

საჯარო სამართლის იურიდიული პირი - ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტი
ქიმიის დეპარტამენტი



ნონა სურმანიძე

„ფშატის (*Elaeagnus Umbellata* Thunb.) ნაყოფებისა და ფოთლების
ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ქრომატოგრაფიული კვლევა“

წარდგენილია ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
სპეციალობა - ბუნებრივ ნაერთთა ანალიზი

ა ნ ო ტ ა ც ი ა

ბათუმი - 2023

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის ქიმიის დეპარტამენტში.

აღნიშნული პროექტი განხორციელდა სსიპ შოთა რუსთაველის საქართველოს ეროვნული სამეცნიერო ფონდის ფინანსური ხელშეწყობით (გრანტი PHDF-22-2787; გრანტი AP/96/13).

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

მაია ვანიძე
ასოცირებული პროფესორი,
ბიოლოგიის დოქტორი
ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

შემფასებლები:

ინგა ბოჭოიძე
პროფესორი, ქიმიის მეცნიერებათა აკადემიური
დოქტორი, ქიმიური და გარემოსდაცვითი
ტექნოლოგიების დეპარტამენტის ხელმძღვანელი,
აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი;

ანა გოლეტიანი
ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი,
საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის
მოწვეული პროფესორი.

ქეთევან დოლიძე
პროფესორი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა
აკადემიური დოქტორი, ბათუმის შოთა
რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი.

სადისერტაციო ნაშრომის დაცვა შედგება 2022 წლის ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოს სხდომაზე. მისამართი: ბათუმი ნინოშვილის ქ. № 35 აუდიტორია

სადისერტაციო ნაშრომის გაცნობა შესაძლებელია ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში, ასევე უნივერსიტეტის ვებ გვერდზე www.bsu.edu.ge.

შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოს მდივანი: **ნანა ზარნაძე**

შესავალი

თემის აქტუალობა. ფლორისტული თვალსაზრისით აჭარა ერთ-ერთი მდიდარი რეგიონია არა მარტო საქართველოში, არამედ მთელ ამიერკავკასიაში და დღეს როდესაც აგრარული სექტორისა და ტურისტული ინფრასტრუქტურის განვითარება მნიშვნელოვანია, როგორც რეგიონისთვის, ასევე საერთოდ ქვეყნისთვის მეტად აქტუალურია რეგიონის ბუნებრივი რესურსების ქიმიური კვლევა და რაციონალური გამოყენება.

დღეს, არსებული ეკოლოგიური პირობებიდან გამომდინარე მნიშვნელოვანია ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებით მდიდარი მცენარეული ნედლეულის შესწავლა, რომელიც შეიძლება გამოყენებული იქნას, როგორც პროფილაქტიკური, პრევენციული და სამკურნალო საშუალება. ამ მხრივ საინტერესოა *Elaeagnus L.* გვარის სხვადასხვა სახეობები. მათი კვლევა მიმდინარეობს მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში გამოყენების სფეროს გაფართოვების მიზნით. ჩვენში ყველაზე მეტად გავრცელებულია ფშატის *Elaeagnus umbellata Thunb.* სახეობა. ის საქართველოში ინტროდუცირებულ იმ მცენარეთა რიგს მიეკუთვნება, რომლებიც კარგად მოერგო ადგილობრივ კლიმატურ პირობებს, როგორც დასავლეთ საქართველოს ზღვისპირა ზოლში, ასევე მაღალმთიან რეგონებში და ხასიათდება კარგი მსხმოიარობით. მიუხედავად ამისა მცენარის ქიმიური შედგენილობისა და გამოყენების შესახებ, ჩვენი ქვეყნის სინამდვილეში სამეცნიერო ლიტერატურა არ არსებობს ან ძალიან მწირია, თუ არ ჩავთვლით ხალხურ მედიცინას, სადაც გამოიყენებენ მას კუჭ-ნაწლავის დაავადებების, ანთების საწინააღმდეგო, ბრონქიტის დროს ამოსახველებელ, ანტიჰელმითურ საშუალებად და ვიტამინების შემავსებლად. უცხოურ ლიტერატურაში არსებობს ინფორმაცია ამ გვარის მცენარეთა ბიოლოგიურად აქტიურ ნაერთთა: ალკალოიდები, კაროტინოიდები, გლიკოზიდები, ტერპენოიდები, სტეროიდები, ფლავონოიდები, მინერალური ნივთიერებები, ვიტამინები, ორგანული მჟავები და სხვა კვლევების შესახებ. ამ ნაერთებს გააჩნიათ თერაპიული მკურნალობის ფართო სპექტრი. მცენარე განსაკუთრებით მდიდარია ისეთი

ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთის შემცველობით, როგორცაა ლიკოპენი, რომელიც გამოირჩევა მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტიურობით და ნაკლებად ტოქსიურია.

საქართველოში ფშატის ნაყოფი ძირითადად ნედლი სახით მოიხმარება და მისი გადამუშავება ნაკლებად ხდება. ის ჩვეულებრივი ჭალის მცენარეა და ნესტიან ადგილებში იზრდება, მაგრამ ამავე დროს იტანს ხანგრძლივ გვალვებსაც. სწორედ ამიტომ დიდია მისი გავრცელების პერსპექტივა, რაც კიდევ უფრო გაზრდის სანედლეულო ბაზას.

აქედან გამომდინარე, მეტად მნიშვნელოვანია, ფშატის, როგორც ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთებით მდიდარი რესურსის შესწავლა და მისი, როგორც ფუნქციური პროდუქტების ნედლეულის წარმოების პერსპექტივის განსაზღვრა.

კვლევის მიზანი და ამოცანები - შეგვესწავლა თანამედროვე ფიზიკურ-ქიმიური და ინსტრუმენტული მეთოდების გამოყენებით მცენარი ფშატის მნიშვნელოვანი ქიმიური ნაერთების: ნახშირწყლების, ორგანული მჟავების, მინერალური ნივთიერებების, ფენოლური ნაერთებისა და კაროტინოიდების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობა HPLC-UV, Vis; RI, კონდუქტომეტრული და UPLC-PDA, MS მეთოდების, სხვადასხვა პრეპარატული და ანალიზური სვეტების, სორბენტისა და გამხსნელის გამოყენებით. ფშატის ნაყოფიდან „მწვანე“ ექსტრაგენტის და ულტრაბერითი ექსტრაქციის მეთოდით ლიკოპენშემცველი პრეპარატის მიღების ოპტიმალური პირობების დადგენა და ხარისხობრივი მახასიათებლების განსაზღვრა. ფშატის თესლიდან სუპერფლუიდური ექსტრაქციითა და ოპტიმალური ექსტრაგენტის შერჩევით ზეთის მიღება და მათი ხარისხობრივი მახასიათებლების დადგენა ინფრაწითელი სპექტროსკოპიისა და აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific) საშუალებით. მიღებული ექსტრაქტებისა და პროდუქტების ანტიოქსიდანტური აქტიურობის განსაზღვრა DPPH მეთოდით.

