

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

ტერეზა პაპიანი

რძის ფერმენტირებული ფუნქციური სასმელის დამზადების ბიოტექნოლოგია

რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების საფუძველზე

სადოქტორო პროგრამა სასურსათო ტექნოლოგია

შიფრი 0104

დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

წარდგენილი დისერტაციის

ავტორეფერატი

თბილისი

2025 წელი

სამუშაო შესრულებულია საქართველოს ტექნიკურ უნივერსიტეტში და
ნატურალური რძის პროდუქტებს საწარმო მალკოში

აგრარული მეცნიერებების და ბიოსისტემების ინჟინერინგის ფაკულტეტი
სასურსათო ტექნოლოგიების დეპარტამენტი

ხელმძღვანელები: **ლია ამირანაშვილი**, პროფესორი
ედიშერ კვესიტაძე, პროფესორი

რეცენზენტები:

დაცვა შედგება _____ წლის „ _____ “ _____ , _____ საათზე
საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის აგრარული მეცნიერებების და
ბიოინჟინერინგის ფაკულტეტის სადისერტაციო ნაშრომის დაცვის კოლეგიის
სხდომაზე, კორპუსი 11, აუდიტორია 212
მისამართი: 0160, თბილისი, მ. კოსტავას ქ. 77.

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება სტუ-ის ბიბლიოთეკაში,
ხოლო ავტორეფერატისა – ფაკულტეტის ვებგვერდზე

ფაკულტეტის სწავლული მდივანი პროფესორი ეკა ცქიტიშვილი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

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 ორგანიზაციისა (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 ჩადედეებული 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 სიისგან. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია 19 ცხრილში, 3 ნახაზსა და 13 სურათში. გამოყენებულია 157 ლიტერატურის წყარო. სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს 108 გვერდს.

დისერტაციის ძირითადი შედეგები თავების მიხედვით

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

თავში განხილულია პრობიოტიკური მიკროორგანიზმების გამოყენების ისტორია და პერსპექტივები. რძემჟავა ბაქტერიები და მათი ბიოტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებები. რძემჟავა ბაქტერიების კლასიფიკაციის ძირითადი პრინციპები, მათი ბიოქიმიური და პრობიოტიკური თვისებები (მდგრადობა დაბალი pH-ის და ნაღვლის მარილების მიმართ, ბაქტერიოცინების წარმოქმნის უნარი და ბაქტერიოცინების თვისებები, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა).

ლიტერატურის მიმოხილვაში წარმოდგენილია, აგრეთვე, პროპიონმჟავა ბაქტერიების ბიოტექნოლოგიური და პრობიოტიკური თვისებები.

თავი 2. კვლევის მეთოდები

თავში მოცემულია ექსპერიმენტის განხორციელებისას გამოყენებული მეთოდების აღწერა: უცხიმო რძის აღდგენა; აღდგენილი რძის პასტერიზაცია; პასტერიზებულ რძეში პეროქსიდაზას განსაზღვრა სახამებლიანი კალიუმის იოდიდით; რძის ფხვნილის სისუფთავის ჯგუფის დადგენა; აღდგენილი რძის მაჩვენებლები, რომლებიც მიღებულია ლაქტოსკანის სასუალებით; ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა რძეში, რძის ფერმენტირებულ პროდუქტებში, კარაქში და კარაქის პლაზმაში; ცილის შემცველობის განსაზღვრა ტიტრაციის მეთოდით; რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა, ასევე ფერმენტირებულ პროდუქტში მიკროორგანიზმთა რაოდენობის (კწე/მლ) სერიული განზავების მეთოდით; ბაქტერიების სხვადასხვა მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებების (გრამის წესით შეღებვა, კატალაზას ტესტი, შაქრების ფერმენტაციის ტესტი, მარილის სხვადასხვა კონცენტრაციაზე ზრდის ტესტი), ასევე პრობიოტიკური თვისებების (ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა, სოცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება დაბალ pH-ზე, ანტიმიკრობული აქტივობა) განსაზღვრის მეთოდები; აციდოფიკაციის უნარის შესწავლა; იზოლატების იდენტიფიკაცია რძემჟავა ბაქტერიების გვარის სპეციფიკური

პრაიმერებით, რმის ფერმენტირებული სასმელის სენსორული ანალიზი.

