



საქართველოს ტექნიკური
უნივერსიტეტი
1922 წლიდან

ტერეზა პაპიანი

რძის ფერმენტირებული ფუნქციური სასმელის
დამზადების ბიოტექნოლოგია რძემჟავა და
პროპიონმჟავა ბაქტერიების საფუძველზე

წარმოდგენილია დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სადოქტორო პროგრამა: სასურსათო ტექნოლოგია

0104

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი თბილისი, 0160, საქართველო

2025 წ

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტი

ჩვენ, ქვემოთ ხელისმომწერნი ვადასტურებთ, რომ გავცანით ტერეზა პაპიანის მიერ შესრულებულ სადისერტაციო ნაშრომს დასახელებით: **რძის ფერმენტირებული ფუნქციური სასმელის დამზადების ბიოტექნოლოგია რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების საფუძველზე და ვაძლევთ რეკომენდაციას საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის საინჟინრო, ტექნოლოგიური და საბუნებისმეტყველო საუნივერსიტეტო სადისერტაციო საბჭოში მის განხილვას დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად.**

-----, ----- 2025 წელი

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: **ლია ამირანაშვილი, პროფესორი**

ედიშერ კვესიტაძე, პროფესორი

რეცენზენტი:

რეცენზენტი:

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

2025 წ.

ავტორი: ტერეზა პაპიანი

დასახელება: რძის ფერმენტირებული ფუნქციური სასმელის დამზადების
ბიოტექნოლოგია რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების
საფუძველზე

სადოქტორო პროგრამა: სასურსათო ტექნოლოგია

მისანიჭებელი კვალიფიკაცია: სასურსათო ტექნოლოგიის დოქტორი

სხდომა ჩატარდა _____

ინდივიდუალური პროგნოზების 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 საგანმცემლო 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 დაცულ მასალებზე მიღებულია შესაბამისი ნებართვა (გარდა იმ მცირე ზომის ციტატებისა, რომლებიც მოითხოვენ მხოლოდ სპეციფიურ მიმართებას ლიტერატურის ციტირებაში, როგორც ეს მიღებულია სამეცნიერო ნაშრომების შესრულებით).

ვუძღვნი ჩემს ოჯახს

რეზიუმე

უკანასკნელ პერიოდში მთელს მსოფლიოში სულ უფრო მეტია მოთხოვნა პრობიოტიკურ პროდუქტებზე; მოსალოდნელია, რომ პრობიოტიკების ბაზარი 2028 წლისთვის 95,25 მილიარდ დოლარს მიაღწევს. სხვადასხვა ევროპული ქვეყნის ბაზრებზე პრობიოტიკური პროდუქტების ფართო ასორტიმენტი წარმოდგენილი, რომელთა უდიდესი ნაწილი რძის პროდუქტებს წარმოადგენს. პრობიოტიკური საკვების მისაღებად ძირითადად გამოიყენება რძემჟავა ბაქტერიების სხვადასხვა გვარის და ბიფიდობაქტერიების წარმომადგენლები, ასევე, პროპიონმჟავა ბაქტერიები, ენტერობაქტერიების, *Bacillus*-ის გვარისა და საფუვრების ზოგიერთი სახეობა. რძემჟავა ბაქტერიების საკვების ინდუსტრიაში უსაფრთხო გამოყენების ხანგრძლივი ტრადიცია არსებობს, ხოლო რძის პროპიონმჟავა ბაქტერიები გამოიყენება როგორც ყველის მოსამწიფებლად, ასევე, როგორც ბიოკონსერვანტები და სასარგებლო დანამატები კვების მრეწველობაში.

სტარტერებს დიდი სამრეწველო მნიშვნელობა აქვთ ფერმენტირებული რძის პროდუქტების ეფექტური წარმოებისთვის, გემოსა და ტექსტურის გასაუმჯობესებლად. კომერციული სტარტერების კულტურა ფართოდაა გავრცელებული ბევრ განვითარებულ ქვეყანაში. თუმცა ახალი სტარტერი კულტურების ძიება დღესაც აქტიურად მიმდინარეობს. *Lactobacillus* გვარი კვლავ ერთ-ერთ ყველაზე ცნობილ და გამოყენებულ პრობიოტიკად რჩება. ახალი პრობიოტიკური შტამებისა და კომბინაციების შემცველი ფერმენტირებული რძის პროდუქტები აუმჯობესებს ადამიანის ჯანმრთელობას ნაწლავში სასარგებლო ბაქტერიების ზრდისა და მათ მიერ მეტაბოლური პროდუქტების წარმოქმნის გზით. პრობიოტიკების სამყაროს სწრაფი გაფართოების მიუხედავად, ახალი სტარტერი კულტურების ძიება მთელს მსოფლიოში აქტიურად მიმდინარეობს. ამდენად, პრობიოტიკური და ბიოქიმიური აქტივობის მქონე ენდემური ბაქტერიების საფუძველზე ფუნქციური საკვების - ფერმენტირებული რძის პროდუქტის შექმნა მეტად აქტუალურია. დღეისათვის საქართველოს ტერიტორიაზე არ იწარმოება პრობიოტიკური რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტები ადგილობრივი ბაქტერიების გამოყენებით, ამიტომ, სამუშაო მიზნად დავისახეთ ჩვენ მიერ გამოყოფილი და შერჩეული ავტოხტონური რძემჟავა ბაქტერიებითა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული ახალი რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტის ტექნოლოგიის შემუშავება.

ჩვენ მიერ საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული რძისა და რძის პროდუქტებიდან და სხვადასხვა მცენარის ფილოსფეროს 116 ნიმუშიდან გამოყოფილი იქნა 263 იზოლატი (116 გრამდადებითი და კატალაზა უარყოფითი). მათ შორის, 47 კოკის ფორმის, რომლებიც ქმნიდნენ ჯაჭვებს და წყვილებს, როგორც *Streptococcus thermophilus*-ისთვისაა დამახასიათებელი და 69 - ჩხირის ფორმის, *Lactobacillus delbruekii*-სთვის დამახასიათებელი უჯრედების განლაგებით; თუმური გუდის ყველის ნიმუშებიდან გამოყოფილ 19 გრამ-დადებითი და კატალაზა-დადებითი ბაქტერიას შორის 3 აღმოჩნდა პროპიონმჟავა ბაქტერიებისთვის დამახასიათებელი მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლის მქონე. რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების მრავალსაფეხურებრივი სკრინინგის შედეგად, მორფო-ფიზიოლოგიური, 16S რ-

დნმ-ების პჯრ პროდუქტების შესწავლის შედეგად მათ შორის გამოვლინდა *L. Delbrueckii*-ის 21 და *S. thermophilus*-ის 5 შტამი. ბიოქიმიური, პრობიოტიკური (pH 2-ზე ზრდა, ნაღვლის მარილებისადმი ტოლერანტობა, ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობა, ანტიბაქტერიული აქტივობა) და ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლების შესწავლის საფუძველზე შერჩეულ იქნა ბიოტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი რძემჟავა ბაქტერიების 4 შტამი - *S. thermophilus* T-365, *S. thermophilus* G-26, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190 და *L. delbrueckii* subsp. *lactis* T-221-2, რომლებიც ცალკე ან გარკვეული კომბინაციებით შესაძლოა გამოყენებულ იქნან რძის ფერმენტირებული მაწვნის-მაგვარი პროდუქტის მისაღებად.

ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლების მიხედვით შერჩეული იქნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კონსორციუმი შემდეგი შემადგენლობით: *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* T-221, *S. thermophilus* G-26, *S. thermophilus* T-365; ასეთ პრობიოტიკულ სასმელს საქართველოს სამომხმარებლო ბაზარზე ანალოგი არ აქვს. დადგინდა პროდუქტის მისაღებად საჭირო ტექნოლოგიური პარამეტრები: რძის ტიტრული მჟავიანობა - $17 \pm 2^\circ\text{T}$, ფერმენტაციის დრო - 2 სთ, ფერმენტაციის ტემპერატურა - $43 \pm 1^\circ\text{C}$, შენახვის ტემპერატურა - $4 \pm 2^\circ\text{C}$; პროდუქტის შენახვის ვადის დასადგენად 2 სთ-იანი ფერმენტაციის პროდუქტის ტიტრული მჟავიანობისა ($^\circ\text{T}$) და ცოცხალ ბაქტერიათა რაოდენობის (კწე/მლ) ცვლილების დინამიკამ სამაცივრე პირობებში 18 დღის განმავლობაში 3-4 დღის ინტერვალით აჩვენა, რომ პროპიონმჟავური სასმელი პროდუქტის შენახვის ვადად შეგვიძლია მივიჩნიოთ 14 დღე, როცა პროდუქტის ტიტრული მჟავიანობა დაახლოებით მაწვნის ტიტრული მჟავიანობის დადგენილ ნორმებს შეესაბამება, ამავე დროს, პროდუქტში პრობიოტიკური ბაქტერიების კწე შეესაბამება პრობიოტიკული საკვებისადმი წაყენებულ მოთხოვნებს.

შემუშავდა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკული სასმელის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა. რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკური სასმელის დასამზადებლად შერჩეული კონსორციუმი და ტექნოლოგიური პროცესის სქემა, რომელიც საწარმოო პირობებში მასშტაბირების შემდეგ შესაძლოა დაანერგოს იქნას წარმოებაში.

ABSTRACT

PhD thesis of Tereza Papian - Biotechnology for the production of functional fermented milk beverage based on the lactic acid and propionic acid bacteria

Over the last few years, the demand for probiotic products has been growing worldwide; the probiotic market is expected to reach up to \$95.25 billion until 2028. A wide range of probiotic products are available in the markets of different European countries. Most of them are dairy products. Representatives of various genera of lactic acid bacteria and bifidobacteria, as well as propionic acid bacteria, some species of enterobacteria, the genus of *Bacillus* and yeasts are used as probiotics in food. There is a long tradition of safe use of lactic acid bacteria in food industry, while dairy propionic acid bacteria are used both for cheese ripening and as biopreservatives and useful additives in the food industry.

Starters have a great effort for the production of fermented milk products, improving their taste and consistency. Commercial starter culture is widespread in many developed countries. However, the exploration for new cultures is active today yet. The genus *Lactobacillus* is still one of the most well-known and used probiotics. Fermented dairy products containing new strains and combinations of probiotics improve human health by increasing the growth of beneficial bacteria in the intestines and production of their metabolic products. Despite the rapid expansion of the world of probiotics, the searching for new starters is ongoing all over the world. Thus, the creation of a functional food - a fermented dairy product based on endemic bacteria with probiotic and biochemical activity - is very actual. Currently, probiotic fermented dairy products are not produced in Georgia using endemic lactic acid bacteria, so this work was aimed to develop a technology for a new fermented dairy product enriched with propionic acid bacteria and autochthonous lactic acid bacteria isolated and selected by us.

Totally, 263 isolates (116 gram-positive and catalase-negative) were obtained from 116 samples of milk and dairy products and phyllospheres of various plant collected in different regions of Georgia. Among them 47 cocci-like bacteria, which formed chains and pairs, characterized for *Streptococcus thermophilus*, and 69 rod-shaped bacteria, with the arrangement of cells characteristic for *Lactobacillus delbrueckii*. The 19 gram-positive and catalase-positive bacteria were isolated from samples of Tushuri Guda cheese, 3 of them had morpho-physiological and biochemical properties characteristic for propionic acid bacteria. As a result of multistage screening of lactic acid bacteria isolates, 21 strains of *L. Delbrueckii* and 5 strains of *S. thermophilus* were identified through studying morphological, physiological, 16S r-DNA PCR products. Based on the biochemical, probiotic (growth at pH 2, tolerance to bile salts, sensitivity to antibiotics, antibacterial activity) and organoleptic indicators, 4 strains of important lactic acid bacteria were isolated by the biotechnological point of view - *S. thermophilus* T-365, *S. thermophilus* G-26, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190 and *L. delbrueckii* subsp. *Lactis* T-221-2, which can be used separately or in certain combinations to obtain a milk-fermented beverage product. Based on organoleptic properties, a consortium of lactic acid and propionic acid bacteria of the following composition was selected: *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190, *L. delbrueckii* subsp. *Lactis* T-221, *S. thermophilus* G-26, *S. thermophilus* T-365; This probiotic dairy product has no analogues on the consumer market of Georgia. The necessary technological parameters for obtaining the product were determined: milk titrable acidity - $17 \pm 2^\circ\text{T}$; temperature of fermentation - $43 \pm 1^\circ\text{C}$, time of fermentation - 2 hours, temperature of storage - $4 \pm 2^\circ\text{C}$; shelf-life - 14 days; The selected consortium and the established technological process flow chart can be used to obtain probiotic fermented milk beverage enriched with LAB and PAB.

Determine the dynamics of changes in titrable acidity ($^\circ\text{T}$) and the number of alive bacteria (CFU/ml) under refrigeration conditions for 18 days with 3-4-day breaks of the 2-hour

fermentation product, showed that the shelf-life of the propionic dairy product beverage can be considered 14 days; while the titrable acidity of the product is approximately equal to the same parameter of the Matsoni. Besides the colony forming unit in the product is in accordance with the standards requirements for probiotic nutrition.

A technological block-chain for the production of the dairy fermented probiotic product enriched with lactic acid and propionic acid bacteria has been developed. Selected consortium and the chain of the technological process for the production of a probiotic product can be implemented in the dairy industry after scaling in production conditions.

შინაარსი

რეზიუმე	5
Abstract.....	7
შინაარსი	9
ცხრილების ნუსხა	12
ნახაზების ნუსხა	14
სურათების ნუსხა	15
აბრევიატურები	16
მადლიერების გვერდი.....	17
შესავალი.....	18
თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა	23
1.1. პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების გამოყენების ისტორია და პერსპექტივები... 23	
1.2. რძემჟავა ბაქტერიები და მათი ბიოტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებები	26
1.2.1. რძემჟავა ბაქტერიების კლასიფიკაციის ძირითადი პრინციპები.....	29
1.2.2 რძემჟავა ბაქტერიების ბიოქიმიური თვისებები.....	30
1.2.3 რძემჟავა ბაქტერიების მდგრადობა დაბალი pH-ის და ნალვლის მარილების მიმართ	32
1.2.4. რძემჟავა ბაქტერიების ბაქტერიოცინები და მათი გამოყენება ბიოკონსერვაციაში	33
1.2.5 რძემჟავა ბაქტერიების მდგრადობა ანტიბიოტიკების მიმართ.....	36
1.3. პროპიომჟავა ბაქტერიების ბიოტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებები ...	37
თავი 2. კვლევის მეთოდები.....	45
2.1. უცხიმო რძის ფხვნილის აღდგენა.....	45
2.2. აღდგენილი რძის პასტერიზაცია	45
2.3. პასტერიზებულ რძეში პეროქსიდაზას განსაზღვრა სახამებლიანი კალიუმის იოდიდით.	46
2.4. რძის ფხვნილის სისუფთავის ჯგუფის დადგენა.....	46
2.5. აღდგენილი რძის მაჩვენებლების შემოწმება ლაქტოსკანით	47

2.6. რძისა და რძის პროდუქტების ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა.....	47
2.6.1. ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა რძეში.....	47
2.6.2. ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა რძის ფერმენტირებულ პროდუქტებში (მაწონი, კეფირი, იოგურტი).....	48
2.6.3. რძეში საერთო ცილის შემცველობის განსაზღვრა ფორმალური ტიტრაციის მეთოდით.....	48
2.7. ცხიმოვანობის განსაზღვრა რძეში მჟავური მეთოდით.....	49
2.7.1. ცხიმოვანობის განსაზღვრა პროპიონმჟავურ სასმელში.....	49
2.7.2 ცხიმოვანობის განსაზღვრა კარაქში.....	49
2.8. კარაქის მჟავიანობის განსაზღვრა (°K).....	50
2.8.1. კარაქის პლაზმის მჟავიანობის განსაზღვრა.....	50
2.9. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა.....	51
2.10. კვლევაში გამოყენებული საკვები არეები.....	52
2.11. სერიული განზავების მეთოდი.....	52
2.12. გრამის წესით შეღებვა.....	53
2.13. კატალაზური აქტივობის განსაზღვრა.....	53
2.14. სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდა.....	53
2.15. NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდა.....	53
2.16. შაქრების ფერმენტაცია.....	54
2.17. ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა.....	54
2.18. დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობა.....	55
2.19. ანტიმიკრობული აქტივობის განსაზღვრა.....	55
2.20. იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა.....	55
2.21. აციდოფიკაციის უნარის შესწავლა.....	56
2.22. იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია.....	56
2.23. რძის ფერმენტირებული სასმელის სენსორული ანალიზი.....	57
2.24. სტატისტიკური ანალიზი.....	57
თავი 3. შედეგები და მათი განსჯა.....	58
3.1. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა.....	58

3.2. რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა და შერჩევა	62
3.3. რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია.....	72
3.4. რძემჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციის უნარის და პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლა	74
3.5. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი ფიზიოლოგიური მახასიათებელი...	77
3.6. რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური თვისებების შესწავლა	80
3.7. რძემჟავა ბაქტერიების ურთიერთდამოკიდებულება.....	83
3.8. კონსორციუმის შექმნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით და პროდუქტის მიღებისათვის ტექნოლოგიური პარამეტრების განსაზღვრა	85
3.9. ფერმენტირებული რძის სასმელი პროდუქტის დამზადების პარამეტრების შემუშავება	89
3.10. პროდუქტის შენახვის ვადის დადგენა.....	90
3.11. პროდუქტის კვებითი ღირებულება.....	92
3.12. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა	93
დასკვნები	94
გამოყენებული ლიტერატურის სია	96

ცხრილების ნუსხა

ცხრილი 1. პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების თვისებები	59
ცხრილი 2. პროპიონმჟავა ბაქტერიის ფერმენტაციის პირობების დადგენა	61
ცხრილი 3. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული რძის ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი	64
ცხრილი 4. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული თვითჩაღებებული რძის ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი ...	65
ცხრილი 5. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული მაწვნის ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი	66
ცხრილი 6. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული სხვადასხვა სახის ნიმუშიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი	67
ცხრილი 7. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში გავრცელებული მცენარეების ფილოსფეროს ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი	67
ცხრილი 8. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტის მახასიათებლები	75
ცხრილი 9. რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების წარმომავლობა და უჯრედების მორფოლოგია	76
ცხრილი 10. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე	78
ცხრილი 11. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე	78
ცხრილი 12. რძემჟავა ბაქტერიების კულტურების მიერ ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაცია	79
ცხრილი 13. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ნაღვლის მარილებზე	80
ცხრილი 14. შერჩეული რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობა	81
ცხრილი 15. რძემჟავა ბაქტერიების მგრძნობელობა ანტიბიოტიკების მიმართ	83
ცხრილი 16. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტის მახასიათებლები	86

ცხრილი 17. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტის ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლები და ჰედონიკური ტესტის შედეგები.....	86
ცხრილი 18. ფერმენტაციის ხანგრძლივობის გავლენა პროდუქტის ზოგიერთ მახასიათებელზე.....	90
ცხრილი 19. ცოცხალ მიკროორგანიზმთა რაოდენობისა (კწე/მლ) და ტიტრული მჟავიანობის ($^{\circ}\text{T}$) ცვლილების დინამიკა ფერმენტირებული სასმელ პროდუქტში	91

ნახაზების ნუსხა

- ნახ. 1. ჩხირის ფორმის რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე (ა) და NaCl-ის კონცენტრაციაზე (ბ).....71
- ნახ. 2. კოკის ფორმის რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე (ა) და NaCl-ის კონცენტრაციაზე (ბ).....71
- ნახ. 3. სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა.....93

სურათების ნუსხა

სურ. 1. ხელსაწყო ლაბორატორიულ პირობებში რძის პასტერიზაციისა და ჰომოგენიზაციისთვის (Thermomix, საფრანგეთი)	45
სურ. 2. გუდის ყველის ნიმუშები, საიდანაც მოხდა პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა	58
სურ. 3. გუდის ყველიდან გამოყოფილი იზოლატების კოლონიები და უჯრედები	58
სურ. 4. პროპიონმჟავა ბაქტერიის აციდოფიკაციის უნარის შესწავლა სხვადასხვა ტემპერატურაზე	61
სურ. 5. დამაგროვებელი კულტურის მიღება ნედლი რძიდან და მცენარეების ფილოსფეროდან	63
სურ. 6. თავისით ჩადედებული რძიდან რძემჟავა ბაქტერიების პირველადი ჩანათესი (მარცხნივ) და იზოლატების გამოყოფა	69
სურ. 7. ზოგიერთი რძემჟავა ბაქტერიის კოლონიები	70
სურ. 8. MRS აგარზე და M17 აგარზე გამოყოფილი გრამდადებითი კოკები	70
სურ. 9. MRS აგარზე და M17 აგარზე გამოყოფილი გრამდადებითი ჩხირები	70
სურ. 10. შესწავლილი ზოგიერთი რძემჟავა ბაქტერიის იზოლატის <i>Lactobacillus</i> -ის სპეციფიკური პრაიმერების წყვილით (LB1F/ LB1R) ამპლიფიცირებული PCR-ფრაგმენტების ელექტროფორეგრამები	73
სურ. 11. <i>S. thermophilus</i> -ის სპეციფიკური პრაიმერებით (TH I/TH II) ამპლიფიცირებული იზოლატები ##: 1– 89; 2 – T-365; 3 – 106; 4 – 111; L – ლადერი (1000 BP)	74
სურ. 12. რძის ფერმენტაცია სხვადასხვა რძემჟავა ბაქტერიის გამოყენებით	75
სურ. 13. რძემჟავა ბაქტერიების მიერ შაქრების ფერმენტაცია	79
სურ. 14. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ურთიერთდამოკიდებულება	84

აბრევიატურა

- კწე - კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული
- FAO - გაეროს სურსათისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაცია (Food and agricultural organisation)
- PCA - მიკრობთა საერთო რაოდენობა (Plate Count Agar)
- WHO - მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაცია (World health organization)
- MRS - საკვები არე რძემჟავა ბაქტერიებისათვის (De Man, Rogosa & Sharpe)

მადლობას ვუხდით

ჩემს პირველ სამეცნიერო ხელმძღვანელს ქ-ნ ნინო გაგელიძეს სადისერტაციო ნაშრომის შესრულებაში გაწეული დახმარებისთვის და თანადგომისთვის, რასაც მუდმივად ვგრძნობდი დისერტაციაზე მუშაობის განმავლობაში

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის თანამშრომლებს თამუნა მოდებაძეს, გიორგი ანდიაშვილს და ნანო თოლორდავას რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფის მაღიან შრომატევად საქმეში დახმარებისთვის

სოფლის მეურნეობის ლაბორატორიის თანამშრომელს ქ-ნ დალი ღაღანიძეს რძემჟავა ბაქტერიების მოლეკულური იდენტიფიკაციისათვის გაწეული დახმარებისთვის

შესავალი

თემის აქტუალურობა. უკანასკნელ წლებში პრობიოტიკების მიმართ ინტერესი იზრდება, რადგან ადამიანები სულ უფრო მეტად ზრუნავენ ჯანმრთელობაზე, ხოლო ფუნქციური საკვები აუმჯობესებს ცხოვრების ხარისხს. ევროპის სურსათის უვნებლობის სააგენტოს (EFSA – The European Food Safety Authority) მიერ განსაზღვრულია, რომ, ზოგადად, პრობიოტიკი უსაფრთხოა მოსახლეობისთვის (Oba, Yildirim, & Karataş, 2022).

ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (WHO – World Health Organization) და გაეროს სურსათისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციის (FAO) განმარტებით პრობიოტიკები, ცოცხალი მიკროორგანიზმებია (ბაქტერიები ან საფუარი), რომლებიც სათანადო რაოდენობით მიღებისას მასპინძლის ჯანმრთელობას განაპირობებს (FAO/WHO Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, 2002).

პრობიოტიკები ხელს უწყობენ კუჭ-ნაწლავის პათოლოგიური მდგომარეობის პროფილაქტიკასა და მკურნალობას, აუმჯობესებენ ნაწლავის მიკროფლორას და იცავენ ნაწლავის ლორწოვან გარსს პათოგენების კოლონიზაციისაგან. ასევე, ახასიათებთ: ანტიმუტაგენური და ანტიკანცეროგენული ეფექტი, იმუნური სისტემის სტიმულირება, შრატში ქოლესტერინის შემცირება და სხვ. (Perez, Zendo, & Sonomoto, 2014); (Hayek, Gyawali, Aljaloud, Krastanov, & Ibrahim, 2019).

1997 წელს ევროპული ქვეყნების მოსახლეობამ დაახლოებით 900 მილიონი დოლარი დახარჯეს პრობიოტიკურ იოგურტებსა და სხვა რძის პროდუქტებზე. პრობიოტიკების გლობალური ბაზარი 2007 წელს \$14.9 მილიარდს შეადგენდა, 2008 წელს მიაღწია \$16 მილიარდს, ხოლო 2013 წლის გაყიდვებში - 19 მილიარდ დოლარზე მეტადაა შეფასებული (Hati, Mandal, & Prajapat, 2013); (Bintsis, 2018). მოსალოდნელია, რომ პრობიოტიკების ბაზარი 2028 წლისთვის 95,25 მილიარდ დოლარს მიაღწევს (Grand View Research. Probiotics market worth \$95.25 billion by 2028 | CAGR: 7.2%., 2021).

კვების მრეწველობა ფართოდ იყენებს პრობიოტიკურ ბაქტერიებს სხვადასხვა ფუნქციური საკვების დასამზადებლად, რომლებიც განსაკუთრებული პოპულარობით სარგებლობს მოსახლეობაში. პრობიოტიკების გამოყენება საკვებ

პროდუქტებში ხშირ შემთხვევაში რძის პროდუქტებით შემოიფარგლება. მათ შორისაა: მაწონი, იოგურტი, კეფირი, რიაჟენკა, კუმისი, სხვადასხვა სახეობის ყველი და სხვ. ფერმენტირებული რძის პროდუქტები ასოცირდება სიმსუქნის პროფილაქტიკასთან, ქრონიკული დიარეას, ჰიპერმგრძნობელობის, გაღიზიანებული ნაწლავის სინდრომის, *Helicobacter pylori*-ის ინფექციის, ლაქტოზას აუტანლობის და გასტროენტერიტების მკურნალობასთან ან სიმპტომების შემსუბუქებასთან, რომლებიც მჭიდრო კავშირშია არაჯანსაღი ცხოვრების წესთან (Smith, Baker, Arneborg, & Jespersen, 2015); (Collado, Gueimonde, & Salminen, 2010).

ადამიანის ნაწლავის მიკრობიოტა წარმოქმნის რთულ მიკრობულ ეკოსისტემას, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ჯანმრთელობასა თუ დაავადებების განვითარებაში. მიკრობიოტას სათანადო ბალანსი გადამწყვეტ როლს ასრულებს მასპინძლის ჯანმრთელობის სტატუსის შენარჩუნებაში. პრობიოტიკური შტამები ან კომბინაციები, რომლებიც თრგუნავენ და ანაცვლებენ პათოგენებს, კარგ შესაძლებლობებს ქმნის პათოგენებით ან მიკრობიოტას შემადგენლობის ცვლილებით გამოწვეული სპეციფიკური დაავადებების სამკურნალოდ, ასევე პრევენციისთვის, რაც, საბოლოოდ, დაკავშირებულია დაავადების რისკის შემცირებასთან (Hayek & Ibrahim, Current limitations and challenges with Lactic Acid Bacteria, 2013)

სტატისტიკური კვლევები ადასტურებს, რომ ნაწლავის პათოგენებით გამოწვეული კუჭ-ნაწლავის ინფექციების 1.5 მილიარდზე მეტ შემთხვევაში, მათი ხანგრძლივი დროის განმავლობაში ზემოქმედება იწვევს გონებრივ ჩამორჩენილობას, დროებით ან მუდმივ ფიზიკურ სისუსტეს, ასევე პაციენტს ხდის მგრძნობიარეს პირობით-პათოგენური მიკროორგანიზმების მიმართ, რამაც შეიძლება მძიმე შედეგები გამოიწვიოს. უკანასკნელ პერიოდში მრავალი საკვებისმიერი პათოგენის წინააღმდეგ პრობიოტიკების გამოყენების წარმატება და მათი თერაპიული ეფექტურობა მნიშვნელოვნად გაიზარდა გენმოდულირებული პრობიოტიკების გამოყენებით. მოსალოდნელია, რომ ბიოინჟინერიული პრობიოტიკური შტამები უზრუნველყოფენ უკეთეს და ალტერნატიულ მიდგომას, ვიდრე ტრადიციული ანტიბიოტიკოთერაპია ნაწლავის პათოგენების წინააღმდეგ. კლასიკური

მეთოდების ამგვარმა განვითარებამ შესაძლოა მოახდინოს რევოლუცია ნაწლავური ინფექციების მკურნალობაში (Parvez S. , Malik, Ah Kang, & Kim, 2006).

კვლევის მიზანი და ამოცანები. რძე და რძის ფერმენტირებული სასმელები მსოფლიოში ყველაზე მოხმარებად პროდუქტებს შორისაა. მსოფლიოში რძის პროდუქტების სექტორი მნიშვნელოვნად განვითარდა ახალი ფერმენტირებული პრობიოტიკული პროდუქტების გამაჯანსაღებელი თვისებების გამო მათი წარმოების გაზრდის შედეგად. Nestle, Danone, Kraft food, Amul, Mother Dairy, State co-operatives of India, ITC, GSK - ძირითადი საწარმოებია, რომლებიც ქმნიან მაღალხარისხიან და მაღალი კვებითი ღირებულების მქონე რძის ფერმენტირებულ პროდუქტებს (Singh, Rani, Dharaiya, & Debnath, 2018).

დღეისათვის საქართველოს ტერიტორიაზე არ იწარმოება პრობიოტიკური რძის სასმელი პროდუქტები ადგილობრივი ბაქტერიების გამოყენებით ამიტომ, ჩვენ მიზნად დავისახეთ ჩვენ მიერ გამოყოფილი და შერჩეული ავტოხტონური რძემჟავა ბაქტერიებითა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული ახალი რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკური სასმელი პროდუქტის ტექნოლოგიის შემუშავება.

აღნიშნული მიზნის მისაღწევად განხორციელდა შემდეგი ამოცანები:

1. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა საქართველოს ტრადიციული გუდის ყველიდან
2. რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა, საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში შეგროვილი რძიდან, თავისით ჩადედებული რძიდან, ყველის შრატისა და მცენარეების ფილოსფეროდან
3. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლების შესწავლა (ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე, მარილის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე, ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროს ფერმენტაციის უნარი, კატალაზური აქტივობა, კაზეინის და ჟელატინის ჰიდროლიზი, ჰემოლიზის და აციდოფიკაციის უნარი, გოგირდწყალბადის წარმოქმნა, პროტეოლიზური, ურეაზული, ლიპოლიზური და კატალაზური აქტივობები)

4. რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური თვისებების შესწავლა (დაბალ pH-ზე სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება, ნაღვლის მჟავების მიმართ ტოლერანტობა, ანტიმიკრობული აქტივობა, ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობა)
5. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების გენეტიკური მარკირება
6. რძის ფერმენტირებული პროდუქტის ორგანოლეპტიკური თვისებების შესწავლა
7. პროდუქტის კვებითი ღირებულებისა და ვარგისიანობის ვადის დადგენა
8. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული ფერმენტირებული რძის ახალი სასმელი პროდუქტის ტექნოლოგიის შემუშავება
9. მიღებული შედეგების ანალიზი და სტატისტიკური დამუშავება.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე. საქართველოში პირველად შეიქმნა რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტი, რომელიც გამდიდრებულია ჩვენ მიერ გამოყოფილი რძემჟავა ბაქტერიებითა და პროპიონმჟავა ბაქტერიით. შემუშავებულია რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკური სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური პარამეტრები და ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა.

