ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი,

ბიოლოგიის დეპარტამენტი

სამაგისტრო პროგრამა გამოყენებითი ბიომეცნიერებები

გვანცა შანშიაშვილი

ქართული ტრადიციული წესით დაყენებული ქვევრის ღვინიდან გამოყოფილი ფლავონოიდური ნაერთების მოქმედების შესწავლა სიმსივნურ უჯრედულ კულტურაზე

ნაშრომი შესრულებულია გამოყენებითი ბიომეცნიერებების

მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები: ასოც. პროფესორი ნუნუ მიცკევიჩი

ასისტ. პროფესორი ზურაბ ქუჩუკაშვილი

თბილისი

2019

სარჩევი

ანოტაცია 3
Annotation 5
შესავალი 6
თავი I-ლიტერატურული მიმოხილვა 9
1.1. ღვინის ზოგადი დახასიათება 9
1.2 ქართული ტრადიციული და ევროპული წესით დაყენებული 11
ღვინოები 11
1.3 . ყურძნის ფენოლური ნაერთები 14
1.4 საფერავი და ფლავონოიდები 19
1.5 სიმსივნის ბიოლოგია 22
1.6 A549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედები 25
1.7 პოლიფენოლური ნაერთების ბიოლოგიური ეფექტები და მათი გავლენა ადამიანის სიმსივნურ უჯრედებზე 26
თავი II. ექსპერიმენტული ნაწილი 29
2.1 საკვლევი მასალა 29
2.1.1 ქვევრის ღვინო 29
2.2 კვლევის მეთოდები 31
2.2 .1 ღვინის გაფილტვრა და დეალკოჰოლიზაცია 31
2.2.2 ფლავონოიდების ექსტრაქცია ეთილაცეტატით გამოწვლილვის მეთოდით 32
2.2.3 ეთილაცეტატის გადადენა და დაკონცენტრირება 34
2.2.4 კონცენტრატის გამოშრობა და ფხვნილის სახით მიღება 35
2.2.5 საერთო ფენოლების განსაზღვრა ფოლინ დენისის მეთოდით 36
2.2.6 საერთო ფლავონოიდების განსაზღვრა AlCl3-ის გამოყენებით 40
2.2.7 A 549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედების ჩამოხსნა ტრიფსინით 43
2.2.8 A 549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედების ჩამოხსნა 44
2.2.9 სიმსივნური უჯრედების დამატება ღვინოდან მიღებულ ფხვნილის ფლავონოიდურ ფრაქციაზე 45
2.2.9 უჯრედული ციკლის ფაზებში სიმსივნური უჯრედების გადანაწილების განსაზღვრა და აპოპტოზის დონის შეფასება ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის მეთოდით 48
2.2.10 უჯრედული ციკლის და აპოპტოზის მაჩვენებლების კვლევა გამდინარე ციტომეტრიის საშუალებით 49
თავი III. კვლევის შედეგები და მათი განხილვა 51
დასკვნა 58
გამოყენებული ლიტერატურა 59

ანოტაცია

ღვინო სულ უფრო ფართოდ განიხილება როგორც ფუნქციური საკვები და მისი სამკურნალო თვისებების შეფასებაში უმნიშვნელოვანესი როლი ენიჭება ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, ფენოლურ ნაერთებს, ორგანულ მჟავებს, ამინომჟავებსა და სხვ. ქართული ჯიშებიდან აღსანიშნავია საფერავი, რომელიც მთელი რიგი ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ორგანული ნაერთებით, უნიკალური გემოთი და განსაკუთრებული ბუკეტით, ასევე სამკურნალო თვისებებით ხასიათდება.

ფლავონოიდები წარმოადგენენ მცენარეული წარმოშობის მეორად მეტაბოლიტებს. მცენარეული წარმოშობის პოლიფენოლებისადმი ინტერესი სულ უფრო იზრდება, რაც გამოწვეულია ანტიოქსიდანტური ნაერთების დადებითი გავლენით ადამიანის ორგანიზმზე.

უნდა აღინიშნოს ოქსიდაციურ სტრესთან დაკავშირებული სიმსივნის პრევენცია. დადგინდა რომ მათი პირველადი ანტიოქსიდანტური აქტივობის გარდა, ნაერთების ამ ჯგუფს ახასიათებს მრავალფეროვანი ბიოლოგიური ფუნქციები, რომლებიც ძირითადად დაკავშირებულია კარდიოვასკულარურ დაავადებების პრევენციასა და კარცენოგენეზის მოდულაციასთან.

როგორც ცნობილია, განსაკუთრებით მაღალი ანტიოქსიდანტური თვისებებით გამოირჩევა ქვერცეტინი, რომელიც ხასიათდება ანტიკარცინოგენული აქტივობით, რაც გულისხმობს უჯრედების პროლიფერაციის და ზრდის ფაქტორების სუპრესიას და გვევლინება როგორც აპოპტოზის ინდუქტორი, რაც იწვევს სიმსივნური უჯრედების რაოდენობის შემცირებას.

ფლავონოიდების სამიზნე არის უჯრედული ციკლის მარეგულირებელი ცილები, რომლებსაც G0/ G1 და G2/M ფაზებში უჯრედების შებოჭვის უნარი გააჩნიათ.

ჩემი სამაგისტრო თემის კვლევის მიზანს წარმოადგენს ქართული ტრადიციული წესით დაყენებული ქვევრის ღვინიდან ფლავონოიდური ნაერთების გამოყოფა და შედარება ევროპული წესით დაყენებულ ფლავონოიდთა რაოდენობასთან და მათი მოქმედების შესწავლა სიმსივნურ უჯრედულ კულტურაზე.

კვლევის მასალას წარმოადგენს სხვადასხვა კომპანიის ერთი და იმავე წელს დაყენებული ქვევრის და ევროპული საფერავის ღვინოები და მათგან მიღებული ფლავონოიდები და მათი მოქმედების შესწავლისთვის საკვლევი მასალა A 546 ხაზის ალვეოლური სიმსივნური უჯრედების კულტურა.

კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ სხვადასხვა ტექნოლოგიით დამზადებული, კერძოდ ქართული ტრადიციული და ევროპული წესით დაყენებული ღვინოები და მათგან მიღბული ფხვნილები, ერთი და იგივე ჯიშის ყურძენში შემავალი საერთო ფლავონოიდთა განსხავვებული რაოდენობით ხასიათდებიან. ჯამური ფლავონოიდური ფრაქციის ანტიპროლიფერაციული ეფექტი სიმსივნურ უჯრედებზე განსხვავდება ღვინის დაყენების ტიპის და ღვინოში ფლავონოიდური ფრაქციის კონცენტრაციის რაოდენობის მიხედვით.

Annotation

Wine is more widely regarded as a functional food and its important role in assessing the medicinal properties is given by biologically active substances, phenolic compounds, organic acids, Amino acids, etc. Red wines contain especially large amount of phenolic compounds. Georgian wine Saperavi is remarkable in this regard.

It should be noted that Red wines contain a variety of polyphenolic antioxidants and organic compounds, unique taste, bouquet and medical properties. Flavonoids belong to the class of metabolites of plant origin.

Plant polyphenols have drawn increasing attention due to their potent antioxidant properties and their positive effects in the prevention of various oxidative stress associated diseases such as cancer.

Various studies showed that, apart from their antioxidant activities, polyphenols are characterised with number of alleged biological functions, including cardiovascular diseases and modulation of carcinogenesis.

The quercetin is known as a very active antioxidant, characterised with anticarcinogenic features including the suppression of cell proliferation as well as suppression growth factors.It is considered as an apoptosis inductor resulted in decreased number of cancer cells.

The target for qercetin is cell cycle phases controlling proteins which have the ability to bind the cells specifically at G0/G1 and G2/M phases of the cell cycle.

The aim of the research was to extract the flavonoids from Georgian traditional Qvevri wine and to study their influence and also compare to EU technology wines on cancer cell culture. The Qvevri and European Saperavi wines of the same harvest, but produced by different companies were selected and flavonoids were extracted, and their influence on 549 adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells were studied.

The results showed the quantitive difference between the total amount of flavonoids extracted from the traditional (Qvevri) and European wines, produced from the same species of grape.

There is difference between antiproliferative effect on cancer cells according to wine technology and total flavonoids in wine.

შესავალი

კაცობრიობის ისტორიაში ღვინოს განსაკუთრებული ადგილი უჭირავს. უხსოვარი დროიდან მას სამომხმარებლოს გარდა საკულტო დანიშნულებაც ჰქონდა. საქართველო რომ ღვინის სამშობლოა ამ მოსაზრებას ზურგს უმაგრებს უამრავი არქეოლოგიური აღმოჩენა, ვაზის კულტურული ჯიშებიც გენეტიკური სიახლოვე საქართელოში გავრცელებულ ველურ ვაზთან და ის დიდი მნიშვნელობა, რაც ღვინოს ენიჭება ქართველი ერის ყოფიერებისა თუ კულტურაში, როგორც ვარაუდობენ, ვაზის მოშენება და ღვინის დაყენება საქართველოსა და მიმდებარე ქვეყნებში 8000 წლის წინ დაიწყო და აქედან თანდათანობით გავრცელდა მესოპოტამიაში, მცირე აზიასა და სირია-პალესტინაში, დაახ. 5 ათასი წლის წინ მეღვინეობა განვითარებულია ეგვიპტეში, მოგვიანებით კი საბერძნეთსა და დანარჩენ ხმელთაშუა ზღვისპირეთში, არქეულ ეპოქაში მეღვინეობისათვის გამოიყენებოდა თიხის ჭურჭელი.

ქვევრი არის ქართული ფენომენი, თანაც იგი მთელი მსოფლიო მეღვინეობისათვის მნიშვნელოვანია როგორც ისტორიული მემკვიდრეობა და ასევე საინტერესო, ინდივიდუალური ღვინოების მიღების საშუალება. [1]

ქვევრში ღვინის დაყენება განსხვავდება დასავლეთის ქვეყნებში აპრობირებული მეთოდებისგან რომლებიც ყურძნის მხოლოდ გარკვეული შემადგენელი ელემენტების მონაწილეობას გულისხმობს ალკოჰოლურ დუღილში და შემდგომაც ნაკლებად ხდება პრეფერმენტული მაცერაცია.

ქვევრის ღვინო მდიდარი ქიმიური შემადგენლობით, უნიკალური გემოთი, ბუკეტით და სამკურნალო თვისებებითაა ცნობილი. [2]

ღვინის სამკურნალო თვისებების შეფასებაში უმნიშვნელოვანესი როლი ენიჭება ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, ფენოლურ ნაერთებს, ორგანულ მჟავებს, ამინომჟავებსა და სხვა. ფენოლური ნაერთები ხასიათდებიან სხვადასხვა ბიოლოგიური ეფექტებით in vitro და in vivo პირობებში, როგორებიცაა, დნმ-ოქსიდაციისგან დაცვა, ანტითრომბული, ანტიმუტაგენური, ანტიკანცეროგენური, ანთების საწინააღმდეგო, ანტიალერგიული, რადიოპროტექტორული, სპაზმოლიტიკური თვისებები. დადებითად მოქმედებენ გულსისხლძარღვთა სისტემაზე, საჭმლის მომნელებელ ტრაქტზე, გავლენას ახდენენ ღვიძლის ფუნქციონირებაზე, ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარებაზე. [3]

ღვინის ფენოლები ახდენენ თავისუფალი რადიკალების შებოჭვას, წარმოქმნიან სტაბილურ ნაერთებს და ეხმარებიან ორგანიზმის იმუნურ სისტემას ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში. მნიშვნელოვანია, რომ ღვინო არ უნდა იყოს დაჟანგული, ასეთ შემთხვევაში ანტირადიკალებს უკვე დაკარგული აქვთ ზემოთ განხილული თვისობრივი შესაძლებლობა. [4]

აღნიშნულ ნაერთებს სხვადასხვა ბიოლოგიური ეფექტები ახასიათებთ in vitro და in vivo პირობებში, დნმ-ოქსიდაციისგან დაცვა, ანტითრომბული, ანტიმუტაგენური, ანტიკარცენოგებური, ანთების საწინააღმდეგო, ანტიალერგიული.

წითელ ღვინოში ფენოლური ნაერთებიდან საყურადღებოა რეზვერატროლი, ანტოციანები, წიპწის პროციანიდული ტანინები და მუხის ელაგიტანინები. ღვინის სხვა ნივთიერებები ეხმარება მათ ეფექტურად მოქმედებაში მაგ: მეტალები-კატალიზატორის ფუნქციას ასრულებენ, ეთანოლი კი აადვილებს მათ შეღწევას უჯრედში. ცალკე აღებულ ანტირადიკალს ისეთივე ეფექტი არ აქვს რასაც ის ავლენს ღვინის შემადგენლობაში.[5]

ფლავონოიდები გამოირჩევიან ანტიკარცენოგენური აქტივობით, რაც გამოწვეულია მათ მიერ უჯრედული მექანიზმების ბლოკირებით. ფლავონოიდების სამიზნე არის უჯრედული ციკლის რეგულატორული ცილები, ციკლინ დამოკიდებული კინაზები, მათი ინჰიბიტორები, ცილა P53 Rb, E2Fs, ATM/ATR და G1/S და G2/Mფაზის მაკონტროლებელი წერტილები. [6]

ანტიოქსიდანტებით მდიდარი ხილის და ბოსტნეულის მაღალი მოხმარების დიეტა მნიშვნელოვნად ამცირებს მრავალი კიბოს რისკს, არსებობს ვარაუდი, რომ ზოგიერთი ანტიოქსიდანტი შეიძლება იყოს ეფექტური აგენტი კიბოს შემთხვევებისა და სიკვდილიანობის პრევენციისთვის. [7]

კვლევის მიზანი: ყოველივე ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, სამაგისტრო თემის მიზანს წარმოადგენს ქართული ტრადიციული წესით დაყენებული ქვევრის ღვინიდან ფლავონოიდური ნაერთების გამოყოფა და შედარება ევროპული წესით დაყენებულ ფლავონოიდთა რაოდენობასთან და მათი მოქმედების შესწავლა სიმსივნურ უჯრედულ კულტურაზე.

დასახული მიზნების მისაღწევად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

საკვლევი მასალის, კერძოდ ღვინოების შერჩევა: ერთიდა იგივე მწარმოებლის მიერ დამზადებული, ერთი და იგივე ჯიშის და წლის მოსავლის, მაგრამ განსხვავებული ტექნოლოგიით დაყენებული;

საერთო პოლიფენოლების და ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრა ღვინოში და ღვინოდან მიღებულ ფლავონოიდური ფრაქციის ფხვნილში შერჩეული ღვინიდან მიღებული ფლავონოიდების ფრაქციის და ცნობილი ფლავონოიდის - ქვერცეტინის მოქმედების შესწავლა სიმსივნურ უჯრედებზე. შერჩეული ღვინოებიდან საწყის ეტაპზე განვსაზღვრეთ საერთო ფენოლების და ფლავონოიდების რაოდენობა ღვინოში და ღვინიდან ფხვნილის სახით მიღებულ ფლავონოიდთა ფრაქციაში. კვლევის შემდგომ ეტაპზე, მიღებული ფხვნილის და ცნობილი ფლავონოიდის ქვერცეტინის მოქმედება შევისწავლეთ ალვეოლურ სიმსივნურ უჯრედულ კულტურაზე.

თავი I-ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1. ღვინის ზოგადი დახასიათება

ღვინო ადამიანთა 8000 წლის კულტურის ნაწილს წარმოადგენს და ყურძნის ტექნოლოგიური გადამუშავების შედეგად მიღებული პროდუქტია, მასში აღმოჩენილი და შესწავლილია 1000-ზე მეტი კომპონენტი, რომელთა უმრავლესობა ადამიანის ორგანიზმისათვის სასარგებლო თვისებებით ხასიათდება, მეტიც მათ შეუძლიათ უმნიშვნელოვანესი როლი შეასრულონ სვადასხვა დაავადების მკურნალობასა და პროფილაქტიკაში [8].

ღვინო არის პროდუქტი, რომელიც მიღებულია მხოლოდ ყურძნის ტკბილის ან ტკბილისა და დურდოს სრული ან ნაწილობრივი ალკოჰოლური დუღილის შედეგად [1]

ყურძნის და ღვინის ქიმიური შედგენილობა მოიცავს სხვადასხვა კლასის ნაერთებს, ნახშირწყლებს, ორგანულ მჟავებს, ფენოლურ, აზოტშემველ, მინერალურ და სხვა ნივთიერებებს. ყურძნის მტევანში ეს ნაერთები არათანაბრადაა განაწილებული. მაგ.: შაქრები თავმოყრილია ნაყოფის წვენში; ფენოლური ნაერთები – ყურძნის კანში, კლერტსა და წიპწაში.

ყურძნის გადამუშავების პროცესში ისინი გადადიან ღვინოში, ამავდროულად განიცდიან რთულ გარდაქმნებს და წარმოადგენენ ახალი ნაერთების წარმოქმნის წყაროს.

ღვინის ძირითადი ნივთიერებები, რომლებიც ყველა ტიპის ღვინოში ვხვდებით შემდეგია: ეთანოლი, ანუ ეთილალკოჰოლი, რომელიც სპირტშემოცვლობას განსაზღვრავს და ღვინოს აძლევს ძალას (სიმაგრეს), სითბოსა და სირბილეს.

ორგანული მჟავები გვხვდებიან თავისუფალი და მარილების სახით. ზოგიერთი მჟავა დაღვინების პროცესში წარმოიქმნება. ფენოლური ნაერთები, რომლებიც ისეთი ფორმით გვხვდებიან როგორც ყურძნის შემადგენლობაში და ასევე ახალი სტრუქტურული ფორმითაც, რომლებიც ღვინის დაყენების ყველა ეტაპზე ახდენენ გავლენას. [10]

სურნელოვანი ნივთიერებები: ჯიშური, დუღილისა და შეძენილი არომატები. შაქრები, რომლის შემცველობის მიხედვით განასხვავებენ ღვინის ტიპს. ნახშირორჟანგი, რომელიც მოქმედებს საგემოვნო თვისებებზე.

ცილები, რომლებიც თეთრ ღვინოში სიმღვრივის საშიშროებას ქმნიან და არღვევენ ღვინის მდგრადობას. [9]

ექსტრაქტული ნივთიერებები, რომლებიც არააქროლადი ნივთიერებებია და ღვინის მაღალ ხარისხსს განაპირობებენ

ნახშირორჟანგი - ბიოქიმიური გარდაქმნების დასასრულს ღვინო გაჯერებულია ნახშირორჟანგით, დროთა განმავლობაში კი მისი შემცველობა ნელნელა კლებულობს. ის ანელებს ღვინნის დაძველების პროცესს და აუმჯობესებს საგემოვნო თვისებებს.

