თამარ საჩანელი

გუდის ყველის მომწიფებაში მონაწილე ბაქტერიების გამოყოფა და მათი პრობიოტიკული თვისებების საფუძველზე ახალი ტექნოლოგიების შემუშავება

წარმოდგენილია დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

თბილისი, 0175, საქართველო

ივლისი, 2019

საავტორო უფლება © 2019 თამარ საჩანელი, 2019

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტი

ჩვენ, ქვემორე ხელისმომწერნი ვადასტურებთ, რომ გავეცანით **თამარ საჩანელის** მიერ შესრულებულ სადისერტაციო ნაშრომს დასახელებით: „**გუდის ყველის მომწიფებაში მონაწილე ბაქტერიების გამოყოფა და მათი პრობიოტიკული თვისებების საფუძველზე ახალი ტექნოლოგიების შემუშავება**“ და ვაძლევთ რეკომენდაციას საქარველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოში მის განხილვას დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად.

თარიღი

ხელმძღვანელი:	პროფესორი ნინო გაგელიძე
რეცენზენტი:	ასოც. პროფესორი მალხაზ ბერეჟიანი
რეცენზენტი:	პროფესორი ზაურ ლომთათიძე

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

2019

ავტორი: თამარ საჩანელი

დასახელება: გუდის ყველის მომწიფებაში მონაწილე ბაქტერიების გამოყოფა და მათი პრობიოტიკული თვისებების საფუძველზე ახალი ტექნოლოგიების შემუშავება

ფაკულტეტი : აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტი

ხარისხი: დოქტორი

სხდომა ჩატარდა:

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

ავტორის ხელმოწერა

ავტორი ინარჩუნებს დანარჩენ საგამომცემლო უფლებებს და არც მთლიანი ნაშრომის და არც მისი ცალკეული კომპონენტების გადაბეჭდვა ან სხვა რაიმე მეთოდით რეპროდუქცია დაუშვებელია ავტორის წერილობითი ნებართვის გარეშე.

ავტორი ირწმუნება, რომ ნაშრომში გამოყენებული საავტორო უფლებებით დაცული მასალებზე მიღებულია შესაბამისი ნებართვა (გარდა იმ მცირე ზომის ციტატებისა, რომლებიც მოითხოვენ მხოლოდ სპეციფიურ მიმართებას ლიტერატურის ციტირებაში, როგორც ეს მიღებულია სამეცნიერო ნაშრომების შესრულებისას) და ყველა მათგანზე იღებს პასუხისმგებლობას.

რეზიუმე

თუშური გუდის ყველი გამოირჩევა ტექნოლოგიისა და საგემოვნო თვისებათა განსაკუთრებული თავისებურებით. ცხვრის ყველი ყოველთვის იყო საქართველოს ყველის წარმოების ისტორიის ნაწილი. დღემდე თუშური გუდა ძირითადად მცირე ფერმერულ მეურნეობებში მზადდება, რომლებსაც ტრადიციული ტექნოლოგიური პროცესი თითქმის სრულად შენაჩუნებული აქვთ. მიუხედავად ამისა, ბოლო 100 წლის განმავლობაში დაქვეითდა გუდის ყველის ხარისხი, რაც გამოიწვია მსოფლიოში უნიკალური თუშური ცხვრის ჯიშის დაკნინებამ, თუშური გუდის ყველის დამზადებამ ნაღებმოხდილი რძისგან, და გუდის, რომელშიც თუშური გუდის ყველის მომწიფება ხდებოდა, ხშირად პოლიეთილენის პარკებით შეცვლამ.

საქართველოსათვის დამახასიათებელია ნიადაგის, ბალახეულობისა და მიკროფლორის მრავალფეროვნება, რაც ასახვას პოულობს თუშური გუდას განსაკუთრებულ არომატსა და საგემოვნო თვისებებში. ყველის მიკრობული შემადგენლობა ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ფაქტორია ყველის გემოსა და არომატის ფორმირებისთვის. საქართველოს ტრადიციული ყველების, მათ შორის, თუშური გუდას დამზადების დროს არ იყენებენ სტარტერულ კულტურებს. შესაბამისად, მეტად აქტუალურია თუშური გუდის ყველის ფორმირებაში მონაწილე ავტოქტონური მიკრობიოტასთვის დამახასიათებელი უნიკალური, ჯერ კიდევ შემორჩენილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ბიომრავალფეროვნების ამსახველი კოლექციის შექმნა, მათი პრობიოტიკული და ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი სახეობების გამოვლენა და გამოყენება სტარტერ კულტურებად ახალი ფერმენტირებული რძის პროდუქტების, როგორც ფუნქციური საკვების, საწარმოებლად.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თუშური გუდის ყველის მიკროფლორის შემადგენელი დომინანტი კომპონენტების დადგენა და მათი კულტურალურ-მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური და პრობიოტიკული თვისებების შესწავლის საფუძველზე პერსპექტიული შტამების შერჩევა ბიოტექნოლოგიური მიზნებისთვის გამოსაყენებლად.

ენდემური ბაქტერიების კვლევის ისტორიის მანძილზე პირველად იქნა გამოყოფილი თუშური გუდის ყველისთვის დამახასიათებელი პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიები. შეიქმნა თუშური გუდის ყველის მიკრობული მრავალფეროვნების ამსახველი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კოლექციები, რომელთაც აქვთ როგორც სამეცნიერო, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა ქვეყნის ბიოტექნოლოგიური პოტენციალის განვითარებისათვის. შესწავლილი იქნა მათი პრობიოტიკული (ანტიბაქტერიული აქტივობა, ნაღვლის და მჟავის მიმართ ტოლერანტობა) და ბიოტექნოლოგიურად მნიშვნელოვანი მახასიათებლები (პროტეოლიზური, ლიპოლიზური და აციდოფიკაციური აქტივობები), რის საფუძველზეც შეიქმნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კონსორციუმი გუდის ყველის წარმოებაში სტარტერი კულტურების სახით გამოსაყენებლად.

ჩვენ მიერ ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ თუშური გუდის ყველის შესწავლილი ნიმუშები შეიცავდა მიკროორგანიზმთა განსხვავებულ რაოდენობებს. ყველა ყველის ნიმუშის მიკრობიოტას შემადგენელი დომინანტი კომპონენტები იყო რძემჟავა ბაქტერიები (ლაქტობაცილები და ლაქტოკოკები), ასევე პროპიონმჟავა ბაქტერიები და საფუვრები.

თუშური გუდის ყველში მომწიფების სხვადასხვა ხანგრძლივობიდან გამომდინარე, იცვლება (იზრდება) ყველის ტიტრული მჟავიანობა და მარილიანობა, შესაბამისად, მცირდება ტენის შემცველობა. ცილა მშრალ მასაში სხვადასხვა ნიმუშში მერყეობდა 25-დან 44 %-მდე. ძროხის რძით დამზადებულ ყველის ნიმუშებში ცხიმიანობა შედარებით დაბალია, რაც კორელაციაშია ძროხის და ცხვრის რძეების ცხიმიანობასთან.

პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობის 12 პათოგენური და პირობითპათოგენური ტესტ-კულტურის მიმართ, ნაღვლისა და დაბალი მჟავიანობის (pH 2) მიმართ ტოლერანტობის შესწავლის შედეგად გამოვლინდა პერსპექტიული პრობიოტიკული შტამები.

სხვადასხვა მორფოლოგიური (უჯრედისა და კოლონიების ფორმა, გრამის წესით შეღებვა), ფიზიოლოგიური (ტემპერატურა, NaCl-ის კონცენტრაცია) და ბიოქიმიური (კატალაზური აქტივობა, ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროს ფერმენტაცია, ურეაზული აქტივობა, არგინინის ჰიდროლიზი, ესკულინის ჰიდროლიზი, ჰემოლიზი, ჟელატინის ჰიდროლიზი) თვისებების საფუძველზე იზოლატები იდენტიფიცირებულია, როგორც *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *L. lactis.* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lb. rhamnosus*, *P.acidi-propionici.*

ყველის წარმოებისთვის მნიშვნელოვანი ტექნოლოგიური მახასიათებლების (კაზეინის ჰიდროლიზი, აციდოფიკაციური და ლიპოლიზური აქტივობა), პერსპექტიული პრობიოტიკული თვისებების მქონე შტამების ურთიერთდამოკიდებულების საფუძველზე შეიქმნა კონსორციუმი ყველის დამზადებაში გამოსაყენებლად.

შემუშავდა თუშური გუდის ყველის დამზადებისა და მომწიფების ტექნოლოგიური სქემა, რომელშიც პროცესის ტრადიციული თანმიმდევრობა უცვლელად შევინარჩუნეთ, თუმცა რძის შეთბობისა და გაფილტვრის შემდეგ შევიტანეთ ჩვენი კვლევების შედეგების საფუძველზე შექმნილი კონსორციუმი თხევადი ფორმით, ყველის ამოსაყვანად საჭირო რძის მოცულობის 5 %-ის ოდენობით. თხევად ბაქტერიულ დედოში კონსორციუმის შემადგენელი თითოეული ბაქტერიის რაოდენობა იყო 10^{10} - 10^{11} კწე/მლ-ში.

ბაქტერიული დედოს შეტანა დადებით გავლენას ახდენს პროდუქტის მიკრობიოლოგიურ უსაფრთხოებაზე, ორგანოლეპტიკურ

მახასიათებლებზე, ასევე, შენარჩუნებულია პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების მაღალი ტიტრი, რაც ყველის ფუნქციურ საკვებად გამოყენების შესაძლებლობას იძლევა. შექმნილი კონსორციუმის გამოყენება ხელს შეუწყობს სტანდარტული გემოსა და არომატის გუდის ყველის ფორმირებას და, ზოგადად, ყველის წარმოების განვითარებას ქვეყანაში.

Abstract

Tushuri Guda Cheese is distinguished by special peculiarities of technology and the gustative features. Sheep's cheese have always been a part of cheese-making history of Georgian small producers in mountain regions keeping up the tradition. The traditional technology of Guda cheese making is retained, but there are many reasons responsible for the decline of its quality during the last period: A hundred years ago, Tushetian Guda cheese had been prepared only from unprocessed, creamy milk; it was distinguished by fattiness and was very tasty. Unfortunately, this very important condition is not always followed; The second reason is degradation of the unique race of Tushetian sheep. Moreover, the traditional Guda is changed by the plastic bags.

Diversity of soils, vegetation and microbiota, characteristic for Georgia are reflected on a special flavor and taste of Tushuri Guda cheese. The microbial constitution of cheese is one of the key factors for its taste and aroma formation. The starter cultures are not used in traditional Georgian cheese making, as well as for Guda cheese. Therefore, creation of the collection of the unique, yet existing lactic- and propionic acid bacteria, which are characteristic for the indigenous microbiota and take part in the formation of Guda cheese, is very actual today; as well as revelation of species distinguished by probiotic properties and technological purposes, which may applied as starter cultures for the production of new products of fermented milk.

The aim of the presented study was establishment of the dominant components of the microbiota of Tushuri Guda cheese and selection of the prospective strains according to their morphological, physiological, biochemical and probiotic characters, for further application in biotechnology.

The lactic- and propionic acid bacteria characteristic for Guda-cheese have been isolated at first during the history of investigation of the endemic bacteria. Collection of the lactic- and propionic acid bacteria reflecting the microbial diversity of the Tushuri Guda-cheese has been created. This collection has both

the scientific and practical meaning for the development of biotechnological potential of Georgia.

The probiotic (antibacterial activity, tolerance towards bile and acid) and biotechnologically significant properties (proteolytic, lipolytic, acidification activities) of the bacteria have been studied. According to studied characters the consortium of lactic- and propionic acid bacteria was created for further application in Guda-cheese industry as starter culture.

Our investigations have demonstrated that tested samples of Tushuri Guda cheese contains different amount of microorganisms. The dominant components of the microbiota of all studied samples were lactic acid bacteria (*Lactobacillus* and *Lactococcus*), as well as propionic acid bacteria and yeasts.

The titric acidity and salinity of the Guda cheese changed (increased) according to duration of the ripening. The humidity decreased correspondingly. Content of proteins in different samples varied between 25-44%. In samples prepared from cow milk the fattiness was comparatively low, that correlates with the fattiness of cow and sheep milks. The prospective probiotic strains of propionic- and lactic acid bacteria were revealed during the investigation of tolerance towards 12 pathogenic and conditionally pathogenic test-cultures, as well as by tolerance towards bile and low acidity (pH 2).

According to different morphological (shape of cells and colonies, Gram staining), physiological (temperature, concentration of NaCl) and biochemical (catalytic activity, fermentation of different carbon sources, urease activity, arginine hydrolysis, aesculin hydrolysis, hemolysis, gelatin hydrolysis) properties following species were identified: *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *L. lactis.* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lb. rhamnosus*, *P.acidi-propionici.* The consortium for the application in cheese making was created according to the significant characteristics for cheese industry (casein hydrolysis, acidification and lipolytic activity) and relation between strains with prospective probiotic properties. The technological scheme of the preparation

and ripening of Tushuri Guda-cheese has been elaborated. The traditional order in cheese-preparing process was retained. Though, after heating and filtration of milk our created consortium (in liquid form) was added in amount of 5% out of total volume of milk used for cheese-making. Number of each bacteria of the consortium in the liquid bacterial starter was 10^{10} - 10^{11} cfu/ml. Addition of the bacterial starter positively influences on the microbiological safety of the product and its organoleptic characteristics. High amount of propionic- and lactic acid bacteria was retained as well, which makes possible to use cheese as a functional food. Application of the created consortia will support the formation of Guda-cheese with standard taste and aroma and development of cheese industry in our country as well.

შინაარსი

შესავალი ……..……..…….. 20

1. ლიტერატურის მიმოხილვა …….…..… 25

1.1. ყველის როგორც რძის პროდუქტის დახასიათება……. 25

1. 2. ყველის შემადგენელი პრობიოტიკული მიკროორგანიზმები … 31

1.2.1. ყველის პროპიონმჟავა ბაქტერიები …..…… 31

1.2.2. ყველის მომწიფებაში მონაწილე რძემჟავა ბაქტერიები ……. 36

1.2.3. პრობიოტიკებისთვის აუცილებელი თვისებები ……. 47

1.2.4. პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკული და ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი თვისებები, როგორც სასელექციო კრიტერიუმები ……. 51

2. ექსპერიმენტული ნაწილი 56

თავი 2. კვლევის ობიექტები და მეთოდები ...…… 56

2.1. კვლევის ობიექტები …….. 56

2.2. კვლევის მეთოდები ...…….. 56

2.2.1. ყველში ტენისა და მშრალი ნივთიერების განსაზღვრა ...…….. 56

2.2.2. მჟავიანობის განსაზღვრა ტიტრიმეტრული მეთოდით რძესა და რძის პროდუქტებში ……. 57

2.2.3. ცხიმის მასური წილის განსაზღვრა გერბერის მეთოდით …… 58

2.2.4. ჯამური აზოტის და ცილების განსაზღვრა კელდალის მეთოდით ……..……..……....…… 58

2.2.5. მარილის განსაზღვრა …….……..…… 60

2.2.6. ყველიდან მიკროორგანიზმების გამოყოფა სერიული განზავების მეთოდი ……..……. 61

2.2.7. კატალაზური აქტივობის განსაზღვრა ……...…... 62

2.2.8. გრამის წესით შეღებვა …….. 62

2.2.9. ანტიბაქტერიული აქტივობის განსაზღვრა …….. 62

2.2.10. ურეაზული აქტივობის განსაზღვრა …… 63

2.2.11. პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლა (კაზეინის ჰიდროლიზი) ……..……..……..…. 63

2.2.12. პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლა (ჟელატინის ჰიდროლიზი) ……..……..……..…. 64

2.2.13. შაქრების ფერმენტაციის უნარის დადგენა ……..…….. 64

2.2.14. არგინინის ჰიდროლიზის უნარის დადგენა ……..…… 65

2.2.15. ჰემოლიზის უნარის დადგენა ……..……. 65

2.2.16. ლიპოლიზური აქტივობის დადგენა …….…….. 65

2.2.17. იზოლატების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე …….. 65

2.2.18. მარილის მიმართ ტოლერანტობის დადგენა …… 66

2.2.19. ნაღვლის და მჟავას მიმართ ტოლერანტობა …….. 66

2.2.20. ესკულინის ჰიდროლიზის უნარის დადგენა …… 67

2.2.21. აციდოფიკაციის უნარის განსაზღვრა ……. 67

2.3. მიკროორგანიზმთა კულტივირებისათვის გამოყენებული საკვები არეები ……. 67

თავი 3. შედეგები და მათი განსჯა 69

3.1. ქართული ტრადიციული ყველის - თუშური გუდას ქიმიური შედგენილობა …….. 69

3.2. თუშური გუდის ყველის მიკრობიოტას დომინანტი კომპონენტები ……..……..…….. 72

3.3. მიკროორგანიზმთა იზოლატების სუფთა კულტურების მიღება ……..……..……..... 75

3.4. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკული თვისებები ……. 79

3.4.1. ანტიმიკრობული აქტივობა ……. 79

3.4.2. ნაღვლის და მჟავას მიმართ ტოლერანტობა …… 90

3.5. რძემჟავა- და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იდენტიფიკაციისათვის მნიშვნელოვანი მახასიათებლებლები ……..... 93

3.5.1. სხვადასხვა ტემპერატურაზე და NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდა ……. 93

3.5.2. ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე ზრდა …… 101

3.5.3. ჰემოლიზური აქტივობის დადგენა …….. 107

3.5.4. ურეაზული აქტივობისა და არგინინის ჰიდროლიზის უნარის დადგენა ..……. 110

3.6. ყველის წარმოებაში გამოსაყენებელი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი მახასიათებლები ……. 113

3.6.1. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების 113

პროტეოლიზური აქტივობა ……..

3.6.2. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების აციდოფიკაციური აქტივობა …… 116

3.6.3. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების ლიპოლიზური აქტივობა …….. 118

3.7. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების იდენტიფიკაცია შესწავლილი მახასიათებლების საფუძველზე და მათი ურთიერდამოკიდებულება …… 119

3.8. თუშური გუდას ტექნოლოგიური სქემა ……..…… 126

4. დასკვნა …….……..……... 132

გამოყენებული ლიტერატურა …….…… 134

ცხრილების ნუსხა

ცხრილი 1.1. ცხვრისა და ძროხის რძეების შემადგენლობა …….... 29

ცხრილი 1.2. სხვადასხვა სახის ყველების წარმოებაში გამოყენებული რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიები ……. 46

ცხრილი 3.1. თუშური გუდის ყველის ნიმუშების წარმოშობა და ტექნოლოგია …….... 70

ცხრილი 3.2. თუშური გუდის ყველის ნიმუშების ქიმიური მახასიათებლები …….. 70

ცხრილი 3.3. ყველის ნიმუშებიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების რაოდენობა …… 73

ცხრილი 3.4. პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების უჯრედების ფორმა, კატალაზური აქტივობა და დამოკიდებულება გრამის წესით შეღებვის მიმართ…. 76

ცხრილი 3.5. რძემჟავა ბაქტერიების უჯრედების ფორმა, კატალაზური აქტივობა და დამოკიდებულება გრამის წესით შეღებვაზე ……. 78

ცხრილი 3.6. რძემჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობა ….. 81

ცხრილი 3.7. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტიბაქტერიული აქტივობა …… 86

ცხრილი 3.8. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ტოლერანტობა ნაღვლის მჟავებისა და pH 2-ის მიმართ და ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი …….. 90

ცხრილი 3.9. რძემჟავა ბაქტერიების ნაღვლის მჟავებისა და pH 2-ის მიმართ და ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი …….. 92

ცხრილი 3.10. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდის უნარი სხვადასხვა ტემპერატურაზე ……. 94

ცხრილი 3.11. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდის უნარი სხვადასხვა ტემპერატურაზე ……... 95

ცხრილი 3.12. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე …… 98

ცხრილი 3.13. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე …….. 99

ცხრილი 3.14. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე …… 102

ცხრილი 3.15. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის 104

სხვადასხვა წყაროზე
ცხრილი 3.16. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ჰემოლიზის უნარი ……... 107
ცხრილი 3.17. რძემჟავა ბაქტერიების ჰემოლიზის უნარი ……. 109
ცხრილი 3.18. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა ….. 110
ცხრილი 3.19. რძემჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა და არგინინის ჰიდროლიზი …… 112
ცხრილი 3.20. პროპიონმჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა …… 113
ცხრილი 3.21. რძემჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა …. 115
ცხრილი 3.22. რძემჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციური აქტივობა … 116
ცხრილი 3.23. პროპიონმჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციური აქტივობა …… 117
ცხრილი 3.24. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ლიპოლიზური აქტივობა 118
ცხრილი 3.25. ყველის მიკრობიოლოგიური მაჩვენებლები ……. 131

ნახაზების ნუსხა

ნახ. 3.1. სხვადასხვა საკვებ არეზე ამოთესილი თუშური გუდის ყველის ნიმუშების მიკრობიოტა ……... 74

ნახ. 3.2. გუდის ყველიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების მიერ სხვადასხვა ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირება ……... 84

ნახ. 3.3. ტესტ-კულტურების ზრდის ინჰიბირების უნარის მქონე რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების რაოდენობები ……. 85

ნახ. 3.4. გუდის ყველიდან გამოყოფილი პროპიონმჟავა ბაქტერიების მიერ სხვადასხვა ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირება ……. 88

ნახ. 3.5. ტესტ-კულტურების ზრდის ინჰიბირების უნარის მქონე პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების რაოდენობები …... 89

ნახ. 3.6. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდის ინტენსივობა სხვადასხვა ტემპერატურაზე …… 95

ნახ. 3.7. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდის ინტენსივობა სხვადასხვა ტემპერატურაზე …… 97

ნახ. 3.8. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ……... 99

ნახ. 3.9. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ……... 100

ნახ. 3.10. მოცარელას ყველის მომზადების სქემა …… 128

ნახ. 3.11. თუშური გუდის ყველის დამზადების ტექნოლოგიური სქემა 130

სურათების ნუსხა

სურ. 2.1.	ყველის ნიმუშების ჰომოგენატები ……..	61
სურ. 3.1.	ყველის მიკროორგანიზმთა კულტივირება სხვადასხვა სელექტიურ საკვებ არეზე …….	72
სურ 3.2.	პეტრის ჯამებზე მყარ საკვებ არეზე პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების სუფთა კულტურების მიღება ……...	76
სურ. 3.3.	თუშური გუდის ყველიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების მიკროსკოპული სურათები …...	79
სურ. 3.4.	რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტაგონისტური აქტივობა სხვადასხვა ტესტ-კულტურის მიმართ ……...	83
სურ. 3.5.	რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა Bile Aesculin Agar-ზე ….	93
სურ. 3.6.	2% ნაღვლის მარილების შემცველ არეზე რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ……	93
სურ. 3.7.	პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე ……..	97
სურ. 3.8.	პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა მარილიანობაზე ……	100
სურ.3.9.	პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე ……..	103
სურ. 3.10.	პროპიონმჟავა ბაქტერიების β-ჰემოლიზის უნარი …..	108
სურ. 3.11.	პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა ……..	111
სურ. 3.12.	პროპიონმჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა (კაზეინის ჰიდროლიზი) ……	114
სურ. 3.13.	პროპიონმჟავა ბაქტერიების ლიპოლიზური აქტივობა ……..	119

დისერტაციაში გამოყენებული აბრევიატურები

PDO - წარმოების დაცული ნიშანი

FDA - საკვები პროდუქტების და წამლების ადმინისტრაცია

QPS - უსაფრთხოების მაღალი პრეზუმფცია

PAB - პროპიონმჟავა ბაქტერიები

GRAS - ზოგადად აღიარებულია, როგორც უსაფრთხო

FAO - გაეროს სურსათისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაცია

WHO - მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაცია

M17 - საკვები არე რძემჟავა სტრეპტოკოკების გამოსაყოფად

PI - საკვები არე პროპიონმჟავა ბაქტერიებისთვის

P II - საკვები არე პროპიონმჟავა ბაქტერიებისთვის

MRS - საკვები არე რძემჟავა ლაქტოკოკებისთვის

PCA - მიკრობთა დასათვლელი აგარი

PAB - პროპიონმჟავა ბაქტერიები

კწე - კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული

BAA - ნაღვლის მჟავა ესკულინის აგარი

სანწდან - სანიტარული წესები და ნორმები

ნჩჯბ - ნაწლავის ჩხირის ჯგუფის ბაქტერიები

შესავალი

ნაშრომის აქტუალურობა. არქეოლოგიურ მასალებზე დაყრდნობით, ნეოლითის ხანიდან მოყოლებული, ჩვენს ქვეყანაში რძის სხვა პროდუქტებ-თან ერთად, ყველიც იწარმოებოდა. მცხეთის არქეოლოგიურ მუზეუმში 28 საუკუნის სიძველის თიხის საყველე ჭურჭელი ინახება. ამ ჭურჭლის სრულყოფილი ფორმა კი მიუთითებს, რომ ეს კულტურა კიდევ უფრო ძველია. ძველ საქართველოში თითოეული რეგიონისთვის დამახასიათებელ ყველის სახეობას აწარმოებდნენ: ცხვრის რძიდან ყველს აწარმოებდნენ მშრალი ჰავის მქონე რაიონებში, ჩრდილოეთ კავკასიის მთიან საძოვრებზე.

ტექნოლოგიისა და საგემოვნო თვისებათა განსაკუთრებული თავისებურებით გამოირჩევა თუშური გუდის ყველი. არქეოლოგებმა აღმოაჩინეს, რომ თუშური გუდის მსგავსი ყველი იწარმოებოდა კავკასიის საქართველოს ნაწილში ქრისტეშობამდე მე-4 ათასწლეულში. ცხვრის ყველი ყოველთვის იყო საქართველოს ყველის წარმოების ისტორიის ნაწილი [1]. ცხიმით მდიდარი თუშური გუდის ყველი მთლიანად ცხვრის რძისგან მზადდებოდა [2].

მე-20 საუკუნეში ტექნოლოგიური დარგების, ქიმიისა და ბაქტერიოლოგიის განვითარებაში არსებული წარმატებები და აღმოჩენები გარკვეულწილად ხელს უწყობდა ყველის წარმოების სექტორის მოდერნიზაციას. საქართველოს მთიანი რეგიონების მცირე მწარმოებლები ქვეყანის ინდუსტრიალიზაციის პერიოდშიც ინარჩუნებდნენ, უნიკალური ტრადიციული გუდის ყველის ტექნოლოგიასა და დამზადების ძირითად პრინციპებს. დღემდე თუშური გუდა ძირითადად მცირე ფერმერულ მეურნეობებში მზადდება, რომლებსაც დამზადების ტრადიციული ტექნოლოგიური პროცესი ძირითადად შენაჩუნებული აქვთ.

მიუხედავად ზემოთქმულისა, არსებობს რამდენიმე მიზეზი, რამაც გამოიწვია გუდის ყველის ხარისხის დაკნინება ბოლო 100 წლის განმავლობაში: 1. თუშური გუდის ყველი ნაღებმოუხდელი რძისგან კეთდებოდა, რის გამოც ცხიმიანობით გამოირჩეოდა და ამიტომ ძალიან

გემრიელი იყო [3]. ეს ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი პირობა, სამწუხაროდ, დღეს ზოგჯერ ირღვევა; 2. მსოფლიოში უნიკალური თუშური ცხვრის ჯიშის დაკნინება მოხდა; 3. დღეისათვის, გუდა, რომელშიც ხდებოდა თუშური გუდის ყველის მომწიფება, შეცვალა პოლიეთილენის პარკებმა.

თუშების აზრით, პოლიეთილენის პარკებში ყველის მომწიფება უარყოფით გავლენას არ ახდენს მის გემოზე და ხარისხზე, თუმცა, ეს საკითხი საფუძვლიანადაა შესასწავლი.

თუშური გუდის ყველი 24.01.2012-დან ,,საქპატენტის'' მიერ დარეგისტრირებულია როგორც გეოგრაფიული აღნიშვნა, რომელიც მხოლოდ თუშეთში მზადდება [4].

თუშური გუდის ყველი არც დღეს კარგავს აქტუალურობას. 2017 წელს Slow Food-ის მიერ იტალიაში ჩატარებულ ყველის საერთაშორისო ფესტივალზე კოოპერატივი ,,ალაზნისთავის'' მიერ წარდგენილმა თუშური გუდის ყველმა ფესტივალის მთავარი ჯილდო დაიმსახურა, რადგან ამ ყველს ბუნებრიობის, გემოს და ტრადიციების შენარჩუნებით ამზადებენ [5].

საქართველოსთვის დამახასიათებელია ნიადაგის, ბალახეულობისა და მიკროფლორის მრავალფეროვნება, რაც ასახვას პოულობს თუშური გუდას განსაკუთრებულ არომატსა და საგემოვნო თვისებებში.

ყველის მიკრობული შემადგენლობა ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ფაქტორია ყველის გემოსა და არომატის ფორმირებისთვის. საქართველოს ტრადიციული ყველების, მათ შორის, თუშური გუდას დამზადების დროს არ იყენებენ სტარტერულ კულტურებს. შესაბამისად, მეტად აქტუალურია თუშური გუდის ყველის ფორმირებაში მონაწილე ავტოქტონური მიკრობიოტასთვის დამახასიათებელი უნიკალური, ჯერ კიდევ შემორჩენილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ბიომრავალფეროვნების ამსახველი კოლექციის შექმნა, მათი პრობიოტიკული და ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი სახეობების გამოვლენა და გამოყენება სტარტერ კულტურებად ახალი

ფერმენტირებული რძის პროდუქტების, როგორც ფუნქციური საკვების, საწარმოებლად.

კვლევის მიზანი. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თუშური გუდის ყველის მიკროფლორის შემადგენელი დომინანტი კომპონენტების დადგენა და მათი კულტურალურ-მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური და პრობიოტიკული მახასიათებლების შესწავლის საფუძველზე პერსპექტიული შტამების შერჩევა ბიოტექნოლოგიური მიზნებისთვის გამოსაყენებლად.

კვლევის ამოცანები. დასახული მიზნის მიღწევა მოითხოვს შემდეგი ამოცანების განხორციელებას:

1. თუშეთის სხვადასხვა სოფლიდან საანალიზოდ ყველის ნიმუშების აღება და მათი ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლების შესწავლა
2. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა, მათი წმინდა კულტურების მიღება და კოლექციის შექმნა
3. გამოყოფილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიული იზოლატების კულტურალურ-მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური მახასიათებლების შესწავლა
4. გამოყოფილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიული იზოლატების პრობიოტიკული თვისებების შესწავლა
5. შერჩეული იზოლატების გამოყენებით თუშური ყველის წარმოების ბიოტექნოლოგიური სქემის შემუშავება.

კვლევის მეცნიერული სიახლე. კვლევის შედეგების საფუძველზე გამოვლინდა ტრადიციული ქართული ყველის - თუშური გუდასთვის დამახასიათებელი მიკრობიოტა.

ენდემური ბაქტერიების კვლევის ისტორიის მანძილზე პირველად იქნა გამოყოფილი თუშური გუდის ყველისთვის დამახასიათებელი პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიები. შესწავლილი იქნა მათი პრობიოტიკული (ანტიბაქტერიული აქტივობა, ნაღვლის და მჟავის მიმართ

ტოლერანტობა) და ბიოტექნოლოგიურად მნიშვნელოვანი მახასიათებლები (პროტეოლიზური, ლიპოლიზური და აციდოფიკაციური აქტივობები).

ჩვენი კვლევების საფუძველზე შეიქმნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კონსორციუმი გუდის ყველის წარმოებაში სტარტერი კულტურების სახით გამოსაყენებლად.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება.

- შეიქმნა თუშური გუდის ყველის მიკრობული მრავალფეროვნების ამსახველი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კოლექციები, რომელთაც აქვთ როგორც სამეცნიერო, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა ქვეყნის ბიოტექნოლოგიური პოტენციალის განვითარებისათვის.
- შეიქმნა მაღალი პრობიოტიკული და ბიოქიმიური თვისებების მქონე რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კონსორციუმი, რომლის გამოყენება შესაძლებელია სტარტერულ კულტურებად ყველის წარმოებაში. შექმნილი კონსორციუმის გამოყენება ხელს შეუწყობს სტანდარტული გემოსა და არომატის გუდის ყველის ფორმირებას და, ზოგადად, ყველის წარმოების განვითარებას ქვეყანაში. მაღალი პრობიოტიკული მახასიათებლების მქონე ბაქტერიული შტამების გამოყენება ყველის წარმოებაში აქცევს ამ პროდუქტს ფუნქციურ საკვებად.
- შემუშავდა რეკომენდაციები ბაქტერიული დედოების მოსამზადებლად.
- შეიქმნა გუდის ყველის წარმოების ტექნოლოგიური სქემა ჩვენ მიერ შექმნილი ბაქტერიული დედოს საფუძველზე.

ნაშრომის აპრობაცია. 2016-2019 წლებში კვლევის შედეგების წარდგენა ხდებოდა პერიოდულად, დოქტორანტის სემინარებზე და კოლოქვიუმებზე.

დისერტაციასთან დაკავშირებული საკითხები წარდგენილი იყო საერთაშორისო კონფერენციაზე: 1st South Caucasus Food Analytical

International Conference. 29-30 March 2018, Tbilisi, Georgia. https://www.southcaucasus-analytics.org

დისერტაციის ძირითადი დებულებები მოხსენებულია საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტის სასურსათო ტექნოლოგიების დეპარტამენტის გაფართოებულ სხდომაზე 2019 წლის 3 მაისს. დისერტაცია რეკომენდებულია საჯარო დაცვისათვის.

დისერტაციის შედეგები ასახულია 3 სამეცნიერო სტატიაში:

1. საჩანელი თ.ზ., ამირანაშვილი ლ.ლ., გაგელიძე ნ.ა. თუშური გუდის ყველიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების ანტიბაქტერიული აქტივობა. *საქართველოს საინჟინრო სიახლენი.*, 2018, 4, 88, 86-89
2. საჩანელი თ., ამირანაშვილი ლ., გაგელიძე ნ. თუშური გუდის ყველის რძემჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი ბიოქიმიური მახასიათებელი. *ინტელექტუალი.*, 2019, 37, 193-200
3. საჩანელი თ., ამირანაშვილი ლ., გაგელიძე ნ. თუშური გუდის ყველის მიკრობიოტას დომინანტი კომპონენტები. *საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე.*, 2019, 1, 41, 88-92.

სადისერტაციო ნაშრომის სტრუქტურა. სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს შესავალს, ლიტერატურის მიმოხილვას, ექსპერიმენტულ ნაწილს, დასკვნებსა და გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხას. ექსპერიმენტული ნაწილში აღწერილია კვლევის ობიექტები და გამოყენებული მეთოდები, მიღებული შედეგები და მათი განსჯა. დისერტაცია გაფორმებულია 25 ცხრილით, 11 ნახაზით და 13 სურათით. ლიტერატურის ნუსხა მოიცავს 203 ნაშრომს. დისერტაცია გადმოცემულია 154 გვერდზე.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 ყველის როგორც რძის პროდუქტის დახასიათება

ყველის წარმოება, რომელიც თარიღდება ძვ. წ.აღ.-ის 6000-7000 წწ., საკვების შენახვის ერთ-ერთი კლასიკური მაგალითია, რადგან რძე მალფუჭებადი პროდუქტია [6].

ძველ ეპოქაში, ყველის საწარმოებლად გამოიყენებოდა რძის სპონტანური შედედება. ლაქტოზის დუღილის შედეგად მიმდინარეობს რძის კოაგულაცია. ყველის მაღალი ხარისხის უზრუნველსაყოფად, საჭიროა გამოყენებულ რძეს ჰქონდეს საუკეთესო ბაქტერიოლოგიური და ქიმიური თვისებები [7].

მსოფლიოში წარმოებული რძის დაახლოებით მესამედი გამოიყენება ყველის წარმოებაში [8]. მსოფლიოში ყველის ასობით სახეობა იწარმოება, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდება გამოყენებული რძის სახეობითა და მომზადების წესით. თუმცა, ამ სახეობებიდან მხოლოდ მცირე ნაწილს აქვს კომერციული მნიშვნელობა და მათი უმრავლესობა იწარმოება და მოიხმარება ადგილობრივად. ნედლი რძისგან დამზადებული ყველი დიდი ხანია პრაქტიკულად იწარმოება ევროპაში, განსაკუთრებით, საფრანგეთში, იტალიაში და შვეიცარიაში. ნედლი რძისგან წარმოებული ყველები ხშირად უფრო მდიდარი და ინტენსიური არომატით ხასიათდება, ვიდრე პასტერიზებული რძისგან წარმოებული [9].

მსოფლიოში წარმოებული ყველებიდან განსაკუთრებით აღსანიშნავია, ნედლი ცხვრის რძიდან წარმოებული ყველები, რომლებიც პასტერიზებული რძიდან დამზადებულ ყველებთან შედარებით, ზოგადად, ხასიათდება მკვეთრი გემოთი და მრავალფეროვანი არომატით [10, 11, 12].

მსოფლიოში ცხვრის რძიდან წარმოებულ საუკეთესო ყველებს შორის მომწიფების ტექნოლოგიით და ტრადიციებით გამოირჩევა ყველის შემდეგი სახეობები:

კანტალი (Cantal) - ერთ-ერთი უძველესი ყველია, რომელიც იწარმოება საფრანგეთში, კანტალის რეგიონში. მას მინიჭებული აქვს წარმოშობის დაცული ნიშანი PDO (Protected Designation of Origin) და დარეგისტრირებულია როგორც გეოგრაფიული აღნიშვნა [13].

კანტალი მიეკუთვნება მაგარი ან ნახევრადმაგარი ყველების ჯგუფს. აქვს მარცვლოვანი სტრუქტურა, დამახასიათებელი სუსტად მკვეთრი გემო და კარაქის არომატი. მზადდება პასტერიზებული ან ნედლი ძროხის რძისგან. მომწიფების პერიოდზე დამოკიდებულებით იყოფა სამ სახეობად: Cantal Jeune - მომწიფების პერიოდი 30-60 დღეს მოიცავს, Cantal EntreDeux - მწიფდება 90-120 დღის განმავლობაში და Cantal Vieux - მწიფდება 240 და მეტი დღის განმავლობაში. დომინანტი მიკროფლორა შედგება სხვადასხვა რძემჟავა ბაქტერიისგან, კერძოდ, ფაკულტატური ჰეტეროფერმენტული ლაქტობაცილების, ლაქტოკოკების და ენტეროკოკებისგან [14]. სუბდომინანტური მიკროფლორა შედგება მომწიფების პროცესში მონაწილე სხვადასხვა ბაქტერიისგან: პროპიონმჟავა ბაქტერიები, კორინებაქტერიები, მიკროკოკები და საფუვრები [15].

სირ იზ მისინე (Sir iz mišine) - ტრადიციული ხორვატიული ყველია. იგი მზადდება ნედლი ცხვრის ან ძროხის რძიდან და მომწიფების პროცესი მიმდინარეობს ბატკნის ან ცხვრის ტყავისგან დამზადებულ გუდაში [16]. მიეკუთვნება მაგარი ყველების ჯგუფს, რომლებიც ტრადიციულად იწარმოება პასტერიზაციის და სტარტერი კულტურის გამოყენების გარეშე. ყველი მწიფდება 90-120 დღე. ძროხის რძიდან დამზადებულ ყველში რძემჟავა ბაქტერიებს შორის ჭარბობს *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* და *Lactobacillus paracasei*, ხოლო ცხვრის რძიდან დამზადებულ ყველებში დომინანტი სახეობებია *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* და *Lactobacillus brevis* [17, 18].

კანესტრატო პუგლიესე (Canestrato Pugliese) - იტალიური ტრადიციული ყველია, რომელიც მზადდება ნედლი რძიდან და მიეკუთვნება მაგარი ყველების ჯგუფს. მას მინიჭებული აქვს წარმოების

დაცული ნიშანი (PDO; CEE Regulation No. 1107/96). ყველმა თავისი სახელი და ტრადიციული ფორმა მიიღო ლერწმის კალათიდან ,,კანესტრო'', რომელშიც ხდება მისი მომწიფება. კანესტრატო პუგლიესე იწარმოება მხოლოდ ნედლი ცხვრის რძიდან ბარისა და ფოჯას (Foggia) პროვინციებში (სამხრეთ იტალია). მშრალი დამარილება გრძელდება 1 ან 2 დღე და მომწიფება მიმდინარეობს (3-12 თვე), რეგულარულად ხდება ყველის გადაბრუნება და ზეთის და ძმრის ნარევის შეზელვა. ყველი იწონის 2-დან 14 კგ-მდე [19, 20]. ყველის მომწიფებაში მონაწილე მიკროფლორაში დომინანტ სახეობებს შორის ყველაზე მეტი რაოდენობითაა *Lactococcus lactis*, ასევე დიდი რაოდენობითაა *Lactococcus garvieae* და *Lactococcus raffinolactis*. ლაქტობაცილუსების რაოდენობა იზრდება მომწიფების პროცესში და დომინანტ სახეობებს წარმოადგენს *Lactobacillus plantarum* და *Lactobacillus sakei*; შედარებით მცირე რაოდენობით, მაგრამ სტაბილურად გვხვდება *Lactobacillus casei, Lactobacillus brevis* და *Leuconostoc* [21].

ტულუმი (Tulum) - თურქული ტრადიციული ყველია, რომელიც იწარმოება ძირითადად აღმოსავლეთის მთიან რეგიონებში. ტულუმი თეთრი ან მოკრემისფრო შეფერილობის, ცხარე გემოს, მაღალი ცხიმიანობის, ფშვნადი და ნახევრად მყარი სტრუქტურის ყველია. მისი მომწიფების პროცესი მიმდინარეობს თხის ან ცხვრის ტყავისგან დამზადებულ გუდაში. მომწიფების საწყისი მიკროფლორის დომინანტ სახეობებს მიეკუთვნება: *Lc. lactis* ssp. *lactis* და *Ent. faecalis*, ხოლო შემდგომ საფეხურზე დომინირებს *Ent. faecium*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* და *Lc. lactis* ssp. *lactis* [22]. მცირე რაოდენობით შეიძლება იყოს *leuconostoc*-ისა და *pediococcus*-ის წარმომადგენლებიც [23].

მანჩეგო (Queso Manchego) - უძველესი ყველია, რომელიც იწარმოება მხოლოდ ესპანეთის ისტორიულ მხარეში ლა-მანჩა, ესპანური ცხვრის ჯიშის - მანჩეგას, პასტერიზებული რძიდან. დარეგისტრირებულია, როგორც გეოგრაფიული აღნიშვნა. მომწიფების სხვადასხვა ხანგრძლივობიდან გამომდინარე, ყველს აქვს განსხვავებული გემო და

არომატი: როცა მომწიფება გრძელდება 3 თვე, ყველს აქვს რბილი არომატი და ოდნავ მარილიანი პიკანტური გემო; 6 თვის განმავლობაში მომწიფების შემთხვევაში - იგრძნობა უფრო განვითარებული, ჰარმონიული და სასიამოვნო გემო; მომწიფების 9-12 თვე გაგრძელების შემთხვევაში - ყალიბდება ცხარე არომატი [24].

