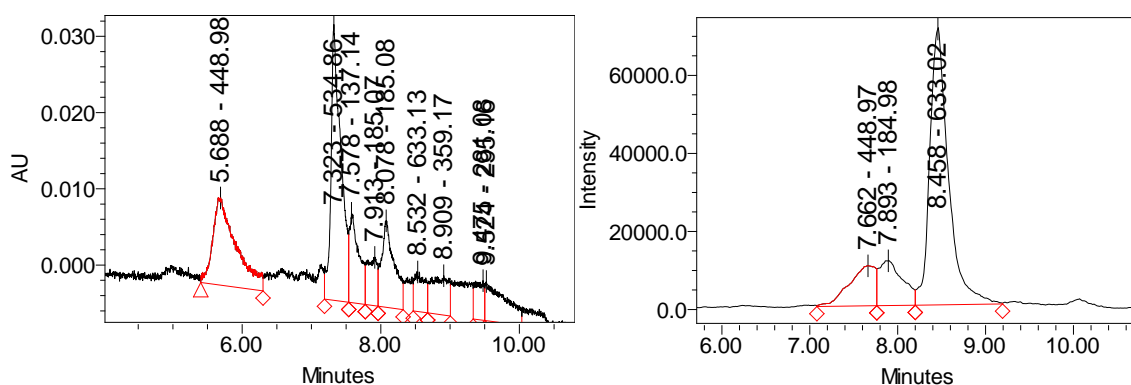
სურათი 17. ნივთიერება 7–ის UPLC-MS სპექტრი, შთანთქმის max 284.7 ნმ.

ნივთიერება 8 [M-H]⁻ - m/z 578.91 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 5,133. ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 270.86, შთანთქმის მაქსიმუმი 281.7 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 8 შეესაბამება ნარინგინს, მოლეკულური მასით 580.54 გ/მოლი (C₂₇H₃₂O₁₄) (სურათი 18).



სურათი 18. ნივთიერება 8 –ის UPLC-MS სპექტრი, შთანთქმის max 281.7 ნმ.

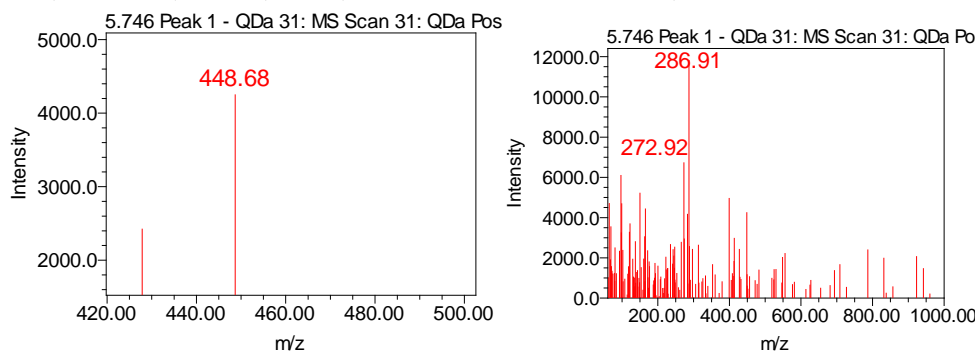
ასევე შესწავლილი იქნა დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული წითელნაყოფა ფორთოხალ სანგვინელის ანტოციანები (სურათი 19).



სურათი 19. ფორთოხალ სანგვინელის ქრომატოგრამები

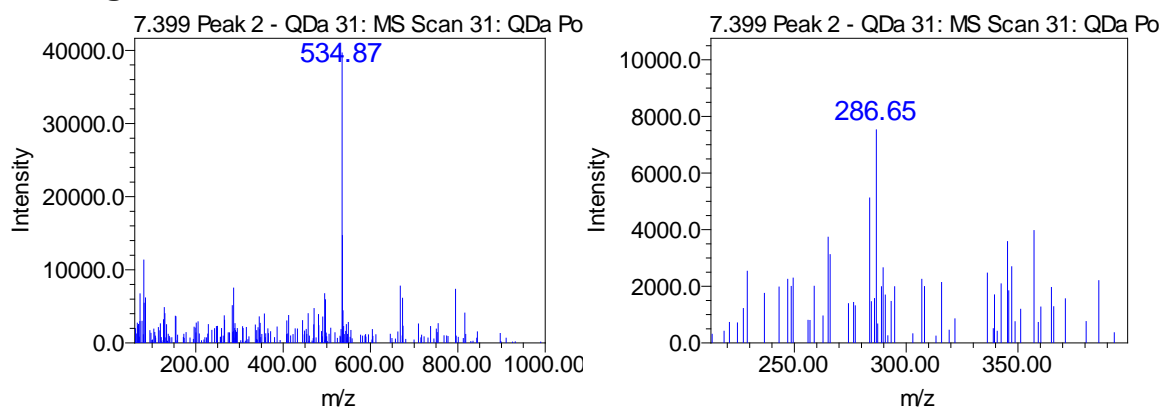
UPLC-PDA, MS მეთოდის გამოყენებით სანგვინელის წვენში, რბილობში და გამონაწნებში იდენტიფიცირებულია შემდეგი ანტოციანები :

ნივთიერება 9 $[M+H]^+$ - m/z 448.68 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 5,746. ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 286.91, შთანთქმის მაქსიმუმი 281.7 ნმ. და 518 ნმ. (სამწუხაროდ UPLC-PDA 500 ნმ-მდე აქვს სკანირების დიაპაზონი, მაგრამ ცალკე ამ ნაერთის სკანირებამ ხილულ არეში გამოავლინა შთანთქმის მაქსიმუმი 518 ნმ). METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 9 შეესაბამება ციანიდინ-3-გლუკოზიდს, მოლეკულური მასით 449.38 გ/მოლი ($C_{21}H_{21}O_{11}$) (სურათი 20).



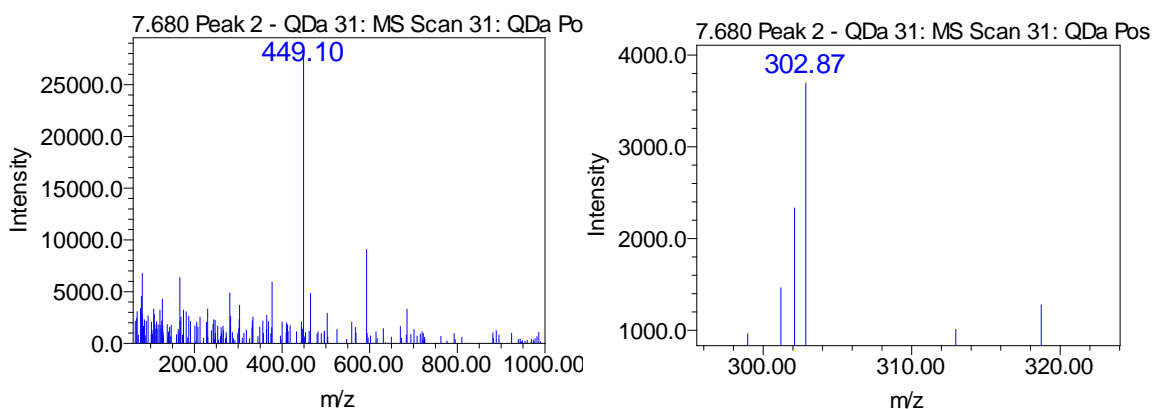
სურათი 20. ნივთიერება 9 UPLC-PDA, MS სპექტრი, შთანთქმის max 281.7 ნმ. და 518 ნმ.

ნივთიერება 10 $[M+H]^+$ - m/z 534.87 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,399. ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 286.65, შთანთქმის მაქსიმუმი 281.7 ნმ და 518 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 10 შეესაბამება ციანიდინ 3-(6''-მალონილ გლუკოზიდს), მოლეკულური მასით 535.4 გ/მოლი ($C_{24}H_{23}O_{14}$) (სურათი 21).



სურათი 21. ნივთიერება 10-ის UPLC-MS სპექტრი, შთანთქმის max 281.7 და 518 ნმ

ნივთიერება 11 $[M+H]^+$ - m/z 449.10 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,680. ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა m/z 302.87, შთანთქმის მაქსიმუმი 281.7 ნმ. და 518 ნმ. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 11 შეესაბამება დელფინიდინ 3-რამნოზიდს, მოლეკულური მასით 449.10 გ/მოლი ($C_{21}H_{21}O_{11}$) (სურათი 22).



სურათი 22. ნივთიერება 11-ის UPLC-MS სპექტრი, შთანთქმის max 281.7 და 518 ნმ

როგორც კვლევებიდან ჩანს UPLC-PDA, MS მეთოდების გამოყენებით იდენტიფიცირებულია წითელნაყოფა ფორთოხალ სანგვინელის რბილობში, წვენსა და გამონაწნეხში შემდეგი ანტოციანები: ციანიდინ 3-გლუკოზიდი, ციანიდინ 3-(6'-მალონილ გლუკოზიდი) და დელფინიდინ 3-რამნოზიდი. დომინანტ ნაერთს წარმოადგენს ციანიდინ 3-გლუკოზიდი და მისი რაოდენობრივი შემცველობა შეადგენს რბილობში – 25,6 მგ/კგ-ში, წვენში–9,6 მგ/კგ, გამონაწნეხში–12,48 მგ/კგ, ციანიდინ 3-(6''-მალონილ გლუკოზიდის) შემცველობა რბილობში, წვენსა და გამონაწნეხში შესაბამისად, არის 7,16 მგ/კგ – 2,68 მგ/კგ– 3,49მგ/კგ, ხოლო დელფინიდინ 3-რამნოზიდის შემცველობამ, შესაბამისად, შეადგინა 6,97მ/კგ – 2,16 მგ/კგ – 3.24 მგ/კგ (ცხრილი №7).

2018 წლის დეკემბერში მოკრეფილი ფორთოხალ სანგვინელის ანტოციანები

ცხრილი №7

ფორთოხალი სანგვინელი	ციანიდინ –3 გლუკოზიდი მგ/კგ	ციანიდინ 3-(6-მალონილ გლუკოზიდი) მგ/კგ	დელფინიდინ 3-რამნოზიდი მგ/კგ	საერთო ანტოციანები ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით მგ/კგ
რბილობი	25.6±0.41	7.16±0.41	6.97±0.18	42.12±0.62
წვენი	9.6±0.21	2.68±0.11	2.16±0.41	15.68±0.35
გამონაწნეხი	12.48±0.29	3.49±0.17	3.24±0.14	21.14±0.38

იდენტიფიცირებული მანდარინისა და ფორთოხლის ბიოაქტიური ნაერთების UPLC-PDA-MS დახასიათება წარმოდგენილია ცხრილი №6-ზე.

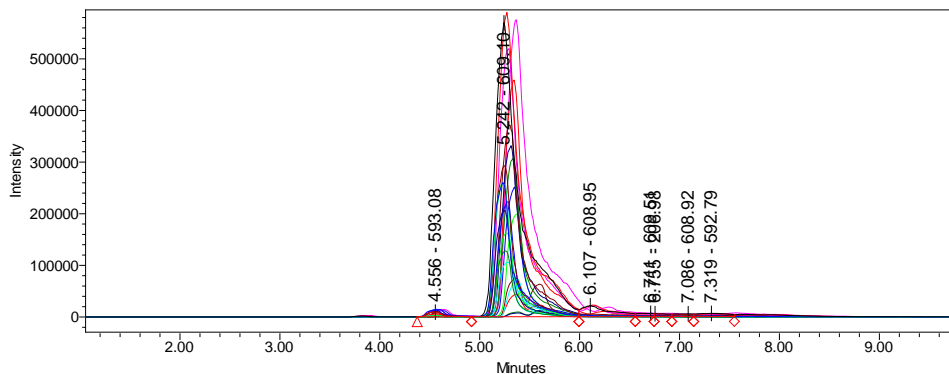
მანდარინისა და ფორთოხლის ბიოაქტიური ნაერთების UPLC-PDA-MS დახასიათება

ცხრილი N6

#	ნივთიერების დასახელება	RT (min)	MW	[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁺ (m/z)	ფრაგმენტი	UV max. (ნმ.)
1	ნარირუთინი	4.851	580	579	581	271/273	282.3
2	ჰესპერიდინი	5.195	610	609	611	301/303	284.1
3	ნეოჰესპერიდინი	5.603	610	609	611	301/303	284.2
4	დიდიმინი	7.246	594	593	595	285/287	282.9
5	ნარინგინი	5.133	580	579	581	271/273	281.7
6	ტანგერეტინი	6.565	372	371	373	157	284.1
7	სინენსეტინი	6.330	372	371	373	341/343	325.5
8	ნობილეტინი	4.326	402	401	403	357/359	282.9
9	ციანიდინ 3-გლუკოზიდი	5.746	447	-	448	287	281.7
10	ციანიდინ 3-(6"-მალონილ გლუკოზიდი)	7.399	534	-	535	287	281.7
11	დელფინიდინ 3-რამნოზიდი	7.680	448	-	449	303	281.7

ინდივიდუალური ნაერთების იდენტიფიკაციის შემდგომ საინტერესო იყო, თუ როგორ ხდებოდა ფლავონოიდური გლიკოზიდების რაოდენობრივი გადანაწილება ნაყოფის სხვადასხვა ნაწილში - კანში, რბილობში, წვენსა და გამონაწნებში. დიაგრამებზე №5-12 წარმოდგენილია დომინანტი ნივთიერებების რაოდენობრივი შემცველობა (იხ.დანართი №1).

ორივე სახეობასა (მანდარინი და ფორთოხალი) და მათ ჯიშებში იდენტიფიცირებულ ნაერთთა მიხედვით, პრინციპული თვისობრივი განსხვავება არ შეინიშნება, გარდა ფორთოხალ სანგვინელისა. ყველა შემთხვევაში რაოდენობრივად ჰესპერიდინი ჭარბობს სხვა გლიკოზიდების შემცველობას და ამ ნაერთების საერთო რაოდენობის 80–90%-მდეა. მას მოსდევს ნარირუთინი (10–15 %), ნარინგინი, დიდიმინი, დანარჩენი ნივთიერებები კი წარმოდგენილია მცირე რაოდენობით. ამ ნაერთების დიდი რაოდენობა წარმოდგენილია კანში, შემდეგ რბილობში, გამონაწნებსა და წვენში (სურათი 23).



სურათი 23. ციტრუსოვანთა ჰესპერიდინის საერთო LC-MS ქრომატოგრამა.

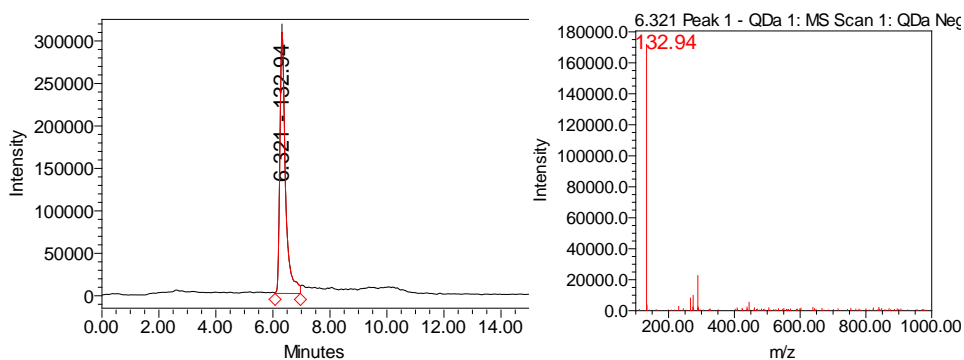
მანდარინისა (11 ჯიში) და ფორთოხლის (5 ჯიში) კანებში იდენტიფიცირებულია ჰესპერიდინი, ნეოჰესპერიდინი, ნარირუთინი, ნარინგინი, დიდიმინი, ტანგერეტინი, ნობილეტინი, სინენსეტინი, ხოლო რბილობში, გამონაწნებსა და წვეწმინდაში ჰესპერიდინი, ნარირუთინი და დიდიმინი, წითელნაყოფა ფორთოხალში ციანიდინ 3-გლუკოზიდი, ციანიდინ 3-(6"-მალონილ გლუკოზიდი), დელფინიდინ 3- რამნოზიდი.

ჯიშების მიხედვით ჰესპერიდინის მაღალი შემცველობით გამოირჩევა სატსუმასა-2503.9 მგ/კგ და იურა ვასეს კანი- 2400.1 მგ/კგ, მისი შემცველობა გაცილებით დაბალია ტიახარა უნშიუს კანში - 1290.1 მგ/კგ, დანარჩენი მანდარინის კანში კი მერყეობს 1297.6 მგ/კგ-დან 1943.1 მგ/კგ-მდე, წვეწმინდაში - 346.12 მგ/ლ-დან - 644.14 მგ/ლ-მდე, რბილობში 445.1 მგ/კგ - 879.3 მგ/კგ-მდე, ხოლო გამონაწნებში 95.11 მგ/კგ-დან - 205.51 მგ/კგ-მდე (დიაგრამა N5-8, იხ.დანართი N1). ფორთოხლის ნიმუშებისგან ჰესპერიდინის მაღალი შემცველობა წარმოდგენილია სანგვინელის კანში, რბილობში, გამონაწნებსა და წვეწმინდაში (1941.1 მგ/კგ-830.6 მგ/კგ - 278.1 მგ/კგ - 511.8 მგ/ლ) (დიაგრამა № 9-12, იხ.დანართი №1).

4.2 ნაერთთა სხვა კლასების კვლევა

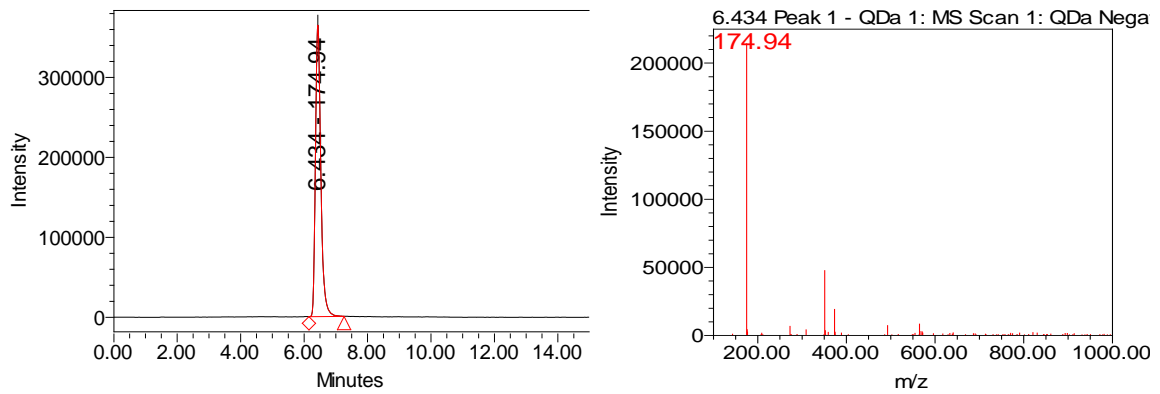
ინტროდუცირებული ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის წვეწმინდის ორგანული მჟავების იდენტიფიკაცია განხორციელდა HPLC-UV, IR, UPLC PDA-MS ქრომატოგრაფირების მეთოდებით. გამოყენებული იქნა პრეპარატიული სვეტი (Phenyl 3.5µm, 4.6 x 150mm), გამხსნელთა სისტემა 0.1 % დეიონიზირებული წყალი, აცეტონიტრილი გარდიენტში.

ნივთიერება 12 [M-H]⁻ - m/z 132.94 ფრაგმენტაციის შედეგი m/z 115 პიკია. შეკავების დრო 6.321 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV- 241 ნმ. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 12 შეესაბამება ვაშლმჟავა (სურათი 24).



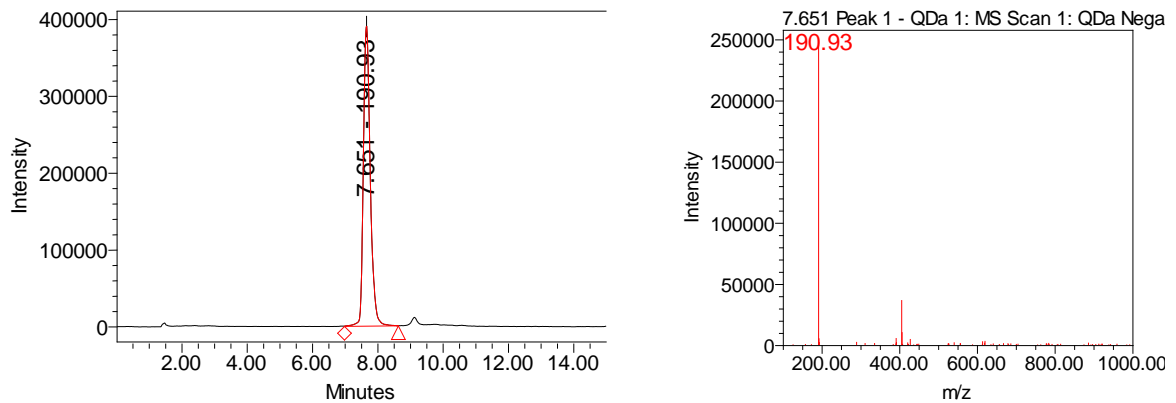
სურათი 24. ნივთიერება 12-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 132.94

ნივთიერება 13 [M-H]⁻ - m/z 174.94 ფრაგმენტაციის შედეგი m/z 115 პიკია. შეკავების დრო 6.321 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV- 245.4 ნმ. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 13 შეესაბამება L- ასკორბინის მჟავას (სურათი 25).



სურათი 25. ნივთიერება 13-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 174.94

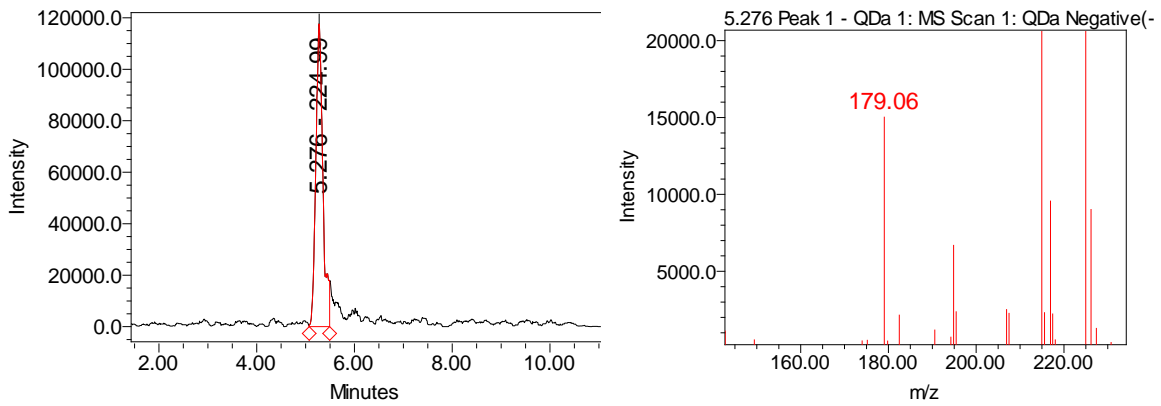
ნივთიერება 14 $[M-H]^-$ - m/z 190.93 ფრაგმენტაციის შედეგი m/z 111 პიკია. შეკავების დრო 7.651 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV- 210.7 ნმ. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 14 შეესაბამება ლიმონმჟავას (სურათი 26).



სურათი 26. ნივთიერება 14-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 190.93

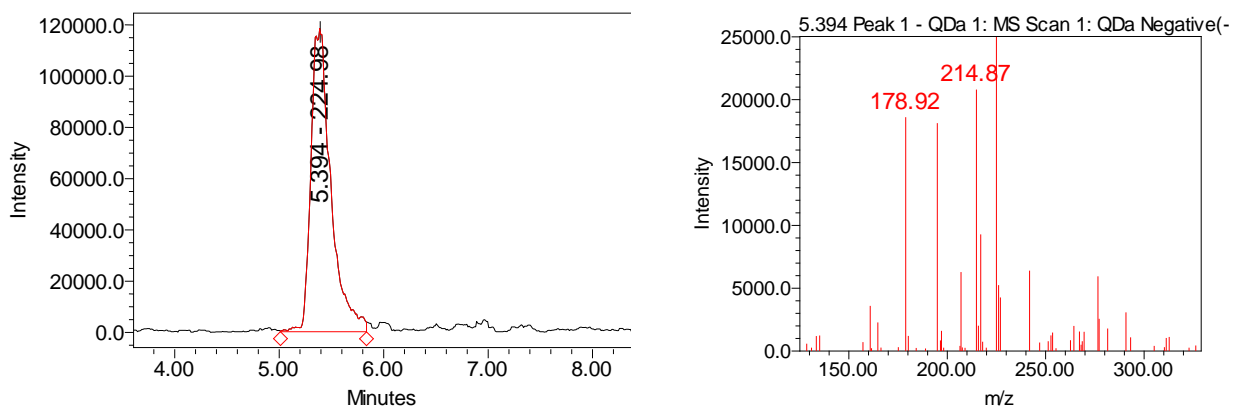
მანდარინისა და ფორთოხლის წვენებში იდენტიფიცირებული იქნა 3 კარბონმჟავა: ვაშლმჟავა, L-ასკორბინმჟავა და ლიმონმჟავა.

ნივთიერება 15 $[M-H]^-$ - m/z 179.06, მაგრამ ჭიანჭველმჟავას მიერთების შედეგად წარმოიქმნება ფსევდო მოლეკულა m/z 224.99. ქრომატოგრამაზე შეკავების დრო 5.276 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV სპექტრზე არ ჩანს. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შედარებით, ნივთიერება 15 შეესაბამება გლუკოზას (სურათი 27).



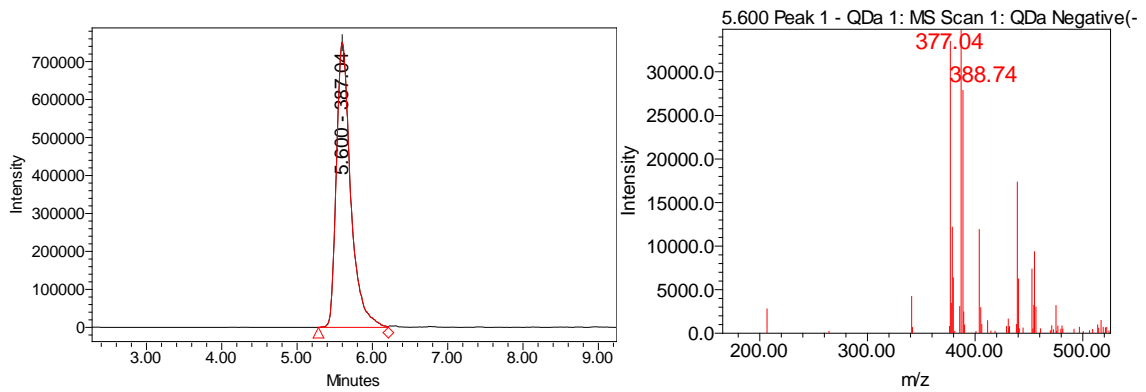
სურათი 27. ნივთიერება 15-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 224.99

ნივთიერება 16 $[M-H]^-$ - m/z 178.92, მაგრამ ჭიანჭველმყავას მიერთების შედეგად წარმოიქმნება ფსევდო მოლეკულა m/z 224.98, ხოლო ქლორის იონთან მიერთების შედეგად წარმოიქმნება m/z 214.87. შეკავების დრო 5.394 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV სპექტრზე არ ჩანს. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 16 შეესაბამება ფრუქტოზას (სურათი 28).



სურათი 28. ნივთიერება 13-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 224.98

ნივთიერება 17 $[M-H]^-$ - m/z 341.10, მაგრამ ჭიანჭველმყავას მიერთების შედეგად წარმოიქმნება ფსევდო მოლეკულა m/z 387.04, ხოლო ქლორის იონთან მიერთების შედეგად წარმოიქმნება m/z 377.04. შეკავების დრო 5.600 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV სპექტრზე არ ჩანს. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 17 შეესაბამება საქაროზას (სურათი 29).



სურათი 29. ნივთიერება 17-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 387.04

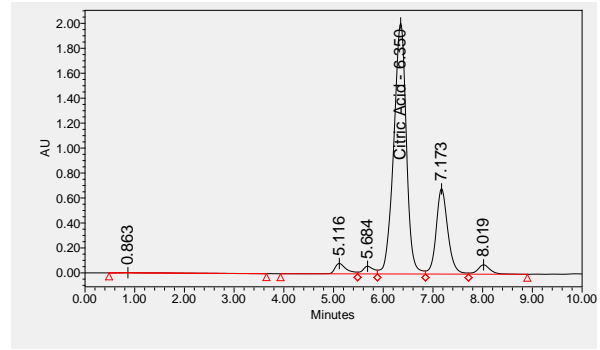
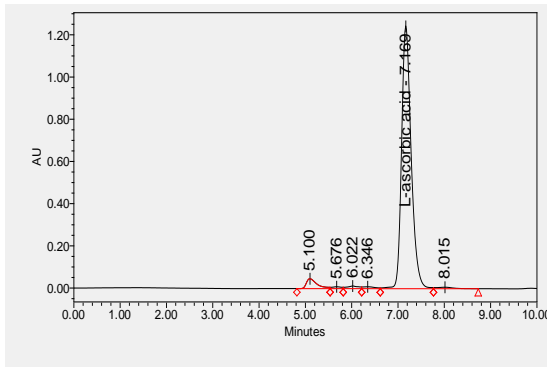
მანდარინისა და ფორთოხლის წვენებში იდენტიფიცირებული იქნა 3 დომინანტი ნახშირწყალი: გლუკოზა, ფრუქტოზა და საქაროზა.

თავი 5. აჭარაში ინტროდუცირებული ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის წვენის ორგანული მჟავებისა და ნახშირწყლების რაოდენობრივი ანალიზი HPLC-ის მეთოდით
5.1 ორგანული მჟავების რაოდენობრივი კვლევა HPLC-ის მეთოდით

კარბომჟავების იდენტიფიკაციის შემდეგ მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდით წვენებში განსაზღვრულ იქნა დომინანტი ნივთიერებების L- ასკორბინის მჟავას, ვაშლმჟავას და ლიმონმჟავას შემცველობა. ქრომატოგრაფირებისათვის ნიმუშები მომზადდა შემდეგი წესით; პექტინის დასაღეჭად ნაყოფის წვენს 1:1 თანაფარდობით ემატება ეთანოლი (96%-იანი). ცენტრიფუგირების შემდეგ ნიმუში 1:1 თანაფარდობით ერევა მოძრავ ფაზას-0,1% ფოსფორმჟავას. ინჟექტირებამდე ნიმუში იფილტრებოდა 0,45 მკრ ზომის ფილტრში. ქრომატოგრაფიული ანალიზი მიმდინარეობდა UV-Vis 2489 დეტექტორით L- ასკორბინის მჟავასათვის 254 ნმ-ზე, ლიმონმჟავასათვის 214 ნმ-ზე, ხოლო ვაშლის მჟავასათვის UPLC -MS დეტექტირებით. დაყოფისათვის გამოყენებულ იქნა Shodex -ის ფორმის სვეტი - KC – 811 და მოძრავ ფაზას წარმოადგენდა 0,1% H₃PO₄.

L - ასკორბინის მჟავას იდენტიფიცირების შემდეგ რაოდენობრივი გაანგარიშება ხორციელდება საკალიბრო მრუდის მიხედვით, ნიმუშის მომზადებისას არსებული განზავების ფაქტორის გათვალისწინებით.

განსაზღვრულ იქნა მანდარინისა და ფორთოხლის ნაყოფის ვიტამინი C-ს, ლიმონმჟავასა და ვაშლმჟავას კონცენტრაცია. კერძოდ, მანდარინის წვენში ვიტამინი C-ს მაღალი შემცველობა დაფიქსირდა იურა ვასეს წვენში -1,046 გ/ლ, ყველაზე დაბალი - ტაგუჩი ვასეს - 0,245გ/ლ, ნანკანისა -0,285გ/ლ და მუკოიამას-0,258გ/ლ წვენში, ხოლო დანარჩენ ნიმუშებში თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა წარმოდგენილი (ცხრილი №8).



სურათი 30. ციტრუსის წვენის ვიტამინ C-სა და ორგანული მჟავების HPLC-UV ქრომატოგრამა

სხვადასხვა ჯიშის მანდარინის წვენში ლიმონმჟავასა და ვიტამინი C-ს შემცველობა ცხრილი №8

ნიმუშის დასახელება	მანდარინის წვენის ორგანული მჟავები		
	ლიმონმჟავას შემცველობა გ/ლ	C ვიტამინი გ/ლ	ვაშლის მჟავა გ/ლ
ტაგუჩი ვასე	5.74±0.13	0.245±0.01	0.78±0.01
ოვიცუ ვასე	6.46±0.14	0.427±0.01	0.87± 0.03
მიაგავა ვასე	6.85±0.15	0.323±0.01	0.93±0.02
ივასაკი	4.72±0.10	0.621±0.01	0.64±0.01
იურა ვასე	8.1±0.18	1.046±0.02	0.99±0.02
ნანკანი-20*	6.12±0.13	0.285±0.01	0.83±0.02
მუკოიამა*	8.7±0.19	0.258±0.01	1.08±0.03
სატსუმა*	5.8±0.13	0.495±0.01	0.78±0.01
ტიახარა უნშიუ*	6.02±0.13	0.531±0.01	0.82±0.02
კლემენტულეს*	6.09±0.13	0.88±0.02	0.83±0.02
უნშიუ*	6.15±0.14	0.412±0.01	0.86±0.03

მანდარინის წვენში ორგანული მჟავების საერთო რაოდენობა განისაზღვრა 5.36 – 9.78 გ/ლ ერთეულით. ორგანული მჟავებისგან ციტრუსოვანთა წვენებში დიდი რაოდენობით წარმოდგენილია ლიმონმჟავა (*აღნიშნულია საგვიანო ჯიშები). ლიმონმჟავას მაღალი რაოდენობრივი შემცველობა წარმოდგენილია მუკოიამასა და იურა ვასეს წვენში (8.7გ/ლ-8.1გ/ლ), დაბალია ივასაკში-4.72გ/ლ, ხოლო დანარჩენ ნიმუშებში თითქმის თანაბარი რაოდენობა (5.74-6.85გ/ლ) (ცხრილი №8).

ფორთოხლის წვენებისგან ვიტამინი C -ს მაღალი შემცველობა წარმოდგენილია ვალენსია დელტაში-0.623გ/ლ, თანაბარი რაოდენობითაა ნაველინას-0.453გ/ლ, სანგვინელისა-0.513გ/ლ და სეიკე ნაველის- 0.535გ/ლ წვენებში, დაბალი კონცენტრაცია არის ფუკუმოტოს წვენში-0.389გ/ლ (ცხრილი №9) (სურათი 30).