პოლისაქარიდები -ღვინოში გვხვდება ტკბილიდან გადმოსული პექტინების ნარჩენების სახით. პექტინები მოქმედებენ გამხსნელის, ან წყლის მოლეკულის მიმართ. ამიტომ ლიოფილ, ან ჰიდროფილ კოლოიდებსაც უწოდებენ. მათ შეუძლიათ ღვინოს გარკვეული სიბლანტე შესძინონ და როგორც დაცველმა კოლოიდებმა - ხელი შეუშალონ სიმღვრივის გამომწვევი ნივთიერებების ფოლიკულაციასა და გამოლექვას. პოლისაქარიდები ასევე წარმოიქმნება დაღვინების პროცეშიც - გამონთავისუფლდება საფუვრების მიერ განხორციელებული აუტოლიზის შედეგად. [9]

ცილები - ყველა ტიპის ღვინოში გვხვდება დუღილის მსვლელობისას და მას შემდეგაც საფუვრების მიერ გამონთავისუფლებული ცილები. ღვინოში ასევე წარმოდგენილია ყურძნის ცილებიც. წითელ ღვინოში მათი უდიდესი ნაწილი გამოლექილია ტანინებთან ურთიერთქმედებით, თეთრ ღვინოებში კი ისინი უფრო დიდი რაოდენობით არიან წარმოდგენილნი და ღვინის ამღვრევის საშიშროებას ქმნიან.

თავისუფალი მჟავები და მათი მარილები. ზოგიერთი მათგანი ღვინის დადუღების პროცესში წარმოიქმნება, როგორებიცაა: ჭიანჭველამჟავა, რძემჟავა, ქარვამჟავა, და სხვა. ისინი ქმნიან ღვინის მჟავე გემოს, მონაწილეობენ მის საგემოვნო თვისებების ჩამოყალიბებაში და სძენენ მას მდგრადობას. ტანინები და საფერავი ნივთიერებები, იგივე ფენოლური ნაერთები. [10]

1.2 ქართული ტრადიციული და ევროპული წესით დაყენებული ღვინოები

ქვევრში ღვინის დაყენება იწყება ვენახიდან ყურძნის კონტროლით რადგან ქვევრის ღვინისთვის საჭიროა არა მხოლოდ ტექნიკური სიმწიფე (შაქრისა და მჟავიანობის ბალანსი და ა.შ.) არამდედ ფენოლოგიური სიმწიფე რადგან ქვევრის ღვინის ტექნოლოგია მოიცავს ყურძნის ყველა მყარი ნაწილის თანამონაწილეობას ალკოჰოლურ დუღილში.

ყურძენი გარდაიქმნება სხვადასხვა ტიპის ღვინოდ, რომლებიც მრავალი ნიშნით განსხვავდებიან ერთმანეთისგან. - თეთრი ღვინო ძირითადად თეთრი ყურძნისაგან მიიღება (თეთრის თეთრი), თუმცა მისი მიღება შესაძლებელია შავი ყურძნისგანაც (შავის თეთრი). - ვარდისფერი ღვინო უმთავრესად შავი ყურძნისაგან ყენდება. წითელი ღვინო როგორც წესი, ყურძნის შავი ჯიშებისგან ყენდება, თუმცა საფრანგეთის ზოგიერთ რეგიონში დაშვებულია გარკვეული პროპორციით თეთრი ყურძნის შერევაც (მაგრამ არა თეთრი ღვინისა) [1].

ხარისხიანი წითელი ღვინის დაყენების მთავარ და აუცილებელ პირობაა საღვინე მასალის შერჩევა და ტექნოლოგიური პროცესის სწორად და თანმიმდევრულად ჩატარება.

ღვინის თავისივე ჭაჭაზე დასაყოვნებელი პერიოდის განსაზღვრისთვის, დიდი მნიშვნელობა აქვს ყურძნის ჯიშს, ალკოჰოლური დუღილის ხანგრძლივობას, გარემო პირობებსა და სხვ. საშუალოდ წითელი ღვინო ქვევრებში მხოლოდ ალკოჰოლური დუღილის პერიოდში ჩერდება, ეს შეიძლება იყოს 7-10 დღე, მაქსიმუმ 2 კვირა.

თეთრი ყურძნის შემთხვევაში, ღვინოს ჭაჭაზე გაზაფხულამდე ტოვებენ. ჭაჭაზე დიდი ხნით დაყოვნებული ღვინო იძენს მუქ ჩალისფერ, ოქროსფერ ან ჩაისფერ შეფერილობას, გამჭვირვალეა და კრიალა, ხასიათდება ხილის ტონებით და ტანინების ზომიერი შემცველობით, არის ბუნებრივად სტაბილური. [8]

მიწაში ჩაფლულ ქვევრში ტემპერატურა არ იცვლება და ის მუდმივად ღვინის დუღილისათვის საჭირო 13°-15°-ს ინარჩუნებს. მასში ბუნებრივად და ქრონოლოგიურად მიმდინარეობს ის ქიმიური პროცესები, რომლებსაც ქარხნულ წარმოებაში სპეციალური დანადგარები და დანამატები სჭირდება. სანამ ღვინო დადუღდება, მას ხშირი დარევა სჭირდება, დღეში 4-5-ჯერ.

დუღილის დასასრულს ყურძნის წიპწები, ჭაჭა და კლერტი დაძირვას იწყებს და ქვევრის ფსკერზე გროვდება. წნევის ზემოქმედებით წიპწას ლექი გადაეფარება, რის შედეგადაც წიპწა და ღვინო ერთმანეთისგან განცალკევდება.

ქვევრის, როგორც ღვინის დასადუღებელი, დასავარგებელი და შესანახი ჭურჭლის უნიკალურობა, დუღილისა და დავარგების პროცესების ოპტიმალური რეჟიმების განმაპირობებელი ფაქტორები. მეორე მნიშვნელოვანი გარემოება უნდა იყოს თიხის ქვევრის მინერალურ ნივთიერებათა მდიდარი შემადგენლობა.

ქვევრის დასამზადებლად იყენებენ სპეციალურ თიხას, რომელიც მთის საბადოებში მოიპოვება. ის მდიდარია ოქროთი, სასარგებლო ფერადი ლითონებით, მინერალებითა და კირით. კირი ბუნებრივი ანტისეპტიკია, რომელიც ღვინოს 400-მდე სხვადასვა მავნე ბაქტერიისგან იცავს. [3]

ქვევრს აქვს უნიკალური და დახვეწილი ფორმა. მოგეხსენებათ, ქვევრის ძირი ერთგვარ წაწვეტებულ კონუსს წარმოადგენს. ალკოჰოლური დუღილის დასასრულს ყურძნის წიპწების დიდი ნაწილი მარცვალს მოსცილდება, იძირება და გროვდება ქვევრის ძირში; ანუ ქვევრი გვაძლევს ლექის ბუნებრივად დალექვის საშუალებას. [12]

ქვევრში კახური ღვინის დაყენების ტრადიციული წესი უნიკალური მოვლენაა მეღვინეობის ისტორიაში.ტრადიციული კახური ღვინის მიღების რამდენიმე აუცილებელი წინაპირობა არსებობს. ესენია: დასაჭყლეტი ყურძნის მოკრეფა .

საქართველოს მეღვინეობის ერთ-ერთ უმთავრეს რეგიონში -კახეთში ქვევრები მარანშია ჩაფლული, დასავლეთ საქართველოში კი ღვინოს ჰერმეტულად დახურულ ჭურებში (ქვევრი) ღია ცის ქვეშ ინახავენ.

ღვინის ხარისხის ავკარგიანობა დამოკიდებულია ყურძნის ფიზიკურ მდგომარეობასა და მის სიმწიფის ხარისხზე. მოუმწიფებელი ყურძნიდან დაყენებლი ღვინო ნაკლებ ალკოჰოლს შეიცავს, მჟავეა, პიგმენტებით ღარიბი, უსხეულო და არაჰარმონიული. ასეთი ღვინო ინფექციური დაავადებებისადმი მიდრეკილებას იჩენს, ამიტომ ხარისხიანი წითელი ღვინის მისაღებად აუცილებელია კონდიციური მაჩვენებლების (შაქრიანობა, მჟავიანობა და სხვა) დაცვა და რთველის ნორმალურ პირობებში ჩატარება.[9]

ფიზიოლოგიურ სიმწიფეში (23-26%) შაქრიანობის დროს: დაჭყლეტილი ყურძნის მთლიანი მასის დადუღება მიწაში ყელამდე ჩაფლულ ქვევრში, დადუღებული ღვინის დავარგება სრულ დურდოზე დუღილის დამთავრებიდან არანაკლებ 5-6 თვის განმავლობაში. დადუღება ბუნებრივ საფუვრებზე, დავარგების ვადის გასვლის შემდეგ (სითბოს დადგომამდე) ღვინის გადაღება და შენახვა კვლავ ქვევრში.

განსაკუთრებით უნდა აღვნიშნოთ ის, რომ კლერტის მონაწილეობის გარეშე ტრადიციული კახური ღვინო არ დგება. უმაღლესი ხარისხის კახური ღვინო ტრადიციულად გამორჩეულ მიკროზონებში მიიღება .

ქარხნულ პირობებში ღვინის დასაყენებლად სხვადასხვა ქიმიური დანამატები და დანადგარებია საჭირო, რათა შეიძინოს სტაბილურობა და გამჭირვალობა, ქვევრში კი თუ, რა თქმა უნდა, ქვევრიც და თავად მარანიც რიგი წესების დაცვითაა დამზადებული და მოწყობილი, ბუნებრივად მიმდინარეობს ეს პროცესი და არანაირ ქიმიურ დანამატებსა თუ დანადგარებს არ საჭიროებს.

ღვინის დამზადების ევროპული ტექნოლოგია საქართველოში პირველად ალექსანდრე ჭავჭავაძემ XIX საუკუნის დასაწყისში შემოიტანა, რითაც მნიშვნელოვანი სიახლე შესძინა მანამდე არსებულ, ათასწლეულობით დამკვიდრებულ, ღვინის წარმოების ტრადიციას საქართველოში.

ღვინის ევროპული წესით დაყენებისას დუღილში მონაწილეობას არ იღებს ე.წ. “დედო”. მაღალხარისხიანი, ევროპული ტიპის ღვინის მისაღებად მოკრეფილი ყურძენი დიდხანს არ უნდა დაყოვნდეს, რადგან ტკბილით დასველებულ ყურძნის მარცვლებზე სწრაფად ვითარდებიან ძმარმჟავა ბაქტერიები, მათ მიერ წარმოქმნილი პროდუქტები კი შემდეგ ღვინოში გადადიან და აავადებნ მას. გადამუშავებისას ყურძენს აცალკევებენ კლერტისგან, რათა ტკბილში არ გადავიდეს ტანინები და ღვინომ “სიტლანქე“ არ შეიძინოს.

ყურძნისაგან მიღებული ტკბილი გამოიყენება მაღალხარისხოვანი ევროპული ტიპის ღვინის დასამზადებლად, მაგრამ მანამდე ხდება მისი დაწმენდა, რისთვისაც იგი საცერში გატარებით გადაიტანება დასაწდომ ჭურჭელში. ღვინის მეორედ გადაღება ხდება მას შემდეგ, რაც ღვინო მოხვდება დაბალ ტემპერატურაზე, ჩვეულებრივ ეს ხდება

თებერვალ - მარტში. მეორედ გადაღების დროს ღვინო კარგად უნდა დაიწმინდოს, რადგან ამ პერიოდში დუღილის პროცესი დამთავრებულია.

მეორედ გადაღების შემდეგ ჭურჭელს თავი მჭიდროდ ეხურება 23 მის გამოყენებმდე. თუ ხდება ღვინის დაძველების მიზნით შენახვა, მაშინ საჭიროა მესამე გადაღება აგვისტო-სექტემბერში და ბოლო, მეოთხე გადაღებას-დეკემბერში. უჭაჭოდ დაყენებული ტკბილის დუღილი შედარებით დაბალ ტემპერატურაზე მიმდინარეობს. აღსანიშნავია, რომ რაც უფრო დაბალ ტემპერატურაზე დუღს ტკბილი (20-25 გრადუსზე) მით უფრო ხარისხიანი ღვინო მიიღება. [8]

წითელი კლასიკური ტექნოლოგია ყურძენი გადამუშავდება საჭყლეტ კლერტ გამცლელში, შემდეგ მიდის სადუღარ ცისტენში და დუღს, დუღილის შემდეგ ხდება გამოწნეხვა, ნაწნეხი ღვინოს გადატანა დავარებისთვი, ჭაჭა კი სახდელად. დავარგების შედგომ დამუშავება თუ საჭიროა, გაფილტვრა და ჩამოსხმა.

ქვევრის ღვინის ტექნოლოგია- მსგავსია თეთრის და წითლის შემთხვევაშიც. ყურძენი გაივლის საჭყლეტ კლერტსაცლელს, ქვევრში დუღს დურდოზე (კლერტის დამატება მეღვინეზეა დამოკიდებული). დუღლის შემდეგ მეღვინე წყვეტს დატოვებს თუ არა ჭაჭაზე დასავარგებლად .შემდეგ ხდება დამუშავება გაფილტვრა და ჩამოსხმა. [1] [5]

1.3 . ყურძნის ფენოლური ნაერთები

ფენოლური ნაერთები და მათი გარდაქმნის პროდუქტები აქტიურ მონაწილეობას იღებენ ღვინის ტიპის ჩამოყალიბებაში მისი დამზადება-შენახვის ყველა ეტაპზე და უშუალო გავლენას ახდენენ გემოზე, ბუკეტზე, ფერზე, გამჭვირვალობაზე, დაძველების უნრაზე.

ფენოლის ნაერთები, ანუ პოლიფენოლები მოიცავენ ნივთიერებათა ბევრ კლასს: ფენოლის მჟავები, შეღებილი ანტოციანები, მარტივი და რთული ფლავონოიდები. [12]

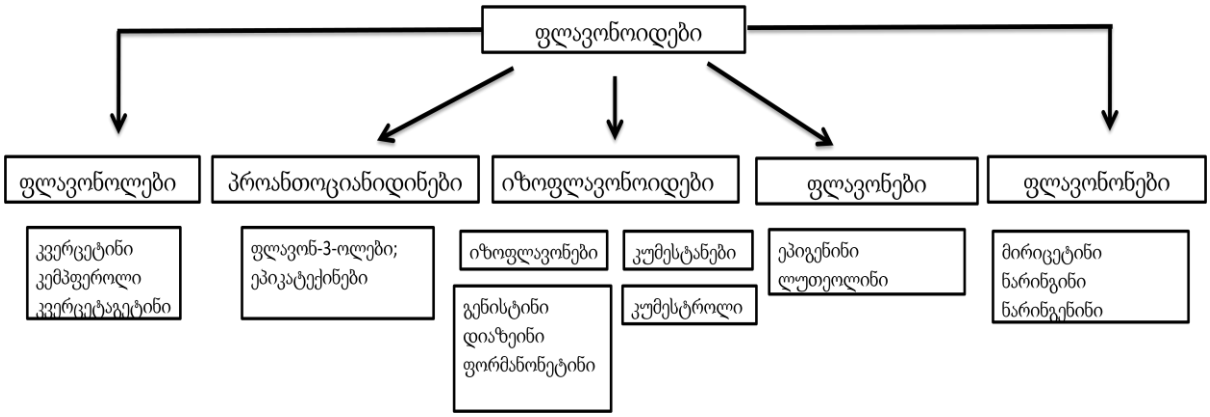
ყველა ფენოლური ნაერთი შეცავს ბენზოლის ბირთვს ერთი, ან რამდენიმე ჰიდროქსილის ჯგუფით. ფენოლური ნაერთები ფართოდ არის გავრცელებული

მცენარეების სამყაროში და წარმოადგენს მცენარეების მეტაბოლიზმის ყველაზე ხშირ პროდუქტს. ორგანიზმისთვის

ფენოლური ნაერთები ძალიან მნიშვნელოვანია, როგორც ანტიოქსიდანტები, რომლებიც ბიოლოგიურად აქტიურ ნაერთებს წარმოადგენენ და ბევრი სსხადასხვა ტიპის დაავადების პრევენციულ საშუალებად მოიაზრება. მაგალითად, ასეთია გულსისხლძარღვთა დაავადებები, სხვადსხვა გენეზისის სიმსივნე, ანთებითი პროცესები, და ა.შ. [13]

ლიტერატურიდან ცნობილია 60 - მდე დაავადება, რომელთა წინააღმდეგ ღვინის ანტიოქსიდანტურ ნაერთებს ფარმაკოლოგიური ეფექტი გააჩნიათ. ფენოლურ ნაერთებში ერთიანდება:

- მარტივი სტრუქტურის ნივთიერებები - არაფლავონოიდები, რომლებშიც შედის ფენოლმჟავები, სტილბენები და სხვა.



სქემა 1. ყურძნის ფლავონოიდების კლასიფიკაცია

ფლავონოიდები მიეკუთვნებიან მცენარეული წარმოშობის ფენოლური ნაერთების ჯგუფს. ფლავონოიდების მოლეკულა შედგება ორი ბენზოლის ბირთვისაგან (A და B), რომლებიც შეერთებულია ერთმანეთთან სამნახშირბადის ფრაგმენტით. ქიმიური თვალსაზრისით, ფლავონოიდური ნაერთები მაღალი რეაქციის უნარით ხასიათდებიან, მაგრამ მათი ფუნქციის საკითხი მცენარეში ჯერჯერობით ნაკლებადაა შესწავლილი. მათი ქიმიური აღნაგობის მრავალგვარობიდან გამომდინარე ფლავონოიდების ფუნქციები მრავალფეროვანია. [6]

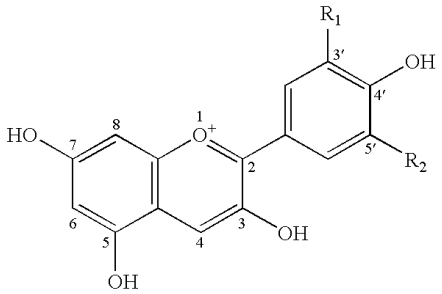
ამ ჯგუფში შედის პოლიმერიზაციით წარმოქმნილი რთული ნაერთები, მაგ. კატეხინების მოლეკულების პოლიმერიზაციით წარმოიქმნებიან კონდენსირებული ტანინები. ისინი წითელ და კახური ტიპის ღვინოების ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან ნაერთებს წარმოადგენენ. ასევე ფლავონოიდები, ანტოციანები, რეზვერატროლი, მირიცეტინი, ქვერცეტინი, კემფეროლი, იზორამნეტინი, კატექინი.

ამ ფენოლური ნაერთებიდან განსაკუთრებით მაღალ ანტიოქსიდანტური თვისებებით გამოირჩევა. (ცის და ტრანს) რეზვერატროლი, მირეციტინი, ქვერცეტინი.

ეს ნაერთები ღვინოში ძირითადად გადადის ყურძნის მარცვლიდან და კლერტიდან. ანტოციანები (ღვინის საღებავი ნივთიერებები) დომინირებენ ყურძნის კანში, კატეხინები– წიპწასა და კლერტში, რაც შეეხება რეზვერატროლს, ის არის ფიტოალექსინი და სინთეზირდება მცენარის მიერ ყურძნის მარცვლის კანში.