მანჩეგოს მომწიფების დასაჩქარებლად უმატებენ *Bacillus subtilis* ნეიტრალურ პროტეაზას ან ცისტეინ პროტეაზას [25, 26].

Nieto-Arribas და სხვების მიერ [27] მანჩეგოს ყველიდან გამოყოფილ იქნა *Lactobacillus* სახეობები. კერძოდ, *Lactobacillus plantarum* და *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*. ავტორები ასკვნიან, რომ საუკეთესო ტექნოლოგიური მაჩვენებლების (აციდოფიკაციური, პროტეოლიზური, ლიპოლიზური, ავტოლიზური, ამინოპეპტიდაზური აქტივობა და სენსორული თვისებები) მქონე *Lb. plantarum* და *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* იზოლატები, რომლებმაც შეინარჩუნეს სიცოცხლისუნარიანობა და შეუცვლელი თვისებები ლიოფილიზაციიდან 12 თვიანიანი შენახვის შემდეგ, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ყველი მანჩეგოს ინდუსტრიული წარმოებისას დამხმარე კულტურებად.

თუშური გუდა - ქართული ტრადიციული ყველია, რომელიც მიეკუთვნება მარილწყლიანი ყველების ჯგუფს. თუშური გუდის ყველი 3 სახისაა: 1. ცხვრის რძის; 2. ძროხის რძის და 3. ცხვარ-ძროხის რძის ნარევისგან (50 % - 50 %). ნამდვილი გუდის ყველი მზადდება უმაღლესი ხარისხის ცხიმმოუხდელი ნედლი რძისგან. ყველის უნიკალობას, პირველ რიგში, მაღალი ხარისხის რძე განაპირობებს, რომელსაც იძლევა თუშეთის ალპურ იალაღებზე მობალახე ქართული ჯიშები - თუშური ცხვარი და თუშური ძროხა. ყველი მწიფდება ცხვრის, თხის ან ხბოს ტყავისაგან დამზადებულ გუდაში (გაკრეჭილი ბეწვით შიგნითა მხრიდან). გუდა, რომელშიც მიმდინარეობს ყველის მომწიფება და შემდგომში შენახვა განაპირობებს მის სპეციფიკურ თავისებურებებს: სუნს, მომლაშო პიკანტურ გემოსა და რამდენადმე მყიფე, მკვრივ კონსისტენციას [4].

ცხვრის რძიდან დამზადებული თუშური გუდის ყველი უფრო მაღალი კვებითი ღირებულებით ხასიათდება, ვიდრე ძროხის რძიდან დამზადებული, რადგან ცხვრის რძე თითქმის ორჯერ მეტ ცილას და ცხიმს შეიცავს (5.8 % და 7.2 %, შესაბამისად), ვიდრე ძროხის რძე; ცხვრისა და ძროხის რძეებს შორის განსხვავება სხვა შემადგენელი ნივთიერებების მიხედვით, უმნიშვნელოა (იხ. ცხრილი 1.1). ცხვრის რძის სიმკვრივეა 1.034 გრ/სმ^3, ახალმოწველილი რძის მჟავიანობა 25 °T-ია [28].

ცხრილი 1.1

ცხვრისა და ძროხის რძეების შემადგენლობა

რძის სახეობა	მშრალი ნივთიერება, %	ცხიმი, %	ცილები, %	რძის შაქარი, %	მინერალური ნივთიერება, %	წყალი, %
ძროხის	12.5	3.8	3.3	4.7	0.7	87.5
ცხვრის	17.9	7.2	5.8	4.6	0.8	82.1

1 კგ ყველის მისაღებად საშუალოდ 6 ლიტრი ცხვრის რძეა საჭირო. ნამდვილი თუშური გუდის ყველის დამზადება რძის გაწურვის ეტაპიდანვე განსაკუთრებულია.

ეთნოგრაფი გიორგი ბოჭორიძე აღწერს თუშური გუდის ყველის დამზადების ტექნოლოგიას: რძე იფილტრება სპეციალურ საწურ ბადეზე, რომელშიც ჩაფენილია სხვადასხვა სამკურნალო ბალახი: ჭინჭარი, ჭინჭრისდედა და ვაციწვერა, რაც, აგრეთვე, ფილტრის როლს ასრულებს. გაფილტრული მოწველილი ცხვრის რძე თბილ მდგომარეობაში გადააქვთ კოდში და რძეში შეაქვთ ყველის შესადედებელი კვეთი. კვეთის ხსნარს წვრილი ჭავლით ასხამენ და რძეს ურევენ, რომ მასში ფერმენტის ხსნარი თანაბრად განაწილდეს. რძის ჭურჭელს (კოდს) სახურავს ახურავენ, რომ რძე არ გაცივდეს და ტოვებენ მოსვენებულ მდგომარეობაში ნადედის (დელამო) მიღებამდე. დელამოს ჭრიან სპეციალური ხის საჭრელებით მსხვილ ნაჭრებად. რძის შედედების ოპტიმალური დრო 30-40 წუთია. დაჭრილ დელამოს ათავსებენ ტომრებში ხელის დაჭერით ხდება საყველე

მასის დაწნეხა, შემდეგ ტომარას გრეხენ და ყველის მასას აძლევენ ძირწაკვეთილი ჭარხლის ფორმას, მას შემდეგ, რაც კარგად დაიწურება და ფორმას მიიღებს, პარკებს ალაგებენ მაგიდაზე და სათფუნებელს გადააფარებენ. ერთი-ორი საათის შემდეგ ყველს აწყობენ გუდაში. ყველის ჩადების წინ თითოეულ დამატებულ ყველზე უმატებენ 100-150 გრამ მსხვილად დაფხვნილ სუფრის მარილს. ყველის ჩაწყობის შემდეგ, გუდას კარგად ეკვრება თავი და დაწოლილ მდგომარეობაში სარდაფში ათავსებენ (13-15) °C ტემპერატურაზე. გუდა ერთი კვირის განმავლობაში 2-3-ჯერ უნდა გადაბრუნდეს, რათა მოხდეს ყველის თანაბარი მომწიფება. გუდაში ყველის ჩაწყობის შემდეგ ასხამენ 18-20 % სუფრის მარილის შემცველი შრატს. გუდაში მომწიფება მინიმუმ სამოცი დღის განმავლობაში უნდა მიმდინარეობდეს [3].

მიხეილ დემურიშვილი ნაშრომში - ქარხნული თუშური ყველის კეთება, პრაქტიკულ რჩევა-დარიგებებს იძლევა კარგი ქარხნული თუშური გუდის ყველის დასამზადებლად. იგი აღნიშნავს, რომ კარგი თუშური გუდის ყველის გაკეთების მეცნიერული შესწავლა შემთხვევით ხასიათს ატარებდა [29].

მ. ვაჩნაძემ დაადგინა, რომ თუშური გუდის ყველისათვის დამახასიათებელი რძემჟავა ბაქტერიებია: *Streptococcus lactis* (ყველის ბიოლოგიური ცხოვრების პირველი პერიოდში) და *Streptobacterium*-ის გვარის წარმომადგენლები [30].

კვლევები თუშური გუდის ყველის მიკროფლორის შესასწავლად ჩატარებული იყო 1942 წელს ფ. სარუხანიანის მიერ. მან გამოყო რძემჟავა ბაქტერია *Streptobacterium casei*, რომლის გამოყენებაც ყველის მომწიფების პროცესში აუმჯობესებდა მის ორგანოლეპტიკურ მაჩვენებლებს [31].

სრულიად სხვა მიმართულებით აქვთ შესწავლილი თუშური გუდის ყველი ა. კორახაშვილსა და გ. ჯეირანაშვილს [2]. მათ გამოიკვლიეს მიკოტოქსინებით თუშური გუდის ყველის დაბინძურების რისკები ევროკავშირის რეგულაციების მოთხოვნების შესაბამისად, ზოგიერთი

მიკოტოქსინის ცხვრის რძეში მოხვედრის წყაროები და მისი მინიმიზაციის საშუალებები. მიკოტოქსინები ცხვრის რძეში და, შესაბამისად, მისგან წარმოებულ ყველში, მატულობს ზამთრის პერიოდში, დამზადებული საკვებით ცხვრის გამოკვების პირობეში.

1. 2. ყველის შემადგენელი პრობიოტიკული მიკროორგანიზმები

1.2.1. ყველის პროპიონმჟავა ბაქტერიები

უკანასკნელ ხანებში კვების მრეწველობის ბიოტექნოლოგია ორიენტირებულია ფუნქციური პროდუქტების და საკვები დანამატების ახალი თაობის შექმნაზე, ასევე, ტრადიციული კვების პროდუქტების შენახვის მაჩვენებლებისა და ბიოლოგიური ღირებულებების გაუმჯობესებაზე [32].

ძნელია ფუნქციური და ჩვეულებრივი საკვების გარეგნულად ერთმანეთისაგან განსხვავება. ფუნქციურ საკვებს ძირითადი კვებითი ფუნქციის გარდა აქვს მკვეთრად გამოხატული ფიზიოლოგიური უპირატესობები: შეუძლია შეამციროს საჭმლის მომნელებელი ტრაქტის ქრონიკული დაავადებების წარმოქმნის რისკი, უზრუნველყოს ორგანიზმი მისი ჯანმრთელობისათვის საჭირო რაოდენობის ვიტამინებით, ცხიმებით, ცილებით, ნახშირწყლებით და სხვ. [33].

მიკროორგანიზმებზე დაფუძნებული ბიოტექნოლოგიები დაკავშირებულია მათ უნართან დაასინთეზონ ბიოლოგიურად აქტიური კომპონენტები, როგორებიცაა: ორგანული მჟავები, ბაქტერიოცინები, ფერმენტები, ვიტამინები და სხვ. მიკროორგანიზმები აუმჯობესებენ მზა პროდუქტის სანიტარულ-მიკრობიოლოგიურ და ორგანოლეპტიკურ მაჩვენებლებს, რაც ასევე, საწარმოო პროცესის სტიმულაციის (ინტენსიურობა) საშუალებას იძლევა [34]. რძის ფერმენტირებული პროდუქტების, განსაკუთრებით, ყველის წარმოებისთვის რძემჟავა ბაქტერიებთან ერთად დიდ ყურადღებას იპყრობს ნაკლებად შესწავლილი,

მაგრამ პრაქტიკული გამოყენების დიდი პერსპექტივის მქონე პროპიონმჟავა ბაქტერიები [35, 36].

მიკროორგანიზმთა გამოყოფისა და მათი წმინდა კულტურების მიღების შემდეგ უნდა მოხდეს მათი სახეობრივი იდენტიფიკაცია პირველ რიგში ბერგის მიერ აღწერილი სტანდარტული მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებების (სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდა, NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდა, ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაციის უნარი, ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი, ჰემოლიზის უნარი) განსაზღვრის საფუძველზე [37, 38, 39].

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური თავისებურებები, ასევე, სოკოებისა და სხვა დამაბინძურებელი მიკროორგანიზმების ზრდის ინჰიბირების აქტივობაა მიზეზი, რაც მათ პრაქტიკულ გამოყენებას განაპირობებს [40, 41, 42].

პროპიონმჟავა ბაქტერიები დადებითად მოქმედებენ ორგანიზმის იმუნურ სისტემაზე, ახასიათებთ უნიკალური იმუნომასტიმულირებელი და ანტიმუტაგენური თვისებები. მათ შეუძლიათ იცხოვრონ ადამიანების ნაწლავებში და შეამცირონ ქიმიურ ნივთიერებებისა და ულტრაიისფერი სხივების გენოტოქსიკური მოქმედება. ცნობილია, რომ პროპიონმჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკული თვისებები განპირობებულია მათ მიერ პროპიონმჟავას, სხვა ორგანული მჟავების, ბაქტერიოცინებისა და ფერმენტების სინთეზით.

Propionibacterium-ის გვარის ბაქტერიები გამოიყენება: როგორც B_{12} ვიტამინის მასინთეზირებლები, როგორც პრობიოტიკები, როგორც ბიოკონსერვანტები და, ასევე, როგორც ყველის დედოების შემადგენელი კომპონენტები. *Propionibacterium*-ის გვარის ბაქტერიები და მათი მეტაბოლიტები ასევე გამოიყენება კოსმეტიკურ, ფარმაცევტულ, კვების და მრეწველობის სხვა დარგებში. ამ ბაქტერიებს უმატებენ ცხოველების საკვებშიც [43].

B_{12} ვიტამინი ზრდის ორგანიზმის იმუნურ სტატუსს; აუმჯობესებს მის საერთო მდგომარეობას ცილების, ცხიმებისა და ნახშირწყლების გარდაქმნის აქტივაციის ხარჯზე; აუმჯობესებს სისხლის ხარისხს, მონაწილეობს ამინომჟავებისა და ნუკლეინის მჟავების სინთეზში. ამ ვიტამინის უკმარისობა ორგანიზმში იწვევს კუჭ-ნაწლავის დაავადებებს, დისბაქტერიოზსა და ანემიას [44].

Propionibacterium-ის გვარის ბაქტერიები პირველად გამოყოფილი და აღწერილი იქნა მე-20 საუკუნის დასაწყისში E. Freudenreich-ისა და S. Orla-Jensen-ის მიერ [45]. მათ პროპიონმჟავა ბაქტერიები მიაკუთვნეს *Actinobacteria*-ს კლასს და *Propionibacteriaceae*-ს ოჯახს [46].

პროპიონმჟავა ბაქტერიები იყოფა ორ ჯგუფად საცხოვრებელი გარემოს მიხედვით: კანის და კლასიკური (რძის).

პირველი ჯგუფი მოიცავს სახეობებს, რომლებიც ცხოვრობენ ადამიანის კანზე, პირის ღრუში და საჭმლის მომნელებელი ტრაქტის ლორწოში. ეს სახეობებია: *Propionibacterium acnes, Propionibacterium avidum, Propionibacterium propionicum, Propionibacterium granulosum* და *Propionibacterium lymphophilum*. ყველა ეს ბაქტერია პათოგენურ ან პირობით პათოგენურ ბაქტერიებს მიეკუთვნება.

პროპიონმჟავა ბაქტერიების კლასიკური შტამები, თავის მხრივ, იყოფა ორ ჯგუფად: პირველი ჯგუფი მოიცავს სახეობებს: *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium jensenii* და *Propionibacterium thoenii*; ხოლო მეორე ჯგუფი - *Propionibacterium freudenreichii*-ის ქვესახეობებს (ssp. *shermanii*, ssp. *freudenreichii*) [47]. ეს ქვესახეობები განსხვავდება ერთმანეთისაგან ნიტრატების შემცირებისა და ლაქტოზის შეთვისების უნარით. *P. freudenreichii* ssp. *freudenreichii*-ს აქვს ნიტრატების შემცირების უნარი, მაგრამ არა აქვს ლაქტოზას ფერმენტაციის უნარი, ხოლო *P. freudenreichii* ssp. *shermanii*-ს შტამს შეუძლია ლაქტოზას გარდაქმნა. მათ აქვთ გენები, რომლებიც აკოდირებს ფერმენტ β-D-გალაქტოზიდაზას (EC 3.2.1.23), მაგრამ არ შეუძლიათ ნიტრატების აღდგენა.

კლასიკური ჯგუფის ბაქტერიები ფართოდ გამოიყენება სასურსათო და ფარმაცევტულ წარმოებაში. აღნიშნულ ბაქტერიებს აქვთ პროპიონმჟავას, ვიტამინების, მათ შორის, B_{12} ვიტამინის, ტრეგალოზას და ბაქტერიოცინების სინთეზის უნარი. პროპიონმჟავა ბაქტერიები (PAB) გამოიყენება ჰოლანდიური და შვეიცარული ყველების წარმოებაში (მომწიფებაში), მარინადებისა და სილოსის დამზადებაში, ასევე, როგორც პრობიოტიკები ცხოველების საკვებში დანამატის სახით [48, 49, 50].

ბერგის სარკვევის მიხედვით [51], პროპიონმჟავა ბაქტერიები წარმოადგენენ 0.5-0.8×1-5 მკმ ზომის ქინძისთავის ფორმის ჩხირებს. გვხვდება კოკის ფორმისაც, წყვილად ან მოკლე ჯაჭვებად გადაბმული, ასევე, V და Y კონფიგურაციის და ჩინური იეროგლიფების მსგავსი. არიან გრამდადებითი, არასპოროვანი, უმოძრაო უჯრედები, ფაკულტატურ ანაერობული, მაგრამ ვარიაბელურები აეროტოლერანტობის მიხედვით. კულტურების უმეტესობა გვხვდება ჰაერში სხვადასხვა რაოდენობით, მაგრამ მეტია ანაერობულ პირობებში. სისხლიან აგარზე წარმოქმნიან ამობურცულ, ნახევრადგამჭვირვალე, მბზინავ კოლონიებს, მოყვითალო შეფერილობიდან წითლამდე. იზრდებიან 6,5 % NaCl-ის არსებობისას, ოპტიმალური pH - დაახლოებით 7, დიაპაზონი - 4,5-8,0. ახასიათებთ დუღილის ტიპის მეტაბოლიზმი. ადუღებენ გლუკოზას და სხვა შაქრებს დიდი რაოდენობის პროპიონმჟავას და ძმარმჟავას წარმოქმნით; ხშირად წარმოქმნიან გაზსაც [52]. ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 30-37 °C. როგორც წესი, კატალაზა-დადებითია.

Propionibacterium-ის გვარის ბაქტერიებზე ცუდად მოქმედებს: მაღალი მჟავიანობა, მაღალი/დაბალი ტემპერატურა, მარილის მაღალი კონცენტრაცია და აქტიური წყალი. ადაპტაცია თუნდაც ერთ აღნიშნულ სტრესზე მათ ხდის სხვა პარამეტრების მიმართ გამძლე ფორმად [53, 50, 54, 55].

პროპიონმჟავა ბაქტერიები არიან ქემოორგანოტროფები და მომთხოვნები არიან საკვები არის შემადგენლობის მიმართ. მათი საკვები

არე, ნახშირბადისა და აზოტის წყაროს გარდა, უნდა შეიცავდეს მიკროელემენტებს, ამინომჟავებსა და ვიტამინებს. ასპარაგინის მჟავას არსებობა საკვებ არეში ზრდის ფერმენტაციის ეფექტურობას და ნახშირბადის დიოქსიდის წარმოქმნას [56].

PAB-ის ნახშირბადის ძირითად წყაროს წარმოადგენს გლუკოზა, ლაქტოზა, ფრუქტოზა, რიბოზა, გალაქტოზა და ორგანული მჟავა - რძემჟავა. ისინი აზოტს იღებენ პეპტიდებიდან, ამინომჟავებიდან, ამინებიდან და ამონიუმის მარილებიდან. მყარ საკვებ არეზე, ოპტიმალურ pH-ზე და ტემპერატურაზე მათი ზრდა გრძელდება 2 კვირის განმავლობაში ლაქტატისა და გლუკოზის თანაობისას.

პროპიონმჟავა ბაქტერიები ახდენენ პეპტიდაზების და პროტეაზების სეკრეციას. ისინი წარმოქმნიან ნივთიერებებს, რომლებსაც აქვთ სასიამოვნო არომატი და გემო. პროლინ-ამინოპეპტიდაზა ათავისუფლებს პროლინს, რომელიც ყველს ანიჭებს მოტკბო გემოს. ისინი ასევე გარდაქმნიან თავისუფალ ამინომჟავებს არომატულ ნაერთებად.

კვების მრეწველობაში პროპიონმჟავა (E 280) და მისი ნატრიუმის (E 281), კალციუმის (E 282) და კალიუმის (E 283) მარილები გამოიყენება სოკოს საწინააღმდეგო საშუალებად პურ-ფუნთუშეულის, ხორცის, ხილ-ბოსტნეულის პროდუქტებში, ასევე, ხორბლის და თამბაქოს შესანახად. FDA-ს (The Food and Drug Administration) მიერ პროპიონმჟავისა და მისი მარილების გამოყენება კვების პროდუქტებში და მედიკამენტებში კვალიფიცირებულია როგორც სავარაუდოდ უსაფრთხო QPS (Qualified Presumption of Safety).

PAB გამოიყოფა ყველიდან და სხვა რძის პროდუქტებიდან. სხვადასხვა ტიპის ყველში რძემჟავა ბაქტერიებთან ერთად ძირითადად გვხვდება: *P. propionicii, P. freudenreichii, P. jensenii, P. thoenii.* რძემჟავა ბაქტერიები ქმნის ხელსაყრელ გარემოს პროპიონმჟავა ბაქტერიების გასამრავლებლად.

Propionibacterium freudenreichi მნიშვნელოვან როლს თამაშობს შვეიცარული ყველის - ემენტალის, მომწიფებაში.

დუღილის პროდუქტები ყველს აძლევს სასიამოვნო პიკანტურ გემოს და ტკბილ არომატს, ხოლო ნახშირბადის დიოქსიდი წარმოქმნის ე.წ. თვლებს, რაც ყველს აძლევს სასიამოვნო იერსახეს. პროპიონმჟავა ბაქტერიები რძემჟავა ბაქტერიებთან ერთად განაპირობებენ ყველის სტრუქტურისა და გემოს სტაბილურობას. როგორც წესი, ემენტალის ყველის 1 გ შეიცავს *P. freudenreichii*-ის ერთ მილიარდ უჯრედს. ეს ბაქტერია შლის ლიპიდებს თავისუფალი ორგანული მჟავების წარმოქმნით. ბაქტერიების ავტოლიზისას წარმოქმნილი ნივთიერებები კიდევ უფრო არომატულს ხდის ემენტალს [57, 58].

მნიშვნელოვანია პროპიონმჟავა ბაქტერიების როლი ბოსტნეულის დამჟავებაში და შენახვაში. ისინი აჩქარებენ ფერმენტაციის პროცესს და იცავენ საბოლოო პროდუქტს დაობებისაგან.

ასევე, დადგინდა, რომ *P. freudenreichii* წმენდს ადამიანის საჭმლის მომნელებელ ტრაქტს და იწვევს სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზს მსხვილ ნაწლავში, წარმოქმნის რა პროპიონატს და აცეტატს [59].

1.2.2. ყველის მომწიფებაში მონაწილე რძემჟავა ბაქტერიები

მიკროორგანიზმები მნიშვნელოვანი კომპონენტია ყველის ყველა სახეობისათვის და მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ, როგორც მის დამზადებაში, ისე - მომწიფების პროცესში.

ყველის მიკროფლორა შესაძლებელია დაიყოს ორ ჯგუფად: სტარტერი რძემჟავა ბაქტერიები და მეორეული მიკროორგანიზმები. სტარტერი მიკროორგანიზმები წარმოქმნიან მჟავას და ხელს უწყობენ ყველის მომწიფების პროცესს. მეორეული (დამხმარე) მიკროორგანიზმები არ წარმოქმნიან მჟავას, მაგრამ მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ მომწიფების პროცესში. დამხმარე მიკროორგანიზმებია არასტარტერი რძემჟავა

ბაქტერიები, საფუვრები და/ან ობის სოკოები, რომლებიც იზრდებიან ყველის შიგნით ან გარეთ და არიან უნიკალურნი კონკრეტული ყველის სახეობებისთვის [60].

ყველის რძემჟავა ბაქტერიები რძემჟავას წარმოქმნის შედეგად იწვევენ რძის სწრაფ შემჟავებას, რაც გავლენას ახდენს ყველის წარმოების პროცესზე და, საბოლოოდ, ყველის შემადგენლობაზე და ხარისხზე [61].

ყველის წარმოების პროცესში რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენებას დიდი ხნის ისტორია აქვს. ფერმენტაცია, რომელსაც ბიოკონსერვაციასაც უწოდებენ, არის იაფი, ფართოდ ხელმისაწვდომი მეთოდი, რომელიც აკმაყოფილებს დღევანდელ მომხმარებელთა მზარდ მოთხოვნას მინიმალურად დამუშავებულ/კონსერვირებულ სასურსათო პროდუქტებზე. ბიოკონსერვაცია რძემჟავა ბაქტერიებით ერთ-ერთი უძველესი და მაღალეფექტური ფორმაა თერმული დამუშავების გარეშე საკვები პროდუქტების შესანახად. ყველის წარმოება ეფუძნება რძემჟავა ბაქტერიების მიერ შაქრების, განსაკუთრებით ლაქტოზის, გლუკოზისა და გალაქტოზის, ფერმენტაციის უნარს. ამ პროცესში ხდება რძემჟავისა და არომატული ნივთიერებების წარმოქმნა, რაც დამახასიათებელ არომატსა და გემოს აძლევს ფერმენტირებულ პროდუქტებს. რძემჟავა ბაქტერიები, ასევე, გამოყოფენ ანტიმიკრობულ მეტაბოლიტებს ე.წ. ბაქტერიოცინებს, რომლებიც ითვლება უსაფრთხო და ბუნებრივ კონსერვანტებად. მათი გამოიყენება შესაძლებელია სხვა მეთოდებთან ერთად საკვები პროდუქტების შენახვის მიზნით [62].

რძემჟავა ბაქტერიები ტაქსონომიურად ჰეტეროგენული ჯგუფია. ისინი არიან: გრამ-დადებითი, კატალაზა-უარყოფითი, მჟავა ტოლერანტული, უძრავი, სპორების არწარმომქმნელი ანაერობული ან ფაკულტატურ აერობული კოკები და ჩხირები; არ აღადგენენ ნიტრიტს; ნახშირწყლების ფერმენტაციის შედეგად წარმოქმნიან რძემჟავას, როგორც ძირითად საბოლოო პროდუქტს [63]. რძემჟავა ბაქტერიები მოიცავს 11 გვარს, აქედან მხოლოდ 6 გვარი მონაწილეობს ყველის ფერმენტაციის

პროცესში: *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Streptococcus, Pediococcus* [64, 65].

მნიშვნელოვან მახასიათებელს რძემჟავა ბაქტერიების დიფერენციაციისათვის წარმოადგენს გლუკოზის ფერმენტაციის უნარი სტანდარტულ პირობებში, ანუ გლუკოზის და ზრდის ფაქტორების (ამინომჟავები, ვიტამინები, ნუკლეინის მჟავები) შეუზღუდავი და ჟანგბადის შეზღუდული რაოდენობისას. ამ პირობებში ნახშირწყლების ფერმენტაციის მიხედვით რძემჟავა ბაქტერიები იყოფა ორ ქვეჯგუფად: ჰომოფერმენტულ (წარმოქმნიან რძემჟავას, როგორც თითქმის ერთადერთ პროდუქტს) და ჰეტეროფერმენტულ (რძემჟავას გარდა წარმოქმნიან ნახშირორჟანგს, ეთანოლს და/ან ძმარმჟავას) რძემჟავა ბაქტერიებად [66, 67].

ჰომოფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიების გვარებს მიეკუთვნება *Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus, Pediococcus, Lactobacillus* და ჰეტეროფერმენტულებს მიეკუთვნება *Leuconostoc*, *Lactobacillus* [68].

ქვემოთ მოყვანილია ყველის წარმოებისათვის მნიშვნელოვანი ბაქტერიული გვარების მოკლე დახასიათება.

გვარი *Lactococcus*. აქვთ სფერული ან ოვალური ფორმის უჯრედები, გვხვდება ერთეული უჯრედების, წყვილად ან ჯაჭვის სახით; გრამ-დადებითია, სპორებს არ წარმოქმნიან, არ აქვთ მოძრაობის უნარი და *β*-ჰემოლიზის უნარი. ფაკულტატური ანაერობებია; კატალაზა-დადებითი. იზრდებიან 10 °C-ზე, მაგრამ არ იზრდებიან 45 °C-ზე. ჩვეულებრივ იზრდებიან 4 % NaCl-ის თანაობისას, გარდა *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, რომელიც ტოლერანტულია 2% NaCl-ის მიმართ; ქემოორგანოტროფებია, მეტაბოლიზმი - დუღილის ტიპის; გლუკოზის ფერმენტაციის საბოლოო პროდუქტს წარმოადგენს L(+) რძემჟავა. საკვები მოთხოვნილებები რთულია და ვარიაბელური [69].

რძემჟავა ბაქტერიები, მათ შორის, ლაქტოკოკების წარმოშობა ფოტოსინთეზის უნარის მქონე ციანობაქტერიებამდე დასტურდება მათი აღმოჩენით 2.75 მილიარდი წლით დათარიღებულ დანალექებში.

ვარაუდობენ, რომ რძემჟავა ბაქტერიები ატმოსფეროში ჟანგბადის საგრძნობი რაოდენობის დაგროვებამდე წარმოიშვნენ, რაც აერობულ გარემოში მათ ცუდი ადაპტაციას უნარს შეესაბამება [70].

ლაქტოკოკები კარგად იზრდება ბუფერული საკვები არის ნეიტრალურ pH-ზე, მაგრამ წყვეტს ზრდას pH 4.5-ზე. ლაქტოკოკები მიეკუთვნება ჰომოფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიებს.

არსებობს ტრადიციული რძის პროდუქტებიდან გამოყოფილი ლაქტოკოების ტექნოლოგიურ თვისებების შესწავლის მრავალი კვლევა. ამ კვლევების შედეგებმა აჩვენა, რომ ტექნოლოგიური თვისებების ვარიაბელობა დამოკიდებულია სახეობაზე. ზოგიერთ სახეობას ახასიათებს გამორჩეული ტექნოლოგიური თვისებები და შეიძლება გამოყენებულ იქნას სტარტერ კულტურებად ყველის წარმოებაში [71, 72, 73, 74, 75].

Lactococcus lactis სახეობები სამრეწველო სტარტერების ძირითადი კომპონენტია ფერმენტირებული რძის პროდუქტების წარმოებისას. პლაზმიდებში კოდირებული თვისებები - ლაქტოზას მეტაბოლიზმი, მძიმე მეტალებისადმი და ტემპერატურა/ოსმოსური სტრესისადმი მდგრადობა, კოლონიზაციის შერჩევითი უპირატესობები (ბაქტერიოცინებისა და ეგზოპოლისაქარიდების წარმოქმნა) მათი წარმატებული გამოყენების საფუძველია საკვების პროდუქტების ფერმენტაციისას [76].

მეტაბოლიზმის პროდუქტებისა და მეტაბოლური გზის შესწავლა საშუალებას გვაძლევს *Lactococcus lactis* სახეობის ქვესახეობები, როგორიცაა *cremoris* და *lactis* გამოვიყენოთ, როგორც სტარტერი კულტურები რძის ფერმენტირებული პროდუქტების - მაგარი, ნახევრადმაგარი, რბილი ყველების, მაწვნის და არაჟნის წარმოებისას. *Lactococcus lactis* და მისი ქვესახეობები ფართოდ გამოიყენება რძის მრეწველობაში და, საზოგადოდ, აღიარებულია, როგორც უსაფრთხო (GRAS - Generally Recognized As Safe) ადამიანებისთვის. მსოფლიოში წარმოებული ყველის მოცულობა, რომელშიც გამოყენებული იყო რძემჟავა ბაქტერიების სტარტერი

კულტურები, უმეტესად ლაქტოკოკები, 2000 წელს 16 მლნ. ტონაზე მეტი იყო [77].

ყველის მომწიფებაში მონაწილე ლაქტოკოკების სახეობებია: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*. [78, 79].

გვარი *Lactobacillus*. რძემჟავა ბაქტერიების ყველაზე დიდი გვარია. მოიცავს მრავალფეროვანი ფენოტიპური, ბიოქიმიური და ფიზიოლოგიური მახასიათებლების მქონე სახეობებს. მაღალი ჰეტეროგენულობა გამოწვეულია გვარში შემავალი სახეობების დნმ-ში G+C წყვილების შემცველობის ფართო დიაპაზონით (32-53 %) [80].

უჯრედების ფორმა იცვლება გრძელიდან - მოკლე მოხრილ ჩხირებამდე, ხშირად კორინეფორმული კოკობაცილებია; უძრავია, სპორას არ წარმოქმნიან, გრამ-დადებითია. ფაკულტატური ანაერობებია; მკაცრად აერობული პირობები იწვევს ზრდის ინჰიბირებას; ახასიათებთ ფერმენტული ტიპის მეტაბოლიზმი. გლუკოზის ფერმენტაციის მიხედვით, ლაქტობაცილები იყოფა სამ ძირითად ჯგუფად [81]:

- ობლიგატური ჰომოფერმენტული ლაქტობაცილები: ჰექსოზების ფერმენტაციის შედეგად წარმოქმნიან რძემჟავას. არ აქვთ პენტოზების და გლუკონატის ფერმენტაციის უნარი
- ფაკულტატური ჰეტეროფერმენტული ლაქტობაცილები: ჰექსოზების ფერმენტაციის შედეგად წარმოქმნიან რძემჟავას. ამ ორგანიზმებს აქვთ ალდოლაზა და ფოსფოკეტოლაზა, აქედან გამომდინარე, აქვთ არა მარტო ჰექსოზების, არამედ, პენტოზების (ხშირად გლუკონატის) ფერმენტაციის უნარი
- ობლიგატური ჰეტეროფერმენტული ლაქტობაცილები: ჰექსოზების ფერმენტაციის შედეგად წარმოქმნიან ლაქტატს, ძმარმჟავასა და CO_2.

ჩვეულებრივ, არ შეუძლიათ ლაქტატის ფერმენტაცია; დამატებითი პროდუქტი შეიძლება იყოს, ასევე, აცეტატი, ეთანოლი, ფორმიატი ან სუქცინატი; არ შეუძლიათ ნიტრატის რედუქცია. ლაქტობაცილების ზრდის

ოპტიმალური pH 5.5.-5.8-ია. მათ აქვთ რთული საკვები მოთხოვნილებები ამინომჟავებზე, პეპტიდებზე, ვიტამინებზე, მინერალებზე, ცხიმოვან მჟავებზე და ნახშირწყლებზე. საკვები მოთხოვნილებები ძირითადად განსხვავებულია თითოეული კონკრეტული სახეობისთვის. ზრდის ტემპერატურა იცვლება 2-დან - 53 °C-მდე, მაგრამ, ზოგადად, ოპტიმალურია - 30-40 °C [82].

ჟელატინს არ ათხევადებენ. არ შეუძლიათ კაზეინის შეთვისება, მაგრამ მცირე რაოდენობით ხსნადი აზოტი წარმოიქმნება სახეობების უმეტესობის მიერ; ინდოლსა და H_2S-ს არ წარმოქმნიან; კატალაზა და ციტოქრომ-უარყოფითებია, თუმცა ზოგიერთი სახეობის რამდენიმე შტამს შეუძლია წყალბადის ზეჟანგის დაშლა ფსევდოკატალაზას საშუალებით, ან ნამდვილი კატალაზას საშუალებით სისხლიან აგარზე.

პიგმენტს იშვიათად წარმოქმნიან; ზოგიერთ შტამს აქვთ ყვითელი ან ნარინჯისფერიდან ჟანგისფერ ან აგურისფერ წითლამდე შეფერილობის კოლონიები.

ლაქტობაცილები ბუნებაში ფართოდ გავრცელებული გვარია. ისინი ნანახია რძის, მარცვლეულის, ხორცის და თევზის პროდუქტებში, ლუდში, ღვინოში, ხილში და ხილის წვენებში, მწნილებში, სილოსში, წყალში, ნიადაგში და სხვ.

დადგენილია, *Lactobacillus* ზოგიერთი სახეობის სამკურნალო თვისებები. ლაქტობაცილების უნარი, ლაქტოზას ფერმენტაციის შედეგად წარმოქმნან რძემჟავა, წარმატებით გამოიყენება ლაქტოზას აუტანლობის სამკურნალოდ. ლაქტობაცილები იწვევენ ლპობის ბაქტერიების ზრდის ინჰიბირებას კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში pH-ის დაწევით და სხვა მეტაბოლური პროდუქტების წარმოქმნით, როგორებიცაა ბაქტერიოცინები, წყალბადის ზეჟანგი, ნახშირორჟანგი და დიაცეტილი [83].

ლაქტობაცილების ბევრი სახეობა გამოიყენება საკვები პროდუქტების წარმოებაში. კერძოდ, ყველის წარმოებაში, როგორც სტარტერები, არომატული დანამატი, პრობიოტიკები ან ძირითადი არასტარტერი

რძემჟავა ბაქტერიები. მათ მიეკუთვნებიან *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis, Lb. buchneri, Lb. casei*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. fermentum, Lb. helveticus*, *Lb. hilgardii, Lb. paracasei, Lb. plantarum* და *Lb. reuteri, Lb. rhamnosus* [84, 85, 86].

გარდა ზემოაღნიშნულისა, ფერმენტაციისას ძირითადად გამოყენებულ ლაქტობაცილების სახეობებს მიეკუთვნება ფაკულტატური და ობლიგატური ჰეტეროფერმენტული სახეობები, როგორიცაა: *Lactobacillus kefiri, Lactobacillus curvatus, Lb. coryneformis, Lb. hilgardii* და *Lb. sakei.*

კვლევების შედეგად ჩანს, რომ ფაკულტატური ჰეტეროფერმენტული *Lactobacillus*-ები, განსაკუთრებით, *L. plantarum* და *L. casei,* არის ძროხის და ცხვრის რძის ყველაზე დამახასიათებელი ლაქტობაცილების სახეობები, რომლებიც წარმოქმნიან ყველის სპეციფიკურ სურნელს და არომატს [87].

გვარი *Streptococcus.* სტრეპტოკოკების სახეობები სფერული ან ოვალური ფორმის, 2 მკმ დიამეტრზე მცირე ზომის უჯრედებია; თხევად საკვებ არეში გაზრდისას გვხვდება ჯაჭვების ან წყვილების სახით. უჯრედები უძრავია; ენდოსპორებს არ წარმოქმნიან; გრამ-დადებითი ბაქტერიებია; თითქმის ყველა სახეობა ფაკულტატური ანაერობია, ზოგიერთებს სჭირდებათ დამატებითი CO_2 ზრდისთვის; ქემოორგანოტროფებია და ახასიათებთ დუღილის ტიპის მეტაბოლიზმი; ნახშირწყლების ფერმენტაციისას წარმოქმნიან ძირითადად რძემჟავას, მაგრამ გაზს არ წარმოქმნიან; საკვები მოთხოვნილებები რთული და ვარიაბელურია; ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 37 °C, მაგრამ მაქსიმუმი და მინიმუმი იცვლება სახეობაზე დამოკიდებულებით.

სახეობა, რომელიც მონაწილეობს ყველის მომწიფების პროცესში არის *Streptococcus thermophilus*. მისი უჯრედები არის სფერული ან ოვალური, 0.7–1.0 მკმ დიამეტრის; გვხვდება წყვილების და გრძელი ჯაჭვების სახით; ქემოორგანოტროფული, ფაკულტატური ანაერობებია; სისხლიან აგარზე დამახასიათებელია α-ჰემოლიზი; შეუძლიათ ზრდა 45 °C-ზე და შტამების უმრავლესობას შეუძლია გაუძლოს 65 °C გაცხელებას 30 წთ განმავლობაში;

არ იზრდებიან 15 °C-ზე; არ იზრდებიან pH 9.6-ზე ან 0.1 %-იან მეთილენის ლურჯზე; ვარიაბელური ზრდა ახასიათებთ 2 % NaCl-ის შემცველ ბულიონზე, არ იზრდებიან 3 % NaCl-ის შემთხვევაში; მჟავას წარმოქმნიან ფრუქტოზას, გლუკოზას, ლაქტოზას, მანოზას და საქაროზას შემთხვევაში. არ ახასიათებთ ადონიტოლის, ამიგდალინის, არაბინოზას, ცელობიოზას, გლიცეროლის, ინულინის, მალტოზას, მანიტოლის, სორბიტოლის და ქსილოზას ფერმენტაციის უნარი; ვარიაბელური რეაქცია ახასიათებთ არბუტინის, გალაქტოზას, მელიციტოზას, მელიბიოზას, რაფინოზას და რიბოზას შემთხვევაში. შტამებს არ შეუძლიათ ესკულინის, კაზეინის, ჟელატინის ჰიდროლიზი. ამიაკს არ წარმოქმნიან არგინინიდან. გამოყოფა ხდება რძის პროდუქტებიდან, მათ შორის, პასტერიზებული რძიდან [88].

გვარი *Leuconostoc*. უჯრედები სფერული ან წაგრძელებული ფორმისაა, გრამ-დადებითია, უძრავია და სპორებს არ წარმოქმნიან; ძირიდადად, გვხვდება წყვილების ან ჯაჭვების სახით; გლუკოზას ფერმენტაცია მიმდინარეობს ჰეტეროფერმენტულად ლაქტატის, CO_2-ის, აცეტატის და ეთანოლის წარმოქმნით. გლუკოზიან საკვებ არეზე გაზრდილი უჯრედები წაგრძელებულია და მორფოლოგიურად უფრო ახლოსაა ლაქტობაცილებთან, ვიდრე სტრეპტოკოკებთან. უმეტესობა სახეობები წარმოქმნიან კოკის ფორმის უჯრედებს რძეში ინოკულირებისას. ქემოორგანოტროფებია, ფაკულტატური ანაერობებია, კატალაზა-უარყოფითი, არ აქვთ ციტოქრომები; არ აქვთ პროტეოლიზური უნარი; ნიტრატს არ გარდაქმნიან; არ აქვთ ჰემოლიზის უნარი; ინდოლს არ წარმოქმნიან; არ შეუძლიათ არგინინის ჰიდროლიზი, რძის შემჟავება და აჭრა. იზრდებიან pH 4.5-ზე, სახეობები არ არიან აციდოფილურები და უპირატესობას ანიჭებენ საკვებ არეს pH 6.5-ით. ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა მერყეობს 20-30 °C შორის, მაგრამ ზრდა შეიძლება მოხდეს 5 °C-ზეც. იზრდება მდიდარ საკვებ არეზე და ამინომჟავების დამატებისას.

Leuconostoc mesenteroides და *Leuconostoc lactis* გამოიყენება, როგორც სტარტერი კულტურები დოს, კარაქის, თხევადი ყველის, გაუდას და ედამის

წარმოებისას [89, 90, 91]. მათი გამოყოფა, ძირითადად, ხდება რძის პროდუქტებიდან [92].