სხვადასხვა ჯიშის ფორთოხლის წვენში ლიმონჟავასა და ვიტამინი C-ს შემცველობა

ცხრილი №9

ორგანული მჟავები	ვალენსიას	ნაველინას ჯგუფი			სანგვინელის
	ჯგუფი საგვიანო	საშუალო მწიფადი		საადრეო	ჯგუფი – საგვიანო
	ვალენსია დელტა	სეიკე ნაველი	ფუკუმოტო	ნაველი	სანგვინელი
ლიმონმჟავა გ/ლ	16.50±0.36	11.24±0.25	13.07±0.29	11.06±0.24	14.21±0.31
ვიტამინი C გ/ლ	0.623±0.01	0.535±0.01	0.389±0.01	0.453±0.01	0.513±0.01
ვაშლმჟავა გ/ლ	1.52±0.03	1.06±0.02	1.21±0.03	1.04±0.02	1.31±0.03

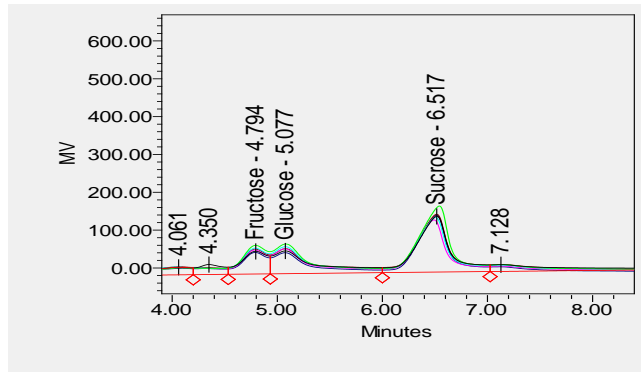
ფორთოხლის წვენებისგან ლიმონმჟავას მაღალი შემცველობით ხასიათდება ვალენსია დელტა-16.5გ/ლ, დაბალი ნაველინა- 11.06, ხოლო დანარჩენ ნიმუშებში კი თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა 11.24-14.21გ/ლ (ცხრილი №9).

მანდარინის წვენში ლიმონჟავასა და ვაშლმჟავას შორის დამოკიდებულება გამოიხატა 7:1, ხოლო ფორთოხლის წვენებში 10:1 თანაფარდობით.

5.2 ნახშირწყლების რაოდენობრივი კვლევა HPLC-ის მეთოდით

ნახშირწყლების რაოდენობრივი და თვისობრივი შემცველობის კვლევისათვის გამოყენებული იყო მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფირება (HPLC)- Waters (RI დეტექტორი, Binary HPLC Pump 1525), ქრომატოგრაფიული სვეტი amide (250 მმ 4,5 მმ) და Carbohydrate, სვეტის ტემპერატურა 40°C ელუენტი 80 %-იანი აცეტონიტრილი (Merck; Sigma-Aldrich), დეტექტირება RI. ქრომატოგრაფირებისათვის ნიმუშები მომზადდა შემდეგი წესით: პექტინის დასაღებად წვენს 1:1 თანაფარდობით ემატება 96%ეთანოლი. ცენტრიფუგირების შემდეგ ნიმუში 1:1 თანაფარდობით ერევა მოძრავ ფაზას-80 %-იანი აცეტონიტრილი. ინჟექტირებამდე ნიმუში იფილტრებოდა 0,45მკრ ზომის ფილტრში.

მანდარინისა და ფორთოხლის ჯიშებში (წვენში) ნახშირწყლებისგან იდენტიფიცირებულ იქნა გლუკოზა, ფრუქტოზა და საქაროზა (სურათი 31).



სურათი 31. ციტრუსის წვენის ნახშირწყლების საერთო ქრომატოგრამა

მანდარინის წვენში შაქრების საერთო რაოდენობამ შეადგინა 81,67 – 98,94 გ/ლ, სადაც გლუკოზა და ფრუქტოზა თითქმის თანაბარი რაოდენობით არის წარმოდგენილი, ხოლო საქაროზას კონცენტრაციამ შეადგინა საერთო შაქრების 55 – 63%. საგვიანო ჯიშებისგან ჩვენში გავრცელებული ფართოფოთლოვანი უნშიუსა და რეიტროდუცირებულ ტიახარა უნშიუს წვენებში შაქრების საერთო ჯამი თითქმის თანაბარია –87,94გ/ლ–81,67გ/ლ და შედარებით დაბალია დანარჩენ საგვიანო ჯიშებთან შედარებით (ცხრილი №10).

მანდარინის წვენში ნახშირწყლების შემცველობა

ცხრილი №10

№	დასახელება	ფრუქტოზა გ/ლ	გლუკოზა გ/ლ	საქაროზა გ/ლ	შაქრების ჯამი გ/ლ
1	ტაგუჩი ვასე	20.37±0.41	16.27±1.19	59.25±1.19	95.89±1.92
2	ოკუცუ ვასე	18.62±0.37	15.64±1.00	50.12±1.00	84.38±1.69
3	მიაგავა ვასე	21.49±0.43	18.06±0.98	48.78±0.98	88.33±1.77
4	ივასაკი	16.5±0.33	17.9±1.00	50.2±1.00	84.6±1.69
5	იურა ვასე	20.74±0.41	18.34±1.17	58.58±1.17	96.56±1.93
6	ნანკანი-20	19.66±0.39	16.47±1.22	61.05±1.22	97.13±1.94
7	მუკოიამა*	22.65±0.45	20.13±1.06	53.13±1.06	95.91±1.92
8	სატუმა*	24.75±0.50	21.48±1.05	52.71±1.05	98.94±1.98
9	ტიახარა უნშიუ*	17.35±0.35	18.79±0.91	45.55±0.91	81.67±1.63
10	კლემენტულეს*	18.15±0.36	19.69±1.13	56.32±1.13	94.16±1.88
11	უნშიუ*	16.87±0.34	18.35±1.05	52.72±1.05	87.94±1.76

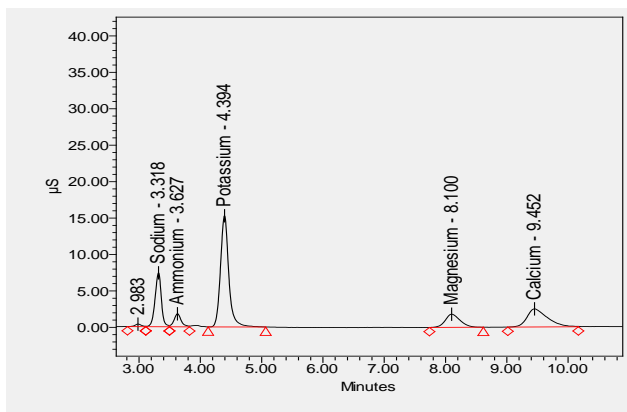
ასევე შევისწავლეთ ფორთოხლის ხუთ ჯიშში ნახშირწყლების შემცველობა. წარმოდგენილი ნიმუშებისგან საერთო ნახშირწყლების მაღალი კონცენტრაცია დაფიქსირდა ფუკუმოტოს წვენში- 153.6გ/ლ, მაღალი,თითქმის თანაბარი რაოდენობა ნაველისა და სეიკე

ნაველის წვენებში (146.9-147.8გ/ლ), ხოლო დაბალი კონცენტრაცია ვალენსია დელტას წვენში-112.28გ/ლ. როგორც ცხრილიდან ჩანს, დომინანტ შაქარს წარმოადგენს საქაროზა, ხოლო ფრუქტოზა და გლუკოზა თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა. საქაროზის მომატებული რაოდენობა და დაბალი მჟავიანობა მანდარინსა და ფორთოხალს სასიამოვნო მოტკბო გემოს ანიჭებს. ჯიშების მიხედვით, საკვლევ ნიმუშებში არ შეინიშნება მნიშვნელოვანი სხვაობა გლუკოზისა და ფრუქტოზის შემცველობას შორის (დიაგრამა №13, იხ.დანართი №1).

თავი 6. აჭარაში ინტროდუცირებული ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის წვენის კატიონების კვლევა კონდუქტომეტრული დეტექტორის გამოყენებით

ციტრუსოვანთა კატიონის კვლევა ჩატარდა ქრომატოგრაფიული მეთოდით, კონდუქტომეტრული დეტექტორით. სტანდარტები ლითიუმის ჰიდროქსიდის მონოჰიდრატი (Li^+), ნატრიუმის ქლორიდი (Na^+), ამონიუმის ქლორიდი (NH_4^+), კალიუმის ქლორიდი (K^+), მაგნიუმის ჰიდრატი (Mg^{2+}), კალციუმის ნიტრატი ტეტრაჰიდრატი (Ca^{2+}), სტრონციუმის ნიტრატი ტეტრაჰიდრატი (Sr^{2+}), ბარიუმის ქლორიდი დიჰიდრატი (Ba^{2+}) (FisherScientific), EDTA (Serva). იზოკრატული ტუმბო (Isocratic HPLC pump -Waters 1515), დეტექტორი (Waters 432 - Conductivity), ქრომატოგრაფიული სვეტი IC-PakCationMD, ელუენტი 3 mM HNO_3 / 0.1 mM EDTA, ელუენტის გამტარებლობა $1250 \pm 50 \mu\text{S}$, საბაზო მგრძნობელობა $2000 \mu\text{S}$, ინტეგრატორის მგრძნობელობა $0.01 \mu\text{S}$, სვეტის ტემპერატურა 35°C , პოლარობა-negative. ინჟექტირებამდე საანალიზო ნიმუშები ილექებოდა 1:1 თანაფარდობით 96%-იანი ეთილის სპირტით პექტინის დასალექად, ცენტრიფუგირების შემდეგ ნიმუშს 1:10 თანაფარდობით ემატებოდა დეიონიზირებული წყალი (განზავების ფაქტორი $F=20$) და იფილტრებოდა 0,45მკრ ზომის ფილტრში.

ნაერთების რაოდენობრივი გაანგარიშება ხდებოდა სტანდარტული ნაერთების მეშვეობით აგებული საკალიბრო მრუდების მიხედვით. ქრომატოგრაფირების მეშვეობით მიღებული კომპონენტების იდენტიფიკაცია განხორციელდა ცნობილი შედგენილობის მქონე კატიონების მონაცემებთან შედარებით.



სურათი 32. მანდარინის წვენის კატიონების ქრომატოგრამა

მანდარინის წვენებისგან მაღალი კალიუმის შემცველობა დაფიქსირდა იურა ვასეს (2160.5±49.69ppm) და მიაგავა ვასეს (2034.42±46.79 ppm) წვენებში, დაბალი ტაგური ვასეს (594.06±13.66ppm), სატსუმასა (600.63±13.81ppm) და კლემენტულესის (989.06±22.75ppm) წვენებში, ხოლო დანარჩენ ნიმუშებში თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა წარმოდგენილი. საანალიზო ნიმუშებში კატიონების კონცენტრაცია წარმოდგენილია შემდეგნაირად თანაფარდობით: კერძოდ, დომინანტს წარმოადგენს კალიუმის იონები (594-2160 ppm), მას მოსდევს კალციუმი (136-270 ppm) , მაგნიუმი (28-125 ppm), ნატრიუმი (18- 102 ppm) (ცხრილი №11, სურათი 32).

მანდარინის წვენის კატიონები

ცხრილი №11

მანდარინის წვენი		კატიონების შემცველობა ppm			
		Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
სადრეო ჯიშები	ტაგური ვასე	18.63±0.43	594.06±13.66	28.68±0.66	160.8±3.70
	ოკუცუ ვასე	69.6±1.60	1159.7±26.67	116.47±2.68	185.82±4.27
	მიაგავა ვასე	91.83±2.11	2034.42±46.79	123.09±2.83	220.05±5.06
	ივასაკი	59.9±1.38	1039.7±23.91	87.63±2.02	212.55±5.42
	იურა ვასე	102.66±2.36	2160.5±49.69	125.04±2.88	189.06±6.20
საგვიანო ჯიშები	ნანკანი-20	86.34±1.99	1642.59±37.78	120.36±2.77	136.5±4.89
	მუკოიამა	76.83±1.77	1585.14±36.46	111.09±2.56	217.56±4.35
	სატსუმა	17.43±0.40	600.63±13.81	21.33±0.49	235.47±3.14
	ტიახარა უნშიუ	69.9±1.61	1458.99±33.56	100.26±2.31	168.82±5.00
	კლემენტულეს	45.63±1.05	989.06±22.75	68.63±1.58	269.55±3.88
	უნშიუ	59.5±1.37	1398.87±32.17	97.15±2.23	202.45±4.66

მანდარინის 11 ჯიშსა და ფორთოხლის 5 ჯიშში იდენტიფიცირებულია 4 ძირითადი კატიონი: ნატრიუმი, კალიუმი, მაგნიუმი და კალციუმი. მანდარინისა და ფორთოხლის ნიმუშებში დომინანტი კალიუმის კატიონია. კალციუმის, მაგნიუმისა და ნატრიუმის თანაფარდობა ფორთოხლის ჯიშებში განსხვავებულია და გაცილებით ნაკლებია მანდარინის ნიმუშებთან შედარებით. კერძოდ, ფორთოხლის წვენებში კალიუმის შემცველობა მერყეობს 536-1000.02 ppm, ყველაზე დაბალია მაჩვენებელი ფუკუმოტოს წვენში 536.73±12.34 ppm (ცხრილი №12).

ფორთოხლის წვენი კატიონები

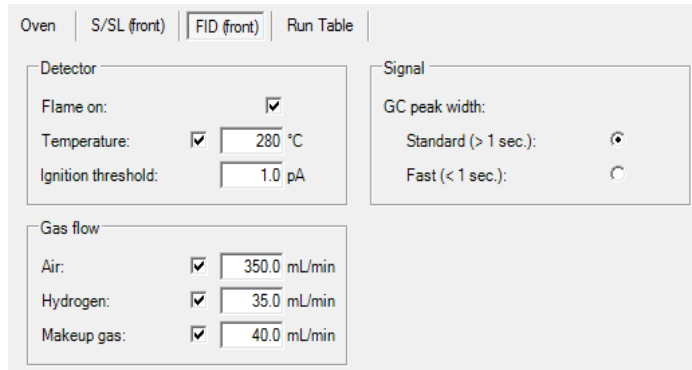
ცხრილი №12

№	ფორთოხლის წვენი	კატიონების შემცველობა ppm			
		Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
1	სეიკე ნაველი	38.01±0.87	1000.02±23.00	50.52±1.16	136.83±3.15
2	ნაველი	28.05±0.65	680.04±15.64	37.05±0.85	173.13±3.98
3	ფუკუმოტო	43.05±0.99	536.73±12.34	47.86±1.10	186.21±4.28
4	ვალენსია დელტა	40.56±0.93	784.02±18.03	87.18±2.01	188.43±4.33
5	სანგვინელი	43.87±1.01	830.65±19.10	92.58±2.13	195.24±4.49

თავი 7. მანდარინის კანის ეთერზეთის კვლევა აირ-სითხური ქრომატოგრაფიით

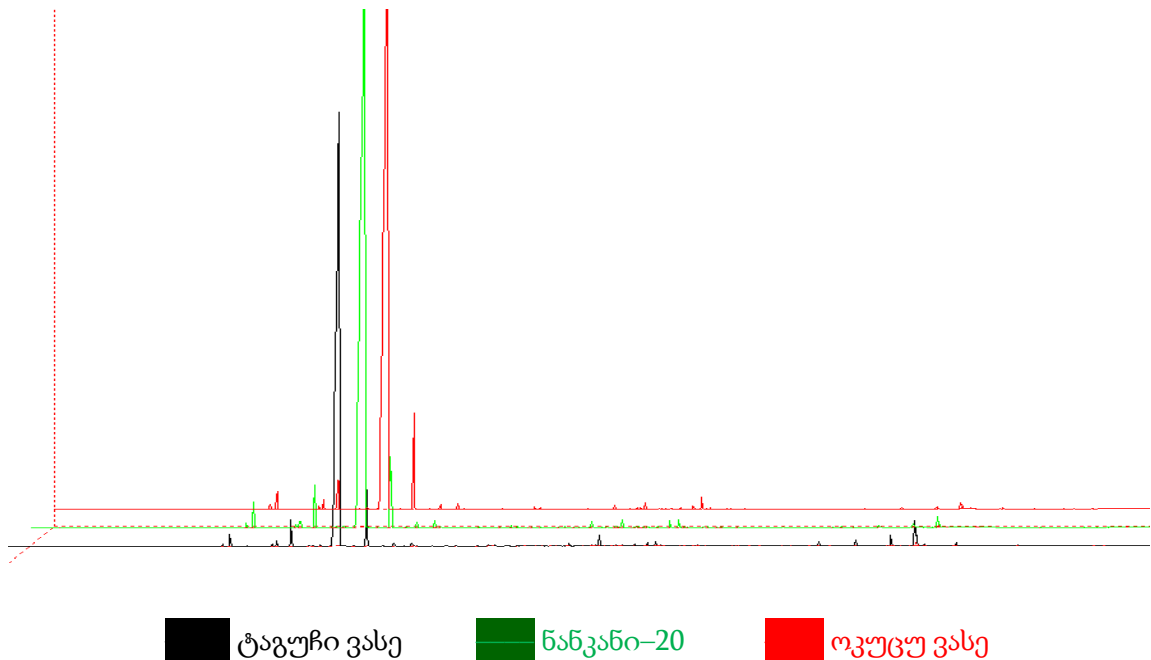
ჰიდროდისტილიაციით მიღებული ციტრუსოვნების ნაყოფის ეთერზეთის კვლევა განხორციელდა აირ-სითხური ქრომატოგრაფის (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph – Thermo Scientific) საშუალებით. ქრომატოგრაფირება მიმდინარეობდა ქრომატოგრაფი-ულ კაპილარულ სვეტზე - SGE BPX5 Capillary GC Column 30 მ სიგრძის, 0,25 მმ დიამეტრის და 0,25 მკმ უძრავი ფაზის ნაწილაკების ზომით. უძრავ ფაზას წარმოადგენდა 5% Phenyl Polysilphenylene-siloxane. მოძრავ ფაზას წარმოადგენს ჰელიუმი, რომლის მოძრაობის სიჩქარე შეადგენს 0,700 მლ/წუთში. საკვლევი ნიმუშის ინჟექტირება ხორციელდებოდა SGE Analytical Science ფირმის 10 მკლ მიკროშპრიცის მეშვეობით. ინჟექტორის ტემპერატურული რეჟიმი 280°C-ია, ხოლო, სვეტში შესაყვანი ნიმუშის ჰელიუმის ნაკადში დაყოფა ხორციელდებოდა 1/100 თანაფარდობით. ქრომატოგრაფირება ხორციელდებოდა ტემპერატურულ გრადიენტში ოთხ ეტაპად. კერძოდ, ქრომატოგრაფირება იწყებოდა 50°C -ზე, რომელიც 3 (°C/წუთში) სიჩქარით იზრდებოდა 250°C-მდე (მეორე ეტაპი) და ქრომატოგრაფირება გრძელდებოდა 10 წუთი. მესამე ეტაპზე 10 (°C/წუთში) სიჩქარით იზრდებოდა 270°C-მდე და გრძელდებოდა აღნიშნულ ტემპერატურაზე 3 წუთის განმავლობაში. მეოთხე ეტაპზე 21,4 (°C/წუთში) სიჩქარით იზრდებოდა 320°C-მდე და გრძელდებოდა აღნიშნულ ტემპერატურაზე 5 წუთის განმავლობაში. ქრომატოგრაფირების სრული დრო შეადგენდა 89,0წთ-ს. ეთერზეთის რაოდენობრივი შემცველობა ისაზღვრებოდა პიკის ფართობის მიხედვით პროცენტებში 0,01%-ის სიზუსტით.

ქრომატოგრაფირების მეშვეობით დაყოფილი ეთერზეთების დეტექტირება ხდებოდა ალურ-იონიზაციურ დეტექტორზე, რომლის სამუშაო რეჟიმი მოცემულია სურათი 33 -ზე.



სურათი 33. დეტექტორის სამუშაო რეჟიმი

მანდარინის კანის ეთერზეთოვანი მასის მიღებას ვახორციელებდით ცივი გამოწნევის მეთოდით.



სურათი 34. მანდარინის ეთერზეთის 3D ქრომატოგრამა

ქრომატოგრაფირების მეშვეობით მიღებული კომპონენტების იდენტიფიკაცია განხორციელდა ცნობილი შედგენილობის მქონე ნიმუშის მონაცემებთან შედარებით და დავადგინეთ ეთერზეთში სპეციფიკური ტერპენოიდური შედგენილობა. ანალიზის შედეგები მოყვანილია ქრომატოგრამაზე (სურათი 34).

ჩვენ მიერ ქრომატოგრაფიული კვლევის შედეგად, მანდარინის კანისაგან მიღებული ეთერზეთის შემადგენლობაში დაფიქსირდა 82 კომპონენტი. ამთაგან იდენტიფიცირებულია 23 კომპონენტი, სადაც 4 დომინანტია.

კერძოდ, იდენტიფიცირებულია შემდეგი კომპონენტები: Sabinene, α-Thujene, α – Pinene, β – Pinene, α – Terpinene, Myrcene, Linalol, trSabineneHydrat, 1,8-eucalyptol, Nonanal, Limonene, (E)-B-Ocimene, γ –Terpinene, Terpinen -4-ol, Geranial, α-Terpineol, Decanal, Undecanal, Citronelylacet,

Nerylacetate, Thymol, Geranyl acetat, E-Caryphyllene, Met. Nmetantani, Dodecanal, 2.6-Dodecadien, a-Humulene, a-Sellnene, (E, E) -a-Farnes, Thymol methyl, b – Cadinene, a – Isocomene, Z – Caryophyllen (ცხრილი №13).

მანდარინის ეთერზეთის კომპონენტური შემადგენლობა

ცხრილი №13

N	კომპონენტის დასახელება	დრო, წთ	ნანკანი-20 ფართობი %	ოკუცუ ვასე ფართობი%	ტაგუჩი ვასე ფართობი %	უნშიუ			
						ცივი გამოწნებით ფართობი %	ჰიდრო-დისტილ. ფართობი %	ლიოფილური გამოხდა ფართობი%	SFE ექსტრაქცია ფართობი%
1	Sabinene	11.370	0	0	0.176	0.005	0.214	0.007	0.008
2	α – Thujene	11.407	0.185	0.210		0.267	0.029	0.234	0.009
3	α – Pinene	11.785	0.958	0.978	0.839	1.079	1.448	0.955	0.103
4	β – Pinene	13.983	0.156	0.155	0.139	0.159	0.039	0.136	0.535
5	α – Terpinene	14.245	0.379	0.415	0.367	0	0	0	0.296
6	Myrcene	15.013	1.906	1.913	1.766	2.380	0	2.241	1.299
7	Linalol	15.907	0.040	0.041	0.037	0.026	0	0.025	0.037
8	trSabinene Hydrat	16.083	0	0	0.058	0.045	0	0.039	0
9	1,8-eucalyptol	16.133	0.058	0.050	0	0	0	0	0
10	Nonanal	16.557	0.089	0.101	0.089	0.132	0	0.123	0.089
11	Limonene	17.765	88.847	88.008	83.414	87.438	85.306	82.850	74.954
12	(E)-B-Ocimene	18.260	0.035	0.041	0.048	0	0	0	0.051
13	γ -Terpinene	18.982	4.103	4.732	4.446	5.940	5.678	5.862	4.080
14	Terpinen -4-ol	19.775	0.012	0.014	0.206	0.293	0.333	0.290	0.249
15	Peak 3	21.367	0.023	0.029	0.012	0.116	1.175	0.200	0.012
16	Geranial	23.568	0.027	0.030	0.030	0.017	0.008	0.014	0.095
17	α – Terpeneol	25.290	0.098	0.109	0.106	0.006	0.101	0.012	0.026
18	Decanal	25.577	0.052	0.054	0.070	0.072	0.006	0.079	0.044
19	Undecanal	26.160	0.006	0.003	0	0.004	0.150	0.072	0.037
20	Citro nelylacet	26.785	0.005	0.003	0.019	0.005	0.444	0.008	0.099
21	Nery lacetate	27.743	0.006	0.006	0.008	0.003	0.063	0.011	0.024
22	Thymol	28.118	0.028	0.020	0.021	0.062	0.024	0.054	0.033
23	Gerany lacetat	28.592	0.012	0.005	0.005	0.011	0.008	0.211	0.008

ჯიშებს შორის კომპონენტურ შემადგენლობაში ფიქსირდება მცირე სხვაობები, რაც შეიძლება ჩაითვალოს ჯიშის სპეციფიკურ ტერპენოიდურ შედგენილობად. საკვლევ ნიმუშებში დომინანტია Limonene, რომლის შემცველობა 80%-ზე მეტია და მერყეობს 83,41-88,85 % ფარგლებში. ასევე დომინანტი კომპონენტებია α – Pinene - 0,84-1,0 %, Myrcene - 1,76-2,4 %, γ - Terpinene 4,1-დან 5,9%-მდე მერყეობს, კერძოდ, მატება შეინიშნება შემდეგი თანმიმდევრობით ნანკანი-20 ≤ ტაგუჩი ვასე ≤ ოკუცუ ვასე ≤ უნშიუ (ცხრილი №13).

ეთერზეთის ქიმიურ შედგენილობაზე განსხვავებულად მოქმედებს მისი მიღების მეთოდები. ცივი დისტილაციის შედეგად მეტი რაოდენობითაა ეთერზეთებში წარმოდგენილი ლიმონენი, მირცენი და პინენი. ჰიდროდისტილაცია მანდარინის ეთერზეთში იწვევს პინენის ტერპინეოლის და ციტრონელილაცეტატის მატებას, ხოლო ლიმონენი კლებულობს. ლიოფილური შრობით მიღებულ კონდენსატში მატულობს ტერპინენი, ჰერანიოლი და ხოლო თიმოლ მეთილი პრაქტიკულად არაა. SFE შედეგად მიღებულ ეთერზეთში Humulene მეტია, ვიდრე სხვა ვარიანტებში, ხოლო თიმოლ მეთილის შემცველობა მნიშვნელოვნად მატულობს.

თავი 8. აჭარაში ინტროდუცირებული ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის კანში, რბილობსა და წვენი საერთო ფენოლების, ფლავონოიდების რაოდენობრივი ანალიზი და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა

ციტრუსის ნაყოფში ფლავონოიდური ნაერთების იდენტიფიცირების შემდგომ, განსაზღვრული იყო საერთო ფენოლების და ფლავონოიდების რაოდენობრივი შემცველობა ნაყოფის ცალკეულ ნაწილებში (კანი, რბილობი, წვენი), დადგენილია მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა და შედარებულია ჩვენში ფართოდ გავრცელებულ ჯიშებთან. რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიღებდით კანისა და რბილობის შემთხვევაში 5–5გ-ს, ექსტრაქციას ვახდენდით 50 %-იანი DMSO/ეთანოლით მრავალჯერადად (150–100 მლ), ექსტრაქტის სრულ გაუფერულებამდე და მიღებულ ექსტრაქტებს ვაერთიანებდით და ვიყენებდით შემდგომი კვლევებისათვის. კვლევას ვაწარმოებდით სამი წლის განმავლობაში (2016–2018). ცხრილებში №14–16 წარმოდგენილია სამი წლის საშუალო მაჩვენებლები.

საანალიზოდ აღებული მანდარინის ნიმუშები (საადრეოს 5 ჯიში და საგვიანოს 6 ჯიშები) განსხვავდებიან ფენოლური ნაერთების შემცველობით, კერძოდ, საადრეო ჯიშებიდან ფენოლების მაღალი შემცველობით გამოირჩევა ოკუცუ ვასესა და იურა ვასეს კანი (4052.31 მგ/კგ-6122.87 მგ/კგ), რბილობი (1365.1 მგ/კგ-1430.9 მგ/კგ) და წვენი (1086.7 მგ/კგ-1191.3 მგ/კგ). შედარებით დაბალია ეს მაჩვენებელი ტაგუჩის კანში– 3245 მგ/კგ, რბილობში– 1171.8 მგ/კგ, წვენში –744.8 მგ/კგ. მსგავსი თანაფარდობით არის წარმოდგენილი ფლავონოიდები ნაყოფის სხვადასხვა ნაწილებში (მაღალია ოკუცუ ვასესა და იურა ვასეს წვენში 905.5 მგ/კგ-993.0 მგ/კგ, კანში 2026.0-3000.12 მგ/კგ, რბილობში 1050.5 მგ/კგ-1287.4 მგ/კგ, ხოლო დაბალი ტაგუჩის ნიმუშებში: წვენში – 620.8 მგ/კგ, კანში– 1622.0 მგ/კგ, რბილობში–781.2 მგ/კგ) (ცხრილი №14).

საადრეო მანდარინის ჯიშის ნაყოფის (წვენი, კანი, რბილობი) საერთო ფენოლების, ფლავონოიდების რაოდენობრივი შემცველობა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა

ცხრილი №14

საადრეო მანდარინის ჯიშები	საერთო ფენოლური ნაერთები გალის მჟავაზე გადაანგარიშებით მგ/კგ (ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით)			ფლავონოიდები ჰესპერიდინზე გადაანგარიშებით, მგ/კგ (ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით)			ანტიოქსიდანტური აქტიურობა DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებით მგ ნიმუშზე გადაანგარიშებით		
	წვენი	კანი	რბილობი	წვენი	კანი	რბილობი	წვენი	კანი	რბილობი
ტაგუჩი ვასე	744.8± 13.0	3245.2±81.1	1171.8±19.5	620.8±0.2	1622.0± 47.5	781.2±9.8	92.9±2.3	60.5±1.6	71.7±1.9
ოკიცუ ვასე	1086.7±17.3	4052.3±101.3	1365.1±26.0	905.5±0.3	2026.0± 50.7	1050.5±13.4	83.59±2.2	30.6±0.8	49.8±1.3
მიაგავა ვასე	817.8± 13.7	3625.3±90.6	1258.5±25.6	743.1±0.2	1900.5± 40.6	890.8±10.8	90.62±2.4	44.4±1.1	62.2±1.7
იურა ვასე	1191.3±17.4	6122.7±153.1	1430.9±37.0	993.0±0.3	3000.12± 75.0	1287.4±18.7	47.2±1.2	28.8±0.7	34.5±0.9
ივასაკი	855.5± 13.3	3835.1±95.9	1182.3±20.4	778.6±0.2	1812.5± 45.3	985.9±13.0	84.5±2.4	58.9±1.6	70.8±1.9

საადრეო ჯიშების მსგავსად, საგვიანო ჯიშებშიც ფენოლური ნაერთების რაოდენობა მსგავსი თანაფარდობით არის წარმოდგენილი, იგი მერყეობს: კანში 3267 მგ/კგ – 6200 მგ/კგ და

რბილობში 1150 – 1582 მგ/კგ ფარგლებში. კანსა და რბილობში ფენოლური ნაერთებისა და ფლავონოიდების შემცველობას შორის კორელაციური დამოკიდებულება გამოიხატება 2.5:1-3.5:1 თანაფარდობით. საგვიანო ჯიშებთან შედარებისას აღმოჩნდა რომ ამ ნაერთების რაოდენობრივი შემცველობა ჩვენთან უკვე არსებული ფართოფოთლოვანი უნშიუს წვენში, რბილობსა და კანში საშუალოა და არ ჩამოუვარდება შემოტანილ ჯიშებს.

მანდარინის ჯიშებში ფენოლური ნაერთების შემცველობასა და ანტიოქსიდანტურ აქტიურობას შორის პირდაპირ კორელაციური კავშირია, ფენოლების მაღალი შემცველობისას DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირებას განახორციელებს საანალიზო ნიმუშის შედარებით დაბალი რაოდენობა(მგ ნიმუშისა), მაგალითად: იურა ვასეს შემთხვევაში წვენის 47,52 მგ, კანის 28,28 მგ და რბილობის 34,55 მგ არის საჭირო 50% ინჰიბირებისათვის (ცხრილი №14), მაშინ როცა ტაგუჩის ნიმუშებში, სადაც შედარებით დაბალია ფენოლების შემცველობა ინჰიბირებისათვის საჭირო ხდება წვენის 92.9 მგ, კანის 60.5 მგ და რბილობის 71.7მგ. მსგავსი კორელაცია არის საგვიანო ჯიშეთან მიმართებაშიც (ცხრილი №15).

საგვიანო მანდარინის ჯიშის ნაყოფის (წვენი, კანი, რბილობი) საერთო ფენოლების, ფლავონოიდების რაოდენობრივი შემცველობა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა
ცხრილი №15

საგვიანო მანდარინის ჯიშები	საერთო ფენოლური ნაერთები გალის მქვავაზე გადაანგარიშებით მგ/კგ (ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით)			ფლავონოიდები ჰესპერიდინზე გადაანგარიშებით, მგ/კგ (ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით)			ანტიოქსიდანტური აქტიურობა DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებით მგ ნიმუშზე გადაანგარიშებით		
	წვენი	კანი	რბილობი	წვენი	კანი	რბილობი	წვენი	კანი	რბილობი
ნანკანი - 20	935.8±12.1	4858.1±121.5	1324.8±29.5	840.6±0.4	2429.2±60.7	1104.5±14.7	54,1±1.5	37.3±1.0	50.8±1.4
მუკოიამა	1249.1±10.8	4910.4±122.8	1350.7±29.8	961.2±0.3	2554.1±63.8	1191.9±13.1	77.2±2.0	46.2±1.3	69.9±1.9
სატსუმა	1297,5±18.1	6206.7±155.1	1582.1±41.4	998.2±0.3	3100.4±77.5	1282.6±20.6	57.6±1.6	29.8±0.8	54,7±1.5
ტიახარა უნშიუ	879.8±12.6	3267.5±81.7	1320.2±25.3	796.6±0.3	1633.5±40.8	1016.3±13.4	80.5±2.2	38.1±1.0	42.4±1.1
კლემენტულეს	929.4±12.0	3808.2±95.2	1150.2±22.9	664.4±0.2	1904.4±47.6	885.6±10.8	46,9±1.2	32.7±0.8	40.4±1.1
უნშიუ	1116.5±12.4	3560.6±89.0	1353.7±25.6	859.4±0.3	1893.8±47.3	1128.1±13.9	65.4±1.8	33.5±0.9	38.5±1.0

ფორთოხლის წვენის, კანისა და რბილობის საერთო ფენოლების რაოდენობა მერყეობს წვენში 817 – 1000 მგ/კგ, კანში 3732 მგ/კგ–6215 მგ/კგ, რბილობში 1785.14–2322.28 მგ/კგ ფარგლებში, ფლავონოიდებისა კი წვენში 707.4 მგ/კგ–908.5 მგ/კგ, კანში 1866 მგ/კგ–3145 მგ/კგ, რბილობში 1085 მგ/კგ–1365 მგ/კგ. ამ ნაერთების მაღალი შემცველობით გამოირჩევა სანგვინელის კანი, რბილობი, წვენი და შესაბამისად მაღალია მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა, ხოლო ეს მაჩვენებლები შედარებით დაბალია ვალენსიას შემთხვევაში (ცხრილი №16).