ანტოციენიდინების აგებულება:

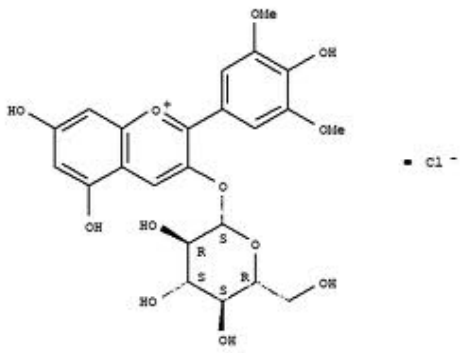
Formula 1

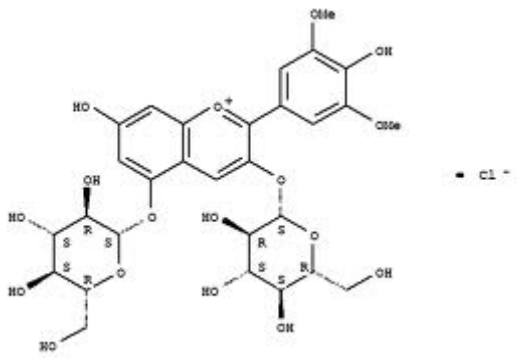


$R_1 = R_2 = H$: Pelargonidin
$R_1 = OH$, $R_2 = H$: Cyanidin
$R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$: Peonidin
$R_1 = R_2 = OH$: Delphinidin
$R_1 = OCH_3$, $R_2 = OH$: Petunidin
$R_1 = R_2 = OCH_3$: Malvidin

წითელი ღვინის საღებავი ნივთიერებების მრავალფეროვნებას ზრდის ანტოციანიდინების უნარი წარმოქმნას სხვადასხვა ეთერები და გლუკოზიდები.

ანტოციენიდინების პროცენტული შემადგენლობა და მათი გლუკოზიდებისა და ეთერების სხვადასხვა ფორმების თანაფარდობა ყურძნის ჯიშის დამახასიათებელი თავისებურებაა. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მალვიდინის დიგლუკოზიდი რომელიც მხოლოდ ამერიკულ ჰიბრიდებში გვხვდება.





მალვიდინის გლუკოზიდი მალვიდინის დიგლუკოზიდი

ანტოციანები აღმდგენელ გარემოში შესაძლოა უფერულ ფორმაში გადავიდნენ, ასევე SO_2 იწვევს მათ გაუფერულებას. აღსანიშნავია რომ ეს რეაქციები უპირატესად მონომერულ ანტოციანებს ახასიათებთ, პოლიმერიზაციის შედეგად მიღებული ნაერთები მდგრადი შეფერილობით გამოირჩევიან. [8]

ანტოციანების შეფერილობა ასევე დამოკიდებულია ხსნარის pH-ზე. ანტოციებს წითელი შეფერილობა ღვინის pH-ის 2,8-4,0 დიაპაზონში ახასიათებთ. უფრო მაღალ pH ჯერ უფერულ ნაერთში გადადის შემდეგ იისფერში, pH 7-8 მაჩვენებლისას ანტოციანები ლურჯ შეფერვას იღებს, კიდევ უფრო მეტი ტუტის მოქმედებით ხდება ანტოციანების გარდაქმნა ყვითელი შეფერილობის ქალკონად. [14]

ალკოჰოლური დუღილისას ან დურდოს თერმული დამუშავებით ხდება ანტოციების გადასვლა ყურძნის კანის უჯრედებიდან ტკბილსა და ღვინოში. ფერმენტაციის ბოლოს ანტოციანების შემცველობა მაქსიმუმს აღწევს. ღვინის დაძველების, ლექზე დავარგების, დამუშავებისა და ფილტრაციის შედეგად ანტოციანების შემცველობა და ღვინის შეფერილობა მცირდება. [14] ყურძნის მაგარი ნაწილებიდან კლერტი და წიპწა მდიდარია ფენოლური ნაერთებით.

ფენოლები ქიმიური ნაერთების დიდი ჯგუფია, რომელიც მეორეული მეტაბოლიტების სახით არის წარმოდგენილი. ღვინის ხარისხობრივი მაჩვენებლების ერთ-ერთი განმსაზღვრელი ფაქტორია მისი ქიმიური შედგენილობა. ეს უკანასკნელი კი წარმოდგენილია ყურძნის შემადგენელი კომპონენტების და მათი გარდაქმნის პროდუქტების სახით. მათი ჟანგვა და კონდანსაცია სხვადასხვა ნივთიერებებთან,

კერძოდ, ცილებთან ქიმიური ურთიერთქმედება თუ კომპლექსწარმოქმნა, უდიდეს გავლენას ახდენს როგორც ღვინის მდგრადობაზე, ისევე მის ხარისხზე. [15]

ღვინის სტაბილურობა, პირველ რიგში, დამოკიდებულია მასში არსებული ფენოლური ბუნების მქონე ნივთიერებების კონცენტრაციაზე, რომლებიც ურთიერთქმედებენ რა სხვა ნივთიერებებთან (ცილებთან, ლიპიდებთან და სხვა) გავლენას ახდენენ მის ხარისხზე. თუმცა, ღვინის სტაბილურობა კოლოიდური სიმღვრივის მიმართ დამოკიდებულია არა ფენოლური ნაერთების საერთო რიცხვზე, არამედ ამ ნივთიერებების გარკვეული ფორმების რაოდენობაზე. ამასთან პოლიმერული ფენოლები აქტიურად მონაწილეობენ კოლოიდური სახის სიმღვრივის ჩამოყალიბებაში. [16]

ფენოლური ნაერთებიდან ტანინები ასრულებენ დიდ როლს ღვინოში მიმდინარე ქიმიურ პროცესებში და იყოფიან ორ ჯგუფად: ინდივიდუალურ პოლიფენოლებად და კომპლექსური ბუნების ნივთიერებებად, რომელთაგან ძირითადია ცილა-ტანინის კომპლექსი. ღვინოში მათი კონცენტრაცია დამოკიდებულია ყურძნის მტევანში მათ შემცველობაზე და ღვინის დაყენების ტექნოლოგიაზე. [8]

ღვინოში საფერავი ნივთიერებებიდან აღსანიშნავია ანთოციანები, რომლებსაც „მცენარეულ ქამელეონადაც“ მოიხსენიებენ. დადგენილი, რომ სხვადასხვა ჯიშის ყურძნის მარცვლის კანი ძირითადად შეიცავს ხუთი ძირითადი ანთოციანიდინის - დელფინიდინის, პეტუნიდინის, ციანიდინის, პეონიდინის, მალვიდინის გლიკოზიდებს და სხვადასხვა მჟავასთან დაკავშირებულ მათ აცილირებულ ფორმებს [6].

აქვე უნდა ღინიშნოს, რომ ანთოციანების შემადგენლობასა და დაგროვებაზე დიდ გავლენას ახდენს მზის სხივები და მისი ინტენსივობა. დაჩრდილულ ადგილზე ვაზის ზრდისას, მარცვლის კანში გროვდება 2-ჯერ ნაკლები რაოდენობით ანთოციანები, ვიდრე მზიან ადგილზე. ღვინის დავარგებისას ანთოციანები განიცდიან პოლიმერიზაციას, რის შედეგადაც წარმოიქმნება მუქი ფერის უხსნადი ნალექი, რომელიც გამოილექება ღვინიდან, აღნიშნული პროცესების გამო ანთოციანების რაოდენობა მცირდება. ეს პროცესი მიმდინარეობს უჟანგბადო არეშიც, თუმცა ჟანგბადი აჩქარებს მას. ანთოციანების ნაწილი კონდენსირდება ალდეჰიდებთან და უკვე 2-3 წლის შემდეგ ღვინოში თავისუფალი ანთოციანები თითქმის აღარ არის. [17]

ყვითელი საღებავი ნივთიერებებია ფლავონები. მცენარეში ისინი წარმოდგენილნი არიან როგორც აგლიკონების, ისე გლიკოზიდების სახით. ყურძენში წარმოდგენილია აპიგენინისა და ლუთეოლინის სახით (დურმაშიძე, ხაჩიძე, 1979). ფენოლური ნაერთები მცენარეში წარმოდგენილია მონომერების, პოლიმერების და ოლიგომერების სახით, მას ვაზის ყველა ნაწილი შეიცავს. [18]

ფენოლური ნაერთებიდან ყურძენში ეთერების სახით გვხვდება ოქსიბენზომჟავები: პ-ოქსიბენზომჟავა, პროტოკატექინმჟავა, გალმჟავა, ვანილინმჟავა და იასამანმჟავა.[13]

ფლავონოიდებიდან ყურძენში ძირითადად წარმოდგენილია კატექინები, ლეიკოანთოციანიდინები, ანთოციანები, ფლავონები, ფლავონოლები და ფლავონოიდების პოლიმერიზაციის პროდუქტები.[19] ვაზში წარმოდგენილი ფლავონოიდური ნაერთები და მათი კლასიფიკაცია მოცემულია სქემა 1-ზე.

1.4 საფერავი და ფლავონოიდები

საფერავიდან მზადდება მაღალხარისხიანი წითელი მშრალი ღვინოები დაძველების დიდი პოტენციალით. ასევე ქვევრის ღვინოები. საფერავი კახეთის მევენახეობის ყველა რაიონს მოიცავს, გავრცელებულია ასევე საქართველოს უმეტეს რეგიონებში. საფერავის ნარგავებს ვხვდებით საქართველოს გარეთაც, გამოიყენება ტკბილი, ნახევრადტკბილი და ვარდისფერი ღვინოების დასამზადებლად. საუკეთესო ღვინოები დგება შემდეგ ადგილებში მოწეული საფერავიდან: მუკუზანი-ახაშენი, ხაშმი, ქინძმარაული, ნაფარეული, ყვარელი, კონდოლი. [20] [21]

საფერავი წმინდა საღვინე ვაზის ჯიშების ჯგუფს მიეკუთვნება. ამ ჯიშის ბიოლოგიური თავისებურებები და ნიშნები საფერავის უძველეს ჯიშზე მიანიშნებენ. [14]

გავრცელებულია შემდეგი სახეობები:

1. საფერავი ბუდეშორისებრი ანუ გრძელ-მარცვალა ;

2. დიდყვავილედიანი საფერავი;

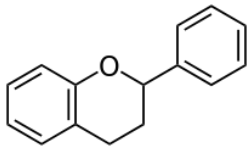
3. მსხვილმარცვალა საფერავი;

4. ყვავილმცვენი საფერავი.

საფერავისგან შეიძლება დავამზადოთ ძლიერი, მაღალმჟავიანი, მაღალი ალკოჰოლის შემცველი, მუქი შეფერილობისა და კარგი ტანიანიანი ღვინო. ტანინებთან და საღებავებთან ერთად საფერავს თავისი ჯიშური, გამორჩეული არომატები გააჩნია, რომლითაც ყოველთვის იცნობა და მის უნიკალურობასაც განაპირობებს. საფერავისაგან მზადდება ძვირფასი მშრალი და ნახევრად ტკბილი ღვინოები, რომელთაც ახასიათებთ თავისი განსაკუთრებული ორგანოსეპტიკური თვისებები.

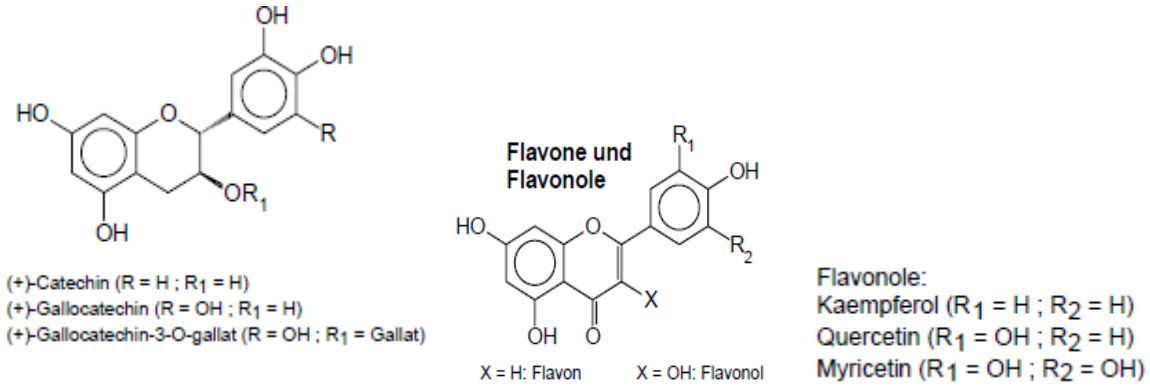
წითელი ღვინის შემადგენელ ფენოლურ ნაერთებს გააჩნიათ ადამიანის ორგანიზმში დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაჟანგვის ინჰიბირების უნარი. 1000-ჯერ განზავებული წითელი ღვინო, რომელიც შეიცავს 10 მგ.მოლი/ლ ფენოლურ ნაერთებს, ლიპოპროტეინების ოქსიდაციის მნიშვნელოვანი ინჰიბიტორია. განსაკუთრებით უნდა აღინიშნოს ფენოლური ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რაც ფაქტობრივად განაპირობებს ღვინის და ყურძნისეული წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიური დანამატების სასარგებლო თვისებებს და შესაბამისად, სამკურნალო-პროფილაქტიკურ ღირებულებას. [22]

კონდენსირებულ ფენოლებში (ფლავონოიდები) ერთ მოლეკულაში ორი არომატული ბირთვი არის ნახშირბადის 3 ატომიანი ჯაჭვით დაკავშირებული. ყველა ფლავონოიდის აგებულების საფუძველს წარმოადგენს ფლავონი



ფლავინი

ღვინის ფლავონოიდებში 4 ძირითადი ჯგუფია: ფლავონოლები ანუ კატექინები, ფლავონოლები, ანტოციანიდინები(ფლავენოლები) და ლეიკოანტოციენები (ფლავონდიოლი)



ყვითელი შეფერილობის ფლავონოილები β-კაროტინთან ერთად თეთრი ყურძნის ძირითადი საღებავი ნივთიერებაა. ყურძნის კანში ფლავონოლების რაოდენობა დამოკიდებულია მზის სხივების მოქმედებაზე. [23] [24]

ღვინოში საფერავი ნივთიერებებიდან აღსანიშნავია ანთოციანები, რომლებსაც „მცენარეულ ქამელეონადაც“ მოიხსენიებენ. დადგენილი, რომ სხვადასხვა ჯიშის ყურძნის მარცვლის კანი ძირითადად შეიცავს ხუთი ძირითადი ანთოციანიდინის ფორმებეს: დელფინიდინის, პეტუნიდინის, ციანიდინის, პეონიდინის, მალვიდინის გლიკოზიდებს და სხვადასხვა მჟავასთან დაკავშირებულ მათ აცილირებულ ფორმებს. [14]

კატეხინები უფერო, კრისტალური ნაერთებია. ყურძნში და მისი გადამუშავების პროდუქტებში კატეხინები ნანახია როგორც თავისუფალი ასევე შეკავშირებული სახით. კატეხინებს სუფთა სახით აქვთ მკვეთრად გამოკვეთილი მწკლარტე გემო, დამჟანგველი ფერმენტების გავლენითა და თბური დამუშავების შედეგად კი გემო ხდება რბილი და არამკვეთრი, სასიამოვნო სიმწკლარტის, რაც დამახასიათებელია მაღალი ხარისხის ღვინოებისათვის. [9]

ანტოციანები - ყურძნის მარცვალში საღებავი ნივთიერებები წარმოდგენილია თავისუფალი სახით სახელწოდებით - ანტოციანიდინები და უმთავრესად კი შაქრის მოლეკულის ნაშთთან შეკავშირებული გლუკოზიდების სახით, სახელწოდებით - ანტოციანები. გლუკოზის ნაშთის რაოდენობის მიხედდვით არჩევენ ანტოციანების მონოგლუკოზიდებსა და დიკლუკოზიდებს.

ყურძნის მარცვლის კანი შეიცავს ანტოციანურ პიგმენტებს - ვარდისფერს, წითელს, ლურჯს და იისფერს სხვადასხვა ვარიაციებით და შესაბამისად ყურძნის მარცვალს სძენენ სხვადასხვა შეფერილობას - ვარდისფერიდან მუქ იისფრამდე. ანტოციანების ფერს მნიშვნელოვნად განაპირობებს არის pH. (შემჟავებისას ანტოციანები ღებულობენ წითელ ფერს).

ანტოციანების ფერი ასევე დამოკიდებულია მეტალებზე, რომლებთანაც ისინი კომპლექსებს წარმოქმნიან, მაგ. მოლიბდენთან დაკავშირებულ ანტოციანებს აქვთ იისფერი შეფერვა, რკინასთან - ლურჯი, ნიკელსა და სპილენძთან - თეთრი, კალციუმთან - მეწამული და სხვა. გამოკვლევებით დადგენილია, რომ სხვადასხვა ჯიშის ყურძნის კანი შეიცავს 5 ძირითად ანტოციანს - დელფინიდინს, პეტუნიდინს, ციანიდინს, პეონიდინს და მალვინიდინს.ასევე სხვადასხვა მჟავებთან დაკავშირებულ მათ კომპლექსურ ფორმებს. [21]

ფლავონოლები - ყვითელი ფერის ნაერთებია. ყურძენში ძირითადად წარმოდგნილია გლუკოზიდების სახით. ჩანაცვლებულ შაქარს წარმოადგენს ძირითადად გლუკოზა, რომლის ნაშთიც ნახშირბადის ატომს უერთდება მესამე პოზიციაში. ფლავონოლების ძირითადი წარმომადგენლებია - კემპფეროლი, ქვერცეტინი და მირიცეტინი. ფლავონოლების შემცველობა კლერტში უფრო მეტია ვიდრე კანში.

პოლიმერული ფენოლური ნაერთები - მათ მიეკუთვნება მთრიმლავი ნივთიერებები - ტანინი, ლიგნინი და მელანინები. ყურძნისა და ღვინის მთრიმლავი ნივთიერებები ანუ ტანინი წარმოადგენს კონდენსირებულ კატექინებსა და ლეიკოანთოციანიდინებს.

1.5 სიმსივნის ბიოლოგია

სიმსივნე, ისევე როგორც ნორმალური ქსოვილი უჯრედებისაგან შედგება, მაგრამ ნორმალური უჯრედებისაგან განსხვავებით სიმსივნურ უჯრედებს დაქვეითებული ან სრულიად დაკარგული აქვთ მომწიფების, დიფერენციაციის უნარი და ახასიათებთ განუსაზღვრელი გამრავლება, რის შედეგადაც წარმოქმნილი სიმსივნური ქსოვილი აზიანებს და არღვევს ირგვლივმდებარე ნორმალურ ქსოვილებსა და ორგანოებს.