ასეთ პრობიოტიკურ სასმელს საქართველოს სამომხმარებლო ბაზარზე ანალოგი არ აქვს. მათი წარმოების და რეალიზაციის ნორმატივები სოფლის მეურნეობის, ვეტერინარიის, საკვები პროდუქტების წარმოებისა და ჯანდაცვის სფეროში განისაზღვრება ქვეყნის შესაბამისი ნაციონალური მარეგულირებელი ორგანოს მიერ.

ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა. პროპიონმჟავა ბაქტერიისა და ავტოხტონური რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული კომბინაცია და დადგენილი ტექნოლოგიური სქემა შესაძლოა გამოყენებულ იქნას რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკური სასმელის დასამზადებლად.

შემუშავდა რძის ფერმენტირებული ფუნქციური სასმელის დამზადების ტექნოლოგია, რომელიც საწარმოო პირობებში მასშტაბირების შემდეგ შესაძლოა დანერგილ იქნას წარმოებაში

მიღებული შედეგების აპრობაცია. სადისერტაციო კვლევის შედეგები წარდგენილი იყო: ევროპის აკადემიური მეცნიერებისა და კვლევის კონფერენციზე ჰამბურგში (გერმანია): (Papian & Gagelidze, 2022). სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში ჩატარებული კვლევების ძირითადი შედეგების მიხედვით გამოქვეყნებულია 3 სამეცნიერო სტატია: (პაპიანი, 2022); (Gagelidze, et al., 2024); (Papiani, Amiranashvili, Gagelidze, & Kvesitadze, Technology of a new fermented milk beverage enriched with lactic acid and propionic acid bacteria, 2024).

სადისერტაციო ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა. სადისერტაციო ნაშრომი შედგება შესავალისგან, ლიტერატურის მიმოხილვისგან, ექსპერიმენტული ნაწილისგან (აღწერილია კვლევის ობიექტები და გამოყენებული მეთოდები), შედეგების და მათი განსჯისგან, დასკვნებისა და გამოყენებული ლიტერატურის სიისაგან. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია 19 ცხრილში, 3 ნახაზსა და 13 სურათში. გამოყენებულია 157 ლიტერატურის წყარო. სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს 108 გვერდს.

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების გამოყენების ისტორია და პერსპექტივები

პრობიოტიკები წარმოადგენენ უვნებელ მიკროორგანიზმთა ცოცხალ უჯრედებს, რომლებიც ადამიანის ორგანიზმში ახდენენ ნაწლავის შემადგენელი მიკროფლორის ოპტიმიზაციას, მიკროკოლონიზაციას, ასევე, მასტიმულირებელ გავლენას მასპინძლის საჭმლის მომნელებელ პროცესზე და იმუნიტეტზე. პრობიოტიკურ მიკროორგანიზმებს მიეკუთვნებიან ბიფიდობაქტერიები, რძემჟავა ბაქტერიები, პროპიონმჟავა ბაქტერიები, ძმარმჟავა ბაქტერიები და საფუვრები (Fijan, Jessica, & László, 2021).

პრობიოტიკებზე პირველი კლინიკური კვლევები ჩატარდა გასული საუკუნის დასაწყისში - რძემჟავა ბაქტერიების, როგორც პრობიოტიკების ეფექტის შესასწავლად ყაბზობაზე (Orla-Jensen, The Lactic Acid Bacteria, 1919).

1950-იან წლებში, შეერთებული შტატების სოფლის მეურნეობის დეპარტამენტის მიერ ლიცენზირებული იქნა პრობიოტიკი, როგორც წამალი *Escherichia coli*-თ გამოწვეული ინფექციის სამკურნალოდ ღორებში (Orrhage, Brismar, & Nord, 1994). გასული საუკუნის განმავლობაში, სხვადასხვა მიკროორგანიზმი გამოიყენეს დაავადების პრევენციისა და განკურნების უნარის გამო, რამაც გამოიწვია ტერმინი პრობიოტიკის დამკვიდრება (Lidbeck, Övervik, Rafter, Nord, & Gustafsson, 1992). მანისა და სპოერის აღმოჩენამ, რომ ადამიანებს, რომლებიც *Lactobacillus* sp.-ის ველური შტამებით ფერმენტირებულ იოგურტს სვამდნენ, ჰქონდათ სისხლის შრატის ქოლესტერინის ძალიან დაბალი მაჩვენებლები, გახსნა კვლევის ახალი მიმართულება (Mann & Spoerry, 1974). გილმა და გარნერმა მოზრდილ ადამიანებზე ექსპერიმენტებით აჩვენეს შრატში ქოლესტერინის კონტროლის შესაძლებლობა რძის ფერმენტირებული პროდუქტის გამოყენების პირობებში (Gill & Guarner, 2004). 1994 წელს ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციამ პრობიოტიკები მიიჩნია იმუნური სისტემის თავდაცვისუნარიანობის ამაღლების საშუალებად. პრობიოტიკების გამოყენებას, ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის დროს, მიკრობულ თერაპიას უწოდებენ (Levy, 2000).

მსოფლიოში მრავალი სახეობის ტრადიციული ფერმენტირებული რძის პროდუქტები არსებობს, რომლებშიც პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების მრავალფეროვანი ჯგუფებია გამოყენებული. მათი უმრავლესობა მიეკუთვნება ლაქტობაცილებს (მაგ., *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* და *L. rhamnosus*), ბიფიდობაქტერიებს და პროპიონმჟავა ბაქტერიებს (Bomba, Nemcová, Mudroňová, & Guba, 2002) (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001).

ბოლო პერიოდში ჩატარებულმა კვლევებმა გამოავლინა, რომ პრობიოტიკური თვისებები საფუვრების სხვადასხვა შტამისთვისაცაა დამახასიათებელი (Smith, Baker, Arneborg, & Jespersen, 2015) (Ochangco, et al., 2016) (Kühle, Skovgaard, & Jespersen, 2005). საკვები ან სასმელი პროდუქტების წარმოებისთვის გამოყენებული *Saccharomyces cerevisiae*-ს და *Saccharomyces boulardii*-ის შტამების პრობიოტიკური პოტენციალის შესწავლამ აჩვენა, რომ ისინი ავლენდნენ ტოლერანტობას pH 2.5 და 0.3% Oxgall-ს მიმართ; საკვებიდან გამოყოფილმა *S. cerevisiae*-ს შტამებს შეიძლება ჰქონდეთ პრობიოტიკური თვისებები დაბალი ადჰესიურობის მიუხედავად (16.2-28.0%) (Smith, Baker, Arneborg, & Jespersen, 2015) (Martins, et al., 2012).

პრობიოტიკური მიკროორგანიზმებით ფერმენტირებული რძის პროდუქტები შეიცავენ ბიოაქტიურ მეტაბოლიტებს, რომლებიც ანიჭებენ საბოლოო პროდუქტს არა მხოლოდ საკვებისთვის მნიშვნელოვან თვისებებს (გემო, არომატი, ტექსტურა), არამედ ფუნქციურ საკვებადაც აქცევენ მას. მათ გამოყენებას ფართო პერსპექტივები აქვს კვების მრეწველობაში ადამიანის ჯანმრთელობის გასაუმჯობესებლად, კერძოდ, ისინი დადებითად მოქმედებენ მასპინძლის ნაწლავზე და მიკრობიომზე (ანტიკანცეროგენული, იმუნომოდულაციური და ანტიალერგენული ეფექტი) (Burgos, Fernández, Alférez, Castro, & Aliaga, 2020).

პრობიოტიკური ბაქტერიებითა და პრებიოტიკებით გამდიდრებული საკვები აკმაყოფილებს ფუნქციური საკვების ყველა მოთხოვნას. ეფექტური დიეტური სტრატეგიების ძიებაში, საკვების ახალი კლასი, ფუნქციური საკვები გაჩნდა და ამის შედეგად მრავალი ახალი ტერმინიც შემოვიდა, როგორებიცაა პრობიოტიკები, პრებიოტიკები და FOSHU (Foods for Specified Health Uses). ტერმინი ფუნქციური საკვები წარმოიშვა იაპონიაში 1980-იან წლებში, რომლის მრავალი განმარტება

არსებობს, თუმცა, ზოგადად, ფუნქციური საკვები აღწერილია, როგორც ჯანმრთელობის ხელშემწყობი საკვები (Rogelj, 2000).

ცნობილია ფუნქციური საკვების 3 შესაძლო ფორმა:

1. საკვები, რომელსაც დაემატა ფუნქციური ინგრედიენტი სხვა საკვებიდან,
2. საკვები, რომელსაც დაემატა საკვების ახალი ფუნქციური ინგრედიენტი,
3. სრულიად ახალი საკვები, რომელიც შეიცავს ერთ ან რამდენიმე ფუნქციურ ინგრედიენტს (Pariza, 1999).

ფერმენტირებული საკვები ზოგადად განიხილება, როგორც ფუნქციური საკვები. ფერმენტირებული საკვებისა და სასმელების დიდი ასორტიმენტი სულ უფრო ფართოდ ხელმისაწვდომი ხდება, მათ შორის ფერმენტირებული რძის პროდუქტები, ბოსტნეული, ხილი და ჩაი (Shiby & Mishra, 2013).

ცოცხალი მიკროორგანიზმებით წარმოდგენილი ფერმენტირებული საკვების მაგალითებია: იოგურტი, არაჟანი, კეფირი, ყველის უმეტესობა, Natto (ტრადიციული იაპონური საკვები, რომელიც მზადდება ფერმენტირებული სოიოსგან), კიმჩი, ფერმენტირებული ძეხვეული, ფერმენტირებული მარცვლეული, Boza (ფერმენტირებული სასმელი), კომბუჩას უმეტესობა, რამდენიმე სახეობის ლუდი (Marco, et al., 2021); (Pyo, Kwon, & Jung, 2024).

ფერმენტირებული რძის პროდუქტები მაღალი კვებითი ღირებულებით რძის მრეწველობის მარგალიტია. ფერმენტაციის დროს ფერმენტირებული რძის პროდუქტებში წარმოიქმნება ბიოაქტიური ნაერთები და ბაქტერიებისგან მიღებული მეტაბოლიტები (Saleem, et al., 2024).

პრობიოტიკები განიხილება როგორც ანტიდიაბეტური, ანტიჰათოგენური, ანთების და სიმსუქნის საწინააღმდეგო, ანტიალერგიული, ანგიოგენური და კიბოს საწინააღმდეგო თვისებების მატარებლები. პრობიოტიკებს ასევე შეუძლიათ გარკვეული გენების გააქტიურება ლოკალიზებულ მასპინძელ უჯრედებში, სტიმულირება, შეცვლა და რეგულირება. ისინი გავლენას ახდენენ კუჭ-ნაწლავის ჰორმონების გამოყოფაზე და არეგულირებენ ტვინის ფუნქციონირებას ორმხრივი ნერვული სიგნალის საშუალებით (Leeuwendaal, Stanton, O'Toole, & Beresford, 2022).

1.2. რძემჟავა ბაქტერიები და მათი ბიოტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებები

რძემჟავა ბაქტერიები (LAB - Lactic Acid Bacteria) ბაქტერიების მრავალფეროვანი ჯგუფია, რომლებიც ახდენენ გლუკოზის ფერმენტაციას რძემჟავად ან რძემჟავად, მმარმჟავად, ნახშირორჟანგად, ეთანოლად და სხვ. რძემჟავა ბაქტერიების ბუნებრივ ჰაბიტატებს წარმოადგენს რძე და რძის პროდუქტები, მცენარეების მიწისზედა ნაწილები და ფერმენტირებული საკვები პროდუქტები. ისინი წარმოადგენილნი არიან, აგრეთვე, ადამიანისა და ცხოველების საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში. კაცობრიობის მიერ რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენება ხდებოდა უხსოვარი დროიდან საკვების ვარგისიანობის გასახანგრძლივებლად. ისინი ბაქტერიების ყველაზე მნიშვნელოვანი ჯგუფია, რომლებიც ხელს უწყობენ მრავალი რძის პროდუქტის გემოსა და ტექსტურის ჩამოყალიბებას. მათ შორისაა: იოგურტი, არაჟანი, ყველი, კარაქი და სხვ. ეს პროდუქტები გამოიყენება ადამიანის მიერ ჯანმრთელობაზე მათი სასარგებლო ეფექტის მისაღწევად (Kazou, 2022).

რძემჟავა ბაქტერიების (LAB) გამოყენების მეთოდი და ფორმები ასევე მრავალგვარია: ისინი იწარმოება საკვები პროდუქტების, მედიკამენტების, საკვები დანამატების და ა.შ. სახით. რძემჟავა ბაქტერიების მოხმარების ზოგიერთი სასარგებლო ეფექტი მოიცავს: ნაწლავის ჯანმრთელობის გაუმჯობესებას, იმუნური სისტემის გაძლიერებას, საკვები ნივთიერებების ბიოშედლწევადობის გაძლიერებას, ლაქტოზას აუტანლობის სიმპტომების შემცირებას, მგრძნობიარე ადამიანებში ალერგიის საფრთხის შემცირებას, სიმსივნის რისკის შემცირებას და სხვ. პრობიოტიკების ზეგავლენის მექანიზმები ჯერ კიდევ ბოლომდე არაა შესწავლილი, მაგრამ შეიძლება მოიცავდეს ნაწლავის pH-ის მნიშვნელობის შეცვლას, პათოგენების ანტაგონიზაციას ანტიმიკრობული ნაერთების გამომუშავების გზით, ასევე საკვები ნივთიერებების ხელმისაწვდომის გაზრდას ფერმენტების (მაგ., ლაქტაზას) წარმოქმნით და იმუნომოდულატორული უჯრედების სტიმულირებას. შესწავლილია პრობიოტიკების შერჩევის კრიტერიუმები, ეფექტურობა, საკვებში და დანამატებში მათი გამოყენების წყაროები და უსაფრთხოების საკითხები. სამეცნიერო კვლევები მეტყველებს პრობიოტიკების, როგორც ადამიანისა და ცხოველების ჯანსაღი დიეტის შემადგენელი ნაწილის მნიშვნელოვან როლზე

ჯანმრთელობის შენარჩუნებასა და დაავადების პრევენციაში; პრობიოტიკები შესაძლოა უსაფრთხო ბარიერს ქმნიდნენ მიკრობული ინფექციების გამომწვევების წინააღმდეგ (Parvez S. , Malik, Kang, & Kim, 2006).

რძემჟავა ბაქტერიებზე ჩატარებულმა კვლევებმა დაადასტურა, რომ პრობიოტიკური თვისებების მქონე კონკრეტული შტამები უნიკალურ მახასიათებლებს ანიჭებენ საკვებ პროდუქტებს; ისინი აღიარებულია როგორც უსაფრთხო და ფართოდ გამოიყენება არა მარტო რძის, არამედ სხვადასხვა ტიპის პროდუქტების წარმოებაში (ხორც- და თევზპროდუქტების მრეწველობა, ბოსტნეულის და ხილის ბიოლოგიური კონსერვაცია, ღვინის წარმოება, პურის ცხობა, ფერმენტირებული წველების მიღება და სხვ.) (Venugopalan, Shriner, & Wong-Beringer, 2010). რძემჟავა ბაქტერიები ასევე ქმნიან ხელსაყრელ გარემოს პროპიონმჟავა ბაქტერიების გასამრავლებლად.

რძემჟავა ბაქტერიები (LAB) არიან ძალიან მნიშვნელოვანი სამრეწველო მიკროორგანიზმები, რომლებიც გამოიყენება მთელს მსოფლიოში. საკვები პროდუქტების სამრეწველო დუდილის, ხორცის, პარკოსნებისა და სასმელების წარმოებაში, ასევე ფუნქციური საკვების მისაღებად.

რძემჟავა ბაქტერიები განიხილება იმ მიკროორგანიზმებად, რომლებსაც აქვთ უსაფრთხოების პრეზუმფციის (QPS) სტატუსი და/ან ზოგადად აღიარებული არიან, როგორც უსაფრთხო (GRAS) (Grand View Research. Probiotics market worth \$95.25 billion by 2028 | CAGR: 7.2%., 2021).

რძემჟავა ბაქტერიების, როგორც პრობიოტიკების გამოყენება დაავადების პროფილაქტიკისა და მკურნალობისთვის იყო მამოძრავებელი ძალა ბუნებრივად ფერმენტირებულ რძეში ნაპოვნი ახალი პოტენციური პრობიოტიკების აღმოჩენის უკან. პრობიოტიკებს, როგორებიცაა რძემჟავა ბაქტერიები და ბიფიდობაქტერიები, რომლებიც გვხვდება ფერმენტირებულ რძის პროდუქტებში, ჯანმრთელობისთვის მრავალი სარგებლის მოტანა შეუძლიათ (Saleem, და სხვ., 2024).

პრობიოტიკური აქტივობის გარდა, რძემჟავა ბაქტერიებს შეუძლიათ წარმოქმნან სხვადასხვა ბიოლოგიურად აქტიური მეტაბოლიტები, როგორებიცაა γ-ამინობუტერინის მჟავა (GABA), ეგზოპოლისაქარიდები (EPS), კონიუგირებული

ლინოლეინის მჟავა (CLA) და ბაქტერიოცინები. სუბსტრატიდან მიღებული ბიოაქტიური ნაერთები, რომლებიც წარმოიქმნება რძემჟავა დუდილის დროს, მოიცავს პოლიფენოლებს, ბიოაქტიურ პეპტიდებს და ცხიმოვან მჟავებს (Abedin, et al., 2023).

ფერმენტაციის პროცესის დროს, რძემჟავა ბაქტერიების (LAB) მრავალფეროვანი სპექტრი (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* და *Lactococcus*) გამოიყენება ფერმენტირებული რძის პროდუქტების შესაქმნელად, რომელთაც აქვს სპეციფიკური სასურველი ტექნოლოგიურ-ფუნქციური მახასიათებლები (Sharma, Ozogul, Bartkienec, & Rocha, 2021).

კვების მრეწველობაში, მეტად მნიშვნელოვანია რძემჟავა ბაქტერიების (LAB) ტექნოლოგიური მახასიათებლები, რომელიც მოიცავს მჟავიანობის, პროტეოლიზურ და ლიპოლიტურ ფუნქციებს და სხვა ბიოქიმიურ აქტივობებს. ეს პროცესები მოიცავს ანტიმიკრობული საშუალებების ეგზოპოლისაქარიდების სინთეზს, რომლებიც აუმჯობესებენ სენსორულ თვისებებს და აძლიერებენ სურსათის უვნებლობას.

LAB ასევე ცნობილია თავისი ანტიოქსიდანტური შესაძლებლობებით, რაც ხელს უწყობს კვების პროდუქტებში ჟანგვითი რეაქციების შემცირებას და მათი ფუნქციური თვისებების გააუმჯობესებას. ცნობილია LAB-ის, როგორც პრობიოტიკური მოქმედების როლი ადამიანის კუჭ-ნაწლავის ჯანმრთელობაზე, იმუნური სისტემის მოდულაციაზე და ქოლესტერინის კონტროლზე. პრობიოტიკური LAB-ების ეფექტურ წარმოებას და გამოყენებას აფერხებს შტამების სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება შენახვისა და ტრანსპორტირების დროს და მათი ეფექტურობის უზრუნველყოფა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში.

ყველაზე მნიშვნელოვანია მათი როლი რძემჟავას დუდილის პროცესში. ეს პროცესი არა მხოლოდ ამჟავებს პროდუქტს, ასევე ზრდის აუცილებელი ისეთი საკვები ნივთიერებების ბიოშედწევადობას, როგორებიცაა ვიტამინები, მინერალები და ანტიოქსიდანტური მოლეკულები, რაც ორგანიზმს საშუალებას აძლევს უკეთ აითვისოს საკვები ნივთიერებები და ბიოაქტიური ნაერთები. გარდა ამისა, LAB-ები მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს ფერმენტირებული საკვების ტექსტურის, გემოსა და

არომატის ჩამოყალიბებას, რაც მნიშვნელოვნად ამდიდრებს სენსორულ თვისებებს და აღნიშნული პროდუქტების კვების ღირებულებას. უფრო მეტიც, LAB-ების გამოყენება არის ეფექტური ბუნებრივი მეთოდი საკვების შესანარჩუნებლად, შენახვისა და შენახვის ვადის გახანგრძლივებისთვის. გარდა მათი ტექნოლოგიური უპირატესობებისა, LAB-ები ასევე ფასდება მათი პრობიოტიკური თვისებებით. ისინი გადამწყვეტ როლს ასრულებენ ნაწლავების ჯანმრთელობის გასაუმჯობესებლად, საჭმლის მონელების ხელშეწყობაში ნაწლავის დაბალანსებული მიკრობიოტას შენარჩუნებით, რაც აუცილებელია ნაწლავის ძლიერი იმუნიტეტისთვის (Hakim, Xuan, & Oslan, 2023).

1.2.1. რძემჟავა ბაქტერიების კლასიფიკაციის ძირითადი პრინციპები

ორლა იენსენის მონოგრაფიამ საფუძველი ჩაუყარა რძემჟავა ბაქტერიების კლასიფიკაციას. კლასიფიკაციის ეს სისტემა მოიცავდა უჯრედის მორფოლოგიას, სხვადასხვა შაქრის ფერმენტაციის უნარსა და ზრდის ტემპერატურულ დიაპაზონს (Orla-Jensen, The Lactic Acid Bacteria, 1919).

ლაქტობაქტერიების ჯგუფში შედის, როგორც ჩხირის ფორმის, ასევე კოკის ფორმის ბაქტერიები. რძემჟავა ბაქტერიებისთვის დამახასიათებელია კატალაზა-ნეგატიური და ოქსიდაზა-ნეგატიური რეაქცია, მაგრამ უკანასკნელ წლებში აღწერილ იქნა ამ თვისებების მიხედვით ზოგიერთი ატიპური შტამი. რძემჟავა ბაქტერიებს ფერმენტ კატალაზას არქონის მიუხედავად შეუძლია გაიზარდოს ჟანგბადის არსებობის პირობებშიც. კატალაზას როლს ასრულებს ფერმენტი პეროქსიდაზა. ბაქტერიები ენერგიას ღებულობენ რძემჟავა დუღილის შედეგად. ლაქტობაქტერიების უმრავლესობა (განსაკუთრებით ლაქტობაცილები), თავიანთი განვითარებისათვის ვიტამინებს საჭიროებს. ბაქტერიების ამ ჯგუფისათვის აგრეთვე დამახასიათებელია მაღალი რეზისტენტულობა ერთატომიანი სპირტების მიმართ, რაც იმით აიხსნება, რომ ხანგრძლივი ევოლუციის პროცესში ლაქტობაქტერიებს, საფუვრებთან ერთად ერთი და იმავე ბუნებრივ და საწარმოო სუბსტრატებში უხდებოდათ ზრდა-განვითარება (Quinto, et al., 2014).

ნახშირწყლების დუღილის უნარის მიხედვით, რძემჟავა ბაქტერიები ასევე, შეიძლება კლასიფიცირდეს ჰომოფერმენტულ ან ჰეტეროფერმენტულ ორგანიზმებად. ჰომოფერმენტირებული რძემჟავა ბაქტერიები, როგორებიცაა - *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* და *Streptococcus*, შაქრების ფერმენტაციის თითქმის ერთადერთ პროდუქტად წარმოქმნიან რძემჟავას, ხოლო ჰეტეროფერმენტულები, რომლებსაც მიეკუთვნებიან *Leuconostoc*, *Wiessella* და ზოგიერთი ლაქტობაცილი წარმოქმნიან რძემჟავას, ეთანოლს, ნახშირორჟანგს და სხვ. (Zheng, et al., 2020).

რძემჟავა ბაქტერიების კლასიფიკაცია თავდაპირველად თუ ეფუძნებოდა მორფო-ფიზიოლოგიურ და ბიოქიმიურ მახასიათებლებს, დღეისათვის, მოლეკულური დახასიათება გახდა მნიშვნელოვანი ინსტრუმენტი რძემჟავა ბაქტერიების კლასიფიკაციისა და იდენტიფიკაციისათვის (Bintis, 2018) (Mokoena M. , 2017). სხვადასხვა ავტორის მიხედვით არსებობს არაერთი მოსაზრება LAB-ის უნარის შესახებ, დათრგუნოს პათოგენური მიკროორგანიზმების ზრდა, მიკოტოქსინების დაშლის უნარი, მათი პრობიოტიკური შესაძლებლობები, აგრეთვე LAB-ის იზოლატების უჯრედებისგან თავისუფალი ექსტრაქტების ანტიმიკრობული აქტივობა სხვადასხვა წყაროდან (Naidu, Bidlack, & Clemens, 2010).

1.2.2 რძემჟავა ბაქტერიების ბიოქიმიური თვისებები

რძემჟავა ბაქტერიები გაერთიანებული არიან ერთ ჯგუფში ნახშირწყლების დუღილისა და ამ პროცესში უპირატესად რძემჟავას წარმოქმნის გამო. მეტაბოლიზმის სხვა პროდუქტებთან ერთად წარმოიქმნება ძმარმჟავა, ეთანოლი, ნახშირორჟანგი, არომატული ნივთიერებები (აცეტალდეჰიდი, დიაცეტილი), ორგანული მჟავები, ეგზოპოლისაქარიდები, ანტიმიკრობული ნაერთები და სხვ. ეს ნივთიერებები ხელს უწყობს გემოს, ტექსტურის და არომატის ცვლილებებს, რაც, თავის მხრივ, იწვევს პროდუქტის უნიკალური ორგანოლეპტიკური მახასიათებლების ჩამოყალიბებას (Quinto, et al., 2014).

ბევრი ტრადიციული საკვები შეიქმნა რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენებით, რომლებიც აუმჯობესებენ პროდუქტის მახასიათებლებს და ანიჭებენ თვისებებს,

რაც ზრდის მომხმარებლის ინტერესს. რძემჟავა ბაქტერიებით ფერმენტირებული საკვები პროდუქტია კეფირი, ყველი, კარაქი, იოგურტი, ხაჭო, მაწონი, კუმისი, ბოსტნეული, მჟავე კომბოსტო, ხილის წვენები და სხვ. (Gupta, Jeevaratnam, & Amrin, 2018) (Tkesheliadze, Gagelidze, Sadunishvili, & Herzig, 2023). დუდილის დროს ისინი წარმოქმნიან ორგანულ მჟავებს და სხვა მეტაბოლიტებს, რომლებიც აძლიერებენ საკვების გემოს განვითარებას, ხელს უშლიან გაფუჭებას და, შესაბამისად, კვების და რძის მრეწველობაში მნიშვნელოვანი ადგილი უკავიათ.

ფერმენტირებული საკვების წარმოებაში და მათი გემოს განვითარებაში LAB-ის მონაწილეობით 3 ძირითადი პროცესი მიმდინარეობს: 1. გლიკოლიზი (შაქრების დუდილი); 2. პროტეოლიზი (ცილების დაშლა) და 3. ლიპოლიზი (ცხიმების დეგრადაცია). LAB-ების ფიზიოლოგიური, ბიოქიმიური და სრული გენომის თანმიმდევრობის შესწავლის საფუძველზე გამოჩნდა ახალი პერსპექტივები ამ ბაქტერიების სხვადასხვა კომერციულ სტარტერებზე; ბიობაზარზე გამოვიდა ფუნქციური, დამცავი და პრობიოტიკური კულტურების გამოყენებით მიღებული სასურველი თვისებების მქონე პროდუქტები (Bintis, 2018).

კვების მრეწველობაში რძის პროდუქტების ფერმენტაციას ძირითადად რძემჟავა ბაქტერიების კონსორციუმებით ახდენენ. ამ ჯგუფში გაერთიანებულია 10 გვარი: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, რომელთა შორის განსაკუთრებით ფართო გამოყენებით სარგებლობს *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, შემოკლებით *Lactobacillus bulgaricus*, რომლის აღმომჩენად ითვლება ბულგარელი მიკრობიოლოგი სტამენ გრიგოროვი; მან 1905 წელს ჟენევაში პროფესორ მასოლეს ლაბორატორიაში გამოყო ეს სახეობა ბულგარული იოგურტიდან, რის გამოც მიკროორგანიზმს ბულგარეთის სახელი დაერქვა (History of Bulgarian Yogurt).

S. thermophilus არის ერთ-ერთი ასევე ფართოდ გამოყენებული ბაქტერია რძის მრეწველობაში. USDA-ს 1998 წლის სტატისტიკამ აჩვენა, რომ *S. thermophilus*-ისგან 1,02 მილიარდ კილოგრამზე მეტი მოცარელას ყველი და 621 მილიონი კილოგრამი იოგურტი იწარმოებოდა (Agricultural Statistics, 1997-1998)

S. thermophilus გამოიყენება იოგურტის დასამზადებლად. იგი რძეში შემავალ შაქარს, ლაქტოზას გარქმნის რძემჟავად, რომლის რაოდენობის ზრდა რძეს აქცევს იოგურტისთვის დამახასიათებელ სტრუქტურად. (Shori, Baba, & Muniandy, 2019); (Linares, O'Callaghan, O'Connor, Ross, & Stanton, 2016).

ლაქტოზის გარდაქმნა რძემჟავად იწვევს ისეთ ბიოქიმიურ ცვლილებებს, როგორიცაა ცილის შეთვისების მაღალი მაჩვენებელი, ცხიმოვანი მჟავების და სხვადასხვა ბიოაქტიური ნივთიერების გამოთავისუფლება და სხვ. ასეთი მეტაბოლიტების ბიოლოგიური როლი, განაპირობებს რძის პროდუქტების ტექნოლოგიური პროცესების გაუმჯობესებას და მწარმოებლებისა და მომხმარებლების სასურველი პროდუქტის შექმნას (Sharma, Ozogul, Bartkienec, & Rocha, 2021).

1.2.3 რძემჟავა ბაქტერიების მდგრადობა დაბალი pH-ის და ნაღვლის მარილების მიმართ

ცნობილია, რომ პრობიოტიკურ მიკროორგანიზმებს შეუძლიათ ცხოვრება და ცხოველქმედება დაბალ pH-ზე და ნაღვლის მჟავების მაღალ კონცენტრაციაზე, ასევე საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში არსებულ სხვა არასასურველ პირობებში. პრობიოტიკები უნდა აკმაყოფილებდნენ ასეთ მოთხოვნებს. რძის პროდუქტები, ჩვეულებრივ, გამოიყენება, როგორც სატრანსპორტო საშუალება ამ პროდუქტებში არსებული ბაქტერიებისათვის, რომლებიც წარმოდგენილია ძირითადად რძემჟავა ბაქტერიებით. მომხმარებელთა მოთხოვნიდან გამომდინარე, კვების მრეწველობა მუდმივად ახორციელებს ახალ კვლევებს ახალი ბაქტერიული შტამების მოსაძიებლად და მათი სასარგებლო თვისებების გამოსავლენად, მათი პოტენციური გამოყენების მიზნით (Rodriguez-Rodriguez & Vera-Peña, 2020).