გვარი *Enterococcus*. გრამ-დადებითი ბაქტერიებია. უჯრედები ოვალური ფორმისაა, გვხვდება წყვილებად ან მოკლე ჯაჭვის სახით; ზოგიერთი სახეობის შტამები შეიძლება იყოს მოძრავი; ზოგიერთ სახეობას აქვს მოყვითალო პიგმენტი; ფაკულტატური ანაერობებია; კატალაზა-უარყოფითია, მაგრამ ზოგიერთი სახეობა ავლენს ფსევდოკატალაზურ აქტივობას, სისხლიან აგარზე კულტივირებისას; ჰემოლიზური აქტივობა ვარიაბელურია და სახეობაზეა დამოკიდებული; ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 35-37 °C; უმრავლესობას შეუძლია 42-45 °C ტემპერატურაზე ზრდაც, სუსტი ზრდა ახასიათებთ 10 °C-ზე; რეზისტენტულია გამოშრობის მიმართ; ქემოორგანოტროფები არიან; ახასიათებთ დუღილის ტიპის მეტაბოლიზმი - ჰომოფერმენტული რძემჟავა ფერმენტაცია; გლუკოზის ფერმენტაციისას დუღილის ძირითადი საბოლოო პროდუქტია L(+)-რძემჟავა; ურეაზა-ნეგატიურია; ზოგიერთ სახეობას ახასიათებს 40 % ნაღვლის მიმართ რეზისტენტობა; წარმოქმნიან მჟავას ამიგდალინიდან, არბუტინიდან, ცელობიოზიდან, ფრუქტოზიდან, გალაქტოზიდან, გლუკოზიდან, ლაქტოზიდან და მალტოზიდან; მჟავას არ წარმოქმნიან ქსილოზიდან.

ენტეროკოკები წარმოადგენენ მრავალი საკვები პროდუქტის, განსაკუთრებით, ცხოველური წარმოშობის პროდუქტების (რძე და რძის პროდუქტები, ხორცი და ფერმენტირებული ძეხვი და სხვ.) დამახასიათებელ ბაქტერიებს. ზოგადად, ისინი განიხილება, როგორც საკვები პროდუქტების მეორადი დამაბინძურებლები, რომლებიც ხშირად იწვევენ მათ გაფუჭებას. თუმცა, დადგენილ იქნა, რომ ენტეროკოკების გვარიდან *Enterococcus faecium* და *Enterococcus faecalis* სახეობებს აქვთ პრობიოტიკული მახასიათებლები. *Enterococcus faecium*-ის გამოყენება დიარეის სამკურნალოდ ითვლება ანტიბიოტიკების ალტერნატივად. *Enterococcus faecium*-ის პრობიოტიკული ეფექტი გამოწვეულია

ქოლესტეროლის აბსორბციის შემცირებით საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში [93].

ზოგიერთი შტამი დადებითად მოქმედებს სხვადასხვა სახეობის ყველის მომწიფების პროცესზე და არომატის გაუმჯობესებაზე. ისინი ზოგჯერ გამოიყენება, როგორც პრობიოტიკული კულტურა [94, 95].

გვარი *Pediococcus.* უჯრედები სფერული ფორმისაა, რომლებიც განლაგებულია წყვილებად და ტეტრადებად; პედიოკოკების გვარი მოიცავს 15 სახეობას [96]. ეს ბაქტერიები გრამ-დადებითი, ფაკულტატური აერობებია, კატალაზა-უარყოფითი, უძრავი და სპორებს არ წარმოქმნიან [97]. ნახშირწყლების უტილიზაცია განსხვავდება სახეობების მიხედვით, მაგრამ პედიოკოკების უმეტესობა წარმოქმნის D(-) და L(+)-რძემჟავას გლუკოზიდან. ზოგიერთ სახეობას შეუძლია გაუძლოს ექსტრემალურ გარემო პირობებს, როგორიცაა: მაღალი ტემპერატურა, pH და NaCl-ის კონცენტრაცია. ეს ბაქტერიები ძირითადად გამოიყოფა მცენარეებიდან, ფერმენტირებული საკვები პროდუქტებიდან, მწნილიდან, ფერმენტირებული ძეხვიდან და დაავადებული ლუდიდან [98]. მიუხედავად იმისა, რომ ლაქტოზის არარეგულარული გამოყენების გამო პედიოკოკები არათანაბრად იზრდება რძეში, გამოყოფილ იქნა *Pc. pentosaceus* და *Pc. Acidilactici*. პედიოკოკები გამოყოფილ იქნა აგრეთვე ფერმენტირებული რძიდან, როგორიცაა ტრადიციული ეთიოპიური ერგო (Ergo) [99].

პედიოკოკებიდან ყველში ყველაზე ხშირად გვხვდება *Pediococcus acidilactici* და *P. pentosaceus* [60].

20 წელია, კომპანია - Dairy Connection Inc., ემსახურება რძის პროდუქტების მრეწველობას როგორც სტარტერული კულტურების მიმწოდებელი სხვადასხვა სახის ყველების, აგრეთვე ფერმენტირებული რძის პროდუქტების წარმოებისთვის [100]. ქვემოთ, ცხრილში მოცემულია სხვადასხვა სახის ყველების წარმოებაში გამოყენებული რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების სახეობების ჩამონათვალი.

ცხრილი 1.2

სხვადასხვა სახის ყველების წარმოებაში გამოყენებული რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიები

კულტურების ნაკრებები	**გამოყენება**
Lactococcus lactis subsp. *lactis,* *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*	ნახევრად-მაგარი ამერიკული სტილის ყველი: ჩედარი, კოლბი (Colbi)
Lactococcus lactis subsp. *lactis,* *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris,* *Lactococcus lactis* subsp. *biovar diacetylactis*	რბილი მომწიფებული ან მოუმწიფებელი ყველები: ბრი (Brie), კამემბერი (Camembert), გაუდა (Gouda), ჩევი (Chevie), ლურჯი (Blue)
Lactococcus lactis subsp. *lactis,* *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris,,* *Lactococcus lactis* subsp. biovar *diacetylactis,* *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*	რბილი მომწიფებული ან მოუმწიფებელი ყველები: თხის-რძის ყველები, ჩევი
Lactococcus lactis subsp. *lactis,* *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris,,* *lactococcus lactis* subsp. *biovar diacetylactis,* *Streptococcus thermophilus*	რბილი მომწიფებული ან მოუმწიფებელი ყველები: ბრი, კამემბერი, გაუდა, ჩევი, ლურჯი
Lactococcus lactis subsp. *lactis,* *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris,* *Lactococcus lactis* subsp. *biovar diacetylactis,* *Lctobacillus helveticus*	ჩედარი (Cheddar)
Lactococcus lactis subsp. *lactis,* *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris,,* *Streptococcus thermophilus,* *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis,* *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*	ფეტა (Feta)
Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus delbrueckii* subsp.	მოცარელა, პროვოლონე

Bulgaricus	
Sreptococcus thermophilus, *Lactobacillus helveticus*	შვეიცარული
Sreptococcus thermophilus (სწრაფი)	მოცარელა, პროვოლონე, შვეიცარული
Streptococcus thermophilus (ნელი)	მუენსტერი (MuenSter)
Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*	მოცარელა, პროვოლონე
Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis,* *Lactobacillus helveticus*	პარმეზანი (Parmesan), შვეიცარული
Lactococcus lactis subsp. biovar *diacetylactis*	დამატებითი კულტურა; აძლიერებს არომატს და სურნელს ზოგიერთი მჟავის წარმოქმნით, ასევე გაზის წარმოქმნით; ხშირად გამოიყენება რბილი მომწიფებული ყველებისთვის: ბრი, კამემბერი, ლურჯი ყველი
Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*	დამატებითი კულტურა; აძლიერებს არომატს და სურნელს მცირე რაოდენობით მჟავის წარმოქმნით; ხშირად გამოიყენება რბილი მომწიფებული ყველებისთვის; ხშირად გამოიყენება როგორც დამხმარე კულტურა ლურჯ ყველებში
Lactobacillus helveticus, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*	დამატებითი კულტურა; უზრუნველყოფს პიკანტურ და ტკბილ სურნელს და არბილებს ტექსტურას; ხშირად გამოიყენება როგორც დამხმარე კულტურა ყველებში: მოცარელა, პროვოლონი, შვეიცარული, ჩედარი
Propionibacterium shermanii	დამატებითი კულტურა; წარმოქმნის გაზს (თვლებს); გამოიყენება როგორც დამატებითი კულტურა შვეიცარული სტილის ყველებში

1.2.3. პრობიოტიკებისთვის აუცილებელი თვისებები

ტერმინი პრობიოტიკი ბერძნული სიტყვაა და ნიშნავს - სიცოცხლისთვის, რომლის მნიშვნელობაც წლების განმავლობაში იცვლებოდა.

პირველი მონაცემები ადამიანების მიერ ბაქტერიული სასმელების მიღების შესახებ გაჩნდა 2000 წლის წინ. თუმცა, XX საუკუნის დასაწყისში (1907) პირველად მოხდა პრობიოტიკების მეცნიერულად შესწავლა რუსი მეცნიერის - ილია მეჩნიკოვის მიერ პასტერის ინსტიტუტში. მისი ჰიპოთეზა მდგომარეობდა იმაში, რომ იოგურტში არსებული რძემჟავა ბაქტერიები თრგუნავენ საჭმლის მომნელებელ ტრაქტის მავნე, ლპობის ბაქტერიებს. ი. მეჩნიკოვის ნაშრომი შეიძლება ჩაითვალოს პრობიოტიკების, ანუ იმ მიკროორგანიზმების დაბადებად, რომლებიც აუმჯობესებენ ჯანმრთელობას. აქედან გამომდინარე, პრობიოტიკებმა მიიღეს ფართო აღიარება, როგორც ახალმა პროფილაქტიკურმა სტრატეგიამ ან თერაპიამ მრავალი კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის დაავადებების დროს. ნათლად იყო ნაჩვენები რძემჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი შტამის სასარგებლო გავლენა ჯანმრთელობის მდგომარეობაზე [101, 102].

ტერმინი პრობიოტიკი პირველად გამოიყენა 1965 წელს დ.ლილიმ და რ. სტილველმა ნივთიერებების ასაღწერად, რომლებიც გამოყოფილი იყო მიკროორგანიზმის მიერ და ახდენდა სხვა მიკროორგანიზმების ზრდის სტიმულირებას [103]. 1974 წელს პარკერმა განსაზღვრა პრობიოტიკი, როგორც ორგანიზმები და ნივთიერებები, რომლებიც ხელს უწყობენ კუჭ-ნაწლავის მიკროფლორის დაბალანსებას. ამ ტერმინის ხელახლა განსაზღვრა მოხდა 1989 წელს ფულერის მიერ, როგორც ცოცხალი მიკრობული საკვები დანამატის, რომელიც სასიკეთოდ მოქმედებს მასპინძელ ორგანიზმზე და ახდენს კუჭ-ნაწლავის მიკრობული ბალანსის გაუმჯობესებას [104]. სურსათისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციის (FAO) და მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის (WHO) ექსპერტთა კომისიის მიერ პრობიოტიკები განსაზღვრულია როგორც: ცოცხალი ორგანიზმები, რომლებიც სათანადო რაოდენობის შემთხვევაში მასპინძელი ორგანიზმისთვის სასარგებლოა [105].

ბოლო წლებში ჩატარებული კვლევები ადასტურებს, რომ პრობიოტიკები წარმოადგენს ჯანსაღი კვების გზას ადამიანებისა და

ცხოველებისთვის, ასევე, ბუნებრივ, უსაფრთხო და ეფექტურ ბარიერს მიკრობული ინფექციების წინააღმდეგ საბრძოლველად [106, 107].

პრობიოტიკული მახასიათებლებით ბაქტერიების შერჩევა ეფუძნება ისეთ კრიტერიუმებს, როგორებიცაა: უსაფრთხოება, ტექნოლოგიური და საჭმლის მომნელებელი ტრაქტის სტრესისადმი მდგრადობა, ადჰეზიის უნარი ნაწლავში, ასევე, ადამიანური წარმომავლობა. ბოლო ორი პირობა საკამათოა, რომ არ არის სავალდებულო, თუმცა, ზოგიერთ შემთხვევაში მათ შეუძლიათ გააუმჯობესონ პრობიოტიკული პოტენციალი [108].

დღესათვის ცნობილი პრობიოტიკული ბაქტერიების უმეტესობა მიეკუთვნება *Lactobacillus* და *Bifidobacterium*-ის გვარს [109], თუმცა, *Lactococcus, Enterococcus* და *Saccharomyces* გვარების სახეობებიც მიეკუთვნება პრობიოტიკულ მიკროორგანიზმებს [110, 111].

საკვები პროდუქტები, რომლებიც შეიცავს პრობიოტიკულ ბაქტერიებს, იწოდება ფუნქციურ საკვებად და ასეთი პროდუქტები ფართოდაა გავრცელებული განვითარებულ ქვეყნებში. დადგენილ იქნა, რომ პროდუქტები, რომლებიც შეიცავს პრობიოტიკულ მიკროორგანიზმებს, დადებით გავლენას ახდენს ადამიანის ჯანმრთელობაზე, კერძოდ, ლაქტოზის აუტანლობაზე, დიარეის მკურნალობაზე, სისხლში ქოლესტერინის შემცირებაზე და იმუნური სისტემის გაუმჯობესებაზე [112, 113, 114, 115].

ცოცხალი მიკრობული დანამატების - პრობიოტიკების, გამოყენება ერთ-ერთი მეთოდია კუჭ-ნაწლავის მიკროფლორის მოდულაციისათვის.

მოქმედ პრობიოტიკს უნდა ახასიათებდეს ეფექტური ოპერირება სხვადასხვა გარემო პირობებში და გადარჩენადობა სხვადასხვა ფორმით. ბევრი პარამეტრი არსებობს პრობიოტიკების სკრინინგისათვის, რაც განსაზღვრავს პრობიოტიკების მიზანმიმართულ გამოყენებას სამიზნე პოპულაციის მიმართ [116, 117].

პრობიოტიკული მიკროორგანიზმების შერჩევისას უნდა იქნას გათვალისწინებული, რომ ის უნდა მიეკუთვნებოდეს მიკროორგანიზმებს,

რომლებიც საზოგადოდ აღიარებულია, როგორც უსაფრთხო (GRAS) ადამიანების მოხმარებისთვის. ის მოიცავს რძემჟავას წარმომქმნელ ბაქტერიებს: *Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus, Enterococcus, Leuconostoc* და *Pediococcus* სახეობებს [118, 119].

პრობიოტიკული მიკროორგანიზმების ძირითადი მახასიათებლებია [120, 121, 122]:

- უჯრედების მაღალი სიცოცხლისუნარიანობა, რეზისტენტობა დაბალ pH-ზე [123]
- ნაწლავებში სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება, მაშინაც კი თუ პრობიოტიკს არ აქვს ნაწლავებში დასახლების უნარი (მჟავისა და ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა)
- ნაწლავების ეპითელიუმში ადჰეზიის უნარი, რათა თავიდან იქნეს აცილებული ნაწლავის პერისტალტიკისას მოცილება
- ურთიერთქმედება ან სიგნალების გაგზავნა ნაწლავების მოქმედებასთან დაკავშირებულ იმუნურ უჯრედებთან
- ისინი უნდა მიეკუთვნებოდნენ იმ ორგანიზმის ნორმალური მიკროფლორას, რომელშიც გამოიყენება: მაგ., ადამიანის პრობიოტიკები უნდა იყოს ადამიანური წარმოშობის
- არ უნდა იყვნენ პათოგენურები
- პრობიოტიკი უნდა იყოს უსაფრთხო, არ უნდა იწვევდეს სისხლის თეთრი უჯრედების ლიზისს *in vivo*
- უნდა იყოს გენეტიკურად სტაბილური
- უნდა გააჩნდეს მასპინძელი ორგანიზმის პოტენციური მეტაბოლური აქტივობის გაუმჯობესების ან სტიმულაციის უნარი მაგ., იმუნური სისტემისა და ანტიკანცეროგენული აქტივობის სტიმულაცია
- ეფექტურობა დადასტურებული უნდა ოყოს კარგად შემუშავებულ, პლაცებო კონტროლირებულ კლინიკურ კვლევებში
- სიმარტივე ფართომასშტაბიანი კომერციული წარმოებისას.

პრობიოტიკების ჯანმრთელობაზე დადებითი ზემოქმედების მიუხედავად, მათ გამოყენებას შეიძლება ჰქონდეს გარკვეული სირთულეები.

- პრობიოტიკული ბაქტერიები, როგორც წესი, მიეკუთვნებიან ანაერობებს, პრობიოტიკი კი უნდა დარჩეს სიცოცხლისუნარიან მდგომარეობაში ფართომასშტაბიანი წარმოებისას
- გამოყენების და შენახვის დროს უნდა შეინარჩუნოს სიცოცხლისუნარიანობა და სტაბილურობა
- შეეძლოს გადარჩენა კუჭ-ნაწლავში.

ამიტომ, ეგზოგენურმა ბაქტერიამ რომ მიაღწიოს კუჭ-ნაწლავში უცვლელ და სიცოცხლისუნარიან ფორმაში და გამოავლინოს პრობიოტიკული პოტენციალი, მას სჭირდებათ გადალახონ მთელი რიგი ფიზიკური და ქიმიური ბარიერები (კუჭ-ნაწლავის მჟავიანობა და ნაღვლის მჟავის სეკრეცია).

1.2.4. პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკული და ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი თვისებები, როგორც სასელექციო კრიტერიუმები

პრობიოტიკების ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს თვისებას წარმოადგენს მასპინძელი ორგანიზმის საჭმლის მომნელებელ სისტემაში პათოგენების ზრდა-განვითარების დათრგუნვა. პრობიოტიკული მიკროორგანიზმების მიერ წარმოქმნილი ანტიმიკრობული ნაერთების როლი, როგორც პროფილაქტიკური საშუალება ენტეროინფექციების წინააღმდეგ, არის მნიშვნელოვანი და დადასტურებული დოკუმენტურად [124, 125].

პრობიოტიკული მიკროორგანიზმების ხელსაყრელ მოქმედებას შორის შეიძლება გამოვყოთ ანტიმიკრობული ნაერთების წარმოქმნა, სისხლში ქოლესტერინის შემცირების უნარი, მსხვილი ნაწლავის კიბოს პრევენცია და იმუნური სისტემის მოდულაცია [126, 127, 128, 129].

პრობიოტიკული ბაქტერიების და სტარტერი კულტურების ანტიმიკრობული აქტივობა, რაც განაპირობებს პრობიოტიკების პათოგენების მიმართ ანტაგონისტურ მოქმედებას, მოიცავს მეტაბოლური ნაერთების წარმოქმნას, როგორებიცაა: ორგანული მჟავები (რძემჟავა და ძმარმჟავა), ეთანოლი, დიაცეტილი, აცეტალდეჰიდი, წყალბადის ზეჟანგი და ბაქტერიოცინები [130, 131].

შესწავლილ იქნა ფერმენტირებული რძის პროდუქტიდან გამოყოფილი *Lactobacillus plantarum* სამი სახეობის ანტიბაქტერიული აქტივობა 9 პათოგენის მიმართ, მათგან მხოლოდ *Shigella flexneri*-ს მიმართ არ ჰქონდათ აქტივობა [132].

პრობიოტიკული ლაქტობაცილები ემაგრებიან ნაწლავის კედელს ეპითელურ ქსოვილის სპეციალური რეცეპტორების საშუალებით, ახდენენ საკვები ნივთიერებების უტილიზაციას და წარმოქმნიან რძემჟავასა და ანტიმიკრობული აქტივობის მქონე სხვა ნივთიერებებს [133].

მათი პროფილაქტიკური როლი მდგომარეობს არახელსაყრელი პირობების შექმნაში ისეთი პათოგენური ბაქტერიებისათვის, როგორიცაა *Salmonella* sp. დადასტურებულია, რომ ლაქტობაცილები ზრდიან IgA და IgG იმუნოგლობულინის დონეს, რითიც იცავენ იმუნურ სისტემას და ამცირებენ ქოლესტერინის დონეს სისხლში [134, 135].

FAO/WHO სამუშაო ჯგუფის რეკომენდაციების თანახმად, ამჟამად, საკვებ პროდუქტებში პრობიოტიკების გამოსაყენებლად, ფასდება ორი ყველაზე მნიშვნელოვანი *in vitro* ტესტი - კუჭის მჟავიანობა და ნაღვლის მარილების მიმართ რეზისტენტობა, რისი შესწავლაც ხდება მათი გადარჩენადობისა და ზრდის უნარის შენარჩუნების მიხედვით [136, 137, 138].

ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა განსაზღვრავს მათ უნარს გადარჩნენ წვრილ ნაწლავში და გამოავლინონ პრობიოტიკული ფუნქცია. ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა დამოკიდებულია სახეობაზე. როგორც ლაქტობაცილებს, ასევე, ბიფიდობაქტერიებს შეუძლიათ პროგრესულად

მოერგონ ნაღვლის მარილების არსებობას და წარმოქმნან მდგრადი სახეობები ნაღვლის გაზრდილი კონცენტრაციისას. პრობიოტიკებისათვის, ასევე, მნიშვნელოვანი თვისებაა, გადარჩნენ კუჭის მჟავა გარემოში, სადაც pH შეიძლება იყოს 1.5-ზე დაბალი [139, 140, 141].

ზოგიერთ შემთხვევაში, ნაღვლის მიმართ ტოლერანტული შტამების მიღება განაპირობებს მდგრადობას სხვა სტრესული მახასიათებლის მიმართ. მაგ., pH-ის მიმართ [142]. ეს ასახავს სხვადასხვა სტრესზე ბაქტერიების რეაგირების საერთო მექანიზმების არსებობას და საშუალებას იძლევა ვივარაუდოთ, რომ პრობიოტიკების ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობის გაზრდა აუმჯობესებს მათ მდგრადობას სხვა, ტექნოლოგიური თუ კუჭ-ნაწლავის სტრესული ფაქტორების მიმართ [143].

პრობიოტიკული მიკროორგანიზმების მოქმედებით მნიშვნელოვანი ცვლილებები მიდის საფერმენტაციო არეში სამრეწველო პირობებში, რაც აისახება პროდუქციის ხარისხზე. ამიტომ, პრობიოტიკული შტამების შერჩევისთვის აუცილებელ ნაბიჯს წარმოადგენს მნიშვნელოვანი ტექნოლოგიური მახასიათებლების, პროტეოლიზური, ლიპოლიზური და აციდოფიკაციური აქტივობების შესწავლა და სწორი შეფასება. ამ შტამებს არ უნდა ახასიათებდეთ უარყოფითი გავლენა პროდუქტის არომატზე, სტრუქტურაზე და შენახვის ვადაზე [144].

პროტეოლიზური აქტივობა. პროტეოლიზი მნიშვნელოვანი პროცესია ყველის ძირითადი საგემოვნო თვისებების ჩამოყალიბებაში, მაგრამ მისი როლი უფრო მეტად არის დაკავშირებული ამინომჟავების კატაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების წარმოქმნაში, რომლებიც ხშირად ხელს უშლის არომატის ფორმირებას [145].

რძემჟავა ბაქტერიები იყენებენ რძის შედედების უნარის მქონე ფერმენტების მიერ წარმოქმნილ პოლიპეპტიდებს. რძის ამჭრელი ფერმენტი რენეტი იწვევს კაზეინის დაშლას. კაზეინის დაშლის შედეგად წარმოქმნილი პეპტიდების ჰიდროლიზი მიმდინარეობს ყველის მიკროფლორის შემადგენელი ბაქტერიების პროტეოლიზური ფერმენტების

მიერ მცირე ზომის პეპტიდებამდე და ამინომჟავებამდე, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ყველის არომატის ფორმირებაში [146].

აციდოფიკაციური აქტივობა მნიშვნელოვან ტექნოლოგიურ მახასიათებელს წარმოადგენს საწარმოო სტარტერი მიკროორგანიზმების შესარჩევად [147, 148].

აციდოფიკაციის სიჩქარე და ხარისხი ყველის წარმოების და მომწიფების დროს არსებით გავლენას ახდენს მისი სტრუქტურის ჩამოყალიბებაზე, კაზეინის მიცელების გარდაქმნის გამო [192].

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების მიერ მჟავას წარმოქმნა ლაქტოზიდან და ლაქტატიდან საჭირო რაოდენობით დროის განსაზღვრულ პერიოდში ძალიან მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს კარგი ხარისხის ყველის წარმოებისთვის, რადგან ეს ხელს უშლის პათოგენური და ყველის გაფუჭებაში მონაწილე მიკროორგანიზმების ზრდას.

მჟავას წარმოქმნა მოქმედებს ყველის წარმოების ზოგიერთ ასპექტზე: კოაგულაციაზე, მომწიფების პროცესში პროტეოლიზის ხარისხის გაუმჯობესებაზე, გელის წარმოქმნაზე, რომელიც აკონტროლებს ყველში ტენის შემცველობას და შედეგად არეგულირებს პათოგენური ბაქტერიების ზრდას. ასევე, გავლენას ახდენს ყველში ფერმენტების აქტივობაზე მომწიფების პროცესში. აუმჯობესებს კოლოიდური კალციუმის ფოსფატის სოლუბილიზაციას, ამდენად, ხელს უწყობს ყველში Ca-ის დონისა და ხსნად და კოლოიდურ კალციუმს შორის თანაფარდობის განსაზღვრას. ეს ფაქტორები თავის მხრივ დიდ გავლენას ახდენს ყველის ტექსტურაზე. აციდოფიკაცია ასევე ხელს უწყობს ყველის შემადგენლობის, კერძოდ, ტენის შემცველობის განსაზღვრას. ეს გავლენას ახდენს ენზიმების აქტივობაზე მომწიფების პროცესში და, შესაბამისად, ყველის რეოლოგიურ მახასიათებლებზე და ხარისხზე [193, 194].

ლიპოლიზური აქტივობა. ლიპოლიზი მიეკუთვნება ტრიგლიცერიდების ჰიდროლიზის შედეგად თავისუფალი ცხიმოვანი

მჟავების, გლიცეროლის და შუალედური პროდუქტების მონო- და დიგლიცერიდების წარმოქმნის პროცესს. შუალედური პროდუქტები ახდენს საკვები პროდუქტების კომპონენტების ემულგირებას, რაც გავლენას ახდენს საბოლოო პროდუქტის ტექსტურის ფორმირებაზე [149].

ლიპოლიზის ხარისხი წარმოადგენს რძემჟავა ბაქტერიების სტარტერი კულტურების შესარჩევ კრიტერიუმს. ეს მახასიათებელი აქტუალურია ფერმენტირებული რძის პროდუქტების წარმოებისას, ასევე, ბოსტნეულის ფერმენტაციისას [150].

ჯერ კიდევ გასული საუკუნის დასაწყისში, 1930 წელს, აღნიშნავდა მიხეილ დემურიშვილი, რომ თუშური გუდის ყველის კეთებაში წმინდა კულტურები (ბაქტერიალური დედოები) ჯერ არ გამოუყენებიათ [29]. ამ თვალსაზრისით, მდგომარეობა არც მას შემდეგ გაუმჯობესებულა.

ვიმედოვნებთ, წარმოდგენილი კვლევა ამ პრობლემის გადაჭრის მნიშვნელოვანი ნაბიჯი იქნება.

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

თავი 2. კვლევის ობიექტები და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტები

ჩვენი კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა თუშეთის სხვადასხვა სოფლებიდან აღებული გუდის ყველის 14 ნიმუში და 1 ხბოს მაჭიკი და მათგან გამოყოფილი მიკროორგანიზმები.

2.2. კვლევის მეთოდები

2.2.1. ყველში ტენისა და მშრალი ნივთიერების განსაზღვრა

მინის ბიუქსი, რომელშიც მოთავსებულია 20-30 გ კარგად გასუფთავებული და გამომწვარი ქვიშა და მინის წკირი, უნდა მოთავსდეს 30-40 წუთის განმავლობაში საშრობ კარადაში 102±2 °C. საშრობი კარადიდან გამოღების შემდეგ ბიუქსს ეფარება თავსახური, ცივდება ექსიკატორში 40 წუთის განმავლობაში და იწონება 0,001 გ სიზუსტით. ამ ბიუქსში თავსდება 0.001 გ სიზუსტით აწონილი 3-5 გ ყველი, ეფარება თავსახური და მაშინვე იწონება. შემდეგ მასა ფრთხილად მოირევა მინის წკირით და ბიუქსი ახდილი თავით ცხელდება წყლის აბაზანაზე. გრძელდება მორევა მანამ, სანამ არ მიიღება ფხვიერი მასა. შემდეგ ახდილი ბიუქსი და თავსახური თავსდება საშრობ კარადაში 102 ± 2 °C ტემპერატურაზე. 2 საათის გასვლის შემდეგ ბიუქსს ეფარება თავსახური, ცივდება ექსიკატორში 40 წუთის განმავლობაში და შემდეგ იწონება.

მშრალი ნივთიერების მასური წილი (C, %) განისაზღვრება ფორმულით:

$$c = \frac{m_1 - m_0}{m - m_0} \cdot 100$$

სადაც, m_0 - ბიუქსის მასა ქვიშით და მინის წკირით (გ), m - ბიუქსის მასა ქვიშით, მინის წკირით და საკვლევი პროდუქტის ნიმუშით გამოშრობამდე (გ), m_1 - ბიუქსის მასა ქვიშით, მინის წკირით და საკვლევი პროდუქტის ნიმუშით გამოშრობის შემდეგ (გ).

სხვაობა პარალელურ ცდებს შორის არ უნდა აღემატებოდეს 0.2 %-ს ყველისთვის. საბოლოო შედეგი იანგარიშება საშუალო არითმეტიკულით ორ პარალელურ ცდას შორის.

ტენის მასური წილი (W, %) პროდუქტში, განისაზღვრება ფორმულით:

$$W = 100 - C$$

სადაც, C - მშრალი ნივთიერების მასური წილია [151].

2.2.2. მჟავიანობის განსაზღვრა ტიტრიმეტრული მეთოდით

ნიმუშების აღება და მომზადება ანალიზისთვის ხდება ГОСТ 26809-86-ის შესაბამისად [152].

მეთოდი დაფუძნებულია პროდუქტში შემავალი მჟავების ნეიტრალიზაციაზე ნატრიუმის ტუტით, ინდიკატორ ფენოლფტალეინის თანაობისას.

100 და 250 სმ^3 მოცულობის კოლბაში ისხმება 20 სმ^3 დისტილირებული წყალი და თავსდება საანალიზო ნიმუში 10 სმ^3 მოცულობით. ემატება სამი წვეთი ფენოლფტალეინი. იტიტრება 0.1 N NaOH-ით ვარდისფერი შეფერილობის მიღებამდე, რომელიც არ ქრება 1 წუთის განმავლობაში. ხსნარის დახარჯული მლ-ების რაოდენობა გამრავლებული 20-ზე წარმოადგენს ყველის მჟავიანობის გრადუსს ტერნერის მიხედვით [153].

2.2.3. ცხიმის მასური წილის განსაზღვრა გერბერის მეთოდით [154]

ბუტირომეტრში იწონება 2 გ ყველი და ემატება დაახლოებით 19 მლ გოგირდმჟავა, ისე რომ სითხის დონე არ იყოს 4-6 მმ დაბლა. შემდეგ ემატება 1მლ იზოამილის სპირტი, ეფარება საცობი და თავსდება 70-75 °C-მდე გამთბარ წყლის აბაზანაზე. აჩერებენ ცილების სრულ გახსნამდე, მუდმივი მორევის პირობებში 60±10 წთ განმავლობაში.

ცილების გახსნის შემდეგ ბუტირომეტრი ამოაქვთ წყლის აბაზანიდან და აითვლიან მაჩვენებელს.

პარალელურ ცდებს შორის სხვაობა არ უნდა აღემატებოდეს 0.1%-ს. საბოლოო შედეგად მიიჩნევა საშუალო არითმეტიკული ორ პარალელურ ცდას შორის.

ცხიმის აბსოლუტური მასური წილი ყველში X (%) გამოითვლება ფორმულით:

$$X = \frac{11P}{m}$$

სადაც, 11 - კოეფიციენტი, %; P – ცხიმმზომის მაჩვენებელი, %; m - ყველის მასა, გ.

ყველში ცხიმის მასური წილის მშრალ მასაზე გადაანგარიშება ხდება ფორმულით:

$$X_1 = \frac{x \cdot 100}{100 - B}$$

სადაც, X - ცხიმის აბსოლუტური მასური წილია ყველში, %; B - ტენის მასური წილი ყველში, %.

2.2.4. საერთო აზოტის და ცილების განსაზღვრა კელდალის მეთოდით [154].

მეთოდის არსი მდგომარეობს კონცენტრირებული გოგირდმჟავას საშუალებით ორგანული ნივთიერების მინერალიზაციაში სპილენძის სულფატის კატალიზატორის თანაობისას. ამ დროს ცილების ამინოჯგუფები გარდაიქმნება ამონიუმის სულფატად, რომელიც გახსნილია

გოგირდმჟავაში. შემდეგ ხდება წარმოქმნილი ამონიუმის სულფატის დაშლა ნატრიუმის ტუტის საშუალებით, გამოთავისუფლებული ამიაკის გადადენა ორთქლით გოგირდმჟავას ან ბორის მჟავას ხსნარში და შემდგომი ტიტრაცია.

კელდალის კოლბაში იდება ფილტრის ქაღალდში მოთავსებულ 1 გ ნიმუში. ემატება 10 მლ კონცენტრირებული გოგირდმჟავა და 10 მლ წყალბადის ზეჟანგი, ხდება დაყოვნება 30 წთ-ით. პარალელურად კეთდება ყრუ ცდა (ნიმუშის გარეშე). ამისათვის კელდალის კოლბაში თავსდება ფილტრის ქაღალდი (ნიმუშის გარეშე), სპილენძის სულფატის კატალიზატორი, 10 მლ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავა, 10 მლ წყალბადის ზეჟანგი, ნიმუშთან ერთად ყოვნდება 30 წთ-ით ოთახის ტემპერატურაზე და იდგმება აპარატში, ჩართვა ხდება რძის პროდუქტების მინერალიზაციის რეჟიმზე. მინერალიზაციის დროს ყურადღება ექცევა, რომ კოლბის კედლებზე არ დარჩეს პროდუქტის არამინერალიზებული შავი ნაწილაკები. მათი არსებობის შემთხვევაში კოლბას ემატება მცირე რაოდენობით გოგირდმჟავა. მინერალიზაცია გრძელდება, სანამ კოლბის შიგთავსი არ გახდება გამჭვირვალე. მინერალიზაციის დასრულების შემდეგ კელდალის კოლბა უნდა გაგრილდეს. შემდეგ თავსდება გადასადენ აპარატში, სადაც ხდება ნატრიუმის ტუტის დამატება მასური კონცენტრაციით 330 – 400 გ/დმ^3, წარმოქმნილი ამონიუმის სულფატი იშლება და ხდება გამოთავისუფლებული ამიაკის გადადენა ორთქლით ბორის მჟავას ხსნარში მასური კონცენტრაციით 40 გ/დმ^3. შემდეგ ხდება გატიტვრა 0,1 M გოგირდმჟავას ხსნარით.

შედეგების დამუშავება. ბორის მჟავაში ამიაკის გადადენის დროს აზოტის შემცველობას (%) ითვლიან ფორმულით:

$$x = \frac{1{,}4(V - V_0\ )\ 0{,}1}{m}$$

სადაც, m – წონაკის მასა, გ; V –ამიაკის გატიტვრაზე დახარჯული გოგირდმჟავას ხსნარის მოცულობა სმ^3; V_0-ყრუ ცდაში გატიტვრაზე

დახარჯული გოგირდმჟავას ხსნარისმოცულობა მ^3; 1.4 - აზოტის რაოდენობა, რომელიც 1 სმ^3 0.1 M გოგირდმჟავას ხსნარის ექვივალენტურია.

ცილის შემცველობას (%) ითვლიან ფორმულით:

$$X_1 = K \times X$$

სადაც K არის აზოტის ცილაზე გადასაყვანი კოეფიციენტი და ტოლია 6,38.

2.2.5. მარილის განსაზღვრა [155]

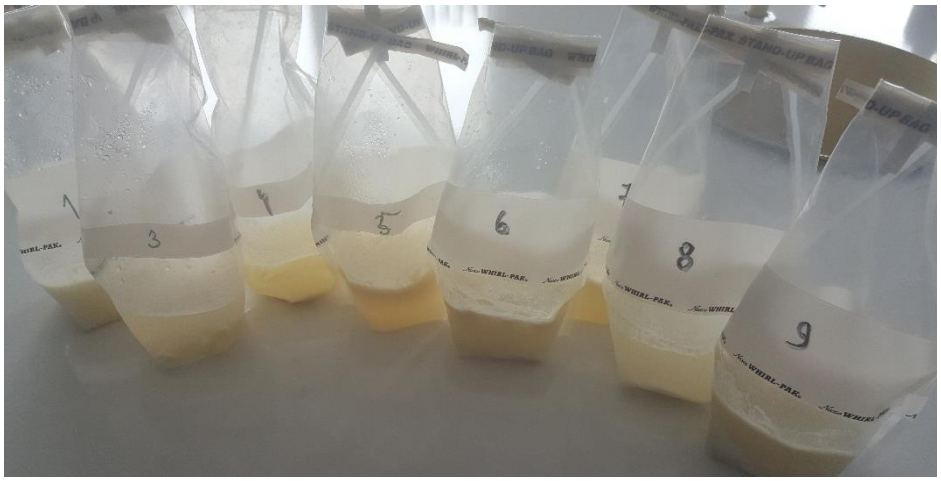
100 მლ-იან ქიმიურ ჭიქაში 0.01 გრ სიზუსტით აწონილ 5 გ ყველს, ემატება 50 მლ ცხელი დისტილირებული წყალი პორციებად, ამასთან მინის წკირით ფრთხილად ერევა. ხსნარი გადაიტანება 100 მლ-იან საზომ კოლბაში. ნარჩენები ჭიქიდან ჩამოირეცხება 70-80 °C დისტილირებული წყლით. კოლბა ნარევით ცივდება 20 °C ტემპერატურამდე, ემატება დისტილირებული წყალი ჭდემდე. შერევის შემდეგ იფილტრება მშრალი ფილტრით სუფთა და მშრალ კოლბაში. თუ მიღებული ფილტრატი მღვრიეა, ის იფილტრება მეორედ. კონუსურ კოლბაში პიპეტით გადააქვთ 50 მლ ფილტრატი, ემატება 5-8 წვეთი 10 %-იანი კალიუმის ქრომატის ხსნარი და იტიტრება ვერცხლის ნიტრატის ხსნარით მოყავისფრო-მოწითალო შეფერილობის მიღებამდე, რომელიც არ ქრება მორევისას. ნატრიუმის ქლორიდის შემადგენლობა პროცენტებში ისაზღვრება ფორმულით:

$$X = \frac{100a}{50b}$$

სადაც, a - ვერცხლის ნიტრატის ხსნარის რაოდენობაა (მლ), რომელიც დაიხარჯა 50 მლ ფილტრატის გატიტვრაზე, b - ყველის ნიმუშის მასა, გ. სხვაობა პარალელურ ცდებს შორის არ უნდა აღემატებოდეს 0.2 %-ს. დახარჯული ვერცხლის ნიტრატის ხსნარის 1მლ შეესაბამება 0.01 გრ NaCl-ს.

2.2.6. ყველიდან მიკროორგანიზმების გამოყოფა სერიული განზავების მეთოდით [156]

სტერილურად აღებული ყველის ნიმუშის 10 გ თავსდება სტერილურ ერთჯერად პარკში (Whirl-Pak Stand-Up Bags) ემატება 90 მლ სტერილური 0,85 % NaCl-ის ხსნარი. კარგად ჰომოგენიზირდება (სურ. 2.1) და მიღებული სუსპენზიის 1მლ გადაიტანება წინასწარ გასტერილებულ 9 მლ 0,85 % NaCl-ის ხსნარში. ეს არის 10^{-1} განზავება, ასე გრძელდება საჭირო განზავებამდე. თითოეული განზავებიდან სუსპენზიის 0,1 მლ ეწვეთება შესასწავლი მიკროორგანიზმის გამოსაყოფ შესაბამის სელექტიურ საკვებ არეს. შპატელის მეშვეობით თანაბრად ნაწილდება საკვები არის ზედაპირზე. პეტრის ჯამების ინკუბაცია მიმდინარეობს აერობულ და ანაერობულ პირობებში მიკროორგანიზმების ზრდისთვის საჭირო ოპტიმალურ ტემპერატურაზე, 24-48 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ ითვლება მიღებული კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულის (კწე) რაოდენობა, რომელიც განისაზღვრება 1გ მშრალ ნიმუშზე გადაანგარიშებით. შემდეგ ეტაპზე პირველადი ჩანათესებიდან მრავალჯერადი გადათესვის გზით გამოიყოფა სუფთა კულტურები. გამოყოფილი იზოლატები ინახება 80 %-იან გლიცეროლში -35 °C-ზე.



სურ. 2.1. ყველის ნიმუშების ჰომოგენატები

2.2.7. კატალაზური აქტივობის განსაზღვრა [157]

კატალაზური აქტივობის დასადგენად სასაგნე მინაზე აწვეთებენ წყალბადის ზეჟანგის 3 %-იან ხსნარს და მასში მარყუჟით შეაქვთ სასინჯი კულტურა. დადებითი ტესტი - ბუშტუკების დაუყოვნებელი წარმოქმნა. მხოლოდ ერთი ან ორი ბუშტუკის წარმოქმნა სუსტი რეაქციის მანიშნებელია. უარყოფითი ტესტი - ბუშტუკები არ წარმოიქმნება.

2.2.8. გრამის წესით შეღებვა [157]

ბაქტერიების გრამის წესით შესაღებად გამოყენებულ იქნა გრამის მადიფერენცირებელი ნაკრები (Deltalab, ესპანეთი).

2.2.9. ანტიბაქტერიული აქტივობის განსაზღვრა

გამოყოფილი იზოლატების ანტიბაქტერიული აქტივობის შესწავლა მოხდა პათოგენური და პირობითპათოგენური მიკროორგანიზმების ფართო სპექტრის მიმართ (*Bacillus cereus* ATCC 10876*, Staphylococcus aureus* ATCC 25923*, Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990*, Enterococcus faecalis* ATCC 19433*, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica* DSM 50912*, E.coli* ATCC 8739*, E.coli* DSM 613*, Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Serratia marcescens* 13890*, Pseudomonas stutzeri* ATCC 17588), აგარში დიფუზიის მეთოდით [158]. ტესტ-კულტურების ინოკულაცია ხდებოდა Mueller-Hinton II-ის აგარზე (Biolife, იტალია).

ბლოკების მოსამზადებლად რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების ინოკულაცია ხდებოდა MRS აგარზე (liofilchem, იტალია), პროპიონმჟავა ბაქტერიების - პროპიონმჟავა ბაქტერიების არე II-ზე (PII). რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ინკუბაცია მიმდნარეობდა 37 °C ტემპერატურაზე 24 სთ-ის განმავლობაში.

ტესტ-კულტურების ახლადჩათესილ Mueller-Hinton II-ის აგარზე იდებოდა გამოსაცდელი იზოლატებით ჩათესილი ბლოკები. აგარის ბლოკების დიამეტრი იყო 8 მმ.

ინჰიბირების ზონების დიამეტრის განსაზღვრა ხდებოდა ანაერობულ პირობებში 37 °C ტემპერატურაზე 18 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ.