კვლევის ობიექტი - მცენარე ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფი და ფოთოლი. ნიმუშები აღებულ იქნა სამომხმრებლო სიმწიფის პერიოდში ოქტომბრის ბოლო, ნოემბრის დასაწყისში (4 წლის განმავლობაში 2015-2019) საქართველოს ოთხ სხვადასხვა

რეგიონში ზღვის დონიდან განსხვავებულ სიმაღლეზე, სულ 10 ნიმუში, კერძოდ სამეგრელო - სენაკი ზღვის დონიდან 28მ (N1), იმერეთი - სამტრედია ზღვის დონიდან 25 მ (N2), გურია - ოზურგეთი ზღვის დონიდან 80მ (N3), აჭარ - ქობულეთი-ზღვის დონიდან 5მ (N4), ურეხი ზღვის დონიდან 3მ (N5), ახალშენი ზღვის დონიდან 163მ (N6), ხელვაჩაური ზღვის დონიდან 11მ (N7), აჭარისწყალი-ზღვის დონიდან 150მ (N8), ქედა ზღვის დონიდან 256მ (N9), ხულო ზღვის დონიდან 923მ (N10).

კვლევის მეთოდოლოგია – ფშატის ნაყოფის რბილობის, ფოთლის, თესლისა და მისგან წარმოებული პროდუქტების ქიმიური ანალიზი ჩატარდა თანამედროვე ინსტრუმენტული მეთოდების გამოყენებით.

1. ფენოლური ნაერთების იდენტიფიკაცია ულტრამაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირების UPLC-PDA, MS მეთოდით;
2. ნახშირწყლებისა და ორგანული მჟავების თვისობრივი ანალიზი ულტრამაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირების UPLC-PDA, MS მეთოდით;
3. ნახშირწყლებისა და ორგანული მჟავების რაოდენობრივი ანალიზი მაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირების HPLC-UV, Vis; RI მეთოდით;
4. კატიონების განსაზღვრა HPLC– Conductivity მეთოდით;
5. β კაროტინისა და ლიკოპენის თვისობრივი ანალიზი ულტრამაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირების UPLC-PDA, MS მეთოდით;
6. β კაროტინისა და ლიკოპენის რაოდენობრივი განსაზღვრა სპექტრული მეთოდით;
7. ანტიოქსიდანტური აქტიურობის განსაზღვრა (2,2-დიფენილ-1-პიკრილ ჰიდრაზილის სტაბილური რადიკალის გამოყენებით) DPPH მეთოდით;
8. საერთო ფენოლების რაოდენობის განსაზღვრა ფოლინ-ჩიოკალტეუს მეთოდით (Folin-Ciocalteu) (გალის მჟავაზე გადაანგარიშებით);
9. ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრა სპექტრული მეთოდით (AlCl₃-ის რეაქტივი, რუთინზე გადაანგარიშებით);

10. კატექინების რაოდენობრივი განსაზღვრა ვანილინის რეაქტივის საშუალებით, სპექტრული მეთოდით;
 11. ზეთის კვლევა ინფრაწითელი სპექტროსკოპიისა (Agilent) და აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific) საშუალებით.
 12. ცალკეულ ნივთიერებათა ექსტრაქციისათვის გამოყენებულ იქნა სუპერ კრიტიკული წნევის ფლუიდური (SFE Waters, USA) და ულტრაბგერითი ექსტრაქცია (Hielscher-UP 400St ultrasonic processor, Germani).
 13. მშრალი ნივთიერების განსაზღვრა - რეფრაქტომეტრული მეთოდით (AOAC 2005 Official Method);
 14. აქტიური მჟავიანობის-pH განსაზღვრა (AOAC 2005 Official Method);
 15. ტიტრული მჟავიანობის განსაზღვრა (AOAC 2005 Official Method).
 16. წყლისა და მშრალი ნივთიერების განსაზღვრა – სტანდარტული, თერმოგრავიმეტრიული მეთოდით (AOAC 2005 Official Method);
 17. სტატისტიკური ანალიზი: თითოეულ მონაცემზე გამოთვლილი იქნა სტანდარტული ცდომილება Excel-ის პროგრამის გამოყენებით. სარწმუნოების კოეფიციენტი $p \leq 0.05$.
- სამეცნიერო სიახლე** – საქართველოში პირველად ჩატარებულ იქნა გვარი *Elaeagnus L.*-ს გავრცელებული სახეობის ფშატის *Elaeagnus umbellata Thunb.* ნაყოფისა და ფოთლის ქიმიური შედგენილობის კვლევა, მათი გამოყენების პესპექტივების გათვალისწინებით. თანამედროვე ფიზიკურ-ქიმიური და ინსტრუმენტული მეთოდებით - მაღალეფექტური (წნევის) სითხური HPLC-UV, RI, Conductometry და UPLC-PDA, MS მეთოდების მეშვეობით შესწავლილ იქნა მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტიურობის მქონე 21 ფენოლური ნაერთი, 2 კაროტინოიდი, 3 ნახშირწყლი, 4 ორგანული მჟავა და 5 კატიონი. განსაზღვრულ იქნა ნაერთთა რაოდენობრივი შემცველობა. პირველად იქნა დადგენილი ფშატის ნაყოფიდან „მწვანე“ ექსტრაგენტისა და ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდით ლიკოპენშემცველი პრეპარატის მიღების ოპტიმალური პირობები და განსაზღვრული იქნა მიღებული პრეპარატის ხარისხობრივი მახასიათებლები. შესწავლილი იქნა თესლის და მისგან სუპერ კრიტიკული წნევით ფლუიდური ექსტრაქციით მიღებული ზეთის

ქიმიური შედგენილობა ინფრაწითელი სპექტროსკოპიისა და აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific) გამოყენებით.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა – კვლევის შედეგები წარმოადგენს მოცემული ბიოლოგიური ობიექტის ახალ პროფილაქტიკურ, პრევენციულ პრეპარატებად გამოყენების მეცნიერულ საფუძველს. აღნიშნულ კვლევებს ექნება არა მარტო სამეცნიერო, არამედ პრაქტიკული და სოციალური ღირებულებაც. კერძოდ კვლევის შედეგებიდან გამომდინარე ეს მცენარე უფრო პერსპექტიული და აღიარებული გახდება, როგორც ახალი საწვინაწილო წყარო. რადგანაც მცენარე ნაკლებ მოთხოვნას უყენებს ნიადაგს და წარმატებით გამოიყენება ჩამორეცხილ მიწებზე ნიადაგის დასაცავად, მეწყერ საშიშ ზონებში გაიზრდება მისი გავრცელების პერსპექტივა და ის სოფლის მკვიდრისათვის იქნება დამატებითი შემოსავლის წყარო.

