

სსიპ - ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტი

ქიმიის დეპარტამენტი



ლანა დათუაშვილი

ქაჯვის ნაყოფის ბიოაქტიური ნაერთების შესწავლა ოფთალმოლოგიური გამოყენების
მალამოს მისაღებად და მისი თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების
რეგენერაციისთვის გამოცდა

(წარდგენილია ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად)

სპეციალობა: ბუნებრივ ნაერთთა ანალიზი

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: პროფესორი

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი

ალეკო კალანდია

თანახელმძღვანელი: პროფესორი,

ქიმიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი

ინგა ბოჭოიძე

ბათუმი-2025

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

„როგორც წარდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად“.

ლანა დათუაშვილი

დისერტაციის კვლევითი ნაწილი შესრულდა პროექტის ფარგლებში, რომელიც განხორციელდა შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდის ფინანსური ხელშეწყობით (გრანტი AP/96/13; FR 22-4236)

სარჩევი

შესავალი -----	5
1. ლიტერატურული მიმოხილვა -----	11
1.1. მცენარე ქაცვის დახასიათება და მისი გამოყენების პერსპექტივები ოფთალმოლოგიაში -----	11
1.2. მცენარეული ნედლეულიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქციის ტრადიციული და თანამედროვე მეთოდების დახასიათება -----	18
2. ექსპერიმენტული ნაწილი: -----	37
2.1. კვლევის ობიექტი -----	37
2.2. კვლევის მეთოდები -----	39
2.3. ქაცვის წვენში ნახშირწყლების კვლევა HPLC რეფრაქტომეტრული დეტექტირების მეთოდით -----	46
2.4. ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში კატიონების თვისობრივი და რაოდენობრივი კვლევა HPLC კონდუქტომეტრული დეტექტირების მეთოდის გამოყენებით -----	49
2.5. ქაცვის ნაყოფისა და ფოთლის ფენოლური ნაერთების იდენტიფიკაცია ულტრა მაღალეფექტური (წნევის) სითხური UPLC-PDA, MS ქრომატოგრაფირების მეთოდებით -----	52
2.6. ქაცვის ნაყოფისა და ფოთლის ფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი ანალიზი -----	73
2.7. ქაცვის ნაყოფის ლიპიდური ნაერთების ინოვაციური კვლევები და მათი გამოყენება ოფთალმოლოგიურ მალამოებში -----	78
3. ქაცვის ნაყოფის კომპლექსური გადამუშავება და ანარჩენების ვალორიზაცია--	86
3.1. ქაცვის რბილობიდან ულტრაბგერითი ზონდის გამოყენებით ბიოლოგიურად აქტიური პრეპარატების მიღება და მისი გამოყენების პერსპექტივები ოფთალმოლოგიურ მალამოებში -----	89
3.2. ქაცვის ანაწნებიდან „მწვანე“ ტექნოლოგიებით ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქცია და მისი გამოყენების პერსპექტივები ოფთალმოლოგიაში -	100
3.3. ქაცვის თესლიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების თანმიმდევრული	

ექსტრაქცია სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგის (scCO ₂) გამოყენებით -----	109
4. თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების რეგენერაციისთვის „ქაცვის თვალის მალამო“-ს ფარმაცოლოგიური თვისებების გამოცდა -----	118
დასკვნა -----	124
გამოყენებული ლიტერატურა -----	129

შესავალი

თემის აქტუალობა - ქაცვის (*Hippophae*) ველური თუ კულტურული ნარგავები მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაშია გავრცელებული, განსაკუთრებით საინტერესოდ მიიჩნევა მთიანი რეგიონის და შედარებით ცივი კლიმატის პირობებში მოყვანილი ნაყოფი. საქართველოს ნიადაგობრივ-კლიმატური პირობები ძალიან კარგი მასპინძელი აღმოჩნდა ქაცვისათვის. იგი საქართველოში პრაქტიკულად ყველგან იზრდება. ქაცვი იზრდება მდინარის ნაპირებზე, მთის ფერდობებზე, ტენიან ადგილებში, სადაც ხშირად ქმნის ძნელადმისადგომ აღმონაცენს. ქაცვი განსაკუთრებით ფართოდაა გავრცელებული მდინარეების რიონის, აჭარისწყალი, ჭოროხი და ცხენისწყლის ხეობებში, სადაც შესაძლებელია მისი მასიურად დამზადება. ქაცვის ნაყოფი ფართო გამოყენებით გამოირჩევა, მისგან ამზადებენ როგორც საკვებ პროდუქტებს, ასევე სამკურნალო პრეპარატებს. საქართველოში რამდენიმე კომპანია ამზადებს ქაცვის ნაყოფს, აშრობს და ახდენს რეალიზაციას. მათ შორისაა ჩვენს რეგიონში მოღვაწე ჩვენი პარტნიორი კომპანიებიც. ქაცვის მიმართ ინტერესი სამეცნიერო ლიტერატურაში ძალიან მაღალია. ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა ბოლო 10 წელში სამეცნიერო კვლევების ტენდენციები და გეოგრაფიული არეალი. გეოგრაფიული არეალი მრავალფეროვანია, განვითარებადი ქვეყნები და მაღალტექნოლოგიური სამხრეთ კორეა. მცენარის ნაყოფში პირველ რიგში სწავლობენ ქიმიურ შედგენილობას. შესწავლილია ქაცვის ნაყოფის ორგანული ნაერთების წარმოებულები [1; 69], იდენტიფიცირებულია ფოთლის ბიოაქტიური პოლიფენოლები და მქროლავი ნაერთები [82] ჩატარებულია *Hippophae rhamnoides* L. ნაყოფის და ფოთლის UHPLC-ESI-QTOF-MS და დადგენილია მისი Anti-Inflammatory აქტიურობა [148]. ჩატარებულია ყლორტების, ფოთლების და ანაწეხის ფიტოქიმიური კვლევა და დადგენილია მისი ანტიმიკრობული აქტიურობა [96] შესწავლილია ყინვაგამძლე ფორმების ანტიფრიზული პროტეინები [108] შესწავლილია ნაყოფის პოლისაქარიდების ნაწლავის დამცავი თვისებები [88]. შესწავლილია პენტაციკლური ტრიტერპენები [109]. დახასიათებულია ქაცვის პოლიფენოლების შესაძლებლობა მოახდინონ ნიტრიტების დეგრადაცია [10]. შესწავლილია სხვადასხვა მეთოდით მიღებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტიურობა [97]. შესწავლილია ქაცვის

ანაწეხის ქიმიური შედგენილობა და შემოთავაზებულია მისი ვალორიზაციის საშუალებები [71]. კომპლექსურად არის შესწავლილი ნაყოფის შედგენილობა (ნახშირწყლები, მჟავები, ვიტამინები) [122; 73; 69]. გამოყოფილია და იდენტიფიცირებულია აურინლიგნანები და დადგენილია მათი ჰეპატოპროტექტორული და ჰიპილიპიდემური აქტიურობები [74]. ჩატარებულია ქაცვის ნაყოფის პროანტოციანების კვლევა ნაყოფის მოყვანის ადგილის და გენეტიკური წარმოშობის მიხედვით [140]. სიღრმისეულადაა შესწავლილი ქაცვის ნაყოფის ფლავონოლ გლიკოზიდები [100]. შესწავლილია ლიპოფილური ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტიურობა და მათში კაროტინოიდების და ტოკოფეროლის შემცველობა [92]. ეს ბუნებრივია არასრული ჩამონათვალი.

ბოლო წლებში, განსაკუთრებული ინტერესი გამოიკვეთა ქაცვის ნაყოფის ბიოაქტიური ნაერთების ოფთალმოლოგიური გამოყენების მიმართ. თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურები, რომლებიც ხშირად იწვევენ მხედველობის გაუარესებასა და დისკომფორტს, მნიშვნელოვან სამედიცინო პრობლემას წარმოადგენს. მიუხედავად თანამედროვე მედიცინის მნიშვნელოვანი მიღწევებისა, პარალელურად მიმდინარეობს კვლევები, რომლებიც მიმართულია ბუნებრივი წარმოშობის სამკურნალო საშუალებების გამოყენების პოტენციალის შესწავლაზე. ბუნებრივი ნაერთების გამოყენებამ, როგორც დამხმარე ან ალტერნატიულმა თერაპიამ, შესაძლოა მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანოს თვალის ზედაპირული დაზიანებების რეგენერაციაში და გააუმჯობესოს პაციენტების ცხოვრების ხარისხი. ამ მხრივ, განსაკუთრებით საინტერესოა ქაცვის ზეთის ცხიმოვანი მჟავები. ქაცვის ზეთში არსებული პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავებია: α -ლინოლენის მჟავა (ω -3) C18:3, γ -ლინოლენის მჟავა (ω -6) C18:3, ლინოლენის მჟავა (ω -6) C18:2; ხოლო მონოუჯერი ცხიმოვანი მჟავებია: ოლეინის მჟავა (ω -9) C18:1 და ეიკოზანოინის მჟავა (ω -9) C20:1 [61; 36; 142; 152; 17; 56; 46; 58; 93; 94; 19].

ბოლო წლების ლიტერატურის შესწავლა ადასტურებს, რომ ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მისაღებად უპირატესობას ანიჭებენ ე.წ. მწვანე და ციკლურ ეკონომიკაზე ორიენტირებულ ტექნოლოგიებს, მხოლოდ ულტრაბგერითი ზონდის გამოყენებით ექსტრაქციის რამდენიმე ათეული სრულფასოვანი კვლევაა, სხვადასხვა მცენარესთან

მიმართებაში, წარმოდგენილი მაღალრეიტინგულ ჟურნალებში (მაგალითისათვის- [96; 3; 128; 42; 102; 111; 78]. სუპერ კრიტიკული ფლუიდური ექსტრაქცია Supercritical Fluid Extraction (SFE) ტრადიციულ ექსტრაქციებთან შედარებით გააჩნია გარკვეული უპირატესობა. მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია ზეკრიტიკული წყლის გამოყენებით ექსტრაქციას (Subcritical pressure and temperature Water Extraction-SWE) როგორც კვლევებში ასევე პრეპარატების მიღებისათვის [59; 146; 62; 33; 104; 21; 28; 118; 95].

პრობლემის ფორმულირება - ჩვენს მიერ შესწავლილი რამდენიმე ასეული სამეცნიერო პუბლიკაციიდან, სამწუხაროდ არ იძებნება არც ერთი კვლევა საქართველოში გავრცელებული ენდემური მცენარეების ან წარმოების ანარჩენების შესახებ, არც ერთი ავტორი არ არის ქართული სამეცნიერო წრიდან. სამეცნიერო ტექნიკის სიმწირის გამო სრულად შეუსწავლელია ქვეყნის სინამდვილეში, მცენარეული ნედლეულის გადამამუშავებელ საწარმოთა ანარჩენების გამოყენების შესაძლებლობები (გამონაკლისი ჩვენი სამეცნიერო გუნდის რამოდენიმე კვლევა მცენარე სტევიაზე, ციტრუსის გამონაწნეხზე, ყურძნის წიპწაზე). სრულად შეუსწავლელია ბიოაქტიური ნაერთების შემცველი მცენარეებიდან მიღებული პრეპარატები და მათი გამოყენების პერსპექტივები. მეორეს მხრივ ჩვენს მიერ გაცნობილი ლიტერატურა მოწმობს (რამდენიმე ათეული უახლესი პუბლიკაცია), რომ მცენარეული ნედლეულისა და გადამამუშავების ანარჩენების ვალორიზაციის საკითხი ინოვაციური ტექნოლოგიების გამოყენებით, გარემოზე უარყოფითი ზემოქმედების შესუსტების მიზნით ციკლური ეკონომიკის პრინციპების გამოყენება პრიორიტეტული საკითხია. დღეისათვის შექმნილი სასურსათო და მედიკამენტოზული უსაფრთხოების საკითხების გათვალისწინებით, განსაკუთრებით აქტუალური გახდა ისეთი მცენარეული ნედლეულის და წარმოების ანარჩენების გამოყენების საკითხი, რომელიც მდიდარია საკვებად ვარგისი ბიოპოლიმერებით და პროფილაქტიკური თუ სამკურნალო დანიშნულების მქონე ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთებით. აუცილებელია საქართველოს სინამდვილეში განსაკუთრებით ენდემური მცენარეების ექსტრაქციის მეთოდების ოპტიმიზაცია, ბიოაქტიური პრეპარატების მიღების ტექნოლოგიების შემუშავება, მათი ქიმიური შედგენილობის კვლევა თანამედროვე მეთოდების მეშვეობით და მათი გამოყენების პერსპექტივების დადგენა.

სამწუხაროდ ქართულ სინამდვილეში არა თუ ბოლო 10 წლის განმავლობაში, არამედ საერთოდ არ იძებნება რამდენადმე სერიოზული სამეცნიერო ნაშრომი (გამონაკლისი რამდენიმე დისერტაციაა, სადაც ქაყვის ქიმიური შედგენილობა ზედაპირულადაა შესწავლილი). სანედლეულო ბაზა საკმაოდ დიდია, ინფორმაციის სიმცირის გამო, ნაყოფის მოხმარება ხდება არა რაციონალურად. ძირითადად საოჯახო მეურნეობებში მზადდება მურაბები და ჯემები. მცირე რაოდენობით შრება და ჩირის სახით რეალიზდება. ქაყვის ნაყოფის ქიმიური შედგენილობის სიღრმისეული კვლევა, სახეობრივი და რეგიონული გავრცელების მიხედვით ქიმიური შედგენილობის თავისებურებების გათვალისწინება, მცენარეული ნედლეულისა და გადამუშავების ანარჩენების ვალორიზაციის ინოვაციური ტექნოლოგიების შემუშავება გარემოზე უარყოფითი ზემოქმედების შესუსტების მიზნით ციკლური ეკონომიკის პრინციპების გამოყენებით საშუალებას მოგვცემს მცენარეული ნედლეულის რეალიზაციის ნაცვლად წარმოებული იქნას საბოლოო პროდუქცია. ქაყვის საფუძველზე დამზადებული პროდუქტებისა და პრეპარატების იმპორტის ნაცვლად შესაძლებელი გახდება მათი ექსპორტირება. ეს კი საშუალებას მოგვცემს ნაბიჯ-ნაბიჯ გადაიჭრას მცენარეული ნედლეულის ნაცვლად სანდო და მაღალტექნოლოგიური პროდუქციის რეალიზაცია განხორციელდეს, შემცირდეს ქვეყნის სასურსათო და ფარმაცევტული უსაფრთხოების რისკები.

კვლევის მიზანი და ამოცანები - საქართველოში გავრცელებული ქაყვის ნაყოფის ქიმიური შედგენილობის შესწავლა, ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების იდენტიფიკაცია, ნედლეულისა და გადამუშავების ანარჩენების ვალორიზაციის და გარემოზე უარყოფითი ზემოქმედების შესუსტების მიზნით ციკლური ეკონომიკის პრინციპების გამოყენებაზე დაფუძნებული სუბსტანციების და პრეპარატების მიღების ინოვაციური ტექნოლოგიების ოპტიმიზაცია; ბიოაქტიური ნაერთების მხოლოდ „მწვანე“ ექსტრაგენტების ციკლურ გამოყენებაზე დაფუძნებული- სუპერკრიტიკული ფლუიდური (supercritical fluid extraction-SFE), ულტრაბგერითი (Ultrasonic Extraction -USE), სუბკრიტიკული წნევისა და ტემპერატურის წყლით (Subcritical pressure and temperature Water Extraction-SWE) ექსტრაქციის, ულტრაფილტრაციის, სორბციის, დესორბციის, დიალიზის და სხვა მეთოდების პარამეტრების ოპტიმიზაცია;

ნედლეულისა და მიღებული პრეპარატების შესწავლა UPLC-PDA-MS, HPLC, GC მეთოდების გამოყენებით; ბიოლოგიურად აქტიური ინდივიდუალური ნაერთების იდენტიფიცირება და რაოდენობრივი შემცველობის შესწავლა; მათი ბიოაქტიურობის სკრინინგი (ანტიოქსიდანტური აქტივობა) და გამოყენების პერსპექტივების განსაზღვრა.

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა დასავლეთ საქართველოში ველურად მოზარდი ქაცვის ნაყოფი, ფოთოლი და ნაყოფის გადამუშავების პროდუქტები (გამონაწენები და თესლი).

კვლევის მეთოდოლოგია - კვლევაში გამოყენებული იქნა შემდეგი ხელსაწყოები: მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფი (HPLC) - Waters, აღჭურვილი UV, Vis და რეფრაქციული ინდექსის (RI) დეტექტორებით (Binary HPLC Pump 1525), და Waters 432 კონდუქტომეტრული დეტექტორით. ასევე გამოყენებული იქნა ულტრა-მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფი (UPLC) - Waters Acquity H Class, ფოტო-დიოდური მასივის (PDA) და მას-სპექტრომეტრიული (MS) დეტექტორებით; pH-მეტრი და კონდუქტომეტრი - Mettler Toledo pH/Ion meter S220 და S230 Conductivity; Mettler Toledo UV5 UV/Vis სკანირებადი სპექტროფოტომეტრი.

სამეცნიერო სიახლე - საქართველოს სინამდვილეში პირველად იქნება შესწავლილი ქაცვის ნაყოფის ქიმიური შედგენილობა (კომპლექსური კვლევა ქრომატოგრაფირებით-HPLC-UV,Vis,RI, UPLC-MS,PDA GC, სპექტრალური ანალიზი და კვლევის კლასიკური ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდებით) ქაცვის ბიოაქტიური ნაერთების თვისობრივი და რაოდენობრივი შედგენილობა. შესაძლებელი გახდება ნაყოფის კომპლექსური გადამუშავების და გადამუშავების ნარჩენების ვალორიზაციის და გარემოზე უარყოფითი ზემოქმედების შესუსტების მიზნით ციკლური ეკონომიკის პრინციპების გამოყენებაზე დაფუძნებული ინოვაციური ტექნოლოგიების შემუშავება. სხვადასხვა თანამედროვე ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით ქაცვის ნაყოფისა და გადამუშავების პროდუქტებიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული იქნა 3 ორგანული მჟავა, 35 ფლავონოიდი, 1 ტერპენოიდი, 23 ცხიმოვანი მჟავა. მწვანე ტექნოლოგიების გამოყენებით მიღებულ იქნა რამდენიმე პრეპარატი

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა - შესწავლილია ფოთლის, ნაყოფის, მისი გადამამუშავებისას მიღებული პროდუქტების ბიოაქტიური ნაერთების შედგენილობა და მათი ბიოლოგიური აქტივობა. შერჩეულია ტექნოლოგიური მეთოდები, რომლებიც უზრუნველყოფენ ბიოაქტიური ნაერთების მაქსიმალურად შენარჩუნებას. წარმოების ანარჩენების ვალორიზაციის მეთოდები მეწარმეებს საშუალებას მისცემს აწარმოონ ბაზარზე მოთხოვნადი ბიოლოგიურად აქტიური პროდუქტები და პრეპარატები.

სამუშაოს აპრობაცია - კვლევის შედეგები ასახულია 3 სამეცნიერო სტატიასა და 1 საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენციის მასალაში:

1. Lana Datuashvili, Maia Vanidze, Indira Japaridze, Nona Surmanidze, Inga Kartsivadze, Ruslan Davitadze, Aleko Kalandia Chemical Composition Analysis of Sea Buckthorn (*Hippophae*) in Georgia and Development of Innovative Valorization Technologies Food Science & Nutrition 2025 (გამოქვეყნების პროცესშია)
2. Lana Datuashvili; Maia Vanidze; Indira Japaridze; Nona Surmanidze; Inga Kartsivadze; Nona Abashidze; Maia Kharadze; Meri Khakhutaishvili; Ruslan Davitadze and Aleko Kalandia; Inga Bochoidze; Study of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Leaves by UPLC-MS and HPLC Methods International Journal of Life Sciences (ISSN: 2277- 193x) 14 (2) (2025) 27-35
3. Lana Datuashvili; Maia Vanidze; Indira Japaridze (Indira Djafaridze); Nona Surmanidze; Aleko Kalandia; Inga Bochoidze; Green Approaches to Carotenoid Extraction from Sea Buckthorn Fruit and Their Role in Ophthalmology Georgian Scientists 7, N2, 2025, <https://doi.org/10.52340/g.s.2025.07.02.11>
4. Lana Datuashvili; Maia Vanidze; Indira Japaridze; Inga Kartsivadze; Nona Surmanidze; Ruslan Davitadze; Aleko Kalandia; Chemical Composition Analysis of Sea Buckthorn (*Hippophae*) in Georgia and Development of Innovative Valorization Technologies for Plant Materials and Processing Waste Published: 25 October 2024 by MDPI in The 5th International Electronic Conference on Foods session Chemistry and Physicochemical Properties of Foods <https://sciforum.net/paper/view/19451>

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა – დისერტაცია შედგება 145 ნაბეჭდი გვერდისაგან, დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაციის გაფორმების ინსტრუქციის მიხედვით და მოიცავს სატიტულო და ხელმოწერების გვერდებს, შინაარსს, სურათს 57, ცხრილის ნუსხას 21, დიაგრამას 10, გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხას 151 ერთეულს. ძირითადი ტექსტის

შემადგენლობაშია: შესავალი, ლიტერატურული მიმოხილვა, ექსპერიმენტული ნაწილი, შედეგების განსჯა, დასკვნა და გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალი.

1. ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1. მცენარე ქაცვის დახასიათება და მისი გამოყენების პესპექტივები ოფთალმოლოგიაში; საქართველოს ფლორა გამოირჩევა სამკურნალო მცენარეების სიმდიდრით, რომელთა შორის განსაკუთრებული ადგილი უკავია ქაცვს (*Hippophae rhamnoides* L, *Eleagnaceae*). ქაცვი ფართოდ არის გავრცელებული ევროპასა და აზიაში. საქართველოში ის თითქმის ყველა ფლორისტულ რაიონში გვხვდება, უპირატესად მდინარეთა ნაპირებზე, ხევებში, ჭალებსა და რიყეებში [1, 125, 63].

ქაცვი ღირებული მცენარეა მისი კვების, ფიტოთერაპიული და გარემოსდაცვითი თვისებების გამო. ფოთლები, ნაყოფი და თესლი ბიოაქტიური კომპონენტების მდიდარი წყაროა [125, 63, 143]. ნაყოფი კი განსაკუთრებით, გამოირჩევა მრავალფეროვანი ქიმიური შემადგენლობით, რაც განაპირობებს მის მრავალფეროვან ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას.

ბოლო წლებში, განსაკუთრებული ინტერესი გამოიკვეთა ქაცვის ნაყოფის ბიოაქტიური ნაერთების ოფთალმოლოგიური გამოყენების მიმართ. თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურები, რომლებიც ხშირად იწვევენ მხედველობის გაუარესებასა და დისკომფორტს, მნიშვნელოვან სამედიცინო პრობლემას წარმოადგენს. მიუხედავად თანამედროვე მედიცინის მნიშვნელოვანი მიღწევებისა, პარალელურად მიმდინარეობს კვლევები, რომლებიც მიმართულია ბუნებრივი წარმოშობის სამკურნალო საშუალებების გამოყენების პოტენციალის შესწავლაზე. ბუნებრივი ნაერთების გამოყენებამ, როგორც დამხმარე ან ალტერნატიულმა თერაპიამ, შესაძლოა მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანოს თვალის ზედაპირული დაზიანებების რეგენერაციაში და გააუმჯობესოს პაციენტების ცხოვრების ხარისხი.

ამ მხრივ, განსაკუთრებით საინტერესოა ქაცვის ზეთის ცხიმოვანი მჟავები. ქაცვის ზეთში არსებული პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავებია: α -ლინოლენის მჟავა (ω -3) C18:3, γ -ლინოლენის მჟავა (ω -6) C18:3, ლინოლენის მჟავა (ω -6) C18:2; ხოლო მონოუჯერი

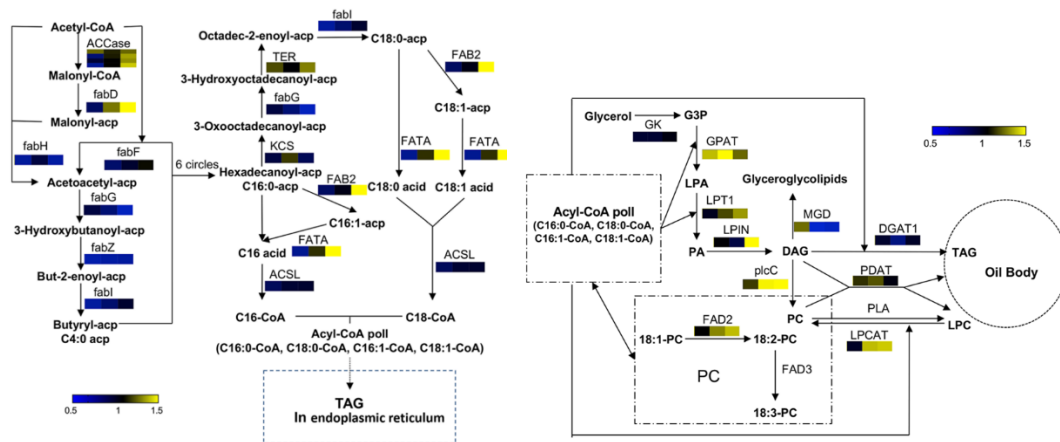
ცხიმოვანი მჟავებია: ოლეინის მჟავა (ω-9) C18:1 და ეიკოზანოინის მჟავა (ω-9) C20:1 [20]. დადგენილია, რომ ქაცვის ზეთის უჯერი ცხიმოვანი მჟავები აუმჯობესებენ კანის სტრუქტურასა და ტონუსს მრავალი სინერგისტული ეფექტის მეშვეობით, როგორცაა პლაზმის ცირკულაციის გაუმჯობესება, კანისათვის საჭირო საკვები ნივთიერებებისა და ჟანგბადის მიწოდება და ჭარბი ტოქსინების გამოდევნა. უჯერი ცხიმოვანი მჟავები თავიანთ ეფექტებს ახორციელებენ კანის ღრმა ფენებში მოხვედრის შემდეგ, სადაც გარდაიქმნიებიან პროსტაგლანდინებად (prostaglandins) [61; 36]. გამა-ლინოლენის მჟავა უზრუნველყოფს საკვები ნივთიერებების სათანადო ტრანსპორტირებას და წარმოადგენს საშენ მასალას კანის უჯრედებისათვის [141; 29]. ლინოლენის მჟავა, როგორც ω-6 და უჯრედშიდა ცემენტის შემადგენელი ნაწილი, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს უჯრედულ რეგენერაციაში და კანის ცხიმოვანი ჯირკვლების ფუნქციის რეგულირებაში. ქაცვის ზეთში არსებული ლინოლენისა და α-ლინოლენის მჟავას განსაკუთრებულობა იმაში მდგომარეობს, რომ ეს მჟავები ადამიანის ორგანიზმში ვერ წარმოიქმნება, ხოლო ქაცვის ზეთში აღმოჩენილი გამა-ლინოლენის მჟავა, ოლეინის მჟავა და პალმიტოლენის მჟავა ფაქტობრივად შეიძლება გამომუშავდეს ორგანიზმის მიერ განსაზღვრულ პირობებში [61; 17].

ქაცვის ზეთი შეიცავს იშვიათ პალმიტოლენის მჟავას (ω-7 მჟავა), კანის ლიპიდების კომპონენტს, რომელიც ასტიმულირებს რეგენერაციულ პროცესებს ეპიდერმისში და ხელს უწყობს ჭრილობების შეხორცებას (ნეკროზული ქსოვილის შეხორცებასაც კი) ნაწიბურების დაპატარავებასა და კანის რეგენერაციას [46; 58].

ქაცვის ზეთში იდენტიფიცირებული ნაჯერი ცხიმოვანი მჟავების (ლაურინის მჟავა (C12:0), მირისტინის მჟავა (C14:0), პენტადეკანოინის მჟავა (C15:0), პალმიტინის მჟავა (C16:0), სტეარინის მჟავა (C18:0) და არაქიდინის მჟავა (C20:0)) ძირითადი ფუნქცია კანის მეტაბოლიზმში არის კანის ადეკვატური ტურგორის, სიმკვრივის, სიგლუვისა და სირბილის უზრუნველყოფა. ისინი აძლიერებენ კანის დამცავ ბარიერულ როლს და ბლოკავენ ტრანსეპიდერმული წყლის დაკარგვას [93; 94; 19].

რამდენადაც ცხიმოვანი მჟავები წარმოადგენენ ლიპიდების ძირითად კომპონენტს მათი სინთეზი ძირითადად პლასტიდებში მიმდინარეობს. პირველ რიგში აცეტილ-CoA ქმნის ცხიმოვანი მჟავების ჯაჭვის 2 ნახშირბადოვან ერთეულს მალონილ-CoA-ს.

შემდეგ, კონდენსაციის, დეჰიდრატაციისა და რეკონსტრუქციის ხარჯზე ნახშირბადოვანი ჯაჭვი გარდაიქმნება ცხიმოვან სისტემად [57; 150] (სურათი 1).



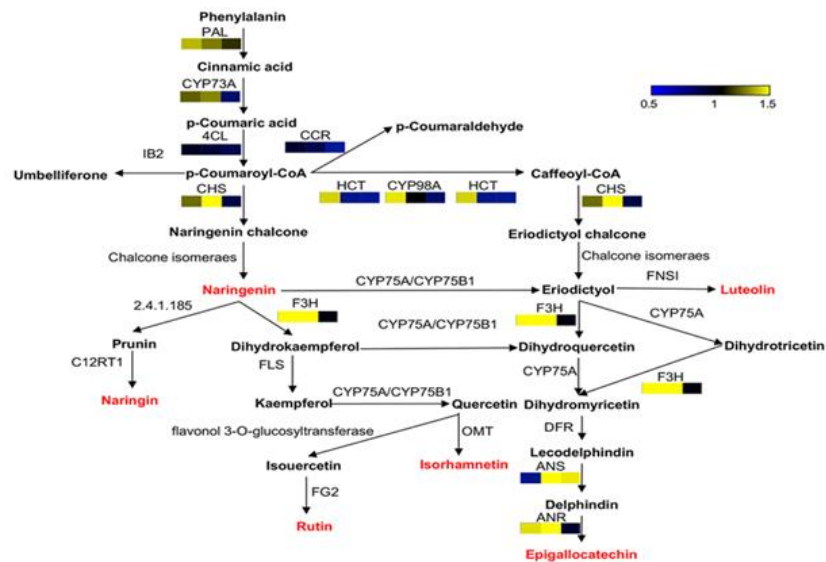
სურათი 1. ცხიმოვანი მჟავები სინთეზის გზა

ლიტერატურაში აღწერილია ქაცვის ზეთის მიღების მცენარეული ზეთით ან აქროლადი ორგანული გამხსნელებით ექსტრაქციის და დაწნეხის მეთოდები. სამრეწველო ტექნოლოგია გულისხმობს დიფუზიურ ბატარეებში ნედლეულის 60-65 °C გაცხელებული მზესუმზირის ზეთით ექსტრაქციას. მიღებული ზეთი გამოირჩევა კაროტინოიდების მაღალი და ვიტამინი E-ს დაბალი შემცველობით. ექსტრაქცია არაპოლარული აქროლადი გამხსნელებით მარტივია ტექნოლოგიური თვალსაზრისით, ექსტრაგირებული ცხიმოვანი ზეთი კი გამოირჩევა აქტიური ნივთიერებების მაღალი გამოსავლიანობით, თუმცა საჭიროებს ტოქსიკური ორგანული გამხსნელის სრულ მოცილებას. დაწნეხის მეთოდით ზეთის მიღება ხდება მშრალი რბილობიდან 5-10 ატმ. წნევის პირობებში. მიღებულ ცხიმოვან ზეთს ახასიათებს გამოხატული არომატი, გემო და თითქმის სრულად ინარჩუნებს ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, თუმცა ხასიათდება დაბალი გამოსავლიანობით. [131 ;49].

ჩინეთში გავრცელებული ველური ქაცვის ნაყოფი (*Hippophaë rhamnoides* ssp. *sinensis*) შეადარეს ფინეთსა და კანადაში მოყვანილ კულტივირებულ ნაყოფს (*H. rhamnoides* ssp. *mongolica*). ფლავონური გლიკოზიდების შემცველობა მერყეობდა 23-დან 150 მგ/100გ-მდე ცოცხალ ნაყოფში და მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ჩინურ ექსტრაქტებში, ვიდრე

ფინურ და კანადურში; *ssp. mongolica*-ში ფლავონური გლიკოზიდების შემცველობა უფრო ნაკლები იყო (80 მგ/100 გ) [75, 123, 149].

ქაცვი ორი განსხვავებული ანტიოქსიდანტური ნაერთით არის წარმოდგენილი, ჰიდროფილური (ფენოლური ნაერთებით) და ლიპოფილური ნაერთები (კაროტინოიდების და ტოკოფეროლების მეშვეობით) [15 ; 26 ; 138].



სურათი 2. ფლავონოიდების ძირითადი ნაერთების სინთეზის გზა

ფლავონოიდები სინთეზირდება ფენილპროპანოიდული გზით, ფენილალანინის 4-გარდაქმნით კოუმაროილ-CoA-ში, რომელიც იწყებს ფლავონოიდების სინთეზის გზას. ქალკონსინთეტაზა არის პირველი ფერმენტი სინთეზის გზაზე, რომელიც წარმოქმნის ქალკონურ სტრუქტურას, რომლისაგან წარმოიქმნება ყველა სხვა ფლავონოიდი. მცენარეთა ქსოვილებში ფლავონოიდები ძირითადად ფენილალანინიდან სინთეზირდება, ძირითად ნაერთებს წარმოადგენს აურონები, ფლავონონები, ფლავონოლები და იზოფლავონოიდები [76] (სურათი 2).

ფლავონოიდები ყველაზე ფართოდ გავრცელებული პოლიფენოლებია, განსაკუთრებით მათი გლიკოზიდები, რომლებიც ქმნიან ბუნებაში ანტიოქსიდანტების უდიდეს ჯგუფს. ჯერჯერობით, დაახლოებით 15000 ფლავონოიდი გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია მცენარეებიდან. როგორც ფლავონოიდების ჯგუფს, ფლავონოლ გლიკოზიდებსაც შესაძლოა ჰქონდეთ

პოტენციური როლი ქრონიკული დაავადებების პროფილაქტიკასა და მართვაში, როგორიცაა კიბო, დიაბეტი და გულ-სისხლძარღვთა დაავადებები.[22 ;128].

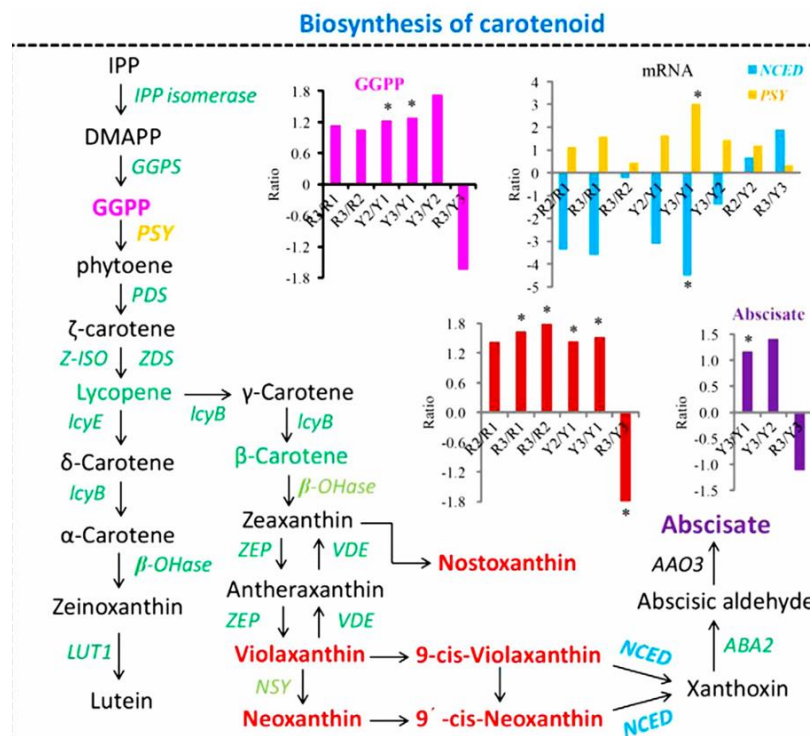
ასევე შესწავლილია კაროტინოიდების უნარი ქრონიკული დაავადების საპრევენციოდ, ბეტა კაროტინი, ლიკოპენი, ზეაქსანტინი და სხვა კაროტინოიდებს აქვთ ანტიოქსიდანტური თვისებები, მაგრამ ანტიოქსიდანტური შესაძლებლობები ცვალებადია, დამოკიდებულია კაროტინოიდების კონცენტრაციაზე, გარემო ფაქტორებზე, გადამუშავების ტექნიკაზე. [24 ;11].

რუმინეთში ჩაატარეს კვლევა, სადაც შეადარეს ქაცვის (*Hippophae rhamnoides* L) და გარგარის (*Prunus armeniaca* L.) ნაყოფის ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ქაცვში კაროტინოიდების შემცველობა არის 17.19 ± 1.4 mg/100g F.W. და გარგარში 3.51 ± 0.25 mg/100g F.W. მთავარი კაროტინოიდი ქაცვში არის β -კაროტინი, ზეაქსანტინი და β -კრიპტოქსანტინი. გარგარი კი მდიდარია β -კაროტინით და მისი იზომერით - ლიკოპენით. A-ტოკოფეროლის შემცველობა ქაცვში უფრო მაღალია (46 mg/kg) ვიდრე გარგარში (1.09 mg/kg), მაშინ როცა გარგარის ბირთვი მდიდარია γ -ტოკოფეროლით (112 mg/kg). [120].

კაროტინოიდების სინთეზის ძირითადი გზა მცენარეთა უმრავლესობისათვის მსგავსია, თუმცა ზოგიერთი მცენარე კაროტინოიდებს აგროვებს ბიოსინთეზის უნიკალური გზით. როგორც იზოპრენოიდები, კაროტინების სინთეზი ხორციელდება 2-C-მეთილ-D-ერიტრიტოლ 4-ფოსფატური გზით (2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (MEP)), რომელიც იწყება რეაქციით პირუვატსა და გლიცერალდეჰიდ- 3-ფოსფატს შორის[16; 67; 54] (სურათი 3).

ბეტა იზომერი მნიშვნელოვანია ორგანიზმში A ვიტამინის (რეტინოლის) გამომუშავებისთვის, რომელიც აუმჯობესებს მხედველობას და ახდენს მაკულარული დეგენერაციის პრევენციას, რაც მოზრდილებში შეუქცევადი სიბრმავის ძირითადი მიზეზია. რეტინოლის, ვიტამინი C, E, ლუთეინი, ზეაქსანტინი და თუთიის დეფიციტი, რომელიც რჩება ერთ-ერთი ყველაზე შესამჩნევი კვებით პრობლემად მსოფლიოს ბევრ კუთხეში და დაახლოებით 250 მილიონი სკოლამდელ ბავშვში იწვევს მხედველობით პრობლემებს (ე.წ. ქათმის სიბრმავე - დამე ხედვის პრობლემა). ევროპის

სურსათის უვნებლობის ორგანოს აქვს მიღების დღიური დოზა - 750 მკგ რეტინოლის ეკვივალენტები/დღეში მამაკაცებისთვის და 650 მკგ რეტინოლის ეკვივალენტები/დღეში ქალებისთვის. β -კაროტინის რეტინოლად გარდაქმნის ფაქტორი გამოითვლება 6:1, რაც ნიშნავს, რომ A ვიტამინის ყოველდღიური მოთხოვნილების დასაკმაყოფილებლად საჭიროა დაახლოებით 5 მგ β -კაროტინი[63].



სურათი 3. კაროტინოიდების ბიოსინთეზის სქემა

საკვებიდან ყველაზე აქტიურად ხდება ბეტა-კაროტინის შეწოვა, ეს ასევე ეხება ლიკოპენს. კაროტინოიდების შეწოვა ხდება 20-30 მგ. უფრო დიდ დოზებში შეწოვის შეზღუდვაა მათი ქსოვილებში/პლაზმაში ხსნადობის გამო. [120].

ეპიდემიოლოგიურად არის დადასტურებული, რომ ხილითა და ბოსტნეულით მდიდარი რაციონი ანტიკარცენოგენული ეფექტით ხასიათდება, ოქსიდაციური სტრესი და რადიკალების თავდასხმა არის ძირითადი ფაქტორები, რომლებიც აპროვოცირებენ დეგენერაციული დაავადებების განვითარების დაწყებას.

ქაფის ნაყოფის ექსტრაქტი დადასტურდა, რომ არის კარგი ანტიოქსიდანტი როგორც უჯრედშიდა დონეზე, იმის გამო, რომ მისი უნარი მნიშვნელოვნად შეამციროს ROS

დონე ორივე უჯრედულ ხაზში ($p = 0.0279$ T47D-სთვის და $p = 0.0188$ BT-549-ისთვის), ასევე უჯრედგარე დონეზე. , სადაც ABTS და DPPH ინჰიბიცია მერყეობდა 3.38-56.8%-ს შორის შესაბამისად დაფიქსირდა 5.68-68.65% და 35.6 მგ/ლ ექვივალენტი ასკორბინის მჟავა/გ ქაცვის ექსტრაქტი. ანტიოქსიდანტური ანალიზის შედეგებზე დაყრდნობით, ქაცვის ექსტრაქტმა კარგი ანტიოქსიდანტური აქტივობა აჩვენა მისი მდიდარი კაროტინოიდების შემცველობის გამო.

ქაცვის ფოთოლი ლიპოფილური ნაერთებით არის წამროდგენილი, როგორიცაა α -ტოკოფეროლი, β -კაროტინი და პლასტოქრომანოლ-8 (PC-8), ხოლო ჰიდროფილურ ნაერთებს შორის, როგორიცაა კაემფეროლ-3-O- β -D-(6-O-კუმაროილი) გლიკოზიდი, 1-ფერულოილ- β -D-გლუკოპირანოზიდი, იზორამნეტინ-3-O-გლუკოზიდი, კვერცეტინ-3-O- β -D-გლუკოპირანოზიდი, კვერცეტინ-3-O- β -D-გლუკოპირანოზილ-7-O- α -L რამნოპირანოზიდი და იზორამნეტინ-3-O-რუტინოზიდი.[95] პოლიფენოლები არის აღიარებული, როგორც ანტიმიკრობული აგენტები ზოგიერთი პათოგენური ბაქტერიით. ჰიდროქსიბენზოის და ჰიდროქსიდარიჩინის მჟავებმა აჩვენეს ანტიმიკრობული ეფექტები სალმონელას წინააღმდეგ [142; 44]. გარდა ამისა, *in vitro* კვლევებმა აჩვენა, რომ ქაცვის ფოთლებიდან ფენოლით მდიდარ ფრაქციებს ჰქონდათ ანტიმიკრობული ეფექტი, როგორიცაა *Escherichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Streptococcus pneumonia* და *Staphylococcus aureus* (Yogendra, Tirpude, Maheshwari, Bansal, &1), *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* და *Enterococcus faecalis* წინააღდეგ. სხვა ნაერთებმა, როგორიცაა პროანტოციანიდინები, შეიძლება წვლილი შეიტანონ ნაწლავის რეზისტენტური მიკროფლორის სტიმულაციაში. ქაცვის ყველა მცენარეულ ნაწილს აქვს თავისუფალი რადიკალებისგან გამწმენდი თვისება. [44; 77].

ქაცვის ფოთლის ექსტრაქტი გამოირჩევა შესანიშნავი ანტიოქსიდანტური თვისებებით. ქაცვის ნახარში შეიცავს უამრავ ქიმიურ ინგრედიენტს, როგორიცაა ფლავონოიდები, ტრიტერპენოიდები და პროცინანიდები. ტრიტერპენოიდები არსებობს მრავალ მცენარეში და ანიჭებს მათ მრავალ ფიზიოლოგიურ აქტივობას, მათ შორის ანტიოქსიდანტურ, ჰიპოგლიკემიურ, ჰიპოლიპიდემიურ და ანტიპროლიფერაციულ ეფექტებს. თუმცა, ჯერ კიდევ არ ჩატარებულა დამატებითი კვლევები ქაცვიდან

მიღებული ტრიტერპენოიდების ქიმიურ შემადგენლობასა და ფარმაცოლოგიურ აქტივობასთან დაკავშირებით. [119; 137].

1.2. მცენარეული ნედლეულიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქციის ტრადიციული და თანამედროვე მეთოდების დახასიათება;

ბოლო წლებში, ჯანსაღი ცხოვრების წესისადმი მზარდი ყურადღება იწვევს მცენარეული ნედლეულიდან სასარგებლო და ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების გამოყოფისადმი ინტერესის მნიშვნელოვან ზრდას[115;79]. მცენარეების შემადგენლობაში გვხვდება ნივთიერებები - ფიტოქიმიური ნაერთები, რომლებიც აძლიერებენ მათ გემოს, ფერს და დაავადებებისადმი გამძლეობას. მიუხედავად იმისა, რომ ისინი არ მიეკუთვნებიან აუცილებელ საკვებ ნივთიერებებს დადებით გავლენას ახდენენ ადამიანის ჯანმრთელობაზე [147; 90; 82].

ფიტოქიმიურ ნაერთებს ახასიათებთ ანტიოქსიდანტური, ანთებისა და სიმსივნის საწინააღმდეგო თვისებები, რაც ხელს უწყობს ქრონიკული დაავადებების რისკის შემცირებას, აუმჯობესებს იმუნური სისტემის ფუნქციონირებასა და უჯრედების აღდგენის პროცესებს [55; 85; 80].

ბუნებრივი სამკურნალო საშუალებების კვლევამ ხელი შეუწყო მცენარეულ ნედლეულზე დაფუძნებული მედიკამენტების ფართო წარმოებას, რომელთა წლიური საბაზრო ღირებულება 100 მილიარდ დოლარს აჭარბებს [84; 18; 64].

სინთეზური პრეპარატების მზარდი პოპულარობის მიუხედავად, მცენარეული პრეპარატები კვლავ ინარჩუნებენ აქტუალობას მინიმალური გვერდითი ეფექტებისა და ხელმისაწვდომობის გამო[20;107]. მცენარეები წარმოადგენენ ახალი მედიკამენტების 44%-ის ძირითად წყაროს. ფიტოქიმიკატები გამოიყენება ფარმაცევტულ, ნუტრიცევტიკულ, კოსმეტიკურ, კვების და სოფლის მეურნეობის ინდუსტრიებში, როგორც ღირებული ინგრედიენტები. ისინი გამოიყენება ფარმაცევტული პროდუქტების, საკვები დანამატების, ფუნქციური საკვების, მცენარეული მედიკამენტებისა და კოსმეტიკური ფორმულირებების შესაქმნელად, მომხმარებელთა მრავალფეროვანი მოთხოვნების დასაკმაყოფილებლად[130; 31, 50].

ფიტოქიმიური ნაერთები ასევე ფართოდ გამოიყენება ფარმაცევტული პროდუქტების, საკვები დანამატების, ფუნქციური საკვებისა და კოსმეტიკური საშუალებების წარმოებაში[12].

ფიტოქიმიური ნაერთებისათვის ექსტრაქციისათვის ეფექტური მეთოდების გამოყენება უზრუნველყოფს რესურსების ოპტიმიზაციას, ნაერთების მაქსიმალურ გამოწვლილვასა და ამცირებს ნარჩენების წარმოქმნას. ზრდის მიღებული ექსტრაქტის ხარისხსა და სისუფთავეს [12]. ასევე, ხელს უწყობს ინდუსტრიების ეკონომიკურ მდგრადობასა და კონკურენტუნარიანობას წარმოების ხარჯების შემცირებითა და პროდუქციის ხარისხის გაუმჯობესებით [50].

