პრობიოტიკური შემადგენლობის შემუშავება ვაშლის წვენის წარმოებისთვის

ეთერ ტყეშელიაძე

სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია
საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის
აგრარული მეცნიერებების საბჭოზე
აგრარულ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: თინათინ სადუნიშვილი

Christian Herzig

ნინო გაგელიძე

საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი

თბილისი, 2023

სამეცნიერო მიმართულების კომისიის რეკომენდაცია

დისერტანტი: ეთერ ტყეშელიაძე

დისერტაციის სათაური: -**„პრობიოტიკური შემადგენლობის შემუშავება ვაშლის წვენის წარმოებისთვის“. „Development of Probiotic Compositions for Apple Juice Production“.**

დისერტაციის დაცვის თარიღი: 15 აგვისტო 2023

დისერტაციის დაცვის კომისია:

რეცენზენტი 1: ვლადიმერ ელისაშვილი

რეცენზენტი 2: მერაბ ჟღენტი

დაცვის კომისიის თავმჯდომარე: ლალი ქუთათელაძე

დაცვის კომისიის წევრი: ევა ქაჩლიშვილი

დაცვის კომისიის წევრი: თამარ ხარძიანი

დაცვის კომისიის წევრი: თინათინ სადუნიშვილი - სამეცნიერო ხელმძღვანელი/წევრი

დაცვის კომისიის წევრი: ქრისტიან ჰერზიგი - სამეცნიერო ხელმძღვანელი/წევრი

დაცვის კომისიის წევრი: ნინო გაგელიძე - სამეცნიერო ხელმძღვანელი/წევრი

რეკომენდებულია დაცვისათვის სამეცნიერო მიმართულების კომისიის მიერ.

თეო ურუშაძე-

ვლადიმერ ელისაშვილი-

ია ფიფია-

ნატო კობახიძე-

სადოქტორო სკოლის კოორდინატორი: _____ / ნატო კობახიძე/

თარიღი:

ავტორის დეკლარაცია

"როგორც წარმოდგენილი სადოქტორო დისერტაციის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ჩემი დისერტაცია წარმოადგენს ორიგინალურ ნაშრომს და მასში სხვა ავტორების აქამდე გამოქვეყნებული, გამოსაქვეყნებლად მიღებული ან დასაცავად წარდგენილი მასალები გამოყენებულია ციტირების სათანადო წესების დაცვით."

ეთერ ტყეშელიაძე (ხელმოწერა)

თარიღი: ივნისი, 2023 წ.

აბსტრაქტი

პრობიოტიკური საკვები პროდუქტების უმეტესობა დაფუძნებულია რძის ნაწარმზე. თუმცა, ზოგიერთ ადამიანს, მათ შორის ბავშვებს, რძის შაქრის – ლაქტოზის აუტანლობა ახასიათებს. პრობიოტიკებით გამდიდრებული ხილის წვენები წარმოადგენს რძის პროდუქტების კარგ ალტერნატივას, ვინაიდან არის ლაქტოზისა და ქოლესტერინისგან თავისუფალი.

სადისერტაციო ნაშრომის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა საქართველოში გავრცელებული ვაშლის ადგილობრივი და ინტროდუცირებული ჯიშებიდან გამოყოფილი პრობიოტიკური რძემჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული ვაშლის წვენის დამზადების ბიოტექნოლოგიის შემუშავება. სხვადასხვა ჯიშის ვაშლის ნაყოფებიდან გამოიყო რძემჟავა ბაქტერიების 120 იზოლატი. მათი მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლების შესწავლის შედეგად შეირჩა 4 შტამი (*Lactiplantibacillus* (*Lpb.*) *plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 53, *Lactiplantibacillus plantarum* 74 და *Lactiplantibacillus plantarum* 76), რომლებიც იდენტიფიცირებულ იქნა გერმანიაში MALDI-TOF მასური სპექტრომეტრიით და 16S rDNA სექვენირებით. შესწავლილ იქნა ოთხივე შტამის პრობიოტიკური თვისებები. ყველა მათგანი ხასიათდებოდა pH 2.0-ზე ზრდის უნარით, ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობით. *Lactiplantibacillus plantarum* 74 რეზისტენტული იყო ციპროფლოქსაცინის, გენტამიცინის, ნეომიცინისა და სტრეპტომიცინის მიმართ, *Lactiplantibacillus plantarum* 76 - ოქსიტეტრაციკლინის, ციპროფლოქსაცინის, გენტამიცინისა და სტრეპტომიცინის მიმართ, *Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 53 და *Lactiplantibacillus plantarum* 74 მგრძნობიარენი აღმოჩნდნენ ოქსიტეტრაციკლინის, ტეტრაციკლინის, ერითრომიცინისა და რიფამპიცინის მიმართ. ვაშლის ნაყოფიდან გამოყოფილ ოთხ შტამს შორის ანტიმიკრობული აქტივობის შესწავლამ აჩვენა, რომ *Salmonella enterica* ATCC 14028-ს ზრდა დათრგუნა *Lactiplantibacillus plantarum* 52-მა. *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059-ის შემთხვევაში *Lpb. plantarum* 52 და *Lpb. plantarum* 76 გამოირჩეოდა ამ უნარით, *Proteus mirabilis* ATCC 12453-ს, *Shigella flexneri* ATCC 12022-სა და *Escherichia coli* ATCC 25922-ის მიმართ ინჰიბიტორული აქტივობა აღენიშნებოდა *Lpb. plantarum* 76 შტამს. შესწავლილი პრობიოტიკური თვისებების საფუძველზე,

ვაშლის წვენების ფერმენტაციისთვის შერჩეულ იქნა სამი საუკეთესო (კომპლემენტარული) თვისებების მქონე შტამის კონსორციუმი *Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 74 და *Lpb. plantarum* 76. ვაშლის წვენში, ჩათესვის მომენტში, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა შეადგენდა 7.0±0.2 lg კწე/მლ-ს. თერმოსტატში 37 °C-ზე 48 სთ-იანი ფერმენტაციის შემდეგ დაფიქსირდა მატება 9.3±0.2 lg კწე/მლ-მდე. მაცივარში შენახვიდან მე-12 კვირას მიაღწია 8.6±0.2 lg კწე/მლ-მდე. აღსანიშნავია, რომ წვენის pH შეიცვალა ამ პერიოდის განმავლობაში და შემცირდა 3.65±0.02-დან 3.55±0.02-მდე. ჯამური ფენოლების შემცველობა 194.4±9.7 მგ GAE /ლ-დან მე-12 კვირას გაიზარდა 304.0±15.2 მგ GAE /ლ-მდე. რაც შეეხება ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-დან შემცირდა 118.5±5.9 მგ AAE /ლ-მდე.

ვაშლიდან გამოყოფილი პრობიოტიკური თვისებების მქონე რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული კონსორციუმის საფუძველზე შესაძლებელია დამზადდეს პრობიოტიკური წვენები, რომლებიც დააკმაყოფილებს გასტროენტეროლოგიის მსოფლიო ორგანიზაციის (World Gastroenterology Organization) მოთხოვნებს.

საძიებო სიტყვები: ვაშლი, რძემჟავა ბაქტერია, პრობიოტიკური თვისებები, ფერმენტაცია, ფუნქციური საკვები

Development of Probiotic Compositions for Apple Juice Production

Abstract

Most probiotic foods are dairy-based products. However, some people, including children, are characterized by intolerance to milk sugar – lactose. Fruit juices enriched with probiotics are good alternatives to dairy products as they are lactose and cholesterol free.

The thesis's main goal was to develop the biotechnology of apple juice production enriched with probiotic lactic acid bacteria isolated from local and introduced varieties of apples spread in Georgia. Over 120 isolates of lactic acid bacteria were obtained from different apple varieties. As a result of the study of their morpho-physiological and biochemical characteristics, 4 strains (*Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 53, *Lactiplantibacillus plantarum* 74 and *Lactiplantibacillus plantarum* 76) were selected, which were identified in Germany by MALDI-TOF mass spectrometry and 16S rDNA sequencing. The probiotic properties of all four strains were studied. All tested isolates were characterized by growth ability at pH 2.0 and tolerance to bile salts. *Lactiplantibacillus plantarum* 74 was found to be resistant to ciprofloxacin, gentamicin, neomycin, and streptomycin, *Lactiplantibacillus plantarum* 76 – to oxytetracycline, ciprofloxacin, gentamicin, and streptomycin; *Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 53 and *Lactiplantibacillus plantarum* 74 were characterized by sensitivity to oxytetracycline, tetracycline, erythromycin, and rifampicin. The study of antimicrobial activity among four strains isolated from apple *Lactiplantibacillus plantarum* 52 showed antimicrobial activity against *Salmonella enterica* ATCC 14028. In the case of *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059, *Lpb. plantarum* 52 and 76 were distinguished by this ability, *Lactiplantibacillus plantarum* 76 had an inhibitory effect against *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Shigella flexneri* ATCC 12022, and *Escherichia coli* ATCC 25922. Based on the studied probiotic properties, a consortium of three strains (*Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 74, *Lpb. plantarum* 76) with the best (complementary) properties was selected for the fermentation of apple juices. In apple juice, at the time of inoculation, cell viability was 7.0±0.2 lg CFU/mL. After 48 hours of fermentation in a thermostat at 37 °C, an increase up to 9.3±0.2 lg CFU/mL was observed; It reached 8.6±0.2 lg CFU/mL in the 12th week after refrigerated storage. During this period, the pH of the juice changed; It reduced from 3.65±0.02 to 3.55±0.02. The content of total phenols increased from

194.4±9.7 mg GAE/l in the 12th week to 304.0±15.2 mg GAE/l. But the antioxidant activity decreased from 139.9±6.9 mg AAE/l to 118.5±5.9 mg AAE/l.

Based on the selected consortium of lactic acid bacteria with probiotic properties isolated from apples, it is possible to produce probiotic juices that meet the requirements of the World Gastroenterology Organization.

Key words: Apple, Lactic acid bacteria, Probiotic properties, Fermentation, Functional foods

მადლობა

სადოქტორო კვლევის ფარგლებში გაწეული დახმარებისთვის მინდა მადლობა გადავუხადო:

პროფესორ თინათინ სადუნიშვილს, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი

დოქტორ ნინო გაგელიძეს, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი

Professor Christian Herzig-ს, კასელის უნივერსიტეტი, გერმანია

Professor Dr. Dr. h.c. mult. Angelika Ploeger-ს, მდგრადი სოფლის მეურნეობისა და სასურსათო სისტემების (SAFS) პროგრამის ხელმძღვანელი, კასელის უნივერსიტეტი, გერმანია;

Professor Dr. Dr. h.c. mult. Hartmut Vogtmann-ს, კასელის უნივერსიტეტი, გერმანია;

Prof. Dr. med. Andreas Zautner-ს, მაგდებურგის უნივერსიტეტი, გერმანია;

პროფესორ ვახტანგ ლეჟავას, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის რექტორი;

პროფესორ თეო ურუშაძეს, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის აგრარული და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებების სკოლის დეკანი, SAFS პროგრამის ხელმძღვანელი, საქართველო;

ნათია სამუშიას, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის პრორექტორი;

პროფესორ ნატო კობახიძეს, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის სადოქტორო სკოლის კოორდინატორი;

ნინო კაჭარავას, SAFS პროგრამის კოორდინატორი.

სარჩევი

დარგობრივი კომისიის რეკომენდაცია ii

ავტორის დეკლარაცია iii

აბსტრაქტი iv

მადლობა viii

ცხრილების სია xii

გრაფიკების სია xiii

სურათების სია xiv

1. შესავალი 1

2. ლიტერატურის მიმოხილვა 5

2.1 ფუნქციური სურსათი – საკითხის თანამედროვე მდგომარეობა 5

2.2 პრობიოტიკურ პროდუქტებში გამოყენებული რძემჟავა ბაქტერიები 11

2.3 პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების სელექციის კრიტერიუმები 19

2.4 *Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum*-ის შტამის დახასიათება და მისი ანტიმიკრობული აქტივობა, როგორც პრობიოტიკური აქტივობის განმსაზღვრელი თვისება 23

2.5 ხილის წვენების ფერმენტაციისას პრობიოტიკებზე მოქმედი ფაქტორები 24

2.6. მდგრადი განვითარების მიზნები 27

3. მეთოდოლოგია 30

3.1 ნიმუშების შეგროვება 31

3.2 რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა 31

3.3 იზოლატების მორფოლოგიური დახასიათება 32

3.4 იზოლატების სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდა 33

3.5 იზოლატების მიერ შაქრების ფერმენტაციის უნარის შესწავლა 33

3.6 იზოლატების პრობიოტიკური მახასიათებლები 33

3.6.1 დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობა 33

3.6.2 ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა 34

3.6.3 ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა/მგრძნობელობა 34

3.6.4 ანტიმიკრობული აქტივობა 35

3.7 იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა 35

3.8 იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია გვარის და სახეობის დონეზე 35

3.9 ვაშლის წვენის ფერმენტაციის სხვადასხვა პარამეტრების შესწავლა 37

3.9.1 ვაშლის წვენის მომზადება და ბაქტერიული ინოკულუმის შეტანა.....37
3.9.2 სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა.....37
3.9.3 წვენის pH-ისა და ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა.....38
3.9.4 წვენის შაქრების და ორგანული მჟავების განსაზღვრა.....38
3.9.5 ჯამური ფენოლების შემცველობის განსაზღვრა.....38
3.9.6 ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული (FRAP) მეთოდით.....39
3.10 მიკრობული კონსორციუმის და ფერმენტაციის პირობების შერჩევა ლაბორატორიულ პირობებში პრობიოტიკური ვაშლის წვენის მისაღებად.....40
3.11. საპილოტე ცდა ვაშლის წვენის ტექნოლოგიის შესამუშავებლად საწარმოოს პირობებში.....40
3.12. ფერმენტირებული ვაშლის წვენის სენსორული ანალიზი.....41
3.13 სტატისტიკური ანალიზი.....41
4. შედეგები.....42
4.1 ვაშლიდან რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა, მათი მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური დახასიათება.....44
4.2 ვაშლიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური თვისებები.....49
4.2.1 რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა დაბალ pH-ზე.....50
4.2.2 ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა.....51
4.2.3 ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობა.....53
4.2.4 რძემჟავა ბაქტერიების ანტაგონისტური აქტივობა პათოგენების მიმართ.....54
4.3 იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულება.....56
4.4 რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია.....57
4.5. ვაშლის წვენის ფერმენტაციის პირობები.....60
4.5.1 სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა ფერმენტირებულ წვენში....60
4.5.2 pH-ის და ტიტრული მჟავიანობის ცვლილება წვენის ფერმენტაციისას.....61
4.5.3 შაქრების კონცენტრაცია ფერმენტირებულ წვენებში.....64
4.5.4 ორგანული მჟავების კონცენტრაცია.....67
4.5.5 ჯამური ფენოლების შემცველობა.....68
4.5.6 ანტიოქსიდანტური აქტივობის ცვლილება ფერმენტაციის დროს.....69
4.6 რძემჟავა ბაქტერიების კონსორციუმით პრობიოტიკური ვაშლის წვენის მიღება .71
4.7 პრობიოტიკური ვაშლის წვენის ტექნოლოგიის შემუშავება საწარმოო პირობებში.....75

4.8 სენსორული ანალიზი, მომხმარებელთა მიერ ფერმენტირებული წვენის მიმღებლობის დადგენა 79
5. შედეგების განხილვა 82
6. დასკვნები და რეკომენდაციები 93
ბიბლიოგრაფია 97

ცხრილების სია

ცხრილი 1. ვაშლის ნიმუშების ჯიშები და მათი შეგროვების ადგილები 43

ცხრილი 2. რძემჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი იზოლატის მორფოლოგიური დახასიათება 46

ცხრილი 3. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე 48

ცხრილი 4. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე 49

ცხრილი 5. რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ტოლერანტობა pH 2.0-ის მიმართ 51

ცხრილი 6. რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ტოლერანტობა ნაღვლის მარილების სხვადასხვა კონცენტრაციის მიმართ 53

ცხრილი 7. რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობა..... 54

ცხრილი 8. რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ანტიმიკრობული აქტივობა.....57

ცხრილი 9. ოთხი იზოლატის 16S rRNA გენის თანმიმდევრობების BLAST ანალიზის შედეგები 60

ცხრილი 10. *Lactiplantibacillus plantarum*-ის სხვადასხვა შტამით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა 61

ცხრილი 11. ვაშლის წვენის pH-ის მონაცემები ფერმენტაციისას..... 63

ცხრილი 12. ვაშლის წვენის ტიტრული მჟავიანობის ცვლილება ფერმენტაციისას ... 64

ცხრილი 13. ნარჩენი შაქრების კონცენტრაცია 2%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში 65

ცხრილი 14. ნარჩენი შაქრების კონცენტრაცია 5%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში 67

ცხრილი 15. 5%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ კომერციულ ვაშლის წვენში ნარჩენი შაქრების კონცენტრაცია 67

ცხრილი 16. ნარჩენი გლუკოზის, ფრუქტოზისა და საქაროზის კონცენტრაცია 2%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ კომერციულ ვაშლის წვენში..... 68

ცხრილი 17. ჯამური ფენოლების შემცველობა (მგ GAE /ლ) ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში 70

ცხრილი 18. ანტიოქსიდანტური აქტივობა ვაშლის წვენში (მგ AAE /ლ) 71

ცხრილი 19. ბაქტერიული კონსორციუმის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში 72

ცხრილი 20. ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილება სამაცივრე პირობებში 73

ცხრილი 21. ბაქტერიული კონსორციუმის უჯრედების რაოდენობის ცვლილება თერმულად დამუშავებული (53 ±2°C) წვენის ფერმენტაციასას და სამაცივრე პირობებში 78

ცხრილი 22. ვაშლის წვენის სენსორული შეფასება სხვადასხვა კრიტერიუმის მიხედვით 82

გრაფიკების სია

გრაფიკი 1. ჯამური პოლიფენოლების სტანდარტიზაცია გალის მჟავაზე (საკალიბრო მრუდი) 39

გრაფიკი 2. რძემჟავა ბაქტერიების რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში 62

გრაფიკი 3. ვაშლის წვენის pH ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში 63

გრაფიკი 4. ვაშლის წვენის ტიტრული მჟავიანობის ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში 64

გრაფიკი 5. შაქრების რაოდენობის ცვლილებები წვენის ფერმენტაციის პროცესში ...66

გრაფიკი 6. ორგანული მჟავების კონცენტრაციის ცვლილების მრუდი 69

გრაფიკი 7. წვენის ფერმენტაციის გავლენა ფენოლების ჯამურ შემცველობაზე 70

გრაფიკი 8. ფერმენტაციის გავლენა წვენის ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე 71

გრაფიკი 9. ფერმენტაციის პროცესში ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში 73

გრაფიკი 10. სამაცივრე პირობებში ბაქტერიული კონსორციუმის რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში 74

გრაფიკი 11. ბაქტერიული კონსორციუმის ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში 79

გრაფიკი 12. ბაქტერიული კონსორციუმის რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში სამაცივრე პირობებში შენახვის დროს 79

გრაფიკი 13. მომხარებელთა მიერ ფერმენტირებული ვაშლის წვენის მოწონების მაჩვენებლების საშუალო მონაცემები 82

სურათების სია

სურ. 1. ვაშლებიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების სუფთა კულტურების მიღება 45

სურ. 2. გამოყოფილი ზოგიერთი იზოლატის მიკროსკოპული სურათები 46

სურ. 3. რძემჟავა ბაქტერიების მიერ სხვადასხვა შაქრის ფერმენტაცია 49

სურ. 4. რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების ზრდა pH 2-ზე სხვადასხვა დროის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ 51

სურ. 5. *Lactiplantibacillus plantarum* 52-ის ზრდა ნაღვლის მარილის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე 52

სურ. 6. შერჩეული შტამების სხვადასხვა ანტიბიოტიკის მიმართ მგრძნობელობა 54

სურ. 7. რძემჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობა *Bacillus cereus* ATCC 10876-ის მიმართ 56

სურ. 8. რძემჟავა ბაქტერიების შტამების ურთიერთდამოკიდებულება 58

სურ. 9. იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია გვარის დონეზე 58

სურ. 10. ფერმენტირებული ვაშლის წვენის მიკრობული რაოდენობები 75

სურ. 11. საპილოტე ცდის ფარგლებში ბაქტერიული კონსორციუმის ცვლილება ფერმენტაციისას და სამაცივრე პირობებში 80

სურ. 12. ვაშლის წვენის ფერის ცვლილება ფერმენტაციისას 81

სურ. 13. ცხრაბალიანი ჰედონური შკალას შაბლონი 81

1. შესავალი

პრობიოტიკები წარმოადგენენ ცოცხალ მიკროორგანიზმებს, რომლებსაც შეუძლიათ დადებითი გავლენა მოახდინონ ადამიანის ჯანმრთელობაზე (Ghadaksaz et al., 2022). პრობიოტიკური საკვები და დიეტური დანამატები მაღალი პოპულარობით გამოირჩევიან ბაზარზე, რადგან მათ აქვთ უნარი მოახდინონ დაავადებების პრევენცია, რის გამოც იძენენ მეტ აღიარებას ჯანდაცვის პროფესიონალებისა და მომხმარებლების მხრიდან (Harel & Tang, 2023). ტრადიციულად, პრობიოტიკების ძირითად წყაროდ გვევლიანებიან ფერმენტირებული რძის პროდუქტები. მიუხედავად ამისა, ლაქტოზის აუტანლობასა და მკაცრი ვეგეტარიანელების მზარდი რაოდენობის გამო, არსებობს ინოვაციური პრობიოტიკური არარძის პროდუქტების საჭიროება (Cosme et al., 2022).

რძემჟავა ბაქტერიების შტამები, რომლებიც იდენტიფიცირებულია და ხასიათდება პრობიოტიკური თვისებებით, გამოიყენება ფერმენტაციის პროცესში ფუნქციური სასმელების მოსამზადებლად. ეს სასმელები შეიძლება ჩაითვალოს ჯანსაღ სინბიოტიკური პროდუქტებად, რადგან, ერთი მხრივ შეიცავენ სუბსტრატებს - პრებიოტიკებს, რომლებიც გამოიყენება პროდუქტის მოსამზადებლად, მეორეს მხრივ, სპეციფიკური კულტურის მქონე ან შტამების ნარევს, რომლებიც გამოიყენება დუღილის წარმართვისთვის. თუ სასმელი მზადდება სასოფლო-სამეურნეო ნედლეულის გამოყენებით, ფერმენტირებული სუბსტრატები თავისი ოლიგოსაქარიდებით და ბოჭკოების შემცველობით მოქმედებენ როგორც პრებიოტიკები. ორივე კომპონენტი (პრობიოტიკური შტამები და პრებიოტიკური სუბსტრატი) არსებობს პროდუქტში სინერგიულ ურთიერთობაში და სასარგებლოა კვებისა და ნაწლავების ჯანმრთელობისთვის. ასეთი პრობიოტიკური სასმელების მომზადება შესწავლილია არარძის პროდუქტების სუბსტრატების გამოყენებით, მათ შორის ხილი, ბოსტნეული, თხილი, მარცვლეული, რომელიც წარმოადგენენ დიეტის ძირითად წყაროს ბევრ რეგიონში. პრობიოტიკების გამოყენებით მომზადებული სასმელების მოხმარება, რომლებიც შეიცავს აქტიურ მიკრობულ უჯრედებს და მათ მეტაბოლიტებს, ხელს უწყობს სასმელებში ფუნქციური თვისებების ჩამოყალიბებას. გარდა ამისა, არარძის პრობიოტიკური პროდუქტები შეიძლება გამოიყენოს ყველა ტიპის მომხმარებელმა, მათ შორის, ვეგანებმა და ვეგეტარიანელებმა და,

განსაკუთრებით, რძის პროდუქტების მიმართ ალერგიის მქონე ადამიანებმა (Dahiya et al., 2022). აღსანიშნავია, რომ პრობიოტიკებს ვხვდებით მცენარეების ენდოფიტური ფლორის შემადგენლობაში. კვლევების მიხედვით არსებობს უზარმაზარი პოტენციალი ენდოფიტებზე დაფუძნებული მიკრობული ფორმულირებების საშუალებით ახალი პროდუქტების შემუშავებისთვის (Pandey et al., 2022).

აღმოსავლეთ და დასავლეთ საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში ხილის დიდი მრავალფეროვნებაა, რაც შეიძლება პრობიოტიკების საინტერესო და მდიდარ წყაროდ ჩაითვალოს. საქართველოს ხილის კულტურების 88% მოდის ხუთ სახეობაზე: ყურძენი, ვაშლი, მანდარინი, ატამი და თხილი. 2018 წელს ვაშლის მოსავლიანობა 2012 წელთან შედარებით მნიშვნელოვნად გაიზარდა. საქართველოში წარმოებული ვაშლის 87% მოდის შიდა ქართლის რეგიონზე (Namchavadze 2020). იგი მაღალი კვებითი და დიეტური ღირებულებით გამოირჩევა. ნაყოფი მდიდარია ნახშირწყლებით, ორგანული მჟავებით, ვიტამინებით, ანტიოქსიდანტებით და ჯანმრთელობისათვის სასარგებლო სხვა ნივთიერებებით (მაჭავარიანი 1998).

მოცემულ კვლევაში ყურადღება შევაჩერეთ საქართველოში გავრცელებული ვაშლის ადგილობრივ (კეხურა და ქართული სინაპი) და ინტროდუცირებულ ჯიშებზე. ქართული ჯიშებიდან - კეხურა (ჯიშის სახელწოდება: *Malus domestica* „Kekhura“) გამოირჩევა შენახვისადმი მაღალი მედეგობით და რბილობის წვნიანობით. ხე ძლიერი ზრდისაა, მსხმოიარობაში გვიან შედის, ხასიათდება მეწლეობით. ნაყოფი წითელი ფერისაა, მრგვალი, მსხვილი, საგემოვნო თვისებები საშუალოა. იკრიფება ოქტომბრის ბოლოს, კარგად ინახება მაის-ივნისამდე. მაღალპროდუქტიული ჯიშია, რეკომენდებულია სამრეწველო მეხილეობის ზონისთვის. ქართული სინაპის ხე ძლიერი ზრდისაა, გვიან შედის მსხმოიარობაში, მაღალმოსავლიანია, ნაყოფი მოგრძო-ცილინდრული ფორმისაა, მწვანე ფერის, მზის მხარეს შეფერილია ჟოლოსფერ-წითლად. იკრიფება ოქტომბრის მეორე ნახევარში, ინახება აპრილ-მაისამდე. რეკომენდებულია სამრეწველო მეხილეობის ზონისთვის (ხომიზურაშვილი და სხვები, 1973).

ნაშრომის მიზანი და ამოცანები. სადისერტაციო ნაშრომის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა საქართველოში გავრცელებული ვაშლის ჯიშებიდან გამოყოფილი პრობიოტიკური რძემჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული ვაშლის წვენის დამზადების ბიოტექნოლოგიის შემუშავება.

ამ მიზნის მისაღწევად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანების გადაწყვეტა:

- რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების გამოყოფა ვაშლის სხვადასხვა ჯიშის ნაყოფებიდან, სუფთა კულტურების მიღება და კოლექციის შექმნა
- გამოყოფილი იზოლატების მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებების შესწავლა
- მიღებული სუფთა იზოლატების პრობიოტიკური თვისებების შესწავლა (დაბალ pH-ზე ზრდა, ანტიმიკრობული აქტივობა პათოგენური ბაქტერიების მიმართ, ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობა, ნაღვლის მჟავების მიმართ ტოლერანტობა)
- სუფთა იზოლატების გენეტიკური იდენტიფიკაცია
- ვაშლის წვენის წარმოებისთვის პერსპექტიული შტამების გამოვლენა და მათი გავლენა პრობიოტიკურ წვენებში ქიმიურ, ბიოქიმიურ და ორგანოლეპტიკური მახასიათებლების ცვლილებაზე
- კულტურების სიცოცხლისუნარიანობის დადგენა ფერმენტირებული წვენის ნიმუშებში სამაცივრე პირობებში შენახვისას
- პრობიოტიკური ვაშლის წვენის წარმოებისათვის ტექნოლოგიური ხასიათის რეკომენდაციების შემუშავება.

ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე და პრაქტიკული ღირებულება. საქართველოში პირველად განხორციელდა ვაშლის სხვადასხვა ჯიშის ნაყოფებიდან ჩვენ მიერ გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების საფუძველზე პრობიოტიკური ვაშლის წვენის მიღება. საქართველოში პირველად იქნა შესწავლილი ფერმენტირებული წვენის სხვადასხვა ქიმიური და ბიოქმიური პარამეტრი, როგორიცაა pH ცვლილება, ტიტრული მჟავიანობა, შაქრები, ორგანული მჟავები, ჯამური ფენოლების შემცველობა და ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ასევე განისაზღვრა შტამების სიცოცხლის-უნარიანობის შენარჩუნება ფერმენტაციისა და სამაცივრე პირობებში შენახვისას.

კვლევის მნიშვნელოვანი სიახლე გამოიხატება სასარგებლო ვაშლის წვენის ფუნქციონალურ საკვებად გარდაქმნაში, რაც ხელს შეუწყობს ადამიანების ჯანმრთელობას, განსაკუთრებით ლაქტოზის აუტანლობის მქონე პირებისათვის, მათ შორის ისეთი სეგმენტისთვის, როგორიც ბავშვებია.

ლაბორატორიული კვლევების გარდა, ექსპერიმენტები ჩატარდა შ.პ.ს. კამპას საწარმოში, შემუშავდა პრობიოტიკური ვაშლის წვენის წარმოების ბიოტექნოლოგიური სქემა, განისაზღვრა წვენის შენახვის ვადა და პირობები, ასევე - სიცოცხლისუნარიანი ენდემური პრობიოტიკური ბაქტერიების ეფექტური რაოდენობა ფერმენტაციის დაწყებისას და მისი დასრულების შემდეგ. ქართული წვენების მრავალფეროვნებისა და პოპულარობის მიუხედავად, დღევანდელ ბაზარზე პრობიოტიკური წვენები არ მოგვეპოვება. განხორციელებული კვლევის შედეგად მიღებული პროდუქტი კონკურენტუნარიანი შეიძლება იყოს როგორც შიდა ბაზარზე, ასევე საზღვარგარეთის ქვეყნებში. პრობიოტიკური ვაშლის წვენების წარმოება ჩვენს ბაზარზე მომგებიანი იქნება როგორც მოსახლეობის გაჯანსაღების მხრივ, ისე ეკონომიკური თვალსაზრისით.

განხორციელებული კვლევა ინტერდისციპლინურია. პრობიოტიკური ვაშლის წვენის წარმოების პროცესში გამოყენებულია მიკრობიოლოგიური, ბიოქიმიური, მოლეკულურ-ბიოლოგიური, ბიოტექნოლოგიური მეთოდები. მიღებული შედეგები განეკუთვნება:

- მიკრობიოლოგიის სფეროს, რადგან განხორციელდა ვაშლის ქართული ჯიშების ნაყოფებისთვის დამახასიათებელი მიკროფლორის კვლევა, რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების გამოყოფა და კოლექციის შექმნა.
- ბიოტექნოლოგიის სფეროს, რადგან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების მნიშვნელოვანი ბიოქიმიური და პრობიოტიკური მახასიათებლების შესწავლის საფუძველზე შეიქმნა ვაშლის წვენის წარმოებისთვის ბაქტერიული კომბინაცია და შემუშავდა პრობიოტიკური წვენის მიღების ბიოტექნოლოგიური სქემა.
- კვლევა ადამიანის ჯანმრთელობის თვალსაზრისითაც მნიშვნელოვანი შედეგების მომტანია, რადგან სადისერტაციო ნაშრომის განხორციელების შედეგად, ჩვენ მიერ გამოყოფილი და შერჩეული მაღალი ფერმენტული და პრობიოტიკური თვისებების მქონე რძემჟავა ბაქტერიების კომბინაციების საფუძველზე დამზადებული პრობიოტიკური ვაშლის წვენი ადამიანების, მათ შორის, ლაქტოზის აუტანლობის მქონე ადამიანების ჯანმრთელობაზე დადებითად იმოქმედებს.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1 ფუნქციური სურსათი – საკითხის თანამედროვე მდგომარეობა

მომხმარებელი სულ უფრო მეტად ინტერესდება ე.წ. "ფუნქციური საკვებით", რომელიც შეიცავს პრობიოტიკურ მიკროორგანიზმებს და/ან ბიოაქტიურ ნაერთებს, როგორებიცაა საკვები ბოჭკოები, ოლიგოსაქარიდები, რომელთა მოხმარებამ შეიძლება გამოიწვიოს საკვებისმიერი დაავადების რისკის პრევენცია ან შემცირება (Horáčková et al., 2018; Mousavi et al., 2011; Nosrati et al., 2014; Dahiya, 2022). ფუნქციურ საკვებს მიეკუთვნება ხილი, რომელიც აღიარებულია, როგორც ვიტამინების (ვიტამინი C და B-კომპლექსისა და ვიტამინი A-ს წინამორბედების წყარო), მინერალების, დიეტური ბოჭკოებისა და ანტიოქსიდანტების ფუნდამენტური წყარო. მათი კვებითი ღირებულება და სენსორული მახასიათებლები დამოკიდებულია სახეობაზე, ჯიშზე, კულტივაციის მეთოდებზე, ნიადაგზე, კლიმატურ პირობებზე, შენახვაზე, ტრანსპორტირებასა და შენახვის ვადაზე. ამჟამად, არსებობს სხვადასხვა ხილის შერევის ტენდენცია, რათა გაიზარდოს პროდუქტის გემური და კვებითი თვისებები (Septembre-Malaterre et al., 2018; De Souza et al., 2014; Nile et al., 2014). ხილში ძირითად შაქრებად წარმოდგენილია გლუკოზა, საქაროზა და ფრუქტოზა (Septembre-Malaterre et al., 2018), რომელთა კონცენტრაცია 5-დან 22%-მდე შეიძლება მერყეობდეს, მათ შორის, ციტრუსები შაქრების შედარებით დაბალი შემცველობითაა წარმოდგენილი, ბანანში კი მათი კონცენტრაცია უფრო მაღალია; წითელ ხილში ძირითად შაქარს ფრუქტოზა და გლუკოზა წარმოადგენს (Mikulic-Petkovsek et al., 2012). ხილში ასევე დიდი რაოდენობით გვხვდება ფენოლური ნაერთები, რომლებიც ხასიათდებიან ანტიდიაბეტური, კიბოს საწინააღმდეგო, ანტიმიკრობული, ანთების საწინააღმდეგო და ანტივირუსული, მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით (Johansson et al., 2014). ფენოლების მრავალფეროვნებით და მაღალი კონცენტრაციით განსაკუთრებით გამოირჩევა წითელი ხილი. უმეტესად აქ გვხვდება ფენოლური მჟავები, ანთოციანები (Cosme et al., 2022). ერთ-ერთ ყველაზე ფართოდ კულტივირებულ ხილს წარმოადგენს ვაშლი, რომლის წარმოებამ 86,4 მილიონ ტონაზე მეტი შეადგინა 2020 წელს მსოფლიოში, რაც ხაზს უსვამს მის მნიშვნელობას ეკონომიკური თვალსაზრისით (FAO, 2022). ვაშლის სახეობები მიეკუთვნება ვარდისებრთა ოჯახს და მისი მრავალი

ჯიში იზრდება მთელს მსოფლიოში (Zhang et al., 2019). ვაშლის ნაყოფს ფართოდ მოიხმარენ მსოფლიოს ყველა ქვეყანაში და ძალიან პოპულარულია თავისი გემოს, წვნიანობის, ფერის, ტექსტურის გამო. გარდა ამისა, კარგად ინახება და ხელმისაწვდომია შედარებით დაბალ ფასებში მთელი წლის განმავლობაში; ასევე, განიხილება როგორც ჯანსაღი საკვები (Bars-Cortina et al., 2020; Mohebbi et al., 2020), რადგან შეიცავს დიდი რაოდენობით ბიოაქტიურ ნაერთებს და ადამიანის ჯანმრთელობაზე ახდენს დადებით გავლენას (Herranz et al., 2019). (სასარგებლო ნაერთების შემცველობა ვაშლში განსხვავდება როგორც სხვადასხვა ქვეყნის, რეგიონის ან კონტინენტის ჯიშების მიხედვით, ასევე - თავად ვაშლის ნაწილებშიც (ნაყოფი, რბილობი, კანი, ფოთოლი, თესლი, ფესვი) (Kalinowska et al., 2014). ვაშლი შეიცავს ისეთ საკვებ ნივთიერებებს, როგორებიცაა: შაქარი, ბოჭკოები, პექტინი, ცხიმი, ცილა, ორგანული მჟავები (მაგ. ვაშლმჟავა), ვიტამინები (მაგ., C, E, B6), მინერალები (მაგ., კალიუმი, კალციუმი, აზოტი, მაგნიუმი, თუთია, რკინა, სპილენძი, მანგანუმი) (Skinner et al., 2018). ისინი არა მხოლოდ ენერგიის წყაროს წარმოადგენენ, არამედ მონაწილეობენ ორგანიზმში მიმდინარე ბევრ მნიშვნელოვან პროცესში, მაგალითად, ვაშლის, ლიმონის და ღვინის მჟავები ეხმარებიან ორგანიზმს საჭმლის მონელებაში (Pal et al., 2020). შაქრის შემცველობა და განაწილება ორგანულ მჟავებთან ერთად, უპირველეს ყოვლისა, განაპირობებს ნაყოფის გემოს და იზიდავს მომხმარებლებს (Ma et al., 2015). ვაშლის ორი ძირითადი მონოსაქარიდია გლუკოზა და ფრუქტოზა, ხოლო საქაროზა წარმოადგენს მთავარ დისაქარიდს. ვაშლში უხვად არის D-სორბიტოლი, რომლის კონცენტრაცია ვაშლის წვენში მერყეობს 300-დან 800 მგ/100 მლ-მდე (Belitz et al., 2009). გარდა ამისა, ყველა ხილი შეიცავს ცელულოზას, ჰემიცელულოზას (პენტოზანებს) და პექტინს (Al Daccache et al., 2020). ვაშლში კალციუმის დაგროვება ხელს უწყობს ნაყოფის გამკვრივებას და მის დაცვას სოკოვანი ინფექციებისგან (Aghdam et al., 2012). ვაშლი არის ანტიოქსიდანტების ძალიან კარგი წყარო, თუმცა ვაშლის ანტიოქსიდანტური შესაძლებლობები მნიშვნელოვნად არის განპირობებული მათში არსებული ფენოლური ნაერთებით, ხოლო მისი ანტიოქსიდანტური აქტივობა C ვიტამინისა და სხვა ფიტოქიმიკატების გამო შედარებით დაბალია (Kumari et al., 2023). ვაშლში არსებული ბიოაქტიური მოლეკულების კონცენტრაცია და ტიპი შეიძლება შესამჩნევად განსხვავდებოდეს სახეობისა და ჯიშის მიხედვით და დამოკიდებულია კლიმატურ, აგრონომიულ, მოსავლის აღების პირობებზე, ასევე

შემდგომ მის გადამუშავებასა და შენახვაზე (Herranz et al., 2019; Williams et al., 2013). ვაშლის ნედლად მოხმარების გარდა, შესაძლებელია მისი გადამუშავებაც და ვაშლის სხვადასხვა პროდუქტის მიღება, გამოყენებული გადამუშავების ტექნოლოგიის მიხედვით (Li et al., 2020; Lyu et al., 2020), არაფერმენტირებული წვენები (Pruksasri et al., 2020; Sauceda-Gálvez et al., 2021) და პრობიოტიკებით ფერმენტირებული წვენები (Peng et al., 2020; Roberts et al., 2018; Chen et al., 2019). ასეთი გზით წვენების მიღება წარმოადგენენ XXI საუკუნის წამყვან ტენდენციას (Biswal et al., 2021), რომელთა მოხმარებით შეიძლება გაუმჯობესდეს ნაწლავის მიკრობიომი, ასევე სასარგებლო ეფექტი ჰქონდეთ ნაწლავური და არანაწლავური დაავადებების მიმართ, რაც მოიცავს დიარეას პრევენციას, ანთებით დაავადებასთან დაკავშირებული სიმპტომების შემცირებას, კუჭ-ნაწლავის კიბოს პრევენციას, ლაქტოზის აუტანლობასთან დაკავშირებული სიმპტომების შემსუბუქებასა და *Helicobacter pylori*-ით გამოწვეული დაავადების შემცირებას (Ganatsios et al., 2021).

აღშანიშნავია, რომ პრობიოტიკების ძირითად წყაროებს წარმოადგენს რძის პროდუქტები - კეფირი, მაწონი, იოგურტი და ყველი. თუმცა რძის და სხვა რძის პროდუქტების მიღებას შემზღუდველი ფაქტორები ახლავს თან, როგორიცაა ლაქტოზის აუტანლობა, შეწოვის ნაკლებობა, რძის ცილების მიმართ ალერგია, ქოლესტერინის დონე (Rasika et al., 2021), ასევე გაზრდილი მოთხოვნა მცენარეულ სასმელებზე (მაგ., ვეგეტარიანელობა და ვეგანიზმი); ყველა ამ ფაქტორმა კი განაპირობა არარძის სასმელების გამოყენება რძის ფერმენტირებული პროდუქტების ალტერნატივად (Di Cagno et al., 2020). დედამიწის ზრდასრული მოსახლეობის 70-75% დგას ლაქტოზის აუტანლობის გამოწვევის წინაშე (Bayless et al., 2017; Panghal et al., 2018). 2400 წლის წინ ჰიპოკრატემ პირველმა აღწერა აღნიშნული მდგომარეობა, მაგრამ კლინიკური სიმპტომების დადგენა მხოლოდ ბოლო 50 წლის განმავლობაში მოხდა (Lomer et al., 2008). ლაქტოზის აუტანლობა წარმოადგენს გენეტიკურად განსაზღვრულ ფერმენტ β-გალაქტოზიდაზას (ლაქტაზას) დეფიციტის შედეგს, რის გამოც შეუძლებელია ლაქტოზის დაშლა მონოსაქარიდებად – გლუკოზად და გალაქტოზად (Kechagia et al., 2013). მსგავსი პრობლემის მქონე ადამიანებში ხშირად აღინიშნება სიმპტომები, როგორებიცაა დისკომფორტი მუცლის არეში, შებერილობა ან გაზების წარმოქმნა, სპაზმი და დიარეა (Savaiano et al., 2013). ასეთ დროს ერთ-ერთი

გამოსავალია პრობიოტიკების მიღება, რომლის ეფექტურობა დამოკიდებულია პროდუქტში არსებული რძემჟავა ბაქტერიებისა და ლაქტოზის რაოდენობაზე (Kumar et al., 2015). გარდა ამისა, რძის პროდუქტებში უფრო მაღალია ნაჯერი ცხიმებისა და ქოლესტერინის შემცველობა, მცენარეულ პროდუქტებთან შედარებით, რის გამოც მათი მიღება შემაფერხებელი ფაქტორია ზოგიერთი ადამიანისთვის. ასევე, ერთ-ერთი კვლევის თანახმად, რძის ცხიმის მაღალმა შემცველობამ აჩვენა ინჰიბიტორული ეფექტი პრობიოტიკების კულტურებზე, განსაკუთრებით, *Bifidobacterium Bifidum* იოგურტში (Tesfaye et al., 2019). ამიტომ, ზემოთ აღნიშნულმა გზა გაუხსნა პრობიოტიკურ არარძის პროდუქტებს, რომლებისთვისაც გემო და გამაგრილებელი ბუნება მთავარი უპირატესობაა (Behera et al., 2020).

პრობიოტიკური პროდუქტების მიღება ჩვეულებრივ ხდება შაქრების მიკროორგანიზმებით ფერმენტაციისას, რომლებიც, ერთი მხრივ, სუბსტრატს იყენებენ თავიანთი ზრდისა და გამრავლებისთვის და ამავე დროს, საკვებ პროდუქტსაც ამდიდრებენ თავისი მეტაბოლიტებით (Steinkraus et al., 2018). წვენების ფერმენტაცია მიმდინარეობს რძემჟავა ბაქტერიების (LAB) საშუალებით, რაც რძის პროდუქტების ალტერნატიული ჯანსაღი სურსათის შექმნის საშუალებას იძლევა (NazhandA et al., 2020; Szutowska et al., 2020). ისინი მიჩნეულნი არიან უსაფრთხო მიკროორგანიზმებად (Klupsaite et al., 2017). რძემჟავური ფერმენტაციის დროს LAB-ის მოქმედების შედეგად წარმოიქმნება რძემჟავა, როგორც დუღილის საბოლოო პროდუქტი, რაც იწვევს სურსათის შემჟავებას (Emkani et al., 2022). მსგავსი ტიპის ფერმენტირებული საკვები და სასმელი ათასობით წლის განმავლობაში იწარმოებოდა მათი ჯანსაღი თვისებების გამო და მომხმარებლების მიერ იქნა აღიარებული (Rodríguez et al., 2021). ბოლო წლებში კიდევ უფრო გაიზარდა სამეცნიერო ინტერესი რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენებით ფერმენტირებული წვენების პრობიოტიკური თვისებების შესწავლისადმი (Cosme et al., 2022).