სიმსივნე ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში განიცდის ზრდას, თუმცა ეს უკანასკნელი არ განსაზღვრავს მის კეთილთვისებიანობას ან ავთვისებიანობას. იმ შემთხვევაში თუ ქსოვილი არ გამოდის თავისი ტერიტორიის საზღვრებიდან და არ ჩაიზრდება მის ირგვლივ მყოფ ქსოვილებში, მაშინ აღნიშნული სიმსივნე კეთილთვისებიანია.ეს უკანასკნელნი, როგორც წესი იზრდებიან ნელა და არ იძლევიან მეტასტაზებს, კეთილთვისებიანი სიმსივნე წყვეტს თავის არსებობას. როგორც წესი აღნიშნული სიმსივნე აღარ ვითარდება, თუმცა შესაძლებელია მისი მეორადი განვითარებაც. [25]

ავთვისებიანი სიმსივნეები იყოფა ორ ჯგუფად: ეპითელური ქსოვილის სიმსივნეები (კიბო) და შემაერთებელი ქსოვილის სიმსივნეები (სარკომები)

ავთვისებიანი სიმსივნის ძირითადი ნიშანია ქსოვილის საზღვრებიდან გამოსვლა, ასევე ინვაზია ანუ სიმსივნის ჩაზრდა მიმდებარე ქსოვილში. [26]

რაც შეეხება ძირითადი კერიდან სიმსივნური უჯრედების მოწყვეტას და მის გავრცელებას მთელ ორგანიზმში (ჩვეულებრივ ლიმფურ კვანძებში, ღვიძლში, ფილტვებში), ეს უკანასკნელი ხორცილდება სისხლსა და ლიმფის საშუალებით. შედეგად სიმსივნური უჯრედები ჩერდება მოშორებულ ორგანოებში, სადაც ვითერდება სიმსივნური ზრდის მეორადი, შორეული კერა.

აღნიშნულ შემთხვევაში ადგილი აქვს მეტასტაზირებას ანუ სიმსივნური პროცესების გავრცელებას.

აპოპტოზი ესაა ორგანიზმის თავდაცვის ერთ-ერთი ურთულესი და სრულყოფილი საშუალება. ეს არის დნმ-ში ინტეგრირებული ბრძანების კოდი, პროგრამა სამოქმედო ინსტრუქციები კონკრეტული უჯრედის თვითლიკვიდაციისათვის. აუცილებელი არაა ეს უჯრედი იყოს დაბერებული, ან ქიმიური თუ ფიზიკური ფაქტორებით დაზიანებული, ის შეიძლება სრულიად ჯანმრთელიც კი იყოს, მაგრამ მან ორგანიზმის მარეგულირებელი სისტემებისგან მიიღოს ბრძანება თვითგანადგურებისათვის. [27]

როგორც ცნობილია, უჯრედის გაყოფის პროცესში და ორი ახალი უჯრედის წარმოქმნის პირობებში უჯრედი გადის G1, S, G2 (ანუ ინტერფაზას) და M ფაზებს. G1 ფაზაში მიმდინარეობს დნმ-ის სინთეზისათვის მზადება, S ფაზა წარმოადგენს დნმ-ის რეპლიკაციის პერიოდს, G2 ფაზაში მიმდინარეობს მიტოზისათვის მზადება და ბოლოს

საკუთრივ მიტოზი (M) _ პროცესი, როდესაც ადგილი აქვს უჯრედის გაყოფას და ორი ახალი უჯრედის წარმოქმნას. წარმოქმნილი შვილეული უჯრედები მაშინვე შედიან ახალ მიტოზურ ციკლში ან დროებით გადადიან G0 ფაზაში (მოსვენების ფაზაში).

უჯრედული ციკლის მამოძრავებელ ძალას ციკლინ-დამოკიდებული კინაზების (ჩდკ) თანმიმდევრული აქტივაცია წარმოადგენს. თითოეული ციკლინ-დამოკიდებული კინაზა წარმოადგენს ჰოლოფერმენტულ კომპლექსს, რომელიც შედგება საკუთრივ ჰოლოფერმენტი _ ესაა პოლიფერმენტი, რომელიც შედგება აპოფერმენტისა (ცილოვანი ნაწილი) და კოფაქტორისაგან (არა ცილოვანი ნაწილი) 5 კატალიზური (Cdk) და რეგულატორული (ციკლინი) სუბერთეულებისაგან. [25]

ციკლინთან დაკავშირება ზრდის კატალიზური სუბერთეულის (CdK) კინაზურ აქტივობას და განსაზღვრავს მის ლოკალიზაციას და სუბსტრატისადმი სპეციფიკურობას.

თითოეული ციკლინის ექსპრესიის დონე მიზანმიმართულად იცვლება უჯრედული ციკლის მიმდინარეობისას, ხოლო ციკლინ-დამოკიდებული კინაზების ექსპრესია ნაკლებად განიცდის ცვლილებას უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზებში. ნორმალური უჯრედის გაყოფისათვის აუცილებელია, რომ მოსვენების G0 ფაზიდან მიტოზურ ციკლში უჯრედის შესვლა ინიცირდებოდეს სხვადასხვა გარეგანი მასტიმულირებელი ფაქტორით, პირველ რიგში სხვდასხვა სეკრეტორული ციტოკინებით, რომლებიც ზრდის ფაქტორების ჯგუფს მიეკუთვნებიან .გარეგან სიგნალებში იგულისხმება აგრეთვე ზრდის ფაქტორები, როგორიცაა ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი (ECF), სისხლის ფირფიტებიდან (ტრომბოციტები) მიღებული ზრდის ფაქტორი (PDGF), ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი (FGF).

აღნიშნული კომპლექსები განაპირობებენ აგრეთვე უჯრედის S ფაზიდან G2 ფაზაში გადასვლას. ცნობილია, რომ G2 ფაზაში ფუნქციონირებს ციკლინ B/Cdk1 კომპლექსი, ასევე ადგილი აქვს მზადებას მიტოზისათვის. რაც შეეხება თვით მიტოზს, აღნიშნულ ფაზაში აქტიურია ციკლინ B/Cdk1 და ციკლინ A/Cdk1 კომპლექსები, რომლებიც აინდუცირებენ ქრომოსომების კონდენსაციას, ბირთვის გარსის დაშლას, თითისტარას აპარატის აწყობას და ქრომოსომების განთავსებას მეტა-ფაზურ ფირფიტაზე.

შედეგად ადგილი აქვს უჯრედის გაყოფას და ახალი შვილეული უჯრედების წარმოქმნას ცნობილია, რომ უჯრედული ციკლი განიცდის როგორც ნეგატიურ, ასევე

პოზიტიურ რეგულაციას. პოზიტიურ რეგულაცია ხორციელდება ციკლინ-დამოკიდებული კინაზების. [26]

1.6 A549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედები

ალვეოლები თხელკედლიან მიკროსკოპულ სივრცეებს წარმოადგენენ, რომლებიც იხსნება ალვეოლურ პარკში (2-4 ალვეოლური პარკი), ალვეოლურ სავალებში ან უშუალოდ რესპირატორულ ბრონქიოლაში. II ტიპის ალვეოციტებს (მათ გრანულარულ პნევმოციტებსაც უწოდებენ) ახასიათებს კუბური ფორმა და გააჩნიათ მიკროხაოებით დაფარული აპიკალური ამომფენი ფენა. მთავარ ფუნქციას Na+-ის იონების რეაბსორბცია წარმოადგენს, რაც ენერგიის დიდ დანახარჯს საჭიროებს. ენერგიის მარაგს კი გლუკოზას აერობული დაჟანგვა უზრუნველყოფს (CO2 და H2O წარმოქმნა).

A549 მოდელური უჯრედული ხაზი მიიღო 1972 წელს გიორდმა. A546 უჯრედებს ახასიათებთ ადჰეზია, სწრაფად გამრავლება და აქვთ მაღალი მეტასტაზური პოტენციალი. სიმსივნური ქსოვილი აიღეს 58 წლის კავკასიელი კაცისგან. A549 წარმოადგეს ფილტვის ადენოკაცინომულ ქსოვილურ უჯრედებს. A549 უჯრედული ხაზს მკვლევარები იყენებენ ორი მეთოდისათვის: I ფილტვის სიმსივნის შესწავლა და II ნარკოთერაპიაში.

A549 უჯრედები პასუხისმგებელნი არიან ალვეოლის გასწვრივ ზოგიერთი ნივთიერების დიფუზიაზე, კერძოდ წყლისა და ელექტროლიტების. უჯრედების გაზრდა ხდება ინ ვიტროდ, როგორც მონოუჯრედებად ასევე მიმაგრებული კულტურის სახითაც.

უჯრედები დადებითია კერატინისათვის, რაც გამოწვეულია იმუნოფეროქსიდაზას შეფერხებით, შეუძლიათ ლეციტინის სინთეზირება და მაღალშემცველია ცხიმოვანი მჟავების. მჟავები ციტიდინ-დიფოსფოქოლინის უტილიზაციის პროდუქტებია და აუცილებელია მემბრანული ფოსფოლიპიდების მთლიანობის შესანარჩუნებლად.

1.7 პოლიფენოლური ნაერთების ბიოლოგიური ეფექტები და მათი გავლენა ადამიანის სიმსივნურ უჯრედებზე

ფენოლები მცენარეთა მეორადი მეტაბოლიტების დიდი ოჯახია, რომელთა შორისაც გაერთიანებულია 4000-ზე მეტი წარმომადგენელი. ისინი მცენარეებში წამყვან როლს ასრულებენ ცვლად გარემო-პირობებთან ადაპტაციაში. ეს ჯგუფი მოიცავს ქიმიური კომპლექსების ფართო სპექტრს, რომლებიც განაპირობებენ მცენარეთა ანტიბაქტერიულ, ანტივირუსულ, პათოგენური სოკოების, ულტრაიისფერი გამოსხივების და სხვა გარემოს არახელსაყრელი ფაქტორების მიმართ მდგრადობას.

მცენარეებში ფენოლური ნაერთები მონაწილეობენ ფოტოსინთეზის, ლიგნინის წარმოქმნის პროცესებში. ისინი ლიგნინის წარმოქმნაში წარმოადგენენ საწყის მონომერულ კომპონენტებს, ლიგნინი კი თავის მხრივ ზრდის მცენარეული უჯრედების წინააღმდეგუნარიანობას მიკრობების შეჭრის მიმართ, იცავს მცენარეს მიკრობის ჰიდროლიზური ფერმენტებისაგან, ლიგნინის წინამორბედები განაპირობებენ პათოგენური სოკოების ფერმენტების ინაქტივაციას, აბრკოლებენ მიკრობების ტოქსინების დიფუზიას.[26]

ფენოლური ნაერთები ადამიანის ორგანიზმში მოქმედებენ, როგორც ბუნებრივი ანტიოქსიდანტები, ბოჭავენ რა თავისუფალ რადიკალებს, მრავალი სხვადასხვა ტიპის დაავადების პრევენციულ საშუალებად გვევლინებიან, როგორიცაა გულ-სისხლძარღვთა დაავადებები, სხვადსხვა გენეზისის სიმსივნე, ანთებითი პროცესები და ა.შ. ლიტერატურიდან ცნობილია 60 - მდე სხვადახსვა დაავადება, რომელთა წინააღმდეგაც ღვინის ანტიოქსიდანტური ნაერთები ავლენენ ფარმაკოლოგიური ეფექტს.[22]

ფენოლური ნაერთების ანტიოქსიდანტური უნარი ძირითადად განპირობებულია არომატულ ბირთვთან დაკავშირებული ჰიდროქსილის ჯგუფით, დიდი მნიშვნელობა აქვს OH- ჯგუფების განლაგებას ბირთვში და აგრეთვე ნაერთის მდებარეობას ჟანგვით სისტემაში. ფენოლური ანტიოქსიდანტები ეფექტურად აინჰიბირებენ სუპეროქსიდ-ანიონ რადიკალს, სინგლეტურ ჟანგბადს, პეროქსიდ რადიკალებს, ლიპიდების ზეჟანგურ ჟანგვას. [22]

წითელი ღვინის დადებითი მოქმედება გულის იშემიურ დაავადებებზე და ზოგადად, მისი კარდიოდამცავი ეფექტი ძირითადად განპირობებულია რეზვერატროლისა და ქვერცეტინის ბიოლოგიური აქტივობით. ამასთან დაკავშირებით აღსანიშნავია ე.წ „ფრანგული პარადოქსი“ - კვლევებით დადგინდა, რომ ფრანგები, სხვა ხალხებთან შედარებით, ნაკლებად ავადდებიან გულ-სისხლძარღვთა დაავადებებით.

კვლევების შედეგად დადასტურდა. რომ აღნიშნული მოვლენა დაკავშირებულია პოლიფენოლურ ნაერთ რეზვერატროლის მოქმედებასთან. [31] რეზვერატროლი ხასიათდება ასევე ძლიერი ანტისიმსივნური თვისებებითაც. კარცენოგენეზის სამი საფეხურის სინჯებზე გასინჯვისას რეზვერატროლს კიბოსაგან დამცავი მოქმედება აღმოაჩნდა. ასევ რეზვერატროლს გააჩნია ანტიანთებითი ეფექტი და ციკლოოქსიგენაზას და ჰიდროპეროქსიდაზას ფუნქციების ინჰიბიტორს წარმოადგენს[3] მე-20 საუკუნეში, ჩრდილოეთ საფრანგეთში კვლევას ატარებდნენ წითელი ღვინის ეფექტების დასადგენად მკერდის სიმსივნის განვითარებაზე. აღმოჩნდა, რომ წითელი ღვინის მიღებისას (თვეში 4 ლ) სიმსივნის განვითარების რისკი შეიზღუდა.[22]

პოლიფენოლური ნაერთებიდან პროანთოციანიდები ავლენენ სისხლძარღვთა გამაჯანსაღებელ ეფექტს, რაც ვლინდება სისხლძარღვთა გაფართოების უნარში, თრომბოციტების აგრეგაციის შემცირებაში, დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაქვეითებაში და მათი დაჟანგვისადმი მგრძნობელობის შემცირებაში, რაც ანთებით პროცესებთანაა დაკავშირებული.

პროანთოციანიდები ასევე გავლენას ახდენენ ონკოლოგიური დაავადებების დროს მიმდინარე პროცესებში, ახასიათებთ დადებითი მოქმედება იმუნურ სისტემაზე.[10] ყურძნის ექსტრაქტში შემავალი ოლიგომერული პროანთოციანიდები ფლობენ 20-ჯერ უფრო მაღალ ანტიოქსიდანტურ მოქმედებას, ვიდრე C ვიტამინი და 50-ჯერ უფრო მეტს, ვიდრე E ვიტამინი.[33] ზოგიერთ პოლიფენოლურ ნაერთს, როგორებიცაა (+) კატექინი, (-) გლიკოკატექინი, დაუჟანგავი ტანინი, ახასიათებს ასევე P ვიტამინური აქტივობა. კატექინები აძლიერებენ არტერიული სისხლძარღვების კედლების რეზისტენტულ უნარს, რითიც ხელს უწყობენ ასკორბინის მჟავას შეთვისებას.[9]

ფლავონოიდები გამოირჩევიან ანტიკარცენოგენური აქტივობით, რაც გამოწვეულია მათ მიერ უჯრედული მექანიზმების ბლოკირებით. ფლავონოიდების სამიზნე არის უჯრედული ციკლის რეგულატორული ცილები, ციკლინ დამოკიდებული

კინაზები, მათი ინჰიბიტორები, ცილა P53 Rb, E2Fs, ATM/ATR და G1/S და G2/Mფაზის მაკონტროლებელი წერტილები.

ქვერცეტინი მოქმედებს, როგორც G1/S ფაზის სიმსივნური უჯრედების ზრდის ინჰიბიტორად. ERK წარმოადგენს გარე უჯრედულ რეგულატორულ კინაზას და ასტიმულირებს ფილტვის სიმსივნეს, რომელიც A549 უჯრედების პროლიფერაციის შედეგად არის წარმოქმნილი.

ქვერცეტინის და კემფეროლი მოქმედებს, როგორც ინჰიბიტორი და ისინი ასტიმულირებენ p21 and p22 გენის ექსპრესიას, რომელიც უჯრედული ციკლების ინჰიბიტორები არიან.

ფლავონოიდები იწვევენ NF-kB- ს ინჰიბირებას, რაც მნიშვნელოვანი ფაქტორია კიბოს უჯრედების ანგიოგენეზების და პროლიფერაციისთვის.

ანტიოქსიდანტური ფერმენტები (ცილები), რომელთაც განეკუთვნება სუპეროქსიდ დისმუტაზა, კატალაზა და გლუტათიონპეროქსიდაზა. სუპეროქსიდ დისმუტაზა (სოდ) გვხვდება ციტოზოლსა (უჯრედის შიგნით) და მიტოქონდრიებში და წარმოადგენს უჯრედის დაცვის I ხაზს, ვინაიდან სუნთქვის ჯაჭვიდან ელექტრონების გაჟონვის შემთხვევაში, თავდაპირველად წარმოიქმნება სწორედ სუპეროქსიდური რადიკალები, რომელთაც სოდ გარდაქმნის წყალბადის ზეჟანგად. წყალბადის ზეჟანგს კი თავის მხრივ შლის ფერმენტი კატალაზა წყლისა და ჟანგბადის მოლეკულებად. გლუტათიონ პეროქსიდაზა ახორციელებს როგორც წყალბადის ზეჟანგის ინაქტივაციას, ასევე ლიპიდების ჰიდროზეჟანგებს. [34]

თავი II. ექსპერიმენტული ნაწილი

2.1 საკვლევი მასალა

2.1.1 ქვევრის ღვინო

ქვევრის ღვინის დამზადება უნიკალური ხელოვნებაა, რომელიც საქართველოში ტრადიციას წარმოადგენს და იგი სხვადასხვა გამორჩეული ელემენტის კომბინაციას ეყრდნობა, რის შედეგადაც, ღვინის სპეციფიკური სახეობა და გემო იქმნება. ეს ფაქტი (UNESCO) მიერ იქნა აღიარებული. 2013 წლის დეკემბერში, ბაქოში გამართულ მე-8 სესიაზე აღნიშნულმა ორგანიზაციამ ქვევრის ღვინოს კაცობრიობის არამატერიალური კულტურული მემკვიდრეობის ძეგლის სტატუსი მიანიჭა. [12]

ქვევრის ღვინის ერთ-ერთი მთავარი მახასიათებელი და შემადგენელი ნაწილია თავად ქვევრი. ამ ტიპის ღვინის დამზადების ფილოსოფია ეყრდნობა იმ მოცემულობას, რომლის მიხედვითაც, ღვინის დუღილისა და დაყენების დროს, ღვინოში მიმდინარეობს ქიმიური პროცესები, რომლებიც განაპირობებს ქვევრის ღვინისთვის დამახასიათებელ გემოს, არომატს და გარეგნობას. აღნიშნული პროცესები განპირობებულია ღვინის კავშირით ქვევრის თიხასთან. ქვევრები სხვადასხვა საბადოდან მოპოვებული თიხისგან მზადდება, აქედან, ვარდისუბნის, ტყემლოვანას და საწაბლეს კარიერები ყველაზე მნიშ-ვნელოვანია. [9]

ქართული წითელი ღვინოების მთავარ ღირსება ძირითადად დამოკიდებულია მასში დიდი რაოდენობით საღებავების, არომატულ, ექსტრაქტულ და მთრიმლავ ნივთიერებათა შემცველობაზე, რაც ჰარმონიულად არის შეწყობილი ღვინის სხვა შემადგენელ ელემენტებთან. ალკოჰოლური დუღილის პროცესში ყურძნის წვენთან ერთად მონაწილეობს მტევნის მაგარი ნაწილები: ჩენჩო, წიპწა და ზოგ შემთხვევაში კლერტიც, რის შედეგადაც წვნში გადადის საღებავი, მთრიმლავი და ექსტრაქტლი ნივთიერებები, რითაც ღვინოს სხეული და შინაარსი ეძლევა, ხოლო მომწიფებული კლერტი ტანინებით ამდიდრებს ღვინოს [2] [9].