სამუშაოს აპრობაცია - კვლევის შედეგები ასახულია 1 სამეცნიერო სტატიასა და 4 საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენციის მასალებში.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა – დისერტაცია შედგება 113 ნაბეჭდი გვერდისაგან, დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაციის გაფორმების ინსტრუქციის მიხედვით და მოიცავს სატიტულო და ხელმოწერების გვერდებს, შინაარსს, სურათს 72, ცხრილის ნუსხას 16, დიაგრამას 8, გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხას 114 ერთეულს. ძირითადი ტექსტის შემადგენლობაშია: შესავალი, ლიტერატურული მიმოხილვა, ექსპერიმენტული ნაწილი, შედეგების განსჯა, დასკვნა და გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალი.

ლიტერატურული მიმოხილვა – ნაშრომის პირველ თავში განხილულია მცენარე ფშატის ბიოლოგიური დახასიათება, ბიოაქტიური ნაერთების ფენოლური ნაერთების, კაროტინოიდების, ნახშირწყლების, ორგანული მჟავებისა და მინერალური ნივთიერებების გავრცელება მცენარეებში, მათი ფიზიოლოგიური აქტიურობა. დისერტაციას თან ახლავს გამოყენებული ლიტერატურის სია.

2.1. ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფების ტექნიკური და ფიზიკურ-ქიმიური მაჩვენებლები

განსაზღვრული იქნა ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb-ს ნაყოფების ორგანოლექტიკური და ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებელი: ნაყოფის ზომა, ფერი, ფორმა, მასა, მოცულობა, რბილობისა და თესლის გამოსავალი, აქტიური მჟავიანობა (pH), ტიტრული მჟავიანობა, მშრალი ნივთიერება (Brix), შაქარ-მჟავა ინდექსი. ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გასაზომად გამოყენებული იქნა 0,01 მმ მგრძნობიარე ციფრული კალიპერი (Traceable Digital Caliper-6", VWR International). მასა განსაზღვრული იყო 0,01 გ-მდე სიზუსტით (Mettler-Toledo AG, Greifensee).

მცენარე ფშატის მთრიმლავი, მომჟავო - მოტკბო გემოს წითელი ნაყოფები სფეროსებური ფორმისაა. ნაყოფის სიგრძე 6,7–8,6 მმ, სიგანე 8,1–9,3მმ–ია, მასა 0,31–0,55გ, ხოლო მოცულობა კი 0,41-0,54 მლ. ნაყოფის მთლიანი მასის 68-80% რბილობია, 20-32% თესლი (სურათი 1, ცხრილი №1).



სურათი 1. ფშატის *Elaeagnus umbellata* ნაყოფის ტექნიკური მახასიათებლები

ფშატის ნაყოფების ტექნიკური მახასიათებლები

ცხრილი №1

ნომერი №	ფერი	გემო	ფორმა	ზომა მმ		მასა 1 ცალი, გ	მოცულობა, 1 ცალი, მლ	მასური წილი %	
				სიგრძე	სიგანე			რბილობი	თესლი
1	წითელი	მომჟაო- მოტკბო (მომლაშო)	მომრგვალო	7,6±0,09	8,2±0,1	0,31±0,002	0,3±0,003	75±1,1	25±0,37
2	წითელი	მომჟაო – მოტკბო	მომრგვალო	7,9±0,09	8,7±0,11	0,4±0,003	0,41±0,004	73±1,09	27±0,4
3	წითელი	ტკბილი (მომლაშო)	მომრგვალო	8,6±0,10	9,3±0,11	0,55±0,004	0,54±0,005	78±1,1	22±0,33
4	წითელი	მოტკბო მომლაშო	მომრგვალო	6,8±0,08	8,2±0,09	0,52±0,004	0,52±0,005	68±1,02	32±0,48
5	წითელი	მოტკბო მომლაშო	მომრგვალო	7,9±0,09	8,1±0,09	0,38±0,003	0,38±0,003	73±1,09	27±0,4
6	წითელი	მოტკბო	მომრგვალო	7,5±0,09	9,1±0,11	0,41±0,003	0,46±0,004	70±1,05	30±0,45
7	წითელი	მოტკბო მომჟაო	მომრგვალო	6,7±0,08	8,1±0,09	0,45±0,003	0,42±0,003	72±1,08	28±0,42
8	წითელი	მომჟაო (მომლაშო)	მომრგვალო	7,5±0,09	9,1±0,11	0,44±0,003	0,44±0,003	80±1,2	20±0,3
9	წითელი	ტკბილი (მომლაშო)	მომრგვალო	7,8±0,09	9,2±0,11	0,47±0,004	0,48±0,004	77±1,15	23±0,34
10	წითელი	მოტკბო- (მომლაშო)	მომრგვალო	7,4±0,08	8,7±0,1	0,43±0,003	0,44±0,003	74±1,11	26±0,39

ლიტერატურულ მონაცემებთან შედარებით საქართველოს ტერიტორიაზე აღებული ფშატის ნაყოფი გამოირჩევა საკმაოდ კარგი ტექნიკური მახასიათებლებითა და ორგანოლექტიკური თვისებებით.

ფშატის ნაყოფის ზოგერთი ქიმიური მახასიათებელი

ცხრილი №2

ნიმუში №	მშრალი ნივთიერება %	pH	ტიტრული მჟავიანობა %	შაქარმჟავა ინდექსი
1	13.6±0,02	3.55±0,1	0.97±0,03	14,02±0,28
2	20.1±0,03	4.05±0,12	0.66±0,02	38,03±0,76
3	15.6±0,02	4.07±0,12	0.56±0,02	33.9±0,67
4	15.4±0,02	3.68±0,11	0.59±0,02	26.1±0,52
5	19,4±0,03	3.85±0,11	0.86±0,03	22,56±0,45
6	12.1±0,01	4.10±0,12	0.65±0,02	22.0±0,44
7	17.4±0,02	3.57±0,11	0.81±0,03	20,47±0,41
8	17.0±,02	3.92±0,12	0,72±0,03	22,37±0,44
9	20.2±0,03	3.69±0,11	0,85±0,03	23,76±0,43
10	21.1±0,03	3.76±0,11	0,83±0,03	25,42±0,51

განსაზღვრულ იქნა აგრეთვე ფშატის ნაყოფის ქიმიური მაჩვენებლებიც. მშრალი ნივთიერების ყველაზე დაბალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა ახალშენის - 12,1%, ხოლო მაღალი 21,3 % სამტრედიის ტერიტორიაზე აღებული ფშატის ნაყოფში (ცხრილი №2). ტიტრული მჟავიანობის მაჩვენებელი მერყობდა 0,46-0,97% მდე, pH-ის მაჩვენებელი კი 3,55 - 4,10 -მდე. ყველაზე მაღალი pH-ის მაჩვენებლით ხასიათდება სენაკის ნიმუში – 3,55, ყველაზე დაბალით კი ახალშენის 4,10. ტიტრული მჟავიანობის მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირებულ იქნა სენაკის 0,97%, ხოლო დაბალი ოზურგეთის ნაყოფში 0,56%.