ფორთოხლის ზოგიერთი ჯიშის ნაყოფის (წვენი, კანი, რბილობი) საერთო ფენოლების, ფლავონოიდების რაოდენობრივი შემცველობა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა

ცხრილი №16

ფორთოხლის დასახელება	საერთო ფენოლური ნაერთები გალის მჟავაზე გადაანგარიშებით მგ/კგ			ფლავონოიდები ჰესპერიდინზე გადაანგარიშებით, მგ/კგ			ანტიოქსიდანტური აქტიურობა მგ ნიმუშისა 50 %-ი ინჰიბირება		
	წვენი	კანი	რბილობი	წვენი	კანი	რბილობი	წვენი	კანი	რბილობი
ვალენსია დელტა	816.6±12.2	3732.51±93.3	1785.14 ±44.6	707.4 ±0.2	1866.4±7.4	1085.5±2.8	53.15±1.4	43.01±1.1	49.67±1.3
სეიკე ნაველი	997.8±13.1	6068.98±151.7	1954.04 ±48.9	887.2 ±0.3	3031.1±15.5	1302.4±3.1	46.24±1.3	40.65±1.1	43.48±1.2
ნაველი	886.6±13.3	4978.84±124.5	2146.89 ±53.7	766.8 ±0.4	2478.5±15.7	1341.6±2.6	42.55±1.2	40.31±1.0	41.79±1.1
ფუკუმოტო	890.2±14.6	5423.37±135.6	1845.65 ±46.1	741.4 ±0.5	2609.1±16.2	118.5±4.9	51.45±1.4	38.67±0.9	40.01±1.0
სანგვინელი	1008.5±16.2	6215.45±155.3	2322.28 ±58.1	908.5 ±0.6	3145.4±24.7	1365.8±5.5	40.65±1.1	33.52±1.0	40.12±1.0

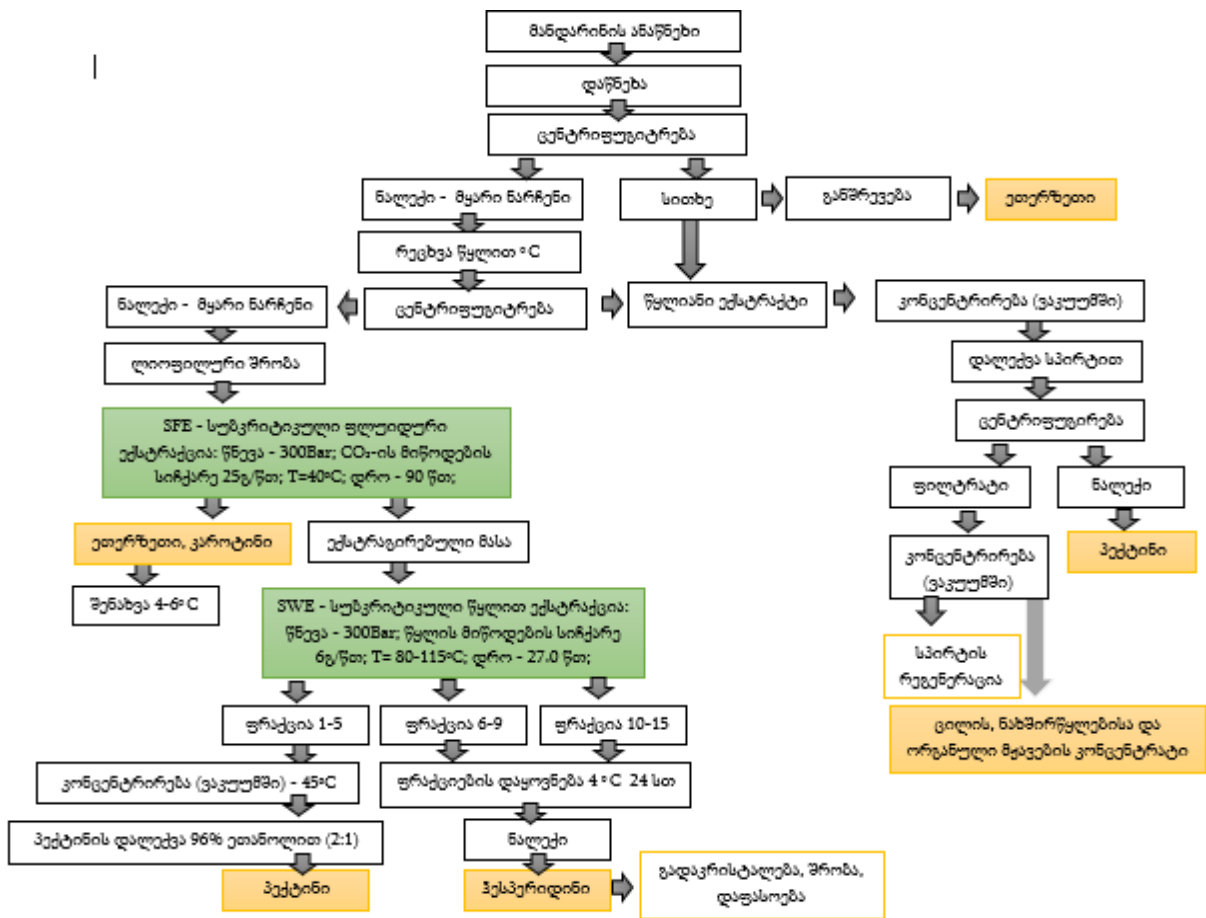
მიღებული სამი წლის საშუალო შედეგების საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ ციტრუსის ორივე სახეობა (მანდარინი და ფორთოხალი) და მათი ჯიშები კარგად მოერგო ადგილობრივ კლიმატურ პირობებს, უმეტესობა მათგანის გარე სახე პასუხობს სტანდარტის მოთხოვნებს, გამოირჩევიან საერთო ფენოლური ნაერთებისა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა მაღალი შემცველობით. რაც იძლევა საშუალებას რეკომენდაცია გაეწიოს აღნიშნული ჯიშების უმეტესობას შემდგომი გავრცელების პერსპექტივით.

თავი 9. მანდარინის წვენის მიღების შემდგომი ანარჩენიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მიღება

ციტრუსის ანარჩენიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მიღების ტექნოლოგიური სქემის შემუშავებისათვის, კვლევები ჩატარებულ იქნა შ.პ.ს. GIAMG (ქობულეთი) საწარმოში, მანდარინის წვენის მიღების შემდეგ წარმოქმნილ ანარჩენებზე. ტექნოლოგიურ კვლევამდე შევისწავლეთ ანარჩენის ქიმიური შედგენილობა.

მანდარინის გადამუშავების ტექნოლოგიური პროცესი მაქსიმუმ 3 თვეს გრძელდება და ნაყოფის გადამუშავების პარალელურად უნდა ჩატარდეს მიღებული ანარჩენის გაშრობა და სწრაფი გადამუშავება, რაც წარმოებისათვის არარენტაბელურია. პროცესის ოპტიმიზაციისათვის აუცილებელია ანარჩენის შენახვა. შენახვის ოპტიმალური პირობების დასადგენად გამოვიყენეთ შრობა (კლასიკური გზა) და ნედლეულის შენახვა კადეფიტის - კალიუმის მეტაბისულფიტის დამატებით : გაანგარიშებით 1 კგ-ს ანარჩენზე 1.0; 1.5 და 2.0 გ-ის ოდენობით.

ნიმუშების მახასიათებლების შესწავლით (პექტინი, ჰესპერიდინი, კაროტინი და სხვა შემცველობაზე) ოპტიმალურად მივიჩნიეთ 1.5 გ კადეფიტის დამატება. წარმოების ანარჩენის 1 წლიანი შენახვისას სამივე ნაერთების: პექტინი (შენარჩუნდა 98 %), ჰესპერიდინი (შენარჩუნდა 98%), ნახშირწყლები (95 %), ორგანული მჟავები (90 %) და სხვა პრაქტიკულად არ შეცვლილა. ბუნებრივია, შემცირდა კაროტინების შემცველობა (დარჩა საწყისი 25%) (ცხრილი №17).



სქემა N1. ბიოაქტიური პრეპარატების მიღების SWE ტექნოლოგიური სქემა

ნაყოფის კომპლექსური გადამუშავებისათვის გამოყენებული იყო სამი გზა. ანარჩენის ექსტრაქცია განხორციელდა: პირველი – წყლით სუპერკრიტიკული წნევისა და მაღალი ტემპერატურის პირობებში, მეორე – კომბინირებული სუპერფლუიდური გზით (ნახშირორჟანგით და თანაგამხსნელებით – წყალი, ეთილის სპირტი, აცეტონი). მესამე – ნედლეულის მაღალი სიხშირის ულტრაბგერითი დამუშავებით. შედარებისათვის გამოყენებულ იქნა კლასიკური მეთოდი (სქემა №1, სურათი 35).



სურათი 35. ტექნოლოგიური პროცესების შედეგად მიღებული ფრაქციები

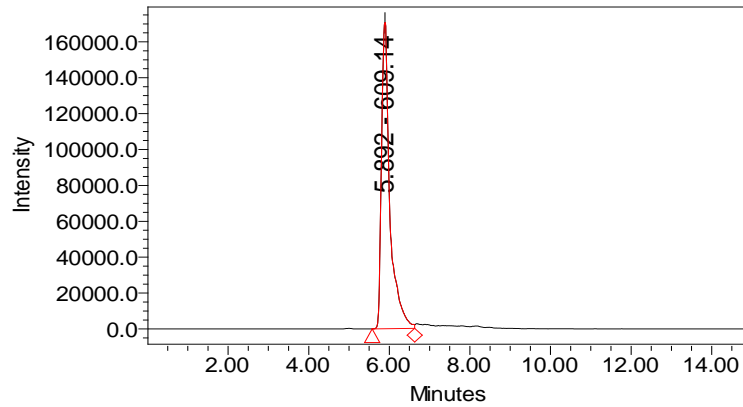
წარმოების ანარჩენის გადამუშავებისას მაღალი წნევის და ტემპერატურის წყლის გამოყენება იძლევა საშუალებას 1 კგ ნედლი მასიდან მიღებული იყოს ეთერზეთი 5გ (ნედლეულის საწყისი შემცველობის 25%); კაროტინი 1.0გ (50%); პექტინი 270გ (82%); ჰესპერიდინი 64.5გ (84%); უჯრედანა 401გ (107 %). სუპერფლუიდური ექსტრაქციის გამოყენება საშუალებას იძლევა 1 კგ ნედლი მასიდან მივიღოთ ეთერზეთი 20გ (ნედლეულის საწყისი შემცველობის 100%); კაროტინი 2.0გ (100%); პექტინი 170გ (52%); ჰესპერიდინი 55.3გ (72%); უჯრედანა 485გ (130%). ულტრაბგერითი დამუშავებით ექსტრაქციისას შესაძლებელი გახდა 1 კგ ნედლეულიდან მიგველო ეთერზეთი 15გ (ნედლეულის საწყისი შემცველობის 75%), ნახშირწყლების კომპლექსი 175გ (95%), ორგანული მჟავების კომპლექსი 10გ (100 %); კაროტინი 1.7გ (85%); პექტინი 272გ (82 %); ჰესპერიდინი 65.2გ (85 %); უჯრედანა და სხვა ნაერთები 391გ (105 %). უჯრედანასა და სხვა ნაერთების მატება დაკავშირებულია იმ გარემოებასთან, რომ არ ხდებოდა ბიოაქტიური ნაერთების სრული ექსტრაქცია და ისინი რჩებოდა ცელულოზასთან ერთად (ცხრილი №17).

მანდარინის ნაყოფის გამონაწნების ქიმიური შედგენილობა და გადამუშავების სხვადასხვა მეთოდის გამოყენებით ბიოაქტიური პრეპარატების გამოსავლიანობა

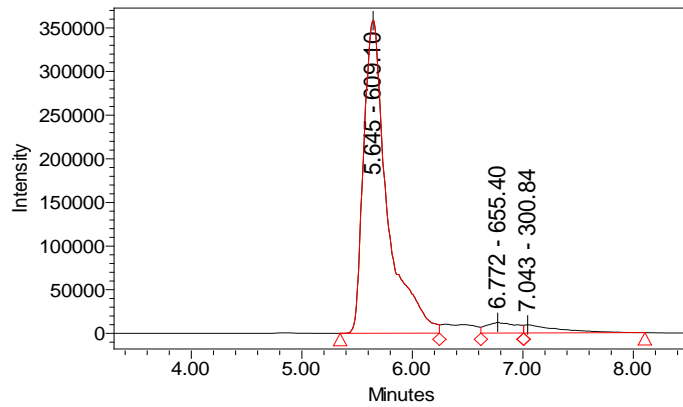
ცხრილი №17

#	დასახელება	საწყისი ნედლეული გ/კგ	საწყისი ნედლეული კადეფიტით გ/კგ	% საწყისის	SWE-ით მიღებული გ/კგ	% საწყისის	SFE-ით მიღებული გ/კგ	% საწყისის	ულტრაბგერ თი ექსტრაქცია გ/კგ	% საწყისის
1	ეთერზეთი	20.00±0,50	15.0±0,38	75.0±1,88	5.00±0,13	25.00±0,63	20.00±0,50	100.00± 2,50	15.0±0,38	75±1,88
2	ნახშირწყლე ბი	184.0±4,60	175.0±4,38	95.1±2,38	183.0±4,58	99.46±2,49	180.0±4,50	97.83±2,45	175.0±4,38	95.11±2,38
3	ორგანული მჟავები	10.00±0,25	9.0±0,23	90.0±2,25	10.00±0,25	100.0±2,50	10.00±0,25	100.00±2,50	10.0±0,25	100.0±2,50
4	კაროტინი	2.00±0,05	0.5±0,01	25.0±0,63	1.00±0,03	50.00±1,25	2.00±0,05	100.00±2,50	1.70±0,04	85.0±2,13
5	პექტინი	332.0±8,30	325.0±8,13	97.9±2,45	270.0±6,75	81.33±2,03	170.0±4,25	51.20±1,28	272.0±6,80	81.93±2,05
6	ჰესპერედინი	77.00±1,93	75.0±1,88	97.4±2,44	64.50±1,61	83.77±2,09	55.30±1,38	71.82±1,80	65.20±1,63	84.68±2,12
7	უჯრედანა	375.0±9,38	370.0±9,25	98.7±2,5	401.0±10,0	106.93±2,7	485.0±12,1	129.33± 3,23	391.1±9,78	104.29±2,61
8	დანაკარგი	0.00	30.5±0,76	3.1±0,08	65.50±1,64	6.55±0,16	77.70±1,94	7.77± 0,19	70.0±1,75	7.0±0,18

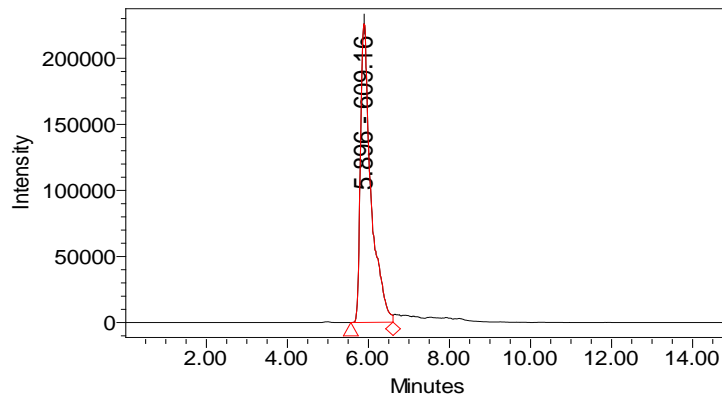
მიღებული პრეპარატის (ჰესპერედინის) შედგენილობა შევისწავლეთ UPLC-PDA,MS ქრომატოგრაფირებით. სურათებზე 36-39-ზე წარმოდგენილია კლასიკური, SWE-ით, SFE-ით და ულტრაბგერითი ექსტრაქციის ტექნოლოგიებით მიღებული პრეპარატების ქრომატოგრამები.



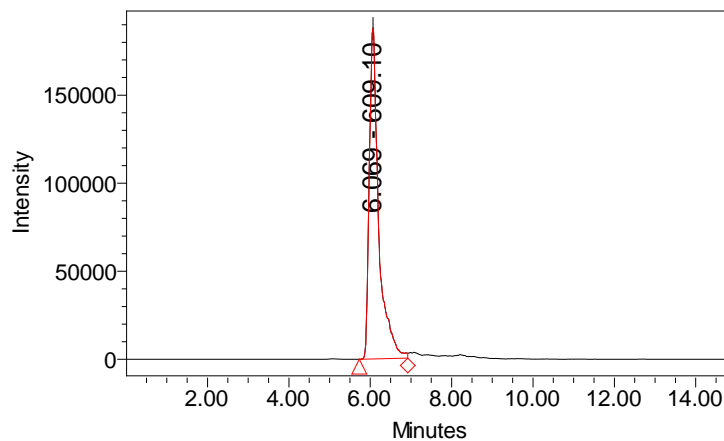
სურათი 36. მანდარინის ანარჩენისაგან კლასიკური ტექნოლოგიით მიღებული პრეპარატის UPLC-PDA- MS ქრომატოგრამა



სურათი 37. მანდარინის ანარჩენისაგან SWE ტექნოლოგიით მიღებული პრეპარატის UPLC-PDA- MS ქრომატოგრამა



სურათი 38. მანდარინის ანარჩენისაგან SFE ტექნოლოგიით მიღებული პრეპარატის UPLC-PDA- MS ქრომატოგრამა



სურათი 39. მანდარინის ანარჩენისაგან ულტრაბგერითი ტექნოლოგიით მიღებული პრეპარატის UPLC-PDA- MS ქრომატოგრამა

ყველაზე სუფთა სახით გამოკრისტალდა ფლავონოიდური პრეპარატი SWE ტექნოლოგიის გამოყენებისას, რომლის დროსაც მიღებული იქნა ჰესპერიდინის 84%–იანი პრეპარატი (ცხრილი №18).

მანდარინის გამონაწნების გადამუშავების დროს სხვადასხვა მეთოდით მიღებული პრეპარატების ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

ცხრილი №18

#	დასახელება	კლასიკური ტექნოლოგიით (კტ) %	SWE-ით მიღებული %	SFE –ით მიღებული %	ულტრაბგერითი ექსტრაქციით მიღებული %
1	ჰესპერიდინი	77.0±1,93	84.0±2,10	81.0±2,03	75.0±1,88
2	ნარირუთინი	23.0±0,58	16.0±0,40	19.0±0,48	25.0±0,63

განისაზღვრა მიღებული ჰესპერიდინის ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. შედარებით მაღალი ანტიოქსიდანტობით გამოირჩევა SWE ტექნოლოგიით მიღებული ჰესპერიდინი – 0,34 მგ ნიმუში იძლევა 50%–იან ინჰიბირებას. თუმცა, შეიძლება ითქვას, რომ პრეპარატებს შორის პრინციპული განსხვავება არ შეიმჩნევა (დიაგრამა №14, იხ.დანართი №1), რაც მათი ქიმიური შედგენილობის მსგავსებით არის განპირობებული.

დასკვნები:

1. შესწავლილია დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული ზოგიერთი მანდარინისა (11ჯიში) და ფორთოხლის (5 ჯიში) ნაყოფის ტექნიკური მახასიათებლები და წვენი ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური მაჩვენებლები, რის საფუძველზეც დადგენილ იქნა, რომ ყველა ჯიშის ნაყოფი პასუხობს სტანდარტის მოთხოვნებს, გარდა მანდარინი იურა ვასე.
2. დადგენილი იქნა ციტრუსოვანთა ნედლეულთან ჰესპერიდინის და სხვა ფლავონების ექსტრაქციის ოპტიმალური მეთოდები და ჩატარდა მეთოდის მოდიფიცირება;
3. შესწავლილია ზოგიერთი ჯიშის მანდარინისა და ფორთოხლის კანის ქიმიური შედგენილობა HPLC პრეპარატიული კოლექტორის და UPLC PDA-MS დეტექტორის გამოყენებით. ინდივიდუალურად გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული იქნა 8 ფლავანოიდი: ჰესპერიდინი $[M-H]^-$ - m/z 609,09, ნარირუთინი $[M-H]^-$ - m/z 579,42, დიდიმინი $[M-H]^-$ - m/z 593,20, ნობილეტინი $[M+H]^+$ - m/z 403.15, სინენსეტინი $[M+H]^+$ - m/z 395.03, ტანგერეტინი $[M+H]^+$ - m/z 395.24, ნეოჰესპერიდინი $[M-H]^-$ - m/z 609.19, ნარინგინი $[M-H]^-$ - m/z 579.90;
4. ციტრუსოვანთა ნაყოფის ყველა შესწავლილ შემთხვევაში, რაოდენობრივად, ჰესპერიდინი ჭარბობს სხვა ფლავანოიდური გლიკოზიდების შემცველობას და მათი საერთო რაოდენობის 80–90%-მდეა. ნარირუთინი-10-15%-მდეა, ნარინგინი, დიდიმინი, დანარჩენი ნივთიერებები წარმოდგენილია მცირე რაოდენობით. ამ ნაერთების დიდი რაოდენობა ლოკალიზებულია კანსა და რბილობში, შედარებით მცირე რაოდენობით გადადის წვენში. მანდარინის ჯიშებიდან ჰესპერიდინის მაღალი შემცველობით გამოირჩევა სატსუმასა-2503.9მგ/კგ და იურა ვასეს კანი-2400.1მგ/კგ, დაბალია ტიახარა უნშიუს კანში-1290.1მგ/კგ, ფორთოხლის ნიმუშებიდან კი მაღალი შემცველობით გამოირჩევა სანგვინელის კანი, რბილობი, გამონაწნეხი და წვენი (1941.1მგ/კგ-830.6მგ/კგ-278.1მგ/კგ-511.8მგ/ლ).
5. წითელნაყოფა სანგვინელის რბილობისგან, წვენისა და გამონაწნეხისგან იდენტიფიცირებულია 3 ანტოციანი: ციანიდინ 3-გლუკოზიდი $[M+H]^+$ - m/z 448.68, ციანიდინ 3-(6"-მალონილ გლუკოზიდი) $[M+H]^+$ - m/z 534.87, დელფინიდინ-3-რამნოზიდი $[M+H]^+$ - m/z 449.10. დომინანტ ნაერთს ყველა შემთხვევაში წარმოადგენდა ციანიდინ-3-გლუკოზიდი და იგი შეადგენს შესაბამისად რბილობიში, წვენსა და გამონაწნეხში 25.6მგ/კგ-9.6მგ/კგ-12.48მგ/კგ-ს.
6. დადგენილია ციტრუსების თითოეულ ჯიშში ნახშირწყლების, ორგანული მჟავების, ვიტამინი C-ს თვისობრივი და რაოდენობრივი შემადგენლობა UPLC PDA-MS და HPLC მეთოდით. მანდარინის წვენში ვიტამინი C-ს მაღალი შემცველობა დაფიქსირდა იურა ვასეს წვენში -1,046 გ/ლ, ყველაზე დაბალი - ტაგუჩი ვასეს - 0,245 გ/ლ, ნანკანისა - 0,285 გ/ლ და მუკოიამას - 0,258 გ/ლ წვენში. ორგანული მჟავებიდან ციტრუსოვანთა წვენებში დიდი რაოდენობით ლიმონმჟავაა. ლიმონმჟავას მაღალი რაოდენობრივი შემცველობაა მუკოიამასა და იურა ვასეს წვენში (8.7 გ/ლ - 8.1 გ/ლ), დაბალია ივასაკუში-4.72 გ/ლ.
ფორთოხლის წვენებისგან ვიტამინი C -ს მაღალი შემცველობაა ვალენსია დელტაში-0.623 გ/ლ, თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა ნაველინას - 0.453 გ/ლ, სანგვინელისა - 0.513 გ/ლ და სეიკე ნაველის - 0.535გ/ლ წვენებში, შედარებით დაბალი კონცენტრაცია არის ფუკუმოტოს წვენში - 0.389 გ/ლ. ლიმონმჟავას მაღალი შემცველობით ხასიათდება ვალენსია დელტა - 16.5 გ/ლ, დაბალია ნაველინას წვენში - 11.06 გ/ლ.
7. ნახშირწყლებისგან იდენტიფიცირებულია ფრუქტოზა, გლუკოზა, საქაროზა. დომინანტ ნახშირწყალს წარმოადგენს საქაროზა. მანდარინის წვენში შაქრების საერთო რაოდენობამ

შეადგინა 81,67 – 98,94 გ/ლ, სადაც გლუკოზა და ფრუქტოზა თითქმის თანაბარი რაოდენობით არის წარმოდგენილი, ხოლო საქაროზას კონცენტრაციამ შეადგინა საერთო შაქრების 55 – 63%. საქაროზის მომატებული რაოდენობა და დაბალი მჟავიანობა მანდარინსა და ფორთოხალს სასიამოვნო მოტკბო გემოს ანიჭებს. ჯიშების მიხედვით საკვლევ ნიმუშებში არ ფიქსირდება მნიშვნელოვანი სხვაობა გლუკოზისა და ფრუქტოზის შემცველობას შორის.

8. HPLC მეთოდით კონდუქტომეტრული დეტექტორის გამოყენებით დადგენილია, რომ მანდარინისა და ფორთოხლის წვენების კატიონებიდან დომინანტი კალიუმის იონებია. მანდარინის წვენებისგან კალიუმის მაღალი შემცველობა დაფიქსირდა იურა ვასეს (2160.5±49.69ppm) და მიაგავა ვასეს (2034.42±46.79 ppm) წვენებში, დაბალი ტაგუჩი ვასეს (594.06±13.66ppm), სატსუმასა (600.63±13.81ppm) და კლემენტულესის (989.06±22.75ppm) წვენებში, ხოლო დანარჩენ ნიმუშებში თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა. ფორთოხლის წვენებში კალიუმის შემცველობა მერყეობს 536-1000.02 ppm, ყველაზე დაბალია მაჩვენებელი ფუკუმოტოს წვენში 536.73±12.34 ppm.

9. შესწავლილია მანდარინის კანისგან სხვადასხვა მეთოდების, მათ შორის სუპერკრიტიკული წნევის ფლუიდური, ულტრაბგერითი, მაღალი წნევის და ტემპერატურის წყლით ექსტრაქციის გამოყენებით მიღებული ეთერზეთის თვისობრივი და რაოდენობრივი შემადგენლობა აირ-სითხური ქრომატოგრაფირებით (GC). დაფიქსირებული 82 კომპონენტიდან იდენტიფიცირებულია 23, საიდანაც დომინანტი 4 ნაერთია. მათ შორის ლიმონენის შემცველობა 80%-ზე მეტია და სხვადასხვა ჯიშში მერყეობს 83,41-88,85 % ფარგლებში. ასევე დომინანტი კომპონენტებია α - Pinene - 0,84-1,0%, Myrcene - 1,76-2,4 %, γ - Terpinene 4,1-დან 5,9%-მდე მერყეობს.

10. ინტროდუცირებული და ადგილობრივი მანდარინის (11 ჯიშში) და ფორთოხლის (5 ჯიშში) ნაყოფის ცალკეულ ნაწილებში (კანი, რბილობი, წვენი,) განსაზღვრულია საერთო ფენოლების და ფლავონოიდების რაოდენობრივი შემცველობა. დადგენილია მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. საადრეო ჯიშებიდან ფენოლების მაღალი შემცველობით გამოირჩევა ოკუცუ ვასესა და იურა ვასეს კანი (4052.31 მგ/კგ-6122.87 მგ/კგ), რბილობი (1365.1 მგ/კგ-1430.9 მგ/კგ) და წვენი (1086.7 მგ/კგ-1191.3 მგ/კგ). საგვიანო ჯიშებშიც ფენოლური ნაერთების რაოდენობა მსგავსი თანაფარდობით არის წარმოდგენილი ნაყოფის სხვადასხვა ნაწილში და იგი მერყეობს: კანში 3267 მგ/კგ – 6200 მგ/კგ და რბილობში 1150 მგ/კგ– 1582 მგ/კგ ფარგლებში. კანსა და რბილობში ფენოლური ნაერთებისა და ფლავონოიდების შემცველობას შორის კორელაციური დამოკიდებულება გამოიხატება 2.5:1-3.5:1 თანაფარდობით. საგვიანო ჯიშებთან შედარებისას აღმოჩნდა, რომ ამ ნაერთების რაოდენობრივი შემცველობა ჩვენთან გავრცელებული ფართოფოთლოვანი უნშიუს წვენში, რბილობსა და კანში არ ჩამოუვარდება შემოტანილ ჯიშებს. ფოთოხლის ჯიშებისგან ამ ნაერთების მაღალი შემცველობით გამოირჩევა სანგვინელის კანი, რბილობი, წვენი.

11. შემუშავდა ციტრუსოვანთა წვენის წარმოების ანარჩენების გადამუშავების კომპლექსური ტექნოლოგია, სუპერფლუიდური, ულტრაბგერითი, მაღალი წნევისა და ტემპერატურის წყლის გამოყენებით, რომელიც იძლევა საშუალებას, ერთდროულად მიღებული იყოს სხვადასხვა ბიოაქტიური პრეპარატი (ცელულოზა, საერთო პექტინი, ჰესპერიდინი, ჯამური კაროტინი, ეთერზეთი).

12. სხვადასხვა ტექნოლოგიით მიღებული ფლავონოიდური პრეპარატების შედარებამ აჩვენა, რომ შედარებით მაღალი შედეგი მიიღება SWE ტექნოლოგიის გამოყენებისას. ამ მეთოდით მიღებულ პრეპარატში ჰესპერიდინის შემცველობამ 84% შეადგინა, შედარებით ნაკლებია SFE (81%) და USE (75%) დროს. განისაზღვრა მიღებული ფლავონოიდური პრეპარატების ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. შედარებით მაღალი ანტიოქსიდანტობით ასევე გამოირჩევა SWE ტექნოლოგიით მიღებული ჰესპერიდინი, რომლის 0,34 მგ ნიმუში ახდენს 0.1 mM DPPH-ის რადიკალის 50%-იან ინჰიბირებას. შეიძლება ითქვას, რომ სხვა ტექნოლოგიებით მიღებულ პრეპარატებს შორის პრინციპული განსხვავება არ შეიმჩნევა ანტიოქსიდანტური აქტიურობის თვალსაზრისით, რაც მათი ქიმიური შედგენილობის მსგავსებითაა განპირობებული.

გამოქვეყნებული სამეცნიერო შრომები :

1. G.R. Memarne, N.I. Khalvashi, M.T. Gabaidze, D. Sh. Baratashvili, A.R. Kalandia, M.G. Vanidze, I.O. Kartsivadze., „Results of the Biochemical Study of Mandarin (Citrus reticulata Blanco) Mutants“, Indian Journal of Agricultural Research, 2021. (55): 535-541. DOI: 10.18805/IJARe.A-591;
2. M.D. Ardzenadze, A.G. Kalandia, D.M. Chikovani, I.I. Kartsivadze, E.A. Qamadadze, K.R. Telia, L.A. Koplataidze - Tangerine wastes - a source of dietary fiber - Sokhumi State University Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, International Scientific Conference - Food and Environmental problems Chemical and Technological Aspects of Biopolymers Book, 2020, Volume I, 235–238. ISBN 978-9941-26-769-7;
3. Inga Kartsivadze; Aleko Kalandia; Maia Vanidze; Merab Ardzenadze; Darejan Chikovani - The study of the content of Carbohydrates, Organic acids, Vitamin C in some varieties of Tangerine juice introduced in Ajara using High Pressure Liquid Chromatography- , International Journal of Life Sciences 2019. 8(4): 109-113;
4. Maia Vanidze, Nona Surmanidze, Jeiran Putkaradze, Inga Kartsivadze, Indira Djaparidze, Aleko Kalandia, Antioxidants of Introductory and Endemic Plants in Georgia, International Natural and Health Science Conference, Antalya/Turkey. INESEC 2017. 2017. p.131- 139;
5. E. Jakeli, A. Kalandia, T. Baramidze, I. Kartsivadze, Influence of Stimufung on Biologically Active Substances of Fruits of Orange Washington-navel, Ecological Life Sciences, 2017. 50-58. ISSN:13087258(NWSAELS). doi: 10.12739/NWSA.2017.12.4.5A0088;
6. E. Jakeli, A. Kalandia, T. Baramidze, I. Kartsivadze, Influence of Stimufung on Conservation of Fruits of Orange Washington-navel – 17th International Scientific Conference "Sakharov Readings of 2017, Minsk. 2017. 134. ISBN 978-985 (2);
7. E. Jakeli, A. Kalandia, T. Baramidze, I. Kartsivadze, Study of biologically active substances of the washington-Navel fruit, widespread in the region of Ajara. International Scientific Conference Future Technologies and Quality of Life. (Poster presentations 26) Batumi 2017. 26-27;
8. Jakeli, E., Kalandia, A., Baramidze T., Kartsivadze I., Influence of Stimufung on Biologically Active Substances of Fruits of Orange Washington-Navel – 2nd International Science Symposium, Tbilisi. 2017. 160;
9. ინგა ქარცივაძე, ჩიქოვანი დარეჯანი, არძენაძე მერაბი, ქამადაძე ელზა, თელია ქეთინო, კოპლატაძე ლენა, „წინასწარი დამუშავების მეთოდების გავლენა მანდარინის (C.Unshiu) გადამუშავების ნარჩენების ანტიოქსიდანტურ აქტიურობაზე“, „ახალი ინიციატივები“, აკაკი წერეთლის სახელწიფო უნივერსიტეტი, ქუთაისი. 2019. 133-140. ISBN 978-9941-484-84-1;

10. ინგა ქარცივაძე, ალექო კალანდია, „დასავლეთ საქართველოში ინტროდუცირებული ფორთოხლის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების განსაზღვრა“, გამოყენებითი ბიომეცნიერებები და ბიოტექნოლოგია. თბილისი. 2019. 47. ISBN978-9941-13-837-9.

11. ინგა ქარცივაძე, ალექო კალანდია, „აჭარაში გაშენებული სატსუმა, ივასაკისა და ნოვას ჯიშის მანდარინის ნაყოფების ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური მაჩვენებლები“. მეოთხე საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული ინტერნეტ - კონფერენცია „ბიოუსაფრთხო კვების პროდუქტთა პრობლემები და ბიზნეს გარემო“. აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ქუთაისი. 2014. 88-90. ISBN 979-9941-453-97-7;

LEPL-Batumi Shota Rustaveli State University
Faculty of Natural Sciences and Health
Department of Chemistry



Inga Kartsivadze

**Biologically active compounds of citrus fruits
introduced in Adjara**

Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for PhD Degree of Chemical Sciences

Specialty: Analysis of natural compounds

Anotation

Batumi - 2022

Dissertation has been performed in the Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences and Health of Batumi Shota Rustaveli State University .

The research part of the dissertation was performed within the framework of the project that was implemented World Bank and LEPL Shota Rustaveli National Science Foundation, Grant CARYS-19-615 "Functional Food Technology", Project AP/96/13 and LEPL Shota Rustaveli State University Internal Project ,, "Study of bioactive compounds of citrus fruits introduced in western Georgia, study of the chemical composition of mandarin residues and development of low-residue and ecologically clean technology for its processing."

Scientific Adviser:

Aleko Kalandia

Professor, Doctor of Biological Sciences,
Batumi Shota Rustaveli State University

Dissertation Experts:

Rusudan Khukhunaishvili

Professor, Academic Doctor of Biological Sciences,
Batumi Shota Rustaveli State University;

Elene Gamkrelidze

Associate Professor, Academic Doctor of Chemistry,
Department of Chemical and Environmental
Technologies, Akaki Tsereteli State University;

Nanuli Nadaraia

Academic Doctor of Chemistry,
Scientific Worker of the Department Plant Biopolymers
and Natural compounds of Chemical Modification,
Iovel Kutateladze Institute of Pharmacochemistry,
Tbilisi State Medical University;

Defense of the Dissertation will be held on 2022, at at the meeting of the Dissertation Council of Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Chemistry, at the following address: Batumi, Ninoshvili Str. №35, Room №.....