LAB-ს შეუძლია სხვადასხვა საკვები სუბსტრატების დუღილი, როგორებიცაა რძის პროდუქტები, ხორცი და თევზი, ბოსტნეული და პარკოსნები. შესაბამისად, ვხვდებით არარძის პრობიოტიკური პროდუქტების ფართო სპექტრს, რომელიც მოიცავს ხილის, ბოსტნეულის, მარცვლეულის, სოიოსა და ხორცის პროდუქტებს (Kumar et al., 2015; Emkani et al., 2022). მარცვლეულზე დაფუძნებული ფერმენტირებული არარძის

სასმელების მაგალითებია Boza, Togwa და სხვ. Boza ეს არის ფერმენტირებული ცივი სასმელი, რომელიც მიღებულია მარცვლეულის - ჭვავი, ხორბალი, სიმინდი და ფეტვი - ფერმენტაციის შედეგად, შაქრის თანაობისას, რამდენიმე მიკროორგანიზმის, მათ შორის *Lactobacillus*-ის სხვადასხვა სახეობის გამოყენებით (Heperkan et al., 2014). Togwa არის იაპონური ფერმენტირებული სასმელი, რომელიც მიიღება მრავალმარცვლოვანი კულტურების - სორგო, სიმინდი და ფეტვის ფქვილი - პრობიოტიკური ბაქტერიებით (*Lactobacillus plantarum*-ით და სტრეპტოკოკით) დუღილის შედეგად (Panghal et al., 2018). Hardaliye არის კიდევ ერთი უალკოჰოლო თურქული ფერმენტირებული სასმელი, დამზადებულია წითელი ყურძნის (*Vitis vinifera*) წვენიდან, რომელსაც სხვადასხვა კონცენტრაციით აქვს დამატებული მთელი/დაფქული ან ცხლად დამუშავებული მდოგვის თესლი (*Sinapis alba*) და ხმელი ალუბლის ფოთლები (*Prunus cerasus*) (Coskun, 2017). ასევე ხორციც წარმოადგენს პრობიოტიკური ბაქტერიების იდეალურ წყაროს. ღორის და/ან საქონლის ხორცის შემცველი ფერმენტირებული ძეხვეული არის მიმზიდველი პრობიოტიკური ბაქტერიებისთვის. ეს პროდუქტები იწარმოება თერმული დამუშავების გარეშე, რაც ხელს უწყობს მათ სიცოცხლიუნარიანობის შენარჩუნებას საბოლოო პროდუქტში (Arihara და Ohata, 2011; Cosme et al., 2022). მრავალრიცხოვანმა კვლევამ აჩვენა, რომ პრობიოტიკური შტამები წარმატებით იქნა დამატებული სხვადასხვა ფერმენტირებულ ხორცპროდუქტებში - უნგრული სალიამი, შვეიცარიული სალიამი, შემწვარი ღორის ხორცი და სხვ. (Natt et al., 2021). ბაზარზე გაიზარდა სოიოს პროდუქტის - ტოფუს წილი, დაბალი ფასისა და მდიდარი კვებითი ღირებულებების გამო, განსაკუთრებით აზიის ქვეყნებში. ასევე პოპულარობით გამოირჩევა სოიოს რძე (Ojokoh და Yimin, 2011). ფერმენტირებული ბოსტნეული, მათ შორის ზეთისხილი, მჟავე კომბოსტო, მდოგვის მწნილი და კიმჩი, წარმოებული მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში, რძემჟავა ბაქტერიების სახეობების მდიდარ წყაროდ გვევლინება. კიმჩი, ტრადიციული კორეული საკვებია, რომელიც დამზადებულია ბოსტნეულის დუღილის შედეგად. ყველაზე გავრცელებულია კომბოსტოსგან დამზადებული ბაეჩუ კიმჩი (*Brassica rapa*). იგი მსოფლიოში პოპულარული გახდა მისი სენსორული, სასარგებლო და კვებითი თვისებების გამო (Park et al., 2017).

ბოლო წლებში გაიზარდა ფერმენტირებული სასმელების წარმოება სხვადასხვა ხილის გამოყენებით, როგორიცაა ფორთოხალი, მანგო, ჟოლო, ანანასი, ვაშლი, მსხალი, გარგარი, ატამი, ალუბალი, ბანანი და პაპაია (Pinto et al., 2022). ხილის ნატურალური წვენები (100% ხილის შემცველობა), ნექტარი (25-99% ხილი) და 25% ხილის წვენის შემცველი სასმელები ფართოდ მოიხმარება ადამიანების მიერ და წარმოადგენენ პრობიოტიკური ბაქტერიების შემცველ ალტერნატიულ საკვებ პროდუქტებს (Žuntar et al., 2020), ასევე უფრო ჯანსაღია, ვიდრე რძის პროდუქტები, ვინაიდან ისინი ნაკლებად შეიცავენ ცხიმებსა და ქოლესტერინს, მდიდარია ნახშირწყლებით, მინერალებითა და ვიტამინებით. გარდა ამისა, მომხმარებლებს შეუძლიათ გემოს უფრო ფართო არჩევანი ჰქონდეთ, რადგან ხილზე დაფუძნებული სასმელების წყარო შეიძლება განსხვავდებოდეს, ზოგიერთს აქვს უნიკალური გემო და არომატი (Mojikon et al., 2022). ხილის წვენებში, ისევე როგორც ხილში, გვხვდება საკვები ბოჭკოები, ე.წ პრებიოტიკები, რომლებიც ასტიმულირებენ პრობიოტიკების გამრავლებას მსხვილ ნაწლავში. პრებიოტიკები პრობიოტიკებთან კომბინაციაში ქმნიან სინბიოტიკებს (Mojikon et al., 2022; Miranda et al., 2022). პრობიოტიკური ბაქტერიები ურთიერთქმედებენ α- და β-კაროტინებით მდიდარ ხილთან, როგორებიცაა სტაფილო, გოგრა, მანდარინი, ფორთოხალი, მანგო და ბოსტნეული, მოქმედებენ როგორც სინბიოტიკები და ამ გზით ხელს უწყობენ ბიოქიმიურ გარდაქმნებს. ასევე დადასტურებულია, რომ აღნიშნული სასარგებლო მიკროორგანიზმები შაქრების დუღილის შედეგად წარმოქმნიან სხვადასხვა ბიოაქტიურ ნაერთს, რაც, ერთი მხრივ, თვით ამ მიკროორგანიზმების ზრდას უწყობს ხელს ხილის წვენებში, ასევე აძლიერებს კალციუმის, რკინისა და მაგნიუმის და ასკორბინის მჟავას (ვიტამინი C) შეთვისებას ნაწლავებში. აღნიშნული თვისებების გათვალისწინებით, ამ ტიპის სურსათი მიეკუთვნება ფუნქციური საკვების ჯგუფს (Septembre-Malaterre et al., 2018; Valero-Cases et al., 2020; Fenster et al., 2019; Žuntar et al., 2020).

ამრიგად, ფუნქციური სურსათი ხელს უწყობს ადამიანებისთვის ჯანსაღი და დაბალანსებული კვების რაციონის შექმნას, ენერგეტიკული მოთხოვნილებების დაკმაყოფილებით (Panghalet al., 2018); ვეგეტარიანელებისა და ვეგანების რაოდენობის გაზრდის, ასევე დიეტებისა და ცხოვრების წესის შეცვლის პარალელურად სწრაფად ფართოვდება პრობიოტიკური ინდუსტრიაც და მუდმივად მუშავდება ახალი

პრობიოტიკური პროდუქტები, რაც არარძის სასმელების გლობალური ბაზარს მრავალბიუჯეტიან ბიზნესად ხდის. 2011 წელს პრობიოტიკური საკვებისა და სასმელების შემოსავალმა დაახლოებით 24,8 მილიარდი ევრო შეადგინა, ხოლო 2015 წელს 31,1 მილიარდ ევროს გადააჭარბა. 2023 წლისთვის მოსალოდნელია, რომ ეს მაჩვენებელი 69,3 მილიარდ დოლარს მიაღწევს, რაც ასევე წარმოადგენს ფუნქციური სასმელების ბაზრის მამოძრავებელ ძალას (Aspri et al., 2020; Gomes et al., 2021).

2.2 პრობიოტიკურ პროდუქტებში გამოყენებული რძემჟავა ბაქტერიები

მიკროორგანიზმები წარმოადგენენ ჩვენი ცხოვრების განუყოფელ ნაწილს. მიკრობული სამყაროს შესწავლა არა მხოლოდ მათ შესაცნობად არის მნიშვნელოვანი, არამედ ბევრ სამედიცინო, ტექნოლოგიურ და მეცნიერულ კითხვას სცემს პასუხს, რომელსაც ჩვენ, როგორც კაცობრიობა, ვაწყდებით. აღსანიშნავია, რომ მიკროორგანიზმები სიმბიოზურ დამოკიდებულებაში არიან ცოცხალი ორგანიზმების ფართო სპექტრის სახეობებთან (Carmona-Gutierrez et al., 2022). მაგ., თითოეული ინდივიდის კუჭ-ნაწლავის ტრაქტი წარმოდგენილია 1000-ზე მეტი მიკრობული სახეობით. ბაქტერიული უჯრედების რიცხვი 10-ჯერ აღემატება ქსოვილის უჯრედების რაოდენობას, რომელიც ქმნის ადამიანის სხეულს (Gomes et al., 2021). მსხვილი ნაწლავის ბაქტერიების მთლიანი მიკრობული პოპულაცია მერყეობს დაახლოებით 10^{11} და 10^{12} კწე/გ-მდე (კოლონია წარმომქმნელი ერთეული გრამში). ადამიანის სხეულის ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან ორგანოს წარმოადგენს ნაწლავი. ის მჭიდროდ არის დაკავშირებული სხეულის სხვადასხვა ნაწილთან რთული იმუნური მექანიზმების მეშვეობით. ამიტომ დიდი ყურადღება უნდა მიექცეს ნაწლავების ჯანმრთელობას ჯანსაღი ცხოვრების წესის მისაღწევად (Guan et al., 2020). ნაწლავის ბაქტერიული კოლონიზაცია იწყება დაბადებისთანავე, როდესაც ახალშობილები პირველად ხვდებიან არასტერილურ გარემოში. ბუნებრივ კვებაზე მყოფ ჩვილებს უფრო ჯანმრთელი ნაწლავის მიკროფლორა აქვთ; მათ მიკრობიოტაში დომინირებენ *Lactobacillus* sp. და *Bifidobacterium* sp. გვარის ბაქტერიები. ნაწლავის მიკროფლორა ვითარდება და გარდაიქმნება მთელი ცხოვრების განმავლობაში, რაც დამოკიდებულია მასპინძელი ორგანიზმის გენომის, ცხოვრების წესისა და დიეტას შორის კომპლექსურ და დინამიურ ურთიერთქმედებაზე, აგრეთვე ანტიბიოტიკების გამოყენებაზე (Iozzo & Sanguinetti, 2018; Kerry et al., 2018). ნაწლავის მიკრობიოტა არის

რთული ეკოსისტემა, რომელიც მოიცავს კვების, მეტაბოლურ, ენდოკრინულ პროცესებთან, იმუნოლოგიურ და ფსიქოლოგიურ მექანიზმებთან დაკავშირებულ მიკროორგანიზმებს. მიკროორგანიზმების ეს კომპლექსი ინარჩუნებს და არეგულირებს ზოგიერთ ენდოგენურ ფუნქციას, როგორებიცაა საკვები ნივთიერებების მეტაბოლიზმი, იმუნომოდულაცია, ბიოაქტიური ნაერთების და ვიტამინების სინთეზი და ნახშირწყლების დუღილი. ისინი ნაწლავისთვის წარმოადგენენ ეფექტურ ბარიერს, შესაბამისად, ჯანმრთელობის შენარჩუნებისთვის მათი მნიშვნელობის გამო, ბაზარზე მოთხოვნადია ახალი პრობიოტიკური პროდუქტების არსებობა ერთი კონკრეტული შტამით ან სხვადასხვა სახეობის შტამების კომბინაციებით (Rodrigues et al., 2019). ნაწლავებში მიკრობიოტის შემცირება უარყოფითად აისახება ადამიანის ჯანმრთელობაზე, რაც თავის მხრივ ხელს უწყობს პრობიოტიკების თერაპიული გამოყენების ზრდას (Kothari et al., 2019). პრობიოტიკების კონცეფცია განვითარდა მე-20 საუკუნის ბოლოს, როდესაც ილია მეჩნიკოვმა პირველად წამოაყენა ჰიპოთეზა, რომ *Lactobacillus* გვარის ბაქტერიები დადებით გავლენას ახდენენ ნაწლავის მიკროფლორაზე, ასუსტებენ პათოგენური ბაქტერიების აქტივობას (Figueroa-Gonzalez et al., 2011; Sharma et al., 2012). ტერმინი პრობიოტიკი მომდინარეობს ბერძნული სიტყვიდან (*"pro"* და *"bios"*) რაც ნიშნავს "სიცოცხლისთვის" და ის პირველად შემოღებულ იქნა დ. ლილისა და რ. სტილველის მიერ (Sharma et al., 2012). პრობიოტიკების განმარტება მოგვიანებით დახვეწა Fuller-მა 1989 წელს, მათ უწოდა ცოცხალი მიკრობული კულტურები, რომლებიც დადებითად მოქმედებს მასპინძელზე მისი ნაწლავის მიკრობული ბალანსის გაუმჯობესების გზით (Khan და Naz 2013). შემდგომში კი, 2001 წელს FAO/WHO-ს ექსპერტთა ჯგუფმა მიიღო პრობიოტიკების, როგორც ცოცხალი მიკროორგანიზმების ამჟამინდელი განმარტება, რომლის მიხედვითაც მათი ადეკვატური რაოდენობით შეყვანისას ადამიანის ჯანმრთელობისთვის სარგებლის მოტანა შეუძლიათ (Singh et al., 2011, Simone et al., 2019). გარდა მათი ნაწლავის მიკროფლორაზე დადებითი ზემოქმედებისა, პრობიოტიკები შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც ანტიბიოტიკების ალტერნატივა ნაწლავური ინფექციების მკურნალობისათვის ან ანტიბიოტიკების გამოყენებით გამოწვეული დიარეას სიმპტომების შესამცირებლად (Rastall et al., 2005). პრობიოტიკები, რომლებსაც ასევე უწოდებენ ცოცხალ ბიოთერაპიულ პროდუქტებს, შეიცავს ცოცხალ ორგანიზმებს. მიუხედავად რძემჟავა ბაქტერიების შტამების

მრავალფეროვნებისა, პრობიოტიკურ პოტენციალს უმეტესად ავლენენ რძემჟავა- და ბიფიდო ბაქტერიები (Vitali et al., 2012; Vlasova et al., 2016; Palencia-Argel et al., 2022). ეს გამოწვეულია იმით, რომ მათი უმეტესობა ადამიანისა და ცხოველის ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის წარმომადგენელია და მათი არსებობა მნიშვნელოვანია ნაწლავის მიკრობული ეკოსისტემის შესანარჩუნებლად (Jacobsen, et al., 1999). მათ ასევე მინიჭებული აქვთ GRAS სტატუსი (Generally Recognized as Safe) (Contente et al., 2021), რაც საშუალებას იძლევა გამოყენებულ იქნან კვების მრეწველობაში რძის ფერმენტირებული პროდუქტების, ფუნქციური საკვების და პრობიოტიკური სასმელების წარმოებისთვის (Dahiya, 2022). რძემჟავა ბაქტერიების (LAB) ცნობადობა გაიზარდა მეოცე საუკუნის დასაწყისში (Liu et al., 2014). მიუხედავად LAB საერთო მახასიათებლებისა, ამ ჯგუფში შემავალი ბაქტერიები გამოირჩევიან ფილოგენეტიკური და ფუნქციური მრავალფეროვნებით (Makarova et al., 2006; George et al., 2018; Salvetti et al., 2018). რძემჟავა ბაქტერიებს არ გააჩნიათ მოძრაობისა და სპორის წარმოქმნის უნარი. უჯრედის კედლის აგებულების მიხედვით განეკუთვნებიან გრამ-დადებით ბაქტერიებს, წარმოდგენილია ორი მორფოტიპის – სფეროსებრი (ლაქტოკოკები) და ჩხირისებრი (ლაქტობაცილები), სახით; არიან კატალაზა უარყოფითი, ფაკულტატური ანაერობები (Sun et al., 2014; König et al., 2017; Dysvik et al., 2020). ტაქსონომიური თვალსაზრისით LAB მიეკუთვნებიან *Lactobacillales* რიგს და მოიცავს *Lactobacilli, Enterococci, Lactococci, Pediococci, Streptococci, Tetragenococci, Vagococci, Leuconostocs, Oenococci, Carnobacteria* და *Weissella*-ის გვარებს (George et al., 2018). რძემჟავა ბაქტერიები ნახშირწყლების ფერმენტაციის გზით წარმოქმნიან რძემჟავას, როგორც ძირითად საბოლოო პროდუქტს. ამ ბიოქიმიური პროცესის მიხედვით ხდება მათი კლასიფიცირება ჰომოფერმენტულ ან ჰეტეროფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიებად. კერძოდ, ჰომოფერმენტულის შემთხვევაში შაქრებიდან ანაერობულ პირობებში მხოლოდ რძემჟავას წარმოქმნიან, ხოლო ჰეტეროფერმენტულის დროს - ფართო სპექტრის მეტაბოლიტებს: რძემჟავას, ეთანოლს, CO2-ს და მცირე რაოდენობით ძმარმჟავას. დუღილის დროს შეიძლება გაუმჯობესდეს საკვები პროდუქტების, რეოლოგიური, ტექნოლოგიური და სენსორული მახასიათებლები, როგორიცაა არომატი და ტექსტურა (Rodríguez-España et al., 2022). ამ მიზეზების გამო, LAB-ი ფართოდ გამოიყენება როგორც საწყისი კულტურები ან/და როგორც პრობიოტიკები (Grujović et al., 2022). საქართველოს

მთავრობის დადგენილება №152-ში – რძისა და რძის ნაწარმის შესახებ ტექნიკური რეგლამენტის დამტკიცების თაობაზე, მე-4 მუხლში, მითითებულია ისეთი პრობიოტიკური მიკროორგანიზმები, რომლებიც დაშვებულია რძის პროდუქტებში გამოსაყენებლად: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* - გვარების სხვადასხვა სახეობის შტამები, მათ შორის *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* და ა.შ. (საქართველოს მთავრობის დადგენილება №152, 2015). პრობიოტიკებად ასევე გამოიყენება საფუარი *Saccharomyces boulardii*, *E. coli* და *Bacillus*-ის ზოგიერთი სახეობა (World Gastroenterology Organization, 2017). სახელმწიფო რეგულაციები განსხვავდება ქვეყნების მიხედვით, თუმცა, პრობიოტიკების, როგორც საკვების კომპონენტის სტატუსი ამჟამად საერთაშორისო ბაზარზე არ არის დადგენილი. უმეტეს ქვეყნებში პრობიოტიკები შედის დიეტურ დანამატებში, რადგან მათი უმრავლესობის მიღება ხდება საკვები პროდუქტებით. სურსათისა და წამლების ადმინისტრაცია (FDA) პრობიოტიკური პროდუქტის მიზნობრივი გამოყენების მიხედვით მათ არეგულირებს, როგორც დიეტურ დანამატს, საკვებ ინგრედიენტს ან წამალს (Lesnick-Dreher et al., 2015; World Gastroenterology Organization, 2017). გასათვალისწინებელია, რომ პრობიოტიკების სიცოცხლისუნარიანობა უზრუნველყოფილი უნდა იყოს საკვები პროდუქტების დამუშავებისა და შენახვის დროს, რათა ეფექტურად იმოქმედონ ადამიანის ჯანმრთელობაზე (FAO, 2006; Hill et al., 2014). ამისთვის სურსათში პრობიოტიკების განსაზღვრული რაოდენობა უნდა იყოს შეტანილი. გასტროენტეროლოგიის მსოფლიო ორგანიზაცია მიიჩნევს, რომ პრობიოტიკების საჭირო დოზა მნიშვნელოვნად განსხვავდება შტამისა და პროდუქტის მიხედვით. მიუხედავად იმისა, რომ ბევრი პროდუქტი შეიცავს 1-10 მილიარდი კწე/მლ-ს, ზოგიერთი პროდუქტი ეფექტურია პრობიოტიკების შედარებით დაბალი კონცენტრაციითაც. პრობიოტიკების ზოგადი დოზის დადგენა შეუძლებელია; ვინაიდან დოზა უნდა ეფუძნებოდეს ადამიანზე ჩატარებულ კვლევებს, რათა მოახდინონ ჯანმრთელობაზე დადებითი გავლენა (World Gastroenterology Organization, 2017).

პრობიოტიკების შესახებ ცოდნის გაღრმავებამ და კვების მრეწველობაში არარძის ფერმენტირებულ პროდუქტებზე მოთხოვნამ, სულ უფრო მნიშვნელოვანი გახადა პრობიოტიკური თვისებების მქონე რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა იაფი და რძის

პროდუქტების ალტერნატიული წყაროებიდან. ამ პროცესმა ასევე ხელი შეუწყო ადვილად ხელმისაწვდომი პრობიოტიკური პროდუქტების წარმოებას (Prasad et al., 1998; Yang et al., 2016; Kaur et al., 2021). სტარტერის ან პრობიოტიკური კულტურების მნიშვნელოვანი მახასიათებლები დამოკიდებულია საკუთრივ შტამზე. აქედან გამომდინარე, დღითიდღე იზრდება კვლევები, რომლებიც მიმართულია ახალი სტარტერული კულტურების გამოვლენისკენ სხვადასხვა წყაროს LAB შტამების სკრინინგის საფუძველზე (Barbosa et al., 2015; Rzepkowska et al., 2017). მცენარეული სუბსტრატებიდან გამოყოფილი პრობიოტიკური შტამების ფუნქციური და ბიოქიმიური თვისებები მიუთითებს მათი გამოყენების შესაძლებლობაზე პრობიოტიკური ბაქტერიების პოტენციურ წყაროებად (Prasad et al., 1998; Yang et al., 2016). საგულისხმოა, რომ *L. plantarum, L. mesenteroides, L. fermentum, L. brevis* და *Weissella* შტამებს შეუძლიათ გაუძლონ ანტიმიკრობული მცენარეული ფენოლური ნაერთების მაღალ დონეს (Filannino et al., 2018ab). ტოლერანტობა, სავარაუდოდ, გამოწვეულია ამ ნაერთების ნაკლებად ტოქსიკურ მეტაბოლიტებად გარდაქმნის უნარით (Filannino et al., 2018b). ბოლო წლების განმავლობაში დიდი ყურადღება ეთმობა *Lpb. plantarum* შტამების მიერ ფენოლური ნაერთების მეტაბოლიზმის შესწავლის საკითხს (Landete et al., 2021). ზოგადად, როგორც მცენარესთან ასოცირებული, ისე სხვა LAB-ის საერთო მახასიათებელია რძემჟავას და ძმარმჟავის დიდი რაოდენობით სინთეზი ფერმენტაციის დროს (Tyler et al., 2016). ბიოქიმიური თვალსაზრისით ამ ასპექტების გათვალისწინება მნიშვნელოვანია, ვინაიდან LAB-ის შერჩევა შეიძლება განხორციელდეს ტექნოლოგიურ, სენსორულ ან ნუტრიციოლოგიურ კრიტერიუმებზე დაყრდნობით (Di Cagno et al., 2013, 2015). ხილი, როგორებიცაა ვაშლი, გუავა, ბანანი და ნესვი, არიან პრობიოტიკური ბაქტერიების პოტენციური მატარებლები და ამ ბაქტერიებს ახასიათებთ ძლიერი ადჰეზია ხილის ქსოვილზე (Yu et al., 2019; Nagpal et al., 2020). *L. plantarum* და *L. casei* გამოყოფილია ხილის ნარჩენებიდანაც, როგორიცაა ბანანის ფოთოლი და ღერო, ანანასის კანი და პაპაიას კანი (Yang et al., 2016). გაზრდილია ინტერესი სუფრის ზეთისხილის ავტოქტონური რძემჟავა ბაქტერიების მიმართ. LAB-დან ყველაზე ხშირად *Lactobacillus*-ის გვარის ბაქტერიები გვხვდება მაგალითად, ზეთისხილში (Portilha-Cunha et al., 2020). ვაშლის ზედაპირიც წარმოადგენს ბაქტერიების ბუნებრივ რეზერვუარს, სადაც ნაპოვნი იქნა *Leuconostoc mesenteroides* subsp. mesenteroides LB7

(Graça et al., 2015; Ngea et al., 2021). 2013 წელს მეცნიერები სწავლობდნენ ვაშლის ყვავილის მიკროფლორას. აღწერეს სხვადასხვაგვარი ბაქტერიული ფონის არსებობა, რომელიც განსხვავებულად ვითარდება კვირტიდან ნაყოფამდე (Shade et al., 2013). ამ კვლევამ ხაზი გაუსვა, რომ ვაშლის ყვავილი არის ბაქტერიის მატარებელი, რომელიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას წვენების დასამზადებლად (Cousin et al., 2017). ლაქტობაცილის სამი ახალი სახეობა (*Lactobacillus micheneri, Lactobacillus timberlakei* და *Lactobacillus quenuiae*) გამოყოფილ იქნა ყვავილებიდან (Abutilon sp.) და ველური ფუტკრებიდან (McFrederick et al., 2017; 2018). ამასთან, ჩატარდა რამდენიმე კვლევა მცენარეთა ფოთლების ზედაპირიდან ლაქტობაცილის შტამების გამოყოფისა და დახასიათების შესახებ (Samedi et al., 2019). LAB ასევე გვხვდება მწერებზე, ნიადაგში, წყალში და რძეში, აგრეთვე ადამიანისა და ცხოველების კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში, სასუნთქ გზებსა და საშოში (George et al., 2018 Amiranashvili et al., 2016). ეს ბაქტერიები მონაწილეობენ საკვების მონელებაში, ასტიმულირებენ იმუნურ სისტემას და შეიძლება წინააღმდეგობა გაუწიონ არასასურველ მიკროორგანიზმებს კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში (lorizzo et al., 2020).

პრობიოტიკური ხილის წვენების შემუშავებაში ძირითადად იყენებენ *Lactobacillus* გვარის შტამებს, რადგან მცენარეული სუბსტრატები, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, მათი გამოყოფის ძირითადი წყაროა (Castillo-Escandón et al., 2019). მათი დადებითი ეფექტები ვლინდება ნუტრიციოლოგიური მაჩვენებლების, ანტიოქსიდანტური აქტივობის, ფენოლური და ჯამური ანთოციანების შემცველობის გაზრდაში. ისინი ხელს უწყობენ ხილის წვენების შენახვის ვადის გახანგრძლივებას და მათი სენსორული თვისებების გაუმჯობესებას (Plessas et al., 2021). აქვე აღსანიშნავია, რომ ფერმენტირებული სურსათის 90% წარმოებულია ბუნებრივი მიკროფლორით (Tamang et al., 2016), შესაბამისად, ფერმენტირებული სასმელების მიღება შესაძლებელია „სპონტანური“ დუღილით, ნედლეულში არსებული ავტოქტონური რძემჟავა ბაქტერიებით. ყველაზე გავრცელებული შტამებია *Enterococcus* spp., *Fructobacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp. და *Weissella* spp. ანაერობულ პირობებში და ზომიერ ტემპერატურაზე (25-35 °C) (Cosme et al., 2022). კონტროლირებადი ფერმენტაცია *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri* და *Lactobacillus acidophilus*-ის გამოყენებით, უფრო უსაფრთხოა, უფრო ადვილად გასამრავლებელი, უფრო საიმედო და უზრუნველყოფს

საბოლოო პროდუქტების სტანდარტიზაციას და მუდმივ ხარისხს (Rodríguez et al., 2021; Szutowska et al., 2020; Di Cagno et al., 2013). მაგალითად *L. plantarum* ATCC14917 ცვლის ვაშლის წვენის ფენოლურ შედგენილობას დუღილის შემდეგ და ზრდის მის საერთო ანტიოქსიდანტურ შესაძლებლობებს, ისევე როგორც ვაშლის პოლიფენოლების ბიოშეღწევადობას (Li et al., 2016). მიუხედავად იმისა, რომ *L. plantarum* შეიძლება გაიზარდოს 15-30 °C ტემპერატურაზე და დაახლოებით pH 4-ზე (Todorov et al., 2010), არსებობს *L. plantarum*-ის სპეციფიკური პრობიოტიკური შტამები, რომლებიც ტოლერანტობას იჩენენ pH დაბალ მნიშვნელობების (დაახლოებით 3.2) და დაბალი ტემპერატურის მიმართ ხილის წვენებში (4–8 °C) (Filannino et al., 2014). დუღილის დროს სასურველი აქროლადი ნაერთების უფრო მაღალი შემცველობით დაგროვების გამო *Lpb. plantarum* დადებითად მოქმედებს ხილის წვენების გემოზე (Plessas et al., 2021). აქედან გამომდინარე, შერჩეულია პრობიოტიკური *Lpb. plantarum* შტამები ცალკე ან შერეულ კულტურაში, მრავალფეროვანი პრობიოტიკური ხილის სასმელების კომერციული მიზნით საწარმოებლად (ცხრილი 1).

ცხრილი 1. კომერციულად ხელმისაწვდომი ზოგიერთი პრობიოტიკური ხილის სასმელი (Aspri et al., 2020)

პრობიოტიკური პროდუქტი	პრობიოტიკური მიკროორგანიზმი	მწარმოებელი კომპანია
Biola	*Lacctobacillus rhamnosus* GG	Tine BA, ნორვეგია
Bioprofit	*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. shermanii JS	Valio Ltd., ფინეთი
Bravo Friscus	*Lactobacillus plantarum* HEAL9, *Lactobacillus paracasei* 8700:2	Skanemajerier, შვედეთი
Gefilus	*Lactobacillus rhamnosus* GG	Valio Ltd., ფინეთი
GoodBelly drink	*Lactobacillus plantarum* 299v	NextFoods, კოლორადო, აშშ

Healthy life probiotics	*Lactobacillus paracasei* 8700:2, *Lactobacillus plantarum* Hea19	Golden circle, ავსტრალია
Proviva	*Lactobacillus plantarum* 299v	Skane Dairy, შვედეთი
Rela	*Lactobacillus reuteri* MM53	Biogaia, შვედეთი

პრობიოტიკების ინოკულაცია და შემუშავებული ფერმენტაციის პროცესის სტრატეგიები ხელს უწყობს შაქრის დაბალი შემცველობის მქონე სასმელების წარმოებას და მიკრობული შტამების ადაპტაციას ხილის წვენებთან, როგორც სუბსტრატთან, რაც ხელს უწყობს მათი სიცოცხლისუნარიანობის გაზრდას. ფერმენტირებულ სასმელებში მეტაბოლიტების სინთეზი როგორებიცაა ბაქტერიოცინები, ორგანული მჟავები და/ან ზოგიერთი ბიოაქტიური ნაერთი, აუმჯობესებს პროდუქტის ხარისხს და უვნებლობას (Fernandes და Rodrigues, 2018; Pimentel et al., 2019). სასურველ ტექნოლოგიურ მახასიათებლებს შორის, მნიშვნელოვანია, რომ რძემჟავა ბაქტერიების სტარტერული კულტურები ხილზე დაფუძნებულ სასმელებში სწრაფად გაიზარდოს და შეინარჩუნოს სიცოცხლისუნარიანობა; განახორციელოს სხვადასხვა ნახშირწყლის დუღილი, დაბალი pH-ის მნიშვნელობებისა და ტემპერატურის პირობებშიც კი შეამჟავოს წვენი და ასევე უნდა იყოს ტოლერანტული ფენოლური ნაერთების მიმართ ან მოახდინოს მათი გარდაქმნა (Rodríguez et al., 2021).

ხილისა და ბოსტნეულის ავტოქტონური ბევრი პრობიოტიკური *Lactobacillus*-ის შტამი უფრო მდგრადია ისეთი ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლის მიმართ, როგორიცაა დაბალი pH, რომელიც მიკროორგანიზმის გამრავლების ერთ-ერთ ყველაზე შემზღუდველ ფაქტორად გვევლინება (Castillo-Escandón et al., 2019). სხვადასხვა ტიპის ხილი და განსხვავებული პრობიოტიკური შტამები გამოიყენება ფერმენტირებული წვენების მისაღებად. მაგალითად ნონის (*Morinda citrifolia* L.) ხილის წვენის ფერმენტაცია განხორციელდა *Lactobacillus plantarum* SK1-ით (Saelee et al., 2019), ხოლო მოცვის წვენებისთვის შერჩეული იქნა ავტოქტონური რძემჟავა ბაქტერიები -

Lactobacillus plantarum LSJ-TY-HYB-T9 და LSJ-TY-HYB-T7 და *Lactobacillus fermentum* LSJ-TY-HYB-C22 და LSJ-TY-HYB-L16 (Li et al., 2021).

2.3 პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების სელექციის კრიტერიუმები

პრობიოტიკების „გადარჩენადობაზე" მსჯელობისას გასათვალისწინებელია ორი ასპექტი. პირველი მათგანი შეეხება შერჩეული შტამების ტოლერანტობას კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში არსებული ფაქტორების მიმართ, თუ რამდენად ვლინდება პრობიოტიკური თვისებები მსხვილ ნაწლავში (Mathipa-Mdakane & Thantsha, 2022) და მეორე - ინარჩუნებენ თუ არა ისინი სიცოცხლისუნარიანობას სურსათის წარმოების პროცესში (Palanivelu et al., 2022). კუჭის დაბალი pH-ისა და წვრილ ნაწლავში ნაღვლის მარილების მაღალი კონცენტრაციის მიმართ ტოლერანტობა ყველაზე მნიშვნელოვანი კრიტერიუმებია პრობიოტიკური შტამების შერჩევისთვის (Neffe-Skocińskaet al., 2018; Aspri et al., 2020). ცნობილია, რომ ეს სტრესული ფაქტორები აზიანებს ბაქტერიების უჯრედის მემბრანებს, რითაც ამცირებს მათ სიცოცხლისუნარიანობას და ნაწლავის კედელზე ადჰეზიის უნარს (Guan et al., 2020).

გასათვალისწინებელია, რომ ყველა შტამისთვის, წარმოშობის მიუხედავად, შერჩევის პროცედურა ერთნაირი კრიტერიუმებით ხორციელდება. ეს ეხება როგორც ადამიანის კუჭ-ნაწლავის ტრაქტიდან გამოყოფილს, ისე საკვებთან დაკავშირებულს. აუცი-ლებელია მათი დახასიათება და ჯანმრთელობისთვის სარგებლიანობის დასაბუთება, რათა ჩაითვალოს პრობიოტიკად. FAO/WHO-მ დაადგინა გლობალური სტანდარტი პრობიოტიკებისა და ჯანმრთელობის ხელშემწყობი შტამების შესაფასებლად, რომელიც შეიძლება შეჯამდეს შემდეგნაირად (FAO, 2006; Hill et al., 2014):

შტამის იდენტიფიკაცია

სურსათის უვნებლობის ევროპული ორგანოს (EFSA) თანახმად, შტამების დონეზე უნდა განხორციელდეს ტაქსონომიური იდენტიფიკაცია ყველა მიკროორგანიზ-მისთვის, რომელიც გამოიყენება კვებით ჯაჭვში (Rychen et al., 2018).

უსაფრთხოება

ბევრ ლაქტობაცილს აქვს ადამიანისთვის უსაფრთხო გამოყენების ხანგრძლივი ისტორია, ისინი გამოიყენებოდა როგორც სტარტერული კულტურები

ფერმენტირებულ საკვებში. შედეგად, ბევრი ლაქტობაცილი "საერთოდ აღიარებულია, როგორც უვნებელი" FDA-ს მიერ, ხოლო EFSA-ს მიერ მიღებული აქვს 'უვნებლობის კვალიფიციური პრეზუმფცია". მიუხედავად ამისა, ყოველი შტამი, რომელიც გამოიყენება სამრეწველო დანიშნულებისთვის ან როგორც პრობიოტიკი, უნდა შეფასდეს უვნებლობაზე სათანადო მეთოდებით, სანამ პრაქტიკაში მოხდება მისი რეალიზაცია (Seddik et al., 2017). 2019 წელს, EFSA-მ გამოაქვეყნა დოკუმენტი, რომელშიც მოცემულია კვებით ჯაჭვში გამოყენებული მიკროორგანიზმების გენომის თანმიმდევრობის ზუსტი შეფასება რისკის თავიდან ასაცილებლად (Garcia-Gonzalez et al., 2021).

გარდა ზემოთ აღნიშნულისა, პრობიოტიკური შტამები უნდა იყოს: არაპათოგენური და არატოქსიკური (Singh et al., 2011), ადამიანის ნორმალური მიკროფლორის წარმომადგენელი (Maurya et al., 2014), უნდა ჰქონდეს გავლილი კლინიკური ვალიდაცია, რაც ნიშნავს, რომ ყველა პოტენციური პრობიოტიკისთვის საჭიროა მათი ჯანმრთელობისთვის სარგებლობის დადასტურება ბრმა და რანდომიზებული კლინიკური კვლევების საშუალებით *in vivo* (Binda et al., 2020); მათ უნდა გააჩნდეთ ასევე ნაწლავების ეპითელიუმზე ადჰეზიის, კოლონიზაციისა და სტაბილური პოპულაციის წარმოქმნის უნარი (Kechagia et al., 2013; Maurya et al., 2014; Docarmo et al., 2018), უნდა შეეძლოთ მასპინძელ ორგანიზმზე სასარგებლო გავლენის მოხდენა (Fontana et al., 2013); აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ რეგულარულად მოხმარებისას, პრობიოტიკები "გარდამავალი მიკრობიომის" ნაწილია, ანუ ისინი არ არიან სტაბილური კოლონიზატორები, მაგრამ ეს გარდამავალი გზა მათ კომენსალურ ბაქტერიებთან და ეპითელურ უჯრედებთან ურთიერთქმედების საშუალებას აძლევს და, შედეგად, უზრუნველყოფენ ჯანმრთელობისთვის სარგებელს (Derrien et al., 2015).

პრობიოტიკების სიცოცხლისუნარიანობაზე ასევე მოქმედებს ანტიბიოტიკები, ამიტომ ისინი უნდა ხასიათდებოდნენ მათ მიმართ მდგრადობით (Maleki et al., 2015), თუმცა არ უნდა ჰქონდეთ ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის გენები, რომლებიც შეიძლება გადავიდნენ სხვა, პათოგენურ ბაქტერიებში პლაზმიდების საშუალებით (Salyerset al., 2004; Senok et al., 2005; Fatahi-Bafghi et al., 2022; Álvarez-Cisneros და Ponce-Alquicira, 2018). ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული მიკროორგანიზმების მზარდი რაოდენობა დღეს საფრთხეს უქმნის საზოგადოებრივ ჯანმრთელობას. ჯანდაცვის

მსოფლიო ორგანიზაციის (WHO) თანახმად, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული ბაქტერიები იწვევენ ინფექციების მზარდ რაოდენობას, როგორებიცაა პნევმონია, ტუბერკულოზი, გონორეა და საკვებით გამოწვეული დაავადებები (Husain et al., 2020; Tang et al., 2022). რძემჟავა ბაქტერიები (LAB) გამორჩეული ბაქტერიების ჯგუფია, რომლებმაც პრობიოტიკური თვისებებითა და პათოგენების საწინააღმდეგო მრავალი ანტიმიკრობული ნაერთის წარმოქმნის უნარით თავიანთი ადგილი დაიკავეს კვების მრეწველობაში (Kral et al., 2012; Alshammari et al., 2019). ანტაგონისტურ მიკროორგანიზმებს და მათ ბიოაქტიურ ნაერთებს, მათ შორის, ბაქტერიოცინებს აქვთ პოტენციალი შეცვალონ ანტიბიოტიკები. ასევე, ისინი ათწლეულების განმავლობაში გამოიყენებოდა როგორც საკვების ბიოკონსერვანტები, რადგან ისინი იწვევენ არასასურველი მიკროორგანიზმების ზრდის შეფერხებასა და ინაქტივაციას საკვებში; რძემჟავა ბაქტერიების მიერ წარმოქმნილი ბაქტერიოცინები ძალზე ეფექტურია საკვებით გადამდები პათოგენების წინააღმდეგ, როგორებიცაა *Staphylococcus aureus, Pseudomonas fluorescens, P. aeruginosa, Salmonella typhi, Shigella flexneri, Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O157:H7 და *Clostridium botulinum* (Darbandi et al., 2022). აქედან გამომდინარე, LAB-ის და მათი ანტიმიკრობული ნაერთების, არა მხოლოდ ბაქტერიოცინების, არამედ ორგანული მჟავების, წყალბადის ზეჟანგის, დიაცეტილის გამოყენებამ, მნიშვნელოვანი ინტერესი გამოიწვია გასული წლების განმავლობაში (Parappilly et al., 2022; Deng et al., 2022; Khubber et al., 2022). ბოლო კვლევების მიხედვით, ისინი მაღალი ეფექტურობით გამოირჩევიან ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული ბაქტერიების ზრდის ინჰიბირებაში (Tang et al., 2022).

პრობიოტიკების მიერ გამოვლენილი ეფექტის მექანიზმები, მეტწილად უცნობია, მაგრამ ისინი შეიძლება მოიცავდეს ნაწლავის pH-ის შეცვლას, პათოგენების წინააღმდეგ ანტიმიკრობული ნაერთების წარმოქმნას, იმუნომოდულატორული უჯრედების მოქმედების სტიმულაციასა და ლაქტაზას წარმოებას (Fazilah et al., 2018). პათოგენებისგან ორგანიზმის დასაცავად შეიძლება არსებობდეს ოთხი განსხვავებული მექანიზმი. კერძოდ,

1) კონკურენცია საკვები ნივთიერებებისთვის;

2) პრობიოტიკების ადჰეზიის ადგილებზე მიმაგრება და, შესაბამისად, პათოგენის კოლონიზაციისთვის ხელმისაწვდომი ზედაპირის შემცირება;

3) იმუნური სისტემის სტიმულაცია – სიგნალის გაგზავნა იმუნურ უჯრედებთან, რაც იწვევს ციტოკინების სეკრეციას, რომლებიც მიზნად ისახავს პათოგენის განადგურებას;

4) პირდაპირი ანტაგონიზმი – პათოგენურ ორგანიზმებზე თავდასხმა ანტიმიკრობული აგენტების გამოთავისუფლებით, როგორიცაა ბაქტერიოცინები, რომლებიც უშუალოდ კლავს მათ (ადაპტირებულია Fazilah et al., 2018).

რძემჟავა ბაქტერიები (LAB) გარდა ანტიმიკრობული ნაერთებისა, ხასიათდებიან სხვა ფუნქციური მეტაბოლიტების წარმოქმნით, მათ შორისაა ანტიოქსიდანტები (Chen et al., 2022). ლაქტობაცილები, განსაკუთრებით *L. plantarum*, *L. acidophilus* და *L. paracasei*, მონაწილეობენ ფენოლებით მდიდარი საკვების დუღილში. LAB მეტაბოლიზმი მოიცავს დეესტერიფიკაციას, ჰიდროლიზს ან ფენოლურ ნაერთებად გარდაქმნას, რასაც თან ახლავს ორგანული მჟავების მატება (Filannino et al., 2018b). ამის გამო, ანტიოქსიდანტური აქტივობის მნიშვნელოვანი გაძლიერება დაფიქსირდა რამდენიმე LAB-ის მიერ ფერმენტირებულ საკვებ პროდუქტებში. შეიძლება ითქვას, რომ ფენოლური მეტაბოლიზმი დამოკიდებულია შტამზე, ისევე როგორც ფენოლის სახეობაზე საკვების წყაროში (Khubber et al., 2022). ზოგადად, მათი მოქმედების მექანიზმის მიხედვით, ანტიოქსიდანტები შეიძლება დაიყოს პირველად და მეორად ანტიოქსიდანტებად. ანტიოქსიდანტები აფერხებენ ჟანგვის ჯაჭვურ რეაქციას, მოქმედებენ როგორც წყალბადის დონორები ან თავისუფალი რადიკალების მიმღებები, წარმოქმნიან უფრო სტაბილურ რადიკალებს. ამ ჯგუფის ანტიოქსიდანტებს ძირითადად აქვთ ფენოლური სტრუქტურა და მოიცავს შემდეგს: ანტიოქსიდანტური მინერალები, ანტიოქსიდანტური ვიტამინები (C და E) და ფიტოქიმიკატები, რომელთა შორისაა ფლავონოიდები, კატეხინები, კაროტინოიდები, β-კაროტინი, ლიკოპენი და ა.შ (Moharram et al., 2014). მცენარეებთან შედარებით, ამ ორგანიზმებს აქვთ სწრაფი ზრდის უნარი მკაცრად კონტროლირებად პირობებში, რაც მათ ბუნებრივი ბიოაქტიური მოლეკულების ხელსაყრელ წყაროდ აქცევს სამრეწველო საკვების, ფარმაცევტული პროდუქტების, საკვები პროდუქტებისა და სოფლის მეურნეობის გამოყენებისთვის. ანტიოქსიდანტები ასევე შეიძლება მიეწოდოს ორგანიზმს დიეტური დანამატების სახით (Yang et al., 2002).

2.4 *Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum*-ის შტამის დახასიათება და მისი ანტიმიკრობული აქტივობა, როგორც პრობიოტიკური აქტივობის განმსაზღვრელი თვისება

პრობიოტიკური თვისებების მქონე *Lactobacillus (L.) plantarum*-მა (ახლახან კლასიფიცირებული როგორც *Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum*) ბოლო დროს მიიპყრო მკვლევართა ყურადღება, რადგან ის მიიჩნევა საინტერესო შტამად (Plessas et al., 2021). *Lpb. plantarum* აქტიურად გამოიყენება პრობიოტიკური საკვების წარმოებაში, განსაკუთრებით ფართოდ არის გაყიდვაში *Lpb. plantarum* 299v შტამი (Wang et al., 2021). ეს არის ფაკულტატური ჰეტეროფერმენტული რძემჟავა ბაქტერია, რომელიც ტოლერანტობით გამოირჩევა მაღალი მჟავიანობისა და ეთანოლის კონცენტრაციის მიმართ და გადარჩება ისეთ პირობებში, რომლებიც ჩვეულებრივ ლეტალურია LAB-ისთვის (Oh et al., 2020). *L. plantarum*-ის ადაპტირება ფერმენტაციის პროცესთან და მისი მეტაბოლური მოქნილობა განაპირობებს მის უნიკალურობას სხვა რძემჟავა ბაქტერიებს შორის (Behera et al., 2018). *Lpb. plantarum*-ს შეუძლია მოერგოს სხვადასხვა გარემოს, რაც სავარაუდოდ გამოწვეულია მისი გენომის ზომით (საშუალოდ 3.3 Mb), რომელიც *Lactobacillus* გვარის ფარგლებში მიჩნეულია ერთ-ერთ ყველაზე დიდ გენომად (Prete et al., 2020).