2.2.10. ურეაზული აქტივობის განსაზღვრა [157]

ურეაზული აქტივობის დასადგენად Urea Broth-ში (Liofilchem, Italy). ითესება 24 სთ-იანი კულტურა 1 მკლ ოდენობით. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა 37 °C 1-12 სთ ინკუბაციის შემდეგ: ურეაზა-დადებითი რეაქციის შემთხვევაში სუსპენზია ღებულობს მუქ ვარდისფერ ან ჟოლოსფერ შეფერილობას. დადებითი კონტროლისათვის გამოიყენება *Proteus vulgaris*, უარყოფითი კონტროლისთვის *E.coli*.

2.2.11. პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლა (კაზეინის ჰიდროლიზი) [157]

ბაქტერიების მიერ კაზეინის ჰიდროლიზის უნარის დასადგენად გამოიყენება უცხიმო რძიანი აგარი Skim Milk (Liofilchem, Italy). 100მლ სტერილურ და გამლღვალ PCA უმატებენ 100 მლ ცხიმგაცლილ რძეს, გულდასმით ურევენ და ასხამენ პეტრის ჯამებში. ინოკულაციას ახდენენ ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით აგარის ზედაპირზე. შედეგების აღირიცხვა ხდებოდა 37°C-ზე თერმოსტატში 24-48 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ. კაზეინის ჰიდროლიზის ფასდებოდა ნათელი ზონების წარმოქმნით ინოკულატის ირგვლივ.

2.2.12. პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლა (ჟელატინის ჰიდროლიზი) [157]

ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარის დასადგენად გამოყოფილი იზოლატები ითესება 15 % ჟელატინის შემცველ ხორც-პეპტონიან ბულიონში (ხპბ). ბაქტერიის ინოკულირება ხორც-პეპტონიანი ჟელატინის სვეტში სინჯარაში ხორციელდება ჩხვლეტით საკვები არის ¾-ზე. ნათესების ინკუბაცია ხორციელდება შესაბამის ტემპერატურაზე. ინკუბაციის პერიოდის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია ბაქტერიის სახეობაზე და ზოგ შემთხვევაში, შეიძლება გაგრძელდეს სამი კვირა. ინკუბაციის შემდეგ კულტურები უნდა შეიდოს მაცივარში ან ყინულის აბაზანაში 4 °C-ზე, ვიდრე ფსკერი არ გამყარდება. ჟელატინი თუ ჰიდროლიზებულია, საკვები არე დარჩება თხევადი, ხოლო თუ არ არის ჰიდროლიზებული, ისევ გამყარდება.

ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარის ფასდება თითოეული იზოლატის მიერ ჟელატინის გათხევადების მიხედვით.

2.2.13. შაქრების ფერმენტაციის უნარის დადგენა [157]

შაქრების ფერმენტაციის უნარის შესწავლა ხდებოდა Phenol red Broth-ში (Biolife, იტალია), რომელსაც დამატებული ჰქონდა 1 % ნახშირბადის სხვადასხვა წყარო (არაბინოზა, მალტოზა, ფრუქტოზა, საქაროზა, ქსილოზა, გლიცეროლი, სორბიტი, მანიტი, ლაქტოზა, ინულინი, გალაქტოზა, ლაქტატი, გლუკოზა). ბაქტერიების ინოკულაცია ხდებოდა 1 მკლ ოდენობით. შედეგების შეფასება ხდებოდა 24 სთ-ის შემდეგ. მჟავას წარმოქმნის შემთხვევაში კულტურალური სითხე იღებება ყვითლად, ხოლო გაზის გამოყოფის შემთხვევაში დარემის სინჯარები ივსება გამოყოფილი აირით.

2.2.14. არგინინის ჰიდროლიზის უნარის დადგენა [157]

არგინინის ჰიდროლიზის უნარის შესწავლა ხდებოდა Arginine Decarboxylase Broth-ში (liofilchem, იტალია) იზოლატების მიერ 48 სთ-ში საკვები არის ფერის შეცვლით მეწამულ ან მეწამულ-ნაცრისფრად. იზოლატების ინკუბაცია მიმდინარეობდა ანაერობულ პირობებში 37 °C ტემპერატურაზე.

2.2.15. ჰემოლიზის უნარის დადგენა [157]

ჰემოლიზის უნარის შესწავლა ხდებოდა სისხლიან აგარზე იზოლატების ჩათესვით, ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით აგარში ჩხვლეტით. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა 37 °C-ზე თერმოსტატში 24-48 სთ ინკუბაცის შემდეგ. შეფასება ხდებოდა იზოლატის გარშემო სისხლიან აგარზე ნათელი ზონის წარმოქმნის მიხედვით (α- და β-ჰემოლიზი).

2.2.16. ლიპოლიზური აქტივობის დადგენა [157]

პროპიონმჟავა ბაქტერიების საკვებ არეს ემატებოდა 1 % ტვინ-80, სტერილდებოდა და ისხმებოდა პეტრის ჯამებზე. იზოლატები ითესება ჩხვლეტით. ლიპოლიზური აქტივობა განისაზღვრა 24-48 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ აგარზე წარმოქმნილი ნათელი ზონის დიამეტრის (მმ) მიხედვით.

2.2.17. იზოლატების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდის უნარის დადგენა ხდებოდა პეტრის ჯამებში შესაბამის აგარიზებულ საკვებ არეზე შტრიხის სახით ჩათესვით და

სხვადასხვა ტემპერატურაზე (4 °C, 10 °C, 15 °C, 30 °C, 45 °C, 50 °C) ინკუბაციით. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა 3 დღის შემდეგ ნაზრდის ინტენსივობის მიხედვით.

2.2.18. მარილის მიმართ ტოლერანტობის დადგენა

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის მიმართ ტოლერანტობის დადგენა ხდებოდა პეტრის ჯამებში შესაბამის აგარიზებულ საკვებ არეზე შტრიხის სახით ჩათესვით და NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე (2.5 %, 4 %, 6 %, 8 %) ინკუბირებით. იზოლატების ინკუბაცია მიმდინარეობდა ანაერობულ პირობებში 30 °C (პროპიონმჟავა ბაქტერიებისათვის) და 37 °C (რძემჟავა ბაქტერიებისათვის) ტემპერატურაზე. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა 3 დღის შემდეგ ვიზუალურად, ნაზრდის ინტენსივობის მიხედვით.

2.2.19. ნაღვლის და მჟავას მიმართ ტოლერანტობა

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების ნაღვლის მიმართ მდგრადობა ისაზღვრებოდა მათი ზრდის უნარით შესაბამის არეზე 2 % Bile Bacteriological-ის დამატებით. ბაქტერიული იზოლატების ჩათესვა ხორციელდებოდა პეტრის ჯამებზე შტრიხის სახით. პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების ინკუბაცია მიმდინარეობდა ანაერობულ პირობებში 30 °C და 37 °C ტემპერატურაზე, შესაბამისად, 48 საათის განმავლობაში. შედეგები განისაზღვრა ნაზრდის ინტენსივობის მიხედვით.

მჟავას მიმართ ტოლერანტობა ისაზღვრებოდა თითოეული ჯგუფის ბაქტერიისათვის შესაბამის აგარიზებულ საკვებ არეზე, pH 2-ზე. ინკუბაცია მიმდინარეობდა ანაერობულ პირობებში, შესაბამისად, 30 °C და 37 °C

ტემპერატურაზე 48 საათის განმავლობაში. შედეგები განისაზღვრა ნაზრდის ინტენსივობის მიხედვით [157].

2.2.20. **ესკულინის ჰიდროლიზის უნარის დადგენა** [157]

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების ესკულინის ჰიდროლიზის უნარის შესწავლა ხდებოდა Bile Aesculin Agar-ზე ჩათესვით. იზოლატების ინკუბაცია მიმდინარეობდა ანაერობულ პირობებში შესაბამისად 37 °C და 30 °C ტემპერატურაზე, 48 საათის განმავლობაში. შედეგები განისაზღვრა იზოლატის ნაზრდის მიერ საკვები არის გაშავებით.

2.2.21. აციდოფიკაციის უნარის განსაზღვრა [157]

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების აციდოფიკაციის უნარის განსაზღვრა ხორციელდებოდა მათი ინოკულატის 10 %-ის შეტანით უცხიმო რძეში (Skim Milk) და ინკუბაციით თერმოსტატში, 37 °C ტემპერატურაზე. კოლტის წარმოქმნა და კოლტის კონსისტენცია მოწმდებოდა ვიზუალურად 4-24 სთ-ის განმავლობაში.

2.3. მიკროორგანიზმთა კულტივირებისათვის გამოყენებული საკვები არეები

რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად და კულტივირებისათვის გამოყენებული იყო **MRS (Biolife, Italy) აგარი და MRS ბულიონი,** გ/ლ: პეპტონი - 10, საფუვრის ექსტრაქტი - 5, გლუკოზა - 20, K_2HPO_4 – 2, ნატრიუმის აცეტატი - 5, ამონიუმის ციტრატი - 2, $MgSO_4 \times 7\ H_2O$ - 0.20, $MnSO_4 \times H_2O$ - 0.05, ტვინ-80 – 1 მლ (pH 6.2 - 6.5). სტერილდება 121°C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში.

რძემჟავა სტრეპტოკოკების გამოსაყოფად გამოყენებული იყო **M17 აგარი (Liofilchem, Italy)**, გ/ლ: პეპსინი ცხოველური ქსოვილიდან

გამოყოფილი - 5, პაპაინი სოიოდან გამოყოფილი - 5, საფუვრის ექსტრაქტი - 2.5, ხორცის ექსტრაქტი - 5, ასკორბინის მჟავა - 0.5, მაგნიუმის სულფატი - 0.25, ლაქტოზა - 5, აგარი - 10 (pH 7.1±0.2). სტერილდება 121°C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში.

საფუვრების გამოსაყოფად გამოყენებული იყო **ზახაროვის არე**, გ/ლ: $NaNO_3$ – 0.3, KH_2PO_4 – 0.1, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0.05, KCl – 0.05, $FeSO_4 \times H2O$ – 0.002, საფუვრის ექსტრაქტი - 10, აგარი - 20. (pH 5.5-6.0). სტერილდება 121°C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში.

პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად გამოყენებული იყო 2 საკვები არე:

1. **Kreb's Yeast Lactate Medium (PI)**, გ/ლ: ნატრიუმის ლაქტატი - 10 მლ, საფუვრის ექსტრაქტი - 3, პეპტონი - 2, KH_2PO_4 - 0.52, K_2HPO_4 - 2.80, აგარი - 15. სტერილდება 121 °C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში [159].
2. **Propionigenium modestum Medium(PII),** (გ/ლ): საფუვრის ექსტრაქტი - 1, ასკორბინის მჟავა - 0.10, ნატრიუმის ლაქტატი - 4მლ, $MgSO_4$ - 0.2, K_2HPO_4 – 0.01, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.1, NaCl – 10. სტერილდება 121 °C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში [159].

მიკრობთა საერთო რაოდენობის განსასაზღვრად გამოყენებული იყო **PCA (Liofilchem, Italy),** გ/ლ: პეპტონი - 10, ხორცის ექსტრაქტი - 10, NaCl – 5, აგარი - 12. pH სტერილიზაციის შემდეგ 7.3±0.1. სტერილდება 121 °C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში [159].

3. შედეგები და მათი განსჯა

3.1. ქართული ტრადიციული ყველის - თუშური გუდას, ქიმიური შედგენილობა

თუშური გუდის ყველი მიეკუთვნება ქართული მარილწყლიანი ყველების ჯგუფს და გამოირჩევა ტექნოლოგიისა და საგემოვნო თვისებათა თავისებურებით. თუშური გუდა სპეციფიკური სუნის და დამახასიათებელი მსუბუქად ცხარე-მომჟავო, პიკანტური, ზომიერად მარილიანი გემოს მქონე ყველია [4].

ყველის გემო, სტრუქტურა და არომატი ყალიბდება მომწიფების პროცესში, რომელიც კომპლექსური პროცესია და მოიცავს მიკრობიოლოგიურ და ბიოქიმიურ ცვლილებებს [160].

საქპატენტის მონაცემებით, თუშური გუდა მზადდება ძროხისა და ცხვრის რძისაგან ან მათი ნარევისაგან [4]. ყველი მწიფდება ცხვრის, თხის ან ხბოს ტყავისაგან დამზადებულ გუდაში (გაკრეჭილი ბეწვით შიგნითა მხრიდან) [3]. დღეისათვის, თუშურ გუდას ზოგ შემთხვევაში პოლიეთილენის პარკებშიც ამწიფებენ.

სხვადასხვა რძის სახეობის და მომწიფების ტექნოლოგიით დამზადებულ თუშური გუდის ყველებს შორის ქიმიურ და მიკრობიოლოგიურ შემადგენლობაში განსხვავების შესასწავლად ყველის 14 ნიმუში აღებული იყო თუშეთის რვავე თემის სხვადასხვა სოფელში. ნიმუშების ადგილწარმოშობა მოცემულია ცხრილში 3.1.

თუშური გუდის ყველის ნიმუშებში განსაზღვრული იყო ტენიანობა[151], ცხიმი [154], ჯამური აზოტი და ცილა [154], ტიტრული მჟავიანობა [153] და მარილიანობა [155]. შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.2.

ცხრილი 3.1

თუშური გუდის ყველის ნიმუშების წარმოშობა და ტექნოლოგია

ნიმუშის №	წარმოშობის ადგილი		მომწიფების ტექნოლოგია	რძის სახეობა
	თემი	სოფელი		
I	წოვათას თემი	საგირთა	გუდა	ცხვარი
III	ივანაურთას თემი	გოგრულთა	გუდა	ცხვრისა და ძროხის ნარევი
IV	პირიქითას აღმა თემი	გირევი	გუდა	ცხვარი
V	სამციხის თემი	ჭეშო	გუდა	ძროხა
VI	ხეცურთას თემი	დოჭუ	გუდა	ცხვარი
VII	ჩაღმას თემი	ომალო	გუდა	ძროხა
VIII	ჩაღმას თემი	ომალო	გუდა	ცხვარი
IX	წოვათას თემი	ინდურთა	გუდა	ცხვარი
X	ხეცურთას თემი	დოჭუ	გუდა	ძროხა
XI	წოვათას თემი	ინდურთა	გუდა	ძროხა
XII	ჭანჭახოვანის თემი	ხახაბო	გუდა	ცხვარი
XIII	სამციხის თემი	კვავლო	გუდა	ცხვარი
XIV	გომეწარის თემი	ვაკისძირი	პოლიეთილენის პარკი	ცხვარი
XV	გომეწარის თემი	ვაკისძირი	პოლიეთილენის პარკი	ძროხა

ცხრილი 3.2

თუშური გუდის ყველის ნიმუშების ქიმიური მახასიათებლები

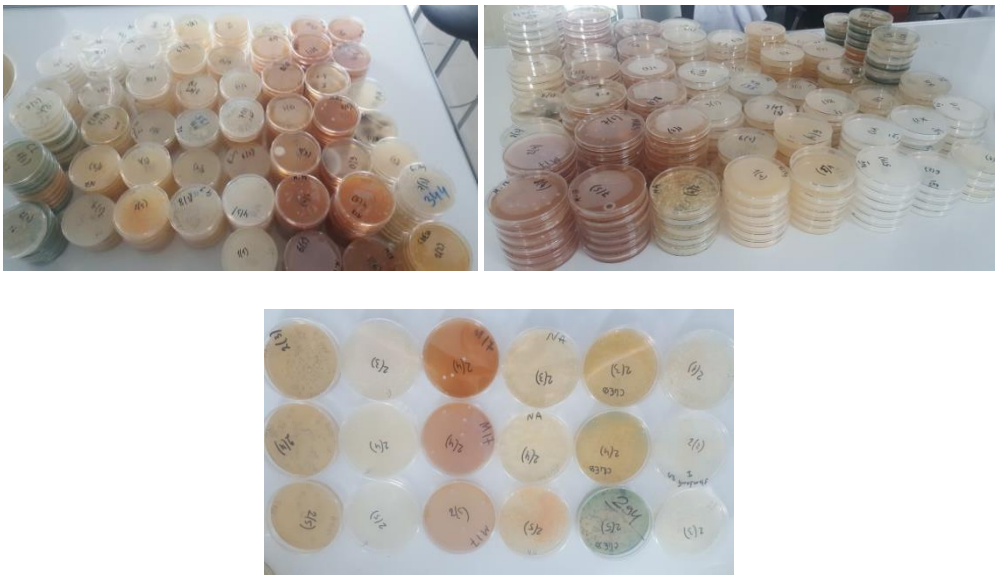
ნიმუშის №	მშრალი ნივთიერების მასური წილი, %	ტიტრული მჟავიანობა, T°	აზოტი, %	ცილა მშრალ მასაში, %	ცხიმი მშრალ მასაში, %	მარილი, %
I	67	246	3.0262	29	54.7	8.2
III	64	180	4.2486	42.35	40.2	9.2
IV	65	100	3.5308	35	46.3	7.9
V	72	130	4.8552	43	42	6.5
VI	70	265	3.9956	36,41	43	11.1
VII	73	140	4.976	43.48	43	6.4
VIII	66.5	290	3.6652	35.16	52.9	9.6
IX	63	275	3.5951	36.41	48	7.9
X	64	62	3.2531	32.42	40.2	7.8
XI	71.5	160	3.3207	29.63	36	6.4
XII	63.5	280	2.4919	25.03	42.7	8.9
XIII	72	210	4.9955	44.26	45.8	8.9
XIV	60	120	2.9168	29.95	44	13.5
XV	75	298	3.0295	25.77	39	9.32

ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან ჩანს, რომ შესწავლილი თუშური გუდის ყველის ნიმუშებში მშრალი ნივთიერების მასური წილი იცვლება 60 %-დან - 75 %-მდე, ანუ 50 %-ზე მეტია, რაც შესაბამისობაშია თუშური გუდას საქპატენტით განსაზღვრულ მონაცემთან [4]. ყველის გუდაში ჩაწყობისას მჟავიანობა ჯერ დაბალია და 40-45 °T აღწევს; ყველის თავების მარილწყალში ჩადების შემდეგ ყველის მჟავიანობა მკვეთრად იცვლება და 1 თვის თავზე მაქსიმუმს აღწევს [28]. ჩვენს ნიმუშებში ტიტრული მჟავიანობის მკვეთრი განსხვავება გამოწვეულია მათი მომწიფების სხვადასხვა ეტაპზე ყოფნით. ცილის შემცველობა, ასევე, განსხვავებული იყო სხვადასხვა ნიმუშში და მერყეობდა 25 %-დან - 44 %-მდე, რაც შეესაბამება ლიტერატურულ მონაცემებს [28, 161]. ლიტერატურულ მონაცემებთან თანხვედრაშია, ასევე, ცხიმიანობა ცხვრის რძით დამზადებულ თუშურ გუდაში და შეადგენს 40-55 %-ს, ძროხის რძით დამზადებული ყველის შემთხვევაში - შედარებით დაბალია და შეადგენს 36-43 %-ს [161]. მარილის შემცველობა საქპატენტის მიხედვით 4-7 %-ია. ამ საზღვრებში ჯდება მხოლოდ V, VII და XI ნიმუშები, დანარჩენ ნიმუშებში მარილის რაოდენობა დაახლოებით 8-13 %. ეს დადასტურდა აგრეთვე ორგანოლეპტიკურად. მაღალი მარილიანობის მიზეზიც შესაძლებელია იყოს მომწიფების ხანგრძლივობა და შენახვის პირობები.

ამრიგად, ჩატარებული გამოკვლევებით დასტურდება, რომ თუშური გუდის ყველში, მომწიფების სხვადასხვა ხანგრძლივობიდან გამომდინარე, იცვლებოდა (იზრდებოდა) ყველის ტიტრული მჟავიანობა და მარილიანობა, შესაბამისად, მცირდებოდა ტენის შემცველობა. ცილა მშრალ მასაში განსხვავებული იყო სხვადასხვა ნიმუშში და მერყეობდა 25 %-დან - 44 %-მდე. ძროხის რძით დამზადებულ ყველის ნიმუშებში ცხიმიანობა შედარებით დაბალია, რაც კორელაციაშია ძროხის და ცხვრის რძეების ცხიმიანობასთან.

3.2. თუშური გუდის ყველის მიკრობიოტას დომინანტი კომპონენტები

ყველის ნიმუშების მიკრობიოლოგიური ანალიზისთვის თითოეული ნიმუში ითესებოდა სელექტიურ საკვებ არეებზე: რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად - MRS და M17 აგარზე, საფუვრების - WLN-ზე, პროპიონმჟავა ბაქტერიების - P I და P II საკვებ არეებზე. რძემჟავა ბაქტერიების ინკუბაცია მიმდინარეობდა ანაერობულ პირობებში 37 °C ტემპერატურაზე 72 სთ-ის განმავლობაში, საფუვრების - 25 °C ტემპერატურაზე 72 სთ, პროპიონმჟავა ბაქტერიების - 30 °C ტემპერატურაზე, ანაერობულ პირობებში 168 სთ-ის განმავლობაში. მიკრობთა საერთო რაოდენობის განსაზღვრისათვის ინკუბაცია მიმდინარეობდა PCA-ზე 30 °C ტემპერატურაზე 124 სთ (სურ. 3.1).



სურ. 3.1. ყველის მიკროორგანიზმთა კულტივირება სხვადასხვა სელექტიურ საკვებ არეზე

ყველის ნიმუშების მიკროობიოლოგიური ანალიზის შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.3 და ნახ. 3.1-ზე. როგორც ცხრილიდან და ნახაზიდან ჩანს, შესწავლილი ყველის ნიმუშები შეიცავდა მიკროორგანიზმთა განსხვავებულ რაოდენობებს. ყველის ნიმუშების უმრავლესობას ახასიათებდა რძემჟავა ბაქტერიებისთვის განკუთვნილ

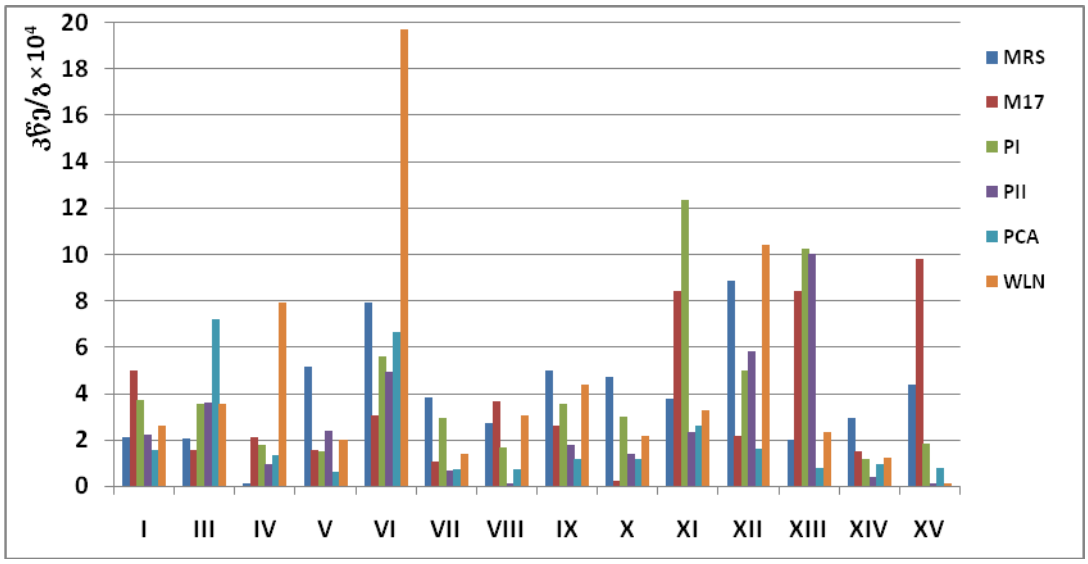
არეზე მზარდ მიკროორგანიზმთა სიმრავლე. ამ მხრივ გამოირჩეოდა VI და XII ნიმუშები, რომლებიც დამზადებულია ცხვრის რძიდან და მომწიფებულია გუდაში, შესაბამისად, 7.94×10^4 კწე/გ და 8.8×10^4 კწე/გ, აღნიშნულ ნიმუშებში უხვადაა ასევე პროპიომმჟავა ბაქტერიები (5.6×10^4 - 5.8×10^4 კწე/გ) და საფუვრები (19.72×10^4 - 10.44×10^4 კწე/გ). შედარებით მცირეა სტრეპტოკოკების რაოდენობა (3.04×10^4 - 2.16×10^4 კწე/გ).

სტრეპტოკოკები, რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიები ყველაზე ნაკლები იყო IV ნიმუშში, რომელიც, ასევე, დამზადებულია ცხვრის რძიდან და მომწიფებულია გუდაში, მაგრამ ყველის ნიმუში აღებულია მომწიფების საწყის ეტაპზე და დაბალი ტიტრული მჟავიანობით ხასიათდება (იხ. ცხრილი 3.2).

ცხრილი 3.3

ყველის ნიმუშებიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების რაოდენობა

ნიმუშის №	კწე/გ×10^4 სხვადასხვა საკვებ არეზე						lg კწე/გ სხვადასხვა საკვებ არეზე					
	MRS	M17	PI	PII	PCA	WLN	MRS	M17	PI	PII	PCA	WLN
I	2.1	5.0	3.7	2.2	1.5	2.6	4.3	4.7	4.6	4.4	4.2	4.4
III	2.1	1.6	3.6	3.6	7.2	3.5	4.3	4.2	4.6	4.6	4.9	4.6
IV	0.1	2.1	1.8	1.0	1.3	7.9	3.2	4.3	4.3	4.0	4.1	4.9
V	5.2	1.6	1.5	2.4	0.6	2.0	4.7	4.2	4.2	4.4	3.8	4.3
VI	7.9	3.0	5.6	5.0	6.6	19.7	4.9	4.5	4.8	4.6	4.8	5.3
VII	3.8	1.1	2.9	0.7	0.7	1.4	4.6	4.0	4.5	3.8	3.9	4.2
VIII	2.7	3.7	1.7	0.1	0.7	3.0	4.4	4.6	4.2	3.0	3.9	4.5
IX	5.0	2.6	3.5	1.8	1.2	4.4	4.7	4.4	4.6	4.3	4.1	4.6
X	4.7	0.3	3.0	1.4	1.2	2.2	4.7	3.4	4.5	4.2	4.1	4.3
XI	3.8	8.4	12.4	2.4	2.6	3.3	4.6	4.9	5.1	4.4	4.4	4.5
XII	8.9	2.2	5.0	5.8	1.6	10.4	5.0	4.3	4.7	4.8	4.2	5.0
XIII	2.0	8.4	10.3	10.0	0.8	2.3	4.3	4.9	5.0	5.0	3.9	4.4
XIV	2.9	1.5	1.2	0.4	1.0	1.2	4.5	4.2	4.1	3.6	4.0	4.1
XV	4.4	9.8	1.9	0.1	0.8	0.2	4.6	5.0	4.3	3.0	3.9	3.2



ნახ. 3.1. სხვადასხვა საკვებ არეზე ამოთესილი თუშური გუდის ყველის ნიმუშების მიკრობიოტა

გუდაში და პოლიეთილენის პარკში მომწიფებული ნიმუშების (XIV და XV) შედარებამ აჩვენა, რომ პოლიეთილენის პარკში მომწიფებული ყველის ნიმუშებში შედარებით მცირე რაოდენობითაა მიკროორგანიზმთა ყველა შესწავლილი ჯგუფი - სტრეპტოკოკები, რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიები და საფუვრები. განსხვავება დაფიქსირდა, აგრეთვე, ძროხის რძიდან დამზადებულ ყველის მიკრობიოტას დომინანტური ბაქტერიების ჯგუფებში: რძემჟავა ბაქტერიები და სტრეპტოკოკები არის უხვად.

სტრეპტოკოკებისთვის განკუთვნილ არეზე გაზრდილი ბაქტერიების რაოდენობით გამოირჩეოდა I, VI, VIII, IX, XII, XIII და XV ნიმუშები. სავარაუდოდ, ყველის ამ ნიმუშებში სტრეპტოკოკების დიდი რაოდენობა კორელაციაშია მაღალ ტიტრულ მჟავიანობასთან (იხ. ცხრილები 3.2 და 3.3).

პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად გამოვიყენეთ 2 სახის საკვები არე (PI და PII). ორივე არეზე XIII ნიმუშიდან გამოიყო ყველაზე მეტი ბაქტერია, ხოლო VIII, XIV და XV ნიმუშებიდან - ყველაზე ნაკლები. თუმცა PI საკვები არე უფრო ნაყოფიერი აღმოჩნდა პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოსავლენად ყველის თითქმის ყველა ნიმუშში; მხოლოდ V და XII ნიმუშებიდან PII საკვებ არეზე გაზრდილი ბაქტერიების კწე ოდნავ აღემატებოდა PI-ზე გაზრდილთა კწე-ს.

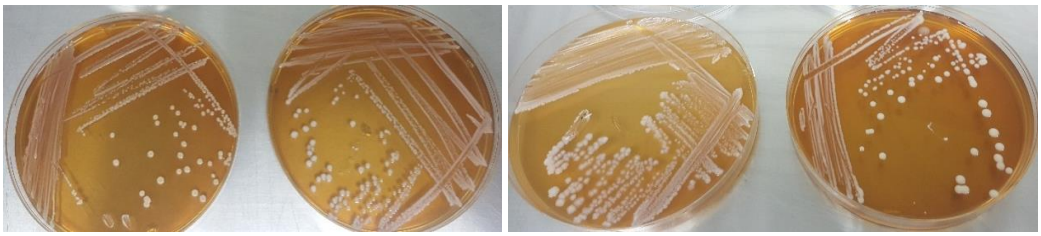
PCA-ზე გაზრდილი მიკროორგანიზმების შემთხვევაში, რომელიც მოიცავს მეზოფილურ აერობულ და ფაკულტატურ ანაერობულ ბაქტერიებს, უმეტესად აღინიშნა კწე-ს დაბალი სიდიდეები; გამონაკლისია III და VI ნიმუშები, რომლებშიც მათი რაოდენობაა 7.2×10^4 კწე/გ და 6.64×10^4 კწე/გ, შესაბამისად.

ყველის ყველა ნიმუშში საფუვრების რაოდენობა იყო მეტ-ნაკლებად მსგავსი, თუმცა XII და, განსაკუთრებით, VI ნიმუში, გამოირჩეოდა საფუვრების სიმრავლით (19.72×10^4 კწე/გ და 10.44×10^4 კწე/გ, შესაბამისად) (ნახ. 3.1). ჩვენი აზრით, საფუვრების ასეთი სიჭარბე არაა დამახასიათებელი თუშური გუდასთვის და გამოწვეული უნდა იყოს ალოქტონური (გარე) საფუვრებით.

ყველის ნიმუშები შეიცავდა მიკროორგანიზმთა განსხვავებულ რაოდენობებს. ყველა ნიმუშის მიკრობიოტას შემადგენელი დომინანტი კომპონენტები იყო რძემჟავა ბაქტერიები (ლაქტოკოკები და ლაქტობაცილები), ასევე, პროპიონმჟავა ბაქტერიები და საფუვრები.

3.3. მიკროორგანიზმთა იზოლატების სუფთა კულტურების მიღება

პროპიონმჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა სახეობა ბერგის სარკვევის მიხედვით ფერთა დიდი მრავალგვარობით ხასიათდება [51]. ისინი შეიძლება იყვნენ თეთრი, მონაცრისფრო, კრემისფერი, ვარდისფერი, ბრინჯაოსფერი, ნარინჯისფერი, წითელი და ყავისფერი. შესაბამისად, პროპიონმჟავების სელექტიურ საკვებ არეებზე (PI და PII) შერჩეულ იქნა განსხვავებული ფორმისა და ფერის კოლონიები. სულ 9 კოლონია. ამ იზოლატების სუფთა კულტურების მიღება მოხდა მათი მრავალჯერადი გადათესვით პეტრის ჯამებზე ცალკეული კოლონიების მიღების ტექნიკის გამოყენებით (სურ. 3.2) [157.].



სურ 3.2. პეტრის ჯამებზე მყარ საკვებ არეზე პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების სუფთა კულტურების მიღება

პროპიონმჟავა ბაქტერიები გრამდადებითი, კატალაზა დადებითი ბაქტერიებია [51], ამიტომ იზოლატების პირველადი სკრინინგი განხორციელდა სწორედ ამ ორი ნიშნის მიხედვით. შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.4.

ცხრილი 3.4

პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების უჯრედების ფორმა, კატალაზური აქტივობა და დამოკიდებულება გრამის წესით შეღებვის მიმართ

იზოლატის სამუშაო N	იზოლატის პირობითი დასახელება	კატალაზას ტესტი	გრამის წესით შეღებვა	უჯრედის ფორმა	იზოლატის სამუშაო N	იზოლატის პირობითი დასახელება	კატალაზას ტესტი	გრამის წესით შეღებვა	უჯრედის ფორმა
1	GC 14(4)	+	+	ჩხირი	51	GC 3(6)	+	+	ჩხირი
2	GC 2(75)1	+	+	ჩხირი	52	GP 11(8)	+	+	ჩხირი
3	GC 1(4)	+	+	ჩხირი	53	GP 11(6)	+	+	ჩხირი
4	GC 14(7)	+	+	კოკი	54	GC 5(3)	+	+	კოკი
5	GC 2(75)2	+	+	ჩხირი	55	GC 10(2)	+	+	კოკი
6	GC 4(18)	+	+	კოკი	56	GC 11(2)	+	+	ჩხირი
7	GP 9(7)	+	+	კოკი	57	GP 9(3)	+	+	ჩხირი
8	GC 3(9)	+	+	ჩხირი	58	GC 14(1)	+	+	ჩხირი
9	GC 1(1)	+	+	კოკი	59	GC 14(3)	+	+	ჩხირი
10	GC 8(1)	+	+	ჩხირი	60	GP10(9)	+	+	კოკი
11	GC 2(66)	+	+	ჩხირი	61	GP 4(4)	+	+	ჩხირი
12	GC 2(75)	+	+	ჩხირი	62	GC 3(3)	+	+	ჩხირი
13	GC 1(2)	+	+	ჩხირი	63	GP 9(7)	+	+	ჩხირი
14	GP 9(5)	+	+	ჩხირი	64	GC 1(3)	+	+	ჩხირი
15	GP 3(1)	+	+	კოკი	65	GC 7(1)	+	+	ჩხირი
16	GC 2(68)	+	+	ჩხირი	66	GC 9(3)	+	+	ჩხირი
17	GC 13(4)	+	+	კოკი	67	GC 1(4)	+	+	ჩხირი
18	GC 3(2)	+	+	კოკი	68	GC 8(3)	-	+	კოკი

19	GP 9(2)	+	+	კოკი	69	GC 6(1)	+	+	კოკი
20	GC 4(6)	+	+	ჩხირი	70	GC 9(1)	+	+	კოკი
21	GP 4(6)	+	+	ჩხირი	71	GC 3(4)	+	+	კოკი
22	GP 10(10)	+	+	ჩხირი	72	GC 2(77)	+	+	კოკი
23	GP 9(1)	+	+	ჩხირი	73	GC 5(2)	+	+	ჩხირი
24	GC 4(1)	+	+	კოკი	74	GC 14(2)	+	+	კოკი
25	GP 4(1)	+	+	ჩხირი	75	GC 13(5)	+	+	ჩხირი
26	GP 5(11)	+	+	ჩხირი	76	GC 7(4)	+	+	ჩხირი
27	GC 6(1)	+	+	ჩხირი	77	GC 13(7)	+	+	კოკი
28	GP 1(1)	+	+	კოკი	78	GC 5(1)	+	+	კოკი
29	GP 10(1)	+	+	ჩხირი	79	GC 10(4)	+	+	კოკი
30	GP 4(8)	+	+	ჩხირი	80	GC 2(69)	+	+	ჩხირი
31	GC 10(3)	+	+	ჩხირი	81	GC 6(2)	+	+	ჩხირი
32	GC 8(4)	+	+	ჩხირი	82	GC 10(6)	+	+	კოკი
33	GC 11(4)	+	+	ჩხირი	83	GC 13(2)	+	+	ჩხირი
34	GC 15(3)	+	+	ჩხირი	84	GC 7(6)	+	+	კოკი
35	GC 8(2)	+	+	კოკი	85	GC 13(1)	+	+	ჩხირი
36	GP 4(2)	+	+	ჩხირი	86	GC 2(70)	+	+	ჩხირი
37	GP 1(2)	+	+	ჩხირი	87	GC 15(1)	+	+	ჩხირი
38	GC 1(3)	+	+	ჩხირი	88	GC 12(2)	+	+	ჩხირი
39	GP 11(10)	+	+	ჩხირი	89	GC 12(3)	+	+	ჩხირი
40	GP 11(1)	+	+	ჩხირი	90	GC 15(4)	+	+	ჩხირი
41	GP 11(2)	+	+	ჩხირი	91	GC 15(2)	+	+	კოკი
42	GP 11(7)	+	+	ჩხირი	92	GC 14(5)	+	+	ჩხირი
43	GP 9(5)	+	+	ჩხირი	93	GP 4(3)	+	+	ჩხირი
44	GP 1(36)	+	+	ჩხირი	94	GP 9(8)	+	+	ჩხირი
45	GP 1(3)	+	+	ჩხირი	95	GP 3(1)	+	+	კოკი
46	GC 4(17)	+	+	კოკი	96	GP 10(2)	+	+	კოკი
47	GC 7(3)	+	+	კოკი	97	GP 3(2)	+	+	ჩხირი
48	GC 6(3)	+	+	ჩხირი	98	GP 11(1)	+	+	კოკი
49	GC 4(3)	+	+	ჩხირი	99	GP 11(3)	+	+	კოკი
50	GC 14(6)	+	+	კოკი					

PI და PII საკვებ არეებიდან გამოყოფილი ყველა, 99 ბაქტერიის იზოლატი იყო გრამდადებითი; მათგან 98 იზოლატი აღმოჩნდა კატალაზა დადებითი, 1 იზოლატი - კატალაზა უარყოფითი.

MRS-ზე და M17-ზე გამოყოფლი იზოლატები შემოწმდა კატალაზას ტესტზე და გრამის წესით შეღებვაზე. შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.5.

ყველა, 71 იზოლატი იყო გრამდადებითი; მათგან 69 იყო კატალაზა უარყოფითი და 2 - კატალაზა დადებითი.

შემდგომი კვლევები ჩატარდა კატალაზა დადებით პროპიონმჟავა ბაქერიების 98 იზოლატზე და კატალაზა უარყოფით რძემჟავა ბაქერიების 71 იზოლატზე.

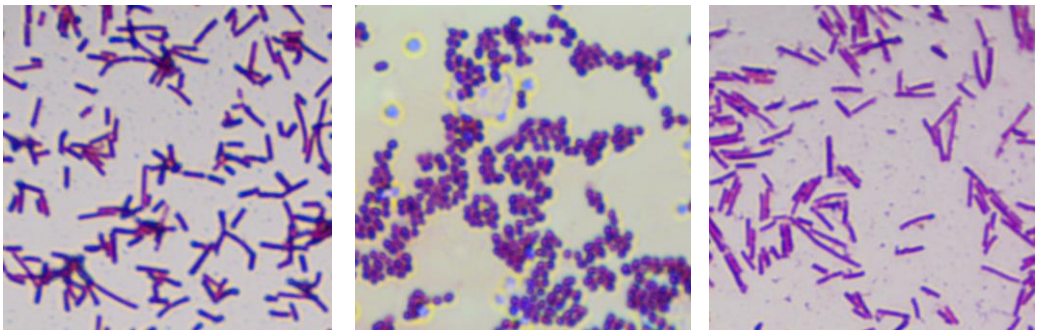
ცხრილი 3.5

რძემჟავა ბაქტერიების უჯრედების ფორმა, კატალაზური აქტივობა და დამოკიდებულება გრამის წესით შეღებვაზე

იზოლატის სამუშაო N	იზოლატის პირობითი დასახელება	კატალაზას ტესტი	გრამის წესით შეღებვა	უჯრედის ფორმა	იზოლატის სამუშაო N	იზოლატის პირობითი დასახელება	კატალაზას ტესტი	გრამის წესით შეღებვა	უჯრედის ფორმა
L 1	GS 3(6)	-	+	ჩხირი	L 37	GS 14(10)	-	+	ჩხირი
L 2	GS 4(4)	-	+	ჩხირი	L 38	GS 15(1)	-	+	ჩხირი
L 3	GS 4(10)	-	+	ჩხირი	L 39	GS 15(2)	-	+	ჩხირი
L 4	GS 4(11)	-	+	ჩხირი	L 40	GS 15(3)	-	+	ჩხირი
L 5	GS 6(3)	-	+	კოკი	L 41	GS 15(4)	-	+	ჩხირი
L 6	GS 6(4)	-	+	ჩხირი	L 42	GS 15(6)	-	+	ჩხირი
L 7	GS 6(10)	-	+	ჩხირი	L43	GM 1(2)	-	+	ჩხირი
L 8	GS 6(11)	-	+	ჩხირი	L44	GM 1(3)	-	+	კოკი
L 9	GS 6(12)	-	+	ჩხირი	L45	GM 3(8)1	-	+	ტეტრაკოკი
L 10	GS 7(1)	-	+	ჩხირი	L46	GM 3(8)2	-	+	ტეტრაკოკი
L 11	GS 7(2)	-	+	ჩხირი	L47	GM 4(2)	-	+	ჩხირი
L 12	GS 7(3)	-	+	ჩხირი	L48	GM 4(12)	-	+	ჩხირი
L 13	GS 7(5)	-	+	ჩხირი	L49	GM 6(4)	-	+	კოკი
L 14	GS 7(6)	-	+	ჩხირი	L50	GM 6(5)	-	+	ჩხირი
L 15	GS 8(11)	-	+	კოკი	L51	GM 6(7)	-	+	კოკი
L 16	GS 10(1)	-	+	ჩხირი	L52	GM 7(1)	-	+	ჩხირი
L 17	GS 10(3)	-	+	ჩხირი	L53	GM 7(2)	-	+	ჩხირი
L 18	GS 10(4)	-	+	ჩხირი	L54	GM 7(3)	-	+	ჩხირი
L 19	GS 10(5)	-	+	ჩხირი	L55	GM 7(4)	-	+	ჩხირი
L 20	GS 10(7)	-	+	ჩხირი	L56	GM 7(7)	-	+	ჩხირი
L 21	GS 11(3)	-	+	ჩხირი	L 57	GM 8(1)	-	+	ჩხირი
L 22	GS 11(4)	+	+	ჩხირი	L 58	GM 8(2)	-	+	ჩხირი
L 23	GS 11(6)	-	+	ჩხირი	L 59	GM 8(3)	-	+	ჩხირი
L 24	GS 12(3)	-	+	ჩხირი	L 60	GM 8(5)	-	+	ჩხირი

L 25	GS 12(4)	-	+	ჩხირი	L 61	GM 8(4)	-	+	კოკი
L 26	GS 12(5)	-	+	ჩხირი	L 62	GM 8(6)	-	+	ჩხირი
L 27	GS 12(8)	-	+	ჩხირი	L 63	GM 8(7)	-	+	ჩხირი
L 28	GS 12(9)	-	+	კოკი	L 64	GM 8(8)	-	+	ჩხირი
L 29	GS 13(2)	-	+	კოკი	L 65	GM 8(11)	-	+	კოკი
L 30	GS 13(4)	-	+	ჩხირი	L 66	GM 9(2)	-	+	კოკი
L 31	GS 13(5)	-	+	კოკი	L 67	GM 9(3)	-	+	ჩხირი
L 32	GS 13(6)	-	+	ჩხირი	L 69	GM 9(11)	-	+	ჩხირი
L 33	GS 13(9)	+	+	ჩხირი	L 70	GM 15(1)	-	+	ჩხირი
L 34	GS 14(1)	-	+	ჩხირი	L 71	GM 15(3)	-	+	ჩხირი
L 35	GS 14(3)	-	+	ჩხირი	L 72	GM 15(4)	-	+	ჩხირი
L 36	GS 14(7)	-	+	ჩხირი					

ბაქტერიების სისუფთავის დადასტურება მოხდა მიკროსკოპირების საშუალებით. სურ. 3.3-ზე მოცემულია ზოგიერთი იზოლატის მიკროსკოპული სურათები.