The content of the Dissertation can be accessed at the Library of Batumi Shota Rustaveli State University (Batumi, Ninoshvili Str. №35), as well as at the website of the same university www.bsu.edu.ge.

Shota Rustaveli State University of Natural Sciences
Faculty of Sciences and Health
Secretary of the Dissertation Board:

Nana Zarnadze

Introduction.

Relevance of the topic: Citrus cultivation is a promising area in the development of agriculture in Western Georgia. In this part of the country, as a rule, there is a cold winter once every 20-30 years. It causes significant damage to citrus fruits. Hail and frosts which also greatly damage plants and crops, are frequent in November as well. Therefore, for many years, plantations have been cultivated mainly with high frost resistance and with citrus seedlings grafted onto a trifoliolate root. In a non-competitive environment, citrus fruits were indispensable and scarce fruits, but the country's European prospects and its integration with the West began to create some problems for citrus producers. The development of citrus fruits in the country should be guided not by quantity (as it was before), but by growing citrus fruits due to soil and climatic conditions, as well as growing those varieties that are best suited to our climate and produce a crop with such fruits, the chemical composition of which will comply with European standards.

In the Adjara region, within the framework of the state program for the development of agriculture, there have been created several enterprises, including the Agroservice Center A(A)IP, in several areas of which seedlings of both local citrus varieties and imported from many countries are grown: up to 20 different varieties of mandarin (Iwasaki, Okitsu Wase, Satsuma, Nichinani-20, Clementules, Nova, Amakusa, Murkuti, Ortanigui, Georgian Tiahara Unshiu, Kawano Wase, Clementine, Yura Wase, Mikayama, Taguchi, Miyagawa Wase, Ueno, Ohotsu), up to 10 varieties of lemon, 5 varieties of orange, 5 varieties of grapefruit. Grapes, feijoa, persimmons, blueberries, apples, pears and other crops also grow in abundance there. It is known that not only agricultural technology, but also soil and climatic conditions affect the growth and development of plants. Among the subtropical plants, citrus fruits are especially susceptible to such changes. Most of the crops in the Center are fast-growing and, of course, it is important to determine their chemical composition, economic and technological characteristics, self-preservation and other data. Imported plants should be propagated only by establishing these characteristics, verifying the results obtained and maintaining varietal purity.

It can be said that the current state of research on the problem in Georgia is very poor. There are practically no data on the chemical composition of newly introduced plants in Georgia. There are incomplete physical-chemical data on citrus fruits, previously common in the agro-climatic conditions of western Georgia. Research was mainly carried out 20-30 years ago, of course, by possible technical means of that time. There is no information about new introduced plants in Georgia as well. The plants have also changed their chemical composition as a result of changes in the climatic and soil-ecological situation. Complete introduction, zoning and distribution of the plants is possible only after their complete physical and chemical study. Such information has not only theoretical value, but also the greatest practical significance. Based on the results obtained, plants can be certified and zoned, practical advice can be given as well.

The study of citrus processing wastes is also of great importance. In particular, wastes from the industrial processing of mandarins, which, due to their cheapness and availability, are usually disposed of in the environment as garbage, can be considered as an important source of nutraceuticals. Unwanted waste rich in bioactive compounds can be recycled as value-added food supplements, which in turn can be used in the development of functional foods.

Due to the high water content citrus waste is perishable, microbial fermentation, acidification and other processes begin quickly, they can be stored for only 2-3 days. About 160-180 tons of waste, which cannot be processed continuously even with rational technology, are generated per day at juice processing enterprises in Georgia. That is why it is necessary to use different methods of processing (storage) in order to extend the shelf life of mandarins processing waste, to study physical and chemical indicators for their further use, to develop small-scale or waste-free technologies.

The purpose of the research is to study the chemical composition of mandarins (Unshiu), as well as other new modern citrus varieties, introduced in Georgia by the Center (A (A) IP of the Ministry of Agriculture of the Adjarian Republic, using modern physical and chemical methods; to assess the changes in plant fruits; to study the chemical composition of residues obtained during the production of juice from the fruits of industrially grown mandarin; to use the most environmentally friendly technologies for obtaining biologically active compounds from residues; to study the chemical composition and antioxidant properties of the obtained preparations.

Scientific novelty - For the first time in Georgia, the qualitative and quantitative content of introduced and local citrus bioactive compounds of mandarin 11 and 5 varieties of orange was studied using HPLC-UV, RI, Conductometry and UPLC-PDA, MS methods, through preparatory and analytical columns, through various sorbents. Qualitative and quantitative composition of phenolic compounds, carbohydrates, organic acids, vitamins, minerals was determined in each variety. Using modern physicochemical methods, 8 flavonoids and 3 anthocyanins were individually isolated and identified, up to 80 components in the composition of citrus peel oil were identified, of which 23 components were identified. Their quantitative content was determined. Using various methods, including supercritical fluid fluid, ultrasound, high pressure and temperature water extraction, citrus juice production waste processing, virtually waste-free technology was developed and various bioactive drugs were obtained.

The practical significance of the article - These studies have not only scientific, but also practical and social significance. In particular, by processing and coordinating the results obtained, on the basis of scientifically based research, it will be possible to select such citrus plants that are most suitable for the natural conditions of the region. When selecting varieties, one should also take into account not only the good taste properties of fruits, but also the fact that they should be distinguished by a high content of biologically active compounds. Until today, no such information existed. The scientific information obtained will help farmers renew their plantation areas with new varieties of early and late maturing citrus fruits, as well as increase the volume of harvest lots sold. With proper business planning and management, citrus plantations are very profitable and can be cost effective for small farmers. It is also important to study the physical and chemical indicators of waste for their further use, the development of small-sized or waste-free technologies.

Object of study, material and methodology: The object of study is citrus fruits grown on private plots and on the territory of Agroservice Center (plants imported from different citrus zones of the world), introduced in Western Georgia: 10 sorts of mandarin: Iwasaki, Okutsu Wase, Satsuma, Nankan-20, Clemenules, Yura Wase, Mukoyama, Taguchi, Miyagawa Wase; Tiaxara, 4 varieties of orange: Seike Navel, Fukumoto, Sanguinelli, Valencia Delta). For comparison, we took the local mandarin unshiu and the Washington navel. Also, for research, we used the remains of mandarin (peel with parts of the pulp), obtained after the industrial production of citrus juice by Ltd GIAMGI (Kobuleti).

The fruits were harvested in 2016–2018 in different months of consumer ripening, namely, early mandarin varieties (Yura Wase, Miyagawa Wase, Taguchi, Okutsu Wase, Iwasaki) were harvested in the first half of October and late varieties (Mukoyama, Tiahara, Clemenules, Nankan 20 and Satsuma Clauselin, local Unshiu) - in mid-November. The research objects are located at an altitude of 350 m² above sea level in the northwestern part of the Center. These varieties were grafted onto a trifoliolate root. The fruits were harvested from all four sides of the plant, both inside and outside. Their average samples were taken for analysis.

Substances were isolated and identified by high-pressure liquid and ultra-high pressure liquid mass-spectral chromatography (UPLC); Quantitative content and antioxidant activity of compounds (common phenols, flavonoids, anthocyanins, carotenoids, pectin) were determined by spectral method;

Approbation of the dissertation. The results of the study are presented in 3 scientific articles and materials of 8 international scientific conferences.

Volume and structure of the thesis - The thesis consists of 118 printed pages, according to the requirements for the dissertation for obtaining a doctoral degree, and includes a title page and sheets with signatures, a summary in Georgian and English, content, 67 figure, 20 table, 14 diagram, 3 Scheme list of references- 145 units and illustrative material in Appendix N1. The main text consists of: introduction, literature review, experimental part, conclusion, list of references and appendix.

Literature review - The first chapter of the article deals with the biologically active compounds of citrus plants, the flavonone glucosides, the distribution of phenolic compounds in plants, their physiological activity and biological characteristics of citrus fruits introduced in western Georgia. A list of used literature is attached to the thesis.

Chapter 2. Technical characteristics of some varieties of mandarins and oranges and some physico-chemical indicators of the juice introduced in western Georgia

We studied both local and reintroduced mandarin and orange fruits (Unshiu, Washington navel). The fruits are round in shape, yellowish-greenish in color, sweetish-sourish, sweetish and sweet in taste. The fruits of the varieties Okutsu Wase, Mukoyama and Iwasaki are relatively large and their average weight is 91-100 g, and the fruits of Yura Wase have the smallest weight - 45 g, but are characterized by good organoleptic characteristics (taste) (Table №1). For the study, a sample weighing 1 kg was taken and Organoleptic and some physico-chemical parameters of mandarin and orange fruits have been determined: fruit size, color, shape, weight, volume, juiciness, active acidity (pH), titratable acidity, dry matter (Brix), fatty acid index.

Amount of juice yield from mandarin fruits was 29.2 - 58.0%, in particular, the lowest rate was from Iwasaki fruits 29.2%, and the highest from Nankan-20 fruits (58%) (Table №1).

Technical characteristics of mandarin fruits

Table №1

Sample name		Technical characteristics of mandarin fruits						
		Taste	Color	Shape	Size, mm		Mass of one piece, gr	Volume of one piece, ml
					Length	Width		
	Taguchi Wase	sweetish-sourish	yellow	round	42.33±0.51	51.33±0.62	80±0.76	86±0.82
	Okutsu Wase	Sweetish	yellow	round	65.08±0.78	75.80±0.91	91±0.86	95±0.83
	Miagava Wase	Sourish	yellowish-greenish	round	50.23±0.60	67.69±0.81	87±0.83	91±0.77
	Iwasaki	Sweetish	yellowish	round	73.13±0.88	100.22±1.2	100±0.95	108±0.92
	Yura Wase	Sweet	yellow	round	40.73±0.49	51.55±0.62	45±0.43	49±0.67
	Nankan-20	sourish-sweetish	yellow spotted	round	43.95±0.53	58.84±0.71	85±0.81	89±0.80
	Mukoyama	Sourish	greenish-yellowish	round	60.58±0.73	74.01±0.89	96±0.91	103±0.87
	Satsuma	Sourish-sweetish	yellowish	round	66.36±0.80	70.78±0.85	81±0.77	87±0.73
	Tiahara unshiu	Sourish	yellowish-greenish	round	57.23±0.69	67.36±0.81	79±0.75	85±0.71
	Clemenules	Sourish-sweetish	greenish-yellowish	round	52.39±0.63	57.90±0.69	86±0.82	92±0.77
	Unshiu	Sourish-sweetish	yellowish-greenish	round	55.34±0.66	60.21±0.72	98±0.93	104±0.92

The №1, №2 diagrams show the average data for three years (2016–2018) (both early and late maturing fruits) (See Appendix N1). Samples of Taguchi Wase, Nankan-20, Satsuma, Tiahara Unshiu, Iwasaki and Clemenules were characterized by a high content of dry matter (9.7 - 10.2%) and a low content of titrate acid (0.59 - 0.96%), which determines the high index of sugar acid (10.1 - 17.28) and, accordingly, the quality of mandarin fruits. While the high concentration of titratable acidity in the juice

of the Mukoyama and Miyagawa Wase varieties (1.22 and 1.03%) causes a low sugar acid index (8.03-8.6), which does not meet the standard (market requirements). As for the local Unshiu, the titratable acidity is 1% and the sugar acid index is over 9.

Orange samples were taken at the end of November in the period of full ripening. The fruits are round, oblong-oval, yellowish-orange in color, with a sweet and sour taste. The average fruit weight of Fukumoto (208 g) and sanguineli (224 g) is relatively large, while the masses of other fruits are almost equal (182 g -195 g) (Table №2).

Technical characteristics of orange fruit

Table №2

№	Sample Name	Technical characteristics of orange fruit						
		Taste	Color	Shape	Size, mm		Mass of one piece, gr	Volume of one piece, ml
					Length	Width		
1	Valensia Delta	sweetish-sourish	Yellowish-greenish	round	69.3±0.83	75.7±0.91	192±1.82	200±1.90
2	Seike Navel	sweetish-sourish	orange	Elongated oval	73±0.88	70±0.84	195±1.85	204±1.80
3	Neveli	sweetish-sourish	Yellowish-greenish	Elongated oval	80±0.96	86±1.03	182±1.73	189±1.69
4	Fukumoto Navel	sweetish-sourish	orange	roundish	70±0.84	71±0.85	208±1.98	212±1.94
5	Sanguinelli	sweetish-sourish	Green with a yellowish tint	oval	73.3±0.88	63.8±0.77	224±2.13	230±2.19

Among orange samples, Fukumoto is characterized by high dry matter content (9.2%) and low titratable acidity. While a relatively low dry matter index and high acidity are characteristic of Valencia Delta - 8.1%, hence the low number of sugar acid index, which is reflected in its taste properties. The juice yield is high in the Fukumoto variety (54%), while the rest of the samples show an almost equal juice yield (45-48%)(Diagram №3, See Appendix N1).

The chemical composition of fruits depends on a number of factors, including climatic conditions. In particular, the temperature regime during the growing season of fruits, in the process of ripening, has a significant impact on both the accumulation of sugars and the decrease in acidity.

As the results of observations showed, the Brix samples collected in 2016–2018 did not differ significantly. Titratable acidity in orange juice was higher than in mandarin. Among the early maturing varieties of mandarin, the index of sugar acids was lower in the juice of the Miyagawa Wase variety - 8.6 %, among the late varieties there was Mukoyama - 8.03 %, which is directly related to high acidity. (Among the early varieties, the highest indicator of titratable acidity was found in the juice of Miagawa Wase – 1 %, while among the late varieties in the juice of Mukoyama - 1.22 %) (Diagram №3, See Appendix N1).

A high index of sugar acid, as one of the main characteristics of the quality of citrus fruits, indicates a high quality of mandarin. It was revealed that the pH indicator varies significantly between seasons (2016-2018), as well as between varieties themselves. Most of the samples taken in the autumn of 2018 had a higher pH than in 2016. This may indicate that seasonal differences affect parameters such as fruit pH. In addition, it is clear that differences between varieties play a larger role than seasonal

differences in the variability of the results obtained for these citrus juice characteristics (Diagram N°4 , See Appendix N1).

Chapter 3. Optimization of extraction of hesperidin and other flavonoids and modification of the method in relation to citrus raw materials

Currently, there is no validated method for using an extractant for the determination of flavonoid glycosides. To determine the extraction conditions, we used the standard hesperidin available to us (Sigma-Eldrich), as well as the compounds obtained by us and recrystallized. To determine the optimal extraction conditions, 1 mg of hesperidin and various solvents were taken: ethanol, solutions of various concentrations of DMSO in ethanol (10, 20, 30, 40, and 50 %), and ultrasonic treatment was used. To determine the complete solubility of hesperidin, the UV spectrum of the resulting solution was scanned (Table N° 1) and analyzed by UPLC-PDA-MS (Table N° 3).

Hesperidin solubility in various solvents, UPLC-PDA-MS and UV spectrum characteristics.

Table N°3

Name	Concentration	Retention Time	Area	Amount mg/ml	%	λ max. 283 nm
Hesperidin 1	1.04 mg/ml Ethanol	5,054	4777205	0,269	31,64	0,1
Hesperidin 2	1.03 mg/ml + 20% DMSO/ethanol	4,739	9053003	0,509	59,95	0,3
Hesperidin 3	1.03 mg/ml + 30% DMSO/ethanol	4,743	10226226	0,575	67,72	1,3
Hesperidin 4	1.11 mg/ml + 50% DMSO/ethanol	4,749	10559702	0,594	84,68	1,7
Hesperidin 5	1.11 mg/ml + 20% DMSO/ethanol Ultrasonic Bath	4,745	15100697	0,849	100,00	2,1

The solubility of hesperidin in water is practically not observed. Adding 96% alcohol to the solution increases the solubility, but this result is still very small, since only 30-35% of the mass of 1 mg of the drug is dissolved (0.27 mg / ml; absorbance at 283 nm - 0.1)(figura.1). The addition of a 20% DMSO/ethanol instead of water significantly increases the solubility of hesperidin to 60% (0.51 mg / ml, absorption at 283 nm - 0.3)(figura 2), 30% DMSO/ethanol in solution increases this figure to 70% (0.57 mg/ml, absorbance at 283 nm -1.3)(figura 3), addition of 40%DMSO/ethanol increases to 75% at 40°C and complete solubility, addition of 50% DMSO/ethanol increases to 85% (0.59mg/ml, absorbance at 283 nm-1.7)(figura 4), while adding 50% DMSO/ethanol and processing the solution in an ultrasonic bath, complete solubility is achieved (0.85 mg/ml, absorbance greater than 2.0 at 283 nm)(figura 5). From the results obtained, it was concluded that the best result is obtained by ultrasonic treatment of a mixture of 50% DMSO/ethanol.

This optimal mixture of 50% DMSO/ethanol obtained by ultrasonication was used for further processing of the samples.

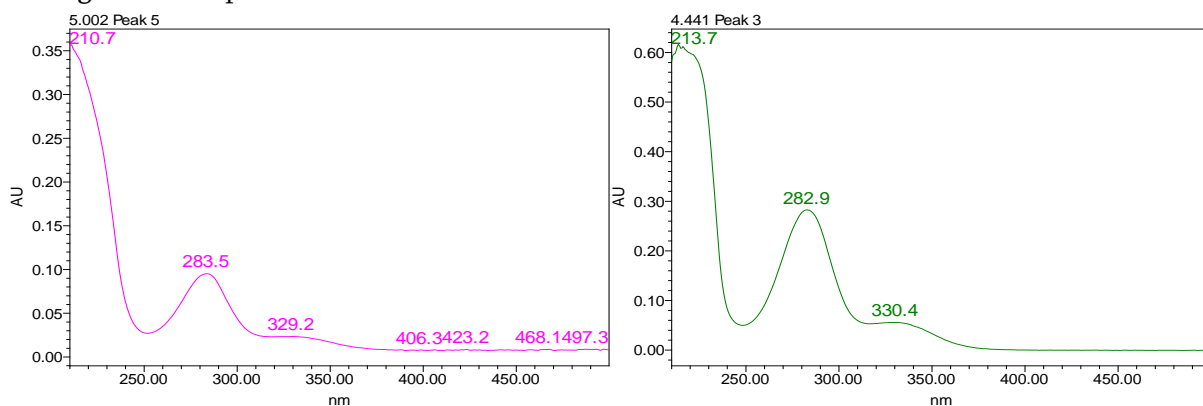


Figure 1. Hesp.1 Spectrum in the 210-500 nm range Figure 2. Hesp.2 Spectrum in the 210-500 nm range

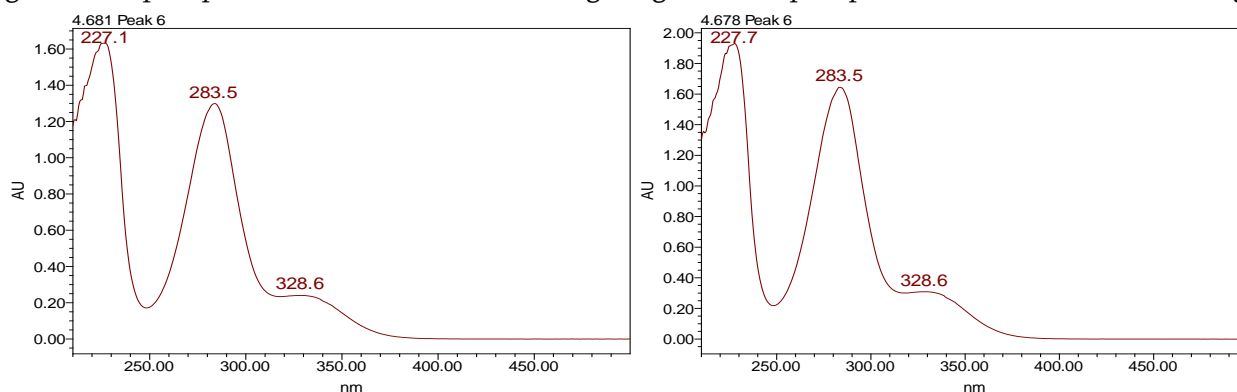


Figure 3. Hesp.3 Spectrum in the 210-500 nm range Figure 4. Hesp.4 Spectrum in the 210-500 nm range

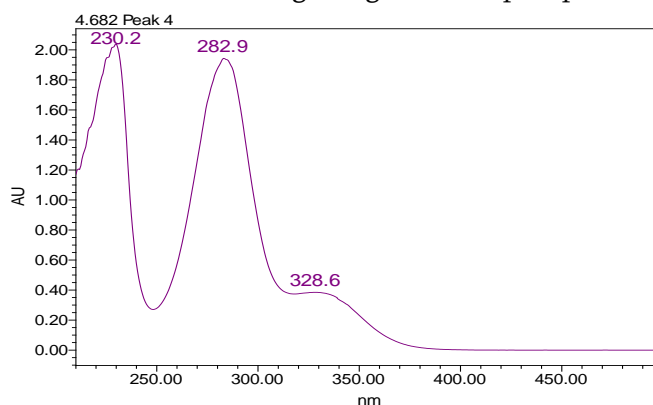


Figure 5. Hesp.5 Spectrum in the 210-500 nm range

Studies have been conducted on mandarin juices, which inevitably contain suspended particles, and different processing methods give different results. The use of centrifugation and other means to remove sediment in the study does not give a reliable picture of the content of phenolic compounds, since most of the flavonoid glycosides, including hesperidin, are in suspended colloidal particles. To determine the content of hesperidin in mandarin juice, 5 options were compared: 1 - mandarin juice; 2 - mandarin juice - DMSO/water (1/1); 3-mandarin juice-96% ethanol; 4- mandarin juice- 50% DMSO/ethanol ; 5- mandarin-50% DMSO/ethanol ultrasonic bath; (Table №4).

Content of hesperidin in mandarin juice

Table №4

Nº	Sample	Retention Time	Area	Amount mg/ml
1	Juice of Tangerine	4,923	802306	0,09
2	Juice of Tangerine DMSO/water (1/1)	4,926	1391705	0,30
3	Juice of Tangerine Ethanol	4,934	1326592	0,29
4	Juice of Tangerine 50% DMSO/Ethanol	4,923	4187768	0,92
5	Juice of Tangerine 50% DMSO/Ethanol Ultrasonic bath	4,918	4416754	0,97

When analyzing mandarin juice without any additives by centrifugation and filtration only, the content of hesperidin is 0.09 mg/ml. When DMSO/water (1/1) was added to mandarine juice, this figure increased significantly to 0.3 mg/ml. When ethanol was added to mandarin juice, this indicator increases slightly 0.29 mg / ml; when a mixture of 50% DMSO/ethanol is added to mandarin juice, the hesperidin indicator was 3 times higher (0.92 mg/ml), and when a mixture of 50% DMSO/ethanol , processed in ultrasonic bath, was added to mandarin juice, the hesperidin content was 0.97 mg/ml.

It was also interesting to determine the condition for the complete extraction of flavonoid glycosides from other parts of citrus fruits (skin, pulp, crushed fruits). To determine the content of hespedin and other flavonoids, 5 options were compared: 1- Extraction of mandarin peel with water; 2- mandarin peel - DMSO/water (1/1); 3 - mandarin peel – 96% ethanol ; 4- mandarin peel – 50% DMSO/ethanol ; 5- mandarin peel- 50% DMSO/ethanol - ultrasonic bath (in all cases the ratio between sample and solvent was 1:10. The maximum content of hesperidin was 1397.61 mg/kg after skin treatment with an ultrasonic bath with a mixture of 50% DMSO/ethanol (Table №5).

Content of hesperidin in mandarin peel

Table №5

Nº	Sample eqsraction	Retention Time	Area	Amount mg/kg
1	peel of Tangerine + water	4,654	237383	124,43
2	peel of Tangerine DMSO/water (1/1)	4,663	1052559	510,25
3	peel of Tangerine 96%/Ethanol	4,654	374670	247,84
4	peel of Tangerine 50% DMSO/Ethanol	4,668	2266385	1386,12
5	peel of Tangerine 50% DMSO/Ethanol Ultrasonic bath	4,665	2434763	1397,61

The results obtained have shown that the maximum content of hesperidin is achieved when the mixture is treated with an additional mixture of 50% DMSO/ethanol processed in an ultrasonic bath, and we consider this method to be optimal (Figure 6).

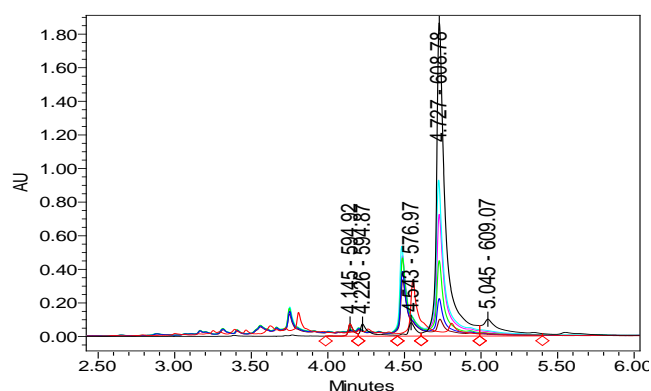


Figure 6. Chromatogram QDa Negative (-) SIR Ch21 609.00Da, CV=30, Smoothed by 15 point Mean Filter

Chapter 4. Qualitative study of chemical composition of some varieties of mandarins and oranges introduced in Adjara with UPLC PDA-MS detector

4.1 Study of phenolic compounds

Individual compounds of citrus fruits were isolated by column chromatography, as well as by high-efficiency liquid chromatography, by detection of ultraviolet, refractometric index, and ultra-efficient liquid chromatography (MS) and photomodulation (MS) were performed for identification (MS). Quantitative analysis of compounds was performed using UPLC-PDA-MS, HPLC-UV, IR, Conductivity detection method. Substances were identified and quantified using standard compounds (hesperidin, naringin) and the free substance database <https://metlin.scripps.edu>, as well as data from peer-reviewed literature publications (Figure 7–9).

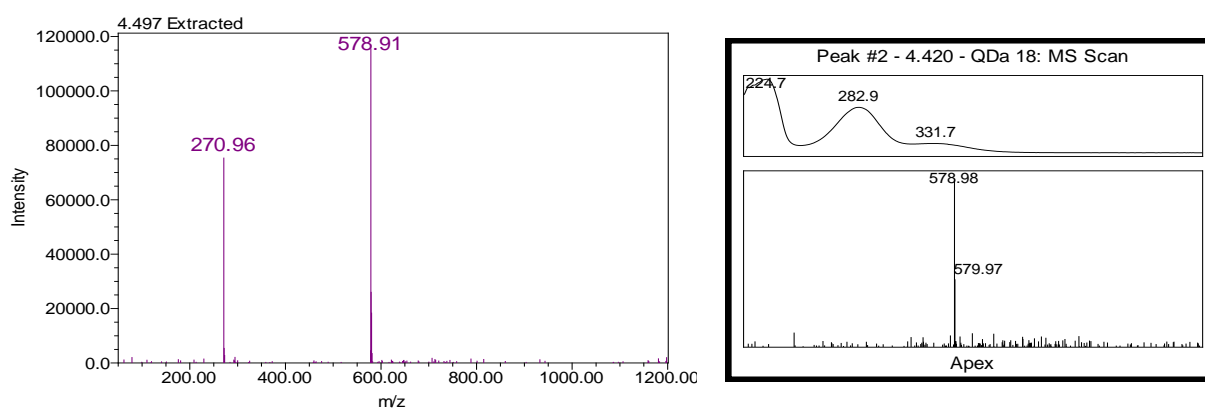


Figure 7. Standard Naringin UPLC-PDA-MS spectrum

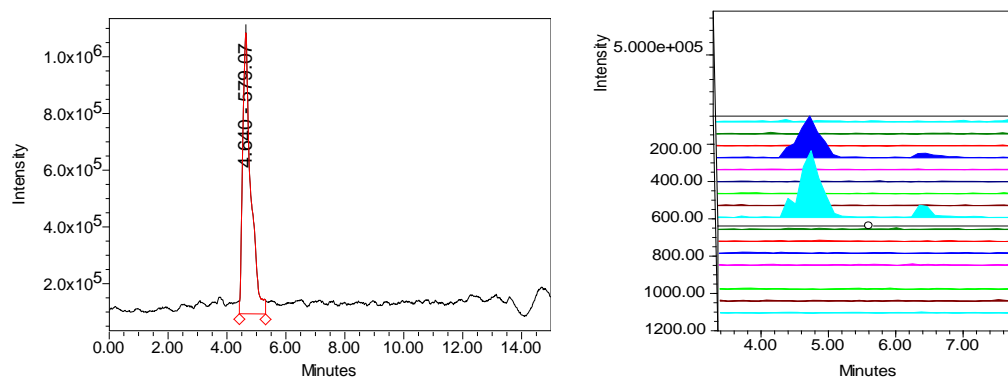


Figure 8. Standard Naringin LC-MS Common Chromatogram LC-MS Chromatogram and 3D Format

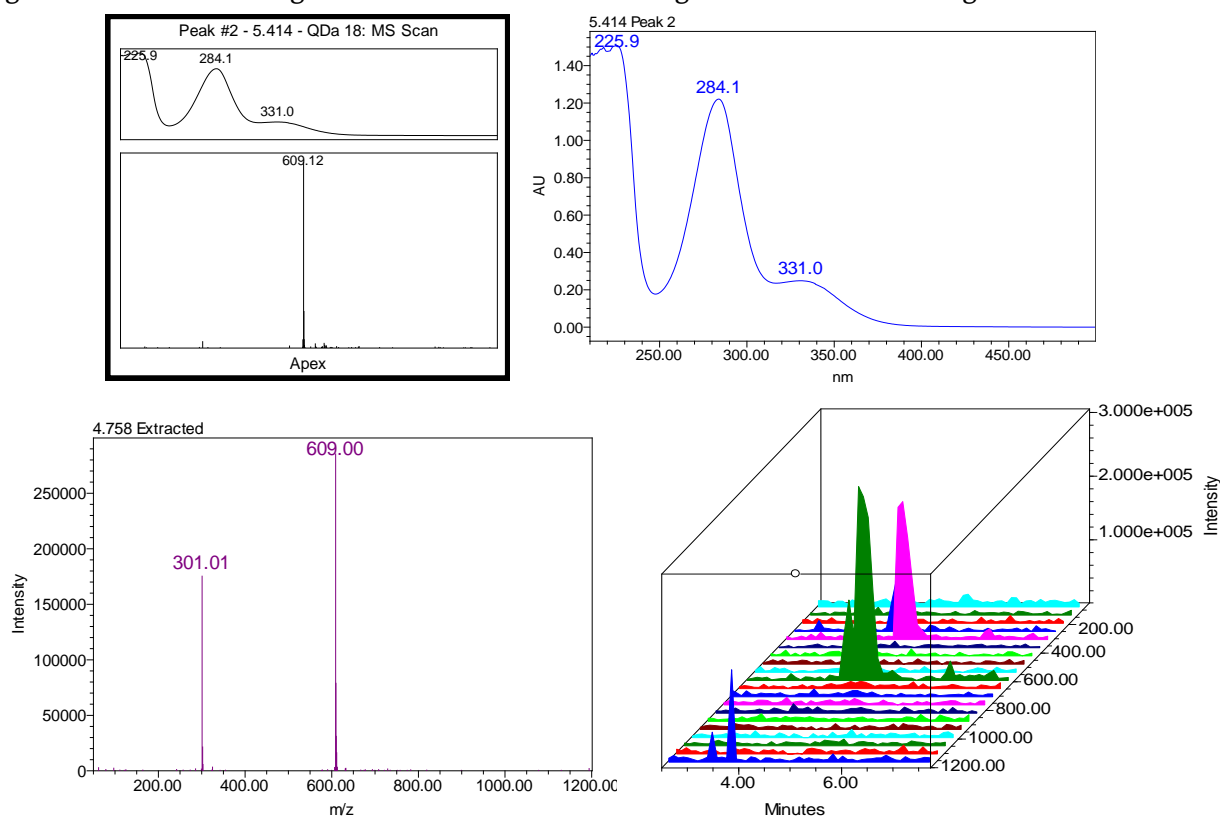


Figure 9. Standard hesperidin UPLC-PDA-MS spectrum absorption max 284.1.

Before chromatographic separation, the sample was prepared for chromatography by solid phase extraction, which included sampling on a column (C18 Waters). Before sampling, the column was activated with methanol. Then the activated sorbent was balanced with distilled water. Only then did we have a sample on the cartridge through a vacuum. The next step was to remove unwanted components remaining on the sorbent with water. We concentrated the elution of concentrated substances with methanol. It became possible to identify several compounds.

For identification, it is important to reveal their fragmentation, as well as the change in their mass (due to the addition of ions) and the significance of absorption maxima in the UV.

The peel of citrus fruits is richer in phenolic compounds than other parts of the fruit; therefore, extracts of both unshiu and introduced mandarin and orange peel were used to identify the compounds (Figure 10).

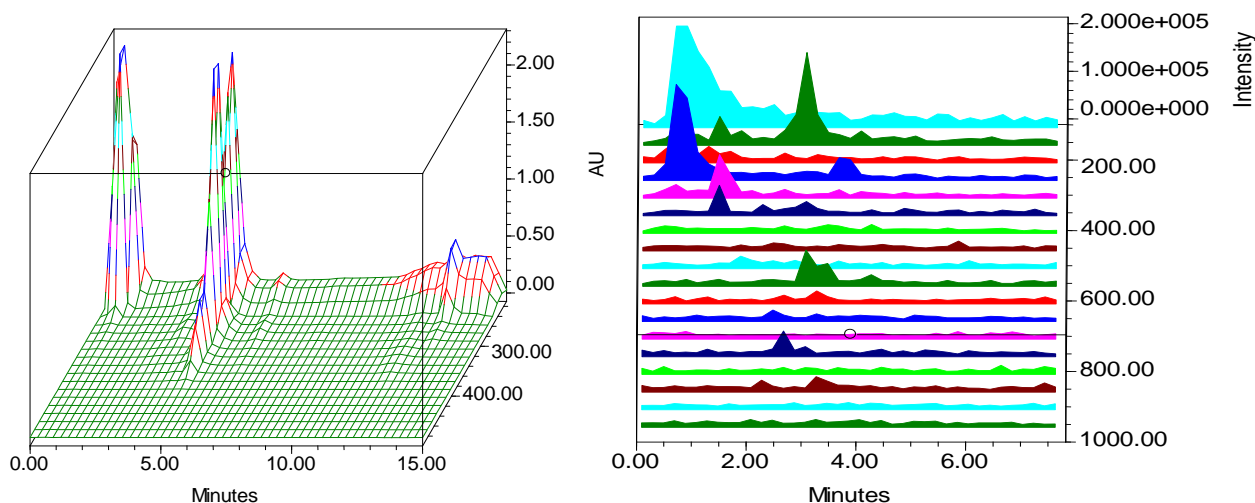


Figure 10. Mandarin Unshiu Fetal skin UPLC-PDA-MS chromatogram

The LC-MS-PDA study of flavonoid glycosides allowed us to identify the following compounds:

Substance 1 $[M-H]^-$ - m/z 609.09 is recorded on the chromatogram with a retention time of 5,195 resulting in 300.93 m/z fragmentation with a maximum absorption of 284.1 nm. According to the METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) compound mass base, substance 1 corresponds to hesperidin, with a molecular weight of 610.1898 g/mol ($C_{28}H_{34}O_{15}$) (Figure 11).