გარდა ამისა, *L. plantarum* სპეციფიკური ფერმენტული შედგენილობის გამო ჩვეულებრივ, წარმოქმნის სასურველ მეტაბოლიტებს. *L. plantarum* ახდენს სხვადასხვა უჯრედგარე ფერმენტის სეკრეციას, რომლებიც ხელს უწყობენ უჯრედგარე ნაერთების მოდიფიკაციას და დეგრადაციას (Shahidi et al., 2018; Boekhorst et al., 2006). კერძოდ, *L. plantarum*-ს გააჩნია ფერმენტები, როგორიცაა ტანნაზა, α- და β-გლუკოზიდაზები, β-გალაქტოზიდაზა და p-კუმარინის მჟავას დეკარბოქსილაზა, რომლებიც აკატალიზე-ბენ მაღალი ღირებულების ნაერთების წარმოქმნას, როგორიცაა ფენოლური ნაერთები, რომლებიც, თავის მხრივ, დადებითად მოქმედებენ საკვები პროდუქტების არომატზე და ზრდიან მათ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას (Park et al., 2017). ხაზგასმით უნდა აღინიშნოს *L. plantarum*-ის მიერ ბაქტერიოცინებისა და ეგზოპოლისაქარიდების (EPS) წარმოქმნის უნარი (Li et al., 2016). ბაქტერიოცინები ხასიათდებიან ანტიმიკრობული აქტივობის ფართო სპექტრით გრამდადებითი და გრამუარყოფითი ბაქტერიების წინააღმდეგ, ხოლო ეგზოპოლისაქარიდები ხელს უწყობენ ჯანმრთელობისთვის მნიშვნელოვანი თვისებების გამოვლენას ფუნქციური საკვების განვითარების მხრივ

(Moradi et al., 2021). ერთ-ერთ ბაქტერიოცინს წარმოადგენს პლანტარიცინი, რომლის მოქმედების სპექტრი უკიდურესად მრავალფეროვანია. ჩვეულებრივ, პლანტარიცინის უმეტესობა აქტიურია გრამდადებითი ან გრამუარყოფითი ბაქტერიების მიმართ, თუმცა არის შემთხვევები, როდესაც პლანტარიცინი აქტიურია ორივეს მიმართ (პლანტარიცინი ZJ5 ან LP84) (Seddik et al., 2017). ზოგიერთი პლანტარიცინი (C11 და NA), აინჰიბირებს *Listeria monocytogenes*-ს, ინვაზიურ საკვებისმიერ პათოგენს (Todorov et al., 2017). ანტიმიკრობული აქტივობა, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ძირითადად ხორციელდება ანტიმიკრობული ნაერთების წარმოქმნით. ეს ისევე, როგორც მრავალი სხვა სასარგებლო თვისება, უნდა ჩაითვალოს შტამისთვის სპეციფიკურად და, შესაბამისად, უნდა განისაზღვროს შტამების დონეზე (Garcia-Gonzalez et al., 2021).

საკვების გაფუჭების გამომწვევი და საკვების პათოგენური ბაქტერიების ინჰიბირებისას, *L. plantarum* სახეობები ასევე გამოიყენება როგორც სტარტერი კულტურები მრავალი ფერმენტირებული საკვების დუღილის პროცესში (მჟავე კომბოსტო, სუფრის ზეთისხილი, რძის პროდუქტები, ფერმენტირებული ძეხვეული და ა.შ.). ასეთი დუღილის პროცესი აუმჯობესებს როგორც საკვების ხარისხს, ასევე მათ უსაფრთხოებას და ახანგრძლივებს საბოლოო პროდუქტების შენახვის ვადას საკვების გაფუჭების გამომწვევი მიკრობების დათრგუნვით, ძირითადად ორგანული მჟავების წარმოქმნით და პათოგენებთან საკვები ნივთიერებებისთვის კონკურენციის გაწევის გზით (Bonatsou et al., 2017). ზეთისხილის დუღილის დროს, *Lpb. plantarum*-ის მიერ წარმოიქმნება რძემჟავა, რომელიც აქვეითებს pH-ს, აფერხებს იმ მიკრობების ზრდას, რომლებიც მგრძნობიარეა მჟავე პირობების მიმართ, მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს მიკრობიოლოგიურ სტაბილურობას და სურსათის უვნებლობას (Perpetuini, et al., 2020). დაფიქსირდა რძემჟავას ძლიერი ინჰიბიტორული აქტივობა დაბალ pH-ზე გრამუარყოფითი ბაქტერიების (მაგ., *Escherichia coli* და *Salmonella Enteritidis*), სპორების წარმომქმნელი ბაქტერიებისა და მრავალფეროვანი საფუარა და ობის სოკოს მიმართ (Russo et al., 2017).

2.5 ხილის წვენების ფერმენტაციისას პრობიოტიკებზე მოქმედი ფაქტორები

ხილის შერჩევის, გარეცხვის, სტერილიზაციისა და რბილობის ან წვენის მიღების შემდეგ ხდება სასმელის ფორმულირება, რისთვისაც განისაზღვრება ინგრედიენტების პროპორციები, როგორებიცაა წყალი, რბილობი ან ხილის წვენი, შაქარი და

პრებიოტიკები. ამ ეტაპზე კრიტიკულ ფაქტორს წარმოადგენს მჟავიანობა, რადგან ეს არის პრობიოტიკური კულტურის სიცოცხლისუნარიანობის ერთ-ერთი ყველაზე მეტად შემზღუდველი ფაქტორი (Palencia-Argelet al., 2022). Peng et al., (2020) შეისწავლეს ვაშლის სხვადასხვა ჯიშისგან მიღებული ფერმენტირებული წვენების თვისებები და ჯიშების მიხედვით დაადგინეს მნიშვნელოვანი ცვლილებები ქიმიურ შემადგენლობაში, ორგანოლეპტიკურ მახასიათებლებში და ასევე ბაქტერიების რაოდენობაში. LAB-ს შეუძლია ვაშლის წვენის ძირითადი შაქრები (ფრუქტოზა, გლუკოზა და საქაროზა) გამოიყენოს დუღილის დროს უჯრედების ზრდა-განვითარებისთვის და რძემჟავად გარდაქმნისთვის, რაც ხელს უწყობს შაქრების, განსაკუთრებით კი ფრუქტოზის შემცირებას (Veron Ponce et al., 2019). როგორც კვლევებმა აჩვენა, ნახშირბადის წყაროდ გამოიყენება ვაშლის შემადგენლობაში შემავალი ბოჭკოები, ოლიგოსაქარიდები, პოლისაქარიდები და პექტინი, რაც, თავის მხრივ, ხელს უწყობს LAB-ის ზრდას ხილის წვენებში (Borgonovi et al., 2022). Roberts et al., (2018) აზრით, ფერმენტირებული ვაშლის წვენი შეიძლება წარმატებით გამოვიყენოთ, როგორც ფუნქციური საკვები, რომელიც განსაკუთრებით განკუთვნილია იმ მომხმარებლებისთვის, რომლებიც დაინტერესებულნი არიან არარძის პრობიოტიკური სასმელებით. პრობიოტიკური შტამებისთვის შესაბამისი გარემოს შექმნა წვენში, მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს ადამიანის ჯანმრთელობაზე მისი დადებითი ეფექტის მოსახდენად. პრობიოტიკური ბაქტერიების სიცოცხლისუნარიანობაზე მოქმედებს ისეთი პარამეტრები, როგორიცაა ნედლეულის გადამუშავება, წვენის წარმოება და დისტრიბუცია (Khan et al., 2013); ამიტომ პრობიოტიკები უნდა აკმაყოფილებდეს ტექნოლოგიურ სტანდარტებს, რათა დარჩეს აქტიური წარმოებისა და შენახვის მთელი პროცესის განმავლობაში (Palanivelu et al., 2022). გადამუშავების პარამეტრებიდან მნიშვნელოვანია pH, ტიტრული მჟავიანობა, ტემპერატურა, შაქრის შემცველობა, მოლეკულური ჟანგბადი, ხელოვნური არომატიზატორები, ინოკულატის კონცენტრაცია, შტამის სახეობები, შესაფუთი მასალები, შენახვის მეთოდები (Perricone et al., 2015; Flach et al., 2018; Ebrahimi et al., 2018; Lebaka et al., 2018). პრობიოტიკური ხილის სასმელების შემუშავებისას ასევე აუცილებელია გავითვალისწინოთ ფიზიკო-ქიმიური და სენსორული ცვლილებები, რომლებიც შეიძლება მოხდეს პროდუქტში ამ მიკროორგანიზმების არსებობისა და მათი მეტაბოლური აქტივობის შედეგად. ეს

გამოწვეულია ზოგიერთი ხილის წვენის მაღალი მჟავიანობით, მაგალითად მოცვის pH- 2.7, ბროწეულის pH- 3.0-3.5, ლიმონის და ლაიმის წვენები pH- 2.8 (Srisukchayakul et al., 2018). პრობიოტიკურ კულტურებს შეუძლიათ გარდაქმნან შაქრები და ზოგიერთი ფენოლური ნაერთი, რომლებიც გვხვდება ხილის წვენებში. პრობიოტიკების მეტაბოლური აქტივობა იწვევს ორგანული მჟავების, ძირითადად, რძემჟავასა და ძმარმჟავას წარმოქმნას, რასაც თან ახლავს pH-ის შემცირება და ტიტრული მჟავიანობის ზრდა და უფრო მარტივი ფენოლური ნაერთების წარმოქმნა, რაც ზრდის წვენების ანტიოქსიდანტურ აქტივობას (Rodríguez et al., 2021). ამ გამოწვევების დაძლევა შესაძლებელია რამდენიმე გზით: (ა) შტამების წინასწარი ადაპტაცია სუბსტრატთან, (ბ) ინკაფსულაცია, (გ) სხვა წვენთან შერევა და (დ) სათანადო პრობიოტიკური LAB-ის შერჩევა (Plessas et al., 2021). სტრესთან ადაპტაციის ყველაზე გავრცელებული გზაა ზრდის გარემოს და/ან ინკუბაციის პირობების შეცვლა. წინასწარი ადაპტაცია გულისხმობს მიკროორგანიზმების შეჩვევას სტრესულ ფაქტორებთან (pH, დაბალი ტემპერატურა შენახვის დროს და ა.შ.). აღნიშნული მეთოდი გამოიყენება პრობიოტიკების საშუალებით ხილის წვენების რძემჟავა ფერმენტაციისას სასურველი შედეგების მისაღწევად (Bucka-Kolendo et al., 2017; Gaucher et al., 2019). საკვლევ წვენში სხვა წვენის (ფრეში ან ფერმენტირებული) დამატება წარმოადგენს საინტერესო მიდგომას. ამ ჩარევის მთავარი მიზანია ძირითადი წვენის დაბალი pH მნიშვნელობის უმნიშვნელო მატება, რათა მოხდეს პრობიოტიკური შტამის გადარჩენის უნარის გაუმჯობესება. ამავე დანიშნულებით გამოიყენება სტაფილოს წვენი, რომლის pH შეადგენს 6-ს (Mantzourani et al., 2019). გარდა ამისა, ფორთოხლის წვენში 5% აცეროლას (*Malpighia glabra*) წვენის დამატებამ ხელი შეუშალა ნახშირორჟანგის წარმოქმნას სამი კვირის განმავლობაში და არ იმოქმედა პრობიოტიკის შემცველობაზე ოთხი კვირის განმავლობაში 8 °C ტემპერატურაზე შენახვისას (Gawkowski et al., 2013).

აღსანიშნავია, რომ ახალი ხილის წვენები ასევე მგრძნობიარეა სხვადასხვა მიკროორგანიზმის მიერ გაფუჭების მიმართ (Snyder et al., 2018). ამიტომ მათ აქვთ ძალიან ხანმოკლე შენახვის ვადა, რომელიც მერყეობს 5-დან 7 დღემდე 4 °C ტემპერატურაზე (Rojo et al., 2015; Mantzourani et al., 2020). შესაბამისად, ხილის წვენების შესანარჩუნებლად გამოიყენება სხვადასხვა სინთეზური კონსერვანტი,

როგორებიცაა კალიუმის სორბატი და ნატრიუმის ბენზოატი (Panitsa et al., 2021). რძემჟავა ფერმენტაცია კარგი ალტერნატივაა, რათა დააკმაყოფილოს მომხმარებელთა მოთხოვნები ჯანსაღი სასმელი პროდუქტის მიღებასთან დაკავშირებით; ასევე, თუ გავითვალისწინებთ ჩატარებული კვლევების შედეგებს, რომელთა მიხედვით LAB-ის მიერ ფერმენტირებული ბროწეულის წვენი ყოველგვარი დანამატის გარეშე შენახული იყო 4 °C-ზე 45 დღის განმავლობაში (დაახლოებით 38 დღით მეტ ხანს, ვიდრე არაფერმენტირებული წვენი) (Shubhada et al., 2018), მომხმარებლებიც ქიმიური დანამატების გარეშე დამზადებულ ხილის წვენებს ანიჭებენ უპირატესობას. რძემჟავური დუღილისთვის გამოყენებული LAB შტამების შერჩევა ასევე მნიშვნელოვანია, რათა უჯრედებმა გაუძლონ ხილის წვენში არსებულ რთულ პირობებს და გაამლიერონ წვენის ფუნქციური მახასიათებლები, რამაც შეიძლება შეუძლია გავლენა მოახდინოს პრობიოტიკების სიცოცხლისუნარიანობაზე პოზიტიურად, ან ნეგატიურად ან საერთოდ არ ჰქონდეს გადამწყვეტი გავლენა (Plessas et al., 2021).

2.6. მდგრადი განვითარების მიზნები

თანამედროვე სამყაროში, როდესაც კაცობრიობა მრავალი გამოწვევის წინაშე დგას გარემოსდაცვით, სოციალურ და ეკონომიკურ დონეზე, გაეროს გენერალურმა ასამბლეამ 2015 წელს შემოგვთავაზა 2030 წლის დღის წესრიგი მდგრადი განვითარებისთვის, 17 მდგრადი განვითარების მიზნით (SDG), რაც წარმოადგენს გლობალურ იმედს გენდერული უთანასწორობისა და სიღარიბის აღმოსაფხვრელად, პლანეტის დასაცავად და ამით ადამიანთა ცხოვრების გასაუმჯობესებლად მთელს მსოფლიოში (Ahmadova, 2018; Clemente-Suárez et al., 2022). ზოგადად სურსათი მრავალი გზით არის დაკავშირებული მდგრადი განვითარების მიზნებთან, რადგან მათი მიღწევის გასაღებს სასურსათო უსაფრთხოება წარმოადგენს (Echendu, 2022). თავის მხრივ, სოფლის მეურნეობა უზრუნველყოფს სურსათის მარაგების უდიდეს წილს, რის გამოც სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან რგოლს შეადგენს სასურსათო უსაფრთხოებისთვის. ამით კი საბოლოოდ მხარს უჭერენ მდგრადი განვითარების მეორე მიზანს - ნულოვანი შიმშილი (Viana et al., 2022). სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში დაგეგმილი იყო პრობიოტიკური ვაშლის წვენის დამზადების ბიოტექნოლოგიის შემუშავება და ნიადაგის მომზადება სამომავლოდ ადგილობრივ

ბაზარზე ახალი სასურსათო პროდუქტის შექმნისთვის. შესრულებული კვლევის შედეგებს მჭიდრო კავშირი აქვს გაეროს განვითარების პროგრამის მიერ განსაზღვრულ რამდენიმე მიზანთან. კერძოდ, SDG 2-თან (ნულოვანი შიმშილი), 3-თან (ჯანმრთელი ცხოვრება და კეთილდღეობა), 8-თან (ღირსეული სამუშაო და ეკონომიკური ზრდა) და 9-თან (მრეწველობა, ინოვაცია და ინფრასტრუქტურა).

5 წლამდე ბავშვების სიკვდილიანობის 45% დაკავშირებულია არასრულფასოვან კვებასთან. SDG 2.2-ის მიზანი კი სწორედ ამ პრობლემის აღმოფხვრაა. ვიტამინებისა და მინერალების დეფიციტი ზრდის განვითარების ჩამორჩენის რისკს, რაც დაახლოებით 2 მილიარდ ადამიანს აწუხებს. საკვები ნივთიერებების ადეკვატური მიღება ხელს შეუწყობს სასოფლო-სამეურნეო წარმოების გაუმჯობესებას, შემდგომში კი უზრუნველყოფს საკვების მიწოდების ზრდას და შიმშილის წინააღმდეგ ბრძოლას. ფორტიფიკაცია არის ერთ-ერთი ყველაზე ეფექტური გზა კვებითი დეფიციტის თავიდან ასაცილებლად, რითიც დიდ როლს თამაშობს SDG 2.2 მიზნის მიღწევაში (Food Fortification Initiative (FFI), 2017). ჩვენს ქვეყანაში გვაქვს შესაბამისი რეგულაცია: საქართველოს მთავრობის დადგენილება №63 2014 წლის 15 იანვარი – სურსათის ფორტიფიკაციის ტექნიკური რეგლამენტის დამტკიცების შესახებ. სასურსათო პროდუქტების ფორტიფიცირებისთვის დასაშვებ საკვებ ნივთიერებებში მოხსენებულია პრობიოტური მიკროორგანიზმები – *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* – გვარების სხვადასხვა სახეობის შტამები (საქართველოს მთავრობის დადგენილება №63 , 2014). ადგილობრივი ვაშლის ჯიშების გამოყენება პრობიოტიკური ვაშლის წვენის საწარმოებლად ადგილობრივ ბაზარზე, საშუალებას მისცემს მოსახლეობას, განსაკუთრებით კი ბავშვებს მიიღონ სასარგებლო და მაღალხარისხიანი წვენი.

სასურსათო უსაფრთხოება მჭიდრო კავშირშია ეკონომიკურ უსაფრთხოებასთანაც. მიუხედავად იმისა, რომ არასრულფასოვანი კვება საერთო პრობლემაა ბევრი დაბალი შემოსავლის მქონე ოჯახისთვის მთელი საქართველოს მასშტაბით, სასურსათო უსაფრთხოებასთან დაკავშირებული პრობლემები განსაკუთრებით აწუხებს ეთნიკური უმცირესობების წარმომადგენელ ქალებს, რადგან ისინი ხშირად აწყდებიან კულტურულ ბარიერებს ქონების ფლობაში. ფერმერ ქალებს შეიძლება შეექმნათ დამატებითი დაბრკოლებები რესურსებზე წვდომისას, როგორიცაა აღჭურვილობა,

სასუქები, საბანკო სესხები, თესლის ჯიშები და/ან სასოფლო-სამეურნეო განათლება (Sida, 2015). ჩატარებული კვლევის საფუძველზე (Modebadze et al., 2021), ეთნიკური უმცირესობების წარმომადგენელი ქალების უსაფრთხოების პრობლემები, რომლებიც ცხოვრობდნენ დედაქალაქის გარეთ, ეთნიკური უმცირესობებით დომინირებულ ქალაქებსა თუ სოფლებში, სრულიად განსხვავებული იყო. ახალქალაქისა და მარნეულის სამიზნე ჯგუფებიდან ადამიანები ხაზს უსვამდნენ არასრულფასოვან კვებას და შესაბამისი საკვები პროდუქტების სიმცირეს. 2016 წლის 25 მარტს, ოქსფამის საქართველოს წარმომადგენლობა და სოფლისა და სოფლის მეურნეობის პოლიტიკისა და განვითარების ინსტიტუტმა (RAPDI) წარმოადგინეს საქართველოში დიდი და ქვემო კავკასიონის მთებში მდებარე სოფლების სურსათის უსაფრთხოებისა და კვების შესახებ პირველი ნაციონალური კვლევის შედეგები, სადაც ნაჩვენები იყო, რომ მიუხედავად მაღალმთიანი რეგიონების განვითარების პოტენციალისა, სასურსათო უსაფრთხოებასთან დაკავშირებით საგანგაშო მდგომარეობაა. სტატისტიკის მიხედვით, ადგილობრივი მოსახლეობის 94 %-ს მოჰყავს კარტოფილი, ხოლო სხვა სასოფლო-სამეურნეო კულტურები ხელმისაწვდომია მოსახლეობის 50 პროცენტზე ნაკლებისთვის (Karsaulidze, 2016).

სასურსათო უსაფრთხოებასთან დაკავშირებით ასევე გვაქვს კიდევ ერთი სერიოზული პრობლემა. ეს გამოწვეულია არაეფექტური სასოფლო-სამეურნეო პოლიტიკით. შიდა პროდუქცია ვერ აკმაყოფილებს მოსახლეობის მოთხოვნას, რის შედეგადაც ქვეყანაში დაბალია სურსათის თვითკმარობის მაჩვენებელი, ხოლო იმპორტის მაჩვენებელი საკმაოდ მაღალია. დაბალი შემოსავლის მქონე ქვეყნისთვის ეს ასევე აისახება სურსათის ფასებზე, რაც, საბოლოოდ, იწვევს გარკვეულ კვების პრობლემებს, როგორიცაა ფიზიკური სტანდარტებით განსაზღვრული კალორიების სათანადო რაოდენობის ვერ მიღება (Meskhia, 2016). ხორცის მოხმარება განახევრებულია, რძისა და რძის პროდუქტების მოხმარება მცირდება მეოთხედით, ასევე განახევრებულია ბოსტნეულისა და შაქრის მოხმარება. მხოლოდ პურის მოხმარების მაჩვენებელი 10%-ით გაიზარდა (Koghuashvili, 2014).

აღსანიშნავია, რომ ქართული ბაზარი არ არის სათანადოდ ინფორმირებული, როდესაც საქმე ეხება ჯანსაღ საკვებს. მომხმარებელთა ინფორმირებულობის დაბალი დონე განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ახალი ასორტიმენტის დანერგვისას (Todua et

al., 2018). ქვეყანაში სასურსათო უსაფრთხოების მისაღწევად, კვების ჯაჭვის თითოეულმა მხარემ ინდივიდუალურად და ერთობლივად უნდა შეუწყოს ხელი პრობლემების აღმოფხვრას განათლების დონის ამაღლებით, შიდა წარმოების გაზრდით, საერთაშორისო სტანდარტების დაკმაყოფილებით და ა.შ.

ეკონომიკური ზრდის ხელშეწყობა გლობალური გამოწვევაა. მთავრობის დახმარებით უნდა მოხდეს მოსახლეობისთვის საჭირო სასოფლო-სამურნეო პროდუქტების წარმოება და რეალიზაცია, ასევე მომხმარებლების ცნობადობის ამაღლება წარმოებულ პროდუქციაზე. ამისთვის მნიშვნელოვანია ღირსეული სამუშაო ადგილების შექმნა. მიუხედავად იმისა, ღირსეული სამუშაო და ეკონომიკური ზრდა (SDG-8) ერთი შეხედვით სხვადასხვა ტერმინად გამოიყურება, ისინი ერთი საკითხის ორ მხარეს წარმოადგენენ. SDG-8 მიზნად ისახავს 2030 წლისთვის ყველა ქალისა და მამაკაცის პროდუქტიული დასაქმების მიღწევას (Küfeoğlu, 2022). სტატისტიკის ეროვნული სამსახურის ინფორმაციით, 2022 წლის მესამე კვარტალში საქართველოში უმუშევრობის დონე წინა წელთან შედარებით 15.6 % შეადგინა, ხოლო სიღარიბის 2021 წლის მაჩვენებელი 3.8 %-ით შემცირდა და 17.5 % შეადგინა (საქართველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახური, 2022, 2021). ამჟამად საქართველოს მთავრობის მიზანია, იზრუნოს ქვეყნის სოფლის მეურნეობის ინფრასტრუქტურის განვითარებაზე სასოფლო-სამეურნეო პროდუქტების გადამუშავებისა და შენახვის მხრივ, რაც ხელს შეუწყობს საქართველოს სოფლის მეურნეობის პროდუქტიულობისა და კონკურენტუნარიანობის ამაღლებას; აღნიშნულის მიღწევა შესაძლებელია ამ სფეროში ინვესტიციების მოზიდვით, ადგილობრივი მოთხოვნილების დაკმაყოფილებითა და ქვეყნის საექსპორტო პოტენციალის გაზრდით (Government of Georgia, 2020). სადოქტორო კვლევის ფარგლებში მიღებული ინოვაციური პროდუქტის წარმოებაში დანერგვა კი, თავის მხრივ, წვლილს შეიტანს ქვეყნის ეკონომიკურ განვითარებასა და სამუშაო ადგილების ზრდაში.

3. მეთოდოლოგია

3.1 ნიმუშების შეგროვება

მწიფე და მკვახე ვაშლის 160 ნიმუში შეგროვდა საქართველოს სხვადასხვა სოფლიდან. კერძოდ, ნიკორწმინდა, ბოსტანა, მუხლი, შაორი, ჭყვიში, ჭრებალო, ახალსოფელი, ხოტევი (ამბროლაურის მუნიციპალიტეტი), რეხა, უფლისციხე, სკრა, თორტიზა, ქიწნისი, კარალეთი, ხიდისთავი (გორის მუნიციპალიტეტი). შერჩეულ იქნა სხვადასხვა ვაშლის ჯიში და სტერილურად გადატანილ იქნა ლაბორატორიაში შემდგომი ანალიზისთვის. კვლევაში გამოყენებული ნიმუშების შეგროვება განხორციელდა ვაშლის სიმწიფის პერიოდში, 2019 წლის აგვისტოში და 2020 წლის სექტემბერ-ოქტომბერში.

3.2 რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა

ვაშლის ნაყოფებიდან რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფისა და კულტივირებისათვის შეირჩა შემდეგი საკვები არეები:

1. რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად გამოიყენებოდა MRS ბულიონი და MRS აგარი (BioLife, იტალია), გ/ლ: პეპტონი - 10, გლუკოზა - 20, საფუვრის ექსტრაქტი - 5, ნატრიუმის აცეტატი - 5, K_2HPO_4 – 2, ამონიუმის ციტრატი - 2, $MnSO_4 \times H_2O$ - 0.05, $MgSO_4 \times 7\ H_2O$ - 0.20, ტვინ-80 – 1 მლ (pH 6.2 - 6.5). სტერილდება 15 წუთის 121 °C ტემპერატურაზე. მყარ საკვებ არეს ემატება აგარი - 15
2. ნიმუშების განზავებისთვის გამოიყენებოდა ბუფერ-პეპტონიანი ბულიონი (BioLife, ი ტა ლ ი ა), გ/ლ: პეპტონი - 10, ნატრიუმის ქლორიდი 5, ნატრიუმის დიფოსფატი - 3.5, კალიუმის დიჰიდროფოსფატი -1.5, pH 7.2 ± 0.2.
   სტერილდება 15 წუთი 121 °C ტემპერატურაზე.
3. მიულერ-ჰინტონის აგარი (Oxoid, ინგლისი), გ/ლ: ხორცის ბულიონი - 300 მლ, კაზეინის ჰიდროლიზატი -17.5, სახამებელი -1.5, აგარი -17, pH 7.3 ± 0.1. სტერილდება 15 წუთის განმავლობაში 121 °C ტემპერატურაზე

ვაშლის ნაყოფიდან რძემჟავა ბაქტერიების (LAB) გამოყოფა ხდებოდა სერიული განზავების მეთოდით. ვაშლის დაქუცმაცებული კანის 10გ თავსდებოდა სტერილურ

ფაიფურის როდინში ჰომოგენიზაციისათვის. შემდეგ გადაგვქონდა ერთჯერად სტერილურ პარკში (Whirl-Pak Stand-Up Bags), ემატებოდა 90 მლ ბუფერ-პეპტონიანი წყალი და მიღებული სუსპენზიის 1მლ გადაგვქონდა წინასწარ გასტერილებულ 9 მლ ხსნარში (10^{-1} განზავება). ასე გრძელდებოდა საჭირო განზავებამდე. თითოეული განზავებიდან სუსპენზიის 0,1 მლ დაწვეთება ხდებოდა რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფ საკვებ არეზე - MRS აგარზე, რომელსაც ემატებოდა L-ცისტეინის ჰიდროქლორიდი 0.05 გ/100 მლ-ზე) სოკოების, საფუარისა და გრამუარყოფითი მიკროორგანიზმების დათრგუნვის მიზნით (Hartemink et al., 1997). შპატელის მეშვეობით თანაბრად ნაწილდებოდა საკვები არის ზედაპირზე. ინკუბაცია მიმდინარეობდა თერმოსტატში, 37 °C 48-72 სთ განმავლობაში ანაეროსტატში ანაერობულ პირობებში, BD GasPak™ EZ Anaerobe Container System-ის გამოყენებით (De et al., 2016). შემდგომ ეტაპზე მრავალჯერადი გადათესვით ვიღებდით სუფთა კულტურებს.

3.3 იზოლატების მორფოლოგიური დახასიათება

გამოყოფილი იზოლატების პირველადი გადარჩევა ხდებოდა მორფოლოგიური მეთოდით, კერძოდ გრამის წესით შეღებვითა და კატალაზა ტესტის გამოყენებით. ამისთვის იზოლატები იზრდებოდა MRS აგარზე შესაბამის პირობებში. 24 სთ-ის შემდეგ ტარდებოდა კატალაზას ტესტი - ეწვეთებოდა 3% წყალბადის პეროქსიდის ხსნარი შერჩეულ კოლონიას (Nanasombat et al., 2012), პარალელურად ხდებოდა სუფთა კულტურების მიკროსკოპირება იმერსიული ზეთის გამოყენებით (გადიდება x1000-ჯერ). კულტურები შესანახად გადატანილ იქნა გლიცერინში -80 °C-ზე ხანგრძლივი შენახვისთვის და შემდგომი კვლევებისთვის.

სამუშაოში ჩართული იქნა ასევე სერგი დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის კოლექციაში შენახული რძემჟავა ბაქტერიების იდენტიფიცირებული შტამები: *Levilactobacillus brevis* (*L. brevis* 10, *L. brevis* 15, *L. brevis* 18, *L. brevis* 49, *L. brevis* 51) *Lactiplantibacillus pentosus* (*Lpb. pentosus* 40, *Lpb. pentosus* 57, *Lpb. pentosus* 63, *Lpb. pentosus* 85, *Lpb. pentosus* 88, *Lpb. pentosus* 92), *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum* 44).

3.4 იზოლატების სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდა

შერჩეული ბაქტერიული კულტურების სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდის შესასწავლად, იზოლატების მოთავსება ხდებოდა MRS ბულიონში 4 °C, 10 °C, 15 °C, 30 °C, 37 °C და 40 °C-ზე 48-72 საათის განმავლობაში. შემდეგ ინოკულუმი 0.1 მლ-იანი მარყუჟით შტრიხის სახით გადაიტანებოდა MRS აგარზე, ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37^{0}C ტემპერატურაზე 48 საათის განმავლობაში. LAB-ის ზრდა MRS აგარზე მიუთითებდა იზოლატების მიერ კონკრეტული ტემპერატურის მიმართ ტოლერანტობაზე (Tambekar და Bhutada, 2010).

3.5 იზოლატების მიერ შაქრების ფერმენტაციის უნარის შესწავლა

იზოლატების ერთდღიანი კულტურას გადატანა ხდებოდა Phenol red ბულიონში, რომელშიც თავსდებოდა დარემის სინჯარა (Durham tubes). ნახშირბადის წყაროდ გამოყენებული იყო 1%-ის ოდენობით: არაბინოზა, ქსილოზა, გალაქტოზა, გლუკოზა, ფრუქტოზა, რამნოზა, სორბიტოლი, ლაქტოზა, მალტოზა, ცელობიოზა, საქაროზა. (არაინოკულირებული შაქრების ბულიონები გამოიყენებოდა კონტროლის სახით). ინკუბაცია მიმდინარეობდა 24 საათის განმავლობაში 37 °C ტემპერატურაზე. ბულიონის ცვლილება წითელიდან ყვითელზე და/ან გაზის წარმოქმნა მიუთითებდა დადებით რეაქციაზე (Ismail et al., 2014).

3.6 იზოლატების პრობიოტიკური მახასიათებლები

3.6.1 დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობა

pH-ის მიმართ ტოლერანტობა განისაზღვრებოდა Tambekar და Bhutada-ს (2010) მიერ შემუშავებული მეთოდის გარკვეული მოდიფიკაციით (დაყოვნების სხვადასხვა დრო). MRS ბულიონის pH 2.0-მდე შესამცირებლად გამოიყენებოდა 1N HCl, გადასათეს მასალად კი 24-36 საათიანი ინოკულატი. MRS ბულიონის საკვლევ ნიმუშებში იზოლატების სიცოცხლისუნარიანობის შემოწმება ხდებოდა pH 2-ზე 30, 60 და 90 წთ-ის დაყოვნების შემდეგ, 100 მკლ ინოკულანტის გადატანით MRS აგარზე. ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37 °C-ზე ანაერობულ პირობებში 48 სთ-ის განმავლობაში სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების განსაზღვრისთვის. LAB-ის ზრდა MRS აგარზე მიუთითებდა იზოლატების ტოლერანტობაზე დაბალი pH-ის მიმართ (Tambekar და

Bhutada, 2010). დადებითი კონტროლის სახით გამოიყენებოდა MRS ბულიონი მჟავიანობის ცვლილების გარეშე. MRS ბულიონის pH იყო 5.7.

3.6.2 ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა

წვრილ ნაწლავში ნაღვლის კონცენტრაციად მიჩნეულია 0.3%, ხოლო საკვების დაყოვნების პერიოდი - 4 საათი (Prasad, et al., 1998). ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა შესწავლილ იქნა Tambekar და Bhutada (2010) მცირედ მოდიფიცირებული მეთოდით. კვლევისთვის გამოყენებულ იქნა ნაღვლის მარილის სხვადასხვა კონცენტრაცია (0.3%; 0.5%; 1% და 1.5%) და დაყოვნების დრო (2 სთ, 4 სთ, 24 სთ და 48 სთ), ხოლო გადასათეს მასალად - 24-36 საათიანი ინოკულანტი. 37 °C ანაერობულ პირობებში ინკუბაციის შემდეგ თითოეული ნიმუშის 0.1 მლ გადატანილ იქნა MRS აგარზე. შერჩეული იზოლატების ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა განისაზღვრა LAB კულტურის ზრდის მიხედვით საკვებ არეზე ანაერობულ პირობებში 37°C-ზე 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ. ბულიონი, რომელშიც არ იქნა დამატებული ნაღვლის მარილები, გამოყენებულ იქნა დადებით კონტროლად (Tambekar და Bhutada, 2010).

3.6.3 ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა/მგრძნობელობა

LAB იზოლატების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობის ტესტისთვის გამოყენებულ იქნა დისკის დიფუზიის მეთოდი (Prabhurajeshwar და Chandrakanth, 2017). ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობის დასადგენად შერჩეულ იქნა შემდეგი ანტიბიოტიკების დისკები: ოქსიტეტრაციკლინი (30 მკგ/მლ), ციპროფლოქსაცინი (5 მკგ/მლ), ბაციტრაცინი (10 მკგ/მლ), გენტამიცინი (10 მკგ/მლ), სტრეპტომიცინი (10 მკგ/მლ), ნეომიცინი (30 მკგ/მლ), ტეტრაციკლინი (30 მკგ/მლ), ერითრომიცინი (15 მკგ/მლ) და რიფამპიცინი (5 მკგ/მლ).

მიულერ-ჰინტონის აგარზე გადატანილ იქნა საკვლევი სუფთა კულტურები და 30 წთ-ის შემდეგ მათზე დალაგებულ იქნა სხვადასხვა ანტიბიოტიკის დისკები. 37 °C ზე 24-48 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ იზომებოდა ანტიბიოტიკების დისკების ირგვლივ იზოლატების ინჰიბირების ზონის დიამეტრები. შესწავლილი ინოკულანტების კლასიფიცირება ხდებოდა როგორც მგრძნობიარე (≥14 მმ), შუალედური (11-13 მმ) და რეზისტენტული (≤10 მმ) (Kenny et al., 1992).

3.6.4 ანტიმიკრობული აქტივობა

LAB იზოლატების ანტიმიკრობული აქტივობის შესწავლა განხორციელდა აგარში დიფუზიის მეთოდით (ე.წ. აგარის ბლოკების მეთოდი) (Egorov, 1965). კვლევაში გამოყენებულ იქნა შემდეგი შტამები: *Salmonella enterica* ATCC 14028; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833*; Bacillus cereus* ATCC 10876; *Proteus mirabilis* ATCC 12453; *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059*;Enterococcus faecalis* ATCC 29212; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853*; Staphylococcus aureus* ATCC 25923*; Shigella flexneri* ATCC 12022; *Escherichia coli* ATCC 25922. ტესტ-კულტურების ინოკულაცია ხდებოდა მიულერ-ჰინტონის აგარზე (Oxoid, ინგლისი).

პარალელურად MRS აგარიან ფინჯნებზე ხდებოდა შესასწავლი იზოლატების 100 მკლ ინოკულაცია და ინკუბაცია 37 °C-ზე ანაერობულ პირობებში 72 სთ-ის განმავლობაში. გაზრდილი იზოლატებიდან მიმდინარეობდა აგარის ბლოკების ამოჭრა და გადატანა მიულერ-ჰინტონის აგარიან პეტრის ფინჯნებზე, რომელშიც ჩათესილი იყო ზემოთ ჩამოთვლილი ტესტ კულტურები. აგარის ბლოკების დიამეტრი იყო 7 მმ. თერმოსტატში 37 °C-ზე 24 საათი აერობულად ინკუბაციის შემდეგ იზომებოდა ინჰიბირების ზონის დიამეტრები ბლოკების ირგვლივ. იზოლატები, რომელთა ინჰიბირების ზონა 10 მმ-ზე მეტია, მიჩნეულია ანტიმიკრობული აქტივობის მქონედ (Menberu et al., 2021).

3.7 იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა

LAB იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა განხორციელდა აგარში დიფუზიის მეთოდით. MRS აგარზე გაზრდილი თითოეული იზოლატის (72 სთ-იანი) ბლოკები ეწყობოდა პეტრის ფინჯნებზე, რომლებზეც ჩათესილი იყო ის იზოლატები, რომელთა მიმართაც ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა ხდებოდა.

იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესახებ ვმსჯელობდით აგარის ბლოკის ირგვლივ ინჰიბირების მიხედვით 37 °C-ზე 48 საათის განმავლობაში ანაერობული ინკუბაციის შემდეგ.

3.8 იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია გვარის და სახეობის დონეზე

რძემჟავა ბაქტერიებიდან დნმ გამოყოფილ იქნა 500 მკლ MRS თხევად არეში ერთი დღის (overnight) უჯრედების ნაზრდიდან, OxGEn გრამ-დადებითი ბაქტერიის დნმ-ის

ამპლიფიკაციის ნაკრების გამოყენებით, მწარმოებლის ინსტრუქციის შესაბამისად. დნმ-ის კონცენტრაცია და სისუფთავე განისაზღვრა NanoDrop სპექტროფოტომეტრის (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) გამოყენებით 260ნმ/280ნმ შთანთქმის შეფარდების მიხედვით. მოცემულ კვლევაში, ლაქტობაცილების დნმ-ის 16S rRNA გენის უბანის ამპლიფიკაციისათვის გამოყენებულ იქნა *Lactobacillus* გვარის-სპეციფიკური პრაიმერი: IDL04F 5'- AGGGTGAAGTCGTAACAAGTAGCC –3' დაIDL03R 5'- CCACCTTCCTCCGGTTTGTCA –3' (Kwon et al., 2004). PCR ჩატარდა GenePro თერმოციკლერის გამოყენებით (Bioer, ჩინეთი). 1X მასტერმიქსის (25 მკლ) შეიცავდა 17 მკლ დეიონიზებულ წყალს, 2.5 მკლ 10X PCR ბუფერს, 2.5 მკლ $MgCl_2$, 0.5 მკლ პრაიმერი, 0.5 მკლ dNTP, 1 მკლ Taq დნმ პოლიმერაზა (Solis BioDyne, ესტონეთი) და ექსტრაქტი, რომელიც შეიცავს დნმ-ის თანაბარ რაოდენობას 1 მკლ-ში. დადებით კონტროლად გამოყენებულ იქნა რძის პროდუქტებიდან გამოყოფილი *Levilactobacillus brevis* დნმ-ის იგივე რაოდენობა (Bokulich et al., 2015) (*Levilactobacillus brevis* 15), უარყოფითი კონტროლი შეიცავდა მხოლოდ 1 მკლ დეიონიზებულ წყალს. სარეაქციო ნარევის ამპლიფიკაციისთვის გამოყენებულ იქნა თერმოციკლერი შემდეგი ეტაპებით: ინიციაციის ფაზა-გაცხელება 95°C-მდე 5 წთ-ის განმავლობაში, დენატურაციის ფაზა-გაცხელების რეაქციის 35 ჯერ განმეორებით, 95°C-ზე 30 წმ, ჰიბრიდიზაციის ფაზა 48 °C 1 წთ, ელონგაციის ფაზა 72 °C 2 წთ, ფინალური ელონგაცია 72 °C 10 წთ და საბოლოო ფაზა - 4° C. PCR ფრაგმენტის ანალიზი ჩატარდა 1% აგაროზის გელში 1 x TAE ბუფერში ეთიდიუმის ბრომიდით შეღებვის შემდეგ, ვიზუალიზაცია განხორციელდა ტრანსილუმინატორით (Vural და Ozgun, 2011).

პოტენციური პრობიოტიკური კულტურების სახეობის დადგენა ჩატარდა პირველ რიგში დაუზიანებელი უჯრედის მასური სპექტრომეტრიის ტექნიკით (icms), რისთვისაც გამოყენებულ იქნა სტანდარტული პროცედურები MALDI Biotyper სისტემასთან სამუშაოდ (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). ანალიზი ჩატარდა Autoflex III სისტემის მეშვეობით, რომლითაც მოხდა 2-20 კდა-ს 600-იანი სპექტრების შეჯამება. ანალიზისათვის გამოყენებულ იქნა შედეგები 2.000 ან მეტი საიდენტიფიკაციო ინდექსით (MALDI Biotyper identification core vsalues). რადგან ეს ტექნიკა ადგენს მხოლოდ ბაქტერიულ ჯგუფს, შემდეგ ეტაპზე დამატებით გამოვიყენეთ 16S rDNA სექვენირება მაღალი კონსერვაციის 899 ფუძე წყვილიანი

16SrRNA გენის ამპლიფიკაციისათვის. გამოყენებული პრაიმერები: 27f: 5'–AGAGTTTGATCMTGGCTCAG–3' და 926r: 5'–CCGTCAATTCCTTTRAGTTT–3'. ფრაგმენტების ამპლიფიკაციისათვის გამოყენებულ იქნა გენომური დნმ ნიმუშებიდან №52, №53, №74, №76 (მეთოდი იხილეთ ზემოთ). ამპლიკონის პურიფიკაციისათვის გამოვიყენეთ ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA). ასიმეტრიული პჯრ-ისთვის გამოვიყენეთ BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA), ხოლო ამპლიკონის პურიფიკაცია მოხდა DyeEx 2.0 Spin Kit-ის გამოყენებით (Qiagen, Hilden, Germany). სექვენირებისათვის 3130xl Genetic Analyzer -ი იქნა გამოყენებული (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA) და მიღებული სექვენსების ანალიზი მოვახდინეთ NCBI BLAST Search-ის მეშვეობით.

3.9 ვაშლის წვენის ფერმენტაციის სხვადასხვა პარამეტრების შესწავლა

3.9.1 ვაშლის წვენის მომზადება და ბაქტერიული ინოკულუმის შეტანა

-80 °C ტემპერატურაზე შენახული ბაქტერიული შტამები გასაცოცხლებლად გადაიტანებოდა MRS ბულიონში 37 °C -ზე 48 სთ-ის განმავლობაში.

თავის მხრივ, საქართველოს სხვადასხვა მუნიციპალიტეტიდან შეგროვებული ვაშლის ნიმუშები გაირეცხა და წვენსაწურის საშუალებით მიღებული წვენი გაიფილტრა ჯერ 12,5 სმ დიამეტრის ფილტრში, შემდეგ Millex-GS შპრიცის 0,22 μm ზომის მემბრანული ფილტრის მეშვეობით.

100 მლ ვაშლის წვენში შეტანილ იქნა 2% ინოკულატი. ნიმუშების ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37°C თერმოსტატში. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების, pH მნიშვნელობების, ტიტრული მჟავიანობის, შაქრების, ორგანული მჟავების, ჯამური ფენოლური ნაერთების შემცველობისა და ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესწავლა ხდებოდა დუღილის პროცესის დაწყებამდე (0 სთ) და 24 სთ, 48 სთ, 72 სთ, 192 სთ და 288 სთ ფერმენტაციის შემდეგ. ექსპერიმენტი ჩატარდა სამჯერადი გამეორებით.

3.9.2 სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა

სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების განსაზღვრა ხდებოდა ფერმენტაციის სხვადასხვა დროს და სამაცივრე პირობებში შენახვის პერიოდში. ნიმუშის სერიული განზავების

მეთოდით (პეპტონიანი წყლის გამოყენებით) მიღებული 10^5, 10^6 და 10^7 განზავებების 0.1 მლ ალიქვოტები ითესებოდა MRS აგარის სამ ფინჯანზე. 37 °C-ზე 48-72 საათის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ ხდებოდა კწე/მლ განსაზღვრა (Hashemi et al., 2017, ISO/TS 19036, 2006). შედეგები გამოხატულ იქნა lg კწე/მლ.

3.9.3 წვენის pH-ისა და ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა

pH-ის გაზომვისთვის გამოყენებული იქნა ციფრული pH-მეტრი.

ტიტრული მჟვიანობა განისაზღვრა ავტომატური ტიტრატორის გამოყენებით (ZDJ-4A, NASA Scientific Instrument.Co., Ltd, Anting Shanghai, ჩინეთი). წვენის ნიმუშის 4 მლ-ს დაემატა 36 მლ დეიონიზებული წყალი და გაიტიტრა 0.1 N NaOH-ის საშუალებით ხსნარის pH 8.2-მდე მიყვანით. ტიტრული მჟავიანობა გამოხატულ იქნა როგორც ვაშლმჟავას % და გამოთვლილ იქნა შემდეგი ფორმულით: % ვაშლმჟავა = მლ 0.1N NaOH × NaOH-ის N x 0.067 მილიექვივალენტი/ლ x 100 /ნიმუშის საწყისი რაოდენობაზე (Barrón-Álvarez et al., 2022).