ქვევრის ღვინის დასამზადებლად, დასავარგებლად და შესანახად გამოიყენება უძველესი, ტრადიციული მეთოდის შესაბამისად, ყურძნის მთლიანი (კლერტიანი)

მტევნები საწნახელში, ხის სათავსოში იყრება, რომელიც, როგორც წესი, ხის მთლიანი ნაჭრისაგან ითლება[22].

წიპწის დაზიანების თავიდან ასაცილებლად, ყურძენი ფეხით იწურება და პირდაპირ ქვევრშიმიედინება. ყურძნის ამგვარად (მსუბუქად) დაწნეხვის შედეგად, ყურძნისგან მიღებული წვენის ოდენობა, ჩვეულებრივ, ყურძნის მთლიანი წონის 60%-ს არ სცილდება. მას შემდეგ, რაც ქვევრი გაივსება, ალკოჰოლური დუღილის პროცესი სწრაფად იწყება. აღნიშნული პროცესი ბუნებრივ საფუარებზეა დაფუძნებული, რომელიც ტკბილში ყურძენსა და ყუნწებთან ერთად ხვდება. ხელოვნური საფუარები არ გამოიყენება. ალკოჰოლური ფერმენტაცია ორ კვირამდე გრძელდება, რომლის დროსაც შედარებით მაღალი კონცენტრაციის ეთანოლი იწარმოება. ეთანოლის წარმოება ტკბილში არსებული შაქრისგან შესაბამისი ოდენობის ნახშირორჟანგის წარმოქმნას იწვევს. ყურძნის კანი და სხვა მასალე- ბი მასის ზემოთ ექცევა და ქვევრის ზედა ნაწილში შრეს ქმნის. აღნიშნულ შრეს რეგულარულად ურევენ, რის შედეგადაც დუღილის ქუდის ჰომოგენიზება ხდება [36] [14]

პროცესი მსგავსია ყურძნის წითელი ჯიშებისთვისაც, იმ განსხვავებით, რომ კანის მაცერაცია ოთხი-ექვსი თვის ნაცვლად მხოლოდ 4-6 კვირა გრძელდება. ქვევრის ღვინოები ძლიერი, ტანინიანი ტექსტურით ხასიათდება; თეთრი ღვინო გარგრის, ფორთოხლის ცედრის, თხილის და გამხმარი ყვავილების არომატებს იძენს, წითელი კი უფრო სხეულიანი, კიროვანი სტრუქტურით გამოირჩევა.

ქვევრში ერთდროულად ორი დუღილის პროცესი მიმდინარეობს (ალკოჰოლური და ვაშლრძემ- ჟავური), რაც ყურძენში არსებული ბუნებრივი საფუარისა და რძემჟავას ბაქტერიების მოქმედების შედეგია. რადგან ეს ორივე დუღილის პროცესი ქვევრის ღვინის დამამზადებლის მიერ შეგნებულად არ კონტროლდება (ყურძნის ტკბილის დროდადრო მორევის გარდა), ამ პროცესების შედეგად მიღებულ ღვინის მახასიათებლებს ღვინის წარმოების ეკოკლიმატური პირობები განაპირობებს; აქედან გამომდინარე, თითოეულ ღვინის პარტიას განსხვავებული გემო და არომატი შეიძლება ჰქონდეს. [12]

კახური წესიით ღვინის დამზადების პროცესში მთრიმლავ ნივთიერებათა მაქსიმალური რაოდენობით დაგროვება ხდება კლერტიდან მათი ექსტრაქციის საფუძველზე. ღვინოში ფენოლური ნაერთები იმავე ფორმითაც გვხვდება როგორც ყურძენში და ასევე ახალი სტრუქტურული ფორმებით, რომლებიც მრავალი და რთული

გარდაქმნის შედეგად მიიღება. ღვინოები, რომლებმაც მუხის კასრებში გაიარა დაღვინების თუ დავარგების პერიოდი, შეიცავს მუხის ტანინებსაც. [3] [12]

კვლევის მასალას წარმოადგენს სხვადასხვა კომპანიის ერთი და იმავე წელს დაყენებული ქვევრის და ევროპული საფერავის ღვინოები.

ღვინის ტიპი	წელი	კომპანია
თბილღვინო ევროპული საფერავი	2016	''თბილღვინო''
თბილღვინო ქვევრი საფერავი	2016	''თბილღვინო''
მილდიანი ევროპული საფერავი	2015	''მილდიანი''
მილდიანი ქვევრი საფერავი	2015	''მილდიანი''

ცხრილი 1. კვლევის ობიექტად შევარჩიეთ კომპანია - თბილღვინოს 2016 წლის ევროპული და ქართული ტრადიციული წესით დაყენებული ღვინოები და კომპანია მილდიანის 2015 წლის მოსავლის, ევროპული და ქვევრის ღვინო.

2.2 კვლევის მეთოდები

2.2 .1 ღვინის გაფილტვრა და დეალკოჰოლიზაცია

ღვინის გაფილტვრა ქაღალდის ფილტრის საშუალებით, რათა თავიდან ავიცილოთ ნიმუშში უცხო ნაწილაკების მოხვედრა და აპარატურის დაზიანება, ღვინოს გაფილტვრის დაჩქარების მიზნით წყლის ჭავლით ვქმნიდით ვაკუუმს.

ღვინის დეალკოჰოლიზაციას ვახორციელებდით როტაციულ ამაორთქლებელში 75°C-ზე ვაკუუმის პირობებში, რადგან მაღალი დუღილის ტემპერატურის მქონე

ორგანული ნაერთი გამოხდის დროს შეიძლება დაიშალოს თავის დუღილის ტემპერატურაზე, ზოგიერთ შემთხვევაში კი უფრო დაბალ ტემპერატურაზეც.

ასეთი ნივთიერებების გამოხდისათვის გამოიყენება ვაკუუმ გამოხდა. წნევის შემცირება იწვევს დუღილის ტემპერატურის დაწევას.

ნივთიერება, რომელიც დუღს 350˚C-ზე ვერცხლისწყლის სვეტის 760 მმ (1ატმ), დაბალი წნევის დროს შეიძლება გამოიხადოს დაახლოებით 160-210˚C და 40-50˚C-ზე, შესაბამისად 10 მმ, 0,01 მმ და 0,0001 მმ ვერცხლისწყლის სვეტის წნევის დროს. ამ ეტაპზე სპირტში გახსნილი ფლავონოიდები მთლიანად გადავიდა წყალში.

2.2.2 ფლავონოიდების ექსტრაქცია ეთილაცეტატით გამოწვლილვის მეთოდით

ექსტრაქციას ანუ გამოწვლილვას საფუძვლად უდევს სხვადასხვა ნივთიერების განსხვავებული ხსნადობა ერთსა და იმავე გამხსნელში ან ორ შეურევად გამხსნელში ერთი და იმავე ტემპერატურაზე.

წყალხსნარიდან ორგანული ნაერთების გამოსაყოფად აწარმოებენ გამოწვლილვას ისეთი გამხსნელებით, რომლებიც წყალში უხსნადი არიან, ხოლო მოცემული ივთიერებები მათში კარგად იხსნებიან.

ექსტრაქციის დროს გამხსნელად ხშირად იყენებენ ადვილად აქროლად ნივთიერებებს-დიეთილის ეთერს, ბენზოლს, ქლოროფორმს და სხვ.

გახსნილი ნივთიერების განაწილება ორ თხევად ფაზას შორის (წყალი და ორგანული გამხნელი) განისაზღვრება ნერსტის განაწილების კანონის მიხედვით:

$$SA / SB = K$$

სადაც K-განაწილების კოეფიციენტია, SA და SB - განაწილებული ნივთიერებების ხსნადობა ორივე გამხსნელში (SA -ორგანულ გამხსნელში, SB -წყალში). K მოცემულ ტემ-პერატურაზე მუდმივ სიდიდეს წარმოადგენს. ნივთიერების წყლიდან ექსტრაგირებისათ-ვის იყენებენ ისეთ ორგანულ გამხსნელს, რომელშიც მოცემული ნივთიერება იხსნება ბევ-

რად უფრო ადვილად, ვიდრე წყალში, ე.ი SA>SB. იმ შემთხვევაში, როდესაც K≥20, ნივთიე-რების წყლიდან გამოსაწვლილვად საკმარისია ერთჯერადი ექსტრაჰირება.

თუ K<20, ექსტრაჰირებას რამდენიმეჯერ აწარმოებენ გამხსნელის ახალი ულუფების დამატებით. წყალხსნარიდან ორგანული ნივთიერების ექსტრაგირებას და ერთმანეთში შეურევადი სითხეების გამოყოფას აწარმოებენ ცილინდრისებრი ან მსხლისებრი გამყოფი ძაბრების საშუალებით. ექსტრაქციის დაწყებამდე საჭიროა შემოწმდეს გამყოფი ძაბრის ონკანის გამართულობა.ამისათვის მასში ასხავენ წყალს,თუ ონკანი წვეთავს, მას გაპოხავენ ვაზელინით. ძაბრს ამაგრებენ შტატივზე, ჩვეულებრივი ძაბრის საშუალებით ასხავენ საკვლევ სითხეს, უმატებენ მცირეოდენ გამხსნელს და მჭიდროდ ახურავენ საცობს. შემდეგ გამყოფ ძაბრს გადმოაბრუნებენ, თან ხელს უჭერ საცობს, ონკანს და ფრთხილად შეანჯღრევენ, ამ დროს გამხსნელის აორთქლების შედეგად წარმოქმნილი ჭარბი წნევის მოსასპობად საჭიროა ონკანი გაიღოს მცირე ხნით, შემდეგ რამდენიმე წუთის განმავლობაში ენეგიულად ანჯღრევენ ძაბრს და დროდადრო აღებენ ონკანს.

შენჯღევის დამთავრების შემდეგ გამყოფ ძაბრს ამაგრებენ შტატივზე, ქვეშ შეუდგამენ კოლბას ან ქიმიურ ჭიქას. ფენების მკაფიოდ გამოყოფის შემდეგ ძაბრიდან საცობს იღებენ, აღებენ ონკანს და ჩამოასხამენ ქვედა ფენას, ხოლო ზედა ფენას ძაბრის ზედა ხვრელიდან გადმოასხამენ.

ექსტრაქციის დამთავრების შესამოწმებლად ექსტრაქტის ბოლო წვეთს ათავსებენ საათის მინაზე და გამხსნელს აორთლებენ. თუ სინჯი აორთქლდა ნარჩენის გარეშე, მაშინ ექსტრაცია დამთავრებულად ითვლება.

ჩვენს შემთხვევაში გამოწვლილვას ვახორციელებდით ცილინდრისებრ გამყოფ ძაბრში. 3-ჯერ უწყლო ეთილაცეტატით (თანაფარდობა 1:1, დაყოვნება - 24 სთ) და ვაერთიანებდით ექსტრაქტებს.

ცდის ამ ნაწილში ფლავონოიდები წყლიანი ფაზიდან გადავიდა ეთილაცეტატში.

სურათი 1. ფლავონოიდების ექსტრაქცია ეთილაცეტატით გამოწვლილვის მეთოდით

ექსტრაქტის გაუწყლოვების მიზნით, მიღებულ ექსტრაქტს ვამატებდით Na2SO4-ს ნჯღრევის პირობებში და ვფილტრავდით ფილტრის ქაღალდით.

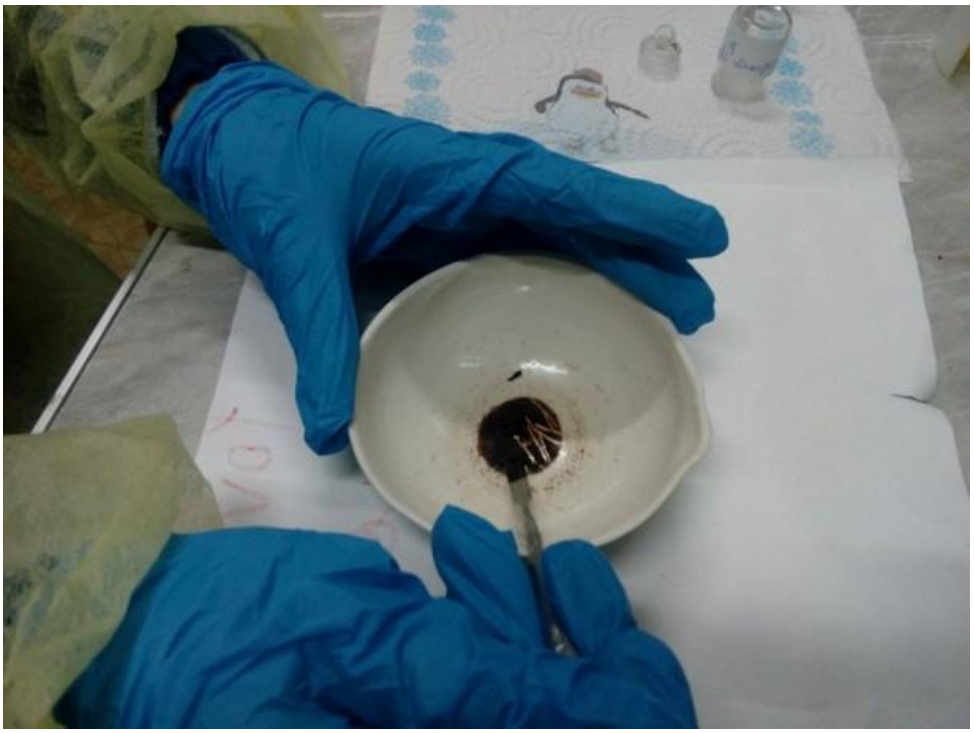
2.2.3 ეთილაცეტატის გადადენა და დაკონცენტრირება

აღნიშნულ ეტაპზე როტაციულ ვაკუუმ ამაორთქლებელში ექსტრაქტიდან ვაორთქლებდით ეთილაცეტატს მშრალ ნაშთამდე, რათა დაგვეკონცენტრირებინა ფლავონოიდები და გაგვეადვილებინა მათი გამოშრობა ანაეროსტატში.

2.2.4 კონცენტრატის გამოშრობა და ფხვნილის სახით მიღება

ეთილაცეტატის გადადენის შემდგომ კონცენტრატი გადავიტანეთ ფაიფურის ჯამში და მოვათავსეთ ანაეროსტატში, სადაც შევქმენით ვაკუუმი -60 კპა, ტემპერატურა გავზარდეთ 75C^0.

კონცენტრატი შრებოდა დაახლოებით 3-4 დღე. შრობის შედეგად ფლავონოიდების ფრაქცია მივიღეთ ფხვნილის სახით.



სურათი 2. ფხვნილის სახით მიღებული ფლავონოიდთა ფრაქცია

ექსპერიმენტის მსვლელობა:

300 მლ ღვინოს ვფილტრავთ ქაღალდისფილტრით ⬇
ვახდენთ ღვინის დეალკოჰოლიზაციას როტაციულ ვაკუუმ ამაორთქლებელში, ვაკუუმისქვეშ 75° C-ისპირობებში ⬇
200მლდე ალკოჰოლიზებული ნიმუში გადაგვაქვს გამყოფ ძაბრში, ვამატებთ 200 მლ უწყლო ეთილაცეტატს (ეთილაცეტატით გამოწვლილვას ვახორციელებთ 3ჯერ) ⬇
ვაერთიანებთ თეთილაცეტატის ექსტრაქტებს, გაუწყლოვების მიზნით ვამატებთ Na2SO4-ს ნჯღრევის პირობებში და ვფილტრავთ ⬇
ვაორთქლებთ ეთილაცეტატს როტაციულ ვაკუუმ ამაორთქლებელში მშრალ ნაშთამდე ⬇
მიღებულ ნაშთს ვხსნით მეთანოლში და ვაშრობთ ანაეროსტატში ვაკუუმის ქვეშ, 3-4 დღის განმავლობაში.

სქემა 2. ღვინიდან ფხვნილის სახით ფლავონოიდების ფრაქციის მიღება

2.2.5 საერთო ფენოლების განსაზღვრა ფოლინ დენისის მეთოდით

ფენოლური ნაერთების საერთო რაოდენობის განსაზღვრა მოხდა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.

მეთოდის არსი მდგომარეობს შემდეგში: საკვლევ ნიმუშში შემავალი ფენოლური ნაერთები იჟანგება ე.წ. ფოლინის რეაგენტით, რომლის შემადგენლობაშიც შედის

ფოსფოვოლფრამმჟავა (H3PW12O40) და ფოსფომოლიბდენმჟავა (H3PMo12O40). ფენოლი ნაერთების დაჟანგვისას ისინი აღდგებიან შესაბამისად ვოლფრამისა და მოლიბდენის ლურჯი ფერის ოქსიდებად. მიღებული ლურჯი ფერის ინტენსივობა ისაზღვრება 750 ნმ-ზე.

მიღებული ექსტენციის კოეფიციენტის სიდიდე - ე.წ „ფენოლური კოეფიციენტის მნიშვნელობა პროპორციულად შეესაბამება ღვინის ნიმუშში შემავალი ფენოლური ნაერთების რაოდენობას, რასაც ვსაზღვრავთ საკალიბრო მრუდის მიხედვით ქვერცეტინთან მიმართებაში. [38]

საკალიბრო მრუდის ასაგებად საჭიროა მომზადდეს ქვერცეტინის სპირტხსნარები:

დედა ხსნარი (500 მგ/ლ) - ქვერცეტინი 50 მგ შევავსოთ ეთანოლით 100 მლმდე.

საკალიბრო კონცენტრაციები (25 მლ-იანი კოლბები ჭდემდე ივსება ეთანოლით.