სურ. 3.3. თუშური გუდის ყველიდან გამოყოფილი ბაქტერიების მიკროსკოპული სურათები

სულ ყველის 14 ნიმუშიდან გამოყოფილ იქნა 98 პროპიონმჟავა ბაქტერიის და 69 რძემჟავა ბაქტერიის იზოლატი. შექმნილი სამუშაო კოლექციის შენახვა განხორციელდა 50 %-იან გლიცერინში -35 °C ტემპერატურაზე.

3.4. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკული თვისებები

3.4.1. ანტიმიკრობული აქტივობა

მნიშვნელოვანია ბუნებრივი კონსერვანტების მოძიება, რომლებიც თრგუნავენ პათოგენური მიკროორგანიზმების ზრდას. არსებობს კვლევები,

სადაც მიღწეულია ანტიბაქტერიული აქტივობის მქონე რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების სახეობებით რძის პროდუქტების ხარისხისა და უსაფრთხოების გაუმჯობესება [162]. ტრადიციული რძის პროდუქტებიდან გამოყოფილი ეს ბაქტერიები დიდ ყურადღება იპყრობენ, როგორც პოტენციური კონსერვანტები მათი ანტაგონისტური აქტივობის გამო მრავალი პათოგენის მიმართ, რომლებიც იწვევენ საკვები პროდუქტების გაფუჭებას [163, 164].

რძის პროდუქტებისთვის დამახასიათებელი პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი სახეობა გამოიყენება ცალკე ან კომბინაციაში რძემჟავა ბაქტერიებთან და/ან ბიფიდობაქტერიებთან ერთად, როგორც პრობიოტიკი. თუმცა, პროპიონმჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკულ მახასიათებლებზე უფრო ნაკლები ლიტერატურაა გამოქვეყნებული, ვიდრე ლაქტობაცილებსა და ბიფიდობაქტერიებზე [165, 166, 167, 168].

რძის პროდუქტების პროპიონმჟავა ბაქტერიების უსაფრთხოებაზე მიუთითებს მათი გამოყენება შვეიცარული ტიპის ყველებში, რომლებიც ფართოდ მოიხმარება მთელს მსოფლიოში. ემენტალის ყველში გამოყენებული სახეობა *Propionibacterium freudenreichii* ზოგადად მიჩნეულია როგორც უსაფრთხო (GRAS) [169].

ევროპის სურსათის უვნებლობის ორგანომ *Propionibacterium freudenreichii* მიანიჭა უსაფრთხოების პრეზუმფციის კვალიფიკაცია (QPS) სტატუსი [170]. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ადამიანების მიერ გამოყენების შემთხვევაში არანაირი უარყოფითი ეფექტი არ შეინიშნებოდა [171].

შესწავლილი იქნა თუშური გუდის ყველიდან ჩვენ მიერ გამოყოფილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტიბაქტერიული აქტივობა, როგორც უმნიშვნელოვანესი პრობიოტიკული მახასიათებელი.

ანტიბაქტერიული აქტივობის შესწავლა მოხდა პათოგენური და პირობითპათოგენური მიკროორგანიზმების ფართო სპექტრის მიმართ აგარში დიფუზიის მეთოდით და ინჰიბირების ზონების დიამეტრის განსაზღვრით [158]. ინდიკატორულ შტამებად გამოყენებული იყო შემდეგი

სახეობები: *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Listeria monocytogenes, Salmonella enterica* DSM 50912, *E.coli* ATCC 8739, *E.coli* DSM 613, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Serratia marcescens* 13890, *Pseudomonas stutzeri* ATCC 17588.

შედეგები მოცემულია ცხრილებში 3.6 და 3.7 და სურათზე 3.4.

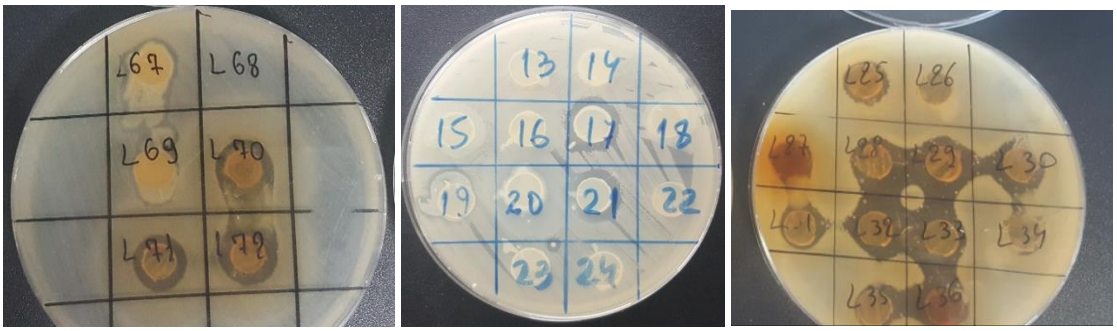
ცხრილი 3.6

რძემჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობა

შტამის სამუშაო ნომერი	ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირების ზონა, მმ											
	B. cereus	*S. aureus*	*E faecalis ATCC 29212*	*E faecalis* ATCC 19433	*L monocytogenes*	*S. enteric*	*E.coli* ATCC 8739	*E.coli* DSM 613	*M. luteus*	*S. marcescens*	*S. epidermidis*	*Ps. stutzeri*
L 1						12		12	16			12
L 2						13		13	12			12
L 3						14		12	16			14
L 4				12		17		14	18	14	14	20
L 5				12		12	14	14	18		14	14
L 6						13	16	12				12
L 7						11					14	14
L 8						18		14	18		14	20
L 9				14		18	14		18	12		19
L 10						17	14		16			18
L 11						14			14			15
L 12						15			16			15
L 13	14				18	12				14	11	
L 14	14							14		16	11	14
L 15	14	14*				18	11		14	16*	11	15
L 16	13					21	15	16	21	16*	14	14
L 17	14*	14*			20	18	12	12*	16	16*	11	13
L 18	14*			12		18	16*		14	16*	11	14
L 19						16				16*	11	12
L 20						18	12	16	16	16*	11	14
L 21						14	12	14		16*	11	

L 22				12							11	
L 23						14				16*	12	
L 24						12			21		12	
L 25	14*					14					13	14
L 26											12	
L 27						13					12	12
L 28				16*		16	14		12		12	14
L 29	12			14*		16	14*		19	16*	12	16
L 30	14*					16	14*		12	16*	12	15
L 31						15						15
L 32				14*		15		12*	14	14	13	18
L 33	12			14*		15			14*	13	13	18
L 34						14				14*	12	12
L 35						14					12	12
L 36						16					12	16
L 37	12*			16	12						14*	12
L 38	12			16	14		12			14*	14*	
L 39	12			16	13	14*	12			16*	14*	
L 40	12			16	16	14*	12			16*	14*	
L 41	12			16	14					14*	14*	
L 42	12			16	13		12				14*	
L49									12*			
L51										12		
L53				12								
L55											12	
L56						16*				14		
L 66										14		
L 67						14				14		
L 69						12						
L 70	12*			13		15	16*				12	11
L 71	12*			14		14	16*	12			12	14
L 72	12*			14		15	16*	12			12	14

შენიშვნა: * - არასრული ინჰიბირება

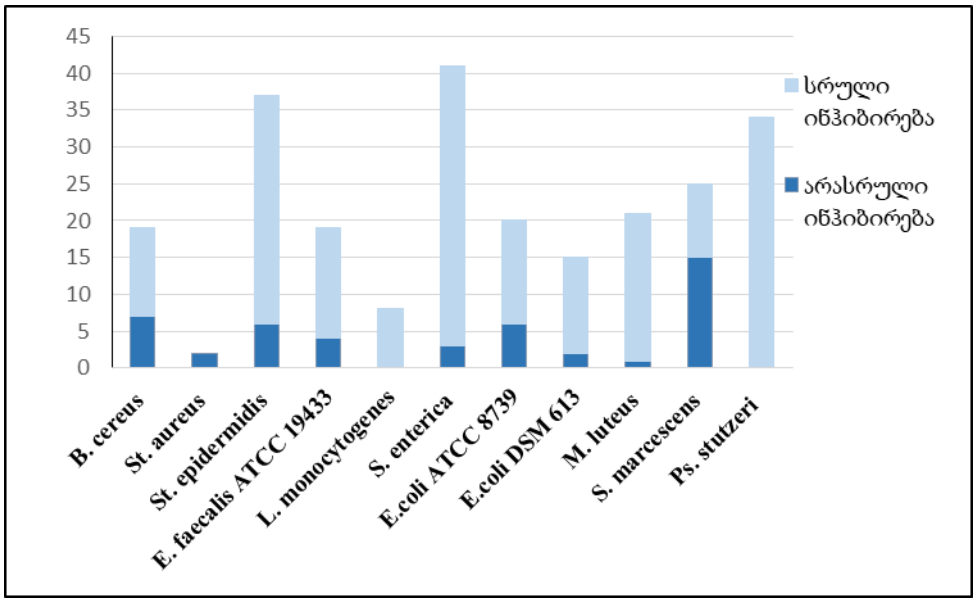


სურ. 3.4. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტაგონისტური აქტივობა სხვადასხვა ტესტ-კულტურის მიმართ

რძემჟავა ბაქტერიების 69 იზოლატიდან 53-ს აღმოაჩნდა ანტიბაქტერიული აქტივობა ერთი ან მეტი ტესტ-კულტურის მიმართ. მხოლოდ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212-ის მიმართ არ გამოავლინა არც ერთმა იზოლატმა ინჰიბიტორული აქტივობა. შესწავლილი რძემჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა რაოდენობამ გამოავლინა სხვადასხვა ტესტ-კულტურის ზრდის დამთრგუნველი მოქმედება (ნახ. 3.2).

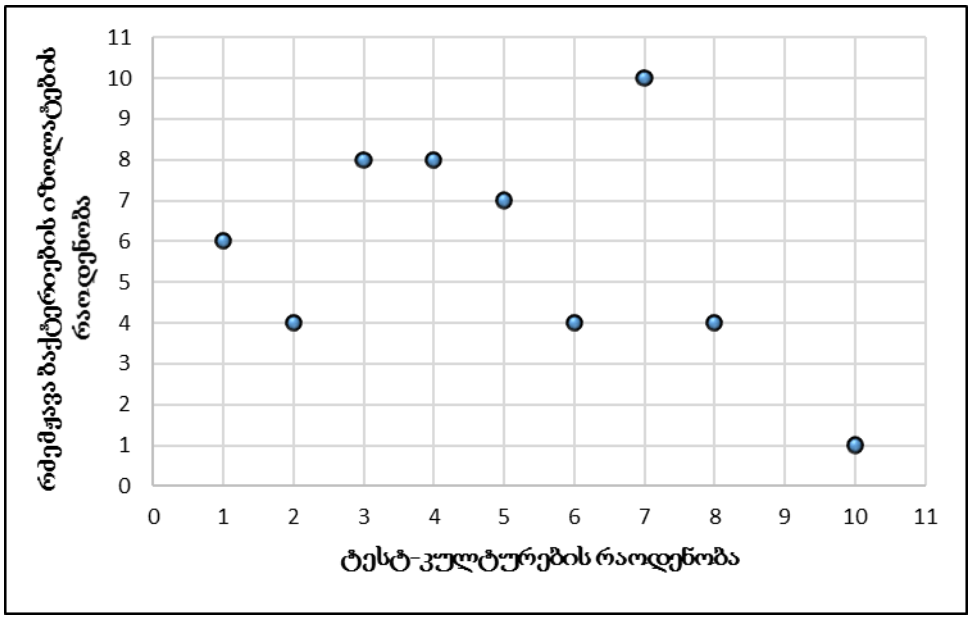
როგორც ნახაზი 3.2-დან ჩანს, *Bacillus cereus* ATCC 10876-ის მიმართ 24 იზოლატს ჰქონდა ანტიბაქტერიული აქტივობა, მათგან 11-მა იზოლატმა მოახდინა ტესტ-კულტურის სრული ინჰიბირება; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 შტამის შემთხვევაში მხოლოდ 2 იზოლატს აღმოაჩნდა ანტიბაქტერიული აქტივობა და ორივე შემთხვევაში არასრულ ინჰიბირებას ჰქონდა ადგილი; *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990-ის მიმართ 38 იზოლატს ჰქონდა აქტივობა, მათგან 31-ს სრული ინჰიბირებით; *Enterococcus faecalis* ATCC 19433-ს მიმართ 19 იზოლატს ჰქონდა მგრძნობელობა, აქედან 15-ს - სრული ინჰიბირებით; *Listeria monocytogenes*-ის მიმართ 8 იზოლატს ახასიათებდა სრული ინჰიბირება; *Salmonella enterica* DSM 50912-ის მიმართ 41 იზოლატს აღმოაჩნდა მგრძნობელობა, მათგან 38-ს ახასიათებდა სრული ინჰიბირება; *E.coli* ATCC 8739-ზე 22 იზოლატს ახასიათებდა ანტიბაქტერიული აქტივობა, მათგან 14-ს - სრული ინჰიბირებით; *E.coli* DSM 613-ზე 16 იზოლატს ახასიათებდა მგრძნობელობა, მათგან 13-ს - სრული ინჰიბირებით; *Micrococcus luteus* ATCC 4698-ზე 22 იზოლატს ახასიათებდა აქტივობა, მათგან 20-ს - სრული ინჰიბირებით;

Serratia marcescens 13890-ის მიმართ 26 იზოლატს ახასიათებდა აქტივობა, მათგან 10-ს - სრული ინჰიბირებით; *Pseudomonas stutzeri* ATCC 17588-ის მიმართ 37 იზოლატს ახასიათებდა აქტივობა, მათგან 34-ს - სრული ინჰიბირებით.



ნახ. 3.2. გუდის ყველიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების მიერ სხვადასხვა ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირება

ჩვენ მიერ გუდის ყველიდან გამოყოფილ რძემჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა იზოლატს აღმოაჩნდა ინდიკატორული კულტურების სხვადასხვა რაოდენობის მიმართ ანტიბაქტერული აქტივობა. შედეგები იხ. ცხრილი 3.6-ში და ნახ. 3.3-ზე.



ნახ. 3.3. ტესტ-კულტურების ზრდის ინჰიბირების უნარის მქონე რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების რაოდენობები

რძემჟავა ბაქტერიების 17 იზოლატს ჰქონდა 7 და მეტი ინდიკატორული ბაქტერიული კულტურის მიმართ მგრძნობელობა. განსაკუთრებით გამოირჩეოდა იზოლატი სამუშაო ნომრით L 17, რომელმაც 10 ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირება მოახდინა.

ყველაზე დიდი ინჰიბირების ზონის დიამეტრი *Bacillus cereus*-ის მიმართ გამოავლინა რძემჟავა ბაქტერიების 3 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 13, L 14 და L 15 (14 მმ), *Staphylococcus aureus*-ის მიმართ - 2 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 15 და L 17 (14 მმ), *Staphylococcus epidermidis*-ის მიმართ - 5 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 4, L 5 , L 7, L 8, L 16 (14 მმ), *Enterococcus faecalis*-ის მიმართ - 6 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 37, L 38, L 39, L 40, L 41, L 42 (16 მმ), *Listeria monocytogenes*-ის მიმართ - 3 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 13 (18 მმ), L 17 (20 მმ) და L 40 (16 მმ), *Salmonella enterica*-ის მიმართ - 7 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 16 (21 მმ), L 8, L 9, L 15, L 17, L 18 და L 20 (18 მმ), *E.coli* ATCC 8739-ის მიმართ - 2 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 6 (16 მმ) და L 16 (15 მმ), *E.coli* DSM 613-ის მიმართ - 2 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 16 და L 20 (16 მმ), *Micrococcus luteus*-ის მიმართ - 3 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 29 (19 მმ), L 24 და L 16 (21 მმ),

Serratia marcescens-ის მიმართ - 2 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 14 (16 მმ) და L 4 (15 მმ), *Pseudomonas stutzeri*-ის მიმართ - 3 იზოლატმა სამუშაო ნომრებით L 4, L 8 (20 მმ) და L 9 (19 მმ).

53 იზოლატიდან 13-ის მიერ ტესტ-კულტურების ინჰიბირებისას ინჰიბირების ზონის დიამეტრი იყო 18 მმ და მეტი. გამოიკვეთა რამდენიმე იზოლატი, რომლებმაც რამდენიმე ტესტ-კულტურის მიმართ გამოავლინეს ინჰიბირების ზონის მაქსიმალური დიამეტრი: L 16 – 6 ტესტ-კულტურის მიმართ, L 4, L 8, L 15 და L 17 – 3-3 ტესტ-კულტურის მიმართ.

პროპიონმჟავა ბაქტერიების 98 იზოლატიდან ანტიმიკრობული აქტივობა აღმოაჩნდა 37-ს. მათგან სხვადასხვა პათოგენის სრული ინჰიბირება ახასიათებდა 39 შტამს (ცხრილი 3.7), ხოლო სხვადასხვა პათოგენის არასრული ინჰიბირება გამოიწვია 14 შტამმა. პროპიონმჟავა ბაქტერიების არც ერთმა იზოლატმა არ დათრგუნა *Enterococcus faecalis* ATCC 19433-ის ზრდა-განვითარება.

ცხრილი 3.7

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტიბაქტერიული აქტივობა

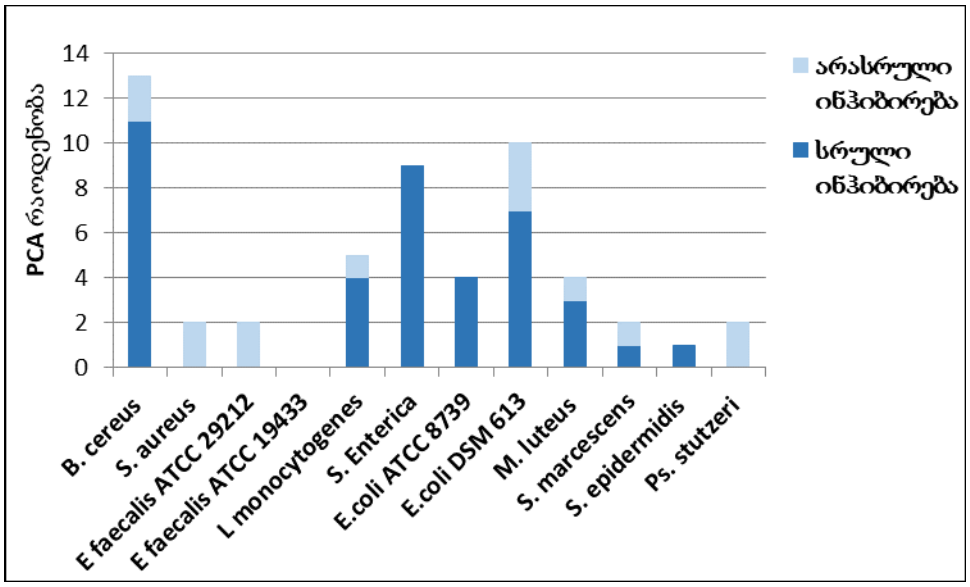
შტამის სამუშაო ნომერი	ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირების ზონა, მმ											
	B. cereus	*S. aureus*	*E faecalis* ATCC 29212	*E faecalis* ATCC 19433	*L monocytogenes*	*S. enteric*	*E.coli* ATCC 8739	*E.coli* DSM 613	*M. luteus*	*S. marcescens*	*S. epidermidis*	*Ps. stutzeri*
1									17*			
2		10*	11*									
3	13.5	12*										
4								12				
8	15											
10						13						
11	20											
14										14		
15	13											

16	15											
17						16			16			
18	13											
20	18				13			12				
21						16			11			
22					12							
23									13			
25	15											
28								12				
29						14						
36							15	12				
40					16							
44						12						
46							17	14				
47					11		12	11			11	
53	10*									10*		10*
54								16*				
55	10*											
59	17											
72						14						
74	16		16*									
81					14*							
82	14											
90						14						
93						14	18	17*				
94								16*				
96						14						
97												10*

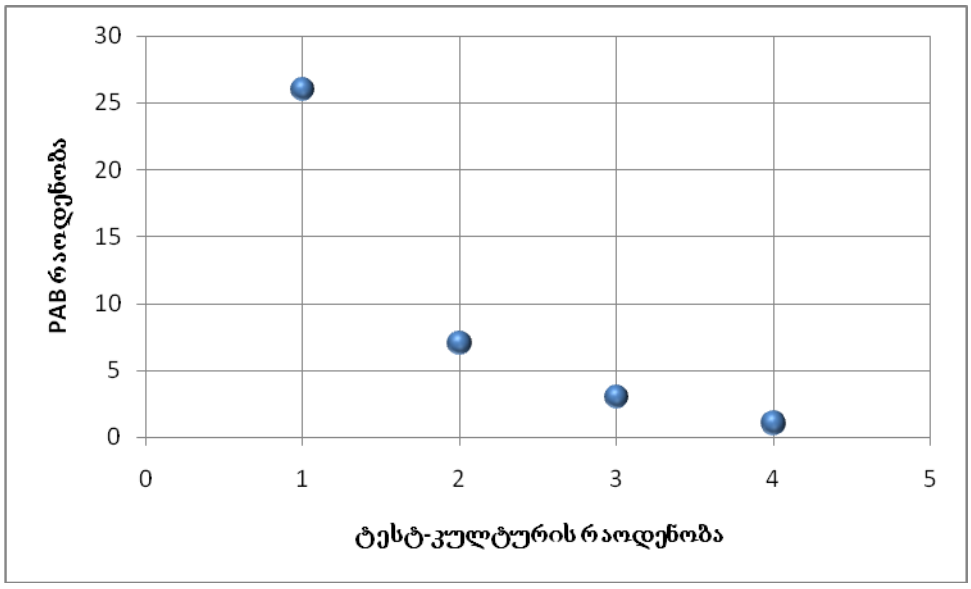
შენიშვნა:*- არასრული ინჰიბირება

როგორც ცხრილი 3.7 და ნახ. 3.4-დან ჩანს, *Bacillus cereus* ATCC 10876-ის მიმართ 13 იზოლატს ჰქონდა ანტიბაქტერიული აქტივობა, მათგან 11-მა იზოლატმა მოახდინა ტესტ-კულტურის სრული ინჰიბირება; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 შტამის შემთხვევაში მხოლოდ 2 იზოლატს აღმოაჩნდა ანტიბაქტერიული აქტივობა და ორივე შემთხვევაში არასრულ ინჰიბირებას ჰქონდა ადგილი; *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990-ის მიმართ 1

იზოლატს ჰქონდა ინჰიბირების უნარი; *Enterococcus faecalis* ATCC 29212-ს მიმართ 2 იზოლატს ჰქონდა არასრული ინჰიბირებით; *Listeria monocytogenes*-ის მიმართ 4 იზოლატს ახასიათებდა სრული ინჰიბირება 1 იზოლატს - არასრული ინჰიბირება; *Salmonella enterica* DSM 50912-ის მიმართ 9 იზოლატს აღმოაჩნდა მგრძნობელობა სრული ინჰიბირებით; *E.coli* ATCC 8739-ზე 4 იზოლატს ახასიათებდა ანტიბაქტერიული აქტივობა; *E.coli* DSM 613-ზე 10 იზოლატს ახასიათებდა მგრძნობელობა, მათგან 7-ს სრული ინჰიბირებით; *Micrococcus luteus* ATCC 4698-ზე 4 იზოლატს ახასიათებდა აქტივობა, მათგან 3-ს სრული ინჰიბირებით; *Serratia marcescens* 13890-ის მიმართ მხოლოდ 1 იზოლატს ახასიათებდა აქტივობა, ისიც არასრული ინჰიბირებით; *Pseudomonas stutzeri* ATCC 17588-ის მიმართ 2 იზოლატს ახასიათებდა არასრული ინჰიბირებით.



ნახ. 3.4. გუდის ყველიდან გამოყოფილი პროპიონმჟავა ბაქტერიების მიერ სხვადასხვა ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირება



ნახ. 3.5. ტესტ-კულტურების ზრდის ინჰიბირების უნარის მქონე პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების რაოდენობები

ყველაზე დიდი ინჰიბირების ზონის დიამეტრი *Bacillus cereus*-ის მიმართ გამოავლინა პროპიონმჟავა ბაქტერიების 1 იზოლატმა - GC 2(66) (20 მმ), *Listeria monocytogenes*-ის მიმართ - იზოლატმა GP 11(1) (16 მმ), *Salmonella enterica*-ის მიმართ - 2 იზოლატმა - GC 13(4) და GP 4(6) (16 მმ), *E.coli* ATCC 8739-ის მიმართ - იზოლატმა, GP 4(3) და GC 4(17) (18 და 17 მმ, შესაბამისად).

პროპიონმჟავა ბაქტერიების 1 იზოლატს (GC 7(3)) ჰქონდა 4 ინდიკატორული ბაქტერიული კულტურის მიმართ მგრძნობელობა და 3 იზოლატს - 3-3 ინდიკატორული კულტურის მიმართ. ეს იზოლატებია პირობითი ნომრებით: GC 4(6), GP 11(6) და GP 4(3).

პროპიონმჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა იზოლატს აღმოაჩნდა ინდიკატორული კულტურების სხვადასხვა რაოდენობის მიმართ ანტიბაქტერული აქტივობა (ნახ. 3.5).

ამრიგად, კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ თუშური გუდის ყველიდან გამოყოფილ რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატებს ახასიათებთ ტესტ-კულტურების ფართო სპექტრის ზრდის დათრგუნვის უნარი და ძლიერი ინჰიბიტორული აქტივობა საკვები პროდუქტების გაფუჭებაში მონაწილე პათოგენების მიმართ. თუმცა ამ მხრივ მეტი

აქტივობით გამოირჩევიან რძემჟავა ბაქტერიები, რომელთა მიერ გამოვლენილი ინჰიბირების ზონები იყო უფრო დიდი დიამეტრის და 33 იზოლატს ახასიათებდა 4 და მეტი ტესტ-კულტურის ზრდის დათრგუნვის უნარი. პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატებიდან 3-ს ჰქონდა 3-3 იზოლატის და ერთს - 4 ტესტ-კულტურის ზრდის ინჰიბირების უნარი და ამ შემთხვევებშიც ინჰიბირების ზონები იყო გაცილებით ნაკლები.

3.4.2. ნაღვლის და მჟავას მიმართ ტოლერანტობა

პრობიოტიკული სტარტერი კულტურების შესარჩევად მნიშვნელოვანი თვისებებია ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა და pH 2-ზე ზრდის უნარი. მაღალი გადარჩენადობა ნაღვლის მარილების და დაბალი მჟავიანობის არსებობისას ფიზიოლოგიურად მნიშვნელოვანი თვისებაა შტამისათვის, რაც საშუალებას აძლევს მას გადარჩეს საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში და, შესაბამისად, გამოავლინოს პრობიოტიკული პოტენციალი ნაწლავებში.

შევისწავლეთ პროპიონმჟავა ბაქტერიების ნაღვლის მჟავების მიმართ ტოლერანტობა და ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი Bile Aesculin Agar-ზე. შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.8.

ცხრილი 3.8

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ტოლერანტობა ნაღვლის მჟავებისა და pH 2-ის მიმართ და ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი

შტამის სამუშაო ნომერი	ზრდა		შტამის სამუშაო ნომერი	ზრდა	
	Bile Aesculin Agar	pH 2		Bile Aesculin Agar	pH 2
1	+	-	46	+	-
2	+	-	47	+	+
3	+	-	48	+	+
4	+	+	49	+	-
5	+	-	50	+	-
8	+	+	53	+	-
10	+	-	54	+	-

11	+	-	55	+	-
14	+	+	59	+	-
15	+	-	60	+	-
16	+	-	67	+	-
17	+	-	72	+	-
18	+	+	74	+	+
20	+	+	76	+	-
21	+	-	80	+	+
22	+	-	81	+	-
23	+	-	82	+	-
25	+	-	84	+	+
28	+	+	90	+	-
29	+	-	92	+	+
36	+	-	93	+	-
40	+	-	94	+	+
44	+	+	96	+	+
45	+	-	97	+	-
46	+	-	98	+	-

ჩვენ მიერ გამოყოფილ პროპიონმჟავა ბაქტერიების ყველა იზოლატი კარგად გაიზარდა ნაღვლის შემცველ აგარზე, ამასთან ყველა იზოლატს ახასიათებდა ესკულინის ჰიდროლიზი, რაც გამოხატული იყო საკვები არის გაშავებით ბაქტერიული ბიომასის გარშემო და რაც დამახასიათებელია ყველის მომწიფებაში მონაწილე პროპიონმჟავა ბაქტერიის ყველა სახეობისათვის [51].

პროპიონმჟავა ბაქტერიების pH 2-ზე ზრდის შესწავლამ აჩვენა, რომ 15 იზოლატმა გამოავლინა ეს უნარი, თუმცა ყველა შემთხვევაში ნაზრდი იყო კვალის სახით (ცხრილი 3.8).

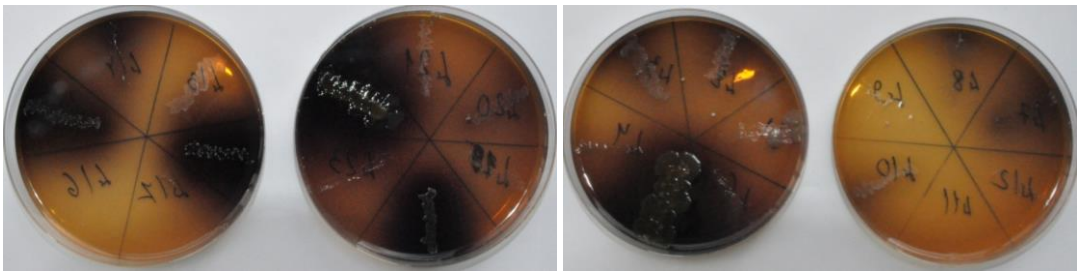
შევისწავლეთ აგრეთვე რძემჟავა ბაქტერიების ნაღვლის მჟავების მიმართ ტოლერანტობა და ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი Bile Aesculin Agar (BAA)-ზე. რძემჟავა ბაქტერიების შემთხვევაში ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა ისაზღვრებოდა აგრეთვე 2 % ნაღვლის მარილების შემცველ MRS აგარზე. შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.9 და სურ. 3.5 და 3.6-ზე.

ცხრილი 3.9

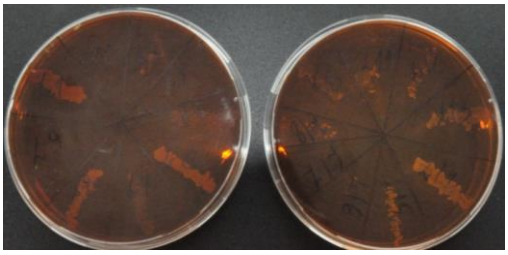
რძემჟავა ბაქტერიების ნაღვლის მჟავებისა და pH 2-ის მიმართ და ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი

შტამის სამუშაო N	ზრდა			შტამის სამუშაო N	ზრდა		
	BAA	MRS + 2% ნაღველი ბაქტერიოლოგიური	pH 2		BAA	MRS + 2% ნაღველი ბაქტერიოლოგიური	pH 2
L 1	1	4	-	L 28	2	3	-
L 2	3	-	+	L 29	2	2	2+
L 3	3	-	-	L 30	1	1	-
L 4	2	-	-	L 31	1	1	-
L 5	4*	2	-	L 32	1	1	2+
L 6	1	3	-	L 33	4*	3	-
L 7	3	3	-	L 34	4*	3	-
L 8	2	3	2+	L 35	2	3	-
L 9	2	-	+	L 36	-	-	-
L 10	2	2	-	L 37	4*	-	2+
L 11	-	-	-	L 38	4*	2	-
L 12	2	2	-	L 39	2	2	2+
L 13	3	3	-	L 40	2*	3	-
L 14	3*	4	-	L 41	4*	3	2+
L 15	4*	1	+	L 42	3	3	-
L 16	-	-	+	L49	4*	3	-
L 17	1	-	+	L51	4*	4	-
L 18	2*	-	-	L53	4*	4	2+
L 19	2	3	-	L55	4*	2	-
L 20	1	-	+	L56	4*	2	-
L 21	2	2	-	L66	4*	1	2+
L 22	4*	3	+	L 67	4*	-	+
L 23	2	3	-	L 69	4*	1	+
L 24	2	2	-	L 70	4	2	-
L 25	3*	2	-	L 71	3	3	-
L 26	4*	2	+	L 72	3	3	-
L 27	4*	1	-				

შენიშვნა: – - ზრდის არარსებობა; 1 - დაკნინებული ზრდა; 2 - სუსტი ზრდა, 3 - საშუალო ზრდა, 4 - კარგი ზრდა, * - ესკულინის ჰიდროლიზი



სურ. 3.5. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა Bile Aesculin Agar-ზე



სურ.3.6. 2% ნაღვლის მარილების შემცველ არეზე რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა

Bile Aesculin Agar-ზე ზრდა შესწავლილი 53 იზოლატიდან ახასიათებდა 50-ს; ხოლო 2% ნაღვლის მარილების შემცველ არეზე არ გაიზარდა 12 შტამი. რძემჟავა ბაქტერიების pH 2-ზე ზრდის შესწავლამ აჩვენა, რომ 18 იზოლატს ჰქონდა ეს უნარი, ამასთან 8 იზოლატის შემთხვევაში ნაზრდი იყო უკეთესი, ხოლო დანარჩენი 10-ის შემთხვევაში შეფასდა როგორც სუსტი და არა დაკნინებული. (ცხრილი 3.9).

3.5. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იდენტიფიკაციისათვის მნიშვნელოვანი მახასიათებლებლები

3.5.1. სხვადასხვა ტემპერატურაზე და NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდა

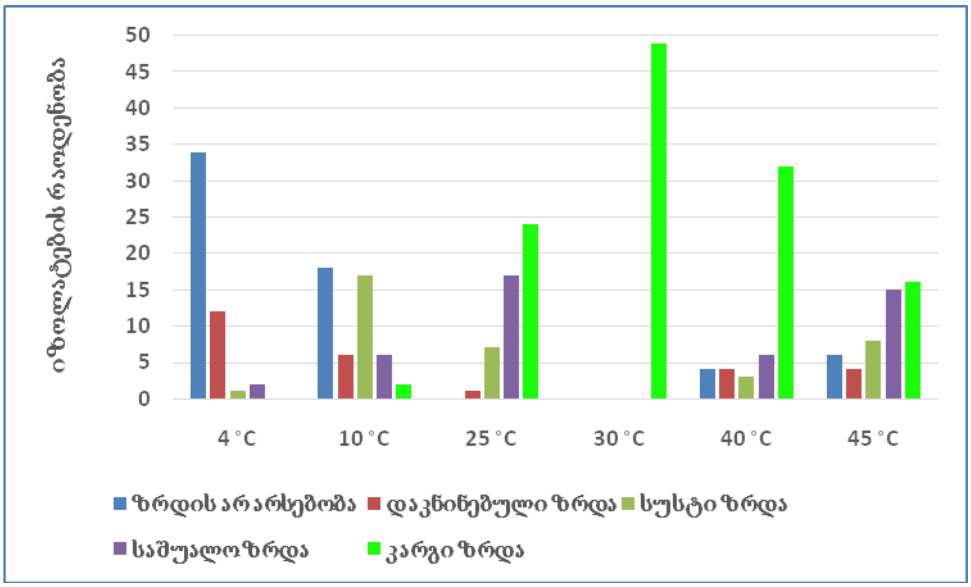
რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების სახეობრივი იდენტიფიკაციისათვის შესწავლილი იქნა მათი ფიზიოლოგიური მახასიათებლებლები, როგორებიცაა: სხვადასხვა ტემპერატურაზე (4 °C, 10 °C, 25 °C, 40 °C, 45°C) და NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდა (2.5, 4, 6, 8%). შედეგები მოცემულია ცხრილებში 3.10-3.13-ში და ნახაზებზე 3.6-3.9.

ცხრილი 3.10

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდის უნარი სხვადასხვა ტემპერატურაზე

შტამის სამუშაო N	ტემპერატურა					შტამის სამუშაო N	ტემპერატურა				
	4 °C	10 °C	25 °C	40 °C	45 °C		4 °C	10 °C	25 °C	40 °C	45 °C
1	-	-	4+	4+	4+	47	-	2+	4+	4+	3+
2	-	-	4+	4+	4+	48	-	2+	4+	4+	3+
3	-	-	4+	4+	4+	49	-	2+	4+	4+	3+
4	-	-	4+	4+	4+	50	-	1+	2+	4+	4+
5	-	-	4+	4+	4+	53	-	1+	3+	4+	4+
8	-	-	4+	4+	4+	54	-	2+	3+	4+	1+
10	-	-	4+	4+	4+	55	-	2+	3+	4+	2+
11	-	-	4+	4+	4+	59	1+	4+	4+	4+	3+
14	3+	3+	3+	-	-	60	1+	3+	3+	4+	2+
15	-	1+	3+	3+	3+	67	1+	2+	3+	4+	3+
16	1+	2+	3+	3+	3+	72	1+	2+	4+	4+	3+
17	-	-	2+	3+	4+	74	1+	2+	4+	4+	3+
18	2+	3+	3+	3+	4+	76	1+	3+	4+	4+	3+
20	-	-	2+	2+	2+	80	1+	2+	4+	4+	2+
21	-	-	1+	3+	3+	81	-	2+	4+	4+	1+
22	3+	3+	2+	-	-	82	-	2+	3+	4+	3+
23	-	-	2+	2+	2+	84	-	2+	4+	4+	2+
25	-	-	3+	1+	1+	90	1+	3+	4+	4+	4+
28	-	-	3+	-	-	92	1+	2+	3+	4+	3+
29	1+	1+	4+	3+	2+	93	1+	2+	3+	4+	2+
36	-	-	2+	1+	-	94	-	2+	3+	4+	3+
40	-	-	2+	-	-	96	-	2+	4+	4+	4+
44	-	-	3+	1+	-	97	-	4+	4+	2+	4+
45	-	1+	3+	1+	1+	98	-	1+	4+	4+	4+
46	-	-	4+	4+	3+						

შენიშვნა: 4+ - კარგი ზრდა; 3+ - საშუალო ზრდა; 2+ - სუსტი ზრდა; 1+ - დაკნინებული ზრდა; - - ზრდის არ არსებობა.



ნახ. 3.6. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდის ინტენსივობა სხვადასხვა ტემპერატურაზე

ცხრილი 3.11

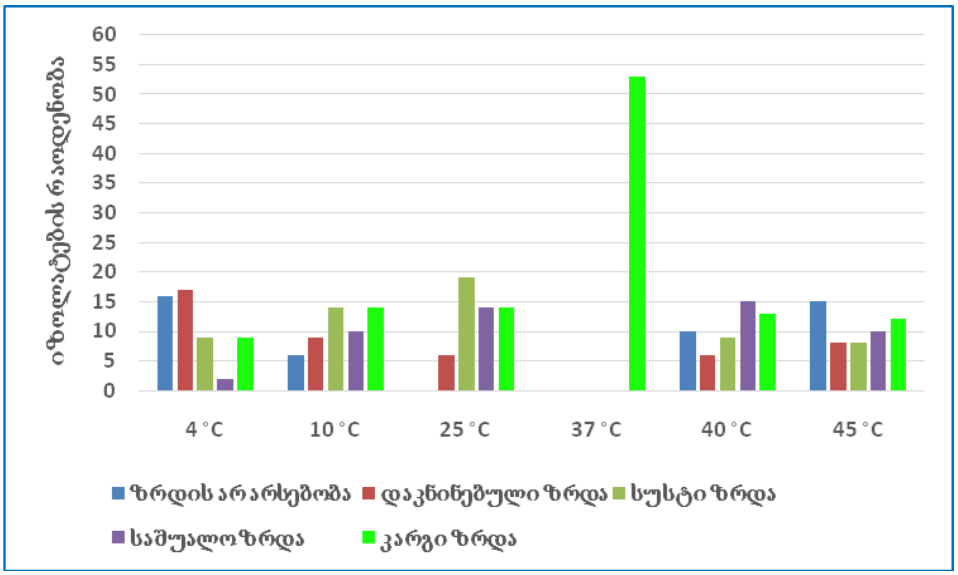
რძემჟავა ბაქტერიების ზრდის უნარი სხვადასხვა ტემპერატურაზე

შტამის N	ტემპერატურა					შტამის N	ტემპერატურა				
	4 °C	10 °C	25 °C	40 °C	45 °C		4 °C	10 °C	25 °C	40 °C	45 °C
L 1	3+	4+	4+	4+	4+	L 28	1+	3+	3+	3+	3+
L 2	-	2+	3+	3+	3+	L 29	1+	2+	2+	1+	1+
L 3	2+	3+	4+	4+	4+	L 30	-	1+	1+	2+	2+
L 4	1+	1+	1+	3+	2+	L 31	-	1+	1+	1+	1+
L 5	4+	4+	4+	4+	4+	L 32	1+	1+	1+	1+	1+
L 6	2+	2+	2+	3+	2+	L 33	1+	2+	3+	3+	2+
L 7	-	2+	2+	-	-	L 34	-	2+	1+	1+	-
L 8	1+	2+	2+	2+	2+	L 35	-	2+	2+	1+	-
L 9	-	-	2+	-	-	L 36	-	2+	2+	-	-
L 10	-	-	2+	-	-	L 37	1+	3+	3+	3+	3+
L 11	-	1+	1+	-	-	L 38	2+	2+	3+	3+	3+
L 12	-	1+	2+	-	-	L 39	1+	2+	2+	1+	-
L 13	-	2+	2+	2+	3+	L 40	1+	2+	3+	2+	1+
L 14	1+	3+	3+	3+	3+	L 41	1+	4+	3+	3+	3+
L 15	-	3+	2+	2+	2+	L 42	-	3+	3+	3+	1+
L 16	-	-	3+	-	-	L49	4+	4+	4+	4+	4+
L 17	1+	1+	2+	-	-	L51	4+	4+	4+	4+	4+
L 18	1+	1+	2+	2+	1+	L53	4+	4+	4+	3+	3+

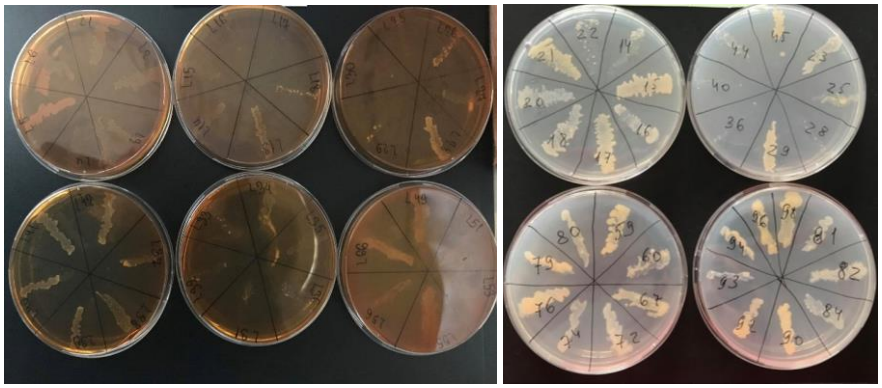
L 19	2+	2+	2+	2+	-	L55	4+	4+	4+	4+	4+
L 20	2+*	2+	2+	-	-	L56	4+	4+	4+	4+	4+
L 21	-	-	2+	-	-	L66	4+	4+	4+	4+	4+
L 22	2+	4+	4+	4+	4+	L 67	4+	4+	4+	4+	4+
L 23	1+	1+	2+	3+	-	L 69	3+	3+	4+	4+	4+
L 24	1+	4+	3+	3+	2+	L 70	4+	4+	4+	4+	4+
L 25	1+	3+	3+	3+	2+	L 71	2+	2+	2+	2+	1+
L 26	1+	3+	3+	3+	3+	L 72	2+	4+	4+	2+	1+
L 27	2+	3+	3+	4+	3+						

შენიშვნა: შენიშვნა: 4+ - კარგი ზრდა; 3+ - საშუალო ზრდა; 2+ - სუსტი ზრდა; 1+ - დაკნინებული ზრდა; - - ზრდის არ არსებობა.

რძემჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა ტემპერატურებზე (4 °C, 10 °C, 25 °C, 30 °C, 40 °C, 45 °C) ზრდის ინტენსივობის შესწავლის შედეგად დადგინდა, რომ 53-დან 15 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა 4 °C, 16 იზოლატს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 11 იზოლატს - სუსტი ზრდა, 2 იზოლატს ახასიათებდა საშუალო ზრდა და 9 იზოლატს - კარგი ზრდა. 10 °C ზრდის შესწავლამ აჩვენა, რომ 7 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა, 8 იზოლატს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 15 იზოლატს ახასიათებდა სუსტი ზრდა, 15-ს საშუალო და 8 იზოლატს - კარგი ზრდა. 25 °C-ზე ზრდის ინტენსივობის შესწავლისას დადგინდა, რომ 5 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა, 11-ს - დაკნინებული ზრდა, 9 იზოლატს - სუსტი ზრდა, 14 იზოლატს ახასიათებდა საშუალო და 13 იზოლატს - კარგი ზრდა. 30 °C ტემპერატურაზე ყველა იზოლატს ახასიათებდა კარგი ზრდა. 40 °C ტემპერატურაზე ზრდის ინტენსივობის შესწავლის შედეგად დადგინდა, რომ 11 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა, 7-ს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 8 იზოლატს - სუსტი ზრდა, 13-ს - საშუალო და 13-ს - კარგი ზრდა. 45 °C ტემპერატურაზე ზრდის ინტენსივობის შესწავლის შედეგად დადგინდა, რომ 14 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა, 9 იზოლატს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 6 იზოლატს - სუსტი ზრდა, 10 იზოლატს ახასიათებდა საშუალო ზრდა და 12 იზოლატს - კარგი ზრდა. შედეგები მოცემულია ნახ.3.7-ზე და სურ. 3.7-ზე.



ნახ. 3.7. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდის ინტენსივობა სხვადასხვა ტემპერატურაზე



სურ. 3.7. პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე

რძემჟავა ბაქტერიების NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის ტოლერანტობის განსაზღვრის შედეგად დადგინდა, რომ მხოლოდ 4 იზოლატს არ ახასიათებდა 2.5 % კონცენტრაციისას ზრდა, 13 იზოლატს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 13-ს - სუსტი ზრდა, 14 იზოლატს - საშუალო ზრდა და 9 იზოლატს ახასიათებდა კარგი ზრდა. NaCl-ის 4 % კონცენტრაციაზე ზრდის არარსებობა აღინიშნა 1 იზოლატში, დაკნინებული ზრდა ახასიათებდა 7 იზოლატს, 29 იზოლატს - სუსტი ზრდა, 14 იზოლატს - საშუალო და 10-ს - კარგი ზრდა. კარგი ზრდა ახასიათებდა იზოლატებს სამუშაო ნომრებით - L 22, L 49, L 51, L 53, L 55, L 56, L 66, L 67, L 69 და L 70. NaCl-ის 6 % კონცენტრაციის შემთხვევაში 53-დან 10 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა, 14 იზოლატს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 11-ს -

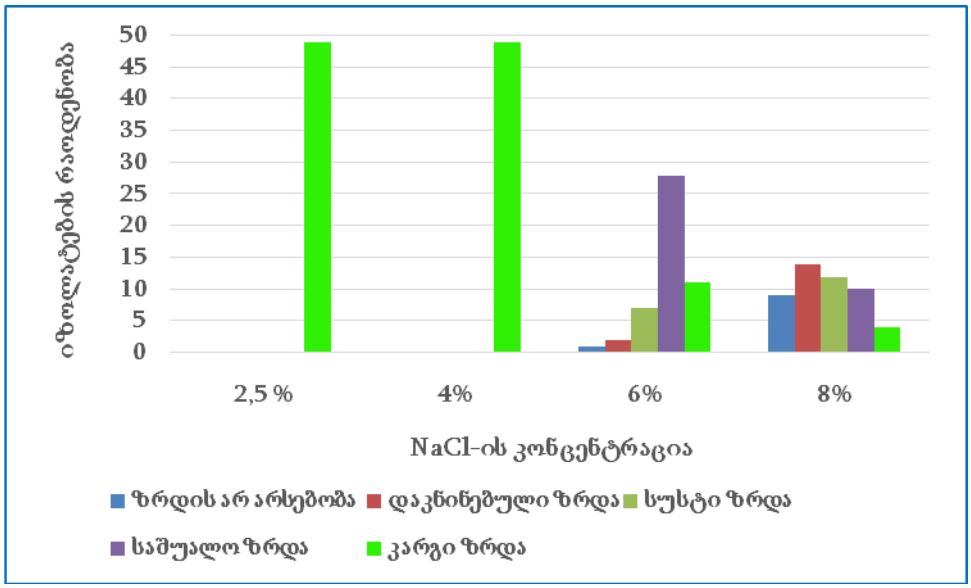
სუსტი ზრდა, 8-8 იზოლატს ახასიათებდა საშუალო და კარგი ზრდა; კარგი ზრდა ახასიათებდა იზოლატებს სამუშაო ნომრებით: L 49, L 51, L 55, L 56, L 66, L 67, L 69, L 70). NaCl-ის 8 % კონცენტრაციის შემთხვევაში 53-დან 13 იზოლატს არ ახასიათებდა ზრდა, 17 იზოლატს ახასიათებდა დაკნინებული ზრდა, 9 იზოლატს - სუსტი ზრდა, 7-ს - საშუალო და 3-ს - კარგი ზრდა (L 51, L 66, L 70). შედეგები მოცემულია ნახ. 3.9-ზე.

ცხრილი 3.12

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე

შტამის სამუშაო N	NaCl-ის კონცენტრაცია, %				შტამის სამუშაო N	NaCl-ის კონცენტრაცია, %			
	2.5	4	6	8		2.5	4	6	8
1	4+	4+	4+	3+	47	4+	4+	3+	2+
2	4+	4+	4+	1+	48	4+	4+	3+	2+
3	4+	4+	4+	-	49	4+	4+	3+	3+
4	4+	4+	3+	3+	50	4+	4+	3+	3+
5	4+	4+	4+	-	53	4+	4+	3+	3+
8	4+	4+	4+	3+	54	4+	4+	3+	1+
10	4+	4+	3+	2+	55	4+	4+	3+	1+
11	4+	4+	3+	2+	59	4+	4+	2+	1+
14	4+	4+	4+	4+	60	4+	4+	4+	4+
15	4+	4+	4+	3+	67	4+	4+	2+	2+
16	4+	4+	3+	2+	72	4+	4+	3+	-
17	4+	4+	3+	2+	74	4+	4+	2+	-
18	4+	4+	3+	1+	76	4+	4+	4+	3+
20	4+	4+	3+	2+	80	4+	4+	3+	1+
21	4+	4+	3+	1+	81	4+	4+	2+	-
22	4+	4+	4+	1+	82	4+	4+	2+	2+
23	4+	4+	3+	1+	84	4+	4+	3+	1+
25	4+	4+	3+	1+	90	4+	4+	3+	2+
28	4+	4+	1+	-	92	4+	4+	3+	1+
29	4+	4+	1+	-	93	4+	4+	3+	2+
36	4+	4+	2+	1+	94	4+	4+	3+	2+
40	4+	4+	-	-	96	4+	4+	3+	4+
44	4+	4+	4+	1+	97	4+	4+	3+	4+
45	4+	4+	2+	-	98	4+	4+	3+	3+
46	4+	4+	3+	3+					

შენიშვნა: შენიშვნა: 4+ - კარგი ზრდა; 3+ - საშუალო ზრდა; 2+ - სუსტი ზრდა; 1+ - დაკნინებული ზრდა; - - ზრდის არ არსებობა.



ნახ. 3.8. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე

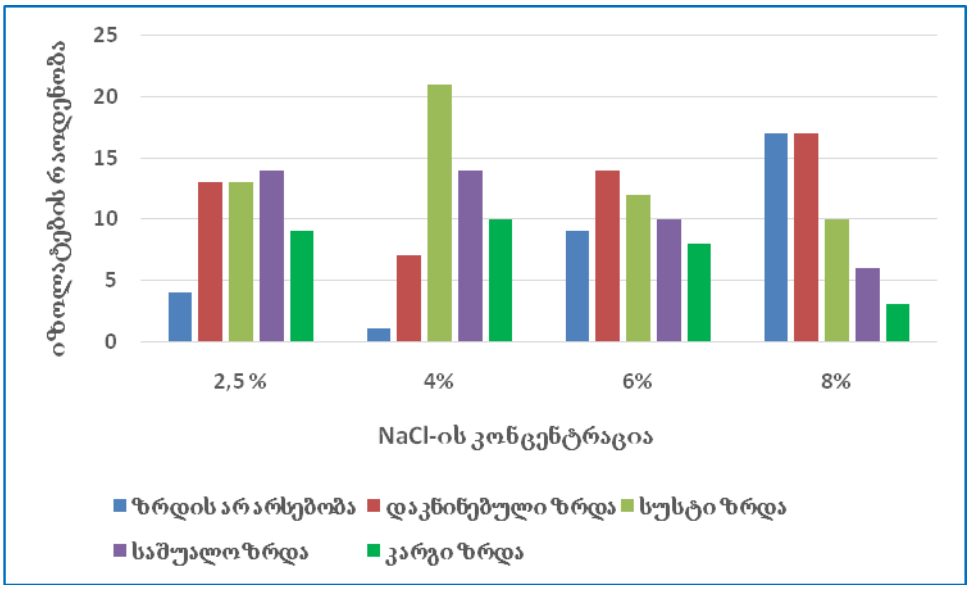
ცხრილი 3.13

რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე

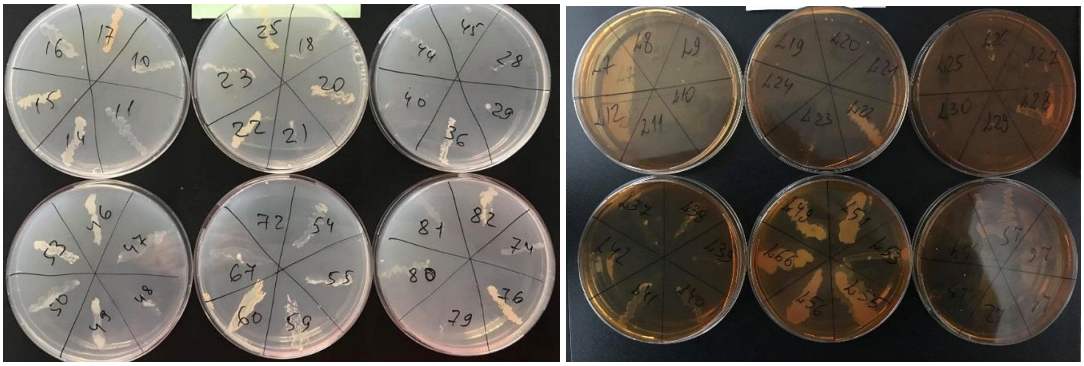
შტამის სამუშაო N	NaCl-ის კონცენტრაცია, %				შტამის სამუშაო N	NaCl-ის კონცენტრაცია, %			
	2.5	4	6	8		2.5	4	6	8
L 1	3	3	3	2	L 28	3	3	3	2
L 2	2	2	2	2	L 29	1	2	3	2
L 3	2	2	2	1	L 30	1	2	2	2
L 4	1	3	2	-	L 31	-	2	1	1
L 5	3	3	3	2	L 32	1	2	1	1
L 6	2	3	3	-	L 33	2	2	-	-
L 7	2	3	-	-	L 34	2	3	-	-
L 8	2	3	2	1	L 35	2	2	-	-
L 9	1	1	1	1	L 36	1	2	1	-
L 10	2	1	1	1	L 37	3	2	2	2
L 11	1	-	-	-	L 38	3	3	3	3
L 12	1	1	-	-	L 39	2	2	1	1
L 13	3	2	2	2	L 40	3	2	2	-
L 14	3	2	2	2	L 41	3	3	3	1
L 15	2	2	-	-	L 42	3	3	-	-
L 16	1	1	1	-	L49	4	4	4	3
L 17	1	1	2	1	L 51	4	4	4	4

L 18	2	2	2	1	L 53	3	4	3	1
L 19	1	1	1	1	L 55	4	4	4	3
L 20	-	2	-	-	L 56	4	4	4	3
L 21	-	1	1	1	L 66	4	4	4	4
L 22	4	4	3	3	L 67	4	4	4	3
L 23	-	2	2	1	L 69	4	4	4	4
L 24	2	3	1	-	L 70	4	4	4	2
L 25	3	2	1	1	L 71	1	3	1	1
L 26	3	2	1	-	L 72	1	2	1	1
L 27	3	3	3	-					

შენიშვნა: შენიშვნა: 4+ - კარგი ზრდა; 3+ - საშუალო ზრდა; 2+ - სუსტი ზრდა; 1+ - დაკნინებული ზრდა; - - ზრდის არ არსებობა.



ნახ. 3.9. რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე



სურ. 3.8. პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა მარილიანობაზე

პროპიონმჟავა ბაქტერიების უმრავლესობას ახასიათებდა კარგი ზრდის უნარი მაღალ ტემპერატურაზე. თითქმის ყველა შტამს 4 °C და 10 °C ტემპერატურებზე ახასიათებდა ცუდი ზრდა (ნახ. 3.6, სურ. 3.7).

რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატებიდან ზოგი არ იზრდებოდა ან ცუდად იზრდებოდა 4 °C და 10 °C ტემპერატურებზე, ზოგი კი პირიქით - მაღალ ტემპერატურებზე (40 °C და 45 °C ტემპერატურებზე), რაც დამახასიათებელია რძემჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა გვარისათვის.

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების უმრავლესობა იზრდებოდა მარილიანობის ყველა შესწავლილ მაჩვენებელზე (ნახ. 3.9; სურ. 3.8); უმრავლესობას ახასიათებდა კარგი ზრდა 8 % მარილიანობაზე, რაც ყველის მაღალ მარილიანობათან ბაქტერიების ადაპტირებით აიხსნება: ყველის ნიმუშებში მარილის რაოდენობა ვარირებდა 6 %-დან 13 %-მდე შუალედში (ცხრილი 3.2).

3.5.2. ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე ზრდა

ყველის მომწიფებისას მიმდინარე მნიშვნელოვანი ბიოქიმიური პროცესები მიკრობიოტას ცხოველქმედების შედეგია, რომლის უმნიშვნელოვანესი კომპონენტი რძემჟავა ბაქტერიებია. ისინი ყველის მომწიფების მთელი პერიოდის განმავლობაში თამაშობენ მნიშვნელოვან როლს - ახდენენ შაქრების ფერმენტაცია მჟავას წარმოქმნით, რაც იწვევს pH-ის დაწევას, დელამოს წარმოქმნას და შრატის გამოყოფას [173].

ყველის ბიოქიმიურ მახასიათებლებზე გავლენას ახდენს ასევე რძის ბუნებრივი მიკროფლორა [174, 175, 176], რომელიც ხელს უწყობს საბოლოო პროდუქტის ორგანოლეპტიკური მახასიათებლების ჩამოყალიბებას.

სახეობრივი იდენტიფიკაციის მიზნით შევისწავლეთ პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდის უნარი სხვადასხვა ნახშირბადის წყაროზე (არაბინოზა, გალაქტოზა, გლიცერინი, გლუკოზა, ცელობიოზა, ნატრიუმის

ლაქტატი, ლაქტოზა, მალტოზა და საქაროზა). შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.14 და სურ. 3.9-ზე.

ცხრილი 3.14

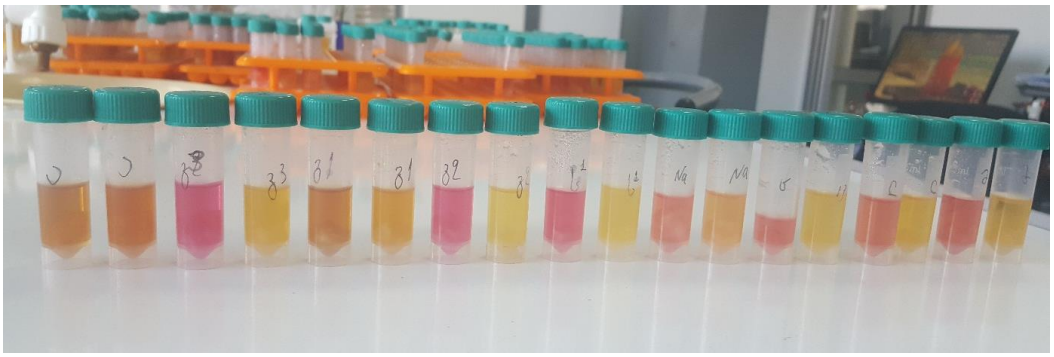
პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე

შტამის სამუშაო N	შტამის პირობითი დასახელება	ნახშირწყლის დასახელება								
		არაბინოზა	გალაქტოზა	გლიცეროლი	გლუკოზა	ცელობიოზა	ლაქტატი	ლაქტოზა	მალტოზა	საქაროზა
1	GC 14(4)	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+	+*	+*
2	GC 2(75)1	+*	+*	+*	+*	+*	+	+	+*	+*
3	GC 1(4)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+	+*	+*
4	GC 14(7)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+	+*	+*
5	GC 2(75)2	-	+	+	+	+*	+	+	+	+
8	GC 3(9)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+	+*	+*
10	GC 8(1)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+	+*	+*
11	GC 2(66)	+*	+	+*	+*	+	+*	+	+*	+*
14	GP 9(5)	+*	+	+	+	+	+	+	+	+
15	GP 3(1)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+*	+*	+*
16	GC 2(68)	+*	+*	+	+*	+	+	+	+*	+
17	GC 13(4)	-	-	+	+*	+	+	+	+	+
18	GC 3(2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	GC 4(6)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+*	+*	+*
21	GP 4(6)	+*	+	+	+*	+	+	+	+	+
22	GP 10(10)	+	+	+	+	+	+*	+	+	+
23	GP 9(1)	-	+	+*	+	+	+	+	+	+
25	GP 4(1)	-*	+	*	*	+	+	+	+	+
28	GP 1(1)	+	+	+*	+	+	+*	+	+	+
29	GP 10(1)	+	+	+	+*	+	+	+	+	+
36	GP 4(2)	+*	+*	+*	+*	-	+*	-*	+*	+*
40	GP 11(1)	+*	+	+	+	+	+	+	+	+
44	GP 1(36)	+*	+*	+*	+*	-	+	-	+*	-
45	GP 1(3)	+*	+	+	+	+	+	+	+	+
46	GC 4(17)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
47	GC 7(3)	-	-	+*	+	+	+	+	+	+
48	GC 6(3)	-	-	+*	+	+	+*	+	+	+
49	GC 4(3)	-	-	+	+	+	+*	+	+	+
50	GC 14(6)	-	-	+	+	+	-	+	+	+

53	GP 11(6)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
54	GC 5(3)	+*	+*	+*	+*	+*	+	+*	+*	+*
55	GC 10(2)	+	+*	+*	+*	+	+	+	+	+*
59	GC 14(3)	-*	-	±	+	+	+	+	+	+
60	GP 10(9)	-	-	+*	+	+*	+	+	+	+
67	GC 1(4)	-	+	+	+	+	+*	+	+	+
72	GC 2(77)	-	-	+*	+	+*	+	+	+	+*
74	GC 14(2)	-	±	+	+*	+	+*	+	+	+
76	GC 7(4)	-*	±	+	+*	+	+	+	+	+
80	GC 2(69)	-	-	±	±	+	±	±	±	±
81	GC 6(2)	-	-	±	±	+*	+	±	±	±
82	GC 10(6)	-	-	+*	+	+*	+	+	+	+
84	GC 7(6)	-	-	+	+	+	+*	+	+	+
90	GC 15(4)	-	±	±*	+*	+	+	+*	+	+
92	GC 14(5)	-	-	+	+*	+	+*	+	+	+
93	GP 4(3)	±	±	+	+	+	+	+	+	+
94	GP 9(8)	-	-	+*	+	+	+	+	+	+
96	GP 10(2)	-	-	+	+*	+*	+*	+	+	+
97	GP 3(2)	-*	-	+	+	+	-	+	+	+
98	GP 11(1)	-	±	+	+*	+	-	+	+	+

შენიშვნა: + ფერის შეცვლა, *-გაზის წარმოქმნა, - ფერი არ შეიცვალა, ± ფერი ოდნავაა შეცვლილი

ყველის მომწიფებისთვის მნიშვნელოვან სახეობებს, რომლებსაც მიეკუთვნება *P.Freudenreichii, P. acidi-propionici* ახასიათებთ არაბინოზაზე დადებითი რეაქცია, *P. shermanii, P. thoenii, P. jensenii* უარყოფითი რეაქცია. ჩვენს შემთხვევაში 98 შტამიდან 29 შტამს ახასიათებდა მჟავას წარმოქმნის უნარი არაბინოზაზე და გლიცეროლზე, რაც დამახასიათებელია *P. Freudenreichii*-ისა და *P. acidi-propionici*-სთვის. ბერგის სარკვევის მიხედვით [51], პროპიონმჟავა ბაქტერიებს, გარდა *P. acidi-propionici*, არ ახასიათებთ ცელობიოზას ფერმენტაციის უნარი: ჩვენ მიერ გამოყოფილ ყველა შტამს ჰქონდა დადებითი რეაქცია. ლაქტოზას ფერმენტაცია ახასიათებს 96 შტამს.



სურ.3.9. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე

სახეობრივი იდენტიფიკაციის მიზნით, ასევე, შევისწავლეთ რძემჟავა ბაქტერიების ზრდის უნარი ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე (არაბინოზა, გალაქტოზა, ფრუქტოზა, გლიცეროლი, გლუკოზა, ქსილოზა, ნატრიუმის ლაქტატი, ლაქტოზა, სორბიტი, მანიტი, ინულინი, მალტოზა და საქაროზა). შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.15.

ცხრილი 3.15

რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროზე

შტამის სამეშო ნომერი	ნახშირბადის წყაროს დასახელება												
	L-არაბინოზა	მალტოზა	ფრუქტოზა	საქაროზა	ქსილოზა	გლიცეროლი	სორბიტი	მანიტი	ლაქტოზა	ინულინი	გალაქტოზა	ლაქტატი	გლუკოზა
L 1	-	+*	+*	+	+*	+	-	-	+	-	±	+	±
L 2	+	+*	+*	+	+*	-	-	+	+*	-*	±	+*	±
L 3	+	+*	+*	+*	+*	+	±	+	+	-	±	+	-
L 4	±	+*	+	±	±	±*	±	+	+*	-	±	+	±
L 5	+	+*	+	+*	+	±	±	+*	+	-	+	+	+
L 6	+	-*	+*	-	±	-	-	-	-	-	±*	+	±
L 7	±*	+*	+*	-	+*	-	-	-	±	-*	±*	+	+
L 8	+*	+*	+	-	+	-*	-	-	-	-	±	+*	±
L 9	+*	+*	+	±	+	±	-	-	-	-*	+	+*	+
L 10	+*	+	+	+	+	+	±	±	+	-	±	+	+
L 11	-	+	-	+	±	+*	-	+	+	-	±	+	+
L 12	-	+*	±*	+	±	+	-	-	+	-*	±	+	±
L 13	+	+	+	+	+	±	±	±	+	-	±	+*	±
L 14	+	+*	+	+	+	+	±	+	+	-*	±	+*	±
L 15	±	+	-	-	-	+	-	+	±	-	±	+*	±

L 16	+	+	+*	+*	+*	+*	+*	±	±	-	±	+	±*
L 17	+	+*	+*	-	+*	+	±	±	+	-	±	+*	±
L 18	+	+	+*	-	-	-	+	+	+	-*	±	+	±
L 19	+	+	+*	+*	+*	+*	±	±	±	-	±	+	±
L 20	+*	+*	+*	-*	+*	+	±	±	+*	-	±	+	±
L 21	+	+*	+*	+*	+	+	±	+	±	-*	±	+	±
L 22	+*	+*	+*	+*	-	+	±	+*	+	-	+	+	+
L 23	+	+*	+	-	+	-	±	+	+	-	±	+	±
L 24	-	+*	+	-	±	-	-	+	+	-	±	+	±
L 25	+	+*	+*	+	+	±	+*	+*	+	-	+	+	+*
L 26	+	+*	+*	-	±	±	+	+	+*	-	+*	+*	+*
L 27	±	+	+	±	±	±	-	+	+	-*	±	+*	±
L 28	+	+	+	-	±	+	±	±	+*	-	+	+*	+*
L 29	+*	+*	+*	+	-	-	-	-	+	-	±	+	±
L 30	+*	+*	+	+	±	±	-	-	+	-	±	+	±*
L 31	+	+*	+*	+*	-	-	+	+	+	-	±	+	±
L 32	+*	+*	+*	+*	±	±	+	+	+	-	±	+	±*
L 33	+*	+*	+*	+*	+	±	+	+	+	-	±	+	±
L 34	+*	+*	+*	±	±	-	±	+	+	-*	+	+	+
L 35	+	+*	+*	-	+*	-	-	-	+*	-	±	+	±
L 36	+	+*	+	+*	+	±	+	+*	+*	-*	±	+	±*
L 37	±*	-*	-	-	±	-	-	±	+*	-*	+*	+	+*
L 38	+	+*	+	-	-	-	-	+	+	-*	±*	+	+
L 39	+	+*	+	-	+*	±	+*	+	+	-	±*	+*	±
L 40	+	+*	+*	-	-	-	-	+	+	-	+	+*	±
L 41	+	+*	+*	-	-	-	-	+	+	-	±	+*	±
L42	+	+*	+	+	+*	+	-	±	-*	-	+	+	+*
L49	+	+*	+	+	±	-	-	+	+	-	+	+	+
L51	+	+*	+*	+	-	-	-	+	+*	±	+	+	+*
L53	+	+*	+	+*	±	+*	+	+	+	-	+	+*	+*
L55	+*	+*	+	+	+*	+*	+*	+	+*	+	+	+	+*
L56	-	+*	+	+*	+	+	-	±	±	-	+	+	+
L 66	+	+*	+*	+*	±	+	-	+	+	-	+	+	+
L 67	±	+*	+*	+*	±	+*	±*	±	+*	±	+*	+*	+*
L 69	+	+*	+*	+*	+*	+*	-	-	+	+	+	+	+
L 70	+	+*	+	+*	+*	±	±	±*	+	±	+	+	+*
L 71	+	+	+*	+	+*	+	±	+*	+	+	+	+*	+*
L 72	+	+*	+*	+	±	±	-	+*	+	-	+*	+	+*

შენიშვნა: + ფერის შეცვლა, *-გაზის წარმოქმნა, - ფერი არ შეიცვალა, ± ფერი ოდნავაა შეცვლილი

იზოლატების დახასიათება მოხდა მათი ფერმენტაციული პროფილის მიხედვით ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროს ჰიდროლიზის უნარის მიხედვით. აღმოჩნდა, რომ შესწავლილი 53 იზოლატიდან არც ერთს არ ჰქონდა ინულინის ჰიდროლიზის უნარი; ყველას ჰქონდა გლუკოზას, ლაქტოზას (4 იზოლატის გარდა) და გალაქტოზას ფერმენტაციის უნარი; ლაქტოზას ფერმენტაციას 12 იზოლატი ახდნდა მჟავასა და გაზის წარმოქმნით; გალაქტოზას ჰიდროლიზის უნარის მქონე იზოლატებიდან 8-ს ჰქონდა გაზის წარმოქმნის უნარი. 51 იზოლატს ახასიათებდა მალტოზას ფერმენტაციის უნარი, მათგან 41 იზოლატს – როგორც მჟავას, ისე გაზის წარმოქმნის უნარი; არაბინოზას ჰიდროლიზის უნარი ახასიათებდა 53 იზოლატიდან 48-ს, მათგან 13 იზოლატს ჰიდროლიზის უნართან ერთად ახასიათებდა გაზის წარმოქმნაც. ფრუქტოზას ფერმენტაციის უნარი ახასიათებდა 50 იზოლატს; 29 იზოლატს ფერმენტაციასთან ერთად ახასიათებდა გაზის წარმოქმნაც. საქაროზას ფერმენტაცია ახასიათებდა 36 იზოლატს, 16 იზოლატს ჰქონდა ფერმენტაციასთან ერთად გაზის წარმოქმნის უნარი. ქსილოზას ჰიდროლიზის უნარი ახასიათებდა 44 იზოლატს, 15 იზოლატს ახასიათებდა გაზის წარმოქმნა ფერმენტაციასთან ერთად. გლიცეროლის ჰიდროლიზის უნარი ჰქონდა 36 იზოლატს, 8 იზოლატს ჰქონდა ფერმენტაციასთან ერთად გაზის წარმოქმნის უნარიც, ხოლო 17 იზოლატს არ ჰქონდა ფერმენტაციის უნარი. სორბიტოლის ჰიდროლიზის უნარი ჰქონდა 28 იზოლატს, 5 იზოლატს ჰქონდა ფერმენტაციასთან ერთად გაზის წარმოქმნის უნარი, ხოლო 25 იზოლატს არ ჰქონდა ფერმენტაციის უნარი.

მანიტოლის ჰიდროლიზის უნარი ჰქონდა 36 იზოლატს, 7 იზოლატს ჰქონდა ფერმენტაციასთან ერთად გაზის წარმოქმნის უნარიც. ლაქტატის ჰიდროლიზის უნარი ჰქონდა ყველას, მათგან 16-ს ჰქონდა გაზის წარმოქმნის უნარი. გლუკოზის ჰიდროლიზის უნარი ჰქონდა ყველა

იზოლატს, მათგან გლუკოზიდან გაზის წარმოქმნის მიხედვით 16 იზოლატი მივაკუთვნეთ ჰეტეროფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიებს.

რძის პროდუქტებისათვის დამახასიათებელი სტრეპტოკოკების სახეობას *Streptococcus thermophilus*-ს ბერგის სარკვევის მიხედვით [51] არ ახასიათებს არაბინოზას, ქსილოზას, მალტოზას, სორბიტოლის და გლიცეროლის ფერმენტაციის უნარი, ხოლო საქაროზას ფერმენტაციის უნარი ახასიათებს. ეს მონაცემები არ დაემთხვა ჩვენ მიერ გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების არც ერთი იზოლატის მახასიათებლებს.

ჩატარებული სამუშაოს შედეგად ჩანს, რომ ტრადიციული ქართული პროდუქტიდან – თუშური გუდის ყველიდან გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიები მრავალფეროვანია ბიოქიმიური მახასიათებლების მიხედვით. მათი შესწავლის საფუძველზე დადგინდა, რომ 53 იზოლატიდან 49 იზოლატი იყო რძემჟავა ბაქტერია, ყველა მათგანს ჰქონდა გლუკოზას, ლაქტოზას (4 იზოლატის გარდა) და გალაქტოზას ფერმენტაციის უნარი. გლუკოზიდან გაზის წარმოქმნის მიხედვით 16 იზოლატი მივაკუთვნეთ ჰეტეროფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიებს.

ითვლება, რომ ჰომოფერმენტული რძემჟავა ბაქტერიები *L. casei* და *L. plantarum*, ჩვეულებრივ, აუმჯობესებენ გემოს, ხოლო ჰეტეროფერმენტული *L. brevis* და *L. fermenti* წარმოქმნიან არასასურველ არომატს [177].

3.5.3. ჰემოლიზური აქტივობის დადგენა

ჰემოლიზური აქტივობის განსაზღვრა ხდება პრობიოტული მიკროორგანიზმების უსაფრთხოების შესაფასებლად [178]. ჰემოლიზის უნარი შესწავლილი იქნა იზოლატების ჩათესვით სისხლიან აგარზე. პროპიონმჟავა ბაქტერიების შესწავლილი 49 იზოლატიდან 22-ს აღმოაჩნდა β-ჰემოლიზის უნარი (იხ. ცხრილი 3.16 და სურ. 3.10).

ცხრილი 3.16

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ჰემოლიზის უნარი

შტამის სამუშაო ნომერი	ჰემოლიზის ტიპი	შტამის სამუშაო ნომერი	ჰემოლიზის ტიპი	შტამის სამუშაო ნომერი	ჰემოლიზის ტიპი
1	α	25	–	60	β
2	–	28	β	67	β
3	α	29	–	72	β
4	–	36	–	74	β
5	–	40	–	76	β
8	–	44	β	80	–
10	–	45	α	81	–
11	α	46	–	82	β
14	–	47	β	84	β
15	α	48	β	90	β
16	α	49	β	92	β
17	–	50	–	93	β
18	–	53	–	94	β
20	–	54	α	96	β
21	–	55	–	97	–
22	α	59	β	98	β
23	α				

სურ. 3.10. პროპიონმჟავა ბაქტერიების β-ჰემოლიზის უნარი

რძის პროდუქტებისათვის დამახასიათებელ პროპიონმჟავა ბაქტერიებს არ ახასიათებთ ვირულენტობა, თუმცა ზოგიერთ სახეობას - *Propionibacterium thoenii* და *Propionibacterium jensenii,* აქვთ β-ჰემოლიზის უნარი [179].

ჩვენი კვლევების შედეგად გამოვლინდა, რომ შესწავლილი პროპიონმჟავა ბაქტერიებიდან 18 %-ს ჰქონდა α-, ხოლო 39 %-ს - β-ჰემოლიზის უნარი.

ჰემოლიზური აქტივობა მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს აგრეთვე რძემჟავა ბაქტერიებისათვის. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* არ აქვს ჰემოლიზის უნარი (ზოგიერთ სახეობას შეუძლია წარმოქმნას სუსტი *α*-რეაქცია); *Streptococcus thermophilus*-სთვის სისხლიან აგარზე დამახასიათებელია *α*-ჰემოლიზი; *Enterococcus faecium* ზოგიერთ შტამს შეიძლება ჰქონდეს *α*-ჰემოლიზის უნარი [77].

ჰემოლიზის უნარი არის ძირითადი ვირულენტობის ფაქტორი პათოგენური ბაქტერიებისათვის [180], თუმცა ჰემოლიზური ტესტის საშუალებით ხდება აგრეთვე ბიოსურფაქტანტების წარმოქმნის უნარის შესწავლა ბაქტერიებში [181] რძემჟავა ბაქტერიების - *Lactococcus lactis*-ის 3 შტამის, *Lactobacillus casei*-ის, *Lactobacillus sakei*-ის და *Lactobacillus helveticus*-ის მიერ ბიოსურფაქტანტების წარმოქმნის უნარზე სკრინინგმა ჰემოლიზის ტესტის მიხედვით, აჩვენა, რომ რომ ყველა შტამს ახასიათებდა ჰემოლიზის უნარი *Lactococcus lactis*-ის ერთი შტამის გარდა [182].

ცხრილი 3.17

რძემჟავა ბაქტერიების ჰემოლიზის უნარი

შტამის სამუშაო ნომერი	ჰემოლიზის ტიპი	შტამის სამუშაო ნომერი	ჰემოლიზის ტიპი	შტამის სამუშაო ნომერი	ჰემოლიზის ტიპი
L 1	–	L 19	–	L 37	-
L 2	–	L 20	-	L 38	-
L 3	–	L 21	–	L 39	–
L 4	-	L 22	-	L 40	–
L 5	-	L 23	–	L 41	–
L 6	–	L 24	–	L 42	–
L 7	–	L 25	-	L 49	–
L 8	–	L 26	-	L 51	-
L 9	-	L 27	-	L 53	–
L 10	–	L 28	–	L 55	–
L 11	–	L 29	–	L 56	*β*
L 12	–	L 30	–	L 66	*β*
L 13	–	L 31	–	L 67	*β*
L 14	-	L 32	–	L 69	-
L 15	–	L 33	-	L 70	*β*

L 16	–	L 34	–	L 71	β
L 17	–	L 35	–	L 72	–
L 18	–	L 36	-		

შესწავლილი 53 რძემჟავა ბაქტერიიდან მხოლოდ 5 იზოლატს აღმოაჩნდა β-ჰემოლიზის უნარი და ამის გამო, ჩვენ ისინი აღარ განვიხილეთ ყველის დამზადებისთვის გამოსაყენებელ კულტურათა შორის (ცხრილი 3.17).

3.5.4. ურეაზული აქტივობისა და არგინინის ჰიდროლიზის უნარის დადგენა

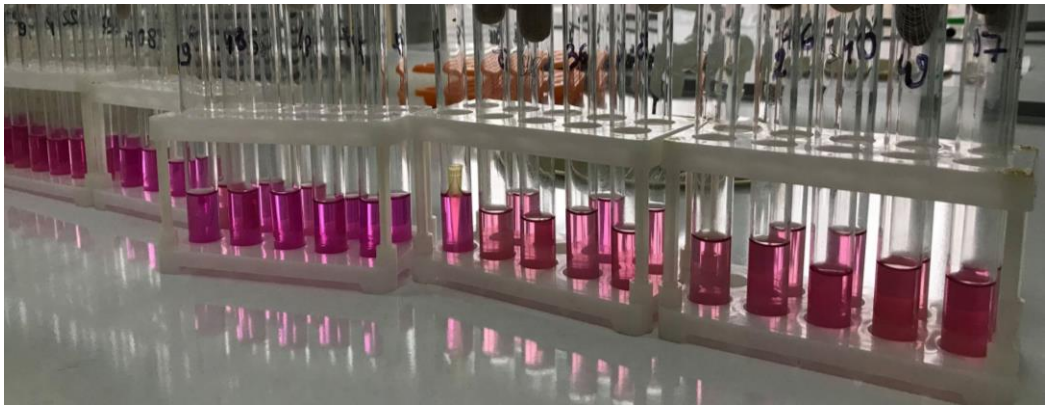
შევისწავლეთ პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა. პროპიონმჟავა ბაქტერიების შემთხვევაში ურეაზა უარყოფითი რეაქცია ჰქონდა 49-დან 19 შტამს. შედეგები მოცემულია ცხრილში 3.18 და სურათზე 3.11.

რაც შეეხება რძემჟავა ბაქტერიებს, ჩვენ მიერ გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიების ყველა იზოლატი აღმოჩნდა ურეაზა უარყოფითი (ცხრილი 3.19). უნდა აღინიშნოს, რომ ურეაზული აქტივობა სტარტერული ლაქტობაქტერიებიდან დამახასიათებელია მხოლოდ *S. thermophilus*-სთვის [183]. რძემჟავა პროდუქტების სტარტერების შესაქმნელად უპირატესობა ეძლევა ურეაზა-ნეგატიურ ან სუსტი აქტივობის მქონე შტამებს [184]. შარდოვანას მცირე რაოდენობით შეიცავს ძროხის რძე (0,2-0,4 გ/ლ), შესაბამისად, ურეაზული აქტივობის მქონე შტამების გამოყენება იწვევს რძეში არსებული შარდოვანას ჰიდროლიზს და განაპირობებს რძის pH-ის გაზრდას და აციდოფიკაციის პროცესის შენელებას, თუმცა ჩვენ მიერ შესწავლილმა ურეაზა დადებითმა შტამებმა უფრო სწრაფად მოახდინეს მაწვნის შედედება, ვიდრე ურეაზა უარყოფითმა რძემჟავა ბაქტერიებმა.

ცხრილი 3.18

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა

შტამის სამუშაო N	ურეაზული აქტივობა	შტამის სამუშაო N	ურეაზული აქტივობა
1	-	48	4+
2	-	49	-
3	4+	47	4+
4	2+	48	-
5	2+	49	4+
8	4+	50	-
10	4+	53	4+
11	4+	54	4+
14	2+	55	4+
15	4+	59	3+
16	4+	60	4+
17	-	67	4+
18	4+	72	4+
20	4+	74	4+
21	2+	76	4+
22	2+	80	-
23	2+	81	-
25	4+	82	-
28	-	84	2+
29	2+	90	-
36	-	92	2+
40	-	93	4+
44	-	94	-
45	-	96	2+
46	-	97	4+
47	4+	98	-



სურ. 3.11. პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა

თავისუფალი ამინომჟავები გარკვეულ როლს ასრულებს ყველის გემოს წარმოქმნაში. არგინინი პროდუქტს არასასიამოვნო სიმწარეს ანიჭებს [28, 185].

არგინინიდან ამიაკის წარმოქმნა შესწავლილი რძემჟავა ბაქტერიების 53 იზოლატიდან აღინშნა 43-ში (ცხრილი 3.19). ასეთი სახეობები გამოიყენება რძის მრეწველობაში, პურის ცხობაში, ფერმენტირებული ბოსტნეულის წარმოებაში [186, 187].