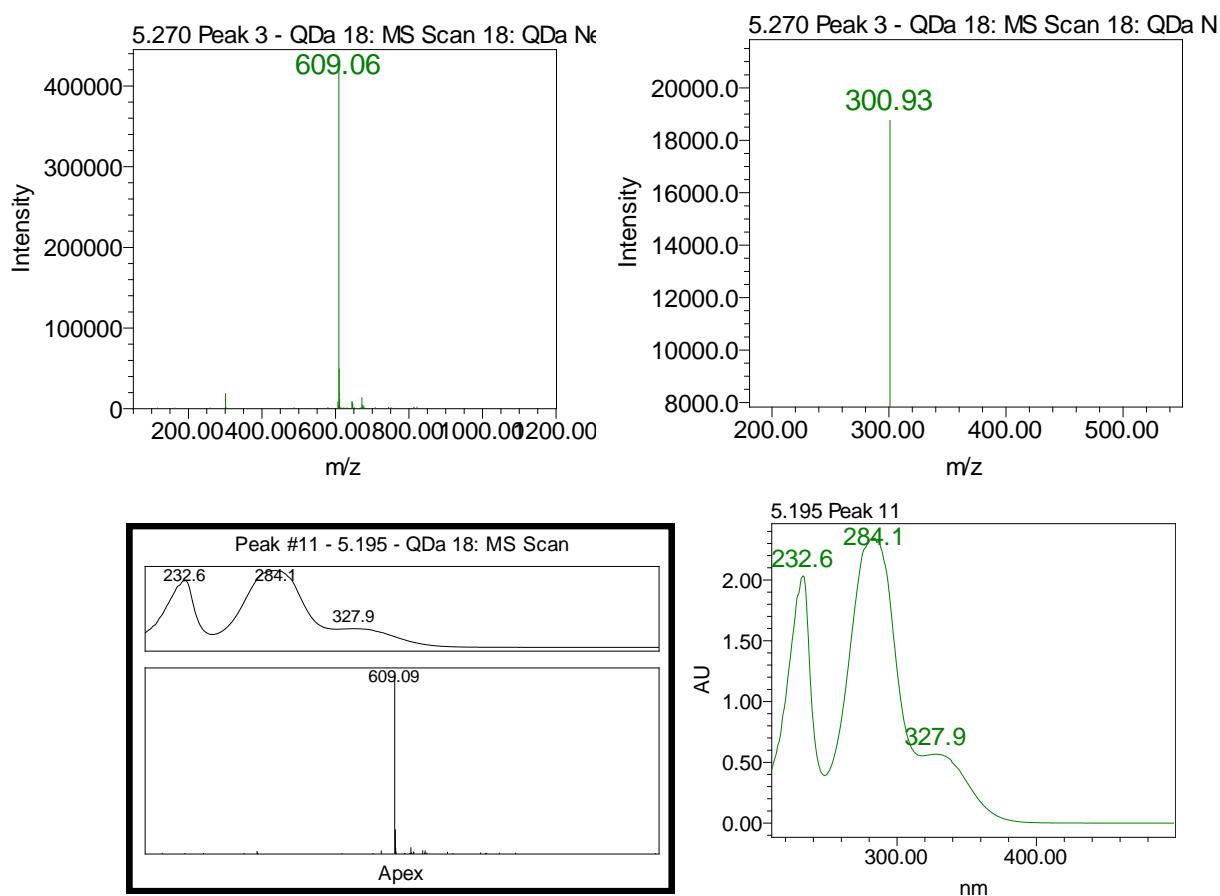


Figure 11. Substance 1 UPLC-MS spectrum SIR 609,09 Da, Absorption max 284.1

Substance 2 $[M-H]^-$ - m/z 579.42 recorded on chromatogram holding time 4,862 Fractionation resulted in 271.27 m/z . Maximum absorption 282.3 nm. Accordingly, substance 2 corresponds to narirutin, with a molecular weight of 580.54 g/mol ($C_{27}H_{32}O_{14}$) (Figure 12).

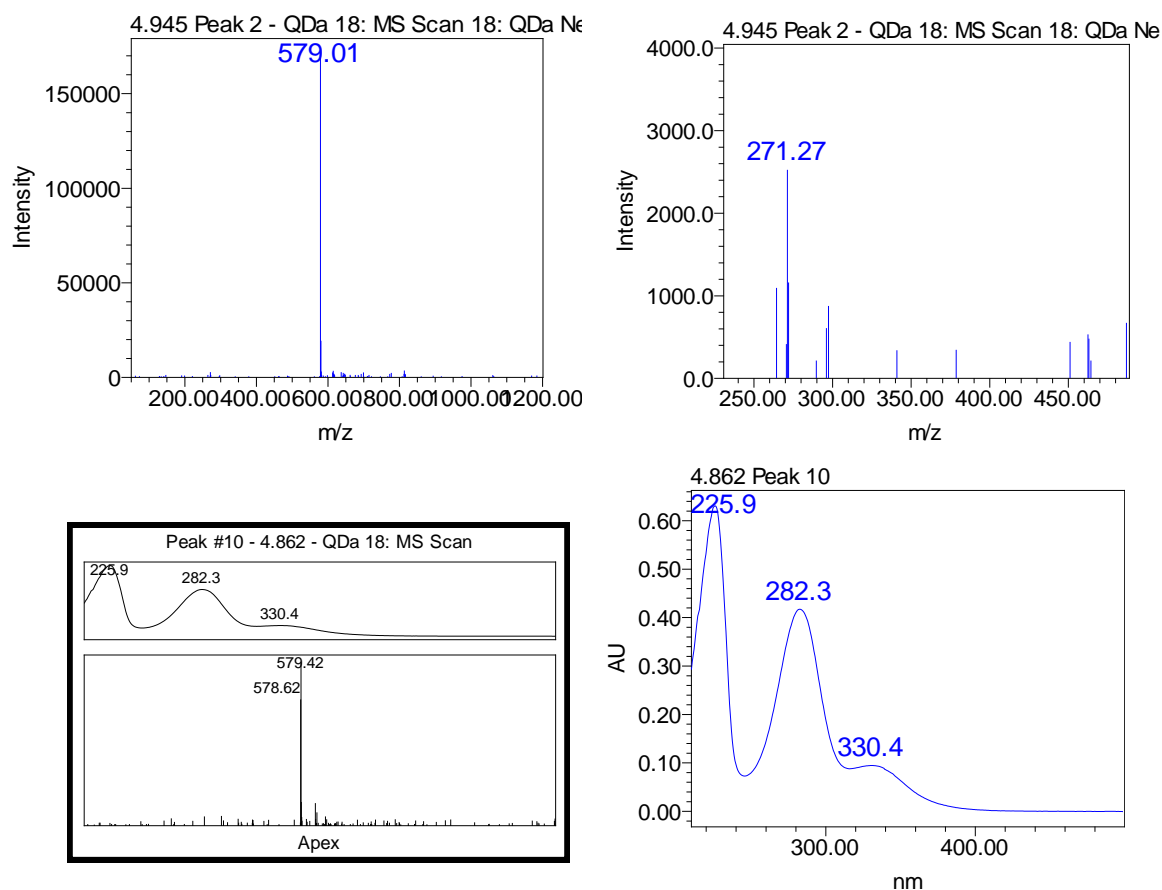


Figure 12. Substance 2 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 284.1

Substance 3 $[M+H]^+$ - m/z 593.20 recorded at chromatogram holding time of 7,246 fractions resulting in m/z 285.12. Absorption maximum 282.9 nm. 3 corresponds to Didimin with a molecular weight of 594.56 g/mol ($C_{28}H_{34}O_{14}$) (Figure 13).

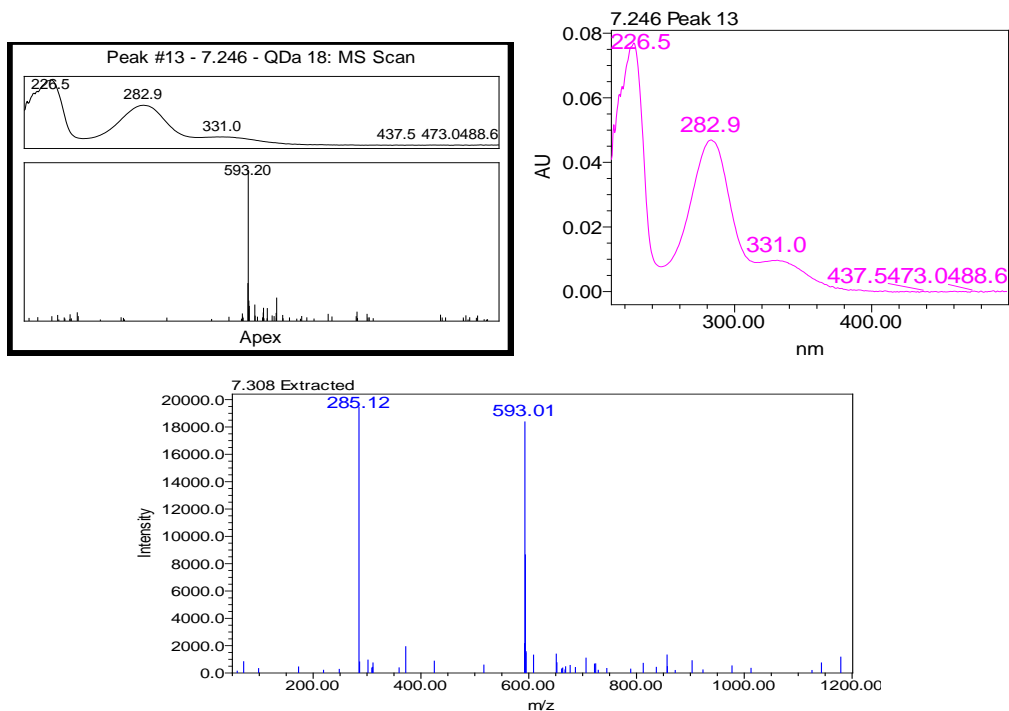


Figure 13. Substance 3 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 283.5.

Substance 4 $[M+H]^+$ - m/z 403.15 recorded at chromatogram holding time 4.326, fragmentation yielded m/z 359, absorption maximum 282.9 nm. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) According to the mass base of the compounds, substance 4 corresponds to nobiletine with a molecular weight of 402.01 g/mol ($C_{21}H_{22}O_8$) (Figura 14).

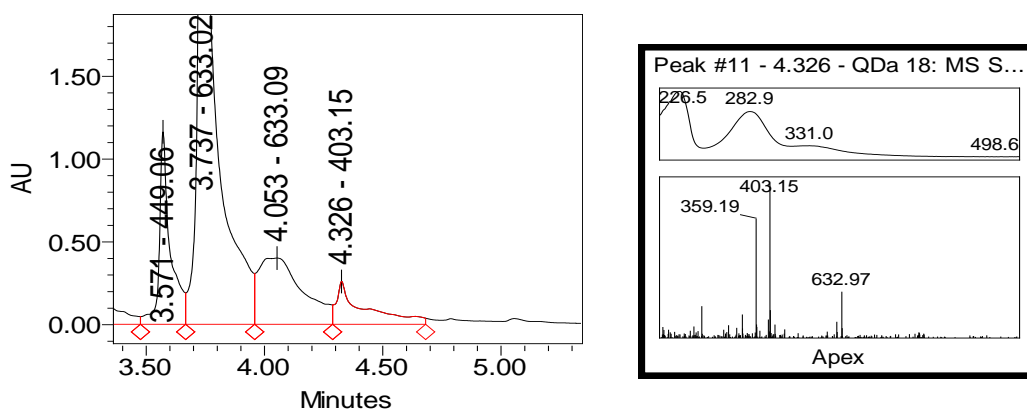


Figura 14. Substance 4 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 282.9

Substance 5 $[M+H]^+$ - m/z 394.94 ($372.12 + Na$) is recorded on the chromatogram with a retention time of 6.330, with a maximum absorption of 325.5nm. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) According to the mass base of the compounds, substance 5 corresponds to sinensetin, with a molecular weight of 372.12 g/mol ($C_{20}H_{20}O_7$) (Figura 15).

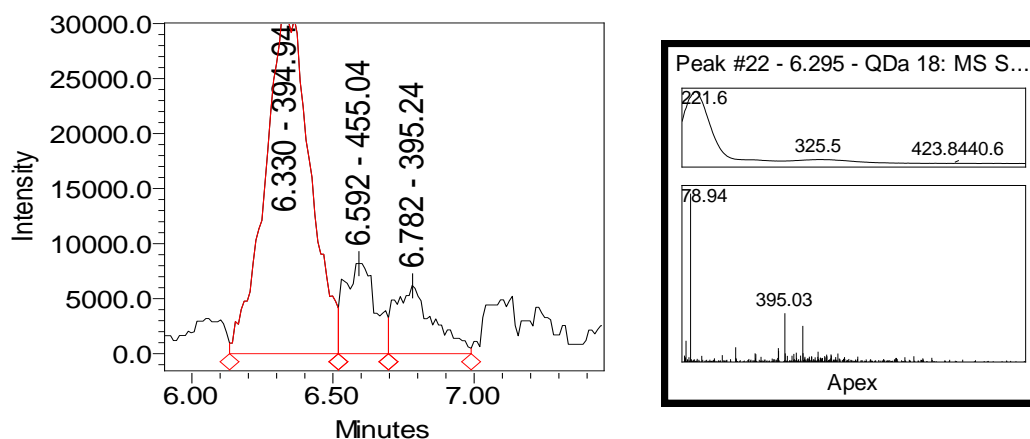


Figure 15. Substance 5 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 325.5

Substance 6 $[M+H]^+$ - m/z 395.24 ($372.12 + Na$) is recorded on the chromatogram with a retention time of 6,565 resulting in 156.96 m/z , with a maximum absorption of 284.1 nm. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) According to the mass mass of the compound, substance 6 corresponds to tangerine, with a molecular weight of 372.12 g/mol ($C_{20}H_{22}O_7$) (Figure 16).

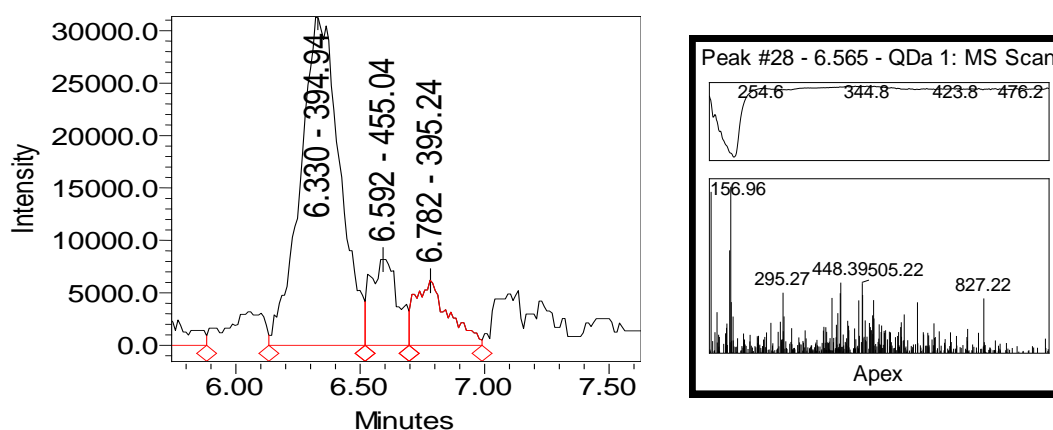
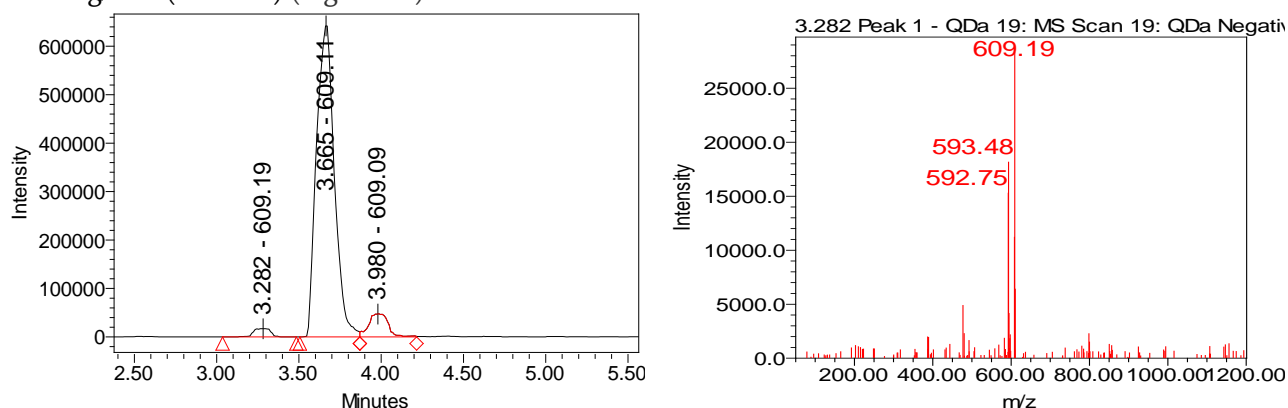


Figure 16. Substance 6 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 283.5 nm.

Substance 7 $[M-H]^-$ - m/z 609.19 recorded at chromatogram holding time 3,282, absorption maximum 284.7nm. According to METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) according to the mass base of the compounds, substance 7 corresponds to a molecular weight of neohesperidin with a molecular weight of 326.29 g/mol ($C_6H_{10}O_7$) (Figure 17).



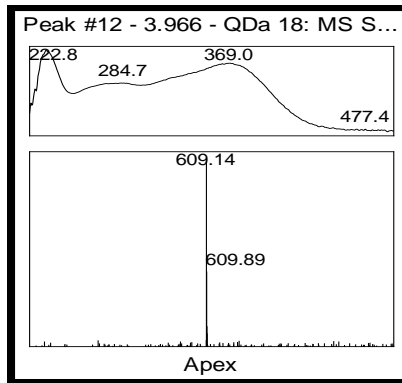


Figura 17. Substance 7 UPLC-PDA-MS spectrum, Absorption max 284.7 nm.

Substance 8 $[M-H]^-$ - m/z 579.90 recorded at chromatogram retention time 5,133. Fragmentation resulted in m/z 270.86, absorption maximum 281.7nm. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) According to the mass mass of the compound, substance 8 corresponds to naringin, with a molecular weight of 580.54 g mol ($C_{27}H_{32}O_{14}$) (Figura 18).

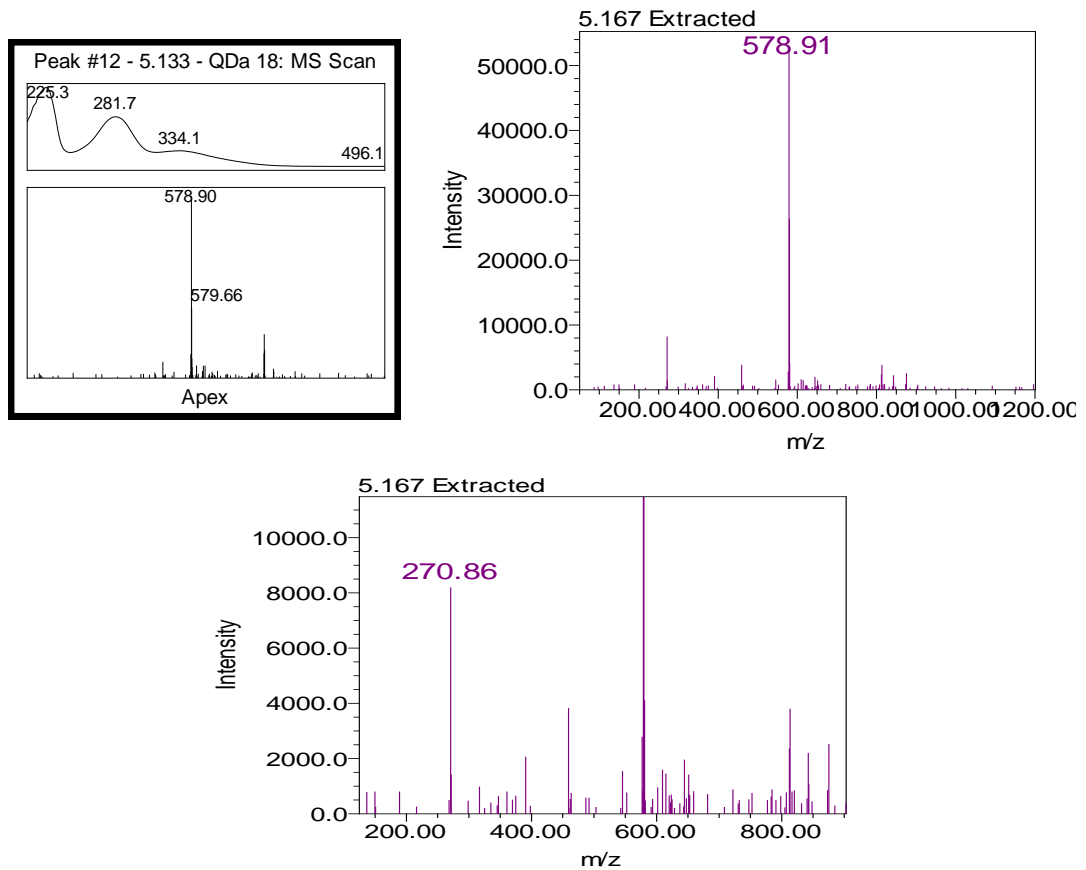


Figura 18. Substance 8 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 281.7

Anthocyanins of orange sanguine red fruit introduced in western Georgia were also studied (Figure 19).

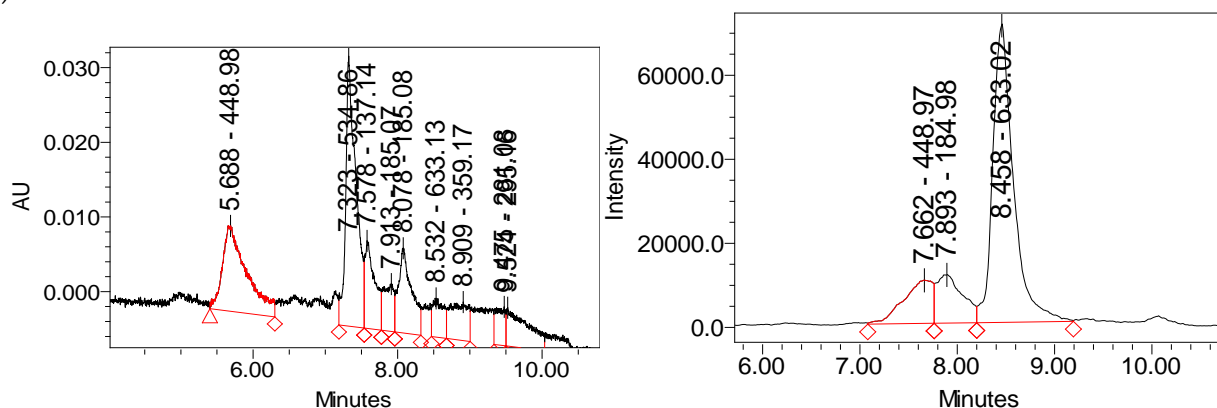


Figure 19. Chromatograms of orange sanguine

The following anthocyanic glycosides were identified in UGLC-PDA using the MS method in sanguine juice, pulp and extract.

Substance 9 $[M+H]^+$ - m/z 448.68 recorded at chromatogram retention time 5,746. Fragmentation resulted in m/z 286.91, absorption maximum 281.7nm and 518nm. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) According to the mass of the compound, substance 9 corresponds to Cyanidin-3-glucoside, with a molecular weight of 449.38 g/mol ($C_{21}H_{21}O_{11}$)(Figure 20).

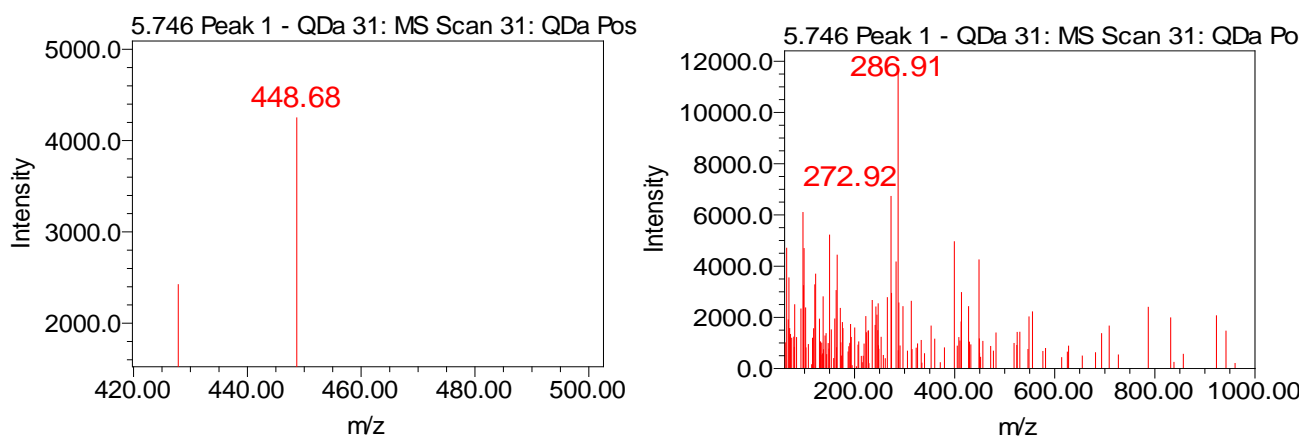


Figure 20. Substance 9 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 281.7nm and 518 nm

Substance 10 $[M+H]^+$ - m/z 534.87 recorded at chromatogram retention time 7.399. Fragmentation resulted in m/z 286.65, absorption maximum 281.7 nm and 518 nm. METLIN according to the mass (<https://metlin.scripps.edu>) of the compound, substance 10 corresponds to Cyanidin3-(6''-malonylglucoside), with a molecular weight of 535.4 g/mol($C_{24}H_{23}O_{14}$)(Figure 21).

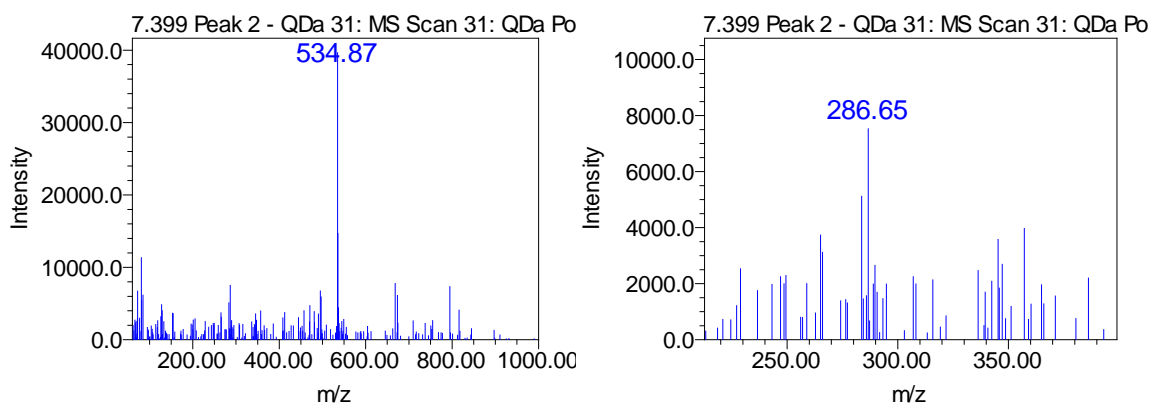


Figura 21. Substance 10 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 281.7nm and 518 nm

Substance 11 $[M+H]^+$ - m/z 449.10 recorded at chromatogram retention time 7.680, Fragmentation resulted in m/z 302.87, absorption maximum 281.7nm and 518nm. METLIN (<https://metlin.scripps.edu>) According to the mass of the compound, substance 11 corresponds to Delphinidin 3-rhamnoside, with a molecular weight of 449.10 g/mol ($C_{21}H_{21}O_{11}$) (Figura 22).

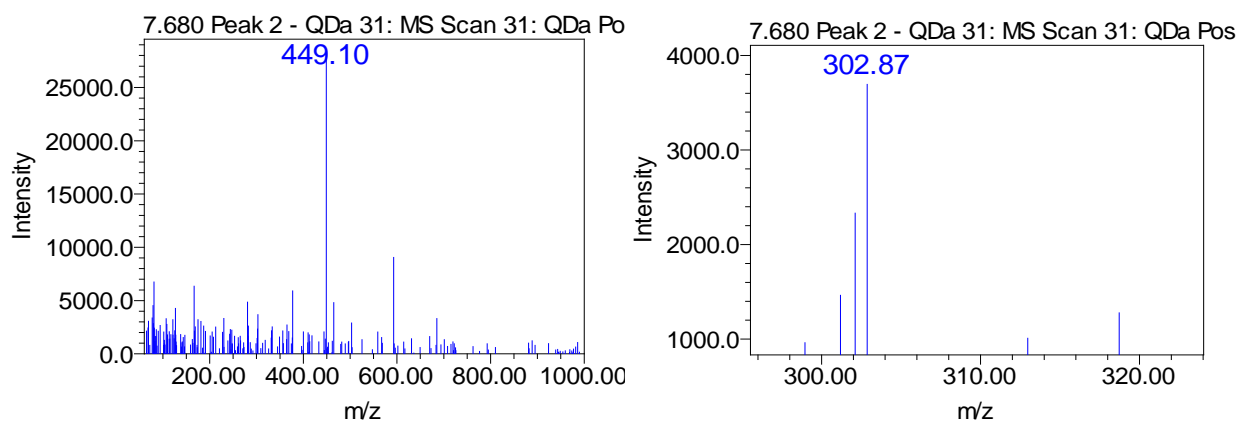


Figura 22. Substance 11 UPLC-PDA-MS spectrum ,Absorption max 281.7nm and 518 nm

The red anthocyanins in the pulp of orange sanguine, in addition to the above-mentioned flavonone glycosides, have been identified and quantified by the following anthocyanins: Cyanidin 3-glucoside, Cyanidin 3- (6-malonyl glucoside) And Delphinidin 3-rhamnoside. In this case, the dominant compound is cyanidine 3-glucoside and its quantitative content is 25.6 mg/kg in pulp, 9.6 mg / kg in juice. Extraction - 12.48 mg/kg, cyanidine 3 - (6-malonyl glucoside content in pulp, juice, extract is 7.16 mg/kg - 2.68 mg/kg - 3.49 mg/kg, while the content of delphinidine 3 - ramnoside is 6.97 m/kg – 2,16 mg/kg – 3,24 mg/kg (Table N°7).

Anthocyanins of orange *Sanguinella* picked in december 2018

Table №7

Sanguinella	Cyanidin3–glucoside mg/kg	Cyanidin 3-(6-malonyl Glucoside) mg/kg	Delfinidin 3-rhamnoside mg/kg	Common anthocyanins (By Wet weight calculation) mg/kg
pulp	25.6±0.41	7.16±0.41	6.97±0.18	42.12±0.62
juice	9.6±0.21	2.68±0.11	2.16±0.41	15.68±0.35
residues	12.48±0.29	3.49±0.17	3.24±0.14	21.14±0.38

Characterization of UPLC-PDA-MS bioactive compounds of identified mandarin and orange is presented in Table №6.

Characterization of UPLC-PDA-MS bioactive compounds of mandarin and orange

Table №6

№	Name	RT (min)	MW	[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁺ (m/z)	Fragment	UV max. (nm)
1	Narirutin	4.851	580	579	581	271/273	282.3
2	Hesperidin	5.195	610	609	611	301/303	284.1
3	Neohesperidin	5.603	610	609	611	301/303	284.2
4	Didimin	7.246	594	593	595	285/287	282.9
5	Naringin	5.133	580	579	581	271/273	281.7
6	Tangeretin	6.565	372	371	373	157	284.1
7	Sinensetin	6.330	372	371	373	341/343	325.5
8	Nobiletin	4.326	402	401	403	357/359	282.9
9	Cyanidin 3-glucoside	5.746	447	-	448	287	281.7
10	Cyanidin 3- (6"-malonyl glucoside)	7.399	534	-	535	287	281.7
11	Delfinidin 3-rhamnoside	7.680	448	-	449	303	281.7

After identifying individual compounds, it was interesting to see how their quantitative distribution occurred in various parts of the fruit - peel, pulp, juice and residues. Diagrams №5–12 show the quantitative content of the dominant flavonoid glycosides (See Appendix №1).

Qualitative differences in the compounds identified in two types of citruses (mandarin and orange) and their varieties were not observed. In all cases, hesperidin quantitatively exceeds the content of other glycosides and is up to 80-90% of the total amount of these compounds. It is followed by narirutin, naringin, didimine, and the remaining substances are present in small quantities. A large number of these compounds has been identified in the peel, then in pulp, the residues and juice (Figura 23).

Hesperidin, neohesperidin, narirutin, naringin, didymin, tangeretin, nobiletin, sinensetin were identified in the peel of mandarins (11 varieties) and oranges (5 varieties), and hesperidin, narirutin, didymin were identified in the pulp, residues and juice.

According to the varieties, the skin of Satsuma-2503.9 mg/kg and Yura Wase - 2400.1 mg/kg are distinguished by a high content of hesperidin [there 1]. The low content of hesperidin is observed in the skin of Tiahara Unshiu - 1290.1 mg/kg, while in the peel of other varieties of mandarin, it ranges from 1297.6 mg / kg to 1943.1 mg / kg, in juice - from 346 mg/kg to 644.14 mg/kg, in pulp - from 445.1 mg / kg to 879.3 mg/kg, and in residues - from 137.28 mg/kg to 205.51 mg/kg . Their orange samples taken for analysis have high levels of hesperidin in the peel, pulp, residues and juice of Sanguinella (1941.1 mg/kg - 830.6mg/kg – 278.1mg /kg – 511.8 mg/kg) (See Appendix №1).

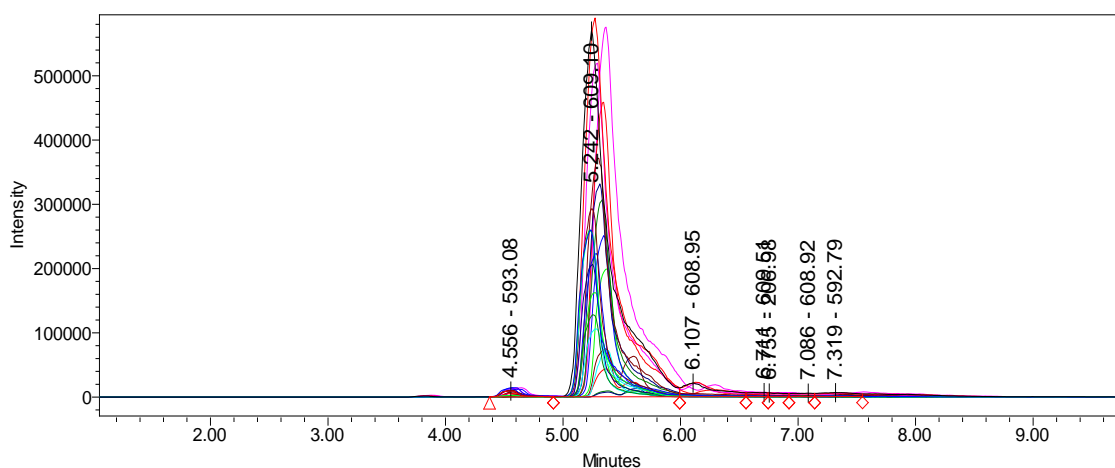


Figura 23: Common LC-MS chromatogram of citrus hesperidin.