ფიტოქიმიური ნაერთები უნიკალური სტრუქტურული და ფუნქციური მახასიათებლებით გამოირჩევიან. მცენარეები ასინთეზირებენ ფიტოქიმიური ნაერთების ორ ძირითად კატეგორიას: პირველად და მეორად მეტაბოლიტებს. პირველადი მეტაბოლიტები, როგორიცაა ნუკლეინის მჟავები, ნახშირწყლები, ცხიმოვანი მჟავები, ცილები და ზრდის რეგულატორები, გადამწყვეტ როლს ასრულებენ მცენარის ზრდისა და განვითარების პროცესებში [103]. მეორადი მეტაბოლიტები უზრუნველყოფენ მცენარეთა გადარჩენასა და ადაპტაციას, ასევე მონაწილეობენ მცენარეული ფიზიოლოგიისა და ბიოქიმიის მრავალფეროვან პროცესებში [127].

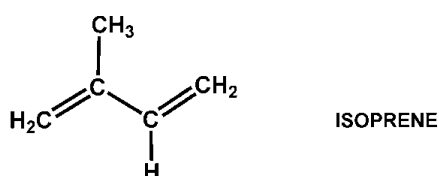
ქიმიური სტრუქტურისა და ბიოლოგიური ფუნქციების გათვალისწინებით, ფიტოქიმიური კლასი მოიცავს ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ფართო სპექტრს: ტერპენოიდებს (ფუნქცია - ანტიოქსიდანტური აქტივობა, ანტიმიკრობული თვისებები, ანთების საწინააღმდეგო ეფექტები, პოტენციური კიბოს საწინააღმდეგო აგენტები), ალკალოიდებს (ფუნქცია - ანთების საწინააღმდეგო თვისებები, ტკივილგამაყუჩებელი ეფექტები, ანტიმიკრობული აქტივობა, პოტენციური კიბოს საწინააღმდეგო აგენტები), ტანინებს (ფუნქცია - ანტიოქსიდანტური აქტივობა, ანტიმიკრობული თვისებები, ანთების საწინააღმდეგო ეფექტები, შემკვრელი თვისებები), საპონინებს (ფუნქცია - იმუნიტეტის გამამდიერებელი ეფექტები, ქოლესტერინის დამწვევი თვისებები, კიბოს საწინააღმდეგო აქტივობა, ანტიმიკრობული ეფექტები), ლექტინებს (ფუნქცია - იმუნური სისტემის მოდულაცია,

კიბოს საწინააღმდეგო თვისებები, ანტიმიკრობული აქტივობა, როლი უჯრედების ამოცნობასა და სიგნალიზაციაში), გლიკოზიდებს (ფუნქცია - კარდიო-პროტექტორული ეფექტები, ანთების საწინააღმდეგო თვისებები, ანტიოქსიდანტური აქტივობა, პოტენციური კიბოს საწინააღმდეგო აგენტები), პოლისაქარიდებსა (იმუნომოდულაციური ეფექტები, პრებიოტიკური თვისებები, ანტიოქსიდანტური აქტივობა) და ფლავონოიდებს (ფუნქცია - ანტიოქსიდანტური აქტივობა, ანთების საწინააღმდეგო თვისებები, კარდიო-პროტექტორული ეფექტები, პოტენციური კიბოს საწინააღმდეგო აგენტები) [87; 34; 9; 41; 135; 51; 125; 133].

ტერპენები და ტერპენოიდები ბუნებაში ფართოდ გავრცელებული ორგანული ნაერთების დიდი და მრავალფეროვანი კლასია. ისინი წარმოადგენენ მცენარეების, ზოგიერთი მწერისა და ზღვის ორგანიზმების მეორად მეტაბოლიტებს და მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ბიოლოგიურ პროცესებში. [92; 35] ტერპენოიდები წარმოიქმნება იზოპრენის (C_5H_8) ერთეულებისგან, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულია სხვადასხვა გზით. მათი სტრუქტურა შეიძლება იყოს წრფივი, ციკლური ან პოლიციკლური. ტერპენოიდები შეიძლება შეიცავდეს სხვადასხვა ფუნქციურ ჯგუფებს, რაც მათ მრავალფეროვან ფიზიკურ და ქიმიურ თვისებებს ანიჭებს.

ტერპენოიდების ბიოსინთეზური გზა წარმოადგენს კომპლექსურ და მრავალსაფეხურიან პროცესს, რომელიც მოიცავს წინამორბედების სინთეზს, ნახშირბადოვანი ჩონჩხის ფორმირებას და შემდგომ მოდიფიკაციებს [2] (სურათი). ბუნებაში იზოპრენოიდული წინამორბედების ორი ძირითადი ბიოსინთეზური გზა არსებობს: მევალონატის გზა (MVA გზა), რომელიც იყენებს აცეტილ-კოენზიმ A-ს (აცეტილ-CoA) ციტოზოლში, როგორც საწყის სუბსტრატს, და მეთილერიტრიტოლ 4-ფოსფატის გზა (MEP გზა), რომელიც იყენებს 3-ფოსფოგლიცერატს და პიროვანმჟავას პლასტიდებში, როგორც საწყის სუბსტრატებს (სურათი) [5]. ამ ორი გზის მეშვეობით ხორციელდება იზოპენტენილ პიროფოსფატის (IPP) და მისი იზომერის დიმეთილალბილ პიროფოსფატის (DMAPP) სინთეზი, რომლებიც ტერპენოიდების ფუნდამენტური სამშენებლო ბლოკებია. იზოპრენის ერთეულები კონდენსირდება "თავი-კუდის" კონფიგურაციით, რაც იწვევს მონოტერპენების (C_{10}),

(geranyl diphosphate - GPP), რომელიც წარმოიქმნება დიმეთილალაილ დიფოსფატის (dimethylallyl diphosphate - DMAPP) და იზოპენტენილ დიფოსფატის (isopentenyl diphosphate - IPP) კომბინაციით. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება ლიმონენი, პინენი, მენტოლი. **სესქვიტერპენოიდები** C15 ნაერთებია, რომლებიც წარმოიქმნება სამი იზოპრენის ერთეულის კომბინაციით. სესქვიტერპენოიდები წარმოიქმნება ფარნესილის დიფოსფატისგან (farnesyl diphosphate - FPP), (isopentenyl diphosphate - IPP) IPP ერთეულის (geranyl diphosphate - GPP) GPP-ს შეერთებით. ისინი გვხვდება უმაღლეს მცენარეებში, ზღვის ორგანიზმებსა და სოკოებში, ნახშირწყალბადების ან ჟანგბადშემცველი ფორმების სახით, როგორიცაა ლაქტონები, სპირტები, მჟავები, ალდეჰიდები და კეტონები. სესქვიტერპენები ასევე მოიცავს ეთერზეთებსა და არომატულ ნაერთებს, რომლებსაც გააჩნიათ მნიშვნელოვანი ფარმაკოლოგიური აქტივობა [82]. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება ფარნეზოლი, ბისაბოლოლი.



CLASSIFICATION	CARBON ATOMS (Isoprene Units)	CHEMICAL STRUCTURE
Hemiterpenes	5 (1)	
Monoterpenes	10 (2)	
Sesquiterpenes	15 (3)	
Diterpenes	20 (4)	
Sesterterpenes	25 (5)	
Triterpenes	30 (6)	
Sesquaterpenes	35 (7)	
Tetraterpenes	40 (8)	

სურათი 5. ტერპენოიდების კლასიფიკაცია

დიტერპენოიდები არის C20 ნაერთები, რომლებიც წარმოიქმნება იზოპრენის წინამორბედისგან, გერანილგერანილის დიფოსფატისგან (GGPP), IPP მოლეკულისა და FPP-ის შეერთებით (Dewick, 2002). დიტერპენოიდების კონცენტრაცია მცენარის ნაწილების მიხედვით განსხვავდება და ყველაზე მაღალია ფესვებშია. მათ ახასიათებთ

ბიოლოგიური მოქმედების ფართო სპექტრი, მათ შორის სოკოს საწინააღმდეგო, ციტოტოქსიკური, ანტიოქსიდანტური და სხვა [51]. მაგალითები: ფიტოლი, გიბერელინები.

სესტერტერპენოიდები 25-ნახშირბადიანი ტერპენოიდია, რომლიც წარმოიქმნება დიმეთილალილ დიფოსფატის (DMAPP) და იზოპენტენილ დიფოსფატის (IPP) ციკლიზაციით, ამ ნაერთებს გააჩნიათ მნიშვნელოვანი ფიზიოლოგიური აქტივობა და ფარმაცოლოგიური ეფექტი. მიუხედავად იმისა, რომ სესტერტერპენოიდები ტერპენოიდების იშვიათ კლასს წარმოადგენენ, სოკოებიდან გამოყოფილი სესტერტერპენოიდები გამოირჩევიან სტრუქტურული მრავალფეროვნებით [138].

ტრიტერპენოიდები არის C30 ნაერთები, რომლებიც შედგება ექვსი იზოპრენის ერთეულისგან. ტრიტერპენოიდები წარმოიქმნება ტრიტერპენ სკვალენის (Squalene $C_{30}H_{50}$) ციკლიზაციით, რომელიც შედგება FPP-ის (farnesyl diphosphate - FPP) ორი მოლეკულისგან, რომლებიც დაკავშირებულია კუდი-კუდთან [12]. მაგალითები: სკვალენი, ქოლესტერინი.

სესქვიტერპენოიდები წარმოიქმნება სამი იზოპრენის ერთეულისგან და გვხვდება მრავალფეროვანი ფორმით, მათ შორის წრფივი, მონოციკლური, ბიციკლური და ტრიციკლური სტრუქტურებით. ისინი ტერპენოიდების ყველაზე მრავალფეროვანი ჯგუფია [72, 21].

ტეტრატერპენები (40 ნახშირბადის ატომი): შედგება ოთხ იზოპრენის ერთეულისგან (40 ნახშირბადის ატომი). ისინი ფართოდ გავრცელებული ბუნებრივი პიგმენტებია, რომლებიც ძირითადად გვხვდება მცენარეებში, წყალმცენარეებსა და ბაქტერიებში. მათ აქვთ სხვადასხვა სტრუქტურული ფორმები, მათ შორის წრფივი და ციკლური. ტეტრატერპენების ყველაზე გავრცელებული წარმომადგენელია კაროტინოიდები [13]. კაროტინები წარმოადგენენ ორგანულ ნაერთებს, რომლებიც ბუნებრივი პიგმენტების სახით გვხვდება მცენარეებში, სოკოებში, წყალმცენარეებსა და ბაქტერიებში. ცხიმში ხსნადი პიგმენტების ეს კლასი მოიცავს დაახლოებით 700 ქიმიურ ნივთიერებას, რომლებიც სხვადასხვა ორგანიზმში წითელ, ნარინჯისფერ და ყვითელ ფერს წარმოქმნიან [22].

იგი ძირითადად შედგება 40 ტერპენოიდული ნახშირწყალბადისა და 8 იზოპრენული ერთეულისაგან. ბუნებაში გავრცელებული 650 -ზე მეტი კაროტინი იყოფა 2 ჯგუფად [31]. პირველ ჯგუფს მიეკუთვნება კაროტინები, რომლებიც შედგებიან მხოლოდ ნახშირწყალბადოვანი ჯაჭვისაგან (ფუნქციონალური ჯგუფების გარეშე), მათ მიეკუთვნება ლიკოპენი და ბეტა კაროტინი. მეორე ჯგუფში გვხვდება ქსანთოფილები, ჟანგბადშემცველი ფუნქციონალური. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება ლუტეინი და ლუტეინზეაქსანტინი. კაროტინებს ასევე ყოფენ ჰიდროფილურ და ჰიდროფობულ ნაერთებად. ამ ნაერთების ექსტრაქციისას მათი პოლარობის გათვალისწინებით სხვადასხვა სახის გამხსნელი გამოიყენება. არაპოლარული კაროტინების ექსტრაქციისას ძირითადად გამოიყენება ჰექსანი, პეტროლეინის ეთერი და ტეტრაჰიდროფურანი. პოლარული კაროტინების ექსტრაქციისას კი აცეტონი, ეთანოლი და ეთილაცეტატი. ექსტრაქციის სტანდარტული მეთოდები საფრთხის შემცველია გერამომცველი სამყაროსათვის, რადგანაც ძირითადად, გამოიყენებული გამხსნელები ტოქსიკურია [29; 31].

კაროტინებისადმი ინტერესი მზარდია, მისი დადებითი ზემოქმედებისა და მაღალი სამრეწველო პოტენციალის გამო მეტად მნიშვნელოვანია მწვანე ექსტრაქციის მეთოდების გამოყენება.

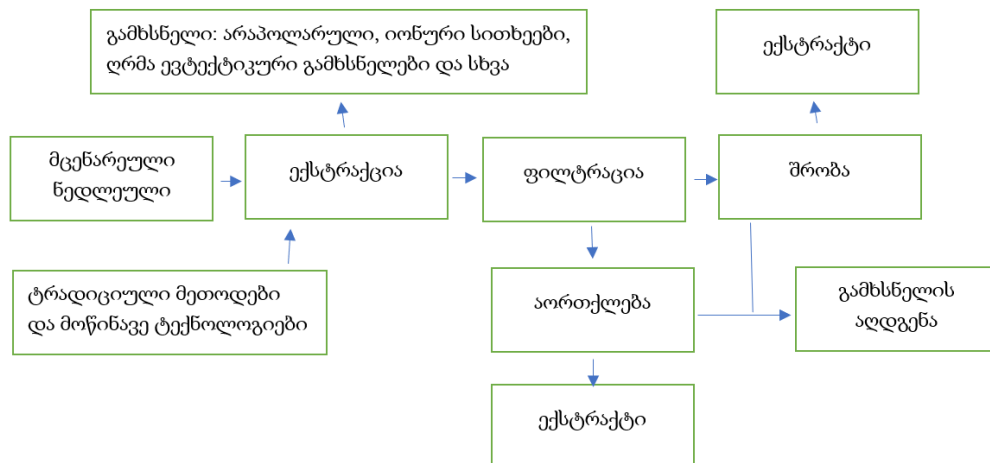
ბოლო ათწლეულებში, ნატურალური პროდუქტებისადმი მზარდი ინტერესი, განსაკუთრებით ფარმაციის, კოსმეტიკისა და სასურსათო მრეწველობაში, განაპირობებს ექსტრაქციის ახალი, ეკოლოგიურად სუფთა მეთოდების ძიებას. ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდები, რომლებიც ხშირად მოიცავს ტოქსიკური ორგანული გამხსნელების გამოყენებას, გარემოსთვის საზიანოა და არ შეესაბამება მდგრადი განვითარების პრინციპებს. ამიტომ, "მწვანე ექსტრაქციის" კონცეფცია, რომელიც ხაზს უსვამს ეკოლოგიურად სუფთა და უსაფრთხო მეთოდების გამოყენებას, სულ უფრო აქტუალური ხდება.

მწვანე ექსტრაქცია წარმოადგენს პერსპექტიულ მიდგომას ნატურალური პროდუქტების წარმოებისთვის, რაც ხელს უწყობს მდგრადი განვითარების პრინციპების დანერგვას და უზრუნველყოფს ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქტების

წარმოებას. საჭიროა შემდგომი კვლევები და ინოვაციები, რათა გაუმჯობესდეს მწვანე ექსტრაქციის მეთოდები და გაფართოვდეს მათი გამოყენების სფეროები.

ბიოაქტიური ნაერთების ფართო მრავალფეროვნებისა და მცენარეთა სახეობების სიმრავლის გათვალისწინებით, განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია სტანდარტიზებული და ერთიანი მეთოდოლოგიის შემუშავება იმ ნაერთების ეფექტური იდენტიფიკაციისა და გამოყოფისთვის, რომლებიც ხელს უწყობენ ადამიანის ჯანმრთელობას.

მცენარეული ნედლეულიდან ბიოაქტიური ნაერთების ექსტრაქცია მრავალსაფეხურიანი პროცესით ხორციელდება, რომელიც მოიცავს ექსტრაქციას, ფილტრაციას, აორთქლებას, გამხსნელის რეგენერაციასა და შრობას (სურათი 6).



სურათი 6. მცენარეული ნედლეულიდან ბიოაქტიური ნაერთების ექსტრაქციის სქემა

ექსტრაქციის პროცესი შესაძლებელია განხორციელდეს როგორც ტრადიციული (მაცერაცია, პერკოლაცია, ხარშვა, დეფლეგმაცია, სოქსლეტის ექსტრაქცია და სხვა), ასევე ექსტრაქციის თანამედროვე მეთოდებად (ულტრაბგერითი, მიკროტალღური ექსტრაქცია), ასევე უფრო ეკოლოგიურად სუფთა და ეფექტურ მეთოდებად, როგორიცაა ზეკრიტიკული სითხური ექსტრაქცია და წნევით თხევადი ექსტრაქცია, ყველა ამ მეთოდის ფუნდამენტური მიზნებია: (ა) რთული მცენარეული მატრიცებიდან კონკრეტული ბიოაქტიური ნაერთების გამოყოფა, (ბ) ანალიტიკური მეთოდების სელექტიურობის გაზრდა, (გ) ბიოანალიზის მგრძნობელობის გაუმჯობესება სამიზნე ნაერთების კონცენტრაციის გაზრდით, (დ) ბიოაქტიური

ნაერთების ფორმირება, რომელიც ოპტიმალურია იდენტიფიკაციისა და გამოყოფისთვის, და (ე) განახლებადი და მუდმივი მეთოდოლოგიის შემუშავება, მიუხედავად ნიმუშის მატრიცის ცვალებადობისა.

კვლევის პირველი ეტაპი მოიცავს შესაბამისი მცენარის სახეობის შერჩევას. შემთხვევით შეგროვებული მცენარეული მასალა და მცენარის კონკრეტული ნაწილები ექვემდებარება სკრინინგს (წინასწარ ანალიზს ან შეფასებას) ხელმისაწვდომი ფიტოქიმიური მეთოდების გამოყენებით [142]. ექსტრაქციისთვის მცენარეული ნედლეული გამოიყენება ნედლი სახით ან წინასწარ ხდება მისი გაშრობა და დაფქვა, რათა მიღებულ იქნას ფხვნილი, რომელიც ოპტიმალურია შემდგომი ანალიტიკური დამუშავებისთვის. შემდეგ ეტაპზე ხორციელდება ექსტრაქცია, ექსტრაქტის კონცენტრირება გამხსნელის მოცილებით, რის შედეგადაც მიიღება კონცენტრატი, რომელიც გამოიყენება თვისებრივი და რაოდენობრივი ანალიზისთვის. ექსტრაქციის შემდგომი ეტაპი არის აქტიური ნაერთების იდენტიფიკაცია და დახასიათება. ეს, როგორც წესი, მოიცავს ქრომატოგრაფიული მეთოდების ფართო სპექტრს, როგორიცაა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია, სვეტოვანი ქრომატოგრაფია, ფლემ-ქრომატოგრაფია, მაღალეფექტური თხევადი ქრომატოგრაფია, ინფრაწითელი სპექტროსკოპია, აირის ქრომატოგრაფია-მასსპექტრომეტრია, თხევადი ქრომატოგრაფია-მასსპექტრომეტრია, ბირთვული მაგნიტური რეზონანსული სპექტროსკოპია, კაპილარული ელექტროფორეზი-დიოდური მატრიცა, ელექტროსპრეი და ა.შ. ყველა ეს მეთოდი გამოიყენება კომბინირებულად ან ინდივიდუალურად მცენარეებიდან კონკრეტული ნაერთებისა და აქტიური ნივთიერებების იდენტიფიცირებისთვის [39; 52; 42].

ექსტრაქციის პროცედურის ეფექტურობა მნიშვნელოვნად განისაზღვრება ისეთი ცვლადებით, როგორიცაა ექსტრაქციის ხანგრძლივობა, მყარი ნივთიერებისა და გამხსნელის თანაფარდობა, ტემპერატურული რეჟიმი, გარემოს მჟავიანობა (pH) და ნიმუშის ნაწილაკების ზომა. შედეგად, ეს პარამეტრები გადამწყვეტ როლს ასრულებენ ექსტრაქციის გამოსავლიანობაზე, ექსტრაგირებული ნაერთების შემადგენლობასა და ექსტრაქტის ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე [122].

ექსტრაქციის დრო, ტემპერატურა, მყარი მასისა და გამხსნელის თანაფარდობა წარმოადგენს კრიტიკულ ფაქტორებს, რომელთა ოპტიმიზაცია აუცილებელია ექსტრაქციის პროცესში ენერგიის მოხმარების შემცირებისთვის. ექსპერიმენტული მონაცემები აჩვენებს, რომ ექსტრაქციის დროისა და ტემპერატურის ზრდამ შესაძლოა ხელი შეუწყოს ნივთიერების ხსნადობის გაუმჯობესებას და დიფუზიის სიჩქარის გაზრდას, რაც, თავის მხრივ, ზრდის ექსტრაქციის ეფექტურობას [122, 59].

თუმცა, ამ პარამეტრების გარკვეულ დონეზე მომატებამ შეიძლება გამოიწვიოს მგრძნობიარე ნაერთების დეგრადაცია, როგორიცაა ფენოლები [149]. მაგალითად, ტანინებს აქვთ შეზღუდული თერმული სტაბილურობა, ისინი შედეგები არიან მაღალ ტემპერატურაზე ($80-120^{\circ}\text{C}$) მხოლოდ 2-დან 6 საათამდე, მაგრამ 24 საათამდე დაბალ ტემპერატურაზე (დაახლოებით 25°C) [143].

კვლევებმა აჩვენა Research by Rostagno et al., [138], რომ ბროწეულის კანიდან ფენოლების ექსტრაქციისას ტემპერატურისა და დროის გადაჭარბებული ზრდა იწვევს ამ ნაერთების გამოსავლიანობის შემცირებას [4].

მსგავსი შედეგები მიიღეს სილვამ და სხვებმა [115] რომლებმაც დაადგინეს, რომ *Inga edulis*-ის ფოთლებიდან ფენოლების ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობა იყო $46,8^{\circ}\text{C}$ -ზე, რომლის მიღმაც შემდგომი ექსტრაქცია არ იძლეოდა ფენოლის მეტ შემცველობას.

მაშინ როდესაც მაღალ ტემპერატურას შეუძლია შეამციროს ფენოლების ექსტრაქციისთვის საჭირო დრო წონასწორობის მიღწევამდე, ექსტრაქციის გახანგრძლივებულმა დრომ შესაძლოა გამოიწვიოს პოლიფენოლებზე ჟანგბადისა და სინათლის უარყოფითი ზემოქმედება, რაც მათ დეგრადაციას განაპირობებს [104].

მყარი ნივთიერებისა და გამხსნელის დაბალი თანაფარდობა, როგორც წესი, ექსტრაქციის მაღალ გამოსავლიანობასთან ასოცირდება, თუმცა ზედმეტად დაბალი თანაფარდობის გამოყენებამ შესაძლოა გამოიწვიოს გამხსნელის გადაჭარბებული მოხმარება და კონცენტრირების გახანგრძლივებული დრო.

მყარი ნივთიერებისა და გამხსნელის დაბალი თანაფარდობის შემთხვევაში ექსტრაქციის ეფექტურობის ცვლილებები, როგორც წესი, მინიმალურია, ამიტომ ეს პარამეტრი, როგორც წესი, ოპტიმიზებულია კონკრეტულ მნიშვნელობაზე.

მაგალითად, პენის და სხვების [34] კვლევაში, გამხსნელის მოცულობის გაზრდამ გააუმჯობესა ფლავონოიდების ექსტრაქცია 1:30 თანაფარდობისას (მასა/მოც.), რის შემდეგაც გამოსავლიანობამ კლება დაიწყო.

ანალოგიურად, სხვა კვლევებმა აჩვენა, რომ მყარი ნივთიერებისა და გამხსნელის ოპტიმალური თანაფარდობები განსხვავდება და მერყეობს კონკრეტულ მნიშვნელობებს შორის, როგორიცაა ოპტიმალური ვარიანტი 1:4 (მასა/მოც.), შერცეულ იქნა 1:1-დან 1:7-მდე (მასა/მოც.) დიაპაზონში [7], ან 1:8 (მასა/მოც.) 1:2-დან 1:10-მდე (მასა/მოც.) დიაპაზონში [46].

ტემპერატურის დიაპაზონი 20-დან 80°C-მდე ზრდის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ხსნადობას მასის გადაცემის დაჩქარებითა და გახსნილი ნივთიერების ხსნადობის გაზრდით [59]. ტემპერატურის შემდგომი ზრდა ამცირებს გამხსნელის სიბლანტესა და ზედაპირულ დაძაბულობას, რაც უზრუნველყოფს ფენოლური ნაერთების გაუმჯობესებულ სოლვატაციას და აუმჯობესებს ექსტრაქციის საერთო სიჩქარეს.

ზოგიერთი ფენოლური ნაერთი, განსაკუთრებით ანთოციანები, მგრძნობიარეა დეგრადაციის მიმართ მომატებული ტემპერატურის პირობებში, განსაკუთრებით 70 °C-ზე ზემოთ [85]. შესაბამისად, ამ ნაერთების სტაბილურობის შენარჩუნებისთვის კრიტიკულად მნიშვნელოვანია ოპტიმალური ტემპერატურული რეჟიმის შერჩევა. მაგალითად, ანთოციანების თერმული სტაბილურობა შეინიშნება 80–120 °C დიაპაზონში, თუმცა 120-დან 180 °C-მდე ტემპერატურაზე დეგრადაციას განიცდიან.

კვლევებმა აჩვენა, რომ ექსტრაქციის პროცესში 150 °C-ზე მაღალი ტემპერატურის გამოყენება იწვევს ანტიოქსიდანტური ნაერთების დეგრადაციას ყურძნის ბიომასაში [90]. ანალოგიურად, სხვადასხვა ტემპერატურაზე (50, 75 და 100 °C) ექსტრაგირებულმა ტანინებმა აჩვენა, რომ ტემპერატურა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს როგორც ტანინების შემცველობაზე, ასევე მათ ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე [65]. კერძოდ, ტანინების მაქსიმალური კონცენტრაცია და ანტიოქსიდანტური აქტივობა 75 °C-ზე დაფიქსირდა, რაც ხაზს უსვამს ტემპერატურის ოპტიმიზაციის აუცილებლობას ექსტრაქციის პროცესში ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების შენარჩუნებისთვის.

გარემოს pH - ექსტრაქციის გამოსავლიანობაზე გავლენას ახდენს გამხსნელის ტიპი, მისი პოლარობა და გარემოს pH, იგივე დროისა და ტემპერატურის პირობებში. ფენოლური ნაერთები, როგორცაა ჰიდროქსიდარიჩინისა და ჰიდროქსიბენზოის მჟავები, დაკავშირებულია უჯრედის კედლის პოლისაქარიდებთან და ლიგნინთან მარტივი და რთული ეთერული ბმების საშუალებით [26].

აქედან გამომდინარე, ფენოლკარბონმჟავების ექსტრაქციისათვის მრავალი მეთოდი იყენებს სუსტ ტუტე ან მჟავურ პირობებს. მაგალითად, კაკლის ნარჩენებიდან პოლიფენოლების ექსტრაქციისას წყლის ტუტე გარემოს შესაქმნელად NaOH-ის გამოყენებამ უფრო მაღალი გამოსავლიანობა აჩვენა, ვიდრე ეთანოლმა (EtOH), რაც ფენოლური ნაერთების ხსნადობის სხვაობით აიხსნება წყალსა და EtOH-ში [38]

ფლავონოიდების ოპტიმალური ექსტრაქციისთვის რეკომენდებულია ორგანული მჟავების, როგორცაა ჭიანჭველა, ძმარმჟავა და ლიმონმჟავა, გამოყენება, ან ძლიერი მჟავების დაბალი კონცენტრაციები, როგორცაა ტრიფტორმმარმჟავა (TFA) და მარილმჟავა (HCl) (HCl-ის გამოყენებისას, საჭიროა სიფრთხილე, რადგან მას შეუძლია აცილის ჯგუფების დაშლა) [71, 37, 105].

ანთოციანური ნაერთები, როგორც წესი, სტაბილურია მჟავე გარემოში, თუმცა იშლება pH-ის მაღალი მნიშვნელობებისას. ამავდროულად, ზოგიერთი ნაერთი, როგორცაა ტანინები, მდგრადია დაშლის მიმართ ტუტე გარემოში (pH 8). [151].

საექტრაქციო ნიმუშის ნაწილაკების ზომა - ნიმუშების ნაწილაკების ზომა (დაქუცმაცების ხარისხი) ექსტრაქციის შედეგზე მოქმედი გადამწყვეტი ფაქტორებია. ნაწილაკების მცირე ზომა ხელს უწყობს მასის გადაცემის გაუმჯობესებას, რადგან მცირდება მანძილი, რომელიც გამხსნელმა უნდა გაიაროს მყარ მატრიცაში შეღწევისთვის. ნაწილაკების დიამეტრის შემცირება ზრდის ზედაპირის ფართობს, რაც აუმჯობესებს გამხსნელსა და ნიმუშს შორის კონტაქტს [42]. მაგალითად, გალის მჟავის ყველაზე მაღალი გამოსავლიანობა (0,15 მგ/გ მშრალ მასაზე) მიღებული იქნა ნაწილაკების ზომის 125 მკმ-მდე შემცირებისას, თუმცა 125 მკმ-ზე მცირე ზომის ნაწილაკები არ იყო ოპტიმალური, რადგან ისინი ტივტივებდნენ ექსტრაგენტის ზედაპირზე. ასევე დადგენილ იქნა, რომ [47] მცირე ზომის ნაწილაკები ზრდის ყურძნის თესლიდან პოლიფენოლების ექსტრაქციის სიჩქარეს. კერძოდ, მცირე ზომის

ნაწილაკები (160–125 მკმ) უფრო მგრძნობიარე იყო ტემპერატურული ეფექტების მიმართ, ვიდრე დიდი ზომის ნაწილაკები (630 მკმ).

ლაბორატორიულ პირობებში, როგორც წესი, ძირითადად გამოიყენება ნედლეული, რომელთა ნაწილაკების ზომა დაახლოებით 100 მკმ-ია. თუმცა, ინდუსტრიულ მასშტაბზე ამ ზომის ნაწილაკები კმნიან მნიშვნელოვან გამოწვევებს, მათ შორის ჯანმრთელობის რისკებსა და აფეთქების საფრთხეს [79]. აღნიშნული საკითხები კრიტიკულად მნიშვნელოვანია პროცესის დიზაინისა და მასშტაბირების ეტაპებზე, რაც გავლენას ახდენს ტექნოლოგიური გადაწყვეტილებების მიღებაზე და უსაფრთხოების პროცედურებისა და რისკების მართვის სისტემების დანერგვაზე.

ექსტრაქციის ტრადიციული მეთოდები - ათწლეულების მანძილზე ექსტრაქციის ტრადიციული მეთოდები გამოიყენებოდა მრავალფეროვანი მცენარეული მასალებიდან ბიოაქტიური ნაერთების გამოყოფისთვის. ეს მეთოდები ხასიათდება სიმარტივით და საჭიროებს მინიმალურ ინსტრუმენტულ აღჭურვილობას. ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდები კვლავ გამოიყენება მცირე და რესურსზე ღუდულ საწარმოებში, მიუხედავად იმისა, რომ თანამედროვე მეთოდებმა მნიშვნელოვნად ჩაანაცვლა ისინი სხვადასხვა მიმართულებით.

ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდების უპირატესობა მათ სიმარტივეში, ხელმისაწვდომობასა და აღჭურვილობის მინიმალურ საჭიროებაში მდგომარეობს [136]. თუმცა, ისინი ვერ უზრუნველყოფენ სასურველი ნაერთების მაღალ გამოსავლიანობას და, როგორც წესი, ნაკლებად ეფექტურია თანამედროვე ტექნიკებთან შედარებით [24, 36]. ექსტრაქციის ტრადიციული ტექნიკები მიზანშეწონილია იმ გარემოებებში, სადაც სიმარტივე და ხელმისაწვდომობა გადამწყვეტ როლს თამაშობს.

პოპულარული ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდებს მიეკუთვნება: 1. მაცერაცია (Maceration) - ეს ტექნიკა მოიცავს მცენარეული მასალის დაქუცმაცებას, გამხსნელში დაყოვნებას და ნარევის ოთახის ტემპერატურაზე ხანგრძლივი (მეთოდის გამოყენება - არომატიზებული ზეთებისა და ნაყენების დამზადება, პარფიუმერია და მცენარეული მედიცინა), 2. პერკოლაცია (Percolation) - იყენებს გამხსნელის უწყვეტ ნაკადს მცენარეულ მასალაში და ნაერთების ექსტრაქციას მათი გადაადგილებისას, რაც მას

იდეალურს ხდის მცენარეული ექსტრაქტის ფართომასშტაბიანი წარმოებისთვის (მეთოდის გამოყენება - მცენარეული მედიცინა და ექსტრაქტის მომზადება სასმელებისა და კოსმეტიკისთვის). 3. ინფუზია (Infusion) - ნაერთების ექსტრაქცია გამშრალი მცენარეული ნედლეულიდან, ცხელ წყალში ან სხვა გამხსნელში მათი დაყოვნებით (მეთოდის გამოყენება - მცენარეული ჩაისა და კულინარიული ინფუზიების მომზადება), 4. დეკოქცია (Decoction) - მყარი მცენარეული მასალებიდან, როგორიცაა ფესვები, ქერქი და თესლი, ნაერთების ექსტრაქცია ხორციელდება ხანგრძლივი დუღილის პროცესით წყალში (მეთოდის გამოყენება - ტრადიციული მედიცინა), 5. ორთქლით დისტილაცია (Steam distillation) - ორთქლი წარმოიქმნება წყლის გაცხელებით, რომელიც გადის მცენარეულ მასალაში ცალკე კამერაში, რაც აორთქლებს არასტაბილურ ნაერთებს, კონდენსირებს მათ სითხეში ეთერზეთის ან არომატული ნაერთების შესაგროვებლად (ძირითადი ტექნიკა, რომელიც გამოიყენება კოსმეტიკურ ინდუსტრიებში არომატული მცენარეებიდან ეთერზეთების მისაღებად), 6. ექსპრესია ან ცივი დაწურვა (Expression or Cold Pressing) - ტექნიკა, რომელიც გამოყოფს ეთერზეთებს მცენარეული მასალებისგან მათი ხელით დაწურვისას, სითბოს ან გამხსნელების გამოყენების გარეშე (მეთოდის გამოყენება - პარფიუმერიაში, საკვების არომატიზაციასა და კოსმეტიკაში გამოყენებული ეთერზეთების ექსტრაქცია), 7. სოქსლეტით ექსტრაქცია (Soxhlet Extraction) - უწყვეტი ექსტრაქციის მეთოდი, სადაც გამხსნელი განმეორებით გადის ნიმუშში. გამხსნელი თბება, ორთქლდება და კონდენსირდება, რაც მას საშუალებას აძლევს გახსნას სასურველი ნაერთები მყარი ნიმუშიდან. ციკლი მეორდება ექსტრაქციის დასრულებამდე (მეთოდის გამოყენება - ლიპიდების, ეთერზეთების და ბიოაქტიური ნაერთების ექსტრაქცია მცენარეული მასალებისგან), 8. დამუშავება (Digestion) - მარტივი მეთოდი, სადაც ნიმუში ჩაშვებულია გამხსნელში და თბება გარკვეული დროის განმავლობაში, ჩვეულებრივ კონტროლირებად ტემპერატურაზე. ეს საშუალებას აძლევს ნაერთებს გაიხსნას გამხსნელში (ხსნადი ნაერთების ექსტრაქცია მყარი მატრიცებიდან და გამოიყენება საკვების გადამამუშავებაში), 9. რეფლუქს ექსტრაქცია (Reflux Extraction) - მოიცავს გამხსნელის გაცხელებას ნიმუშთან ერთად რეფლუქსის პირობებში, სადაც გამხსნელი ორთქლდება, კონდენსირდება და უკან ბრუნდება საექსტრაქციო

ჭურჭელში. ამ დროს უზრუნველყოფილია მუდმივი კონტაქტი გამხსნელსა და ნიმუშს შორის (მცენარეული მასალებიდან თერმულად სტაბილური ნაერთების ექსტრაქციისთვის).

ტრადიციულ მეთოდებს ხშირად ახასიათებთ ექსტრაქციის დაბალი ეფექტურობა, მაგალითად, კვლევებმა აჩვენა, რომ ყურძნის თესლიდან პოლიფენოლების სოქსლეთის მეთოდით ექსტრაქცია საერთო ფენოლების მხოლოდ 10% -ის გამოწვლილვას ახდენს. გამოსავლიანობის გასაზრდელად კი საჭიროა დამატებითი ექსტრაქცია. ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდების დაბალი ეფექტურობა იწვევს ექსტრაქციის დროის ზრდას, ენერგიის უფრო მაღალ მოხმარებას და გამხსნელის უფრო მეტ გამოყენებას, რამაც შეიძლება პროცესი ნაკლებად მდგრადი გახადოს. ორგანული გამხსნელების გამოყენება ტრადიციულ ექსტრაქციაში წარმოადგენს გარემოსდაცვით და ჯანმრთელობის პრობლემებს, რადგან ბევრი გამხსნელი ტოქსიკურია. სხვადასხვა მცენარეული ნედლეულიდან ეთერზეთების ექსტრაქციის კვლევამ აჩვენა, რომ ორგანული გამხსნელების (ჰექსანი, მეთანოლი), გამოყენებამ გამოიწვია ნარჩენი გამხსნელები საბოლოო პროდუქტში და წარმოქმნა პოტენციური ჯანმრთელობის საფრთხეები მომხმარებლებისთვის [137, 75]. რაც მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს პროდუქტის უსაფრთხოებასთან დაკავშირებით, განსაკუთრებით კვების და ფარმაცევტულ მრეწველობაში.

თანამედროვე ექსტრაქციის მეთოდები შემუშავდა სხვადასხვა ინდუსტრიის მზარდი მოთხოვნის საპასუხოდ. [15, 10]. ექსტრაქციის ახალი მეთოდების განვითარება შესაძლებელი გახდა ექსტრაქციისათვის საჭირო ხელსაწყოების ტექნოლოგიური სრულყოფით. თანამედროვე მეთოდები აუმჯობესებს ექსტრაქციის პროცესების სიჩქარეს, სიზუსტეს და გარემოზე ზემოქმედებას [53].

მიკროტალღური ექსტრაქცია - მიკროტალღური ექსტრაქცია არის ინოვაციური მეთოდი სხვადასხვა ბიოაქტიური ნაერთების ექსტრაქციისათვის მიკროტალღური ენერგიის გამოყენებით [98]. მიკროტალღებს აქვთ ელექტრომაგნიტური ველის დიაპაზონი 300 MHz-დან 300 GHz-მდე. [64]. მიკროტალღური გაცხელების პროცესი ეფუძნება მიკროტალღების პირდაპირ ურთიერთქმედებას პოლარულ ნაერთებთან [114]. დიპოლური ბრუნვისა და იონური გამტარობის მექანიზმების წყალობით,

მიკროტალღური ენერგია გარდაიქმნება სითბოდ [114]. მიკროტალღური ექსტრაქცია მოიცავს სამ ძირითად ეტაპს [78]: საწყის ეტაპს, როდესაც გახსნილი მოლეკულები გამოყოფაა ნიმუშის მატრიციდან გაზრდილი წნევისა და ტემპერატურის გამო; რასაც მოჰყვება გამხსნელის დიფუზია ნიმუშის მატრიცის გასწვრივ; და ბოლოს, გახსნილი ნივთიერებების გამოყოფა ნიმუშიდან გამხსნელში.

Camptotheca acuminata-ს ნაყოფიდან მიკროტალღების გამოყენებით მოახდინეს პოლისაქარიდების ექსტრაქცია. ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობები იყო ნიმუში-სითხის თანაფარდობა 1:40, მიკროტალღების სიმძლავრე 600 ვტ, ექსტრაქციის დრო 14 წთ და ექსტრაქციის ტემპერატურა 70 °C. ტრადიციულ ექსტრაქციის მეთოდებთან შედარებით, მიკროტალღურ ექსტრაქციას მაღალი ეფექტურობის უპირატესობა აქვს. დინმა და სხვებმა შეადარეს ულტრაბგერითი, მიკროტალღური და უკუ ექსტრაქცია იონური სითხეების გამოყენებით და აჩვენეს, რომ მიკროტალღურ ექსტრაქციას ექსტრაქციის ყველაზე მაღალი ეფექტურობა ჰქონდა. უმეტეს შემთხვევაში მიკროტალღური ექსტრაქციის გამოსავლიანობა უკეთესია, ვიდრე ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდების.

ზეკრიტიკული სითხის ექსტრაქცია - ზეკრიტიკული სითხის ექსტრაქცია (SFE) იყენებს ზეკრიტიკულ სითხეს, ნივთიერებას, რომელიც ავლენს როგორც აირის, ასევე სითხის თვისებებს, როდესაც ის თავის კრიტიკულ წერტილზე მაღლაა. ნახშირორჟანგი (CO_2), რომლის კრიტიკული წერტილი 31.1 °C-ზე და 7380 კპა-ზე მაღალია, ამ პროცესში ყველაზე ფართოდ გამოყენებული ზეკრიტიკული სითხეა მისი აალებადობის არარსებობის, დაბალი ტოქსიკურობის, ქიმიური სტაბილურობისა და ეკონომიურობის გამო [89]. მისი კრიტიკული ტემპერატურა იდეალურია თერმულად მგრძნობიარე ნაერთების ექსტრაქციისათვის. თუმცა, რადგან CO_2 არაპოლარულია, პოლარული მოდიფიკატორები, როგორიცაა ეთანოლი, მეთანოლი, ეთილაცეტატი ან აცეტონი, ხშირად ემატება პოლარული ფენოლური ნაერთების ეფექტური ექსტრაქციისათვის [81]. CO_2 -ით ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციის ოპტიმალური პარამეტრები, როგორც წესი, მოიცავს 50-600 ბარის წნევას, 20-35 °C ტემპერატურას და 5-დან 180 წუთამდე ექსტრაქციის დროს [54]. მაშინ როცა CO_2 კარგად მუშაობს არაპოლარული ნაერთების ექსტრაქციისათვის, პოლარული მოდიფიკატორის

(როგორცაა ეთანოლი) დამატება აძლიერებს ექსტრაქციის სისტემის პოლარობას. ტრადიციულ ექსტრაქციის მეთოდებთან შედარებით, SFE გვთავაზობს ისეთ უპირატესობებს, როგორცაა ორგანული გამხსნელის დაბალი მოხმარება, ექსტრაქტის მაღალი სელექტიურობა და დამუშავების მოკლე დრო. SFE-ის დახურული სისტემა ასევე ზღუდავს დაბინძურებას და ხელს უშლის ექსტრაგირებული ნაერთების დაჟანგვას და დაშლას, რადგან ის გამორიცხავს ნიმუშის კონტაქტს ჰაერთან და სინათლესთან [79].

ფერმენტული ექსტრაქცია - ფერმენტული ექსტრაქცია (EAE) არის მდგრადი ტექნოლოგია, რომელიც მოიცავს ფერმენტების დამატებას საექსტრაქციო არეში ეფექტურობის გასაზრდელად. EAE-ის პრინციპი არის მცენარეული მასალის ჰიდროლიზი, რომელიც არღვევს უჯრედის კედელს და გამოყოფს ბიოაქტიურ ნაერთებს [17]. ცელულაზა, პროტეაზა და პექტინაზა არის ფერმენტები, რომლებიც შესწავლილია სხვადასხვა გამოყენებისთვის, მაგრამ რამდენიმე მათგანი სპეციალურად იქნა გამოკვლეული საკვებიდან მიღებული პოლიფენოლების იზოლირებისთვის [122, 48, 19]. წყალი არის ძირითადი გამხსნელი გარემო ამ ეკოლოგიურად სუფთა ტექნოლოგიაში. გარდა ამისა, ექსტრაქციის პროცესი მოიხმარს მცირე ენერგიას და დაბალ ტემპერატურას, რაც ხელს უშლის პოლიფენოლების დეგრადაციას [17]. ეს მეთოდი ფართოდ გამოიყენება ღვინისა და ბოსტნეულის, ასევე სასმელების, წარმოებაში [106]. ეს მეთოდი ხასიათდება მაღალი ხარისხის, უსაფრთხო პროდუქტების წარმოების პოტენციალით.

ულტრაბგერითი ექსტრაქცია (UAE) - ულტრაბგერითი ექსტრაქციის პრინციპი ეფუძნება ულტრაბგერის მექანიკურ და კავიტაციურ ეფექტებს, მოლეკულების მოძრაობის სიჩქარისა და შეღწევადობის ძალის გაზრდით ხდება ნაერთების ექსტრაქცია გამხსნელში. მექანიკური ეფექტი ეხება ულტრაბგერის გავრცელებას გარემოში, რაც იწვევს გარემოში ნაწილაკების ვიბრაციას მისი სივრცითი დიაპაზონის ფარგლებში, რითაც აძლიერებს დიფუზიას და მასის გადაცემას გარემოში. ულტრაბგერის წნევა გარკვეულ მნიშვნელობას აღწევს, ბუშტები იზრდება მიმართული დიფუზიის გამო, ქმნის რეზონანსულ ღრუებს, შემდეგ კი იშლება [149, 144, 69]. ტრადიციულ ექსტრაქციის მეთოდებთან შედარებით, ულტრაბგერითი

ექსტრაქცია არის ეკოლოგიურად სუფთა და ეკონომიურად მომგებიანი მიდგომა ბუნებრივი ნაერთების ექსტრაქციისთვის. ის მნიშვნელოვნად ამცირებს ექსტრაქციის დროს, ზრდის ექსტრაქციის ეფექტურობას და ამავედროულად ამცირებს გამხსნელის გამოყენებას [115].

პომელოს კანიდან პოლისაქარიდების სხვადასხვა მეთოდით ექსტრაქციის შედეგებმა აჩვენა, რომ ულტრაბგერით ექსტრაქციას ჰქონდა უფრო მაღალი გამოსავლიანობა და უფრო ძლიერი ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ულტრაბგერითი ექსტრაქციის ეფექტურობაზე მოქმედი ძირითადი ფაქტორებია მყარი მასისა და სითხის თანაფარდობა, ულტრაბგერის სიმძლავრე, ულტრაბგერის დრო და ულტრაბგერის ტემპერატურა. აჩატმა და სხვებმა [26] შეისწავლეს ზეთისხილის ფოთლებიდან ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციის პირობები ულტრაბგერითი მაცერაციის გამოყენებით, რათა გაზარდონ ზეთუნის ზეთის კვებითი ღირებულება და შედეგად განსაზღვრულ იქნა ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობები, როგორცაა ულტრაბგერის სიმძლავრე 60 ვტ, ულტრაბგერის ტემპერატურა 16 °C და ულტრაბგერის დრო 45 წთ. ნურჰასანამ და სხვებმა [34] განახორციელეს ანტოციანების ექსტრაქციის ოპტიმიზაცია სიმინდის მარცვლებიდან და შედეგად დადგინდა, რომ მაღალი გამოსავლიანობა მიიღება 36% მეთანოლით ექსტრაქციისას, ექსტრაქციისთვის ოპტიმალური pH 7, ულტრაბგერის სიმძლავრე 73%, ექსტრაქციის დრო 10 წთ და ექსტრაქციის ტემპერატურა 70°C. მიღებული შედეგები ადასტურებს, რომ ულტრაბგერითი ექსტრაქცია ეფექტური და ენერგოდამზოგავი ექსტრაქციის მეთოდია [124].