მჟავე პირობები ოპტიმალურია აციდოფილებისთვის, რომლის მთავარი მიზეზი უჯრედის ადაპტაციაა მჟავე pH-ის მიმართ. აციდოფილებიდან მიღებული მრავალი უჯრედგარე ფერმენტი ფუნქციონირებს გაცილებით დაბალ pH-ზე, ვიდრე ციტოპლაზმური pH-ია (Sharma, Kawarabayasi, & Satyanarayana, 2011). აციდოფილები, ძირითადად მცხოვრები ნეიტალური pH-ის ქვემოთ იყოფა

ქვეჯგუფებად: აციდოტოლერანტებს შეუძლიათ იცხოვრონ pH 5.0-ზე მაღლა, ექსტრემალური აციდოფილებისთვის ოპტიმალური pH 3.0 ან უფრო დაბალია, ზომიერი აციდოფილებისთვის - pH 3.0-დან 5.0-მდეა, ხოლო ჰიპერ-აციდოფილებისთვის - pH 1.0-ზე ქვემოთ (Johnson & Quatrini, 2020). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* აციდოფილური ბაქტერიაა. ოპტიმალურ ტემპერატურულ დიაპაზონში 43-დან 46 °C-მდე მისი ეფექტური ზრდისთვის საჭიროა დაბალი pH (დაახლოებით 5.4–4.6) (Lorenzo, et al., 2018).

რძიდან გამოყოფილი ბუნებრივი რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური თვისებების მიხედვით სკრინინის შედეგად გამოვლინდა დაბალი pH-ის და ნაღვლის მარილების მიმართ რეზისტენტული 13 შტამი, რომლებიც ინარჩუნებდნენ სიცოცხლისუნარიანობას კუჭის (3 სთ) და ნაწლავის (4 სთ) სიმულაციურ (*in vitro*) პირობებში (Colombo, Castilho, Todorov, & Nero, 2018); (Soliman, Sharoba, Bahlol, Soliman, & Radi, 2015).

რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა გრძელდება მანამ, სანამ აქვთ ნახშირწყლები, ამინომჟავები და სხვა საკვები ნივთიერებები და ტოქსიკური ან მაინჰიბირებელი ნაერთები, მაგ., წყალბად-იონთა კონცენტრაცია, შენარჩუნებულია იმ დონეზე, რომელსაც კონკრეტული შტამი უძლებს. მაგ., მიუხედავად იმისა, რომ რძემჟავა ბაქტერიები ხშირად შეიძლება გამოყოფილი იყოს მჟავე ჰაბიტატებიდან, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus* რძეში რჩება, ვიდრე pH არ მიაღწევს დაახლოებით 4.5-ს (Dillon, Natural Anti-Microbial Systems | Preservative Effects During Storage, 2014). რძის პროდუქტების სტარტერებად გამოყენებულ რძემჟავა ბაქტერიებს შორის მხოლოდ ლაქტობაცილები იზრდება მჟავა pH-ზე, თუმცა მათთვისაც ოპტიმალურია pH 5.5-5.8 (Adamberg, Kask, Laht, & Paalme, 2003).

1.2.4. რძემჟავა ბაქტერიების ბაქტერიოცინები და მათი გამოყენება ბიოკონსერვაციაში

უძველესი დროიდან რძემჟავა ბაქტერიები ფართოდ გამოიყენებოდა საკვების გადამუმჟავებაში და ბევრ ფერმენტირებულ საკვებში, ჯანმრთელობის

სარგებელთან ერთად მათ მიერ კონსერვანტების წარმოქმნის გამო. რძემჟავა ბაქტერიები გამოყოფენ ბაქტერიოცინებს, რომლებიც განიხილება, როგორც უსაფრთხო საკვები დანამატები და ბუნებრივი კონსერვანტები და სასარგებლოა საჭმლის მომნელებელი სისტემისთვის. ბაქტერიოცინოგენურ კულტურებს განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვთ, როგორც ინგრედიენტებს ფერმენტირებულ და არაფერმენტირებულ საკვებში სტარტერულ კულტურებად გამოსაყენებლად (Jeevaratnam, Jamuna, & Bawa, 2005).

ბაქტერიოცინები წარმოადგენენ პეპტიდებს, რომელთა მოლეკულური წონა მერყეობს 2-დან 35 kDa-მდე. ისინი ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ფიზიკო-ქიმიური მახასიათებლებით და ბიოლოგიური აქტივობით. ბაქტერიოცინების ანტაგონისტური აქტივობის გამოვლენაზე გავლენას ახდენს ტემპერატურა, pH, გარემოს შემადგენლობა და პირობები, Ca^{2+} და Mg^{2+} იონები და სხვ. (Foulquié Moreno, Sarantinopoulos, Tsakalidou, & Vuyst, 2006); (Minahk & Morero, 2003); (Berghe, Winter, & Vuyst, 2006).

ბაქტერიოცინებს ახასიათებს განსხვავებული მგრძნობელობა ტემპერატურის მიმართ: ზოგი ინაქტივირდება 48-50 °C ტემპერატურაზე, სხვები უძლებენ 60-70 °C ტემპერატურას მოკლე ხნის განმავლობაში, ზოგი კი აქტიური რჩება 100 °C ტემპერატურაზეც კი. სხვადასხვა კვლევის მიხედვით, ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების, ამინომჟავური შედგენლობის, ელიმინაციის გზებისა და ანტიმიკრობული მოქმედების სპექტრის მიხედვით განასხვავებენ I, II, და III კლასის ბაქტერიოცინებს (Foulquié, Sarantinopoulos, & Tsakalidou, 2006) (Marques & Suzart, 2004) (Drider, Fimland, Héchard, McMullen, & Prévost, 2006); (Mokoena M. P., Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens, 2017).

ბაქტერიოცინების პირველი კლასი მოიცავს ლანტიბიოტიკებს, დაბალი მოლეკულური წონის ჰიდროფობურ, სითბოს მიმართ მდგრად პეპტიდებს. ამ ჯგუფში შედის ნიზინები (E234), რომლებსაც წარმოქმნის *Lactococcus lactis* (Joo, Ritchie, Kamarajan, Miao, & Kapila, 2012).

პირველ ჯგუფში შედის აგრეთვე ეპიდერმინი, გალიდერმინი, რომელთა პროდუცენტია *St. gallinarum*, ასევე სუბტილინი (პროდუცენტი - *Bacillus Subtilis*) (Morero & Minahk, 2003).

ბაქტერიოცინების ამავე კლასს მიეკუთვნება ნიზინი, რომელიც უძლებს 120 °C ტემპერატურას აქტივობის დაკარგვის გარეშე. ნიზინს ახასიათებს ბაქტერიციდული მოქმედება გრამდადებით მიკროორგანიზმებზე: სხვადასხვა სეროლოგიური ჯგუფის სტრეპტოკოკებზე, სტაფილოკოკებზე, პნევმოკოკებზე, მიკობაქტერიებზე, სპოროგენულ აერობულ და ანაერობულ ბაქტერიებზე (Oscáriz & Pisabarro, 2001) (Saavedra, Minahk, Ruiz Holgado, & Sesma, 2004).

აღსანიშნავია, რომ ნიზინი არის კომერციულად სუფთა სახით წარმოებული ერთადერთი ხელმისაწვდომი ბაქტერიოცინი. ბაქტერიოცინ ნიზინს (E234) აქვს GRAS სტატუსი და აღიარებულია, როგორც უსაფრთხო, გამოიყენება პროდუქციის შენახვის ვადის გასაზრდელად და 50 წელზე მეტია მსოფლიოს მამუტებით ფართოდ გამოიყენება კვების მრეწველობაში (Dillon, Natural Anti-Microbial Systems | Preservative Effects During Storage, 2014); (Ziarani, Tohidfar, & Mirjalili, 2023). ნიზინს აქვს მნიშვნელოვანი კომერციული ღირებულება, რადგან ის, ჩვეულებრივ, ემატება როგორც ინგრედიენტი რძესა და რძის პროდუქტებს, მაიონესს, დაკონსერვებულ საკვებსა და ჩვილ ბავშვთა საკვებს (Quinto, et al., 2019).

ბაქტერიოცინების უმეტესობა მიეკუთვნება II კლასს. ისინი დაბალი მოლეკულური წონის თერმოსტაბილური პეპტიდებია; იწვევენ ციტოპლაზმური მემბრანის დაზიანებას როგორც გრამ-დადებით, ასევე, გრამ-უარყოფით ბაქტერიებში (Yang, Lin, Sung, & Fang, 2014); (Drider, Fimland, Héchard, McMullen, & Prévost, 2006); (Balla, Dicks, Toit, Van Der Merwe, & Holzapfel, 2000); (Minahk & Morero, 2003).

III კლასის ბაქტერიოცინები ტემპერატურის მიმართ მგრძნობიარე ცილებია, რომელთა მოლეკულური წონა აღემატება 30 kDa-ს. ბაქტერიოცინები, ანტიბიოტიკებისგან განსხვავებით, მთლიანად იშლება ორგანიზმში და მათ მიერ გამოწვეული გართულებების აღბათობა მინიმალურია (Mokoena M. P., Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens, 2017).

1.2.5 რძემჟავა ბაქტერიების მდგრადობა ანტიბიოტიკების მიმართ

ანტიმიკრობული რეზისტენტობა კაცობრიობის უსაფრთხოების მთავარი საზრუნავია. მიერ ჩატარებული კამპანიებმა აამაღლებს ცნობიერება ამ საკითხის შესახებ. ჯანმო-ს (WHO) პარტნიორებმა, სურსათისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციამ (FAO), აშშ-ს სურსათისა და წამლების ადმინისტრაციამ (FDA) და ევროპის სურსათის სააგენტოს უვნებლობის სააგენტომ (EFSA) და სხვ., 2017 წელს წამოიწყეს მსოფლიო კამპანია ანტიმიკრობული რეზისტენტობის შესახებ ცნობიერების ასამაღლებლად (Global action plan on antimicrobial resistance, 2016) (Food and Agriculture Organization, 2020). ჯანმო რეკომენდაციას აძლევს ფერმერებს, შეწყვიტონ ანტიბიოტიკების გამოყენება ჯანმრთელ ცხოველებში, რათა შეინარჩუნონ იმ ანტიბიოტიკების ეფექტურობა, რომლებიც ამჟამად გამოიყენება ადამიანის ჯანმრთელობის შესანარჩუნებლად.

ანტიმიკრობული რეზისტენტობის შემენა შეიძლება მოხდეს, როდესაც მიკროორგანიზმები (ბაქტერიები, სოკოები, ვირუსები და პარაზიტები) მუდმივად ექვემდებარებიან ანტიმიკრობულ საშუალებებს (ანტიბიოტიკები, ანტივირუსული პრეპარატები, სოკოს საწინააღმდეგო საშუალებები და ა.შ). ყოველწლიურად 700 000-ზე მეტი ადამიანი იღუპება ანტიმიკრობული რეზისტენტობის გამო; ვარაუდობენ, რომ 2050 წლისთვის ეს მაჩვენებელი გაიზრდება წელიწადში 10 მილიონამდე (Antimicrobial Resistance, n.d.).

ანტიბიოტიკები ძირითადი საშუალებებია, რომელთაც ჯანდაცვის ინდუსტრია იყენებს ბაქტერიულ ინფექციებთან საბრძოლველად; ამავდროულად ბაქტერიები სწრაფად ადაპტირებადი არსებები არიან და შეუძლიათ შეიძინონ რეზისტენტობა ანტიბიოტიკების მიმართ. ათწლეულების განმავლობაში ანტიბიოტიკების არასწორმა გამოყენებამ გამოიწვია ბაქტერიების რეზისტენტობა მრავალი თანამედროვე ანტიბიოტიკის მიმართ, რამაც შეიძლება მნიშვნელოვანი საფრთხე შეუქმნას ბაქტერიული ინფექციებით დაავადებული ადამიანებს. კვლევები ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გავრცელების შესახებ ძირითადად ეხებოდა კლინიკურ შტამებს (Mathur & Singh, 2005).

კომენსალური მიკროორგანიზმები, მათ შორის რძემჟავა ბაქტერიები (LAB) შესაძლოა იყვნენ ანტიბიოტიკული რეზისტენტობის გენების მატარებლები, რომელთა გადატანაც შესაძლებელია პათოგენურ ბაქტერიებზე. ერითრომიცინის, ტეტრაციკლინისა და ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტობის განმაპირობებელი R-პლაზმიდებში ლოკალიზებული გენები აღმოჩენილი და დახასიათებული იყო *Lactococcus lactis*-ის, *Enterococcus*-ის და *Lactobacillus*-ის სხვადასხვა სახეობაში, რომლებიც იზოლირებული იყო ფერმენტირებული ხორცისა და რძის პროდუქტებიდან (Vescovo, Morelli, & Bottazzi, 1982); (Ahrné, Molin, & StÅhl, 1989).

ზოგადად, გარდა პლაზმიდისა, რეზისტენტობის განმაპირობებელი გენები ერთი ბაქტერიიდან მეორეში შეიძლება ჰორიზონტალურად გადავიდეს ტრანსდუქციით (ბაქტერიოფაგების მეშვეობით) ან ტრანსფორმაციის გზით (როცა ბაქტერიის უჯრედში შედის სხვა მიკროორგანიზმიდან გამოთავისუფლებული დნმ), თუმცა, რეზისტენტობის შემენის მთავარი მექანიზმი არის უჯრედთან პირდაპირი კონტაქტი ანუ კონიუგაცია სხვადასხვა გვარის ბაქტერიებს შორის (Kapoor, Saigal, & Elongavan, 2017); (Yenizey, Cisneros, & Alquicira, 2018); (Shao, et al., 2015).

მსოფლიოს სხვადასხვა ორგანიზაციამ დაიწყო ფართო კვლევები დედობის (სტარტერი კულტურების) და პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების ბიოუსაფრთხოების პრობლემების გადასაჭრელად. რძემჟავა ბაქტერიები ითვლება ბუნებრივად რეზისტენტულად ზოგიერთი ანტიბიოტიკის მიმართ და შეიძლება ჰქონდეს პოტენციური შეიძინოს რეზისტენტობა სხვა ანტიმიკრობული საშუალებების მიმართ ან გაავრცელოს რეზისტენტობა ცხოველებისა და ადამიანების კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში არსებულ პათოგენებში (Preethi, Thumu, & Halami, 2017); (Amiranashvili, et al., 2016).

1.3. პროპიომჟავა ბაქტერიების ბიოტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებები

2001 წელს, მსოფლიოს ჯანდაცვის ორგანიზაციის და გაეროს სურსათის და სოფლის მურნეობის ორგანიზაციის (WHO/FAO) მიერ შემოთავაზებულ იქნა პრობიოტიკების ზუსტი დეფინიცია, სადაც პრობიოტიკური კულტურები

განისაზღვრა როგორც ცოცხალი მიკროორგანიზმები, რომელთა ადეკვატური რაოდენობით მიღებისას, ჯანმრთელობისთვის სასარგებლო ეფექტი მიიღწევა (Hill, et al., 2014). მიკროორგანიზმების უმეტესობა, რომლებიც ამჟამად გამოიყენება როგორც პრობიოტიკები მოიცავს *Lactobacillus*-ისა და *Bifidobacterium*-ის ნაწლავურ შტამებს, სხვა ნაწლავის მიკრობებს ან სხვა ეკოლოგიური ნიშების მიკრობებს, მაგ., პროპიონმჟავა ბაქტერიებს, ასევე შეიძლება ჰქონდეთ სასარგებლო როლი ადამიანის ჯანმრთელობისთვის (Ahmadi, Khosravi-Darani, Zarean-Shahraki, Mortazavian, & Mashayekh, 2015).

ფერმენტირებულ პროდუქტებს შორის ყველაზე მეტია რძის პროდუქტები, რომელთა სახეობა დამოკიდებულია რძის ტიპზე და გამოყენებულ სტარტერ კულტურაზე, შაქარზე და არომატულ ნაერთებზე. დამხმარე ანუ არასტარტერი რძემჟავა ბაქტერიები, საფუვრები და/ან ობის სოკოები, ასევე, რძის პროპიონმჟავა ბაქტერიების კლასიკური შტამები, მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ფერმენტირებული პროდუქტის მომწიფების პროცესში. ეს შეიძლება იყოს ძირითადად სხვადასხვა ტიპის ყველი (როკფორი, გუდის ყველი) (Ghosh, Beniwal, Semwal, & Navani, 2019); (საჩანელი, ამირანაშვილი, & გაგელიძე, 2019).

უკანასკნელ პერიოდში სულ უფრო იზრდება ყურადღება რძის პროპიონმჟავა ბაქტერიებზე, როგორც პრობიოტიკური თვისებების მქონე პერსპექტიულ მიკროორგანიზმებზე. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებისას ადამიანებში არანაირი უარყოფითი ეფექტი არ შეინიშნება. მთავარი სახეობა *Propionibacterium freudenreichii* ცნობილია როგორც GRAS (ზოგადად აღიარებული როგორც უსაფრთხო, აშშ, FDA). სხვა რძის სახეობის გარდა, *Propionibacterium acidipropionici* შედის QPS (კვალიფიცირებული უსაფრთხოების პრეზუმფცია) სიაში (Irlinger, Helinck, & Jany, Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, 2017) (Irlinger, Helinck, & Jany, Chapter 11 - Secondary and Adjunct Cultures, 2017). პროპიონმჟავა ბაქტერიები აკმაყოფილებს პრობიოტიკური ბაქტერიების შერჩევის კრიტერიუმებს, ეს ცოცხალი მიკროორგანიზმები, ხელს უწყობენ კუჭ-ნაწლავის პათოლოგიური მდგომარეობის პროფილაქტიკასა და მკურნალობას, აუმჯობესებენ ნაწლავის მიკროფლორას და იცავენ ნაწლავის ლორწოვან გარსს პათოგენების კოლონიზაციისაგან. გარდა ამისა,

ახასიათებთ ანტიმუტაგენური და ანტიკანცეროგენული მოქმედება, იმუნური სისტემის სტიმულირება.

მათი აღიარებული უსაფრთხო სტატუსისა და სასარგებლო თვისებების გამო პროპიონმჟავა ბაქტერიები და მათი მეტაბოლიტები (პროპიონმჟავა, ვიტამინი B12 და ტრეჰალოზა) ფართოდ გამოიყენება სხვადასხვა ინდუსტრიაში (მაგ., კოსმეტიკურ, ფარმაცევტულ, კვების და სხვა) (Piwowarek, Lipińska, Hać-Szymańczuk, Kieliszek, & Ścibisz, 2018).

რძის პროპიონმჟავა ბაქტერიები ახდენენ პროპიონმჟავა ფერმენტაციას, რომლის დროს წარმოიქმნება პროპიონმჟავა და სხვა ორგანული მჟავები (Suwannakham & Yang, 2005).

ტერმინი - propionic წარმოიშვა ბერძნული სიტყვებიდან protos (პირველი) და pion (ცხიმი). ეს ბაქტერიები პირველად აღმოაჩინა იოჰან გოტლიბმა 1844 წელს, როდესაც სწავლობდა პირუვატის გარდაქმნას, სუქცინატური დეკარბოქსილირების გზით (Al-Lahham, Peppelenbosch, Roelofsen, Vonk, & Venema, 2010).

PAB არის გრამდადებითი, არამოდრავი, არასპოროგენული ბაქტერია; ძირითადად, ხასიათდება მოკლე ჩხირების ფორმის უჯრედებით, თუმცა მათი მორფოლოგია შეიძლება განსხვავდებოდეს პირობებისა და მათი ზრდის ფაზის მიხედვით. აქედან გამომდინარე, მათ ასევე მოიხსენიებენ, როგორც პლეომორფებს (Turgay, et al., 2022). PAB შეიძლება ჰქონდეს კოკოიდური, ორმხრივი, განშტოებული ან ძაფისებრი ფორმით, ცალკეული, დაწყვილებული ან მოკლე ჯაჭვებში V ან Y კონფიგურაციებით; თუმცა, ასევე შესაძლებელია ჩინური იეროგლიფების მსგავსი ფორმა (Ranaei, Pilevar, Khaneghah, & Hosseini, 2020). PAB არის ანაერობული ან აეროტოლერანტული; მისი ოპტიმალური ზრდა ხდება 6-7 pH-ზე, მინიმალური pH 4.6 და მაქსიმალური 8.5 (Fröhlich-Wyder, et al., 2017). რძის PAB იზრდება საკმაოდ ნელა და მათი ზრდა დამოკიდებულია ტემპერატურაზე. ფერმენტაციის პროცესში მაღალი ტემპერატურა განაპირობებს უფრო მეტი პროპიონმჟავას, ვიდრე მმარმჟავას წარმოქმნას. პროპიონმჟავას რაოდენობა ფერმენტაციის დროს შესაძლებელია გაიზარდოს pH-ის კონტროლის მეშვეობით (Fröhlich-Wyder, et al., 2017).

პროპიონმჟავას წარმოქმნიან *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*, *Selenomonas ruminantium*, *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium jensenii*, *Propionibacterium thoenii*, *Veillonella gazogenes*, *Veillonella criceti*, *Veillonella alcalescens*, *Veillonella parvula*, *Megasphaera elsdenii*, *Clostridium homopropionicum*, *Bacteroides* spp. and *Fusobacterium necrophorum* (Ranaei, Pilevar, Khaneghah, & Hosseini, 2020).

Propionibacterium-ის მრავალი შესწავლილი შტამიდან თითოეული შტამი განსხვავებულია. მათი თვისებები კარგად უნდა იყოს შესწავლილი და უნდა დააკმაყოფილონ სამრეწველო წარმოებისთვის საჭირო ტექნოლოგიური პარამეტრები. განსაკუთრებული ფერმენტული თვისებების მქონე პრობიოტიკების შერჩევამ შეიძლება დამატებითი როლი ითამაშოს ფუნქციური რძის პროდუქტების წარმოებისთვის (Vlasova, Kandasamy, Chattha, Rajashekara, & Saif, 2016).

რძის პროპიონმჟავა ბაქტერიები გამოიყენება ყველის მოსამწიფებლად, ბიოკონსერვანტად და, ასევე, როგორც სასარგებლო დანამატი კვების მრეწველობაში. *P. freudenreichii*-ისა და *P. acidipropionici*-ის გენომის სექვენსმა კიდევ ერთხელ ცხადყო მათი ბიოტექნოლოგიური და სამრეწველო პოტენციალი. მათ ახასიათებთ აგრეთვე სხვადასხვა გარემოსთან ადაპტაციის დიდი უნარი (Falentin, et al., 2010); (Parizzi, et al., 2012).

შვეიცარიული ტიპის ყველებში ცხიმოვანი მჟავების შემცველობაზე, ისევე როგორც CO₂-ის წარმოქმნაზე რძის PAB-ით გავლენას ახდენს მარილის კონცენტრაცია (Fröhlich-Wyder, et al., 2017). PAB-ის ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა 25-35 °C (Turgay, et al., 2022).

Propionibacterium-ის გვარის ბაქტერიებს შეუძლიათ მრავალი ღირებული ნაერთის სინთეზირება. ამ ნაერთებს აქვთ ფართო ინდუსტრიული გამოყენება. *Propionibacterium*-ის გვარის ბაქტერიები არის B12 ვიტამინის წყარო, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლის წითელი უჯრედების ფორმირებაში, უჯრედულ მეტაბოლიზმში და ნერვული სისტემის ფუნქციონირებაში (Piao, et al., 2004).

ამჟამინდელი პრობიოტიკური შტამები ტრადიციულად შეირჩევა ტექნოლოგიური საჭიროებების საფუძველზე. შტამების სკრინინგის უფრო რაციონალური კრიტერიუმების გამოყენებამ, რომლებიც ძირითადად დაფუძნებულია ადამიანის ჯანმრთელობაზე დადებითად მოქმედებაზე, შეიძლება გამოიწვიოს უფრო ეფექტური შტამების მიღება.

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების საფუძველზე (*Streptococcus cremoris* CR201, *Lactobacillus rhamnosus* F და *Propionibacterium shermanii* E2 თანაფარდობით 2:1:6) დამზადებულ ფერმენტირებულ რძის პროდუქტს *in vitro* ჰქონდა გამოხატული ანტაგონისტური ეფექტი პათოგენური, პირობით-პათოგენური მიკროორგანიზმების და საკვები პროდუქტების გაფუჭების გამომწვევი აგენტების მიმართ და ასევე მას ჰქონდა პრობიოტიკური და ზომიერად ჰიპოტენზიური ეფექტი. გარდა ამისა, უცხიმო რძეში ძროხის რძის შრატის პროტეინის ჰიდროლიზატების დამატებამ გამოიწვია პროპიონმჟავა ბაქტერიების ზრდის გაუმჯობესება და მზა ფერმენტირებულ რძის პროდუქტში სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის ზრდა, რამაც გაზარდა მისი ანტიმიკრობული აქტივობა (Бегунова, Рожкова, Зверева, Глазунова, & Фёдорова, 2019).

ფერმენტირებული რძის სასმელები წლების განმავლობაში ადამიანის დიეტის განუყოფელი ნაწილია. დღესდღეობით ბევრი მომხმარებელი ითხოვს რძის მცენარეულ ანალოგებს ცხოვრების წესთან, ჯანმრთელობასთან, კვებასთან დაკავშირებული მიზეზების გამო. ამან განაპირობა ახალი ფერმენტირებული პროდუქტების მზარდი განვითარება.

შემუშავებულია პრობიოტიკური ფერმენტირებული რძის სასმელის მომზადების ტექნოლოგია *Lactobacillus acidophilus* შტამი Narine-ს და *Propionibacterium freudenreichii* შტამი X3-ის გამოყენებით ყველის შრატის საფუძველზე. სასმელს აქვს კარგი ორგანოლეპტიკური მახასიათებლები და პრობიოტიკური მიკროფლორის მაღალი დონე. კლინიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ამ სასმელს, ფიზიობალნეოთერაპიასთან ერთად გამოყენების შემთხვევაში, აქვს სასარგებლო გავლენა ადამიანის სხეულზე, და არ ჩამოუვარდება ისეთ აღიარებულ პრობიოტურ

ფერმენტირებულ რძის პროდუქტებს, როგორებიცაა Biolact და Bifilakt (Иркитова & Вечернина, 2010).

ადამიანის ყურადღებას ყოველთვის იპყრობს მცენარეული დიეტა სოიოს კომპონენტით. არაერთი კვლევა არსებობს პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენების პოტენციალის შესასწავლად რძის ან მცენარეული საკვების ფერმენტაციაში. იოგურტის ბაქტერიებით, პროპიონმჟავა ბაქტერიებით ან მათი ნარევით ძროხის რძეზე, სოიოს სასმელზე და ორივეს ნარევზე ჩატარებულმა ფერმენტაციამ აჩვენა, რომ შესაძლებელია იოგურტისმაგვარი ფუნქციური პროდუქტების დამზადება; პროპიონმჟავა ბაქტერიების დამატებამ არ დაარღვია მიღებული ფუნქციური ფერმენტირებული იოგურტისმაგვარი პროდუქტების ორგანოლეპტიკური მახასიათებლები და გააუმჯობესა მათი კვებითი ღირებულება (Ziarno, Zaręba, Dryzek, Hassaliu, & Florowski, 2022).

მცენარეული ფერმენტირებული პროდუქტის (სოიოს რძის ანალოგზე ან კანაფის რძის ანალოგზე დაფუძნებული) შესამუშავებლად 104 რძემჟავა და 20 პროპიონმჟავა ბაქტერიის გამოყენებით ჩატარებულმა კვლევამ ფერმენტაციისა და ბიოქიმიური თვისებების შეწავლის გათვალისწინებით, გამოავლინა ყველაზე პერსპექტიული კონსორციუმი; მისი გამოყენება ხსნის ახალ გზებს ადაპტირებული ფერმენტირებული საკვების განვითარებისთვის განსაკუთრებით დასავლეთის ქვეყნების მოსახლეობისთვის, რომლებიც განიცდიან საჭმლის მომწელებელი ტრაქტის ანთებასთან დაკავშირებულ დაავადებებს (Illikoud, Carmo, Daniel, Jan, & Gagnaire, 2023).

კვების მრეწველობაში ფართოდ გამოიყენება პროპიონმჟავა ბაქტერიები მათი ბიოქიმიური აქტივობისა და არომატის წარმოქმნის დიდი პოტენციალის გამო. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენება ბიფიდობაქტერიებთან ერთად (*Propionibacterium shermanii* KM-186 და *Bifidobacterium longum* B379M) შებოლილი ძეხვის დამზადებისას, გავლენას ახდენს პროდუქტის სენსორულ მახასიათებლებზე ისეთი ნაერთების წარმოქმნით, როგორებიცაა ლაქტონები, ფენოლები და ტერპენები, რამდენჯერმე ამცირებს ნიტრიტების რაოდენობას ამ

ბაქტერიული შტამების ნიტრორედუქტაზული აქტივობის გამო (Khankhalaeva, Khamagaeva, & Nikiforova, 2017).

დღეისთვის ცნობილია პრობიოტიკული პროდუქტის დასამზადებლად შემუშავებული ბაქტერიული პრეპარატები. მრავალსაფეხურიანი ორგანოლეპტიკური, ფიზიკო-ქიმიური და მიკრობიოლოგიური კვლევების შედეგად შემუშავდა პროპიონმჟავა (*P. shermanii* AC 2503), რძემჟავა (*St. cremoris*) და ბიფიდობაქტერიების (*B. bifidum*) კომბინაცია, რომელიც გამოირჩევა მაღალი ბიოქიმიური აქტივობით. აღნიშნული მიკროორგანიზმების გამოყენებით არაჟნის მიღებული კონსისტენცია და სტრუქტურა აღარ საჭიროებს შესაბამისი სტაბილიზატორების დამატებას (Пропионикс).

PAB გამოიყენება იოგურტის წარმოებაში პროპიონმჟავას წარმოქმნის მიზნით. რძის ცხიმიანობა, ინულინის შემცველობა, ფერმენტაციის ტემპერატურა, გაცივების ხანგრძლივობა, ინოკულატის რაოდენობა, შენახვის ვადა მკვეთრად მოქმედებს პროპიონმჟავას წარმოქმნაზე იოგურტში და ამ ფაქტორების გათვალისწინებით შესაძლებელია პროპიონმჟავას კონცენტრაციის გაზრდა პროდუქტში, რაც შენახვის ვადის გაზრდასაც იწვევს 21 დღემდე (Zahed, Massoud, Khosravi-Darani, Mortazavian, & Mohammadi, Propionic Acid Bio-Fortification of Yogurts by Adjunct Culture of Propionibacterium freudenreichii, 2022).