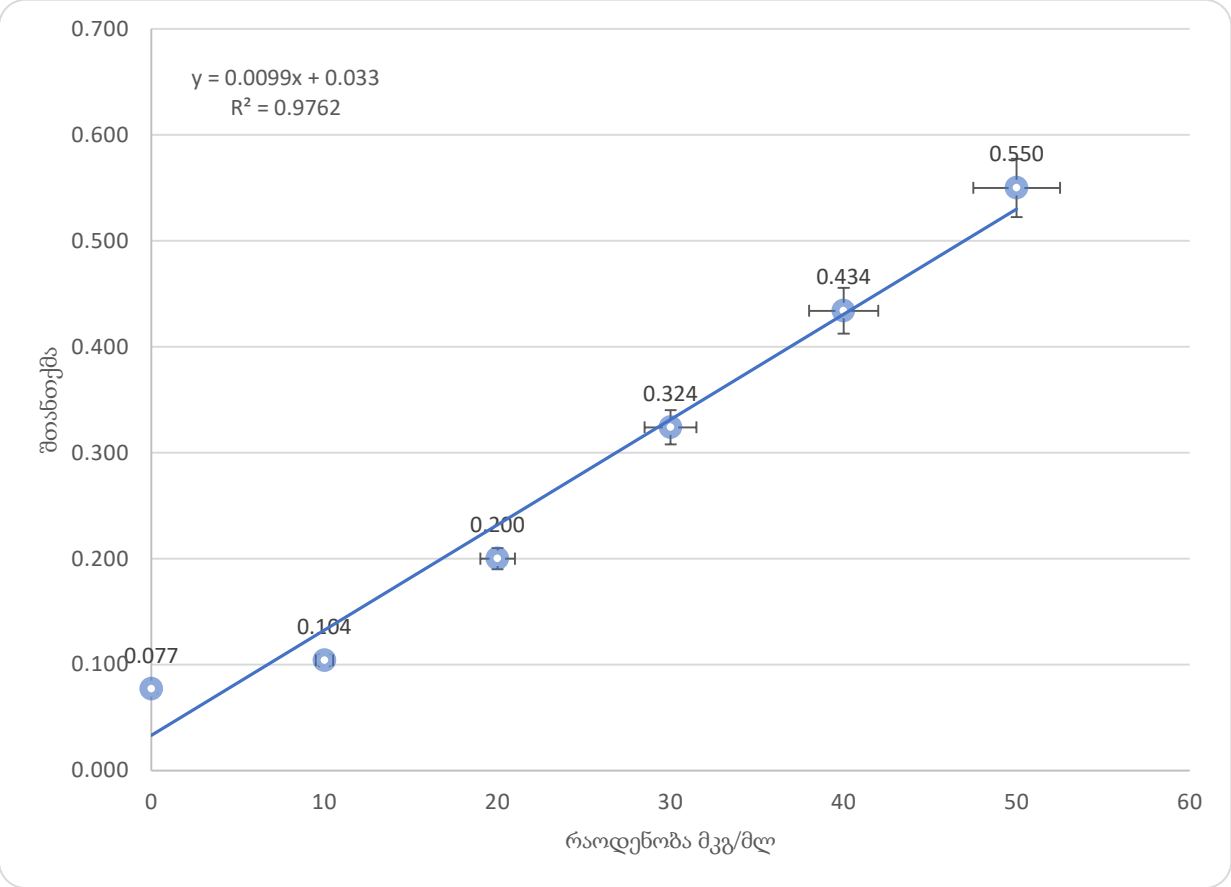
3.9.4 წვენის შაქრების და ორგანული მჟავების განსაზღვრა

ფერმენტირებულ და არაფერმენტირებულ ვაშლის წვენში შაქრების, კერძოდ საქაროზის, ფრუქტოზის და გლუკოზის კონცენტრაციები განისაზღვრა მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფის (Varian ProStar HPLC) საშუალებით; გამოყენებულ იქნა RI დეტექტორი, SUGAR SH1011 ქრომატოგრაფიული სვეტი (300მმ × 8მმ), ხოლო ელუენტად - 0.01 N H_3PO_4. ვაშლის წვენში ორგანული მჟავების შემცველობაც დადგინდა მაღალი ეფექტურობის თხევადი ქრომატოგრაფით (Varian ProStar HPLC), გამოყენებულ იქნა UV დეტექტორი, Eurospher II 100-3 C18H ქრომატოგრაფიული სვეტი, ელუენტად კი - 1.96 გ/ლ H_2SO_4. მონაცემები გადაანგარიშებულ იქნა გ/ლ-ზე.

3.9.5 ჯამური ფენოლების შემცველობის განსაზღვრა

ჯამური ფენოლის განსაზღვრისათვის ვაშლის წვენში გამოყენებულ იქნა ფოლინ-ჩიოკალტეუს მეთოდი (Bond et al., 2003). კერძოდ, საანალიზო ნიმუშის 1 მლ-ს დაემატა 5მლ 1/10 განზავებული ფოლინ-ჩიკოლტეუს რეაგენტი, დაყოვნდა 8 წთ,

ოთახის ტემპერატურაზე. კონტროლად გამოყენებულ იქნა გამოხდილი წყლის 1მლ. შემდეგ დაემატა 7.5 % ნატრიუმის კარბონატის 4 მლ, კარგად შეინჯღრა. ნიმუშები და სტანდარტები დაყოვნდა 1 სთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. ნიმუშის შთანთქმის მაჩვენებლის განსაზღვრა მოხდა სპექტროფოტომეტრზე 765 ნმ ტალღის სიგრძეზე. სტანდარტიზაცია მოხდა გალის მჟავაზე 10-50 მკგ/მლ შუალედში, სტანდარტული მრუდი მოცემულია გრაფიკზე. გრაფიკიდან გამომდინარე, ფორმულით, გამოვთვალეთ ჯამური პოლიფენოლები. შედეგები გამოხატულ იქნა მგ გალის მჟავის ეკვივალენტებში 1 ლ წვენზე გადაანგარიშებით.



გრაფიკი 1. ჯამური პოლიფენოლების სტანდარტიზაცია გალის მჟავაზე (საკალიბრო მრუდი)

3.9.6 ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული (FRAP) მეთოდით

ნიმუშის ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრისთვის მომზადდა სამუშაო ხსნარი, სამი ხსნარის კომბინაციით 10:1:1 თანაფარდობით: 1) 300 mM აცეტატური ბუფერი, pH=3,6 2) TPTZ (2.4.6-ტრიპირიდილ-5-ტრიაზინი) და 3) რკინის

სამვალენტიანი ქლორიდი. მიღებული სამუშაო ხსნარი დაყოვნდა 37 °C წყლის აბაზანაზე 15 წთ-ის განმავლობაში. ვაშლის წვენის ნიმუშს (100 მკლ) დავუმატეთ სამუშაო ხსნარი (3 მლ) და მისი შთანთქმა განისაზღვრა სპექტროფოტომეტრზე 593 ნმ სიგრძის ტალღაზე, ჩვენება დაფიქსირდა 4 წთ-ის შემდეგ. საკონტროლოდ გამოყენებულ იქნა სამუშაო ხსნარი, შესადარებლად კი ასკორბინის მჟავა, მონაცემები განისაზღვრა მგ-ში (ასკორბინის მჟავას ეკვივალენტი წვენის 1 ლ-ში) (Benzie და Strain 1996).

3.10 მიკრობული კონსორციუმის და ფერმენტაციის პირობების შერჩევა ლაბორატორიულ პირობებში პრობიოტიკური ვაშლის წვენის მისაღებად

ექსპერიმენტი ჩატარდა ბაქტერიულ კონსორციუმზე, რომელიც შეიცავდა სამ შტამს (*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 74, *Lactiplantibacillus plantarum* 76). MRS ბულიონში მომზადდა გადასათესი მასალა. 250 მლ ვაშლის წვენში შეტანილ იქნა 5% ინოკულანტი, ფერმენტაცია მიმდინარეობდა თერმოსტატში 37 °C-ზე 11 დღის განმავლობაში. ყოველდღიურად ისაზღვრებოდა კწე/მლ და საფერმენტაციო არის pH. ვაშლის წვენები 4 დღიანი და 11 დღიანი გადატანილ იქნა სამაცივრე პირობებში (4 °C-ზე) შენახვის ვადის დასადგენად.

3.11. საპილოტე ცდა ვაშლის წვენის ტექნოლოგიის შესამუშავებლად საწარმოოს პირობებში

საპილოტე ცდა განხორციელდა შპს კამპას მიერ წარმოებულ და ჩამოსხმულ ვაშლის წვენში. ექსპერიმენტი ჩატარდა ჩვენ მიერ შემუშავებული ბაქტერიული კონსორციუმის გამოყენებით, რომელიც შეიცავდა სამ შტამს (*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 74, *Lactiplantibacillus plantarum* 76). გადასათესი მასალის მოსამზადებლად კონსორციუმის შემადგენელი თითოეული შტამის გაზრდა მოხდა MRS ბულიონში 24 სთ-ის განმავლობაში. სამივე შტამი თანაბარი თანაფარდობით (1:1:1) 5% კონცენტრაციით შეტანილ იქნა ვაშლის წვენში, საწარმოში მიმდინარე ტექნოლოგიური რეჟიმის დაცვით. კერძოდ, ბოთლში ჩამოსხმული ვაშლის წვენი გაცხელდა წყლის აბაზანაზე 53 ±2 °C ტემპერატურამდე და მასში შეტანილ იქნა რძემჟავა ბაქტერიების ინოკულანტი, ფერმენტაცია მიმდინარეობდა 4 დღე 37 °C-ზე თერმოსტატში. ფერმენტაციის შემდეგ ნიმუშები მოთავსებულ იქნა მაცივარში, 4 °C-ზე. როგორც ფერმენტაციის პერიოდში, ისე

სამაცივრე პირობებში შენახვის დროს ისაზღვრებოდა კწე/მლ, pH, ჯამური ფენოლების შემცველობა და ანტიოქსიდანტური აქტივობა.

3.12. ფერმენტირებული ვაშლის წვენის სენსორული ანალიზი

სენსორული ანალიზი მოიცავდა ნიმუშის მომზადებას და შეფასებას. წვენის ნიმუშები ფერმენტირებულ იქნა *Lactiplantibacillus plantarum* 52, 74, 76-ით როგორც ცალკეული შტამების, ისე კონსორციუმის სახით. ფერმენტაცია ჩატარდა 37°C-ზე 96 საათი, რის შემდეგაც გადატანილ იქნა მაცივარში 4°C-ზე. საწყის ეტაპზე 30 მლ ფერმენტირებული წვენი მოთავსებულ იქნა უსუნო, ერთჯერად ჭიქებში ოთახის ტემპერატურაზე. შეფასებაში მონაწილე თითოეულმა პირმა დააკმაყოფილა ყველა საკვალიფიკაციო მოთხოვნა, მათ შორის: არ ჰქონდათ კვებითი ალერგია, სვამდნენ წვენს კვირაში მინიმუმ 2-დან 3-ჯერ და მზად იყვნენ დაეგემოვნებინათ პრობიოტიკური ვაშლის წვენი. მათ შეაფასეს სხვადასხვა შტამით (ცალკეულად და კონსორციუმის სახით) ფერმენტირებული ვაშლის წვენის ნიმუშები ფერის, გემოსა და არომატის მიხედვით. თითოეული მახასიათებლის მოწონების დონის აღსანიშნად გამოყენებული იყო ცხრა-ბალიანი ჰედონური შკალა, რომელიც მერყეობდა არ მომწონს უკიდურესად მოწონებამდე (1 - უკიდურესად არ მომწონს, 2 - ძალიან არ მომწონს, 3 - საშუალოდ არ მომწონს, 4 - ოდნავ არ მომწონს, 5 - არც არ მომწონს და არც მომწონს, 6 - ოდნავ მომწონს, 7 - საშუალოდ მომწონს, 8 - ძალიან მომწონს, 9 - უკიდურესად მომწონს) (Anderson et al., 2014).

3.13 სტატისტიკური ანალიზი

რაოდენობრივი მონაცემები წარმოდგენილია საშუალოს და სტანდარტული გადახრის სახით. რაოდენობრივი ცვლადები დამუშავდა One-way ANOVA და Tukey's HSD ტესტების გამოყენებით. One-way დისპერსიული ანალიზი (ANOVA) გაკეთდა ექსპერიმენტულ ნიმუშებს შორის საშუალო ცვალებადობის გასაანალიზებლად. Tukey's HSD ტესტი გამოიყენებოდა საშუალო მნიშვნელობების დიფერენცირებისთვის. ყველა ანალიზი გაკეთდა XLSTAT-ის გამოყენებით (Addinsoft, Inc., Brooklyn, NY, USA). სტატისტიკური დამუშავებისას სხვადასხვა ჯგუფისათვის მიღებული იქნა სარწმუნოების კოეფიციენტი (p). $p<0.05$ მიჩნეულ იქნა, როგორც სტატისტიკურად სარწმუნო.

4. შედეგები

ვაშლის ნიმუშების უმეტესობა შეგროვდა განსხვავებული ნიადაგურ-კლიმატური ზონებიდან, საქართველოს ორი რეგიონიდან - შიდა ქართლი და რაჭა. შიდა ქართლის ტერიტორიაზე ნიმუშები შეგროვდა სიმწიფის პერიოდში, სექტემბერ-ოქტომბერში; ხოლო რაჭის რეგიონში ნიმუშების შეგროვება განხორციელდა აგვისტოში, მკვახე მდგომარეობაში. რაჭის რეგიონი საინტერესო იყო იმითაც, რომ ვაშლის ხეები და ნაყოფები არ მუშავდებოდა სხვადასხვა პესტიციდით. ცხრილი 1-ში მოცემულია შეგროვებული ვაშლის ნიმუშების მცირე ჩამონათვალი.

ცხრილი 1

ვაშლის ნიმუშების ჯიშები და მათი შეგროვების ადგილები

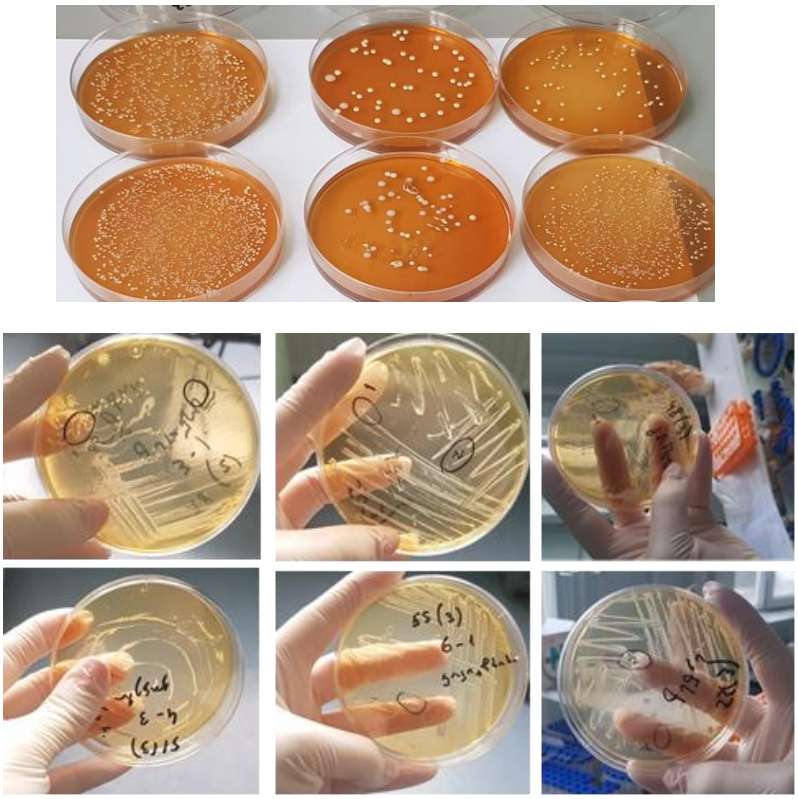
ამბროლაურის მუნიციპალიტეტი		
ნიმუშების აღების ადგილი	**ვაშლის ჯიშები**	**ადგილწარმოშობა**
ქალაქი ამბროლაური	ანტონოვკა	რუსეთი
სოფელი ნიკორწმინდა	საქართველოს პიონერი	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
სოფელი ბოსტანა	ბოსტანა	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
სოფელი მუხლი	კიტრა	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
სოფელი შაორი	ტყის ვაშლი, მაჟალო	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
სოფელი ჭყვიში	ზამთრის თეთრი კალვილი	ევროპა (Aleksidze, 2015)
სოფელი ჭრებალო	ზამთრის ოქროს პარმენი იგივე ზამთრის შაფრანა	ინგლისი (Aleksidze, 2015)

სოფელი ახალსოფელი	ლეჩხუმური სინაპი	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
ამბროლაურის მუნიციპალიტეტი	მეფის მოკლეყუნწა	ევროპა (Aleksidze, 2015)
სოფელი ხოტევი	რაჭული ვაშლი	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
სოფელი შაორი	ტყის ვაშლი, მაჟალო	ადგილობრივი (Aleksidze, 2015)
გორის მუნიციპალიტეტი		
ნიმუშების აღების ადგილი, გორის მუნიციპალიტეტი	**ვაშლის ჯიშები**	**ადგილწარმოშობა**
სოფელი რეხა	ჯონაგოლდი	აშშ (Goginava & Khidesheli, 2019)
	აპორტი	უკრაინა (Aleksidze, 2015)
	ქართული სინაპი	ადგილობრივი (Goginava & Khidesheli, 2019)
სოფელი უფლისციხე	კეხურა	ადგილობრივი (Goginava & Khidesheli, 2019)
სოფელი სკრა	ანტონოვკა	რუსეთი
სოფელი თორტიზა	შამპანური რენეტი იგივე ბროცკი	გერმანია (Aleksidze, 2015)
	ზამთრის ბანანი	აშშ (Aleksidze, 2015)

სოფელი ქიწნისი	ჯონაგოლდი	აშშ (Goginava & Khidesheli, 2019)
	სემერენკო	რუსეთი
სოფელი კარალეთი	კეხურა	ადგილობრივი (Goginava & Khidesheli, 2019)
სოფელი ხიდისთავი	გოლდენ დელიშესი	აშშ (Aleksidze, 2015)

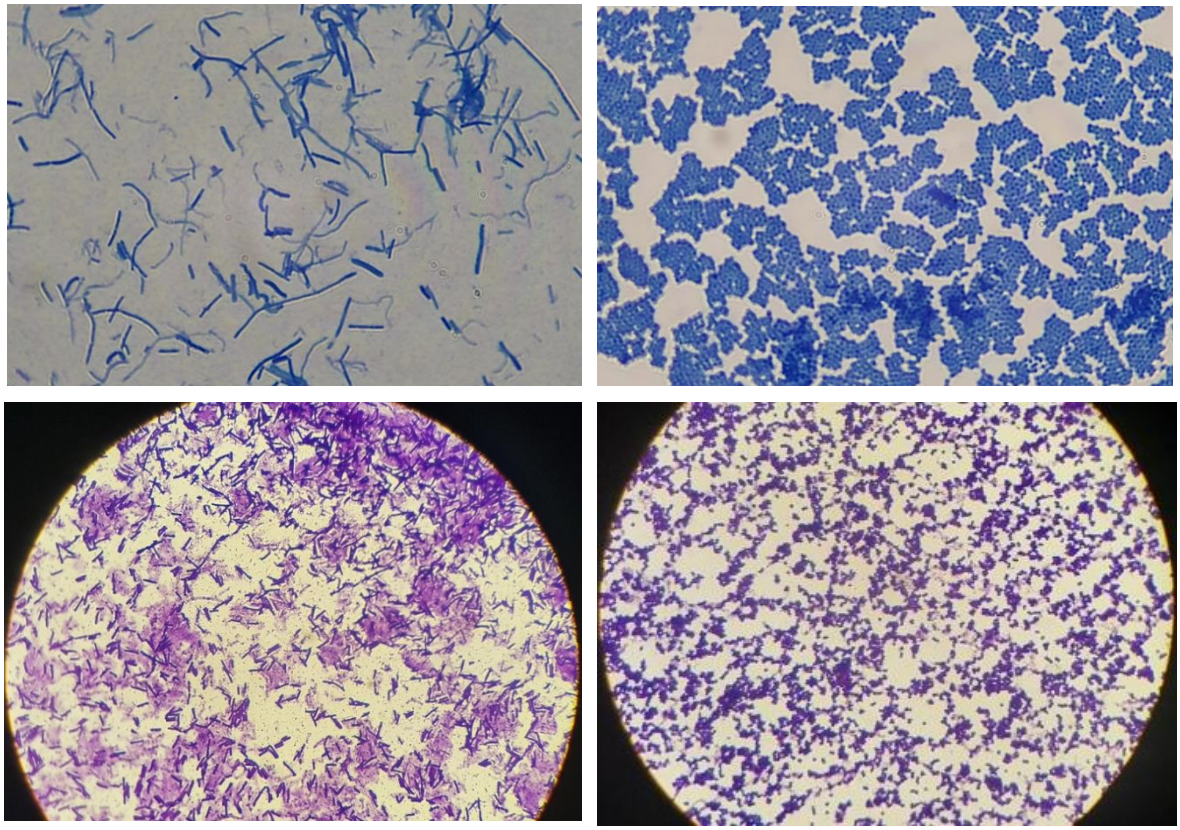
4.1 ვაშლიდან რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა, მათი მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური დახასიათება

ვაშლის ნაფცქვენიდან მიღებული დამაგროველელი კულტურის ჩათესვით მყარ საკვებ არეზე გაზრდილ კოლონიებს შორის შერჩეულ იქნა მცირე ზომის (1-3 მმ) მრგვალი, თეთრი ან უფერო კოლონიები.



სურ.1. ვაშლებიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების სუფთა კულტურების მიღება

ვაშლის ნიმუშებიდან გამოყოფილ იქნა 120 იზოლატი. MRS არეზე გაზრდილი იზოლატები სამჯერადად გადაითესა სუფთა კულტურების მისაღებად (სურ.1).



სურ.2. გამოყოფილი ზოგიერთი იზოლატის მიკროსკოპული სურათები

იზოლატების პირველადი იდენტიფიკაცია განხორციელდა გრამის წესით შეღებვით, კატალაზას ტესტის და უჯრედის ფორმის მიხედვით. აღმოჩნდა როგორც კოკის, ისე ჩხირის ფორმის უჯრედები (სურ. 2). მონაცემები მოცემულია ცხრილში 2.

ცხრილი 2

რძემჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი იზოლატის მორფოლოგიური დახასიათება

იზოლატის პირობითი №	კატალაზას ტესტი	გრამის წესით შეღებვა	უჯრედის ფორმა	იზოლატის პირობითი №	კატალაზას ტესტი	გრამის წესით შეღებვა	უჯრედის ფორმა
1(1)	-	+	კოკი	45 (1)	+	+	კოკი
1(2)	+	+	ჩხირი	47 (2)	-	+	ჩხირი
2(1)	+	+	ჩხირი	48 (3)	+	+	კოკი

3(1)	-	+	ჩხირი	52 (2)	-	+	ჩხირი
4 (2)	-	+	კოკი	52 (3)	-	+	ჩხირი
5(2)	-	+	კოკი	53 (1)	-	+	ჩხირი
7(3)	-	+	ჩხირი	55 (3)	+	+	კოკი
8 (2)	+	+	კოკი	56 (3)	-	+	ჩხირი
9 (1)	-	+	ჩხირი	74 (3)	-	+	ჩხირი
11 (2)	-	+	ჩხირი	76 (1)	-	+	ჩხირი
12 (3)	-	+	ჩხირი	78 (2)	+	+	კოკი
13 (1)	+	+	ჩხირი	80 (1)	-	+	კოკი
15 (3)	+	+	კოკი	83 (3)	-	+	კოკი
18 (2)	+	+	ჩხირი	89 (2)	-	+	ჩხირი
22 (2)	+	+	კოკი	92 (3)	+	+	ჩხირი
25 (2)	-	+	კოკი	96 (1)	+	+	ჩხირი
29 (1)	-	+	კოკი	98 (2)	-	+	ჩხირი
33	+	+	ჩხირი	104	-	+	კოკი
44	-	+	ჩხირი	108	-	+	ჩხირი
44 (1)	-	+	ჩხირი	119	-	+	ჩხირი

შესწავლილი იზოლატებიდან 40 იყო გრამდადებითი (ცხრილი 2), მათ შორის კატალაზა უარყოფითი აღმოჩნდა 26 იზოლატი. კატალაზა დადებით იზოლატების უმეტესობა მიეკუთვნებოდა ბაცილუსის გვარის ბაქტერიებს, რომლებიც მრავლად არის გარემოში და იზრდებიან ნებისმიერ საკვებ არეზე. შესაბამისად მომდევნო სამუშაოების განსახორციელებლად ეს ბაქტერიები ამოღებულ იქნა კვლევებიდან. 8 იზოლატს ჰქონდა კოკის და 18-ს კი ჩხირის ფორმა.

მომდევნო კვლევებისთვის შეირჩა კატალაზა უარყოფითი, ჩხირის ფორმის იზოლატები; შესწავლილ იქნა მათი ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე (ცხრილი 3).

ცხრილი 3

რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე

იზოლატის პირობითი №	4 °C	10 °C	15 °C	30 °C	37 °C	40 °C	იზოლატის პირობითი №	4 °C	10 °C	15 °C	30 °C	37 °C	40 °C
3(1)	-	+	+	+++	+++	++	52 (3)	+	+	+	+++	+++	++
7(3)	-	-	-	+++	+++	++	53 (1)	-	+	+	+++	+++	++
9 (1)	-	+	+	+++	+++	++	56 (3)	-	+	+	+++	+++	++
11 (2)	-	-	-	+++	+++	++	74 (3)	+	+	+	+++	+++	++
12 (3)	+	+	+	+++	+++	++	76 (1)	-	+	+	+++	+++	++
44	-	-	+	+++	+++	++	89 (2)	-	+	+	+++	+++	++
44 (1)	-	-	-	+++	+++	++	98 (2)	-	+	+	+++	+++	++
47 (2)	-	+	+	+++	+++	++	108	+	+	+	+++	+++	++
52 (2)	-	+	+	+++	+++	++	119	-	-	+	+++	+++	++

შენიშვნა: ,,+++" კარგი ზრდა, ,,++", საშუალო ზრდა, ,,+" სუსტი ზრდა, ,,- " ზრდა არ შეინიშნება

4 °C, 10 °C 15 °C-ზე შეინიშნებოდა სუსტი ზრდა ზოგიერთი იზოლატის შემთხვევაში, 30 °C და 37 °C ყველა მათგანი იზრდებოდა კარგად, ხოლო 40 °C - საშუალოდ.

იზოლატების სკრინინგი ასევე მოიცავს სხვადასხვა ნახშირბადის წყაროზე ზრდის და ფერმენტაციის უნარს; როგორებიცაა: არაბინოზა, ქსილოზა, გალაქტოზა, გლუკოზა, ფრუქტოზა, რამნოზა, სორბიტოლი, ლაქტოზა, მალტოზა, ცელობიოზა, საქაროზა, რომლებიც 1%-ის შემცველობით შეტანილი იყო Phenol red ბულიონში. ინკუბაცია

მიმდინარეობდა 24 საათის განმავლობაში 37 °C ტემპერატურაზე. შედეგები მოცემულია სურათ 3-ზე და ცხრილში 4.

სურ. 3. რძემჟავა ბაქტერიების მიერ სხვადასხვა შაქრის ფერმენტაცია

ცხრილი 4

რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე

იზოლატის პირობითი №	არაბინოზა	ქსილოზა	გალაქტოზა	გლუკოზა	ფრუქტოზა	რამნოზა	სორბიტოლი	ლაქტოზა	მალტოზა	ცელობიოზა	საქაროზა
უარყოფითი კონტროლი	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3(1)	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
7(3)	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-
9 (1)	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
11 (2)	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+
12 (3)	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+
44	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
44 (1)	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+
47 (2)	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+

52 (2)	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-
52 (3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53 (1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
56 (3)	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
74 (3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
76 (1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
89 (2)	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
98 (2)	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+
108	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
119	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+

შენიშვნა: კონტროლი არაინოკულირებული, ,,+" ფერი შეიცვალა, ,,- " ფერი არ შეიცვალა

შაქრების ფერმენტაციის უნარის მიხედვით, გამოყოფილი იზოლატები წარმოადგენენ ჰომოფერმენტულ კულტურებს, ვინაიდან შაქრებიდან წარმოქმნიან მხოლოდ მჟავას, რის შედეგადაც phenol red-ის შემცველი საკვებმა არემ შეიცვალა ფერი ვარდისფერიდან ყვითლამდე სხვადასხვა ინტენსივობით. იზოლატები არ გამოყოფდნენ CO_2-ს (ცხრილი 4).

4.2 ვაშლიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური თვისებები

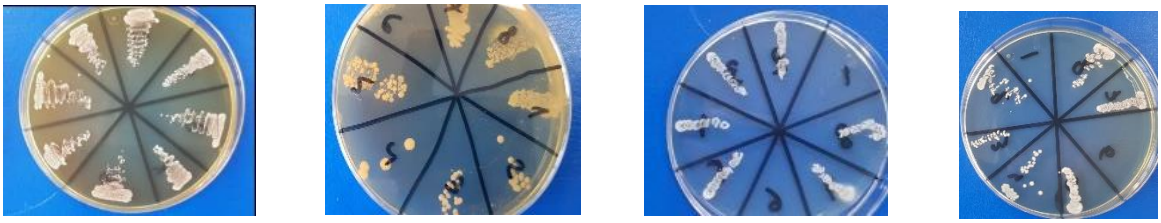
პრობიოტიკური თვისებების შესწავლის მიზნით კვლევა ჩატარდა როგორც ვაშლიდან გამოყოფილ შერჩეულ იზოლატებზე (*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 53, *Lactiplantibacillus plantarum* 74, *Lactiplantibacillus plantarum* 76), ისე ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში შენახული მაწვნიდან გამოყოფილ და ამერიკელი მკვლევარების მიერ იდენტიფიცირებულ შტამებზე (კალიფორნიის უნივერსიტეტი, დევისი): *Levilactobacillus brevis* (*L. brevis* 10, *L. brevis* 15, *L. brevis* 18, *L. brevis* 49, *L. brevis* 51) *Lactiplantibacillus pentosus* (*Lpb. pentosus* 40, *Lpb.*

pentosus 57, *Lpb. pentosus* 63, *Lpb. pentosus* 85, *Lpb. pentosus* 88, *Lpb. pentosus* 92), *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum* 44) (Bokulich et al., 2015).

პრობიოტიკური მახასიათებლებიდან შესწავლილ იქნა: შერჩეული შტამების ზრდა დაბალ pH-ზე, ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა, ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობა, ანტაგონისტური აქტივობა პათოგენების მიმართ.

4.2.1 რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა დაბალ pH-ზე

თითქმის ყველა შესწავლილმა LAB იზოლატმა შეძლო MRS აგარზე ზრდა pH 2.0 -ის მქონე MRS ბულიონში 30, 60, 90 წთ ინკუბაციის შემდეგ. გარდა მაწვნიდან გამოყოფილი ორი შტამისა, *L. brevis* 10 და *L. brevis* 51. *L. brevis* 10 არ გაიზარდა მყარ საკვებ არეზე 60-90 წუთის ინკუბაციური დროის შემდეგ, ხოლო *L. brevis* 51 არ აღმოჩნდა pH-ის მიმართ ტოლერანტული და 30 წთ-იანი ინკუბაციის შემდეგაც არ გაიზარდა მყარ საკვებ არეზე (სურ. 4, ცხრილი 5).



0 30 წთ 60 წთ 90 წთ

სურ. 4. რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების ზრდა pH 2-ზე სხვადასხვა დროის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ

ცხრილი 5

რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ტოლერანტობა pH 2.0-ის მიმართ

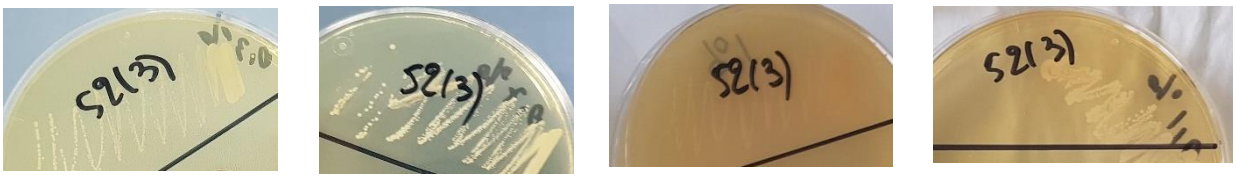
შერჩეული LAB იზოლატები	**ინკუბაციის დრო, წთ**			
	კონტროლი	30	60	90
***L. brevis* 10**	+	+	-	-
***L.brevis* 15**	+	+	+	+

L.brevis 18	+	+	+	+
Lpb. pentosus 40	+	+	+	+
L. fermentum 44	+	+	+	+
L. brevis 49	+	+	+	+
L. brevis 51	+	-	-	-
Lpb. plantarum 52	+	+	+	+
Lpb. plantarum 53	+	+	+	+
Lpb. pentosus 57	+	+	+	+
Lpb. pentosus 63	+	+	+	+
Lpb. plantarum 74	+	+	+	+
Lpb. plantarum 76	+	+	+	+
Lpb. pentosus 85	+	+	+	+
Lpb. pentosus 88	+	+	+	+
Lpb. pentosus 92	+	+	+	+

შენიშვნა: "+" ზრდა, "-" ზრდა არ დაფიქსირდა

4.2.2 ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა

LAB იზოლატების ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა შესწავლილ იქნა MRS აგარზე ზრდის მიხედვით ნაღვლის მარილების განსხვავებული კონცენტრაციებზე (0.3%; 0.5%; 1% და 1.5%), ინკუბაციის განსხვავებულ პერიოდის (2 სთ, 4 სთ, 24 სთ და 48 სთ) შემდეგ. შედეგად მივიღეთ, რომ ყველა იზოლატს აღმოაჩნდა უნარი ყველა ინკუბაციის პერიოდის შემდეგ გაზრდილიყო MRS აგარზე, რომელიც შეიცავდა 0.3% ნაღვლის მარილებს (სურ. 5, ცხრილი 6).



0.3% 0.5% 1% 1.5%

სურ. 5. *Lactiplantibacillus plantarum* 52-ის ზრდა ნაღვლის მარილის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე.

ცხრილი 6

რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ტოლერანტობა ნაღვლის მარილების სხვადასხვა კონცენტრაციის მიმართ

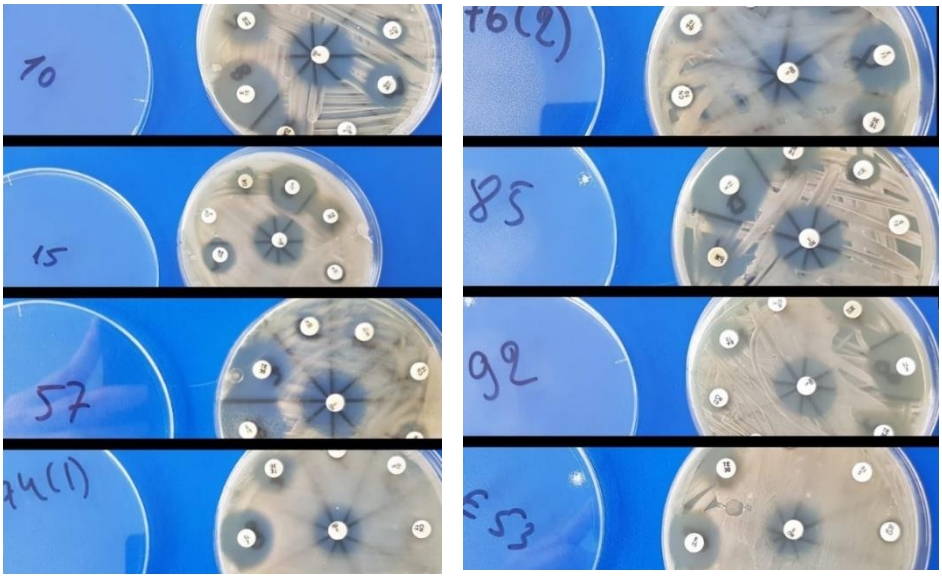
შერჩეული LAB იზოლატები	**კონტროლი**	**ინკუბაციის დრო**							
		4 სთ				**24 სთ**			
		0.3 %	0.5 %	1 %	1.5 %	0.3 %	0.5 %	1 %	1.5 %
***L. brevis* 10**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***L. brevis* 15**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***L. brevis* 18**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. pentosus* 40**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***L. fermentum* 44**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***L. brevis* 49**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***L. brevis* 51**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. plantarum* 52**	+	+	+	+	+	+	+	+	+
***Lpb. plantarum* 53**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. pentosus* 57**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. pentosus* 63**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. plantarum* 74**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. plantarum* 76**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. pentosus* 85**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. pentosus* 88**	+	+	+	+	+	+	-	-	-
***Lpb. pentosus* 92**	+	+	+	+	+	+	-	-	-

შენიშვნა: "+" ზრდა და "-" ზრდა არ დაფიქსირდა

4 სთ ინკუბაციის შემდეგ აღინიშნა ყველა შტამის კარგი ნაზრდი ნაღვლის მარილების ოთხივე კონცენტრაციაზე. ნაზრდის ინტენსივობის შემცირება დაფიქსირდა მხოლოდ 24 სთ ინკუბაციის შემდეგ 0.5, 1 და 1.5 % კონცენტრაციის შემთხვევაში; მხოლოდ LAB იზოლატს - *Lpb. plantarum* 52 აღმოაჩნდა ტოლერანტობა ნაღვლის მარილების ყველა კონცენტრაციების მიმართ.

4.2.3 ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობა

LAB იზოლატების ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობა შემოწმდა აგარში დიფუზიის მეთოდით. კვლევის შედეგებზე დაყრდნობით, ანტიბიოტიკების დისკების გარშემო LAB ზრდის არარსებობა (0) მიუთითებდა ანტიბიოტიკის მიმართ რეზისტენტობაზე (R), ხოლო ინჰიბირების ზონის არსებობა - მგრძნობელობაზე (S) ანტიბიოტიკების მიმართ (სურ. 6, ცხრილი 7).



სურ. 6. შერჩეული შტამების სხვადასხვა ანტიბიოტიკის მიმართ მგრძნობელობა

ცხრილი 7

რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობა

შტამები, №	**ინჰიბირების ზონის დიამეტრი, მმ**								
	ანტიბიოტიკის დასახელება								
	ოქსიტეტრაციკლინი	ციპროფლოქსაცინი	ბაციტრაცინი	გენტამიცინი	სტრეპტომიცინი	ნეომიცინი	ტეტრაციკლინი	ერითრომიცინი	რიფამპიცინი
L. brevis 10	0±0.0	0±0.0	15±0.2	10±0.2	0±0.0	10±0.6	19±0.2	22±0.3	24±0.7
L. brevis 15	0±0.0	0±0.0	15±0.4	11±0.5	0±0.0	9±0.3	15±0.3	22±0.2	22±0.1

L. brevis 18	16±0.4	0±0.0	18±0.5	12±0.5	0±0.0	11±0.4	18±0.3	25±0.5	27±0.3
Lpb. pentosus 40	14±0.5	0±0.0	14±0.5	12±0.7	0±0.0	10±0.4	18±0.7	22±0.4	15±0.8
L. fermentum 44	14±0.3	0±0.0	14±0.4	11±0.4	0±0.0	11±0.5	17±0.5	26±0.6	24±0.3
L. brevis 49	15±0.5	0±0.0	14±0.6	9±0.5	0±0.0	12±0.5	20±0.8	23±0.4	21±0.4
L. brevis 51	13±0.4	0±0.0	19±0.4	9±0.3	0±0.0	10±0.6	19±0.4	21±0.5	16±0.4
Lpb. plantarum 52	15±0.3	0±0.0	10±0.8	9±0.9	0±0.0	10±0.5	16±0.5	22±0.2	16±0.5
Lpb. plantarum 53	16±0.5	0±0.0	13±0.7	9±0.4	0±0.0	9±0.4	15±0.9	19±0.3	17±0.6
Lpb. pentosus 57	16±0.5	0±0.0	14±0.3	10±0.5	0±0.0	10±0.7	21±0.5	0±0.0	18±0.4
Lpb. pentosus 63	15±0.5	0±0.0	15±0.9	9±0.4	0±0.0	8±0.5	18±0.3	25±0.4	20±0.2
Lpb. plantarum 74	15±0.8	0±0.0	10±1.5	0±0.0	0±0.0	0±0.0	16±0.5	21±0.4	17±0.3
Lpb. plantarum 76	0±0.0	0±0.0	11±0.9	8±0.5	0±0.0	10±0.8	18±0.4	20±0.5	16±0.4
Lpb. pentosus 85	0±0.0	0±0.0	13±0.7	9±0.6	0±0.0	12±0.3	0±0.0	24±0.3	22±0.3
Lpb. pentosus 88	12±0.3	0±0.0	13±0.2	10±0.3	0±0.0	12±0.6	15±0.5	26±0.4	21±0.5
Lpb. pentosus 92	0±0.0	0±0.0	14±0.6	10±0.5	0±0.0	10±0.3	15±0.3	20±0.6	22±0.3

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

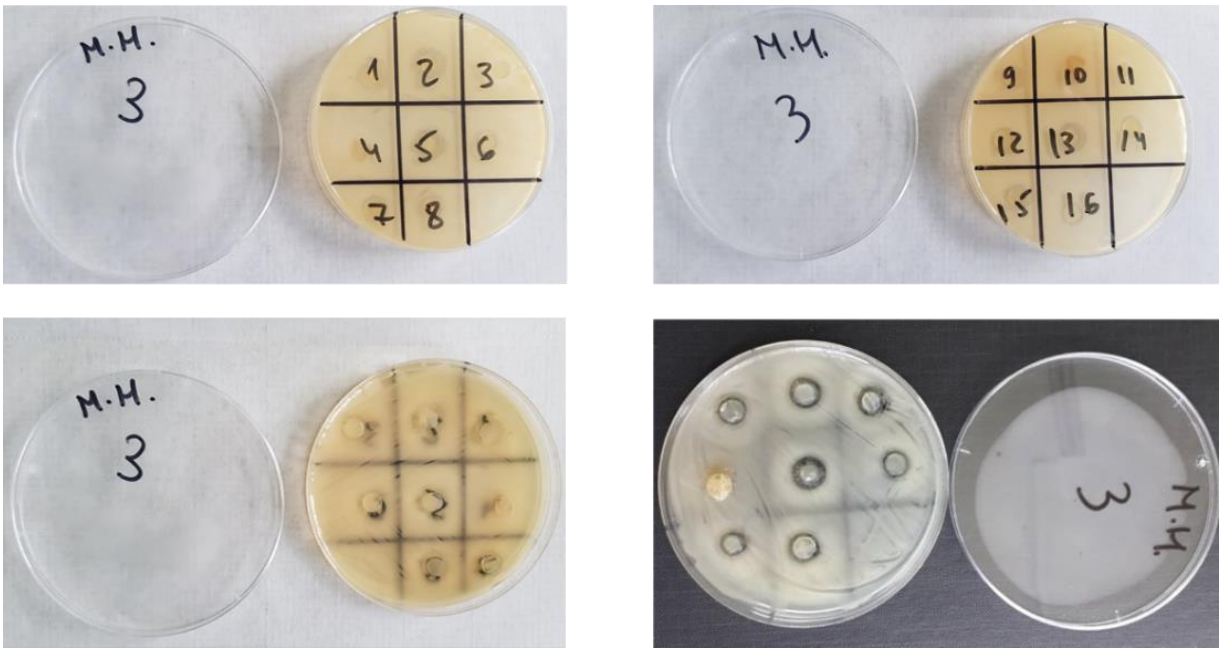
შენიშვნა: მგრძნობიარე (≥14 მმ), შუალედური (11-13 მმ) და რეზისტენტული (≤10 მმ)

როგორც ცხრილი 7-დან ჩანს, ყველა შერჩეული LAB იზოლატი რეზისტენტული აღმოჩნდა ციპროფლოქსაცინის და სტრეპტომიცინის მიმართ. გარდა ამისა, ზოგიერთი შტამი გამოირჩეოდა მგრძნობელობით ოქსიტეტრაციკლინისა და რიფამპიცინისადმი. ერითრომიცინის მიმართ ყველა შერჩეულმა შტამმა გვიჩვენა მგრძნობელობა *Lpb. pentosus* 57-ს გარდა.

4.2.4 რძემჟავა ბაქტერიების ანტაგონისტური აქტივობა პათოგენების მიმართ

აგარში დიფუზიის მეთოდი იქნა გამოყენებული LAB იზოლატების მიერ ანტიბაქტერიული პარამეტრის დასადგენად სხვადასხვა პათოგენის მიმართ. შერჩეული *Lactobacillus* მიერ ნაჩვენები ბაქტერიული აქტივობა წარმოდგენილია ცხრილ 8-ში. პათოგენებზე ინჰიბიტორული მოქმედების მიხედვით, შედეგებმა აჩვენა,

რომ მხოლოდ ორ შტამს ჰქონდა ინჰიბიტორული აქტივობა *Salmonella enterica* ATCC 14028-ს წინააღმდეგ, კერძოდ, *L. brevis* (51) და ვაშლის *Lpb. plantarum* (52). *Proteus mirabilis* ATCC 12453-სა და *Shigella flexneri* ATCC 12022-ს ზრდის დათრგუნვა მოახერხა მხოლოდ ვაშლის ნიმუშიდან გამოყოფილმა *Lpb. plantarum* 76-მა, ისიც შედარებით დაბალი აქტივობით (12.3±0.3 და 12.4±0.4). *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833-ს მიმართ ვაშლიდან გამოყოფილმა *Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 53 და *Lpb. plantarum* 74 აჩვენა დაბალი ანტიბაქტერიული აქტივობა (11.8±1.2, 12.4±0.4, 12.4±0.4), ხოლო *Lpb. plantarum* 76 გამოირჩეოდა საშუალო აქტივობით *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833, *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059 *და Escherichia coli* ATCC 25922-ს მიმართ (16.4±0.4, 16.3±0.3, 16.3±0.5). მხოლოდ *L. brevis* 18-მა გაუწია წინააღმდეგობა *Staphylococcus aureus* ATCC 25923-ის ზრდას. თითქმის ყველა შტამმა გამოავლინა ინჰიბირება *Bacillus cereus* ATCC 10876 (სურ. 7)*, Enterococcus faecalis* ATCC 29212 და *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853-ს მიმართ, მათ შორის, 2 *Lactobacillus* (*L. brevis* 10, 15) გამოირჩეოდა ძლიერი ინჰიბიტორული აქტივობით.