თავი 3. შედეგები და მათი განსჯა

3.1. პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყოფა

პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოსაყოფად ოჯახურ პირობებში დამზადებული თუშური გუდის ყველის ნიმუშების აღება განხორციელდა: ზემო ალვანში - 3, ქვემო ალვანში - 3, ახმეტაში - 4 და პანკისის ხეობაში - 1 ნიმუში. გუდის ყველის ჩანათესებიდან იზოლატების შერჩევა განხორციელდა პროპიონმჟავა ბაქტერიებისთვის დამახასიათებელი კოლონიებისა და უჯრედების მორფოლოგიის მიხედვით. კერძოდ, პროპიონმჟავა ბაქტერიებისთვის დამახასიათებელია მოყვითალო ან თეთრი შეფერილობის კოლონიები, და მოკლე ჩხირები, ან კოკები (Воробьева, 1995). სულ გამოიყო 19 იზოლატი. პროპიონმჟავა ბაქტერიების პირველადი სკრინინგი განხორციელდა გრამის წესით შეღებვითა და კატალაზას ტესტის გამოყენებით. პროპიონმჟავა ბაქტერიები კატალაზა-დადებითი და გრამ-დადებითი ბაქტერიებია (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 ჟელატინის 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	-	-	-	-
ჟელატინის 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 (საფრანგეთი) ლაბორატორიულ პირობებში რძის ჰომოგენიზაციისა და პასტეიზაციისათვის. 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. 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 წარმოქმნას ყველაზე ნაკლები საინკუბაციო პერიოდი 43 °C ტემპერატურაზე დასჭირდა (14-16 სთ); ხოლო 30 °C და 37 °C კოლტის წარმოქმნა დაახლოებით ერთნაირ დროში მოხდა - 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. 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, თვითჩადედიებული ნედლი რძიდან, ყველის შრატისა და მცენარეების ფილოსფეროდან. კერძოდ, ნედლი რძე და რძის პროდუქტები – 77

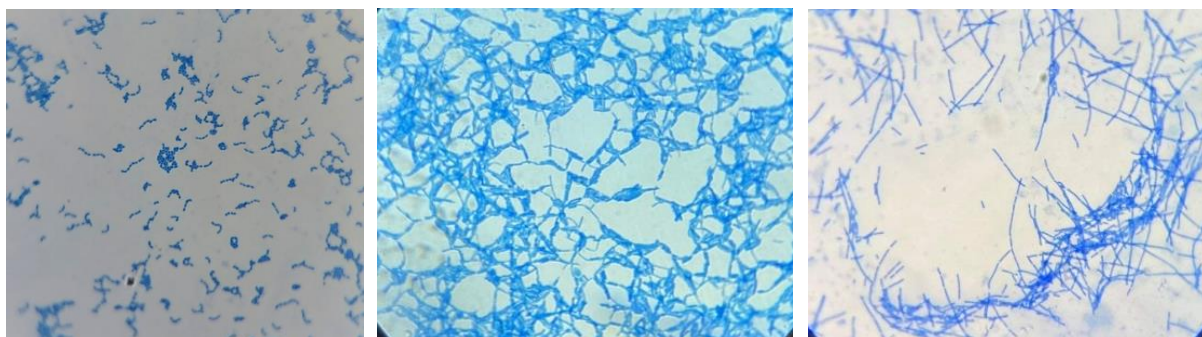
ნიმუში, მათ შორის: რძე (1 – თხის რძე, დანარჩენი – ძროხის რძე) – 30 ნიმუში; თავისით ჩადედებული ნედლი რძე – 33 ნიმუში; მაწონი (1 – კამეჩის რძე, დანარჩენი – ძროხის) – 14 ნიმუში; რძის პროდუქტების დამზადებასთან დაკავშირებული სხვადასხვა სახის ნიმუშიდან, მათ შორის, რძის ყველის დამზადების შემდეგ დარჩენილი შრატიდან (ცხრილში შრატის თავი, როგორც ეძახის მოსახლეობა) – 8 ნიმუში; სხვადასხვა მცენარის ფილოსფეროდან – 31 ნიმუში. 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 თვითჩადედებისთვის, 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). სულ 116 ნიმუშიდან ამოითესა 263 იზოლატი. იზოლატების სუფთა კულტურები მიღებულ იქნა მრავალჯერადი გადათესვით იმავე საკვებ არეებზე, რომლებზეც გამოყოფა განხორციელდა.