არაჟანი ერთ-ერთი ყველაზე პოპულარული ფერმენტირებული რძის პროდუქტია, რომელიც ხასიათდება მაღალი კვებითი და ენერგეტიკული ღირებულებით. არაჟნის ფუნქციური თვისებების გაუმჯობესების ერთ-ერთი გზაა რძის პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული სტარტერის გამოყენება. გარდა ამისა, შესწავლილი იყო სელენით გამდიდრებული არაჟნის წარმოების ტექნოლოგიური პარამეტრები. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული პროდუქტი მდიდარია B ჯგუფის ვიტამინებით (B1, B2, B12), ფოლიუმის მჟავით, მიკროელემენტებით, მათ შორის რკინით და სხვ., რომლებსაც აქვთ სამკურნალო თვისებები (Пропионикс).

პრობიოტიკური საკვები პროდუქტების მოხმარების მუდმივ ტენდენციასთან დაკავშირებით, განსაკუთრებით აქტუალური ხდება პროპიონმჟავა ბაქტერიებით

ფერმენტირებული ხაჭოს წარმოების ტექნოლოგიის შემუშავება. პროპიონმჟავა ბაქტერიით გამდიდრებული ხაჭოს გაყიდვების მთლიანი მოცულობის 6,535%-ს შეადგენს. ფერმენტაციის პროცესზე გავლენის ძირითადი ფაქტორებია ტემპერატურა, პროპიონმჟავა ბაქტერიებზე დაფუძნებული სტარტერის დოზა და გამოყოფილი შრატის რაოდენობა; აღინიშნა ამინომჟავების მაღალი მაჩვენებელი ფერმენტირებული ხაჭოს ცილებში, კოაგულანტის ფერმენტაცია ზრდის თავისუფალი ლიზინის შემცველობას; პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებულ ხაჭოს აქვს სასიამოვნო გემო, რბილი/ნაზი კონსისტენცია (Шевелева, 2003)

ტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებების მიხედვით პროპიონმჟავა ბაქტერიების ფართო სკრინინგმა უნდა გამოიწვიოს ახალი ფუნქციური საკვების წარმოების განვითარება.

თავი 2. კვლევის მეთოდები

2.1. უცხიმო რძის ფხვნილის აღდგენა

45 გ უცხიმო რძის ფხვნილი იხსნება 40 ± 2 °C 450 მლ გამთბარ ონკანის წყალში ისე, რომ რძის ფხვნილი მთლიანად გაიხსნას კომპტების გარეშე, ყოვნდება 15-20 წთ, შემდგომ ცივდება 20 °C-მდე. აღდგენილი რძის ქიმიური შედგენილობის დასადგენად ტარდება ანალიზები.

2.2. აღდგენილი რძის პასტერიზაცია

აღდგენილი რძის ჰომოგენიზაციისა და პასტერიზაციისათვის ვიყენებდით თერმომიქსს (thermomix, საფრანგეთი).

თერმომიქსი არის დანადგარი, რომელსაც გააჩნია 20 სხვადასხვა ფუნქცია, მათ შორის ჰომოგენიზაციის და პასტერიზაციის; აქვს საწარმოს ჰომოგენიზატორის იდენტური წნევა, რაც საშუალებას გვაძლევს ლაბორატორიაში საწარმოს მსგავსად დავამუშაოთ აღდგენილი რძე - $91^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურაზე მინიმუმ 30 წმ-ის განმავლობაში და შემდგომი სწრაფი გაცივებით ჩასადედეხელ ტემპერატურამდე. პასტერიზაციის ეფექტურობის გადამოწმების მიზნით ხდებოდა პასტერიზებულ რძეში პეროქსიდაზას განსაზღვრა (ქვეთავი 2.3).



სურ.1. ხელსაწყო ლაბორატორიულ პირობებში რძის პასტერიზაციისა და ჰომოგენიზაციისთვის (thermomix, საფრანგეთი)

2.3. პასტერიზებულ რძეში პეროქსიდაზას განსაზღვრა სახამებლიანი კალიუმის იოდიდით (Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации, 2015)

პეროქსიდაზას აქტივობის განსაზღვრა პასტერიზებულ რძეში იძლევა პროდუქტის მიკრობიოლოგიური დაბინძურების არსებობაზე მსჯელობის საშუალებას.

ფერმენტ პეროქსიდაზას განსაზღვრის მეთოდი დაფუძნებულია წყალბადის ზეჟანგის დაშლაზე ფერმენტ პეროქსიდაზას მოქმედებით. თუ ნედლი რძე შეიცავს ფერმენტ პეროქსიდაზას, იგი შედის წყალბადის ზეჟანგთან რეაქციაში თავისუფალი ჟანგბადის გამოყოფით, რომელიც კალიუმის იოდიდის წყალხსნარიდან აძევებს იოდს. იოდი კი სახამებელთან იძლევა ლურჯ შეფერილობას.

ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრის მსვლელობა: 10 მლ-იან სინჯარაში იხსმება 5 მლ რძე; ემატება 0.5 მლ 1% სახამებელს. შენჯღრევის შემდეგ ემატება 2 წვეთი 10%-იანი კალიუმის იოდიდის ხსნარი. ხელახალი შენჯღრევის შემდეგ კვლავ ემატება 5 წვეთი წყალბადის ზეჟანგი და კარგად ხდება შენჯღრევა; ზეჟანგის დამატებიდან 2 წუთის განმავლობაში რძემ თუ არ შეიცვალა ფერი, მასში არ არის პეროქსიდაზა, ე.ი. რძე პასტერიზებულია არანაკლებ 80 °C ტემპერატურაზე. თუ რძეში არის პეროქსიდაზა, მაშინ ის მიიღებს მონაცრისფრო-მოლურჯო ფერს, რაც მიუთითებს, რომ რძე არ არის პასტერიზებული სათანადოდ (80 °C-ზე ნაკლებ ტემპერატურაზე) ან რაღაც რაოდენობით შერეული აქვს არაპასტერიზებული რძე.

შენიშვნა: თუ 2 წუთის შემდგომ პეროქსიდაზას არსებობით გამოწვეული ფერის ცვლილება არ არის შენარჩუნებული, ეს შესაძლოა განპირობებული იყოს ჰაერზე შემდგომში დაჟანგვით.

2.4. რძის ფხვნილის სისუფთავის ჯგუფის დადგენა (Молоко. Метод определения чистоты, 2021)

მეთოდის არსი მდგომარეობს 250 მლ აღდგენილი რძეში მექანიკური მინარევების განსაზღვრაში. 30-35 °C ტემპერატურის რძის ფხვნილს ხსნარი იფილტრება ზამბის ფილტრზე. ფილტრაციის დამთავრების შემდეგ ფილტრი ირეცხება 100 მლ ცხელი

გამოხდილი წყლით და ფილტრი იდება პერგამენტის ქაღალდზე და შრება ჰაერზე ისე, რომ მტვერი არ მოხვდეს.

სისუფთავის ჯგუფის დადგენა ხდება შემდეგი კრიტერიუმების მიხედვით:

I ჯგუფი - ფილტრზე არ არის მექანიკური ნაწილაკები;

II ჯგუფი - ფილტრზე არის ცალკეული მექანიკური ნაწილაკები;

III ჯგუფი - ფილტრზე არის პატარა და დიდი ზომის მექანიკური ნაწილაკები.

შენიშვნა: მშრალი რძის მიმწვარი ნაწილაკები არ ითვლება.

2.5. აღდგენილი რძის მაჩვენებლების შემოწმება ლაქტოსკანით

აღდგენილი რძის პარამეტრების დადგენა ხდებოდა ლაქტოსკანით (ბულგარეთი), ხოლო მიღებული მაჩვენებლების გადამოწმება: რძის სიმკვრივის – არეომეტრით (რძის ლაქტოდენსიმეტრით), ცხიმის – რძის ბუტირომეტრით, ცილის – ფორმალური ტიტრაციის მეთოდით (იხ. ქვეთავი 2.6.3).

2.6. რძისა და რძის პროდუქტების ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა

რძისა და რძის პროდუქტების ტიტრულ მჟავიანობას გამოხატავენ ტერნერის გრადუსებში ($^{\circ}\text{T}$). ტერნერის გრადუსში იგულისხმება დეცინორმალური ნატრიუმის ან კალიუმის ტუტის წყალხსნარის მოცულობა, რომელიც საჭიროა 100 სმ³ ან 100 გრ პროდუქტის გასაწეიტრალეზად.

2.6.1. ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა რძეში (Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, 2021)

ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრად კოლბაში პიპეტით ისხმება 10 მლ რძე, ემატება 20 მლ გამოხდილი წყალი და 3-4 წვეთი 1%-იანი ფენოლფტალეინის სპირტხსნარი. ხდება ნარევის კარგად შენჯღრევა და გატიტვრა დეცინორმალური ნატრიუმის ტუტით მკრთალ ვარდისფერ შეფერილობამდე. შეფერილობა არ უნდა გაქრეს 1 წთ-ის განმავლობაში. თუ გაქრა, მაშინ კვლავ ემატება ტუტე.

რძის მჟავიანობას გამოხატავენ ტერნერის გრადუსში და ტოლია დახარჯული დეცინორმალური ნატრიუმის ტუტის რაოდენობა გამრავლებული 10-ზე.

2.6.2. ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა რძის ფერმენტირებულ პროდუქტებში (მაწონი, კეფირი, იოგურტი) (Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, 2021)

5 გ პროდუქტს თანდათანობითი მორევით ემატება 30 მლ გამოხდილი წყალი, 3-4 წვეთი ფენოლფტალეინი და იტიტრება 0.1N ნატრიუმის ტუტით მკრთალ ვარდისფერ შეფერილობამდე. ფერი არ უნდა შეიცვალოს 1 წთ-ის განმავლობაში.

მჟავიანობა გამოხატული ტერნერის გრადუსებში (°T) ტოლია დახარჯული ტუტის რაოდენობა გამრავლებული 20-ზე.

2.6.3. რძეში საერთო ცილის შემცველობის განსაზღვრა ფორმალური ტიტრაციის მეთოდით

ქიმიურ ჭიქაში ისხმება 20 მლ რძე, პიპეტით ირეცხება 10 მლ გამოხდილი წყლით, ემატება 2-3 წვეთი ფენოლფტალეინის სპირტხსნარი, იტიტრება ნატრიუმის ტუტის დეცინორმალური ხსნარით ვარდისფერ შეფერილობამდე. შემდეგ შეაქვთ 0.1N-ის ნატრიუმის ტუტით ახლად განეიტრალებული 36-40%-იანი ფორმალინის ხსნარი 4-6 მლ-ის ოდენობით და განმეორებით იტიტრება იმავე ხსნარით, ისეთივე ინტენსივობის შეფერილობის გაჩენამდე, როგორც პირველი გატიტრის დროს. დეცინორმალური ნატრიუმის ტუტის ხსნარის რაოდენობა ისაზღვრება შემდეგი ფორმულით:

$$\text{ცილა, \%} = A \times 0.959$$

სადაც, A არის განმეორებით გატიტვრაზე დახარჯული დეცინორმალური ნატრიუმის ტუტის რაოდენობა (Инихов & Брио, 1971).

2.7. ცხიმიანობის განსაზღვრა რძეში მჟავური მეთოდით (Молоко и молочные продукты. Методы определения жира, 2021)

ეს მეთოდი ეფუძნება ცხიმის გამოყოფას რძის პროდუქტებიდან კონც. გოგირდმჟავას და იზოამილის სპირტის გამოყენებით.

რძის ცხიმმზომში (ბუტირომეტრში) (ექვსი ან შვიდი დანაყოფით) ისე, რომ ცხიმმზომის ყელი არ დასველდეს, ესხმება 10 მლ გოგირდმჟავა ($\rho=1.812$) და ფრთხილად, კედელზე ჩაყოლებით ემატება რძე 10.77 მლ-იანი პიპეტით. რძის ჩამოდინების შემდეგ – 3 წმ ჩერდება პიპეტი. შემდეგ ემატება 1 მლ იზოამილის სპირტი, ეფარება მშრალი რეზინის საცობი. რამდენჯერმე ხდება შენჯღრევა ცხიმმზომის გადატრიალებით, რათა გაიხსნას ცილოვანი ნივთიერებები. ცხიმმზომი თავსდება წყლის აბაზანაში (რეზინის საცობით ქვევით) $65\pm 2^{\circ}\text{C}$ -ზე 5 წთ-ის განმავლობაში. ამის შემდგომ ცხიმმზომი თავსდება ცენტრიფუგაში რეზინის საცობით ქვევით და ცენტრიფუგირდება 5 წთ განმავლობაში (ბრუნვის სიჩქარე არანაკლებ 1000 გ/წთ). ცენტრიფუგირების შემდეგ ცხიმმზომი 5 წთ-ით კვლავ წყლის აბაზანაში თავსდება $65^{\circ}\text{C}\pm 2$ ტემპერატურაზე. ცხიმმზომის მაჩვენებელი შეესაბამება რძეში არსებულ ცხიმის რაოდენობას %-ში.

2.7.1. ცხიმიანობის განსაზღვრა პროპიონმჟავურ სასმელში

რძის 6-დანაყოფიან ცხიმმზომში იწონება 11 გრ პროდუქტი, ესხმება 10 მლ გოგირდმჟავა (სიმკვრივე – 1.812) და 1 მლ იზოამილის სპირტი. შემდგომი პროცედურები, ისე, როგორც ცხიმის პროცენტული შემცველობის გამოანგარიშება, ხორციელდება როგორც აღწერილია ქვეთავში 2.7.

2.7.2 ცხიმიანობის განსაზღვრა კარაქში

40-დანაყოფიან ცხიმმზომში იწონება 1 გ ცხიმი, ემატება 10 მლ გოგირდმჟავა (სიმკვრივე 1.812-1.813), 10 მლ გამოხდილი წყალი და 1 მლ იზოამილის სპირტი. ბამბით იწმინდება ცხიმმზომის ყელი, მშრალი რეზინის საცობის (საცობზე სიმჭიდროვისათვის ეხვევა ქაღალდი) მორგების შემდეგ ცხიმმზომის

გადატრიალება ხდება რამდენჯერმე და თავსდება 5 წთ წყლის აბაზანაში $65^{\circ}\text{C} \pm 2$ ტემპერატურაზე, ისე რომ დაგრადიურებული ნაწილი მოხვდეს მაღლა. შემდგომ ხდება ცენტრიფუგირება 5 წთ, იდება კვლავ წყლის აბაზანაში და 5 წთ-ის შემდგომ ცხიმშომის მაჩვენებელზე აღებული ანათვალის მრავლდება 5-ზე. მიღებული რიცხვი წარმოადგენს ცხიმის მასურ წილს კარაქში.

2.8. კარაქის მჟავიანობის განსაზღვრა ($^{\circ}\text{K}$) (Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, 2021)

კარაქის მჟავიანობას გამოხატავენ კეტსტოფერის გრადუსებში ($^{\circ}\text{K}$). უშუალოდ ანალიზის წინ მზადდება ეთილის სპირტისა და პეტროლეინის ეთერის ნარევი 1:1, რომლის განეიტრალება ხდება 0.1N ტუტით.

წყლის აბაზანაზე გამდნარ 5 გ კარაქს ემატება 20 მლ განეიტრალებული სპირტ-ეთერის ნარევი, 3-4 წვეთი 1%-იანი ფენოფტალეინის სპირტხსნარი და იტიტრება 0.1 N NaOH-ით (ან 0.1N KOH-ით) ღია ვარდისფერ შეფერილობამდე. შეფერილობა არ უნდა გაქრეს 1 წთ-ის განმავლობაში.

კარაქის მჟავიანობის ($^{\circ}\text{K}$) განსაზღვრად დახარჯული ტუტის რაოდენობა მრავლდება 2-ზე.

2.8.1. კარაქის პლაზმის მჟავიანობის განსაზღვრა (Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, 2021)

150 გ კარაქი თავსდება $55-60^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურის წყლის აბაზანაში და ყოვნიდება სრულ გადნობამდე და ცხიმისა და პლაზმის გაყოფამდე. შემდგომ ჭურჭელს იღებენ აბაზანიდან და ფრთხილად გადმოღვრიან ცხიმის ზედა ფენას; ჭიქაში დარჩენილი პლაზმა პიპეტით გადააქვთ ცხიმშომში. ცხიმშომს მჭიდროდ ეხურება რეზინის საცობი და საცობით ქვევით თავსდება ცენტრიფუგაში (Orbita, უკრაინა), ცენტრიფუგდება 5 წთ (ბრუნვის სიჩქარე არანაკლებ 1000 გ/წთ). ცენტრიფუგირების შემდეგ თავსდება ცივ წყალში დაგრადუირებული ნაწილით ზემოთ, ყოვნიდება, ცხიმის გამყარებამდე. ცხიმისაგან თავისუფალ პლაზმას ფრთხილად გადმოღვრიან

მშრალ, სუფთა ჭიქაში და გულმოდგინედ ურევენ მინის წკირით. პლაზმის 5 მლ-ს ემატება 10 მლ გამოხდილი წყალი; ნარევი იტიტრება 0.1N NaOH-ით 1%-იანი ფენოლფტალენის სპირტხსნარით მდგრადი ვარდისფერ შეფერილობის მიღებამდე. მჟავიანობა იზომება ტერნერის გრადუსებში. იგი გამოითვლება 5 მლ პლაზმის გატიტვრაზე დახარჯული 0.1 N ტუტის რაოდენობის გამრავლებით 20-ზე.

შენიშვნა: კარაქის მჟავიანობის ზღვ (ზღვრულად დასაშვები ნორმა) კეტსტოფერის მიხედვით შეადგენს - 2.5 °K, ხოლო ტერნერის მიხედვით - კარაქის პლაზმის მჟავიანობის მიხედვით და შეადგენს $\approx 23^{\circ}\text{T}$.

2.9. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა

რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა ხორციელდებოდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში შეგროვებული ნედლი რძიდან, თვითმზადებული ნედლი რძიდან, ყველის შრატისა, ქართული ტრადიციული პროდუქტებიდან - თუშური გუდის ყველიდან, ტენილი ყველიდან და მაწვნიდან, ასევე მცენარეების ფილოსფეროდან, სულ 116 ნიმუშიდან.

რძის, რძის პროდუქტების ნიმუშების და მცენარეების ნიმუშები რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად აღებული იყო საქართველოს სხვადასხვა მუნიციპალიტეტის სოფლებიდან: ჭობარეთი, ქალილო, ალოცი, ჯავახი, დუშეთი, საგარეჯო, ხვითი, ნიქოზი, ღარი, ხვანჭკარა, ჭალა, ახალი სამგორი, კორბოული, თბილისი, ლაგოდეხი, ქვედა ლუპა, ჭუბერი, ოქროყანა, სვირი, მანგლისი, ცხრუკვეთი, წალკა, თამარისი, მუხური, ხონი, გორდი, კინჩხა, ვანი და სხვ.

Lactobacillus-ის გვარის ბაქტერიების კულტივირება ხორციელდებოდა MRS აგარზე 37 °C ტემპერატურაზე ანაერობულ პირობებში, *Streptococcus thermophilus*-ის - M17 აგარზე 42 °C ტემპერატურაზე ანაერობულ პირობებში 48-72 სთ-ის განმავლობაში (Vasela, et al., 2019). შტამების სუფთა კულტურების მიღება ხდებოდა იმავე საკვებ არეებზე მრავალჯერადი გადათესვით (Harley & Reidy, 2005).

პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფას ვახდენდით გუდის ყველიდან და შვეიცარული ყველი - ემენტალიდან, სპეციალურ საკვებ არეზე (იხ. ქვეთავი 3.0).

2.10. კვლევაში გამოყენებული საკვები არეები

1. ლაქტობაცილუსების გამოსაყოფად ვიყენებდით MRS ბულიონს და MRS აგარს (Biolife, იტალია)
2. სტრეპტოკოკების გამოსაყოფად - M17 ბულიონს და აგარს (Biolife, იტალია)
3. რძემჟავა ბაქტერიების შაქრების ფერმენტაციის შესასწავლად - Phenol Red ბულიონს (Biolife, იტალია)
4. ტესტ-კულტურების გასაზრდელად (ანტიმიკრობული ტესტისთვის) - TSA (Biolife, იტალია),
5. ანტიბიოტიკური მგრძნობელობის შესასწავლად - მიულერ-ჰინტონის აგარს (Oxoid, ინგლისი),
6. პროპიონმჟავა ბაქტერიებისათვის გამზადებული შემდეგი შემადგენლობის საკვებ არეს (გ/ლ): ასკორბინის მჟავა – 0.10, საფუვრის ექსტრაქტი – 1, ნატრიუმის ლაქტატი – 4მლ, K_2HPO_4 – 0.01, $MgSO_4$ – 0.2, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.1, NaCl – 10. სტერილდება 15 წუთის განმავლობაში 121 °C ტემპერატურაზე (საჩანელი, ამირანაშვილი, & გაგელიძე, 2019).

2.11. სერიული განზავების მეთოდი

კოლონიების მისაღებად ვიყენებდით სერიული განზავების მეთოდს (Harley & Reidy, 2005). 10 გ საკვლევი ნიმუში თავსდებოდა სტერილურ პარკში (Whirl-Pak Stand-Up Bags), ემატებოდა 90 მლ ბუფერ-პეპტონიანი წყალი. წინასწარ მომზადებული იყო 9-9 მლ იგივე წყალი ნიმუშის განზავებისთვის. შესაბამის განზავებებს ვთესავდით MRS აგარზე *L. delbriukii*-სთვის და M17 აგარზე *S. thermophilus*-ისთვის. მიკროორგანიზმების ინკუბაციას ვახდენდით ანაერობულ პირობებში 72 სთ-ის განმავლობაში 37 °C და 42 °C ტემპერატურაზე, შესაბამისად.

მცენარეებიდან რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად წინასწარ ვაკეთებდით დამაგროვებელ კულტურას, რისთვისაც მცენარის სხვადასხვა ნაწილს ვათავსებდით MRS ბულიონში 24 სთ 42 °C ტემპერატურაზე.

ჯამებიდან, ვირჩევდით ცალკეული კოლონიებს შემთხვევითი შერჩევის წესით. ბაქტერიების სუფთა კულტურების მისაღებად განმეორებით ვახდენდით შტრიხის მეთოდით ჩათესვას (Harley & Reidy, 2005)

2.12. გრამის წესით შეღებვა

უჯრედების გრამის წესით შესაღებად გამოვიყენეთ გრამის ნაკრები (Deltalab, იტალია). მიკროსკოპირებას ვახდენდით სინათლის მიკროსკოპში (1000×). (Harley & Reidy, 2005).

2.13. კატალაზური აქტივობის განსაზღვრა

კატალაზური აქტივობის განსასაზღვრად სასაგნე მინაზე ვაწვეთებდით 3 %-იან წყალბადის ზეჟანგს და მასში მარყუჟით შეგვექონდა ბაქტერიული ბიომასა. ვიზუალურად ვახორციელებდით შედეგების აღრიცხვას: დადებითი ტესტის დროს წარმოიქმნებოდა ბუშტუკები, ხოლო უარყოფითი ტესტის დროს ბუშტუკები არ წარმოიქმნება (Harley & Reidy, 2005).

2.14. სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდა

იზოლატების სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდის უნარის დასადგენად მათ ვთესავდით MRS აგარზე და ვათავსებდით თერმოსტატში ინკუბაციისათვის 2 °C, 10 °C, 37 °C, 45 °C და 50 °C ტემპერატურებზე ანაერობულ პირობებში. ზრდის უნარს ვამოწმებდით 48-72 საათის შემდეგ.

2.15. NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდა

იზოლატების NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდის უნარის დასადგენად მათ ვთესავდით MRS აგარზე, რომელსაც დამატებული ჰქონდა NaCl 2%, 4% და 6.5 %-ის ოდენობით. ბაქტერიების ინკუბაციას ვახდენდით 37 °C ტემპერატურაზე

ანაერობულ პირობებში. ზრდის უნარს გამოწმედით 48-72 საათის შემდეგ. კონტროლად ვიყენებდით MRS აგარს NaCl-ის გარეშე.

2.16. შაქრების ფერმენტაცია

შაქრების ფერმენტაციის შესასწავლად გამოყენებული იქნა შემდეგი შაქრები: მალტოზა, ლაქტოზა, რამნოზა, ინოზიტი, მანიტი, საქაროზა. ბაქტერიების ზრდა ხორციელდებოდა Phenol Red-ის ბულიონში, რომელსაც დამატებული ჰქონდა ზემოთ აღნიშნული შაქრები 1%-ის ოდენობით (Biolife, იტალია). კონტროლად ვიყენებდით იგივე ბულიონს გლუკოზით, ხოლო უარყოფით კონტროლად - იმავე შაქრის შემცველ ბულიონს ინოკულაციის გარეშე. ინკუბაცია მიმდინარეობდა 24 საათის განმავლობაში 37 °C ტემპერატურაზე. ხსნარის ფერის ცვლილება წითელიდან ყვითელზე მიუთითებს მჟავის წარმოქმნაზე. ფერმენტაციის დროს გაზის გამოყოფას ვადგენდით დარემის სიჯარებში გაზის დაგროვებით.

2.17. ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა

იზოლატების ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობას ვსწავლობდით მიულერ-ჰინტონის აგარზე (Oxoid, ინგლისი) კირბი-ბაუერის მეთოდით (Harley & Reidy, 2005). საკვლევი კულტურის სუსპენზიის აგარიზებულ საკვებ არეზე დატანიდან 20 წთ-ის შემდეგ ვდებდით სხვადასხვა ანტიბიოტიკის დისკს. ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის დასადგენად გამოვიყენეთ შემდეგი ანტიბიოტიკები: ლევომიცეტინი (LEV, 5), რიფამპიცინი (Rif, 5), ოქსიტეტრაციკლინი (OXC, 1), ციპროფლოქსაცილინი (Cipr, 5), გენტამიცინი (GM, 10), კანამიცინი (K, 30), ტილოზინი (TY, 30), სულფონამიდი (S, 300), (NE, 10), (C, 30), (S, 10), (VA, 5), (AP, 10). შედეგების აღრიცხვას ვახდენდით 37 °C ზე და 24-48 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ ანტიბიოტიკის დისკის ირგვლივ ინჰიბირების დიამეტრის გაზომვით (მმ) (Kenny, Mayer, Dulworth, Brackman, & Farrar, Evaluation of the teicoplanin broth microdilution and disk diffusion susceptibility tests and recommended interpretive criteria, 1992).

2.18. დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობა

იზოლატების დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობის შესასწავლად მათ ვთესავდით MRS ბულიონში; pH-ის 2.0-მდე შესამცირებლად ვიყენებდით 1N HCl, გადასათეს მასალად კი 24-36 საათიან ინოკულატებს. იზოლატების სიცოცხლისუნარიანობის დასადგენად ხდებოდა იზოლატების pH 2-ზე 30 წუთის, 1 და 2 სთ-ის განმავლობაში დაყოვნებით. კონტროლად გამოყენებული იყო იზოლატები ინკუბირებული იმავე ხანგრძლივობით MRS ბულიონში. ინკუბაციის პერიოდის გასვლის შემდეგ კეთდებოდა განზავებები და კწე-ს რაოდენობის დასადგენად ითესებოდა MRS აგარზე. ბაქტერიის ზრდას ვახდენდით 37 °C-ზე ანაერობულ პირობებში 48 სთ (Tambekar & Bhutada, 2010).

2.19. ანტიმიკრობული აქტივობის განსაზღვრა

რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების ანტიმიკრობული აქტივობა შევისწავლეთ 10 სხვადასხვა ტესტ-კულტურის მიმართ: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 14028, *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833, *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. ანტიმიკრობული აქტივობის დასადგენად გამოვიყენეთ აგარში დიფუზიის მეთოდი (Yadav & Tiwari, 2023). MRS-აგარის ბლოკები 3-დღიანი რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატებით გადაგვქონდა მიულერ-ჰინტონის აგარზე (Oxoid, ინგლისი), რომელზეც ვთესავდით ტესტ-კულტურებს. მიკროორგანიზმების ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37 °C ტემპერატურაზე თერმოსტატში აერობულად. 24 საათის შემდეგ ვზომავდით ინჰიბირების ზონების დიამეტრს (მმ) იზოლატების ბლოკების ირგვლივ (Menberu, et al., 2021).

2.20. იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა

კონსორციუმის შერჩეული იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესასწავლად გამოიყენება აგარის ბლოკების მეთოდი. იზოლატები ითესება

შესაფერის საკვებ არეზე 48 საათის განმავლობაში. მიკროორგანიზმების ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37 °C ტემპერატურაზე თერმოსტატში ანაერობულად. აქედან ამოჭრილი ბლოკები გადაგვქონდა აგარიზებულ საკვებ არეზე ახლადჩატესილ კულტურებზე და ინკუბაცია მიმდინარეობდა 72 საათი 37 °C ტემპერატურაზე თერმოსტატში. იზოლატების ურთიერთდამოკიდებულების შესახებ 37 °C-ზე 48 საათის განმავლობაში ანაერობული ინკუბაციის შემდეგ, ვათვალიერებდით ნაზრდს აგარის ბლოკის ირგვლივ.

2.21. აციდოფიკაციის უნარის შესწავლა

რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების აციდოფიკაციის უნარის განსაზღვრა განხორციელდა ინოკულატის 3 %-ის შეტანით უცხიმო რძეში და 37 °C ტემპერატურაზე თერმოსტატში ინკუბაციით. ვიზუალურად 4-24 სთ-ის განმავლობაში მოწმდებოდა კოლტის წარმოქმნა და კოლტის კონსისტენცია (Harley & Reidy, 2005).

2.22. იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია

რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების იდენტიფიკაციისათვის დნმ-ის გამოყოფა განხორციელდა დუდილის მეთოდით (Dashti, Jadaon, Abdulsamad, & Dashti, 2009) TE ბუფერში (Invitrogen); დუდილის ტემპერატურა – 100 °C. ამისათვის, თითოეული ბაქტერიული იზოლატის კოლონია გადატანილ იქნა 100 მკლ TE ბუფერში (1μM EDTA, 10μM Tris-HCl, pH 8.0); დუდილის ტემპერატურის ხანგრძლივობა იყო 10 წუთი, 100 °C-ზე; შემდეგ ხდებოდა ცენტრიფუგირება 2 წთ 1000 ბრ/წთ-ში (Eppendorf, გერმანია).

ლაქტობაცილუსების იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებულ იქნა პრაიმერების წყვილი - LB1F/LB1R, ხოლო სტრეპტოკოკების იდენტიფიკაციისათვის – *S.thermophilus*-ის სპეციფიკური პრაიმერების წყვილი: Th I /Th II; თითოეულისთვის 2 μl დნმ-ის შემცველი სუპერნატანტი საბოლოო კონცენტრაციით 0.4 μM. ციკლის პირობები LB1F/LB1R პრაიმერებისთვის: 94 °C 2 წთ, რასაც მოჰყვება 35 ციკლი 94 °C

45 წმ, 58 °C 30 წმ და 72 °C 30 წმ, ფინალური ელონგაციის საფეხური 72 °C-ზე 10 წთ, გაგრილება 4 °C. ციკლის პირობები Th I /ThII პრაიმერებისთვის: 94 °C 3 წთ, რასაც მოჰყვება 30 ციკლი 94 °C 30 წმ, 50 °C 1 წუთი და 72 °C 1 წუთი, ფინალური ელონგაციის საფეხური 72 °C-ზე, 7 წთ, გაგრილება 4 °C. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ) ჩატარდა თერმოციკლერში (TECHNE, TC 3000, აშშ). პჯრ-ისათვის გამოყენებულ იქნა 2 μ ლ დნმ-ის შემცველი სუპერნატანტი.