სურ. 7. რძემჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობა *Bacillus cereus* ATCC 10876-ის მიმართ

ცხრილი 8

რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების ანტიმიკრობული აქტივობა

შტამის, №	პათოგენური შტამები									
	Salmonella enterica ATCC 14028	*Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833	*Bacillus cereus* ATCC 10876	*Proteus mirabilis* ATCC 12453	*Streptococcus pyogenes* ATCC 21059	*Enterococcus faecalis* ATCC 29212	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923	*Shigella flexneri* ATCC 12022	*Escherichia coli* ATCC 25922
L. brevis 10	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	25.3 ± 0.5^{a}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	25.4 ± 0.5^{a}	25.2 ± 0.2^{a}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}
L. brevis 15	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	25.1 ± 0.2^{a}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	25.5 ± 0.5^{a}	25.4 ± 0.5^{a}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}
L. brevis 18	0.0 ± 0.0^{e}	15.9 ± 0.1^{b}	16.3 ± 0.4^{b}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	25.2 ± 0.3^{a}	16.2 ± 0.2^{b}	12.5 ± 0.5^{c}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}
L. brevis 51	15.9 ± 0.9^{b}	11.3 ± 0.6^{d}	12.3 ± 0.4^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	12.3 ± 0.4^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	12.3 ± 0.3^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	12.5 ± 0.4^{c}
Lpb. plantarum 52	11.9 ± 0.4^{cd}	11.8 ± 1.2^{cd}	16.2 ± 0.3^{b}	0.0 ± 0.0^{e}	12.4 ± 0.4^{cd}	16.4 ± 0.4^{b}	12.4 ± 0.5^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}
Lpb. plantarum 53	0.0 ± 0.0^{e}	12.4 ± 0.4^{cd}	12.4 ± 0.4^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	16.3 ± 0.4^{b}	12.3 ± 0.3^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	12.4 ± 0.4^{cd}
Lpb. plantarum 74	0.0 ± 0.0^{e}	12.4 ± 0.4^{c}	12.2 ± 0.3^{cd}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	16.3 ± 0.3^{b}	12.4 ± 0.4^{c}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}
Lpb. plantarum 76	0.0 ± 0.0^{e}	16.4 ± 0.4^{b}	16.3 ± 0.5^{b}	12.4 ± 0.4^{c}	16.3 ± 0.3^{b}	0.0 ± 0.0^{e}	16.3 ± 0.4^{b}	0.0 ± 0.0^{e}	12.3 ± 0.3^{cd}	16.3 ± 0.5^{b}

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

ანბანის სხვადასხვა ასოები მიუთითებს სტატისტიკურად მნიშვნელოვან განსხვავებაზე $p < 0.05$

4.3 იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულება

ვაშლიდან გამოყოფილ შერჩეულ იზოლატებზე (*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 53, *Lactiplantibacillus plantarum* 74, *Lactiplantibacillus plantarum* 76) ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა განხორციელდა აგარში დიფუზიის მეთოდით. 37 °C-ზე 48 საათის განმავლობაში ანაერობული ინკუბაციის

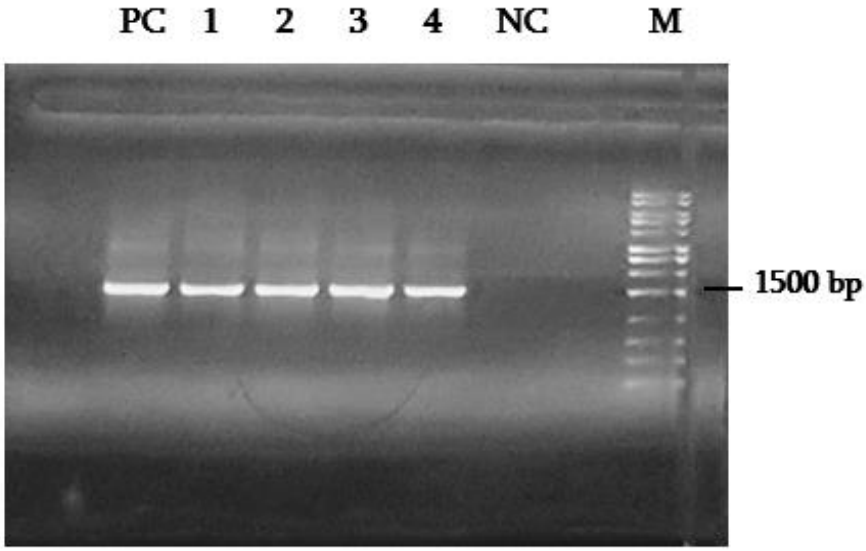
შემდეგ ჩათესილი ბლოკების ირგვლივ ინჰიბირება არ დაფიქსირდა, რაც მიუთითებს, რომ შერჩეული იზოლატები ერთმანეთის ზრდას არ თგრუნავენ (სურ. 8).

სურ. 8. რძემჟავა ბაქტერიების შტამების ურთიერთდამოკიდებულება

მიღებული შედეგები საშუალებას იძლევა, შერჩეული იზოლატების გამოყენებით შეიქმნას კონსორციუმი შემდგომი კვლევების ჩასატარებლად.

4.4 რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია

ვაშლის კანიდან მიღებული სუფთა იზოლატები იდენტიფიცირებული იყო გვარის სპეციფიკური PCR-ით. PCR ამპლიკონების ელექტროფეროგრამა წარმოდგენილია სურ 8-ზე. როგორც ჩანს ოთხივე იზოლაციაში, ისევე როგორც დადებით კონტროლში, 1500 bp ფრაგმენტი გაძლიერდა, რაც მიუთითებს, რომ ოთხივე ექსპერიმენტული იზოლატი მიეკუთვნება *Lactobacillus*-ის გვარს.



სურ. 9. იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია გვარის დონეზე

IDL04F/IDL03R PCR პროდუქტების გელ-ელექტროფორეზი ჩატარდა 1%-იან აგაროზას გელში. PC-დადებითი კონტროლი (*Levilactobacillus brevis,* Bokulich et al., 2015); *Lactobacillus* -ის იზოლატები: 1 - № 52, 2 - № 53, 3 - № 74 და 4 - № 76; NC - უარყოფითი კონტროლი; M - 1kb DNA Ladder (Solis BioDyne, ესტონეთი).

იზოლატებს დამატებით ჩაუტარდა სახეობრივი იდენტიფიკაცია, რომელიც განხორციელდა გერმანიაში (მაგდებურგის საუნივერსიტეტო კლინიკა). პოტენციური პრობიოტიკური კულტურების სახეობის დადგენა გაკეთდა პირველ რიგში დაუზიანებელი უჯრედის მასური სპექტრომეტრიის ტექნიკით (icms), რისთვისაც გამოყენებულ იქნა სტანდარტული პროცედურები MALDI Biotyper სისტემასთან სამუშაოდ (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). ანალიზი გაკეთდა Autoflex III სისტემის მეშვეობით, რომლითაც მოხდა 2-20 კდა-ს 600 იანი სპექტრების შეჯამება. ანალიზისათვის გამოყენებულ იქნა შედეგები 2.000 ან მეტი საიდენტიფიკაციო ინდექსით (MALDI Biotyper identification core vsalues). რადგან ეს ტექნიკა ადგენს მხოლოდ ბაქტერიულ ჯგუფს, შემდეგი ეტაპზე დამატებით გამოვიყენეთ 16S rDNA სექვენირება მაღალი კონსერვაციის 899 ფუძე წყვილიანი 16SrRNA გენის ამპლიფიკაციისათვის. გამოყენებული პრაიმერები: 27f: 5'–AGAGTTTGATCMTGGCTCAG–3' და 926r: 5'–CCGTCAATTCCT TTRAGTTT–3'. ფრაგმენტების ამპლიფიკაციისათვის გამოვიყენეთ გენომური დნმ ნიმუშებიდან №52, №53, №74, №76. ამპლიკონის პურიფიკაციისათვის გამოყენებულ იქნა ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA). ასიმეტრიული პჯრ-ისთვის გამოიყენეს BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA), ხოლო ამპლიკონის პურიფიკაცია მოხდა DyeEx 2.0 Spin Kit-ის გამოყენებით (Qiagen, Hilden, Germany). სექვენირებისათვის 3130xl Genetic Analyzer -ი იქნა გამოყენებული (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA) და მიღებული სიქვენსები ანალიზი მოხდა NCBI BLAST Search-ის მეშვეობით (ცხრილი 9).

ცხრილი 9

ოთხი იზოლატის 16S rRNA გენის თანმიმდევრობების BLAST ანალიზის შედეგები

იზოლატები	Sequence bp	აღწერა	Max Score	Total score	Query coverage	E value	Per. identity	Accession
16S - 52	813 bp	***Lactiplantibacillus plantarum*** **strains**	1502	1502	100%	0.0	100%	OL798083.1 OL719063.1 MZ286591.1 OL589524.1 OL589263.1
16S - 53	802 bp	***Lactobacillus*** **sp. Strain**	1482	1482	100%	0.0	100%	MK405704.1 MK397507.1
		Lactiplantibacillus plantarum **strains**	1482	1482	100%	0.0	100%	MK332083.1 MK332073.1 AB854171.1 AB618817.1 OL798083.1
BaSu - 74	839 bp	***Lactiplantibacillus plantarum*** **strains**	1550	1550	100%	0.0	100%	OM802824.1 OM791722.1 OM760921.1 OM760769.1 OM760745.1 OM758304.1 OM757919.1 OM736085.1 OM721826.1
16S - 76	811 bp	***Lactiplantibacillus plantarum*** **strains**	1495	1495	100%	0.0	100%	MK332083.1 MK332073.1 AB854171.1 AB618817.1 OL798083.1 OL719063.1

უჯრედის მასური სპექტრომეტრიის ტექნიკის (ICMS) ანალიზმა აჩვენა, რომ *Lactobacillus*-ის გვარის სამი იზოლატი (52, 53 და 76) წარმოადგენდა *Lactiplantibacillus pentosus* ან *L. plantarum* ან *L. paraplantarum*-ს, ხოლო 74 დადგინდა როგორც *Levilactobacillus brevis*. 16S rDNA გაკეთდა მონაცემების დამატებით დასაზუსტებლად. ამპლიკონების სიქვენსინგმა აჩვენა, რომ რძემჟავა ბაქტერიის ოთხივე იზოლატი მიეკუთვნებოდა *Lactiplantibacillus plantarum*-ის სახეობას, რაც ასევე დავადგინეთ სიქვენსების BLAST ანალიზით. როგორც ცხრილი 9-დან ჩანს, სიქვენსები 99.88% - 100%, იდენტურია *Lactiplantibacillus plantarum* -თან.

4.5. ვაშლის წვენის ფერმენტაციის პირობები

4.5.1 სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა ფერმენტირებულ წვენში

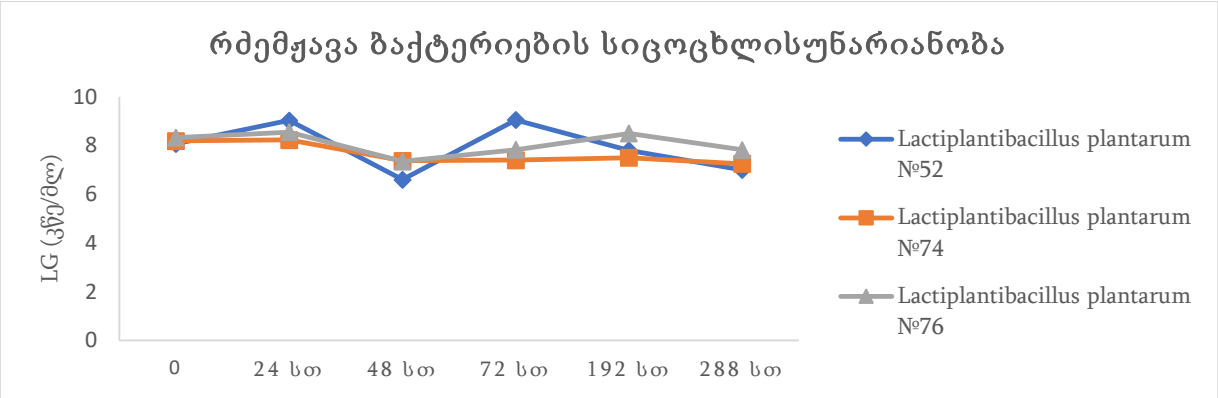
ვაშლის წვენის ფერმენტაციისათვის შეირჩა პრობიოტიკური თვისებების მქონე სამი შტამი -*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 74, *Lactiplantibacillus plantarum* 76, რომლებიც ხასიათდებიან დაბალი pH-ის და ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობით, პათოგენური მიკროორგანიზმების მიმართ ანტიმიკრობული აქტივობით და ანტიბიოტიკებისადმი მდგრადობით. შერჩეული შტამებით ჩატარდა ვაშლის წვენის ფერმენტაცია და განისაზღვრა სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა 12-დღიანი ფერმენტაციის განმავლობაში (ცხრილი 10, გრაფიკი 2).

ცხრილი 10

***Lactiplantibacillus plantarum*-ის სხვადასხვა შტამით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა**

ფერმენტაციის დრო, სთ	*Lpb. plantarum* 52	*Lpb. plantarum* 74	*Lpb. plantarum* 76
	კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული, lg კწე/მლ		
0	8.1±0.1	8.2±0.2	8.3±0.2
24	9.0±0.4	8.2±0.2	8.6±0.2
48	6.6±0.2	7.4±0.3	7.4±0.3
72	9.1±0.3	7.4±0.1	7.8±0.3
192	7.8±0.1	7.5±0.4	8.5±0.3
288	7.0±0.4	7.3±0.2	7.8±0.2

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

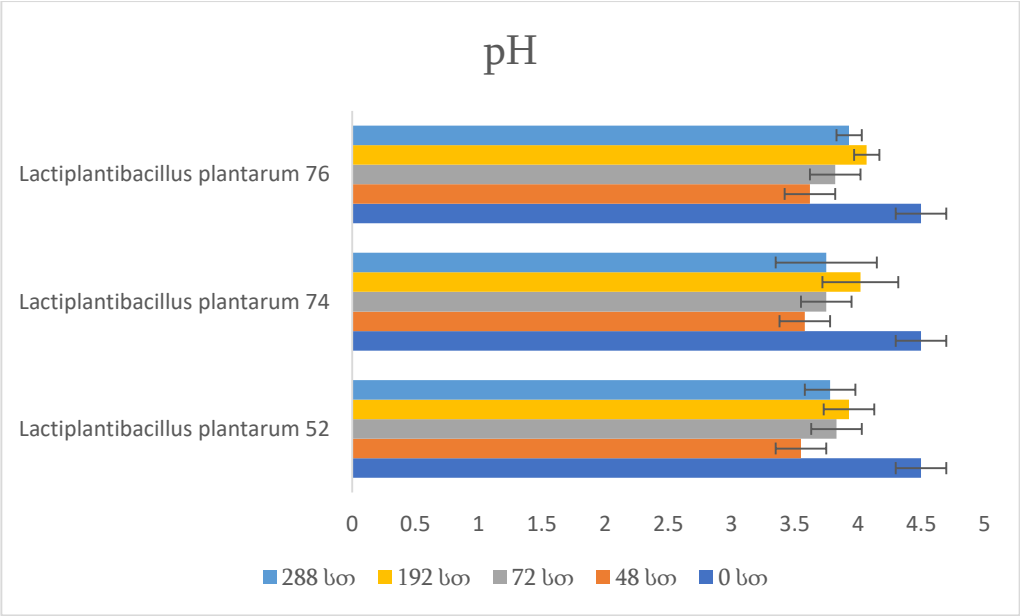


გრაფიკი 2. რძემჟავა ბაქტერიების რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში

მე-10 ცხრილიდან და მე-2 გრაფიკიდან ჩანს რძემჟავა ბაქტერიების შტამების ზრდის განსხვავებული სურათი. *Lpb. plantarum* 76-ის შემთხვევაში, უჯრედების საწყისი რაოდენობა 8.3±0.2 lg კწე/მლ-დან შემცირდა 7.8±0.3 lg კწე/მლ-მდე 72 საათის შემდეგ, მაშინ როდესაც *Lpb. plantarum* 52-ის შემთხვევაში დაფიქსირდა ბაქტერიების დაახლოებით 1 lg კწე/მლ-ით მატება დუღილის დაწყებიდან 1 დღის შემდეგ, რასაც მოჰყვა რაოდენობის 2.45 lg კწე/მლ-ით შემცირება.

4.5.2 pH-ის და ტიტრული მჟავიანობის ცვლილება წვენის ფერმენტაციისას

Lpb. plantarum 52, *Lpb. plantarum* 74, *Lpb. plantarum* 76-ით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის pH-ის ცვლილებები ნაჩვენებია მე-11 ცხრილში. საკონტროლო (არაფერმენტირებული) წვენის pH შეადგენდა 4.5±0.2. დუღილის დაწყებიდან 48 სთ-ის განმავლობაში წვენის pH-მა დაიკლო 3.6±0.2-მდე სამივე შტამის მოქმედების შედეგად. 24-48 სთ პერიოდში მცირე რაოდენობით კლება აღინიშნა აგრეთვე სიცოცხლიუნარიანი უჯრედებისთვისაც (გრაფიკი 2, 3).



გრაფიკი 3. ვაშლის წვენის pH ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში

ვაშლის წვენის დუღილის მე-8 დღეს (192 სთ) pH-მა მოიმატა და 3.8±0.2-დან გახდა 4.0±0.1 *Lpb. plantarum* 76 მოქმედების შედეგად, ასევე გაიზარდა შესაბამისი კულტურის რაოდენობაც (ცხრილი 10).

ცხრილი 11

ვაშლის წვენის pH-ის მონაცემები ფერმენტაციისას

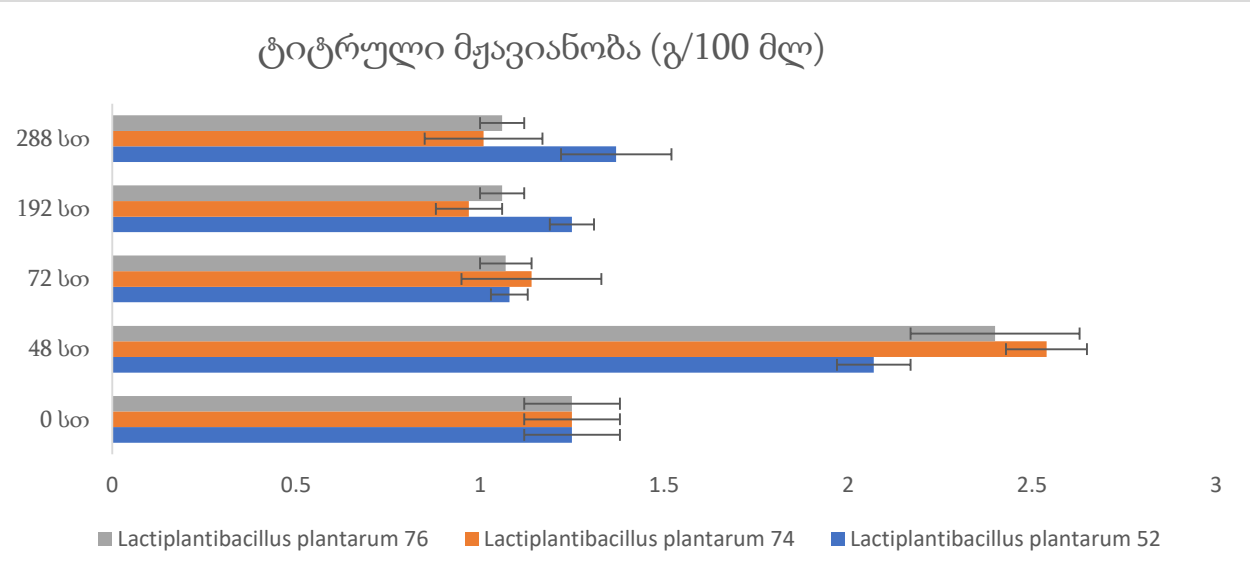
მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

ფერმენტაციის დრო, სთ	pH		
	Lactiplantibacillus plantarum 52	*Lactiplantibacillus plantarum* 74	*Lactiplantibacillus plantarum* 76
0	4.5±0.2	4.5±0.2	4.5±0.2
48	3.6±0.2	3.6±0.2	3.6±0.2
72	3.8±0.2	3.8±0.2	3.8±0.2
192	3.9±0.2	4.0±0.3	4.0±0.1
288	3.8±0.2	3.8±0.4	3.9±0.1

288 საათიანი დუღილის ბოლოს ფერმენტირებული წვენის pH 4.5±0.2-დან შემცირდა 3.8±0.2, 3.8±0.4, 3.9±0.1-მდე *Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 74 და *Lpb. plantarum* 76-ის მოქმედების შედეგად, შესაბამისად. აღნიშნულ ცვლილებას თან ახლდა შტამების სიცოცხლისუნარიანობის მცირედი შემცირებაც, 7.0±0.4 lg კწე/მლ, 7.3±0.2 lg კწე/მლ და 7.8±0.2 lg კწე/მლ-მდე.

Lactiplantibacillus plantarum შტამებით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის ტიტრული მჟავიანობის (TA) ცვლილებები ნაჩვენებია ცხრილში 12. საკონტროლო ნიმუშის

საწყისი მჟავიანობა იყო 1.25±0.13 გ/100მლ. პირველი 48 საათის განმავლობაში ის გაიზარდა სამივე ნიმუშში კონტროლთან შედარებით.



გრაფიკი 4. ვაშლის წვენის ტიტრული მჟავიანობის ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში

ცხრილი 12

ვაშლის წვენის ტიტრული მჟავიანობის ცვლილება ფერმენტაციისას

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

ფერმენტაციის დრო, სთ	ტიტრული მჟავიანობა (გ/100 მლ)		
	Lactiplantibacillus plantarum 52	*Lactiplantibacillus plantarum* 74	*Lactiplantibacillus plantarum* 76
0	1.25±0.13	1.25±0.13	1.25±0.13
48	2.07±0.10	2.54±0.11	2.40±0.23
72	1.08±0.05	1.14±0.19	1.07±0.07
192	1.25±0.06	0.97± 0.09	1.06±0.06
288	1.37±0.15	1.01±0.16	1.06±0.06

როგორც ცხრილი 11 და 12-დან ჩანს, pH-სა და ტიტრულ მჟავიანობას შორის არსებობს კორელაცია, კერძოდ pH მაჩვენებელი მკვეთრად იკლებს დუღილის დაწყებიდან მე-2 დღემდე, მაშინ როდესაც ტიტრული მჟავიანობა ამ პერიოდში საგრძნობლად იმატებს.

4.5.3 შაქრების კონცენტრაცია ფერმენტირებულ წვენებში

ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში განისაზღვრა შაქრების შემცველობა. კვლევა ჩატარდა ორი ტიპის ვაშლის წვენზე: ჩვენ მიერ ადგილობრივი ვაშლის ჯიშებიდან მიღებულ ვაშლის წვენზე (ვარიანტი №1) და კომერციულ წვენზე (ვარიანტი №2). შაქრების ფერმენტაციისთვის წვენში შეტანილ იყო 2% და 5%-ის ოდენობით რძემჟავა ბაქტერიების ინოკულანტი. შაქრებიდან განისაზღვრა ფრუქტოზა, გლუკოზა და საქაროზა. 2 % ინოკულანტით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის №1 ვარიანტმა შემდეგი სურათი აჩვენა. *Lactiplantibacillus plantarum* 52 შტამის მოქმედებით საქაროზის რაოდენობამ 24 სთ-იანი ფერმენტაციისას 2.44 გ/ლ-დან დაიკლო 2.28 გ/ლ-მდე, ხოლო 48 სთ-ის განმავლობაში ნარჩენი საქაროზის რაოდენობა 1.87 გ/ლ-ს შეადგენდა. გლუკოზის და ფრუქტოზის ფერმენტაცია კი პირველ 24 საათში უფრო ინტენსიურად მიმდინარეობდა, ვიდრე მეორე დღეს. პირველ დღეს 39 გ/ლ-დან ნარჩენი გლუკოზა შეადგენდა 32.5 გ/ლ-ს, ხოლო მეორე დღეს - 26.8 გ/ლ-ს. ფრუქტოზის შემთხვევაში 105 გ/ლ-დან 24 საათში დარჩა 93.5 გ/ლ, 48 საათში კი 84.3 გ/ლ. *Lactiplantibacillus plantarum* 74 შტამით ფერმენტაცია დაახლოებით ერთნაირად წარიმართა პირველ და მეორე დღის განმავლობაში. რაც შეეხება *Lactiplantibacillus plantarum* 76-ს, ფრუქტოზის ფერმენტაციის ინტენსივობა მეორე დღეს უფრო მაღალია, კერძოდ, მოხმარებული შაქრის რაოდენობა გაიზარდა 5 გ/ლ-დან 12 გ/ლ-მდე (ცხრილი 13).

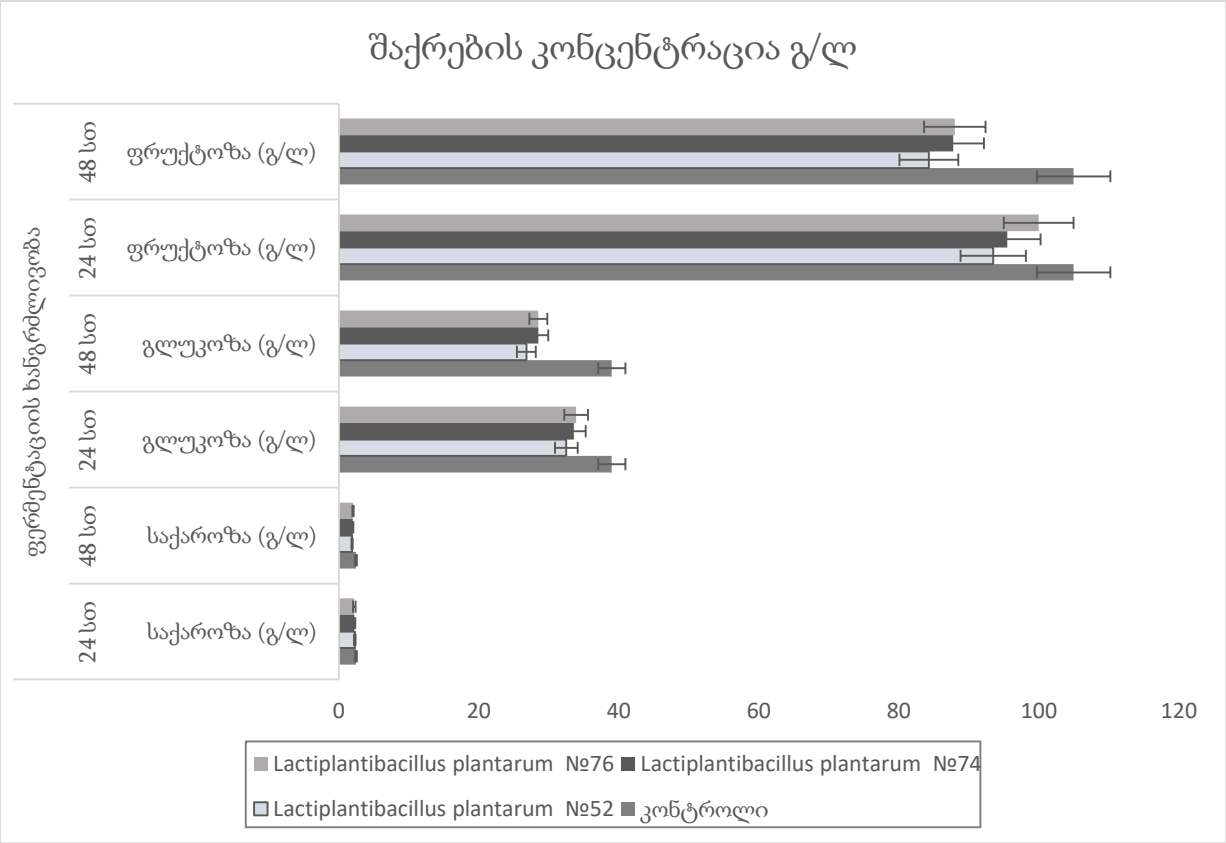
ცხრილი 13

ნარჩენი შაქრების კონცენტრაცია 2%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში

ნიმუშის ნომერი	ფერმენტაციის დრო					
	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ
	საქაროზა, გ/ლ		გლუკოზა, გ/ლ		ფრუქტოზა, გ/ლ	
არაფერმენტირებული წვენი (კონტროლი)	2.44±0.12	2.44±0.12	39±1.95	39±1.95	105±5.25	105±5.25
Lactiplantibacillus plantarum 52	2.28±0.11	1.87±0.09	32.5±1.63	26.8±1.34	93.5±4.68	84.3±4.22
Lactiplantibacillus plantarum 74	2.22±0.11	1.97±0.10	33.6±1.68	28.5±1.43	95.5±4.78	87.8±4.39
Lactiplantibacillus plantarum 76	2.22±0.19	2.02±0.10	33.9±1.70	28.5±1.27	100±5.00	88±4.40

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

2 % ინოკულანტით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის პირველი ვარიანტის ნარჩენი შაქრის შედეგები მოცემულია მე-5 გრაფიკზე.



გრაფიკი 5. შაქრების რაოდენობის ცვლილებები წვენის ფერმენტაციის პროცესში

2% ინოკულანტთან შედარებით, წვენში 5%-ით ინოკულირებულმა *Lactiplantibacillus plantarum* 52-მა 24 სთ-იანი დუღილის განმავლობაში, 2.44 გ/ლ საქაროზა დაშალა 1.7 გ/ლ-მდე. გაცილებით მაღალი მაჩვენებელი მივიღეთ გლუკოზის და ფრუქტოზის შემთხვევაში, შტამის იმავე ნიმუშის 5% ინოკულანტმა 39 გ/ლ-დან მოახდინა 15.7 გ/ლ გლუკოზის ფერმენტაცია (23.3 გ/ლ ნარჩენი გლუკოზა), მაშინ როცა 2%-ით ინოკულირებულმა *Lactiplantibacillus plantarum* 52-მა მხოლოდ 6.5 გ/ლ მოიხმარა. შტამის იგივე ნიმუში საკმაოდ აქტიური აღმოჩნდა ფრუქტოზის დაშლისას და 105 გ/ლ-დან 24 სთ-ში მივიღეთ 76.1 გ/ლ ნარჩენი შაქარი. 48 სთ დუღილის განმავლობაში ვაშლის წვენში 5% ინოკულანტის აქტივობამ საგრძნობლად დაიკლო, შესაბამისად საქაროზის რაოდენობა უმნიშვნელოდ შემცირდა, 1.7 გ/ლ-დან 1.45, 1.92 და 2 გ/ლ-მდე (ცხრილი 14).

ცხრილი 14

5%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში ნარჩენი შაქრების კონცენტრაცია

ნიმუში ნომერი	ფერმენტაციის დრო					
	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ
	საქაროზა, გ/ლ		გლუკოზა, გ/ლ		ფრუქტოზა, გ/ლ	
არაფერმენტირებული წვენი (კონტროლი)	2.44±0.12	2.44±0.12	39±1.95	39±1.95	105±5.25	105±5.25
Lactiplantibacillus plantarum 52	1.7±0.26	1.45±0.14	23.3±2.42	17.6±2.19	76.1±4.33	66.9±4.23
Lactiplantibacillus plantarum 74	1.95±0.17	1.92±0.11	29.7±3.38	24.6±2.58	92.8±3.78	85.1±4.30
Lactiplantibacillus plantarum 76	2.1±0.2	2.0±0.10	31.4±2.46	26.2±2.08	90.7±5.02	78.7±4.60

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

კომერციულ წვენში, სხვა შესწავლილ შტამებთან შედარებით, ინოკულანტის 5% ოდენობით შეტანისას *Lactiplantibacillus plantarum* 76 ნიმუშმა უფრო მეტი საქაროზის ფერმენტაცია მოახდინა, 24 სთ ფერმენტაციის შედეგად 8.57 გ/ლ-დან 7.4 გ/ლ დარჩა წვენში ანუ 13.7% დაიშალა, რაც თითქმის უტოლდება წვენის პირველ ვარიანტში იმავე პირობებში მიღებულ პროცენტულ მაჩვენებელს. როგორც მოსალოდნელი იყო, თითოეული შტამის 2% ინოკულანტმა უფრო ნაკლები სიძლიერით იმუშავა. აღსანიშნავია, რომ კომერციული წვენის კონტროლში ბევრად ნაკლები იყო გლუკოზის და ფრუქტოზის შემცველობა (ცხრილი 15).

ცხრილი 15

5%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ კომერციულ ვაშლის წვენში ნარჩენი შაქრების კონცენტრაცია

ნიმუშის ნომრები	ფერმენტაციის დრო					
	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ
	საქაროზა, გ/ლ		გლუკოზა, გ/ლ		ფრუქტოზა, გ/ლ	
არაფერმენტირებული წვენი (კონტროლი)	8.57±0.32		28.6±1.90		82.8±3.25	
Lactiplantibacillus plantarum 52	7.92±0.48	7.74±0.24	25.7±1.69	24.72±1.44	78.5±2.84	77.21±3.59
Lactiplantibacillus plantarum 74	7.65±0.39	7.63±0.41	25.1±1.91	23.09±1.59	76.7±3.73	72.92±3.78
Lactiplantibacillus plantarum 76	7.4±0.44	7.09±0.62	24.9±1.83	22.34±1.38	73.8±2.92	66.31±3.96

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

Lactiplantibacillus plantarum 76-ის გავლენით, ორივე, 2% და 5% შემთხვევაში, ნარჩენი გლუკოზის რაოდენობა ნაკლები იყო სხვა შტამებთან შედარებით, რაც მიუთითებს შტამის აქტიურობაზე დინამიკაში. აქვე, აღსანიშნავია, ფრუქტოზისთან მიმართებაში 5%-იანი ინოკულანტის გამოყენებით შაქრის რაოდენობის მკვეთრი შემცირება (ცხრილი 16).

ცხრილი 16

ნარჩენი გლუკოზის, ფრუქტოზისა და საქაროზის კონცენტრაცია 2%-იანი ინოკულანტით ფერმენტირებულ კომერციულ ვაშლის წვენში

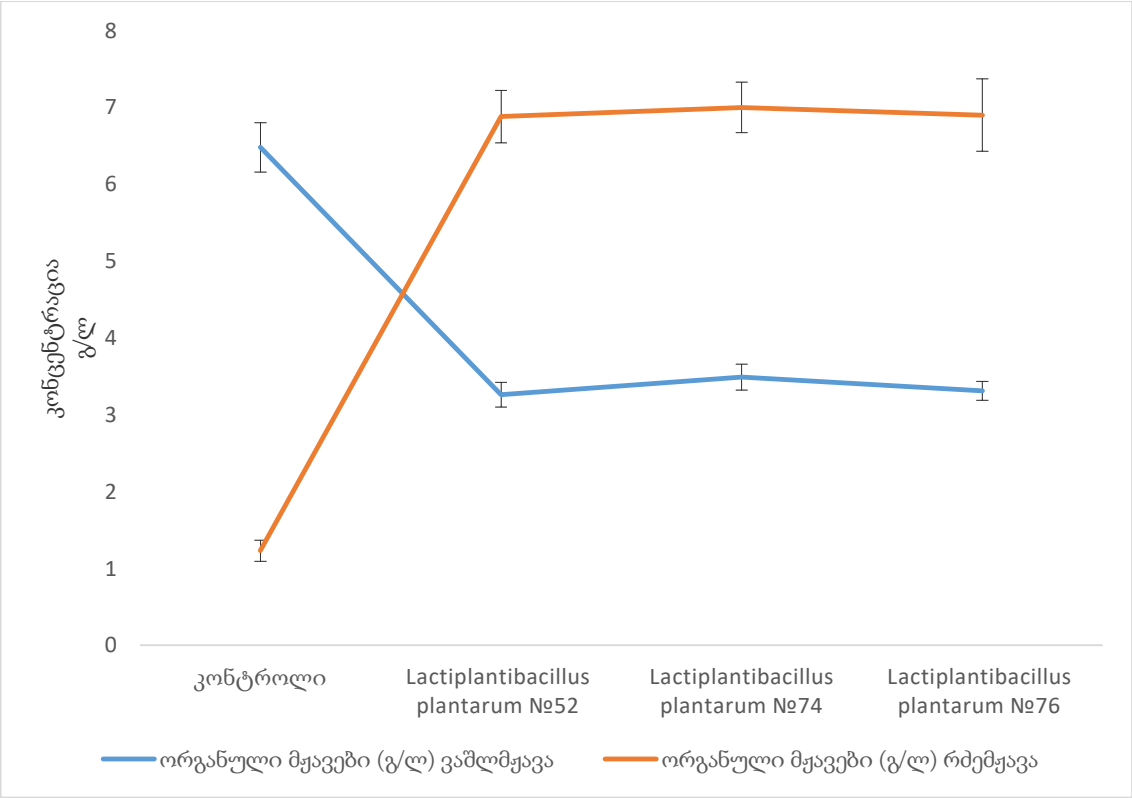
ნიმუშის ნომრები	ფერმენტაციის დრო					
	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ	24 სთ	48 სთ
	საქაროზა, გ/ლ		გლუკოზა, გ/ლ		ფრუქტოზა, გ/ლ	
არაფერმენტირებული წვენი (კონტროლი)	8.57±0.32		28.6±1.90		82.8±3.25	
Lactiplantibacillus plantarum 52	8.22±0.25	7.36±0.19	27.2±2.13	26.05±2.88	82.6±2.77	82.52±4.22
Lactiplantibacillus plantarum 74	8.01±0.29	7.39±0.40	26.5±3.53	24.59±2.58	81.8±4.75	81.07±3.79
Lactiplantibacillus plantarum 76	8.03±0.22	7.52±0.31	26.02±3.22	23.32±2.59	81.2±4.52	77.44±4.69

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა

ორივე ტიპის წვენის ფერმენტაციის შედეგების შედარება აჩვენებს, რომ *Lactiplantibacillus plantarum* 52 როგორც 5%, ისე 2% ინოკულანტის შემთხვევაში ჩვენ მიერ მიღებული ვაშლის წვენში მოხმარებული გლუკოზა დაახლოებით 4-ჯერ აღემატება კომერციულ წვენში გამოყენებულ რაოდენობას.

4.5.4 ორგანული მჟავების კონცენტრაცია

ჩატარებულ კვლევაში, ვაშლის წვენში ბუნებრივად იყო ვაშლმჟავა 6.5±0.3 და რძემჟავა 1.2±0.1 გ/ლ კონცენტრაციით (გრაფიკი 6).



გრაფიკი 6. ორგანული მჟავების კონცენტრაციის ცვლილების მრუდი

დუღილის პროცესში კულტურები მოიხმარდნენ ვაშლმჟავას და პარალელურად წარმოქმნიდნენ რძემჟავას, *Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 74, *Lpb. plantarum* 76 გამოყენების შემთხვევაში 48 სთ-იანი დუღილის ბოლოს ვაშლმჟავა შემცირდა 3.3±0.2, 3.5±0.2, 3.3±0.1 გ/ლ-მდე, ხოლო რძემჟავას კონცენტრაციამ მიაღწია 6.9±0.3, 7.0±0.3, 6.9±0.5 გ/ლ, შესაბამისად.

4.5.5 ჯამური ფენოლების შემცველობა

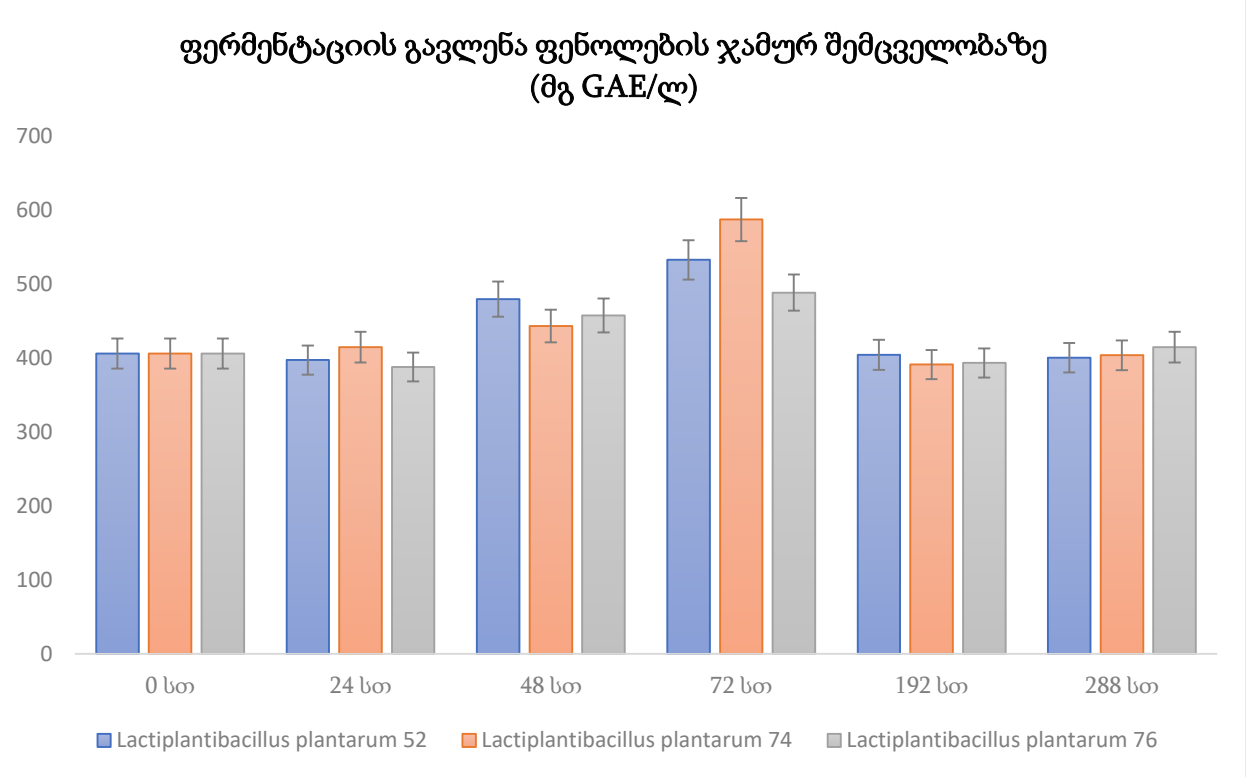
ფერმენტირებულ ვაშლის წვენის ნიმუშებში განისაზღვრა ჯამური ფენოლების რაოდენობა. *Lpb. plantarum* 74-ით ფერმენტაციის შემთხვევაში მისი რაოდენობა 24 სთ-ის განმავლობაში გაიზარდა 406.0±20.3-დან 414.8±20.8 მგ GAE/ლ-მდე და 48 სთ განმავლობაში - 443.4±22.2 მგ GAE/ლ-მდე. სამივე შტამის მოქმედების შედეგად, 24 სთ-დან 72 სთ-მდე გამოხატული იყო ფენოლების ზრდის ტენდენცია; მე-4 დღიდან კი აღინიშნებოდა ფენოლების რაოდენობის კლება (ცხრილი 17).

ცხრილი 17

ჯამური ფენოლების შემცველობა (მგ GAE /ლ) ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში

ნიმუშები	ფერმენტაციის დრო, სთ					
	0	24	48	72	192	288
Lpb. plantarum 52	406.0±20.3^{ef}	397.2±19.9^{ef}	479.6±24.0^{bcd}	532.9±26.7^{ab}	404.3±20.2^{ef}	400.5±20.0^{ef}
Lpb. plantarum 74	406.0±20.3^{ef}	414.8±20.7^{def}	443.4±22.2^{def}	587.3±29.4^{a}	391.2±19.6^{ef}	403.8±20.2^{ef}
Lpb. plantarum 76	406.0±20.3^{ef}	387.9±19.4^{f}	457.6±22.9^{cde}	488.4±24.4^{bc}	393.4±19.7^{ef}	414.8±20.7^{def}

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა
ანბანის სხვადასხვა ასოები მიუთითებს სტატისტიკურად მნიშვნელოვან განსხვავებაზე $p < 0.05$



გრაფიკი 7. წვენის ფერმენტაციის გავლენა ფენოლების ჯამურ შემცველობაზე

4.5.6 ანტიოქსიდანტური აქტივობის ცვლილება ფერმენტაციის დროს

Lpb. plantarum 52, *Lpb. plantarum* 74, *Lpb. plantarum* 76-ით ფერმენტირებული ვაშლის წვენის ანტიოქსიდანტური აქტივობის ცვლილებები განსაზღვრული იყო FRAP მეთოდით და შედეგები წარმოდგენილია მე-18 ცხრილში.