დედახსნარის რაოდენობა (მლ) 25 მლ-იან კოლბაში	ქვერცეტინის კონცენტრაცია (მგ/ლ)
2,5	50
5	100
10	200
15	300
20	400

საკვლევი მასალა:

#	**საკვლევი ღვინო**	განზავება
1	თბილღვინო საფერავი ქვევრი 2016	X 20
2	თბილღვინო საფერავი 2016	X 20
3	კოლხიდა საფერავი ქვევრი 2015	X 20
4	კოლხიდა საფერავი 2015	X 20

ცხრილი # 2. ნიმუშების განზავება.

საჭირო რეაქტივები:

Folin-Denis-ის რეაგენტი

10 % იანი Na_2CO_3

გამოხდილიწყალი

საჭირო ხელსაწყოები:

- 25 მლ მოცულობის კოლბა 20 ცალი;
- 1,5 მლ მოცულობის ეპენდორფი 10 ცალი;
- 1000 მკლ და 5 მლ მოცულობის ვარიაბელური ავტომატური პიპეტი;
- სპექტოფოტომეტრი;

ექსპერიმენტის მსვლელობა :

ყველა 25 მლ-იან მზომ კოლბაში გადაგვაქვს 250 მკლ განზავებული ნიმუში

↓

ვუმატებთ 1,25მლ Folin-Denis-ის რეაგენტს

↓

3 წუთი ინკუბაცია ნჯღრევის პირობებში

↓

ვუმატებთ 2.5მლ 10%-იან Na_2CO_3-ს

↓

კოლბას ვავსებთ ჭდემდე გამოხდილი წყლით

↓

30 წუთი ინკუბაცია პერიოდული შენჯღევით

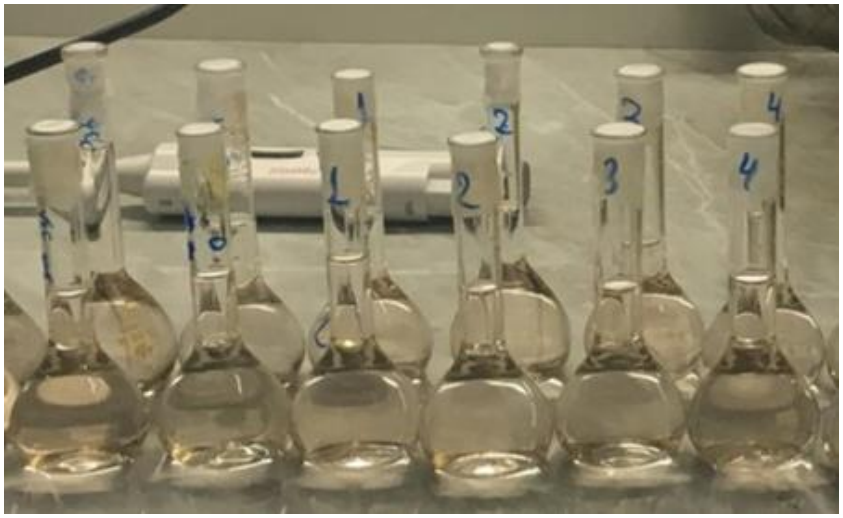
↓

საკვლევი ნიმუში ვასხვამთ კიუვეტში 2ჯერ გამოვლებით

↓

ვზომავთ 750 ნმ-ზე

სქემა 3. საერთო ფენოლების განსაზღვრა ფოლინის რეაგენტის გამოყენებით.



სურათი 3. საერთო ფენოლების განსაზღვრისთვის გამზადებული ნიმუშები

2.2.6 საერთო ფლავონოიდების განსაზღვრა AlCl3-ის გამოყენებით

საერთო ფლავონოიდების განსაზღვრისათვის გამოვიყენეთ კლასიკური მეთოდი.

მეთოდის არსი მდგომარეობს შემდგომში, ალუმინის ქლორიდი სტაბილურ კომპლექსებს წარმოქმნის C4 კეტოჯგუფთან და ასევე C3, C5 ჰიდროქსილის ჯგუფებთან ფლავონების და ფლავონოლების შემთხვევაში.

ამავდროულად ახდენს მჟავა ლაბილური კომპლექსების ფორმირებას ფლავონოიდების A და B რგოლის ორთო-დიჰიდროქსილის ჯგუფებთან.

სტანდარტულ მრუდს ვაგებდით ქვერცეტინთან მიმართებაში.

საჭირო რეაქტივები:

- 5 %-იანი $NaNO_2$
- 10 %-იანი $AlCl_3$
- 1 მოლარობის NaOH
- გამოხდილი წყალი

საჭირო ხელსაწყოები:

- 1,5 მლ მოცულობის ეპენდორფი;
- მინის კიუვეტი;

- 25 მლ მოცულობის კოლბა ;
- 1000 მკლ და 5 მლ მოცულობის ვარიაბელური ავტომატური პიპეტი;
- სპექტოფოტომეტრი;

ექსპერიმენტის მსვლელობა:

25 მლ-იან კოლბაში ვასხამთ 10 მლ გამოხდილ წყალს

↓

ვამატებთ 250მკლ საკვლევ ნიმუშს

↓

ვუმატებთ 0.75 მლ 5 %-იან $NaNO_2$-ს

↓

ინკუბაციის პერიოდი 5 წუთი

↓

ვუმატებთ 0.75 მლ 10 %-იან $AlCl_3$-ს,

↓

ინკუბაციის პერიოდი 6 წუთი

↓

ვუმატებთ 5 მლ 1 M NaOH-ს

↓

კოლბას ვავსებთ ჭდემდე გამოხდილი წყლით

↓

შთანთქმას ვზომავთ 510 ნმ-ზე სპექტოფოტომეტრზე

სქემა 4. საერთო ფლავონოიდების განსაზღვრა AlCl3-ის გამოყენებით

საკვლევი ღვინის ნიმუშების განზავება.

#	საკვლევი ღვინო	განზავება
1	თბილღვინო საფერავი ქვევრი 2016	X 20
2	თბილღვინო საფერავი 2016	X 20
3	კოლხიდა საფერავი ქვევრი 2015	X 20
4	კოლხიდა საფერავი 2015	X 20

ცხრილი # 2. ნიმუშების განზავება.

ღვინოდან მიღებული ფლავონოიდური ფრაქციის ფხვნილის განზავება

#	საკვლევი ღვინის ფხვნილი	განზავება
1	თბილღვინო საფერავი ქვევრი 2016	1 მგ/მლ
2	თბილღვინო საფერავი 2016	1 მგ/მლ
3	კოლხიდა საფერავი ქვევრი 2015	1 მგ/მლ
4	კოლხიდა საფერავი 2015	1 მგ/მლ

ცხრილი # 3 საკვლევი ღვინის ფხვნილის განზავება 70 % ეთანოლი

2.2.7 A 549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედების ჩამოხსნა ტრიფსინით

საჭირო რეაქტივები:

DMEM არე

ტრიფსინი

საჭირო ხელსაწყოები:

ლამინარი

ცენტრიფუგა

სინჯარები;

1000 მკლ და 5 მლ მოცულობის ვარიაბელური ავტომატური პიპეტი;

A 549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედები ხასიათდებიან ადჰეზიურობით. სიმსივნურ უჯრედებს ვინახავდით სრულ საკვებ არეში DMEM არეს დამატებული 10%–იანი თერმოინაქტივირებული ხარის შრატი FBS, 500 მკლ PEN-STREP, 500 მკლ სოდიუმის პირუვატი, 500 მკლ MEM არაესენციალური ამინო მჟავების სხნარი 37 °C ტემპერატურაზე 5% CO2 პირობებში.

უჯრედების ჩამოხსნა მიმდინარეობს სტერილურ პირობებში, ლამინარში. პირველ რიგში თერმოსტატში ვათბობთ ტრიპსინს. ვიღებთ უჯრედებიან სინჯარას, გადავღვრით შიდა სითხეს და შიგნით ჩავასხავთ 3მლ ტრიპსინს, ფრთხილად მოვავლებთ და შემდეგ გადავღვრით.

სინჯარას მექანიკურად, ხელით შემოვარტყავთ გვერდებიდან, რათა უჯრედები ჩამოიხსნას, მას შემდეგ რაც უჯრედები ჩამოიხსნება მოვავლებთ RPMI არეს 8 მლ მოცულობით.

შემდეგ ეტაპზე, სინჯარაში არსებულ არე გადაგვაქვს ცენტრიფუგის სინჯარაში დადავაცენტრიფუგირებთ 5 წთ 1500 ბრუნზე.

დაცენტრიფუგირების შემდეგ გადავღვრით სუპერნანტს. დარჩენილ უჯრდებს ვიყენებდით ექსპერიმენტისთვის.

უჯრედების საბოლოო კონცენტრაცია მიყვანილი იქნება 1x10 6 უჯრედი/მლ და გამოყენებული იქნება ფენოტიპიური და ფუნქციური ანალიზისთვის.

2.2.8 A 549 ალვეოლური სიმსივნური უჯრედების ჩამოხსნა

საჭირო რეაქტივები:

DMEM არე

ტრიფსინი

საჭირო ხელსაწყოები:

ლამინარი

ცენტრიფუგა

სინჯარები;

1000 მკლ და 5 მლ მოცულობის ვარიაბელური ავტომატური პიპეტი;

უჯრედების გადაყოფა მიმდინარეობს სტერილურ პირობებში, ლამინარში.

უჯრედებიანი სინჯარიდან ვღვრით საკვებ არეს და ვასხავთ გამთბარ ტრიპსინს 3 მლ მოცულობით, მოვავლებთ უჯრედებს კარგად და გადავღრით.

შემდეგ ფლესკას შემოვარტყავთ გვერდებიდან და ჩამოხსნილ უჯრდებს მოვავლებთ DMEM არეს და ბოლოს გადავიტანთ ცენტრიფუგის 15 მლ-ან სინჯარაში

დავაცენტრიფუგირებთ 5 წუთი 1500 ბრუნზე.

სინჯარაში დარჩენილ უჯრედებს ვუმატებთ 20 მლ საკვებ არეს და ვდგავთ თერმოსტატში.

დაცენტრიფუგირების შემდეგ სინჯარიდან გადავღვრით არეს, დალექილ უჯრედებს დავამატებთ 8 მლ არეს, გავხსნით უჯრედებს არეში დასუსპენზირებით.

შემდეგ გადაგვაქვს ახალ სინჯარაში, სადაც ვამრავლებთ უჯრედებს და ვავსებთ საკვები არით 20 მლ-მდე.

გადათესვისთვის უჯრედების კონცენტრაცია მიგვყავს 0.5X10 6 /მლ. გადათესვისთვის კულტურის ზრდის მონიტორინგისთვის ყოველ 24 საათში ჰემოციტომეტრში ვითვლიდით უჯრედების საერთო რაოდენობას.

დათვლისას ვიყენებთ სტანდარტულ მეთოდს: უჯრედების რაოდენობას ვითვლიდით მიკროსკოპში X400 გადიდებაზე, ჰემოციტომეტრის 4 კუთხის კვადრატში (თითოეული-1მმ 3).

მიღებულ რაოდენობას ვამრავლებდით 10 4 -ზე, რაც შეესაბამება 1 მლ-ში უჯრედების რაოდენობას

2.2.9 სიმსივნური უჯრედების დამატება ღვინოდან მიღებულ ფხვნილის ფლავონოიდურ ფრაქციაზე

საჭირო რეაქტივები:

96 % ეთანოლი

საჭირო ხელსაწყოები

96 ფოსოიანი მრგვალძირა პლანშეტი

CO2 ინკუბატორი

მიკროცენტრიფუგა

ეპენდორფი

საკვლევი ნიმუშები:

ღვინოდან მიღებული ფლავონოიდთა ფრაქცია გახსნილია 96 % ეთანოლში.

#	საკვლევი ნიმუშები	განზავება
1	სიმსივნური უჯრედული კულტურა	-
2	სიმსივნური უჯრ.კულტურა+ ეთანოლი	-
3	ქვერცეტინი	1:1
4	ქვერცეტინი	1:5
5	თბილღვინო საფერავი ქვევრი 2016	1:1
6	თბილღვინო საფერავი ქვევრი 2016	1:5
7	მილდიანი საფერავი ქვევრი 2015	1:1
8	მილდიანი საფერავი ქვევრი 2015	1:5
9	თბილღვინო საფერავი 2016	1:1
10	თბილღვინო საფერავი 2016	1:5
11	მილდიანი საფერავი 2015	1:1
12	მილდიანი საფერავი 2015	1:5

ცხრილი 4. საკვლევი ნიმუშების განზავებები

ექსპერიმენტის მსვლელობა:

96 ფოსოიან პლანშეტის ბრტყელძირა ფოსოებში გადაგვაქვს 200 მკლ უჯრედების სუსპენზია და ვუმატებთ საკვლევი ნიმუშებიდან 5 მკლ ნიმუშს, ღვინის ფხვნილის ფლავონოიდური ფრაქცია და ქვერცეტინი გახსნილია 96 % ეთანოლში;

საკვლევი ნიმუშების დამატების შემდეგ, პლანშეტს ვდგავთ CO2 ინკუბატორში 30 წთ -ის განმავლობაში.

ფოსოებიდან ნიმუშები გადაგვაქვს წინასწარ დანომრილ და გამზადებულ 0 და 24 ეპენდორფებში.

0 სთ-იან ნიმუშებს ვაცენტრიფუგირებთ მიკროცენტრიფუგაში.

სუპერნატანტ ვღვრით და დავორტექსების პარალელურად ვუმატებთ 1მლ 70 % -იან ყინულოვან ეთანოლს.

დანარჩენ ნიმუშებს ვდგავთ 24 სთ-ის განმავლობაში CO2 ინკუბატორში და 24 სთ-ის შემდეგ ვაცენტრიფუგირებთ მიკროცენტრიფუგაში.

სუპერნატანტ ვღვრით და დავორტექსების პარალელურად ვუმატებთ 1მლ 70 % -იან ყინულოვან ეთანოლს. [40]

სურათი 4. 96 ფოსოიან პლანშეტის ბრტყელძირა ფოსოებში საკვლევი ნიმუშების შეტანის პროცესი.

2.2.9 უჯრედული ციკლის ფაზებში სიმსივნური უჯრედების გადანაწილების განსაზღვრა და აპოპტოზის დონის შეფასება ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის მეთოდით

საჭირო რეაქტივები:

70 % ეთანოლი

რნმ–აზა

ეთიდიუმ ბრომიდი

საჭირო ხელსაწყოები

96 ფოსოიანი მრგვალძირა პლანშეტი

CO2 ინკუბატორი

მიკროცენტრიფუგა

ანალიზის მსვლელობა:

უჯრედული ციკლის სურათის მისაღებად ფართოდ გამოიყენება ეთიდიუმ ბრომიდითშეღებვისმეთოდი. ეთიდიუმ ბრომიდი ინტერკალატორულ საღებავებს მიეკუთვნება და უკავშირდება ორმაგ-ჯაჭვიან დნმ–ს. ამგვარად, ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის შედეგად მიიღება უჯრედების გადანაწილების სურათი ორმაგ ჯაჭვიანი დნმ–ის შემცველობის მიხედვით.

- ინკუბაციის დამთავრებისას, უჯრედებს ვაცენტრიფუგირებდით 5 წუთი, 1500ბრ/წმ, +40Cზე.
- მიღებული უჯრედების ნალექს ვაფიქსირებდით ყინულოვანი 70%–იანი ეთანოლით, რომელსაც ინტენსიური შენჯღრევის პირობებში ვორტექსზე ვამატებდით წვეთ-წვეთობით.
- დაფიქსირებულ ნიმუშებს ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვამდე მინიმუმ 18 საათის განმავლობაში ვაინკუბირებდით +40C–ზე.

- ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის წინ, ნიმუშებს ვაცეტრიფუგირებდით 10 წუთი, 2000ბრ/წმ, +20C-ზე.
- ნალექზედა სითხის გადასხმისას ვტოვებდით 20 მკლ–ს (რადგანაც რნმ–აზა აქტიურია ეთანოლში); მომდევნო ეტაპზე);
- ვორტექსზე შენჯღრევის შემდეგ უჯრედების ნალექს ვამატებდით რნმ-აზას 2მკლ (10 მგ/მლ) და ვაინკუბირებდით 30 წუთი ოთახის ტემპერატურაზე .
- შემდეგ უჯრედებს ვასუსპენზირებდით ეთიდიუმ ბრომიდის ხსნარში, რომელიც წარმოადგენდა 1%–იან გლუკოზის ხსნარს ფოსფატურ ბუფერში და შეიცავდა ეთიდიუმ ბრომიდს კონცენტრაციით 50 მკგ/მლ.
- ნიმუშებს ვაინკუბირებდით 30 წუთი ოთახის ტემპერატურაზე.
- შემდეგი ეტაპი: უჯრედული ციკლის და აპოპტოზის მაჩვენებლების კვლევა გამდინარე ციტომეტრიის საშუალებით.

2.2.10 უჯრედული ციკლის და აპოპტოზის მაჩვენებლების კვლევა გამდინარე ციტომეტრიის საშუალებით

საჭირო რეაქტივები:

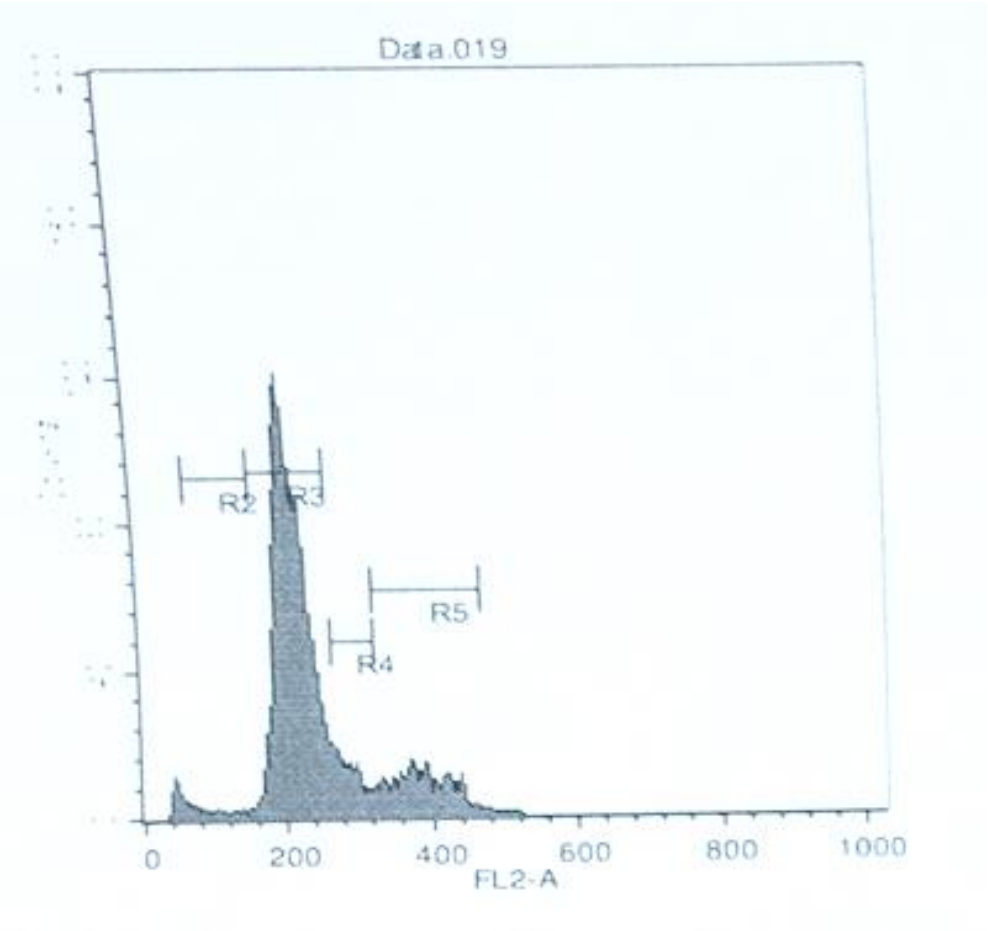
0,9 % NaCl გამდინარე ციტომეტრისთვის

საჭირო ხელსაწყოები:

გამდინარე ციტომეტრი

ფაქსკანის 5 მლ თავსახურიანი სინჯარები

ნიმუშებს ვაანალიზებდით გამდინარე ციტომეტრიის საშუალებით.