2.23. რძის ფერმენტირებული სასმელის სენსორული ანალიზი

ფერმენტირებული რძის სასმელის დამზადების შემდგომ რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების შტამების სხვადასხვა კონსორციუმის სენსორული ანალიზი განხორციელდა ჰედონიკური ტესტით კონსისტენციის, გემოსა და არომატის მიხედვით. თითოეული მახასიათებლის მოწონების დონის გამოსახატად გამოყენებული იქნა 5-ბალიანი შკალა (Lawless & Heymann, 2010).

2.24. სტატისტიკური ანალიზი

მონაცემების სტატისტიკურ დამუშავებას ვაწარმოებდით სტანდარტული მეთოდებით: სტუდიერის t -კრიტერიუმის განსაზღვრით მნიშვნელობის 5%-ის დონეზე. მონაცემთა საშუალო მნიშვნელობას და სტანდარტულ გადახრას ვანგარიშობდით MS EXCEL-ის პროგრამებით - AVERAGE და STDEV.S, შესაბამისად.

თავი 3. შედეგები და მათი განსჯა

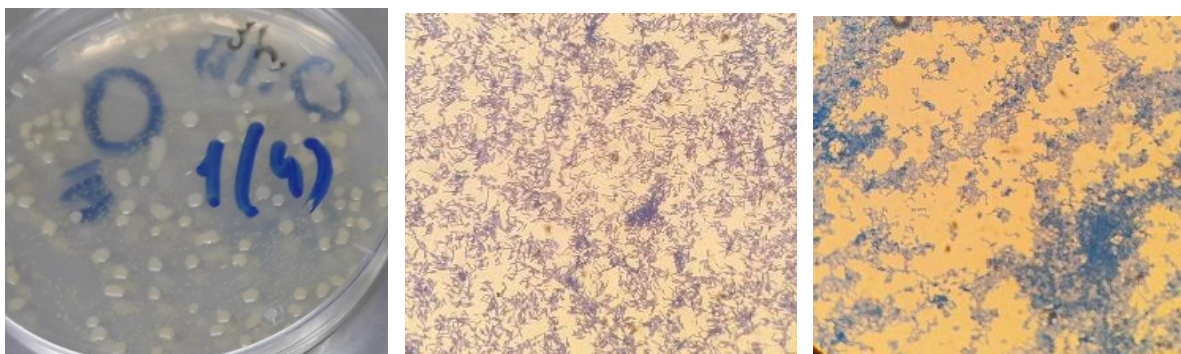
3.1. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა

პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად გუდის ყველის ნიმუშები ავიღეთ: ზემო ალვანი - 3, ქვემო ალვანი - 3, ახმეტა - 4 და პანკისის ხეობა - 1 ნიმუში. ყველი დამზადებული იყო ცხვრის რძით ოჯახურ პირობებში (სურ. 2).



სურ. 2. გუდის ყველის ნიმუშები, საიდანაც მოხდა პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა

გუდის ყველის ჩანათესებიდან იზოლატების შერჩევა განხორციელდა პროპიონმჟავა ბაქტერიებისთვის დამახასიათებელი კოლონიებისა და უჯრედების მორფოლოგიის მიხედვით. კერძოდ, პროპიონმჟავა ბაქტერიებისათვის დამახასიათებელია მოყვითალო ან თეთრი შეფერილობის კოლონიები, და მოკლე ჩხირები, ან კოკები (სურ. 3) (Ворожьева, 1995). სულ გამოიყო 19 იზოლატი.



სურ. 3. გუდის ყველიდან გამოყოფილი იზოლატების კოლონიები და უჯრედები

პროპიონმჟავა ბაქტერიების პირველადი სკრინინგი განხორციელდა გრამის წესით შეღებვითა და კატალაზას ტესტის გამოყენებით. პროპიონმჟავა ბაქტერიები კატალაზა-დადებითი და გრამ-დადებითი ბაქტერებია (Bergey, 2009). ყველა 19 იზოლატი აღმოჩნდა კატალაზა-დადებითი და გრამ-დადებითი.

სხვადასხვა ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლის (სხვადასხვა ტემპერატურაზე და მარილის 4% კონცენტრაციაზე ზრდა, ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროს ფერმენტაციის უნარი, კატალაზური აქტივობა, კაზეინისა და ქელატინის ჰიდროლიზი, ჰემოლიზის უნარი, გოგირდწყალბადის წარმოქმნა, აციდოფიკაციის უნარი, პროტეოლიზური, ურეაზული, ლიპოლიზური აქტივობა) შესწავლის მიხედვით შეირჩა 4 შტამი, რომელთა მახასიათებლები წარმოდგენილია ცხრილში 1.

ცხრილი 1. პროპიონმჟავა ბაქტერიების იზოლატების თვისებები

თვისებები	შტამების პირობითი ნომრები			
	1TP	2TP	3TP	4TP
კოლონიის ფერი	მოყვითალო	მოყვითალო	მოყვითალო	თეთრი
სუნთქვის ტიპი	ანაერობი	ანაერობი	ანაერობი	ანაერობი
გრამით შეღებვა	+	+	+	+
კატალაზას ტესტი	+	+	+	+
NaCl-ის 4%-ზე ზრდა	+	+	+	+
4 °C-ზე ზრდა	-	-	-	-
37 °C-ზე ზრდა	+	+	+	+
45 °C-ზე ზრდა	+	+	+	+
შაქრების ფერმენტაცია				
ლაქტოზა	+	+	+	+
მალტოზა	+	+	+	-
საქაროზა	+	+	+	+
არაბინოზა	+	+	+	+
ინდოლის ტესტი	-	-	-	-
ქელატინის ტესტი	-	-	-	-
კაზეინის ჰიდროლიზის უნარი	+	+	+	-

ჟელატინის ჰიდროლიზი	+	+	+	-
ჰემოლიზის უნარი	+	+	+	-
გოგირდწყალბადის წარმოქმნა	-	-	-	+
აციდოფიკაციის უნარი 37 °C ტემპერატურაზე	დაბალი	დაბალი	დაბალი	-
პროტეოლიზური აქტივობა	+	+	+	+
ურეაზული აქტივობა	-	-	-	-
ლიპაზური აქტივობა	+	+	-	-

შენიშვნა: + დადებითი რეაქცია, - უარყოფითი რეაქცია; * გაზის გამოყოფა ფერმენტაციის დროს

შესწავლილი შტამებიდან მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებების მიხედვით, 3 იზოლატი 1TP, 2TP და 3TP, მივაკუთვნეთ პროპიონმჟავა ბაქტერიებს, კერძოდ, *Propionibacterium freudenreichii* სახეობას (Bergey, 2009). აღნიშნული 3 კულტურის ფერმენტაციის პირობების დასადგენად გამოვიყენეთ უცხიმო აღდგენილი რძე; აღდგენილი რძის მაჩვენებლები იყო: ცილა - 3.4; ლაქტოზა - 4.77, სიმკვრივე - 31.34, ტიტრული მჟავიანობა - 16 °T. რძე გადავიტანეთ თერმომიქსში ლაბორატორიულ პირობებში რძის ჰომოგენიზაციისა და პასტერიზაციისათვის. რძე მივიყვანეთ სასურველ ტემპერატურამდე (37 °C) და მასში შევიტანეთ პროპიონმჟავა ბაქტერიების სუსპენზია საერთო მოცულობის 5%-ის ოდენობით. შევისწავლეთ მათი აციდოფიკაციის უნარი და ხანგრძლივობა სხვადასხვა ტემპერატურაზე (30 °C, 37 °C, 43 °C), ასევე ფერმენტირებული რძის pH, და ტიტრული მჟავიანობა (°T) როგორც თერმოსტატში ფერმენტაციის დასრულების, ასევე მიღებული პროდუქტის 4°C-ზე გაცივების შემდეგ.

ფერმენტაცია ჩატარდა 200 მლ-იან პლასტმასის ჭიქებში (სურ. 4). შედეგები წარმოდგენილია ცხრილი 2-ში.

ცხრილი 2. პროპიონმჟავა ბაქტერიის ფერმენტაციის პირობების დადგენა

პარამეტრი		1TP			2TP			3TP		
ინკუბაციის ტემპერატურა, °C		30	37	43	30	37	43	30	37	43
ინკუბაციის ხანგრძლივობა, სთ		20	20	14	19	20	16	21	20	16
ტიტრული მჟავიანობა, °T	ინკუბაციის შემდეგ	70	80	86	72	76	84	70	78	80
	4°C-ზე 10±2 სთ გაცივების შემდეგ	70	80	86	74	78	88	80	80	84
pH	ინკუბაციის შემდეგ	4.58	4.34	4.5	4.55	4.44	4.41	4.6	4.51	4.3
	4°C-ზე 10±2 სთ გაცივების შემდეგ	4.5	4.3	4.5	4.51	4.4	4.38	4.46	4.44	4.4

როგორც ცხრილიდან ჩანს კარგი კოლტის მისაღებად სხვადასხვა ტემპერატურაზე სხვადასხვა დრო აღმოჩნდა საჭირო. იმავე ცხრილში არის მოტანილი აგრეთვე ნადედის ინკუბაციის შემდგომი ტიტრული მჟავიანობა და pH. აღმოჩნდა, რომ მყარი ნადედის წარმოქმნის თვალსაზრისით, ყველაზე ნაკლები საინკუბაციო პერიოდი იყო 43 °C ტემპერატურაზე; ხოლო 30 °C და 37 °C კოლტის წარმოქმნას დაახლოებით ერთნაირი დრო დასჭირდა - 20±1.

მიღებული ნადედის მაცივარში, 4 °C-ზე და 10±2 საათის განმავლობაში განთავსების შემდეგ ტიტრული მჟავიანობისა და pH-ის შემოწმებამ აჩვენა, რომ ტიტრული მჟავიანობისა და pH-ის ცვლილება იყო უმნიშვნელო.



სურ. 4. პროპიონმჟავა ბაქტერიის აციდოფიკაციის უნარის შესწავლა სხვადასხვა ტემპერატურაზე

შესწავლილი იზოლატებიდან შემდგომი სამუშაოებისთვის შევარჩიეთ შტამი 1TP ფერმენტაციის ხანგრძლივობის ყველაზე ნაკლები ხანგრძლივობის გამო.

3.2. რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა და შერჩევა

რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფა განხორციელდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში შეგროვებული ნედლი რძიდან, თვითჩადეებული ნედლი რძიდან, ყველის შრატისა და მცენარეების ფილოსფეროდან:

- ნედლი რძე და რძის პროდუქტები – 77 ნიმუში, მათ შორის:
 - რძე (1 – თხის რძე, დანარჩენი – ძროხის რძე) – 30 ნიმუში
 - თავისით ჩადეებული ნედლი რძე – 33 ნიმუში
 - მაწონი (1 – კამეჩის რძე, დანარჩენი – ძროხის) – 14 ნიმუში
- რძის პროდუქტების დამზადებასთან დაკავშირებული სხვადასხვა სახის ნიმუშიდან, მათ შორის, რძის ყველის დამზადების შემდეგ დარჩენილი შრატიდან (ცხრილში შრატის თავი, როგორც ეძახის მოსახლეობა) – 8 ნიმუში
- სხვადასხვა მცენარის ფილოსფეროდან – 31 ნიმუში.

ბაქტერიების გამოსაყოფად ნიმუშები შეგროვდა საქართველოს სხვადასხვა სოფელში: ჭობარეთი, ხალილო, დუშეთი, საგარეჯო, ნიქოზი, ხვანჭკარა, ჭალა, ახალი სამგორი, კორბოული, თბილისი, ლაგოდეხი, ქვედა ლუხა, ჭუბერი, ოქროყანა, სვირი, მანგლისი, ცხრუკვეთი, კაზრეთი, წალკა, თამარისი, ვანი და სხვ.).

ნედლი რძიდან რძემჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად, ნიმუშები ითესებოდა შესაბამის საკვებ არეებზე (MRS, M17), რძის პროდუქტებიდან – კეთდებოდა სერიული განზავებები და ითესებოდა მყარ საკვებ არეებზე ცალკეული კოლონიების მისაღებად; ნედლი რძის თვითჩადეებისთვის, რძიანი კოლბები იდგმებოდა თერმოსტატში 37 °C-ზე 8 სთ-ის განმავლობაში და შემდეგ ითესებოდა მყარ საკვებ არეებზე, ხოლო ფილოსფეროდან გამოსაყოფად, ჯერ კეთდებოდა რძემჟავა ბაქტერიების გამამდიდრებელი (დამაგროვებელი) კულტურა, რისთვისაც მცენარეებიდან სხვადასხვა მიწისზედა ნაწილი თავსდებოდა MRS ბულიონში 37 °C-

ზე 24 სთ-ის განმავლობაში და შემდეგ ითესებოდა შესაბამის მყარ საკვებ არეებზე (MRS, M17). სურ. 5-ზე მოცემულია ეს პროცედურები.



სურ. 5. დამაგროვებული კულტურის მიღება ნედლი რძიდან და მცენარეების ფილოსფეროდან

ცხრილებში 3-7 წარმოდგენილია ნიმუშების აღების ადგილები და მასალა, ასევე გამოყოფილი იზოლატების უჯრედის ფორმები.

ცხრილი 3. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული რძის ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი

#	ნიმუშის აღების ადგილი		უჯრედის ფორმა	
	მუნიციპალიტეტი	სოფელი	ჩხირი	კოკი
1	გორი	ხვითი	1	1
2	გორი	ზემო ხვითი	1	1
3	გორი	ზემო ნიქოზი	1	1
4	გორი	ზემო ნიქოზი	1	1
5	მესტია	ქვედა ლუჰა	0	1
6	მესტია	ჭუბერი	1	1
7	თბილისი	ოქროყანა*	1	1
8	დუშეთი	ტონჩა	1	2
9	ჭიათურა	სვირი	1	1
10	მესტია	ჭუბერი	0	2
11	მარნეული	ახალი სამგორი	1	1
12	ამბროლაური	ხვანჭკარა	1	0
13	მესტია	ქვედა ლუჰა	1	1
14	თეთრიწყარო	მანგლისი	1	1
15	ბოლნისი	კაზრეთი	1	1
16	თბილისი	ავჭალა	1	1
17	მარნეული	ახალი სამგორი	1	1
18	მარნეული	ახალი სამგორი	2	1
19	ქობულეთი	ქვედა აჭყვა	1	1
20	დმანისი	ჯავახი	1	0
21	გორი	ზემო ნიქოზი	1	1
22	გორი	ზემო ნიქოზი	1	1

23	მესტია	ქვედა ლუპა	1	2
24	მესტია	ქვედა ლუპა	1	2
25	ბოლნისი	თამარისი	0	1
26	ბოლნისი	თამარისი	1	1
27	გორი	ზემო ნიქოზი	1	2
28	თბილისი	შემოგარენი	2	1
29	თბილისი	შემოგარენი	1	2
30	ჩხოროწყუ	მუხური	1	1

შენიშვნა: * - თხის რძე

ცხრილი 4. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული თვითჩადედიებული რძის ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი

#	ნიმუშის აღების ადგილი		უჯრედის ფორმა	
	მუნიციპალიტეტი	სოფელი	ჩხირი	კოკი
1	ასპინძა	ჭობარეთი	1	0
2	დუშეთი	ქალილო	1	1
3	თიანეთი	ალოცი	1	0
4	ბორჯომი	ცემი	2	1
5	მესტია	მესტია	1	0
6	დმანისი	ჯავახი	1	1
7	დუშეთი	ტონჩა	1	1
8	ონი	ღარი	1	1
9	ონი	ღარი	0	1
10	ამბროლაური	ხვანჭკარა	1	2
11	საჩხერე	ჭალა	1	1
12	მარნეული	ახალი სამგორი	1	0
13	მარნეული	ახალი სამგორი	1	1
14	საჩხერე	კორბოული	1	2

15	საჩხერე	კორბოული	1	1
16	საჩხერე	კორბოული	1	2
17	საჩხერე	კორბოული	1	1
18	საჩხერე	კორბოული	2	0
19	საჩხერე	კორბოული	1	0
20	საჩხერე	კორბოული	1	1
21	საჩხერე	კორბოული	1	1
22	საჩხერე	კორბოული	2	1
23	საჩხერე	კორბოული	1	1
24	დუშეთი	მადაროსკარი	2	0
25	დმანისი	ჯავახი	1	1
26	დმანისი	ჯავახი	1	2
27	ლაგოდეხი	აფენი	1	1
28	თბილისი	შემოგარენი	1	1
29	თბილისი	შემოგარენი	1	1
30	დმანისი	ჯავახი	0	1
31	მცხეთა	წეროვანი	1	1
32	ასპინძის	ჭობარეთი	1	1
33	თელავი	თელავი	0	1

ცხრილი 5. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული მაწვნის ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი

#	ნიმუშის აღების ადგილი		უჯრედის ფორმა	
	მუნიციპალიტეტი	სოფელი, დაბა	ჩხირი	კოკი
1	ასპინძა	ჭობარეთი	1	1
2	ლენტეხი	ზესხო	0	0
3	გორი	ხვითი	1	1
4	საგარეჯო	საგარეჯო*	1	2
5	ამბროლაური	ხვანჭკარა	1	1
6	საჩხერე	ჭალა	3	1

7	საჩხერე	ჭალა	1	1
8	დმანისი	ჯავახი	2	1
9	მესტია	ქვედა ლუპა	1	1
10	მესტია	ჭუბერი	2	1
11	ქობულეთი	ქვედა აჭყვა	2	1
12	გორი	ზემო ნიქოზი	0	1
13	ჭიათურა	ცხრუკვეთი**	1	1
14	ჩხოროწყუ	მუხური	0	1

შენიშვნა: * – კამეჩის მაწონი; ** – შრატის თავით ჩამაწვნიებული რძე

ცხრილი 6. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული სხვადასხვა სახის ნიმუშიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი

#	ნიმუშის აღების ადგილი		ნიმუშის სახეობა	უჯრედის ფორმა	
	მუნიციპალიტეტი	სოფელი, დაბა		ჩხირი	კოკი
1	საჩხერე	ჭალა	მაჭიკი	1	1
2	მესტია	ქვედა ლუპა	კვეთი	1	0
3	მესტია	ქვედა ლუპა	კვეთი (მშრალი)	1	0
4	ჭიათურა	ცხრუკვეთი	შრატის თავი	0	1
5	წალკა	ტბეთი	მაჭიკი	1	0
6	ასპინძა	ჭობარეთი	ყველი ტენილი	1	1
7	გორი	ზემო ნიქოზი	შრატის თავი	1	0
8	მესტია	ქვედა ლუპა	შრატის თავი	0	1

შენიშვნა: შრატის თავი - ყველის ამოყვანის შემდეგ დარჩენილი შრატის ზედა ნაწილი

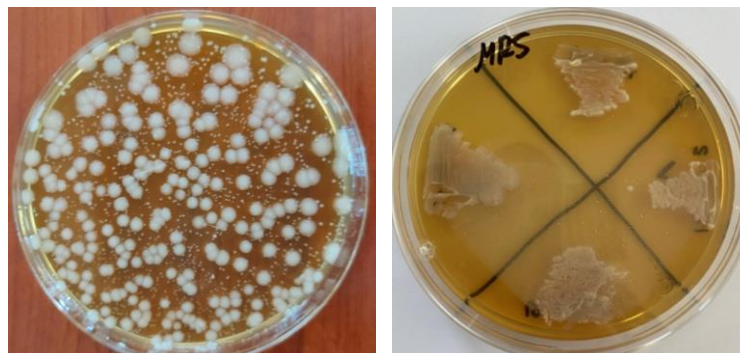
ცხრილი 7. საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში გავრცელებული მცენარეების ფილოსფეროს ნიმუშებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების ზოგიერთი მახასიათებელი

#	ნიმუშის აღების ადგილი	მცენარე	უჯრედის ფორმა
---	-----------------------	---------	---------------

	მუნიციპალიტეტი	სოფელი, დაბა, უბანი		ჩხირი	კოკი
1	თბილისი	პატარა გლდანი	სვია, ღერო	2	1
2	თბილისი	პატარა გლდანი	სვია, ყლორტი	2	2
3	თბილისი	პატარა გლდანი	სვია, ფოთოლი	3	1
4	თბილისი	პატარა გლდანი	მჭაუნა, ღერო	1	2
5	თბილისი	პატარა გლდანი	მჭაუნა, ყვავილი	2	2
6	თბილისი	პატარა გლდანი	მჭაუნა, ფოთოლი	2	2
7	მესტია	მესტია	ლეცირი	3	1
8	მესტია	მესტია	გვირილა	1	3
9	გორი	ნიქოზი	სამყურა	2	2
10	გორი	ნიქოზი	იონჯა	3	2
11	გორი	ნიქოზი	გვირილა	1	2
12	გორი	ნიქოზი	ასკილი	2	1
13	გორი	ნიქოზი	მრავალძარღვა	3	1
14	გორი	ნიქოზი	შინდი	2	2
15	დუშეთი	ტონჩა	გულყვითელა	1	1
16	დუშეთი	ტონჩა	გულყვითელა	3	1
17	დუშეთი	ტონჩა	გულყვითელა	1	2
18	თბილისი	სანზონა	იონჯა	2	1
19	თბილისი	სანზონა	იუკა	1	1
20	თბილისი	ავჭალა	ბაბუაწვერა	1	2
21	თბილისი	ავჭალა	სამყურა	2	1
22	თბილისი	ავჭალა	ფარსმანდუკი	3	0
23	თბილისი	ავჭალა	ქრისტესისხლა	2	3
24	თბილისი	ავჭალა	მრავალძარღვა	2	1
25	თბილისი	ავჭალა	ფარსმანდუკი	2	0
26	თბილისი	ავჭალა	დიდილო	3	1
27	ვანი	სალხინო	სამყურა	2	1
28	ვანი	დიხაშხოს ქალა	მაყვლის ყვავილი	2	1

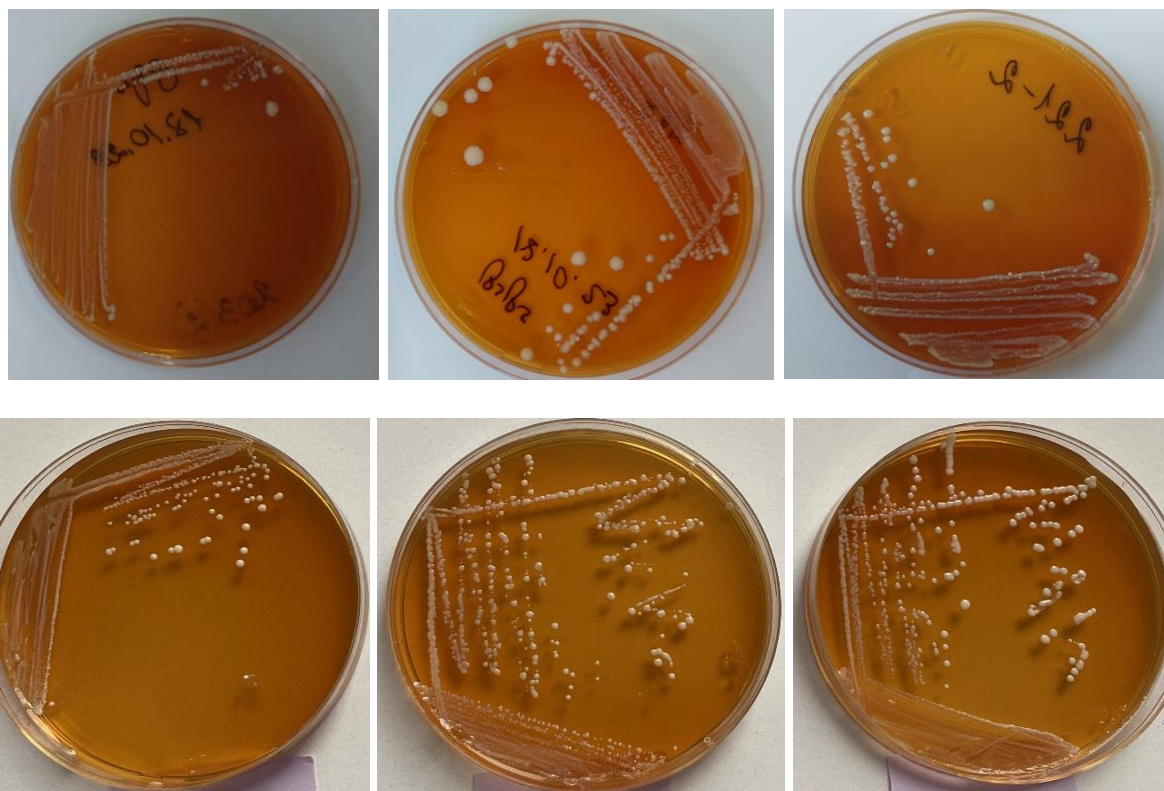
29	თბილისი	ავჭალა	შინდის ნაყოფი	3	1
30	თბილისი	ავჭალა	შინდის ფოთოლი	2	2
31	ხონი	კინჩხა	გვირილა	2	1

როგორც მე-3 - მე-7 ცხრილებიდან ჩანს, 116 ნიმუშიდან ამოითესა 263 იზოლატი. სურ. 6-ზე წარმოდგენილია რძემჟავა ბაქტერიების გამოყოფის ეტაპები.



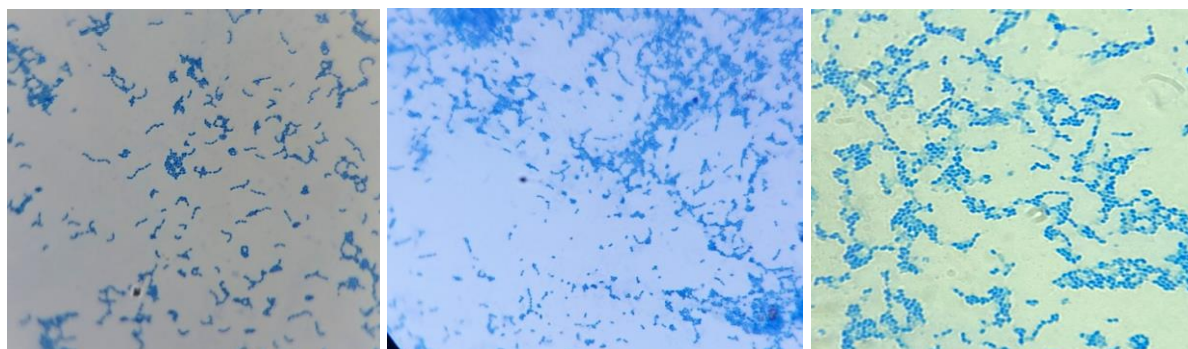
სურ. 6. თავისით ჩადეღებული რძიდან რძემჟავა ბაქტერიების პირველადი ჩანათესი (მარცხნივ) და იზოლატების გამოყოფა

იზოლატების სუფთა კულტურები მიღებულ იქნა მრავალჯერადი გადათესვით იმავე საკვებ არეებზე, რომლებზეც გამოყოფა განხორციელდა (სურ. 7).



სურ. 7. ზოგიერთი რძემჟავა ბაქტერიის კოლონიები

რძემჟავა ბაქტერიები არიან როგორც ჩხირის, ასევე კოკის ფორმის გრამდადებითი ბაქტერიები. ამიტომ ცალკეული იზოლატები პირველ რიგში შემოწმდა უჯრედის ფორმისა და გრამის წესით შეღებვის მიხედვით (სურ.8-9).



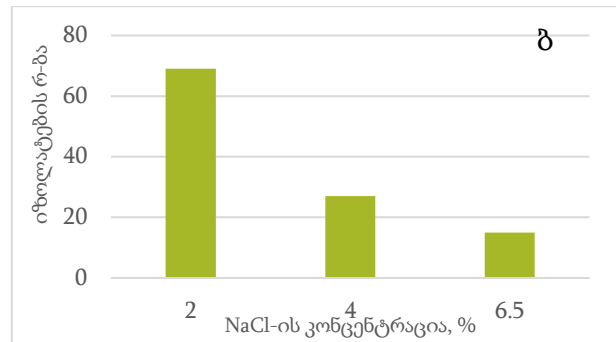
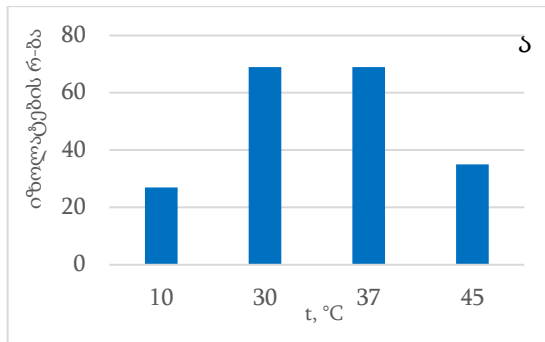
სურ. 8. MRS აგარზე და M17 აგარზე გამოყოფილი გრამდადებითი კოკები



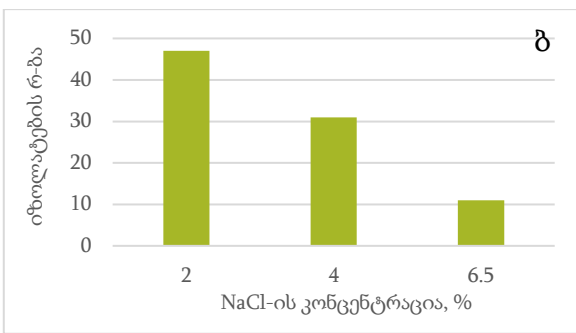
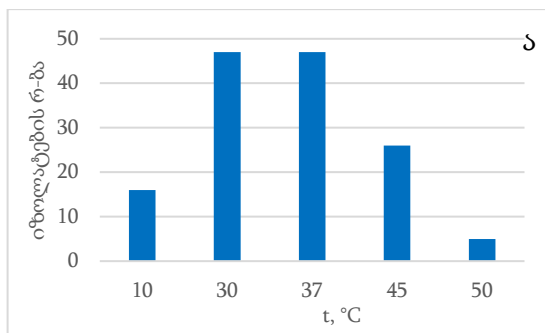
სურ. 9. MRS აგარზე და M17 აგარზე გამოყოფილი გრამდადებითი ჩხირები

გრამდადებითი იზოლატები შემოწმდა კატალაზას ტესტზეც, რადგან რძემჟავა ბაქტერიები კატალაზა-უარყოფითი მიკროორგანიზმები არიან. გრამის წესით შეღებვისა და კატალაზას ტესტის მიხედვით (Reiner, 2010) შეირჩა გრამ-დადებითი და კატალაზა-უარყოფითი 116 იზოლატი, მათ შორის 47 აღმოჩნდა კოკის ფორმის, რომლებიც ქმნიდნენ ჯაჭვებს და წყვილებს, როგორც *Streptococcus thermophilus*-ისთვისაა დამახასიათებელი და 69 - ჩხირის ფორმის, *Lactobacillus delbrueckii*-სთვის დამახასიათებელი უჯრედების განლაგებით.