რძემჟავა ბაქტერიები არიან როგორც ჩხირის, ასევე კოკის ფორმის გრამდადებითი ბაქტერიები. ამიტომ ცალკეული იზოლატები პირველ რიგში შემოწმდა უჯრედის ფორმისა და გრამის წესით შეღებვის მიხედვით (სურ. 1).

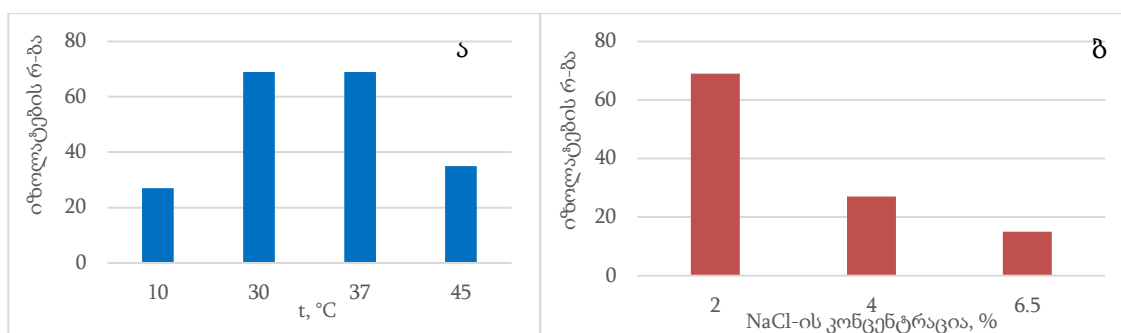
რძემჟავა ბაქტერიები კატალაზა-უარყოფითი მიკროორგანიზმები არიან. გრამის წესით შეღებვისა და კატალაზას ტესტის მიხედვით. შეირჩა გრამ-დადებითი და კატალაზა-უარყოფითი 116 იზოლატი, მათ შორის 47 აღმოჩნდა კოკის ფორმის, რომლებიც

ქმნიდნენ ჯაჭვებს და წყვილებს, როგორც *Streptococcus thermophilus*-ისთვისაა დამახასიათებელი და 69 - ჩხირის ფორმის, *Lactobacillus delbrueckii*-სთვის დამახასიათებელი უჯრედების განლაგებით.

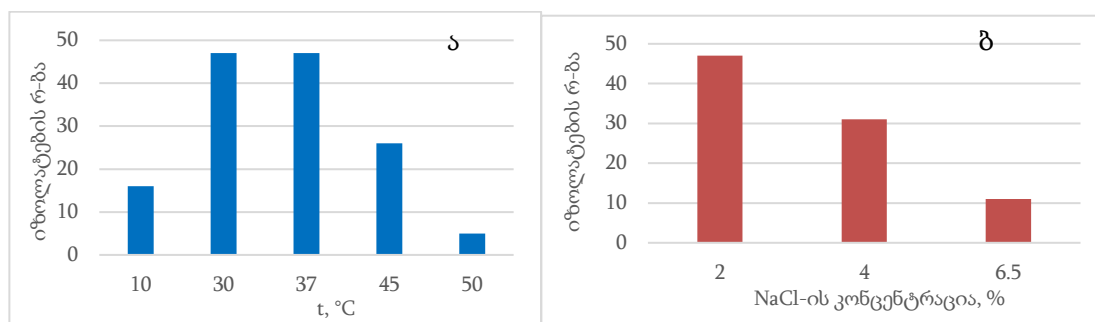


სურ. 1. MRS აგარზე და M17 აგარზე გამოყოფილი გრამდადებითი კოკები და ჩხირები

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 (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.