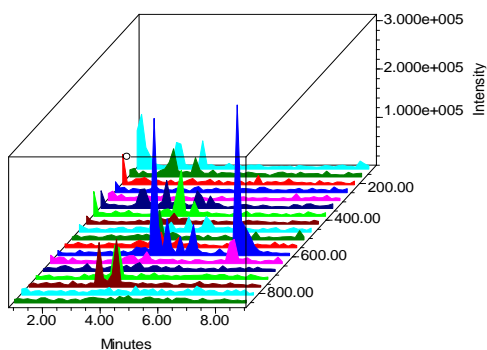
მშრალი ნივთიერებისა და ტიტრული მჟავების თანაფარდობა, რომელიც გამოისახება შაქარმჟავა ინდექსით ცვალებადობს 14,02 – 38,03 ერთეულის ფარგლებში, რაც შესაბამისად აისახება ნაყოფის ორგანოლეპტიკურ თვისებებზე, კერძოდ ნაყოფები 14,02 – 26,01–მდე შაქარმჟავა ინდექსით ხასიათდებიან მოტკბო მომჟავო გემოთი, ხოლო ოზურგეთისა და სამტრედიის ნაყოფები უფრო მაღალი ინდექსით 33,9 –38,03 შედარებით ტკბილია და ნაკლებად მჟავე (ცხრილი №2).

2.2.ფშატის (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) ნაყოფისა და ფოთლის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი ულტრა მაღალეფექტური (წნევის) სითხური UPLC-PDA, MS, მაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირების HPLC-UV, RI და სპექტრული მეთოდებით

2.2.1.ფშატის ნაყოფისა და ფოთლის ფენოლური ნაერთების იდენტიფიკაცია

საქართველოს სხვადასხვა ტერიტორიაზე გავრცელებული ფშატის ნაყოფის ფენოლური ნაერთების თვისობრივ შესწავლას ვაწარმოებდით მაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდით, ულტრაიისფერი, რეფრაქციული ინდექსის დეტექტირების მეშვეობით, ხოლო იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული იქნა ულტრამაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფირება (UPLC) მას (MS) და ფოტოდოდური (PDA) დეტექტორი. ნაერთების კვლევა, იდენტიფიკაცია და რაოდენობრივი ანალიზი ჩატარდა UPLC-PDA-MS მეთოდის გამოყენებით.

ნივთიერებათა იდენტიფიკაციას ვახდენდით ჩვენს ხელთ არსებული სტანდარტული ნაერთების გამოყენებით და ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზის, ასევე რეცენზირებული ლიტერატურული გამოცემების მონაცემებთან შედარებით. ქრომატოგრაფიულ დაყოფამდე ვახდენდით ნიმუშის მომზადებას ქრომატოგრაფირებისათვის მყარ ფაზოვანი ექსტრაქციით, C18 სვეტზე გატარებით (სურათი 23).



სურათი 2. ფშატის ნაყოფის UPLC-PDA- MS 3D ქრომატოგრამა

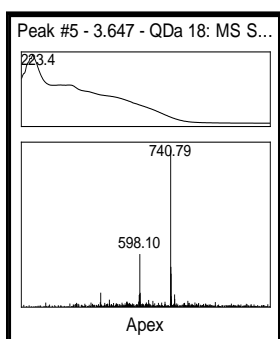
ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში ფლავონოლ გლიკოზიდების LC-MS-PDA კვლევამ საშუალება მოგვცა მოგვეხდინა შემდეგი ნაერთების იდენტიფიკაცია:

ნივთიერება 1 [M-H]⁻ m/z 740,79 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 3,647 შთანთქმის მაქსიმუმით 223,4 nm. ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 1 შეესაბამება **Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-rhamnoside** (სურათი 3).

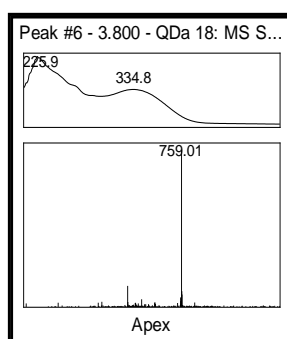
ნივთიერება 2 [M-H]⁻ m/z 759,01 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 3,800, შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 225,9nm და 334,8 nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 2 შეესაბამება **Isorhamnetin-O-glucuronide derivative** (სურათი 4).

ნივთიერება 3 [M-H]⁻ m/z 594,77 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 4,126 შთანთქმის 3 მაქსიმუმით 223,4nm, 255,2nm და 349,1nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 3 შეესაბამება **Quercetin-O-(pentosyl)hexoside** (სურათი 5).

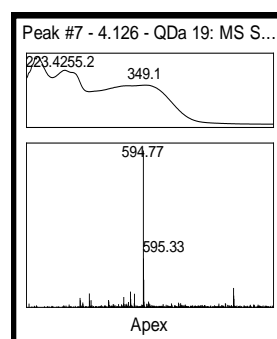
ნივთიერება 4 [M-H]⁻ m/z 562,87 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 5,425 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 225,3 nm და 284,1nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 4 შეესაბამება **Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct)** (სურათი 6).



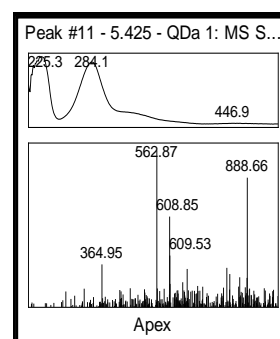
სურათი 3.



სურათი 4.



სურათი 5.



სურათი 6.

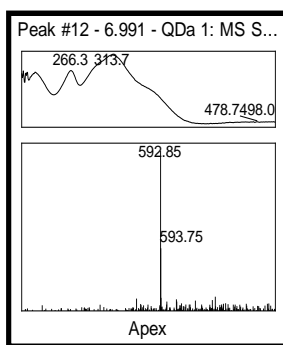
სურათი 3. ნივთიერება 1– Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-rhamnoside. სურათი 4. ნივთიერება 2– Isorhamnetin-O-glucuronide derivative. სურათი 5. ნივთიერება 3– Quercetin-O-(pentosyl)hexoside. სურათი 6. ნივთიერება 4– Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct) UPLC-PDA-MS სპექტრი.

ნივთიერება 5 [M-H]⁻ m/z 592,85 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 6,991 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 266,3nm და 313,7nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 5 შეესაბამება **Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside** (სურათი 7).