შემდგომი სკრინინგი ჩატარდა NaCl სხვადასხვა კონცენტრაციაზე (2%, 4% და 6.5%) და ტემპერატურაზე (10 °C, 30 °C, 37 °C, 45 °C და 50 °C) ზრდის მიხედვით. შედეგები წარმოდგენილია დიაგრამებზე (ნახ. 1 და ნახ. 2).



ნახ. 1. ჩხირის ფორმის რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე (ა) და NaCl-ის კონცენტრაციაზე (ბ)



ნახ. 2. კოკის ფორმის რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე (ა) და NaCl-ის კონცენტრაციაზე (ბ)

რძემჟავა ბაქტერიების უმრავლესობა კარგად იზრდება 30 °C და 37 °C ტემპერატურებზე და 2% NaCl-ის კონცენტრაციაზე. შემდგომი კვლევებისთვის ჩხირებს შორის შევარჩიეთ ისეთი კულტურები, რომლებიც იზრდებოდა 2% და 4% NaCl კონცენტრაციაზე და 45 °C-ზე, მაგრამ არ იზრდება 10 °C ტემპერატურაზე (როგორც არის დამახასიათებელი ტიპური *Lactobacillus delbrueckii*-სთვის) (Bergey, 2009); სულ 42 იზოლატი.

S. thermophilus შტამების სკრინინგისთვის კოკებს შორის შევარჩიეთ ისეთი კულტურები, რომლებიც იზრდებოდნენ 50 °C ტემპერატურაზე 2% NaCl კონცენტრაციაზე და არ იზრდებოდნენ 10 °C-ზე და 4% და 6.5% NaCl კონცენტრაციაზე. შესწავლილი 32 იზოლატიდან 5 იზოლატი არ გაიზარდა 4% NaCl და 10 °C ტემპერატურაზე, როგორც დამახასიათებელია ამ სახეობისთვის (Bergey, 2009).

3.3. რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია

რძემჟავა ბაქტერიების დნმ-ის გამოყოფა მოხდა დუღილის მეთოდით (Dashti, Jadaon, Abdulsamad, & Dashti, 2009) მცირე მოდიფიკაციით:

- წყლის ნაცვლად გამოვიყენეთ TE ბუფერი (Invitrogen), რადგან დნმ ამ ბუფერში უფრო ხანგრძლივად ინარჩუნებს მდგრადობას
- დუღილი ვაწარმოეთ 100 °C ტემპერატურაზე ნაცვლად 95 °C 10 წუთის განმავლობაში.

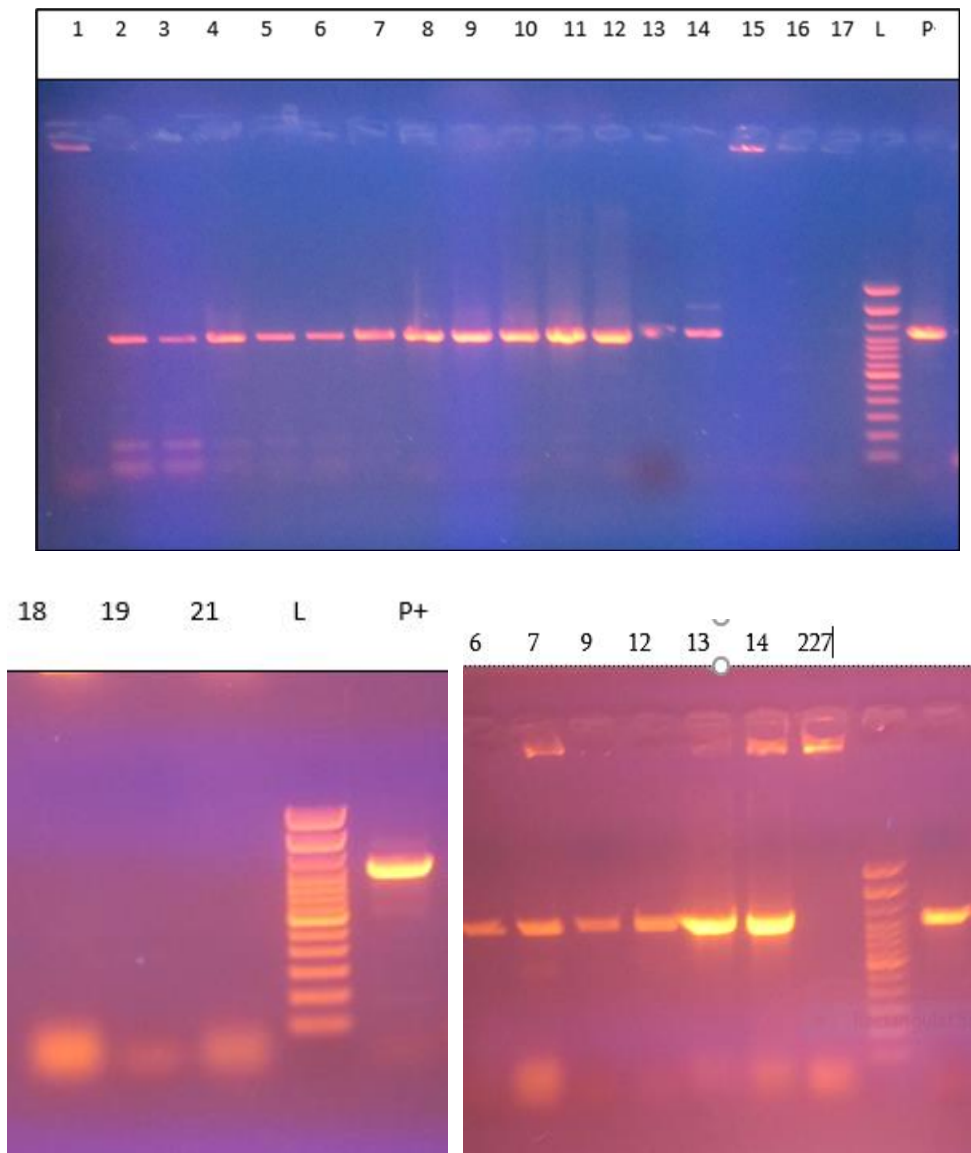
L. delbrueckii-ის იზოლატების იდენტიფიკაციისთვის გამოვიყენეთ პრაიმერების წყვილი:

LB1F: 5' AAAAATGAAGTTGTTTAAAGTAGGTA-3';

LB1R: 5'-AAGTCGTCCTCTGGCTGG-3'.

ჩვენ მიერ გამოყენებული პრაიმერების წყვილი LB1F/LB1R იძლევა საშუალებას განვასხვავოთ ერთმანეთისგან *L. delbrueckii*-ს ორი ქვესახეობა: *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* და *L. delbrueckii* ssp. *lactis*, ამპლიფიცირებული ფრაგმენტის ზომის მიხედვით: *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*-ის შემთხვევაში - 1065 bp ფრაგმენტი და *L. delbrueckii* ssp. *lactis*-ის შემთხვევაში - 1600 bp ფრაგმენტი (Torriani, Zapparoli, & Dellaglio, 1999).

PCR-ფრაგმენტების ვიზუალიზაცია განხორციელდა 1.5% აგაროზის გელზე ჰორიზონტალური ელექტროფორეზით. შესწავლილი 42 ლაქტობაცილუსის იზოლატიდან 19 იდენტიფიცირებულ იქნა, როგორც *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, 2 - როგორც *L. delbrueckii* ssp. *lactis* PCR-ფრაგმენტების ელექტროფორეგრამების მიხედვით (სურ. 10).

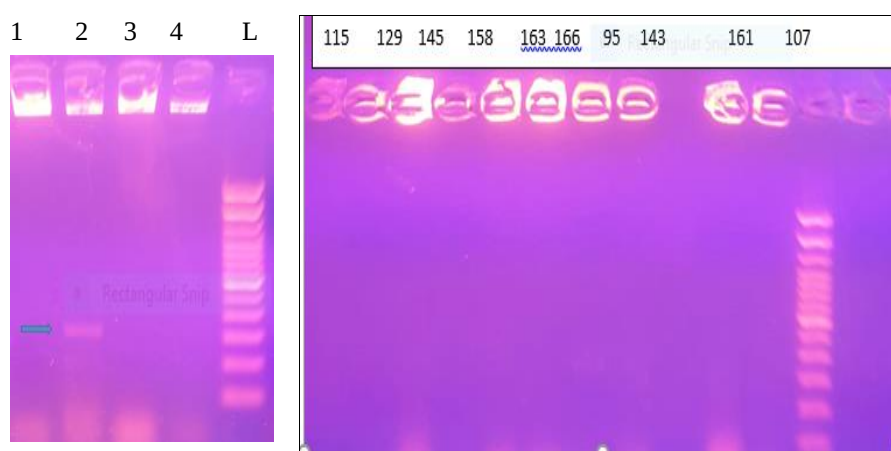
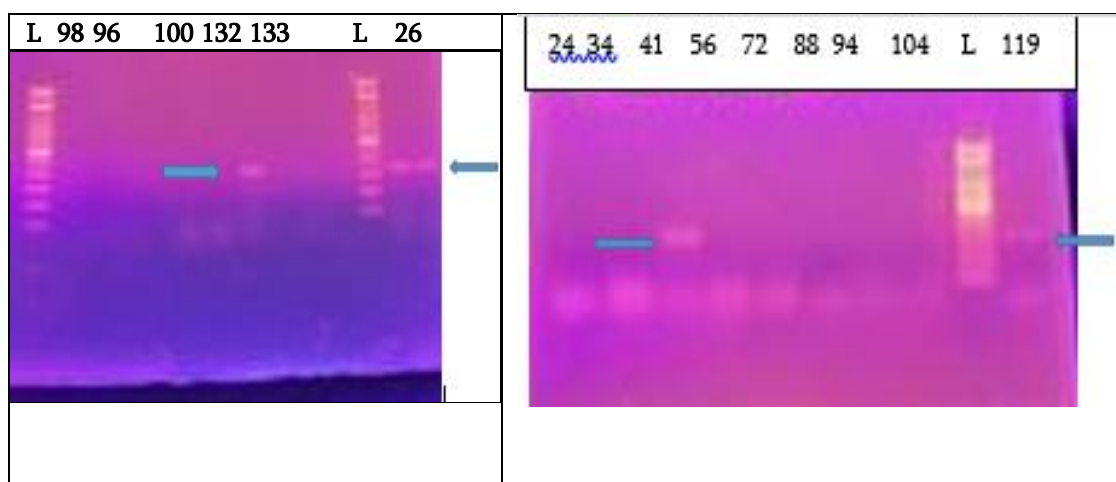


სურ. 10. შესწავლილი ზოგიერთი რძემჟავა ბაქტერიის იზოლატის *Lactobacillus*-ის სპეციფიკური პრაიმერების წყვილით (LB1F/ LB1R) ამპლიფიცირებული PCR-ფრაგმენტების ელექტროფორეგრამები: ზევით - #: 1 – 51, 2 – **T-190**, 3 – 191, 4 – 192, 5 – 194, 6 – 198, 7 – 200, 8 – 201, 9 – 205, 10 – 207, 11 – 210, 12 – 211, 13 – 215, 14 – **T-221**, 15 – 222, 16 – 223, 17 – 224; ქვემოთ მარცხნივ - #: 18 – 225; 19 – 226; 21 – 210; ქვემოთ მარჯვნივ - #: 6 – 198, 7 – 200, 9 – 205, 12 – 211, 13 – 215, 14 – **T-221**, 227 – 227, P – დადებითი კონტროლი, L- ლადერი (1000 bp)

S. thermophilus-ის იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებულ იქნა პრაიმერების წყვილი:

Th I (5'-ACGGAATGTACTTGAGTTTC-3')

Th II (5'-TTTGGCCTTTCGACCTAAC-3').



სურ.11. *S. thermophilus*-ის სპეციფიკური პრაიმერებით (Th I/Th II) ამპლიფიცირებული იზოლატები ##: 1– 89; 2 – T-365; 3 – 106; 4 – 111; L – ლადერი (1000 bp)

259 bp ზომის ამპლიფიცირებული ფრაგმენტების PCR-პროდუქტის საფუძველზე, შესწავლილი 32 იზოლატიდან კოკის ფორმის უჯრედებით 5 იდენტიფიცირებული იყო, როგორც *S. thermophilus*.

3.4. რძემჟავა ბაქტერიების აციდოფიკაციის უნარის და პროტეოლიზური აქტივობის შესწავლა

იდენტიფიცირებული *L. delbrueckii*-ის და *S. thermophilus*-ის შტამების აციდოფიკაციის უნარის შესასწავლად მათი სუსპენზია (10^8 - 10^9 კფე/მლ) დაემატა აღდგენილ უცხიმო ჰომოგენიზებულ, პასტერიზებულ რძეს. ფერმენტაცია

მიმდინარეობდა 50 მლ-იან თავსახურიან მინის ქილებში ან პლასტმასის კონტეინერებში 42 °C ტემპერატურაზე (სურ. 12).



სურ. 12. რძის ფერმენტაცია სხვადასხვა რძემჟავა ბაქტერიის გამოყენებით

სხვადასხვა იზოლატის შემთხვევაში რძის შედედებას/კოაგულაციას სხვადასხვა დრო დასჭირდა - 5-9 სთ.

ცხრილი 8. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტების მახასიათებლები

იზოლატი	გაცივებული პროდუქტის მჟავიანობა		ორგანოლექტიკური მახასიათებლები
	°T	pH	
T-190	130	3.80	ნადედი - კარგი, შრატი - ცოდაოდენი, ნაზი გემო
T-365	150	3.81	ნადედი - კარგი, შრატი - ცოდაოდენი, ნაზი გემო
G-26	140	3.86	ნადედი - კარგი, შრატი - ცოდაოდენი, ნაზი გემო
T-221	130	3.84	ნადედი - კარგი, შრატი - ცოდაოდენი, სასიამოვნო გემო და სუნი
327	150	3.81	ტექსტურა - კარგი, გემო - მომწარო
203	150	4.10	ტექსტურა - კარგი, გემო - მომჟავო-მომწარო

თერმოსტატში ფერმენტაციის დასრულების შემდეგ ნიმუშების ტიტრული მჟავიანობა ($^{\circ}\text{T}$) იყო 98-100, 4°C -ზე მაცივარში გაცივების 8 საათის შემდეგ როგორც ნადედის ტიტრულმა მჟავიანობამ მოიმატა და სხვადასხვა შტამის შემთხვევაში შეადგინა 130-დან 150-მდე. ცხრილში 8 წარმოდგენილია იმ ვარიანტების ტიტრული მჟავიანობა, pH და ორგანოლექტიკური მაჩვენებლები (ნადედის კონსისტენცია, არომატი, გემო), რომლებშიც ნადედის წარმოქმნას დასჭირდა 5-6 სთ.

არაერთი ლიტერატურული წყაროდან არის ცნობილი, რომ იოგურტისმაგვარი პროდუქტების pH იცვლება პროდუქტის გაცივების შემდეგ. ეს პროცესი აიხსნება საწყისი კულტურის ბაქტერიების მეტაბოლური აქტივობით, რომლებიც აგრძელებენ არსებული ნახშირწყლების დაშლას, თუმცა ბევრად უფრო ნელა, ვიდრე ეს ხდება მათი ოპტიმალური ტემპერატურის დროს (Nawai, Ashna, & Rahela, 2022); (Salvador & Fiszman, 2004); (Božanić, Lovković, & Jeličić, 2011).

პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრამ (უცხიმო რძიან აგარზე ნათელი უბნების წარმოქმნის უნარი) აჩვენა, რომ ამ შტამებისთვის დამახასიათებელია სუსტად გამოხატული კაზეინაზური აქტივობა მეტ-ნაკლები ინტენსივობით.

როგორც მე-8 ცხრილიდან ჩანს, რძემჟავა ბაქტერიების შტამებმა: *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* T-190 და *L. delbrueckii* ssp. *lactis* T-221 და *S. thermophilus* T-365 და *S. thermophilus* G-26, გამოავლინეს საუკეთესო გემო, ტექსტურა, ნადედის სისქე და არომატი; მათი წარმომავლობა წარმოდგენილია ცხრილში 9.

შემდგომი სამუშაოები ჩავატარეთ სწორედ ამ 4 შტამზე.

ცხრილი 9. რძემჟავა ბაქტერიების შერჩეული შტამების წარმომავლობა და უჯრედების მორფოლოგია

შტამის დასახელება	წარმომავლობა	უჯრედის ფორმა
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> T-190	ქართლის რაიონი, თბილისის მიდამოები, სოფელი დიღომი, ძროხის რძე	ჩხირი

<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> T-221	ქართლის რაიონი, თბილისის მიდამოები, სოფელი ოქროყანა, ძროხის რძე	ჩხირი
<i>S. thermophilus</i> T-365	იმერეთის რეგიონი, ხონის მუნიციპალიტეტი, სოფელი გორდი, ყველის დამზადების შემდეგ დარჩენილი შრატი	კოკი
<i>S. thermophilus</i> G-26	სამცხე-ჯავახეთის რეგიონი, ასპინძის მუნიციპალიტეტი, სოფელი ჭობარეთი, თიხის ჭურჭელში მომწიფებული ქართული ტრადიციული ყველი ტენილი	კოკი

3.5. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზოგიერთი ფიზიოლოგიური მახასიათებელი

ჩვენ ქვეთავში 3.1. აღვნიშნეთ, რომ გამოყოფილი იზოლატების სკრინინგი განხორციელდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე და NaCl-ის კონცენტრაციაზე ზრდის უნარის მიხედვით. ქვემოთ ცხრილებში 10 და 11 წარმოდგენილია შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ეს მახასიათებლები.

სხვადასხვა ტემპერატურაზე ზრდა შევისწავლეთ MRS ბულიონში. ბულიონები მოვათავსეთ თერმოსტატში 2 °C, 10 °C, 37 °C, 45 °C და 50 °C-ზე და დავაყოვნეთ 48-72 საათის განმავლობაში; შემდეგ მარყუქით შტრიხად გადავიტანეთ MRS აგარზე (BioLife, იტალია), ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37 °C ტემპერატურაზე 48 საათის განმავლობაში.

რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა MRS აგარზე, იზოლატების მიერ კონკრეტული ტემპერატურის მიმართ ტოლერანტობაზე მიუთითებდა (Tambekar & Bhutada, 2010).

ცხრილი 10. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე

შტამის დასახელება	2 °C	10 °C	37 °C	45 °C	50 °C
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> T-190	-	-	+	+	-
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> T-221	-	-	+	+	-
<i>S. thermophilus</i> T-365	-	-	+	+	+
<i>S. thermophilus</i> G-26	-	-	+	+	+

შენიშვნა: + გაიზარდა; – არ გაიზარდა

NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდას ვსწავლობდით MRS აგარზე NaCl-ის სხვადასხვა შემცველობით (2%, 4% და 6.5%), რომელზეც შტრიხად გადაგვქონდა რძემჟავა ბაქტერიების 48 სთ-იანი ნაზრდები ბულიონები (კწე/მლ - $n \times 10^7$), კონტროლად გამოყენებული იყო MRS აგარი NaCl-ის გარეშე. ბაქტერიების კულტივირებას ვახდენდით თერმოსტატში 37 °C-ზე. 48 სთ-ის შემდეგ ხდებოდა შედეგის აღრიცხვა (ცხრილი 11).

ცხრილი 11. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე

შტამის დასახელება	NaCl-ის კონცენტრაცია, %			კონტროლი
	2	4	6.5	
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> T-190	+	+	-	+
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> T-221	+	+	-	+
<i>S. thermophilus</i> T-365	+	-	-	+
<i>S. thermophilus</i> G-26	+	-	-	+

შენიშვნა: + გაიზარდა; – არ გაიზარდა

რძემჟავა ბაქტერიების მიერ შაქრების ფერმენტაციის შესასწავლად გამოყენებული იქნა Phenol Red Broth Base-ის ბულიონი (BioLife, იტალია), რომელშიც 1%-ის რაოდენობით შეტანილი გვქონდა შემდეგი შაქრები: მალტოზა, ლაქტოზა, რამნოზა, ინოზიტი, მანიტი, საქაროზა. ინკუბაცია მიმდინარეობდა 24 საათის განმავლობაში 37 °C ტემპერატურაზე. ხსნარის ფერის ცვლილება წითელიდან ყვითელზე და/ან ასევე გაზის წარმოქმნა მიგვითითებს დადებით რეაქციაზე. უარყოფით კონტროლს

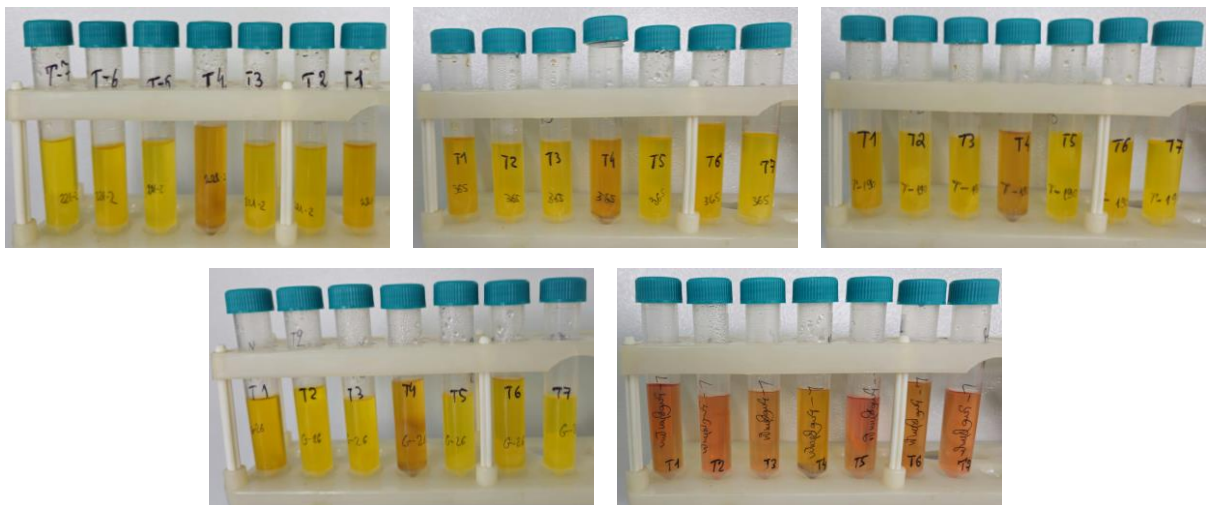
წარმოადგენდა შესაბამისი შაქრის ბულიონი ინოკულაციის გარეშე, ხოლო დადებით კონტროლს - ინოკულირებული იგივე საკვები არე 1% გლუკოზით.

ცხრილი 12. რძემჟავა ბაქტერიების კულტურების მიერ ნახშირბადის წყაროს ფერმენტაცია

შტამის დასახელება	მალტოზა	ლქტოზა	რამნოზა	ინოზიტი	მანიტი	საქროზა	კონტროლი	
							გლუკოზა	ნეგატიური
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> T-190	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> T-221	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>S. thermophilus</i> T-365	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>S. thermophilus</i> G-26	+	+	+	-	+	+	+	-

შენიშვნა: + ფერის შეცვლა ანუ მჟავას წარმოქმნა, - ფერი არ შეცვლა

შაქრების ფერმენტაციის უნარის მიხედვით, გამოყოფილი იზოლატები წარმოადგენენ ჰომოფერმენტულ კულტურებს, რადგან შაქრებიდან წარმოქმნიან მხოლოდ მჟავას, რის გამოც phenol red-ის საკვებმა არემ შეიცვალა ფერი სხვადასხვა ინტენსივობის ყვითელ შეფერილობამდე.



სურ. 13. რძემჟავა ბაქტერიების მიერ შაქრების ფერმენტაცია

შესწავლილი ნახშირბადის წყაროებიდან ინოზიტოლის (სურ. 13-ზე აღნიშნულია სინჯარებზე როგორც T4) გარდაქმნის უნარი არ აღმოაჩნდა არც ერთ კულტურას (ცხრილი 12, სურ. 13).

3.6. რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური თვისებების შესწავლა

შესწავლილი იქნა რძემჟავა ბაქტერიების პრობიოტიკური მახასიათებლები: დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობა, ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა, ანტიმიკრობული აქტივობა, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა.

დაბალი pH-ის მიმართ ტოლერანტობა. შერჩეული იზოლატების სიცოცხლისუნარიანობის შესაფასებლად დაბალ pH-ზე, მათი 36 სთ-იანი სუსპენზიების ინკუბაცია ხდებოდა pH 2-ზე 30 წუთის, 1 და 2 სთ-ის განმავლობაში; ასეთი სუსპენზიების 100 μ l ინოკულაცია მიმდინარეობდა MRS აგარზე.

LAB-ის იზოლატების ზრდა მიუთითებს მათ ტოლერანტობაზე დაბალი pH-ის მიმართ (Tambekar & Bhutada, 2010). pH 2-ზე 2 სთ-ით ინკუბირებულმა *Lactobacillus*-ის 11 და *Streptococcus*-ის 3 შტამმა შეინარჩუნა სიცოცხლისუნარიანობა - ასე დამუშავებული იზოლატებმა მოგვცეს ნაზრდი ანაერობულ პირობებში 37 °C-ზე 48 საათის განმავლობაში. მათ შორის იყო ჩვენ მიერ შერჩეული 4 შტამი (*S. thermophilus* T-365, *S. thermophilus* G-26, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190 და *L. delbrueckii* subsp. *lactis* T-221).

ცხრილი 13. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ზრდა ნაღვლის მარილებზე

შტამის დასახელება	ზრდა	
	ნაღვლის მარილები	კონტროლი
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> T-190	+	+
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> T-221	+	+
<i>S. thermophilus</i> T-365	+	+
<i>S. thermophilus</i> G-26	+	+

ნაღვლის მარილების მიმართ ტოლერანტობა. აღნიშნულმა შტამებმა ასევე გამოავლინა 1% ნაღვლის მარილების შემცველ MRS აგარზე ზრდის უნარი (ცხრილი 13).

ანტიმიკრობული აქტივობა. შესწავლილი იქნა ასევე შერჩეული 4 შტამის ანტიმიკრობული აქტივობა 10 სხვადასხვა ტესტ-კულტურის მიმართ (*Salmonella enterica* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13833, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Streptococcus pyogenes* ATCC 21059, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Escherichia coli* ATCC 25922). ტესტ-კულტურების განახლება განხორციელდა TSA საკვებ არეზე.

მიულერ-ჰინტონის აგარზე (Oxoid, ინგლისი) თითოეული ტესტ-კულტურის ე.წ. გაზონად ჩათესვიდან დაახლოებით 20 წთ-ის შემდეგ იდებოდა MRS-აგარზე გაზრდილი 3-დღიანი რძემჟავა ბაქტერიების ბლოკები.

ცხრილი 14. შერჩეული რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების ანტიმიკრობული აქტივობა

N	შტამის დასახელება	ანტიმიკრობული აქტივობა (ინჰიბირების ზონის დიამეტრის მიხედვით), მმ				
		T-190	T-221	G-26	T-365	Pr
1	<i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028	8	11	11	9	8
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13833	13	13	11	10	9
3	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	14	10		7	6
4	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	15	15	14	10	-
5	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 21059	-	-	-	-	-
6	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10	12		10	-
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	14	11	12	14	-
8	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	15	12	8	-
9	<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	-	-	-	-	-
10	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	10	9	-	-

მიკროორგანიზმების ინკუბაცია მიმდინარეობდა 37 °C ტემპერატურაზე თერმოსტატში აერობულად. 24 საათის შემდეგ ვზომავდით ინჰიბირების ზონების დიამეტრს (მმ) იზოლატების ბლოკების ირგვლივ (Menberu, et al., 2021).

ყველა შესწავლილმა შტამმა გამოავლინა სხვადასხვა ინტენსივობის ანტიმიკრობული აქტივობა თითქმის ყველა შესწავლილი ტესტ-კულტურის მიმართ (ცხრილი 14).

ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის დასადგენად მიულერ-ჰინტონის აგარზე (Oxoid, ინგლისი), გადაგვქონდა საკვლევი კულტურების სუსპენზია ($n \times 10^7$ კწე/მლ) და 20 წთ-ის შემდეგ აგარიზებულ საკვებ არეზე ვათავსებდით სხვადასხვა ანტიბიოტიკურ დისკს: ამპიცილინი (AMP10), ხლორამფენიკოლი (C30), ციპროფლოქსაცინი (CIP5), გენტამიცინი (GM10), კანამიცინი (K30), ლევოფლოქსაცინი (LEV), ნალიდიქსინის მჟავა (NA30), ნეტილმიცინი (NE10), ოქსაცილინი (OXC1), რიფამპიცინი (RIF5), სულბაქტამი (S10), სულფონამიდი (S300), ვანკომიცინი (VA5). თერმოსტატში 37 °C-ზე და 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ ვზომავდით ანტიბიოტიკური დისკების ირგვლივ ინჰიბირების ზონების დიამეტრებს (მმ) (Kenny, Mayer, Dulworth, Brackman, & Farrar, Evaluation of the teicoplanin broth microdilution and disk diffusion susceptibility tests and recommended interpretive criteria, 1992). მიღებული მონაცემების ინტერპრეტაციისათვის შედეგებს ვადარებდით ანტიბიოტიკული მგრძნობელობის განსაზღვრის ევროპული კომიტეტის საკონტროლო ცხრილებს ინჰიბირების ზონების დიამეტრების მიხედვით (Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters). ცხრილში 15 წარმოდგენილია როგორც ინჰიბირების ზონის დიამეტრები, ასევე მგრძნობელობა თითოეული ანტიბიოტიკის მიმართ.

ცხრილიდან ჩანს, რომ შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიები სხვადასხვა ანტიბიოტიკურ მგრძნობელობას ავლენენ სხვადასხვა ანტიბიოტიკის მიმართ. ოთხივე შტამი რეზისტენტულია ამპიცილინის, რიფამპიცინისა და ოქსაცილინის მიმართ, ხოლო გენტამიცინის, ვანკომიცინისა და ლევოფლოქსაცინის მიმართ ყველა შტამმა გამოავლინა მაღალი მგრძნობელობა.

ცხრილი 15. რძემჟავა ბაქტერიების მგრძნობელობა ანტიბიოტიკების მიმართ

შტამი ანტიბიოტიკი	T-365		T-190		T-221		G-26	
	d, მმ	R/S	d, მმ	R/S	d, მმ	R/S	d, მმ	R/S
Ampicillin (AMP10)	10	R	12	R	12	R	16	R
Chloramphenicol (C30)	14	R	13	R	20	S	14	R
Ciprofloxacin (CIP5)	21	R	31	S	0	R	24	R
Gentamicin (GM10)	20	S	34	S	33	S	30	S
Kanamycin (K30)	12	R	25	S	26	S	15	R
Levofloxacin (LEV)	24	S	20	R	26	S	24	S
Nalidixic acid (NA30)	20	nd	30	nd	12	nd	22	nd
Netilmicin (NE10)	16	nd	0	nd	10	nd	26	nd
Oxacillin (OXC1)	0	R	0	R	0	R	0	R
Rifampicin (RIF5)	0.8	R	23	R	21	R	14	R
Sulbactam (S10)	15	S	20	S	0	R	17	S
Sulphonamide (S300)	0	R	15	S	20	S	0	R
Vancomycin (VA5)	21	S	20	S	25	S	24	S

შენიშვნა: S - სენსიტიური, R - რეზისტენტული ცხრილში მოცემულია ინჰიბირების ზონები მმ-ში და მიწერილი აქვს ინჰიბირების ზონის ასეთი დიამეტრი ითვლება სენსიტიურად თუ რეზისტენტულად (Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters)-ის მიხედვით; nd - აღნიშნულ წყაროში არაა მონაცემი

ამრიგად, პრობიოტიკური, ბიოტექნოლოგიური და ორგანოლეპტიკური მახასიათებლების მიხედვით მრავალსაფეხურიანი სკრინინგების შედეგად შეირჩა 4 ავტოხტონური LAB შტამი: *S. thermophilus* T-365, *S. thermophilus* G-26, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* T-190 და *L. delbrueckii subsp. lactis* T-221. ეს შტამები შეიძლება გამოყენებულ იქნას, როგორც ინდივიდუალურად, ასევე კომბინაციაში რძის ფერმენტირებული სასმელის პროდუქტის მისაღებად.