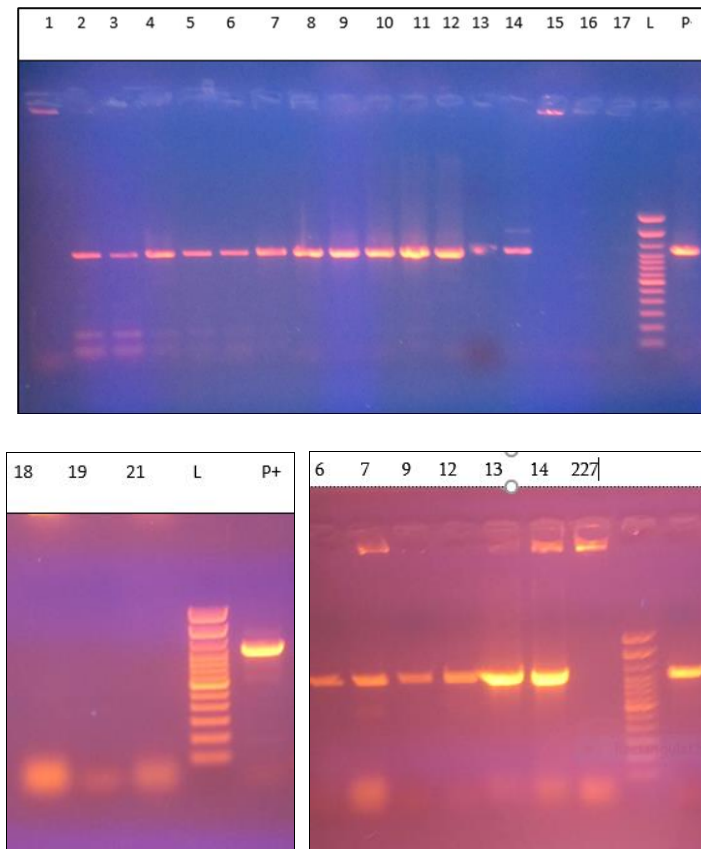
S. thermophilus შტამების სკრინინგისთვის კოკებს შორის შევარჩიეთ ისეთი კულტურები, რომლებიც იზრდებოდნენ 50 °C ტემპერატურაზე 2% NaCl კონცენტრაციაზე და არ იზრდებოდნენ 10 °C-ზე და 4% და 6.5% NaCl კონცენტრაციაზე. შესწავლილი 32 იზოლატიდან 5 იზოლატი არ გაიზარდა 4% NaCl და 10 °C ტემპერატურაზე, როგორც დამახასიათებელია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

3.3. რძემჟავა ბაქტერიების იზოლატების მოლეკულური იდენტიფიკაცია

რძემჟავა ბაქტერიების დნმ-ის გამოყოფა მოხდა დუდილის მეთოდით (Dashti, Jadaon, Abdulsamad, & Dashti, 2009) მცირე მოდიფიკაციით: წყლის ნაცვლად გამოვიყენეთ TE ბუფერი (Invitrogen), რადგან დნმ ამ ბუფერში უფრო ხანგრძლივად ინარჩუნებს მდგრადობას და დუდილი ვაწარმოეთ 100 °C ტემპერატურაზე ნაცვლად 95 °C 10 წუთის განმავლობაში.