4.2 Research on other classes of compounds

Identification of organic acids of mandarin and orange juice of some introduced varieties has been carried out by HPLC-UV, IR, UPLC PDA-MS chromatography. There have been used a preparation column (Phenyl 3.5 μm , 4.6 x 150 mm), solvent system in 0.1% deionized water, Acetonitrile in gradient. 3 dominant carbohydrates have been identified in mandarin and orange juice: glucose, fructose and sucrose.

Substance 9 - $[\text{M}-\text{H}]^-$ - m/z 132.94, fragmentation m/z 115; retention time - 6.321 min, maximum absorbance - UV-241 nm. According to the standard composition and weight of METLIN compounds, substance 9 corresponds to Malic acids(Figura 24).

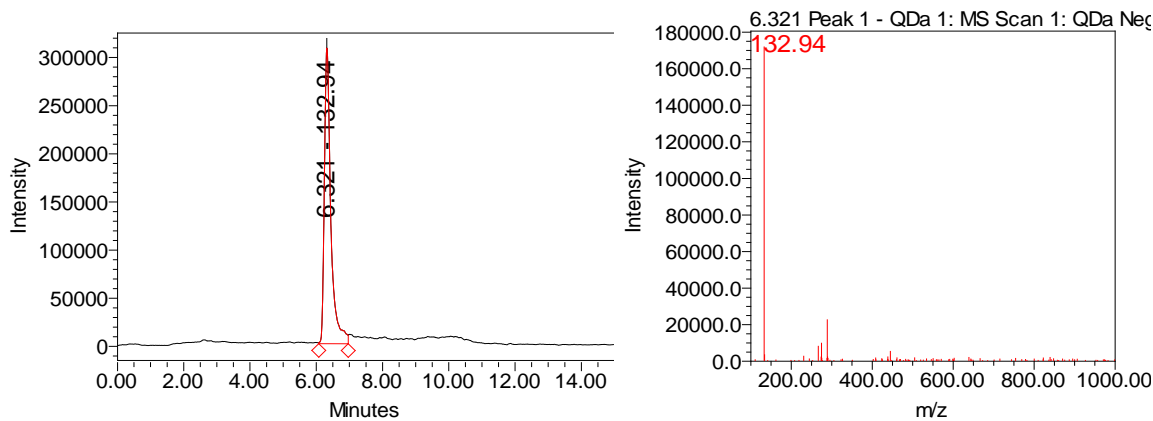


Figura 24. Substance 9 UPLC-PDA-MS spectrum, m/z 132.94

Substance 10 [M-H]⁻ - m/z 174.94, fragmentation result - m/z 115; retention time - 6.321 min, maximum absorbance - UV-245.4 nm. According to the standard composition and mass base of METLIN compounds, substance 10 corresponds to ascorbic acids(Figura 25).

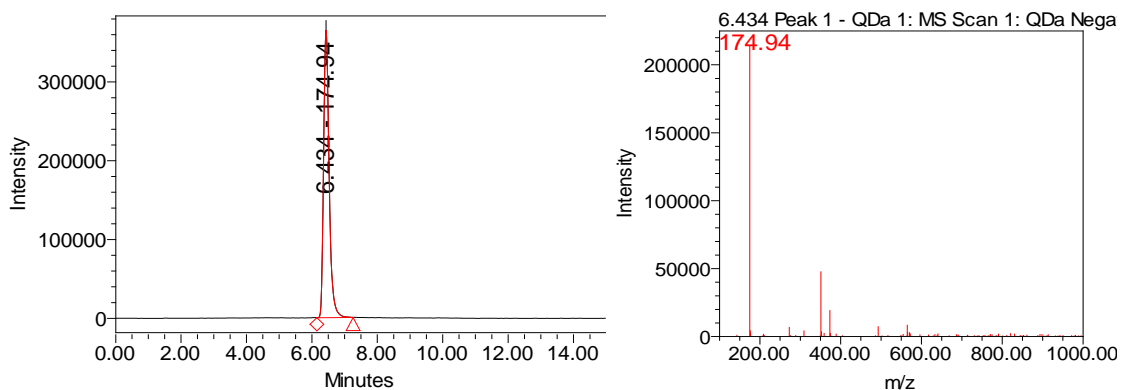


Figura 25. Substance 10 UPLC-PDA-MS spectrum, m/z 174.94

Substance 11 - [M-H]⁻ - m/z 190.93, fragmentation result - m/z 111 peak; retention time - 7.651 min, maximum absorbance - UV-210.7 nm. According to the standard composition and mass base of METLIN compounds, substance 11 corresponds to Citric acids (Figura 26).

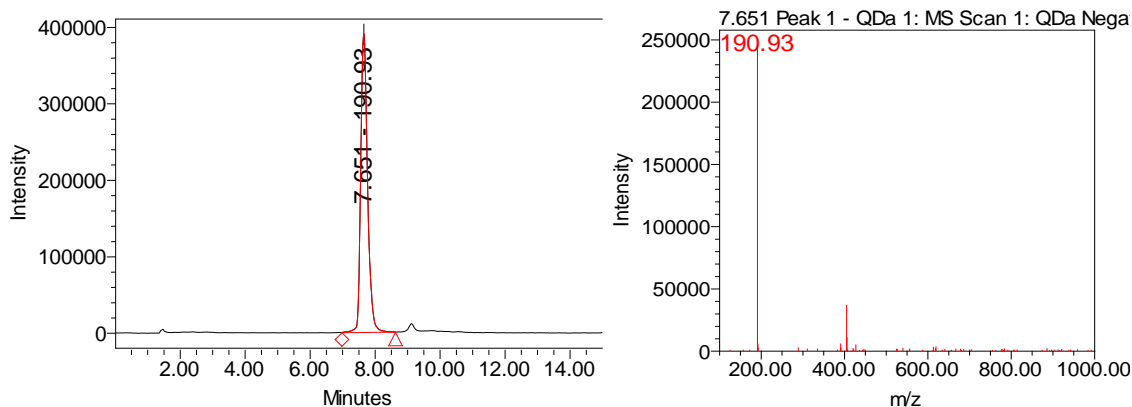


Figura 26. Substance 11 UPLC-PDA-MS spectrum; m/z 190.93

Three carboxylic acids have been identified in mandarin and orange juices: malic, ascorbic and citric.

Substance 12 - $[M-H]^-$ - m/z 179.06, but the addition of formic acid leads to the formation of a pseudomolecule m/z 224.99. The retention time of the chromatogram is 5.276 min, the absorption maximum is not visible in the UV spectrum. Compared to the standard compound and the mass of METLIN compounds, substance 12 corresponds to glucose (Figura27).

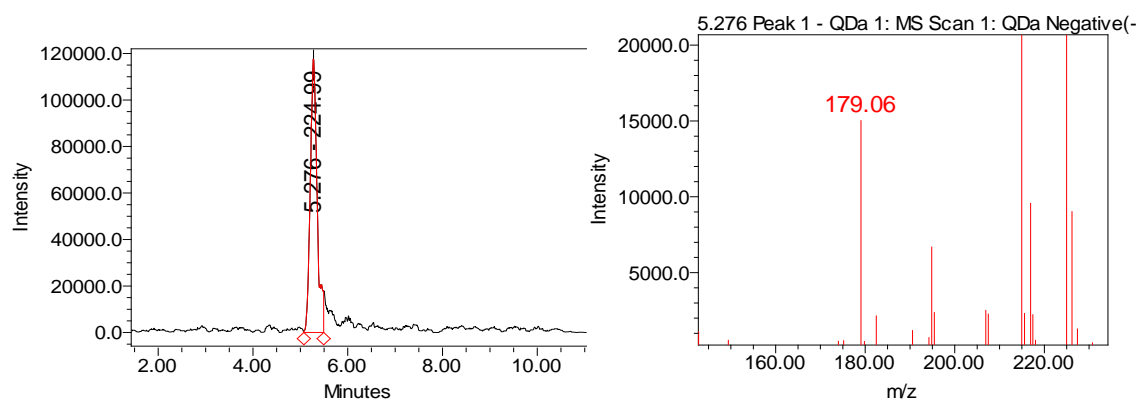


Figura 27. Substance 12 UPLC-PDA-MS spectrum, m/z 224.99

Substance 13 - $[M-H]^-$ - m/z 178.92, but the addition of formic acid leads to the formation of a pseudomolecule m/z 224.98, and the addition of chloride ions leads to the formation of m/z 214.87. Retention time 5.394 min, maximum absorbance not visible in UV spectrum. According to the standard composition and weight of METLIN compounds, substance 13 corresponds to fructose (Figura 28).

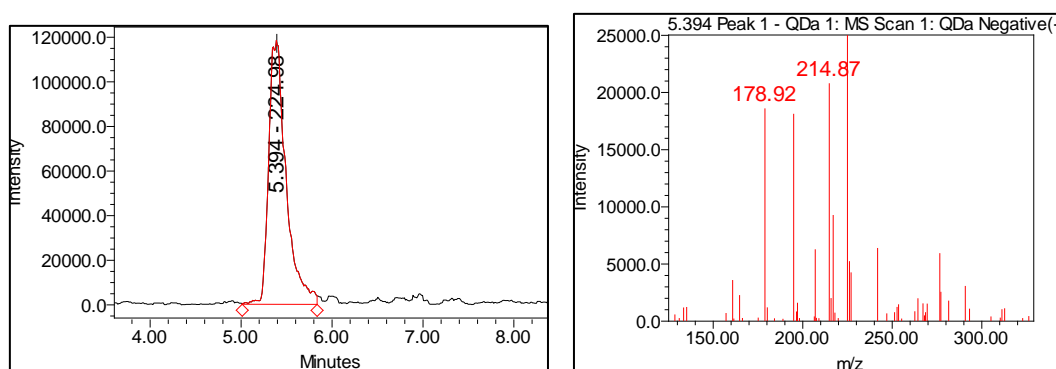


Figura 28. Substance 13 UPLC-PDA-MS spectrum, m/z 224.98

Substance 14 - $[M-H]^-$ - m/z 341.10, but the addition of formic acid leads to the formation of a pseudomolecule m/z 387.04, and the addition of chlorine ion gives m/z 377.04. Retention time - 5600 min, maximum absorption is not visible in the UV spectrum. According to the standard composition and mass of METLIN compounds, substance 14 corresponds to sucrose (Figura 29).

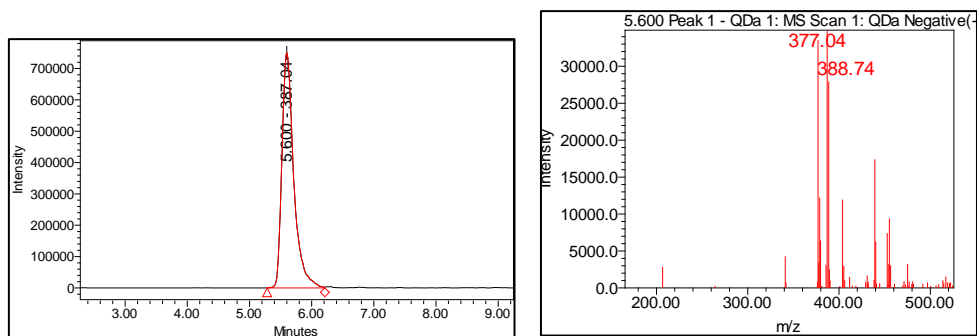


Figura 29. Substance 14 UPLC-PDA-MS spectrum; m/z 387.04

Chapter 5. Quantitative Analysis of Organic Acids and Carbohydrates of Some Mandarins and Orange Juices Introduced in Adjara by HPLC Method

5.1 Quantitative study of organic acids by HPLC method

After the identification of carboxylic acids by high pressure liquid chromatography in juices, the content of the dominant substances L-ascorbic, malic and citric acids was determined. Samples for chromatography were prepared as follows: to precipitate pectin, ethanol (96%) was added to fruit juice in a ratio of 1:1. After centrifugation, the sample was mixed with the mobile phase in a ratio of 1:1 to -0.1% phosphoric acid. Prior to injection, the sample was filtered through a 0.45 μm filter. Chromatographic analysis was performed using a UV-Vis 2489 detector for L-ascorbic acid at 254 nm, for citric acid at 214 nm and for malic acid using UPLC-MS detectors. A Shodex - KC - 811 column was used for separation, and the mobile phase was 0.1% H_3PO_4 . After the identification of ascorbic acid - L, a quantitative calculation was made according to the calibration curve, taking into account the dilution factor that was available during sample preparation.

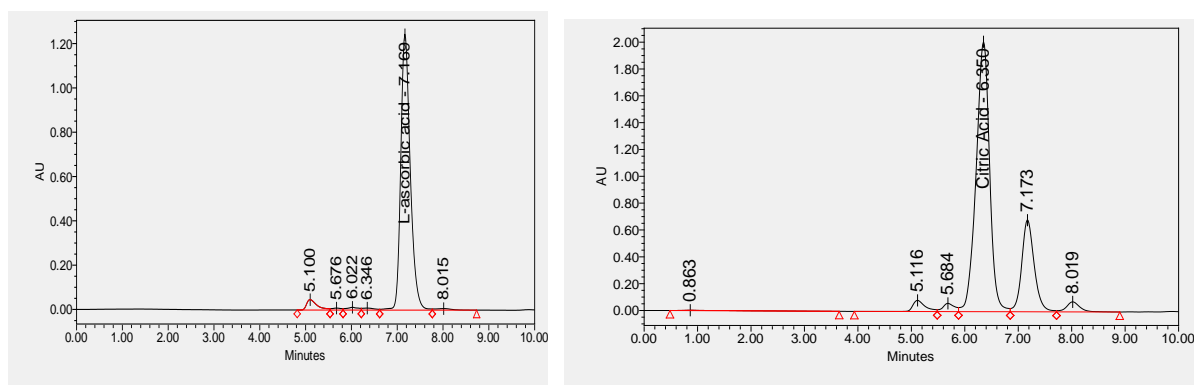


Figura 30. Chromatogram of citrus juice with vitamin C and organic acids

The concentrations of vitamin C, citric acid and Malic acid in tangerines and oranges were determined. In particular, a high content of vitamin C of mandarin juice was observed in Yura Wase juice - 1.046 mg / ml, the lowest in Taguchi Wase juice - 0.245 mg / ml, Nankan - 0.285 mg / ml and Mukoyama - 0.258 mg / ml, while in the remaining samples it was almost the same (Table № 8).

The total amount of organic acids in tangerine juice is defined as 5.36 – 9.78 g/100 g . Of the organic acids in citrus juice, citric acid is present in large quantities (* - late varieties are mentioned). High quantitative content of citric acid is present in Mukoyama and Yura Wase juices (8.7 g/100g-8.1 g/100g), low in Iwasaki juice -4.72 g/100g, while the remaining samples have almost equal amounts (5.74-6.85 g/100g) (Table №8).

The content of citric acid and vitamin C in different varieties of mandarin juice

Table №8

Sample Name	Organic acids of mandarin juice		
	Citric acid content g/L	Vitamin C mg/ml	Malic acid g/L
Taguchi Wase	5.74±0.13	0.245±0.01	0.78±0.01
Okitsu Wase	6.46±0.14	0.427±0.01	0.87± 0.03
Miyagava Wase	6.85±0.15	0.323±0.01	0.93±0.02
Iwasaki	4.72±0.10	0.621±0.01	0.64±0.01
Yura Wase	8.1±0.18	1.046±0.02	0.99±0.02
Nankan-20*	6.12±0.13	0.285±0.01	0.83±0.02
Mukoyama*	8.7±0.19	0.258±0.01	1.08±0.03
Satsuma*	5.8±0.13	0.495±0.01	0.78±0.01
Tiahara Unshiu*	6.02±0.13	0.531±0.01	0.82±0.02
Clemenules*	6.09±0.13	0.88±0.02	0.83±0.02
Unshiu*	6.15±0.14	0.412±0.01	0.86±0.03

content of citric acid and vitamin C in orange juice of different varieties

Table №9

Organic acids	Valencia Group - Late	Navelina Group			Sanguinella Group – Late
		Medium mature		Early	
	Valencia Delta	Seike Navel	Fukumoto	Naveli	Sanguinella
Citric acid g/L	16.50±0.36	11.24±0.25	13.07±0.29	11.06±0.24	14.21±0.31
Vitamin C g/l	0.623±0.01	0.535±0.01	0.389±0.01	0.453±0.01	0.513±0.01
Malic acid g/L	1.52±0.03	1.06±0.02	1.21±0.03	1.04±0.02	1.31±0.03

Among orange juices, high content of vitamin C is present in Valencia Delta juice - 0.623 g / l, an equal amount in the juices of Naveli - 0.453 g /l, Sanguinella - 0.513 g/l and Seike Tavel - 0.535 g/l in juices, low concentration in Fukumoto juice 0.389 g/l . Among orange juices, Valencia Delta -16.5 g/l, Low Naveli - 11.06 are characterized by a high content of citric acid, while in other samples the amount is almost equal to 11.24-14.21 g/l. (table 9). The ratio between citric acid and malic acid in mandarin juice was 7: 1, while in orange juice it was 10: 1 (Table N°9) (Fugura 30).

5.2 Quantitative study of carbohydrates by HPLC method

High performance liquid chromatography (HPLC) - Waters (RI detector, Binary HPLC Pump 1525), chromatographic column with amide (250 mm x 4.5 mm) and Carbohydrate (Merck; Sigma-Aldrich); column temperature 40oC, eluent 80% acetonitrile (Merck; Sigma-Aldrich) detected by refractometry; X-ray detection.

Samples for chromatography were prepared as follows: to precipitate pectin, 96% ethanol was added to the juice in a ratio of 1:1. After centrifugation, the sample was mixed with the mobile phase in a 1:1 ratio with 80% acetonitrile. Prior to injection, the sample was filtered through a 0.45 µm filter.

Among the carbohydrates in the juices of various varieties of mandarin and orange, there have been identified glucose, fructose and sucrose (juice) (Figura 31).

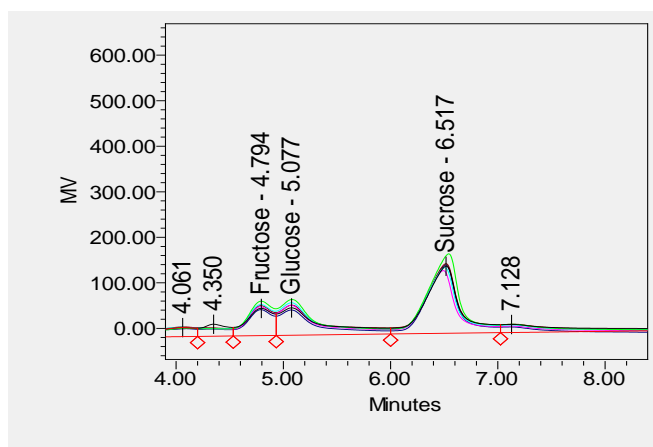


Figura 31. Common chromatogram of carbohydrates in citrus juice

The total amount of sugars in mandarin juice was 81.67 - 98.94 g / l, where glucose and fructose were present in almost equal amounts, while the concentration of sucrose was 55-63% of total sugars. Among the late varieties, the total amount of sugars in the broad-leaved Unshiu and reintroduced

Tiahara Unshiu juices was almost equal to -87.94 g / l-81.67 g / l, and it was relatively low compared to other late varieties (Table №10).

The carbohydrate content of five varieties of oranges was studied. A high concentration of total carbohydrates from the presented samples was noted in Fukumoto juice - 153.6 g/l; high, almost equal amounts in Navelina and Seike Navelina juices (146.9-147.8 g/l), while low concentrations in Valencia Delta juice are 112.28 g/l.

Carbohydrate content in mandarin juice

Table №10

N	Sample name	Fructose g/L	Glucose g/L	Sucrose g/L	Total sugar g/L
1	Taguchi Wase	20.37±0.41	16.27±1.19	59.25±1.19	95.89±1.92
2	Okutsu Wase	18.62±0.37	15.64±1.00	50.12±1.00	84.38±1.69
3	Miagava Wase	21.49±0.43	18.06±0.98	48.78±0.98	88.33±1.77
4	Iwasaki	16.5±0.33	17.9±1.00	50.2±1.00	84.6±1.69
5	Yura Wase	20.74±0.41	18.34±1.17	58.58±1.17	96.56±1.93
6	Nankan-20	19.66±0.39	16.47±1.22	61.05±1.22	97.13±1.94
7	Mukoyama	22.65±0.45	20.13±1.06	53.13±1.06	95.91±1.92
8	Satsuma	24.75±0.50	21.48±1.05	52.71±1.05	98.94±1.98
9	Tiahara unshiu	17.35±0.35	18.79±0.91	45.55±0.91	81.67±1.63
10	Clemenules	18.15±0.36	19.69±1.13	56.32±1.13	94.16±1.88
11	Unshiu	16.87±0.34	18.35±1.05	52.72±1.05	87.94±1.76

As can be seen from the table, the predominant sugar is sucrose, while fructose and glucose are present in almost equal amounts. The increased amount of sucrose and low acidity give mandarins and oranges a pleasant sweet taste. There was no significant difference between the content of glucose and fructose in the studied samples by variety (Diagram №13, See Appendix №1).

Chapter 6. Investigation of cations by a conductometric detector in the juice of some varieties of mandarins and oranges introduced in Adjara

The study of the citrus cation has been carried out by the chromatographic method, conductometric detector. Standards Lithium Hydroxide Monohydrate (Li^+), Sodium Chloride (Na^+), Ammonium Chloride (NH_4^+), Potassium Chloride (K^+), Magnesium Hydrate (Mg^{2+}), Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca^{2+}), Strontium (Sr^{2+}), Barium chloride dihydrate (Ba^{2+}) (Fisher Scientific), EDTA (Serva). Isocratic HPLC pump - Waters 1515, detector (Waters 432 -Conductivity), chromatographic column IC-PakCationMD, eluent 3 mM HNO_3 / 0.1 mM EDTA, eluent conductivity $1250 \pm 50 \mu\text{S}$, base sensitivity 2000 μS , integrator sensitivity 0, 01 μS , column temperature 350°C , negative polarity.

Before injection, the samples were diluted to precipitate pectin with 96% ethyl alcohol in a ratio of 1:1, after centrifugation, deionized water (dilution factor $F = 20$) was added to the sample in a ratio of 1:10 and filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ filter.

Compounds were quantitatively calculated using calibration curves constructed using standard compounds. The components obtained by chromatography were identified by comparison with the data of cations of known composition.

A high potassium content was observed in the mandarin juice of the Yura Wase varieties ($2160.5 \pm 49.69 \text{ mg/l}$) and Miyagawa Wase ($2034.42 \pm 46.79 \text{ mg/l}$), a low potassium content in the juice of the Taguchi Wase varieties ($594.06 \pm 13.66 \text{ mg/l}$), Satsuma ($600.63 \pm 13.81 \text{ mg/l}$) and Clemenules ($989.06 \pm 22.75 \text{ mg/l}$), and in all other samples, the amount of potassium is almost almost equal. The concentration of cations in the samples taken for analysis is presented in the following ratio: in particular, potassium ions predominate (594.06 ± 13.66 - $2160.5 \pm 49.69 \text{ ppm}$), followed by calcium ($136 \pm 270 \text{ ppm}$), magnesium (28-125 ppm), sodium (18- 102 ppm) (Table N°11, Figura 32).

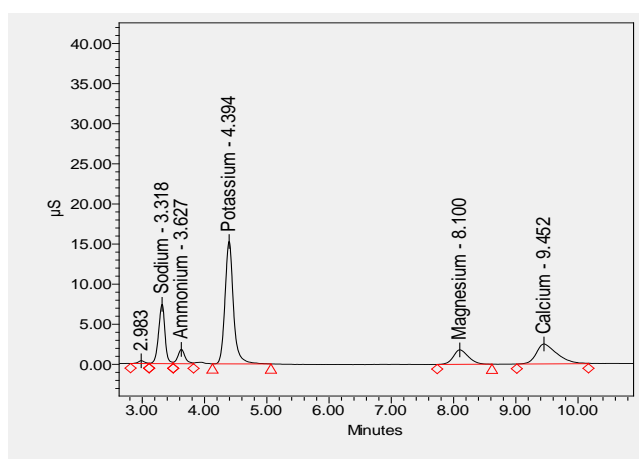


Figure 32. Chromatogram of mandarin juice cations

Cations of mandarin juice

Table №11

Mandarin juice		Content of cations, ppm			
		Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
early mandarin varieties	Taguchi Wase	18.63±0.43	594.06±13.66	28.68±0.66	160.8±3.70
	Okutsu Wase	69.6±1.60	1159.7±26.67	116.47±2.68	185.82±4.27
	Miagava Wase	91.83±2.11	2034.42±46.79	123.09±2.83	220.05±5.06
	Ivasaki	59.9±1.38	1039.7±23.91	87.63±2.02	212.55±5.42
	Yura Wase	102.66±2.36	2160.5±49.69	125.04±2.88	189.06±6.20
late mandarin varieties	Nankan-20	86.34±1.99	1642.59±37.78	120.36±2.77	136.5±4.89
	Mukoyama	76.83±1.77	1585.14±36.46	111.09±2.56	217.56±4.35
	Satsuma	17.43±0.40	600.63±13.81	21.33±0.49	235.47±3.14
	Tiahara Unshiu	69.9±1.61	1458.99±33.56	100.26±2.31	168.82±5.00
	Klemenules	45.63±1.05	989.06±22.75	68.63±1.58	269.55±3.88
	Unshiu	59.5±1.37	1398.87±32.17	97.15±2.23	202.45±4.66

As we can see on the chromatograms, there are at least 4 main cations: sodium, potassium, magnesium and calcium. Potassium cations predominate in mandarin and orange samples. The ratio of calcium, magnesium and sodium varies in orange varieties and is much lower compared to mandarin samples. In particular, the potassium content in orange juice ranges from 536 to 1000.02 ppm, the lowest is in Fukumoto juice - 536.73 ppm. (Table №12).

Orange juice cations

Table №12

№	Orange juice	Content of cations, ppm			
		Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
1	Seike Navel	38.01±0.87	1000.02±23.00	50.52±1.16	136.83±3.15
2	Naveli	28.05±0.65	680.04±15.64	37.05±0.85	173.13±3.98
3	Fukumoto	43.05±0.99	536.73±12.34	47.86±1.10	186.21±4.28
4	Valencia Delta	40.56±0.93	784.02±18.03	87.18±2.01	188.43±4.33
5	Sanguinelli	43.87±1.01	830.65±19.10	92.58±2.13	195.24±4.49

Chapter 7. Study of the essential oil of mandarin peel by gas chromatography

The study of the essential oil of citrus fruits obtained by hydrodistillation was carried out using a gas-liquid chromatograph (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific). Chromatography was carried out on an SGE BPX5 Capillary GC Column with a particle size of 30 µm in length, 0.25 mm in diameter and 0.25 µm in the stationary phase. The real phase was 5 % phenylpolysilphenylenesiloxane.

The mobile phase of the chromatography was helium at a flow rate of 0.700 ml/min. The test sample was injected using a 10 µl microsyringe from SGE Analytical Science. The temperature regime of the injector was 280°C, while the sample in the column was divided by a helium flow in the ratio 1/100. Chromatography has been carried out in four stages in a temperature gradient. In particular, chromatography was started at 50°C, which at a speed of 3 (°C/min) was raised to 250°C (second stage) and continued chromatography for 10 minutes. At the third stage, at a rate of 10 (°C/min), it increased to 270°C and continued at this temperature for 3 min. At the fourth stage, at a rate of 21.4 (°C/min), it increased to 320°C and continued at this temperature for 5 min. The total chromatography time was 89.0. The chromatographic determination of the separated essential oils was carried out on an allure-ionization detector. The quantitative content of essential oil was determined with an accuracy of 0.01% by peak area.

The isolated essential oils were determined by chromatography on an allure-ionization detector, the operating mode of which is shown in Figure 33.

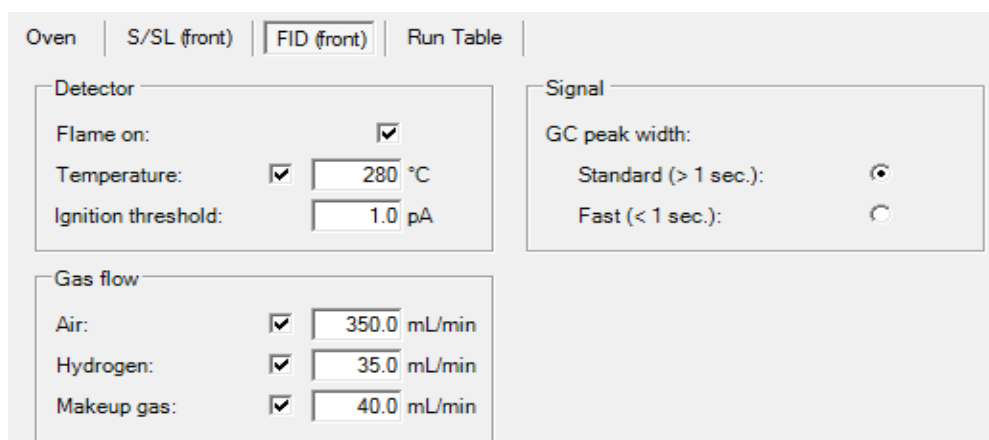


Figure 33. Detector operation mode

Obtaining the essential oil mass from the mandarin peel was carried out by cold pressing. The components obtained by chromatography were identified by comparison with the data of samples of known composition, and the specific terpenoid composition in the essential oil was also determined. The results of the analysis are presented on chromatograms (Figura 34).

As a result of our chromatographic study, 82 components have been found in the composition of the essential oil obtained from the peel of the mandarin. Among them, 23 components have been identified; 4 components are dominant. The content of limonene in all three samples is higher by 80% and ranges from 83.41-88.85%.

In particular, the following components were defined: Sabinene, α -Thujene, α - Pinene, β - Pinene, α - Terpinene, Myrcene, Linalol, trSabineneHydrat, 1,8-eucalyptol, Nonanal, Limonene, (E)-B-Ocimene, γ -Terpinene, Terpinen -4-ol, Geranial, α -Terpineol, Decanal, Undecanal, Citronelylacet, Nerylacetate, Thymol, Geranyl acetat, E-Caryphyllene, Met. Nmetantani, Dodecanal, 2,6-Dodecadien, α -Humulene, α -Sellnene, (E,E)- α -Farnes, Thymol methyl, β - Cadinene, α - Isocomene, Z - Caryophyllen (Table N°13).

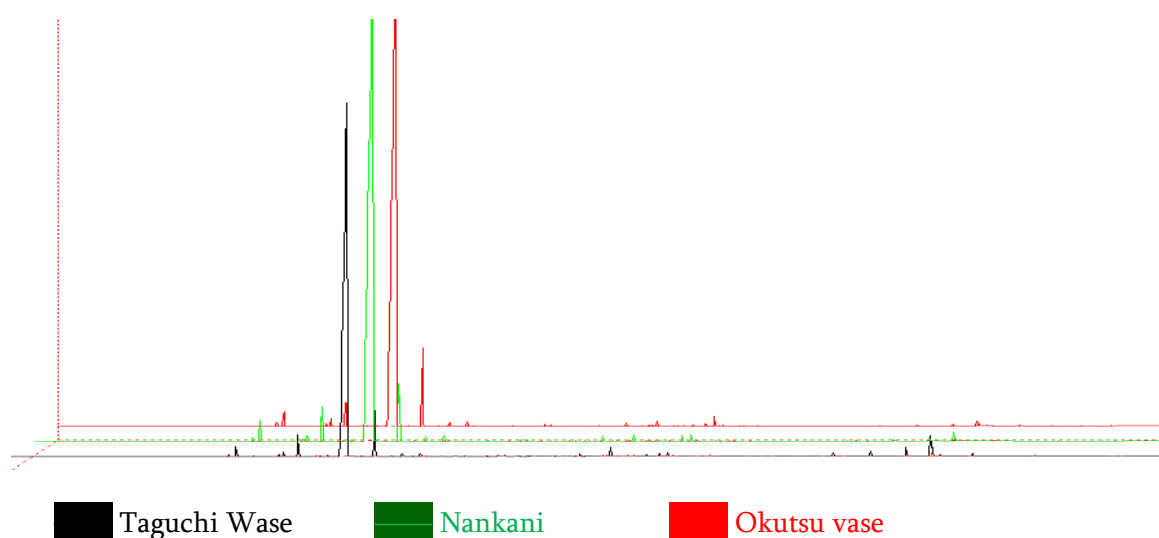


Figure 34. 3D Chromatogram of essential oil

Small differences are observed in the component composition of varieties, which can be considered as a species-specific terpenoid composition.

The predominant sample is limonene with a content of more than 80%, which fluctuates between 83.41-88.85%. Also, the dominant components are α -pinene - 0.84-1.0%, myrcene - 1.76-2.4%, γ -terpene - from 4.1 to 5.9%, in particular, an increase is observed in the following order: Nankan \leq Taguchi Wase \leq Okutsu Wase \leq Unshiu (Table N°13).

The chemical composition of an essential oil is particularly influenced by the method it is obtained. Cold distillation increases the content of limonene, myrcene and pinene in essential oils. Hydrodistillation of mandarin essential oil causes an increase in the content of pinene-terpineol and citronyl-acetate and a decrease in the content of limonene. In the lyophilized dry condensate, the content of terpinene and geraniol increases, while thymol methyl is practically absent. The essential oil obtained from SFE has more humulene than other variants, while the content of thymol-methyl is significantly increased.