სურათი 5. ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის შედეგად მიღებული დნმ-ის ჰისტოგრამა

დნმ–ის ჰისტოგრამაზე (X ღერძი - ფლუორესცენციის ინტენსივობა, Y ღერძი უჯრედების რიცხვი),

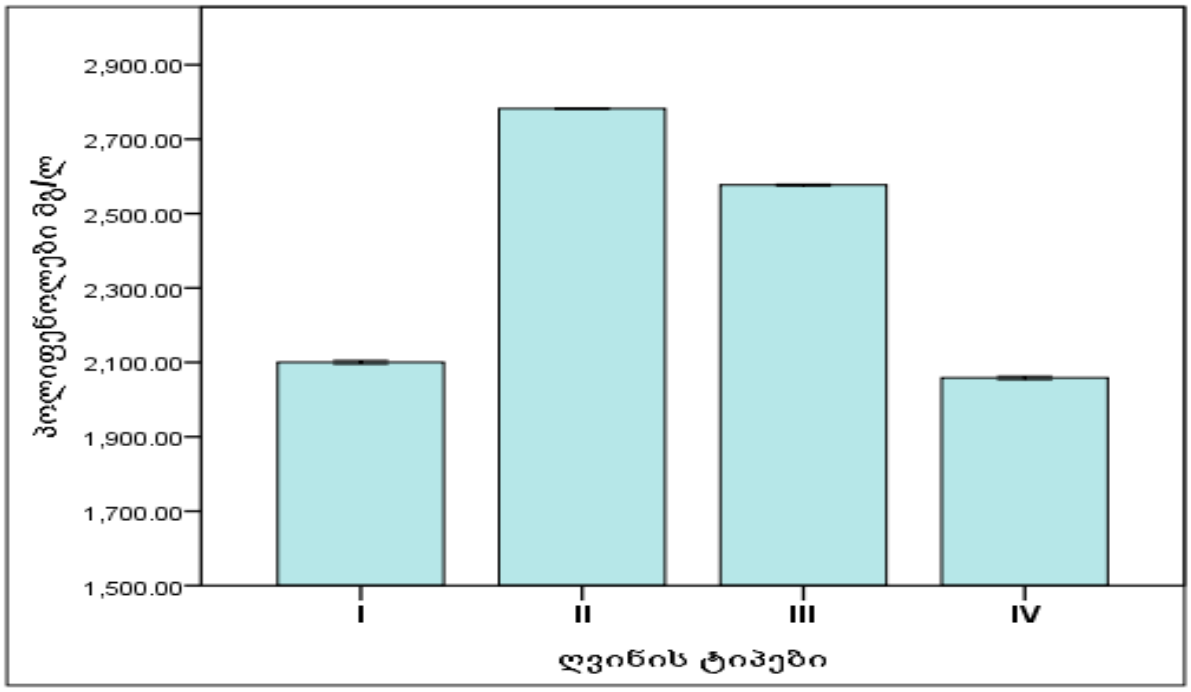
დნმ–ის შემცველობის მიხედვით გამოვყოფდით:

1. ჰაპლოიდურ მონაკვეთს - აპოპტოზური უჯრედები
2. დიპლოიდურ მონაკვეთს G0/G1 ფაზაში მყოფი უჯრედები;
3. გარდამავალ მონაკვეთს - დიპლოიდურ და ტეტრაპლოიდურს შორის- S ფაზაში მყოფი უჯრედები;
4. ტეტრაპლოიდურ მონაკვეთს- G2/M ფაზაში მყოფი უჯრედები.

გამდინარე ციტომეტრის საშუალებით ვადგენდით უჯრედების პროცენტულ შემცველობას თითოეულ მონაკვეთში.

თავი III. კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

მონაცემები სტატისტიკურად დავამუშავეთ სტატისტიკური პროგრამით SPSS. ჯგუფების შედარება მოხდა ერთფაქტორიანი დისპერსიული ანალიზით (One-Way ANOVA). ჯგუფთაშორისი კონკრეტული განსხვავებების ამოსავლენად გამოვიყენეთ Turkey -ის ტესტი. სვეტებზე გადახრები შეესაბამება სტანდარტულ შეცდომებს.



სურათი 6. საერთო პოლიფენოლების კონცენტრაციის განსაზღვრა საკვლევ ნიმუშებში ფოლინ დენისის მეთოდით, მგ/ლ (ქვერცეტინის ექვივალენტი)

I თბილღვინო ევროპული საფერავი 2016 წლის

II თბილღვინო ქვევრი საფერავი 2016 წლის

III მილდიანი ევროპული საფერავი 2015 წლის

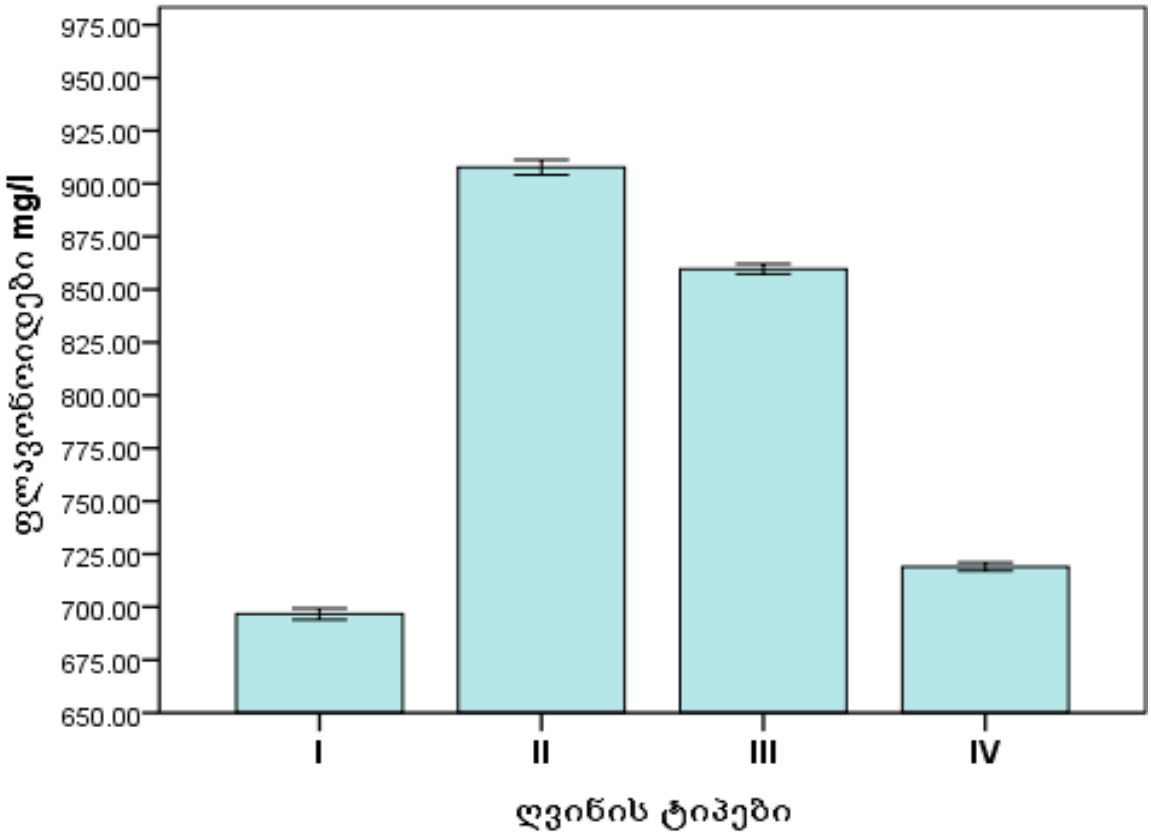
IV მილდიანი ქვევრი საფერავი 2015 წლის

კვლევის ფარგლებში შევისწავლეთ ერთი და იგივე მწარმოებლის მიერ დამზადებული, ერთი და იგივე ჯიშის და წლის მოსავლის, მაგრამ განსხვავებული ტექნოლოგიით დაყენებული ღვინოები.

ქართული ტრადიციული წესით დაყენებულ და ევროპულად დაყნებულ წითელ ღვინოებში პოლიფენოლების კონცენტრაცია ცვალებადობს დაყენების ტიპის მიხედვით.

სხვადასხვა მწარმოებელ კომპანიათა ქვევრის ღვინის განსხავავებული პოლიფენოლების რაოდენობა, ევროპული წესით დაყენებულ ღვინოსთან შედარებით, დაყენების იდივიდუალობაზე მიუთითებს.

როგორც ცნობილიაწითელი ღვინის დაყენების სპეციფიკაციიდან გამომდინარე, წვენს დუღილისას ზოგჯერ დიდხანს აჩერებენ ყურძნის კანზე, რათა ინტენსიური ფერი მიიღოს, შესაბამისად პოლიფენოლებიც უფრო მეტად ექსტრაგირდებიან ღვინოში. მაღალი პოლიფენოლების რაოდენობა ევროპულ ღვინოში ქვევრთან შედარებით სწორედ ამის მეზეზი შეიძლება იყოს.



სურათი 7. საერთო ფლავონოიდების კონცენტრაციის განსაზღვრა საკვლევ ნიმუშებში AlCL3 -ის მეთოდით, მგ/ლ (ქვერცეტინის ექვივალენტი)

I თბილღვინო ევროპული საფერავი 2016 წლის

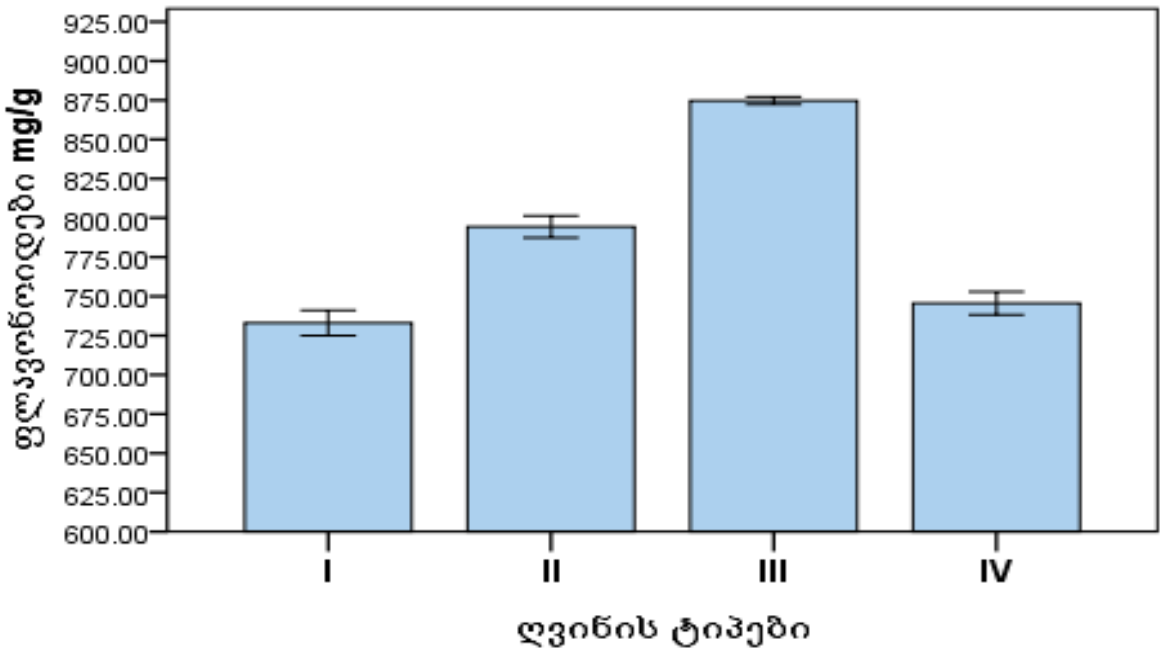
II თბილღვინო ქვევრი საფერავი 2016 წლის

III მილდიანი ევროპული საფერავი 2015 წლის

IV მილდიანი ქვევრი საფერავი 2015 წლის

საერთო ფენოლების მსგავსად, სხვადასხვა კომპანიის, სხვადასხვა ტიპით დაყენებულ ღვინოებს, ფლავონოიდების საერთო კონცენტრაციის განსხავებული რაოდენობა აქვთ.ქვევრის ღვინის საერთო ფლავონოიდური რაოდენობა ევროპული წესით დაყენებულ ღვინოსთან შედარებით, შესაძლებელია გამოწვეული იყოს სხვადასხვა კომპანიის ღვინის დაყენების სპეციფიკიდან გამომდინარე.

უნდა აღინიშნოს, რომ ფლავონოიდების მაღალი შემცველობით ხასიათდებიან სწორედ ის ღვინოები, რომელთა საერთო ფენოლების რაოდენობაც მაღალი იყო ღვინოში, გ/ლ -ზე გადაანგარიშებით.



სურათი 8. საერთო ფლავონოიდების კონცენტრაციის განსაზღვრა ფხვნილის სახით მიღებულ ფლავონოიდთა ექსტრაქტში.

I თბილღვინო ევროპული საფერავი 2016 წლის

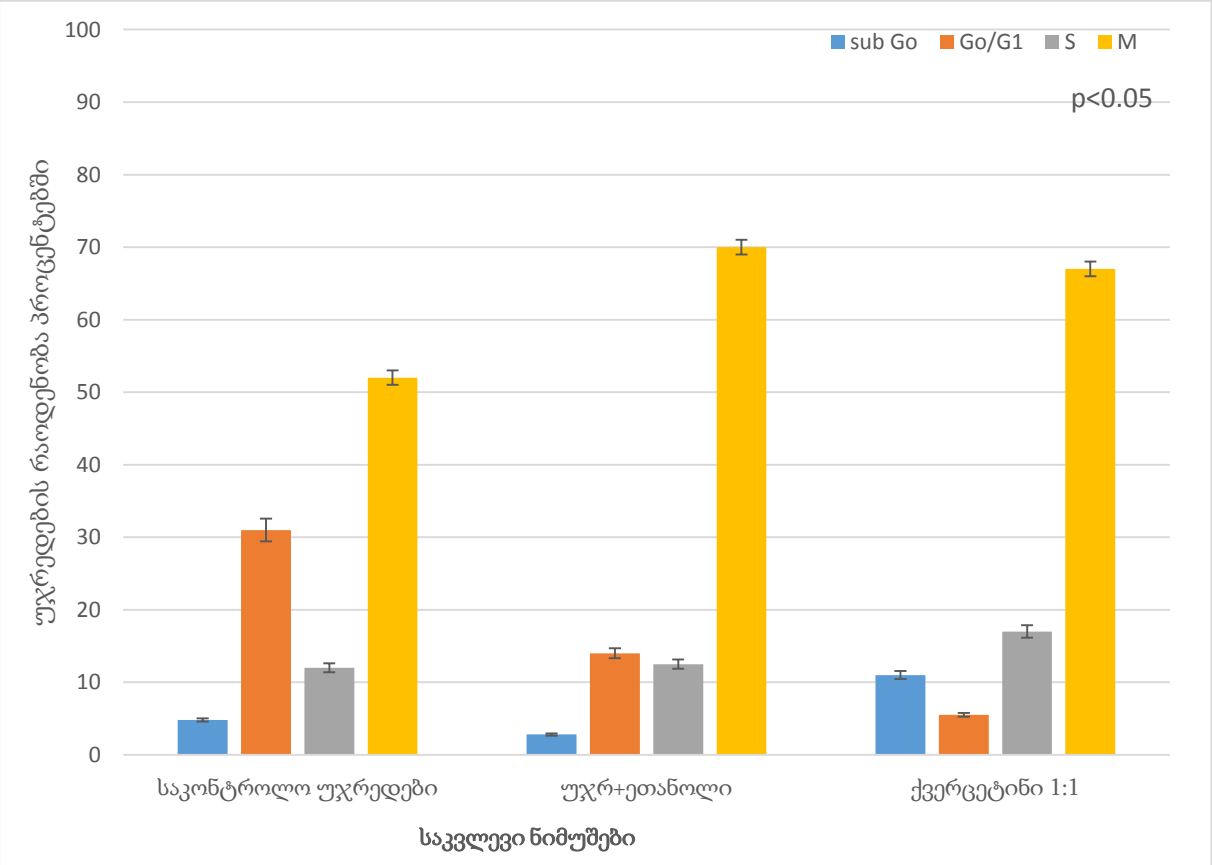
II თბილღვინო ქვევრი საფერავი 2016 წლის

III მილდიანია ევროული საფერავი 2015 წლის

IV მილდიანი ქვევრი საფერავი 2015 წლის

მიღებული შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ სხვადასხვა ტიპით დაყენებული საფერავის ღვინიდან მიღებულ ფლავონოიდთა ფრაქციაში, ფლავონოიდების საერთო კონცენტრაციები განსხვავდება ღვინოში შემავალი საერთო ფლავონოიდური მაჩვენებლისგან.

ექპერიმენტის დროს შესწავლილი იყო სუფთა სახის სიმსივნური უჯრედების კულტურა, (საკონტროლო უჯრედები), ასევე სიმსივნურ უჯრედულ კულტურას დამატებული ეთანოლი, ცნობილი ფლავონოიდური ნაერთი ქვერცეტინი 1:1 და 1:5 განზავებით, ქვევრის ღვინის და ევროპული საფერავის ჯამური ფლავონოიდური ფრაქციის 1:1 და 1:5 განზავებები; ქვერცეტინი და ღვინის ფხვნილი გახსნილია ეთანოლში.



სურათი 9. უჯრედული სასიცოხლო ციკლის, Sub Go, G0/G1, S და M ფაზაში მყოფი უჯრედების პროცენტული გადანაწილება, გამდინარე ციტომეტრის გამოყენებით.