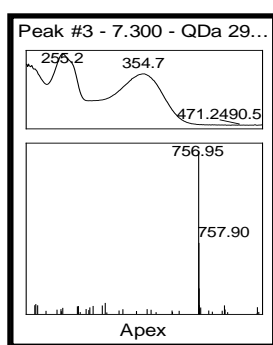
ნივთიერება 6 [M-H]⁻ m/z 756,95 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,300, შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 255,2 nm და 354,7 nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 6 შეესაბამება **Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside** (სურათი 8).

ნივთიერება 7 [M-H]⁻ m/z 581,70 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,479 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 217,4nm და 277,3 nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 7 შეესაბამება **Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside** (სურათი 9).

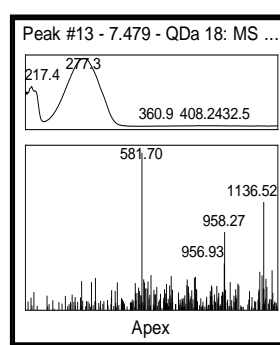
ნივთიერება 8 [M-H]⁻ m/z 385,04 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,990, შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 238,7 nm და 330,4 nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 8 შეესაბამება **Sinapic acid-O-hexoside** (სურათი 10).



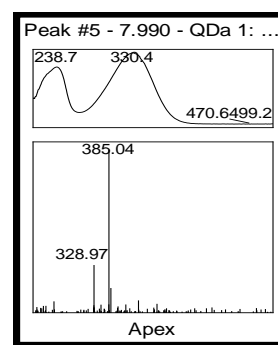
სურათი 7.



სურათი 8.



სურათი 9.



სურათი 10.

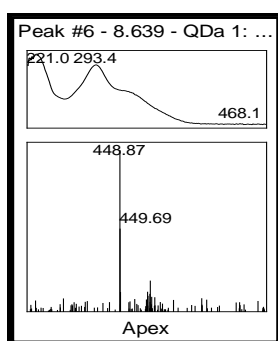
სურათი 7. ნივთიერება 5– Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside; სურათი 8. ნივთიერება 6– Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside; სურათი 9. ნივთიერება 7– Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside; სურათი 10. ნივთიერება 8- Sinapic acid-O-hexoside UPLC-PDA-MS სპექტრი.

ნივთიერება 9 [M-H]⁻ m/z 448,87 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 8,639, შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 221.0 ნმ და 293.4 ნმ ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 9 შეესაბამება Dihydrokaempferol-O-hexoside (სურათი 11).

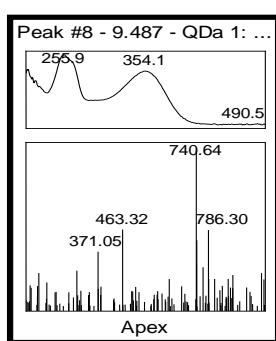
ნივთიერება 10 [M-H]⁻ m/z 463,32 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 9,487, შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 255,9nm და 354,1nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 10 შეესაბამება Quercetin-O-hexoside (სურათი 12).

ნივთიერება 11 [M-H]⁻ m/z 754,85 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 10,797, შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 254,0 nm და 354,7nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 11 შეესაბამება Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside (სურათი 13).

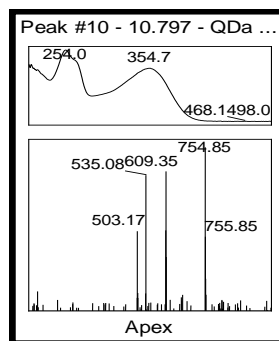
ნივთიერება 12 [M-H]⁻ m/z 622,67 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 12,104 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 254,6nm და 353,5nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 12 შეესაბამება Diosmetin-O-dihexoside (სურათი 14).



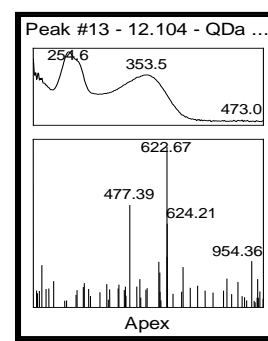
სურათი 11.



სურათი 12.



სურათი 13.



სურათი 14.

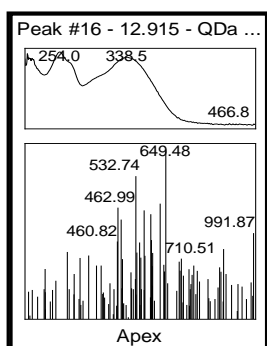
სურათი 11. ნივთიერება 9- Dihydrokaempferol-O-hexoside. სურათი 12. ნივთიერება 10- Quercetin-O-hexoside; სურათი 13. ნივთიერება 11- Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside; სურათი 14. ნივთიერება 12- Diosmetin-O-dihexoside UPLC-PDA-MS სპექტრი.

ნივთიერება 13 [M-H]⁻ m/z 649,48 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 12,915 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 254,0nm და 338,5nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 13 შეესაბამება **2-Methylnaconitate derivative** (სურათი 15).

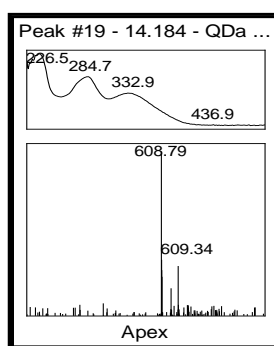
ნივთიერება 14 [M-H]⁻ m/z 608,79 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 14,184 შთანთქმის 3 მაქსიმუმით 226,5nm, 284,7nm და 332,9nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 14 შეესაბამება **Kaempferol-O-dihexoside** (სურათი 16).

ნივთიერება 15 [M-H]⁻ m/z 446,85 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 14,406 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 264,4nm და 347,9nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 15 შეესაბამება **Kaempferol-O-hexoside** (სურათი 17).

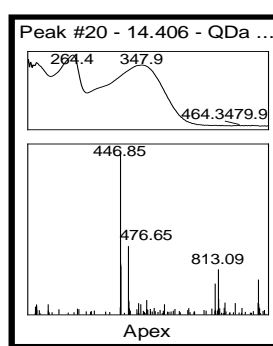
ნივთიერება 16 [M-H]⁻ m/z 477,10 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 14,674 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 253,4 nm და 349,7nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 16 შეესაბამება **Isorhamnetin-O-hexoside** (სურათი 18).



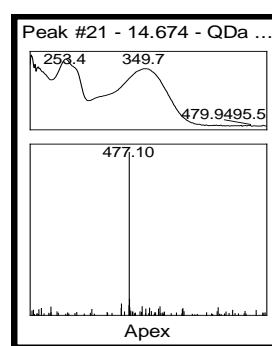
სურათი 15.



სურათი 16.