წნევით ცხელი წყლის ექსტრაქცია - წნევით ცხელი წყლის ექსტრაქცია (PHWE) იყენებს მაღალ წნევას წყლის თხევად ფორმაში შესანარჩუნებლად, რაც უზრუნველყოფს ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ეფექტურ ექსტრაქციას. ეს ტექნიკა ეკოლოგიურად სუფთაა, ენერგოეფექტური და ტრადიციულ მეთოდებთან შედარებით უფრო სწრაფად იძლევა მაღალი ხარისხის ექსტრაქტებს. წნევის ქვეშ წყალს შეუძლია გახსნას როგორც პოლარული, ასევე არაპოლარული ნაერთები [102]. ტემპერატურის კონტროლი მეტად მნიშვნელოვანია, რადგანაც მაღალმა ტემპერატურამ (160 °C-ზე ზემოთ) შეიძლება დაშალოს მგრძნობიარე ნაერთები, რაც შეამცირებს მათ ანტიოქსიდანტურ ეფექტებს [126]. ბუნებრივი ღრმა ევტექტიკური გამხსნელების,

როგორც თანაგამხსნელების (Co-solvents)) დამატებამ შეიძლება კიდევ უფრო გაზარდოს ექსტრაქციის გამოსავლიანობა, განსაკუთრებით ფენოლებისთვის. PHWE-ის ეფექტურობა უმჯობესდება, როდესაც იგი შერწყმულია ისეთ მეთოდთან, როგორიცაა პულსირებული ელექტრული ველები, რაც გვთავაზობს უფრო სელექტიურ და მდგრად ექსტრაქციის მიდგომას [8].

სუპერკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია - მაღალი წნევის ექსტრაქციის მეთოდები ეფექტურია პოლიფენოლების ექსტრაქციისათვის, რომლებსაც შეუძლიათ მაღალი ტემპერატურის გაძლება. წნევით თხევადი ექსტრაქცია (SWE) მუშაობს პრინციპით, რომ სითხის დუღილის წერტილი წნევასთან ერთად იზრდება. ექსტრაქციის სისტემაში წნევის გაზრდით ტემპერატურის გაზრდამდე, ხსნარი თხევად მდგომარეობაში რჩება. SWE-ს ტემპერატურის დიაპაზონი არის 50–200 °C [12]. თუმცა, ექსტრაქციის მაქსიმალური ტემპერატურა დამოკიდებულია როგორც გამხსნელზე, ასევე საექსტრაქციო ნივთიერების ბუნებაზე. წყალი ჩვეულებრივ გამოიყენება როგორც გამხსნელი, რაც პროცესს ხდის ეკონომიურს, არატოქსიკურს და ეკოლოგიურად სუფთას. ექსტრაქციის აღჭურვილობა, მათ შორის ექსტრაქტორი და მასთან დაკავშირებული დანადგარი, გადამწყვეტია პროცესის წარმატებისთვის.

ტრადიციულ მეთოდებთან შედარებით, ექსტრაქციის თანამედროვე მეთოდები მოიცავს შემდეგ ძირითად პრინციპებს: უსაფრთხო გამხსნელების გამოყენება (ტრადიციული ორგანული გამხსნელების ჩანაცვლება ეკოლოგიურად სუფთა ალტერნატივებით, როგორიცაა წყალი, ზეკრიტიკული ნახშირორჟანგი, იონური სითხეები და ღრმა ევტექტიკური გამხსნელები), ენერგიის მოხმარების შემცირება (ექსტრაქციის პროცესების ოპტიმიზაცია და ინტენსიფიკაცია, რაც ამცირებს ენერგიის ხარჯებს), ნარჩენების მინიმიზაცია (ექსტრაქციის პროცესში წარმოქმნილი ნარჩენების შემცირება და მათი სასარგებლო გამოყენება), განახლებადი ნედლეულის გამოყენება (ექსტრაქციისთვის განახლებადი და მდგრადი წყაროებიდან მიღებული ნედლეულის გამოყენება) და პროცესის უსაფრთხოება (ექსტრაქციის პროცესში გამოყენებული ტექნოლოგიების უსაფრთხოება, როგორც ადამიანებისთვის, ასევე გარემოსთვის).

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

2.1. კვლევის ობიექტი

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა დასავლეთ საქართველოში ველურად მოზარდი ქაცვის ნაყოფი, ფოთოლი და ნაყოფის გადამუშავების პროდუქტები ანაწნები და თესლი). ნიმუშები აღებულ იქნა საქართველოს 3 სხვადასხვა რეგიონში: სამცხეთ - ჯავახეთი (ახალციხე - $41^{\circ} 38'20.0''$ N $42^{\circ} 59'10.0''$ E), აჭარა (ერგე - $41^{\circ}33'41.0''$ N $41^{\circ}41'48.0''$ E, თხილნარი - $41^{\circ}33'49.0''$ N $41^{\circ}39'11.0''$ E) და იმერეთი (თერჯოლა - $42^{\circ} 11'00.0''$ N $42^{\circ} 58'38.0''$ E). ნიმუშების ნაწილი ინახებოდა საყინულეში ($-25^{\circ} C$) შემდგომი კვლევებისთვის. ნედლი ნაყოფის ნაწილი პირდაპირი გადამუშავდა პრეპარატების მისაღებად. ნიმუშები ასევე იყო ლიოფილიზებული და შენახული მაცივარში $4^{\circ} C$ ტემპერატურაზე გამოყენებამდე. ნაყოფებს ვილებდით 2021-2024 წლებში სამომხმარებლო სიმწიფის პერიოდში.



სურათი 7. მცენარე ქაცვი

ქაცვი (*Hippophae rhamnoides*) არის ხშირტოტებიანი ბუჩქოვანი, ეკლიანი მცენარე, რომელიც სიმაღლით 2-4 მ-ს აღწევს. ტოტები სიმეტრიულია და ხშირად ბოლოებზე მომრგვალებული ფორმა აქვს. ქაცვის ტოტებს აქვს ყავისფერი ან მოშავო ფერის ქერქი და მონაცრისფრო- მომწვანო ყლორტები. ტოტები ეკლებით ბოლოვდება. მტვრიანებიანი და ბუტკოიანი ყვავილები ფოთლებამდე გამოდის. ფოთლები მორიგეობითია, სიგრძით 4-6 სმ, ლანცეტისებური ფორმის და მოვერცხლისფრო-ნაცრისფერი შეფერილობის (სურათი 7). ყვავილის კვირტები უმეტესად 2 წლის მცენარეზე ჩნდება. მდედრობითი ყვავილების დამტვერვა მაისის შუა პერიოდში ხდება და სრულად არის დამოკიდებული ქარზე. ნაყოფი მწიფდება დამტვერვიდან დაახლოებით 100 დღეში (სექტემბერ-ოქტომბერში). ქაცვის ნაყოფი შესაძლოა იყოს განსხვავებული ფორმისა და ფერის, მაგრამ უმეტესწილად არის მრგვალი ან ოვალური ფორმის და ყვითელი ან ნარინჯისფერი შეფერილობის. ქაცვის ნაყოფის ფორმის და ზომის კომბინაცია მისი ფოთლებისა და ნაყოფის ფერების კონტრასტთან ერთად ქმნის ამ მცენარის არაჩვეულებრივ დეკორატიულ მახასიათებელს. ქაცვი ბუნებრივად ფართოდ არის გავრცელებული ზომიერი სარტყლის ქვეყნებში: ჩინეთი, რუსეთი, დიდი ბრიტანეთი, საფრანგეთი, დანია, ნიდერლანდები, გერმანია, პოლონეთი, ფინეთი, შვედეთი და ნორვეგია. საქართველოში ქაცვი მთელი ქვეყნის მასშტაბით

გვხვდება ზღვის დონიდან 2500 მეტრამდე. ჩვეულებრივ იგი ხარობს ფერდობებზე, მდინარის და ზღვის სანაპიროებზე.

2.2. კვლევის მეთოდები

კვლევაში გამოყენებული იქნა შემდეგი ხელსაწყოები: მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფი (HPLC) - Waters, აღჭურვილი UV, Vis და რეფრაქციული ინდექსის (RI) დეტექტორებით (Binary HPLC Pump 1525), და Waters 432 კონდუქტომეტრული დეტექტორით. ასევე გამოყენებული იქნა ულტრა-მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფი (UPLC) - Waters Acquity H Class, ფოტო-დიოდური მასივის (PDA) და მას-სპექტრომეტრიული (MS) დეტექტორებით; pH-მეტრი და კონდუქტომეტრი - Mettler Toledo pH/Ion meter S220 და S230 Conductivity; Mettler Toledo UV5 UV/Vis სკანირებადი სპექტროფოტომეტრი.

ნახშირწყლების, კატიონების და ფენოლური ნაერთების თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი ჩატარდა მაღალი და ულტრა-მაღალი წნევის თხევადი

ქრომატოგრაფიის მეთოდებით (მეთოდების დეტალური აღწერა მოცემულია შესაბამის თავებში) [87, 100 113, 125].

ნახშირწყლების ქრომატოგრაფიული ანალიზისთვის გამოყენებული იქნა HPLC - Waters (RI დეტექტორი, Binary HPLC Pump 1525), სვეტის ტემპერატურა იყო 40°C, ელუენტი - 80% აცეტონიტრილი (Merck; Sigma-Aldrich), ხოლო დეტექცია - RI.

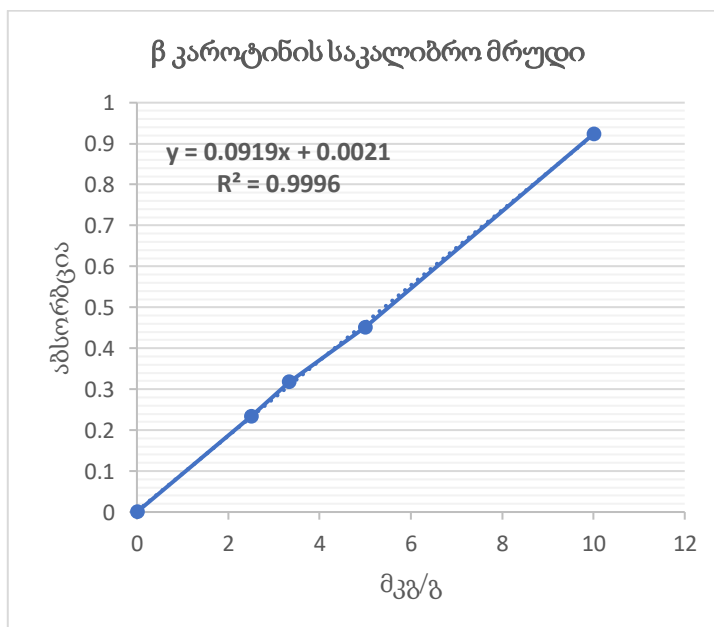
კატიონების განსაზღვრა - კატიონების ანალიზი ჩატარდა მაღალი ეფექტური თხევადი ქრომატოგრაფიის (HPLC) კონდუქტომეტრული დეტექციის მეთოდით. სტანდარტულ ნიმუშებად გამოყენებული იყო ლითიუმის ჰიდროქსიდის მონოჰიდრატი (Li^+), ნატრიუმის ქლორიდი (Na^+), კალიუმის ქლორიდი (K^+), მაგნიუმის ჰიდრატი (Mg^{2+}), კალციუმის ნიტრატის ტეტრაჰიდრატი (Ca^{2+}) და ეთილენდიამინტეტრამმარმჟავა (EDTA, Serva). გამოყენებული ხელსაწყო მოიცავდა იზოკრატულ ტუმბოს (Waters 1515), კონდუქტომეტრულ დეტექტორს (Waters 432), და იონური ქრომატოგრაფიის სვეტს IC-Pak Cation MD. ელუენტად გამოყენებული იყო 3 მმოლ/ლ აზოტმჟავასა და 0.1 მმოლ/ლ EDTA-ს ხსნარი. ელუენტის გამტარობა იყო 1250 ± 50 მკს, საბაზისო მგრძნობელობა 2000 მკს, ინტეგრატორის მგრძნობელობა 0.01 მკს, სვეტის ტემპერატურა 35 °C, ხოლო პოლარობა - უარყოფითი. ანალიზამდე საანალიზო ნიმუშები განზავდა დეიონიზებული წყლით 1:20 თანაფარდობით, რასაც მოჰყვა ჰომოგენიზაცია და ცენტრიფუგირება. შემდგომში, ნიმუში გაფილტრული იქნა 0.45 მკმ ფორების ზომის ფილტრის მეშვეობით. ნაერთების რაოდენობრივი განსაზღვრა განხორციელდა სტანდარტულ ნიმუშებზე აგებული საკალიბრო მრუდების გამოყენებით, ხოლო იდენტიფიკაცია - საანალიზო და სტანდარტული ნიმუშების ქრომატოგრაფიული მონაცემების შედარებით.

ფენოლური ნაერთების იდენტიფიკაცია - (Waters, UPLC Acquity, QDa Detectore). ფენოლური ნაერთების იდენტიფიკაცია განხორციელდა ულტრა-მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფიის (UPLC) მეთოდით, ფოტო-დიოდური მასივის (PDA) და მას-სპექტრომეტრიული (MS) დეტექციის გამოყენებით (Waters, UPLC Acquity, QDa დეტექტორი). ნაერთების გამოყოფა განხორციელდა Acquity UPLC BEH C18 ქრომატოგრაფიული სვეტის (1.7 მკმ ნაწილაკის ზომა) გამოყენებით. გამხსნელთა სისტემა შედგებოდა 0.2% ჰიანჰველმჟავას (გამხსნელი A) და

აცეტონიტრილისგან (გამხსნელი B). გამოყენებული იქნა შემდეგი გრადიენტური პროგრამა (გამხსნელი B-ის კონცენტრაცია): 0-20 წთ, 5-16%; 20-28 წთ, 16-40%; 28-32 წთ, 40-47%; 32-36 წთ, 70-99%; 36-45 წთ, 99%; 45-46 წთ, 99-5%. ინექციის მოცულობა იყო 10 მკლ. ქრომატოგრაფიამდე ნიმუშები და ელუენტები გაფილტრული იქნა 0.45 მკმ ფორების ზომის ფილტრის მეშვეობით [61].

კარბონმჟავების შემადგენლობის ანალიზი განხორციელდა გაზური ქრომატოგრაფიის (GC) მეთოდით, Thermo Scientific-ის TRACE™ 1310 გაზური ქრომატოგრაფის გამოყენებით. ქრომატოგრაფიული დაყოფა ჩატარდა Agilent J&W CP-Sil 88 for FAME GC კაპილარულ სვეტზე (CP7489), რომლის სიგრძე იყო 100 მ, შიდა დიამეტრი 0.25 მმ, ხოლო უძრავი ფაზის სისქე 0.20 მკმ.

β კაროტინისა რაოდენობრივი განსაზღვრა - სპექტრული მეთოდით. საანალიზო ნიმუშის ექსტრაგირებას ვახდენდით აცეტონ-ჰექსანის (4:6) ნარევით ნიმუშის გაუფერულებამდე (სრული ექსტრაქცია), შემდეგ კი სპექტროფოტომეტრზე ვსაზღვრავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს 455 ნმ-ზე. მიღებული შედეგების გადანგარიშება ხდებოდა β კაროტინის საკალიბრო მრუდის მიხედვით (სურათი 8).



სურათი 8. β კაროტინის საკალიბრო მრუდი

კაროტინის შემცველობა გამოითვლება ფორმულით:

$$X = (Y \cdot V \cdot F) / m$$

სადაც X - კაროტინის შემცველობა, მგ/გ-ში;

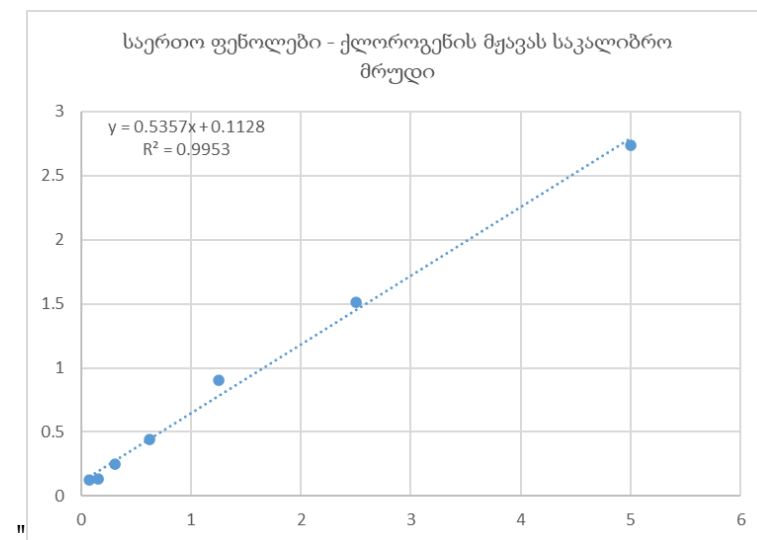
Y – საანალიზო ნიმუშის კონცენტრაცია საკალიბრო მრუდის მიხედვით

F – განზავების ფაქტორი;

V – ექსტრაქტის საერთო მოცულობა, მლ;

m – საექსტრაქციოდ აღებული ნიმუშის მასა, გ

საერთო ფენოლების რაოდენობრივი განსაზღვრა - განხორციელდა ფოლინ-ჩიოკალტეუს რეაგენტის გამოყენებით სპექტროფოტომეტრიული მეთოდით, ქლოროგენის მჟავაზე გადაანგარიშებით [65]. ანალიზისთვის, 1 მლ ექსტრაქტს ემატებოდა 1 მლ ფოლინ-ჩიოკალტეუს რეაგენტი. 3 წუთის ინკუბაციის შემდეგ, ემატებოდა 1 მლ 10% ნატრიუმის კარბონატის ხსნარი და მოცულობა დეიონიზებული წყლით 10 მლ-მდე მიყვანილ იქნა. 90 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ, ოპტიკური სიმკვრივე გაიზომა 725 ნმ ტალღის სიგრძეზე. შედეგები გამოსახული იქნა ქლოროგენის მჟავას ექვივალენტებში (მგ/გ) [22] (სურათი 9).



სურათი 9. ქლოროგენის მჟავას საკალიბრო მრუდი

საერთო ფენოლების შემცველობა გამოითვლება ფორმულით:

$$X = (YV F) / m$$

სადაც X - საერთო ფენოლების შემცველობა, მგ/გ-ში;

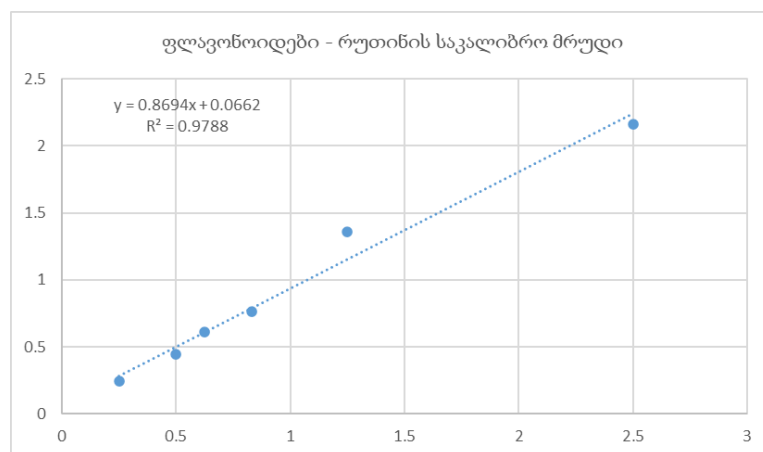
Y – საანალიზო ნიმუშის კონცენტრაცია საკალიბრო მრუდის მიხედვით

F – განზავების ფაქტორი;

V – ექსტრაქტის საერთო მოცულობა, მლ;

m - საექსტრაქციოდ აღებული ნიმუშის მასა, გ

ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრა განხორციელდა ალუმინის ქლორიდის (AlCl_3) სპექტროფოტომეტრიული მეთოდით [88]. ანალიზისთვის, 1 მლ ექსტრაქტი მოთავსდა 10 მლ მოცულობის საზომ სინჯარაში, დაემატა 5 მლ დეიონიზებული წყალი, 0.3 მლ 5% ნატრიუმის ნიტრიტი (NaNO_2) და ინკუბირებული იქნა 5 წუთის განმავლობაში. შემდეგ, დაემატა 0.3 მლ 10% ალუმინის ქლორიდი (AlCl_3) და ინკუბირებული იქნა 6 წუთის განმავლობაში. ინკუბაციის დასრულების შემდეგ, დაემატა 2 მლ 1 N ნატრიუმის ჰიდროქსიდის (NaOH) ხსნარი და ოპტიკური სიმკვრივე გაიზომა 510 ნმ ტალღის სიგრძეზე. შედეგების რაოდენობრივი განსაზღვრა განხორციელდა რუთინის სტანდარტულ ხსნარებზე აგებული საკალიბრო მრუდის გამოყენებით.



სურათი 10. რუთინის საკალიბრო მრუდი

საერთო ფლავონოიდების შემცველობა გამოითვლება ფორმულით:

$$X = (YV F)/m$$

სადაც X - საერთო ფლავონოიდების შემცველობა, მგ/გ-ში;

Y – საანალიზო ხსნარის კონცენტრაცია საკალიბრო მრუდის მიხედვით;

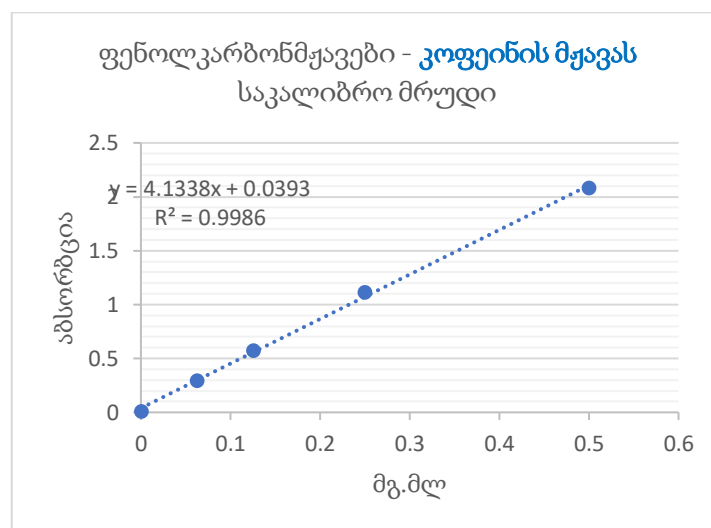
F – განზავების ფაქტორი;

V – ექსტრაქტის საერთო მოცულობა, მლ;

m - საექსტრაქციოდ აღებული ნიმუშის მასა, გ.

ფენოლკარბონმჟავების რაოდენობრივი განსაზღვრა - განხორციელდა სპექტროფოტომეტრიული მეთოდით. ანალიზისთვის, სპირტიანი ექსტრაქტის საერთო მოცულობიდან იღებდნენ 250 მკლ ექსტრაქტს, უმატებდნენ 250 მკლ 0.1%

მარილმჟავას ეთანოლურ ხსნარს და 4.55 მლ 2% მარილმჟავას წყალხსნარს. ნარევის ინტენსიურად ურევდნენ და ინკუბაციას ატარებდნენ 15 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც ოპტიკური სიმკვრივე იზომებოდა 320 ნმ ტალღის სიგრძეზე. პარალელურად მზადდებოდა საკონტროლო ხსნარი, რომელშიც საანალიზო ექსტრაქტის ნაცვლად გამოიყენებოდა 250 მკლ 80% ეთანოლი, ხოლო სხვა რეაგენტები ემატებოდა იმავე თანაფარდობით. აბსორბციის მაჩვენებლის მიხედვით გამოითვლებოდა ფენოლკარბონმჟავების კონცენტრაცია კოფეინის მჟავას სტანდარტულ ხსნარებზე აგებული საკალიბრო მრუდის საშუალებით (სურათი 11). კონცენტრაცია გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:



სურათი 11. კოფეინის მჟავას საკალიბრო მრუდი

$x = (y - 0.0393) / 4.1338$, სადაც y - არის აბსორბციის მაჩვენებელი, x - კონცენტრაცია საკალიბრო მრუდის მიხედვით მგ/მლ-ში.

ხოლო საბოლოო კონცენტრაციის გამოთვლა ხდება შემდეგი ფორმულის

$$\text{მიხედვით: } C \text{ მგ/გ} = X * F * V / m,$$

სადაც

C – ფენოლკარბონმჟავების კონცენტრაცია ნიმუშში მგ/გ

X - კონცენტრაცია საკალიბრო მრუდის მიხედვით;

F – განზავების ფაქტორი;

V – ექსტრაქტის საერთო მოცულობა, მლ;

m - საექსტრაქციოდ აღებული ნიმუშის მასა, გ.

ლეიკოანტოციანების რაოდენობრივი განსაზღვრა სპექტრალური მეთოდით - საანალიზოდ აღებული ნიმუშის ექსტრაქცია მიმდინარეობდა 80%-იანი ეთილის სპირტით, 70 – 750C ტემპერატურის პირობებში. ექსტრაქტის საერთო მოცულობიდან აღებულ 1 მლ-ს ემატება 8 მლ ლეიკოანტოციანიდინის რეაქტივი. თითოეულ ნიმუშზე მზადდება პარალელური ნიმუში, რომელიც არ ცხელდება. მეორე ნიმუში კი ექვამდებარება გაცხელებას 40 წთ-ის განმავლობაში. ამ დროის გავლის შემდეგ ხდება ნიმუშების განსაზღვრა 550 ნმ-ზე. გაცხელებული ნიმუშის კონტროლს წარმოადგენს გაუცხელებელი ნიმუში. განსაზღვრის შედეგად მიღებული აბსორბციის სხვაობით მონაცემების გადაანგარიშება ხორციელდება ციანიდინ - 3 -O - გლუკოზიდის საკალიბრო მრუდის მიხედვით.

ლეიკოანტოციანების შემცველობა გამოითვლება ფორმულით:

$$X = A \cdot K \cdot V \cdot F / m$$

სადაც: X - ლეიკოანტოციანების შემცველობა, მგ/გ-ში;

A - ოპტიკური სიმკრივე;

K – 0,33 ციანიდინ-3-O - გლუკოზიდზე გადაანგარიშებისკოეფიციენტი;

F - განზავების ფაქტორი;

V – ექსტრაქტის საერთო მოცულობა, მლ;

m - საექსტრაქციოდ აღებული ნედლეულის მასა, გ.

ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრა განხორციელდა DPPH თავისუფალი რადიკალის შებოჭვის აქტივობის მეთოდით. DPPH წარმოადგენს 2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზილის სტაბილურ რადიკალს [159; 160]. საანალიზო ნიმუშის ანტიოქსიდანტური აქტივობა განისაზღვრებოდა DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირების საფუძველზე. აქტივობის მახასიათებელი გამოიხატებოდა როგორც ნიმუშის ის რაოდენობა (მგ), რომელიც იწვევს DPPH რადიკალის 50%-იან ინჰიბირებას. მეთოდი ეფუძნებოდა ნიმუშის ექსტრაქტისა (1 მლ) და DPPH რადიკალის ხსნარის (3 მლ) ნარევის 15-წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ ფერის ინტენსივობის გაზომვას. გაზომვა განხორციელდა 517 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ოპტიკური სიმკვრივის სხვაობის, ნიმუშის მასისა და ექსტრაქტის მოცულობის გათვალისწინებით განსაზღვრულ იქნა ნიმუშის ანტიოქსიდანტური აქტივობა.

სტატისტიკური ანალიზი: თითოეული მონაცემისთვის გამოთვლილ იქნა სტანდარტული ცდომილება Excel-ის პროგრამის გამოყენებით. სარწმუნოების დონე განისაზღვრა $p \leq 0.05$ -ით.

2.3. ქაცვის წვენში ნახშირწყლების კვლევა HPLC რეფრაქტომეტრული დეტექტირების მეთოდით

ნახშირწყლები წარმოადგენენ ქაცვის ნაყოფის ერთ-ერთ ძირითად კომპონენტს, რაც მნიშვნელოვანია მისი ენერგეტიკული ღირებულებისა და გემოვნური თვისებების განსაზღვრისთვის. ნახშირწყლების შემადგენლობა და კონცენტრაცია შეიძლება მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდეს ნაყოფის სიმწიფის სტადიის, ჯიშისა და ზრდის პირობების მიხედვით. ამიტომ, მათი რაოდენობრივი და თვისობრივი ანალიზი წარმოადგენს მნიშვნელოვან ამოცანას ქაცვის ნაყოფის კვებითი და სამკურნალო თვისებების შესწავლისთვის[69; 115]

არსებული ლიტერატურის მიხედვით, ქაცვის ნაყოფში ძირითადად გვხვდება მონო- და დისაქარიდები, როგორცაა გლუკოზა, ფრუქტოზა, საქაროზა და არაბინოზა. თუმცა, მათი ზუსტი რაოდენობრივი შემცველობა და თანაფარდობა შეიძლება განსხვავდებოდეს სხვადასხვა წყაროში მოცემული მონაცემების მიხედვით [116] .

ნახშირწყლების რაოდენობრივი განსაზღვრისთვის გამოყენებული იქნა მაღალი ეფექტურობის ~~სითხური~~ სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC) - Waters, რომელიც აღჭურვილი იყო რეფრაქციული ინდექსის (RI) დეტექტორით და Binary HPLC Pump 1525 ტუმბოთი. ქრომატოგრაფიული დაყოფა განხორციელდა ამიდურ ქრომატოგრაფიულ სვეტზე (250 მმ x 4.5 მმ) და ნახშირწყლების სვეტზე. სვეტის

ტემპერატურა შენარჩუნებული იყო 40°C-ზე. მოძრავ ფაზად გამოყენებული იქნა აცეტონიტრილი/წყლის 85:15 (v/v) ნარევი, 1,2 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარით.

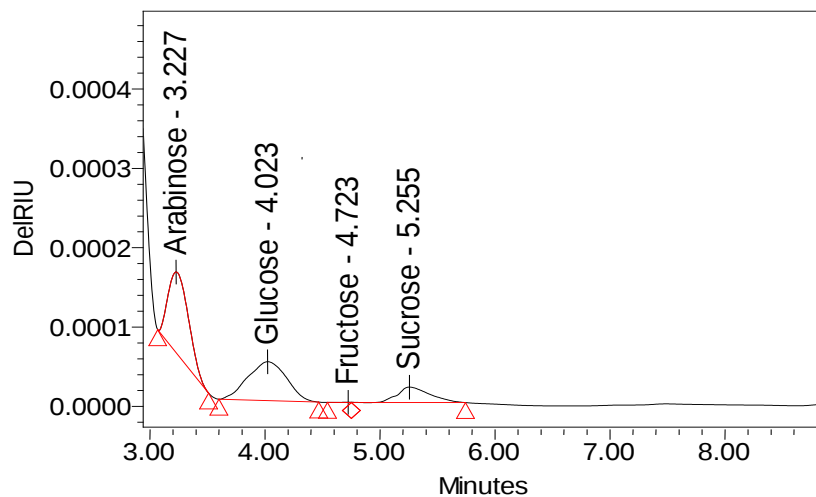
ნიმუშების მომზადება ქრომატოგრაფიული ანალიზისთვის განხორციელდა შემდეგი სქემის მიხედვით: პექტინისა და სხვა კოლოიდური ნაერთების დასაღეკად, წვეს ემატებოდა 96% ეთანოლი 1:1 მოცულობით თანაფარდობით. ნაყოფის შემთხვევაში 10 გრამიანი ნიმუში დაექვემდებარა ცენტრიფუგირებას 12,000 ბრუნი/წუთში სიჩქარით, 2 წუთის განმავლობაში, 4 °C ტემპერატურაზე. ყველა ნიმუშის შემთხვევაში ცენტრიფუგირების შემდეგ, მიღებულ სუპერნატანტს ემატებოდა 80% აცეტონიტრილის ხსნარი 1:1 მოცულობით თანაფარდობით. სუპერნატანტი გაფილტრულ იქნა მყარი ფაზის ექსტრაქციის (SPE) SEP-PAK C18 კარტრიჯის გამოყენებით და გადატანილ იქნა ანალიზისთვის განკუთვნილ ეპენდორფში [116].

რაოდენობრივი ანალიზი განხორციელდა სტანდარტული შაქრის ხსნარების (გლუკოზა, ფრუქტოზა, არაბინოზა და საქაროზა) გამოყენებით (ცხრილი 1)

ნახშირწყლების საკალიბრო მრუდების აღწერა

ცხრილი 1

	Name	Time	R	R ²	Standard Error	Equation
1	Fructose	4.344	0.999791	0.999582	1.577167e+004	$Y = 4.36e+005 X + 6.44e+003$
2	Glucose	5.351	0.999930	0.999860	2.187388e+004	$Y = 8.71e+005 X + 8.93e+003$
3	Sucrose	7.236	0.999894	0.999788	2.178549e+004	$Y = 8.47e+005 X + 8.89e+003$
4	Maltose	8.640	0.999877	0.999753	1.705166e+004	$Y = 6.14e+005 X + 6.96e+003$



სურათი 12. ქაღვის ნაყოფის წვენი ნახშირწყლების ქრომატოგრამა

ქაღვის ნაყოფის წვენი ნახშირწყლების ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

ცხრილი 2

	Name	Retention Time	Area	% Area	Height	Int Type	Amount
1	Arabinose	3,227	1018478	45,25	81577	BB	4,664
2	Glucose	4,023	921615	40,95	39297	BB	8,235
3	Fructose	4,723	1606	0,07	266	BV	0,16
4	Sucrose	5,255	308894	13,73	15621	VB	2,98

ქაღვის ნაყოფის წვენში გამოვლენილი იქნა სამი დომინანტური ნახშირწყალი (სურათი 12): არაბინოზა, გლუკოზა და საქაროზა. ასევე, გამოვლინდა ფრუქტოზის მცირე კონცენტრაცია. წვენში მშრალი ნივთიერების საერთო შემცველობა აღემატებოდა

20°Brix-ს, რომლის 85%-მდე ნახშირწყლებს შეადგენდა. გლუკოზის კონცენტრაცია წვენში 8%-ს აღემატებოდა, ხოლო საქაროზის კონცენტრაცია 3%-მდე იყო (ცხრილი 2). ეს მონაცემები მიუთითებს ქაცვის ნაყოფის წვენში ნახშირწყლების მაღალ შემცველობაზე, რაც მნიშვნელოვანია მისი კვებითი ღირებულებისა და პოტენციური გამოყენების კუთხით.

2.4. ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში კატიონების თვისობრივი და რაოდენობრივი კვლევა HPLC კონდუქტომეტრული დეტექტირების მეთოდის გამოყენებით

კატიონები, როგორცაა კალიუმი, ნატრიუმი, კალციუმი და მაგნიუმი, აუცილებელია ადამიანის ორგანიზმის ნორმალური ფუნქციონირებისთვის. ისინი მონაწილეობენ ელექტროლიტური ბალანსის რეგულირებაში, ნერვული იმპულსების გადაცემაში, კუნთების შეკუმშვაში და სხვა სასიცოცხლო პროცესებში. ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში კატიონების შემცველობის განსაზღვრა მნიშვნელოვანია მათი კვებითი და სამკურნალო ღირებულების შესაფასებლად.

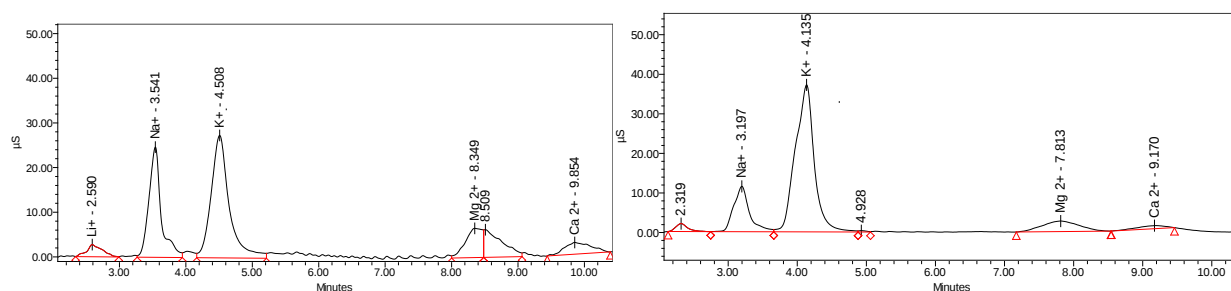
ამ კვლევის მიზანია ქაცვის ფოთოლში, ნაყოფსა და წვენში კატიონების თვისობრივი და რაოდენობრივი განსაზღვრა მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფიის (HPLC) კონდუქტომეტრული დეტექტირების მეთოდის გამოყენებით. HPLC არის მაღალი მგრძნობელობისა და სელექტიურობის მქონე ანალიტიკური მეთოდი,

რომელიც იძლევა კატიონების ზუსტი და სანდო განსაზღვრის საშუალებას. კონდუქტომეტრული დეტექტირება გამოიყენება იონების კონცენტრაციის განსაზღვრისთვის. სტანდარტული კატიონების ხსნარების გამოყენებით მომზადდა საკალიბრო მრუდები, რომლიც საჭიროა გამოყენებულ იქნა კატიონების რაოდენობრივი ანალიზისთვის (ცხრილი 3).

სტანდარტულ კატიონთა გამოსათვლელი ფორმულები

ცხრილი 3

სტანდარტულ ნაერთთა საკალიბრო მრუდები	
ნატრიუმის საკალიბრო მრუდის ფორმულა	$Y = 1.44e+005 X + 9.50e+004$
კალიუმის საკალიბრო მრუდის ფორმულა	$Y = 7.79e+004 X + 6.01e+004$
მაგნიუმის საკალიბრო მრუდის ფორმულა	$Y = 2.97e+005 X + 2.76e+005$
კალციუმის საკალიბრო მრუდის ფორმულა	$Y = 1.28e+005 X + 2.28e+005$



სურათი 13. ფოთლისა და ნაყოფის კატიონების ქრომატოგრამა

კატიონების შემცველობა ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში

ცხრილი 4

ნიმუში-ქაცვი	კატიონების შემცველობა, PPM			
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺

ფოთოლი	177.2±0.419	415.4±0.623	577.6±0.552	26.2±0.166
ნიმუშის აღების ადგილი	ნაყოფი			
ერგე	7.2±0.096	48.02±0.192	65.17±0.207	3.07±0.065
თხილნარი	5.05±0.102	28.43±0.143	24.64±0.169	0.4±0.074
ახალციხე	14.62±0.168	266.04±0.301	21.6±0.175	34.08±0.133
თერჯოლა	5.34±0.096	40.77±0.158	53.46±0.182	2.04±0.035

ქაჯვის ფოთოლსა და ნაყოფში იდენტიფიცირებულ იქნა ნატრიუმის (Na^+), კალიუმის (K^+), მაგნიუმისა (Mg^{2+}) და კალციუმის (Ca^{2+}) იონები (სურათი 13). ფოთოლში დაფიქსირდა კატიონების მაღალი კონცენტრაცია, რაც მიუთითებს მცენარის ამ ნაწილის მინერალურ სიმდიდრეზე. განსაკუთრებით მაღალი იყო მაგნიუმის (Mg^{2+} - 577,6 ppm) და კალიუმის (K^+ - 415.4 ppm) შემცველობა, რაც შეიძლება დაკავშირებული იყოს ფოტოსინთეზის და სხვა ფიზიოლოგიური პროცესების ინტენსიურ მიმდინარეობასთან. შედარებით დაბალი იყო კალციუმის (Ca^{2+} - 26.2 ppm) და ნატრიუმის (Na^+ - 177.2 ppm) კონცენტრაცია (ცხრილი 4).

ნაყოფებში კატიონების კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ტერიტორიების მიხედვით, რაც მიუთითებს ნიადაგის შემადგენლობის და კლიმატური პირობების გავლენაზე. ერგეს ნაყოფი ხასიათდება კატიონების შედარებით მაღალი შემცველობით, განსაკუთრებით მაგნიუმის (Mg^{2+} - 65.17 ppm) და კალიუმის (K^+ - 48.02 ppm). თხილნარის ნაყოფი აჩვენებს კატიონების დაბალ კონცენტრაციას, რაც შეიძლება მიუთითებდეს ნიადაგის სიღარიბეზე ან სხვა გარემო ფაქტორებზე. ახალციხის ნაყოფი გამოირჩევა კალიუმის (K^+ - 266.04 ppm) და კალციუმის (Ca^{2+} - 34.08 ppm) შედარებით მაღალი შემცველობით, რაც შეიძლება მიუთითებდეს ამ ტერიტორიის ნიადაგის სპეციფიკურ მინერალურ შემადგენლობაზე. თერჯოლის ნაყოფი აჩვენებს მაგნიუმის (Mg^{2+} - 53.46 ppm) და კალიუმის (K^+ - 40.77 ppm) შედარებით მაღალ შემცველობას, რაც ასევე შეიძლება მიუთითებდეს ამ რეგიონის ნიადაგის სიმდიდრეზე.

მიღებული შედეგებით ფოთლებში კატიონების საერთო კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად აღემატება ნაყოფებში დაფიქსირებულ მაჩვენებლებს. ნაყოფებში

კატიონების კონცენტრაციის ცვალებადობა მიუთითებს გეოგრაფიული ფაქტორების გავლენაზე.

კალიუმის (K^+) და მაგნიუმის (Mg^{2+}) მაღალი შემცველობა ფოთლებში და ზოგიერთ ნაყოფში მიუთითებს მათ მნიშვნელოვან როლზე მცენარის ფიზიოლოგიურ პროცესებში.

კვლევის შედეგები ხაზს უსვამს ქაცვის ფოთლისა და ნაყოფის მინერალურ სიმდიდრეს, რაც მნიშვნელოვანია მათი კვებითი და სამკურნალო ღირებულების შეფასებისთვის.

2.5. ქაცვის ნაყოფისა და ფოთლის ფენოლური ნაერთების იდენტიფიკაცია ულტრა მაღალეფექტური (წნევის) სითხური UPLC-PDA, MS მეთოდებით

ფენოლური ნაერთების შემადგენლობა და კონცენტრაცია ქაცვის ნაყოფსა და ფოთოლში შეიძლება მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდეს ნაყოფის ჯიშის, სიმწიფის სტადიის, ზრდის პირობებისა (კლიმატი, ნიადაგი) და გეოგრაფიული არეალის მიხედვით. აქედან გამომდინარე, მათი ზუსტი იდენტიფიცირება და რაოდენობრივი განსაზღვრა წარმოადგენს მნიშვნელოვან ამოცანას ქაცვის ნაყოფისა და ფოთლის ანტიოქსიდანტური და სხვა ბიოლოგიური აქტივობების შეფასებისათვის.

ქრომატოგრაფირებისათვის ნიმუშების (ქაცვის ფოთოლი, ნაყოფი, თესლი) ექსტრაქციას ვახდენდით 50% ეთანოლით, ულტრაბერითი აბაზანის გამოყენებით (ჯერადად, სრულ ექსტრაქციამდე). მიღებული ექსტრაქტის გაფილტვრის შემდეგ

ვახდენდით ფილტრატების კონცენტრირებას ვაკუუმის პირობებში მშრალ მასამდე. შემდეგ მიღებულ კონცენტრატს ვამუშავებდით ჰექსანით ცხიმის, ქლოროფილისა და კაროტინოიდების მოსაცილებლად. კოლბაში დარჩენილ მშრალ მასას ვხსნიდით 1-5 მლ მოცულობის მეთანოლში. მეთანოლიან ფრაქციას ვფილტრავდით 0,45 მიკრონის მემბრანულ ფილტრში და ვახდენდით ქრომატოგრაფირებას.

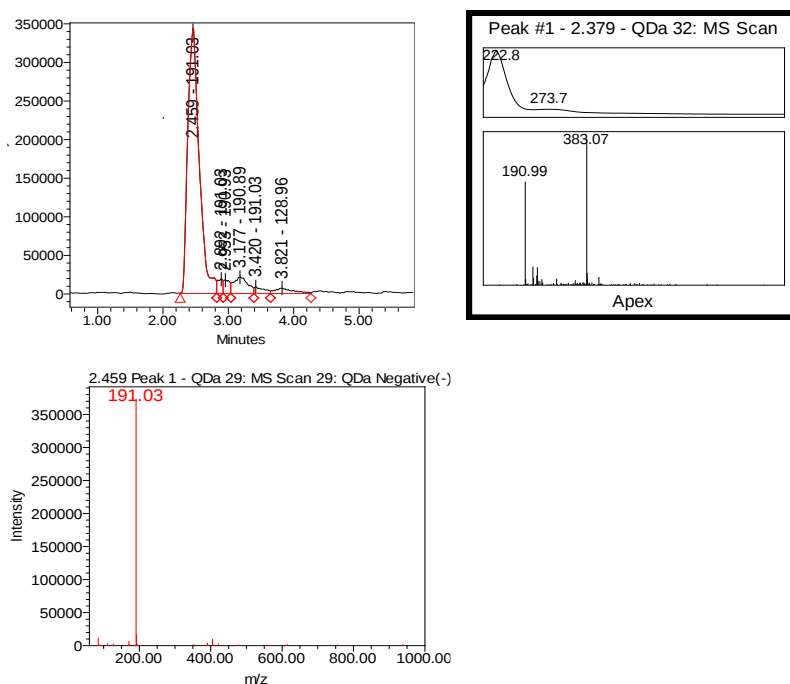
ნივთიერებათა იდენტიფიკაციისა და რაოდენობრივი ანალიზისთვის გამოყენებული იქნა არსებული სტანდარტული ნაერთები (ქლოროგენის მჟავა, კოფეინის მჟავა, გალის მჟავა, კვერცეტინი, (+) კატექინის ჰიდრატი), რომლებიც ხშირად გვხვდება ქაცვის ნაყოფში და გამოირჩევა ბიოლოგიური აქტივობით, ნივთიერებათა მასის მონაცემთა ღია ბაზა ("<https://metlin.scripps.edu>") და რეცენზირებული სამეცნიერო პუბლიკაციებიდან მოპოვებული სპექტრული მონაცემები. ეს მიდგომა შესაძლებლობას იძლეოდა, განხორციელებულიყო რამდენიმე ნაერთის ზუსტი იდენტიფიკაცია.

მას-სპექტრომეტრიული ანალიზი განხორციელდა უარყოფით იონიზაციის რეჟიმში, რის შედეგადაც თითოეული ნივთიერებისთვის განისაზღვრა დეპროტონირებული მოლეკულური იონის $[M-H]^-$ m/z მნიშვნელობა, რაც გვაძლევს პირველად წარმოდგენას ნაერთის შესაძლო სტრუქტურაზე. შემდეგი ნაბიჯი იყო ქრომატოგრაფიული მონაცემების ანალიზი. ქრომატოგრამიდან განისაზღვრა თითოეული ნივთიერების ქრომატოგრაფიული პიკის შეკავების დრო, რაც წარმოადგენდა დამატებით მახასიათებელს ნაერთის იდენტიფიკაციისთვის. UV-Vis სპექტრიდან განისაზღვრა თითოეული ნივთიერების მაქსიმალური შთანთქმის ტალღის სიგრძე, ასევე სპექტრის ფორმა და ინტენსივობა. ინტენსივობა პროპორციულია ნივთიერების კონცენტრაციისა ხსნარში, რაც გამოიყენება რაოდენობრივი ანალიზისთვის. ყველა მიღებული მონაცემის შედარება და ვალიდაცია საბოლოო ეტაპი იყო იდენტიფიკაციის პროცესში. მას-სპექტრომეტრიული, ქრომატოგრაფიული და UV-Vis მონაცემები შედარებულ იქნა ერთმანეთთან, ასევე სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან. შედარების შედეგები, რომელიც მოიცავს სპექტრულ და ქრომატოგრაფიულ მონაცემებს, წარმოდგენილია გრაფიკულად.