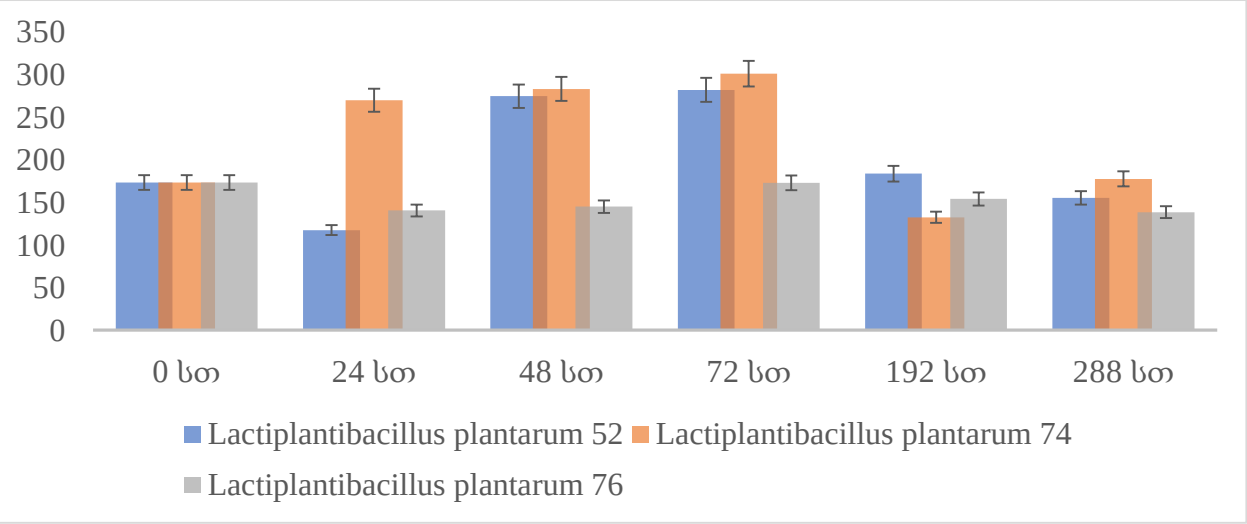
ცხრილი 18

ჯამური ანტიოქსიდანტური აქტივობა ვაშლის წვენში (მგ AAE /ლ)

ნიმუშები	ფერმენტაციის დრო, სთ					
	0	24	48	72	192	288
Lpb. plantarum 52	173.1±8.7 ^{cd}	117.2±5.9 ^{f}	274.4±13.7 ^{ab}	281.6±14.1 ^{ab}	183.5±9.2^{c}	155.0±7.8 ^{cde}
Lpb. plantarum 74	173.1±8.7 ^{cd}	269.6±13.5^{b}	282.8±14.1^{ab}	300.6±15.0 ^{a}	132.2±6.6 ^{ef}	177.3±8.9 ^{c}
Lpb. plantarum 76	173.1±8.7 ^{cd}	140.3±7.0 ^{ef}	144.8±7.2 ^{def}	172.8±8.6 ^{cd}	153.8±7.7 ^{cde}	138.2±6.9 ^{ef}

მნიშვნელობები წარმოდგენილია საშუალოს სახით ± სტანდარტული გადახრა
ანბანის სხვადასხვა ასოები მიუთითებს სტატისტიკურად მნიშვნელოვან განსხვავებაზე $p < 0.05$

როგორც ცხრილი 18-დან ჩანს, ვაშლის წვენის ყველა ნიმუშში 24 სთ-იანი ფერმენტაციის შემდეგ *Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 76 შტამების მოქმედების შედეგად, ანტიოქსიდანტური აქტივობა შემცირდა, ხოლო *Lactiplantibacillus plantarum* 74-ში შემთხვევაში ანტიოქსიდანტური აქტივობამ მოიმატა და 72 სთ-მდე ჰქონდა ზრდადი ხასიათი.



გრაფიკი 8. ფერმენტაციის გავლენა წვენის ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე

Lpb. plantarum 52, *Lpb. plantarum* 74 და *Lpb. plantarum* 76 მოქმედების შედეგად, მაქსიმალური ანტიოქსიდანტური აქტივობა დაფიქსირდა ვაშლის წვენში დუღილიდან 72 საათის შემდეგ - 281.6±14.1, 300.6±15.0 და 172.8±8.6 მგ AAE/ლ, შესაბამისად.

4.6 რძემჟავა ბაქტერიების კონსორციუმით პრობიოტიკური ვაშლის წვენის მიღება

პრობიოტიკური პოტენციალის გაერთიანების მიზნით შეიქმნა შესწავლილი შტამების (*Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 74 და *Lpb. plantarum* 76) კონსორციუმი ვაშლის წვენის ფერმენტაციისთვის. ფერმენტაციის ხანგრძლივობა განისაზღვრა 264 საათით (1 ვარიანტი) და 96 საათით (მეორე ვარიანტი). ფერმენტაცია მიმდინარეობდა 37 °C-ზე თერმოსტატში. ამ პერიოდში განსაზღვრულ იქნა სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობები (lg კწე/მლ (ცხრილი 19), რაც განაპირობებს პრობიოტიკური ვაშლის წვენის შენახვის ვადას.

ცხრილი 19

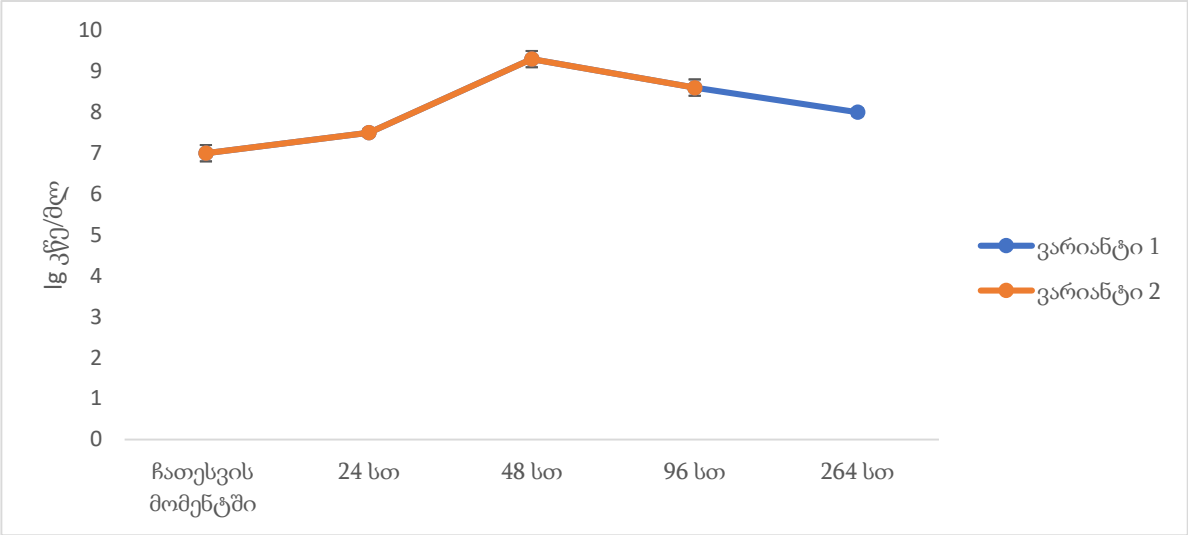
ბაქტერიული კონსორციუმის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში

ფერმენტაციის დრო	კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული, lg კწე/მლ	
	ვარიანტი 1	ვარიანტი 2
ჩათესვის მომენტში	7.0±0.2	7.0±0.2
24 სთ	7.5±0.1	7.5±0.1
48 სთ	9.3±0.2	9.3±0.2
96 სთ	8.6±0.2	8.6±0.2
264 სთ	8.0±0.1	-

შენიშვნა: „-" - მე-2 ვარიანტს ჩაუტარდა მხოლოდ 96 სთ-იანი ფერმენტაცია

დროის სხვადასხვა ხანგრძლივობით ფერმენტირებული ვაშლის წვენში ჩათესვის მომენტში ნიმუშის ორივე ვარიანტის შემთხვევაში, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა შეადგენდა 7.0±0.2 lg კწე/მლ-ს. 48 სთ-იანი ფერმენტაციის შემდეგ დაფიქსირდა მატება 9.3±0.2 lg კწე/მლ-მდე; 96 სთ-ის შემდეგ კი დაიწყო კლების პროცესი, შემცირდა 8.6±0.2 lg კწე/მლ-მდე, რის შემდეგადაც მეორე ვარიანტის წვენი მოთავსდა სამაცივრე პირობებში. პირველი ვარიანტის წვენში კი გაგრძელდა ფერმენტაციის პროცესი თერმოსტატში 37 °C-ზე. 264 საათიანი (11 დღე) დუღილის

დასრულებისას ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობა დაეცა 8.0±0.1 lg კწე/მლ-მდე (გრაფიკი 9).



გრაფიკი 9. ფერმენტაციის პროცესში ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში

11 დღიანი ფერმენტაციის შემდეგ პირველი ვარიანტის წვენიც მოთავსდა სამაცივრე პირობებში 4 °C-ზე, სადაც 4 დღის შემდეგ უჯრედების რაოდენობა გაიზარდა 8.9±0.2 lg კწე/მლ-მდე; მომდევნო დღეებში მოხდა მისი საგრძნობლად კლება, 21-ე დღეს (მესამე კვირა) კი მივიღეთ 3.9±0.1 lg კწე/მლ; შესაბამისად, წვენის შენახვის ვადად შეიძლება ჩაითვალოს 2 კვირა (ცხრილი 20, გრაფიკი 10).

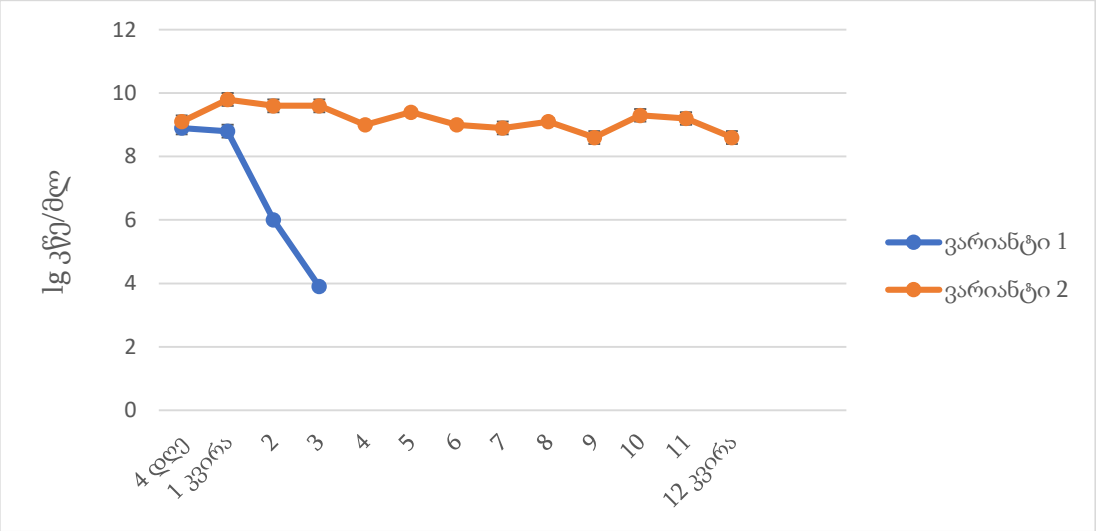
ცხრილი 20

ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილება სამაცივრე პირობებში

სამაცივრე პირობებში შენახვის ხანგრძლივობა	კოლონია წარმომქმნელი ერთეული lg (კწე/მლ)	
	ვარიანტი 1	ვარიანტი 2
4 დღე	8.9±0.2	9.1±0.2
1 კვირა	8.8±0.2	9.8±0.2
2 კვირა	6.0±0.1	9.6±0.2
3 კვირა	3.9±0.1	9.6±0.2
4 კვირა	-	9.0±0.1

5 კვირა	-	9.4±0.1
6 კვირა	-	9.0±0.1
7 კვირა	-	8.9±0.2
8 კვირა	-	9.1±0.1
9 კვირა	-	8.6±0.2
10 კვირა	-	9.3±0.2
11 კვირა	-	9.2±0.2
12 კვირა	-	8.6±0.2

შენიშვნა: „-" მიუთითებს სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის არარსებობას

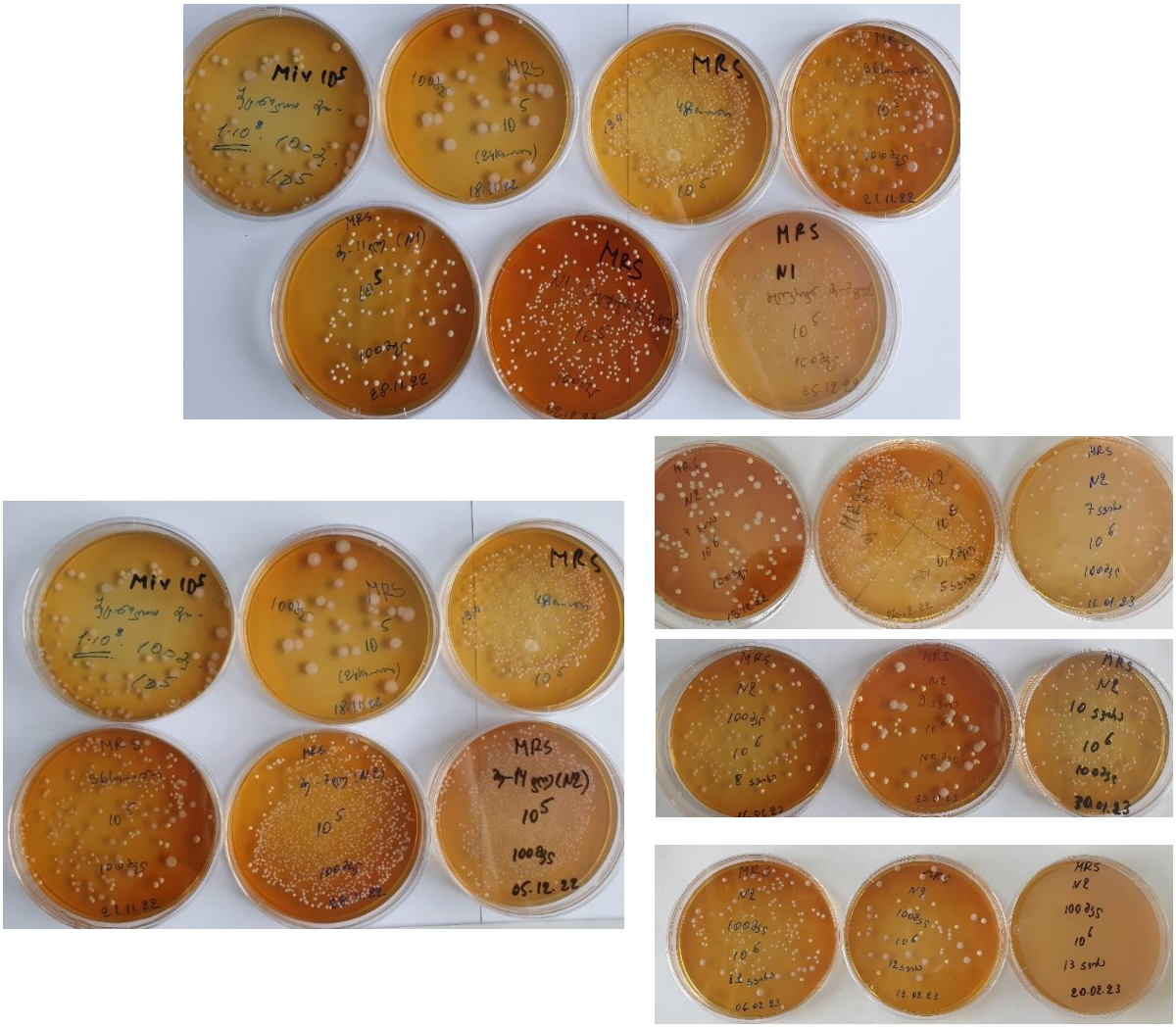


გრაფიკი 10. სამაცივრე პირობებში ბაქტერიული კონსორციუმის რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში

უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ასეთი კლება პირველ ვარიანტში შეიძლება განპირობებული იყოს ხანგრძლივი ფერმენტაციით განპირობებული pH-ის ცვლილებით. კერძოდ, ვაშლის წვენის pH ფერმენტაციის დაწყებამდე 3.65±0.02-ს შეადგენდა, რაც კონსორციუმის გავლენით ეტაპობრივად ჯერ 3.43±0.01-მდე, ხოლო მაცივარში შენახვიდან მე-3 კვირას კი 3.31±0.01-მდე შემცირდა.

მეორე ვარიანტის შემთხვევაში, მაცივარში შენახვიდან ერთი კვირის შემდეგ სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა იწყებს კლებას და მე-12 კვირას აღწევს 8.6±0.2 lg კწე/მლ-მდე. აღსანიშნავია, რომ წვენის pH შეიცვალა ამ პერიოდის

განმავლობაში (3.65±0.02-დან ეტაპობრივად 3.55±0.02-მდე შემცირდა), რაც სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობაზეც აისახა. პეტრის ჯამებზე სიცოცხლისუნარიანი კოლონიები კარგად ჩანს მე-10 სურათზე. კოლონიების დათვლა ხდებოდა სერიული განზავების მეთოდით.



სურ. 10. ფერმენტირებული ვაშლის წვენის მიკრობული რაოდენობები

კონსორციუმით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენის ნიმუშებში ასევე განისაზღვრა ჯამური ფენოლების შემცველობა და ანტიოქსიდანტური აქტივობა. არაფერმენტირებული ვაშლის წვენი გამოყენებულ იქნა კონტროლად, რომლის ჯამური ფენოლების შემცველობა 194.4±9.7 მგ GAE /ლ-ს, ანტიოქსიდანტური აქტივობა კი 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-ს შეადგენდა. წვენის ნიმუშის 1-ლ ვარიანტში (ხანგრძლივი ფერმენტაცია), მაცივარში შენახვიდან მესამე კვირას უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა რეკომენდებულ ზღვარზე ნაკლები (3.9±0.1 lg კწე/მლ) იყო, ჯამური ფენოლების შემცველობამ მოიმატა და შენახვიდან მე-3 კვირას 194.4±9.7 მგ

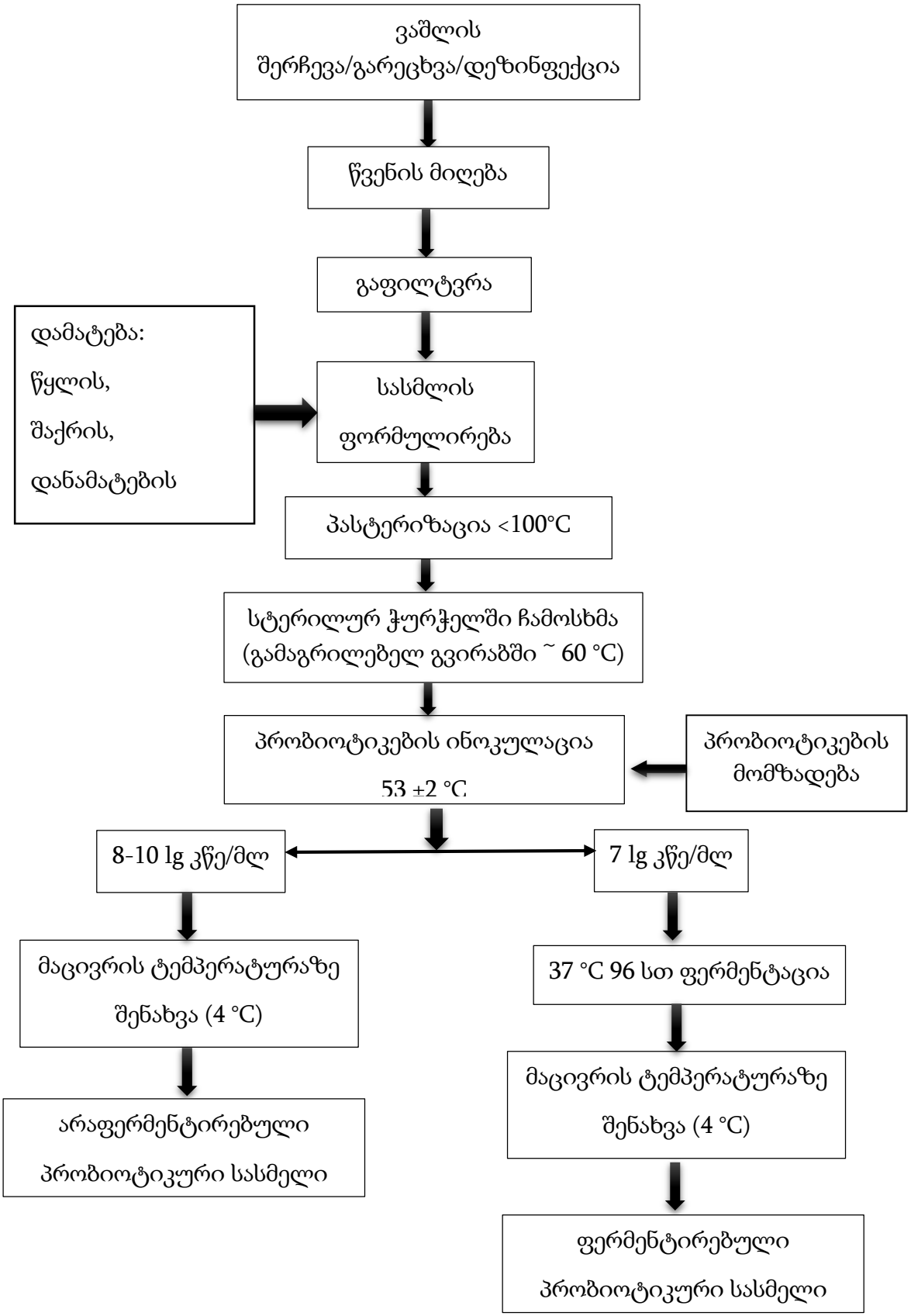
GAE /ლ-დან 257.2±12.8 მგ GAE /ლ-ს მიაღწია, ანტიოქსიდანტურმა აქტივობამ კი 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-დან - 154.7±7.7 მგ AAE /ლ-ს.

რაც შეეხება ვაშლის წვენის მეორე ნიმუშს (ხანმოკლე ფერმენტაცია), კონსორციუმში შტამების სიცოცხლისუნარიანობა შენარჩუნდა 12 კვირის განმავლობაში, მე-13 კვირას კი ჰქონდა კლებითი ხასიათი. პარალელურად, ჯამური ფენოლების შემცველობა 194.4±9.7 მგ GAE /ლ-დან ფერმენტაციიდან მე-12 კვირას გაიზარდა 304.0±15.2 მგ GAE /ლ-მდე, ხოლო ანტიოქსიდანტური აქტივობა 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-დან, მე-12 კვირას, შემცირდა 118.5±5.9 მგ AAE /ლ-მდე.

4.7 პრობიოტიკური ვაშლის წვენის ტექნოლოგიის შემუშავება საწარმოო პირობებში

აღსანიშნავია, რომ ქართულ ბაზარზე დღეისათვის არ არსებობს ფერმენტირებული პრობიოტიკური სასმელების წარმოება. თუმცა ერთ-ერთი ხილის გადამამუშავებელი საწარმოს (შპს კამპა) დამფუძნებელმა, ალექსანდრე ბუაძემ, დიდი ინტერესი გამოიჩინა ამ საკითხთან მიმართებაში და შემოგვთავაზა ვაშლის წვენის პრობიოტიკებით გამდიდრება განგვეხორციელებინა მის საწარმოში (საპილოტე ცდა). ფერმენტირებული წვენის ჩამოსხმისა და შენახვის პირობების დასადგენად გაფორმდა მემორანდუმი შპს ,,კამპასა“ და საქართველოს აგრარულ უნივერსიტეტს შორის. იხ. დანართი 1. საპილოტე ცდა განხორციელდა კომპანია ,,კამპას“ მიერ წარმოებულ და ჩამოსხმულ ვაშლის წვენზე. პრობიოტიკური ვაშლის წვენის დამზადების ტექნოლოგია მოცემულია სქემის სახით.

პრობიოტიკური ვაშლის წვენის დამზადების მოდიფიცირებული ტექნოლოგიური სქემა



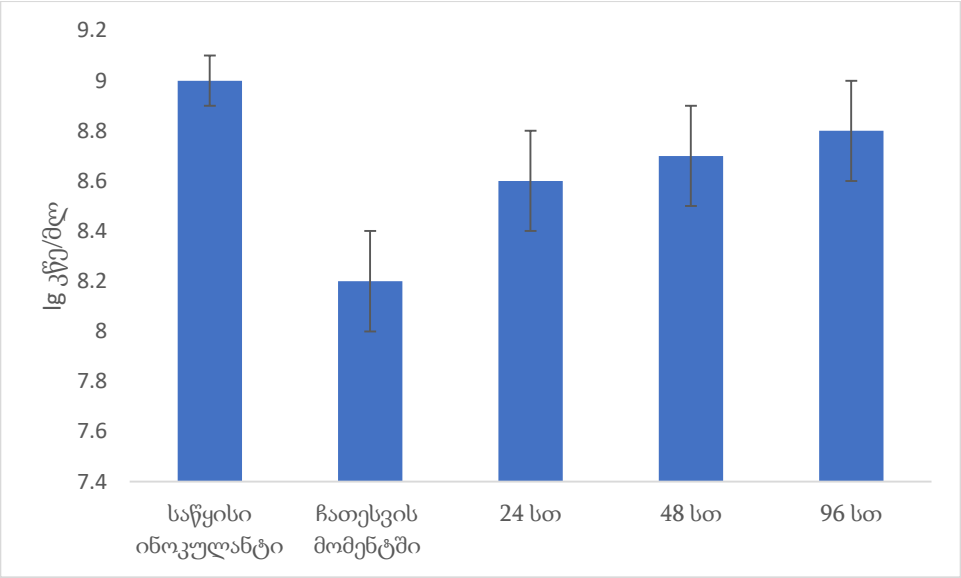
ექსპერიმენტი ჩატარდა ბაქტერიულ კონსორციუმზე, რომელიც შეიცავდა სამ შტამს (*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 74, *Lactiplantibacillus plantarum* 76). 53 ±2 °C გაცხელებულ ვაშლის წვენში (ვარიანტი N3) პრობიოტიკების 9.0±0.1 lg კწე/მლ ოდენობით ინოკულირების შემდეგ, ჩათესვის მომენტში კონსორციუმის რაოდენობა შეადგენდა 8.2±0.2 lg კწე/მლ-ს, რაც 96 საათიანი ფერმენტაციის ბოლოს გაიზარდა 8.8±0.2 lg კწე/მლ-მდე (ცხრილი 21, გრაფიკი 11).

ცხრილი 21

ბაქტერიული კონსორციუმის უჯრედების რაოდენობის ცვლილება თერმულად დამუშავებული (53 ±2 °C) წვენის ფერმენტაციასას და სამაცივრე პირობებში

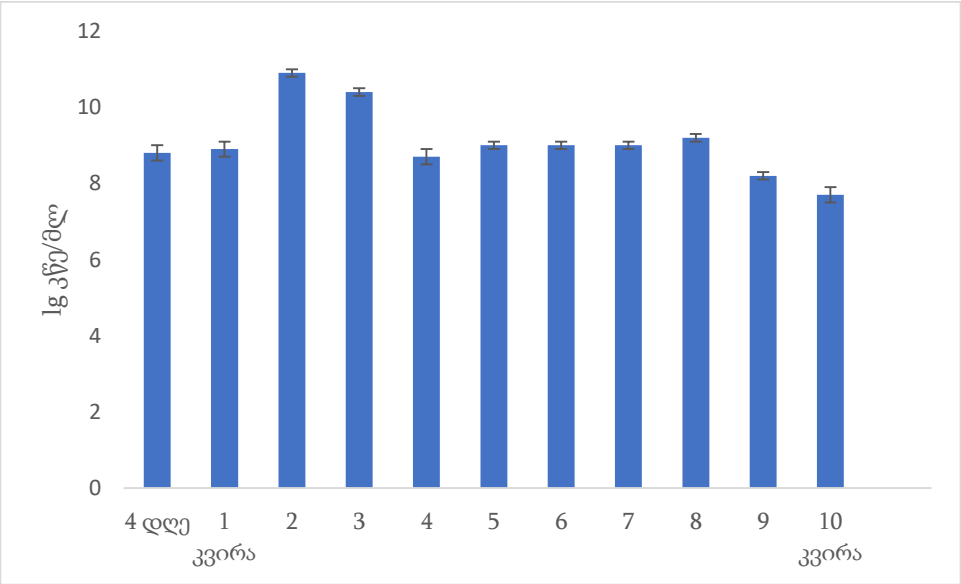
ფერმენტაციის დრო	lg კწე/მლ	მაცივარში შენახვის ხანგრძლივობა	lg კწე/მლ
	ვარიანტი 3		ვარიანტი 3
ინოკულანტი	9.0±0.1	4 დღე	8.8±0.2
ჩათესვის მომენტში	8.2±0.2	7 დღე	8.9±0.2
24 სთ	8.6±0.2	14 დღე	10.9±0.1
48 სთ	8.7±0.2	21 დღე	10.4±0.1
96 სთ	8.8±0.2	28 დღე	8.7±0.2
-	-	5 კვირა	9.0±0.1
-	-	6 კვირა	9.0±0.1
-	-	7 კვირა	9.0±0.1
-	-	8 კვირა	9.2±0.1
-	-	9 კვირა	8.2±0.1
-	-	10 კვირა	7.7±0.2

შენიშვნა: ,,-„ მიუთითებს, ფერმენტაცია 96 სთ-ის შემდეგ არ ჩატარებულა



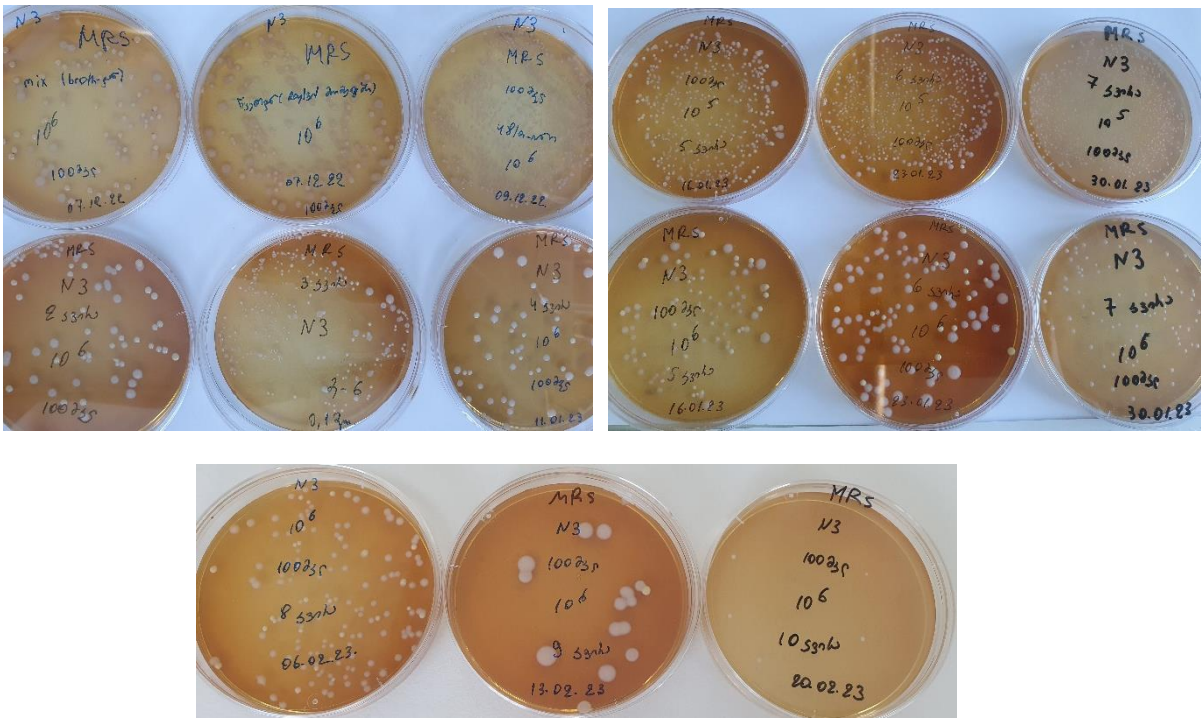
გრაფიკი 11. ბაქტერიული კონსორციუმის ცვლილება ფერმენტაციის პროცესში

თერმოსტატში 37 °C-ზე 96 საათიანი ფერმენტაციის შემდეგ, ვაშლის წვენის ნიმუში მოთავსდა სამაცივრე პირობებში 4 °C-ზე შედეგები მოცემულია ცხრილში 21, გრაფიკი 12-ზე).



გრაფიკი 12. ბაქტერიული კონსორციუმის რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში სამაცივრე პირობებში შენახვის დროს

ბაქტერიული კონსორციუმის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობამ 8.8±0.2 lg კწე/მლ-დან სამაცივრე პირობებში, 14 დღიანი შენახვის შემდეგ მიაღწია მაქსიმალურს, 10.9±0.1 lg კწე/მლ-ს, ხოლო მე-10 კვირას - 7.7±0.2 lg კწე/მლ-ს.



სურ. 11. საპილოტე ცდის ფარგლებში ბაქტერიული კონსორციუმის ცვლილება ფერმენტაციისას და სამაცივრე პირობებში

აღსანიშნავია, რომ 53 ±2 °C-მდე გაცხელებული წვენის pH 3.65±0.02-დან გაიზარდა 3.87±0.01-მდე. სამაცივრე პირობებში შენახვიდან მე-5 კვირას pH 3.63±0.01-ს, ხოლო მე-10 კვირას 3.56±0.01-ს შეადგენდა; წვენის გაცხელებამ გავლენა მოახდინა ასევე ჯამური ფენოლების შემცველობაზე, 194.4±9.7 მგ GAE /ლ-დან მოიმატა 297.9±14.9 მგ GAE /ლ-მდე, 10 კვირის განმავლობაში შენახულ ვაშლის წვენში კი ამ მაჩვენებელმა უმნიშვნელოდ დაიკლო 296.9±14.85 მგ GAE /ლ-მდე. ხოლო ანტიოქსიდანტური აქტივობა წვენის გაცხელების დროს 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-დან 120.1±6.0 მგ AAE /ლ-მდე შემცირდა, მაცივარში შენახვიდან მე-10 კვირას კი გაიზარდა 165.6±8.3 მგ AAE /ლ-მდე.

4.8 სენსორული ანალიზი, მომხმარებელთა მიერ ფერმენტირებული წვენის მიმღებლობის დადგენა

სენსორული ანალიზი ჩაუტარდათ როგორც ცალკეული შტამებით, ისე კონსორციუმით ფერმენტირებულ წვენებს. *Lpb. plantarum* 52-ით ფერმენტირებულ წვენს ჰქონდა ვაშლის წვენისთვის დამახასიათებელი ფერი, ვაშლის ფაფას მსგავსი არომატი, ოდნავ მოტკბო გემო. *Lpb. plantarum* 74-ით დამზადებული წვენი იყო ოდნავ მღვრიე, სასიამოვნო სუნით, კომშის არომატის კვალით, იყო სასიამოვნო დასალევი.

ხოლო *Lpb. plantarum* 76-ის ფერმენტირებული წვენი იყო შედარებით მღვრიე, ლიმონისფერი, მრავალფეროვანი გემოებით არ ხასიათდებოდა, ჰქონდა ოდნავ მომჟავო გემო, თუმცა ესეც სასიამოვნო იყო დასალევად. რაც შეეხება შტამების კონსორციუმით დამზადებულ წვენს, რომელსაც 11 დღის განმავლობაში ჩაუტარდა ფერმენტაცია თერმოსტატში და შემდეგ 21 დღით იქნა შენახული მაცივარში, ჰქონდა მკვეთრად გამოხატული მჟავე გემო და იყო უსიამოვნო დასალევი (ნიმუში N1).

თერმოსტატში 4 დღიანი ფერმენტაციის შემდეგ 12 კვირის განმავლობაში მაცივარში მოთავსებული წვენი (ნიმუში N2) ხასიათდებოდა ოდნავ მჟავე გემოთი თუმცა სასიამოვნო დასალევი იყო. თერმულად დამუშავებული (53 ±2 °C) და 10 კვირით შენახული ვაშლის წვენი (ნიმუში N3) ასევე ხასიათდებოდა სასიამოვნო გემოთი.

სურ.12. ვაშლის წვენის ფერის ცვლილება ფერმენტაციისას

ფერმენტირებული წვენის ნიმუშები შეფასებულ იქნა ლაბორატორიის თანამშრომლების მიერ მოწონების მიხედვით (ფერი, გემო, არომატი). მოწონების დონის აღსანიშნავად გამოყენებული იყო ცხრაბალიანი ჰედონური შკალა, რომელიც მერყეობდა არ მომწონს უკიდურესად მოწონებამდე (სურათი 13).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ნიმუშის დახასიათება	უკიდურესად არ მომწონს	ძალიან არ მომწონს	საშუალოდ არ მომწონს	ოდნავ არ მომწონს	არც არ მომწონს და არც მომწონს	ოდნავ მომწონს	საშუალოდ მომწონს	ძალიან მომწონს	უკიდურესად მომწონს
საერთო ჯამში მიმღებლობა									
ფერი									
არომატი									
სიტკბო									
სიმჟავე									
ვაშლის არომატი									
კომენტარი									

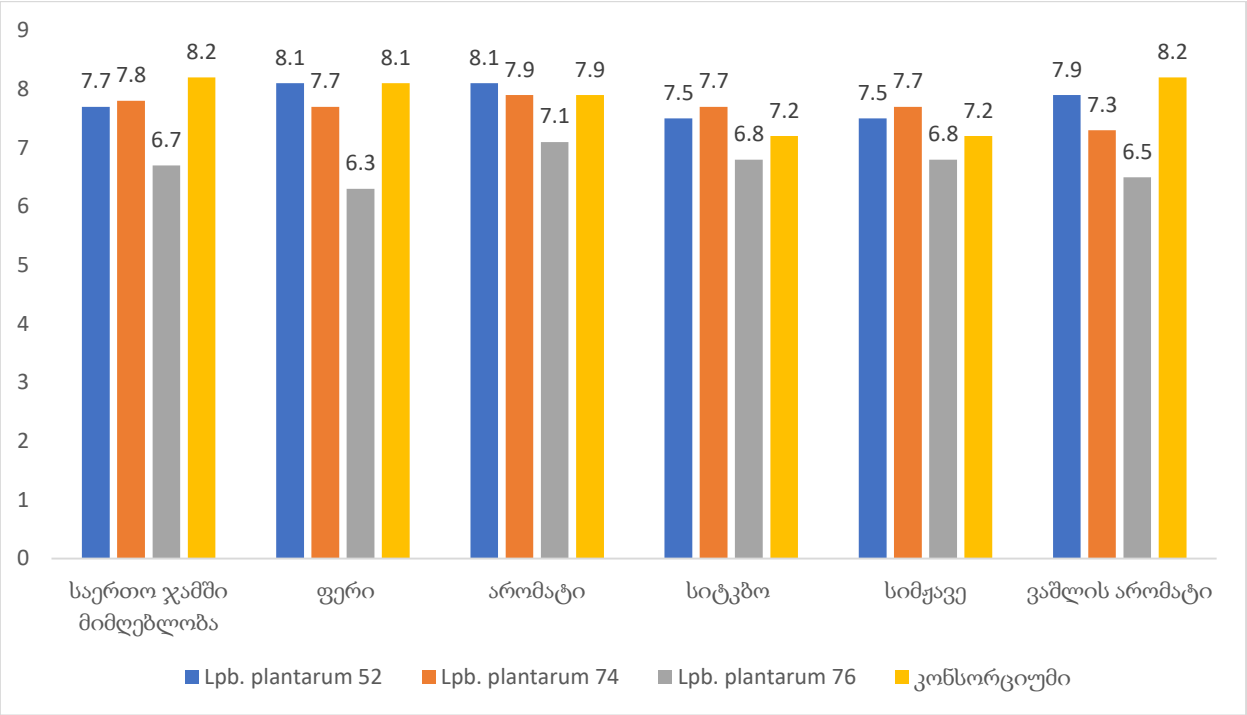
სურ. 13. ცხრაბალიანი ჰედონური შკალას შაბლონი

თითოეული შეფასებული კატეგორიის მოწონების საშუალო ქულები მოცემულია ცხრილ 22-ში. როგორც ცხრილიდან ჩანს, შემფასებელების მიერ, შედარებით დაბალი ქულა აქვს მინიჭებული *Lpb. plantarum* 76-ით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენს.

ცხრილი 22

ვაშლის წვენის სენსორული შეფასება სხვადასხვა კრიტერიუმის მიხედვით

ნიმუშის შეფასების კრიტერიუმი	*Lpb. plantarum* 52	*Lpb. plantarum* 74	*Lpb. plantarum* 76	კონსორციუმი
მიმღებლობა ყველა კრიტერიუმის მიხედვით	7.7	7.8	6.7	8.2
ფერი	8.1	7.7	6.3	8.1
არომატი	8.1	7.9	7.1	7.9
სიტკბო	7.5	7.7	6.8	7.2
სიმჟავე	7.5	7.7	6.8	7.2
ვაშლის არომატი	7.9	7.3	6.5	8.2



გრაფიკი 13. მომხარებელთა მიერ ფერმენტირებული ვაშლის წვენის მოწონების მაჩვენებლების საშუალო მონაცემები. შეფასება 9-ბალიანი ჰედონური შკალით, 1-ძალიან არ მომწონს - 9-ძალიან მომწონს.

შეფასებისას, როგორც ინდივიდუალური შტამებით, ისე კონსორციუმით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენს ჰქონდა სასიამოვნო არომატი და სიმჟავე. საერთო ჯამში უპირატესობა მიენიჭა კონსორციუმით დამზადებულ წვენს.

5. შედეგების განხილვა

მოცემული კვლევის ფარგლებში, საქართველოს რეგიონებიდან შეგროვდა ვაშლის სხვადასხვა ჯიშების ნაყოფები, საიდანაც ჩვენ მიერ პირველად საქართველოში განხორციელდა რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა ფერმენტირებული ვაშლის წვენის მიღების მიზნით.

როგორც ცნობილია, ხილი და ბოსტნეული წარმოადგენს ლაქტობაცილების მდიდარ წყაროს (*L. plantarum, L. brevis, Lactiplantibacillus pentosus, L. fermentum, Lacticaseibacillus casei, Lacticaseibacillus paracasei*,) (Khubber et al 2022). Fessard et al. (2019)-ის მიერ ჩატარებული კვლევის მიხედვით, ხილისა და ბოსტნეულიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების 77 იზოლატიდან სამი მიეკუთვნებოდა *Lactobacillus plantarum*-ს, რომლებიც გამოყენებული ჰქონდა ბოსტნეულის წვენის დასამზადებლად. Di Cagno (2013)-ის მიერ შემოთავაზებული იქნა ხილისა და ბოსტნეულის ავტოქტონურ მიკრობიოტის შესწავლა და სტარტერული კულტურებად *Lactobacillus plantarum*-ის გამოყენება. დიდი ალბათობით, ეს შტამები უზრუნველყოფს პროდუქტის შენახვის ვადის გახანგრძლივებას სასურველი კვების და სენსორული მახასიათებლების შენარჩუნების გზით.

მიმდინარე კვლევაში რძემჟავა ბაქტერიები გამოყოფილ იქნა ეკო-ბიომრავალფეროვანი საქართველოს ორი განსხვავებული ნიადაგურ-კლიმატური ზონის მქონე - დასავლეთ და აღმოსავლეთ საქართველოს რეგიონებში შეგროვებული ვაშლის ნიმუშებიდან (ცხრილი 1). გამოყოფილი იზოლატების სრულ კოლექციაზე ჩატარდა პირველადი სკრინინგი რძემჟავა ბაქტერიების მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებების მიხედვით. შესწავლილ იქნა ბაქტერიების პრობიოტიკური მახასიათებლები, კერძოდ, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა დაბალ pH-ზე, ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობაზე, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობაზე და ანტიმიკრობულ აქტივობაზე. ამ მაჩვენებლებზე დაყრდნობით შეირჩა პოტენციური შტამები. ჩვენ მიერ შესწავლილი 120 იზოლატიდან, ოთხმა შტამმა აჩვენა კარგი ბიოქიმიური და პრობიოტიკური თვისებები (*Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 53, *Lpb. plantarum* 74 და *Lpb. plantarum* 76). ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის უნარის დადგენისას, მათ განახორციელეს ყველა შესწავლილი შაქრის

(არაბინოზა, ქსილოზა, გალაქტოზა, გლუკოზა, ფრუქტოზა, რამნოზა, სორბიტოლი, ლაქტოზა, მალტოზა, ცელობიოზა, საქაროზა) მეტაბოლიზმი. მსგავსი სურათი იქნა მიღებული სხვა მეცნიერების მიერ *L. plantarum*-ზე ჩატარებულ სამუშაოებშიც (Agbankpe et al., 2019; Narimani et al., 2022). აღსანიშნავია, რომ ჩვენ მიერ შერჩეული ბაქტერიული კულტურების სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდის შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ MRS ბულიონში ზოგიერთი იზოლატი არ იზრდებოდა 4° C-ზე, რაც ესადაგება Silva et al., (2018)-ის მიერ ჩატარებულ კვლევის შედეგებს.

ცნობილია, რომ სასარგებლო ბაქტერიები უნდა ხასიათდებოდნენ წინააღმდეგობის გაწევის უნარით სხვადასხვა გარემო ფაქტორების მიმართ - წარმოების ეტაპების დროს (ტექნოლოგიური) და საჭმლის მონელების პროცესში (Gaucher et al., 2019). ორგანიზმში არსებული პირობებიდან ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ბარიერს მათთვის წარმოადგენს კუჭში არსებული მჟავა გარემო (Guan et al., 2020). Haghshenas et al., (2015)-ის მიერ ჩატარებული კვლევის მიხედვით, ცხვრის რძის პროდუქტებისგან გამოყოფილმა *Lactobacillus*-ის სხვადასხვა შტამმა აჩვენა დაბალი pH-ის და ნაღვლის მარილების მაღალი კონცენტრაციისადმი რეზისტენტობა, ასევე ზოგიერთი ანტიბიოტიკის მიმართ მგრძნობელობა. დისერტაციის ფარგლებში ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ შერჩეული თითოეული LAB იზოლატი მდგრადია pH 2.0-ის მიმართ; ნაღვლის მარილების ყველა შერჩეული კონცენტრაციისადმი (0.3%; 0.5%; 1% და 1.5%) მხოლოდ *Lpb. plantarum* 52 აღმოჩნდა ტოლერანტული. ანტიბიოტიკების მიმართ დამოკიდებულების შესწავლისას დადგინდა, რომ ჩვენ მიერ შერჩეული ოთხივე შტამი (*Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 53, *Lpb. plantarum* 74 და *Lpb. plantarum* 76) რეზისტენტული იყო ციპროფლოქსაცინის და სტრეპტომიცინის მიმართ; *Lpb. plantarum* 76 გამოირჩეოდა რეზისტენტობით ოქსიტეტრაციკლინისადმი; ოთხივე შტამმა აჩვენა მგრძნობელობა ტეტრაციკლინისა და ერითრომიცინის შემთხვევაში; დისერტაციის ფარგლებში ჩატარებული კვლევის შედეგების მსგავსი სურათი იქნა მიღებული Prete et al., (2020)-ის მიერ. კერძოდ, სხვადასხვა ფერმენტირებული საკვებისგან მიღებული *plantarum*-ის იზოლატები გამოირჩეოდნენ მგრძნობელობით ერითრომიცინის, ტეტრაციკლინისა და რიფამპიცინისადმი. ყველა გამოკვლეულმა იზოლანტმა აჩვენა რეზისტენტობა ციპროფლოქსაცინის მიმართ; იზოლატების ზრდა

ვერ შეაფერხა სტრეპტომიცინმაც. იზოლატების უმრავლესობა მდგრადი აღმოჩნდა ასევე გენტამიცინის მიმართ (Prete et al., 2020).