3.7. რძემჟავა ბაქტერიების ურთიერთდამოკიდებულება

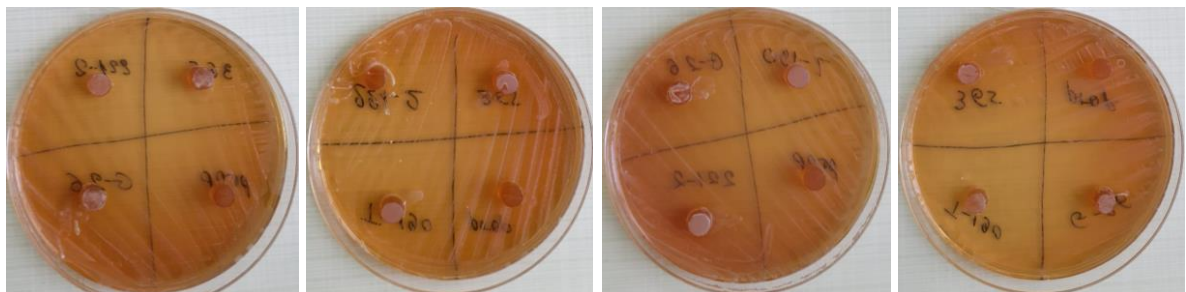
ეფექტური ბიოტექნოლოგიური პროცესის შემუშავება შესაძლებელია პრობიოტიკური ბაქტერიების კონსორციუმის გამოყენებით. ეს კონსორციუმები საფუძვლად უდევს კვების ჯაჭვებს და უზრუნველყოფს ეკოსისტემების

სასარგებლო ფუნქციონირებას. მიკრობული კონსორციუმი შედგება ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებებით განსხვავებული შტამებისაგან, რომლებსაც აქვთ დიდი ბიოტექნოლოგიური პოტენციალი. მიკრობული კონსორციუმები არის უფრო სტაბილურები, ხასიათდებიან რთული ფუნქციონირებით და შემცირებული მეტაბოლური დატვირთვით (Widyastuti, Febrisiantosa, & Tidona, 2021).

მიუხედავად იმისა, რომ კონსორციუმის ფუნქციური პოტენციალის გამოყენების სარგებელი მაღალია, არსებობს კონცეპტუალური და ტექნიკური ბარიერები. ასეთი დაბრკოლებების გადალახვა მოითხოვს გამრავლების უნარის გაძლიერებას და ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლას. ძალიან მნიშვნელოვანია მიზნის ოპტიმიზაციისათვის მიკრობული სტრუქტურისა და მეტაბოლური ფუნქციების შესანარჩუნება (Ayed, M'hira, Nuzzolese, Di Cagno, & Filannino, 2024).

რძემჟავა ბაქტერიების კონსორციუმში გაერთიანების შესაძლებლობის დასადგენად შევისწავლეთ მათი ურთიერთდამოკიდებულება აგარში დიფუზიის მეთოდით.

შედეგები წარმოდგენილია სურ. 14-ზე.



სურ. 14. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების ურთიერთდამოკიდებულება

როგორც სურათიდან ჩანს, შტამების ურთიერთდამოკიდებულება არის ნეიტრალური და არც ერთი შტამი არ თრგუნავს სხვა შტამების ზრდა-განვითარებას.

3.8. კონსორციუმის შექმნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით და პროდუქტის მიღებისათვის ტექნოლოგიური პარამეტრების განსაზღვრა

რძის ფერმენტირებული სასმელის მისაღებად გამოვიყენეთ ჩვენ მიერ გამოყოფილი და შერჩეული პროპიონმჟავა ბაქტერია (TP1) და კომერციული პროპიონმჟავა ბაქტერია *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermanii* (Lactoferm PP4, Biochem, იტალია).

პრობიოტიკური მიკროორგანიზმები, რომლებსაც ძირითადად მიეკუთვნებიან ლაქტობაცილუსები, ლაქტოკოკები, ბიფიდო- და პროპიონმჟავა ბაქტერიები, იზრდებიან დაბალ pH-ზე, ნაღვლის მჟავების მაღალ კონცენტრაციაზე და საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში არსებულ სხვა არასასურველ პირობებში. რძემჟავა ბაქტერიები ქმნიან ხელსაყრელ გარემოს პროპიონმჟავა ბაქტერიების გასამრავლებლად, ორივე ერთად კი განაპირობებს პროდუქტის სტრუქტურასა და საგემოვნო თვისებებს (Hakim, Xuan, & Oslan, 2023). პროპიონმჟავა ბაქტერიები გამოიყენება როგორც ბიოკონსერვანტები და B12 ვიტამინის პროდუცენტები (Vorobjeva, et al., 2004).

პროდუქტის დასამზადებლად გამოყენებული იყო უცხიმო რძის ფხვნილი (Covbar Food Industry): ცხიმი - 0, ცილა - 3.4, ლაქტოზა - 5.1 (ლაქტოსკანი, ბულგარეთი). რძის ჰომოგენიზაციისა და პასტერიზაციისთვის გამოვიყენეთ Thermomix (საფრანგეთი), რომელიც რძის ისეთივე გადამუშავების საშუალებას იძლევა ლაბორატორიულ პირობებში, როგორც ხდება ქარხანაში: $91^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურამდე გაცხელება მინიმუმ 30 წამის განმავლობაში და შემდგომში სწრაფი გაგრილება სასურველ ტემპერატურამდე. პასტერიზაციის ეფექტურობა შემოწმდა პეროქსიდაზას აქტივობის გაზომვით. ფერმენტირებული რძის პროდუქტის მისაღებად პროპიონმჟავა ბაქტერიის ფხვნილი (0.02 გ/ლ) და შერჩეული LAB-ის სხვადასხვა კომბინაციები (თხევადი სახით) მთლიანი მოცულობის 5%-ის ოდენობით ($n \times 10^6$ კწე/მლ) შევიტანეთ აღდგენილ, პასტერიზებულ და ჰომოგენიზირებულ რძეში 44°C -ზე. მიკროორგანიზმების რაოდენობა განისაზღვრა MRS აგარზე განზავების მეთოდით. ფერმენტაციის

პროცესი მიმდინარეობდა თერმოსტატში 43 °C ტემპერატურაზე. თითოეული კომბინაციით შედეგებისთვის საჭიროა სხვადასხვა დრო; შევამოწმეთ ტიტრული მჟავიანობა და pH ინკუბაციის შემდეგ. მიღებული პროდუქტი გადავიტანეთ მაცივარში 4±2°C ტემპერატურაზე და 10±2 საათის შემდეგ შევისწავლეთ მისი ტიტრული მჟავიანობა (°T), pH და ორგანოლექტიკური მაჩვენებლები (ცხრილი 16, ცხრილი 17).

ცხრილი 16. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტის მახასიათებლები

კომბინაცია	ფერმენტაციის დრო, სთ	პროდუქტის ტიტრული მჟავიანობა, °T		pH
		ფერმენტაციის ბოლოს	გაცივებულ პროდუქტში	
T-221 + G-26 + Pr	6±0.3	90±4.5	100±5	4.50
T-221 + G-26 + TP1	9±0.45	98±4.9	112±5.6	4.50
T-221 + T-190 + Pr	7±0,35	92±4.6	102±5.1	4.47
T-221 +T-190 +TP1	9±0.45	96±4.8	110±5.5	4.37
T-221 + T-365 + Pr	6±0.3	94±4.7	102±5.1	4.45
T-221 +T-365 +TP1	9±0.45	98±4.9	114±5.7	4.35
G-26 + T-190 + Pr	6±0.3	90±4.5	100±5	4.42
G-26 + T-190 + TP1	8±0.4	98±4.8	120±6	4.32
G26 + T-365 + Pr	6±0.3	94±4.7	104±5.2	4.50
G26 + T-365 + TP1	7±0.35	90±4.5	100±5	4.53
T-190 + T-365 + Pr	7±0.35	92±4.6	100±5	4.52
T-190 + T-365 +TP1	8±0.4	90±4.5	98±4.8	4.52
T-221 + G-26 + T-190 + T-365 + Pr	5±0.25	90±4.5	102±5.1	4.51
T-221 + G-26 + T-190 + T-365 + TP1	7±0.35	96±4.8	116±5.8	4.47

როგორც მე-16 ცხრილიდან ჩანს, ფერმენტაციის დრო ვარიანტებში, რომლებშიც ჩვენ მიერ გამოყოფილი პროპიონმჟავა იყო გამოყენებული ყველა შემთხვევაში

აღმატებოდა კომერციული პროპიონმჟავა ბაქტერიის გამოყენებით მიღებულ შედეგებს. pH-სა და ტიტრული მჟავიანობის მიხედვით ამ ორი პროპიონმჟავა ბაქტერიით შექმნილ კომბინაციებს შორის მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ დაფიქსირებულა.

ფერმენტაციის შედეგად მიღებული პროდუქტის სენსორული ანალიზი ჩატარდა საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტის სადეგუსტაციო ოთახში. დეგუსტაციაში მონაწილეობდა საქართველოს ტექნიკური და აგრარული უნივერსიტეტების 10 თანამშრომელი. ჰედონიკური ტესტის დროს 5-ბალიან შკალაზე მოხალისე შემფასებლები ანიჭებდნენ ქულას მოწონების მიხედვით: 1 ქულა - ძალიან ცუდი - 5 ქულა - ძალიან კარგი.

ცხრილი 17. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტების ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლები და ჰედონიკური ტესტის შედეგები

კომბინაცია	პროდუქტის გარეგნული და ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლები		მინიჭებული ქულა
	ფერმენტაციის ბოლოს	გაცივებულ პროდუქტში	
T-221 + G-26 + Pr	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	ნადედი კარგი, სუნი კარგი, გემო სასიამოვნო, მომჟავო	4
T-221 + G-26 + TP1	ნადედი რბილი, სუნი კარგი	ნადედი რბილი, სუნი კარგი, გემო მომჟავო	4
T-221 + T-190 + Pr	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	ნადედი კარგი, სუნი კარგი, გემო სასიამოვნო, ნაზი	4
T-221 + T-190 + TP1	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	შრატის რაოდენობა ნორმაზე მეტი, სუნი და გემო მომჟავო	3
T-221 + T-365 + Pr	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	ნადედი კარგი, ცოტაოდენი შრატი, გემო მოტკბო	4

T-221 +T-365 +TP1	ნადედი რბილი. სუნი კარგი	ნადედი არაერთგვაროვანი, შრატი ნორმაზე მეტი, გემო მომწარო-მომჟავო	3
G-26 + T-190 + Pr	ნადედი რბილი, სუნი კარგი	ნადედი რბილი, სუნი და გემო დამახასიათებელი	4
G-26 + T-190 + TP1	ნადედი რბილი, სუნი კარგი	ნადედი რბილი, სუნი და გემო მომჟავო	4
G26 + T-365 + Pr	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	ნადედი კარგი, სუნი და გემო კარგი, შრატი ცოტაოდენი	4
G26 + T-365 + TP1	ნადედი კარგი, სუნი კარგი, შრატი ცოტაოდენი	ნადედი მყარი, შრატი ნორმაზე მეტი, გემო მომჟავო	4
T-190 + T-365 + Pr	ნადედი კარგი, სუნი დამახასიათებელი	ნადედი კარგი, შრატი ცოტაოდენი, სუნი და გემო ოდნავ მომჟავო	4
T-190 + T-365 +TP1	ნადედი კარგი, სუნი დამაკმაყოფილებელი	ნადედი კარგი, შრატი ცოტაოდენი, სუნი და გემო ოდნავ მომჟავო	4
T-221 + G-26 + T-190 + T-365 + Pr	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	ნადედი კარგი, სუნი სასიამოვნო, გემო დამახასიათებელი რძემჟავასთვის	5
T-221 + G-26 + T-190 + T-365 + TP1	ნადედი კარგი, სუნი კარგი	ნადედი კარგი, სუნი სასიამოვნო, გემო ოდნავ მომწარო	3

დეგუსტაციის ჩატარების დროთ შერჩეული იყო დღის 10-11 საათი, ვინაიდან შემფასებლების მგრძნობელობა დღის ამ მონაკვეთში ოპტიმალურია. მოხალისეების მიერ იყო გათვალისწინებული, რომ დეგუსტაციის ჩატარება არაა მიზანშეწონილი უზმოზე, ან უშუალოდ ჭამის შემდეგ. დეგუსტაციის ჩატარებამდე ნახევარი საათით ადრე, დეგუსტატორებმა არ უნდა მოწიონ, დალიონ ან ჭამონ (Lawless & Heymann, 2010).

პროცედურის დაწყებამდე მოხალისეებს განემარტათ დეგუსტაციის მიზნები, ამოცანები და მუშაობის პროცედურა; ისინი მუშაობდნენ ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად და თავიანთ აზრს თითოეულ პროდუქტზე აფიქსირებდნენ ფურცელზე.

ცხრილში 17 წარმოდგენილი მონაცემების მიხედვით, TP-1-ის რძემჟავა ბაქტერიებთან კომბინაციით მიღებული პროდუქტი მიუხედავად კარგი კოლტისა და კონსისტენციისა, ხასიათდებოდა ოდნავ მომწარო გემოთი, ხოლო ყველა იმ კომბინაციის შემთხვევაში, რომლებშიც კომერციული პროპიონმჟავა ბაქტერია იყო გამოყენებული, რძის ფერმენტირებული პროდუქტის სტრუქტურა/ კონსისტენცია იყო კარგი, ნაღედი - პრიალა, შრატი - მცირე, გემო - ოდნავ მომჟავო და სასიამოვნო, არომატი - სასიამოვნო, თუმცა ყველა მათგანში - განსხვავებული. მოხალისე დეგუსტატორების მიერ მინიჭებული ქულების მიხედვით, შეირჩა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კომბინაცია - T-221 + G26 + T-190 + T-365 + Pr, რომელიც უფრო მრავალფეროვანი გემოთი ხასიათდებოდა. ამიტომ სასმელი ფერმენტირებული პროდუქტის პარამეტრების დასადგენად შემდგომ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ აღნიშნული კონსორციუმი.

3.9. ფერმენტირებული რძის სასმელი პროდუქტის დამზადების

პარამეტრების შემუშავება

პრობიოტიკური ფერმენტირებული რძის სასმელის დასამზადებლად შევამცირეთ ფერმენტაციის დრო და ცილის შემცველობა რძეში.

პროდუქტის მისაღებად უცხიმო რძის ფხვნილს ვათავსებდით თერმომიქსში 35 °C ტემპერატურის წყალში; რძის ფხვნილის გახსნის შემდეგ ვამატებდით 82.5%-იან კარაქს და ვაცხელებდით მასას 55 °C ტემპერატურამდე (ამ ტემპერატურაზე კარაქი დნება); კარაქის სრული დადნობიდან 10-15 წუთის შემდეგ ვახდენდით პასტერიზაციას 90-91 °C ტემპერატურაზე (30 წმ) და ჰომოგენიზაციას თერმომიქსში. გამოყენებული რძის პარამეტრებია: ცხიმი - 3.2, ცილა - 2.8, ლაქტოზა - 4.7; ტიტრული მჟავიანობა - 15 ± 1 °T.

ჰომოგენიზებულ მასას ვაგრილებდით 44 °C-მდე. ამ ეტაპზე ვუმატებდით სტარტერის შერჩეულ კომბინაციას 5% ოდენობით (ბაქტერიების რაოდენობა ინოკულუმში – 35×10^6 კწე/მლ); შერევის შემდეგ მიღებული მასა გადაგვქონდა 300 მლ-იან პლასტმასის ბოთლებში. ნიმუშის ერთი ვარიანტის ფერმენტაცია თერმოსტატში გრძელდებოდა 1.5 სთ, მეორე ვარიანტის - 2 სთ, რის შემდეგაც ორივე ვარიანტის ნიმუში გადავიგვქონდა მაცივარში $+4 \pm 2$ °C ტემპერატურაზე 10 ± 2 საათის განმავლობაში. მჟავიანობა ($^{\circ}T$) და მიკროორგანიზმების რაოდენობა მოწმდებოდა როგორც თერმოსტატში ფერმენტაციის დასრულების შემდეგ, ასევე მაცივარში 12 საათის განმავლობაში შენახვის შემდეგ (ცხრილი 18), ხოლო ორგანოლექტიკური მაჩვენებლები და მიკროორგანიზმების რაოდენობა - მაცივარში შენახვის შემდეგ.

ცხრილი 18. ფერმენტაციის ხანგრძლივობის გავლენა პროდუქტის ზოგიერთ მახასიათებელზე

ფერმენტაციის დრო	ტიტრული მჟავიანობა, $^{\circ}T$		კწე/მლ გაცივებულ პროდუქტში
	თერმოსტატიდან გამოღებისას	$+4^{\circ}C$ -ზე 12 სთ გაცივების შემდეგ	
1.5	48 ± 2.4	90 ± 4.5	$14 \pm 0.7 \times 10^9$
2	52 ± 2.6	102 ± 5.1	$68 \pm 3.4 \times 10^9$

სხვადასხვა ხანგრძლივობის ფერმენტაციით მიღებული ორივე პროდუქტის გემო იყო ნაზი და დამახასიათებელი რძემჟავა პროდუქტისთვის, თუმცა კოლტის კონსისტენციისა და ერთგვაროვნების მიხედვით შერჩეულ იქნა 2 სთ-იანი ფერმენტაცია.

საწარმოს პირობებში იმითვის რომ მივიღოთ აღდგენილი რძის ცხიმის მაჩვენებელი 3.2 % და ცილა 2.8%, 500 ლ-ზე გადაანგარიშებით საჭიროა 39.7 კგ უცხიმო რძის ფხვნილი და 9.1 კგ 82.5%-იანი კარაქი, წყალი 451.2 ლ.

3.10. პროდუქტის შენახვის ვადის დადგენა

პროდუქტის შენახვის ვადის დასადგენად 2 სთ-იანი ფერმენტაციის პროდუქტი დავაყოვნეთ მაცივარში 18 დღის განმავლობაში; 3-4 დღის ინტერვალით

ვსწავლობდით რძის ფერმენტირებული სასმელის ტიტრულ მჟავიანობას ($^{\circ}\text{T}$) და ცოცხალ მიკროორგანიზმთა რაოდენობას (კწე/მლ).

ცხრილი 19. ცოცხალ მიკროორგანიზმთა რაოდენობისა (კწე/მლ) და ტიტრული მჟავიანობის ($^{\circ}\text{T}$) ცვლილების დინამიკა ფერმენტირებული სასმელ პროდუქტში

დღე	მიკროორგანიზმთა რ-ბა, $\lg$ კწე/მლ	ტიტრული მჟავიანობა, $^{\circ}\text{T}$
ფერმენტაციის დაწყებისას	7.5 ± 0.4	15 ± 0.7
გაცივებამდე	10.8 ± 0.5	52 ± 2.6
1-ლი დღე (გაცივების შემდეგ)	11.7 ± 0.6	102 ± 5.1
მე-4	11.8 ± 0.6	102 ± 5.1
მე-7	11.9 ± 0.6	105 ± 5.2
მე-11	10.4 ± 0.5	110 ± 5.5
მე-14	10.1 ± 0.5	112 ± 5.6
მე-18	7.0 ± 0.4	130 ± 6.5

როგორც მე-19 ცხრილიდან ჩანს, პროპიონმჟავური სასმელი პროდუქტის შენახვის ვადად შეგვიძლია მივიჩნიოთ 14 დღე, როცა პროდუქტის ტიტრული მჟავიანობა დაახლოებით მაწვნის ტიტრული მჟავიანობის დადგენილ ნორმებს შეესაბამება (Geographical indication: Matsoni). ამასთან, პროდუქტში პრობიოტიკული ბაქტერიების კწე შეესაბამება პრობიოტიკული საკვებისადმი წაყენებულ მოთხოვნებს (WHO/FAO, 2006).

ძირითადად, ფერმენტირებული რძის პროდუქტები შეიცავს პრობიოტიკური ბაქტერიების მაღალ კონცენტრაციას - 10^9 კწე/მლ (კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული 1 მლ-ში). თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ პრობიოტიკურ სურსათში მიკროორგანიზმების რაოდენობის სტანდარტიზაცია ძალიან რთულია და რაიმე ოფიციალურ პროტოკოლს, ან წესს არ ემორჩილება. ეს პროცესი ძირითადად დამოკიდებულია შტამის სპეციფიკურ პასუხზე სხვადასხვა გარემოს მიმართ. არსებობს პირობები, რომლებიც გასათვალისწინებელია პრობიოტიკური ბაქტერიების ზრდის და საკვებ ნიადაგებზე გასამრავლებლად. საკვებში პრობიოტიკური ბაქტერიების სიცოცხლისუნარიანობა დამოკიდებულია

გამოყენებულ სახეობებზე და შტამებზე, პროდუქტის ქიმიურ შემადგენლობასა და pH-ზე, დუდილის პირობებზე, ჟანგბადის არსებობაზე, შენახვის ტემპერატურაზე, დამცავი ნივთიერებების არსებობაზე და სხვა (Vinderola, Binetti, Burns, & Reinheimer, 2011).

3.11. პროდუქტის კვებითი ღირებულება

ჯოული არის ენერგიის მიღებული სტანდარტული ერთეული, რომელიც გამოიყენება საკვების ენერგეტიკული ღირებულების გამოსახატად. მრავალი ათწლეულის მანძილზე საკვების ენერგია გამოიხატება კალორიებში. როგორც ჯოული, ისე კალორია გამოიყენება უმეტეს მარეგულირებელ ჩარჩოდოკუმენტებში (Food energy - methods of analysis and conversion factors).

FAO-ს მიხედვით, რძესა და რძის პროდუქტებში 1 გ ცილის ენერგეტიკული ღირებულება არის 4.27 კკალ/გ (17.9კჯ/გ); 1 გ ცხიმის - 8.79 კკალ/გ (36.8კჯ/გ); 1 გ ჯამური ნახშირწყლების - 3.87 კკალ/გ (16.2 კჯ/გ).

მიუხედავად იმისა, რომ მხოლოდ ჯოულების გამოყენებაა რეკომენდირებული საერთაშორისო კონვენციით, საკვების ენერგიის მნიშვნელობები ხშირ შემთხვევაში მოცემულია როგორც ჯოულებში, ასევე კალორიებში.

ჩვენ მიერ მიღებული პრობიოტიკული სასმელი პროდუქტის ენერგეტიკული ღირებულებაა:

ცილები - 11.956 კკალ/გ (50.12 კჯ/გ)

ცხიმები - 28.128 კკალ/გ (117.76 კჯ/გ)

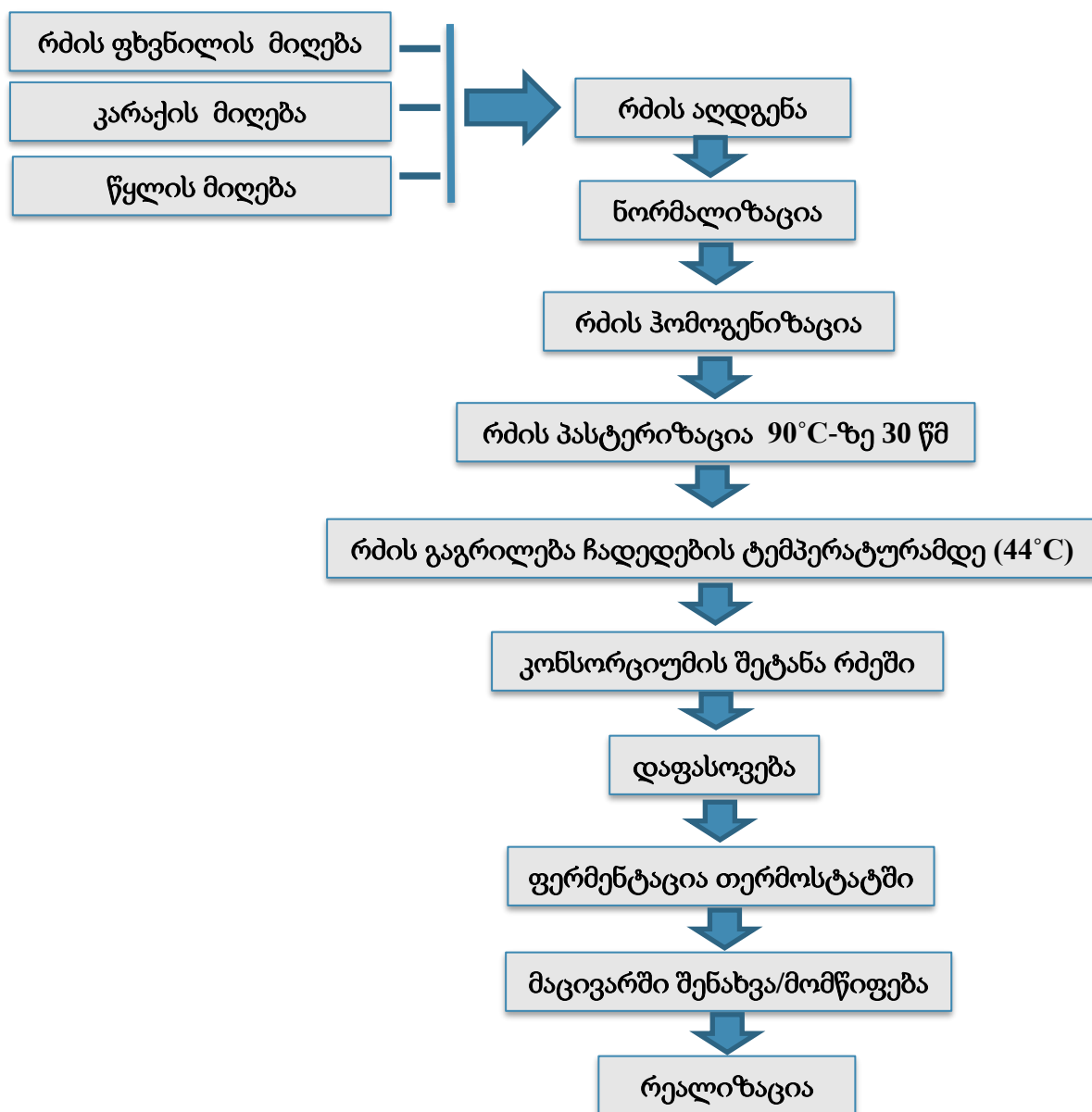
ნახშირწყლები - 18.189 კკალ/გ 76.14 კჯ/გ).

ანუ, ჩვენ მიერ შემუშავებული 100 გ რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტის ენერგეტიკული ღირებულებაა 58.273 კკალ/გ (244.02 კჯ/გ).

3.12. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა

ჩვენ მიერ მიღებული შედეგების მიხედვით, შემუშავებულია რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა (ნახ. 3):

ნახ. 3. სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა



დასკვნები

- ჩვენ მიერ საქართველოს სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული რძისა და რძის პროდუქტებიდან, ასევე სხვადასხვა მცენარის ფილოსფეროდან გამოყოფილი იქნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიები
- მრავალსაფეხურებრივი სკრინინგის შედეგად, მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური, ბიოქიმიური, პრობიოტიკური (pH 2-ზე ზრდა, ნაღვლის მარილებისადმი ტოლერანტობა, სხვადასხვა ფერმენტული აქტივობა, ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობა, ანტიბაქტერიული აქტივობა) და ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლების შესწავლის საფუძველზე შერჩეულ იქნა ბიოტექნოლოგიური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი რძემჟავა ბაქტერიების 4 შტამი - *S. thermophilus* T-365, *S. thermophilus* G-26, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190 და *L. delbrueckii* subsp. *lactis* T-221-2, რომლებიც ცალკე ან გარკვეული კომბინაციებით შესაძლოა გამოყენებულ იქნას რძის ფერმენტირებული მაწვნის-მაგვარი პროდუქტის მისაღებად.
- რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების 16S რ-დნმ-ების პჯრ პროდუქტების შესწავლის შედეგად გამოვლინდა *L. Delbrueckii*-ისა 21 და *S. thermophilus*-ის 5 შტამი
- რძის ფერმენტირებული სასმელის დასამზადებლად პრობიოტიკური და ორგანოლეპტიკური მაჩვენებლების მიხედვით შერჩეული იქნა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების კონსორციუმი შემდეგი შემადგენლობით: *P. freudenreichii* subsp. *Shermanii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T-190, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* T-221, *S. thermophilus* G-26, *S. thermophilus* T-365
- დადგინდა პროდუქტის მისაღებად საჭირო ტექნიკური პარამეტრები: რძის ტიტრული მჟავიანობა - $17 \pm 2^\circ\text{T}$; ფერმენტაციის დრო - 2 სთ, ფერმენტაციის ტემპერატურა - $43 \pm 1^\circ\text{C}$, შენახვის ტემპერატურა - $4 \pm 2^\circ\text{C}$; ვარგისიანობის ვადა - 14 დღე
- შემუშავდა რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკული სასმელის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა.

- რძის ფერმენტირებული პრობიოტიკური სასმელის დასამზადებლად შერჩეული კომბინაცია და დადგენილი ტექნოლოგიური სქემა, რომელიც საწარმოო პირობებში მასშტაბირების შემდეგ შესაძლოა დანერგილ იქნას წარმოებაში.