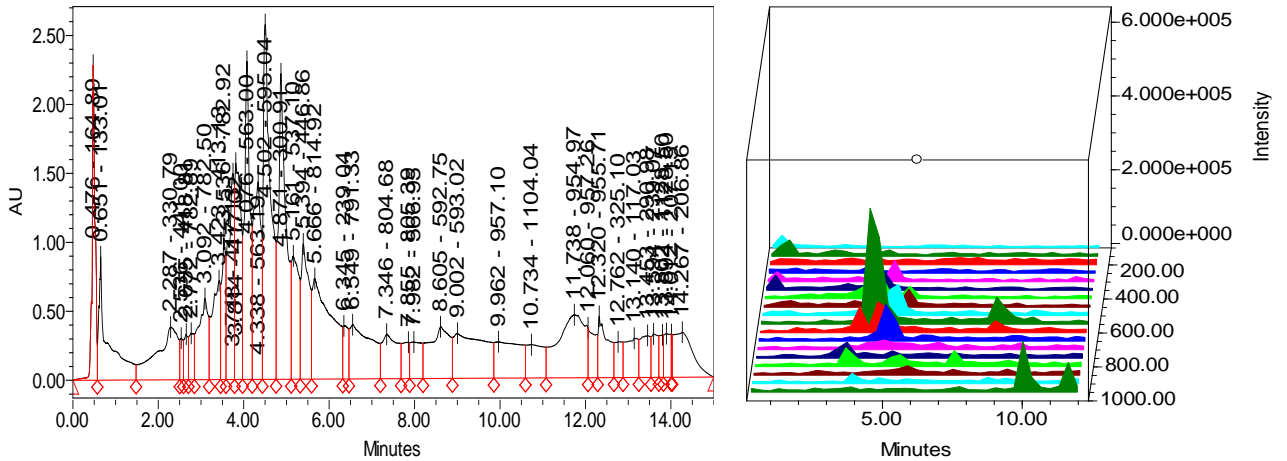
სურათი 17.



სურათი 18.

სურათი 15. ნივთიერება 13- 2-Methylnaconitate derivative; სურათი 16. ნივთიერება 14- Kaempferol-O-dihexoside; სურათი 17. ნივთიერება 15- Kaempferol-O-hexoside; სურათი 18. ნივთიერება 16- Isorhamnetin-O-hexoside UPLC-PDA-MS სპექტრი.

ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ფოთოლში ფლავონოლ გლიკოზიდების LC-MS-PDA კვლევამ საშუალება მოგვცა მოგვეხდინა შემდეგი ნაერთების იდენტიფიკაცია, (სურათი 19).

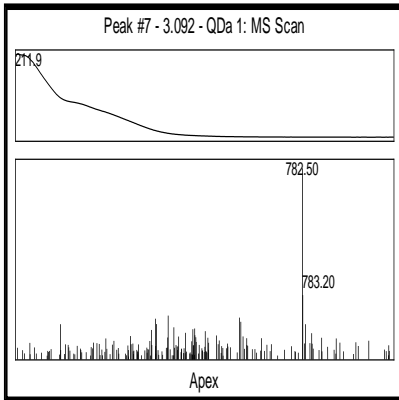


სურათი 19: ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ფოთლის UPLC-PDA- MS 3D ქრომატოგრამა

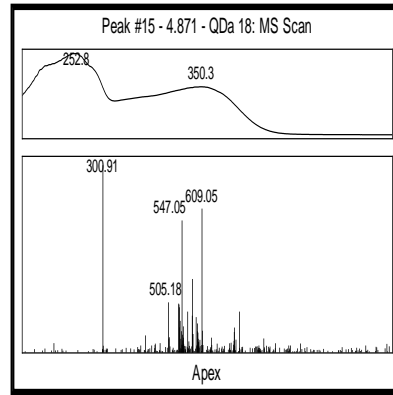
ნივთიერება 17 [M-H]⁻ m/z 782,50 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 3,092, შთანთქმის მაქსიმუმით 211,9 nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 17 შეესაბამება **bis-HHDP-O-glucose** (სურათი 20).

ნივთიერება 18 [M-H]⁻ m/z 547,05 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 4,871 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 252,8nm და 350,3nm ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 18 შეესაბამება **Saccharide** (სურათი 21).

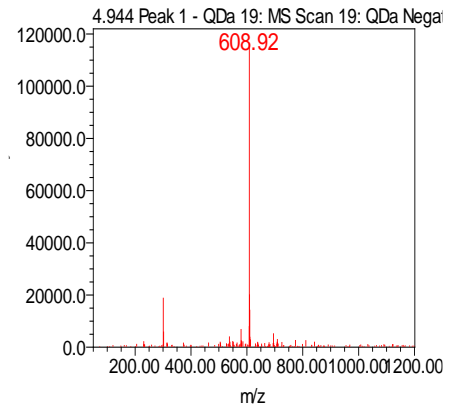
ნივთიერება 19 [M-H]⁻ m/z 608,92 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 4,944 ნივთიერებათა მასის <https://metlin.scripps.edu> თავისუფალი ბაზით და ლიტერატურით ნივთიერება 19 შეესაბამება **Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside)** (სურათი 22).



სურათი 20.



სურათი 21.



სურათი 22.

სურათი 20. ნივთიერება 17- bis-HHDP-O-glucose; სურათი 21. ნივთიერება 18- Saccharide; სურათი 22. ნივთიერება 19- Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside) UPLC-PDA-MS სპექტრი.

გარდა ამისა ფშატის ფოთოლში ნაყოფის მსგავსად იდენტიფიცირებული იქნა ნივთიერება 3 (Quercetin-O-(pentosyl)hexoside), ნივთიერება 4 (Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct)), ნივთიერება 5 (Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside), ნივთიერება 15 (Kaempferol-O-hexoside).

2.2.2. ფშატის ნაყოფისა და ფოთლის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების - საერთო ფენოლების, ფლავონოიდებისა და კატექინები რაოდენობრივი განსაზღვრა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობის დადგენა

შესწავლილია საქართველოს ოთხ სხვადასხვა რეგიონის სამეგრელოს (სენაკი), გურიის (ოზურგეთი), იმერეთისა (სამტრედია) და აჭარის (ხულო, ქედა, აჭარისწყალი, ხელვაჩაური, ქობულეთი, ახალშენი, ურეხი) ტერიტორიაზე აღებული ფშატის 10 ნიმუშის ნაყოფებისა და ფოთლების ფენოლური ნაერთები. განსაზღვრული იქნა საერთო ფენოლების, ფლავონოიდებისა და ფლავან-3-ოლების რაოდენობრივი შემცველობა და დადგენილი იქნა მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა.