პრობიოტიკური ბაქტერიებისთვის ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი თვისებაა მათი ანტიმიკრობული მოქმედება პათოგენური მიკროორგანიზმების სხვადასხვა სახეობის მიმართ. *Lactobacillus plantarum* ითვლება ერთ-ერთ პრობიოტიკურ ბაქტერიად აღნიშნული უნარის ფართო სპექტრით, რაც ხაზს უსვამს მის სარგებლიანობას ვეტერინარიის, ადამიანის მედიცინისა და სურსათის წარმოების მიმართულებით. რიგი კვლევების მიხედვით, *Lactobacillus plantarum* ახორციელებს მაინჰიბირებელ მოქმედებას ბევრი გრამდადებითი და გრამუარყოფითი ბაქტერიის წინააღმდეგ - *Escherichia coli* (მათ შორის *E. coli* 0157:H7), *Pseudomonas aeruginosa, Helicobacter pylori, Yersinia enterocolitica, Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Klebsiella, Salmonella, Shigella, Bacillus, Clostridium* და სხვ (Dinev et al., 2018). *L. plantarum*-ის სასარგებლო ეფექტებს შორის, ერთ-ერთი ყველაზე შესწავლილი და სასურველი პრობიოტიკური თვისებაა მათი ანტიმიკრობული პოტენციალი და ანტაგონისტური აქტივობა ზოგიერთი არასასურველი მიკროორგანიზმის მიმართ, ასევე, სოკოს საწინააღმდეგო მოქმედება და ანტივირუსული ეფექტი (Al-Tawaha et al., 2018). ნაჩვენებია, რომ *L. plantarum* სახეობებს აქვთ ანტიბაქტერიული მოქმედება საკვების გამაფუჭებელი მიკრობების (ბაქტერიები, საფუარა და ობის სოკოები) და ენტეროპათოგენური ბაქტერიების ფართო სპექტრის წინააღმდეგ (Dinev et al., 2018). დადასტურებულია, რომ *L. plantarum* შეუძლია დათრგუნოს პათოგენური ბაქტერიების ფართო სპექტრი, მათ შორის, ყველაზე მავნე ბაქტერიები *Staphylococcus aureus* და *Escherichia coli*; რის გამოც ისინი განიხილებიან ანტიბიოტიკების პერსპექტიულ ალტერნატივად (Kumar et al., 2016). აღმოჩნდა, რომ *L. plantarum* ZDY 2013 კონკურენციას უწევს და აინჰიბირებს *Bacillus cereus*-ის შტამებს, კარგად ცნობილ ენტეროტოქსიკურ და პათოგენურ სახეობებს; ასევე ეფექტურია *Helyicobacter pylori*-ით გამოწვეული ინფექციის და მასთან დაკავშირებული კუჭის ლორწოვანის ანთების პროფილაქტიკისთვის (McNicholl et al., 2018). *L. plantarum*-ის სახეობები გამოიკვლიეს პოტენციურ ანტიმიკრობულ თვისებებზე ადამიანის კანის პათოგენების, მაგ., *Pseudomonas aeruginosa*-ს მიმართ, რათა პოტენციურად გამოიყენონ ზოგიერთი შტამი, როგორც ბიოკონტროლის აგენტი

ჭრილობის ინფექციების შემთხვევაში (Onbas et al., 2019). ამიტომ, *L. plantarum*-ის რამდენიმე შტამი განიხილება, როგორც პერსპექტიული პოტენციური პრობიოტიკი, რომლებიც ალტერნატივის სახით შეიძლება გამოყენებულ იქნეს კვების მრეწველობაში და მედიცინაში როგორც ბიოკონსერვანტები. ბოლო კვლევებმა გამოავლინა საკვებთან ასოცირებული *L. plantarum*-ის შტამები, რომელთაც აქვთ როგორც გრამდადებითი, ასევე გრამუარყოფითი ბაქტერიების (*Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Enterococcus, Bacillus, Clostridium, Pseudomonas aeruginosa, Helicobacter pylori, Yersinia enterocolitica, Campylobacterellabs, E. coli* 0157:H7) ინჰიბირების უნარი; კარგი ფუნგიციდური აქტივობა ასევე ნაჩვენებია სხვადასხვა საფუარა და ობის სოკოების სახეობების, მათ შორის, *Aspergillus*-ის, *Candida* spp.-ს და *Fusarium*-ის მიმართ (Al-Tawaha et al., 2018).

ანტიმიკრობული მოქმედების მიხედვით, ჩვენ მიერ მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ვაშლის *Lpb. plantarum* 52 ჰქონდა ინჰიბიტორული აქტივობა *Salmonella enterica* ATCC 14028-ს წინააღმდეგ; მხოლოდ *Lpb. plantarum* 76-მა მოახერხა *Proteus mirabilis* ATCC 12453-ისა და *Shigella flexneri* ATCC 12022-ის ზრდა დაეთრგუნა; *Lpb. plantarum* 76 საშუალო აქტივობით გამოირჩეოდა ასევე *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833, *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059 და *Escherichia coli* ATCC 25922-ს მიმართ.

პრობიოტიკურ თვისებებზე დაყრდნობით რძემჟავა ბაქტერიების შერჩევის შემდეგ მნიშვნელოვანი ეტაპია მათი სისოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება წარმოების პროცესში. ბაქტერიების რაოდენობრივი ცვლილების ანალიზი მნიშვნელოვანი პარამეტრია დუღილის პროცესის შეფასებისას (Janiszewska-Turak et al., 2022). აღსანიშნავია, რომ LAB-ის მიერ განხორციელებულ დუღილს დადებითი გავლენა აქვს ხილის წვენებზე, რაც დამოკიდებულია არამარტო სუბსტრატის ქიმიურ შედგენილობაზე, ასევე გამოყენებულ შტამზე და დუღილისა და შენახვის პირობებზე (დრო, ტემპერატურა და ა.შ.) (Plessas et al., 2021). სხვადასხვა მეცნიერის მიერ განხორციელებული ფერმენტაციის ხანგრძლივობა LAB იზოლატების გამოყენებით 24 სთ-დან - 288 საათამდე გრძელდება (Yeong et al., 2020; Macedo et al., 2020). ფერმენტაციის პროცესში მოსალოდნელია ინოკულირებული პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების პოპულაციის ზრდა, ხოლო მაცივრის პირობებში შენახვისას, ჩვეულებრივ, შეინიშნება მათი რაოდენობის შემცირება. აქედან გამომდინარე, წვენში

პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების საწყისი ინოკულუმის შეტანა ხდება 7 და 8 lg კწე/მლ-ის ოდენობით, ან უფრო მაღალი ოდენობით, 10 lg კწე/მლ-მდე, რათა გარანტირებული იყოს ჯანმრთელობისთვის სასარგებლო პრობიოტიკების მინიმალური რეკომენდებული დოზით მიღება (6–7 lg კწე/მლ) (Valero-Cases et al., 2020; Palencia-Argel et al., 2022). წინამდებარე კვლევაშიც დროის განსხვავებული პერიოდი იქნა გამოყენებული ვაშლის წვენის ფერმენტაციისთვის. კწე/მლ-ის ყველაზე კარგი მაჩვენებელი აღინიშნა 96 სთ-იანი ფერმენტაციის შემდეგ - 8.6±0.2 lg კწე/მლ, სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა 264 სთ განმავლობაში შენარჩუნდა 8.0 lg კწე/მლ (ცხრილი 19), ხოლო 288 სთ-იანი ფერმენტაციის შემდეგ - 7.0 lg კწე/მლ დონეზე (ცხრილი 10). ჩვენი შედეგების მსგავსი სურათი იქნა მიღებული, Li et al., (2019)-ის მიერ ჩატარებული კვლევით, დუღილის პირველი 24 საათის განმავლობაში *L. plantarum*-ის უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა გაიზარდა საკვები ნივთიერებების ადეკვატური შემცველობისა და ზრდის შესაფერისი პირობების გამო, ხოლო შემდეგ მათი ზრდა ეტაპობრივად შენელდა. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის შემცირების ერთ-ერთი მიზეზი შეიძლება იყოს MRS ბულიონში არსებულ პირობებთან ადაპტირებული ბაქტერიებისათვის ვაშლის წვენის განსხვავებული pH. შედარებით მჟავა გარემო შესაძლოა სტრესული აღმოჩნდეს კულტურებისთვის, რაც იწვევს მიკრობების ზრდის შეფერხებას (Mousavi et al., 2013).

მიუხედავად იმისა, რომ ზოგიერთი პრობიოტიკური LAB-ის შტამები განიხილება მჟავა-ტოლერანტულად, მათი სიცოცხლისუნარიანობის დაქვეითება გარდაუვალია ფერმენტირებული ხილის წვენების ცივი შენახვისას 3 კვირაზე მეტი ხნის განმავლობაში. აქ მნიშვნელოვანი საკითხია მათი რაოდენობის კლების სიჩქარე (Mantzourani et al., 2019). ჩვენ მიერ ხანგრძლივად ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში (264 სთ), რომელშიც უჯრედების საწყისი რაოდენობა სამაცივრე პირობებში (4 °C) განთავსებისას შეადგენდა 8.0±0.1 lg კწე/მლ-ს, მე-14 დღეს წვენში უჯრედების რაოდენობა შემცირდა 6.0±0.1 lg კწე/მლ-მდე, ხოლო 21-დღეს - 3.9±0.1 lg კწე/მლ-მდე. 96 სთ-იანი ფერმენტაციის შემთხვევაში (მე-2 და მე-3 ვარიანტები), სადაც სამაცივრე პირობებში მოთავსებისას სიცოცხლიუნარიანი უჯრედების რაოდენობა შეადგენდა 8.8±0.2 lg კწე/მლ-ს, 28 დღეს მეორე ვარიანტში აღმოჩნდა 9.0±0.1 lg კწე/მლ, ხოლო მესამე ვარიანტის წვენებში - 8.7±0.2 lg კწე/მლ; საბოლოოდ, მეორე ვარიანტის წვენში,

უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა შენარჩუნდა 12 კვირის განმავლობაში (8.6±0.2 lg კწე/მლ), ხოლო მესამე ვარიანტში - 10 კვირა (7.7±0.2 lg კწე/მლ). ამ ორ ვარიანტს შორის კწე/მლ რაოდენობაში განსხვავება შეიძლება ამ უკანასკნელის შედარებით მაღალ ტემპერატურაზე გაცხელებულ წვენში შეტანით იყოს განპირობებული. ჩვენ მიერ მიღებული შედეგებში უკეთესი სურათი მივიღეთ სხვა მეცნიერებთან შედარებით, სადაც ფერმენტირებულ წვენში 28 დღის განმავლობაში ცივი შენახვის შემდეგ (4 °C) პრობიოტიკური LAB-ის რაოდენობამ შეადგინა 6 lg კწე/მლ. პრობიოტიკური *L. plantarum* ATCC 14917 უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა ალუბლის წვენში შემცირდა დაახლოებით 4-ჯერ 28 დღიანი ცივი შენახვის შემდეგ (Mantzourani et al., 2019).

პრობიოტიკების სიცოცხლისუნარიანობის ერთ-ერთ ყველაზე შემზღუდველ ფაქტორად pH გვევლინება (Peng et al., 2021). წინამდებარე კვლევაში, 264 საათიანი (11 დღე) დუღილის მსველობისას ვაშლის წვენის pH 3.65±0.02-დან კონსორციუმის გავლენით ეტაპობრივად ჯერ 3.43±0.01-მდე, ხოლო მაცივარში შენახვიდან მე-3 კვირას კი 3.31±0.01-მდე შემცირდა; pH ცვლილება აისახა ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობაზეც, 4 °C-ზე შენახვიდან მე-2 კვირას 8.0±0.1 lg კწე/მლ-დან დაეცა 6.0±0.1 lg კწე/მლ-მდე, ხოლო მე-3 კვირას 3.9±0.1 lg კწე/მლ-მდე შემცირდა; მსგავსი ცვლილება აჩვენა Li et al (2018)-ის კვლევამ; ამ შემთხვევაში ვაშლის წვენის pH დაეცა 6.2-დან 3.68-მდე 72 საათის დუღილის შემდეგ. LAB შტამებს აქვთ განსხვავებული დუღილისა და ადაპტაციის უნარი ვაშლის წვენში, მათ შეიძლება დასჭირდეთ დროის განსხვავებული ხანგრძლივობა დუღილის ბოლოს pH-ის შესამცირებლად: *L. casei*-ს და *L. rhamnosus*-ს - 65 საათი, ხოლო *L. plantarum*-სა და *L. acidophilus*-ს - 80 სთ. pH-ის ცვლილება ყველა ნიმუშში დაიწყო უმნიშვნელო შემცირებით 10-30 საათის განმავლობაში, რასაც მოჰყვა სწრაფი კლება 30-დან 60 საათამდე (Chen et al., 2019).

ზოგადად, რთულია პრობიოტიკების უჯრედული სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება არარძის მატრიცებში, რადგან პრობიოტიკების უმეტესობა იზოლირებულია რძის წყაროებიდან და, შესაბამისად, ამ შტამებს არ გააჩნიათ ხელსაყრელი პირობები მათი პრობიოტიკური სიცოცხლისუნარიანობის შესანარჩუნებლად. მცენარეთა მატრიცებში პრობიოტიკების გადარჩენას აფერხებს ის ფაქტი, რომ ისინი განიცდიან pH-ის და საკვები ნივთიერებების მნიშვნელოვან

შემცირებას, რძემჟავას დაგროვებას და, შესაბამისად, ძნელია მიაღწიოს სასურველ საბოლოო კონცენტრაციას (Lillo-Pérez et al., 2021). თუმცა, წინამდებარე კვლევამ აჩვენა, რომ შესაძლებელია სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება 10^7 კწე/მლ ოდენობით, რაც ვაშლის წვენებს აქცევს რძის მატრიცების ალტერნატიულ პრობიოტიკურ პროდუქტად. ბაქტერიული კონსორციუმის მაღალი გადარჩენადობა შეიძლება განპირობებული იყოს იმ ფაქტით, რომ ავტოქტონური შტამები ვაშლის წვენში არსებულ გარემოსთან ადაპტირებულნი არიან.

ვაშლის წვენის დუღილზე გავლენას ახდენს ასევე მისი ქიმიური შემადგენლობა, ძირითადად სამი ნაერთი: შაქარი, მჟავები და პოლიფენოლები. ზოგიერთი ორგანული მჟავა და ფენოლური ნაერთები უარყოფითად მოქმედებს პრობიოტიკების სიცოცხლისუნარიანობაზე (Lillo-Pérez et al., 2021), მათ შორის ვაშლის წვენში არსებული შაქრების ფერმენტაციის შედეგად წარმოქმნილი რძემჟავა ხელს უწყობს საფერმენტაციო არის pH-ის კლებას, რაც შესაძლოა გახდეს მიკრობების რაოდენობის შემცირების მიზეზი. გასათვალისწინებელია ასევე შაქრის შემადგენლობა და კონცენტრაციაც კი (Al Daccache et al., 2020). წინამდებარე კვლევაში, შაქრების ანალიზი ჩატარდა ორი მეთოდით მიღებულ ვაშლის წვენზე, ასევე სტარტერული კულტურების შეტანა განხორციელდა სხვადასხვა კონცენტრაციით (2% და 5%), რაც ეყრდნობოდა სამეცნიერო მონაცემებს (Li et al., 2019). ხელმისაწვდომი ხილის სასმელების დიდი ნაწილი არ არის ნატურალური და შეიძლება შეიცავდეს უამრავ ტოქსიკურ და მომწამვლელ ნივთიერებას, რომლებიც საზიანოა მომხმარებლების ჯანმრთელობისთვის (Abdulla et al., 2022). ჩვენი კვლევის მსგავსად, Abdulla et al., (2022)-მა შეისწავლა სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრები (მათ შორის შაქრის და ორგანულ მჟავების შემცველობა) ორი ტიპის სასმელში, ნატურალური მეთოდით დამზადებულ და კომერციული გზით მიღებულ ფორთოხლის წვენში. შაქრის შემცველობა დაფიქსირდა 2.118-5.278, 2.641-4.317 და 2.563-4.184 გ/100 მლ დიაპაზონში გლუკოზის, ფრუქტოზისა და საქაროზის ინდივიდუალურად. ორგანულ მჟავებს (ასკორბინის, ძმარმჟავას და ლიმონმჟავას) ჰქონდათ კონცენტრაციები 25,170-43,981, 1,307-5,760 და 311-411,33 მგ/100 მლ ცალ-ცალკე, რაც ნიშნავს, რომ კომერციული პროდუქტები შეიცავს უფრო მეტ შაქარს, ვიდრე ბუნებრივი გზით მიღებული ნიმუშები (Abdulla et al., 2021). მსგავსი ექსპერიმენტი იქნა ჩატარებული ბროწეულის

მელასის კომერციულ და სახლში გაკეთებულ ნიმუშებში, თუმცა ამ შემთხვევაში სხვა პარამეტრებიც იქნა შესწავლილი, მათ შორის, ჯამური ფენოლური შემცველობა და ანტიოქსიდანტური აქტივობა. სახლში მომზადებულ ნიმუშებს აღმოაჩნდა უფრო მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა, ვიდრე კომერციულ ნიმუშებს (Dargham et al., 2022). სხვადასხვა ბაქტერიული შტამი შაქრების ფერმენტაციას აწარმოებს განსხვავებულად. ზოგიერთი შტამის შემთხვევაში გლუკოზის გარდაქმნის მაჩვენებელი უფრო მაღალი იყო, ვიდრე ფრუქტოზისი (Mousavi et al., 2013), ზოგ შემთხვევაში კი პირიქით (Peng et al., 2021). ყველა შაქრის (საქაროზა, გლუკოზა, ფრუქტოზა) შემცველობა ასევე შემცირდა დუღილის შემდეგ, თუმცა მკაფიოდ ეს ცვლილება გამოიხატა ფრუქტოზის შემთხვევაში (Peng et al., 2021). მაშინ როდესაც ბროწეულის წვენში სხვადასხვა პარამეტრზე ბაქტერიული დუღილის ეფექტის შესწავლის შედეგად განსხვავებული სურათი იქნა მიღებული (Mousavi et al., 2013). შესაძლოა, შაქრების მიკრობული მეტაბოლიზმი შეზღუდულად წარიმართოს. რაც გულისხმობს, რომ ფრუქტოზა მხოლოდ ნაწილობრივ დაიშალოს, გლუკოზის კონცენტრაცია არ შეიცვალოს, ხოლო საქაროზა მნიშვნელოვნად შემცირდეს ყველა ფერმენტირებულ ნიმუშში (Ricci et al., 2019). ჩვენ მიერ ჩატარებული კვლევის მიხედვით, *Lpb. plantarum* 52 შტამის მოქმედებით საქაროზის ფერმენტაცია ფერმენტაციის მეორე დღეს უფრო აქტიურად წარიმართა, გლუკოზის და ფრუქტოზის ფერმენტაცია კი 24 სთ-ში უფრო ინტენსიურად მიმდინარეობდა, ხოლო *Lpb. plantarum* 76 ფრუქტოზის ფერმენტაცია მეორე დღეს იმატებს.

დუღილის დროს საბოლოო პროდუქტის არომატის ფორმირებას ხელს უწყობენ ასევე ფენოლური ნაერთებიც, რომლებიც წარმოადგენენ მცენარეულ მეორად მეტაბოლიტებს (Al Daccache et al., 2020). ვაშლის წვენში პოლიფენოლების კონცენტრაცია დამოკიდებულია ვაშლის ჯიშზე (Włodarska et al., 2017). ფენოლური ნაერთები ამდიდრებენ ფერმენტირებულ წვენს არომატით, ხელს უშლიან მიკროორგანიზმების მიერ მის გაფუჭებას და აკონტროლებენ ფერმენტაციის სიჩქარეს (Ye, Yue და Yuan 2014). ფენოლური ნაერთები წარმოადგენენ რთულ მოლეკულებს, რომლებიც დაკავშირებულია შაქართან ან ცილებთან. LAB შეუძლია პოლიფენოლების დაშლა უფრო მარტივ კომპონენტებად დეკარბოქსილირების, რედუქციის, დეესტერიფიკაციისა და დეგლიკოზილაციის რეაქციების გზით (Lee და Paik 2017).

მცენარეული საკვები პროდუქტების გადამუშავებამ და მათი შემდგომი შენახვის პირობებმა შესაძლოა დადებითი ან უარყოფითი გავლენა იქონიოს ნაერთების სტაბილურობაზე (Pérez-Lamela et al., 2021). შესაბამისად, ფერმენტაციის შედეგად და შენახვის დროს ჯამური ფენოლების რიცხვმა შეიძლება მოიმატოს ან დაიკლოს (Crespo et al., 2021). წინამდებარე კვლევაში, დუღილიდან 48 სთ-ის შემდეგ *Lpb. plantarum* 52, *Lpb. plantarum* 74, *Lpb. plantarum* 76-ით ფერმენტირებულ წვენში ჯამური ფენოლური ნაერთების კონცენტრაციამ 406.0± 20.3 მგ GAE/ლ-დან მოიმატა 479.6±24.0 მგ GAE/ლ, 443.4±22.2მგ GAE/ლ, 457.6±22.9 მგ GAE/ლ-მდე. მაცივარში შენახვიდან მე-12 კვირასაც გაიზარდა მისი შემცველობა კონსორციუმით ფერმენტირებულ ვაშლის წვენშიც. ჯამური ფენოლების კონცენტრაციის ზრდა ფერმენტაციის განმავლობაში დაფიქსირდა ასევე *L. paracasei* SP5-ის მეშვეობით წარმართული რძემჟავა დუღილის შედეგად (Bontsidis et al., 2021). ფერმენტაციის ადრეულ ეტაპებზე ზოგიერთი პოლიფენოლის კონცენტრაცია გაზრდა შეიძლება განპირობებული იყოს გლიკოზიდაზებით და ლიგნინის დამშლელი ფერმენტებით, რომლებიც ხელს უწყობენ უჯრედის კედელთან დაკავშირებული ფენოლური ნაერთების განთავისუფლებას. თუმცა, რძემჟავა დუღილი ყოველთვის არ ზრდის ყველა ფენოლურ ნაერთს. მაგ: ჰიდროქსიბენზოური და ჰიდროქსიცინამის მჟავების შემცველობა შეიძლება შემცირდეს. ეს შემცირება შეიძლება გამოწვეული იყოს ფენოლური ნაერთების დალექვით ან/და მათი ადსორბციით ცილებთან ან უჯრედებთან (Dulf et al., 2016). წინამდებარე კვლევა ითვალისწინებდა ასევე საწარმოო პირობებში დამზადებული წვენის ფერმენტაციას, კერძოდ 53 ±2 °C-მდე გაცხელებული წვენში რძემჟავა ბაქტერიების ინოკულანტის გავლენის შესწავლას. აღსანიშნავია, რომ თერმულმა დამუშავებამ შეიძლება გამოიწვიოს (პოლი)ფენოლური ნაერთების ზრდა (Călinoiu et al., 2019), რაც წინამდებარე სამუშაოშიც კარგად გამოჩნდა, ჯამური ფენოლების შემცველობამ 194.4±9.7 მგ GAE /ლ-დან გაცხელებისას მოიმატა 297.9±14.9 მგ GAE /ლ-მდე, მაცივარში 10 კვირიანი შენახვის შემდეგ კი უმნიშვნელოდ შემცირდა 296.9±14.85 მგ GAE /ლ-მდე. ფენოლების სტაბილური დონის შენარჩუნება შეიძლება გამოიწვიოს ფერმენტირებული წვენების pH-ის დაქვეითებამ (Ayed et al., 2020). აღსანიშნავია ასევე ის ფაქტიც, რომ გაცხელებული წვენის pH 3.65±0.2-დან გაიზარდა 3.87±0.1-მდე, რაც შეიძლება განპირობებული იყოს წვენში ორგანული მჟავების

დაკარგვით, რამაც გამოიწვია მჟავიანობის შემცირება და შესაბამისად გაზარდა ექსტრაქტის pH მნიშვნელობა (Igual et al., 2010).

ფენოლური ნაერთების ჯამური კონცენტრაციის მატებასთან ერთად, იზრდება ასევე LAB-ის მიერ ფერმენტირებული წვენების ანტიოქსიდანტური აქტივობა და ეს დაკავშირებულია მათ ქიმიურ სტრუქტურასთან; თუმცა, დამოკიდებულება არ არის ყოველთვის წრფივი. ანტიოქსიდანტური აქტივობის ზრდაზე დიდ გავლენას ახდენს ასევე სუბსტრატი და ინდივიდუალური შტამების სპეციფიკური თავისებურებები (Multari et al., 2020; Nguyen, 2019). იგი შეიძლება გაიზარდოს ჯამური ფენოლური ნაერთების შემცირების მიუხედავადაც (Ayed et al., 2020). ჩვენ მიერ ჩატარებულ კვლევაში, დუღილიდან მე-3 დღეს ფერმენტირებულ ვაშლის წვენში ორივე მაჩვენებელმა მოიმატა, თუმცა სამაცივრე პირობებში, შენახვიდან მე-12 კვირას ანტიოქსიდანტური აქტივობა 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-დან შემცირდა 118.5±5.9 მგ AAE /ლ-მდე.

ასკორბინის მჟავას რაოდენობის ცვლილება დაკავშირებულია წვენის pH-თან და შენახვის ტემპერატურასთან, რადგან მაღალ ტემპერატურას შეუძლია დააჩქაროს ჟანგვის სიჩქარე და გამოიწვიოს მისი რაოდენობრივი შემცირება; შენახვის ყველაზე დაბალი ტემპერატურა კი ჩვეულებრივ იძლევა C ვიტამინის საუკეთესოდ შენარჩუნების საშუალებას (Pérez-Lamela et al., 2021). მსგავსი სურათი მივიღეთ წინამდებარე სამუშაოშიც, წვენის 53 ±2 °C-მდე გაცხელების დროს ანტიოქსიდანტურმა აქტივობამ, ფენოლური ნაერთებისგან განსხვავებით, დაიკლო 139.9±6.9 მგ AAE /ლ-დან 120.1±6.0 მგ AAE /ლ-მდე, თუმცა წვენის მაცივარში შენახვიდან 10 კვირის შემდეგ ანტიოქსიდანტურმა აქტივობამ მოიმატა 165.6±8.3 მგ AAE /ლ-მდე.

ხილის წვენების შესწავლისას მნიშვნელოვანია საგემოვნო თვისებების გათვალისწინება. პრობიოტიკების ჩართვამ ხილის წვენის წარმოების პროცესში, შეიძლება გამოიწვიოს პროდუქტის გემოს, არომატის, ფერისა და ტექსტურის ცვლილება დუღილისა და შენახვის დროს და, შესაბამისად, შეცვალოს პროდუქტის მიმღებლობა (Parracho et al., 2007; Mitropoulou et al., 2013; Min et al., 2019). მაგალითად, ცნობილია, რომ ხილის წვენებში პრობიოტიკების დამატებამ შეიძლება გამოიწვიოს გაუფერულება, დალექვა, უსიამოვნო სუნი (განსაკუთრებით კეტონის ან ძმრის), ასევე ნეგატიური გემური თვისებები, როგორებიცაა მჟავე, მარილიანი, მწარე, რძის მსგავსი

გემო და სიტკბოს არარსებობა. ეს სენსორული ცვლილებები დამოკიდებულია ხილის ტიპზე, პრობიოტიკურ შტამზე, წვენის დამუშავების მეთოდზე, შენახვის ტემპერატურაზე და პრებიოტიკების გამოყენებაზე (Lebaka et al., 2018; Pinto et al., 2022). პრობიოტიკური პროდუქტის ადეკვატური სენსორული შეფასება აუცილებელია პროდუქტის წარმატებული ფორმულაციისთვის (Palencia-Argelet al., 2022). წინამდებარე კვლევაში, ბაქტერიული კონსორციუმით ვაშლის წვენის 96 სთ-იანი ფერმენტაციის შემდეგ, წვენის ნიმუში ხასიათდებოდა მოყვითალო შეფერილობის, ოდნავ გაღიავებული საწყის, კარამელის ფერთან შედარებით, ოდნავ მჟავე გემოთი, თუმცა წარმოადგენდა სასიამოვნო დასალევს. მაცივარში 12 კვირის განმავლობაში შენახულმა წვენმა ფერი შეინარჩუნა. ფერმენტირებული ვაშლის წვენის არომატში ნებისმიერი განსხვავება შეიძლება გამოწვეული იყოს ვაშლის ჯიშით და LAB-ის სხვადასხვა შტამით, რაც იწვევს ორგანული და აქროლადი ნაერთების სხვადასხვა კონცენტრაციით წარმოქმნას, შესაბამისად, განსხვავებული გემოების მიღებას (Guiné et al., 2021). *Lactobacillus casei*-ით ფერმენტირებული ვაშლის წვენი გამოირჩევა ნედლეულისთვის დამახასიათებელი არომატით, კარამელის შეფერილობით და ვაშლის ტიპური მჟავე გემოთი (Ellendersen et al., 2012).

6. დასკვნები და რეკომენდაციები

1. საქართველოში გავრცელებული ადგილობრივი და ინტროდუცირებული ვაშლის 160 ნიმუშიდან მიღებულ იქნა 120 ბაქტერიული იზოლატი სუფთა კულტურის სახით; კოლექცია ინახება საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში;

2. იზოლატების მორფოლოგიური (მიკროსკოპირება), ფიზიოლოგიური (ტემპერატურა, ზრდის ინტენსივობა), ბიოქიმიური (შაქრების ფერმენტაცია, კატალაზას ტესტი) და პრობიოტიკური თვისებების (დაბალ pH-ზე ზრდა, ნაღვლის მჟავების მიმართ ტოლერანტობა, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა, ანტიმიკრობული აქტივობა პათოგენური ბაქტერიების მიმართ) საფუძველზე შეირჩა სამი ჰომოფერმენტული პერსპექტიული პრობიოტიკური ბაქტერიული იზოლატი;

3. იზოლატები 16S rDNA სექვენირებით იდენტიფიცირებულია როგორც *Lactiplantibacillus plantarum*-ის სახეობა: *Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 74 *და Lactiplantibacillus plantarum* 76;

4. დადგინდა, სამივე შტამის ტოლერანტობა pH 2.0-ის მიმართ, *Lpb. plantarum* 52 მდგრადობა ნაღვლის მარილების ყველა შერჩეული კონცენტრაციისადმი (0.3%; 0.5%; 1% და 1.5%); სამივე შტამი რეზისტენტული იყო ციპროფლოქსაცინის და სტრეპტომიცინისადმი; *Lpb. plantarum* 74 ხასიათდებოდა რეზისტენტობით გენტამიცინის და ნეომიცინისადმი, *Lpb. plantarum* 76 - ოქსიტეტრაციკლინისადმი;

5. გამოვლენილია *Lpb. plantarum* 52-ის ინჰიბიტორული აქტივობა *Salmonella enterica* ATCC 14028-ს მიმართ; *Lpb. plantarum* 76-ის - *Proteus mirabilis* ATCC 12453-ს, *Shigella flexneri* ATCC 12022-ს, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833-ის, *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059 და *Escherichia coli* ATCC 25922-ის მიმართ.

6. ცალკეული შტამებით და კონსორციუმით (*Lactiplantibacillus plantarum* 52, *Lactiplantibacillus plantarum* 74 და *Lactiplantibacillus plantarum* 76) ვაშლის წვენის

ფერმენტაციის (ხანმოკლე 96 სთ და ხანგრძლივი 264 სთ) პირობებში შესწავლილ იქნა სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა, pH-ი, ტიტრული მჟავიანობა, ნარჩენი შაქრების რაოდენობა, ორგანული მჟავების კონცენტრაცია, ჯამური ფენოლების შემცველობა, ანტიოქსიდანტური აქტივობა. შეირჩა საუკეთესო შედეგი - კონსორციუმით ხანმოკლე ფერმენტაციის შედეგად მიღებული პრობიოტიკური ვაშლის წვენი; 12 კვირის განმავლობაში შენარჩუნებული სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა შეესაბამება 8.6±0.2 lg კწე/მლ; წვენში ფენოლური ნაერთების შემცველობა შეადგენს 304.0±15.2 მგ GAE /ლ და ანტიოქსიდანტური აქტივობა - 118.5±5.9 მგ AAE /ლ;

7. შემუშავდა ვაშლის წვენის დამზადების ტექნოლოგია საწარმოო პირობებში; 5% ინოკულანტით დამზადებული - 53 ±2 °C-მდე გაცხელებულ წვენში შეტანის მომენტში რძემჟავა ბაქტერიების საერთო რაოდენობა შეადგენდა 8.2±0.2 lg კწე/მლ-ს, მაცივარში შენახვიდან მე-10 კვირას - 7.7±0.2 lg კწე/მლ; განისაზღვრა წვენის შენახვის ვადა 10 კვირით;

8. მიღებული ფუნქციური წვენი შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას რძის ფერმენტირებული პროდუქტების ალტერნატიულ პრობიოტიკურ სასმელად ლაქტოზის აუტანლობის მქონე მომხმარებლებისთვის.

რეკომენდაციები

ფერმენტაციის პროცესი სასურველია ჩატარდეს 37 °C-ზე 96 საათის განმავლობაში, წვენში რძემჟავა ბაქტერიები 10^7-10^8 კწე/მლ ოდენობით უნდა იყოს ინოკულირებული, რათა პროდუქტში ფერმენტაციისა და სამაცივრე პირობებში შენახვის შემდეგ შენარჩუნდეს მიკროორგანიზმების ის რაოდენობა (10^7 კწე/მლ), რომელიც დადგენილია გასტროენტეროლოგიის მსოფლიო ორგანიზაციის მიერ (World Gastroenterology Organization).

საწარმოო პირობებში ტექნოლოგიური პროცესი ითვალისწინებს პასტერიზაციას, რის შემდეგაც 53 ±2 °C -მდე გაგრილებულ წვენში უნდა მოხდეს ინოკულანტის შეტანა.

წვენი ფერმენტაციის შემდეგ უნდა მოთავსდეს მაცივარში და მისი შენახვა შესაძლოა განხორციელდეს არაუმეტეს 10 კვირისა, რადგან ამ ხნის განმავლობაში ნარჩუნდება სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა, 10^7 დონეზე.

დისერტაციის ექსპერიმენტული მასალები გამოქვეყნებულია საერთაშორისო-სამეცნიერო ჟურნალებში:

Eteri Tkesheliadze, Nino Gagelidze, Tinatin Sadunishvili, Christian Herzig (2023): LACTOBACILLUS STRAINS FROM APPLE AND FERMENTED MILK AND THEIR PROBIOTIC PROPERTIES. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 12(6) e5776. https://doi.org/10.55251/jmbfs.5776

Eteri Tkesheliadze, Nino Gagelidze, Tinatin Sadunishvili, Christian Herzig (2022): Fermentation of apple juice using selected autochthonous lactic acid bacteria. *Ukrainian Food Journal*, 11(1). pp 52-63. https://doi.org/10.24263/2304-974x-2022-11-1-7

Eteri Tkesheliadze, Nino Gagelidze, Tinatin Sadunishvili, Christian Herzig (2021): Health promotional apple as an ideal substrate for probiotic beverages, *Annals of Agrarian Science*, 19, pp. 77–84.

დისერტაციის ექსპერიმენტული მასალები წარდგენილი იყო ადგილობრივ და საერთაშორისო კონფერენციებზე:

E. Tkesheliadze, N. Gagelidze, T. Sadunishvili. Poster Presentation: Apple and its microflora to obtain probiotic juices. Scientific Conference: MICROBES AND THEIR VIRUSES: ECOLOGY, DIVERSITY, APPLICATIONS. September 22-27, 2019, Tbilisi, Georgia.

E. Tkesheliadze, N. Gagelidze, T. Sadunishvili. Oral Presentation: APPLE JUICE FERMENTED BY A CONSORTIUM OF LACTIC ACID BACTERIA. 6-TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS. June 18-21, 2023, Tbilisi, Georgia.

ბიბლიოგრაფია

მაჭავარიანი, ი. *ბოსტნეული და ბაღჩეული კულტურების მეთესლეობა.* თბილისი, 1998.

რძისა და რძის ნაწარმის შესახებ ტექნიკური რეგლამენტი. საქართველოს მთავრობის დადგენილება №152. ქ. თბილისი, 2015, 5-21.

საქართველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახური (2021). სიღარიბის მაჩვენებლები და ჯინის კოეფიციენტები. საქართველო, თბილისი.

საქართველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახური (2022). სამუშაო ძალის მაჩვენებლები (დასაქმება და უმუშევრობა). საქართველო, თბილისი.

სურსათის ფორტიფიკაციის ტექნიკური რეგლამენტი. საქართველოს მთავრობის დადგენილება №63. ქ. თბილისი, 2014, გვ. 2.

ხომიზურაშვილი ნ. და სხვები, (1973), *საქართველოს მეხილეობა*, ტომი 3, გამომცემლობა 'მეცნიერება', თბილისი, გვ.137.

Abdulla SM, Mahmood AB, Mahmood SK, & Salh SKH (2021) A Comparative Study of the Physicochemical Properties and Sensory Evaluation of Commercial Orange Juice sold in the Sulaimani Market with Local Preparation of Orange Juice. *Tikrit journal for agricultural sciences*, 21(4), 146-158.

Agbankpe AJ, Dougnon TV, Balarabe R, Deguenon E, & Baba-Moussa L (2019) In vitro assessment of antibacterial activity from *Lactobacillus* spp. strains against virulent *Salmonella* species isolated from slaughter animals in Benin. *Veterinary World*, 12(12), 1951.

Aghdam MS, Hassanpouraghdam MB, Paliyath G, & Farmani B (2012) The language of calcium in postharvest life of fruits, vegetables and flowers. *Scientia Horticulturae*, 144, 102–115. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.07.007

Ahmadova E (2018) SUSTAINABLE DEVELOPMENT. GOALS, TARGETS and INDICATORS. AZERBAIJAN UNIVERSITY, 37.

Al Daccache M, Koubaa M, Maroun RG, Salameh D, Louka N, & Vorobiev E (2020) Impact of the physicochemical composition and microbial diversity in apple juice fermentation process: A Review. *Molecules*, 25(16), 3698.

Aleksidze G (2015) Agrobiodiversity of Georgia. edited by Keshelashvili O, Magradze D, Giorgadze A, Epitashvili T. Tbilisi: *Georgia Academy of Agricultural sciences Exhibition catalogue*. pp.61-65 https://www.gaas.dsl.ge/pdf/catalogue.pdf

Alshammari E, Patel M, Sachidanandan M, Kumar P, & Adnan M (2019) Potential evaluation and health fostering intrinsic traits of novel probiotic strain *Enterococcus durans F*3 isolated from the gut of fresh water fish Catla catla. *Food science of animal resources*, 39(5), 844.

Al-Tawaha R, Meng C. (2018) Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review. *Adv. Environ. Biol.* 12, 16–27.

Álvarez-Cisneros YM, & Ponce-Alquicira E. (2018) Antibiotic resistance in lactic acid bacteria. Antimicrobial resistance-a global threat. *Intech Open*. https://doi. org/10.5772/intechopen, 80624.

Amiranashvili LL, Gagelidze NA, Varsimashvili KI, Tinikashvili LM, Tolordava LL, Gamkrelidze MD, ... & Makaradze LA (2016) Antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance profiles of cultivable lactic acid bacteria from intestinal tract of domestic chickens collected in Adjara. *Annals of agrarian science*, 14(3), 182-186.

Anderson E, Koppel K, & Chambers IV E (2014) Consumer evaluation of processing variants of pomegranate juice, *Beverages*, 1(1), 3-16.

Arihara K, and Ohata M (2011) Functional meat products. In: *Functional Foods;* Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 512-33.

Aspri M, Papademas P, & Tsaltas D (2020) Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. *Fermentation*, 6(1), 30.

Ayed L, M'hir S, & Hamdi M (2020) Microbiological, biochemical, and functional aspects of fermented vegetable and fruit beverages, *Journal of Chemistry*, 2020, 1-12.

Barbosa J, Borges S, & Teixeira P (2015) *Pediococcus acidilactici* as a potential probiotic to be used food industry. *International Journal of Food Science & Technology*. 50:1151-1157. doi: 10.1111/ijfs.12768

Barrón-Álvarez N, Prado-Barragán L A, Fortis-Barrera MDL Á, & Alarcon-Aguilar FJ (2022) Fermentation of the Cucurbita ficifolia Fruit Juice: Its Antioxidant Activity and Effects on the Glycemia. *Beverages*, 8(3), 55.

Bars-Cortina D, Martínez-Bardají A, Macià A, Motilva MJ, Piñol-Felis C (2020) Consumption evaluation of one apple flesh a day in the initial phases prior to adenoma/adenocarcinoma in an azoxymethane rat colon carcinogenesis model. *J. Nutr. Biochem*. 83, 108418.

Bayless TM, Brown E, & Paige DM (2017) Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance. *Curr Gastroenterol Rep*. 19, 5:23. doi:10.1007/s11894-017-0558-9

Behera SS, Ray RC, Zdolec N (2018) *Lactobacillus Plantarum* with Functional Properties: An Approach to Increase Safety and Shelf-Life of Fermented Foods. *BioMed Res. Int*. 2018.

Behera SS, and Panda SK (2020) Ethnic and Industrial Probiotic Foods and Beverages: Efficacy and Acceptance. *Current Opinion in Food Science*, 33, 29-36. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.01.006

Belitz HD, Grosch W (2009) Food Chemistry Berlin Allemagne. *Springer*: Berlin, Germany. ISBN 9783540699330.

Benzie IFF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. 239(1), pp. 70–76, DOI: 10.1006/abio.1996.0292

Binda S, Hill C, Johansen E, Obis D, Pot B, Sanders ME, Tremblay A, Ouweh and AC (2020) Criteria to qualify microorganisms as "Probiotic" in foods and dietary supplements. *Front. Microbiol*. 11, 1662.

Biswal P, Pal A, Das AP (2021) Screening for Probiotic Potential of *Lactobacillus Rhamnosus* Strain CRD4. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 11 (3):10174 – 10184.

Boekhorst J, Wels M, Kleerebezem M, Siezen RJ (2006) The Predicted Secretome of *Lactobacillus Plantarum* WCFS1 Sheds Light on Interactions with Its Environment. *Microbiology*. 152, 3175–3183.

Bokulich N, Amiranashvili L, Chitchyan K, Ghazanchyan N, Gagelidze N, Sadunishvili T, et al (2015) Microbial biogeography of the transnational fermented milk Matsoni. *Food Microbiology*, 50, 12-19. https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.018

Bonatsou S, Tassou CC, Panagou EZ, Nychas GE (2017) Table olive fermentation using starter cultures with multifunctional potential. *Microorganisms*. 5, 30.

Bond TJ, Lewis JR, Davis A, Davis AP (2003) Methods of polyphenols analysis, In: Santos-Bulga C. Williamson G. eds., Analysis and Purification of Catechins and Their Transformation Products, *The Royal Society of Chemistry*.

Borgonovi TF, Virgolin LB, Janzantti NS, Casarotti SN, & Penna, ALB (2022) Fruit Bioactive Compounds: Effect on Lactic Acid Bacteria and on Intestinal Microbiota. *Food Research International*, 111809.

Bontsidis C, Mallouchos A, Terpou A, Nikolaou A, Batra G, Mantzourani I, Alexopoulos A, & Plessas S (2021) Microbiological and Chemical Properties of Chokeberry Juice Fermented by Novel Lactic Acid Bacteria with Potential Probiotic Properties during Fermentation at 4 °C for 4 Weeks, *Foods,* 10(4), 768. https://doi.org/10.3390/foods10040768

Bucka-Kolendo J, Soko\lowska B (2017) Lactic Acid Bacteria Stress Response to Preservation Processes in the Beverage and Juice Industry. *Acta Biochim. Pol*. 64, 459–464.

Călinoiu LF, & Vodnar DC (2019) Thermal processing for the release of phenolic compounds from wheat and oat bran, *Biomolecules*, 10(1), 21.

Carmona-Gutierrez D, Kainz K, Zimmermann A, Hofer SJ, Bauer MA, Ruckenstuhl C, ... & Madeo F (2022) A hundred spotlights on microbiology: how microorganisms shape our lives. *Microbial Cell*, 9(4), 72.

Castillo-Escandón VS, Fernández-Michel M, Cueto-Wong, and G. Ramos-Clamont (2019) Criterios y estrategias tecnológicas para la incorporación y supervivencia de probióticos en frutas, cereales y sus derivados. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 22 (0):1–17. doi: 10.22201/fesz.23958723e.2019.0.173.

Chen C, Lu Y, Yu H, Chen Z, Tian H (2019) Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice. *Food Biosci*. 27, 30–36.

Chen J, Pang H, Wang L, Ma C, Wu G, Liu Y, ... & Tan Z (2022) Bacteriocin-producing lactic acid bacteria strains with antimicrobial activity screened from Bamei pig feces. *Foods*, 11(5), 709.

Clemente-Suárez VJ, Rodriguez-Besteiro S, Cabello-Eras JJ, Bustamante-Sanchez A, Navarro-Jiménez E, Donoso-Gonzalez M, ... & Tornero-Aguilera JF (2022) Sustainable Development Goals in the COVID-19 Pandemic: A Narrative Review. *Sustainability*, 14(13), 7726.

Contente D, Igrejas G, Câmara SPA, de Lurdes Enes Dapkevicius M, Poeta P (2021) Role of Exposure to Lactic Acid Bacteria from Foods of Animal Origin in Human Health. *Foods*. 10, 2092.

Coskun F (2017) A traditional Turkish fermented non-alcoholic grape-based beverage,"Hardaliye*". Beverages*, 3(1), 2.

Cosme F, Inês A, Vilela A (2022) Consumer's acceptability and health consciousness of probiotic and prebiotic of non-dairy products. *Int. Food Res. J.* 151, 110842.

Cosme F, Pinto T, Aires A, Morais MC, Bacelar E, Anjos R, ... & Gonçalves B (2022) Red Fruits Composition and Their Health Benefits—A Review. *Foods*. 11(5), 644.