The component composition of mandarin peel essential oil

Table №13

N	Component name	Time, Min	Nankani Area %	Okutsu vase Area %	Taguchi vase Area %	Unshiu			
						Gold pressure Area %	Hydrodistillation Area %	Freezing dray Area %	SFE Area %
1	Sabinene	11.370	0	0	0.176	0.005	0.214	0.007	0.008
2	α - Thujene	11.407	0.185	0.210		0.267	0.029	0.234	0.009
3	α - Pinene	11.785	0.958	0.978	0.839	1.079	1.448	0.955	0.103
4	β - Pinene	13.983	0.156	0.155	0.139	0.159	0.039	0.136	0.535
5	α - Terpinene	14.245	0.379	0.415	0.367	0	0	0	0.296
6	Myrcene	15.013	1.906	1.913	1.766	2.380	0	2.241	1.299
7	Linalol	15.907	0.040	0.041	0.037	0.026	0	0.025	0.037
8	trSabinene Hydrat	16.083	0	0	0.058	0.045	0	0.039	0
9	1,8-eucalyptol	16.133	0.058	0.050	0	0	0	0	0
10	Nonanal	16.557	0.089	0.101	0.089	0.132	0	0.123	0.089
11	Limonene	17.765	88.847	88.008	83.414	87.438	85.306	82.850	74.954
12	(E)-B-Ocimene	18.260	0.035	0.041	0.048	0	0	0	0.051
13	γ -Terpinene	18.982	4.103	4.732	4.446	5.940	5.678	5.862	4.080
14	Terpinen -4-ol	19.775	0.012	0.014	0.206	0.293	0.333	0.290	0.249
15	Peak 3	21.367	0.023	0.029	0.012	0.116	1.175	0.200	0.012
16	Geranial	23.568	0.027	0.030	0.030	0.017	0.008	0.014	0.095
17	α - Terpineol	25.290	0.098	0.109	0.106	0.006	0.101	0.012	0.026
18	Decanal	25.577	0.052	0.054	0.070	0.072	0.006	0.079	0.044
19	Undecanal	26.160	0.006	0.003	0	0.004	0.150	0.072	0.037
20	Citronellylacet	26.785	0.005	0.003	0.019	0.005	0.444	0.008	0.099
21	Nerylacetate	27.743	0.006	0.006	0.008	0.003	0.063	0.011	0.024
22	Thymol	28.118	0.028	0.020	0.021	0.062	0.024	0.054	0.033
23	Geranylacetat	28.592	0.012	0.005	0.005	0.011	0.008	0.211	0.008

Chapter 8. Quantitative analysis of total phenols, flavonoids in the peel, pulp and juice of some varieties of mandarins and oranges introduced in Adjara and their antioxidant activity.

After identification of flavonoid compounds in citrus fruits, the quantitative content of total phenols and flavonoids in individual parts of the fruit (peel, pulp, juice) , their antioxidant activity was determined and compared with relatively common varieties in our country. For quantitative determination, 5 g of the skin and pulp were taken, repeatedly (150–100 ml) extracted with a mixture of 50% alcohol and DMSO until the extract completely discolored; the obtained extracts were combined and used for further studies. We conducted the study for three years (2016–2018). Tables №12–14 present average indicators for three years.

The mandarin samples taken for analysis (early and late varieties) differ in the content of phenolic compounds, in particular, among the early varieties, Okutsu Wase and Yura Wase differ in the

high content of phenols: peel - (4052.31 mg/kg - 6122.87 mg/kg), pulp - (1365.1mg/kg-1430.9mg/kg) and juice - (1086.7mg/kg-1191.3mg/kg). This indicator is relatively low in Taguchi Wase: peel - 3245.42mg/kg, pulp - 1171.8 mg/kg, juice - 744.8 mg/kg.

Flavonoids are presented in similar proportions in different parts of the fruit (high content in the juice of Okutsu Wase and Yura Wase 905.5mg/kg- 993.0mg/kg, in the peel 2026.0-3000.12 mg/kg, in the pulp 1050.5mg/kg – 1287.4; and the lowest content of flavonoids is observed in Taguchi samples: juice – 620.8 mg/kg, peel-1622.0 mg/kg, pulp-781.2 mg/kg) (Table №14).

Quantitative content of total phenols, flavonoids in the fruits of early ripe mandarin varieties (juice, peel, pulp) and their antioxidant activity

Table №14

Early mandarin varieties	Common penolic compounds based on gallic calculation mg/kg (By Wet weight calculation)			Flavonoids based on hesperidin calculation mg/kg (By Wet weight calculation)			Antioxidant activity mg 50% of the sample inhibition		
	juice	peel	pulp	juice	peel	pulp	juice	peel	pulp
Taguchi Wase	744.8±13.0	3245.2±81.1	1171.8±19.5	620.8±0.2	1900.0±47.5	781.2±9.8	84.5±2.3	60.5±1.6	70.8±1.9
Okutsu Wase	1086.7±17.3	4052.3±101.3	1365.1±26.0	905.5±0.3	2026.0±50.7	1050.5±13.4	83.59±2.2	30.6±0.8	49.8±1.3
Miagava Wase	817.8±13.7	3625.3±90.6	1258.5±25.6	743.1±0.2	1622.5±40.6	890.8±10.8	90.62±2.4	44.4±1.1	62.2±1.7
Yura vase	1191.3±17.4	6122.7±153.1	1430.9±37.0	993.0±0.3	3000.12±75.0	1287.4±18.7	47.2±1.2	28.8±0.7	34.5±0.9
Iwasaki	855.5±13.3	3835.1±95.9	1182.3±20.4	778.6±0.2	1812.5±45.3	985.9±13.0	92.9±2.4	58.9±1.6	71.7±1.9

Quantitative content of total phenols, flavonoids and fruits of late mandarin varieties (juice, peel, pulp) and their antioxidant activity

Table №15

late mandarin varieties	Common penolic compounds based on gallic calculation mg/kg (By Wet weight calculation)			Flavonoids based on hesperidin calculation mg/kg (By Wet weight calculation)			Antioxidant activity mg 50% of the sample inhibition		
	juice	peel	pulp	juice	peel	pulp	juice	peel	pulp
Nankan-20	935.8 ±12.1	4858.1 ±121.5	1324.8 ±29.5	840.6 ±0.4	2429.2 ±60.7	1104.5 ±14.7	54,1±1.5	37.3±1.0	50.8±1.4
Mukoyama	1249.1 ±10.8	4910.4 ±122.8	1350.7 ±29.8	961.2 ±0.3	2554.1 ±63.8	1191.9 ±13.1	77.2±2.0	46.2±1.3	69.9±1.9
Satsuma	1297,5 ±18.1	6206.7 ±155.1	1582.1 ±41.4	998.2 ±0.3	3100.4 ±77.5	1282.6 ±20.6	57.6±1.6	29.8±0.8	54,7±1.5
Tiahara unshiu	879.8 ±12.6	3267.5 ±81.7	1320.2 ±25.3	796.6 ±0.3	1633.5 ±40.8	1016.3 ±13.4	80.5±2.2	38.1±1.0	42.4±1.1
Clemenules	929.4 ±12.0	3808.2 ±95.2	1150.2 ±22.9	664.4 ±0.2	1904.4 ±47.6	885.6 ±10.8	46,9±1.2	32.7±0.8	40.4±1.1
Unshiu	1116.5 ±12.4	3560.6 ±89.0	1353.7 ±25.6	859.4 ±0.3	1893.8 ±47.3	1128.1 ±13.9	65.4±1.8	33.5±0.9	38.5±1.0

As in early varieties, the amount of phenolic compounds in late varieties is presented in a similar ratio, it varies: in the peel 3267 - 6200 mg/kg and in the pulp within 1150 - 1582 mg/kg. The correlation between the content of phenolic compounds and flavonoids in the peel and pulp is expressed in a ratio of 2.5:1-3.5:1. Compared with later varieties, it has been established that the quantitative content of these compounds in the juice, pulp and peel of the broad-leaved Unshiu already existing in our country is average and is not inferior to imported varieties.

There is a direct correlation between the content of phenolic compounds and antioxidant activity in mandarin varieties; with high phenol content, 50 % inhibition of DPPH radicals will be achieved with a relatively small amount of sample taken for analysis (mg of sample), for example: in the case of Jura Vase, 47.52 mg of juice, 28.28 mg of peel and 34.55 mg of pulp, while in Taguchi vase samples, where the phenol content is relatively low, 92.9 mg of juice, 60.5 mg of peel and 71.7 mg of pulp are required for inhibition. A similar correlation is observed for late varieties (Table №15).

The total amount of phenols in orange juice, peel and pulp ranges as follows: from 817mg/kg to 1000 mg/kg in juice, 3732.5mg/kg-6215.45 mg/kg in peel, 1785.14mg/kg-2322.28 mg/kg in pulp; the amount of flavonoids in the juice is 707.4mg/kg-908mg/kg, in the peel – 1866mg/kg-3145mg/kg, in the pulp 1085mg/kg-21365 mg/kg. The peel, pulp and juice of Sanguinella are characterized by a high content of these compounds and, consequently, by their high antioxidant activity, while in Valencia these figures are relatively low (Table №16).

Quantitative content of total phenols, flavonoids in the fruits of some varieties of orange (juice, peel, pulp) and their antioxidant activity.

Table №16

Orange	Common penolic compounds based on gallic calculation mg/kg (By Wet weight calculation)			Flavonoids based on hesperidin calculation mg/kg (By Wet weight calculation))			Antioxidant activity mg 50% of the sample inhibition		
	juice	peel	pulp	juice	peel	pulp	juice	peel	pulp
Valencia Delta	816.6 ±12.2	3732.51 ±93.3	1785.14 ±44.6	707.4 ±0.2	1866.4 ±7.4	1085.5 ±2.8	53.15±1.4	43.01±1.1	49.67±1.3
Seike Navel	997.8 ±13.1	6068.98 ±151.7	1954.04 ±48.9	887.2 ±0.3	3031.1 ±15.5	1302.4 ±3.1	46.24±1.3	40.65±1.1	43.48±1.2
Neveli	886.6 ±13.3	4978.84 ±124.5	2146.89 ±53.7	766.8 ±0.4	2478.5 ±15.7	1341.6 ±2.6	42.55±1.2	40.31±1.0	41.79±1.1
Fukumoto Navel	890.2 ±14.6	5423.37 ±135.6	1845.65 ±46.1	741.4 ±0.5	2609.1 ±16.2	118.5 ±4.9	51.45±1.4	38.67±0.9	40.01±1.0
Sanguinelli	1008.5 ±16.2	6215.45 ±155.3	2322.28 ±58.1	908.5 ±0.6	3145.4 ±24.7	1365.8 ±5.5	40.65±1.1	33.52±1.0	40.12±1.0

According to the average results for three years, we can say that both types of citrus fruits (mandarin and orange), as well as their varieties, are well adapted to local climatic conditions; the appearance of most of them meets the requirements of the standard, they are distinguished by a high content of total phenolic compounds and antioxidant activity, that allows us to recommend most of these varieties for the purpose of further reproduction.

Chapter 9. Obtaining biologically active substances from the subsequent residue of tangerine juice

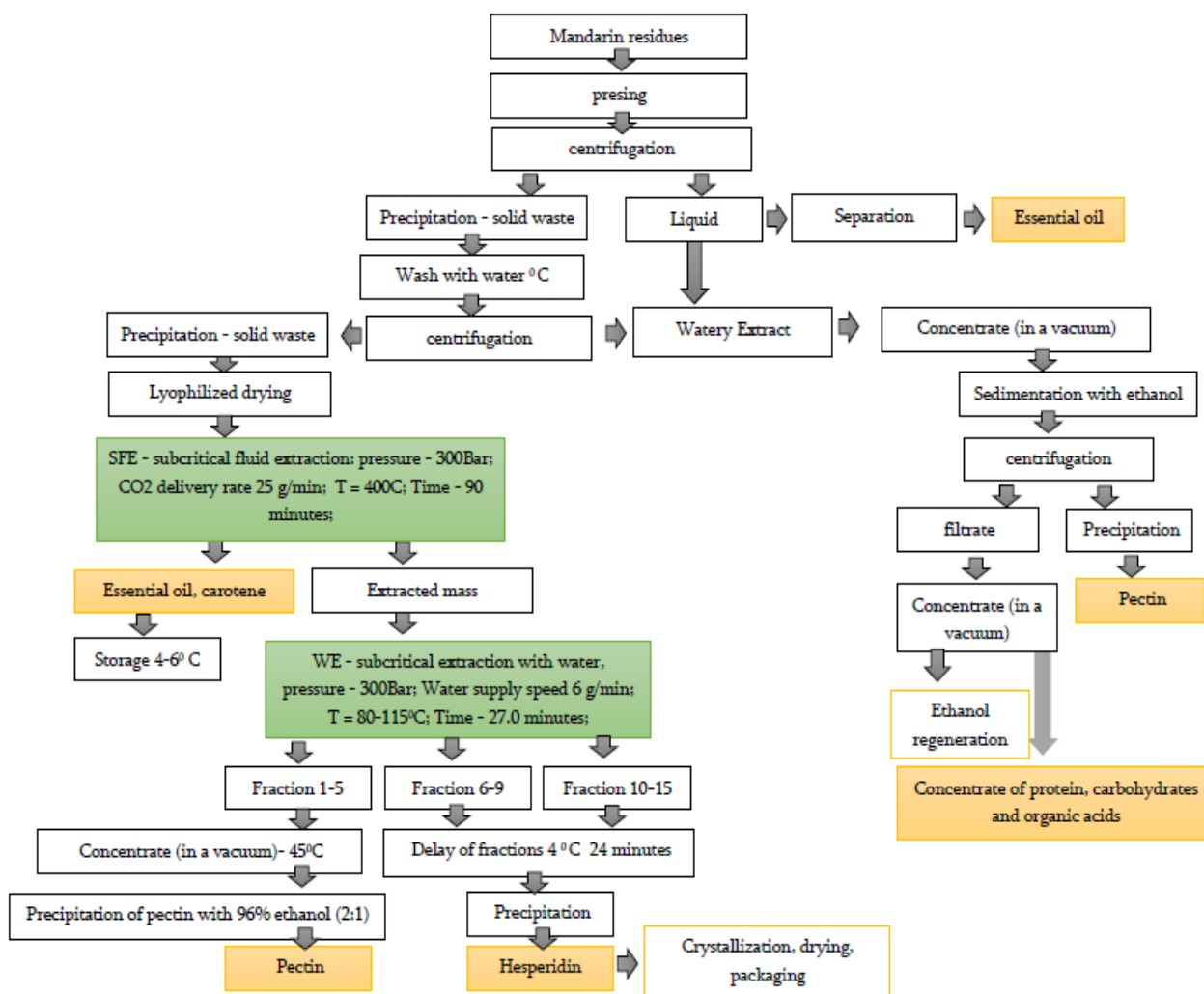
Before carrying out technological studies, we have examined crushed mandarin fruits (production residues) obtained during the processing of mandarin juice into concentrate at LLC GIAMG (Kobuleti). The technological process takes 2, maximum 3 months, and it is unprofitable to quickly process the residues. It is desirable to store the obtained mass for a certain period of time, and at the end of the citrus processing period, it is necessary to carry out a complex processing of the residues to obtain the biologically active preparations contained in it. To optimize the process, storage of residues is very important. To determine the optimal storage conditions for residues, we have used the classical method and added kadifit to the storage mass (1.0; 1.5; 2.0 g per 1 kg). The classic method is drying or treating with aggressive sulfur dioxide. Drying is energy intensive and must be carried out in parallel with the fruit processing, what is inconvenient for production.

We periodically checked the stored samples and came to the conclusion that 1.5 g of kadifit can be added optimally. During 1 year of storage of production residues, the amount of pectin, hesperidin, carbohydrates, organic acids, etc. in the desired compounds practically did not change. The content of carotene naturally decreased.

For the complex processing of fruits, three methods have been used: the first was the use of supercritical pressure water vapor in combination with superfluid extraction (carbon dioxide, co-solvent alcohol, acetone), the second was high-frequency ultrasonic processing of raw materials (Scheme №1, Figura 35).



Figura 35. Fractions obtained as a result of technological processes



Scheme №1. Technological scheme of hesperidin and pectin production

The use of high pressure and temperature water in the processing of production residue allows to obtain 5 g of essential oil from 1 kg of raw mass (25% of the initial content of raw material); Carotene 1.0 g (50%); Pectin 270 g (82%); Hesperidin 64.5 g (84%); Cell 401 g (107%). The use of superfluid extraction allows to obtain 20 g of essential oil from 1 kg of raw mass (100% of the initial content of raw material); Carotene 2.0 g (100%); Pectin 170 g (52%); Hesperidin 55.3 g (72%); Cell 485 g (130%). Extraction by ultrasonic processing made it possible to obtain 15 g of essential oil from 1 kg of raw material (75% of the initial content of raw material), carbohydrate complex 175 g (95%), complex of organic acids 10 g (100%); Carotene 1.7 g (85%); Pectin 272 g (82%); Hesperidin 65.2 g (85%); Cellulose and other compounds 391 g (105%) (Figura 35, Table №17). The increase in cellulose and other compounds was due to the fact that complete extraction of bioactive compounds did not occur and they remained with cellulose.

Chemical composition of mandarin fruit extract and yield of bioactive preparations using different processing methods

Table №17

Nº	Name	Raw material g/kg	raw materials of initial with kadeffit g/kg	% of initial	Received from SWE g/kg	% of initial	Received from SFE g/kg	% of initial	By ultrasonic extraction g/kg	% of initial
1	Essential oil	20.0±0,50	15.0±0,38	75.0±1,88	5.0±0,13	25.0±0,63	20.0±0,50	100.0± 2,50	15.0±0,38	75±1,88
2	Carbohydrates	184.0±4,60	175.0±4,38	95.1±2,38	183.0±4,58	99.5±2,49	180.0±4,50	97.8±2,45	175.0±4,38	95.11±2,38
3	Organic acids	10.0±0,25	9.0±0,23	90.0±2,25	10.0±0,25	100.0±2,50	10.0±0,25	100.0±2,5	10.0±0,25	100.0±2,50
4	carotenoid	2.0±0,05	0.5±0,01	25.0±0,63	1.0±0,03	50.0±1,25	2.0±0,05	100.0±2,5	1.70±0,04	85.0±2,13
5	Pectin	332.0±8,30	325.0±8,13	97.9±2,45	270.0±6,75	81.3±2,03	170.0±4,25	51.2±1,28	272.0±6,80	81.93±2,05
6	Hesperidin	77.0±1,93	75.0±1,88	97.4±2,44	64.5±1,61	83.7±2,09	55.3±1,38	71.8±1,80	65.20±1,63	84.68±2,12
7	Fibber	375.0±9,38	370.0±9,25	98.7±2,47	401.0±10,03	106.9±2,67	485.0±12,13	129.3± 3,23	391.1±9,78	104.29±2,61
8	a loss	0.00	30.5±0,76	3.1±0,08	65.5±1,64	6.5±0,16	77.70±1,94	7.77± 0,19	70.0±1,75	7.0±0,18

The composition of the obtained drug was studied by UPLC-PDA, MS chromatography. The figure 36-39 shows the chromatograms of the drugs obtained by SWE, SFE, classical and ultrasonic extraction technologies, respectively.

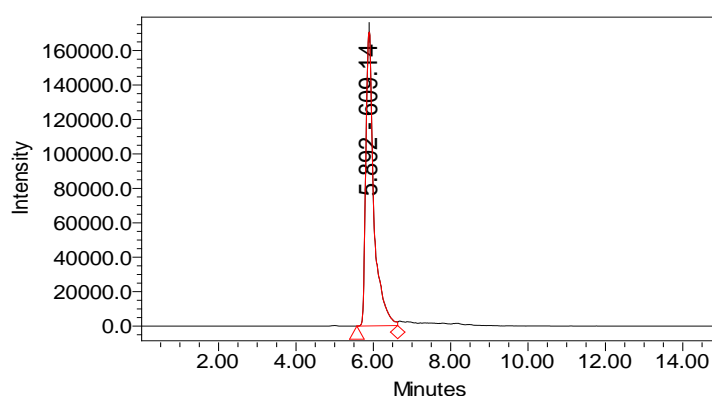


Figure 36. UPLC-PDA-MS chromatogram of mandarin residue obtained by classical technology

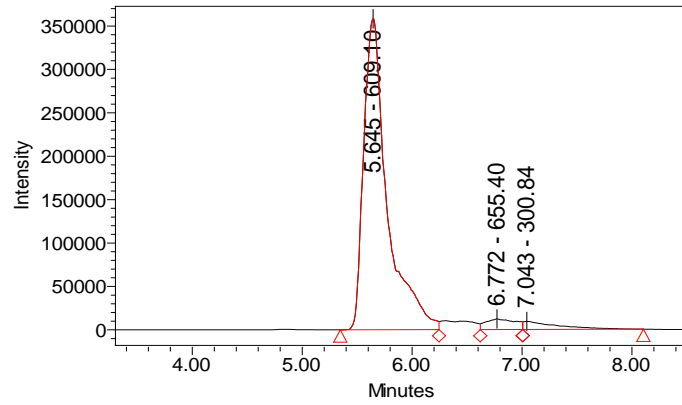


Figure 37. UPLC-PDA-MS chromatogram of mandarin residue obtained by SWE technology

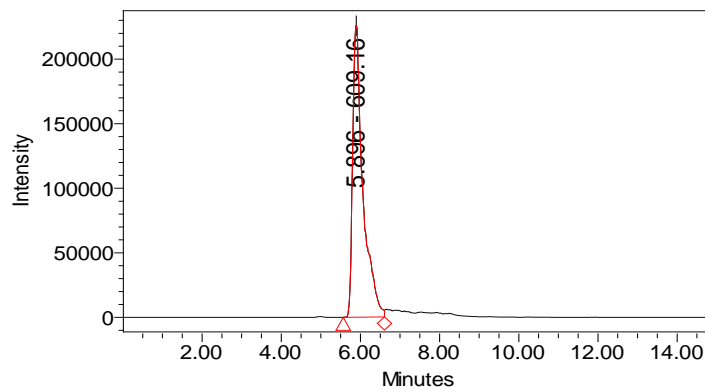


Figure 38. UPLC-PDA-MS chromatogram of mandarin residue obtained by SFE technology

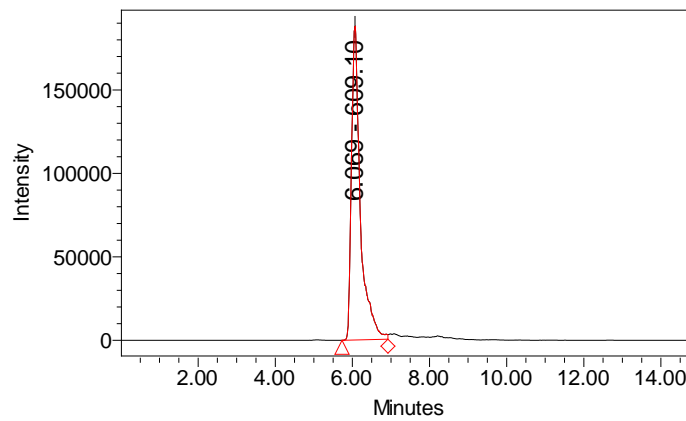


Figure 39. UPLC-PDA-MS chromatogram of mandarin residue obtained by ultrasound technology

The purest form of the flavonoid drug was crystallized using SWE technology, where hesperidin accounted for 84% of the total drug. (Table №18).

Chromatographic characteristics of preparations obtained by different methods during mandarin extract processing

Table №18

№	Sample Name	With classic technology (CT)%	Received from SWE %	Received from SFE %	By ultrasonic extraction %
1	Hesperidin	77.0±1,93	84.0±2,10	81.0±2,03	75.0±1,88
2	Narirutin	23.0±0,58	16.0±0,40	19.0±0,48	25.0±0,63

The antioxidant activity of the obtained hesperidin was determined. Hesperidin obtained by SWE technology is relatively high in antioxidants - a sample of 0.34 mg gives a 50% inhibition. However, it can be said that there is no fundamental difference between the drugs (Diagram №14, See Appendix №1) which is due to the similarity of their chemical composition.

Conclusions:

1. The technical characteristics of the fruit of some varieties of mandarin (11 varieties) and orange (5 varieties) introduced in western Georgia and some physico-chemical parameters of the juice were studied, on the basis of which it was determined that all varieties meet the requirements of the standard, except Mandarin Yura Vase.
2. Optimization of the extraction of hesperidin and other flavonoids and modification of the conditions with respect for all parts of the citrus fruit were established.
3. The chemical composition of some varieties of mandarin and orange peel with Using HPLC preparatory collector and UPLC PDA-MS detector has been studied. 8 flavonoids were individually isolated and identified. Hesperidin [M-H]⁻ - m / z 609.09, Narirutin [M-H]⁻ - m / z 579.42, Didimin [M+H]⁺ - m / z 593.20, Nobiletin [M+H]⁺ - m / z 403.15, Sinensetin [M+H]⁺ - m / z 395.03, Tangerine [M+H]⁺ - m / z 395.24, neohesperidin [M-H]⁻ - m / z 609.19, naringin [M-H]⁻ - m / z 579.90.
4. In all cases studied, hesperidin quantitatively exceeds the content of other glycosides and is up to 80-90% of the total amount of these compounds, Narirutin-10-15%, Naringin, Didimin, the rest of the substances are present in small quantities.. Large amounts of these compounds are localized in the skin and pulp, with relatively small amounts being excreted in the juice. According to the varieties, the peel of Satsuma-2503.9 mg/kg and Yura Vase - 2400.1 mg/kg are distinguished by a high content of hesperidin. Their orange samples taken for analysis have high levels of hesperidin in the peel, pulp, residues and juice of Sanguinella (1941.1 mg/kg -830.6mg/kg – 278.1mg /kg – 511.8 mg/kg).
5. Red fruit was identified from sanguine pulp, juice and extract 3 anthocyanins: Cyanidin 3-glucoside [M+H]⁺ - m / z 448.68, Cyanidin 3- (6 " - malonyl glucoside) [M+H]⁺ - m/z 534.87, Delphinidin-3-rhamnoside [M+H]⁺ - m / z449.10. The predominant compound in all cases was cyanidin 3-glucoside and it is 25.6 mg / kg -9.6 mg / kg-12.48 mg / kg in pulp, juice and extract, respectively.
6. Qualitative and quantitative composition of carbohydrates, organic acids, vitamin C in each variety was determined by HPLC method. The highest content of vitamin C in mandarin juice was observed in Iura vase juice -1,046g/l, the lowest-in Taguchi Vase-0.245g/l, in Nankan-0.285g/l and in Mukoyama-0.258 g/l. The dominant organic acid is citric acid in citrus juice. The high quantitative content of citric acid is present in the juice of Mukoyama and Yura Vasse (8.7 g/l -8.1g/l), low in Iwasaki -4.72 g/l. The high content of vitamin C in orange juices is present in Valencia Delta -0.623 g/l, equal amounts in Navelina -0.453 g/l, Sanguinelli-0.513 g/l and Seike navel-0.535 g/l, The low concentration is in fucumoto juice -0.389 g/l. Valencia Delta -16.5 g / l is characterized by high content of citric acid, low in Navelina juice - 11.06 g/l.
7. Of the carbohydrates, fructose, glucose, and sucrose have been identified. The dominant carbohydrate is sucrose. The total sugars in tangerine juice was 81.67 - 98.94 g/l, where glucose and fructose are present in almost equal amounts, and concentration of sucrose was 55-63% of the total amount of sugars. The increased amount of sucrose and low acidity give mandarins and oranges a pleasant sweet taste. There was no significant difference between the content of glucose and fructose in the studied samples by varieties.
8. Chromatography of cations of some varieties of mandarin and orange juices by conductivity detection by the HPLC method study revealed that potassium cations are dominant. High potassium content in tangerine juices was observed in Iura vase (2160.5 ± 49.69 ppm) and Miyagawa vase (2034.42 ± 46.79

ppm), low taguchi vase (594.06 ± 13.66 ppm), satsuma (600.63 ± 13.81 ppm) and Clemenules (989.06 ± 22.75 ppm) juices, and in other samples, it is present in almost equal amounts. The ratio of calcium, magnesium and sodium varies in orange varieties and is much lower compared to mandarin samples. In particular, the potassium content in orange juice varies from 536 to 1000.02 ppm, the lowest in Fukumoto juice at 536.73 ± 12.34 ppm.

9. Qualitative and quantitative composition of essential oil obtained from mandarin peel was studied using various methods, including supercritical pressure fluid, ultrasound, high pressure and temperature water extraction. Of the 82 components observed, 23 were identified, of which 4 were dominant. The content of limonene is more than 80% and ranges from 83.41 to 88.85%. Also dominant components are α -pinene - 0.84-1.0%, myricene - 1.76-2.4%, γ -terpene - from 4.1 to 5.9%.

10. In the fruits of mandarin (11 varieties) and orange (5 varieties), the content of total phenols and flavonoids in individual parts of the fruit (peel, pulp, juice) was determined and their antioxidant activity was determined. Both types of citrus fruits (tangerine and orange) are characterized by a high content of common phenolic compounds and antioxidant activity. The mandarin samples taken for analysis (early and late varieties) differ in the content of phenolic compounds, in particular, among the early varieties, Okutsu Wase and Yura Wase differ in the high content of phenols: peel - (4052.31 mg/kg - 6122.87 mg/kg), pulp - (1365.1 mg/kg- 1430.9 mg/kg) and juice - (1086.7 mg/kg- 1191.3 mg/kg). The correlation between the content of phenolic compounds and flavonoids in the peel and pulp is expressed in a ratio of 2.5:1-3.5:1. Compared with later varieties, it has been established that the quantitative content of these compounds in the juice, pulp and peel of the broad-leaved Unshiu already existing in our country is average and is not inferior to imported varieties. From orange varieties of Sangunelli the peel, pulp and juice are characterized by a high content of these compounds.

11. Practically waste-free technology for processing waste from citrus juice production was developed, using ultrasound, high pressure and high temperature water, and various bioactive drugs were obtained. (cellulose, total pectin, hesperidin, total carotene, essential oils).

12. Comparison of flavonoids obtained with different technologies showed that relatively high results were obtained using SWE technology, the hesperidin content of the drug obtained by this method was 84%, relatively less during SFE (81%) and USE (75%). The drug obtained using SWE technology was crystallized with the highest content of hesperidin. The antioxidant activity of hesperidin was determined. Hesperidin obtained by SWE technology is relatively rich in antioxidants - a sample of 0.34 mg gives 50% inhibition. There was no significant difference between the drugs, this is due to the similarity of their chemical composition.

Published scientific works:

1. G.R. Memarne, N.I. Khalvashi, M.T. Gabaidze, D. Sh. Baratashvili, A.R. Kalandia, M.G. Vanidze, I.O. Kartsivadze., „Results of the Biochemical Study of Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) Mutants“, Indian Journal of Agricultural Research, 2021. (55): 535-541. DOI: 10.18805/IJARE.A-591;
2. M.D. Ardzenadze, A.G. Kalandia, D.M. Chikovani, I.I. Kartsivadze, E.A. Qamadadze, K.R. Telia, L.A. Koplataдзе - Tangerine wastes - a source of dietary fiber - Sokhumi State University Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, International Scientific Conference - Food and Environmental problems Chemical and Technological Aspects of Biopolymers Book, 2020, Volume I, 235–238. ISBN 978-9941-26-769-7;

3. Inga Kartsivadze; Aleko Kalandia; Maia Vanidze; Merab Ardzenadze; Darejan Chikovani - The study of the content of Carbohydrates, Organic acids, Vitamin C in some varieties of Tangerine juice introduced in Ajara using High Pressure Liquid Chromatography- , International Journal of Life Sciences 2019. 8(4): 109-113;
4. MaiaVanidze, Nona Surmanidze, Jeiran Putkaradze, Inga Kartsivadze, Indira Djaparidze, Aleko Kalandia, Antioxidants of Introductory and Endemic Plants in Georgia, International Natural and Health Science Conference, Antalya/Turkey. INESEC 2017. 2017. p.131- 139;
5. E. Jakeli, A. Kalandia, T. Baramidze, I. Kartsivadze, Influence of Stimufung on Biologically Active Substancesof Fruits of Orange Washington-navel, Ecological Life Sciences, 2017. 50-58. ISSN:13087258(NWSAELS). doi: 10.12739/NWSA.2017.12.4.5A0088;
6. E. Jakeli, A. Kalandia, T. Baramidze, I. Kartsivadze, Influence of Stimufung on Conservation of Fruits of Orange Washington-navel – 17th International Scientific Conference "Sakharov Readings of 2017, Minsk. 2017. 134. ISBN 978-985 (2);
7. E. Jakeli, A. Kalandia, T. Baramidze, I. Kartsivadze, Study of biologically active substances of the washington-Navel fruit, widespread in the region of Ajara. International Scientific Conference Future Technologies and Quality of Life. (Poster presentations 26) Batumi 2017. 26-27;
8. Jakeli, E., Kalandia, A., Baramidze T., Kartsivadze I., Influence of Stimufung on Biologically Active Substances of Fruits of Orange Washington-Navel – 2nd International Science Symposium, Tbilisi. 2017. 160;
9. Kartsivadze Inga, Chikovani Darejani, Ardzenadze Merabi, Kamadadze Elza, Telia Ketino, Koplastadze Lena „Influence of pretreatment methods on the antioxidant activity of mandarin (C.Unshiu) processing waste,, "New Initiatives" - Akaki Tsereteli State University, Kutaisi. 2019. 133-140. ISBN 978-9941-484-84-1;
10. Inga Kartsivadze, Aleko Kalandia- Determination of biologically active compounds of oranges introduced in western Georgia - Applied Biosciences and Biotechnology. Tbilisi. 2019. 47. ISBN978-9941-13-837-9;
11. A.Kalandia, I.Kartsivadze-"Some physical and chemical indicators of mandarin fruits of Satsuma, Iwasaki and Nova varieties grown in Adjara", The Fourth International Scientific and Practical Internet Conference "Problems of Food Biosafety and Business Environment". Akaki Tsereteli State University. Kutaisi 2014. 88–90. ISBN 979-9941-453-97-7;

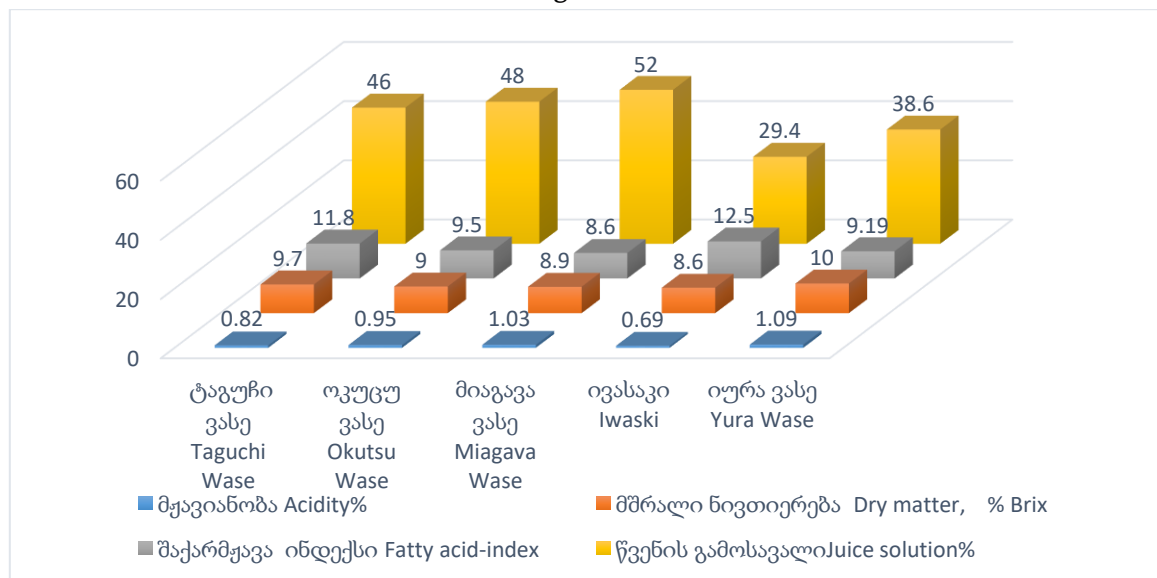
დანართი №1

Appendix №1

2016 – 2018 წლების მანდარინი სატსუმას საადრეო ჯიშების ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური მაჩვენებლები დიაგრამა №1

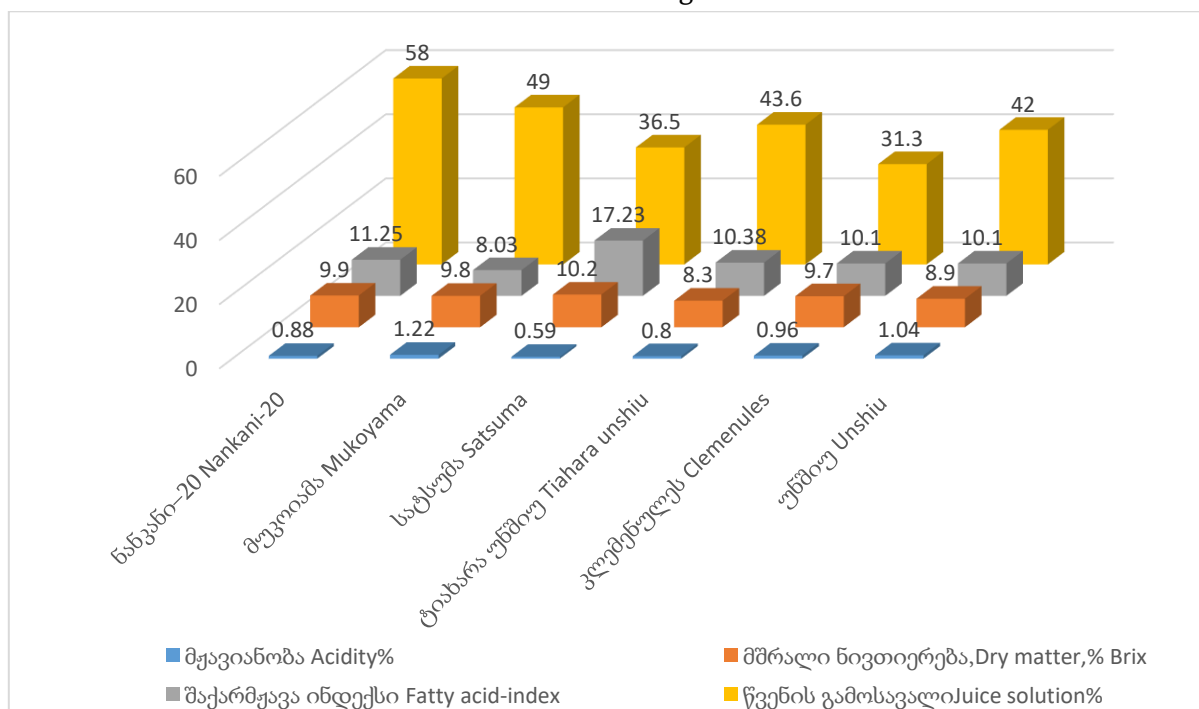
Some physical and chemical indicators of early maturing varieties of mandarin Satsuma in 2016 – 2018.