ფშატის ნაყოფებში საერთო ფენოლების, ფლავონოიდების, კატექინების შემცველობა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა

ცხრილი №3

ნიმუში №	საერთო ფენოლები მგ/100გ ნედლ მასაზე	ფლავონოიდები მგ/100გ ნედლ მასაზე	კატექინები მგ/100გ ნედლ მასაზე	ანტიოქსიდანტური აქტიურობა DPPH -ის 0.1 H 50 % ინჰიბირება მგ, ნიმუშით
1	230,1±4,60	125,08±2,50	86,28±1,73	16,01±0,32
2	222,92±4,46	121,57±2,43	78,36±1,57	17,90±0,36
3	298,00±5,96	186,4±3,73	96,02±1,92	13,51±0,27
4	209,18±4,18	112,06±2,24	76,54±1,53	21,35±0,43
5	267,65±5,35	168,58±3,37	91,90±1,84	14,79±0,30
6	308,00±6,16	188,58±3,77	106,90±2,14	14,13±0,28
7	334,00±6,68	196,8±3,94	123,8±2,48	12,36±0,25
8	379,46±7,59	208,01±4,16	138,99±2,78	11,64±0,23
9	454,00±9,08	270,85±5,42	145,52±2,91	11,03 ±0,22
10	520,63±10,41	338,62±6,77	160,92±3,22	10,71±0,21

ფშატის *Elaeagnus umbellate* Thunb-ს ნაყოფებში საერთო ფენოლების რაოდენობა მერყეობს 209,18–520,63 მგ/100გ, ფლავონოიდების 112,06–338,62 მგ/100გ, ხოლო კატექინების 76,54–160,92მგ/100გ (ნედლ მასაზე) ფარგლებში. სამივე შემთხვევაში ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა ხულოს ტერიტორიაზე აღებულ ნიმუშში, საერთო ფენოლები 520,63მგ/100გ, ფლავონოიდები 338,62 მგ/100გ, კატექინები 160,92მგ/100გ, ხოლო ყველაზე დაბალი მაჩვენებლებით გამოირჩეოდა ქობულეთის ნიმუში, საერთო ფენოლების რაოდენობა იყო 209,18მგ/100გ, ფლავონოიდების 112,06მგ/100გ, კატეხინების 76,54 მგ/100გ. ასევე დადგენილი იქნა მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. ფშატის ნაყოფში ანტიოქსიდანტური აქტიურობის მაჩვენებელი მერყეობდა 10,71–21,35 (DPPH -ის 0.1 H 50 % ინჰიბირება მგ, ნიმუშით) ერთეულის ფარგლებში. მაღალი აქტიურობით გამოირჩეოდა ხულოს ნიმუში 10,71, ხოლო დაბალით კი ქობულეთის 21,35 (ცხრილი №3).

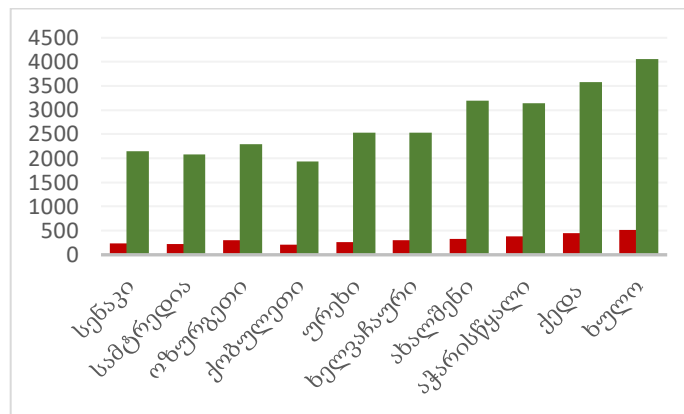
ფშატის ფოთლებში საერთო ფენოლების, ფლავონოიდების, კატექინების
შემცველობა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა

ცხრილი №4

ნიმუში №	საერთო ფენოლები მგ/100გ ნედლ მასაზე	ფლავონოიდები მგ/100გ ნედლ მასაზე	კატექინები მგ/100გ ნედლ მასაზე	ანტიოქსიდანტური აქტიურობა DPPH - ის 0.1 H 50 % ინჰიბირება მგ, ნიმუშით
1	2150,23±21,50	1505,24±15,05	595,38±5,95	2,60±0,02
2	2087,38±20,87	1460,87±14,60	577,43±5,77	2,72±0,02
3	2300,15±23,00	1623,45±16,23	637,21±6,37	2,44±0,02
4	1936,40±19,36	1355,25±13,55	563,26±5,63	3,04±0,03
5	2527,04±25,27	1718,36±17,18	789,50±7,89	2,39±0,02
6	2832,00±28,32	1915,76±19,15	902,08±9,02	2,17±0,02
7	3200,00±32,01	2173,54±21,73	1014,22±10,14	2,05±0,02
8	3136,80±31,36	2118,48±21,18	1004,32±10,04	1,94±0,01
9	3582,50±35,82	2435,76±24,35	1100,24±11,21	1,69±0,01
10	4058,00±40,58	2827,59±28,27	1174,03±11,74	1,13±0,01

ფშატის *Elaeagnus umbellate* Thunb-ს ფოთლებში საერთო ფენოლების რაოდენობა მერყეობს 1936,40–4058,00 მგ/100გ, ფლავონოიდების 1355,25–2827,59მგ/100გ, ხოლო კატექინების 563,26–1174,03 მგ/100გ (ნედლ მასაზე) ფარგლებში. ფშატის ფოთლებშიც ნაერთების კვლევისას მაღალი შემცველობა დაფიქსირდა ხულოს, ხოლო დაბალი კი ქობულეთის ტერიტორიაზე აღებულ ნიმუშში. ხულოს ნიმუშში საერთო ფენოლების რაოდენობა იყო 4058,00 მგ/100გ, ფლავონოიდები 2827,59 მგ/100გ, კატექინები 1174,03 მგ/100გ, ხოლო ქობულეთის ნიმუშში კი, საერთო ფენოლები 1936,40 მგ/100გ, ფლავონოიდების 1355,25 მგ/100გ, კატექინების 563,26 მგ/100გ. ასევე დადგენილი იქნა მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. ნაერთების შემცველობიდან გამომდინარე, შესაბამისად ფშატის ფოთოლში ანტიოქსიდანტური აქტიურობის მაჩვენებელი მერყეობდა 1,13–3,04 (DPPH -ის 0.1 H 50 % ინჰიბირება მგ, ნიმუშით) ერთეულის ფარგლებში. მაღალი

აქტიურობით გამოირჩეოდა ხულოს ნიმუში 1,13, ხოლო დაბალით ქობულეთის 3,04 (ცხრილი №4).