Cousin FJ, Le Guellec R, Schlusselhuber M, Dalmasso M, Laplace JM, & Cretenet M (2017) Microorganisms in fermented apple beverages: current knowledge and future directions. *Microorganisms*, *5*(3), 39.

Crespo L, Gaglio R, Martínez FG, Martin GM, Franciosi E, Madrid-Albarrán Y, Settanni L, Mozzi F, & Pescuma M (2021) Bioaccumulation of selenium-by fruit origin lactic acid bacteria in tropical fermented fruit juices, *Food Science and Technology*, 151, 112103. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112103

Dahiya D, & Nigam PS (2022) The Gut Microbiota Influenced by the Intake of Probiotics and Functional Foods with Prebiotics Can Sustain Wellness and Alleviate Certain Ailments like Gut-Inflammation and Colon-Cancer. *Microorganisms*, 10(3), 665.

Dahiya D, & Nigam PS (2022) Nutrition and Health through the Use of Probiotic Strains in Fermentation to Produce Non-Dairy Functional Beverage Products Supporting Gut Microbiota. *Foods*, 11(18), 2760.

Darbandi A, Asadi A, Mahdizade Ari M, Ohadi E, Talebi M, Halaj Zadeh M, ... & Kakanj M (2022) Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1), e24093.

Dargham MB, Boumosleh JM, Farhat A, Abdelkhalek S, Bou-Maroun E, & El Hosry L (2022) Antioxidant and anti-diabetic activities in commercial and homemade pomegranate molasses in Lebanon. *Food Bioscience*, 46, 101540.

De S, Sena S, Bhowmik I, Maity S, Bhowmik S (2016) Isolation, Characterisation and Identification of *Lactobacilli* spp. and Study of Its Pharmacological Activity in Vitro. *Int J Recent Sci Res*, 7(11), 14296-14298.

De Souza VR, Pereira PA, Da Silva TL, Lima LCO, Pio R, Queiroz F (2014) Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem*. 156, 362–368.

Deng S, Liu S, Li X, Liu H, Li F, Liu K, ... & Xin B (2022) Thuricins: Novel Leaderless Bacteriocins with Potent Antimicrobial Activity Against Gram-Positive Foodborne Pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Derrien M, van Hylckama Vlieg JE (2015) Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends Microbiol*. 23, 354–366.

Di Cagno R, Coda R, De Angelis M, Gobbetti M (2013) Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol*. 33:1–10. doi: 10.1016/j.fm.2012.09.003

Di Cagno R, Filannino P, Gobbetti M (2015) Vegetable and fruit fermentation by lactic acid bacteria. In: Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM, editors. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications. 2nd ed. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd. pp. 216–230. doi: 10.1002/9781118868386.ch14

Di Cagno R, Filannino P, Cantatore V, Polo A, Celano G, Martinovic A, Cavoski I. and Gobbetti (2020) Design of Potential Probiotic Yeast Starters Tailored for Making a Cornelian Cherry

(Cornus mas L.) Functional Beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 323, Article ID: 108591. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108591

Dinev T, Beev G, Tzanova M, Denev S, Dermendzhieva D, Stoyanova A (2018) Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* against pathogenic and food spoilage microorganisms: A review*. Bulg. J. Vet. Med.* 21, 253–268.

Do Carmo MS, Itapary dos Santos C, Araujo MC, GirónJA, Fernandes ES, Monteiro-Neto V (2018) Probiotics, mechanisms of action, and clinical perspectives fordiarrhea management in children. *Food & Function*. 9(10):5074-5095.

Dulf FV, Vodnar DC, & Socaciu C (2016) Effects of solid-state fermentation with two filamentous fungi on the total phenolic contents, flavonoids, antioxidant activities and lipid fractions of plum fruit (Prunus domestica L.) by-products, *Food chemistry*, 209, 27-36.

Dysvik A, Rosa S, Liland KH, Myhrer KS, Wicklund T (2020) Co-fermentation involving *Saccharomyces Cerevisiae and Lactobacillus* species tolerant to brewing-related stress factors for controlled and rapid production of sour beer. *Front. Microbiol.* 11, 279.

Ebrahimi B, Mohammadi R, Rouhi M, Mortazavian AM, Shojaee-Aliabadi S, & Koushki MR (2018*)* Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. *LWT*, 87, 54-60.

Egorov NS (1965) Microbe antagonists and biological methods of determining antibiotic activity. *Microbe antagonists and biological methods of determining antibiotic activity.*

Ellendersen LDSN, Granato D, Guergoletto KB, Wosiacki G (2012) Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. *Eng. Life Sci.* 12, 475–485.

Emkani M, Oliete B, & Saurel R (2022) Effect of Lactic Acid Fermentation on Legume Protein Properties, a Review. *Fermentation*, 8(6), 244.

Echendu AJ (2022) Flooding, food security and the sustainable development goals in Nigeria: An assemblage and systems thinking approach. *Social Sciences*, 11(2), 59.

FAO. Georgian Milk Producers Learn from Italy and the United States. Available online: http://www.fao.org/europe/news/detail-news/en/c/1100229/ (accessed on 20 April 2020).

FAO (2022) Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fatahi-Bafghi M, Naseri S, & Alizehi A (2022) Genome analysis of probiotic bacteria for antibiotic resistance genes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 115(3), 375-389.

Fazilah NF, Ariff AB, Khayat ME, Rios-Solis L. and Halim M (2018) Influence of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics and Bioactive Phytochemicals on the Formulation of Functional Yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48, 387-399. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.039

Fenster K, Freeburg B, Hollard C, Wong C, Rønhave Laursen R, & Ouweh and AC (2019) The production and delivery of probiotics: A review of a practical approach. *Microorganisms*, *7*(3), 83.

Fernandes A, and Rodrigues S (2018) Turning fruit juice into probiotic beverages. In Fruit juices: extraction, composition, quality and analysis, eds. G. Rajauria, and B. K. Tiwari, 279–87. Cambridge, Massachusetts: *Academic Press*. doi: 10.1016/B978-0-12-802230-6.00015-1.

Fessard A, Remize F (2019) Genetic and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and vegetables. *Int. J. Food Microbiol*, 301, 61–72. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.003

Figueroa-Gonzalez I, Quijano G, Ramirez G, Cruz-Guerrero A (2011) Probiotics and prebiotics-perspectives and challenges. *J Sci FoodAgric* 91:1341–1348.

Filannino P, Cardinali G, Rizzello CG, Buchin S, De Angelis M, Gobbetti M, Di Cagno R (2014) Metabolic Responses of *Lactobacillus Plantarum* Strains during Fermentation and Storage of Vegetable and Fruit Juices. *Appl. Environ. Microbiol*. 80, 2206–2215.

Filannino P, Angelis MD, Cagno RD, Gozzi G, Riciputi Y, Gobbetti M (2018a) How *Lactobacillus plantarum* shapes its transcriptome in response to contrasting habitats. *Environ Microbio.l* 20:3700 – 3716. doi: 10.1111/1462-2920.14372

Filannino P, Di Cagno R, Gobbetti M (2018b) Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. *Curr Opin Biotechnol*. 49:64-72. doi: 10.1016/j.copbio.2017.07.016

Flach JM, van der Waal M, van den Nieuwboer E, Claassen and Larsen O (2018) The underexposed role of food matrices in probiotic products: Reviewing the relationship between carrier matrices and product parameters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58 (15):2570–84. doi: 10.1080/10408398.2017.1334624.

Fontana L, Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Munoz-Quezada S, & Gil A (2013) Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British journal of nutrition*, 109(S2), S35-S50.

Food and Agriculture Organization; World Health Organization (FAO). Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation; This definition was adopted by the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) in 2013; FAO: Rome, Italy, 2006.

Food Fortification Initiative (FFI) (2017) Grain Fortification to Address the Sustainable Development Goals: FFI. Available from www.FFInetwork.org Accessed on [2022]

Ganatsios V, Nigam P, Plessas S, Terpou A (2021) Kefir as a Functional Beverage Gaining Momentum towards Its Health Promoting Attributes. *Beverages* 7, 48.

Garcia-Gonzalez N, Battista N, Prete R, & Corsetti A (2021) Health-promoting role of *lactiplantibacillus plantarum* isolated from fermented foods. *Microorganisms*, 9(2), 349.

Gaucher F, Bonnassie S, Rabah H, Marchand P, Blanc P, Jeantet R, Jan G (2019) Adaptation of Beneficial *Propionibacteria, Lactobacilli, and Bifidobacteria* Improves Tolerance toward Technological and Digestive Stresses. *Front. Microbiol*. 10, 841.

Gawkowski D, Chikindas ML (2013) Non-Dairy Probiotic Beverages: The next Step into Human Health. *Benef. Microbes*. 4, 127–142.

George F, Daniel C, Thomas M, Singer E, Guilbaud A, Tessier FJ, et al (2018) Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: a multifaceted functional health perspective. *Front Microbiol*. 9:2899. doi: 10.3389/fmicb.2018.02899

Goginava L Khidesheli Z (2019) Fruit orchard planting and maintenance. edited by Gigauri M. Tbilisi: pp. 6-7. https://elkana.org.ge/uploads/page/217/pdf/eng/publication/Fruit.pdf

Gomes IA, Venâncio A, Lima JP, & Freitas-Silva O (2021) Fruit-Based Non-Dairy Beverage: A New Approach for Probiotics. *Advances in Biological Chemistry*, 11(6), 302-330.

Graça A, Santo D, Esteves E, Nunes C, Abadias M, & Quintas C (2015) Evaluation of microbial quality and yeast diversity in fresh-cut apple. *Food Microbiology*, 51, 179-185.

Ghadaksaz A, Nodoushan SM, Sedighian H, Behzadi E, & Fooladi AAI (2022) Evaluation of the role of probiotics as a new strategy to eliminate microbial toxins: A review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-14.

Government of Georgia. Social-economic Development Strategy of Georgia "GEORGIA 2020". https://policy.asiapacificenergy.org/sites/default/files/Georgia%202020_ENG.pdf

Grujović MŽ, Mladenović KG, Semedo-Lemsaddek T, Laranjo M, Stefanović OD, & Kocić-Tanackov SD (2022) Advantages and disadvantages of non-starter lactic acid bacteria from traditional fermented foods: Potential use as starters or probiotics. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 21(2), 1537-1567.

Guan N, Liu L (2020) Microbial response to acid stress: Mechanisms and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 104, 51–65.

Guan Q, Xiong T, and Xie M (2020) Influence of Probiotic Fermented Fruit andVegetables on Human Health and the Related Industrial Development Trend. *Engineering*, 7, 212-218. https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.03.018

Guiné RP, Barroca MJ, Coldea TE, Bartkiene E, & Anjos O (2021) Apple fermented products: An overview of technology, properties and health effects. *Processes*, 9(2), 223.

Haghshenas B, Nami Y, Haghshenas M, Abdullah N, Rosli R, Radiah D, & Yari Khosroushahi A (2015) Bioactivity characterization of Lactobacillus strains isolated from dairy products. *Microbiologyopen*, 4(5), 803-813.

Hartemink R, Domenech VR, Rombouts FM (1997) LAMVAB - A new selective medium for the isolation of lactobacilli from faeces. *J Microbiol Meth*. 29(2), 77-84. https://doi.org/10.1016/S0167-7012(97)00025-0

Hashemi SMB, Mousavi KA, Barba FJ, Nemati Z, Sohrabi SS, Alizadeh F (2017) Fermented sweet lemon juice (Citrus limetta) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities, *Journal of Functional Foods*. 38, pp. 409–414, DOI: 10.1016/j.jff.2017.09.040.

Harel M, & Tang Q (2023) Protection and delivery of probiotics for use in foods. In Microencapsulation in the food industry (pp. 463-480). *Academic Press*.

Heperkan D, Daskaya-Dikmen C, and Bayram B (2015) Evaluation of lactic acid bacterial strains of boza for their exopolysaccharide and enzyme production as a potential adjunct culture. *Process Biochemistry*. 49: 1587-1594: 201.

Herranz B, Fernández-Jalao I, Álvarez MD, Quiles A, Sánchez-Moreno C, Hernando I, De Ancos B (2019) Phenolic compounds, microstructure and viscosity of onion and apple products subjected to in vitro gastrointestinal digestion. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol*. 51, 114–125.

Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S et al (2014) The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of the Term Probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 11, 506–514.

Horáčková Š, Rokytová K, Bialasová K, Klojdová I, Sluková M (2018) Fruit juices with probiotics – new type of functional foods. *Czech J. Food Sci.* 36:284–288. doi: 10.17221/39/2018-CJFS.

Husain FM, Al-Shabib NAA, Alyousef A, Khan A, Arshad M, et al (2020) Probiotic Bacteria Used in Food: A Novel Class of Antibiofilm Agent. In: Ahmad S, Al-Shabib N, editors. Functional Food Products and Sustainable Health. Singapore: *Springer*. pp 25-35. doi:10.1007/978-981-15-4716-4_3

Igual MGME, García-Martínez E, Camacho MM, & Martínez-Navarrete N (2010) Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chemistry*. 118(2), 291-299.

Iorizzo M, Lombardi SJ, Ganassi S, Testa B, Ianiro M, Letizia F, ...& De Cristofaro A (2020) Antagonistic activity against *Ascosphaera apis* and functional properties of *Lactobacillus kunkeei* strains. *Antibiotics*, 9(5), 262.

Iozzo P, & Sanguinetti E (2018) Early dietary patterns and microbiota development: Still a way to go from descriptive interactions to health-relevant solutions. *Frontiers in Nutrition*. 5, 5.

Ismail A, Abed H, Firdaous M, Chahboun N, Mennane Z, Berny EH, Ouhssine M (2014) Étude physicochimique et microbiologique des margines de trois régions du Maroc (Ouazzane, Fès Boulman et Béni Mellal). *J. M. Environ. Sci.* 5 121-126.

Jacobsen CN, Rosenfeldt Nielsen V, Hayford AE, Møller PL, Michaelsen KF, Paerregaard A, ... & Jakobsen M (1999) Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and environmental microbiology*, 65(11), 4949-4956.

Janiszewska-Turak E, Walczak M, Rybak K, Pobiega K, Gniewosz M, Woźniak Ł, & Witrowa-Rajchert D (2022) Influence of Fermentation Beetroot Juice Process on the Physico-Chemical Properties of Spray Dried Powder, *Molecules*, 27(3), 1008.

Johansson E, Hussain A, Kuktaite R, Andersson SC, Olsson ME (2014) Contribution of organically grown crops to human health. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 11, 3870–3893.

Kalinowska M, Bielawska A, Lewandowska-Siwkiewicz H, Priebe W, & Lewandowski W (2014) Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84, 169–188. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.09.006

Karsaulidze, E. (2016, March 31). Spotlight on Food Security Issues in Georgian Mountain Villages. *Georgia Today*.

Kaur S, Kaur R, Rani N, Sharma S, Joshi M (2021) Sources and Selection Criteria of Probiotics. In: Goel G, Kumar A, editors. Advances in Probiotics for Sustainable Food and Medicine. Microorganisms for Sustainability. Singapore: *Springer*. pp. 27-43. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6795-7_2

Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou N, & Fakiri EM (2013) Health benefits of probiotics: a review. *International Scholarly Research Notices*, 2013.

Kenny MT, Mayer GD, Dulworth JK, Brackman MA, Farrar K (1992) Evaluation of the teicoplanin broth microdilution and disk diffusion susceptibility tests and recommended

interpretive criteria. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Sep-Oct;15(7):609-12. doi: 10.1016/0732-8893(90)90038-w.

Kerry RG, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, and Das G (2018) Benefaction of Probiotics for Human Health: A Review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26, 927-939.https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002

Khan RU, & Naz S (2013) The applications of probiotics in poultry production. *World's Poultry Science Journal*, 69(3), 621-632.

Khubber S, Marti-Quijal FJ, Tomasevic I, Remize F, & Barba FJ (2022) Lactic acid fermentation as a useful strategy to recover antimicrobial and antioxidant compounds from food and by-products. *Current Opinion in Food Science*, 43, 189-198.

Klupsaite D, Juodeikiene G, Zadeike D, Bartkiene E, Maknickiene Z, Liutkute G (2017) The influence of lactic acid fermentation on functional properties of narrow-leaved lupine protein as functional additive for higher value wheat bread. *LWT*. 75, 180–186.

Koghuashvili P. (2014). Reducing Minimum Subsistence Level is the Killing of the Population. *The "Rezonansi",* (in Georgian).

König H, Fröhlich J (2017) Lactic acid bacteria. In Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine. *Springer*, Cham. 3-41.

Kothari D, Patel S, and Kim SK (2019) Probiotic Supplements Might Not Be Universally-Effective and Safe: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 537-547. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.104

Král M, Angelovičová M, & Mrázová Ľ (2012) Application of probiotics in poultry production. *Animal Science and Biotechnologies*, 45(1), 55-57.

Küfeoğlu S (2022) SDG-8: Decent Work and Economic Growth. In Emerging Technologies (pp. 331-348). *Springer*, Cham.

Kumar H, Salminen S, Verhagen H, Rowland I, Heimbach J, Bañares S (2015) Novel probiotics and prebiotics:road to the market. *Current Opinion in Biotechnology*. 32:99-103.

Kumar BV, Vijayendra SVN, Reddy OVS (2015) Trends in dairy and non-dairy probiotic products-A review. *Journal of Food Science and Technology*. 52: 6112-6124.

Kumar M, Dhaka P, Vijay D, Vergis J, Mohan V, Kumar A, Kurkure NV, Barbuddhe SB, Malik SV, Rawool DB (2016) Antimicrobial effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* against multidrug-resistant enteroaggregative *Escherichia coli. Int. J. Antimicrob. Agents*. 48, 265–270.

Kumari S, Manohar S, Kumari P, Krishnan V, Maheshwari C, Narwal S, ... & Dahuja A (2023) The Role of Major Phenolics in Apple to Total Antioxidant Capacity.

Kwon HS, Yang EH, Yeon SW, Kang BH, and Kim TY (2004) Rapid identification of probiotic *Lactobacillus species* by multiplex PCR using species-specific primers based on the region extending from 16S rRNA through 23S rRNA. *FEMS Microbiol Lett*, 239, 267-275.

Landete Succi M, Tremonte P, Pannella G, Tipaldi L, Cozzolino A, Romaniello R, ...& Coppola R (2017) Pre-cultivation with selected prebiotics enhances the survival and the stress response of *Lactobacillus rhamnosus* strains in simulated gastrointestinal transit. *Frontiers in microbiology*, 8, 1067.

Lebaka VY, Narala Wee V, and Joshi V (2018) Development of new probiotic foods–A case study on probiotic juices. In Therapeutic, probiotic, and unconventional foods, eds. A. Mihai, and A. M. Holban, 55–78. Cambridge, Massachusetts: *Academic Press*. doi: 10.1016/B978-0-12-814625-5.00004-2.

Lee NK, & Paik HD (2017) Bioconversion Using Lactic Acid Bacteria: Ginsenosides, GABA, and Phenolic Compounds, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 869–877. https://doi.org/10.4014/jmb.1612.12005

Lesnick-Dreher SM, Schreirer J, and Stibitz S (2015) Development of Phage Lysin LysA2 for Use in Improved Purity Assays for Live Biotherapeutic Products. *Viruses*, 7, 6675-6688. https://doi.org/10.3390/v7122965

Li P, Li X, Gu Q, Lou X, Zhang X, Song D, Zhang C (2016) Comparative Genomic Analysis of Lactobacillus Plantarum ZJ316 Reveals Its Genetic Adaptation and Potential Probiotic Profiles. *J. Zhejiang Univ. -Sci. B*. 17, 569–579.

Li S, Tao Y, Li D, Wen G, Zhou J, Manickam S, Han Y, Chai WS (2021) Fermentation of blueberry juices using autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit environment: Fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles. *Chemosphere*. 276, 130090.

Li X, & Liu D (2022) Nutritional content dynamics and correlation of bacterial communities and metabolites in fermented pickled radishes supplemented with wheat bran. *Frontiers in nutrition*, 9.

Li Y, Zhang X, Nie J, Bacha SAS, Yan Z, Gao G (2020) Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in apple and apple products from China. *Food Control*. 118, 107354.

Li Z, Teng J, Lyu Y, Hu X, Zhao Y, & Wang M (2019) Enhanced Antioxidant Activity for Apple Juice Fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917, *Molecules*, 24(1), 51. https://doi.org/10.3390/molecules24010051

Lillo-Pérez S, Guerra-Valle M, Orellana-Palma P, & Petzold G (2021) Probiotics in fruit and vegetable matrices: Opportunities for nondairy consumers, *LWT*, 151, 112106.

Liu W, Pang H, Zhang H, & Cai Y (2014) Biodiversity of lactic acid bacteria. In Lactic acid bacteria (pp. 103-203). *Springer*, Dordrecht.

Lomer MC, Parkes GC, & Sanderson JD (2008) lactose intolerance in clinical practice–myths and realities. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 27(2), 93-103.

Lyu F, Luiz SF, Azeredo DRP, Cruz AG, Ajlouni S, Ranadheera CS (2020) Apple Pomace as a Functional and Healthy Ingredient in Food Products*:* A Review. *Processes*. 8, 319.

Ma B, Chen J, Zheng H, Fang T, Ogutu C, Li S, Han Y, & Wu B (2015) Comparative assessment of sugar and malic acid composition in cultivated and wild apples. *Food Chemistry*, 172, 86–91. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.0

Macedo JVC, de Barros Ranke FF, Escaramboni B, Campioni TS, Núñez EGF, & de Oliva Neto P (2020) Cost-effective lactic acid production by fermentation of agro-industrial residues. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101706.

Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, Sorokin A, Mirkin B, Koonin E, et al (2006) Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proc Natl Acad Sci*. 103:15611– 15616. doi: 10.1073/pnas.0607117103

Maleki D, Azizi A, Vaghef E, Balkani S, & Homayouni A (2015) Methods of increasing probiotic survival in food and gastrointestinal conditions. *Prensa Med Argent*, 101(4), 1-9.

Mantzourani I, Kazakos S, Terpou A, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E, Bekatorou A, Plessas S (2019) Potential of the Probiotic *Lactobacillus Plantarum* ATCC 14917 Strain to Produce Functional Fermented Pomegranate Juice. *Foods*. 8, 4.

Mantzourani I, Terpou A, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E, Bekatorou A, Plessas S (2019) Production of a Potentially Synbiotic Fermented Cornelian Cherry (Cornus Mas L.) Beverage Using *Lactobacillus Paracasei* K5 Immobilized on Wheat Bran. Biocatal. Agric. *Biotechnol*. 17, 347–351.

Mantzourani I, Terpou A, Bekatorou A, Mallouchos A, Alexopoulos A, Kimbaris A, Bezirtzoglou E, Koutinas AA, Plessas S (2020) Functional Pomegranate Beverage Production by Fermentation with a Novel Synbiotic *L. Paracasei* Biocatalyst. *Food Chem*. 308, 125658.

Mathipa-Mdakane MG, & Thantsha MS (2022) *Lacticaseibacillus rhamnosus:* A Suitable Candidate for the Construction of Novel Bioengineered Probiotic Strains for Targeted Pathogen Control. *Foods*, 11(6), 785.

Maurya P, Mogra R, & Bajpai P (2014) Probiotics: an approach towards health and disease. *Trends in Biosciences.* 7(20)

McFrederick QS, Thomas JM, Neff JL, Vuong HQ, Russell KA, Hale AR, Mueller UG (2017) Flowers and wild megachilid bees share microbes. *Microb Ecol*. 73:188– 200. doi: 10.1007/s00248-016-0838-1

McFrederick QS, Vuong HQ, Rothman JA (2018) *Lactobacillus micheneri* sp. nov., *Lactobacillus timberlakei* sp. nov. and *Lactobacillus quenuiae* sp. nov., lactic acid bacteria isolated from wild bees and flowers. *Int J Syst Evol Microbiol.* 68:1879 – 1884. doi: 10.1099/ijsem.0.002758

McNicholl AG, Molina-Infante J, Lucendo AJ, Calleja JL, Pérez-Aisa Á, Modolell I, Aldeguer X, Calafat M, Comino L, Ramas M, et al (2018) Probiotic supplementation with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* for *Helicobacter pylori* therapy: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Helicobacter*. 23, e12529.

Menberu MA, Liu S, Cooksley C, Hayes AJ, Psaltis AJ, Wormald PJ, & Vreugde S (2021) *Corynebacterium accolens* has antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* pathogens isolated from the sinonasal niche of chronic rhinosinusitis patients. *Pathogens*. 10(2), 207.

Meskhia IE (2016) Food security problems in post-Soviet Georgia. *Annals of Agrarian Science*, 14(2), 46-51.

Mikulic-Petkovsek M, Schmitzer V, Slatnar A, Stampar F, Veberic R (2012) Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *J. Food Sci*. 77, 10.

Min M, Bunt C, Mason S, and Hussain M (2019) Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59 (16):2626–41. doi: 10.1080/10408398.2018.1462760.

Miranda JS, Pereira CVDAC, de Andrade ME, Vargas SOE, de Oliveira MM, & de Lima DCN (2022) Impact of adding milk whey, probiotic and prebiotic in passion fruit drinks Impacto da

adição de soro, probiótico e prebiótico em bebidas de maracujá. *Brazilian Journal of Development*, 8(4), 30484-30504.

Mitropoulou G, Nedovic V, Goyal A, & Kourkoutas Y (2013) Immobilization technologies in probiotic food production. *Journal of nutrition and metabolism,* 2013.

Modebadze E, Chabukiani N (2021) DUAL VULNERABILITY and SECURITY. A Case Study of Azerbaijani and Armenian Ethnic Minority Women in Georgia.

Moharram HA, Youssef MM (2014) Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review*. Alex. J. Food Sci. Technol*. 11, 31–42.

Mohebbi S, Babalar M, Zamani Z, Askari MA (2020) Influence of early season boron spraying and postharvest calcium dip treatment on cell-wall degrading enzymes and fruit firmness in 'Starking Delicious' apple during storage. *Sci. Hortic*. 259, 108822.

Mojikon FD, Kasimin ME, Molujin AM, Gansau JA, & Jawan R (2022) Probiotication of Nutritious Fruit and Vegetable Juices: An Alternative to Dairy-Based Probiotic Functional Products. *Nutrients*, 14(17), 3457.

Moradi M, Molaei R, Guimarães JT (2021) A Review on Preparation and Chemical Analysis of Postbiotics from Lactic Acid Bacteria. *Enzym. Microb. Technol*. 143, 109722.

Mousavi ZE, Mousavi SM, Razavi SH, Emam-Djomeh Z, & Kiani H (2011) Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(1), 123-128.

Mousavi ZE, Mousavi SM, Razavi SH, Hadinejad M, Emam-Djomeh Z, & Mirzapour M (2013) Effect of Fermentation of Pomegranate Juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the Antioxidant Activity and Metabolism of Sugars, Organic Acids and Phenolic Compounds. *Food Biotechnology*. 27(1), 1–13. https://doi.org/10.1080/08905436.2012.724037

Multari S, Carafa I, Barp L, Caruso M, Licciardello C, Larcher R, Tuohy K, & Martens S (2020) Effects of *Lactobacillus* spp. on the phytochemical composition of juices from two varieties of Citrus sinensis L. Osbeck: 'Tarocco' and 'Washington navel,' *Food Science and Technology*, 125, 109205. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109205

Nagpal R, Kumar A, and Kumar M (2020) Fortification and Fermentation of Fruit Juices with Probiotic *Lactobacilli*. *Annals of Microbiology*, 62, 1573-1578. https://doi.org/10.1007/s13213-011-0412-5

Namchavadze B (2020) Georgia's Agriculture Sector, Key Trends for 2012-2019 (February 2020).

Nanasombat S, Phunpruch S, and Jaichalad T (2012) Screening and identification of lactic acid bacteria from raw seafoods and Thai fermented seafood products for their potential use as starter cultures. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 34, 255–62.

Narimani T, Mirzaei A, & Damavandi MS (2022) *T*he Antibacterial and Antibiofilm Properties of Different Strains of *Lactobacillus* spp. Isolated from Traditional Kefir Dough on Oral Pathogens with Real Time PCR.

Natt SK, & Katyal P (2021) Current trends in non-dairy probiotics and their acceptance among consumers: A review. *Agricultural Reviews*, 39(3), 1-7.

NazhandA, Souto EB, Lucarini M, Souto SB, Durazzo A, Santini A (2020) Ready to Use Therapeutical Beverages: Focus on Functional Beverages Containing Probiotics, Prebiotics and Synbiotics. *Beverages.* 6, 26.

Neffe-Skocińska K, Rzepkowska A, Szydłowska A, & Kołożyn-Krajewska D (2018) Trends and possibilities of the use of probiotics in food production. In Alternative and replacement foods (pp. 65-94). *Academic Press*.

Ngea GLN, Yang Q, Tchabo W, Castoria R, Zhang X, Zhang H (2021) *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* LB7 isolated from apple surface inhibits *P. expansum* in vitro and reduces patulin in fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*. 339. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109025

Nguyen BT, Bujna E, Fekete N, Tran A, Rezessy-Szabo JM, Prasad R, & Nguyen QD (2019) Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains, *Frontiers in nutrition*, 6, 54. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00054

Nile SH, Park SW (2014) *Edible berries:* Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*. 30, 134–144.

Nosrati R, Hashemiravan M, & Talebi M (2014) Fermentation of vegetables juice by probiotic bacteria. *International Journal of Biosciences*, 4(3), 171-180.

Oh YJ, Kim TS, Moon HW, Lee SY, Lee SY, Ji GE, Hwang KT (2020) *Lactobacillus Plantarum* PMO 08 as a Probiotic Starter Culture for Plant-Based Fermented Beverages. *Molecules*. 25, 5056.

Ojokoh AO, and Yimin W (2011) Effect of fermentation on chemical composition and nutritional quality of extruded and fermented soya products. *International Journal of Food Engineering*. 7(4)

Onbas T, Osmanagaoglu O, Kiran F (2019) Potential properties of *Lactobacillus plantarum* F-10 as a bio-control strategy for wound infections. *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 11, 1110–1123.

Pal RS, Pal Y, Wal A, & Wal P (2020) Herbal detoxifiers: An eminent need of today. *Current Nutrition & Food Science*. 16(4), 424–432. https://doi.org/10.2174/1573401315666190311

Palanivelu J, Thanigaivel S, Vickram S, Dey N, Mihaylova D, & Desseva I (2022) Probiotics in Functional Foods: Survival Assessment and Approaches for Improved Viability. *Applied Sciences*, 12(1), 455.

Palencia-Argel M, Rodríguez-Villamil H, Bernal-Castro C, Díaz-Moreno C, & Fuenmayor CA (2022) Probiotics in anthocyanin-rich fruit beverages: research and development for novel synbiotic products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-17.

Pandey SS, Jain R, Bhardwaj P, Thakur A, Kumari M, Bhushan S, & Kumar S (2022) Plant Probiotics–Endophytes pivotal to plant health. *Microbiological Research*, 127148.

Panghal A, Janghu S, Virkar K, Gat Y, Kumar V, Chhikara N (2018) Potential Non-Dairy Probiotic Products—A Healthy Approach. *Food Biosci*. 21, 80–89.

Panitsa A, Petsi T, Kandylis P, Kanellaki M, Koutinas AA (2021) Tubular Cellulose from Orange Juice By-Products as Carrier of Chemical Preservatives; Delivery Kinetics and Microbial Stability of Orange Juice. *Foods*. 10, 1882.

Parappilly SJ, Radhakrishnan KM, Idicula DV, & George SM (2022) Antimicrobial compound produced by human gut lactic acid bacteria having antifungal activity against *aflatoxigenic Aspergillus flavus* MTCC 2798*. Journal of Food Processing and Preservation*, e16834.

Park JB, Lim SH, Sim HS, Park JH, Kwon HJ, Nam HS, Kim MD, Baek HH, Ha SJ (2017) Changes in Antioxidant Activities and Volatile Compounds of Mixed Berry Juice through Fermentation by Lactic Acid Bacteria. *Food Sci. Biotechnol*. 26, 441–446.

Park KY, & Ju J (2018) Kimchi and its health benefits. *In Korean Functional Foods* (pp. 43-78). CRC Press.

Parracho H, McCartney AL, & Gibson GR (2007) Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 66(3), 405-411.

Peng W, Meng D, Yue T, Wang Z, Gao Z (2020) Effect of the apple cultivar on cloudy apple juice fermented by a mixture of *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum,* and *Lactobacillus fermentum. Food Chem.* 340, 127922.

Pérez-Lamela C, Franco I, & Falqué E (2021) Impact of high-pressure processing on antioxidant activity during storage of fruits and fruit products: A review, *Molecules*, 26(17), 5265.

Perpetuini G, Prete R, Garcia-Gonzalez N, Khairul Alam M, Corsetti A (2020) Table olives more than a fermented food. *Foods* 9, 178.

Perricone M, Bevilacqua A, Altieri C, Sinigaglia M, & Corbo MR (2015) Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, *1*(2), 95-103.

Pimentel T, Klososki S, Rosset M, Barão C, and Marcolino V (2019) Fruit juices as probiotic foods. In Sports and energy drinks: Volume 10: The science of beverages, 483–513. Sawston, Cambridge: *Woodhead Publishing*. doi: 10.1016/B978-0-12-815851-7.00014-0.

Pinto T, Vilela A, & Cosme F (2022) Chemical and Sensory Characteristics of Fruit Juice and Fruit Fermented Beverages and Their Consumer Acceptance. *Beverages,* 8(2), 33.

Plessas S (2021) Advancements in the Use of Fermented Fruit Juices by Lactic Acid Bacteria as Functional Foods: Prospects and Challenges of *Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum subsp. plantarum* Application. *Fermentation*, 8(1), 6.

Portilha-Cunha MF, Macedo A, and Malcata FX (2020) A Review on Adventitious Lactic Acid Bacteria from Table Olives. *Foods*. 9(7):948. doi: 10.3390/foods9070948

Prabhurajeshwar C, Chandrakanth RK (2017) Probiotic Potential of *Lactobacilli* with Antagonistic Activity against Pathogenic Strains: An in Vitro Validation for the Production of Inhibitory Substances. *Biomed. J,* 40, 270–283. https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.06.008

Prasad J, Gill H, Smart J, Gopal PK (1998) Selection and characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *Int. Dairy J.* 8:993-1002. doi: 10.1016/S0958-6946(99)00024-2

Prete R, Long SL, Joyce SA, Corsetti A (2020) Genotypic and Phenotypic Characterization of Food-Associated *Lactobacillus Plantarum* Isolates for Potential Probiotic Activities. *FEMS Microbiol. Lett*. 367, fnaa076.

Pruksasri S, Lanner B, Novalin S (2020) Nanofiltration as a potential process for the reduction of sugar in apple juices on an industrial scale. *LWT.* 133, 110118.

Rasika DM, Vidanarachchi JK, Rocha RS, Balthazar CF, Cruz AG, Sant Ana AS (2021) Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. *Current Opinion in Food Science*. 38:8-20.

Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, ... & Sanders ME (2005) Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. *FEMS microbiology ecology*, 52(2), 145-152.

Roberts D, Reyes V, Bonilla F, Dzandu B, Liu C, Chouljenko A, Sathivel S (2018) Viability of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 in fermented apple juice under simulated gastric and intestinal conditions. *LWT.* 97, 144–150.

Rodrigues VCC, Silva LGS, Simabuco FM, Venema K, and Antunes AEC (2019) Survival, Metabolic Status and Cellular Morphology of Probiotics in Dairy Products and Dietary Supplement after Simulated Digestion. *Journal of Functional Foods*, 55, 126-134. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.046

Rodríguez-España M, Figueroa-Hernández CY, de Dios Figueroa-Cárdenas J, Rayas-Duarte P, & Hernández-Estrada ZJ (2022) Effects of germination and lactic acid fermentation on nutritional and rheological properties of sorghum: A graphical review. *Current Research in Food Science.*

Rojo MC, López FA, Lerena MC, Mercado L, Torres A, Combina M (2015) Evaluation of Different Chemical Preservatives to Control Zygosaccharomyces Rouxii Growth in High Sugar Culture Media. *Food Control*. 50, 349–355.

Rodríguez LGR, Gasga VMZ, Pescuma M, Van Nieuwenhove C, Mozzi F, & Burgos JAS (2021) Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. *Food Research International*, 140, 109854.

Russo P, Arena MP, Fiocco D, Capozzi V, Drider D, Spano G (2017) *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *Int. J. Food Microbiol.* 2017, 247, 48–54.

Rychen G, Aquilina G, Azimonti G, Bampidis V, Bastos ML, Bories G, Chesson A, Cocconcelli PS, Flachowsky G, Gropp J, et al (2018) Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms. *EFSA J.* 16, e05206.

Rzepkowska A, Zielińska D, Ołdak A, & Kołozyn-Krajewska D (2017) Organic whey as a source of *Lactobacillus* strains with selected technological and antimicrobial properties. *International Journal of Food Science & Technology.* 52:1983-1994. doi: 10.1111/ijfs.13471

Saelee M, Sivamaruthi BS, Sirilun S, Kesika P, Peerajan S, Chaiyasut C (2019) Effect of Green Tea Extract during Lactic Acid Bacteria Mediated Fermentation of Morinda citrifolia Linn. (Noni) Fruit Juice. *Pak. J. Biol. Sci.* 22, 486–493.

Salvetti E, Harris HMB, Felis GE, and O'Toole PW (2018) Comparative genomics of the genus *Lactobacillus* reveals robust phylogroups that provide the basis for reclassification. *Appl Env Microbiol*. 84: e00993– e00918. doi: 10.1128/AEM.00993-18

Salyers AA, Gupta A, & Wang Y (2004) Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends in microbiology*, 12(9), 412-416.

Samedi L, Charles AL (2019) Isolation and characterization of potential probiotic *Lactobacilli* from leaves of food plants for possible additives in pellet feeding. *Annals of Agricultural Sciences* 64:55-62. doi: 10.1016/j.aoas.2019.05.004

Sauceda-Gálvez J, Codina-Torrella I, Martinez-Garcia M, Hernández-Herrero M, Gervilla R, Roig-Sagués A (2021) Combined effects of ultra-high pressure homogenization and short-wave ultraviolet radiation on the properties of cloudy apple juice. *LWT*. 136, 110286.

Savaiano DA, Ritter AJ, Klaenhammer TR, James GM, Longcore AT, Chandler JR, ...& Foyt HL (2013) Improving lactose digestion and symptoms of lactose intolerance with a novel galacto-oligosaccharide (RP-G28): a randomized, double-blind clinical trial. *Nutrition journal*, 12(1), 1-9.

Seddik HA, Bendali F, Gancel F, Fliss I, Spano G, Drider D (2017) *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities. *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 9, 111–122.

Senok AC, Ismaeel AY, & Botta GA (2005) Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*. 11(12), 958-966.

Septembre-Malaterre A, Remize F, & Poucheret P (2018) Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*. 104, 86-99.

Shade A, McManus PS, & Handelsman J (2013) Unexpected diversity during community succession in the apple flower microbiome. *MBio*, 4(2), e00602-12.

Shahidi F, Peng H (2018) Bioaccessibility and Bioavailability of Phenolic Compounds. *J. Food Bioact*. 4, 11–68.

Sharma SK, Joshi VK, Sharma S (2012) Probiotics: concepts and applications in food. In: Joshi VK, Singh RS (eds) Food biotechnology: principles and practices. *IK International Publishing House Pvt* Ltd, India, pp 781–798.

Shubhada N, Rudresh DL, Jagadeesh SL, Prakash DP, Raghavendra S (2018) Fermentation of Pomegranate Juice by Lactic Acid Bacteria. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 7, 4160–4173.

SIDA (2015) *Women and Food Security*. Gender Toolbox [Brief/March]. Available at: https://cdn.sida.se/publications/files/-women-and-food-security.pdf

Silva APRD, Longhi DA, Dalcanton F, & Aragão GMFD (2018) Modelling the growth of lactic acid bacteria at different temperatures. *Brazilian archives of biology and technology*, 61.

Simone C (2019) The Unregulated Probiotic Market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17, 809-817. https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.018

Singh K, Kallali B, Kumar A, & Thaker V (2011) Probiotics: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), S287-S290.

Skinner RC, Gigliotti JC, Ku KM, & Tou JC (2018) A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. *Nutrition Reviews*, 76(12), 893–909. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy033

Snyder AB, Worobo RW (2018) The Incidence and Impact of Microbial Spoilage in the Production of Fruit and Vegetable Juices as Reported by Juice Manufacturers. *Food Control*. 85, 144–150.

Srisukchayakul P, Charalampopoulos D, Karatzas KA (2018) Study on the Effect of Citric Acid Adaptation toward the Subsequent Survival of *Lactobacillus Plantarum* NCIMB 8826 in Low PH Fruit Juices during Refrigerated Storage. *Food Res. Int.* 111, 198–204.

Steinkraus KH (2018) Handbook of Indigenous Fermented Foods, Revised and Expanded, 2nd ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA.

Sun Z, Yu J, Dan T, Zhang W, Zhang H (2014) Phylogenesis and evolution of lactic acid bacteria. In Lactic acid bacteria. *Springer*,Dordrecht.1-101.

Szutowska J (2020) Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: A systematic literature review. *Eur. Food Res. Technol*. 246, 357–372.

Tamang JP, Watanabe K, & Holzapfel WH (2016) Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in microbiology*. 7, 377.

Tambekar DH, & Bhutada SA (2010) An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research in Science and Technology*, 2(10), 82-88.

Tang HW, Phapugrangkul P, Fauzi HM, & Tan JS (2022) *L*actic Acid bacteria bacteriocin, an antimicrobial peptide effective against multidrug resistance: a comprehensive review. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 28(1), 1-14.

Tesfaye W, Suarez-Lepe JA, Loira I, Palomero F, and Morata A (2019) Dairy and Nondairy-Based Beverages as a Vehicle for Probiotics, Prebiotics, and Symbiotics: Alternatives to Health versus Disease Binomial Approach through Food. *Milk Based Beverages*, 9, 473-520.

Todorov SD, Franco BDGDM (2010) *Lactobacillus Plantarum:* Characterization of the Species and Application in Food Production. *Food Rev. Int*. 26, 205–229.

Todorov SD, Perin LM, Carneiro BM, Rahal P, Holzapfel W, Nero LA (2017) Safety of *Lactobacillus plantarum* ST8Sh and its bacteriocin. *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 9, 334–344.

Todua N, & Jashi C (2018) Influence of social marketing on the behavior of Georgian consumers regarding healthy nutrition. *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci*, 12(2), 183-190.

Tyler C, Kopit L, Doyle C, Yu A, Hugenholtz J, and Marco M (2016) Polyol production during heterofermentative growth of the plant isolate *Lactobacillus florum* 2F. *J.Appl. Microbiol*. 120:1336–1345. doi: 10.1111/jam.13108

Valero-Cases E, Cerdá-Bernad D, Pastor J, and Frutos M (2020) Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure -probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients* 12 (6):1666. doi: 10.3390/nu12061666

Veron Ponce HE, Gauffin Cano MP, Fabersani Marrades ME, Sanz Y, Isla MI, Fernández Espinar MT, Gil Ponce JV, Torres Castaños S (2019) Cactus Pear (Opuntia Ficus-Indica) Juice Fermented with Autochthonous *Lactobacillus Plantarum S-811. Food Funct*.

Viana CM, Freire D, Abrantes P, Rocha J, & Pereira P (2022) Agricultural land systems importance for supporting food security and sustainable development goals: A systematic review. *Science of The Total Environment*, 806, 150718.

Vitali B, Minervini G, Rizzello CG, Spisni E, Maccaferri S, Brigidi P, ... & Di Cagno R (2012) Novel probiotic candidates for humans isolated from raw fruits and vegetables. *Food Microbiology*, 31(1), 116-125.

Vlasova AN, Kandasamy S, Chattha KS, Rajashekara G, Saif LJ (2016) Comparison of probiotic *lactobacilli* and bifidobacterial effects, immune responses and rotavirus vaccines and infection in different host species. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 172, 72–84.

Vural HC, Ozgun D (2011) An improving DNA isolation method for identification of anaerobic bacteria in human colostrum and faeces samples. *J. Med. Genet. Genom*, 3, 95-100.

Wang Q, Sun Q, Wang J, Qiu X, Qi R, Huang J (2021) *Lactobacillus Plantarum* 299v Changes MiRNA Expression in the Intestines of Piglets and Leads to Downregulation of LITAF by Regulating Ssc-MiR-450a. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 1–13.

Williams DJ, Edwards D, Hamernig I, Jian L, James AP, Johnson SK, Tapsell LC (2013) Vegetables containing phytochemicals with potential anti-obesity properties: A review. *Food Res. Int.* 52, 323–333.

Włodarska K, Pawlak-Lemańska K, Górecki T, Sikorska E (2017) Classification of commercial apple juices based on multivariate analysis of their chemical profiles. *International Journal of Food Properties.* 20(8), pp. 1773–1785, DOI: 10.1080/10942912.2016.1219367.

World Gastroenterology Organization (2017) Global Guidelines Probiotics and Prebiotics.

Yang MH, Lin HJ, Choong YM (2002) A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Res. Int.* 35, 627–633.

Yang J, Tan H, Cai Y (2016) Characteristics of lactic acid bacteria isolates and their effect on silage fermentation of fruit residues. *J. Dairy Sci.* 99:5325-5334. doi: 10.3168/jds.2016-10952

Ye M, Yue T, & Yuan Y (2014) Evolution of polyphenols and organic acids during the fermentation of apple cider, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(14), 2951–2957. https://doi.org/10.1002/jsfa.6639

Yeong MS, Hee MS, & Choon CH (2020) Characterization of high-ornithine-producing Weissella koreensis DB1 isolated from kimchi and its application in rice bran fermentation as a starter culture. *Foods*, 9(11), 1545.

Yu AO, Leveau JHJ, Marco ML (2019) Abundance, diversity and plant-specific adaptations of plant-associated lactic acid bacteria. *Environmental microbiology reports.* 12:16-29. doi: 10.1111/1758-2229.12794

Zhang L, Hu J, Han X, Li J, Gao Y, Richards CM, ... & Cong P (2019) A high-quality apple genome assembly reveals the association of a retrotransposon and red fruit colour. *Nature communications.* 10(1), 1-13.

Žuntar I, Petric Z, Bursać Kovačević D, & Putnik P (2020) Safety of probiotics: functional fruit beverages and nutraceuticals. *Foods.* 9(7), 947.