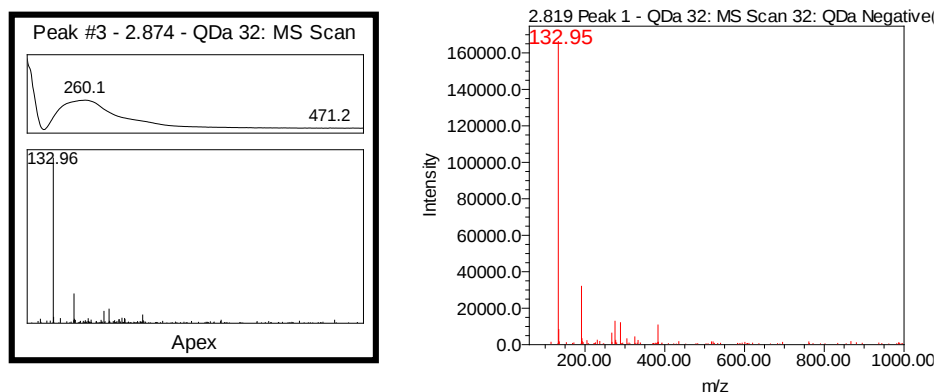
ქაცვის ნაყოფის შედგენილობაში იდენტიფიცირებულია შემდეგი ნაერთები (ცხრილი 5):

ნივთიერება 1-ის მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა დეპროტონირებული მოლეკულური იონი $[M-H]^-$ m/z 191.03 მასით. ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო შეადგენდა 2.379 წუთს, ხოლო ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტრი აჩვენებდა მაქსიმალურ შთანთქმას 222.8 და 273.7 ნმ ტალღის სიგრძეზე. მიღებული მონაცემების შედარება სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან მიუთითებს, რომ ნივთიერება 1 შეესაბამება ქინაქინის მჟავას (Quinic acid) (სურათი 14).

ნივთიერება 2-ის უარყოფითი იონიზაციის რეჟიმში მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა $[M-H]^-$ იონი m/z 132.95-ზე. ქრომატოგრაფიული პიკის შეკავების დრო შეადგენდა 2.819 წუთს, ხოლო UV-Vis დეტექტორის მიერ დაფიქსირდა მაქსიმალური შთანთქმა 260.8 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთთან (ვაშლის მჟავა, Sigma-Aldrich) და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან მიღებული სპექტრული მონაცემების შედარების შედეგად ნივთიერება 2 იდენტიფიცირებულ იქნა როგორც ვაშლის მჟავა (სურათი 15).

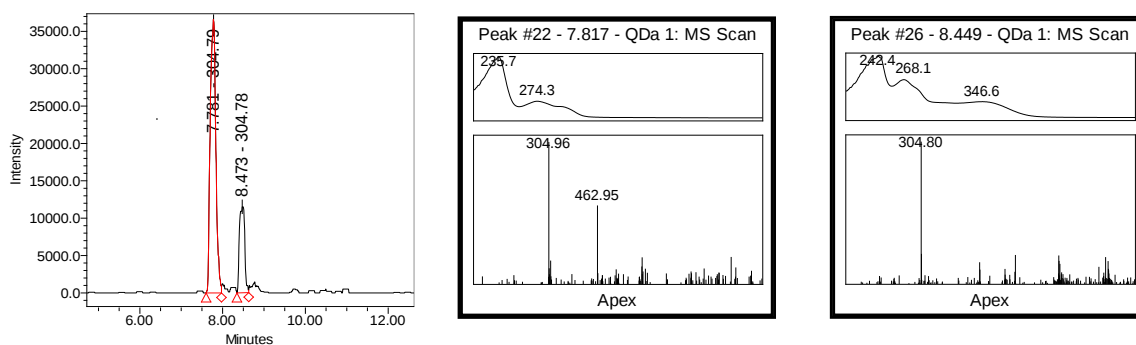


სურათი 14. ნივთიერება 1-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 191.03



სურათი 15. ნივთიერება 2-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 133.00

ნივთიერება 3 და 4-ის მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა დეპროტონირებული მოლეკულური იონები $[M-H]^-$ m/z 304.79 და m/z 304.78 მასით, შესაბამისად. ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო შეადგენდა 7.781 და 8.473 წუთს, ხოლო ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტრი აჩვენებდა მაქსიმალურ შთანთქმას 271.2 ნმ ტალღის სიგრძეზე ორივე ნივთიერებისთვის. მიღებული მონაცემების შედარება სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან მიუთითებს, რომ ნივთიერება 3 შეესაბამება გალოკატეჩინს (Gallocatechin) ($C_{15}H_{14}O_7$), ხოლო ნივთიერება 4 ეპიგალოკატეჩინს (Epigallocatechin) ($C_{15}H_{14}O_7$) (სურათი 16).



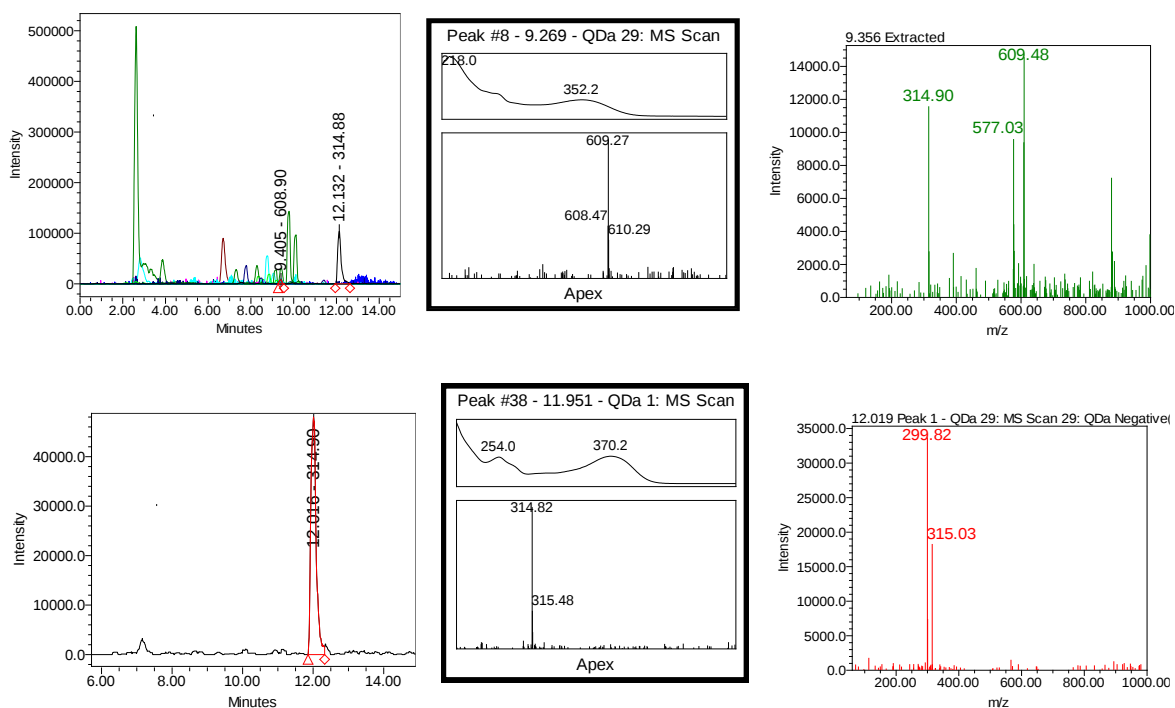
სურათი 16. ნივთიერება 3 და 4-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 5-ის მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა დეპროტონირებული მოლეკულური იონი $[M-H]^-$ m/z 609.27-ზე, ფრაგმენტაციის ანალიზით კი დაფიქსირდა ფრაგმენტური იონი m/z 314.91-ზე. ქრომატოგრაფიული

შეკავების დრო შეადგენდა 9.269 წუთს, ხოლო ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტრი აჩვენებდა მაქსიმალურ შთანთქმას 352.2 ნმ ტალღის სიგრძეზე (სურათი 17).

ნივთიერება 6-ის მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა დეპროტონირებული მოლეკულური იონი $[M-H]^-$ m/z 314.84-ზე, ფრაგმენტაციის ანალიზით კი დაფიქსირდა ფრაგმენტური იონი m/z 299.82-ზე. ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო შეადგენდა 11.950 წუთს, ხოლო ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტრი აჩვენებდა მაქსიმალურ შთანთქმას 370.2 ნმ ტალღის სიგრძეზე (სურათი 6).

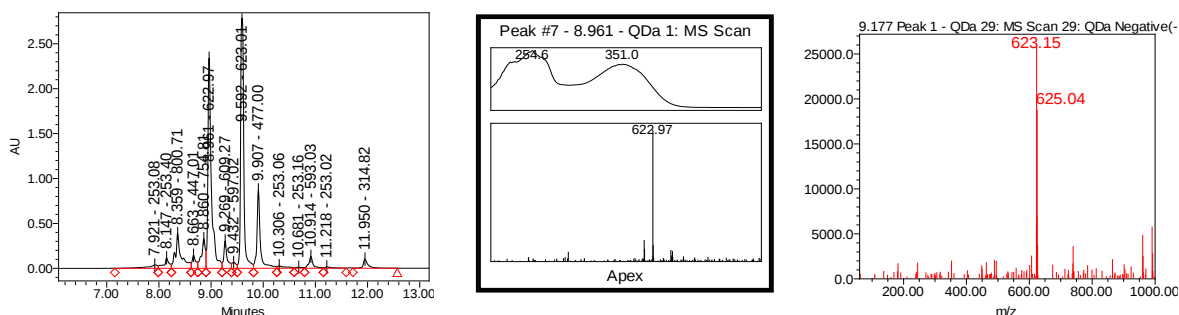
მიღებული მონაცემების შედარება სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან მიუთითებს, რომ ნივთიერება 5 შეესაბამება იზორამნეტინის წარმოებულს (Isorhamnetin derivative) ($C_{16}H_{12}O_7$), ხოლო ნივთიერება 6 - იზორამნეტინს (Isorhamnetin) ($C_{16}H_{12}O_7$) (სურათი 17).



სურათი 17. ნივთიერება 5 და 6-ის UPLC-MS სპექტრი

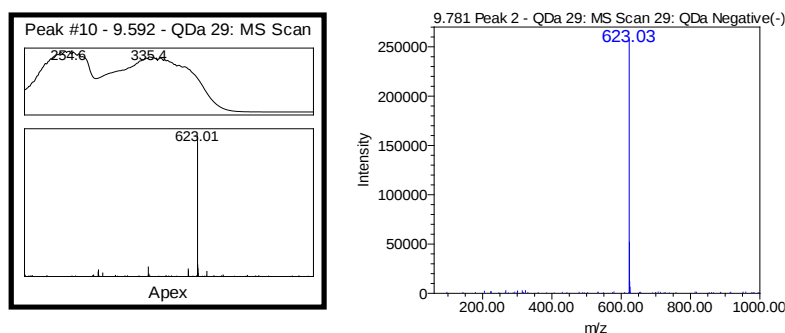
ნივთიერება 7-ის მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა დეპროტონირებული მოლეკულური იონი $[M-H]^-$ m/z 623.15 მასით. ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო შეადგენდა 9.177 წუთს, ხოლო ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტრი აჩვენებდა მაქსიმალურ შთანთქმას 351.0 ნმ ტალღის

სიგრძეზე. მიღებული მონაცემების შედარება სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან მიუთითებს, რომ ნივთიერება 7 შეესაბამება იზორამნეტინ-3-O-გლუკოზიდ-რამნოზიდს (Isorhamnetin-3-O-glucose-rhamnoside) ($C_{28}H_{32}O_{16}$) (სურათი 18).



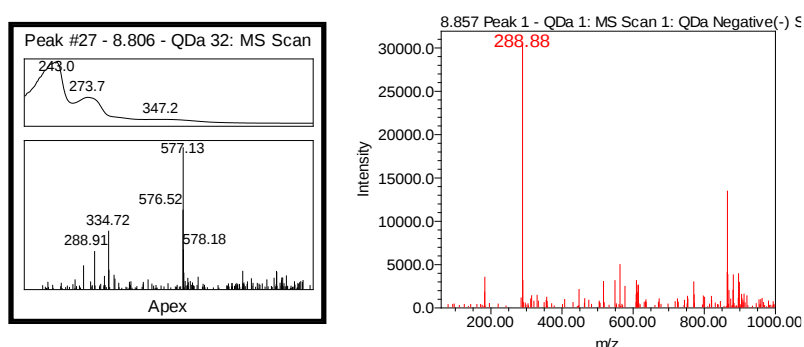
სურათი 18. ნივთიერება 7-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 8-ის დეპროტონირებული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 623.01-ზე. ქრომატოგრაფიული პიკის შეკავების დრომ შეადგინა 9.592 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიული ანალიზის შედეგად, ნივთიერება 8-ის შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 335.4 ნმ ტალღის სიგრძეზე. იდენტიფიკაციის დასადასტურებლად, მიღებული სპექტრული და ქრომატოგრაფიული მონაცემები შედარდა სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან. შედეგად, დადგინდა, რომ ნივთიერება 8 იდენტიფიცირებულ იქნა როგორც იზორამნეტინ-3-O-რუტინოზიდი (Isorhamnetin-3-O-rutinoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{28}H_{32}O_{16}$ (სურათი 19).



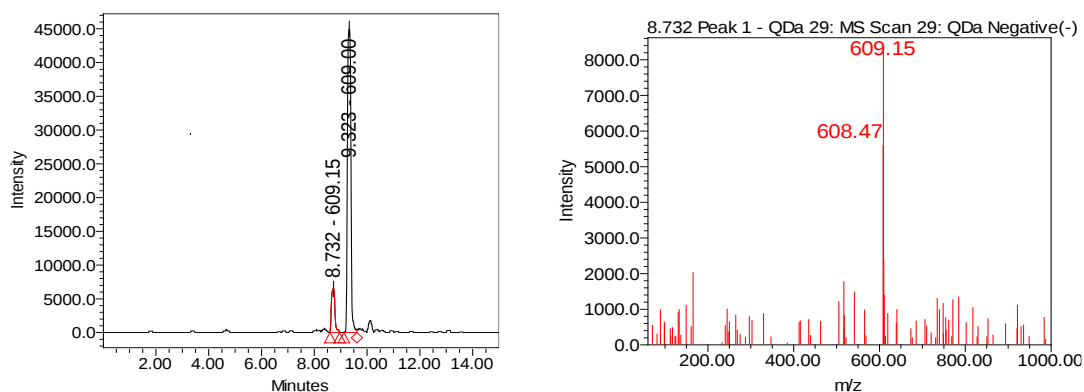
სურათი 19. ნივთიერება 8-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 9-ის მას-სპექტრომეტრიული ანალიზის შედეგად, უარყოფითად დამუხტული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 288.88-ზე, რაც შეესაბამება $[M-H]^-$ -იონს. პიკის შეკავების დრომ შეადგინა 8.857 წუთი. დადგინდა, რომ ეს ნივთიერება წარმოადგენს m/z 577.13-ზე გამოვლენილი იონის ფრაგმენტაციის პროდუქტს. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიული ანალიზის შედეგად, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 273.7 ნმ-ზე. მიღებული მონაცემებით ნივთიერება 9 შეესაბამება კატეჩინს (Catechin), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{15}H_{14}O_6$ (სურათი 20).



სურათი 20. ნივთიერება 9-ის UPLC-MS სპექტრი

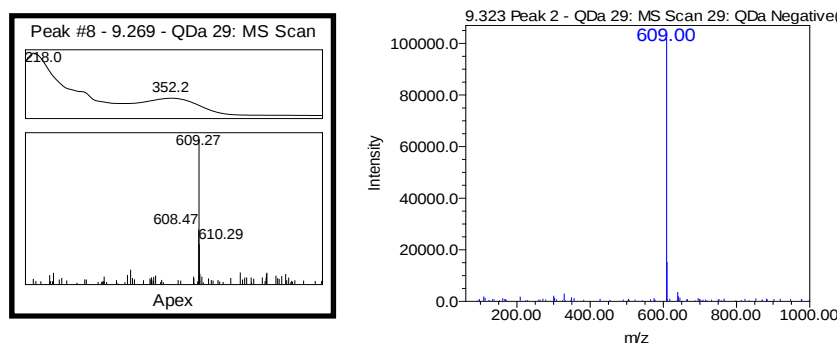
ნივთიერება 10-ის ანალიზისას, მას-სპექტრომეტრიამ აჩვენა დეპროტონირებული იონი m/z 609.15-ზე, რაც მიუთითებს $[M-H]^-$ იონზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის შედეგად, ამ ნივთიერების შეკავების დრო დაფიქსირდა 8.732 წუთზე. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი გამოვლინდა 347.2 ნმ-ზე. შედარების საფუძველზე, რომელიც მოიცავდა სტანდარტულ ნაერთებსა და METLIN-ის მონაცემთა ბაზას, ნივთიერება 10 იდენტიფიცირდა როგორც კვერცეტინ-3-O-ჰექსოზა-7-O-დჰექსოზა (Quercetin-3-O-Hexose-7-O-dHexose) (სურათი 21).



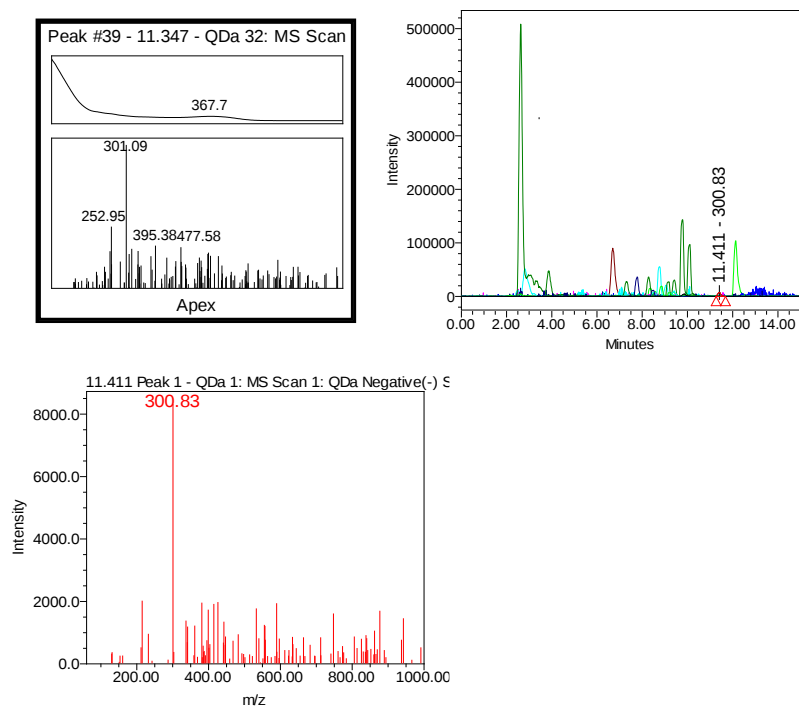
სურათი 21. ნივთიერება 10-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 11-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, დეპროტონირებული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 609.27-ზე, რაც შეესაბამება $[M-H]^-$ იონს. პიკის შეკავების დრო დაფიქსირდა 9.323 წუთზე. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 352.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 11 იდენტიფიცირდა როგორც კვერცეტინ-3-O-რუტინოზიდი (Quercetin-3-O-rutinoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{27}H_{30}O_{16}$ (სურათი 22).

ნივთიერება 12-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, უარყოფითად დამუხტული მოლეკულური იონი დაფიქსირდა m/z 300.83-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, პიკის შეკავების დრომ შეადგინა 11.411 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი გამოვლინდა 367.7 ნმ-ზე. სტანდარტული ნაერთების და METLIN მონაცემთა ბაზის მონაცემებთან შედარების შედეგად დადგინდა, რომ ნივთიერება 12 შეესაბამება ელაგის მჟავას (Ellagic acid), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{14}H_6O_8$ (სურათი 23).

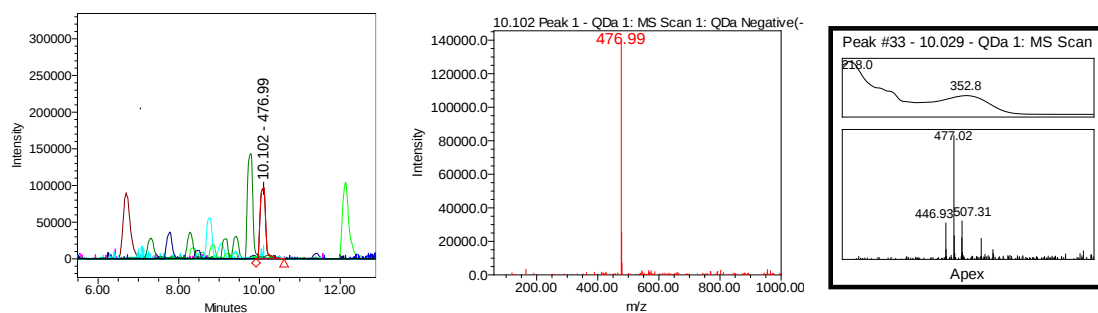


სურათი 22. ნივთიერება 11-ის UPLC-MS სპექტრი



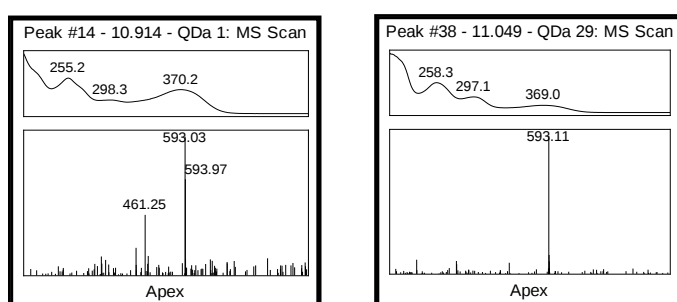
სურათი 23. ნივთიერება 12-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 13-ის მას-სპექტრულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ დეპროტონირებული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 476.99-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 301-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 9.909 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 352.8 ნმ-ზე. სტანდარტული ნაერთებისა და METLIN-ის მონაცემთა ბაზის შედარების საფუძველზე, ნივთიერება 13 იდენტიფიცირდა როგორც იზორამნეთინ-3-ო-გლუკოზიდი (Isoramnethin-3-O-glucoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{22}H_{22}O_{12}$ (სურათი 24).



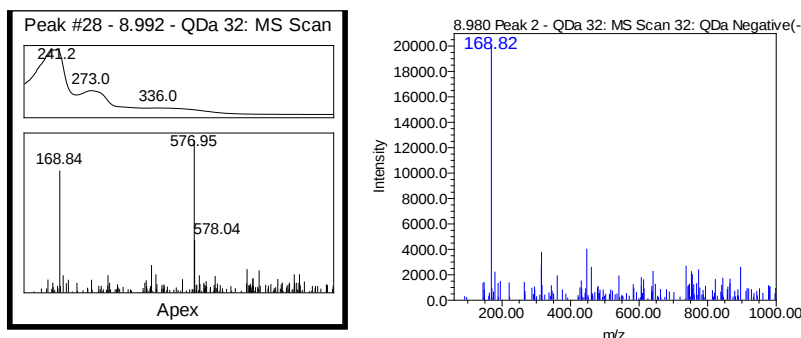
სურათი 24. ნივთიერება 13-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 14-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, დეპროტონირებული იონი დაფიქსირდა m/z 593.03-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად გამოვლინდა იონი m/z 461.26-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 10.914 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 370.2 ნმ-ზე. შედარების შედეგად, რომელიც მოიცავდა სტანდარტულ ნაერთებსა და METLIN-ის მონაცემთა ბაზას, ნივთიერება 14 იდენტიფიცირდა, როგორც იზორამნეტინ-პენტოზა-რამნოზიდი (Isoramnethin-pentose-rhamnoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{27}H_{30}O_{15}$ (სურათი 25).



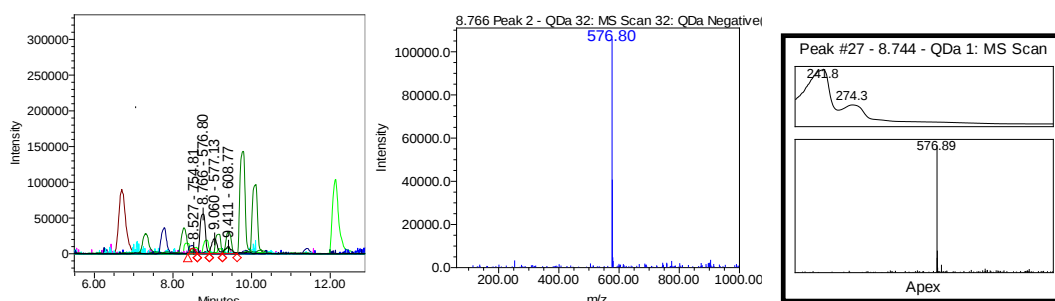
სურათი 25. ნივთიერება 14-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 15-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, უარყოფითად დამუხტული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 168.82-ზე, რომელიც წარმოგენს m/z 576.95-ზე გამოვლენილი იონის ფრაგმენტაციის პროდუქტს. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 8.980 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 273.0 ნმ-ზე. სტანდარტული ნაერთებისა და METLIN-ის მონაცემთა ბაზის მონაცემებთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 15 იდენტიფიცირდა როგორც გალის მჟავა (Gallic acid), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_7H_6O_5$ (სურათი 26).



სურათი 26. ნივთიერება 15-ის UPLC-MS სპექტრი

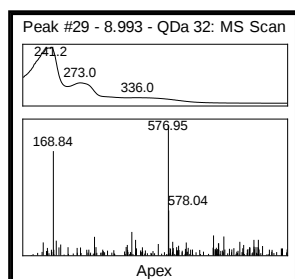
ნივთიერება 16-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, დეპროტონირებული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 576.80-ზე. ფრაგმენტაციის პროცესში წარმოიქმნა იონი m/z 289-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 8.766 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 274.3 ნმ-ზე. სტანდარტული ნაერთებისა და METLIN მონაცემთა ბაზის შედარების შედეგად, ნივთიერება 16 იდენტიფიცირდა როგორც პროციანიდინი 1 (Procyanidin 1), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{30}H_{26}O_{12}$ (სურათი 27).



სურათი 27. ნივთიერება 16-ის UPLC-MS სპექტრი

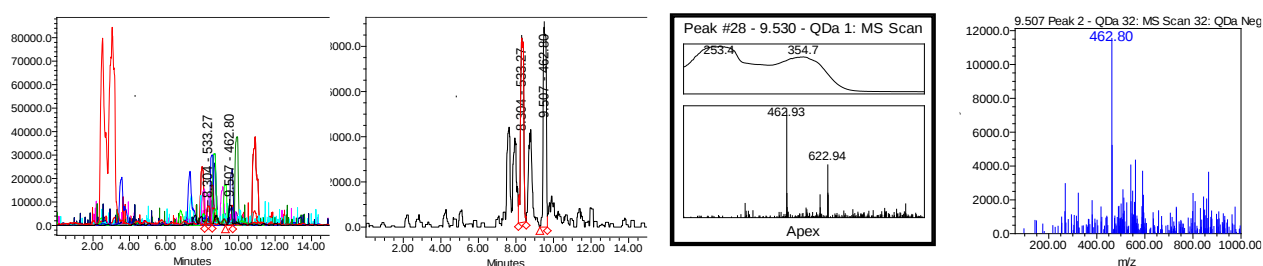
ნივთიერება 17-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, დეპროტონირებული მოლეკულური იონი გამოვლინდა m/z 576.95-ზე, რაც მიუთითებს ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოქმნილ იონზე m/z 168.84-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 8.993 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 273.0 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად,

ნივთიერება 17 იდენტიფიცირდა როგორც პროციანიდინი 2 (Procyanidin 2), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{30}H_{26}O_{12}$ (სურათი 28).



სურათი 28. ნივთიერება 17-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 18-ის მას-სპექტრული ანალიზის შედეგად, დეპროტონირებული იონი გამოვლინდა m/z 462.80-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 285-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 9.507 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 354.8 ნმ-ზე. სტანდარტული ნაერთებისა და METLIN მონაცემთა ბაზის შედარების საფუძველზე, ნივთიერება 18 იდენტიფიცირდა როგორც ჰიპეროზიდი (Hyperoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{21}H_{20}O_{12}$ (სურათი 29).

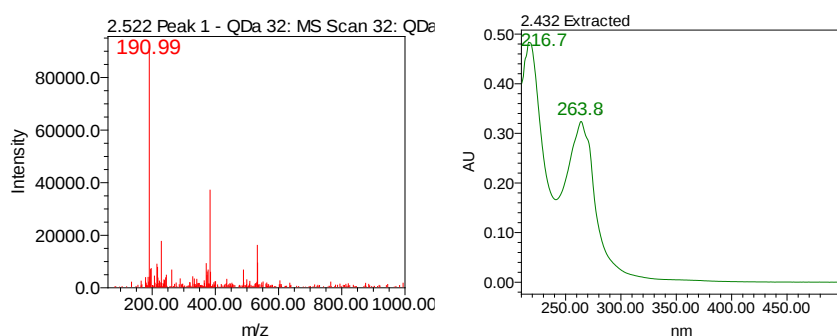


სურათი 29. ნივთიერება 18-ის UPLC-MS სპექტრი

ქაფვის ფოთლის შედგენილობაში იდენტიფიცირებულია:

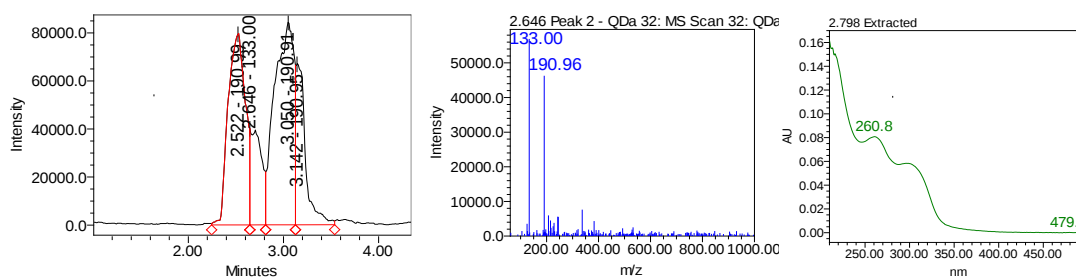
ნივთიერება, რომელიც იდენტიფიცირებული იყო ქაფვის ნაყოფში, გამოვლინდა ქაფვის ფოთლის ანალიზის შედეგად. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 190.99-ზე, ფრაგმენტაციის შედეგად კი დაფიქსირდა პიკი m/z 111-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს,

შეკვების დრომ შეადგინა 2.460 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმები დაფიქსირდა 216.7 და 263.8 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად დადასტურდა, რომ ნივთიერება 1 შეესაბამება ქინაქინის მჟავას (Quinic acid) (სურათი 30).



სურათი 30. ნივთიერება 1-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 190.99

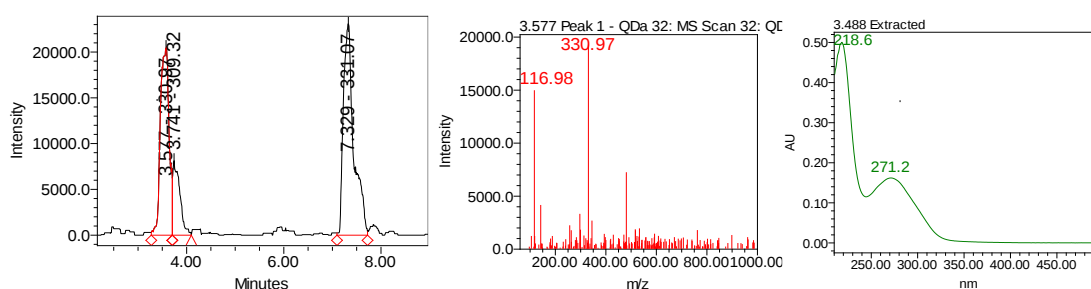
ნივთიერება, რომელიც იდენტიფიცირებული იყო ქაცვის ნაყოფში, გამოვლინდა ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 133.00-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკვების დრომ შეადგინა 2.646 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 260.8 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთთან (ვაშლმჟავა, Malic acid) და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად დადასტურდა, რომ ნივთიერება 2 შეესაბამება ვაშლმჟავას (Malic acid) (სურათი 31).



სურათი 31. ნივთიერება 2-ის UPLC-PDA-MS სპექტრი m/z 133.00

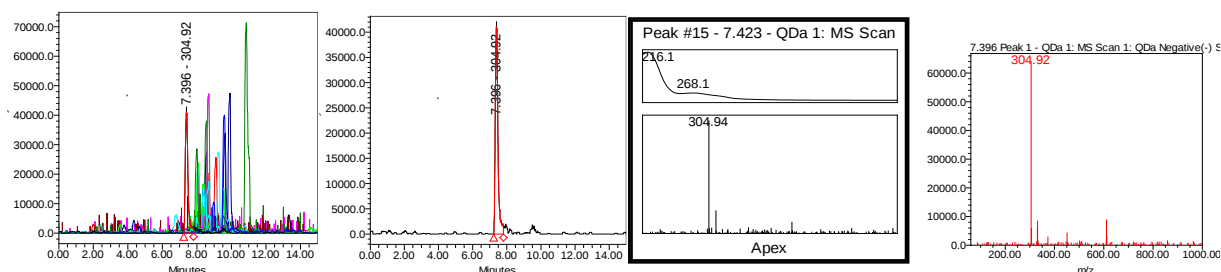
ნივთიერება 19, რომელიც პირველად იდენტიფიცირდა ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად, გამოვლინდა მას-სპექტრული ანალიზის დროს, სადაც დეპროტონირებული

მოლეკულური იონი დაფიქსირდა m/z 330.97-ზე. ფრაგმენტაციის შედეგად ფრაგმენტები არ გამოვლინდა. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 3.577 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 271.5 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 19 იდენტიფიცირდა როგორც გალის მჟავას ჰექსოზიდი (Gallic acid hexoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{13}H_{16}O_{10}$ (სურათი 32).



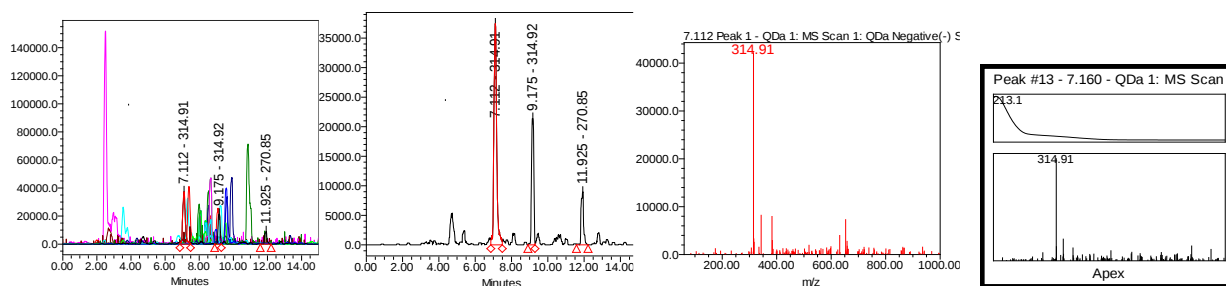
სურათი 32. ნივთიერება 19-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება, რომელიც იდენტიფიცირებული იყო ქაფის ნაყოფში, გამოვლინდა ქაფის ფოთლის ანალიზის შედეგად. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 304.92-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 7.396 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 271.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 3 შეესაბამება გალოკატეჩინს (Gallocatechin), რომლის ემპირიული ფორმულა არის $C_{15}H_{14}O_7$ (სურათი 33).



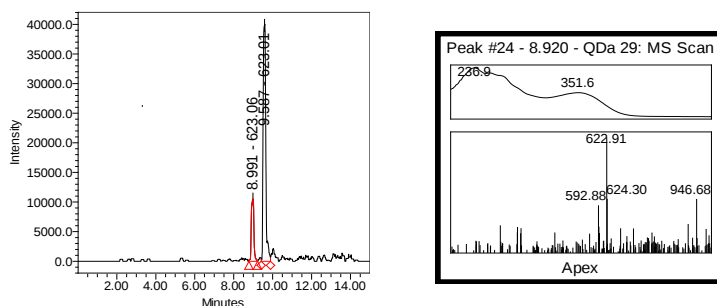
სურათი 33. ნივთიერება 3-ის UPLC-MS სპექტრი

ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი რიგით მე-5 ნივთიერება შეესაბამება ქაცვის ნაყოფში ადრე იდენტიფიცირებულ ნივთიერება 6-ს. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 314.91-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 7.396 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 271.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება იდენტიფიცირდა როგორც იზორამნეტინი (Isorhamnetin), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{16}H_{12}O_7$ (სურათი 34).



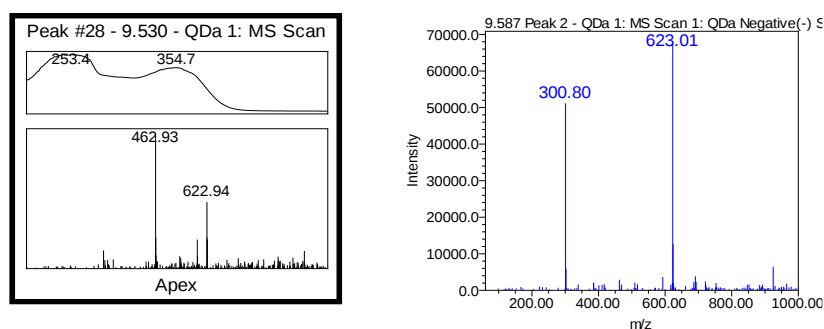
სურათი 34. ნივთიერება 6-ის UPLC-MS სპექტრი

ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი რიგით მე-6 ნივთიერება შეესაბამება ქაცვის ნაყოფში ადრე იდენტიფიცირებულ ნივთიერება 8-ს. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 623.01-ზე. შეკავების დრომ შეადგინა 8.920 წუთი. შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 351.6 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება იდენტიფიცირდა როგორც იზორამნეტინ-3-O-რუტინოზიდი (Isorhamnetin-3-O-rutinoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{28}H_{32}O_{16}$ (სურათი 35).



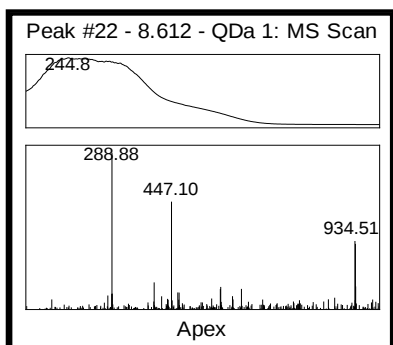
სურათი 35. ნივთიერება 8-ის UPLC-MS სპექტრი

ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი რიგით მე-7 ნივთიერება შეესაბამება ქაცვის ნაყოფში ადრე იდენტიფიცირებულ ნივთიერება 7-ს. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 623.01-ზე. შეკავების დრომ შეადგინა 9.587 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 354.7 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება იდენტიფიცირდა როგორც იზორამნეტინ-3-ო-გლუკოზიდ-რამნოზიდი (Isorhamnetin-3-O-glucose-rhamnoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{28}H_{32}O_{16}$ (სურათი 36).



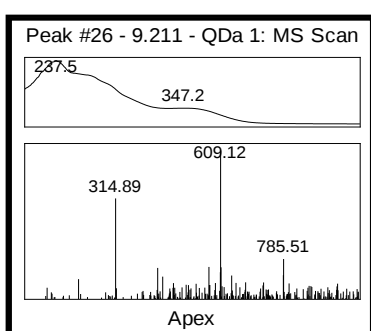
სურათი 36. ნივთიერება 7-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 20 იდენტიფიცირდა ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად, რომლის მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 934.31-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 632.79-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 8.288 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 270 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება იდენტიფიცირდა როგორც კასუარიქტინი (Casuarictin), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{41}H_{28}O_{26}$ (სურათი 37).



სურათი 37. ნივთიერება 20-ის UPLC-MS სპექტრი

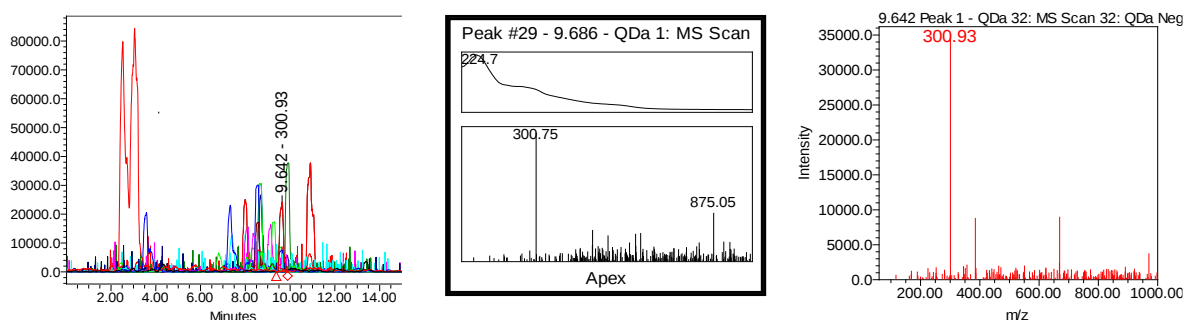
ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი რიგით მე-9 ნივთიერება შეესაბამება ქაცვის ნაყოფში ადრე იდენტიფიცირებულ ნივთიერება 11-ს. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 609.12-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 314.89-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 9.211 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 347.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 4 იდენტიფიცირდა როგორც კვერცეტინ-3-O-რუტინოზიდი (Quercetin-3-O-rutinoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{27}H_{30}O_{16}$ (სურათი 38).



სურათი 38. ნივთიერება 11-ის UPLC-MS სპექტრი

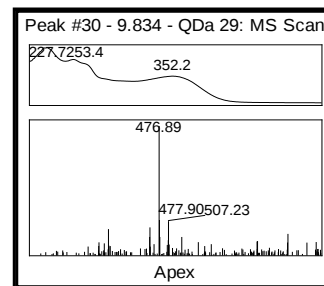
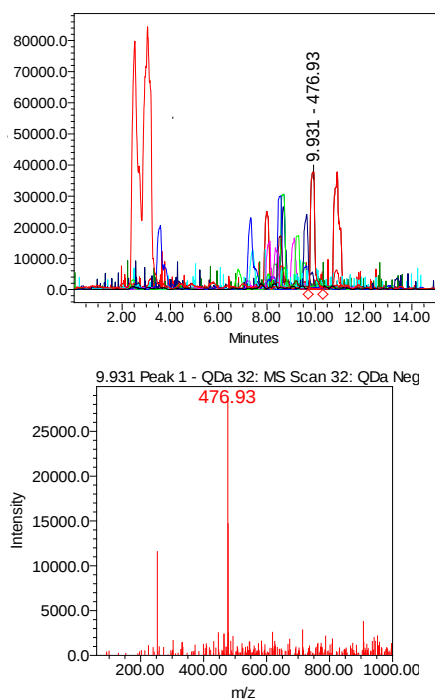
ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი რიგით მე-10 ნივთიერება მსგავსია ქაცვის ნაყოფში ადრე იდენტიფიცირებული ნივთიერება 12-ის. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 300.91-ზე.

შეკავების დრომ შეადგინა 9.686 წუთი. შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 271.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 4 იდენტიფიცირდა როგორც ელაგის მჟავა (Ellagic acid), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{14}H_6O_8$ (სურათი 39).



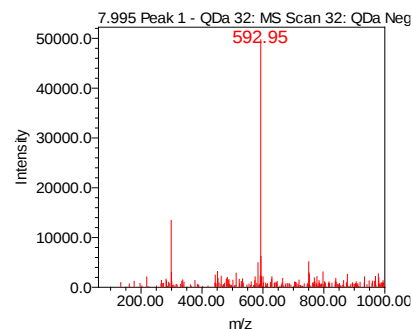
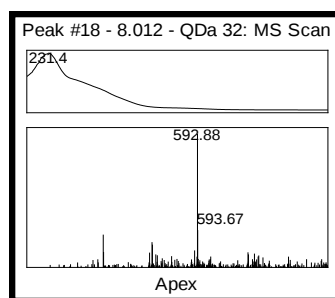
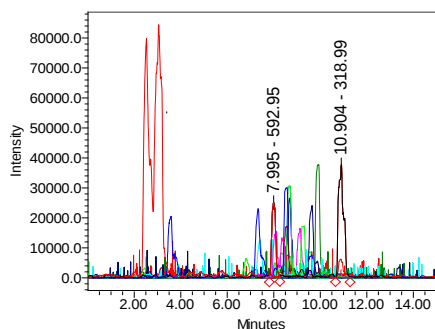
სურათი 39. ნივთიერება 12-ის UPLC-MS სპექტრი

ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი იყო მე-11 ნივთიერება მსგავსია ქაცვის ნაყოფში აღრე იდენტიფიცირებული ნივთიერება 13-ის. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 476.93-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 301-ზე. შეკავების დრომ შეადგინა 9.931 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 352.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 4 იდენტიფიცირდა როგორც იზორამნეტინ-3-ო-გლუკოზიდი (Isorhamnetin-3-O-glucoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{22}H_{22}O_{12}$ (სურათი 40).

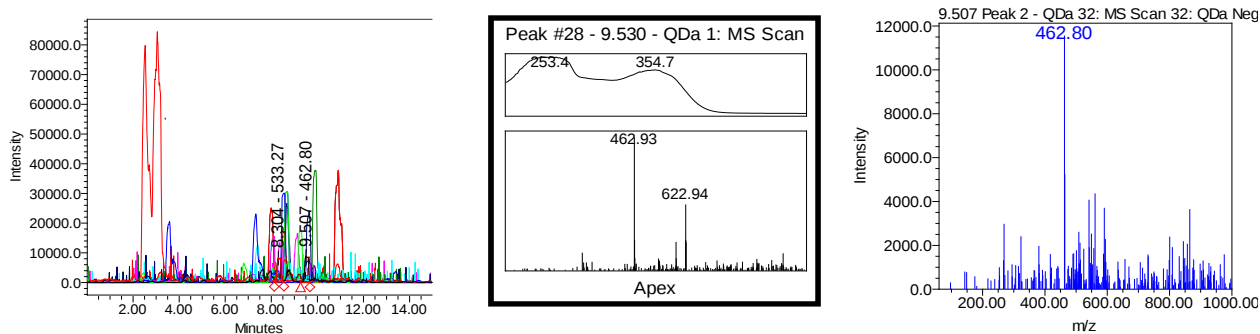


სურათი 40. ნივთიერება 13-ის UPLC-MS სპექტრი

ნივთიერება 21 ქაცვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლინდა, რომლის მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 592.95-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 285-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 7.995 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 272.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 21 იდენტიფიცირდა როგორც კემპფეროლ-3-O-რუთინოზიდი (Kaempferol-3-O-rutinoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{28}H_{32}O_{16}$ (სურათი 41).



სურათი 41. ნივთიერება 21-ის UPLC-MS სპექტრი



სურათი 42. ნივთიერება 18-ის UPLC-MS სპექტრი

ქაფვის ფოთლის ანალიზის შედეგად გამოვლენილი რიგით მე-12 ნივთიერება შეესაბამება ქაფვის ნაყოფში ადრე იდენტიფიცირებულ ნივთიერება 18-ს. მისი მას-სპექტრული მახასიათებლები მოიცავს დეპროტონირებულ მოლეკულურ იონს m/z 462.80-ზე, ხოლო ფრაგმენტაციის შედეგად წარმოიქმნა იონი m/z 285-ზე. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს, შეკავების დრომ შეადგინა 9.507 წუთი. ულტრაიისფერ-ხილული (UV-Vis) სპექტროსკოპიის გამოყენებით, შთანთქმის მაქსიმუმი დაფიქსირდა 272.2 ნმ-ზე. სტანდარტულ ნაერთებთან და METLIN-ის მონაცემთა ბაზასთან შედარების შედეგად, ნივთიერება 4 იდენტიფიცირდა როგორც ჰიპეროზიდი (Hyperoside), რომლის ემპირიული ფორმულაა $C_{21}H_{20}O_{12}$ (სურათი 42).