ცხრილი 3.19

რძემჟავა ბაქტერიების ურეაზული აქტივობა და არგინინის ჰიდროლიზი

შტამის სამუშაო ნომერი	ურეაზას ჰიდროლიზი	არგინინის ჰიდროლიზი	შტამის სამუშაო ნომერი	ურეაზას ჰიდროლიზი	არგინინის ჰიდროლიზი
L 1	-	+	L 28	-	–
L 2	-	+	L 29	-	+
L 3	-	+	L 30	-	+
L 4	-	+	L 31	-	+
L 5	-	–	L 32	-	–
L 6	-	+	L 33	-	+
L 7	-	+	L 34	-	+
L 8	-	+	L 35	-	+
L 9	-	+	L 36	-	+
L 10	-	+	L 37	-	+
L 11	-	+	L 38	-	–
L 12	-	+	L 39	-	+
L 13	-	+	L 40	-	+
L 14	-	+	L 41	-	+
L 15	-	+	L42	-	–
L 16	-	+	L49	-	+
L 17	-	+	L51	-	+
L 18	-	+	L53	-	–
L 19	-	+	L55	-	+
L 20	-	+	L56	-	+
L 21	-	+	L 66	-	+
L 22	-	+	L 67	-	+
L 23	-	–	L 69	-	+
L 24	-	+	L 70	-	+
L 25	-	–	L 71	-	+

L 26	-	–	L 72	-	+
L 27	-	–			

3.6. ყველის წარმოებაში გამოსაყენებელი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი მახასიათებლები

3.6.1. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების პროტეოლიზური აქტივობა

შევისწავლეთ რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა: კაზეინის ჰიდრილიზი და ჟელატინის ჰიდროლიზი. კაზეინის ჰიდრილიზის უნარის დადგენა მოხდა უცხიმო რძიან აგარზე კოლონიების ირგვლივ ნათელი ზონების წარმოქმნის მიხედვით, ხოლო ჟელატინის ჰიდროლიზი - ჟელატინიანი საკვები არის გათხევადებით. ჟელატინის ტესტის მონაცემების აღრიცხვა ხდებოდა 3 კვირის განმავლობაში. შედეგები მოცემულია ცხრილებში 3.20, 3.21 და სურ. 3.12-ზე.

ცხრილი 3.20

პროპიონმჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა

იზოლატის სამუშაო №	პროტეოლიზური აქტივობა		იზოლატის სამუშაო №	პროტეოლიზური აქტივობა	
	კაზეინის ჰიდროლიზი	ჟელატინის ჰიდროლიზი		კაზეინის ჰიდროლიზი	ჟელატინის ჰიდროლიზი
1	-	+	47	-	+
2	-	+	48	-	+
3	-	-	49	-	+
4	-	-	50	-	-
5	+	+	53	+	-
8	+	-	54	-	+
10	+	+	55	+	+
11	+++	+	59	+	+
14	-	+	60	+	-
15	+	-	67	+	+
16	-	+	72	+	+

17	-	+	74	+	+
18	+	-	76	-	-
20	+	+	80	-	-
21	+	-	81	+	-
22	+	+	82	+	+
23	-	+	84	+++	+
25	-	+	90	+	+
28	-	+	92	+	+
29	-	-	93	+	+
36	+	+	94	+	+
40	+	-	96	+	+
44	+++	-	97	+	-
45	+	-	98	+++	+
46	+	-			

შენიშვნა: + - სუსტი პროტეოლიზური აქტივობა; ++ - საშუალო პროტეოლიზური აქტივობა; +++ - ძლიერი პროტეოლიზური აქტივობა.

როგორც ცხრილი 3.20-დან ჩანს, პროპიონმჟავა ბაქტერიების 49 იზოლატიდან 29-ს ახასიათებდა კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი და ოთხ მათგანს ჰქონდა ძალიან დიდი ნათელი ზონა ჩანათესის ირგვლივ.

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარის შესწავლამ აჩვენა, რომ 49 იზოლატიდან 14 არ ათხევადებდა ჟელატინს.

სურ. 3.12. პროპიონმჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა (კაზეინის ჰიდროლიზი)

რძემჟავა ბაქტერიების 53 იზოლატის პროტეოლიზური აქტივობის (კაზეინის ჰიდროლიზი) შესწავლამ აჩვენა, რომ 12 იზოლატს ჰქონდა სუსტი პროტეოლიზური აქტივობა, ხოლო 4-ს (L 34, L 35, L 66, L 67) ეს

უნარი ძლიერად ჰქონდა გამოხატული, ხოლო ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი შესწავლილი 53 იზოლატიდან გამოავლინა ხუთმა - L 55, L 56, L 66, L 67 და L 69 (ცხრილი 3.21).

მაღალი პროტეოლიზური აქტივობის შტამებს სპეციალურად არჩევენ მთელი რიგი რძემჟავა პროდუქტების დედოების შესაქმნელად (ყველი, კულტივირებული კარაქი). ამ აქტივობას განსაკუთრებით დიდი ყურადღება ყველის მომწიფების პროცესში ენიჭება [188].

ცხრილი 3.21

რძემჟავა ბაქტერიების პროტეოლიზური აქტივობა

იზოლატის სამუშაო №	პროტეოლიზური აქტივობა		იზოლატის სამუშაო №	პროტეოლიზური აქტივობა	
	კაზეინის ჰიდროლიზი	ჟელატინის ჰიდროლიზი		კაზეინის ჰიდროლიზი	ჟელატინის ჰიდროლიზი
L 1	+	-	L 28	-	-
L 2	-	-	L 29	-	-
L 3	-	-	L 30	-	-
L 4	+	-	L 31	-	-
L 5	-	-	L 32	-	-
L 6	-	-	L 33	+	-
L 7	-	-	L 34	++	-
L 8	-	-	L 35	++	-
L 9	-	-	L 36	+	-
L 10	-	-	L 37	+	-
L 11	-	-	L 38	-	-
L 12	-	-	L 39	-	-
L 13	-	-	L 40	-	-
L 14	+	-	L 41	-	-
L 15	-	-	L 42	-	-
L 16	-	-	L49	-	-
L 17	+	-	L51	-	-
L 18	-	-	L53	-	-
L 19	+	-	L55	-	+
L 20	+	-	L56	+	+
L 21	+	-	L 66	++	+
L 22	-	-	L 67	++	+
L 23	-	-	L 69	-	+
L 24	-	-	L 70	-	-
L 25	-	-	L 71	-	-

L 26	-	-	L 72	-	-
L 27	+	-			

3.6.2. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების აციდოფიკაციური აქტივობა

აციდოფიკაციური აქტივობა ერთ-ერთი მახასიათებელია რძის ფერმენტირებული პროდუქტების წარმოებაში გამოყენებული სტარტერი კულტურებისთვის, რადგან ეს თვისება მნიშვნელოვნად განაპირობებს რძის პროდუქტების სტრუქტურასა და კონსისტენციას. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების მიერ წარმოქმნილი ორგანული მჟავა განაპირობებს კაზეინის მჟავურ კოაგულაციას. ჩვენ მიერ გუდის ყველიდან გამოყოფილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციური აქტივობა ფასდებოდა კოლტის წარმოქმნის ხანგრძლივობით ცხიმმოხდილ რძეში 37 °C-ზე მათი ინკუბაციისას (ცხრილები 3.22 და 3.23).

ცხრილი 3.22

რძემჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციური აქტივობა

შტამის სამუშაო ნომერი	დრო, სთ	შტამის სამუშაო ნომერი	დრო, სთ	შტამის სამუშაო ნომერი	დრო, სთ
L 1	10	L 19	14	L 37	10
L 2	10	L 20	10	L 38	14
L 3	4	L 21	10*	L 39	14
L 4	10	L 22	14	L 40	14
L 5	10	L 23	8	L 41	14
L 6	8	L 24	8	L 42	14
L 7	8	L 25	10	L 49	14
L 8	10	L 26	14	L 51	10
L 9	10	L 27	8	L 53	14
L 10	8	L 28	-	L 55	14
L 11	14	L 29	8	L 56	14
L 12	14	L 30	10	L 66	14
L 13	14	L 31	8*	L 67	14
L 14	8	L 32	14	L 69	14
L 15	10*	L 33	8	L 70	14

L 16	14	L 34	8	L 71	14*
L 17	14	L 35	8	L 72	10
L 18	8	L 36	8		

შენიშვნა:*-შრატის წარმოქმნა

ცხრილი 3.23

პროპიონმჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციური აქტივობა

შტამის სამუშაო ნომერი	დრო, სთ	შტამის სამუშაო ნომერი	დრო, სთ	შტამის სამუშაო ნომერი	დრო, სთ
1	8	25	8	60	8*
2	8	28	8	67	8
3	8	29	8	72	8*
4	8	36	14	74	8
5	4	40	8	76	8
8	8*	44	4	80	8
10	8	45	8	81	8
11	8	46	8	82	8
14	8	47	8	84	8
15	8*	48	8	90	8*
16	8	49	8	92	8
17	8*	50	8	93	8
18	8	53	8	94	8
20	8	54	8	96	8
21	8*	55	8	97	14
22	4	59	8	98	8
23	8				

შენიშვნა:*-შრატის წარმოქმნა

როგორც 3.22 და 3.23 ცხრილებიდან ჩანს, პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების უმრავლესობამ უფრო სწრაფად წარმოქმნეს კოლტი, ვიდრე რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატებმა; შესწავლილი PAB-ის დაახლოებით 90 %-მა 8 სთ-ში მოახდინეს კაზეინის კოაგულაცია, სამმა იზოლატმა - 4 სთ-ში, და მხოლოდ ორმა - 14 სთ-ში. ამასთან წარმოქმნილი კოლტი იყო მყარი კონსისტენციის ზედაპირული შრატის წარმოქმნის შემთხვევაშიც კი.

რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატებიდან მხოლოდ ერთმა წარმოქმნა კოლტი 4 სთ-ში და მხოლოდ 26 %-მა 8 სთ-ში. თუმცა, უნდა აღინიშნოს,

რომ რძემჟავა ბაქტერიების 43%-ის შემთხვევაში რძის სწრაფი (0-12 საათში) შედედების უნარი დაფიქსირდა. მხოლოდ ერთ იზოლატს, სამუშაო ნომრით L 28, არ შეადედა რძე 24 საათშიც კი.

3.6.3. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების ლიპოლიზური აქტივობა

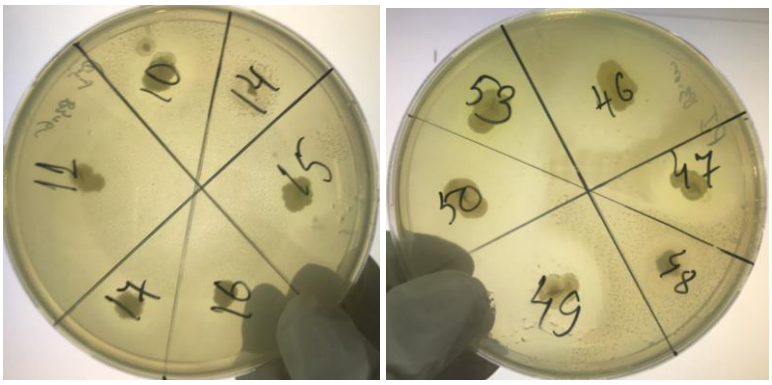
ყველის არომატის ფორმირებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავები, რომლებიც ყველის მიკროორგანიზმების ლიპოლიზური აქტივობის შედეგად წარმოიქმნება [189]. პროპიონმჟავა ბაქტერიები კარგადაა ცნობილი მათი მაღალი ლიპოლიზური აქტივობის გამო და აქვთ 10-100-ჯერ მეტი აქტივობა, ვიდრე რძემჟავა ბაქტერიებს. ეს არის მნიშვნელოვანი მახასიათებელი დამხმარე კულტურების შესარჩევად [190].

ცხრილი 3.24

პროპიონმჟავა ბაქტერიების ლიპოლიზური აქტივობა

შტამის სამუშაო ნომერი	ლიპოლიზური აქტივობა	შტამის სამუშაო ნომერი	ლიპოლიზური აქტივობა	შტამის სამუშაო ნომერი	ლიპოლიზური აქტივობა
1	-	25	14	60	30
2	-	28	-	67	-
3	-	29	-	72	-
4	-	36	-	74	-
5	-	40	30	76	12
8	-	44	20	80	15
10	15	45	25	81	28
11		46	28	82	-
14		47	20	84	-
15	18	48	-	90	-
16		49	24	92	12
17	15	50	42	93	20
18	10	53	36	94	32
20	-	54	24	96	-
21	-	55	30	97	14
22	24	59	-	98	-
23	-				

გუდის ყველიდან გამოყოფილი პროპიონმჟავა ბაქტერიების ლიპოლიზური აქტივობის შესწავლის შედეგად 49 იზოლატიდან 24-ს აღმოაჩნდა ეს უნარი (ცხრილი 3.24). მათგან ყველაზე დაბალი ლიპოლიზური ზონა ჰქონდა იზოლატს სამუშაო ნომრით 18 და შეადგენდა 10 მმ, ხოლო ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი - იზოლატს სამუშაო ნომრით 50 და იყო 42 მმ (სურ. 3.13)



სურ 3.13. პროპიონმჟავა ბაქტერიების ლიპოლიზური აქტივობის ზონები

3.7.რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების იდენტიფიკაცია შესწავლილი მახასიათებლების საფუძველზე და მათი ურთიერდამოკიდებულება

გუდის ყველიდან გამოყოფილი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების იდენტიფიკაცია მოვახდინეთ ჩვენ მიერ შესწავლილი მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლების გაანალიზების საფუძველზე.

რძემჟავა ბაქტერიების 53 იზოლატის მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური მახასიათებლების, ასევე, ნახშირწყლების ფერმენტაციის პროფილის მიხედვით, დადგინდა თუშური გუდის ყველში რძემჟავა ბაქტერიების ოთხი გვარის არსებობა: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* და *Enterococcus*.

ოთხივე გვარი სახეობების მრავალფეროვნებით გამოირჩეოდა მათგან იდენტიფიცირებულ იქნა *Lactobacillus* გვარის 4 ჰომოფერმენტული და 2 ჰეტეროფერმენტული სახეობა, *Lactococcus* გვარის 2 სახეობა, *Enterococcus* ერთი და *Leuconostoc*-ის ორი სახეობა.

გლუკოზის ფერმენტაციისას მჟავასთან ერთად გაზის წარმოქმნის უნარის მიხედვით რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატები დავყავით ჰომოფერმენტულ და ჰეტეროფერმენტულ ბაქტერიებად. სულ, 37 ჰომოფერმენტული და 16 ჰეტეროფერმენტული იზოლატი.

ორი იზოლატის (სამუშაო ნომრებით L 1 და L 12) უჯრედები უძრავი ჩხირებია მომრგვალებული ბოლოებით; წარმოადგენენ ობლიგატურ ჰომოფერმენტულ ბაქტერიებს; მჟავას წარმოქმნიან გალაქტოზიდან, მალტოზიდან, ფრუქტოზიდან, ლაქტოზიდან, საქაროზიდან, ქსილოზიდან, გლიცეროლიდან, ლაქტატიდან და გლუკოზიდან; არ შეუძლიათ მანიტოლის, სორბიტოლის და ინულინის ფერმენტაცია; ახასიათებთ 45 °C ტემპერატურაზე ზრდა. იზოლატს სამუშაო ნომრით L 1 ახასიათებდა 8 % მარილიანობისას ზრდა, ხოლო L 12-ს იზოლატს - 4 % მარილიანობისას, ორივეს ახასიათებდა ესკულინის და არგინინის ჰიდროლიზი და ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა, თუმცა იზოლატმა სამუშაო ნომრით L 1 უკეთესი შედეგი აჩვენა ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობის მიხედვით. არც ერთ იზოლატს არ ახასიათებდა ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი. ზემოთ აღნიშნული მახასიათებლების მიხეთვით იზოლატები L 1 და L12 მივაკუთვნეთ *Lb. acidophilus* გვარს. კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი ჰქონდა მხოლოდ *Lb. acidophilus* L 1; ანტიბაქტერიული მგრძნობელობა მას ჰქონდა 4 ტესტ-კულტურის მიმართ, ხოლო *Lb. acidophilus* L 12-ს - 3 ტესტ-კულტურის მიმართ; არც ერთს არ ახასიათებთ ჰემოლიზი.

რადგან, პრობიოტიკული მიკროორგანიზმები უნდა იყოს უსაფრთხო, შესაბამისად, ლაქტობაცილებს არ უნდა ახასიათებდეთ ჰემოლიზი და ჟელატინის გათხევადების უნარი მასპინძელ ორგანიზმში [191].

ლაქტობაცილების გვარიდან 1 იზოლატი - სამუშაო ნომრით L 35, იდენტიფიცირებული იქნა როგორც *Lb. helveticus* სახეობა. ეს სახეობა მიეკუთვნება ფერმენტირებული რძის პროდუქტების და ყველის ბევრი სახეობისათვის დამახასიათებელ სტარტერ კულტურას, განსაკუთრებით, მაგარი და ნახევრად-მაგარი ყველების შემთხვევაში [192]

Lactobacillus helveticus L 35-ის უჯრედები უძრავი ჩხირებია. გვხვდება ცალკეული უჯრედების და ჯაჭვის სახით. მიეკუთვნება ობლიგატურ ჰომოფერმენტულ მიკროორგანიზმებს. ზრდის მაქსიმალური ტემპერატურაა 40°C, თუმცა იზრდება 10 °C ტემპერატურაზეც. ახასიათებს კაზეინის, ესკულინის და არგინინის ჰიდროლიზის უნარი, მაგრამ არ შეუძლია ჟელატინის ჰიდროლიზი. მჟავას წარმოქმნის არაბინოზიდან, მალტოზიდან, ფრუქტოზიდან, ქსილოზიდან, ლაქტოზიდან, გალაქტოზიდან, ლაქტატიდან და გლუკოზიდან; არ წარმოქმნის მჟავას საქაროზიდან, მანიტოლიდან, გლიცეროლიდან, სორბიტოლიდან. ახასიათებს 2 % ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა. ჰემოლიზი არ ახასიათებს. იზრდება 4 % NaCl-ის არსებობის პირობებში. ანტიბაქტერიული მგრძნობელობა ახასიათებს 3 პათოგენის მიმართ.

ერთი იზოლატი სამუშაო ნომრით L 69 მივაკუთვნეთ *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* სახეობას. ეს კულტურა მიეკუთვნება ჰომოფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიებს. დამახასიათებელია უძრავი, ჩხირის ფორმის უჯრედები მომრგვალებული ბოლოებთ. გვხვდება ცალკეულად ან მოკლე ჯაჭვების სახით. იზოლატს *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* L 69 ახასიათებდა მჟავას წარმოქმნა არაბინოზიდან, მალტოზიდან, ფრუქტოზიდან, საქაროზიდან, გლიცეროლიდან, ქსილოზიდან, ლაქტოზიდან, გალაქტოზიდან, ლაქტატიდან და გლუკოზიდან. არ ახასიათებდა მჟავას წარმოქმნა სორბიტოლის, მანიტოლის და ინულინის ნახშირბადის წყაროდ გამოყენების შემთხვევაში. შტამს ჰქონდა ესკულინის, არგინინის და ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი; ახასიათებდა 2 % ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა; არ ჰქონდა ჰემოლიზის უნარი; იზრდებოდა, როგორც 10 °C,

ასევე 45 °C ტემპერატურაზე. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 1 პათოგენის მიმართ.

ჰეტეროფერმენტული ლაქტობაცილებიდან იზოლატი სამუშაო ნომრით L 36 იდენტიფიცირებულ იქნა როგორც *Lb. brevis* და იზოლატი სამუშაო ნომრით L 53 - როგორც *Lb. rhamnosus*. ისინი მნიშვნელოვანი სახეობებია, რადგან მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ყველის მომწიფების პროცესში, წარმოქმნიან რა სენსორული მახასიათებლების გასაუმჯობესებლად მნიშვნელოვან არომატულ ნაერთებს [193].

Lb. brevis L36 ახასიათებდა ყველა შესწავლილი შაქრის ფერმენტაციის უნარი, ინულინის გარდა. იზრდებოდა 10 °C-ზე, მაგრამ 40 °C ტემპერატურაზე - არა. არ ჰქონდა ესკულინის და არგინინის ჰიდროლიზის უნარი. ახასიათებდა კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 3 პათოგენის მიმართ.

Lb. rhamnosus L 53 ასევე ახასიათებდა ყველა შესწავლილი შაქრის ფერმენტაციის უნარი, ინულინის გარდა. იზრდებოდა როგორც 10 °C-ზე, ასევე 45 °C ტემპერატურაზე. იზრდებოდა 8% მარილიანობის პირობებში. ახასიათებდა ესკულინის, არგინინის და ჟელატინის ჰიდროლიზი. ახასიათებდა 2 % ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 1 პათოგენის მიმართ.

გამოყოფილი იზოლატებიდან 2 - L 5 და L 31 მივაკუთვნეთ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*-ის სახეობას. ორივე შტამი წარმოქმნიდა მჟავას L-არაბინოზიდან, მალტოზიდან, ფრუქტოზიდან, საქაროზიდან, გალაქტოზიდან, გლუკოზიდან, ლაქტოზიდან, მანიტიდან და ლაქტატიდან; მჟავას არ წარმოქმნიდნენ ინულინიდან, ვარიაბელური შედეგები მივიღეთ გლიცეროლის, სორბიტის და ქსილოზას შემთხვევაში. *L. lactis* subsp. *lactis* L 5 ახასიათებდა ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი, ასევე 2% ნაღვლის შემთხვევაში ზრდა. პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლამ აჩვენა, რომ არ ჰქონდა კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი, ჟელატინს არ ათხევადებდა, რაც დამახასიათებელია რძემჟავა ბაქტერიების ამ

სახეობისათვის. ჰქონდა არგინინის ჰიდროლიზის უნარი. იზოლატი იზრდებოდა, როგორც დაბალ (10 °C), ასევე მაღალ (45 °C) ტემპერატურაზე; სუსტი ზრდა ახასიათებდა 8 % მარილიანობის შემთხვევაში. ანტიბაქტერიული აქტივობის შესწავლისას მოახდინა 7 ტესტ-კულტურის ზრდის სრული ინჰიბირება.

L. lactis subsp. *lactis* L 31 ახასიათებდა ესკულინის ჰიდროლიზის სუსტი უნარი. ახასიათებდა სუსტი ზრდა, როგორც დაბალ (10 °C), ასევე მაღალ (45 °C) ტემპერატურაზე; სუსტი ზრდა ახასიათებდა 8% მარილიანობის შემთხვევაშიც. არ აღმოაჩნდა კაზეინის და ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი. არ ჰქონდა არგინინის ჰიდროლიზის უნარი. ანტიბაქტერიული აქტივობა ახასიათებდა 3 პათოგენის მიმართ.

რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატი სამუშაო ნომრით L 29 მივაკუთვნეთ *L. lactis* subsp. *cremoris* სახეობას. ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაციის უნარის შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ მას ახასიათებდა მჟავას წარმოქმნა არაბინოზიდან, მალტოზიდან, ფრუქტოზიდან, საქაროზიდან, ლაქტოზიდან, გალაქტოზიდან, ლაქტატიდან და გლუკოზიდან. ჰქონდა ესკულინის, არგინინის, ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი. იზრდებოდა როგორც 10 °C, ასევე 45 °C ტემპერატურაზე. ახასიათებდა 2% ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა. არ ჰქონდა კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 8 პათოგენის მიმართ.

1 იზოლატი, სამუშაო პირობითი ნომრით L 66 იდენტიფიცირებულ იქნა როგორც *Enterococcus faecalis*. მას არ ახასიათებდა მჟავას წარმოქმნის უნარი სორბიტოლზე და ინულინზე; ჰქონდა არაბინოზას, მალტოზის, ფრუქტოზის, საქაროზის, გლიცეროლის, ქსილოზის, ლაქტოზის, გალაქტოზის, ლაქტატის, გლუკოზის და მანიტოლის ფერმენტაციის უნარი. ახასიათებდა ესკულინის, არგინინის და ჟელატინის ჰიდროლიზი. ახასიათებდა 2 % ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა. არ ჰქონდა კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი. იზრდებოდა როგორც 10 °C, ასევე 45 °C

ტემპერატურაზე. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 3 პათოგენის მიმართ.

გამოყოფილი იზოლატებიდან 2 მივაკუთვნეთ *Leuconostoc*-ის გვარს, რომელიც მიეკუთვნება ჰეტეროფერმენტულ რძემჟავა ბაქტერიებს. მათგან ერთი იზოლატი, სამუშაო ნომრით L 28, იდენტიფიცირებულ იქნა როგორც *Leuconostoc pseudomesenteroides,* ხოლო იზოლატი, სამუშაო ნომრით L 51 - *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*.

L. Pseudomesenteroides L 28 ახასიათებდა ყველა შესწავლილი ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაციის უნარი, გარდა საქაროზისა და ინულინის. იზრდებოდა როგორც 10 °C, ასევე 45 °C ტემპერატურაზე. იზრდებოდა 8% მარილიანობის პირობებში. ახასიათებდა ესკულინის, არგინინის და ჟელატინის ჰიდროლიზი. ახასიათებდა 2 % ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 6 პათოგენის მიმართ.

Leuc. mesenteroides subsp. *mesenteroides* L 51 ახასიათებდა ყველა შესწავლილი ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაციის უნარი, გარდა ქსილოზის, გლიცეროლის და სორბიტოლის. იზრდებოდა როგორც 10 °C, ასევე 45 °C ტემპერატურაზე. ასევე - 8 % მარილიანობის შემთხვევაში. ახასიათებდა ესკულინის და ჟელატინის ჰიდროლიზი. არ ახასიათებდა არგინინის და კაზეინის ჰიდროლიზი. ჰქონდა 2 % ნაღვლის მიმართ ტოლერანტობა. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა 1 პათოგენის მიმართ [51].

რძემჟავა ბაქტერიების იდენტიფიცირებული სახეობებიდან მათი მახასიათებლების საფუძველზე შევარჩიეთ ტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი სახეობები: ჰომოფერმენტული *Lb. acidophilus* L 1, *Lb. helveticus* L 35, *L. lactis.* subsp. *lactis* L 5, *L. lactis* subsp. *cremoris* L 29 და ჰეტეროფერმენტული *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* L 51 და *Lb. rhamnosus* L 53.

პროპიონმჟავა ბაქტერიების 49 იზოლატის მორფო-ფიზიოლოგიური, პრობიოტიკული, ბიოქიმიური და სხვა ტექნოლოგიურად მნიშვნელოვანი მახასიათებლების შესწავლის შედეგად 9 იზოლატი სამუშაო ნომრებით 3, 4, 8, 15, 18, 21, 29, 40 და 45 იდენტიფიცირებულ იქნა როგორც *P.acidi-propionici* და 7 იზოლატი, სამუშაო ნომრებით 59, 90, 92, 93, 94, 96 და 98, - როგორც *P.thoenii*.

იზოლატებს, რომლებიც მივაკუთვნეთ *P.acidi-propionici*-ს სახეობას, ახასიათებდათ მალტოზას, არაბინოზას, საქაროზას, ცელობიოზას და გლიცეროლის ფერმენტაციის უნარი. ყველა იზოლატს ჰქონდა ესკულინის ჰიდროლიზის უნარი და არ ათხევადებდნენ ჟელატინს; არ ახასიათებდათ *β*-ჰემოლიზის უნარი; იზრდებოდნენ 45 °C ტემპერატურაზე, გარდა იზოლატისა სამუშაო ნომრით 40. იზოლატები სამუშაო ნომრებით 4, 8, 15, 18, 21 იზრდებოდნენ 8% მარილიანობის პირობებში. კაზეინის ჰიდროლიზი ახასიათებდათ იზოლატებს - 8, 15, 18, 21, 40, 45, ხოლო იზოლატებს - 15, 40, 45, ჰქონდათ ლიპოლიზური აქტივობა. ყველა იზოლატს ახასიათებდა ურეაზული აქტივობა, გარდა იზოლატისა 40. თითოეულ მათგანს, გარდა იზოლატისა სამუშაო ნომრით 45, ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდა თითო პათოგენის მიმართ.

იზოლატებს, რომლებიც მივაკუთვნეთ *P.thoenii*-ის სახეობას, ახასიათებდათ ყველა შესწავლილი ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაციის უნარი, გარდა არაბინოზასი და ვარიაბელური შედეგები აღინიშნა გალაქტოზას შემთხვევაში. ყველას ჰქონდა ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი, გარდა იზოლატისა სამუშაო ნომრით 97; ყველა იზოლატს ახასიათებდა ურეაზული აქტივობა, გარდა იზოლატებისა 90, 92, 94 და 98; ახასიათებდათ *β*-ჰემოლიზის უნარი. ყველა იზოლატი იზრდებოდა 45 °C ტემპერატურაზე და 8% მარილიანობის პირობებში. ლიპოლიზური აქტივობა ჰქონდათ შემდეგ იზოლატებს: 92, 93, 94 და 97-ს. ანტიმიკრობული მგრძნობელობა ახასიათებდათ იზოლატებს სამუშაო

ნომრებით 59, 90 და 96 თითო პათოგენის მიმართ, ხოლო იზოლატს, სამუშაო ნომრით 93-ს - სამი პათოგენის მიმართ.

ამ და ტექნოლოგიურად მნიშვნელოვანი მახასიათებლების შესწავლის საფუძველზე სტარტერ კულტურებად შერჩეულ იქნა *P.acidi-propionici* 8, *P.acidi-propionici* 15 და *P.acidi-propionici* 40. თითოეული მათგანი შეირჩა სხვადასხვა მახასიათებლის საფუძველზე, რაც საშუალებას იძლევა მივიღოთ კომბინირებული დედო. *P.acidi-propionici* 8 არ ახასიათებდა ლიპოლიზის უნარი, მაგრამ ახასიათებდა ურეაზული აქტივობა, იზრდებოდა 45 °C ტემპერატურაზე, 8 % მარილიანობის პირობებში და pH 2-ზე; *P.acidi-propionici* 15 ჰქონდა ლიპოლიზის უნარი, ასევე, იზრდებოდა 45 °C ტემპერატურაზე და 8% მარილიანობის შემთხვევაში, ახასიათებდა ურეაზული აქტივობა. რაც შეეხება *P.acidi-propionici* 40, ჰქონდა მაღალი ლიპოლიზური აქტივობა და აციდოფიკაციის უნარი, თუმცა არ იზრდებოდა 45 °C ტემპერატურაზე და 8 % მარილიანობის პირობებში.

ჩვენ მიერ იდენტიფიცირებული *P.thoenii*-ის სხვადასხვა შტამი არ შევარჩიეთ ყველის დედოში გამოსაყენებლად, რადგან მათ ახასიათებდათ *β*-ჰემოლიზის უნარი.

შევისწავლეთ ჩვენ მიერ შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების 6 და პროპიონმჟავა ბაქტერიების 3 შტამის ურთიერთდამოკიდებულება აგარში დიფუზიის მეთოდით (ბლოკების მეთოდი) [158]. არც ერთი შტამის დამოკიდებულება არ იყო ანტაგონისტური სხვა შტამების მიმართ, ამიტომ რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კომბინაცია შესაძლებელია გამოიცადოს ყველის მომწიფების პროცესისთვის. ეს კომბინაციაა: *Lb. acidophilus* L 1, *Lb. helveticus* L 35, *L. lactis.* subsp. *lactis* L 5, *L. lactis* subsp. *cremoris* L 29, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* L 51, *Lb. rhamnosus* L 53, *P.acidi-propionici* 8, *P.acidi-propionici* 15, *P.acidi-propionici* 40.

3.8. თუშური გუდას დამზადების ტექნოლოგიური სქემა

თუშური გუდის ყველის, ისევე, როგორც ქართული ყველის არც ერთი სახეობის დამზადებისას, ბაქტერიული დედოების გამოყენების გამოცდილება საქართველოში არ არსებობს, მაშინ როცა მრავალ ქვეყანაში წარმატებით იყენებენ სტარტერ კულტურებს და ყველის დამზადების ზოგადი ტექნოლოგიური სქემის ერთ-ერთი ეტაპია [193].

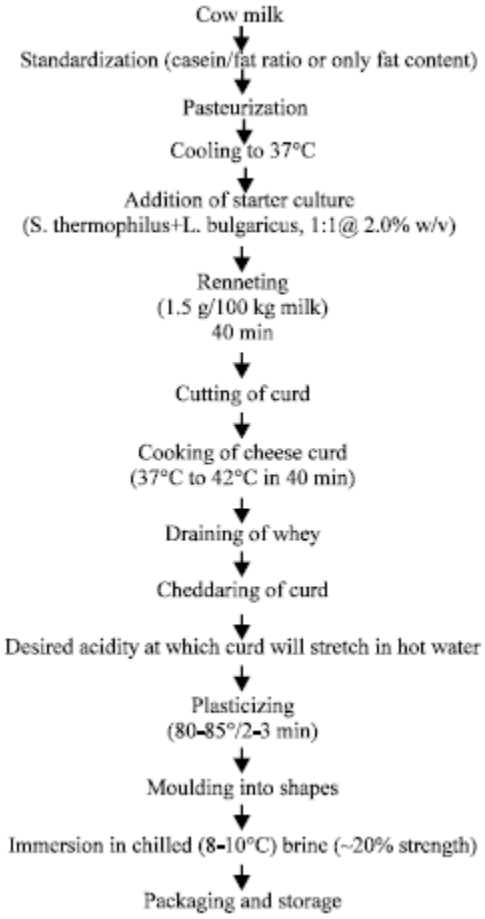
მ. დემურიშვილის აზრით, ბაქტერიული დედოების გამოყენება მრავალი ნაკლისგან იხსნის ყველს. ასეთი წესით დამზადებულ ყველს უკეთესი ფორმა, გემო და სუნი ექნება. ბაქტერიული დედო ხელს შეუწყობს, ასევე, ყველის უკეთ დამწიფებას. სსრ კავშირში ჰოლანდიური ყველის და ბარშტეინის კეთების დროს ბაქტერიული დედოს ამატებდნენ კვეთის დამატებამდე, ხოლო შვეიცარული ყველის შემთხვევაში - კვეთს წინასწარ ასხამდნენ თხელ ბაქტერიულ კულტურას [29].

მსოფლიოში ცნობილი ყველების, როგორიცაა: გაუდა, ჩედარი, ფეტა და შვეიცარული ტიპის ყველები, დამზადების პროცესში სტარტერების შეტანა ძირითადად ხდება რძეში კვეთის დამატებამდე [196].

გერმანული ყველის - ლიმბურგერის (Limburger), დამზადება ხდება პასტერიზებული რძიდან თერმოფილური რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენებით. კომერციული სტარტერი კულტურის (PLA 50 D CHOOZIT cheese cultures; DANISCO, France) [formerly Rhodia Food, France] დამატება ხდება რძეში კვეთის შეტანამდე (1 დოზა 1000 ლიტრზე; 2.0×10^{10} და 2.6×10^{11} კწე/დოზაზე), როგორც შემოთავაზებულია კულტურების მომწოდებლებისგან [197].

მოცარელას ყველის მოსამზადებლად პასტერიზებული რძის ინკუბაცია ხდება 33 °C ტემპერატურაზე კვეთის და სტარტერის (ლაქტობაცილები და სტრეპტოკოკები) დამატებით. გამოყოფილი დელამოს (pH 5.2) გაცხელება ხდება წყალში 80 °C-ზე, იზილება და ეძლევა 150-250 გრამიანი ბურთების ფორმა. ისინი გრილდება გამდინარე წყალში 10-12 °C

ტემპერატურაზე 30 წთ განმავლობაში. შემდეგ ხდება 5 °C-მდე გაცივებულ მარილწყალში ჩაშვება 30 წუთის განმავლობაში [198]. ავტორებს სტატიაში მოცემული აქვთ აგრეთვე ყველის დამზადების სქემა (ნახ. 3.10):



ნახ. 3.10. მოცარელას ყველის მომზადების სქემა [198]

ჩვენს ექსპერიმენტში ტექნოლოგიური პროცესის თანმიმდევრობა უცვლელად შევინარჩუნეთ, როგორც მოცემულია თუშური გუდას პატენტში [4], თუმცა რძის შეთბობისა და გაფილტვრის შემდეგ შევიტანეთ ჩვენი კვლევების შედეგების საფუძველზე შექმნილი კონსორციუმი. ეს კონსორციუმია: *Lb. acidophilus* L 1, *Lb. helveticus* L 35, *L. lactis.* subsp. *lactis* L 5, *L. lactis* subsp. *cremoris* L 29, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* L 51, *Lb. rhamnosus* L 53, *P.acidi-propionici* 8, *P.acidi-propionici* 15, *P.acidi-propionici* 40. კონსორციუმი შეგვქონდა რძეში თხევადი ფორმით, ყველის ამოსაყვანად საჭირო რძის მოცულობის 5 %-ის ოდენობით. თხევად ბაქტერიულ დედოში

კონსორციუმის შემადგენელი თითოეული ბაქტერიის რაოდენობა იყო 10^{10} - 10^{11} კწე/მლ-ში.

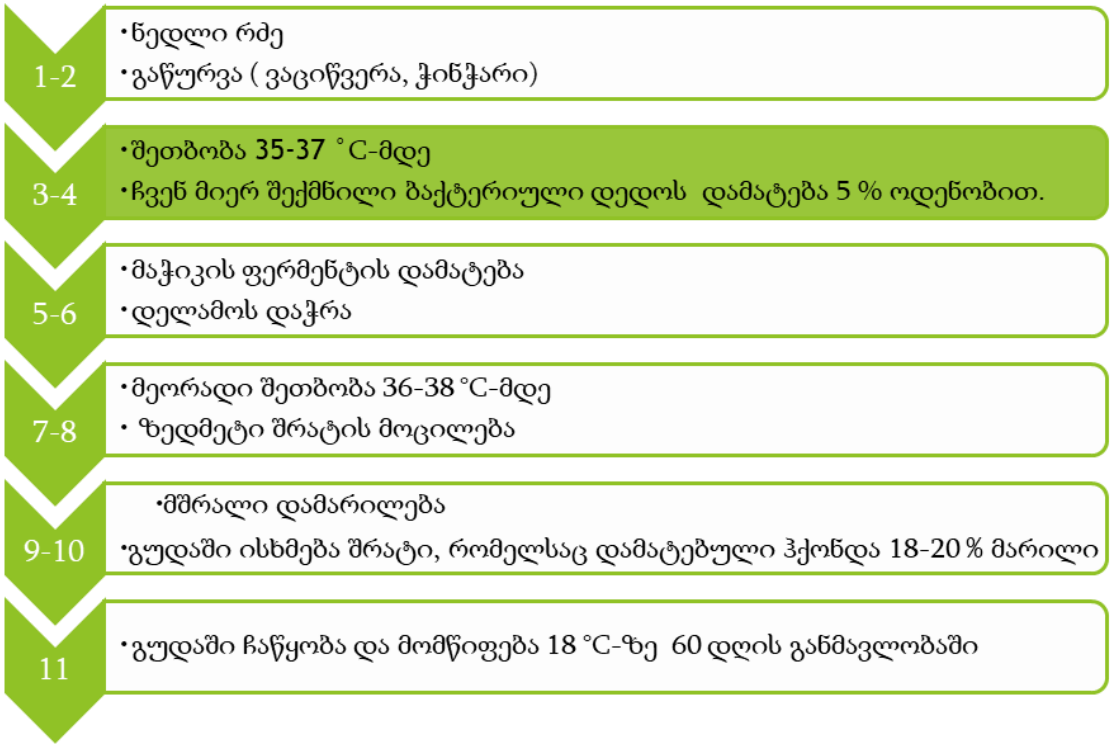
მოვამზადეთ რძის შესადედებელი ჭურჭელი. რძე გავფილტრეთ სპეციალურ საწურ ბადეზე, რომელშიც ჩაფენილია სხვადასხვა სამკურნალო ბალახი: ჭინჭარი და ვაციწვერა, რაც, აგრეთვე, ფილტრის როლს ასრულებს. გაწურვის შემდგომ, რძეში შევიტანეთ ყველის კვეთი 2 მლ 10 ლიტრზე და ჩვენ მიერ შექმნილი ბაქტერიული დედო 0.5 %-ის ოდენობით, ხოლო მეორე ნიმუშში შევიტანეთ მხოლოდ კვეთი. რძის ტემპერატურა კვეთის შეტანის პროცესში იყო 35-37 °C. რძეს კარგად მოვურიეთ (მორევა გრძელდება 2-3 წუთი), რომ მასში ფერმენტის ხსნარი და დედო თანაბრად განაწილებულიყო. რძის ჭურჭელს სახურავი დავახურეთ, რომ რძე არ გაცივებულიყო და დავტოვეთ მოსვენებულ მდგომარეობაში დელამოს მიღებამდე. მიღებული ნადედი დავჭერით და მოვათავსეთ ნაჭრის ტომარაში და დაწნეხეთ საყველე მასა ტომარაზე ხელის დაჭერით. დავათბუნეთ ერთი-ორი საათი და შემდეგ ყველი ჩავდეთ პოლიეთილენის პარკში, რომელშიც ჩასხმული იყო 18-20 % სუფრის მარილის შემცველი შრატი. ყველს ჩადების წინ დავაყარეთ 100-150 გ მსხვილად დაფხვნილი მარილი. ყველის ჩაწყობის შემდეგ კარგად მოვუკარით თავი პოლიეთილენის პარკს და დაწოლილ მდგომარეობაში მოვათავსეთ 18 °C ტემპერატურაზე. მომწიფება გრძელდებოდა 60 დღის განმავლობაში. პერიოდულად ხდებოდა ყველის გადატრიალება, რათა ყველს სიმაგრის მიღებამდე ფორმა არ დაეკარგა.

ჩვენ მიერ შექმნილი კონსორციუმის გამოყენებით მომზადებული ყველის ორგანოლეპტიკური მახასიათებლების შესწავლა მოხდა ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011-ის მიხედვით [199].

მომწიფების 60 დღიანი პერიოდის შემდეგ ყველს ჰქონდა თეთრი, ოდნავ მოყვითალო შეფერილობა, კონსისტენცია ერთგვაროვანი და მკვრივი, ვერტიკალურ ჭრილში სხვადასხვა ზომის ნასვრეტებით, გემო - ოდნავ მოტკბო, არომატი - პიკანტური. საცდელ ყველში ფორების ზომა იყო

უფრო დიდი საკონტროლოსთან შედარებით, რაც მას ანიჭებდა მეტად სასიამოვნო იერსსახეს საკონტროლო ყველთან შედარებით; სუნი საცდელ ვარიანტში იყო ნეიტრალური, ხოლო საკონტროლოში - შედარებით მძაფრი. განსხვავებული იყო ასევე ყველის ტექსტურა: საცდელ ვარიანტში ტენიანობა მეტად იყო შენარჩუნებული.