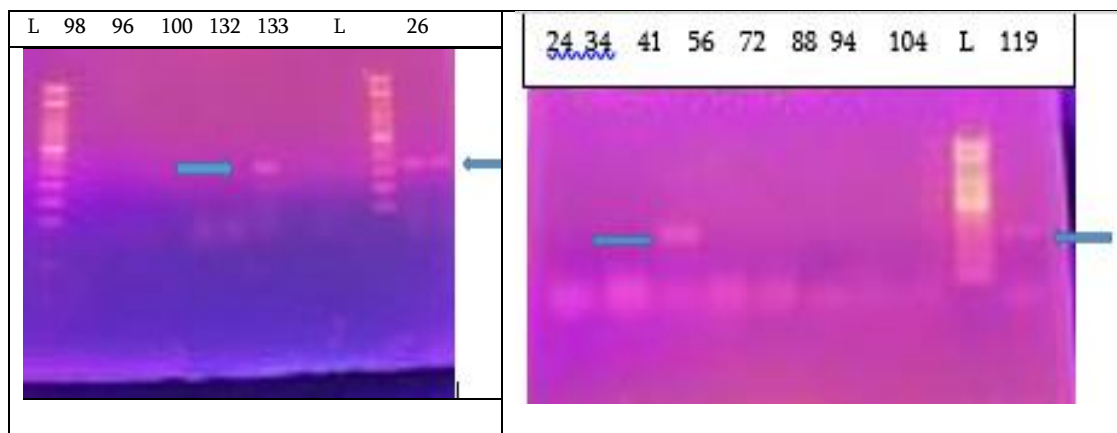
L. delbrueckii-ის იზოლატების იდენტიფიკაციისთვის გამოვიყენეთ პრაიმერების წყვილი LB1F/LB1R (LB1F: 5' AAAAATGAAGTTGTTTAAAGTAGGTA-3'; LB1R: 5'-AAGTCGTCCTCTGGCTGG-3'), რომელიც იძლევა საშუალებას განვასხვავოთ ერთმანეთისგან *L. delbrueckii*-ს ორი ქვესახეობა: *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* და *L. delbrueckii* 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).

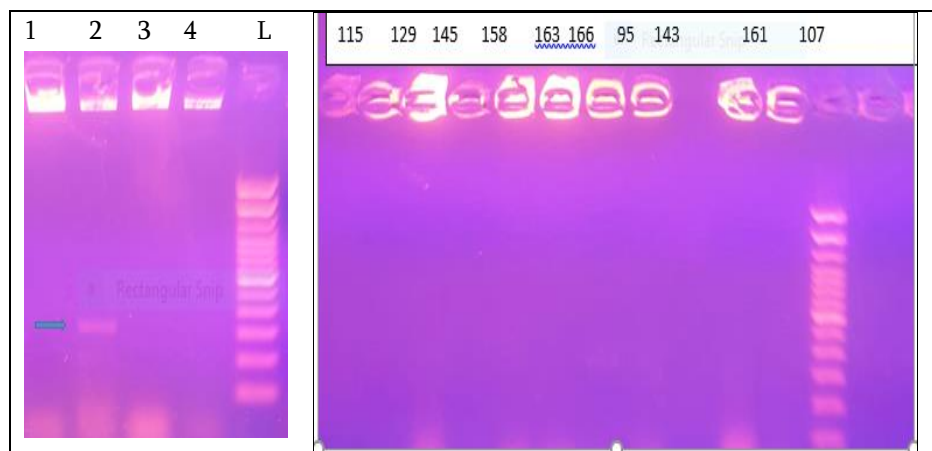
PCR-ფრაგმენტების ვიზუალიზაცია განხორციელდა 1.5% აგაროზის გელზე ჰორიზონტალური ელექტროფორეზით. შესწავლილი 42 ლაქტობაცილუსის იზოლატიდან 19 იდენტიფიცირებულ იქნა, როგორც *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, 2 - როგორც *L. delbrueckii* ssp. *lactis* PCR-ფრაგმენტების ელექტროფორეგრამების მიხედვით (სურ. 2).



სურ. 2. 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/ Th II (5'-ACGGAATGTACTTGAGTTTC-3' და 5'-TTTGGCCTTTTCGACCTAAC-3').





სურ.3. *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* (სურ. 3).

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 კწე/მლ) ემატებოდა აღდგენილ უცხიმო ჰომოგენიზებულ, პასტერიზებულ რძეს. ფერმენტაცია მიმდინარეობდა 50 მლ-იან თავსახურიან მინის ქილებში ან პლასტმასის კონტეინერებში 42 °C ტემპერატურაზე.

სხვადასხვა იზოლატის შემთხვევაში რძის შედედებას/კოაგულაციას სხვადასხვა დრო დასჭირდა - 5-9 სთ. თერმოსტატში ფერმენტაციის დასრულების შემდეგ ნიმუშების ტიტრული მჟავიანობა (°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 3 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).

ცხრილი 3. 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

ცხრილი 4. 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

პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრამ (უცხიმო რძიან აგარზე ნათელი უბნების წარმოქმნის უნარი) აჩვენა, რომ ამ შტამებისთვის დამახასიათებელია სუსტად

გამოხატული კაზეინაზური აქტივობა მეტ-ნაკლები ინტენსივობით.