ქაფვის ფოთლისა და ნაყოფის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები

ცხრილი 5

№	ნივთიერება	ფორმულა	m/z [M - H] ⁻	ნაყოფი	ფოთოლი
ორგანული მჟავები					
1	ვაშლის მჟავა	$C_4H_6O_6$	132,95	+	+
ფენოლკარბონმჟავები					
2	ქინაქინის მჟავა	$C_7H_{12}O_6$	191,03	+	+
3	ელაგის მჟავას	$C_{14}H_6O_8$	300,83	+	+
4	გალის მჟავას	$C_7H_6O_5$	168,82	+	-
ფლავონოიდები					

5	გალოკატექინი	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	304,89	+	+
6	ეპიგალოკატექინი	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	304,78	+	-
7	იზორამნეტინის წარმოებულ	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	609,27	+	-
8	იზორამნეტინი	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	314,85	+	+
9	იზორამნეტინის -3-O- გლუკოზიდ-რამნოზიდი	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	623,15	+	+
10	იზორამნეტინის -3-O- რუთინოზიდი	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	623,01	+	+
11	კატექინი	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	288,88	+	-
12	კვერცეტინის-3-O-ჰექსოზიდ-7-O-d ჰექსოზიდი		609,15	+	-
13	კვერცეტინ-3-O-რუთინოზიდი	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,27	+	+
14	იზორამნეტინ-3- O -გლუკოზიდი	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	476,99	+	+
15	იზორამნეტინ-პენტოზა-რამნოზიდი	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,03	+	-
16	პროციანიდინი 1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	476,80	+	-
17	პროციანიდინი 2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	576,95	+	-
18	ჰიპეროზიდი	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	462,8	+	+
19	გალის მჟავას ჰექსოზიდი	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	330.97	-	+
20	კასუარიქტინი	C ₄₁ H ₂₈ O ₂₆	934.31	-	+
21	კემფეროლ-3-O-რუთინოზიდი	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	592.95	-	+

დადგინდა, რომ ქაცვის ნაყოფი და ფოთოლი წარმოადგენს ბიოაქტიური ნაერთების მდიდარ წყაროს, ულტრა მაღალეფექტური (წნევის) სითხური UPLC-PDA, MS მეთოდით ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში იდენტიფიცირებულ იქნა 21 ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთი: 1 ორგანული მჟავა, 3 ფენოლკარბონმჟავა და 17 ფლავონოიდი. მიღებული მონაცემები ავლენს მნიშვნელოვან განსხვავებებს ნაყოფისა და ფოთოლის ფიტოქიმიურ შემადგენლობაში: ვაშლის მჟავა (m/z 132.95) გამოვლინდა ორივე ნიმუშში. ფენოლკარბონმჟავებიდან: ქინაქინის (m/z 191.03) და ელავის მჟავა (m/z 300.83) ორივე ნაწილში დაფიქსირდა. გალის მჟავა (m/z 168.82) მხოლოდ ნაყოფში იდენტიფიცირებულ იქნა. ფლავონოიდური ნაერთებიდან: გალოკატექინი (m/z 304.89) და იზორამნეტინი (m/z 314.85) ორივე ნიმუშში იყო წარმოდგენილი. ეპიგალოკატექინი (m/z 304.78), კატექინი (m/z 288.88) და პროციანიდინები (m/z 476.80, 576.95) მხოლოდ ნაყოფში გამოვლინდა. ფოთოლი გამოირჩეოდა გალის მჟავას ჰექსოზიდისა და კასუარიქტინის შემცველობით. განსაკუთრებით აღსანიშნავია იზორამნეტინის გლიკოზიდების (m/z 476.99, 593.03, 623.01, 623.15) დომინირება ნაყოფში, ხოლო კემფეროლ-3-O-რუთინოზიდი (m/z 593.03) მხოლოდ ფოთოლში იდენტიფიცირებულ იქნა. ეს შედეგები მნიშვნელოვანია ქაცვის სამკურნალო და კვების პროდუქტებში

გამოყენების პერსპექტივის შესაფასებლად, განსაკუთრებით ანტიოქსიდანტური და ფარმაკოლოგიური თვისებების გათვალისწინებით.

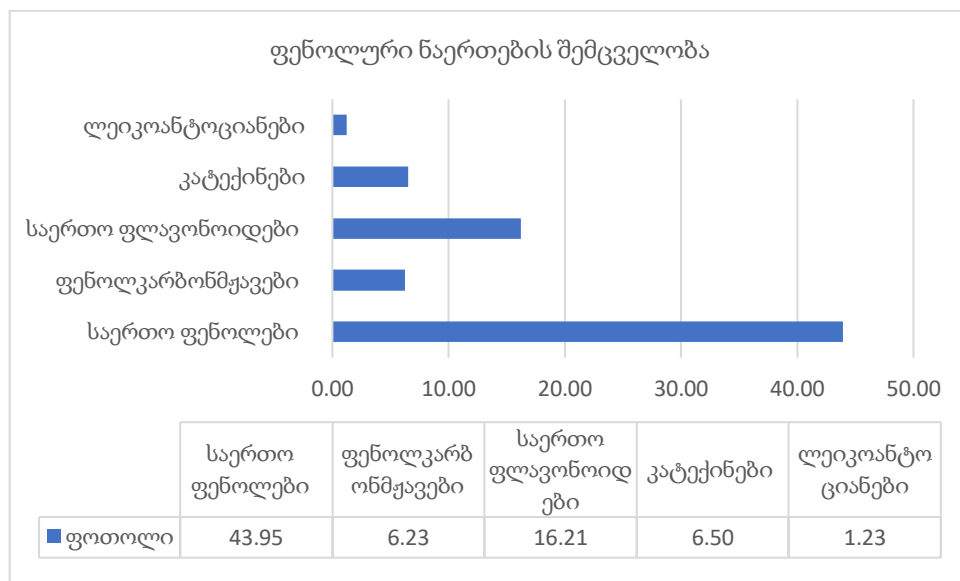
2.6. ქაცვის ნაყოფისა და ფოთლის ფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი ანალიზი

ქრომატოგრაფიული ანალიზის შედეგები გვიჩვენებს რომ მცენარის ნაყოფი და ფოთოლი განსაკუთრებით მდიდარია ბიოლოგიურად აქტიური ფენოლური ნაერთებით.

ფენოლური ნაერთები და ფლავონოიდები ცნობილია თავისი ანტიოქსიდანტური, ანთების საწინააღმდეგო და ანტიმიკრობული თვისებებით. კატექინები და ლეიკოანტოციანები, რომლებიც ფლავონოიდების ქვეჯგუფებს წარმოადგენენ, ასევე გამოირჩევიან მაღალი ბიოლოგიური აქტივობით. ამ ნაერთების რაოდენობრივი

განსაზღვრა ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში აუცილებელია მათი კვებითი და სამკურნალო ღირებულების შესაფასებლად.

ამ კვლევის მიზანია სპექტრული მეთოდების გამოყენებით განისაზღვროს საერთო ფენოლების, ფენოლკარბონმჟავების, საერთო ფლავონოიდების, კატექინების და ლეიკოანტოციანების რაოდენობა ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში. გარდა ამისა, კვლევის ფარგლებში განისაზღვრება ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რომელიც წარმოადგენს ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ფუნქციურ მახასიათებელს.



დიაგრამა 1. ქაცის ფოთოლში ფენოლური ნაერთების შემცველობა

ქაცვის ფოთოლში საერთო ფენოლები წარმოდგენილია 43,95 მგ/გ, ფენოლკარბონმჟავები 6,23 მგ/გ, საერთო ფლავონოიდები 16,21 ერთეულით. ფლავონიდებუდან კატექინები არის 6,50 და ლეიკოანტოციანები 1,23 მგ/გ ერთეულით. ფლავონოიდებში წარმოდგენილი სხვაობა 8,48 მგ/გ -ის რაოდენობით ეკუთვნის ფოთოლში იდენტიფიცირებულ სხვა ფლავონოიდებს (დიაგრამა 1).

საერთო ფენოლების შემცველობა სხვადასხვა ტერიტორიაზე აღებულ ნაყოფში მერყეობს 19,90 – 30,58 მგ/გ ფარგლებში, მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით, შედარებით მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა ახალციხის ნიმუშში 34,94 მგ/გ. საერთო ფენოლებიდან ფენოლკარბონმჟავები შემცველობა 2,24-დან 3,43 -მდეა მგ/გ, ფლავონოიდების კონცენტრაცია დაახლოებით 10-ჯერ უფრო მეტია 16,72 – 27,01 მგ/გ, ვდრე ფენოლკარბონმჟავების.

სხვადასხვა გეოგრაფიული წარმოშობის ქაცვის ნაყოფში ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების რაოდენობრივი ანალიზით გამოავლინდა მნიშვნელოვანი ვარიაციები საერთო ფენოლების, ფენოლკარბონმჟავების, ფლავონოიდების, კატექინებისა და ლეიკოანტოციანების შემცველობაში.

საერთო ფენოლების კონცენტრაცია ნაყოფებში მერყეობდა 19.90-დან 30.58 მგ/გ-მდე მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით. გამონაკლისს წარმოადგენდა ახალციხის ნიმუში, სადაც დაფიქსირდა მნიშვნელოვნად მაღალი მაჩვენებელი - 34.94 მგ/გ. რაც შეიძლება გამოწვეულ იყოს ახალციხის რეგიონის ნიადაგისა და კლიმატური პირობების პოტენციურ გავლენაზე ფენოლური ნაერთების სინთეზში. ფენოლკარბონმჟავების შემცველობა ნაყოფებში მნიშვნელოვნად დაბალი იყო და მერყეობდა 2.24-დან 3.43 მგ/გ-მდე. ფლავონოიდების კონცენტრაცია ნაყოფებში დაახლოებით 10-ჯერ აღემატებოდა ფენოლკარბონმჟავების შემცველობას და მერყეობდა 16.72-დან 27.01 მგ/გ-მდე. რაოდენობის ასეთი მაჩვენებლები მიუთითებს ფლავონოიდების დომინირებაზე ქაცვის ნაყოფში და მნიშვნელოვან წილად განსაზღვრავს მათ ანტიოქსიდანტურ თუ სხვა ბიოლოგიურ აქტივობას.

ქაცვის ნედლ ნაყოფში ფენოლების რაოდენობრივი შემცველობა

ცხრილი 6

ნიმუშის აღების ადგილი	საერთო ფენოლები მგ/გ (მშრალ მასაზე გდაანგ)	ფენოლკარბონმჟავები მგ/გ (მშრალ მასაზე გდაანგ)	საერთო ფლავონოიდები მგ/გ (მშრალ მასაზე გდაანგ)
ერგე	19.90±0.117	2.24±0.089	16.72±0.165
თხილნარი	23.96±0.123	2.60±0.101	18.57±0.177
ახალციხე	34.94±0.202	3.43±0.144	27.01±0.2
თერჯოლა	30.58±0.188	3.12±0.174	26.85±0.245

ფლავონოიდების ქვეჯგუფებიდან იდენტიფიცირდა კატექინები (2.44-4.10 მგ/გ) და ლეიკოანტოციანები (11.38-18.78 მგ/გ). კატექინების შემცველობა მცირედით განსხვავდებოდა ნიმუშებს შორის, შედარებით მაღალი მაჩვენებლები დაფიქსირდა თერჯოლისა (3.66 მგ/გ) და ახალციხის (4.10 მგ/გ) ნიმუშებში. ლეიკოანტოციანების შემთხვევაშიც მსგავსი ტენდენცია გამოვლინდა: ერგე (11.38 მგ/გ), თხილნარი (13.08 მგ/გ), ახალციხე (18.78 მგ/გ) და თერჯოლა (16.44 მგ/გ) (ცხრილი 6 და 7).

ქაცვის ნედლეულ ნაყოფში კატექინებისა და ლეიკოანტოციანების შემცველობა

ცხრილი 7

ნიმუშის აღების ადგილი	კატექინები მგ/გ (მშრალ მასაზე გდანგარიშებით)	ლეიკოანტოციანები მგ/გ (მშრალ მასაზე გდანგარიშებით)
ერგე	2.44±0.062	11.38±0.045
თხილნარი	2.95±0.052	13.08±0.047
ახალციხე	4.10±0.075	18.78±0.061
თერჯოლა	3.66±0.066	16.44±0.032

ქაცვის ნაყოფის ანტიოქსიდანტური აქტივობა

ცხრილი 8

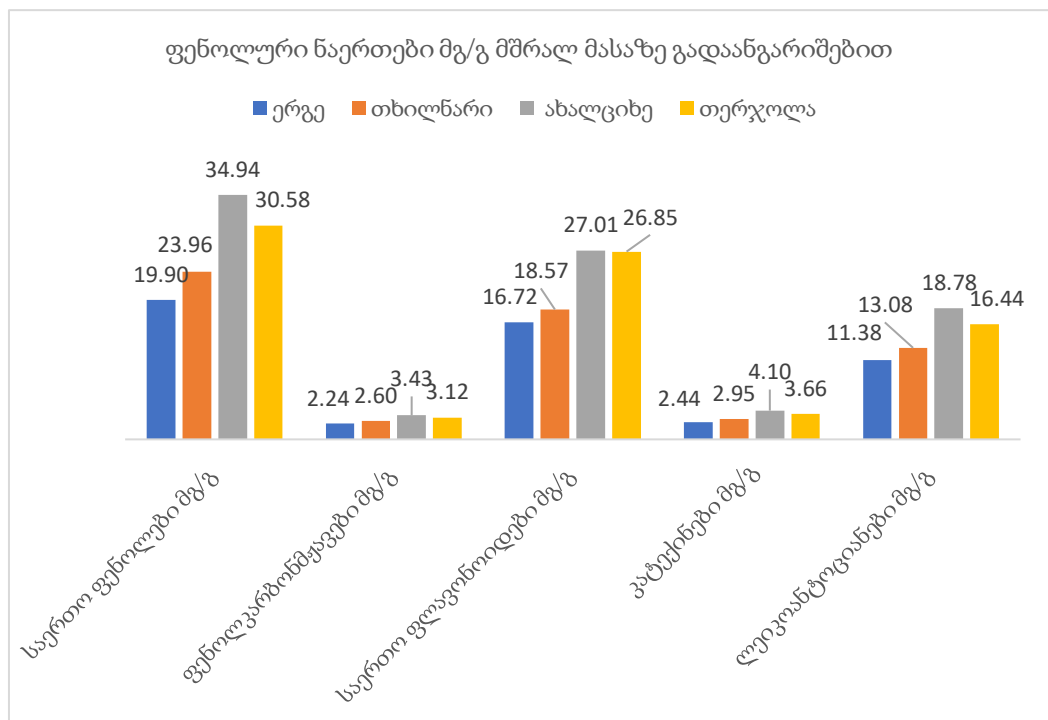
ნიმუშის აღების ადგილი	DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირება მგ ნიმუშის მიერ	DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირება - ფარდობითი აქტივობა (როგორც 1-ის ფარდობა)
ერგე	6.15±0.032	0.16
თხილნარი	4.188±0.05	0.24
ახალციხე	2.881±0.041	0.35
თერჯოლა	3.702±0.026	0.27

ანტიოქსიდანტური აქტივობა შეფასდა DPPH რადიკალის ინჰიბირების მეთოდით და წარმოდგენილია ორი ფორმით: პირველი, DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებისთვის საჭირო ნიმუშის მასა (მგ), და მეორე, ფარდობითი ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რომელიც გამოხატავს პირველი მაჩვენებლის უკუპროპორციულ დამოკიდებულებას. შედეგებმა აჩვენა, რომ ახალციხის ნიმუშს, რომელიც გამოირჩეოდა საერთო ფენოლების მაღალი შემცველობით, ჰქონდა ყველაზე მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ამ ნიმუშისთვის DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებისთვის საჭირო იყო მხოლოდ 2.881 მგ ნიმუში. ეს მიუთითებს, რომ

ახალციხის ქაღვის ნაყოფი შეიცავს ანტიოქსიდანტების მაღალ კონცენტრაციას. სხვა ნიმუშებთან შედარებით, თერჯოლის ნიმუშისთვის DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებისთვის საჭირო იყო 3.702 მგ ნიმუში, თხილნარისთვის - 4.188 მგ, ხოლო ერგესთვის - 6.15 მგ. ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ ამ ნიმუშებს ჰქონდათ შედარებით დაბალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რაც შეესაბამება მათში ფენოლური ნაერთების დაბალ შემცველობას (ცხრილი 8).

ზოგადად, რაც უფრო მაღალია ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების, განსაკუთრებით ფენოლური ნაერთების, კონცენტრაცია ნიმუშში, მით უფრო ნაკლები ნიმუშის მასაა საჭირო DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებისთვის. ეს მიუთითებს უკუპროპორციულ დამოკიდებულებაზე ნაერთების კონცენტრაციასა და ინჰიბირებისთვის საჭირო ნიმუშის მასას შორის. ფარდობითი ანტიოქსიდანტური აქტივობის მაჩვენებელი გამოყენებულ იქნა იმისთვის, რომ ნათლად წარმოჩენილიყო პირდაპირპროპორციული დამოკიდებულება საერთო ფენოლების კონცენტრაციასა და ანტიოქსიდანტურ აქტივობას შორის. ფარდობის მაჩვენებელი აადვილებს მონაცემების ინტერპრეტაციას.

დიაგრამა 2 ნათლად ასახავს სხვადასხვა ტერიტორიაზე აღებულ ნაყოფებში საერთო ფენოლების, ფენოლკარბონმჟავების, ფლავონოიდების, კატექინებისა და ლეიკოანტოციანების შემცველობას.



დიაგრამა 2. საქართველოს სხვადასხვა ტერიტორიაზე აღებული ქაცვის ნაყოფში ფენოლური ნაერთების შემცველობა

სპექტრული მეთოდებით ჩატარებულმა რაოდენობრივმა ანალიზმა გამოავლინა მნიშვნელოვანი განსხვავებები ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების შემცველობაში ქაცვის ფოთოლსა და სხვადასხვა გეოგრაფიული წარმოშობის ნაყოფებში (დიაგრამა 2. კვლევამ აჩვენა, რომ ქაცვის ფოთოლი და ნაყოფი წარმოადგენს ფენოლური ნაერთებით, განსაკუთრებით ფლავონოიდებით, მდიდარ ნედლეულს. ფოთოლი გამოირჩევა ფენოლური ნაერთების უფრო მაღალი კონცენტრაციით, ვიდრე ნაყოფი. ნაყოფში ფენოლური ნაერთების შემცველობა მნიშვნელოვნად ცვალებადობს გეოგრაფიული წარმოშობის მიხედვით, რაც მიუთითებს გარემო ფაქტორების გავლენაზე მათ სინთეზზე. ახალციხის ნიმუში გამოირჩევა ფენოლური ნაერთების მაღალი შემცველობით და ანტიოქსიდანტური აქტივობით.

2.7. ქაცვის ნაყოფის ლიპიდური ნაერთების ინოვაციური კვლევები და მათი

გამოყენება ოფთალმოლოგიურ მალამოებში

ქაცვის ნაყოფის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მოპოვების მეთოდებს მნიშვნელოვანი გავლენა აქვს ექსტრაქტის ხარისხსა და შემადგენლობაზე, წინამდებარე კვლევის მიზანია ქაცვის ნაყოფის ლიპიდური ბუნების ნაერთების ოპტიმიზირებული და ეკოლოგიურად სუფთა ("მწვანე") ექსტრაქციის მეთოდის შემუშავება და მიღებული ექსტრაქტის შემადგენლობის შესწავლა აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით. ეს მიდგომა ხელს შეუწყობს ქაცვის ნაყოფის ლიპიდური ფრაქციის, როგორც პოტენციური ოფთალმოლოგიური სამკურნალო საშუალების, შემდგომ შესწავლასა და დახასიათებას. ქაცვის ნაყოფის ლიპიდური კომპონენტების შესწავლა განხორციელდა აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის (GC) მეთოდით.

ცხიმოვანი მჟავების GC ანალიზისთვის, მოვახდინეთ მათი წინასწარი დამუშავება, ეთერიფიკაცია, რაც ზრდის მათ აქროლადობას და აუმჯობესებს დაყოფის ეფექტურობას. ეთერიფიცირებული ცხიმოვანი მჟავების მეთილის ეთერები შევიყვანეთ GC-ში, სადაც ხდება მათი გაჩაღება და დეტექტირება ალური იონიზაციის დეტექტორის (FID) გამოყენებით.

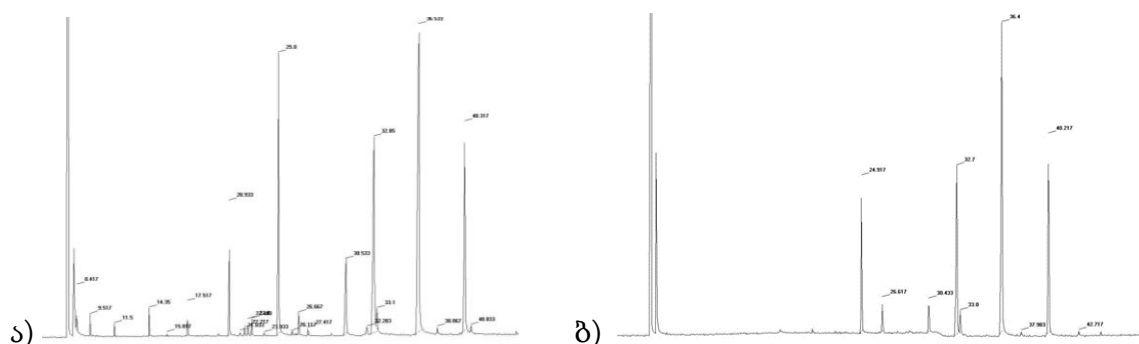
ქაცვის ნაყოფის ლიპიდური კომპონენტების დეტალური ანალიზი აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ხელს შეუწყობს ნაყოფის ბიოლოგიური აქტივობის სრულყოფილად შესწავლას და ახალი ფუნქციური საკვები და ფარმაცევტული პროდუქტების შემუშავებას.

კარბონმჟავების შემადგენლობის განსაზღვრა განხორციელდა აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით, TRACE™ 1310 Gas Chromatograph (Thermo Scientific)-ის გამოყენებით. ქრომატოგრაფიული დაყოფა განხორციელდა კაპილარულ სვეტზე Agilent J&W CP-Sil 88 for FAME GC Column/CP7489, რომლის პარამეტრები იყო: სიგრძე 100 მ, შიდა დიამეტრი 0.25 მმ და უძრავი ფაზის ნაწილაკების ზომა 0.20 მკმ.

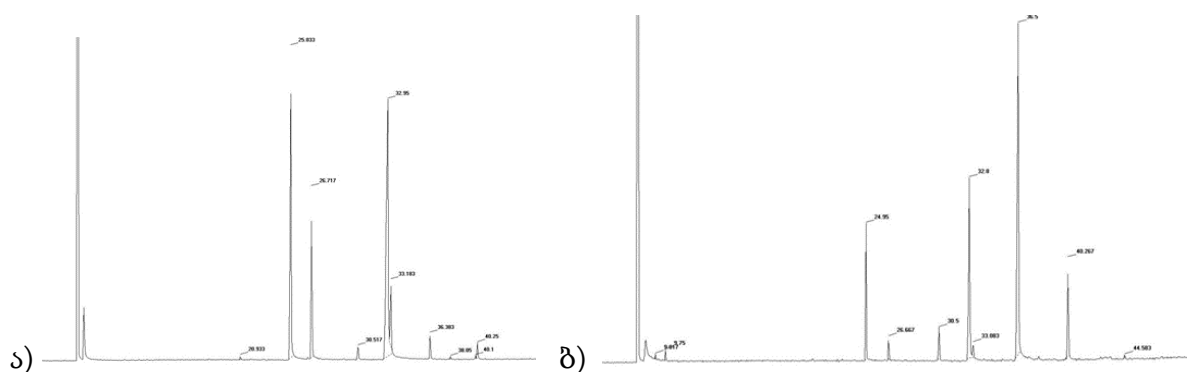
ლიპიდური ბუნების ნაერთების გაზურ-სითხური ქრომატოგრაფიისთვის საჭიროა ნიმუშების ეთერიფიკაცია. ამ მიზნით, ნიმუშები წინასწარ გაიფილტრა მექანიკური მინარევების მოსაშორებლად. შემდეგ, 1 მლ ნიმუში გადატანილ იქნა ცენტრიფუგის

სინჯარაში, სადაც დაემატა 0.5 მლ 2 ნორმალური KOH-ის 96% სპირტხსნარი (შესაძლებელია ეთანოლის ან მეთანოლის გამოყენება). ამის შემდეგ, დაემატა 10 მლ ჰექსანი (საერთო მოცულობა 11.5 მლ). ნარევი ინტენსიურად იქნა შერეული სრულ გახსნამდე (მინიმუმ 30 წამის განმავლობაში) და დაცენტრიფუგირდა 1 წუთის განმავლობაში 13500 ბრ/წთ-ზე. საკვლევი ნიმუშის 1.0 მკლ ინჟექტირება განხორციელდა SGE Analytical Science-ის 10 მკლ მიკროშპრიცის გამოყენებით ნიმუშის ზედა ფრაქციიდან. ინჟექტორის ტემპერატურა შენარჩუნებული იყო 260°C-ზე. ნიმუშის სვეტში შეყვანისას, ჰელიუმის ნაკადში განხორციელდა დაყოფა თანაფარდობით 1/20. მოძრავი ფაზის, ჰელიუმის, ნაკადის სიჩქარე შეადგენდა 5.21 ქრომატოგრაფიული დაყოფა განხორციელდა ტემპერატურული გრადიენტის გამოყენებით, რომელიც სამ ეტაპად იყო დაყოფილი. პირველ ეტაპზე, ტემპერატურა შენარჩუნებული იყო 120°C-ზე 8 წუთის განმავლობაში. მეორე ეტაპზე, ტემპერატურა გაიზარდა 180°C-მდე 8°C/წთ სიჩქარით და შენარჩუნდა 18 წუთის განმავლობაში. მესამე ეტაპზე, ტემპერატურა გაიზარდა 230°C-მდე 3°C/წთ სიჩქარით და შენარჩუნდა აღნიშნულ ტემპერატურაზე 13 წუთის განმავლობაში. ქრომატოგრაფიული ანალიზის საერთო ხანგრძლივობამ შეადგინა 61.17 წუთი.

ქრომატოგრაფიული დაყოფის შედეგად მიღებული კარბონმჟავების მეთილის ეთერების დეტექტირება განხორციელდა ალური იონიზაციის დეტექტორის გამოყენებით. დეტექტორის ტემპერატურა შენარჩუნებული იყო 300°C-ზე. წყალბადის მიწოდება შეადგენდა 40 მლ/წთ-ს, ჰაერის მიწოდება 400 მლ/წთ-ს, ხოლო გამომავალი აირების განდევნა ხორციელდებოდა ჰელიუმის ნაკადით 25 მლ/წთ სიჩქარით.



სურათი 43. ქაცვის ნაყოფიდან სოქსლეტის მეთოდითა (ა) და ულტრაბჟერიით ზონდით (ბ) მიღებული ზეთის ცხიმოვანი მჟავების ქრომატოგრამა



სურათი 44. ქაცვის ნაყოფიდან ცივი დაწნეხითა (ა) და ზეკრიტიკული წყლით (ბ) მიღებული ზეთის ცხიმოვანი მჟავების ქრომატოგრამა

კომპონენტების იდენტიფიკაცია, რომლებიც გამოვლინდა ქრომატოგრაფიული ანალიზის შედეგად, განხორციელდა სტანდარტული ნიმუშის, Supelco 37 Component FAME Mix (პროდუქტის ნომერი: CRM47885, პარტიის ნომერი: LRAD3869), გამოყენებით, რომლის შემადგენლობაც წინასწარ იყო ცნობილი.

კვლევის მიზანი იყო ქაცვის ნაყოფიდან მიღებული ზეთის ცხიმოვანი მჟავების ექსტრაქციის ოთხი განსხვავებული მეთოდის შედარებითი ანალიზი: სოქსლეტის ექსტრაქცია (მეთოდი 1, ექსტრაგენტი ჰექსანი) (სურათი 43), ულტრაბერითი ზონდირება (მეთოდი 2, ექსტრაგენტი 50% ეთანოლი) (სურათი 43), ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია (მეთოდი 3) (სურათი 44) და ცივი დაწნეხა (მეთოდი 4) (სურათი 44). კვლევის ფარგლებში განხორციელდა ცხიმოვანი მჟავების იდენტიფიკაცია და რაოდენობრივი განსაზღვრა. თითოეული მეთოდით მიღებული ზეთი გამოირჩეოდა განსხვავებული ცხიმოვანი მჟავების მრავალფეროვნებით. სულ იდენტიფიცირებულია 28 კომპონენტი, აქედან 5 უცნობი ნაერთია. იდენტიფიცირებულია ნაჯერი ცხიმოვანი მჟავები: Butyric acid methyl ester (4:0), Caproic acid methyl ester (6:0), Caprylic acid methyl ester (8:0), Capric acid methyl ester (10:0), Undecanoic acid methyl ester (C11:0), Lauric acid methyl ester (C12:0), Myristic acid methyl ester (C14:0), Pentadecanoic acid methyl ester (C15:0), Palmitic acid methyl ester (C16:0), Stearic acid methyl ester (C18:0), Heptadic acid methyl ester (C17:0), Arachidic acid methyl ester (C20:0). ტრანს-უჯერი ცხიმოვანი მჟავა Elaidic acid methyl ester (C18:1n9t) და მონოუჯერი ცხიმოვანი მჟავა: Myristoleic acid methyl ester (C14:1), Palmitoleic acid

methyl ester (C16:1) და Oleic acid methyl ester (C18:1n9c). პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავა Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c), α -Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c) (ცხრილი 9). მონაცემების ანალიზით დადგინდა, რომ დაბალმოლეკულური ცხიმოვანი მჟავები (ბუტირის, კაპრონის, კაპრილის, კაპრინის, უნდეკანოინის, ლაურინის) მხოლოდ სოქსლეტის ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში გამოვლინდა, რაც მიუთითებს ამ მეთოდის უნიკალურ ექსტრაქციის ხერხზე. მირისტინის მჟავა სოქსლეტის ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში ყველაზე მაღალი კონცენტრაციით იყო წარმოდგენილი (4.371), ხოლო ცივ დაწნეხვის ზეთში მცირე რაოდენობით (0.200).

ქაფის ნაყოფიდან სხვადასხვა მეთოდით მიღებული ზეთის ცხიმოვანი მჟავები

ცხრილი 9

ცხიმოვანი მჟავების შემცველობა %						
№	ნივთიერების დასახელება	შეკავების დრო (წთ)	სოქსლეტის მეთოდი	ულტრაბგერითი ზონდი	ზევრიტიკული წყლით	ცივი დაწნეხით
1	Butyric acid methyl ester (4:0)	8.417	1.038±0.01	1.005±±0.01	0	0
2	Caproic acid methyl ester (6:0)	9.750	0.612±0.01	0.817±0.01	0. 764	0
3	Caprylic acid methyl ester (8:0)	11.500	0.337±0.005	0.361±0.004	0	0
4	Capric acid methyl ester (10:0)	14.350	0.747±0.01	0.853±0.01	0	0
5	Undecanoic acid methyl ester (C11:0)	15.817	0.069±0.001	0	0	0
6	Lauric acid methyl ester (C12:0)	20.933	0.966±0.01	0.836±0.01	0	0
7	Myristic acid methyl ester (C14:0)	20.917	4.371±0.04	0.090	0	0.200
8	Unknown	21.833	0.086±0.001	0	0	0
9	Unknown	22.217	0.203±0.004	0	0	0
10	Myristic acid methyl ester (C14:1)	22.483	0.471±0.005	0	0	0

11	Pentadecanoic acid methyl ester (C15:0)	22.800	0.506±0.01	0	0	0
12	Unknown	23.833	0.064±0.001	0	0	0
13	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	25.000	16.317±0.04	10.164	10.121	29.102
14	Unknown	26.117	0.105±0.001	0	0	0
15	Palmitoleic acid methyl ester (C16:1)	26.667	1.024±0.01	2.121	1.605	12.844
16	Heptadic acid methyl ester (C17:0)	27.417	0.280±0.003	0	0	0
17	Stearic acid methyl ester (C18:0)	30.500	5.808±0.04	2.948	3.038	1.192
18	Elaidic acid methyl ester (C18:1n9t)	32.283	0.537±0.01	0	0	0
19	Oleic acid methyl ester (C18:1n9c)	32.800	20.359±0.04	21.377	25.498	48.127
20	Unknown	33.083	0.960±0.01	1.558	1.116	5.137
21	Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c) ω6	36.400	30.724±0.04	46.512	48.335	41.998
22	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	38.067	0.228±0.005	0.229	0	0.113
23	cis-11-Eicosenoic acid methyl ester (C21:1)	40.100	0	0	0	0.181
24	α-Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c) ω3	40.300	13.871	14.740	9.331	10.106
25	Unknown	40.833	0.317	0	0	0
26	cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester (C20:2)	42.800	0	0.127	0	0
27	Behenate	44.567	1.038±0.01	0.133	0.192	0
28	acid methyl ester (C24:0)	49.900	0.612±0.01	0.817±0.01	0	0

პალმიტინის მჟავა ცივი დაწნევის ზეთში ყველაზე მაღალი კონცენტრაციით იყო წარმოდგენილი (29.102 %), ხოლო სხვა მეთოდებით მიღებულ ზეთებში შედარებით ნაკლები (10.121-16.317 %). პალმიტოლენის მჟავა ცივი დაწნევის ზეთში ყველაზე მაღალი კონცენტრაციით იყო წარმოდგენილი (12.844%), ხოლო სოქსლეტის ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში ყველაზე დაბალი (1.024%). სტეარინის მჟავა სოქსლეტის ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში ყველაზე მაღალი მაჩვენებლით გამოირჩეოდა (25.808), ხოლო ცივ დაწნევის ზეთში ყველაზე დაბალი (1.192%). ოლეინის მჟავას კონცენტრაცია ცივი დაწნევის ზეთში ყველაზე მაღალი იყო (48.127%), ხოლო სოქსლეტის ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში შედარებით დაბალი (20.359%). ლინოლენის მჟავა ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში ყველაზე მაღალი შემცველობით იყო (48.335%) და ცივ დაწნევის ზეთში უმნიშვნელო რაოდენობით გვხვდებოდა (1.998%). ალფა-ლინოლენის მჟავა ულტრაბგერითი ზონდირებით მიღებულ ზეთში ყველაზე მაღალი კონცენტრაციით იყო წარმოდგენილი (14.740%), ხოლო ცივ დაწნევის ზეთში შედარებით ნაკლები რაოდენობით (10.106%). ელაიდინის მჟავა (ტრანს-ცხიმი) მხოლოდ სოქსლეტის ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში გამოვლინდა (0.537%). ბეჰენატი (Behenate) ყველაზე მაღალი მაჩვენებლით ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციით მიღებულ ზეთში დაფიქსირდა (0.192%) (ცხრილი 9).

სოქსლეტის ექსტრაქცია იძლევა ცხიმოვანი მჟავების ყველაზე მრავალფეროვან სპექტრს, მაგრამ შეიცავს ტრანს-ცხიმებს და დაბალმოლეკულურ მჟავებს. სოქსლეტის მეთოდს გააჩნია მნიშვნელოვანი ნაკლოვანებები, მათ შორის ხანგრძლივი ექსტრაქციის დრო (18 საათი) და ტოქსიკური ორგანული გამხსნელის (ჰექსანის) გამოყენება, რაც არ შეესაბამება მწვანე ქიმიის პრინციპებს. ულტრაბგერითი ზონდირების მეთოდი გამოირჩევა ომეგა-3 და ომეგა-6 ცხიმოვანი მჟავების მაღალი გამოსავლიანობით. ულტრაბგერითი ზონდირების მეთოდი წარმოადგენს მწვანე ექსტრაქციის მეთოდს, რომელიც იყენებს შედარებით ნაკლებად ტოქსიკურ გამხსნელს, 50% ეთანოლს, და მნიშვნელოვნად ამცირებს ექსტრაქციის დროს (30 წუთი). ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია ეფექტურია ომეგა-6-ის ექსტრაქციისთვის

და ეკოლოგიურად სუფთაა. ცივი დაწნევის მეთოდი იძლევა ოლეინის მჟავას მაღალ კონცენტრაციას, მაგრამ ომეგა-3-ის გამოსავლიანობა დაბალია.

ქაცვის ნაყოფის ბიოაქტიური ნაერთების შემცველი მალამოს დამზადებისათვის ექსტრაქციის მეთოდის შერჩევა უნდა ეფუძნებოდეს კონკრეტულ მიზანს - მაქსიმალურად გაიზარდოს ისეთი ცხიმოვანი მჟავების შემცველობა, რომლებსაც გააჩნიათ გამოხატული რეგენერაციული და ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება თვალის ზედაპირულ პოსტტრავმულ ნაწიბურებზე.

ქაცვის ნაყოფის ბიოაქტიური ნაერთების ოფთალმოლოგიური გამოყენების მიზნით მალამოს ფორმულირებისა და მისი თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების რეგენერაციაზე ზემოქმედების შესწავლის ფარგლებში ჩატარებულმა ექსტრაქციის მეთოდების შედარებითმა ანალიზმა ცხადყო, რომ თითოეული მეთოდი (სოქსლეტის ექსტრაქცია, ულტრაბგერითი ზონდირება, ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია და ცივი დაწნეხა) მნიშვნელოვნად განსხვავდება მიღებული ცხიმოვანი მჟავების შემცველობის მიხედვით.

კვლევამ აჩვენა, რომ ულტრაბგერითი და ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციის მეთოდები უზრუნველყოფს ანთების საწინააღმდეგო და რეგენერაციული თვისებების მქონე - Oleic acid methyl ester (C18:1n9c), α -Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c) (ომეგა-3) და Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c) (ომეგა-6) მაღალ შემცველობას. ეს კი გადამწყვეტია თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების სამკურნალოდ.

ცივი დაწნევის მეთოდით მიღებული ექსტრაქტი ასევე ხასიათდება α -Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c) (ომეგა-3), Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c) (ომეგა-6) და Oleic acid methyl ester (C18:1n9c) მნიშვნელოვანი კონცენტრაციით. აღნიშნული ცხიმოვანი მჟავების კომბინაცია შესაძლოა ხელი შეუწყოს დაზიანებული ქსოვილების აღდგენასა და ნაწიბურების წარმოქმნის შემცირებას.

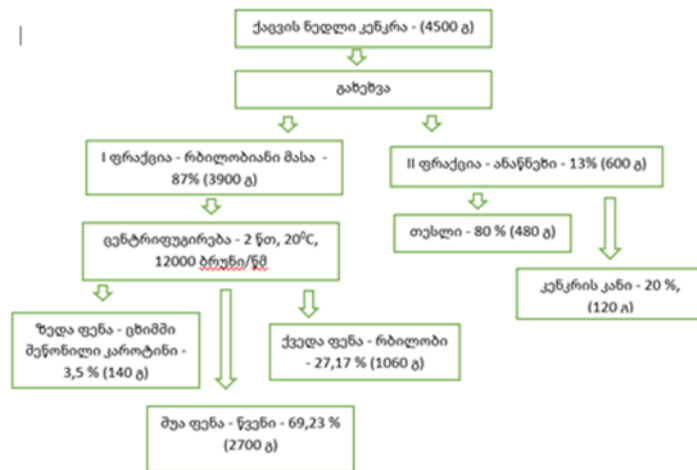
მიუხედავად იმისა, რომ სოქსლეტის ექსტრაქცია გვთავაზობს ფართო სპექტრის ცხიმოვანი მჟავების მიღების შესაძლებლობას, ტრანს-ცხიმების წარმოქმნისა და ეკოლოგიური ასპექტების გათვალისწინებით, მისი გამოყენება მალამოს დასამზადებლად შეიძლება იყოს ნაკლებად სასურველი.

შესაბამისად, ულტრაბგერითი ზონდირებისა და ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციის მეთოდებით მიღებული ექსტრაქტები, ისევე როგორც ცივი დაწნეხის ზეთი, პერსპექტიულია შემდგომი კვლევებისთვის, რომლებიც მიმართული იქნება მათ ეფექტურობაზე თვალის ზედაპირული დაზიანებების რეგენერაციის პროცესში.

3. ქაცვის ნაყოფის კომპლექსური გადამუშავება და ანარჩენების ვალორიზაცია

კვების მრეწველობის ნარჩენები, რომლებიც მოიცავს ორგანულ და არაორგანულ მასალებს, წარმოადგენს სერიოზულ პრობლემას, როგორც ეკოლოგიური, ასევე ეკონომიკური თვალსაზრისით. კვების მრეწველობაში ნარჩენები წარმოიქმნება პროცესის სხვადასხვა ეტაპზე, ნედლეულის წარმოებიდან პროდუქციის შეფუთვამდე. ძირითადი წყაროებია: სასოფლო-სამეურნეო და სასმელების წარმოების ნარჩენები. მსოფლიო სამეცნიერო კვლევები ნარჩენების მართვის სხვადასხვა მიდგომას გვთავაზობს, რომლებიც შემდეგნაირად შეიძლება დაჯგუფდეს: ნარჩენების პრევენცია (წარმოების პროცესების ოპტიმიზაცია ნარჩენების წარმოქმნის შესამცირებლად), პროდუქტის ვარგისიანობის ვადის გახანგრძლივება, შეფუთვის ოპტიმიზაცია და მომხმარებელთა ცნობიერების ამაღლება საკვების ნარჩენების შემცირების შესახებ. ასევე, ნარჩენების ღირებულ პროდუქტებად, მათ შორის სხვადასხვა დანიშნულების პრეპარატებად გარდაქმნა მნიშვნელოვან მიდგომას წარმოადგენს. აღნიშნული ნარჩენები მდიდარია ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთებით, როგორიცაა ფენოლური ნაერთები, ვიტამინები და ცხიმოვანი მჟავები. კვლევის მიზანს ქაცვის ნარჩენებიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობების დადგენა და ნაერთების იდენტიფიკაცია წარმოადგენდა. ნაყოფის გადამუშავება წარმოებდა ლაბორატორიაში, ნახევრად საწარმოო პირობებთან მიახლოებულ გარემოში (სურათი 45). გადასამუშავებლად აღებულ იქნა 4500 გ ქაცვის კენკრა (ნედლი). სახეხში (პომიდვრის გასახეხად განკუთვნილი სახეხი) გატარების შემდეგ მიღებულ იქნა 2 ფრაქცია: რბილობიანი მასა - 3900 გ (კენკრის საერთო მასის 87%), რომელიც ძირითადად შედგება მეზოკარპისა და ენდოკარპისაგან, და ანაწნები - 600 გ (კენკრის საერთო მასის 13%). იგი ძირითადად შეიცავს კენკრის კანსა და თესლს (სურათი 46).

ნაერთების იდენტიფიკაცია განხორციელდა ქრომატოგრაფიული და სპექტროსკოპული მეთოდების გამოყენებით. კვლევის ფარგლებში გამოყენებული იქნა მწვანე ტექნოლოგიები, მათ შორის ულტრაბერითი ზონდით და ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია, ასევე განხორციელდა მათი შედარება კლასიკურ ექსტრაქციის მეთოდთან (მაცერაცია).



სურათი 45. ქაფვის ნაყოფის გადამუშავების სქემა



სურათი 46. გადასამუშავებლად აღებული ქაფვის კენკრა (ა) და კენკრის გადამუშავება

(ბ): 1 - რბილობიანი ფრაქცია და 2 - ანაწნები (თესლი და კენკრის კანი)

რბილობიანი ნაწილის (3900გ) შემდგომი დამუშავებისა და ფრაქციონირებისთვის განხორციელდა ცენტრიფუგირება 12000 ბრუნი/წუთში სიჩქარით, 20°C ტემპერატურაზე, 2 წუთის განმავლობაში. ცენტრიფუგირების პროცესი ეფუძნებოდა ფრაქციების კომპონენტების სიმკვრივისა და ხსნადობის სხვაობას. შედეგად, რბილობიანი ფრაქცია დაექვემდებარა ფაზურ დამუშავებას და გამოვლინდა სამი მკაფიოდ გამოიჯნული ფენა (სურათი 46).

ზედა ლიპოფილური ფენა (140 გ, რბილობიანი ფრაქციის 3.59%): ეს ფენა ძირითადად შედგება ცხიმში შეწონილი კაროტინოიდებისგან. კაროტინოიდები, როგორც ტეტრატერპენოიდული ლიპოფილური პიგმენტები, ხასიათდებიან მაღალი ხსნადობით არაპოლარულ გამხსნელებში, როგორიცაა ცხიმები, რამაც განაპირობა მათი კონცენტრირება ზედა ფაზაში (სურათი 46).

შუა წყალში ხსნადი ფენა (2700 გ, რბილობიანი ფრაქციის 69.23%): ეს ფენა წარმოადგენდა წყალხსნარს, რომელიც შეიცავდა ჰიდროფილურ კომპონენტებს, როგორიცაა შაქრები, ორგანული მჟავები და სხვა წყალში ხსნადი ნაერთები (სურათი 46).

ქვედა ნალექი (1060 გ, რბილობიანი ფრაქციის 27.17%): ეს ფენა შედგებოდა მექანიკური ნაწილაკებისა და უხსნადი კომპონენტებისგან, როგორიცაა უჯრედის კედლის ფრაგმენტები, ბოჭკოები და სხვა მყარი ნაწილაკები, რომელთა სიმკვრივე აღემატებოდა წყალს (სურათი 47).



სურათი 47. რბილობიანი ფრაქციის ცენტრიფუგირებული მასის ა) ზედა ფენა - ცხიმში შეწონილი კაროტინის ფრაქცია, 2) შუა ფენა - წყალში ხსნადი და 3) ქვედა ფენა - ნალექი

შემდგომ ეტაპზე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ქაცვის კენკრის გადამუშავების შედეგად წარმოქმნილი ნარჩენების (რბილობი, ანაწნები) ვალორიზაცია, მათგან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობების დადგენა და ნაერთების იდენტიფიკაცია, რათა შემდგომში ამ ნაერთების გამოყენებით შეგვექმნა ანტიოქსიდანტებით მდიდარი პრეპარატები.

**3.1. ქაცვის რბილობიდან ულტრაბგერითი ზონდის გამოყენებით ბიოლოგიურად
აქტიური პრეპარატების მიღება და მისი გამოყენების პერსპექტივები
ოფთალმოლოგიური მალამოებში**

კაროტინოიდების რაოდენობრივი ანალიზის შედეგად დადგინდა, რომ ნედლ ქაცვის კენკრაში მათი შემცველობა 3.051 მგ/გ-ს შეადგენს მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით. კაროტინოიდების უმეტესი ნაწილი (2.745 მგ/გ) კონცენტრირდება რბილობიან ფრაქციაში, ხოლო ანაწნების ფრაქციაში მათი შემცველობა 0.236 მგ/გ-ია (ცხრილი 10). რბილობში არსებული კაროტინოიდების თითქმის ორი მესამედი (1.817 მგ/გ) წარმოდგენილია ზედა ცენტრიფუგირებულ ფენაში, რომელიც ცხიმთან შეწონილ ლიპოფილურ ფრაქციას (პრეპარატი 1) წარმოადგენს. მიღებულ პრეპარატში ცხიმის შემცველობა ნედლი ნაყოფის 3%-ია. კაროტინოიდების უმნიშვნელო რაოდენობა (0.046 მგ/გ) რჩება წვენიში, ხოლო 0.868 მგ/გ - ცენტრიფუგირებულ რბილობის მასაში (ცხრილი 11).