ნახ. 3.11. თუშური გუდის ყველის დამზადების ტექნოლოგიური სქემა



ევროკავშირის რეგულაციების მოთხოვნების შესაბამისად, რომელსაც ითვალისწინებს საქართველოში მოქმედი კანონმდებლობა - ჰიგიენური მოთხოვნები სასურსათო ნედლეულისა და საკვები პროდუქტების ხარისხისა და უსაფრთხოებისადმი, სანიტარული წესებისა და ნორმების: სანწდან 2.3.2.00-00 სახით [200], დადგენილია კვეთით დამზადებული ყველისათვის არსებული მიკრობიოლოგიური ნორმები (პუნქტი 6.2.6.1.). ამის მიხედვით, ორივე ნიმუშში (კონტროლი და ბაქტერიული დედოთი დამზადებული) განვსაზღვრეთ ნჩჯბ (კოლიფორმები) ГОСТ 9225-84 შესაბამისად [201]. ზედაპირზე დათესვის მეთოდით პათოგენური მიკროორგანიზმები, მათ შორის, სალმონელები ГОСТ 52814-2007-ის

მიხედვით [201] და *S. Aureus* ГОСТ 30347-97-ის მიხედვით [203]. შედეგები წარმოდგენილია ცხრილში 3.25.

ცხრილი 3.25

ყველის მიკრობიოლოგიური მაჩვენებლები

ვარიანტი	პროდუქტის მასა (გ, სმ³), რომელშიც არ დაიშვება		არა უმეტეს 1000 კწე/გ
	ნჩჯბ (კოლიფორმები) 0.001 გ-ში	პათოგენები, მათ შორის, სალმონელები 25გ-ში	*S. aureus*
კონტროლი (ყველი, დამზადებული ბაქტერიული დედოს გარეშე)	- (5×10^{-1})	-	237
ყველი, დამზადებული ბაქტერიული დედოთი	-	-	-

საცდელ ნიმუშში არ აღმოჩნდა სანწდანით გათვალისწინებული მიკროორგანიზმები, ხოლო საკონტროლო ნიმუშში, რომელიც დამზადებული იყო ბაქტერიული დედოს გარეშე, ნჩჯბ-ს რაოდენობა იყო 5 კწე/გ და *S. aureus* - 237 კწე/გ.

განსაზღვრული იქნა აგრეთვე რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების რაოდენობა როგორც საკონტროლო, ისე ბაქტერიული დედოს გამოყენებით დამზადებულ ყველში. აღმოჩნდა, რომ საცდელ ვარიანტში რძემჟავა ბაქტერიების რაოდენობა იყო 7.2×10^8 და პროპიონმჟავა ბაქტერიების რაოდენობა - 5.6×10^7 კწე/გ, ხოლო საკონტროლო ვარიანტში - შესაბამისად, 8.4×10^4 და 3.7×10^4 კწე/გ.

შეიძლება დავასკვნათ, რომ ჩვენ მიერ დამზადებული ბაქტერიული დედოს შეტანა დადებით გავლენას ახდენს პროდუქტის მიკრობიოლოგიურ უსაფრთხოებაზე, ორგანოლეპტიკურ მახასიათებლებზე, ასევე შენარჩუნებულია პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების მაღალი ტიტრი, რაც ყველის ფუნქციურ საკვებად გამოყენების შესაძლებლობას იძლევა.

4. დასკვნა

ექსპერიმენტული კვლევების შედეგად მიღებული მონაცემების საფუძველზე გამოტანილია შემდეგი დასკვნები:

- თუშური გუდის ყველში მომწიფების სხვადასხვა ხანგრძლივობიდან გამომდინარე, იცვლება (იზრდება) ყველის ტიტრული მჟავიანობა და მარილიანობა, შესაბამისად, მცირდება ტენის შემცველობა. ცილა მშრალ მასაში სხვადასხვა ნიმუშში მერყეობდა 25-დან 44 %-მდე. ძროხის რძით დამზადებულ ყველის ნიმუშებში ცხიმიანობა შედარებით დაბალია, რაც კორელაციაშია ძროხის და ცხვრის რძეების ცხიმიანობასთან
- თუშური გუდის ყველის შესწავლილი ნიმუშები შეიცავდა მიკროორგანიზმთა განსხვავებულ რაოდენობებს. ყველა ყველის ნიმუშის მიკრობიოტას შემადგენელი დომინანტი კომპონენტები იყო რძემჟავა ბაქტერიები (ლაქტობაცილები და ლაქტოკოკები), ასევე პროპიონმჟავა ბაქტერიები და საფუვრები
- შეიქმნა თუშური გუდის ყველის მიკრობული მრავალფეროვნების ამსახველი რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კოლექციები, რომელთაც აქვთ როგორც სამეცნიერო, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა ქვეყნის ბიოტექნოლოგიური პოტენციალის განვითარებისათვის
- პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობის 12 ტესტ-კულტურის მიმართ, ნაღვლისა და დაბალი მჟავიანობის (pH 2) მიმართ ტოლერანტობის შესწავლის შედეგად გამოვლინდა პერსპექტიული პრობიოტიკული შტამები
- სხვადასხვა მორფოლოგიური (უჯრედისა და კოლონიების ფორმა, გრამის წესით შეღებვა), ფიზიოლოგიური (ტემპერატურა, NaCl-ის კონცენტრაცია) და ბიოქიმიური (კატალაზური აქტივობა, ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროს ფერმენტაცია, ურეაზული აქტივობა, არგინინის ჰიდროლიზი, ესკულინის ჰიდროლიზი,

ჰემოლიზი, ჟელატინის ჰიდროლიზი) თვისებების საფუძველზე იზოლატები იდენტიფიცირებულია, როგორც *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *L. lactis.* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lb. rhamnosus*, *P.acidi-propionici*

- ყველის წარმოებისთვის მნიშვნელოვანი ტექნოლოგიური მახასიათებლების (კაზეინის ჰიდროლიზი, აციდოფიკაციური და ლიპოლიზური აქტივობა) და პრობიოტიკული თვისებების მქონე პერსპექტიული შტამების ურთიერთდამოკიდებულების საფუძველზე შეიქმნა კონსორციუმი შემდეგი შემადგენლობით: *Lb. acidophilus* L 1, *Lb. helveticus* L 35, *L. lactis.* subsp. *lactis* L 5, *L. lactis* subsp. *cremoris* L 29, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* L 51, *Lb. rhamnosus* L 53, *P.acidi-propionici* 8, *P.acidi-propionici* 15, *P.acidi-propionici* 40.
- შემუშავდა თუშური გუდის ყველის დამზადებისა და მომწიფების ტექნოლოგიური სქემა, რომელშიც პროცესის ტრადიციული თანმიმდევრობა უცვლელად შევინარჩუნეთ, თუმცა რძის შეთბობისა და გაფილტვრის შემდეგ შევიტანეთ ჩვენი კვლევების შედეგების საფუძველზე შექმნილი კონსორციუმი თხევადი ფორმით, ყველის ამოსაყვანად საჭირო რძის მოცულობის 5 %-ის ოდენობით. თხევად ბაქტერიულ დედოში კონსორციუმის შემადგენელი თითოეული ბაქტერიის რაოდენობა იყო 10^{10} - 10^{11} კწე/მლ-ში.
  - ბაქტერიული დედოს შეტანა დადებით გავლენას ახდენს პროდუქტის მიკრობიოლოგიურ უსაფრთხოებაზე, ორგანოლეპტიკურ მახასიათებლებზე, ასევე, შენარჩუნებულია პროპიონმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიების მაღალი რაოდენობა, რაც ყველის ფუნქციურ საკვებად გამოყენების შესაძლებლობას იძლევა. შექმნილი კონსორციუმის გამოყენება ხელს შეუწყობს სტანდარტული გემოსა და არომატის გუდის ყველის ფორმირებას და, ზოგადად, ყველის წარმოების განვითარებას ქვეყანაში.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. ჯავახიშვილი ივ. თხზულებები. თბილისი: მეცნიერება., 1986, ტ.IV, ნაწილი I. 463 გვ.
2. Korakhashvili A., Jeiranashvili G. Tushuri Guda Cheese and EU Food Safety Regulations. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences.*, 2016, 10, 3, 143-149
3. ბოჭორიძე გ. თუშეთი. თბილისი: მეცნიერება., 1993, 492 გვ.
4. გეოგრაფიული აღნიშვნა: თუშური გუდა. № 14, რეგისტრაციის თარიღი: 24.01.2012, განაცხადის №1583/07, განაცხადის შეტანის თარიღი: 06.09.2011
5. https://www.slowfood.com/tushuri-guda-better-times-ahead
6. Fox P.F. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. 2nd Ed., U.S.: Aspen Publication,Inc., 2001, 577 p.
7. Moatsou G., Moschopoulou E., Georgala A., Zoidou E., Kandarakis I., Kaminarides S., Anifantakis E. Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry.*, 2004, 88, 517–525
8. Farkye N.Y. Cheese Technology. *International Journal oF Dairy Technology.*, 2004, 57, 2/3, 91-98
9. Buchin S., Delague V., Duboz G., Berdague J.L., Beuvier E., Pochet S., Grappin R. Influence of pasteurization and fat composition of milk on the volatile compounds and flavor characteristics of a semi-hard cheese. *Journal of Dairy Science.*, 1998, 81, 3097–3108
10. Chávarri F., Bustamante M. A., Santisteban A., Virto M., Albisu M. Effect of milk pasteurization on lipolysis during ripening of ovine cheese manufactured at different times of the year. *Le Lait, INRA Editions.*, 2000, 80, 4, 433-444

11. Grappin R., Beuvier E. Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *Int Dairy J.*, 1997, 8, 12, 751-761
12. Leroy F., Vuyst L.D. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science Technology.*, 2004, 15, 67-78
13. http://www.fromage-cantal.com/fromage-cantal.com
14. Banks J.M., Williams A.G. The role of the nonstarter lactic acid bacteria in Cheddar cheese ripening. *Int J Dairy Technol.*, 2004, 57, 145–152.
15. Freitas D.I., Pinon N., Lopez Ch., Thierry A., Maubois J-L., Lortal S. Microstructure, physicochemistry, microbial populations and aroma compounds of ripened Cantal cheeses. *Le Lait.*, 2005, 85, 6, 453-468
16. Tudor K.M, Kalit S., Delaš I., Kelava N., Karolyi D., Kaić D. Changes in the composition and sensory properties of Croatian cheese in a lamb skin sack during ripening. *International Journal of Dairy Technology.*, 2014, 67, 255-264
17. Frece J., Vrdoljak M., Filipčić M., Jelić M., Čanak I., Jakopović Ž., Pleadin J., Gobin I., Dragičević T.L., Markov K. Microbiological Quality and Variability of Natural Microbiota in Croatian Cheese Maturing in Lambskin Sacks. *Food Technol. Biotechnol.*, 2016, 54, 2, 129-134
18. Fuka M., Wallisch S., Engel M., Welzl G., Havranek J., Schloter M. Dynamics of Bacterial Communities during the Ripening Process of Different Croatian Cheese Types Derived from Raw Ewe's Milk Cheeses. *PLoS ONE.*, 2013, 8, 11
19. Claps S., Annicchiarico G., Di Napoli M.A., Paladino F., Giorgio D., Sepe L., Rossi R., Trana D.A. Native and non-native sheep breed differences in Canestrato Pugliese cheese quality: a resource for a sustainable pastoral system. *Czech J. Food Sci.*, 2016, 34, 332–340

20. Cagno D.R., Gobbetti M. In: Fuquay J.W., Fox P.F., McSweeney PLH., (eds). Hard Italian cheeses. Encyclopedia of dairy sciences. San Diego, Elsevier Academic Press., 2nd ed, vol 1, 2011, p 728–736

21. Pasquale I., Calasso M., Mancini L., Ercolini D., Storia A., Angelis M., Cagno R., Gobbettia M. Causal Relationship between Microbial Ecology Dynamics and Proteolysis during Manufacture and Ripening of Protected Designation of Origin (PDO) Cheese Canestrato Pugliese. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014, 80, 14, 4085-4094

22. Hayaloglu A., Fox P., Guven M., Cakmakci S. Cheeses of Turkey: Varieties ripened in goat - skin bags. *Le Lait.*, 2007, 87, 2, 79-95

23. Sengul M., Cakmakci S., Characterization of natural isolates of lactic acid bacteria from Erzincan (Savak) Tulum cheese. *Milchwissenschaft.*, 2003, 58, 510–513

24. Fernández-García E., Carbonell M., Nuñez, M. Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. Comparison of raw and pasteurized milk cheese. *The Journal of Dairy Research.*, 2002, 69, 4, 579-593. https://www.spanishfinecheese.com/product/manchego-p-d-o-gran-valle-pasteurized-manchego-cheese/

25. Nuñez M., Eds: Tsakalidou E., Papadimitriou K. Non-Bovine Milk and Milk Products. Elsevier Acad. Press inc., 2016, 286 p

26. Mariaca R. G., Mohedano A. F., Fernandez-Garcia E., Nufiez M. Volatile Fraction of Ewe's Milk Semi-Hard Cheese Manufactured with and without the Addition of a Cysteine Proteinase. *Food Science and Technology International.*, 2001, 7, 2, 131-139

27. Nieto-Arribas P., Poveda J., Sesena S., Palop L., Cabezas L. Technological characterization of Lactobacillus isolates from traditional Manchego cheese for potential use as adjunct starter cultures. *Food Contr.*, 2009, 20, 12, 1092–1098

28. გონაშვილი შ. რძისა და რძის პროდუქტების ქიმია და ანალიზი. თბილისი: გამ-ბა.: საბჭოთა საქართველო, 1963, გვ.130

29. დემურიშვილი მ. ქარხნული თუშური ყველის კეთება. თბილისი: ცეკავშირის სტამბა. 1930, გვ. 89

30. ვაჩნაძე მ.ლ. თუშური ყველის რძისმჟავა ბაქტერიები. თბილისი: ექსპერიმენტული აგრონომიის ინსტიტუტის მოამბე. 1930, N 4, გვ.42-59

31. Саруханиян Ф.Г. Микрофлора созревания тушинского сыра (чанах). Известия Армянского Филиала Академии Наук СССР. 1942, 6, 20, с. 87-98

32. Ho P.H., Luo J.B., Adams M.C. *Lactobacilli* and Dairy *Propionibacterium* with Potential as Biopreservatives Against Food Fungi and Yeast Contamination. *Prikl. Biochim. microbiol.*, 2009, 45, 4, 460-464

33. Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Report on Functional Foods, Food Quality and Standards Service (AGNS) http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Functional_Foods_Report_Nov2007.pdf

34. Belozerova L.M. Development of fermented milk product technology using propionic acid bacteria. Ulan-Ude, Abstract of Dis. Dr. Techn. Sciences., 2000, p.36

35. Galkina G.V., Illarionov V.I., Kuksova E.V., Gorbatova E.B., Volkova G.S., Sheva-Din S.N. Strain of *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* - producing fodder protein. Patent RU № 2 247 149 – 2003

36. Gavrilova N. Creation and production of new probiotic on the basis of bacterial cultures. Tashkent, Abstract of Dis. Dr. Biol. Sciences., 1993. p.46

37. Idoui T., Boudjerda J., Leghouchia E., Karamb N.E. Lactic acid bacteria from Sheep's Dhan, a traditional butter from sheep's milk:Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites.*, 2009, 60, 2, 177-183

38. Krieg N. (Ed). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltirnore: Williams and Wilkins., 1984, vol. 1, 2, 637 p.

39. Tserovska L., Stefanova S., Yordanova T. Identification of lactic acid bacteria isolated from katyk, goat's milk and cheese. *Journal of culture collections.*, vol. 3, 2000-2002, pp. 48-52

40. Lind H. Antifungal Properties of Dairy Propionibacteria. Doctoral Thesis. Uppsala, 2010, p.51

41. Vorobjeva L.I., Cherdinceva T.A., Vorobjeva N.V., Abilev S.K. Antimutagenicity of propionic-acid bacteria. *Microbiologyia.*, 1991, 60, 6, 83-89

42. Vorobjeva L., Khodjaev E., Varioukhina S., Ponomareva G., Leverrier P., Boyaval P., Jan G., Zinchenko A., Gordeeva E. Anti-Stress activity of propionibacterium freudenreichii: identification of a reactive protein. *Antonie van Leeuwenhoek.*, 2004, 85, 1, 53-62

43. Kiatpapan P., Murooka Y. Genetic manipulation system in propionibacteria. *J Biosci Bioeng.*, 2002, 93, 1, 1-8

44. Hugenholtz J., Hunik J., Santos H., Smid E. Nutraceutical production by propionibacteria. *Lait.*, 2002, 82, 103–112

45. Von Freudenreich E., Orla-Jensen S. Über die im emmentalerkäse stattfindende propionsäuregärung. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infectionskrankheiten und Hygiene.*, 1906, 17, 529-543

46. Breed R.S., Murray E.G.D., Smithh N.R. Bergey's manual of determinative bacteriology. 7th edition. The Williams & Wilkins Company., 1957, 1346-1353

47. Meile L., Dasen G., Miescher S., Stierli M., Teuber M. Classification of propionic acid bacteria and approaches to applied genetics. *Lait.*, 1999, 79, 71–78

48. Piwowarek K., Lipińska E., Hać-Szymańczuk E., Kieliszek M., Ścibisz I. *Propionibacterium* spp. - source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2018, 102, 2, 515-538

49. Suomalainen T.H., Mattila P S., Mättö J., Tynkkynen S. *In vitro* and *in vivo* gastrointestinal survival, antibiotic susceptibility and genetic identification of *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS. *International Dairy Journal*., 2008, 18, 271-278

50. Leverrier P., Vissers J.P., Rouault A., Boyaval P., Jan G. Mass spectrometry proteomic analysis of stress adaptation reveals both common and distinct response pathways in *Propionibacterium freudenreichii*. *Archives of Microbiology*., 2004, 181, 3, 215-30

51. Holt J.G. Bergey's manual of determinative bacteriology. Moskow: Mip., 1997, v.2, 9th edition, 800 pp

52. Cheung Y.F., Fung, C., Walsh, C. Stereochemistry of propionyl-coenzyme A and pyruvate carboxylations catalyzed by transcarboxylase. *Biochemistry*., 1975. 14, 13, 2981-2987

53. Koussémon M., Combet-Blanc Y., Ollivier B. Glucose fermentation by *Propionibacterium microaerophilum*: effect of pH on metabolism and bioenergetics. *Current Microbiology*., 2003, 46, 141–145

54. Benjelloun H., Rabe Ravelona M., Lebeault J.M. Characterization of growth and metabolism of commercial strains of propionic acid bacteria by pressure measurement. *Eng. Life Sci*., 2007, 7, 143–148

55. Daly D.F.M, McSweeney P.L.H., Sheehan J.J. Split defect and secondary fermentation in Swiss-type cheeses: a review. *Dairy Sci Technol*., 2010, 90, 3–26

56. Fröhlich-Wyder M.T., Bachmann H.P., Casey M.G. Interaction between propionibacteria and starter/non-starter lactic acid bacteria in Swiss-type cheeses. *Lait*., 2002, 82, 1–15

57. Thierry A., Maillard M.B. Production of cheese flavour compounds derived from amino acid catabolism by *Propionibacterium freudenreichii*. *Lait*., 2002, 82, 17–32

58. Thierry A., Maillard M.B., Richoux R., Kerjean J.R., Lortal S. *Propionibacterium freudenreichii* strains quantitatively affect production of volatile compounds in Swiss cheese. *Lait.*, 2005, 85, 57-74

59. Cousin F.J., Jouan-Lanhouet S., Théret N. The probiotic *Propionibacterium freudenreichii* as a new adjuvant for TRAIL-based therapy in colorectal cancer. *Oncotarget.*, 2016, 7, 161–7178

60. Beresford P., Fitzsimons N., Brennan N., Cogan T.,. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal.*, 2001, 11, 259-274

61. Briggiler-Marcó M., Capra ML., Quiberoni A., Vinderola G., Reinheimer J.A., Hynes E. Nonstarter Lactobacillus strains as adjunct cultures for cheese making: in vitro characterization and performance in two model cheeses. *Journal Dairy Science.*, 2007, 90, 4532-4542

62. Aquilanti L., Dell'Aquila L., Zannini E., Zocchetti A., Clementi F. Resident lactic acid bacteria in raw milk Canestrato Pugliese cheese. *Lett. Appl Microbiol.*, 2006, 43, 161–167

63. Temmerman R., Huys G., Swings J. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science & Technology.*, 2004, 15, 348-359

64. Fhoula I., Najjari A., Turki Y., Jaballah S., Boudabous A., Ouzari H. Diversity and Antimicrobial Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Rhizosphere of Olive Trees and Desert Truffles of Tunisia. *BioMed. Research International.*, 2013, 1-14
https://cyberleninka.org/article/n/230015

65. Quinto E.J., Jiménez P., Caro I., Tejero J., Mateo J., Girbés T. Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences.*, 2014, 5, 18, 1765-1775

66. Caplice E., Fitzgerald G.F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology.*, 1999, 50, 131-149

67. Sharpe M.E. Skinner F. A., Lovelock D. W. (ed.). Identification of the lactic acid bacteria: Identification Methods for Microbiologists. London: Academic press Soc. Appl. Bacteriol. Technical series., 2nd ed. No. 14, 1979, pp. 246-255

68. Ross R.P., Morgan S., Hill C. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*., 2002, 79, 3-16

69. Lancefield R.C. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *Journal of Experimental Medicine*., 1933. 57, 4, 571–595.

70. Tailliez P. Mini-revue: Les bactéries lactiques, ces etre vivants apparus il y a prè de 3 milliards d'annés. *Lait*., 2001, 81, 1–11

71. Herreros M. A., Fresno J. M., González Prieto M. J., Tornadijo M. E. Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *International Dairy Journal*., 2003, 13, 469–479

72. Ayad E., Nashat S., El-Sadek N., Metwaly H., El-Soda M. Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiol*., 2004, 21, 715–725

73. Lombardi A., M. Gatti, L. Rizzotti, S. Torriani, C. Andrighetto, G. Giraffa. Characterization of *Streptococcus macedonicus* strains isolated from artisanal Italian raw milk cheeses. *Int. Dairy J*., 2004, 14, 967–976

74. Aquilanti L., Zannini E., Zocchetti A., Osimani A., Clementi F. Polyphasic characterization of indigenous lactobacilli and lactococci from PDO Canestrato Pugliese cheese. *Food Sci. Technol*., 2007, 40, 1146–1155

75. Pirano P., Zotta T., Ricciardi A., McSweeney P.L.H., Parente E. Acid production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses: A multivariate screening study. *Dairy Science and Technology*., 2008, 18, 81–92

76. Mills S., McAuliffe O. E., Coffey A., Fitzgerald G. F., Ross R.P. Plasmids of *lactococci*: genetic accessories or genetic necessities? *FEMS Microbiol. Rev.*, 2006, 30, 243–273

77. Whitman W.B. Bergey's Manual Trust. The Firmicutes. 2nd Ed., New York, Ed. Springer, Vol. 3 , 2009, p.717

78. Frece J., Cvrtila J., Topić I., Delaš F., Markov K. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* as Potential Functional Starter Culture. *Food Technol. Biotechnol.*, 2014, 52, 4, 489–494

79. Hynes E., Ogier J.C., Lamberet G., Delacroix-Buchet A. The influence of starter and adjunct lactobacilli culture on the ripening of washed curd cheeses. *Braz. J. Chem. Eng.*, 2002, 19, 4, 397 – 402

80. Schleifer K. H., Stackebrandt E. Molecular systematics of procaryotes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1983, 37, 143-187

81. Hammes W. E., Vogel R.F. The genus Lactobacillus: The lactic acid bacteria. London, United Kingdom: Blackie academic & Professional., 1995. Vol. 2.

82. Axelsson L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. Advance in Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, New York, USA: Marcel Dekker., 2004, 1-66

83. Ouweland A.C., Vesterlund S. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Advance in Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Salminen S., Wright Von A., Ouweland A. (Editors). New York, USA: Marcel Dekker., 2004, 375-389

84. Minervini F., F.Nejati. Lactic Acid Bacteria Lactobacillus spp.: Lactobacillus casei Group. *Encyclopedia of Dairy Sciences.*, 2011, Pages 96-104

85. Salam A. Ibrahim. Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: Other Species. *Encyclopedia of Dairy Sciences.*, 2011, 125-131

86. Hynes E., Ogier J.C., Son O., Delacroix-Buchet A. Influence of starter and adjunct lactobacilli culture on ripening of miniature washed-curd cheeses. *Lait.*, 2003, 83, 17–29

87. Mannu L., Comunian R., Scintu M.F. Mesophilic *Lactobacilli* in Fiore Sardo cheese: PCR-identification and evolution during cheese ripening. *Int. Dairy J.*, 2000, 10, 383–389

88. Casarotti S. N., Monteiro D. A., Moretti M. M. S., Penna A. L. B. Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk. *Food Research International.*, 2014, 59, 67-75

89. Cardamone., Quiberoni., Mercanti D., Fornasari M., Reinheimer J., Guglielmotti D. Adventitious dairy Leuconostoc strains with interesting technological and biological properties useful for adjunct starters. *Dairy Sci. & Technol.*, 2011, 91, 457–470

90. Andrade C.C.P., Mandellis F., Echeverrigaray S., Delamare A.P.L. Microbial Dynamics during cheese production and ripenning: physiological and biological factors. *Food.*, 2008, 2, 2, 91-101

91. Kołakowski P., Podolak R., Kowalska M.. Microbial Profi le of Gouda Cheese During Ripening in Two Independent Chambers. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2012, Vol. 62, 3, 179-184.

92. Vancanneyt M., Zamfir M., Wachter M.D., Cleenwerck I., Hoste B., Rossi F., Dellaglio F., Vuyst L., Swings J. Reclassification of *Leuconostoc argentinum* as a later synonym of *Leuconostoc lactis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2006, 56, 213-216

93. Erginkaya Z., Yurdakul N. E., & Karakas A. The properties of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis as a starter and probiotiv cultures. *Journal of Food.*, 2007, 32, 3, 137-142

94. Franz CMAP., Huch M., Abriouel H. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, 151, 125–140

95. Giraffa G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiol Rev.*, 2002, 26, 163–171

96. Pfannebecker J., Fröhlich J. Use of a species-specific multiplex PCR for the identification of pediococci. *International Journal of Food Microbiology*., 2008, 128, 288-296

97. Schleifer, K.H. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - The Farmicutes. Family I Lactobacillaceae. (Edited by P. Vos, G. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.H. Schleifer & W.B. Whitman) New York, London, Dordrecht Heidelberg, Springer, 2009, p.p. 465-510

98. Gurira O.Z., Buys E.M. Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm-style cheese. *Food Microbiology*., 2005, 22, 159-168

99. Gonfa A., Foster H.A., Holzapfel W.H. Field survey and literature review on traditional fermented milk products of Ethiopia. *International Journal of Food Microbiology*., 2001, 68, 173-186

100. https://www.dairyconnection.com/home.php

101. Senok A.C., Ismaeel A.Y., Botta G.A. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect*., 2005, 11, 12, 958-966

102. Oelschlaeger T.A. Mechanisms of probiotic actions - a review. *Int. J. Med. Microbiol*., 2010, 300, 1, 57-62

103. Lilly D.M., Stillwell R.H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*., 1965, 12,147, 747-755

104. Parker R.B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health*., 1974, 29, 4–8

105. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria Cordoba, Argentina 1-4 October 2001, 56 p.

106. Angmo K., Kumari A., Bhalla T.C. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT Food Sci. Technol*., 2016, 66, 428-435

107. Oh Y.J., Jung D.S. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* and *Pediococcus* strains isolated from Omegisool, a traditionally fermented millet alcoholic beverage in Korea. *LWT Food Sci. Technol.*, 2015, 63, 437-444

108. Sanders M.E. Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clin Infect Dis.*, 2008,46, 58–61

109. Prasad J., Gill H., Smart J., Gopal P. Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *Int Dairy J.*, 1998, 8, 12, 993-1002

110. Salminen S., A. Wright V. Current probiotics - safety assured? *Microbial Ecology in Health Disease.*, 1998, 10, 2, 68-77

111. Sanders M.E., J.H. in't Veld. Bringing a probiotic - containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Van Leeuwenhoek.*, 1999, 76, 1-4, 293-315

112. Ballongue J. Bifidobacteria and probiotic action. New York, USA: Marcel Dekker Inc., 1993, p.p. 519-587

113. Shah N.P., Wu C. Aflatoxin B1 binding abilities of probiotic bacteria. *Bioscience and Microflora.*, 1999, 18, 1, 43-48

114. Shah N.P. Some beneficial effecs of probiotic bacteria. *Bioscience and Microflora.*, 2000a, 19, 2, 99-106

115. Shah N.P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science.*, 2000, 83, 4, 894-907

116. Saarela M., Mogensen G., Fondén R., Mättö J., Maatila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol.*, 2000, 84, 3, 197-215

117. Mercenier A., Lenoir-Wijnkoop I., Sanders M.E. Physiological and functional properties of probiotics. *Int Dairy Fed.*, 2008, 429, 2-6

118. Felix G.E., Dellaglio F. Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 2007, 8, 44-61

119. Kleerebezem M., Vaughan E.E. Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2009, 63, 269-290

120. Vimala Y., Dileep P. Some aspects of probiotics. *Ind. J. Microbiol.*, 2006, 46, 1-7

121. Gupta V., Garg R. Probiotics. *Indian J Med Microbiol.*, 2009, 27, 3, 202-209

122. Kechagia M., Basoulis D., Konstantopoulou S., Dimitriadi D., Gyftopoulou K., Nikoletta S., Fakiri M.E. Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr.*, 2013, 1-7, http://dx.doi.org/10.5402/2013/481651

123. Erkkila S., Petaja E. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Sci.*, 2000, 55, 297–300

124. Kos B., Suskovic J., Novak J., Gjuracic K., Frece J., Iannaccone C., Canganella F. Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, 24, 5, 699–707

125. Saulnier D.M.A., Spinler J.K., Gibson G.R., Versalovic J. Mechanism of probiosis and prebiosis: Considerations for enhanced functional foods. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2009, 20, 135–141

126. Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., O'Sullivan G.C., Shanahan F., Collins K. *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin: Correlation with *in vivo* findings. *The American Journal of Clinical Nutrition.*, 2001, 73, 2, 386-392

127. Bemmo K.U.L., Sahoo M., Jayabalan R., Zambou N., Honey F. Probiotics and Prebiotics: Review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.*, 2016, 7, 5, 2428-2438

128. Park H., Jong G.K., Young W.S., Sae H.K., Kwang Y.W. Effect of dietary inclusion of Lactobacillus acidophilus ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 2007, pp. 655-662

129. Xie Y., Zhang H., Liu H., Xiong L., Gao X., Jia H., Lian Z., Tong N., Han T. Hypocholesterolemic effects of Kluyveromycesmarxianus M3 isolated from Tibetan mushrooms on diet-induced hypercholesterolemia in rat. *Brazil. J. Microbiol.*, 46, 2015, 389-395

130. Lavermicocca P., Valerio F., Visconti A. *Applied and Environmental Microbiology.*, 2003, 69, 1, 634-640

131. Kaktcham P.M., Temgoua J.B., Zambou N. F., Diaz-Ruiz G., Wacher C., PérezChabela M. L. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.*, 2017, 33, 32, 1-12

132. Bemmo K.U.L., Kaktcham P.M., Momo K.Ch.H., Foko K. E. M., Zambou N. F., Wang R. Y., Zhu T., Li Y. Bile salt hydrolase and antimicrobial activities of three bile resistant probiotics *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Cameroonian artisanal fermented milk. *Journal of Microbiology and Biotechnology research.*, 2017, 7, 5, 21-30

133. Tamime A., Robinson R. Yoghurt: Science and Technology. CRC Press, New York, USA, 2002, 469-521

134. Adams M. R. Safety of industrial lactic acid bacteria. J. Biotechnol., 1999, 68, 171-178

135. Alerholm-Larsen L., Bell M., Astrup A. The effect of probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta – analysis of short - term intervention studies. *Eur. Clin. Nutr.*, 2000, 54, 288-297

136. Vijaya K.B., Vijayendra S.V.N., Reddy O.V.S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products. *J. Food Sci. Technol.*, 2015, 52, 6112-6124

137. Soleimanian-Zad S., Mirlohi M., Dokhani S. Investigation of acid and bile tolerance of native lactobacilli isolated from fecal samples and commercial

probiotics by growth and survival studies. *Iranian J of Biotech.*, 2009, 7, 4, 230–240

138. Vizoso Pinto MG., Franz CMAP., Schillinger U. Lactobacillus spp. with in vitro probiotic properties from human feces and traditional fermented products. *Int J of Food Mic.*, 2006, 109, 205–214

139. Noriega L., Gueimonde M., Sánchez B., Margolles A., Reyes-Gavilán de los C. G. Effect of the adaptation to high bile salts concentrations on glycosidic activity, survival at low pH and cross-resistance to bile salts in Bifidobacteirum. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, 94, 79–86

140. Guglielmotti D., Marcó MB., Vinderola C., Gavilán C., Reinheimer J., Quiberoni. A. Spontaneous Lactobacillus delbrueckii phage-resistant mutants with acquired bile tolerance. *Int J Food Microbiol.*, 2007, 119, 3, 236-42

141. Burns P., Sanchez B., Vinderola G., Madiedo P.R., Ruiz L., Margolles A. Inside the adaptation process of Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis to bile. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, 142, 132–141

142. Margolles A., García L., Sánchez B., Gueimonde M., Reyes-Gavilán CG. Characterisation of a Bifidobacterium strain with acquired resistance to cholate - a preliminary study. *Int J Food Microbiol.*, 2003, 82, 2, 191-199

143. Sánchez B., Ruiz L., Gueimonde M., Madiedo P.R., Margolles A. Toward improving technological and functional properties of probiotics in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2012, 26, 56–63

144. Heller K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition.*, 2001,73, 374–379

145. Yvon M. Key enzymes for flavour formation by lactic acid bacteria. Aust. *J. Dairy Technol.*, 2006, 61, 80–96

146. Wouters J.T.M., Ayad E.H.E., Hugenholtz J., Smit G. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal.*, 2002, 12, 91-109

147. Morsi El Soda., Ahmed N., Omran N., Osman G., Morsi A. Isolation, identification and selection of lactic acid bacteria cultures for cheesemaking. *Emir. J. Agric. Sci.*, 2003, 15, 2, 51-71

148. Hassaïne O., Zadi-Karam H., Eddine N. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (Camelus dromedarius) Karam. *African Journal of Biotechnology.*, 2007, 6, 14, 1720-1727

149. Esteban-Torres M., Mancheño J.M., Rivas B., Muñoz R. Production and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* suitable for cheese lipolysis. *J Dairy Sci.*, 2014, 97, 11, 6737–6744

150. Tanasupawat S., Phoottosavako M., Keeratipibul S. Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat. *J App Pharm Sci.*, 2015, 5, 3, 6-12

151. ГОСТ 3626-73. Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества.

152. ГОСТ 26809-86. Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу.

153. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности

154. S. Suzanne Nielsen. Food Analysis. USA, West Lafayette: Purdue University, Springer., 2009, pp. 127-137

155. ГОСТ 3627-81. Молоко и молочные продукты. Методы определения хлористого натрия

156. Adams R. M., Moss M.O. Food Microbiology. Third Edition, UK: The Royal Society of Chemistry., 2008, 478p.

157. Harley J. P. Ed. P.Reidy. Laboratory Exercises in Microbiology. 6th ed., The McGraw Hill Higher Education., 2005, 449 p.

158. Egorov N.S. Microbes the Antagonists and the Biological Methods of Determination of Antimicrobial Activity, Moscow: Visshaja Shkola., 1965, 212 p.

159. Ronald M. Atlas. Handbook of microbiological media, Fourth Edition. Washington, D.C.: CRC Press Taylor & Francis Group., 2010, 2043 p.

160. McSweeney P.L.H. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*., 2004, 57, 2/3, 127-144

161. Брио Н.П., Конокотина Н.П., Титовю А.И. Технологический контроль в молочной промышленности. Москва: Пищепромиздат., 1962, 395 ст.

162. Gagnaire V., Jardin J., Jan G., Lortal S. Invited review: Proteomics of milk and bacteria used in fermented dairy products: From qualitative to quantitative advances. *J Dairy Sci*., 2009, 92, 811–825

163. Jamuna M., Jeevaratnam K. Isolation and partial characterization of bacteriocins from Pediococcus species. *Applied Microbiology and Biotechnology*., 2004, 65, 4, 433–439;

164. Хамагаева И.С., Бояринева И.В., Потапчук Н.Ю. Исследование пробиотических свойств комбинированной закваски. *Техника и технология пищевых производств*., 2013, 11, 1-5

165. Jan G., Lan A., Leverrier P. Dairy propionibacteria as probiotics. In: Saarela M. (ed.) Functional dairy products. UK, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd., 2007, 2, pp.165–194;

166. Ouwehand A.C., Salminen S., Wright A., Ouwehand A. The probiotic potential of propionibacteria. In: Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects, 3 rd edition. New York, USA: Marcel Dekker., 2004, pp. 159–174

167. Mantere-Alhonen S. Propionibacteria used as probiotics. *Lait*; 1995, 75, 447–452;

168. Vorobjeva L.I., Khodjaev E.Y., Cherdinceva T.A. Antimutagenic and reactivative activities of dairy propionibacteria. *Lait*; 1995, 75, 473–487

169. Mogensen G., Salminen S., O'Brien J., Ouwehand A., Holzapfel W., Shortt C., Fonden R., Miller G., Donohue D., Playne M., Crittenden R., Salvadori B., Zink R. Inventory of microorganisms with a documented history of use in food. *Bulletin of the IDF.*, 2002, 10–19

170. Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from EFSA on the maintenance of the QPS list of microorganisms intentionally added to food or feed. *EFSA J.*, 2008, 923, 1-48

171. Cousin F.J., Mater D.D.G., Foligné B., Jan G. Dairy propionibacteria as human probiotics: A review of recent evidence. *Dairy Science Technology, EDP sciences/Springer.*, 2011, 91, 1, 1-26

172. Воробьева Л.И. Пропионовокислые бактерии. М.: Изд-во Московского Университета., 1995, 288 стр.

173. Beresford T.P., Fitzsimons N.A., Brennan N.L., Cogan T.M. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal.*, 2001, 11, 259–274

174. Demarigny Y., Beuvier E., Buchin S., Pochet S., Grappin R. Influence of milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses. II. Biochemical and sensory characteristics. *Lait.*, 1997, 77, 151-167

175. Prodromou K., Thasitou P., Haritonidou E., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E. Microbiology of "Orynotyri", a ewe's milk cheese from the Greek mountains. *Food Microbiol.*, 2001, 18, 319-328

176. Marino M., Maifreni M., Rondinini G. Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003, 229, 133-140

177. Khalid N.M., Marth E.H. Lactobacilli their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese. *J. Dairy Sci.* 1990, 73, 2669-2684

178. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002, 11 p.

179. Meile L., Blay G., Thierry A. Safety assessment of dairy microorganisms: Propionibacterium and Bifidobacterium. *Int J Food Microbiol*; 2008, 126, 316–320

180. Jose N. M. Isolation, screening and characterization of probiotic isolates from commercial dairy food and bovine rumen. PhD thesis. New Zealand, Lincoln University., 2015, 213 p.

181. Youssef N. H., Duncan K. E., Nagle D. P., Savage K. N., Knapp R. M., McInerney M. J. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *J. Microbiol. Methods*; 2004, 56 339-347

182. Gómez N.C., Ramiro J.M.P., Quecan B.X.V., de Melo Franco B.D.G. Use of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) Biofilms for the Control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, and *Escherichia coli* O157:H7 Biofilms Formation. *Frontiers in Microbiology.,* 2016, 7, 863-878

183. მალხაზოვა ი. მაწვნის დედოებიდან გამოყოფილი ენდემური რძემჟავა ბაქტერიების გენოტიპური და ფენოტიპური დახასიათება. დის. ბიოლ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპ. თბილისი, 2006, 144 გვ.

184. Sepulchre A., Monnet C. Use of strains of *Streptococcus thermophilus* which are incapable of hydrolysing urea in dairy products. European Patent EP 12 11947. 2001.

185. Casalta E., Zennaro R. Effect of specific starters on microbiological, biochemical and sensory characteristics of Venaco and Corsican soft cheese. *Sciences del Aliments.*, 1997, 17, 1, 79-94

186. Квасников Е.И., Нестеренко О.А.. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М.: Наука., 1975, ст. 384;

187. Ray Bibek. Fundamental food microbiology. CRC Press LLC., 1996. p.516

188. McSweeney P., Fox P. Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Le Lait.*, 1997, 77, 1, 41-76

189. Mukdsi M.C.A., Falentin H., Maillard M.B., Chuat V., Medina R.B., ParayreS., Thierry A. The Secreted Esterase of *Propionibacterium freudenreichii* Has a Major Role in Cheese Lipolysis. *Appl Environ Microbiol.*, 2014, 80, 2, 751–756.

190. Chamba J.F., Irlinger F. Secondary and Adjunct Cultures. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Third edition. London, UK: Elsevier Ltd., 2004, vol.1, p.191-206

191. Jose N.M., Bunt C.R., Hussain M.A. Comparison of microbiological and probiotic characteristics of lactobacilli isolates from dairy food products and animal rumen contents. *Microorganisms.*, 2015, 3, 198-212

192. Buriti F.C.A., Rocha J.S., Saad S.M.I. Incorporation of Lactobacillus acidophilus in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal.,* 2005, 15, 1279-1288

193. **Fox** P.F., **Guinee** T.P., **Cogan** T.M., **McSweeney** P.L.H. Fundamentals of Cheese Science. Spronger, New York. 2017, 799 p.

194. McSweeney P.L.H. Acidification. In: Cheese Problems Solved. England: Woodhead Publishing Limited., 2007, 424 p. https://doi.org/10.1533/9781845693534.34

195. Kongo M. J. Lactic Acid Bacteria as Starter-Cultures for Cheese Processing: Past, Present and Future Developments. 2013, chapter 1, 3-22. https://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/lactic-acid-bacteria-as-starter-cultures-for-cheese-processing-past-present-and-future-developments

196. Sgarbi E., Lazzi C., Tabanelli G., Gatti M., Neviani E., Garini F. Nonstarter lactic acid bacteria volatilomes produced using cheese components. *Journal of Dairy Science.*, 2013, 7, 4223-4234

197. Georges S., Mounier J., Rea M.C., Gelsomino R., Heise V., Beduhn R., Cogan T., Vancanneyt M., Scherer S. Commercial Ripening Starter Microorganisms Inoculated into Cheese Milk in the Resident Microbial Ripening Consortia of a South German Red Smear Cheese. *Appl Environ Microbiol.*, 2008, 74, 7, 2210-2217

198. Jana A.H., Mandal P.K. Manufacturing and Quality of Mozzarella Cheese: A Review. *International Journal of Dairy Science.*, 2011, 6, 4, 199-226

199. Гост р исо 22935-2-2011. Молоко и молочные продукты. Рекомендуемые методы органолептической оценки

200. სანიტარიული წესები და ნორმები სანწდან 2.3.2.00-00. ჰიგიენური მოთხოვნები სასურსათო ნედლეულისა და საკვები პროდუქტების ხარისხისა და უსაფრთხოებისადმი. საქართველოს შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის მინისტრის ბრძანება №301/ნ. თბილისი, 2001, 251

201. ГОСТ 9225-84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа

202. ГОСТ Р 52814-2007 (ИСО 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella

203. ГОСТ 30347-97. Молоко и молочные продукты. Методы определения Staphylococcus aureus