გამოყენებული ლიტერატურის სია

- (n.d.). (FAO) Retrieved from <https://www.fao.org/antimicrobial-resistance/en/>
- Abdul Hakim, B. N., Xuan, N. J., & Oslan, S. N. H. (2023, July 27). A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria: Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. (X. Yue, Ed.) *Foods*, 12(15). doi:10.3390/foods12152850
- Abedin, M. M., Chourasia, R., Phukon, L. C., Sarkar, P., C Ray, R., P Singh, S., & Rai, A. K. (2023, July 05). Lactic acid bacteria in the functional food industry: biotechnological properties and potential applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 10730-10748. doi:10.1080/10408398.2023.2227896
- Adamberg, K., Kask, S., Laht, T., & Paalme, T. (2003, August 15). The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 171-183. doi:10.1016/S0168-1605(02)00537-8
- Agricultural Statistics*. (1997-1998, August). Retrieved from https://www.nass.usda.gov/Statistics_by_State/New_York/Publications/Annual_Statistical_Bulletin/1998/98-agst.pdf
- Ahmadi, N., Khosravi-Darani, K., Zarean-Shahraki, S., Mortazavian, M., & Mashayekh, S. (2015, March 28). Fed-Batch Fermentation for Propionic, Acetic and Lactic Acid Production. *Oriental Journal of Chemistry*, 31. doi:http://dx.doi.org/10.13005/ojc/310174
- Ahrné, S., Molin, G., & StÅhl, S. (1989, May). Plasmids in Lactobacillus Strains Isolated from Meat and Meat Products. *Systematic and Applied Microbiology*, 11(3), 320-325. doi:10.1016/S0723-2020(89)80031-1
- Al-Lahham, S., Peppelenbosch, M., Roelofsen, H., Vonk, R., & Venema, K. (2010, November). Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801(11), 1175-83. doi:10.1016/j.bbalip.2010.07.007.
- Amiranashvili, L., Gagelidze, N., Varsimashvili, K., Tinikashvili, L., Tolordava, L., Gamkrelidze, M., . . . Makaradze, L. (2016, September). Antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance profiles of cultivable lactic acid bacteria from intestinal tract of domestic chickens collected in Adjara. *Annals of Agrarian Science*, 14(3), 182-186. doi:10.1016/j.aasci.2016.08.001
- Antimicrobial Resistance*. (n.d.). Retrieved from FAO : <https://www.fao.org/antimicrobial-resistance/en/>
- Ayed, L., M'hir, S., Nuzzolese, D., Di Cagno, R., & Filannino, P. (2024, May 15). Harnessing the Health and Techno-Functional Potential of Lactic Acid Bacteria: A Comprehensive Review. (C. C. Silva, Ed.) *Foods*, 13(10), 1538. doi:10.3390/foods13101538

- Balla, E., Dicks, L. M., Toit, M. D., Van Der Merwe, M. J., & Holzapfel, W. H. (2000, April). Characterization and Cloning of the Genes Encoding Enterocin 1071A and Enterocin 1071B, Two Antimicrobial Peptides Produced by *Enterococcus faecalis* BFE 1071. *ASM Journals*, 66(4), 1298–1304. doi:10.1128/aem.66.4.1298-1304.2000
- Bergey. (2009). *Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes* (second ed., Vol. Three). Heidelberg London New York: Springer. doi: 10.1007/b92997
- Berghe, E. V., Winter, T., & Vuyst, L. (2006, March 15). Enterocin A production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 406 is characterised by a temperature- and pH-dependent switch-off mechanism when growth is limited due to nutrient depletion. *International Journal of Food Microbiology*, 107(2), 159-170. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.08.027.
- Bintis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665–684. doi:10.3934/microbiol.2018.4.665
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665–684. doi:10.3934/microbiol.2018.4.665
- Bomba, A., Nemcová, R., Mudroňová, D., & Guba, P. (2002, April). The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 13(4), 121-126. doi:10.1016/S0924-2244(02)00129-2
- Božanić, R., Lovković, S., & Jeličić, I. (2011). Optimising Fermentation of Soymilk with Probiotic Bacteria. *Czech J. Food Sci*, 29, 51–56.
- Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. (n.d.). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Retrieved 01 01, 2021, from v_11.0_Breakpoint_Tables
- Burgos, M., Fernández, J., Alférez, M., Castro, J., & Aliaga, I. (2020, September). New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*, 72. doi:10.1016/j.jff.2020.104059
- Collado, M., Gueimonde, M., & Salminen, S. (2010). Probiotics in Adhesion of Pathogens: Mechanisms of Action. *Bioactive Foods in Promoting Health*, 353-370. doi:10.1016/B978-0-12-374938-3.00023-2
- Colombo, M., Castilho, P., Todorov, S. D., & Nero, L. A. (2018, December 19). Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production. *BMC Microbiology*. doi:10.1186/s12866-018-1356-8
- Dashti, A. A., Jadaon, M., Abdulsamad, A., & Dashti, H. (2009). Heat treatment of bacteria: a simple method of DNA extraction for molecular techniques. *KMJ-Kuwait Medical Journal*, 41(2), 117-122.
- Dillon, V. M. (2014). Natural AntiI-Microbial Systems | Preservative Effects During Storage. *Encyclopedia of Food Microbiology Second Edition*, 941-947. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00238-X

- Dillon, V. M. (2014). Natural Anti-Microbial Systems | Preservative Effects During Storage. *Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food Microbiology*, 941-947. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00238-X
- Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., McMullen, L., & Prévost, H. (2006). The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins. *ASM Journals*, 70(2). doi:10.1128/mmbr.00016-05
- Falentin, H., Deutsch, S. M., Jan, G., Loux, V., Thierry, A., Parayre, S., . . . Lortal, S. (2010). The Complete Genome of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA1T, a Hardy Actinobacterium with Food and Probiotic Applications. 5(7), 1-12. doi:10.1371/journal.pone.0011748ff.
- (2002). *FAO/WHO Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*.
- Fijan, S., Jessica, A. t., & László, V. (2021). Probiotic Microorganisms and Their Benefit to Human Health. (A. S. Dharumadurai Dhanasekaran, Ed.) *Advances in Probiotics Microorganisms in Food and Health*, 3-22. doi:10.1016/B978-0-12-822909-5.00001-0
- Food and Agriculture Organization*. (2020). Retrieved from <https://www.fao.org/home/en/:https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/91e8def0-714a-4e8e-8787-388fab464e38/content>
- Food and Agriculture Organization*. (2020). Retrieved from <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/91e8def0-714a-4e8e-8787-388fab464e38/content>
- (n.d.). *Food energy - methods of analysis and conversion factors*. Technical Workshop, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Retrieved December 3-6, 2002, from <https://www.fao.org/4/y5022e/y5022e00.htm#Contents>
- Foulquié Moreno, M. R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & Vuyst, L. D. (2006, January 15). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1-24. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026
- Foulquié, M., Sarantinopoulos, P., & Tsakalidou, E. (2006, January 15). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1-24. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026
- Fröhlich-Wyder, M. T., Bisig, W., Guggisberg, D., Jakob, E., Turgay, M., & Wechsler, D. (2017). Chemistry, Physics and Microbiology. *Cheeses With Propionic Acid Fermentation*, 889-910. doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00035-1
- Gagelidze, N., Amiranashvili, L., Papiani, T., Gaganidze, D., Sadunishvili, T., & Kvesitadze, G. (2024). Some probiotic properties and biotechnological potential of lactic acid bacteria isolated on the territory of Georgia. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 18(3), 116-121. Retrieved from 18_Gagelidze_Biotechnology.pdf
- (n.d.). *Geographical indication: "Matsoni"*. Registration No. 4, application No. 1572/07. Retrieved 01 24, 2012, from https://www.sakpatenti.gov.ge/ka/state_registry

- (n.d.). *Geographical indication: Matsoni*. Retrieved 2012, from https://www.sakpatenti.gov.ge/ka/state_registry
- Ghosh, T., Beniwal, A., Semwal, A., & Navani, N. (2019). Mechanistic insights into probiotic properties of lactic acid bacteria associated with ethnic fermented dairy products. *Front Microbiol*, 10, 1–19.
- Gill, H. S., & Guarner, F. (2004, September). Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 80(947), 516–526. doi:10.1136/pgmj.2003.008664
- Global action plan on antimicrobial resistance*. (2016). Retrieved from World Health Organization: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>
- Grand View Research. Probiotics market worth \$95.25 billion by 2028 | CAGR: 7.2%. (2021). Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-probiotics-market>
- Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Amrin, F. (2018, October). Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health. *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 5(10), 411–424.
- Hakim, A. B., Xuan, N. J., & Oslan, S. N. (2023). A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria: Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods*, 12(15), 2850. doi:10.3390/foods12152850
- Harley, J., & Reidy, P. (2005). Laboratory Exercises in Microbiology. 449.
- Hati, S., Mandal, S., & Prajapat, J. (2013). Novel Starters for Value Added Fermented Dairy Products. *Curr. Res. Nutr. Food Sci. J.*, 1, 83–91. doi:<https://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.1.1.09>
- Hayek, S., & Ibrahim, S. (2013, November). Current limitations and challenges with Lactic Acid Bacteria. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 73–87. doi:10.4236/fns.2013.411A010
- Hayek, S., Gyawali, R., Aljaloud, S., Krastanov, A., & Ibrahim, S. (2019). Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *J. Dairy Res*, 86, 490–502.
- Heymann, H., & Lawless, H. T. (2010). Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices. *Springer Science & Business Media*.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G., Merenstein, D., Pot, B., . . . Sanders, M. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 506–514.
- History of Bulgarian Yogurt. (n.d.). Retrieved from BACILLUS BULGARICUS: <https://bacillusbulgaricus.com/yogurt-history/>
- Illikoud, N., Carmo, F., Daniel, N., Jan, G., & Gagnaire, V. (2023, April). Development of innovative fermented products by exploiting the diversity of immunomodulatory properties and fermentative activity of lactic and propionic acid bacteria. *Food Research International*, 166. doi:10.1016/j.foodres.2023.112557

- Irlinger, F., Helinck, S., & Jany, J. (2017). Chapter 11 - Secondary and Adjunct Cultures. 273-300. doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00011-9
- Irlinger, F., Helinck, S., & Jany, J. (2017). *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (Fourth ed.). (P. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett, Eds.) doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00011-9
- Jeevaratnam, K., Jamuna, M., & Bawa, A. S. (2005, October). Biological preservation of foods–Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Indian Journal of Biotechnology*, 4, 446-454.
- Johnson, D. B., & Quatrini, R. (2020). Acidophile Microbiology in Space and Time. *Current Issues in Molecular Biology*, 39(1), 63-76. doi:10.21775/cimb.039.063
- Joo, N. E., Ritchie, K., Kamarajan, P., Miao, D., & Kapila, Y. L. (2012, October 02). Nisin, an apoptogenic bacteriocin and food preservative, attenuates HNSCC tumorigenesis via CHAC1. *I(3)*, 295–305. doi:10.1002/cam4.35
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33(3), 300-305. doi:10.4103/joacp.JOACP_349_15
- Kazou, M. (2022). Lactic Acid Bacteria: Lactococcus lactis. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 218-225. doi:10.1016/B978-0-12-818766-1.00325-1
- Kenny, M. T., Mayer, G. D., Dulworth, J. K., Brackman, M. A., & Farrar, K. (1992). Evaluation of the teicoplanin broth microdilution and disk diffusion susceptibility tests and recommended interpretive criteria. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease Journal*, 15(7), 609-12. doi:10.1016/0732-8893(90)90038-w.
- Kenny, M. T., Mayer, G. D., Dulworth, J. K., Brackman, M. A., & Farrar, K. (1992, September-October). Evaluation of the teicoplanin broth microdilution and disk diffusion susceptibility tests and recommended interpretive criteria. *ScienceDirect*, 15(7), 609-612. doi:10.1016/0732-8893(90)90038-W.
- Khankhalaeva, I., Khamagaeva, I., & Nikiforova, A. (2017). Effects of propionic-acid bacteria and bifidobacteria on the quality of raw smoked sausages. *FRM*, 5. doi:10.21179/2308-4057-2017-1-20-29
- Kühle, A., Skovgaard, K., & Jespersen, L. (2005, May 1). In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 101(1), 29-39. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.039
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food* (Second ed.). Springer.
- Leeuwendaal, N. K., Stanton, C., O'Toole, P. W., & Beresford, T. P. (2022, April 06). Fermented foods, health and the gut microbiome. *Nutrients*. (F. G. Carbonero, Ed.) *Nutrients*, 14(7). doi:10.3390/nu14071527
- Levy, J. (2000, January). The effects of antibiotic use on gastrointestinal function. *American Journal of Gastroenterology*, 95, 8-10. doi:10.1016/s0002-9270(99)00808-4.

- Lidbeck, A., Övervik, E., Rafter, J., Nord, C. E., & Gustafsson, J. (1992, January 1). Effect of *Lactobacillus acidophilus* Supplements on Mutagen Excretion in Faeces and Urine in Humans. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 5(1), 59-67.
- Linares, D. M., O'Callaghan, T. F., O'Connor, P. M., Ross, R. P., & Stanton, C. (2016, November 23). *Streptococcus thermophilus* APC151 Strain Is Suitable for the Manufacture of Naturally GABA-Enriched Bioactive Yogurt. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01876
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., & Franco, D. (2018). Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall Description. *Innovative Technologies for Food Preservation*, 53-107. doi:10.1016/B978-0-12-811031-7.00003-0
- Lourens-Hattingh, A., & Viljoen, B. C. (2001, November). *Food Research International*, 34(9), 791-796. doi:10.1016/S0963-9969(01)00085-0
- Mann, G., & Spoerry, A. (1974, May). Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 27(5), 464-469. doi:10.1093/ajcn/27.5.464
- Marco, M. L., Sanders, M. E., Gänzle, M., Arrieta, M. C., D Cotter, P., De Vuyst, L., . . . Hutkins, R. (2021, January 04). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 196-208. doi:10.1038/s41575-020-00390-5
- Marques, E. B., & Suzart, S. (2004, November 01). Occurrence of virulence-associated genes in clinical *Enterococcus faecalis* strains isolated in Londrina, Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, 53(11). doi:10.1099/jmm.0.45654-0
- Martins, F., Souza, E., Pimenta, P., Araujo, H., Castro, I., Brandao, R., & Nicoli, J. (2012, September 01). Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by *Saccharomyces* probiotics. *Journal of Medical Microbiology*, 61(9), 1194-1207. doi:10.1099/jmm.0.042283-0
- Mathur, S., & Singh, R. (2005, December 15). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria--a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281-95. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008
- Menberu, M., Liu, S., Cooksley, C., Hayes, A., Psaltis, A., Wormald, P., & Vreugde, S. (2021, February). *Corynebacterium accolens* Has Antimicrobial Activity against *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* Pathogens Isolated from the Sinonasal Niche of Chronic Rhinosinusitis Patients. *MDPI*, 207. doi:10.3390/pathogens10020207.
- Minahk, C. J., & Morero, R. D. (2003, November 01). Inhibition of enterocin CRL35 antibiotic activity by mono- and divalent ions. *Letters in Applied Microbiology*, 37(5), 374-379. doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01411.x

- Mokoena, M. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens. *Molecules*, 22(8), 1255. doi:10.3390/molecules22081255
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens. *Molecules*, 22(8), 1255. doi:10.3390/molecules22081255
- Mokoena, M. P. (2017, July 26). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens. *Molecules*, 22(8), 1255. doi:10.3390/molecules22081255.
- Morero, R. D., & Minahk, C. J. (2003, November 01). Inhibition of enterocin CRL35 antibiotic activity by mono- and divalent ions. *Letters in Applied Microbiology*, 37(5), 374–379. doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01411.x
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R., & Clemens, R. A. (2010, June). Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(1), 13-126. doi:10.1080/10408699991279187
- Nawai, H. S., Ashna, T. A., & Rahela, S. Q. (2022). Effect of soymilk addition with different concentrations on some properties of cow milk yogurt. *EPU Polytechnic Journal*, 12(1). doi:10.25156/ptj.v12n1y2022.pp30-39
- Oba, S., Yildirim, T., & Karataş, Ş. (2022). Probiotics Safety Aspect of Functional Foods. *Journal of Culinary Science & Technology*, 22(6), 1327–1356. doi:10.1080/15428052.2022.2135156
- Ochangco, H. S., Gamero, A., Smith, I. M., Christensen, J. E., Jespersen, L., & Arneborg, N. (2016, September). In vitro investigation of *Debaryomyces hansenii* strains for potential probiotic properties. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(141). doi:10.1007/s11274-016-2109-1
- Organization, W. H. (2016). *Global action plan on antimicrobial resistance*. Retrieved from WHO: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>
- Orla-Jensen, S. (1919). The Latic Acid Bacteria. *Food and Nutrition Sciences*.
- Orla-Jensen, S. (1919). *The Latic Acid Bacteria*. Copenhagen: A.F. Host.
- Orrhage, K., Brismar, B., & Nord, C. E. (1994). Effect of Supplements with *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* on the Intestinal Microbiota during Administration of Clindamycin. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 7, 17-25. doi:10.3109/08910609409141570
- Oscáriz , J. C., & Pisabarro, A. G. (2001, March). Classification and mode of action of membrane-active bacteriocins produced by gram-positive bacteria. *International Microbiology Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 4(1), 13-9. doi:10.1007/s101230100003
- Papian, T., & Gagelidze, N. (2022, August 31). Isolation of starter propionic acid bacteria from emmental and swiss cheeses and the possibility of their use as test culture. *European Academic Science and Research Conference*, 23.

- Papiani, T., Amiranashvili, L., Gagelidze, & Kvesitadze, E. (2024). Technology of a new fermented milk beverage enriched with lactic acid and propionic acid bacteria. *Georgian Technical University Collection of Scientific Works*, 4(531).
- Papiani, T., Amiranashvili, L., Gagelidze, & Kvesitadze, E. (2024). Technology of a new fermented milk beverage enriched with lactic acid and propionic acid bacteria. *Georgian Technical University Collection of Scientific Works*, 534(4), 19-25. doi:ORG/10.360073/1512-0996
- Pariza, M. W. (1999). Functional Foods: Technology, Functionality, and Health Benefits. Nutrition Today,. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(10), 1278-1285. doi:10.1016/S0002-8223(99)00314-4
- Parizzi, L. P., Grassi, M. C., Llerena, L. A., Carazzolle, M. F., Queiroz, V. L., Lunardi, I., . . . Pereira, G. A. (2012, October). The genome sequence of *Propionibacterium acidipropionici* provides insights into its biotechnological and industrial potential. *Europe PMC*. doi:10.1186/1471-2164-13-562
- Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and Their Fermented Food Products Are Beneficial for Health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x
- Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and Their Fermented Food Products Are Beneficial for Health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x
- Parvez, S., Malik, K., Ah Kang, S., & Kim, H. (2006, June). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x
- Perez, R., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB), various structures and applications. *Microb. Cell Factories*, 13 (Suppl. 1), S3.
- Piao, Y., Yamashita, M., Kawaraichi, N., Asegawa, R., Ono, H., & Murooka, Y. (2004). Production of vitamin B12 in genetically engineered *Propionibacterium freudenreichii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98(3), 167-73. doi:10.1016/S1389-1723(04)00261-0.
- Piwożarek, K., Lipińska, E., Hać-Szymańczuk, E., Kieliszek, M., & Ścibisz, I. (2018, January). *Propionibacterium* spp.-source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(2), 515-538. doi:10.1007/s00253-017-8616-7.
- Preethi, C., Thumu, S., & Halami, P. (2017, May). Occurrence and distribution of multiple antibiotic-resistant *Enterococcus* and *Lactobacillus* spp. from Indian poultry: in vivo transferability of their erythromycin, tetracycline and vancomycin resistance. *BMC*, 395-404.
- Pyo, Y., Kwon, K. H., & Jung, Y. J. (2024). Probiotic Functions in Fermented Foods: Anti-Viral, Immunomodulatory, and Anti-Cancer Benefits. *Foods*, 13(15), 2386. doi:org/10.3390/foods13152386

- Quinto, E. J., Caro, I., Villalobos-Delgado, L. H., Mateo, J., Silleras, B. M., & De-Mateo-Silleras, M. P. (2019). Food Safety through Natural Antimicrobials. *MDPI*, *8*(4), 208. doi:10.3390/antibiotics8040208
- Quinto, J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Girbés, T. (2014, September). Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences*, *5*(18), 1765-1775. doi:10.4236/fns.2014.518190
- Ranaei, V., Pilevar, Z., Khaneghah, A., & Hosseini, H. (2020). Propionic Acid: Method of Production, Current State and Perspectives. *FTB*, 115–127. doi:10.17113/ftb.58.02.20.6356
- Reiner, K. (2010, November 11). Catalase Test Protocol. *American Society for Microbiology*. Retrieved from <https://asm.org/getattachment/72a871fc-ba92-4128-a194-6f1bab5c3ab7/Catalase-Test-Protocol.pdf>
- Rodriguez-Rodriguez, W. L., & Vera-Peña, M. Y. (2020, November 06). Effect of pH on the growth of three lactic acid bacteria strains isolated from sour cream. *Universitas Scientiarum*, *25*(2), 341-358. doi:10.11144/Javeriana.SC25-2.eopo
- Rogelj, I. (2000, June). Fermented milk as a functional food. *Academia*. Retrieved from https://www.academia.edu/109596687/Fermented_milk_as_a_functional_food
- Saavedra, L., Minahk, C., Ruiz Holgado, A. P., & Sesma, F. (2004). Enhancement of the Enterocin CRL35 Activity by a Synthetic Peptide Derived from the NH₂-Terminal Sequence. *ASM Journals*, *48*(7), 2778–2781. doi:10.1128/aac.48.7.2778-2781.2004
- Saleem, G. N., Gu, R., Qu, H., Khaskheli, G. B., Rajput, I. R., Qasim, M., & Chen, X. (2024). Therapeutic potential of popular fermented dairy products and its benefits on human health. (C. Coelho, Ed.) *Frontiers in Nutrition*, *11*. doi:10.3389/fnut.2024.1328620
- Salvador, A., & Fiszman, S. M. (2004, December). Textural and Sensory Characteristics of Whole and Skimmed Flavored Set-Type Yogurt During Long Storage. *Journal of Dairy Science*, *87*(12), 4033-4041. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73544-4
- Shao, Y., Zhang, W., Guo, H., Pan, L., Zhang, H., & Sun, T. (2015, April). Comparative studies on antibiotic resistance in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Control*, *50*, 250-258. doi:10.1016/j.foodcont.2014.09.003
- Sharma, A., Kawarabayasi, Y., & Satyanarayana, T. (2011, November 13). Acidophilic bacteria and archaea: acid stable biocatalysts and their potential applications. *16*, 1-19. doi:10.1007/s00792-011-0402-3
- Sharma, H., Ozogul, F., Bartkienec, E., & Rocha, J. M. (2021, November 30). Impact of lactic acid bacteria and their metabolites on the techno-functional properties and health benefits of fermented dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(21), 4819-4841. doi:10.1080/10408398.2021.2007844
- Shiby, V. K., & Mishra, N. H. (2013, February 07). Fermented milks and milk products as functional foods. A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(5), 482-496. doi:10.1080/10408398.2010.547398

- Shori, A. B., Baba, A. S., & Muniandy, P. (2019). Potential Health-Promoting Effects of Probiotics in Dairy Beverages. *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages*, 14, 173-204. doi:10.1016/B978-0-12-816687-1.00005-9
- Singh, B., Rani, R., Dharaiya, C., & Debnath, A. (2018, June). DAIRY BASED BEVERAGES. 142-168.
- Smith, I., Baker, A., Arneborg, N., & Jespersen, L. (2015, November 1). Non-Saccharomyces yeasts protect against epithelial cell barrier disruption induced by Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium. *Letters in Applied Microbiology*, 61(5), 491-497. doi:10.1111/lam.12481
- Soliman, A. H., Sharoba, A. M., Bahlol, E. M., Soliman, A. S., & Radi, O. M. (2015). Evaluation of Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei and Lactobacillus plantarum for probiotic characteristics. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 05(01), 10-18.
- Suwannakham, S., & Yang, S. T. (2005, August). Enhanced propionic acid fermentation by Propionibacterium acidipropionici mutant obtained by adaptation in a fibrous-bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 91(3), 325-37. doi:10.1002/bit.20473.
- Tambekar, D. H., & Bhutada, S. A. (2010). An Evaluation of Probiotic Potential of Lactobacillus sp. from Milk of Domestic Animals and Commercial Available Probiotic Preparations in Prevention of Enteric Bacterial Infections. *Recent Research in Science and Technology*, 2(10).
- Tkesheliadze, R., Gagelidze, N., Sadunishvili, T., & Herzig, C. (2023, June). Lactobacillus Strains FROM Apple and Fermented Milk and their Probiotic Properties. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 12(6). doi:10.55251/jmbfs.5776
- Torriani, S., Zapparoli, G., & Dellaglio, F. (1999). Use of PCR-based methods for rapid differentiation of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and L. delbrueckii subsp. lactis. *Appl Environ Microbiol.*, 65(10), 4351-4356. doi:10.1128/AEM.65.10.4351-4356.1999
- Turgay, M., Bachmann, H., Irmeler, S., Ah, U., Fröhlich-Wyder, M. T., Falentin, H., . . . Thierry, A. (2022). Bacteria, Beneficial: Propionibacterium spp. and Acidipropionibacterium spp. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 34-45. doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.23016-3
- Vasela, K., Kumherová, M., Kloidová, I., Solichová, K., Horáčková, S., & Plocková, M. (2019, November). Selective culture medium for the enumeration of Lactobacillus plantarum in the presence of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus. *LWT*, 114. doi:10.1016/j.lwt.2019.108365
- Venugopalan, V., Shriner, K. A., & Wong-Beringer, A. (2010). Regulatory Oversight and Safety of Probiotic Use. *Emerging Infectious Diseases*, 16(11), 1661-1665. doi:doi.org/10.3201/eid1611.100574.
- Vescovo, M., Morelli, L., & Bottazzi, V. (1982, January). Drug resistance plasmids in Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus reuteri. *ASM Journals*, 43(1), 50-6. doi:10.1128/aem.43.1.50-56.1982.

- Vinderola, G., Binetti, A., Burns, P., & Reinheimer, J. (2011, May). Cell Viability and Functionality of Probiotic Bacteria in Dairy Products. *Frontiers in Microbiology*, 2(70), 1-6. doi:10.3389/fmicb.2011.00070
- Vlasova, A., Kandasamy, S., Chattha, K., Rajashekara, G., & Saif, L. (2016, April). Comparison of probiotic lactobacilli and bifidobacteria effects, immune responses and rotavirus vaccines and infection in different host species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 172, 72-84. doi:10.1016/j.vetimm.2016.01.003.
- Vorobjeva, L., Leverrier, P., Zinchenko, A., Boyaval, P., Khodjaev, E., Varioukhina, S., . . . Gwénaél, J. (2004, January). Anti-Stress activity of propionibacterium freudenreichii: identification of a reactive protein. *Antonie van Leeuwenhoek*, 85, 53-62. doi:10.1023/B:ANTO.0000020276.18127.99
- WHO/FAO. (2006). *Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Food and Nutrition*. Rome.
- Widyastuti, Y., Febrisiantosa, A., & Tidona, F. (2021, May). Health-Promoting Properties of Lactobacilli in Fermented Dairy Products. (D. C. Vodnar, Ed.) 12. doi:10.3389/fmicb.2021.673890
- Yadav , M. K., & Tiwari, S. K. (2023, November 28). Methods for Determination of Antimicrobial Activity of Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. 92, 745–765. doi:10.1134/S0026261723600520
- Yang, S. C., Lin, C. H., Sung, C. T., & Fang, J. Y. (2014). Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers*, 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00241
- Yenizey, M., Cisneros, A., & Alquicira, E. (2018, November). Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria. *Edited Volume Antimicrobial Resistance - A Global Threat*. doi:10.5772/intechopen.80624
- Zahed , O., Massoud, R., Khosravi-Darani , K., Mortazavian , A. M., & Mohammadi, A. (2022, January 01). Propionic Acid Bio-Fortification of Yogurts by Adjunct Culture of Propionibacterium freudenreichii. *Applied Food Biotechnology*, 9, 31-40. doi:10.22037/afb.v9i1.36451
- Zahed, O., Massoud, R., Khosravi-Darani, K., Mortazavian, A., & Mohammadi, A. (2022, December). Propionic Acid Bio-Fortification of Yogurts by Adjunct Culture of Propionibacterium freudenreichii. *Applied Food Biotechnology*, 9, 31-40. doi:10.22037/afb.v9i1.36451
- Zahed, O., Massoud, R., Khosravi-Darani, K., Mortazavian, A., & Mohammadi, A. (2022). Propionic Acid Bio-Fortification of Yogurts by Adjunct Culture of Propionibacterium freudenreichii. *Applied Food Biotechnology*, 9(1), 31-40. doi:10.22037/afb.v9i1.36451
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C., Harris, H., Mattarelli, P., . . . Lebeer, S. (2020, April 15). A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union

- of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. doi:10.1099/ijsem.0.004107
- Ziarani, M. F., Tohidfar, M., & Mirjalili, M. H. (2023, December 13). Evaluation of antibacterial properties of nisin peptide expressed in carrots. *Scientific Reports*. doi:10.1038/s41598-023-49466-7
- Ziarno, M., Zaręba, D., Dryzek, W., Hassaliu, R., & Florowski, T. (2022). Effect of the Addition of Soy Beverage and Propionic Bacteria on Selected Quality Characteristics of Cow's Milk Yoghurt Products. *MDPI*, 12(24). doi:10.3390/app122412603
- Бегунова, А. В., Рожкова, И., Зверева, Е., Глазунова, О., & Фёдорова, Т. (2019). Молочнокислые и пропионовокислые бактерии: формирование сообщества для получения функциональных продуктов с бифидогенными и гипотензивными свойствами. *Прикладная Биохимия и Микробиология*, 55(6), 1-12. doi:10.1134/S0555109919060047
- Воробьева, Л. И. (1995). *Пропионовокислые бактерии*. Москва: Издательство МГУ. Retrieved from https://propionix.ru/f/propionovokislyye_bakterii_monografiya_vorobyeva_li.pdf
- Инихов, Г., & Брио, Н. (1971). Методы анализа молока и молочных продуктов. 303.
- Ирkitова, А., & Вечернина, Н. (2010). Биотехнология пробиотического напитка на основе молочной (подсырной) сыворотки. *Известия Алтайского государственного университета*, 30-32.
- Молоко и молочные продукты. Методы определения жира, ГОСТ 5867-90 (01 01, 2021). Retrieved from https://standartgost.ru/g/%D0%93%D0%9E%D0%A1%D0%A2_5867-90
- Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, ГОСТ 3624-47 (01 01, 2021). Retrieved from <https://meganorm.ru/Index2/1/4294759/4294759180.htm>
- Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, ГОСТ 3624-67 (01 01, 2021). Retrieved from <https://meganorm.ru/Index2/1/4294759/4294759180.htm>
- Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности, ГОСТ 3624-67 (01 01, 2021). Retrieved from <https://meganorm.ru/Index2/1/4294736/4294736159.htm>
- Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации, ГОСТ 3623-73 (04 06, 2015). Retrieved from <https://internet-law.ru/gosts/gost/41761/>
- Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации, ГОСТ 3623-73 (04 06, 2015). Retrieved from <https://internet-law.ru/gosts/gost/41761/>
- Молоко. Метод определения чистоты, ГОСТ 8218-56 (01 01, 2021). Retrieved from <https://meganorm.ru/Index2/1/4294762/4294762492.htm>
- Пропиони́кс, О. (n.d.). Retrieved from <https://propionix.ru/zakvaska-dlya-probioticheskoy-smetany>
- Шевелева, О. (2003). Разработка технологии творога с использованием пропионовокислых бактерий.

- პაპიანი, ტ. (2022). პრობიოტიკური მიკროორგანიზმები – *Propionibacterium* sp. *ქართული მეცნიერები*, 4(5), 363-368. Retrieved from journals.4science.ge/index.php/GS/article/view/1386
- საჩანელი, თ., ამირანაშვილი, ლ., & გაგელიძე, ნ. (2019). თუშური გუდის ყველის მიკრობიოტას დომინანტი კომპონენტები. *საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე*, 41(1), 88-92. Retrieved from https://www.gaas.dsl.ge/images/2019/PDF/Referatebi_Moambe_2019-w.-1-.pdf