ქაცვის ნედლი ნაყოფის გადამუშავება - სახეხ მანქანაში ფრაქციონირება

ცხრილი 10

25.11.2024 - ახალციხე	ფრაქციები %- ული გამოსავლიანობის მიხედვით	კაროტინების შემცველობა		კაროტინების შემცველობა თითოეული ფრაქციის გამოსავლიანობის გათვალისწინებით C მგ/გ მშრალ მასაზე
		C მგ/გ ნედლ მასაზე	C მგ/გ მშრალ მასაზე	
კენკრა	100	0.704±0,02	3.051±0,031	3.051±0,031
რბილობი	87	0.728±0,018	3.155±0,033	2.745±0,028
ანაწნები ნედლი - კენკრის კანი და თესლი	13	1.431±0,024	1.817±0,022	0.236±0,01

რბილობიანი ფრაქციის ცენტრიფუგირების შედეგად მიღებული ფრაქციების %-ული
გამოსავლიანობა და კაროტინების შემცველობა

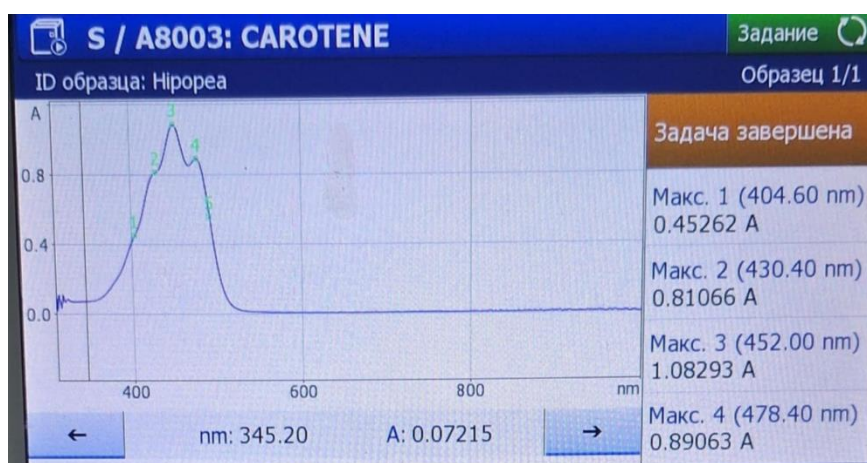
ცხრილი 11

I ფრაქცია - რბილობი	ფრაქციები %- ული გამოსავლიანობის მიხედვით	კაროტინების შემცველობა	
		С მკგ/გ ნედლ მასაზე	С მკგ/გ მშრალ მასაზე
ცენტრიფუგირებული - ზედა ფენა - კაროტინი და ცხიმი	3.58±0,038	1.431±0,022	1.817±0,03
ცენტრიფუგირებული - შუა ფენა - წვენი	69.23±0,354	0.004±0,0008	0.046±0,0009
ცენტრიფუგირებული - ქვედა ფენა - ნალექი რბილობით	27.17±0,235	0.205±0,004	0.868±0,01

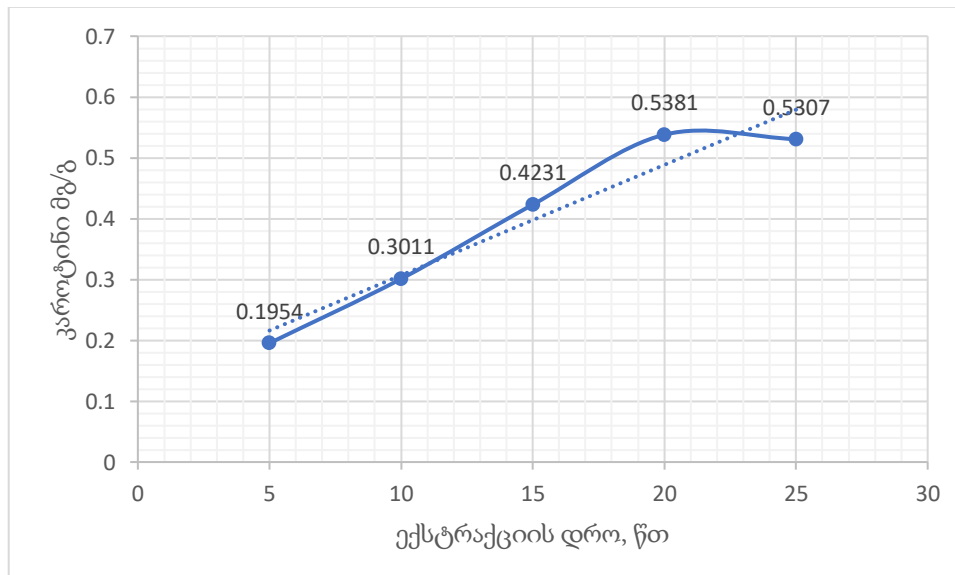
ცენტრიფუგირებული რბილობის მასიდან კაროტინოიდების მაქსიმალური ექსტრაქციისთვის გამოყენებულ იქნა ულტრაბგერითი ექსტრაქცია "მწვანე" ექსტრაგენტების გამოყენებით. ულტრაბგერითი ზონდის მეთოდით რბილობის ექსტრაქცია განხორციელდა მცენარეული ცხიმისა და სხვადასხვა კონცენტრაციის ეთანოლის გამოყენებით. ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობების შესარჩევად შესწავლილ იქნა შემდეგი პარამეტრები: მყარი მასისა და ექსტრაგენტის თანაფარდობა, ექსტრაქციის ტემპერატურა, ხანგრძლივობა და ექსტრაგენტის ტიპი.

ექსტრაქციის ეფექტურობა განისაზღვრა ცხიმში ექსტრაგირებული კაროტინოიდების სკანირებით ულტრაიისფერ და ხილულ არეში ექსტრაქციის ყოველ 5 წუთში (სურათი 48). ექსტრაქციის პირველ 20 წუთში კაროტინოიდების შემცველობა 0.1954-დან 0.5381-მდე გაიზარდა, ხოლო შემდგომ 5 წუთში პიგმენტების კონცენტრაციის ზრდა არ დაფიქსირდა (დიაგრამა 3). ექსტრაქციის დასრულების შემდეგ ექსტრაგირებული მასა ცენტრიფუგირებულ იქნა 2 წუთის განმავლობაში 20°C-ზე და 8000 ბრუნი/წუთში სიჩქარით. ცენტრიფუგირების შედეგად ცხიმი გამოეყო რბილობიან მასას, მასში ექსტრაგირებული კაროტინოიდების შედეგად ზეთის შეფერილობა მკვეთრი ნარინჯისფერი იყო, ხოლო რბილობიანი მასა - გაუფერულებული (სურათი 38 (გ)).

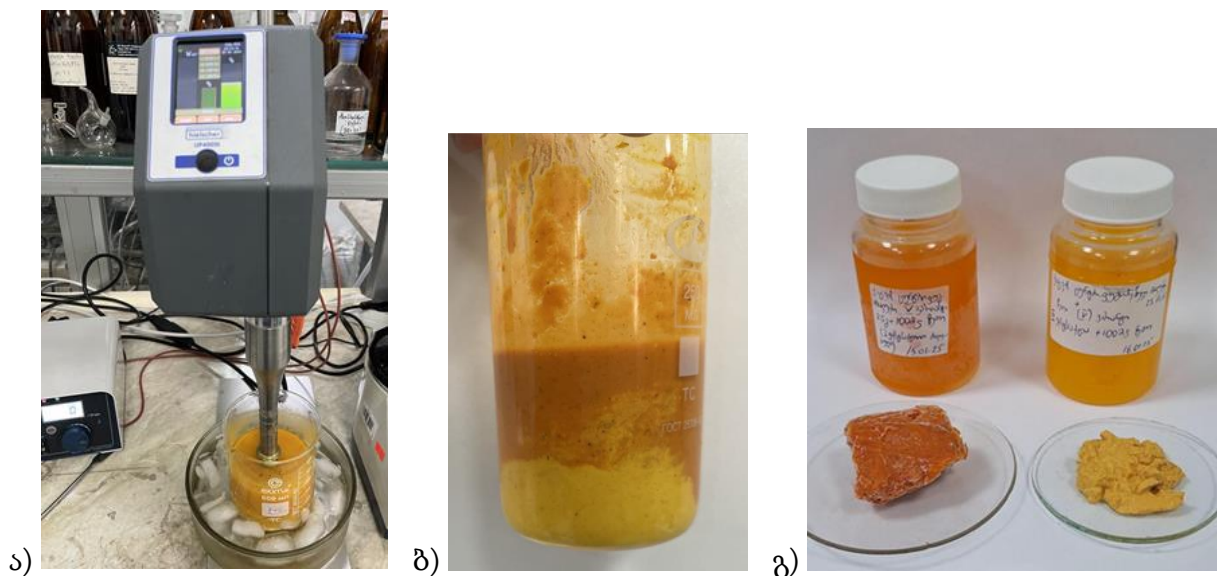
მცენარეული ცხიმის გამოყენებით ულტრაბერითი ზონდის მეთოდით ექსტრაქციის ოპტიმალურ პირობებად განისაზღვრა: მყარი მასისა (ქაცვის ცენტრიფუგირებული რბილობი - ნედლი მასა) და მზესუმზირის ზეთის თანაფარდობა 1:1, ტემპერატურა 30-35°C (ტემპერატურის რეგულირება ხდებოდა ყინულოვანი აბაზანის გამოყენებით), ამპლიტუდა 50%, ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 20 წუთი (დიაგრამა 3) (სურათი 49).



სურათი 48. კაროტინის სკანირება



დიაგრამა 3. ქაცვის ცენტრიფუგირებული რბილობიდან ულტრაბერითი ზონდით კაროტინების ექსტრაქციის მრუდი



სურათი 49. ქაცვის ცენტრიფუგირებული რბილობიდან კაროტინების ექსტრაქცია ულტრაბგერითი ზონდის მეთოდით მზესუმზირის ზეთის გამოყენებით: ა) ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაქცია, ბ) ექსტრაქციის შემდეგ ცენტრიფუგირებული მასა, გ) ექსტრაქციამდე და ექსტრაქციის შედეგად მიღებული სხვაობა;

კაროტინოიდებით გამდიდრებულ მზესუმზირის ზეთსა და მზესუმზირის ზეთის საწყის ნიმუშში განისაზღვრა ხარისხობრივი მაჩვენებლები: თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების შემცველობა, ზეჟანგური რიცხვი, n -ანიზიდინის მაჩვენებელი, კაროტინოიდების შემცველობა და ანტიოქსიდანტური აქტივობა.

საკონტროლო მზესუმზირის ზეთის ნიმუშთან შედარებით, მჟავიანობა სტაბილური იყო, ზეჟანგური და n -ანიზიდინის რიცხვები შემცირდა, კერძოდ, მჟავიანობის მაჩვენებელი 0.05% (საკონტროლო ზეთი) და 0.06%-ია (გამდიდრებულ ზეთში). ზეჟანგური რიცხვი 2.8-დან 2.56-მდე, ხოლო n -ანიზიდინის რიცხვი 3.73-დან 3.22-მდე შემცირდა (ცხრილი 12). ეს მიუთითებს იმაზე, რომ კაროტინოიდებით გამდიდრებულ ზეთში აღდეჰიდური ნაერთებისა და პეროქსიდების რაოდენობა ნაკლებია საკონტროლო ზეთის ნიმუშთან შედარებით, რაც გაზრდის ზეთის ოქსიდაციურ სტაბილურობას.

ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის შედეგად დადგინდა, რომ კაროტინოიდებით გამდიდრებული ზეთი ხასიათდებოდა 3.5-ჯერ უფრო მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით საკონტროლო ნიმუშთან შედარებით. კერძოდ, 0.1 მმოლ/ლ DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებისთვის საჭირო იყო 0.33 მგ

კაროტინოიდებით გამდიდრებული ზეთი, ხოლო საკონტროლო ზეთის შემთხვევაში - 1.17 მგ (ცხრილი 2). აღნიშნული შედეგები მიუთითებს იმაზე, რომ ქაცვის რბილობიდან ზეთში ექსტრაქტირებული კაროტინოიდები (საშუალოდ 0.5941 მგ/გ მშრალ მასაზე) მნიშვნელოვნად ზრდის ზეთის ანტიოქსიდანტურ აქტივობას (ცხრილი 12).

კაროტინით გამდიდრებული მზესუმზირის ზეთის ხარისხობრივი მაჩვენებლები

ცხრილი 12

ხარისხობრივი მაჩვენებლები	მზესუმზირის ზეთის საკონტროლო ნიმუში	კაროტინით გამდიდრებული მზესუმზირის ზეთი
Free Fatty Acid (as Oleic acid, MW 282)	0,05±0.003	0,06±0.003
Peroxide Value	2,80±0.047	2,56±0.03
Anisidine value	3,73±0.041	3,22±0.04
კაროტინი მგ/გ	-	0,05941±0.001
ანტიოქსიდანტური აქტივობა, 0.1 მმოლ/ლ DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირება მგ ნიმუშის მიერ	1,17±0.018	0,33±0.005

მოცემული მონაცემებით შეიძლება დავასკვნათ, რომ კაროტინოიდების დამატებამ გამოიწვია ზეთის ხარისხის გარკვეული გაუმჯობესება. მჟავიანობისა და ზეჟანგური რიცხვის შემცირება მიუთითებს იმაზე, რომ კაროტინოიდებმა გამოავლინეს გარკვეული ანტიოქსიდანტური აქტივობა და შეანელეს ზეთის დაჟანგვის პროცესი. ქაცვის რბილობიდან ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციისათვის ულტრაბერითი ზონდის მეთოდით ასევე გამოყენებულ იქნა სხვადასხვა კონცენტრაციის ეთანოლი. საწყის ეტაპზე დაიტესტა ექსტრაგენტის ეფექტურობა, კერძოდ ექსტრაქტენტად აღებულ იქნა: წყალი, 25%, 50% და 75% ეთანოლი. ასევე დადგენილ იქნა, მყარი მასისა და ექსტრაგენტის თანაფარდობა, ოპტიმალურად განისაზღვრა 1:20-თან

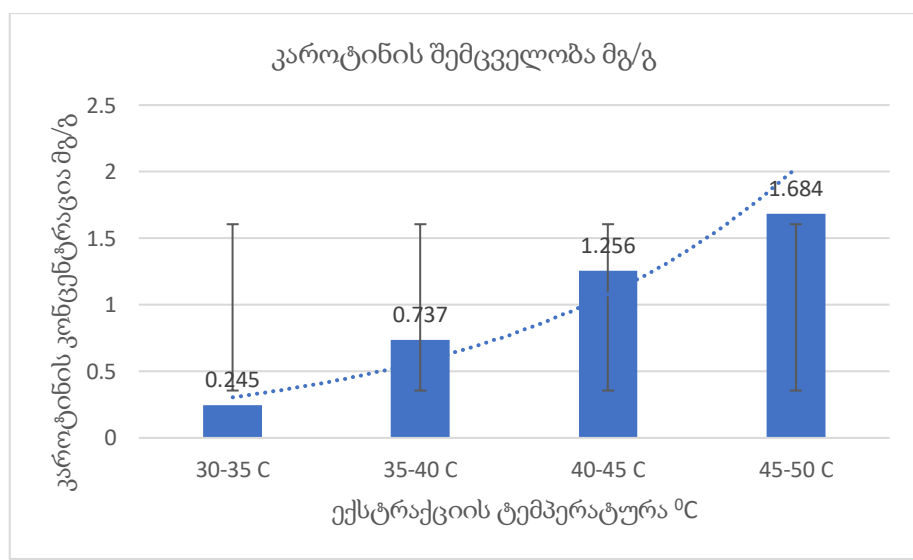
თანაფარდობა. საექტრაქციო მასა ექსტრაგენტთან ერთად ექვემდებარებოდა ჰომოგენიზაციას 7000 ბრუნზე 1 წთ-ის განმავლობაში. ექსტრაქციისათვის ასევე შერჩეულ იქნა 4 ტემპერატურული რეჟიმი: 30 – 35° C, 35 – 40° C, 40 – 45° C და 45 – 50° C. პირველ ეტაპზე განსაზღვრულ იქნა ოპტიმალური ექსტრაგენტის ტიპი, ექსტრაქტრაგირებული ნივთიერებების, ანტიოქსიდანტური აქტიურობის, კაროტინისა და ჯამური ფენოლური ნაერთების შემცველობის მიხედვით. ეთანოლის კონცენტრაციის მატებასთან ერთად ექსტრაგირებული ნივთიერებების შემცველობა არ იზრდება, მაგრამ მატულობს კაროტინებისა და ფენოლების რაოდენობა, შესაბამისად მაღალია ანტიოქსიდანტური აქტიურობაც. უმაღლესი შედეგები მიღებულ იქნა 75% ეთანოლის გამოყენებისას, სადაც კაროტინების კონცენტრაცია შეადგენდა 1.684 მგ/გ-ს, ხოლო ფენოლების - 8.213 მგ/გ-ს. კაროტინების შემცველობა თითქმის 2ჯერ ნაკლებია 50% ეთანოლის ექსტრაქტში (0,703 მგ/გ) და გაცილებით ნაკლებია 25% ეთანოლისა (0,282 მგ/გ) და წყლიანი ექსტრაქტის (0,121 მგ/გ) შემთხვევაში. საერთო ფენოლების შემცველობა მატულობს ეთანოლის კონცენტრაციის პარალელურად (2,324 -დან 8,213 მგ/გ-მდე) (ცხრილი 13). შესაბამისად მაღალია ანტიოქსიდანტური აქტიურობის მახასიათებელიც, კერძოდ ნიმუშის 0,163 მგ-ია (75% ეთანოლის ექსტრაქტის შემთხვევაში) საკმარისი DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირებისათვის, მაშინ როცა სხვა ექსტრაქტების შემთხვევაში ინჰიბირებისათვის საჭირო ნიმუშის მასა იზრდება 0,239 მგ-დან 0,547 მგ-მდე. ეს მონაცემები მიუთითებს იმაზე, რომ 75% ეთანოლი არის ოპტიმალური ექსტრაგენტი ქაცვის რბილობიდან ბიოაქტიური ნაერთების მისაღებად (ცხრილი 13).

კაროტინების თერმოლაბილური ბუნების გათვალისწინებით, ექსტრაქციის ოპტიმალური ტემპერატურის დასადგენად ჩატარდა ექსპერიმენტები სხვადასხვა ტემპერატურულ რეჟიმში. შედეგად დადგინდა, რომ კაროტინების მაქსიმალური ექსტრაქცია მიიღწევა 45-50°C ტემპერატურაზე. ტემპერატურის ზრდასთან ერთად კაროტინების ექსტრაქცია მნიშვნელოვნად გაიზარდა 0.245 მგ/გ-დან (30-35°C) 1.684 მგ/გ-მდე (45-50°C) (დიაგრამა 4).

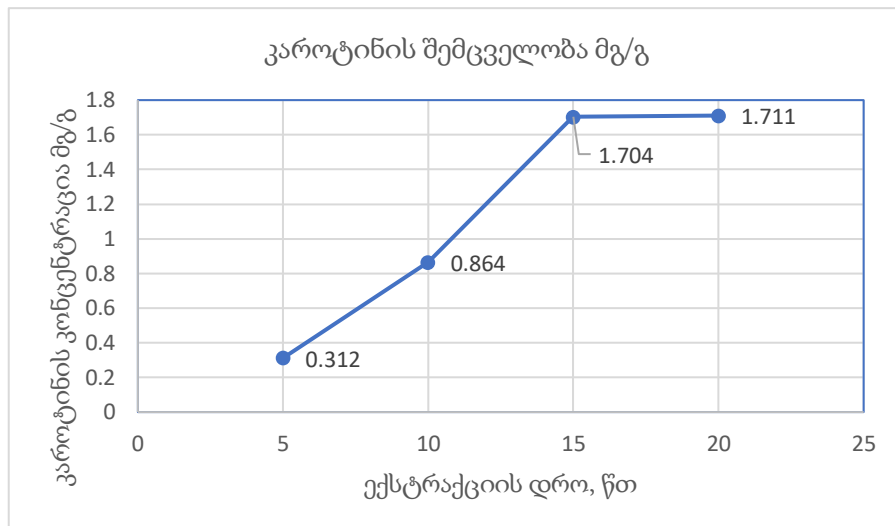
ქაცვის რბილობიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ულტრაბგერითი ზონდით
ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობების დადგენა

ცხრილი 13

ექსტრაგენტი	ექსტრაქტულის ნივთიერებები %	კაროტინი მგ/გ მშრალ მასაზე გადაანგარისებით	ექსტრაგირებული ფენოლები მგ/გ მასაზე გადაანგარისებით	ანტიოქსიდანტური აქტივობა - მგ ნიმუშის მიერ DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირება
წყალი	6.61±0.111	0,121±0.015	6,324	0,647
25% ეთანოლი	7.31±0.121	0,282±0.01	9,805	0,470
50% ეთანოლი	7.29±0.081	0,703±0.02	13,661	0,239
75% ეთანოლი	7.21±0.123	1.684±0.054	24.213	0,163



დიაგრამა 4. ულტრაბგერითი ზონდით კაროტინის ექსტრაქციის ოპტიმალური
ტემპერატურული რეჟიმის დადგენა



დიაგრამა 5. ულტრაბგერითი ზონდით კაროტინის ექსტრაქციის ოპტიმალური დროის დადგენა

ოპტიმალური ექსტრაქციის პირობების დასადგენად, განისაზღვრა როგორც ტემპერატურის, ასევე დროის გავლენა ექსტრაქციის ეფექტურობაზე. ექსტრაქციის დროის ოპტიმიზაციისთვის ჩატარდა ექსპერიმენტები სხვადასხვა დროის ინტერვალებში. შედეგად დადგინდა, რომ კაროტინების მაქსიმალური გამოსავალი მიიღწევა 15 წუთიანი ულტრაბგერითი დამუშავებისას. მომდევნო 5 წუთის განმავლობაში კაროტინების რაოდენობა აღარ გაზრდილა (დიაგრამა 5). შედეგად დადგინდა, რომ 75% ეთანოლით ულტრაბგერითი ექსტრაქცია 45-50°C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში უზრუნველყოფს კაროტინების მაქსიმალურ გამოსავალს. უფრო ხანგრძლივი ექსტრაქცია არ იწვევს კაროტინების შემცველობის მნიშვნელოვან ზრდას, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ექსტრაქციის პროცესი დასრულებულია.



სურათი 50. ეთანოლიანი ექსტრაქტიდან 4°C ტემპერატურაზე გამოლექილი კაროტინის მასა

მიღებული ექსტრაქტიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების გამოსაყოფად, ჩატარდა ფრაქციონირების პროცესი. კერძოდ, კაროტინების იზოლირებისათვის ექსტრაქტი გაცივდა 4°C ტემპერატურაზე 24 საათის განმავლობაში (სურათი 50), რის შედეგადაც მოხდა კაროტინების გამოლექვა (სურათი 39). ფორმირებული ნალექის გამოსაყოფად ექსტრაქტი ცენტრიფუგირებული იქნა 12,000 ბრ/წთ სიჩქარით 4°C -ზე 2 წუთის განმავლობაში. მიღებული ნალექი, რომელიც შეიცავდა კაროტინებს, ლიოფილიზირებულ იქნა და მივიღეთ კაროტინების შემცველი პრეპარატი 2 (პრეპარატის მასა 15 მგ).

კაროტინების ექსტრაქციის პარალელურად 75% ეთანოლი ოპტიმალური აღმოჩნდა ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციისათვის, კერძოდ წყლით ექსტრაქციის შემთხვევაში ფენოლების შემცველობა 6,324 მგ/გ, ეთანოლის კონცენტრაციასთან ერთად ექსტრაგირებული ფენოლების რაოდენობა პროპორციულად მატულობს 25% ეთანოლის შემთხვევაში - 9,805 მგ/გ, 50% ეთანოლის შემთხვევაში - 13,661 მგ/გ და 75% ეთანოლის შემთხვევაში 24,213 მგ/გ მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით. ექსტრაგირებული ფენოლების კონცენტრაციამ შეადგენა ნაყოფში არსებული ფენოლების (ნაყოფში ფენოლების კონცენტრაცია 30,58 მგ/გ) დაახლოებით 80 % (ცხრილი 13).

ფენოლური ნაერთებით მდიდარი პრეპარატის მისაღებად, ცენტრიფუგირების შემდეგ მიღებული სუპერნატანტი კონცენტრირებული იქნა როტაციული ვაკუუმის აპარატში 40°C ტემპერატურაზე. კონცენტრატი ლიოფილიზირებული იქნა და მივიღეთ ფენოლური ნაერთებით მდიდარი პრეპარატი. 100 გ ნედლი რბილობის ექსტრაგირების შემდეგ მიღებულ იქნა 2 გ მშრალი მასა (პრეპარატი 3), რომელშიც ფენოლების კონცენტრაცია იყო 250 მგ/გ და ანტიოქსიდანტური განისაზღვრა როგორც 0,011 მგ (კერძოდ პრეპარატის 0,011 მგ იყო საკმარისი რადიკალის 50% ინჰიბირებისათვის) (ცხრილი 14).

ქაცვის ნაყოფის გადამუშავების შედეგად დარჩენილი 100 გ ცენტრიფუგირებული რბილობიდან მიღებულ პრეპარატი (2 გ მშრალი პრეპარატი) შეიცავს 500 მგ ფენოლურ

ნაერთებს, 0,69 გ ცილას, 0,102 გ პექტინს და 0,708 გ ნახშირწყლებს (ნახშირწყლების შემცველობა გამოთვლილ იქნა სხვაობით) (ცხრილი 14).

ქაცვის რბილობიდან მიღებული პრეპარატის შემადგენლობა

ცხრილი 14

100 გ ნედლი რბილობიდან მიღებული 2 გ პრეპარატის შემადგენლობა				
ფენოლები მგ/გ	ანტოქსიდანტური აქტივობა - მგ ნიმუშის მიერ DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირება	ცილა, გ	პექტინი, გ	ნახშირწყლები, გ
500±6.009	0,011±0.01	0,69±0.055	0,102±0.035	0,708±0.089

ქაცვის რბილობიდან მიღებულ იქნა ოთხი სხვადასხვა სახის პრეპარატი, რომლებიც განსხვავდებიან შემადგენლობითა და მიღების მეთოდით:

პრეპარატი 1: ლიპოფილური კაროტინოიდების კონცენტრატი (ქაცვის ზეთი), რომელიც მიღებულია ცენტრიფუგირებული ნედლი ქაცვის რბილობისგან და წარმოადგენს ცხიმთან შეწონილ ლიპოფილურ ფრაქციას (კაროტინოიდების კონცენტრაცია: 1.817 მგ/გ და ცხიმის შემცველობა 3% (ნედლი ნაყოფის)).

პრეპარატი 2: კაროტინოიდების ფხვნილი, რომელიც მიღებულ იქნა ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდით (75% ეთანოლით), რომელიც წარმოადგენს კაროტინოიდების წყაროს ფარმაცევტული და კოსმეტიკური მრეწველობისათვის. 100 გ ნედლი რბილობიდან მიღებულ იქნა 15 მგ კაროტინი.

პრეპარატი 3: ფენოლური ნაერთების ფხვნილი, რომელიც მიღებულ იქნა ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდით (75% ეთანოლით), 100 გრ ნედლი რბილობიდან მიღებულ იქნა 2 გრ მშრალი მასა რომელიც 500 მგ ფენოლურ ნაერთებს, 0,69 გ ცილას, 0,102 გ პექტინს და 0,708 გ ნახშირწყლებს. შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ფარმაცევტულ და კოსმეტიკურ მრეწველობაში, როგორც ფენოლური ნაერთების კონცენტრირებული წყარო.

ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდით ასევე მიღებულ იქნა, კაროტინოიდებით გამდიდრებული მცენარეული ზეთი (კაროტინოიდების კონცენტრაცია: 0.5941 მგ/გ მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით), გაუმჯობესებული ხარისხობრივი მაჩვენებლები (მჟავიანობის, ზეჟანგური და n-ანიზიდინის რიცხვების შემცირება) და 3.5-ჯერ უფრო მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით საკონტროლო ზეთთან შედარებით. იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს კვების მრეწველობაში, როგორც კაროტინოიდებით გამდიდრებული ზეთი.

კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ქაფვის კენკრის გადამუშავების შედეგად წარმოქმნილი ნარჩენები (რბილობი) წარმოადგენს კაროტინოიდებისა და ფენოლური ნაერთების მდიდარ წყაროს. ულტრაბგერითი ზონდირების მეთოდით და "მწვანე" ექსტრაგენტების (მცენარეული ზეთი, ეთანოლი) გამოყენებით მიღებულ იქნა კაროტინოიდებითა და ფენოლური ნაერთებით გამდიდრებული პრეპარატები. კაროტინოიდების ანტიოქსიდანტური და ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება ხელს უწყობს ოქსიდაციური სტრესისა და ანთებითი პროცესების შემცირებას თვალის ზედაპირზე, რასაც გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს ნაწიბურების ფორმირების პრევენციისა და რეგენერაციის პროცესის სტიმულირებისთვის. ფენოლური ნაერთების პრეპარატი, შეიძლება იყოს ერთ-ერთი ფუნქციური კომპონენტი ოფთალმოლოგიური მალამოს შემადგენლობაში, რომელიც ანტიოქსიდანტური თვისებების გამო, ხელს შეუწყობს უჯრედების დაცვას დაზიანებისგან და რეგენერაციას.

„მწვანე ტექნოლოგიების“ გამოყენება უზრუნველყოფს ეკოლოგიურად სუფთა და ეფექტურ მიდგომას ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მისაღებად. მიღებული შედეგები ქმნის მყარ საფუძველს შემდგომი *in vitro* და *in vivo* კვლევებისთვის, რათა შეფასდეს მიღებული პრეპარატების ეფექტურობა თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების რეგენერაციაში და დასაბუთდეს მათი გამოყენების შესაძლებლობა პრაქტიკაში.

3.2. ქაცვის ანაწნებიდან „მწვანე“ ტექნოლოგიებით ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქცია და მისი გამოყენების პერსპექტივები ოფთალმოლოგიაში

ქაცვის წვენი წარმოების შემდგომ დარჩენილი ანაწნები წარმოადგენს ცხიმებისა და ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების, მათ შორის ფენოლური ნაერთების, მნიშვნელოვან წყაროს (ცხრილი). ჩვენი კვლევის შედეგების თანახმად, ქაცვის ნედლი ანაწნები, რომელიც დაახლოებით 80% თესლისა და 20% ნაყოფის კანისგან შედგება (ცხაურის გამოყენებით - 0.5 - 1.0 მმ ზომის) (სურათი 51) (ცხრილი 15), შეიცავს 11.95%-დან 13,22%-მდე ცხიმს (ცხრილი 16) (მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით) და 0.140-დან 0.583 მგ/გ-მდე კაროტინს (მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით) (ცხრილი 15).



სურათი 51. ანაწნების ფრაქცია, რომელიც წარმოადგენს კენკრის საერთო მასის 13% შედგება კენკრის კანისა (20%) და თესლისაგან (80%)

ქაცვის ანაწნების მექანიკურად დაყოფა - ფრაქციონირება

ცხრილი 15

II ფრაქცია - ანაწნები	ფრაქციები %-ი გამოსავლიანობის ს მიხედვით	კაროტინების შემცველობა		კაროტინების შემცველობა თითოეული ფრაქციის გამოსავლიანობის გათვალისწინებით C მგ/გ მშრალ მასაზე
		C მგ/გ ნედლ მასაზე	C მგ/გ მშრალ მასაზე	
თესლი	80	0.130±0.012	0.140±0.012	0.112
კენკრის კანი	20	0.566±0.019	0.583±0.019	0.117

კაროტინების რაოდენობრივი ანალიზის შედეგად დგინდება, რომ ანაწნების ცალკეულ ფრაქციაში კაროტინების შემცველობა თითქმის ერთნაირია თესლში 0,112 მგ/გ (80%-ან გამოსავალზე გადაანგარიშებით) და 0,117 მგ/გ კანში (20%-ან გამოსავალზე გადაანგარიშებით) მშრალ მასაში (ცხრილი 15).

ცხიმის შემცველობა ქაცვის ანაწნებში სხვადასხვა მეთოდის გამოყენებით

ცხრილი 16

ნიმუში	კლასიკური მეთოდი - ჰექსანით ექსტრაქცია	ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაქცია	სუპერკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია
თესლი/კანი	11,95±0.214	7,365±0.231	10,27±0.218
თესლი	13,22±0.261	8,097±0.157	11,73±0.222

ფენოლური ნაერთების სპექტრალური ანალიზის შედეგად დგინდება, რომ ნედლი ანაწნების საერთო ფენოლური ნაერთების შემცველობა შეადგენს 89,41 მგ/გ, საიდანაც 16,95 მგ/გ მოდის ფენოლკარბონმჟავებზე და 64,71 მგ/გ - ფლავონოიდებზე. ფლავონოიდებიდან ძირითადად წარმოდგენილია კატექინები (25,90 მგ/გ) და ლეიკოანტოციანინები (44,45 მგ/გ). ქაცვის ანაწნების ექსტრაქტის ანტიოქსიდანტური აქტივობა საკმაოდ მაღალია, კერძოდ ანაწნების 0,766 მგ-ია საკმარისი DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირებისათვის (ცხრილი 17).

მიღებული შედეგების გათვალისწინებით, ჩვენი მიზანი გახდა ქაცვის ანაწნების ნარჩენების მინიმუმამდე შემცირება და მისი ღირებული კომპონენტების მაქსიმალური გამოყენება მწვანე ტექნოლოგიების საშუალებით. ამ მიზნით, ჩვენ გამოვიყენეთ ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაქცია და სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია, რომლებიც გამოირჩევიან მაღალი ეფექტურობით, სელექტიურობით და ეკოლოგიური სიწმინდით.

ექსპერიმენტის ეფექტურობა განისაზღვრა ექსტრაქციის გამოსავლიანობით, რომელიც გამოითვალა ცხიმების, კაროტინების და ფენოლური ნაერთების შემცველობის მიხედვით. ორივე მეთოდით მიღებული ექსტრაქტები დაექვემდებარა შემდგომ დამუშავებას, მათ შორის ცენტრიფუგირებას, ცხიმის გამოყოფას, კონცენტრირებას და

ლიოფილიზაციას, რათა მიღებულიყო სტაბილური და კონცენტრირებული პრეპარატები.

ქაცვი ანაწნების ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები და ანტიოქსიდანტური აქტივობა

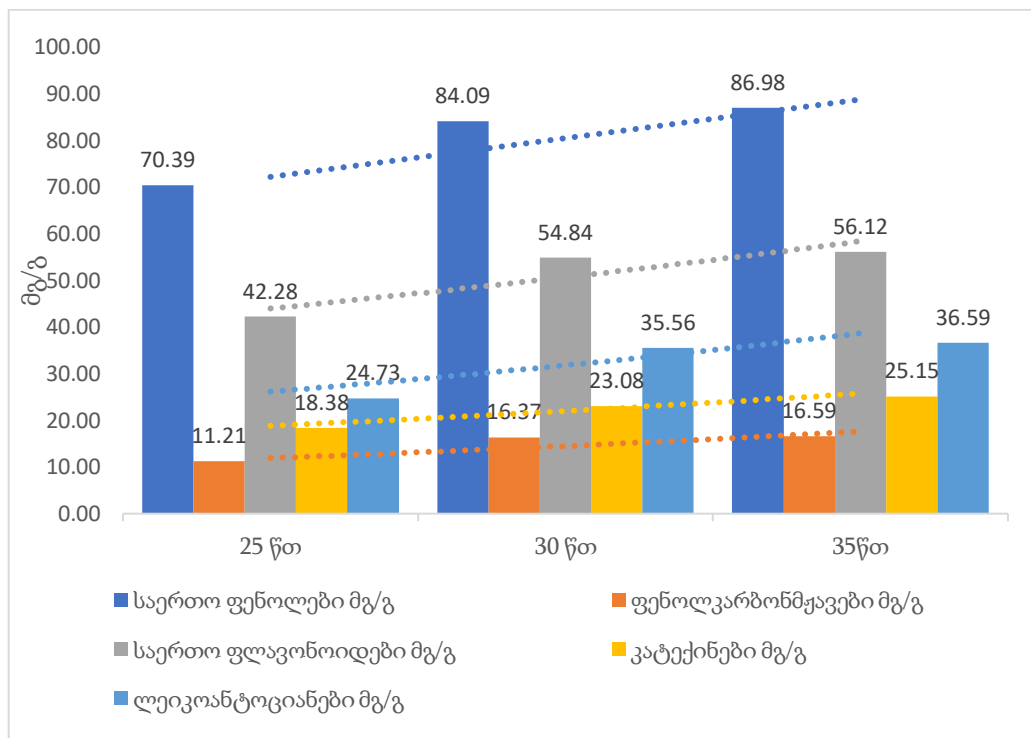
ცხრილი 17

ნაერთები და ანტიოქსიდანტური აქტივობა	ქაცვის ანაწნები (თესლი/კანი)	
	ნედლი	გამშრალი ვაკუუმში
საერთო ფენოლები მგ/გ	91.67±0.333	89.41±0.401
ფენოლკარბონმჟავები მგ/გ	18.38±0.122	16.95±0.117
საერთო ფლავონოიდები მგ/გ	70.88±0.203	64.71±0.225
კატექინები მგ/გ	29.86±0.132	25.90±0.108
ლეიკოანტოციანები მგ/გ	40.56±0.2	44.45±0.195
ანტიოქსიდანტური აქტივობა - DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირება მგ ნიმუშის მიერ	0.638±0.038	0.766±0.036

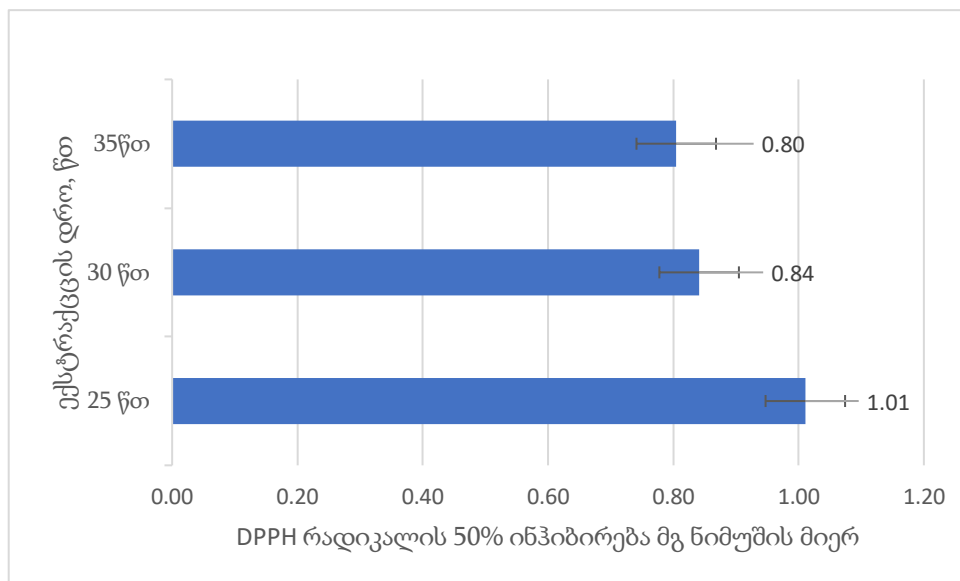
საწყის ეტაპზე ნიმუში ექსტრაგენტთან ერთად ექვემდებარებოდა ჰომოგენიზაციას 2 წთ-ის განმავლობაში ნედელის გაჯირჯვებისა და ჰიდრატაციის ხარისხის გასაუმჯობესებლად (15000 RPM - ბრუნის რაოდენობა ერთ წუთში, WITEG -ის ფორმის ჰომოგენიზატორი). ექსტრაქციისათვის ოპტიმალურად განისაზღვრა მყარი მასისა და სითხის თანაფარდობა 1: 20 - თან, ამპლიტუდა 50%, იმპულსური სამუშაო ციკლი და გამხსნელი 75 % ეთანოლი. ექსტრაქციიდან 25 წუთზე ექსტრაქტირებულ იქნა საერთო ფენოლები 70,39 მგ/გ, ფენოლკარბონმჟავები 11,21 მგ/გ, ფლავონოიდები 42,28 მგ/გ, კატექინები 18,38 მგ/გ და ლეიკოანტოციანები 24,73მგ/გ (მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით) (დიაგრამა 6). მომდევნო 5 წუთის განმავლობაში, ექსტრაქციიდან 30-ე წუთზე ამ ნაერთების შემცველობა გაიზარდა 4-დან 12-ერთეულამდე (ფენოლები 70,39-დან 84,09-მდე). ექსტრაქციის დროის შემდგომი გახანგრძლივება არ იწვევდა

ექსტრაქციის გამოსავლიანობის მნიშვნელოვან ზრდას, რის გამოც ოპტიმალური დრო განისაზღვრა 30 წუთი (დიაგრამა 6). შემდგომ ეტაპზე მოვახდინეთ ექსტრაქტის ცენტრიფუგირება 20 C ტემპერატურის პირობებში 7 000 ბრუნზე 2 წთ-ის განმავლობაში (დიაგრამა 6). პარალელურად განსაზღვრულ იქნა ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა და გამოვლინდა კორელაციური დამოკიდებულება ფენოლური ნაერთების კონცენტრაციასა და ანტიოქსიდანტურ აქტივობას შორის (დიაგრამა 7).

მიღებული ექსტრაქტი დავაყოვნეთ ოთახის ტემპერატურაზე (24 საათით) და მოხდა ცხიმის განშრევა. მიღებული ცხიმის რაოდენობამ შეადგინა 7,365 %, რაც ცხიმის თეორიულ გამოსავალს (კლასიკური, სოქსლეტის მეთოდით მიღებულ მაჩვენებელთან (11,95%) შედარებით) დაახლოებით 62% (ცხრილი 16).



დიაგრამა 6. ქაცვის ნედლი ანაწილების ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქცია ულტრაბგერითი ზონდის გამოყენებით

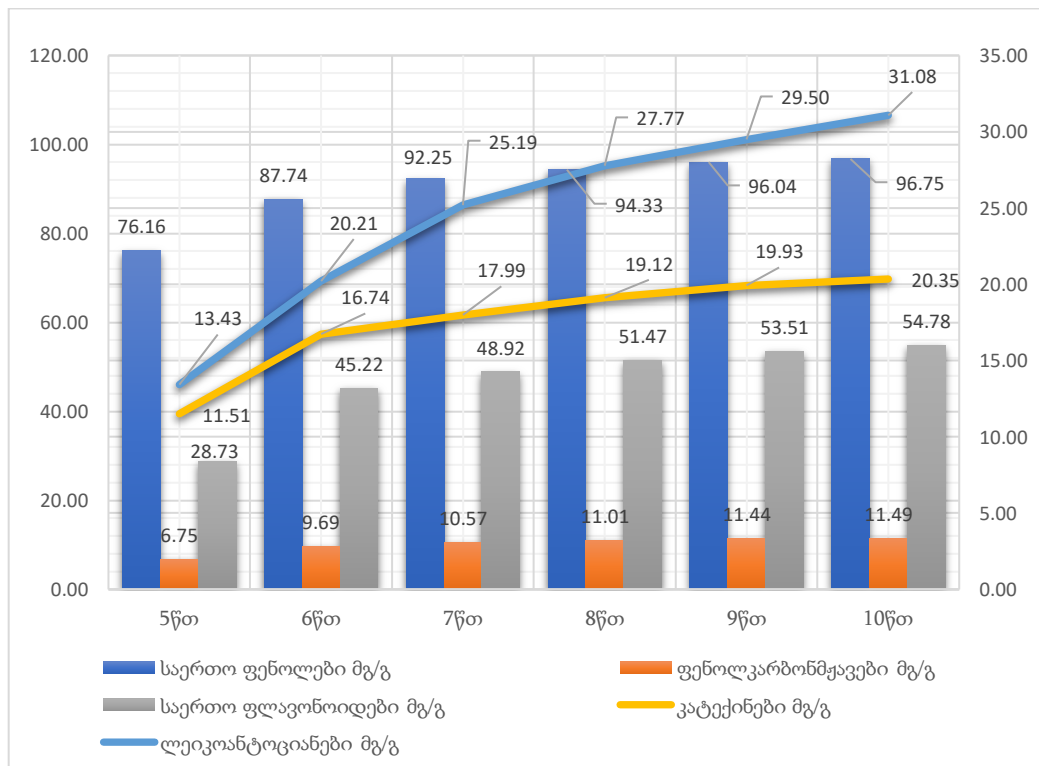


დიაგრამა 7. ქაჯვის ნედლი ანაწეხიდან ულტრაბგერითი ზონდის გამოყენებით მიღებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა

ცხიმის მოცილების შემდეგ მოვახდინეთ ექსტრაქტის დაკონცენტრირება ვაკუუმის პირობებში 45°C ტემპერატურაზე, მიღებული კონცენტრატი გავაშრეთ ლიოფილურად. 100 გ ნედლი ანაწეხიდან მიღებულ იქნა 6,72 გ ლიოფილიზირებული პრეპარატი, რომელშიც ფენოლების შემცველობა იყო 4 გ, კერძოდ 71,4 მგ/გ მშრალ მასაში.

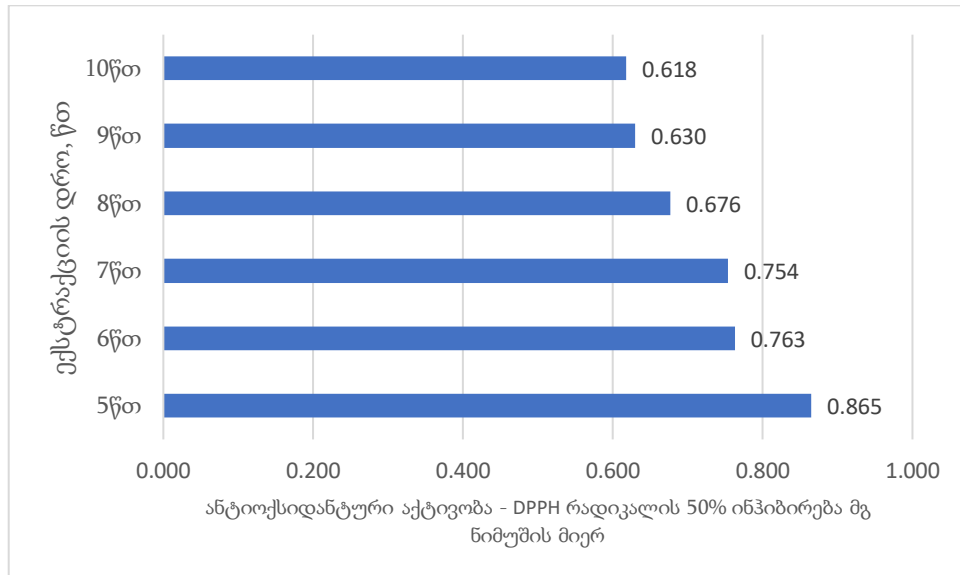
ზეკრიტიკული წყლის ექსტრაქციის პროცესში მყარი ნიმუშისა და წყლის თანაფარდობა შენარჩუნდა 1:20, რაც წინა ექსპერიმენტში გამოყენებული თანაფარდობის ტოლია. ექსტრაქციის ეფექტურობა შეფასდა ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების გამოსავლიანობით. ულტრაბგერითი ექსტრაქციისგან განსხვავებით, სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქციით 5 წუთში მიღებულ ექსტრაქტში საერთო ფენოლების შემცველობა შეადგენდა 76,16 მგ/გ (ფენოლკარბონმჟავები - 6,75 მგ/გ, ფლავონოიდები - 28,73 მგ/გ, მათ შორის კატექინები 11,51 მგ/გ და ლეიკოანტოციანინები 13,43 მგ/გ). ექსტრაქციის დროის გაზრდით 6 წუთამდე, საერთო ფენოლების შემცველობა გაიზარდა და შეადგინა 87,74 მგ/გ, ხოლო 7 წუთზე მიაღწია 92,25 მგ/გ მნიშვნელობას (დიაგრამა 8). შედეგები მიუთითებს, რომ სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქციის ოპტიმალური დრო ფენოლური ნაერთების მაქსიმალური გამოსავლიანობის მისაღებად შეადგენს 7 წუთს. ექსტრაქციის მომდევნო 3 წუთის განმავლობაში უნიშვნელოდ მატულობს ჯამური ფენოლების რაოდენობა,

დაახლოებით 5 ერთეულით (92,25-დან 96,75-მდე მგ/გ). შედეგები აჩვენებს, რომ სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია 7 წუთის განმავლობაში უზრუნველყოფს ფენოლური ნაერთების მაქსიმალურ გამოსავლიანობას (დიაგრამა 8). პარალელურად განსაზღვრულ იქნა ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა და გამოვლინდა კორელაციური დამოკიდებულება ფენოლური ნაერთების კონცენტრაციასა და ანტიოქსიდანტურ აქტივობას შორის (დიაგრამა 9). მიღებული წყლიანი ექსტრაქტის გაფიტვის შემდეგ დავაყოვნეთ ოთახის ტემპერატურაზე (24 საათით) და მოხდა ცხიმის განშრევა. მიღებული ცხიმის რაოდენობამ შეადგინა 10,27 %, რაც ცხიმის თეორიულ გამოსავალს (კლასიკური, სოქსლეტის მეთოდით მიღებულ მაჩვენებელთან (11,95%) შედარებით) დაახლოებით 86% (ცხრილი 16). მაგრამ კაროტინების შემცველობის მიხედვით სუპერკრიტიკული წყლით ექსტრაქციით მიღებულ ცხიმში არ ფიქსირდება კაროტინების შემცველობა, მაშინ როცა ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაგირებულ ცხიმში 0,105 მგ/გ-ში მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით.