როგორც მე-3 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 4. შემდგომი სამუშაოები ჩავატარეთ სწორედ ამ 4 შტამზე.

3.5. შერჩეული რძემჟავა ბაქტერიების მიერ შაქრების ფერმენტაციის უნარი

რძემჟავა ბაქტერიების მიერ შაქრების ფერმენტაციის შესასწავლად გამოყენებული იქნა Phenol Red Broth Base-ის ბულიონი (BioLife, იტალია), რომელშიც 1%-ის რაოდენობით შეტანილი გვექონდა 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. 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. შესწავლილი ნახშირბადის წყაროებიდან ინოზიტოლის გარდაქმნის უნარი არ აღმოაჩნდა არც ერთ კულტურას.

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.

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 µl 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).

ყველა შერჩეულმა შტამმა ასევე გამოავლინა 1% ნაღვლის მარილების შემცველ MRS აგარზე ზრდის უნარი.

შესწავლილი იქნა ასევე შერჩეული 4 შტამის ანტიმიკრობული აქტივობა 10 სხვადასხვა ტესტ-კულტურის მიმართ (იხ. ცხრილი 5). მიულერ-ჰინტონის აგარზე (Oxoid, ინგლისი) თითოეული ტესტ-კულტურის ე.წ. გაზონად ჩათესვიდან დაახლოებით 20 წთ-ის შემდეგ იღებოდა MRS-აგარზე გაზრდილი 3-დღიანი რძემჟავა ბაქტერიების ბლოკები.

ცხრილი 5. 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 შესწავლილი ტესტ-კულტურების უდიდესი უმრავლესობის მიმართ (ცხრილი 5).

ცხრილი 6. რძემჟავა ბაქტერიების მგრძნობელობა ანტიბიოტიკების მიმართ

ანტიბიოტიკი \ შტამი	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

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 13 სხვადასხვა ანტიბიოტიკურ დისკს (იხ. ცხრილი 6). 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 6 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.

ამრიგად, პრობიოტიკური, ბიოტექნოლოგიური და ორგანოლექტიკური მახასიათებლების მიხედვით მრავალსაფეხურიანი სკრინინგების შედეგად შეირჩა 4 ავტობტონური 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'hir, Nuzzolese, Di Cagno, & Filannino, 2024).

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

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.

ცხრილი 7. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიების გამოყენებით მიღებული ფერმენტირებული რძის პროდუქტების 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

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 ($^{\circ}\text{T}$), pH და ორგანოლექტიკური მაჩვენებლები (ცხრილი 7). როგორც 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. 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.

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, ნადედი - 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 (°T) და მიკროორგანიზმების რაოდენობა მოწმდებოდა როგორც თერმოსტატში ფერმენტაციის დასრულების შემდეგ, ასევე მაცივარში 12 საათის განმავლობაში შენახვის შემდეგ (ცხრილი 8), ხოლო ორგანოლექტიკური მაჩვენებლები და მიკროორგანიზმების რაოდენობა - მაცივარში შენახვის შემდეგ.

ცხრილი 8. ფერმენტაციის ხანგრძლივობის გავლენა პროდუქტის ზოგიერთ მახასიათებელზე

ფერმენტაციის დრო	ტიტრული მჟავიანობა, °T		კწე/მლ გაცივებულ პროდუქტში
	თერმოსტატიდან გამოღებისას	+4°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.