Diagram №1



2016 – 2018 წლების მანდარინი სატსუმას საგვიანო ჯიშების ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური მაჩვენებლები. დიაგრამა №2

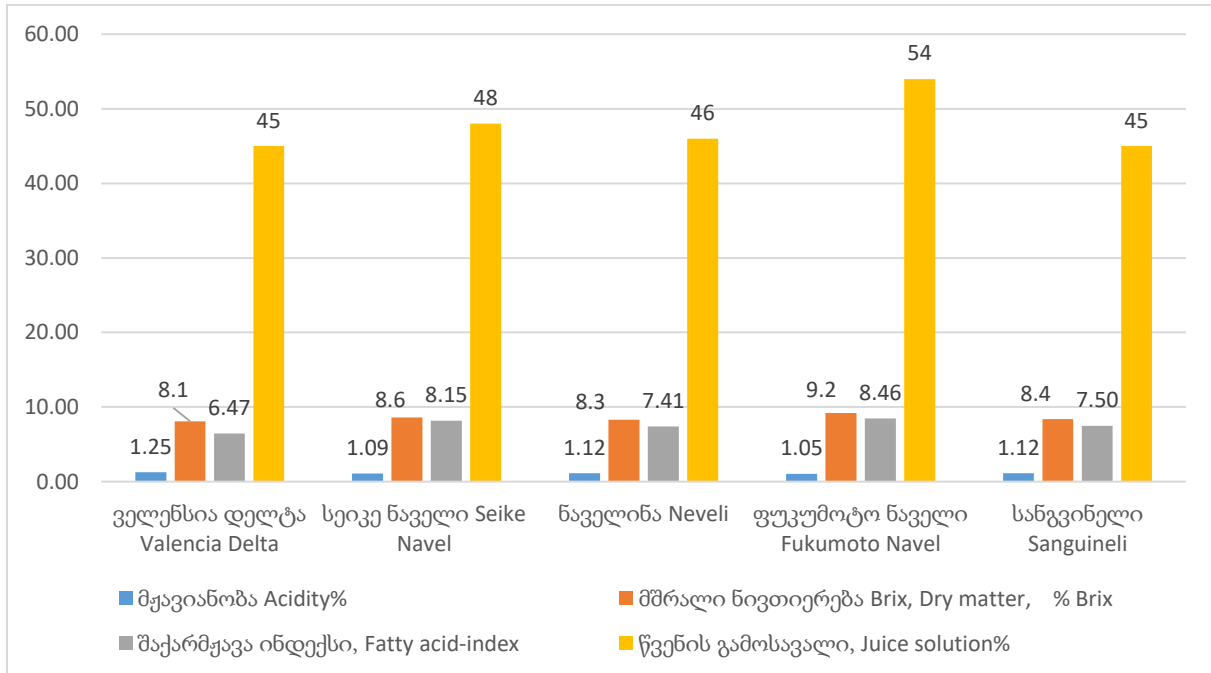
Some physico-chemical indicators of late maturing varieties of mandarin Satsuma in 2016 – 2018. Diagram №2



ფორთოხლის სხვადასხვა ჯიშების საშუალო ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლები სამი სეზონის განმავლობაში. დიაგრამა №3

Average physical and chemical characteristics of different varieties of oranges for three seasons

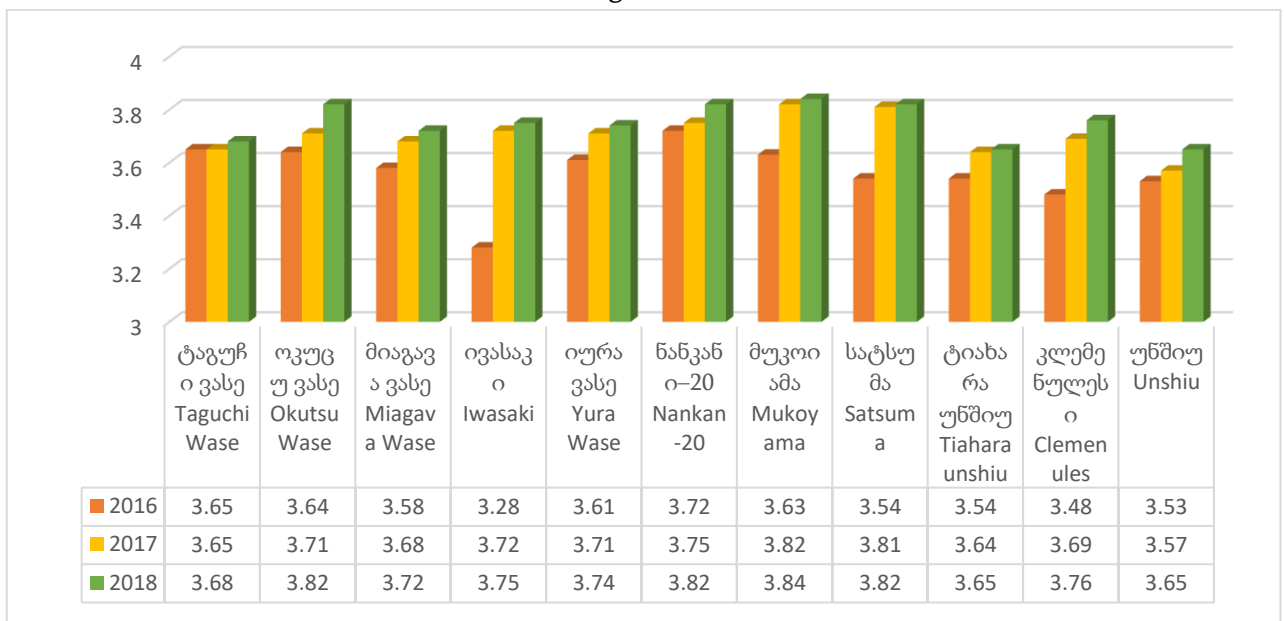
Diagram №3



სხვადასხვა ჯიშის მანდარინის წვენში აქტიური მჟავიანობის მაჩვენებელი 2016 – 2018 წლებში

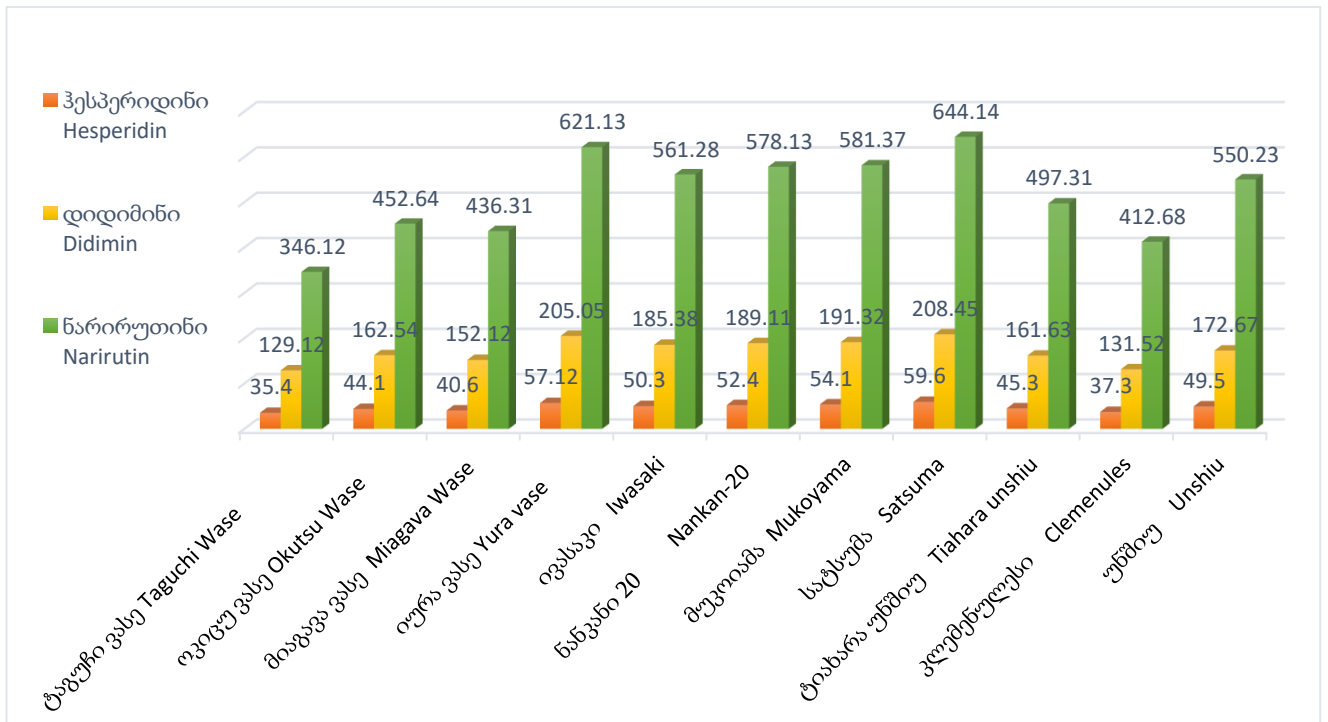
Indicators of active acidity in mandarine juice of different varieties in 2016 – 2018

Diagram №4



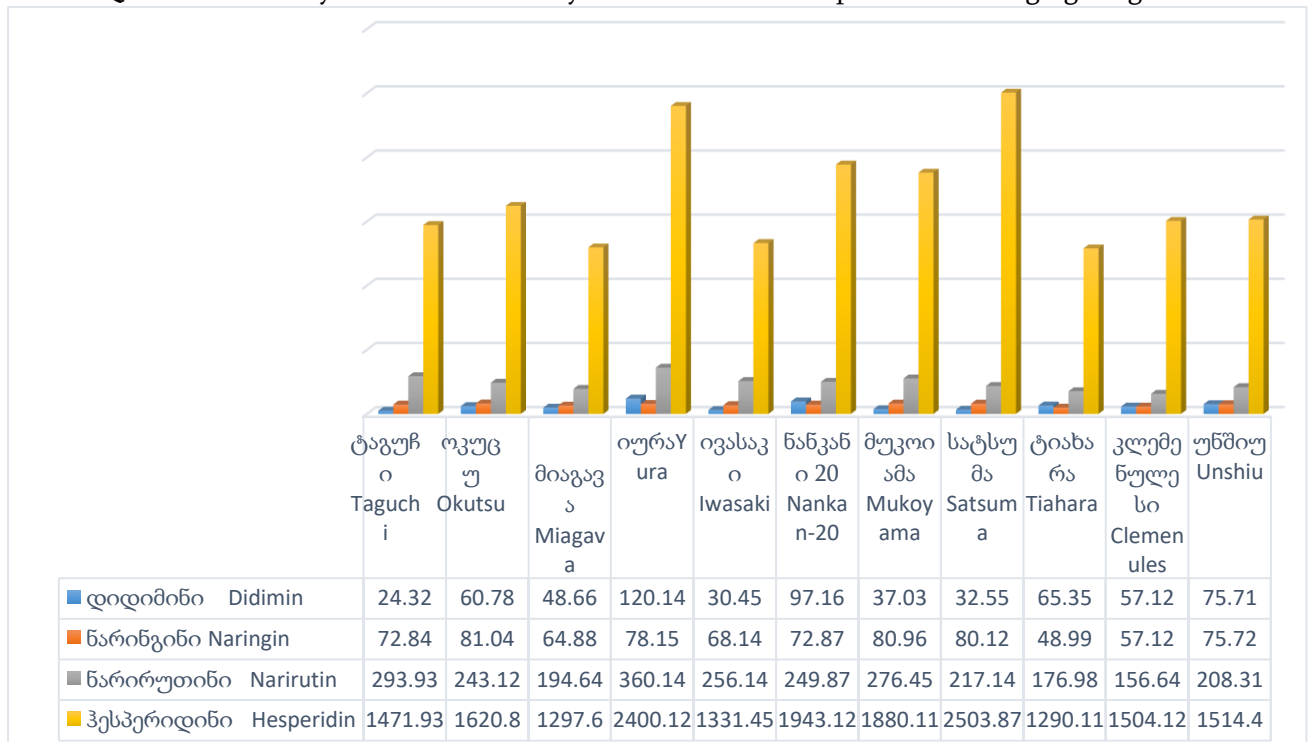
მანდარინის წვენის ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/ლ
 დიაგრამა №5

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Mandarin juice Content mg/L
 Diagram №5



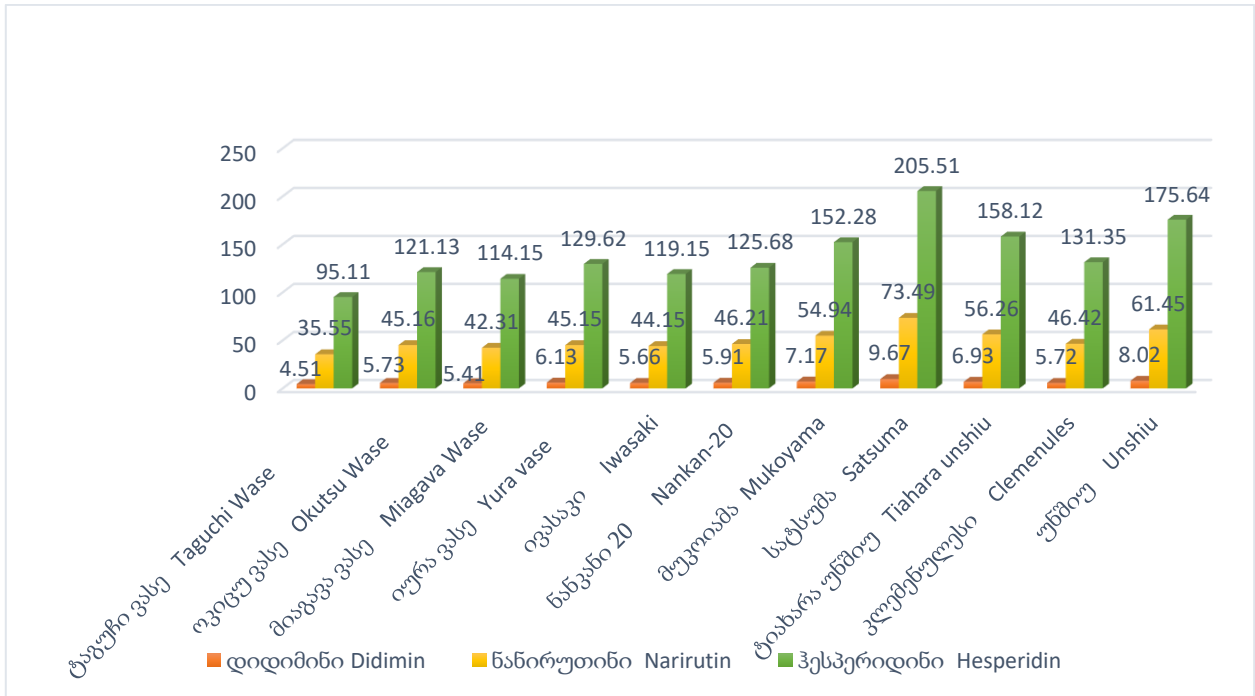
მანდარინის კანის ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/კგ
 დიაგრამა №6

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Mandarin peel Content mg/kg Diagram №6



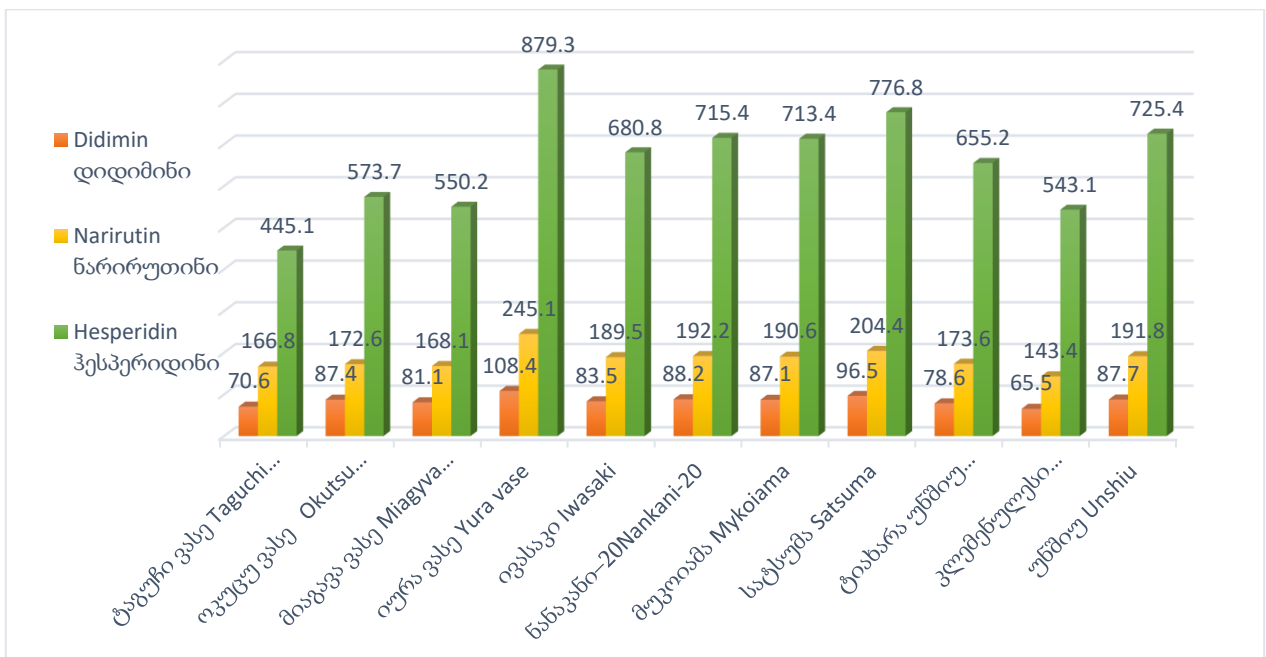
მანდარინის გამონაწნების ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/კგ
 დიაგრამა №7

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Mandarin residues Content mg/kg
 Diagram №7



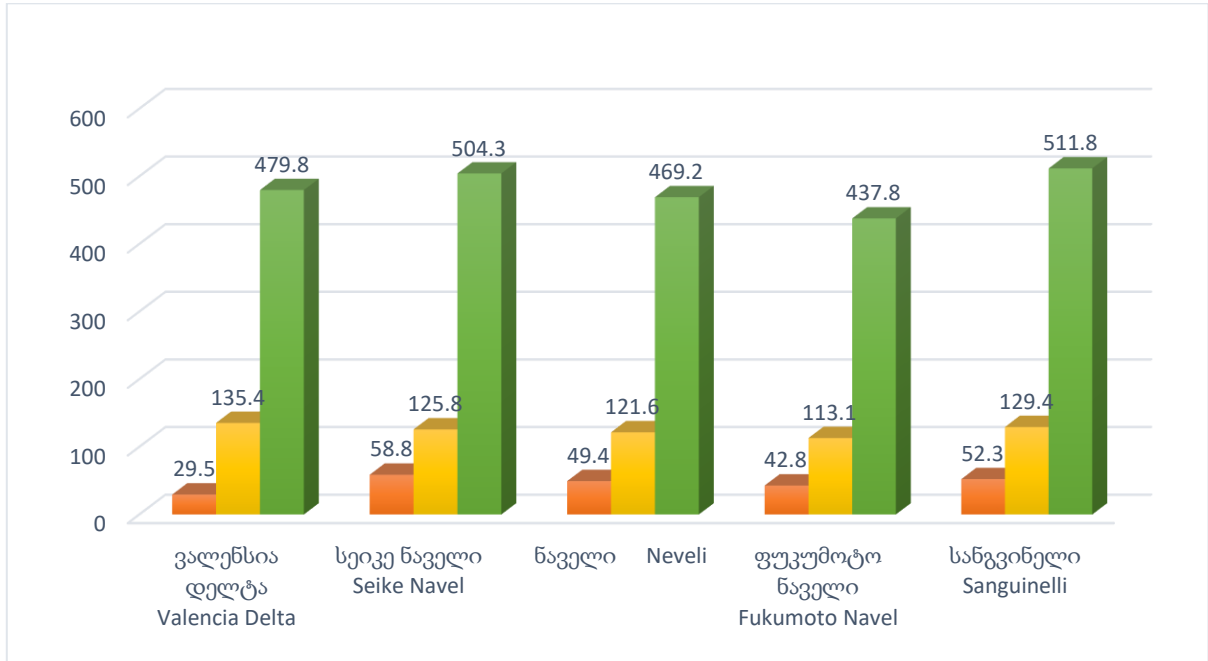
მანდარინის რბილობის ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/კგ
 დიაგრამა №8

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Mandarin pulp Content mg/kg
 Diagram №8



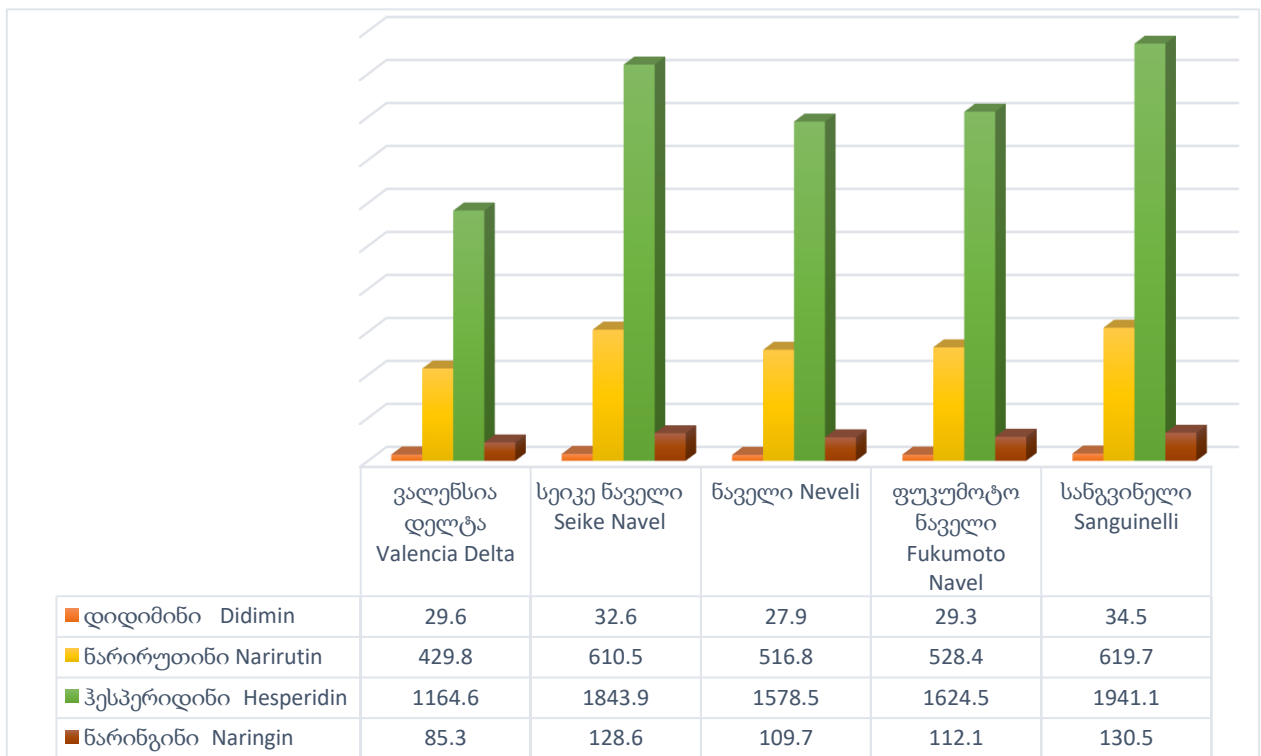
ფორთოხლის წვენი ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/ლ
 დიაგრამა №9

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Orange juice Content mg/L
 Diagram №9



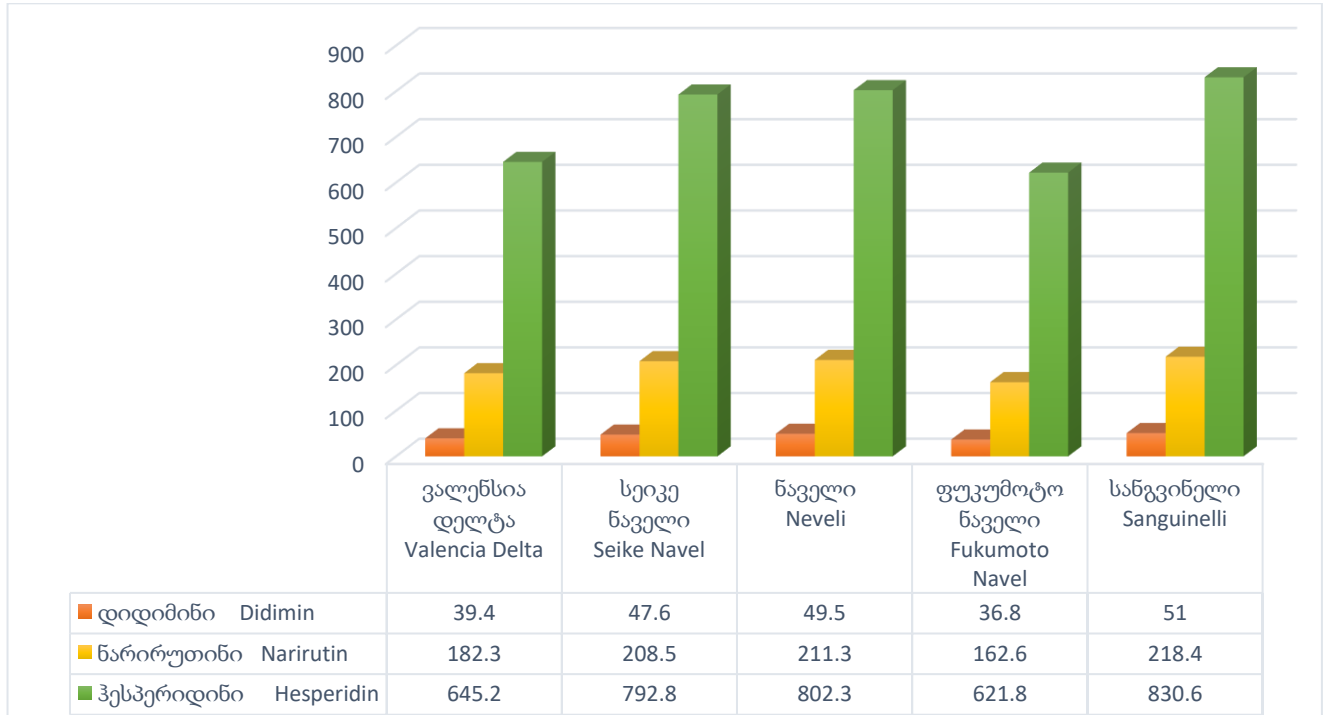
ფორთოხლის კანის ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/კგ
 დიაგრამა №10

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Orange Peel Content mg/kg
 Diagram №10



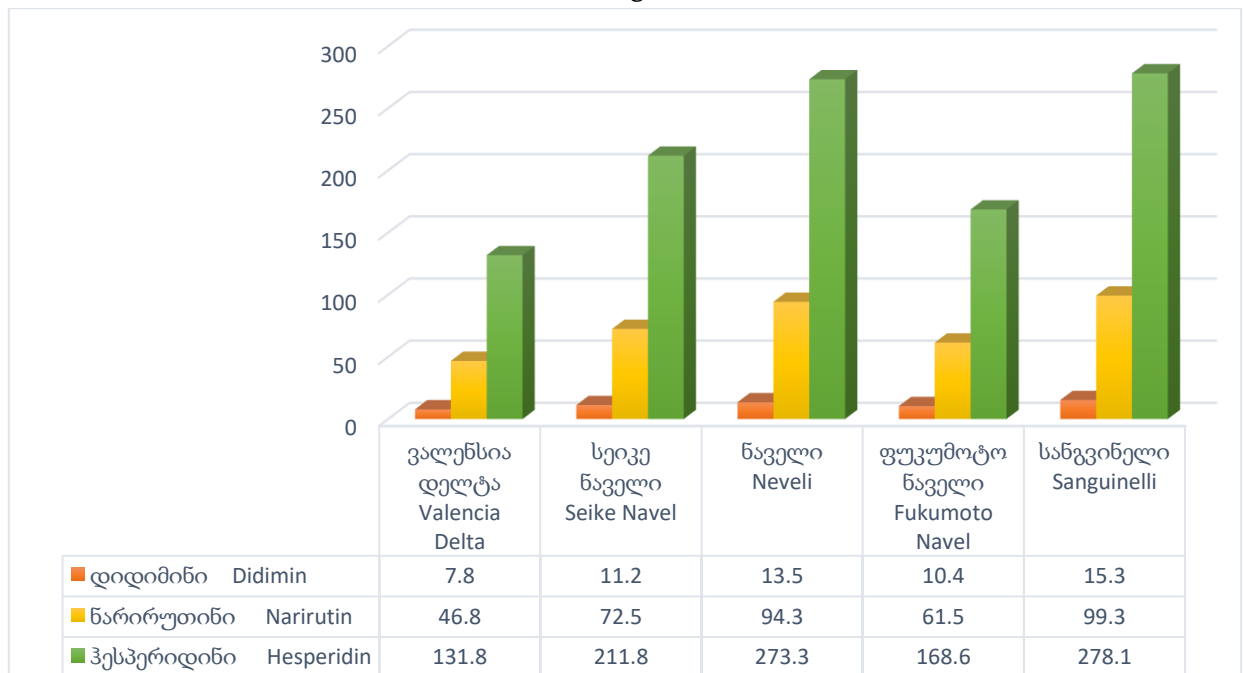
ფორთოხლის რბილობის ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/კგ
 დიაგრამა №11

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Orange pulp Content mg/kg
 Diagram №11

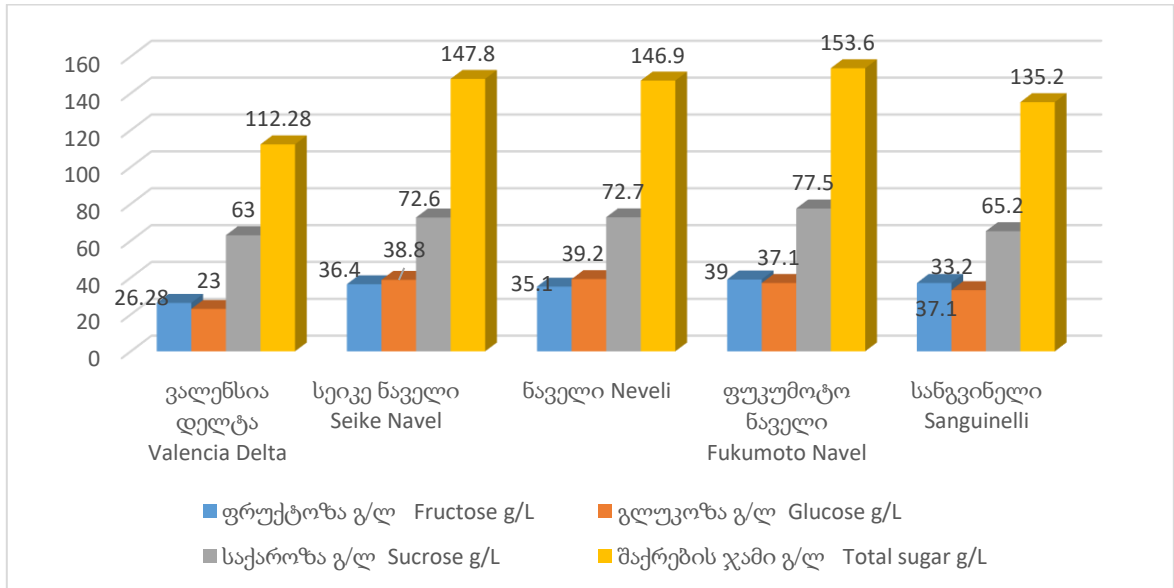


ფორთოხლის გამონაწნების ფლავონონ გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობა მგ/კგ
 დიაგრამა №12

Quantitative Analysis of Flavonone Glycosides in Orange Residues Content mg/kg
 Diagram №12



ფორთოხლის წვენში ნახშირწყლების შემცველობა დიაგრამა №13
Carbohydrate content in orange juice Diagram №13



მიღებული ჰესპერიდინის ანტიოქსიდანტური აქტივობა მგ ნიმუშისა 50% ინჰიბირებით
დიაგრამა №14

Antioxidant activity of hesperidin obtained by 50% inhibition of mg sample
Diagram №14