დიაგრამა 8. ქაცვის ნედლი ანაწნების (თესლი/კანი) ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციის პირობები და ფენოლური ნაერთების შემცველობა

შემდგომ ეტაპზე განხორციელდა წყლიანი ექსტრაქტის კონცენტრირება ვაკუუმის პირობებში (55 °C ტემპერატურის პირობებში) და მოვახდინეთ მიღებული კონცენტრატის ლიოფილიზაცია. 100 გ ნედლი ანაწნებიდან ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციას მიღებულ იქნა თითქმის მსგავსი მასა 5,2 გ ლიოფილიზირებული პრეპარატი, რომელშიც ფენოლების შემცველობა იყო 80 მგ/გ მშრალ მასაში.



დიაგრამა 9. ქაფვის ნედლი ანაწნების (თესლი/კანი) ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა

მიღებულ პრეპარატებში ფენოლური ნაერთების თვისობრივი და რაოდენობრივი განსაზღვრის შედეგად, სულ იდენტიფიცირებულ იქნა 28 ნივთიერება, საიდანაც 4 იდენტიფიცირებული არ არის. ნივთიერებათა იდენტიფიკაციისა და რაოდენობრივი ანალიზისთვის გამოყენებული იქნა ჩვენს ხელთ არსებული სტანდარტული ნაერთები ნივთიერებათა მასის მონაცემთა ღია ბაზა (["https://metlin.scripps.edu"](https://metlin.scripps.edu)) და რეცენზირებული სამეცნიერო პუბლიკაციებიდან მოპოვებული სპექტრული მონაცემები [7; 46; 64; 141].

იდენტიფიცირებული ნივთიერებები მიეკუთვნებიან ორგანული მჟავების, ტერპენოიდების და ფლავონოიდების კლასებს. ფლავონოიდები წარმოდგენილია ფლავონოლებისა და ფლავანოლების ქვეჯგუფებით. კერძოდ, იდენტიფიცირებულ იქნა: ორგანული მჟავები: ქვინის მჟავა (Quinic acid), ვაშლის მჟავა (Malic acid), ლიმონის მჟავა (Citric acid). ფლავონოლები: კვერცეტინი (Quercetin), კვერცეტინ-3-O-რამნოზილ

გლუკოზიდი (Quercetin-3-O-rhamnosyl glucosid), იზოკვერციტრინი (Isoquercitrin),
 კამფეროლ-3-O-ჰექსოზიდ-7-O რამნოზიდი (Kaempferol-3-O-hexoside-7-O
 rhamnoside), კვერცეტინ-3-O-სოფოროზიდ-7-O რამნოზიდი (Quercetin-3-O-
 sophoroside-7-O rhamnoside), კვერცეტინ-3-O-რამნოზილ გლუკოზიდ-7-O-რამნოზიდი
 (Quercetin-3-O-rhamnosyl glucoside-7-O-rhamnoside), კამფეროლ-3-O-რუტინოზიდი
 (Kaempferol-3-O-rutinoside), კამფეროლ 3-O გლუკოზიდი (Kaempferol 3-O glucoside),
 იზორამნეტინ-3-O ნეოჰესპერიდოზიდი (Isorhamnetin-3-O neohesperidoside), რუტინი
 (Rutin), იზორამნეტინ-3-O-(6 რამნოზილ)ჰექსოზიდი (ნარცისინი) (Isorhamnetin-3-O-(6
 rhamnosyl)hexoside (Narcissin)), იზორამნეტინ-O-დიჰექსოზიდი (Isorhamnetin-O-
 dihexoside), იზორამნეტინი (Isorhamnetin) და ტანშინლაქტონის წარმოებული
 (Tanshinlactone derivative). ფლავანოლები (კატექინები): ეპიგალკატექინი
 (Epigallocatechin), გალოკატექინი (Gallocatechin), (ე)კატექინ-(ე)კატექინი ((e)Catechin-
 (e)Catechin) და კატექინი (Catechin). ქაფის ფოთოლსა და ნაყოფისაგან განსხვავებით
 თესლში იდენტიფიცირებულ იქნა 16 ახალი ნივთიერება: Citric acid (ნივთიერება 22),
 Tanshinlactone derivative (ნივთიერება 23), Quercetin-3-O-rhamnosyl glucosid
 (ნივთიერება 24), Isoquercitrin (ნივთიერება 25), Kaempferol-3-O-hexoside-7-O
 rhamnoside (ნივთიერება 26), Quercetin-3-O-rhamnosyl glucosid (ნივთიერება 27),
 Quercetin-3-O-sophoroside-7-O rhamnoside (ნივთიერება 28), Quercetin-3-O-rhamnosyl
 glucoside-7-O-rhamnoside (ნივთიერება 29), Kaempferol-3-O-rutinoside (ნივთიერება 30),
 (e)Catechin-(e)Catechin (ნივთიერება 31), Kaempferol 3-O-glucoside (ნივთიერება 32),
 Isorhamnetin-3-O neohesperidoside (ნივთიერება 33), Rutin (ნივთიერება 34),
 Isorhamnetin-3-O-(6 rhamnosyl)hexoside (Narcissin) (ნივთიერება 35), Isorhamnetin-O-
 dihexoside (ნივთიერება 36), Kaempferol-3-O-rutinoside (ნივთიერება 37) და Quercetin
 (ნივთიერება 38).

ქაფის ანაწილებიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქციისთვის
 შეფასდა "მწვანე" ექსტრაქციის ორი მეთოდი: ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაქცია
 და სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია. ულტრაბგერითი ზონდით
 ექსტრაქციისთვის, გამხსნელად გამოყენებულ იქნა წყალი და სხვადასხვა
 კონცენტრაციის ეთანოლი (25%, 50%, და 75%), რათა ოპტიმიზაცია მომხდარიყო

პოლარობის გრადიენტის მიხედვით, რაც კრიტიკულია სხვადასხვა პოლარობის მქონე ნაერთების (ფენოლური ნაერთები, კაროტინოიდები) ეფექტური ექსტრაქციისთვის. შედეგებმა აჩვენა, რომ როგორც 75% ეთანოლით ულტრაბგერითი ექსტრაქცია, ასევე სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია, იძლეოდა მსგავს მაჩვენებლებს როგორც იდენტიფიცირებული, ისე ცალკეული ნაერთების შემცველობის მიხედვით. ეს მიუთითებს, რომ ორივე მეთოდი ეფექტურია ქაფვის ანაწეხიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ექსტრაქციისთვის.

75% ეთანოლით ულტრაბგერითი ექსტრაქციის ეფექტურობა შეიძლება აიხსნას ეთანოლის პოლარობით, რაც ოპტიმალურია ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციისთვის. ულტრაბგერითი ზონდირება ხელს უწყობს უჯრედის კედლების მექანიკურ რღვევას, რაც აძლიერებს ექსტრაქციის პროცესს. სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია, რომელიც ეფუძნება წყლის უნიკალურ თვისებებს მაღალ ტემპერატურასა და წნევაზე, ასევე ეფექტური აღმოჩნდა. სუპერკრიტიკული წყლის ცვალებადი პოლარობა და მაღალი ხსნადობა საშუალებას იძლევა ექსტრაგირებულ იქნას როგორც პოლარული, ისე არაპოლარული ნაერთები. პრეპარატების გამოსავლიანობისა და მიღებული მონაცემების შედარებით ულტრაბგერითი ზონდის მეთოდით (75% ეთანოლი, 35 წუთი) 100 გ ნედლი ანაწეხიდან მიღებულ იქნა 6.72 გ ლიოფილიზირებული პრეპარატი, რომელშიც ფენოლების შემცველობა იყო 4 გ, კერძოდ 71.4 მგ/გ მშრალ მასაში, ხოლო სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქციით (წყალი, 7 წუთი) 100 გ ნედლი ანაწეხიდან მიღებულ იქნა 5.2 გ ლიოფილიზირებული პრეპარატი, რომელშიც ფენოლების შემცველობა იყო 80 მგ/გ მშრალ მასაში.

მიღებული შედეგები მიუთითებს, რომ როგორც ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაქცია 75% ეთანოლით, ასევე სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია, წარმოადგენს ეფექტურ და ეკოლოგიურად სუფთა მეთოდს ქაფვის ანაწეხიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მისაღებად. სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქციის უპირატესობა არის ნაკლები დრო და წყლის გამოყენება. ეს მეთოდები შეიძლება გამოყენებულ იქნას კვების, კოსმეტიკურ და ფარმაცევტულ მრეწველობაში ბიოლოგიურად აქტიური დანამატების შესაქმნელად.

3.3. ქაფვის თესლიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების თანმიმდევრული ექსტრაქცია სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგის (scCO₂) გამოყენებით

ტრადიციული ექსტრაქციის მეთოდები, როგორცაა ორგანული გამხსნელებით ექსტრაქცია, ხშირად იწვევს ნაერთების დეგრადაციას, შესაბამისად პროდუქტის ხარისხის დაქვეითებას და გარემოს დაბინძურებას. ამიტომ, ბოლო წლებში აქტიურად მიმდინარეობს კვლევები ინოვაციური და ეკოლოგიურად სუფთა ექსტრაქციის მეთოდების შემუშავებაზე.

SFE-ს პარამეტრები, როგორცაა წნევა, ტემპერატურა, ექსტრაქციის დრო და ნახშირორჟანგის ნაკადის სიჩქარე, მნიშვნელოვნად მოქმედებს ექსტრაქციის ეფექტურობაზე. ამიტომ, კონკრეტული ნაერთის ექსტრაქციისთვის საჭიროა პარამეტრების ოპტიმიზაცია. სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებობს მრავალი კვლევა აღნიშნულ საკითხზე SFE-ს გამოყენებით, თუმცა ოპტიმალური პარამეტრები განსხვავდება კვლევის მიზნებისა და გამოყენებული ნედლეულის მიხედვით (პირველადი (ნაყოფი) და მეორადი ნედლეული (აგროსამრეწველო ანარჩენები)).

მიუხედავად იმისა, რომ საერთაშორისო სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებობს მრავალი კვლევა აღნიშნულ საკითხზე SFE-ს გამოყენებით, საქართველოში მსგავსი კვლევები არ ჩატარებულა.

ქაფვის თესლიდან ლიპიდური, კაროტინოიდური და ფენოლური ფრაქციების თანმიმდევრული ექსტრაქცია განხორციელდა სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგის გამოყენებით. თითოეული ექსტრაქციის ეტაპი ოპტიმიზირებულ იქნა სამიზნე ნაერთების მაქსიმალური გამოსავლიანობისა და სელექტიურობის მისაღწევად. ექსტრაქციის საერთო ხანგრძლივობამ შეადგინა 180 წუთი, ხოლო ექსტრაქციის პროცესის დინამიკის მონიტორინგი ხორციელდებოდა ყოველ 15 წუთში ფრაქციების ულტრაიისფერ-ხილულ არეში სპექტრული ანალიზით. მიღებული 12 ფრაქციის თითოეულ ნიმუშში რაოდენობრივად განისაზღვრა ნაერთების შემცველობა.

პირველ ეტაპზე, ლიპიდური ფრაქციის ექსტრაქციისთვის გამოყენებულ იქნა ოპტიმიზირებული პარამეტრები: წნევა 350 ბარი, ტემპერატურა 50°C, ნაკადის სიჩქარე 20 გ/წთ და ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 60 წუთი. ფრაქციების 1-4 აწონვით დადგინდა ლიპიდური ფრაქციის გამოსავლიანობა (ცხრილი 18).

მეორე ეტაპზე, კაროტინოიდების ექსტრაქცია განხორციელდა (ფრაქცია 5-8), ოპტიმიზირებული პარამეტრებით: წნევა 500 ბარი, ტემპერატურა 50°C, ნაკადის სიჩქარე 30 გ/წთ და ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 60 წუთი (ცხრილი 18).

მესამე ეტაპზე, ფენოლური ნაერთების ექსტრაქცია განხორციელდა (ფრაქცია 9-14), კო-სოლვენტის სახით ეთანოლის გამოყენებით. ექსტრაქციის წნევა 380 ბარი, 60°C ტემპერატურა, ნახშირორჟანგის ნაკადის სიჩქარე 30 გ/წთ, ეთანოლი 10%- 20% და ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 30 - 60 წთ (ცხრილი 18).

ქაცვის თესლიდან ლიპიდური, კაროტინოიდური და ფენოლური ფრაქციების სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგით ექსტრაქციის პარამეტრები

ცხრილი 18

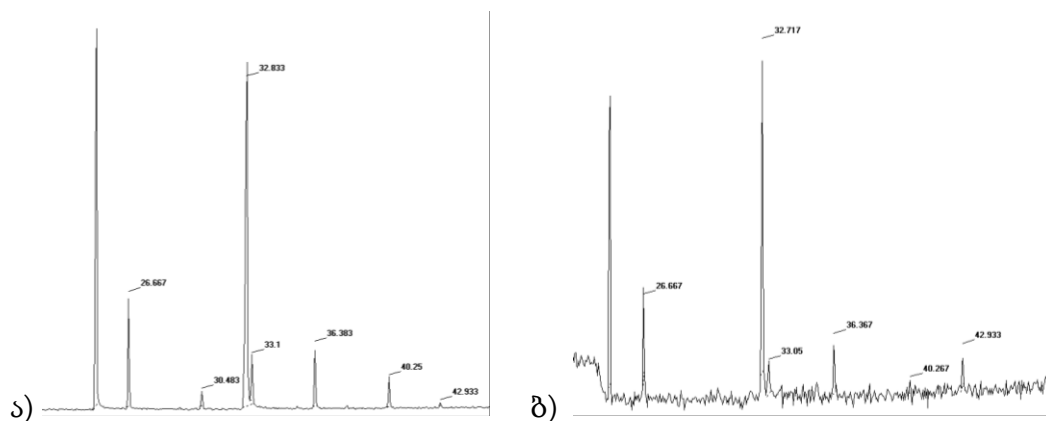
სუპერკრიტიკული ფლუიდური (CO ₂ + კო-სოლვენტი) ექსტრაქციის პარამეტრები					
ფრაქცია	წნევა, ბარი	ტემპერატურა, °C	CO ₂ მიწოდების სიჩქარე გ/წთ	ექსტრაქციის დრო, წთ	კო - სოლვენტი ეთანოლი %
ზეთის მიღება					
1 - 4	350	50	20	60	-
კაროტინოიდების მიღება					
5 - 8	500	50	30	60	-
ფენოლური ნაერთების მიღება					
9 - 10	300	60	30	30	10
11 - 12	380	60	30	30	20

კლასიკური და სუპერკრიტიკული CO₂ ექსტრაქციით მიღებული ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები

ცხრილი 19

ნაერთების გამოსავლიანობა	კლასიკური მეთოდით	SFE
ცხიმი %	19,25±0.159	20,75±0.154
კაროტინოიდები მგ/გ	0,95±0.081	1,24±0.002
საერთო ფენოლები მგ/გ	90,11±0.355	117,2±0.545

SFE-ის შედეგად ექსტრაგირებული ზეთის რაოდენობამ შეადგინა თესლის 20,75% მშრალ მასაზე გადანაგარიებით, რაც 1,5%-ით აღემატება ჰექსანით ექსტრაგირებული ცხიმის რაოდენობას (19,25%) (ცხრილი 19). მიღებულ ზეთში ლიპიდური კომპონენტების იდენტიფიკაცია, რომლებიც გამოვლინდა ქრომატოგრაფიული ანალიზის შედეგად, განხორციელდა სტანდარტული ნიმუშის, Supelco 37 Component FAME Mix (პროდუქტის ნომერი: CRM47885, პარტიის ნომერი: LRAD3869), გამოყენებით, რომლის შემადგენლობაც წინასწარ იყო ცნობილი.



სურათი 52. სოქსლეტის ექსტრაქციის მეთოდით (ა) და SFE ექსტრაქციის მეთოდით (ბ) მიღებული ქაფვის თესლის ზეთი

ქრომატოგრაფიის შედეგებმა გამოავლინა მნიშვნელოვანი განსხვავებები სოქსლეტით და სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგით (SFE) ექსტრაგირებულ ქაფვის თესლის ზეთის ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობაში (სურათი 52 (ა, ბ)) (ცხრილი 20). იდენტიფიცირებულია 8 ნივთიერება, როგორც ნაჯერი, მონოუჯერი და პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავები. ნაჯერი ცხიმოვანი მჟავებიდან პალმიტინის მჟავას მეთილის ეთერის (C16:0) შემცველობა SFE-ით მიღებულ ზეთში (39.019%) 1.955%-ით მეტია ჰექსანით ექსტრაგირებულ ზეთთან (37.064%) შედარებით, რაც მიუთითებს SFE-ს შედარებით მაღალ სელექტიურობაზე ამ ნაერთის მიმართ (ცხრილი 20). სტეარინის მჟავას მეთილის ეთერი (C18:0) გვხდება მხოლოდ სოქსლეტით ექსტრაგირებულ ზეთში 1.096% კონცენტრაციით და არ გამოვლინდა SFE-ით ექსტრაგირებულ ზეთში. მონოუჯერი ცხიმოვანი მჟავებიდან ოლეინის მჟავას მეთილის ეთერის (C18:1n9c) შემცველობა სოქსლეტით მიღებულ ზეთში (44.236%) 5.979%-ით მეტია (ცხრილი 20).

სოქსლეტით და ზეკრიტიკული ნახშირორჟანგით (SFE) ექსტრაგირებულ ქაცვის
თესლის ზეთის ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობაში

ცხრილი 20

№	კომპონენტის დასახელება	შეკავები ს დრო (წთ)	ზეთი სოქსლეტით ექსტრაგირებულ ი %	ზეთი CO ₂ ექსტრაგირებუ ლი %
1	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	24.967	37.064±0.301	39.019±0.327
2	Palmitoleic acid methyl ester (C16:1)	26.667	7.013±0.153	6.915±0.158
3	Stearic acid methyl ester (C18:0)	30.500	1.096±0.025	0
4	Oleic acid methyl ester (C18:1n9c)	32.800	44.236±0.455	38.257±0.411
5	უცნობი	33.083	3.351±0.089	4.273±0.099
6	Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c)	36.400	4.967±0.112	6.488±0.146
7	α-Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c)	40.267	2.062±0.045	1.158±0.037
8	cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester (C20:2)	42.933	0.211±0.005	3.89±0.054

პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავებიდან ლინოლენის მჟავას მეთილის ეთერის (C18:2n6c) იდენტიფიცირებულია ორივე მეთოდით მიღებულ ზეთში, SFE-ით მიღებულ ზეთში 1.521%-ით მეტია (6.488% და 4.967%). α-ლინოლენის მჟავას მეთილის ეთერის (C18:3n3c) შემცველობა SFE-ით მიღებულ ზეთში 9.096%-ით მეტია (11.158% და 2.062%), რაც მნიშვნელოვანი სხვაობაა. ცის-11,14-ეიკოსადიენის მჟავას მეთილის

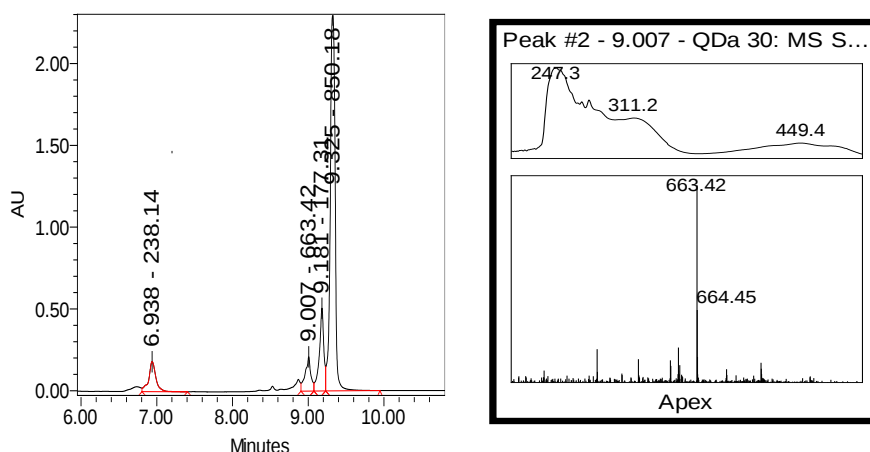
ეთერის (C20:2) შემცველობა SFE-ით მიღებულ ზეთში 3.679%-ით მეტია (3.89% და 0.211%) (ცხრილი 20).

SFE-ით ექსტრაგირებული ზეთი ხასიათდება პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავების მნიშვნელოვნად მაღალი შემცველობით, რაც მას უფრო ღირებულს ხდის კვების და ფარმაცევტული თვალსაზრისით. სოქსლეტის ექსტრაქცია იძლევა ოლეინის მჟავას უფრო მაღალ გამოსავლიანობას.

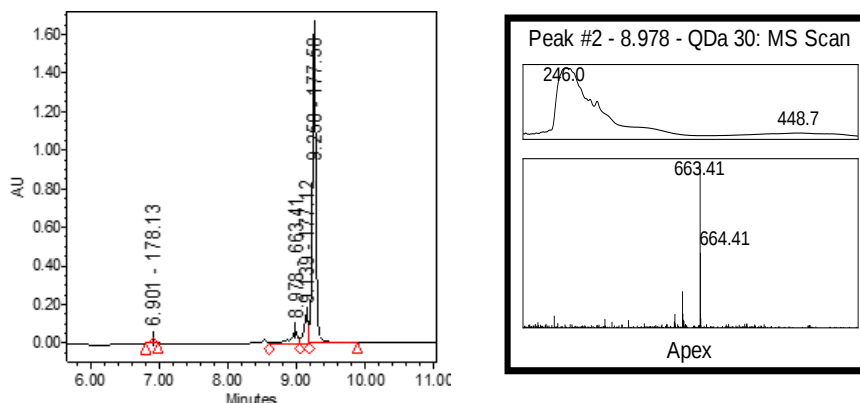
ქაცვის თესლიდან ზეთის გამოყოფის შემდეგ წნევის მომატებით 500 ბარამდე და 30 გ/წთ CO₂ მიწოდების პირობებში, 60° C-ზე 30 წუთის განმავლობაში ექსტრაგირებულ იქნა კაროტინოიდების ფრაქცია (ფრაქცია 5 – 8) (სურათი 53). კაროტინოიდების თვისობრივი ანალიზი განხორციელდა UPLC-PDA, MS მეთოდით (სურათი 54 და 55).



სურათი 53. კაროტინოიდების ფრაქცია (ფრაქცია 5 – 8)



სურათი 54. SFE - ის ფრაქცია 5 – 8, β კაროტინის ქრომატოგრამა



სურათი 55. ჰექსანით ექსტრაგირებულ ფრაქციაში β კაროტინის ქრომატოგრამა მიღებულ კაროტინოიდულ ფრაქციაში კაროტინების შემცველობამ 1,24 მგ/გ მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით შეადგინა, რაც 30 ერთეულით აღემატება ჰექსანით ექსტრაგირებულ ცხიმში კაროტინების შემცველობას (0,95 მგ/გ). ეს შედეგები ადასტურებს SFE-ს უპირატესობას კაროტინოიდების ექსტრაქციისთვის. SFE-ს გამოყენებამ უზრუნველყო კაროტინოიდების უფრო მაღალი კონცენტრაციის მიღება, რაც განპირობებულია CO₂-ის სუპერკრიტიკული მდგომარეობის უნიკალური გამხსნელი თვისებებით და ექსტრაქციის დაბალი ტემპერატურით, რაც ამცირებს თერმული დეგრადაციის რისკს. ჰექსანი, ასევე არაპოლარული გამხსნელი, მაგრამ მაღალი დუღილის ტემპერატურის გამო იწვევს კაროტინოიდების უფრო მეტ დეგრადაციას.

ექსტრაქციის მესამე ეტაპზე ქაქვის თესლიდან ფენოლური ნაერთების ექსტრაქცია განხორციელდა სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგის (CO₂) გამოყენებით და კო-სოლვენტის სახით ეთანოლის დამატებით. პირველ 30 წუთში (ფრაქცია 9-10), ექსტრაქცია მიმდინარეობდა 300 ბარი წნევის, 30 გ/წთ CO₂ მიწოდების სიჩქარის და 10% ეთანოლის პირობებში. ამ ეტაპზე ექსტრაგირებულ იქნა 23.44 მგ/გ ფენოლური ნაერთები მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით. მომდევნო 30 წუთში (ფრაქცია 11-12) წნევა გაიზარდა 380 ბარამდე, ხოლო ეთანოლის კონცენტრაცია 20%-მდე. ამ ცვლილებამ მნიშვნელოვნად გაზარდა ექსტრაგირებული ფენოლების რაოდენობა 93.76 მგ/გ-მდე. ჯამში, ფრაქციებიდან 9-12 ექსტრაგირებულ იქნა 117.2 მგ/გ ფენოლური ნაერთები (ცხრილი 21). ფენოლური ნაერთების ფრაქცია დაკონცენტრირებულ იქნა ვაკუუმის

პირობებში, მიღებული კონცენტრატი დაექვემდებარე ლიოფილურ შრობას და შედეგად მიღებულ იქნა მშრალი პრეპარატი - ქაცვის თესლის ფენოლები.

სუპერკრიტიკული (ფლუიდური) ნახშირორჟანგით ქაცვის თესლის ექსტრაქციის დროს ეთანოლის, როგორც კო-სოლვენტის გამოყენება, ეფექტური მეთოდია ქაცვის თესლიდან ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციისთვის. პროცესის პარამეტრების ოპტიმიზაცია, როგორიცაა წნევა (380 ბარი) და კო-სოლვენტის კონცენტრაცია (20%), მნიშვნელოვნად ზრდის ექსტრაქციის ეფექტურობას.

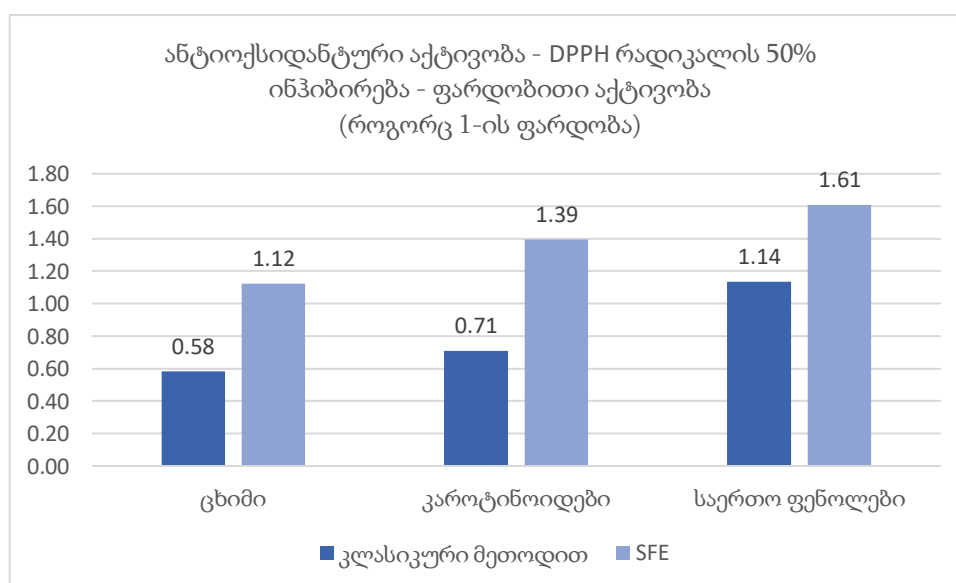
სუპერკრიტიკული CO₂ ექსტრაქციის შედეგად ქაცვის თესლიდან მიღებულ იქნა სამი პრეპარატი: პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავებით გამდიდრებული ზეთი, კაროტინოიდების კონცენტრატი და ფენოლური ნაერთების კონცენტრატი. მიღებული პრეპარატების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შეფასებით დგინდება, რომ მწვანე ტექნოლოგიით მიღებული პრეპარატები ავლენენ მაღალ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას. ანტიოქსიდანტური აქტივობა შეფასდა 0.1 მმოლი DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირების მეთოდით და წარმოდგენილია ორი ფორმით: პირველი, რადიკალის ინჰიბირებისთვის საჭირო ნიმუშის მასა განსაზღვრული მგ-ში, და მეორე, როგორც ფარდობითი აქტივობა (როგორც 1-თან ფარდობა) (დიაგრამა 10). ზოგადად, რაც უფრო მაღალია ანტიოქსიდანტურად, ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების კონცენტრაცია ნიმუშში, მით უფრო ნაკლები ნიმუშის მასა არის საჭირო DPPH რადიკალის 50%-იანი ინჰიბირებისთვის. ეს მიუთითებს უკუპროპორციულ დამოკიდებულებაზე ნაერთების კონცენტრაციასა და ინჰიბირებისთვის საჭირო ნიმუშის მასას შორის. ხოლო ფარდობითი ანტიოქსიდანტური აქტივობის მაჩვენებელი გამოყენებულ იქნა იმისთვის, რომ ნათლად წარმოჩენილიყო პირდაპირპროპორციული დამოკიდებულება ნაერთსა და ანტიოქსიდანტურ აქტივობას შორის. ფარდობის მაჩვენებელი აადვილებს მონაცემების ინტერპრეტაციას. ცხრილში წარმოდგენილი მონაცემით დგინდება რომ SFE მიღებული პრეპარატები ხასიათდებიან მაღალი აქტივობით, ვიდრე კლასიკური მეთოდით მიღებული ნაერთები: SFE-ით მიღებული ზეთის 0,89 მგ-ია საჭირო რადიკალის 50 % ინჰიბირებისათვის, ხოლო ჰექსანით მიღებულ ზეთის თითქმის 2 ჯერ მეტი რაოდენობა (1,72 მგ). შესაბამისად, კაროტინების შემთხვევაში: SFE-ის შემთხვევაში

0,717 მგ და კლასიკურში 1,411 მგ, ანალოგიური შედეგია ფენოლების შემთხვევაშიც 0,881 მგ და 0,622 მგ კლასიკურში (ცხრილი 21).

ქაფვის თესლიდან მიღებული პრეპარატების ანტიოქსიდანტური აქტივობა

ცხრილი 21

ანტიოქსიდანტური აქტივობა - მგ ნიმუშის მიერ 0.1 მმოლი DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირება			
ექსტრაქციის მეთოდი	ცხიმი	კაროტინოიდები	საერთო ფენოლები
კლასიკური მეთოდით	1.72±0.049	1.411±0.057	0.881±0.04
SFE	0.89±0.021	0.717±0.018	0.622±0.02



დიაგრამა 10. ქაფვის თესლიდან მიღებული პრეპარატების ანტიოქსიდანტური აქტივობის ამსახველი დიაგრამა

მაქსიმალური გამოსავლიანობის მისაღწევად, ოპტიმიზირებულ იქნა scCO₂ ექსტრაქციის პარამეტრები: წნევა, ტემპერატურა, ნახშირორჟანგის ნაკადის სიჩქარე და ექსტრაქციის ხანგრძლივობა. ოპტიმალური პირობები განისაზღვრა შემდეგნაირად: კაროტინოიდებისთვის - 350 ბარი, 50°C, 20 გ/წთ და 60 წთ; ლიპიდებისთვის - 500 ბარი,

50°C, 30 გ/წთ და 60 წთ; ფენოლური ნაერთებისთვის - 380 ბარი, 60°C, 30 გ/წთ, 10-20% ეთანოლი და 30-60 წთ. აირად-თხევადი ქრომატოგრაფიის ანალიზმა აჩვენა მნიშვნელოვანი განსხვავებები სოქსლეტით და scCO₂-ით ექსტრაგირებული ქაფის თესლის ზეთის ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობაში. scCO₂-ით ექსტრაგირებული ზეთი ხასიათდება პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავების მნიშვნელოვნად მაღალი შემცველობით. scCO₂ ექსტრაქციის შედეგად მიღებული ზეთის გამოსავლიანობამ შეადგინა 20.75%, რაც 1.5%-ით აღემატება ჰექსანით ექსტრაგირებული ზეთის გამოსავლიანობას (19.25%). scCO₂ ექსტრაქციამ უზრუნველყო კაროტინოიდების უფრო მაღალი კონცენტრაციის მიღება (1.24 მგ/გ) სოქსლეტის ექსტრაქციასთან შედარებით (0.95 მგ/გ). ეთანოლის კო-სოლვენტად გამოყენება ეფექტური აღმოჩნდა ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციისთვის (scCO₂ - 117.2 მგ/გ, სოქსლეტი - 90.11 მგ/გ). მიღებული პრეპარატები ავლენენ ძლიერ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, ტრადიციულ ექსტრაქციის მეთოდებთან შედარებით.

ქაფის თესლიდან სუპერკრიტიკული ნახშირორჟანგის (scCO₂) თანმიმდევრული ექსტრაქციის გამოყენება იძლევა შესაძლებლობას, მიღებულ იქნას სამი განსხვავებული ფრაქცია: პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავებით გამდიდრებული ლიპიდური ექსტრაქტი, კაროტინოიდული კონცენტრატი და ფენოლური ნაერთების კონცენტრატი. აღნიშნული ფრაქციები ხასიათდება ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მნიშვნელოვნად მაღალი გამოსავლიანობით, რაც განაპირობებს მათ ძლიერ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, ტრადიციულ ექსტრაქციის მეთოდებთან შედარებით.

4. თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების რეგენერაციისთვის „ქაცვის თვალის მალამო“-ს ფარმაცოლოგიური თვისებების გამოცდა

ოფთალმოლოგიური მალამოები წარმოადგენენ ნახევრად მყარ ფარმაცევტულ ფორმებს, რომლებიც განკუთვნილია თვალის ზედაპირზე სამკურნალო ნივთიერებების ადგილობრივი გამოყენებისთვის. მათი ფარმაცოლოგიური თვისებების შესწავლა უმნიშვნელოვანესია ეფექტური და უსაფრთხო ოფთალმოლოგიური მკურნალობის შესამუშავებლად (<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104867>).

ფარმაცოლოგიური პრეპარატის პრაქტიკაში გამოყენებამდე და შემდგომ კლინიკურ კვლევამდე, აუცილებელია შეფასდეს მისი უსაფრთხოება ორგანიზმზე - ქსოვილებზე ზემოქმედების თვალსაზრისით. ეს უზრუნველყოფს, რომ პოტენციური გვერდითი მოვლენები იყოს მინიმუმამდე დაყვანილი(<https://www.fda.gov/>). ექსპერიმენტული პროცედურები უნდა შეესაბამებოდეს ფარმაცოპეის დადგენილ მოთხოვნებს და საერთაშორისოდ აღიარებულ სტანდარტებს, კარგი ლაბორატორიული პრაქტიკის პრინციპებს (https://www.oecd.org/en/publications/1998/01/oecd-principles-on-good-laboratory-practice_g1gh32e8.html).

პრეკლინიკურ კვლევებს შორის უპირველეს მნიშვნელობა ენიჭება ტოქსიკოლოგიურ კვლევებს, რომლებიც მოიცავს როგორც ზოგადი ტოქსიკურობის, ასევე სპეციფიკური ტიპის ტოქსიკურობის შესწავლას (DOI: 10.1007/s11948-006-0014-y).

ოფთალმოლოგიური პრეპარატის ტოქსიკოლოგიური კვლევები ჩატარდა აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ბიოლოგიის დეპარტამენტის ფიზიოლოგიის სასწავლო-ექსპერიმენტულ ლაბორატორიაში, პროფესორ რენიკო საკანდელიძის ხელმძღვანელობით. კვლევისთვის შეირჩნენ სქესობრივად მომწიფებული, ჯანმრთელი თეთრი ვირთაგვები.



სურათი 56. კვლევისათვის შერჩეული თეთრი ვირთაგვები

საექსპერიმენტო ცხოველების მოვლა წარმოებდა სტანდარტულ სანიტარულ პირობებში, სადაც მაქსიმალურად იყო დაცული ექსპერიმენტზე სხვა გარეშე ფაქტორების (ტემპერატურა, ტენიანობა, განათება, სათავსოს ქსენობიოტიკებით დაბინძურება და სხვ.) ზემოქმედება. საკვლევ ცხოველებთან ერთად ანალოგიურ პირობებში მოთავსებული იყო საკონტროლო ცხოველებიც.

თეთრ ვირთაგვებში მაღამოს დატანის მახასიათებლები

ცხრილი 22

#	ვირთავის სქესი	პრეპარატის დოზა, კანზე წასასმელად.		პრეპარატის დღიური დოზის გამოყენების შემდგომ, კანის მდგომარეობა	თეთრი ვირთაგვები	
		ერთჯერადი მგ.	დღე/ღამური მგ.		ცოცხალი	დაღუპული
1	მამრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
2	მდედრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
3	მამრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
4	მდედრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
5	მამრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
6	მდედრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
7	მამრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
8	მდედრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
9	მამრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-
10	მდედრი	0.01	0.06	კარგი	ცოცხალი	-

შესწავლილ იქნა პრეპარატის მწვავე ტოქსიკურობა კანზე. ექსპერიმენტისათვის შერჩეულ ვირთაგვებზე ხდებოდა პრეპარატის ზედაპირულად წასმას/დატანას 4 სთ-ის ინტერვალით, ჯამში 6-ჯერ 24 საათის მანძილზე. ექსპერიმენტის პირობები და შედეგი წარმოდგენილია ცხრილი 22-ში.

ფარმაკოპეას მოთხოვნათა გათვალისწინებით საწყის დოზად ავიღეთ 0.01 მგ ერთჯერადი წასასმელი დოზა. ექსპერიმენტის შედეგად არც ერთი თეთრი ვირთაგვა არ დაღუპულა, კანის მდგომარეობა ყველასთან იყო კარგი. ჩვენს მიერ ჩატარებულმა ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ ოფთალმოლოგიური მალამო არის პრაქტიკულად არატოქსიკური თეთრი ვირთაგვებისთვის გამოყენებულ დოზებში. პრეპარატის გამოყენებამ არ გამოიწვია სიკვდილიანობა, რაც Hodge and Sterner-ის კლასიფიკაციის მიხედვით, ნივთიერების უვნებლობის მაჩვენებელია.

როგორც კვლევის შედეგები გვიჩვენებს ოფთალმოლოგიური პრეპარატის 'ქაცვის თვალის მალამოს' გამოყენება საკვლევ ვირთაგვეში 0,06 მგ დღე/დამური დოზა კანზე წასასმელად არ იწვევს ცხოველთა კანის გაღიზიანებას.

დასკვნა:

1. დადგინდა, რომ ქაცვის ნაყოფი და ფოთოლი წარმოადგენს ბიოაქტიური ნაერთების მდიდარ წყაროს, ულტრა მაღალეფექტური (წნევის) სითხური UPLC-PDA, MS მეთოდით ქაცვის ფოთოლსა და ნაყოფში იდენტიფიცირებულ იქნა 21 ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთი: 1 ორგანული მჟავა, 3 ფენოლკარბონმჟავა და 17 ფლავონოიდი. მიღებული მონაცემები ავლენს მნიშვნელოვან განსხვავებებს ნაყოფისა და ფოთოლის ფიტოქიმიურ შემადგენლობაში: ვაშლის მჟავა (m/z 132.95) გამოვლინდა ორივე ნიმუშში. ფენოლკარბონმჟავებიდან: ქინაქინის (m/z 191.03) და ელაგის მჟავა (m/z 300.83) ორივე ნაწილში დაფიქსირდა. გალის მჟავა (m/z 168.82) მხოლოდ ნაყოფში იდენტიფიცირებულ იქნა. ფლავონოიდური ნაერთებიდან: გალოკატექინი (m/z 304.89) და იზორამნეტინი (m/z 314.85) ორივე ნიმუშში იყო წარმოდგენილი. ეპიგალოკატექინი (m/z 304.78), კატექინი (m/z 288.88) და პროციანიდინები (m/z 476.80, 576.95) მხოლოდ ნაყოფში გამოვლინდა. ფოთოლი გამოირჩეოდა გალის მჟავას ჰექსოზიდისა და კასუარიქტინის შემცველობით. განსაკუთრებით აღსანიშნავია იზორამნეტინის გლიკოზიდების (m/z 476.99, 593.03, 623.01, 623.15) დომინირება ნაყოფში, ხოლო კემფეროლ-3-O-რუთინოზიდი (m/z 593.03) მხოლოდ ფოთოლში იდენტიფიცირებულ იქნა. ეს შედეგები მნიშვნელოვანია ქაცვის სამკურნალო და კვების პროდუქტებში გამოყენების პერსპექტივის შესაფასებლად, განსაკუთრებით ანტიოქსიდანტური და ფარმაკოლოგიური თვისებების გათვალისწინებით.

2. დადგინდა, რომ ქაცვის ფოთოლი და ნაყოფი გამოირჩევა ფენოლური ნაერთების მნიშვნელოვანი შემცველობით. ფოთოლში დაფიქსირდა: საერთო ფენოლები 43.95 მგ/გ, ფენოლკარბონმჟავები 6.23 მგ/გ და ფლავონოიდები 16.21 მგ/გ მშრალ მასაზე გადანგარიშებით. ნაყოფში ფენოლური ნაერთების შემცველობა ცვალებადია გეოგრაფიული წარმოშობის მიხედვით (19.90-34.94 მგ/გ), ახალციხის ნიმუშში დაფიქსირდა ყველაზე მაღალი მაჩვენებლები. ფლავონოიდების კონცენტრაცია ნაყოფებში (16.72-27.01 მგ/გ) დაახლოებით 10-ჯერ აღემატებოდა ფენოლკარბონმჟავების შემცველობას. ანტიოქსიდანტური აქტივობის კვლევამ აჩვენა, რომ ახალციხის ნიმუში (2.881 მგ) გამოირჩეოდა ყველაზე მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით, რაც კორელაციაშია მასში

ფენოლური ნაერთების მაღალ კონცენტრაციასთან. ქაცვის (*Hippophae rhamnoides* L.) ნაყოფსა და ფოთოლს გააჩნია მნიშვნელოვანი ბიოლოგიური პოტენციალი, როგორც ბუნებრივი ანტიოქსიდანტების მდიდარ წყაროს.

3. ქაცვის ფოთოლსა და რბილობისაგან განსხვავებით თესლში იდენტიფიცირებულ იქნა 16 ახალი ნივთიერება: Citric acid (ნივთიერება 22), Tanshinlactone derivative (ნივთიერება 23), Quercetin-3-O-rhamnosyl glucosid (ნივთიერება 24), Isoquercitrin (ნივთიერება 25), Kaempferol-3-O-hexoside-7-O-rhamnoside (ნივთიერება 26), Quercetin-3-O-rhamnosyl glucosid (ნივთიერება 27), Quercetin-3-O-sophoroside-7-O-rhamnoside (ნივთიერება 28), Quercetin-3-O-rhamnosyl glucoside-7-O-rhamnoside (ნივთიერება 29), Kaempferol-3-O-rutinoside (ნივთიერება 30), (e)Catechin-(e)Catechin (ნივთიერება 31), Kaempferol 3-O-glucoside (ნივთიერება 32), Isorhamnetin-3-O neohesperidoside (ნივთიერება 33), Rutin (ნივთიერება 34), Isorhamnetin-3-O-(6 rhamnosyl)hexoside (Narcissin) (ნივთიერება 35), Isorhamnetin-O-dihexoside (ნივთიერება 36), Kaempferol-3-O-rutinoside (ნივთიერება 37) და Quercetin (ნივთიერება 38).
4. დადგინდა, რომ ქაცვის წვენი შეიცავს ნახშირწყლების მნიშვნელოვან რაოდენობას, იდენტიფიცირებულია არაბინოზა, გლუკოზა და საქაროზა. ქაცვის ფოთოლში დადგინდა Na^+ , K^+ , Mg^{2+} და Ca^{2+} კატიონების მაღალი კონცენტრაცია, განსაკუთრებით Mg^{2+} (577.6 ppm) და K^+ (415.4 ppm). ნაყოფში კატიონების შემცველობა მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა გეოგრაფიული რეგიონის მიხედვით: ერგეს ნაყოფში დომინირებდა Mg^{2+} (65.17 ppm) და K^+ (48.02 ppm), ახალციხეში - K^+ (266.04 ppm) და Ca^{2+} (34.08 ppm), ხოლო თერჯოლის ნაყოფი გამოირჩეოდა Mg^{2+} (53.46 ppm) და K^+ (40.77 ppm) შემცველობით. მიღებული მონაცემები ადასტურებს ქაცვის მინერალურ სიმდიდრეს და მისი გამოყენების პოტენციალს კვებისა და ფარმაცევტული დანიშნულებით.
5. ქაცვის თესლის ზეთის ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობაზე ექსტრაქციის მეთოდის (სოქსლეტის ექსტრაქცია, ულტრაბგერითი, ზონდირება ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქცია და ცივი დაწნეხა) გავლენის შესწავლის შედეგები აჩვენებს მნიშვნელოვან განსხვავებებს: თითოეული მეთოდით

მიღებული ზეთი გამოირჩეოდა განსხვავებული ცხიმოვანი მჟავების მრავალფეროვნებით. სულ იდენტიფიცირებულია 28 კომპონენტი, აქედან 5 უცნობი ნაერთია. იდენტიფიცირებულია 12 ნაჯერი ცხიმოვანი მჟავები, 3 მონოუჯერი ცხიმოვანი მჟავა, 2 პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავა და ტრანს-უჯერი ცხიმოვანი მჟავა.

6. დადგინდა, რომ ულტრაბერითი და ზეკრიტიკული წყლით ექსტრაქციის მეთოდები უზრუნველყოფს ანთების საწინააღმდეგო და რეგენერაციული თვისებების მქონე - Oleic acid methyl ester (C18:1n9c), α -Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c) (ომეგა-3) და Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c) (ომეგა-6) მაღალ შემცველობას. რაც მნიშვნელოვანია თვალის ზედაპირული პოსტტრავმული ნაწიბურების სამკურნალოდ.

ცივი დაწნეხის მეთოდით მიღებული ექსტრაქტი ასევე ხასიათდება α -Linolenic acid methyl ester (C18:3n3c) (ომეგა-3), Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c) (ომეგა-6) და Oleic acid methyl ester (C18:1n9c) მნიშვნელოვანი კონცენტრაციით. აღნიშნული ცხიმოვანი მჟავების კომბინაცია ხელს უწყობს დაზიანებული ქსოვილების აღდგენასა და ნაწიბურების წარმოქმნის შემცირებას.

მიუხედავად იმისა, რომ სოქსლეტის ექსტრაქცია გვთავაზობს ფართო სპექტრის ცხიმოვანი მჟავების მიღების შესაძლებლობას, ტრანს-ცხიმების წარმოქმნისა და ეკოლოგიური ასპექტების გათვალისწინებით, მისი გამოყენება მაღამოს დასამზადებლად შეიძლება იყოს ნაკლებად სასურველი.

7. კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ქაცვის რბილობი წარმოადგენს ღირებულ ნედლეულს ოფთალმოლოგიური მაღამოს დასამზადებლად. „მწვანე ტექნოლოგიების“ გამოყენება უზრუნველყოფს ეკოლოგიურად სუფთა და ეფექტურ მიდგომას ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მისაღებად. ქაცვის რბილობიდან მიღებულ იქნა ოთხი სხვადასხვა სახის პრეპარატი, რომლებიც განსხვავდებიან შემადგენლობითა და მიღების მეთოდით: ლიპოფილური კაროტინოიდების კონცენტრატი (ქაცვის ზეთი), კაროტინოიდების მშრალი ექსტრაქტი, ფენოლური ნაერთების მშრალი ექსტრაქტი.

8. ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდით ასევე მიღებულ იქნა, კაროტინოიდებით გამდიდრებული მცენარეული ზეთი (კაროტინოიდების კონცენტრაცია: 0.5941 მგ/გ მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით), გაუმჯობესებული ხარისხობრივი მაჩვენებლები (მჟავიანობის, ზეჟანგური და n-ანიზიდინის რიცხვების შემცირება) და 3.5-ჯერ უფრო მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით საკონტროლო ზეთთან შედარებით. იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს კვების მრეწველობაში, როგორც კაროტინოიდებით გამდიდრებული ზეთი.
9. დადგენილ იქნა, რომ ქაცვის ნედლი ანაწნები, რომელიც დაახლოებით 80% თესლისა და 20% ნაყოფის კანისგან შედგება, შეიცავს 11.95%-დან 13,22%-მდე ცხიმს (მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით) და 0.140-დან 0.583 მგ/გ-მდე კაროტინს (მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით); ფენოლური ნაერთების სპექტრალური ანალიზის შედეგად დგინდება, რომ ნედლი ანაწნების საერთო ფენოლური ნაერთების შემცველობა შეადგენს 89,41 მგ/გ, საიდანაც 16,95 მგ/გ მოდის ფენოლკარბონმჟავებზე და 64,71 მგ/გ - ფლავონოიდებზე. ფლავონოიდებიდან ძირითადად წარმოდგენილია კატექინები (25,90 მგ/გ) და ლეიკოანტოციანინები (44,45 მგ/გ). ქაცვის ანაწნების ექსტრაქტის ანტიოქსიდანტური აქტივობა საკმაოდ მაღალია, კერძოდ ანაწნების 0,766 მგ-ია საკმარისი DPPH რადიკალის 50% ინჰიბირებისათვის.
10. დადგინდა, რომ ულტრაბგერითი ზონდით ექსტრაქცია 75% ეთანოლით, ასევე სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქცია, წარმოადგენს ეფექტურ და ეკოლოგიურად სუფთა მეთოდს ქაცვის ანაწნებიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მისაღებად. პრეპარატების გამოსავლიანობისა და მიღებული მონაცემების შედარებით ულტრაბგერითი ზონდის მეთოდით (75% ეთანოლი, 35 წუთი) 100 გ ნედლი ანაწნებიდან მიღებულ იქნა 6.72 გ ლიოფილიზირებული პრეპარატი, რომელშიც ფენოლების შემცველობა იყო 4 გ, კერძოდ 71.4 მგ/გ მშრალ მასაში, ხოლო სუპერკრიტიკული წყლის ექსტრაქციით (წყალი, 7 წუთი) 100 გ ნედლი ანაწნებიდან მიღებულ იქნა 5.2 გ ლიოფილიზირებული პრეპარატი, რომელშიც ფენოლების შემცველობა იყო 80 მგ/გ მშრალ მასაში.

11. სუპერკრიტიკული CO₂ ექსტრაქციის შედეგად ქაფვის თესლიდან მიღებულ იქნა სამი პრეპარატი: პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავებით გამდიდრებული ზეთი, კაროტინოიდების კონცენტრატი და ფენოლური ნაერთების კონცენტრატი. მაქსიმალური გამოსავლიანობის მისაღწევად, ოპტიმიზირებულ იქნა scCO₂ ექსტრაქციის პარამეტრები: წნევა, ტემპერატურა, ნახშირორჟანგის ნაკადის სიჩქარე და ექსტრაქციის ხანგრძლივობა. ოპტიმალური პირობები განისაზღვრა შემდეგნაირად: კაროტინოიდებისთვის - 350 ბარი, 50°C, 20 გ/წთ და 60 წთ; ლიპიდებისთვის - 500 ბარი, 50°C, 30 გ/წთ და 60 წთ; ფენოლური ნაერთებისთვის - 380 ბარი, 60°C, 30 გ/წთ, 10-20% ეთანოლი და 30-60 წთ.
12. აირად-თხევადი ქრომატოგრაფიის ანალიზმა აჩვენა მნიშვნელოვანი განსხვავებები სოქსლეტით და scCO₂-ით ექსტრაგირებული ქაფვის თესლის ზეთის ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობაში. scCO₂-ით ექსტრაგირებული ზეთი ხასიათდება პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავების მნიშვნელოვნად მაღალი შემცველობით. scCO₂ ექსტრაქციის შედეგად მიღებული ზეთის გამოსავლიანობამ შეადგინა 20.75%, რაც 1.5%-ით აღემატება ჰექსანით ექსტრაგირებული ზეთის გამოსავლიანობას (19.25%). scCO₂ ექსტრაქციამ უზრუნველყო კაროტინოიდების უფრო მაღალი კონცენტრაციის მიღება (1.24 მგ/გ) სოქსლეტის ექსტრაქციასთან შედარებით (0.95 მგ/გ). ეთანოლის კო-სოლვენტად გამოყენება ეფექტური აღმოჩნდა ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციისთვის (scCO₂ - 117.2 მგ/გ, სოქსლეტი - 90.11 მგ/გ). მიღებული პრეპარატები ავლენენ ძლიერ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, ტრადიციულ ექსტრაქციის მეთოდებთან შედარებით.
13. ოფთალმოლოგიური პრეპარატის 'ქაფვის თვალის მალამოს' გამოყენება საკვლევ ვირთაგვეში 0.06 მგ. დღე/ღამური დოზა 14 დღის განმავლობაში კანზე წასასმელად არ იწვევს ცხოველთა კანის გაღიზიანებას, კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის, ღვიძლის, თირკმლების და ელენთის დესტრუქციას. არ ვითარდება შინაგანი ორგანოების პარენქიმური უჯრედების დისტროფიული, სკლეროტოზული თუ სკლეროზული ცვლილებები.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. ლაგაზიძე დ. , ქუთათელაძე გ., ორჯონიკიძე მ., ზაკურიძე ა. (2023) ტექნოლოგიის გავლენა ქაჯვის ზეთის გამოსავლიანობასა და ხარისხის მაჩვენებლებზე Vol. 5 Issue 2, Doi: <https://doi.org/10.52340/jecm>
2. Adefegha S. A., Oboh G., Oluokun O. O., (2022) Chapter 11 - Food bioactives: the food image behind the curtain of health promotion and prevention against several degenerative diseases. Volume 72, Pages 391-421. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823944-5.00012-0>
3. Alaydi, H., Downey, P., McKeon-Bennett, M. et al. (2021). Supercritical-CO₂ extraction, identification and quantification of polyprenol as a bioactive ingredient from Irish trees species. Sci Rep 11, 7461 <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86393-x>
4. Arauz J. , Ramos-Tovar E. , Muriel P. (2017) Chapter 48 - Coffee and the Liver. Pages 675-685 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804274-8.00048-5>
5. Awouafack M. D., Tane P., Kuete V., Eloff J. N. 2 - Sesquiterpenes from the Medicinal Plants of Africa. (2013). Pages 33-103 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00002-3>
6. Bas, T. G. (2024). Bioactivity and Bioavailability of Carotenoids Applied in Human Health: Technological Advances and Innovation. International Journal of Molecular Sciences, 25(14), 7603. <https://doi.org/10.3390/ijms25147603>
7. Banach, J. K., Majewska, K., Piłat, B., & Grzywińska-Rapca, M. (2024). Benefits of Using Pomace from Sea Buckthorn Fruit (*Hippophaë rhamnoides* L.) in the Production of Rye Bread for a Strategy of Sustainable Production and Consumption. Applied Sciences, 14(23), 11067. <https://doi.org/10.3390/app142311067>
8. Behl, T., Rocchetti, G., Chadha, S., Zengin, G., Bungau, S., Kumar, A., Mehta, V., Uddin, M. S., Khullar, G., Setia, D., Arora, S., Sinan, K. I., Ak, G., Putnik, P., Gallo, M., & Montesano, D. (2021). Phytochemicals from Plant Foods as Potential Source of Antiviral Agents: An Overview. Pharmaceuticals, 14(4), 381. <https://doi.org/10.3390/ph14040381>
9. Ben T., Wu P., Zou H., Chen Y. (2021) Characterization of nitrite degradation by polyphenols in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) by density function theory calculations Volume 149, 111884, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111884>
10. Black, H. S., Boehm, F., Edge, R., & Truscott, T. G. (2020). The Benefits and Risks of Certain Dietary Carotenoids that Exhibit both Anti- and Pro-Oxidative Mechanisms-A Comprehensive Review. Antioxidants (Basel, Switzerland), 9(3), 264. <https://doi.org/10.3390/antiox9030264>
11. Bhardwaj, K., Silva, A. S., Atanassova, M., Sharma, R., Nepovimova, E., Musilek, K., Sharma, R., Alghuthaymi, M. A., Dhanjal, D. S., Nicoletti, M., Sharma, B., Upadhyay, N. K., Cruz-Martins, N., Bhardwaj, P., & Kuča, K. (2021). Conifers Phytochemicals: A Valuable Forest

- with Therapeutic Potential. *Molecules*, 26(10), 3005. <https://doi.org/10.3390/molecules26103005>
12. Botella-Pavía P., Rodríguez-Concepción M. (2006) Carotenoid biotechnology in plants for nutritionally improved foods <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00632.x>
 13. Boncan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H.-M., Chan, T.-F., & Hui, J. H. L. (2020). Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7382. <https://doi.org/10.3390/ijms21197382>
 14. Boško, P., Biel, W., Smetanska, I., Witkiewicz, R., & Piątkowska, E. (2024). Sea Buckthorn Leaves as a Potential Source of Antioxidant Substances. *Applied Sciences*, 14(12), 5038. <https://doi.org/10.3390/app14125038>
 15. Cao, W., Wang, P., Yang, L., Fang, Z., Zhang, Y., Zhuang, M., Lv, H., Wang, Y., & Ji, J. (2021). Carotenoid Biosynthetic Genes in Cabbage: Genome-Wide Identification, Evolution, and Expression Analysis. *Genes*, 12(12), 2027. <https://doi.org/10.3390/genes12122027>
 16. Cenkowski, S., Yakimishen, R., Przybylski, R., & Muir, W. E. (2006). Quality of extracted sea buckthorn seed and pulp oil. *Canadian biosystems engineering*, 48, 3.
 17. Chaachouay, N., & Zidane, L. (2024). Plant-Derived Natural Products: A Source for Drug Discovery and Development. *Drugs and Drug Candidates*, 3(1), 184-207. <https://doi.org/10.3390/ddc3010011>
 18. Chan, L. P., Yen, T. W., Tseng, Y. P., Yuen, T., Yuen, M., Yuen, H., & Liang, C. H. (2024). The impact of oral sea-buckthorn oil on skin, blood markers, ocular, and vaginal health: A randomized control trial. *Journal of Functional Foods*, 112, 105973. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105973>
 19. Chihomvu, P., Ganesan, A., Gibbons, S., Woollard, K., & Hayes, M. A. (2024). Phytochemicals in Drug Discovery—A Confluence of Tradition and Innovation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(16), 8792. <https://doi.org/10.3390/ijms25168792>
 20. Cho, Y. N., Saravana, P. S., David, N., & Chun, B. S. (2020). Biofunctional properties of wild cultivated and cultivated Ginseng (*Panax ginseng* Meyer) extracts obtained using subcritical water extraction. *Separation Science and Technology*, 56(8), 1370–1382. <https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1781893>
 21. Chen, Y., Cai, Y., Wang, K., & Wang, Y. (2023). Bioactive Compounds in Sea Buckthorn and their Efficacy in Preventing and Treating Metabolic Syndrome. *Foods*, 12(10), 1985. <https://doi.org/10.3390/foods12101985>
 22. Criste, A., Urcan, A. C., Bunea, A., Pripon Furtuna, F. R., Olah, N. K., Madden, R. H., & Corcionivoschi, N. (2020). Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries

- and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Varieties. *Molecules*, 25(5), 1170. <https://doi.org/10.3390/molecules25051170>
23. Crupi, P., Faienza, M. F., Naeem, M. Y., Corbo, F., Clodoveo, M. L., & Muraglia, M. (2023). Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. *Antioxidants*, 12(5), 1069. <https://doi.org/10.3390/antiox12051069>
 24. Čulina, P., Balbino, S., Vitali Čepo, D., Golub, N., Elez Garofulić, I., Dragović-Uzelac, V., You, L., & Pedisić, S. (2025). Stability of Fatty Acids, Tocopherols, and Carotenoids of Sea Buckthorn Oil Encapsulated by Spray Drying Using Different Carrier Materials. *Applied Sciences*, 15(3), 1194. <https://doi.org/10.3390/app15031194>
 25. Čulina, P., Repajić, M., Elez Garofulić, I., Dragović-Uzelac, V., & Pedisić, S. (2024). Evaluation of Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Sea Buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) Leaf and Berry Extracts Obtained via Optimized Microwave-Assisted and Accelerated Solvent Extraction. *Processes*, 12(1), 126. <https://doi.org/10.3390/pr12010126>
 26. Crupi P, Milella RA, Antonacci D. (2010) Simultaneous HPLC-DAD-MS (ESI+) determination of structural and geometrical isomers of carotenoids in mature grapes. *J Mass Spectrom.* 45(9):971-80. doi: 10.1002/jms.1794. PMID: 20814906
 27. Didar Z., (2020). Comparative in vitro Study of the biological activity and chemical composition extracts of *Helicteres isora* L. obtained by water and subcritical water extraction, *Food Quality and Safety*, Volume 4, Issue, Pages 101–106, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyz038>
 28. Dudau, M., Codrici, E., Tarcomnicu, I., Mihai, S., Popescu, I. D., Albulescu, L., ... & Tanase, C. (2021). A fatty acid fraction purified from Sea Buckthorn seed oil has regenerative properties on normal skin cells. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 737571.
 29. El-Agamey A., Lowe M. G., McGarvey D. J., Mortensen A., Phillip D. M., Truscott T.G., Young A. J. (2004) Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. Volume 430, Issue 1, Pages 37-48 <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.03.007>
 30. Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3266. <https://doi.org/10.3390/ijms24043266>
 31. El-Sohaimy, S. A., Shehata, M. G., Mathur, A., Darwish, A. G., Abd El-Aziz, N. M., Gauba, P., & Upadhyay, P. (2022). Nutritional Evaluation of Sea Buckthorn “*Hippophae rhamnoides*” Berries and the Pharmaceutical Potential of the Fermented Juice. *Fermentation*, 8(8), 391. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080391>
 32. Esmaeelian, M., Jahani, M., Einafshar, S. et al. (2020). Optimization of experimental parameters in subcritical water extraction of bioactive constituents from the saffron

- (*Crocus sativus* L.) corm based on response surface methodology. *Food Measure* 14, 1822–1832 <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00429-w>
33. Fakudze, N. T., Sarbadhikary, P., George, B. P., & Abrahamse, H. (2023). Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, and Anticancer Potentials of African Medicinal Fruits: A Comprehensive Review. *Pharmaceuticals*, 16(8), 1117. <https://doi.org/10.3390/ph16081117>
 34. Gâtlan, A.-M., & Gutt, G. (2021). Sea Buckthorn in Plant Based Diets. An Analytical Approach of Sea Buckthorn Fruits Composition: Nutritional Value, Applications, and Health Benefits. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17), 8986. <https://doi.org/10.3390/ijerph18178986>
 35. Geetha, S., Ram, M. S., Singh, V., Ilavazhagan, G., & Sawhney, R. C. (2002). Anti-oxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*)—an in vitro study. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 373–378.
 36. Gęgotek, A., Jastrzab, A., Jarocka-Karpowicz, I., Muszyńska, M., & Skrzydlewska, E. (2018). The Effect of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Seed Oil on UV-Induced Changes in Lipid Metabolism of Human Skin Cells. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 7(9), 110. <https://doi.org/10.3390/antiox7090110>
 37. Górnaś P., Šnē E., Siger A., Segliņa D. (2014) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves as valuable source of lipophilic antioxidants: The effect of harvest time, sex, drying and extraction methods. *Volume* 60, *Pages* 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.053>
 38. Gozari M., Alborz M., El-Seedi H. , Jassbi A. R.(2021) Chemistry, biosynthesis and biological activity of terpenoids and meroterpenoids in bacteria and fungi isolated from different marine habitats. *Volume* 210, 112957. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112957>
 39. Guo R, Guo X, Li T, Fu X, Liu RH. (2017)Comparative assessment of phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities of Sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries. *Food Chem.* 15;221:997-1003. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.11.063. Epub 2016 Nov 15. PMID: 27979305.
 40. Guerrero-Becerra, L., Morimoto, S., Arrellano-Ordoñez, E., Morales-Miranda, A., Guevara-Gonzalez, R. G., Feregrino-Pérez, A. A., & Lomas-Soria, C. (2025). Polyphenolic Compounds in Fabaceous Plants with Antidiabetic Potential. *Pharmaceuticals*, 18(1), 69. <https://doi.org/10.3390/ph18010069>
 41. Gustinelli G., Eliasson L., Svelander C., Andlid T., Lundin L., Lilia Ahrné, Alminger M.(2018) Supercritical Fluid Extraction of Berry Seeds: Chemical Composition and Antioxidant Activity<https://doi.org/10.1155/2018/6046074>
 42. Hamułka J, Górnicka M, Sulich A, Frackiewicz J. Weight loss program is associated with decrease α -tocopherol status in obese adults. *Clin Nutr.* 2019 Aug;38(4):1861-1870. doi: 10.1016/j.clnu.2018.07.011. Epub 2018 Jul 20. PMID: 30064845.

43. Han, Y., Yuan, C., Zhou, X., Han, Y., He, Y., Ouyang, J., Zhou, W., Wang, Z., Wang, H., & Li, G. (2021). Anti-Inflammatory Activity of Three Triterpene from *Hippophae rhamnoides* L. in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264.7 Cells. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 12009. <https://doi.org/10.3390/ijms222112009>
44. Hen C., Wang T., Guo F., Sun K., Wang B., Wang J., Zhang Z., Zhang X., Zhao Y., Chen Y. (2021) Structural characterization and intestinal protection activity of polysaccharides from Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries Volume 274, 118648 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118648>
45. Ito, H., Asmussen, S., Traber, D. L., Cox, R. A., Hawkins, H. K., Connelly, R., ... & Enkhbaatar, P. (2014). Healing efficacy of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil in an ovine burn wound model. *Burns*, 40(3), 511-519. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2013.08.011>
46. Janceva, S., Andersone, A., Lauberte, L., Bikovens, O., Nikolajeva, V., Jashina, L., Zaharova, N., Telysheva, G., Senkovs, M., Rieksts, G., Ramata-Stunda, A., & Krasilnikova, J. (2022). Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Waste Biomass after Harvesting as a Source of Valuable Biologically Active Compounds with Nutraceutical and Antibacterial Potential. *Plants*, 11(5), 642. <https://doi.org/10.3390/plants11050642>
47. Jaśniewska, A., & Diowski, A. (2021). Wide Spectrum of Active Compounds in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) for Disease Prevention and Food Production. *Antioxidants*, 10(8), 1279. <https://doi.org/10.3390/antiox10081279>
48. Jaski, J. M., Abrantes, K. K. B., Zanqui, A. B., Stevanato, N., da Silva, C., Barão, C. E., Bonfim-Rocha, L., & Cardozo-Filho, L. (2022). Simultaneous extraction of sunflower oil and active compounds from olive leaves using pressurized propane. *Current research in food science*, 5, 531–544. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.002>
49. Jan, R., Asaf, S., Numan, M., Lubna, & Kim, K.-M. (2021). Plant Secondary Metabolite Biosynthesis and Transcriptional Regulation in Response to Biotic and Abiotic Stress Conditions. *Agronomy*, 11(5), 968. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050968>
50. Jiang H., Wang X. (2023) Biosynthesis of monoterpene and sesquiterpene as natural flavors and fragrances. Volume 65, 108151, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108151>
51. Jiang, S., Wang, M., Jiang, Z., Zafar, S., Xie, Q., Yang, Y., Liu, Y., Yuan, H., Jian, Y., & Wang, W. (2021). Chemistry and Pharmacological Activity of Sesquiterpenoids from the *Chrysanthemum* Genus. *Molecules*, 26(10), 3038. <https://doi.org/10.3390/molecules26103038>
52. Jia X., Ren J., Zhang Z., Zhang N., An Q., Li M., Pan S., Fan G., Yang J., Feng Y., Yang Z., Xu Y. (2024) Characterizing and decoding the key odor-active compounds in fresh, pasteurized, and high pressure processing sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) juice. Volume 278, 126416. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126416>Get rights and content

53. Jin, X., Baysal, C., Drapal, M., Sheng, Y., Huang, X., He, W., Shi, L., Capell, T., Fraser, P. D., Christou, P., & Zhu, C. (2021). The Coordinated Upregulated Expression of Genes Involved in MEP, Chlorophyll, Carotenoid and Tocopherol Pathways, Mirrored the Corresponding Metabolite Contents in Rice Leaves during De-Etiolation. *Plants*, 10(7), 1456. <https://doi.org/10.3390/plants10071456>
54. Jeong, H. I., Han, J.-E., Shin, B.-C., Jang, S. B., Won, J.-H., Kim, K. H., & Sung, S.-H. (2022). Monitoring of Heavy Metals and Pesticide Residues of Herbal Decoctions in Traditional Korean Medicine Clinics in Korea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(14), 8523. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148523>
55. Kallio, H., Yang, B., Peippo, P., Tahvonon, R., & Pan, R. (2002). Triacylglycerols, Glycerophospholipids, Tocopherols, and Tocotrienols in Berries and Seeds of Two Subspecies (ssp. *sinensis* and *mongolica*) of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3004-3009. <https://doi.org/10.1021/jf011556o>
56. Kazaz, S., Miray, R., & Baud, S. (2021). Acyl–Acyl Carrier Protein Desaturases and Plant Biotic Interactions. *Cells*, 10(3), 674. <https://doi.org/10.3390/cells10030674>
57. Kaur, T., & Kapoor, D. N. (2018). Development and evaluation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil nanoemulsion gel for wound healing. *Pharmacognosy Magazine*, 14(58). DOI:10.4103/pm.pm_375_18
58. Ko, MJ., Nam, HH. & Chung, MS. Subcritical water extraction of bioactive compounds from *Orostachys japonicus* A. Berger (Crassulaceae). *Sci Rep* 10, 10890 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67508-2>
59. Kortensniemi M, Sinkkonen J, Yang B, Kallio H. Epub (2016) NMR metabolomics demonstrates phenotypic plasticity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries with respect to growth conditions in Finland and Canada. *Food Chem.* 2017 Mar 15;219:139-147. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.125. PMID: 27765210
60. Koskovac, M., Cupara, S., Kipic, M., Barjaktarevic, A., Milovanovic, O., Kojicic, K., & Markovic, M. (2017). Sea Buckthorn Oil—A Valuable Source for Cosmeceuticals. *Cosmetics*, 4(4), 40. <https://doi.org/10.3390/cosmetics4040040>
61. Kim S.-W., Ko M.-J., Chung M.-S.(2019) Extraction of the flavonol quercetin from onion waste by combined treatment with intense pulsed light and subcritical water extraction . Volume 231, Pages 1192-1199 <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.280>
62. Kim, S., Lee, J., Son, H., Lee, K. H., Chun, Y., Lee, J. H., Lee, T., & Yoo, H. Y. (2024). Improvement in Natural Antioxidant Recovery from Sea Buckthorn Berries Using Predictive Model-Based Optimization. *Agriculture*, 14(7), 1095. <https://doi.org/10.3390/agriculture14071095>

63. Kim, Y.-J., & Kang, K. S. (2023). The Phytochemical Constituents of Medicinal Plants for the Treatment of Chronic Inflammation. *Biomolecules*, 13(8), 1162. <https://doi.org/10.3390/biom13081162>
64. Kumar, A., P, N., Kumar, M., Jose, A., Tomer, V., Oz, E., Proestos, C., Zeng, M., Elobeid, T., K, S., & Oz, F. (2023). Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method. *Molecules*, 28(2), 887. <https://doi.org/10.3390/molecules28020887>
65. Kurz C, Carle R, Schieber A. (2008) HPLC-DAD-MS(n) characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chem.* 2008 Sep 15;110(2):522-30. doi: 10.1016/j.foodchem. PMID: 26049248
66. Kwon, S.-J., Park, C. B., & Lee, P. C. (2024). Genomic Insights into the Role of cAMP in Carotenoid Biosynthesis: Enhancing β -Carotene Production in *Escherichia coli* via *cyaA* Deletion. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), 12796. <https://doi.org/10.3390/ijms252312796>
67. Lee, Y. H., Jang, H. J., Park, K. H., Kim, S.-H., Kim, J. K., Kim, J.-C., Jang, T. S., & Kim, K. H. (2021). Phytochemical Analysis of the Fruits of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*): Identification of Organic Acid Derivatives. *Plants*, 10(5), 860. <https://doi.org/10.3390/plants10050860>
68. Li, W., Ruan, CJ., Teixeira da Silva, J.A. et al. (2013). NMR metabolomics of berry quality in sea buckthorn (*Hippophae* L.). *Mol Breeding* 31, 57–67 <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9768-x>
69. Lukša, J., Vepškaitė-Monstavičė, I., Apšegaitė, V., Blažytė-Čerėškienė, L., Stanevičienė, R., Strazdaitė-Žielienė, Ž., Ravoitytė, B., Aleknavičius, D., Būda, V., Mozūraitis, R., & Servienė, E. (2020). Fungal Microbiota of Sea Buckthorn Berries at Two Ripening Stages and Volatile Profiling of Potential Biocontrol Yeasts. *Microorganisms*, 8(3), 456. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030456>
70. Luntrararu, C. M., Apostol, L., Oprea, O. B., Neagu, M., Popescu, A. F., Tomescu, J. A., Muțescu, M., Susman, I. E., & Gaceu, L. (2022). Reclaim and Valorization of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) By-Product: Antioxidant Activity and Chemical Characterization. *Foods*, 11(3), 462. <https://doi.org/10.3390/foods11030462>
71. Lyu X., Wang y., Gao S., Wang X., Cao W., Cespedes-Acuña C. L. (2022) Sea buckthorn leaf extract on the stability and antioxidant activity of microencapsulated sea buckthorn oil. Volume 48, 101818 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101818>
72. Lyu X., Wang X., Wang Q., Ma X., Chen S., Xiao J.(2021) Encapsulation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf extract via an electrohydrodynamic method Volume 365, 130481 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130481>
73. Ma Q., Guan Y., Sang Z., Dongd J., Wei R. (2022) Isolation and characterization of auronlignan derivatives with hepatoprotective and hypolipidemic activities from the fruits

- of *Hippophae rhamnoides* L. Food Funct., 7750-7761, DOI <https://doi.org/10.1039/D2FO01079H>
74. Ma X, Laaksonen O, Zheng J, Yang W, Trépanier M, Kallio H, Yang B. (2016)(Flavonol glycosides in berries of two major subspecies of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) and influence of growth sites. Food Chem. 1;200:189-98. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.036. Epub 2016 Jan 11. PMID: 26830578.
 75. María L. Falcone Ferreyra., Sebastián P. Rius., Paula Casati (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. Volume 3 - 2012 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00222>
 76. Máté, M., Selimaj, G., Simon, G., Szalóki-Dorkó, L., & Ficzek, G. (2022). Assessment of Berries of Some Sea Buckthorn Genotypes by Physicochemical Properties and Fatty Acid Content of the Seed. Plants, 11(24), 3412. <https://doi.org/10.3390/plants11243412>
 77. Montero-Calderon, A., Cortes, C., Zulueta, A. et al. Green solvents and Ultrasound-Assisted Extraction of bioactive orange (*Citrus sinensis*) peel compounds. Sci Rep 9, 16120 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52717-1>
 78. Monjotin, N., Amiot, M. J., Fleurentin, J., Morel, J. M., & Raynal, S. (2022). Clinical Evidence of the Benefits of Phytonutrients in Human Healthcare. Nutrients, 14(9), 1712. <https://doi.org/10.3390/nu14091712>
 79. Mohammadi, H., & Saghaian, S. (2022). Factors Affecting Consumption of Different Forms of Medicinal Plants: The Case of Licorice. Agriculture, 12(9), 1453. <https://doi.org/10.3390/agriculture12091453>
 80. Muhammad M. Zhu Y. Wen A. Liu N. Qin L. (2022) Phenolic profile, alpha-amylase inhibitory activity, and in vitro glycemic index of abadzuki beans Volume 9 - 2022 | <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1063602>
 81. Muscolo, A., Mariateresa, O., Giulio, T., & Mariateresa, R. (2024). Oxidative Stress: The Role of Antioxidant Phytochemicals in the Prevention and Treatment of Diseases. International Journal of Molecular Sciences, 25(6), 3264. <https://doi.org/10.3390/ijms25063264>
 82. Mukherjee P. K. (2019). Chapter 10 - High-Performance Liquid Chromatography for Analysis of Herbal Drugs Pages 421-458 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813374-3.00010-7>
 83. Najmi, A., Javed, S. A., Al Bratty, M., & Alhazmi, H. A. (2022). Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. Molecules, 27(2), 349. <https://doi.org/10.3390/molecules27020349>
 84. Ndhlovu, P. T., Omotayo, A. O., Otang-Mbeng, W., & Aremu, A. O. (2022). Commercialization Potential of Six Selected Medicinal Plants Commonly Used for Childhood Diseases in South Africa: A Review. Sustainability, 14(1), 177. <https://doi.org/10.3390/su14010177>

85. Nicolescu A., Babotă M., Cañada E. A., Dias M. I., Añibarro-Ortega M., Cornea-Cipcigan M., Tanase C., Sisea C. R., Mocan A., Barros L., Crişan G.(2024). Association of enzymatic and optimized ultrasound-assisted aqueous extraction of flavonoid glycosides from dried *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn) berries Volume 108, 106955. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106955>
86. Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review. *Plants*, 11(15), 2011. <https://doi.org/10.3390/plants11152011>
87. Özkök Aslı, D'arcy Bruce, Sorkun Kadriye. „ Total Phenolic Acid and Total Flavonoid Content of Turkish Pine Honeydew Honey” *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 2 (2): 65 - 71 (2010) , IBRA 2010, DOI 10.3896/IBRA.4.02.2.01
88. Perera, C. O., & Yen, G. M. (2007). Functional Properties of Carotenoids in Human Health. *International Journal of Food Properties*, 10(2), 201–230. <https://doi.org/10.1080/10942910601045271>
89. Paudel, S., Mishra, N., & Agarwal, R. (2023). Phytochemicals as Immunomodulatory Molecules in Cancer Therapeutics. *Pharmaceuticals*, 16(12), 1652. <https://doi.org/10.3390/ph16121652>
90. Pintea A, Dulf FV, Bunea A, Socaci SA, Pop EA, Opriță VA, Giuffrida D, Cacciola F, Bartolomeo G, Mondello L. (2020) Carotenoids, Fatty Acids, and Volatile Compounds in Apricot Cultivars from Romania-A Chemometric Approach. *Antioxidants* (Basel). 27;9(7):562. doi: 10.3390/antiox9070562. PMID: 32605017; PMCID: PMC7402126.
91. POP E. A., DIACONEASA Z.M., FETEA F., BUNEA A., DULF F., PINTEA A., SOCACIU C. (2015) Carotenoids, Tocopherols and Antioxidant Activity of Lipophilic Extracts from Sea Buckthorn Berries (*Hippophae rhamnoides*), Apricot Pulp and Apricot Kernel (*Prunus Armeniaca*) ISSN-L 2344-2344; Print ISSN 2344-2344; Electronic ISSN 2344-5300DOI: 10.15835/buasvmcn-fst:11425
92. Proksch, E., Brandner, J. M., & Jensen, J. M. (2008). The skin: an indispensable barrier. *Experimental dermatology*, 17(12), 1063-1072. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2008.00786.x>
93. Pundir, S., Garg, P., Dwiwedi, A., Ali, A., Kapoor, V. K., Kapoor, D., ... & Negi, P. (2021). Ethnomedicinal uses, phytochemistry and dermatological effects of *Hippophae rhamnoides* L.: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 266, 113434. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113434>
94. Rangsriwong P., Rangkadilok N., Satayavivad J., Goto M., Shotipruk A. (2009) Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. *Fruits*. Volume 66, Issue 1, Pages 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.11.023>

95. Radenkova V., Püssa T., Juhnevič-Radenkova K., Anton D., Seglina D., (2018) Phytochemical characterization and antimicrobial evaluation of young leaf/shoot and press cake extracts from *Hippophae rhamnoides* L. Volume 24, Pages 56-66 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.010>
96. Radulescu, C., Olteanu, R. L., Stihl, C., Florescu, M., Lazurca, D., Dulama, I. D., ... Teodorescu, S. (2019). Chemometric Assessment of Spectroscopic Techniques and Antioxidant Activity for *Hippophae rhamnoides* L. Extracts Obtained by Different Isolation Methods. *Analytical Letters*, 52(15), 2393–2415. <https://doi.org/10.1080/00032719.2019.1590379>
97. Reche, C., Rosselló, C., Umaña, M. M., Eim, V., & Simal, S. (2021). Mathematical Modelling of Ultrasound-Assisted Extraction Kinetics of Bioactive Compounds from Artichoke By-Products. *Foods*, 10(5), 931. <https://doi.org/10.3390/foods10050931>
98. Rodríguez-Negrete, E. V., Morales-González, Á., Madrigal-Santillán, E. O., Sánchez-Reyes, K., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Valadez-Vega, C., Chamorro-Cevallos, G., Garcia-Melo, L. F., & Morales-González, J. A. (2024). Phytochemicals and Their Usefulness in the Maintenance of Health. *Plants*, 13(4), 523. <https://doi.org/10.3390/plants13040523>
99. Rui Fang Nigel C. Veitch Geoffrey C. Kite Elaine A. Porter Monique S. J. Simmonds (2013) Enhanced Profiling of Flavonol Glycosides in the Fruits of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) *Food Chem.* 3868–3875C <https://doi.org/10.1021/jf304604v>
100. Sabo Mirjana, POTOČNJAK Mirjana, BANJARI Ines, PETROVIĆ Danijela „Pollen analysis of honeys from Varaždin County, Croatia”, *Turk J Bot* 35 (2011) 581-587 © TÜBİTAK, 08.05.2011, doi:10.3906/bot-1009-86
101. Saifullah M., McCullum R., McCluskey A., Vuong Q. (2020). Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves Volume 6, Issue 4, e03666 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03666>
102. Saleh, M. S. M., Jalil, J., Zainalabidin, S., Asmadi, A. Y., Mustafa, N. H., & Kamisah, Y. (2021). Genus *Parkia*: Phytochemical, Medicinal Uses, and Pharmacological Properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 618. <https://doi.org/10.3390/ijms22020618>
103. Samadi, M., Zainal Abidin, Z., Yoshida, H., Yunus, R., & Awang Biak, D. R. (2020). Towards Higher Oil Yield and Quality of Essential Oil Extracted from *Aquilaria malaccensis* Wood via the Subcritical Technique. *Molecules*, 25(17), 3872. <https://doi.org/10.3390/molecules25173872>
104. Schubertová, S., Krepsová, Z., Janotková, L., Potočňáková, M., & Kreps, F. (2021). Exploitation of Sea Buckthorn Fruit for Novel Fermented Foods Production: A Review. *Processes*, 9(5), 749. <https://doi.org/10.3390/pr9050749>

105. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) vegetative parts as an unconventional source of lipophilic antioxidants Lobiuc, A., Pavál, N.-E., Mangalagiu, I. I., Gheorghită, R., Teliban, G.-C., Amăriucăi-Mantu, D., & Stoleru, V. (2023). Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. *Molecules*, 28(3), 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules28031114>
106. Sile, I., Teterovska, R., Onzevs, O., & Ardava, E. (2023). Safety Concerns Related to the Simultaneous Use of Prescription or Over-the-Counter Medications and Herbal Medicinal Products: Survey Results among Latvian Citizens. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(16), 6551. <https://doi.org/10.3390/ijerph20166551>
107. Sharma B., Sahoo D., Deswal R. (2018) Single-step purification and characterization of antifreeze proteins from leaf and berry of a freeze-tolerant shrub seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Volume 41, Issue 20 Pages 3938–3945 <https://doi.org/10.1002/jssc.201800553>
108. Sun Y., Feng F., Nie B., Cao J., Zhang F. (2019) High throughput identification of pentacyclic triterpenes in *Hippophae rhamnoides* using multiple neutral loss markers scanning combined with substructure recognition (MNLSR) Volume 205, 120011 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.011>
109. Sun, Y., Wang, Y., Guo, J., & Zhao, Y. (2025). Bioactive Compounds from Sea Buckthorn. In *Sea Buckthorn: A Functional Food Resource* (pp. 13–25). Singapore: Springer Nature Singapore
110. Sumali N G., Wood F. K., Papaioannou E. H., Marshall L. J., Sergeeva N. N., Boesch C. (2021) Application of an Ultrasound-Assisted Extraction Method to Recover Betalains and Polyphenols from Red Beetroot Waste. *CS Sustainable Chem. Eng.* 8736–8747 <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c01203>
111. Subhash Ajmani, Kamalakar Jadhav, and Sudhir A. Kulkarni 2014 “Three-Dimensional QSAR Using the k-Nearest Neighbor Method and Its Interpretation ” *Journal of Saudi Chemical Society*, Pages 618–625 <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.11.009>
112. Stefan Bogdanova, Kaspar Ruoffa and Livia Persano Oddo (2004). “Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review” Volume 35, *European unifloral honeys* Page (s) S4 - S17 DOI <https://doi.org/10.1051/apido:2004047>
113. Suzan zein Alabdeen Makawi, Elrasheed Ahmed Gadkriem and Saad Mohamed Hussein Ayoub ,, Determination of Antioxidant Flavonoids in Sudanese Honey Samples by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography” *E-Journal of Chemistry* ISSN: 0973-4945; CODEN ECJHAO 2009, 6(S1), S429-S437.
114. Shi, M., Gu, J., Wu, H., Rauf, A., Emran, T. B., Khan, Z., Mitra, S., Aljohani, A. S. M., Alhumaydhi, F. A., Al-Awthan, Y. S., Bahattab, O., Thiruvengadam, M., & Suleria, H. A. R. (2022). Phytochemicals, Nutrition, Metabolism, Bioavailability, and Health Benefits in Lettuce—A Comprehensive Review. *Antioxidants*, 11(6), 1158. <https://doi.org/10.3390/antiox11061158>

115. Sharma, U. K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H. P., & Sinha, A. K. (2008). Microwave-assisted efficient extraction of different parts of *Hippophae rhamnoides* for the comparative evaluation of antioxidant activity and quantification of its phenolic constituents by reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(2), 374–379. <https://doi.org/10.1021/jf072510j>
116. Schubertová, S., Krepsová, Z., Janotková, L., Potočnáková, M., & Kreps, F. (2021). Exploitation of Sea Buckthorn Fruit for Novel Fermented Foods Production: A Review. *Processes*, 9(5), 749. <https://doi.org/10.3390/pr9050749>
117. Sheng Z, Zhao J, Muhammad I, Zhang Y. (2018) Optimization of total phenolic content from *Terminalia chebula* Retz. fruits using response surface methodology and evaluation of their antioxidant activities. *PLoS One*. 13(8):e0202368. doi: 10.1371/journal.pone.0202368. PMID: 30106980; PMCID: PMC6091980
118. Sławińska, N., Żuchowski, J., Stochmal, A., & Olas, B. (2023). Extract from Sea Buckthorn Seeds—A Phytochemical, Antioxidant, and Hemostasis Study; Effect of Thermal Processing on Its Chemical Content and Biological Activity In Vitro. *Nutrients*, 15(3), 686. <https://doi.org/10.3390/nu15030686>
119. Staicu, V., Calinescu, I., Vinatoru, M., Ghimpeteanu, D., Popa, I., & Mason, T. J. (2024). The Efficient Extraction of β -Carotene from Sea Buckthorn Berries Using a Novel Solvent, Fatty Acid Ethyl Esters, and a Combination of Ultrasound and Microwave. *Agronomy*, 14(3), 416. <https://doi.org/10.3390/agronomy14030416>
120. Tan, S., Xu, Y., Zhu, L., Geng, Z., Zhang, Q., & Yang, X. (2022). Hot air drying of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries: effects of different pretreatment methods on drying characteristics and quality attributes. *Foods*, 11(22), 3675.
121. Tiitinen K. M., Yang B., Haraldsson G. G., Jonsdottir S., Kallio H. P., (2006) Fast Analysis of Sugars, Fruit Acids, and Vitamin C in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Varieties Vol 54/Issue <https://doi.org/10.1021/jf053177r>
122. Tkacz, K., Wojdyło, A., Turkiewicz, I. P., Bobak, Ł., & Nowicka, P. (2019). Anti-Oxidant and Anti-Enzymatic Activities of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Fruits Modulated by Chemical Components. *Antioxidants*, 8(12), 618. <https://doi.org/10.3390/antiox812061>
123. Tkacz K., Turkiewicz I. P., Nowicka P. , Wojdyło A. (2024) Microspheres as carriers of sea buckthorn carotenoids and tocopherols with antidiabetic potential: Effect of biopolymers, cross-linking and storage. Volume 59, 103995 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103995>
124. Tie F, Dong Q, Zhu X, Ren L, Liu Z, Wang Z, Wang H, Hu N. (2024) Optimized extraction, enrichment, identification and hypoglycemic effects of triterpenoid acids from *Hippophae rhamnoides* L pomace. *Food Chem*. 1;457:140143. doi: 10.1016/j.foodchem.2024.140143. Epub 2024 Jun 16. PMID: 38901339.

125. Tu J.-Q., Zhang Z.-Y., Cui C.-X., ang M. Li Y, Y. and Zhang Y.-P. ,, Fast Separation and Determination of Flavonoids in Honey Samples by Capillary Zone Electrophoresis” KUI-10/2017, February 17, 2017, DOI: 10.15255/KUI.2016.053.
126. Trivadila, T., Iswantini, D., Rahminiwati, M., Rafi, M., Salsabila, A. P., Sianipar, R. N. R., Indariani, S., & Murni, A. (2025). Herbal Immunostimulants and Their Phytochemicals: Exploring *Morinda citrifolia*, *Echinacea purpurea*, and *Phyllanthus niruri*. *Plants*, 14(6), 897. <https://doi.org/10.3390/plants14060897>
127. Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A. H., & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(22), 5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
128. Uwineza, P. A., & Waśkiewicz, A. (2020). Recent Advances in Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural Plant Materials. *Molecules*, 25(17), 3847. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>
129. Varzakas, T., Zakynthinos, G., & Verpoort, F. (2016). Plant Food Residues as a Source of Nutraceuticals and Functional Foods. *Foods*, 5(4), 88. <https://doi.org/10.3390/foods5040088>
130. Vilas-Franquesa A., Saldo J., Juan B.(2022) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) oil extracted with hexane, ethanol, diethyl ether and 2-MTHF at different temperatures – An individual assessment. Volume 114, 104752. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104752>
131. Wang, Z., Zhao, F., Wei, P., Chai, X., Hou, G., & Meng, Q. (2022). Phytochemistry, health benefits, and food applications of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A comprehensive review. *Frontiers in nutrition*, 9, 1036295. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1036295>
132. Wang, M., Zhang, Z., Liu, X., Liu, Z., & Liu, R. (2025). Biosynthesis of Edible Terpenoids: Hosts and Applications. *Foods*, 14(4), 673. <https://doi.org/10.3390/foods14040673>
133. Wei, C., Tan, W., Tian, J., & Liu, W. (2025). Chemical Composition and Antioxidant Active Components of Sea Buckthorn Oil. In *Sea Buckthorn: A Functional Food Resource* (pp. 205-220). Singapore: Springer Nature Singapore.
134. Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2(3), 251-286. <https://doi.org/10.3390/medicines2030251>
135. Wang, M., Zhang, Z., Liu, X., Liu, Z., & Liu, R. (2025). Biosynthesis of Edible Terpenoids: Hosts and Applications. *Foods*, 14(4), 673. <https://doi.org/10.3390/foods14040673>
136. Wirkowska-Wojdyła, M., Ostrowska-Ligeża, E., Górska, A., Brzezińska, R., & Piasecka, I. (2024). Assessment of the Nutritional Potential and Resistance to Oxidation of Sea Buckthorn and Rosehip Oils. *Applied Sciences*, 14(5), 1867. <https://doi.org/10.3390/app14051867>
137. Wu, D., Yang, Z., Li, J., Huang, H., Xia, Q., Ye, X., & Liu, D. (2024). Optimizing the Solvent Selection of the Ultrasound-Assisted Extraction of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*

- L.) Pomace: Phenolic Profiles and Antioxidant Activity. *Foods*, 13(3), 482. <https://doi.org/10.3390/foods13030482>
138. Xie, C., Gu, J., & Zhu, S. (2024). Progress in Research on Terpenoid Biosynthesis and Terpene Synthases of Lauraceae Species. *Forests*, 15(10), 1731. <https://doi.org/10.3390/f15101731>
 139. Yang W., Laaksonen O., Kallio H., Yang B. (2016) Proanthocyanidins in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Berries of Different Origins with Special Reference to the Influence of Genetic Background and Growth Location *Food Chem.* 1274–1282 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05718>
 140. Yang, B., & Kallio, H. (2002). Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophae*) lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 13(5), 160-167.
 141. Yogendra Kumar M.S. , Tirpude R.J. , Maheshwari D.T. , Bansal A., Misra K. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves in vitro. Volume 141, Issue 4, Pages 3443-3450. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.057>
 142. Zakyntinos G., Varzakas T. (2023) Carotenoids: from Plants to Food Industry. DOI : <https://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue1.04>
 143. Zhang, X., Li, M., Zhu, L., Geng, Z., Liu, X., Cheng, Z., Zhao, M., Zhang, Q., & Yang, X. (2023). Sea Buckthorn Pretreatment, Drying, and Processing of High-Quality Products: Current Status and Trends. *Foods*, 12(23), 4255. <https://doi.org/10.3390/foods12234255>
 144. Zhang, P., Qi, J., Duan, Y., Gao, J.-m., & Liu, C. (2022). Research Progress on Fungal Sesterterpenoids Biosynthesis. *Journal of Fungi*, 8(10), 1080. <https://doi.org/10.3390/jof8101080>
 145. Zhang, G. & Chi, X. (2020). A green strategy for obtaining anthraquinones from *Rheum tanguticum* by subcritical water. *Open Chemistry*, 18(1), 702-710. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0079>
 146. Zhang, Y.-J., Gan, R.-Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A.-N., Xu, D.-P., & Li, H.-B. (2015). Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Molecules*, 20(12), 21138-21156. <https://doi.org/10.3390/molecules201219753>
 147. Zheng W-H, Bai H-Y, Han S, et al. Analysis on the Constituents of Branches, Berries, and Leaves of *Hippophae rhamnoides* L. by UHPLC-ESI-QTOF-MS and Their Anti-Inflammatory Activities. *Natural Product Communications*. 2019;14(8). doi:10.1177/1934578X19871404
 148. Zheng, Y., Sun, K., Sun, X., Li, Y., Xiao, P., & He, C. (2025). Quality differences in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries of major varieties in China based on key components and antioxidant activity. *Food chemistry*, 465(Pt 2), 142139. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142139>

149. Zhou, L., Wu, Q., Yang, Y., Li, Q., Li, R., & Ye, J. (2024). Regulation of Oil Biosynthesis and Genetic Improvement in Plants: Advances and Prospects. *Genes*, 15(9), 1125. <https://doi.org/10.3390/genes15091125>
150. Zielińska, A., & Nowak, I. (2017). Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. *Lipids in health and disease*, 16, 1-11.
151. Żuchowski J. (2023). Phytochemistry and pharmacology of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides*; syn. *Hippophae rhamnoides*): progress from 2010 to 2021. *Phytochemistry reviews : proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 22(1), 3–33. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09832-1>