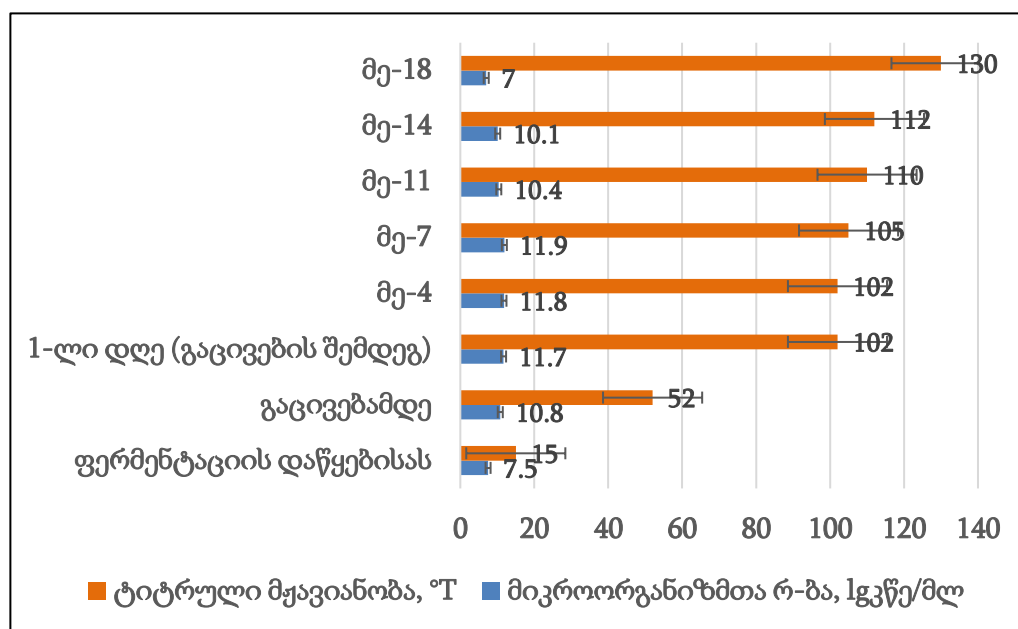
საწარმოს პირობებში იმითვის რომ მივიღოთ აღდგენილი რძის ცხიმის მაჩვენებელი

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).

როგორც მე-3 ნახაზიდან 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).



ნახ. 3. ცოცხალ მიკროორგანიზმთა რაოდენობისა (კწე/მლ) და ტიტრული მჟავიანობის ($^{\circ}\text{T}$) ცვლილების დინამიკა ფერმენტირებული სასმელ პროდუქტში

ძირითადად, ფერმენტირებული რძის პროდუქტები შეიცავს პრობიოტიკური ბაქტერიების მაღალ კონცენტრაციას - 10^9 კწე/მლ (კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული