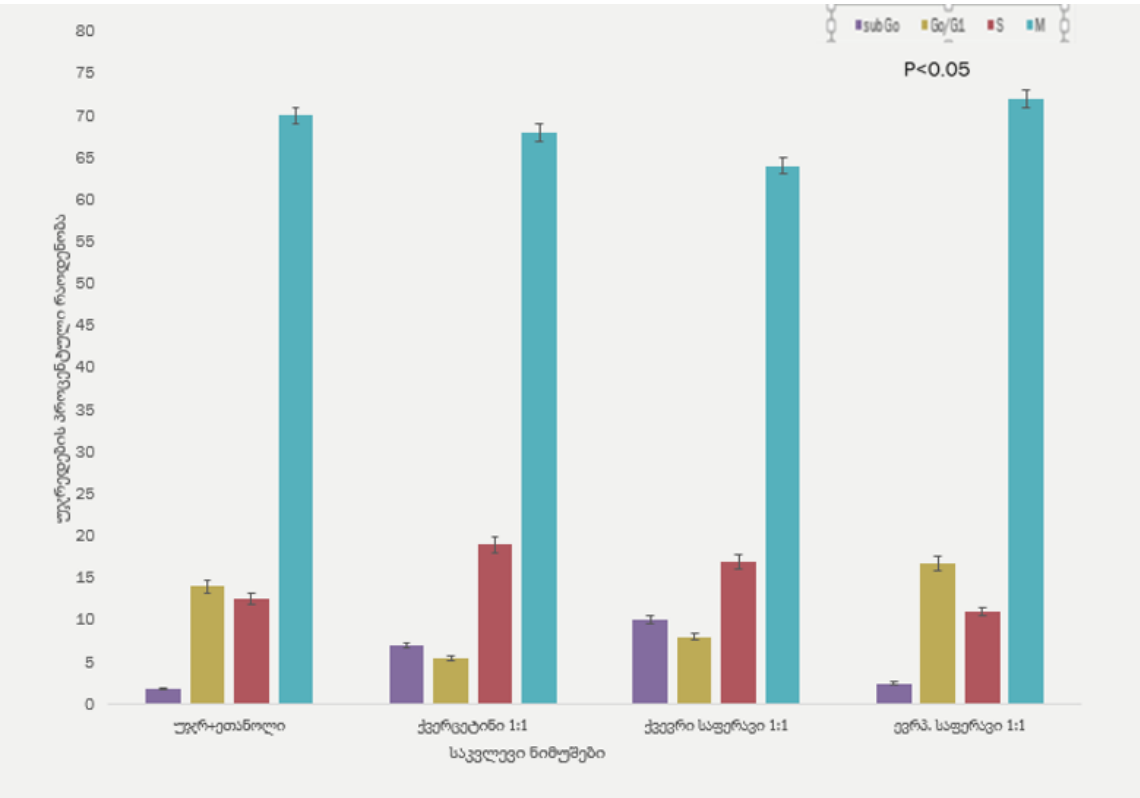
კვლევის ფარგლებში შევისწავლეთ ქართული ტრადიციული ქვევრის და ევროპული წესით დაყენებული ღვინოებიდან გამოყოფილი ფლავონოიდური ნაერთების მოქმედება სიმსივნურ უჯრედულ კულტურაზე, უჯრედის სასიცოცხლო ციკლის Sub Go, G0/G1, S და M ფაზაში. აბსცისა ღერძი შეესაბამება საკვლევ ნიმუშებს და მათ შესაბამისი განზავებებს, ხოლო ორდინატდა უჯრედების რაოდენობის პროცენტულ მაცვენებლს უჯრედული ციკლის ფაზებში.

საკონტროლო უჯრედები და უჯრედებს დამატებული ეთანოლი განსხავებულ ეფექტს ავლენენ უჯრედული სასიცოცხლო ციკლის ფაზებში. ეთანოლს დამატებული უჯრედები განხილულია როგორც უარყოფითი კონტროლი.

Sub Go ფაზაში მყოფი სუფთა სახის სიმსივნური უჯრედების რიცხვი თითქმის უტოლდება უჯრედებს+ეთანოლის ეფექტის რაოდენობას, G0/G1 და S ფაზაში, უჯრედებს + ეთანოლის რაოდენობა შემცირებულია უჯრედების საერთო რაოდენობასთან შედარე-ბით;

უჯრედებს+ეთანოლის M ფაზის განსხვავებული ეფექტი უჯრედების რაოდენობრივ ზრდაში გამოიხატება. ეთანოლი ახდენს გავლენას უჯრედული სასიცოცხლო ციკლის ფაზებში შემავალ უჯრედებზე.

როგორც ლიტერატურიდან არის ცნობილი, ქვერცეტინი ხასიათდება ანტიპროლიფერაციული ეფექტით, რაც გამოიხატება G0/G1 და M ფაზის უჯრედების რაოდენობრივ შემცირებაში, აღნიშნული ფაქტი დადასტურდა ჩვენს კვლევაშიც. ქვერცეტინი შეგვიძლია განვიხილოთ, როგორც დადებითი კონტროლი.

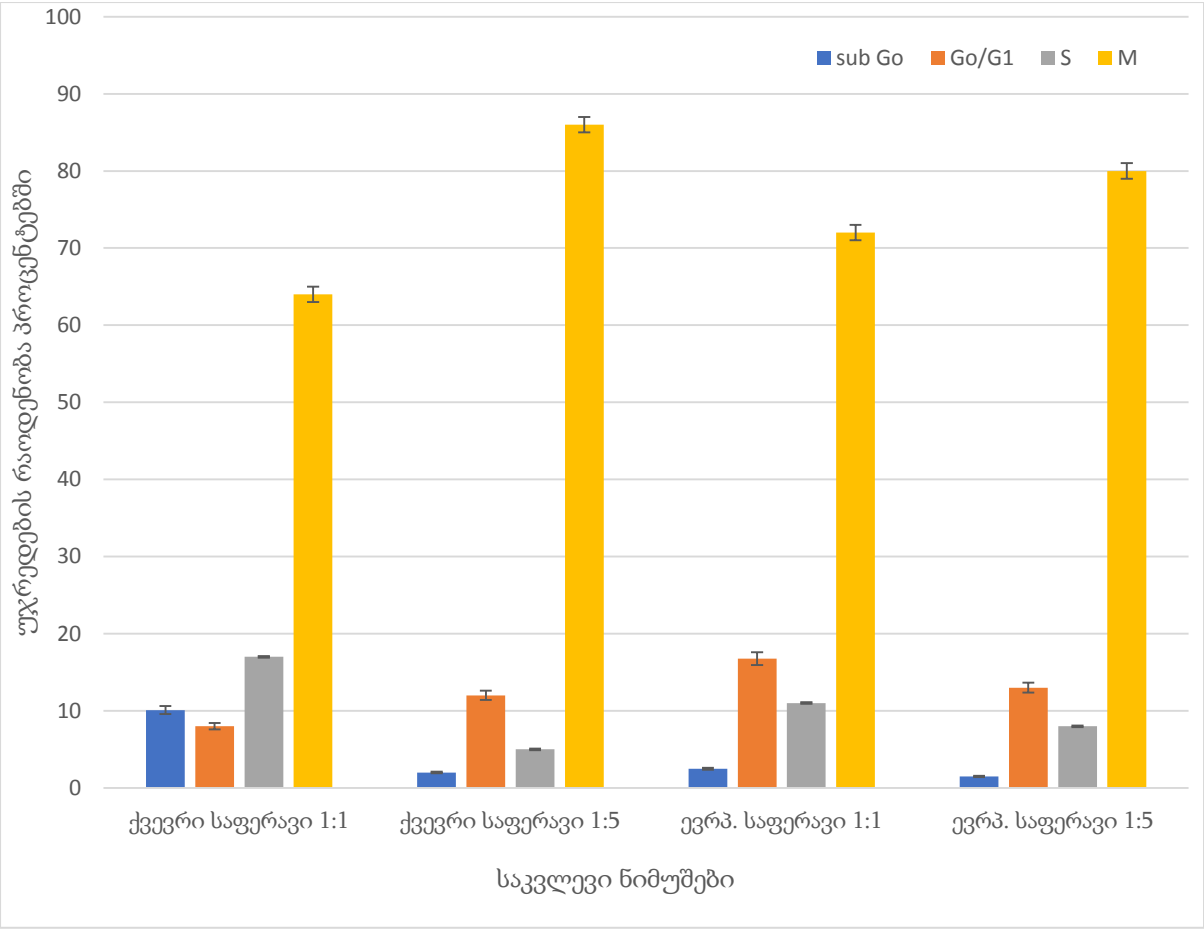


სურათი 10. უჯრედული სასიცოხლო ციკლის, კერძოდ Sub Go, G0/G1, S და M ფაზაში მყოფი უჯრედების პროცენტული გადანაწილება, გამდინარე ციტომეტრის გამოყენების შედეგად.

უნდა აღინიშნოს, რომ ქვევრის ღვინიდან გამოყოფილმა ჯამურმა ფლავონოიდურმა ფრაქციამ კონტროლთან შედარებით მოგვცა დადებითი ეფექტი. შემცირებულია M ფაზის უჯრედები და მომატებულია Sub GO ფაზის უჯრედები.

აღნიშნული ეფექტი არ ფიქსირდება ევროპული წესით დაყენებულ ღვინიდან მიღებულ ფლავონოიდთა ფრაქციის დამატების შედეგად.

სხვადასხვა წესით დაყენებული ღვინოებიდან გამოყოფილი ჯამური ფლავონოიდური ფრაქციის მოქმედების შესწავლისას, ქვევრის ღვინის განზავების ჯამური ფლავონოიდური ეფექტი უტოლდება ქვერცეტინის ეფექტს. (დადებითი კონტროლი)



სურათი 11. უჯრედული სასიცოხლო ციკლის, Sub Go, G0/G1, S და M ფაზაში მყოფი უჯრედების პროცენტული გადანაწილება, გამდინარე ციტომეტრის გამოყენების შედეგად.

საწყისი კონცენტრაციის 1 მგ/მლ განზავების 5 ჯერადი განზავების შედეგად, დადებითი დინამიკა შემცირდა, რაც მიუთითებს, რომ აღნიშნული ეფექტი კონცენტრაცია დამოკიდებულია. გაზრდილია M ფაზის უჯრედები და შემცირებული Sub G0 ფაზის უჯრედები.

ერთი და იგივე ტექნოლოგიით დაყენებული ღვინიდან მიღებული ჯამური ფლავონოიდების ფრაქციის, განსხავვებული განზავების პირობებში შედარების შედეგად შეგვიძლია ვთქვათ, რომ 1 მგ/მლ განზავების დროს ქვევრის ღვინო უჯრედული ციკლის ფაზებში მყოფი უჯრედების პროცენტული მაჩვენებლით ნაკლებია ევროპული ღვინოების 1:5 განზავებასთან შედარებით.

დასკვნა

1. ღვინოში პოლიფენოლების და ფლავონოიდების ჯამური რაოდენობა დამოკიდებულია არა მარტო დაყენების ტიპზე (ევროპული წესით და ქართული ტრადიციული წესით ქვევრში დაყენებული), არამედ კონკრეტული კომპანიის ტექნოლოგიურ თავისებურებზე.
2. ალვეოლურ სიმსივნურ უჯრედებზე განსხვავებული წესით დაყენებული ღვინიდან მიღებული ფლავონოიდების ეთილაცეტატური ჯამური ფრაქციის ანტიპროლიფერაციული მოქმედების ეფექტი პირდაპირ კორელაციაშია ღვინოში ფლავონოიდების კონცენტრაციასა და ღვინის დაყენების წესთან.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. დ.ჩიჩუა ზ.კიკნაველიძე მეღვინეობა

2. Chikvaidze E , Kirikashvili I., Gogoladze T., Chikvaidze L. “Free radical products of bilirubin photooxidation.” Bull. of Georg. Acad. Scien., 2002, 166, pp.327-330;

3. ღლონტი თ. ღლონტი ზ. ქვევრის ღვინის გამორჩეულობა (რით სჯობია ქვევრის ღვინო არა ქვევრისას). თბილისი. 2013. გვ 3-34.

4. გეთიაშვილი რ. რა სარგებლობა მოაქვს ღვინოს. „მარანი“.12.07.2013.

5. Patrick McGovern, Mindia Jalabadze, Stephen Batiuk, Michael P. Callahan, Karen E. Smith, Gretchen R. Hall, Eliso Kvavadze ‘’Early Neolithic wine of Georgia in the South Caucasus” NAS November 28, 2017. 114 (48) E10309-E10318; published ahead of print November 13, 2017.

6. Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression Jae-Hoon Jeong, Jee Young An, Yong Tae Kwon, Juong G. Rhee, and Yong J. Lee

7. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties Jin Dai and Russell J. Mumper. 2010

8. თეიმურაზ ღლონტი - “ყურძნის კლერტი და ქვევრის კახური ღვინო” 2012 წ. http://since1011.com/ka/publications/92-qvevris-kaxuri-gvino.html

9. Bate-Smith and Swain (1962). "Flavonoid compounds". In Florkin M.; Mason H. S (eds.). Comparative biochemistry. III. New York: Academic Press. pp. 75–809.

10. Marangon, M.; Van Sluyter, S. C.; Neilson, K. A.; Chan, C.; Haynes, P. A.; Waters, E. J.; Falconer, R. J. (2011). "Roles of Grape Thaumatin-like Protein and Chitinase in White Wine Haze Formation". Journal of Agricultural and Food Chemistry. **59** (2): 733–740

11.ვაზის წითელყურძნინი ჯიშები, მალხაზ ხარბედაია, მედია ჰაუსი დეკომი, ღვინის კლუბი, ქართული ღვინის გზამკვლევი 2013.

12.ნერცი უ. ბიტარიშვილი ი. და სხვა. ქვევრის ღვინის იდენტობა. საქართველოს ქვევრის ღვინის კლასტერის წევრების მაგალითზე. თბილისი 2017

13. J. Robinson (ed) "The Oxford Companion to Wine" Third Edition pg 24 Oxford University Press 2006 ISBN 0-19-860990-6

14.საფერავის სამეურნეო-ტექნოლოგიური დახასიათება ხაშმის მიკრორაიონში სხვადასხა ტიპის ღვინოების წარმოებისათვის, დარეჯან ქვლივიძე, თბილისი 2006,

15. Mattivi F.; Guzzon R.; Vrhovsek U.; Stefanini M.; Velasco R. (2006). "Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins". J Agric Food Chem. 54 (20)

16."Flavonoids". Linus Pauling Institute, Micronutrient Information Center, Oregon State University. 2015. Retrieved 11 June 2017.

17.ყურძნისეული წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიური კვებითი დანამატის „Georgian Vitae rimas XXI“ ტექნოლოგია - ლ. ელანიძე. 2013 წ.

18. Øyvind M. Andersen Kenneth R. Markham. „FLAVONOIDS Chemistry, Biochemistry and Applications. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487- 2742. © 2006 by Taylor & Francis Group, LLC CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group.

19.10. Jonathan M. Hodgson:— Red wine flavonoids and vascular health—. Nutrition and Aging 2 (2014) 139–144 DOI 10.3233/NUA-130026 IOS Press. School of Medicine and Pharmacology, University of Western Australia, Western Australia, Australia.

20.მალხაზ ხარბედია ღვინის მეგზური (პრაქტიკული სახელმძღვანელო)

21.ებელაშვილი ნ. - დისერტაცია “ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების გამოკვლევა ვარდისსფერი და ცქრიალა ღვინოების დამზადების პროცესში მათი ტექნოლოგიების სრულყოფის მიზნით” თბილისი 2006 წ

22.Renaud S, de Lorgeril M (June 1992). "Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease

23. Shakulashvili N., Kvinikadze L., Blay C. "Determination of Resveratrol and some other Polyphenols in Wines by High Performance Liquid Chromatography", Georgian Engeneering News, 2005, N 4, p.210.

24. Sato M., Ramarathnam N., Suzuki Y., Ohkubo T., Takeuchi M., Ochi H. “Varietal diffe-rences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources” J.Agric.Food

25. Nunn, Laura Silverstein; Silverstein, Alvin; Silverstein, Virginia B. (2006). *Cancer*. Brookfield, Conn: Twenty-First Century Books. pp. 11–12.

26. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, et al. EAU guidelines on prostate cancer. part1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. Eur Urol 2014 Jan;65 (1):124-27.Anand P, Kunnumakkara AB, Kunnumakara AB, Sundaram C, Harikumar KB,Tharakan ST, Lai OS, Sung B, Aggarwal BB (September 2008). Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes

27. Giard, DJ; Aaronson, SA; Todaro, GJ; Arnstein, P; Kersey, JH; Dosik, H; Parks, WP (1973). "In vitro cultivation of human tumors: Establishment of cell lines derived from a series of solid tumors". *Journal of the National Cancer Institute*. 51 (5): PMID 4357758

28. A549 Cell Line: Human alveolar adenocarcinoma cell line -General Information". Retrieved 3 January 2012.

29. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. Korkina LG1. 2007

30. Ferrieres, J. (2004). "The French Paradox; Lessons for other countries". Heart. 90 (1): 107 111. doi:10.1136/heart.90.1.107. PMC 1768013. PMID 14676260

31. DR. MARK PERCIVAL. „Antioxidants— NUT031 1/96 Rev. 10/98 CLINICAL NUTRITION INSIGHTS Copyright © 1996 Advanced Nutrition Publications, Inc., Revised 1998

32. Chikvaidze E , Kirikashvili I., Gogoladze T., Chikvaidze L. “Free radical products of bilirubin photooxidation.” Bull of Georg. Acad. Scien., 2002, 166, pp.327-330;

33. B. Grigorov. “Reactive oxygen species and their relation to carcinogenesis.” Trakia Journal of Sciences, Vol. 10, No 3, pp 83-92, 2012.

34. Shakulashvili N., Kvinikadze L., Gogishvili N., Martin M. "Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography of Resveratrol in Wine", Chemistry, Collection of Scientific Works of Tbilisi State University, 2005, vol. 360, p. 66

35. კოლენტ ნავარი, ფრანსუაზ ლანგლადი - „ენოლოგია“ თბილისი 2005 წ.

36. დოქტორი მარენ უებელი, დოქტორი იენს პეტცოლდი, ‘’ქვევრის თიხის შემადგენელი ელემენტები და ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლები ქვევრის დამზადების პროცესი’’, თბილისი2017

37. Ebru Büyüktuncel, Esra Porgalı, Cemil Çolak ‘’Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods’’, 2014

38. Nagendran Balasundram a,b, Kalyana Sundram b, Samir Samman - Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, Food Chemistry 99 (2006) 191–203

39. Anna Pękal & Krystyna Pyrzynska - Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay - Food Anal. Methods (2014) 7:1776–1782 DOI 10.1007/s12161-0149814-x