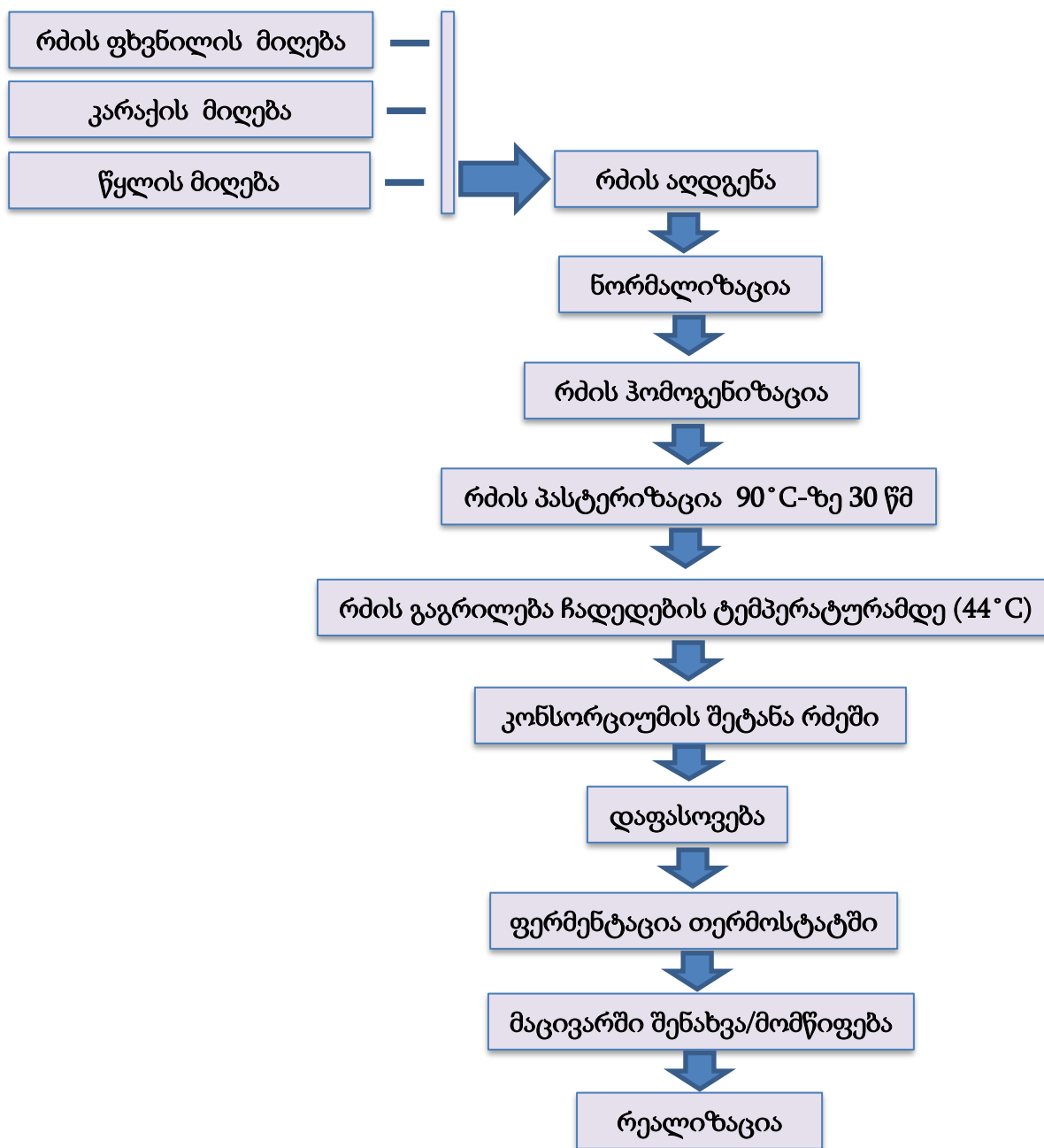
1 მლ-ში). თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ პრობიოტიკურ სურსათში მიკროორგანიზმების რაოდენობის სტანდარტიზაცია ძალიან რთულია და რაიმე ოფიციალურ პროტოკოლს, ან წესს არ ემორჩილება. ეს პროცესი ძირითადად დამოკიდებულია შტამის სპეციფიკურ პასუხზე სხვადასხვა გარემოს მიმართ. არსებობს პირობები, რომლებიც გასათვალისწინებელია 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

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) (Food energy - methods of analysis and conversion factors). 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).

ჩვენ მიერ მიღებული შედეგების მიხედვით, შემუშავებულია რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული სასმელი პროდუქტის დამზადების ტექნოლოგიური ბლოკ-სქემა (ნახ. 4):

ნახ. 4. რძემჟავა და პროპიონმჟავა ბაქტერიებით გამდიდრებული რძის ფერმენტირებული 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*-ის 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, საწარმოო პირობებში მასშტაბირების შემდეგ შესაძლოა დაწერგილ იქნას წარმოებაში.

მიღებული შედეგების აპრობაცია

სადისერტაციო კვლევის შედეგები წარდგენილი იყო: ევროპის აკადემიური მეცნიერებისა და კვლევის კონფერენციზე ჰამბურგში (გერმანია): Papian T., Gagelidze N. Isolation of starter propionic acid bacteria from emmental and swiss cheeses and the possibility of their use as test cultures. European Academic Science and Research Conference. Proceedings of the scholarly abstracts. 31 August, 2022, Hamburg, Germany, p. 23;

სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში ჩატარებული კვლევების ძირითადი შედეგები ასახულია ჩვენ მიერ გამოქვეყნებულ 3 სამეცნიერო სტატიაში:

1. ტერეზა პაპიანი. 2022. პრობიოტიკური მიკროორგანიზმები – *Propionibacterium* sp. ქართველი მეცნიერები. 4, 5, 363-368
<https://journals.4science.ge/index.php/GS/article/view/1386>
2. 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 18_Gagelidze_Biotechnology.pdf
3. Papian, T., Amiranashvili, L., Gagelidze, N., 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 (534), 19-25
[DOI.ORG/10.360073/1512-0996](https://doi.org/10.360073/1512-0996)

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 (°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.