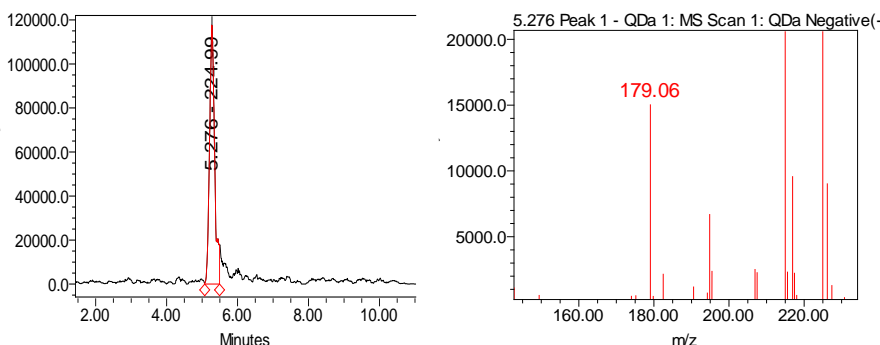
დიაგრამა 1. ფშატის ნაყოფებისა და ფოთლების ფენოლური ნაერთების დიაგრამა მგ/100გ (ნედლ მასაზე)

ზემოთ აღნიშნული მონაცემების საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb-ს ნიმუშებში ნაერთების კვლევისას ნაყოფთან შედარებით 5-ჯერ მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა ფოთოლში. ეს განპირობებულია ფოთოლში მიმდინარე ინტენსიური ბიოსინთეზით. გარდა ამისა ნაყოფებშიც და ფოთლებშიც ნაერთების მაღალი შემცველობა აღინიშნებოდა ზღვის დონიდან ყველაზე მაღალ სიმაღლეზე (ხულო) აღებულ ნიმუშში (დიაგრამა 1), რაც პირდაპირ არის დამოკიდებული მკაცრ კლიმატურ პირობებში მცენარის მაღალ იმუნიტეტთან, რომელიც განპირობებულია ფენოლური ნაერთების მაღალი შემცველობით.

2.2.3. ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფის ნახშირწყლებისა და ორგანული მჟავების თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი ულტრამაღალეფექტური (წნევის) სითხური UPLC-PDA, MS და მაღალი წნევის სითხური HPLC-UV, RI ქრომატოგრაფირების მეთოდით

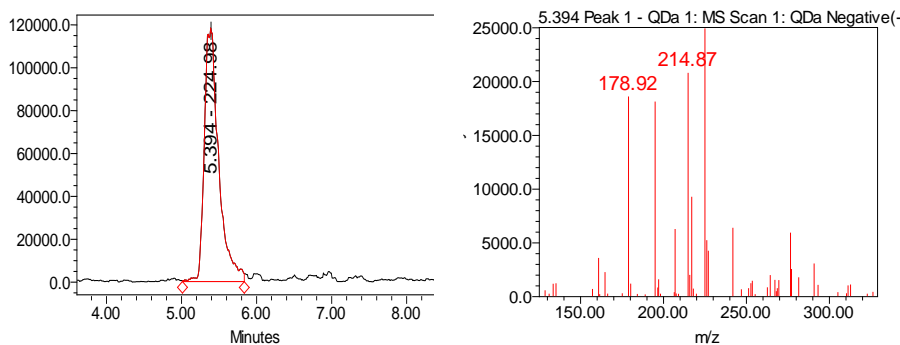
ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში იდენტიფიცირებული იქნა 3 დომინანტი ნახშირწყალი: გლუკოზა, ფრუქტოზა და საქაროზა.

ნივთიერება 20 $[M-H]^-$ m/z 179.06, მაგრამ ჭიანჭველმჭავას მიერთების შედეგად წარმოიქმნება ფსევდო მოლეკულა m/z 224.99. ქრომატოგრამაზე შეკავების დრო 5.276 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV სპექტრზე არ ჩანს. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შედარებით, ნივთიერება 20 შეესაბამება გლუკოზას (სურათი 23).



სურათი 23. ნივთიერება 20 – გლუკოზას UPLC-PDA-MS სპექტრი

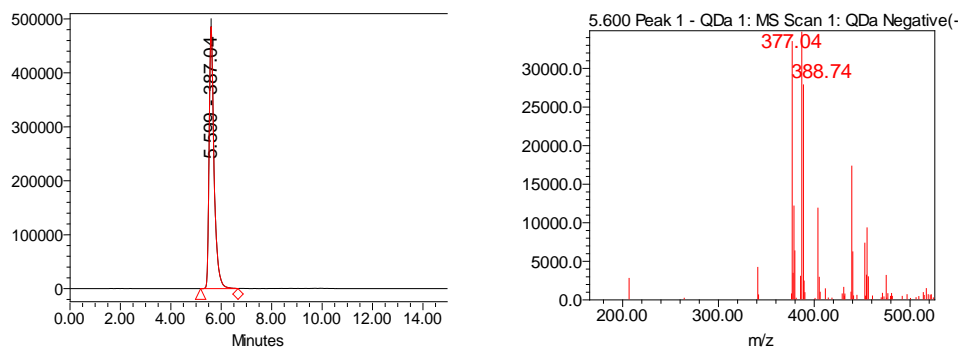
ნივთიერება 21 $[M-H]^-$ m/z 178.92, მაგრამ ჭიანჭველმჭავას მიერთების შედეგად წარმოიქმნება ფსევდო მოლეკულა m/z 224.98, ხოლო ქლორის იონთან მიერთების შედეგად წარმოიქმნება m/z 214.87. შეკავების დრო 5.394 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV სპექტრზე არ ჩანს. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 21 შეესაბამება ფრუქტოზას (სურათი 24).



სურათი 24. ნივთიერება 21- ფრუქტოზას UPLC-PDA-MS სპექტრი

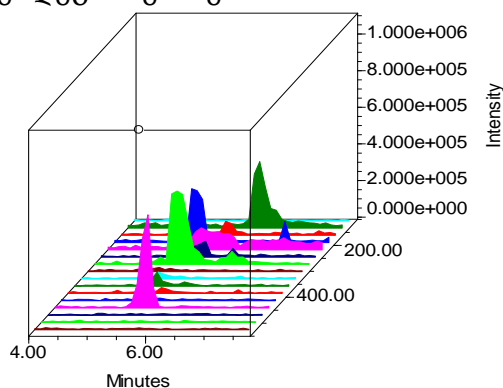
ნივთიერება 22 $[M-H]^-$ m/z 341.10, მაგრამ ჭიანჭველმჭავას მიერთების შედეგად წარმოიქმნება ფსევდო მოლეკულა m/z 387.04, ხოლო ქლორის იონთან მიერთების შედეგად წარმოიქმნება m/z 377.04. შეკავების დრო 5.600 წთ, შთანთქმის მაქსიმუმი UV

სპექტრზე არ ჩანს. სტანდარტულ ნაერთთან და METLIN ნაერთების მასების ბაზის შესაბამისად ნივთიერება 22 შეესაბამება საქაროზას (სურათი 25).

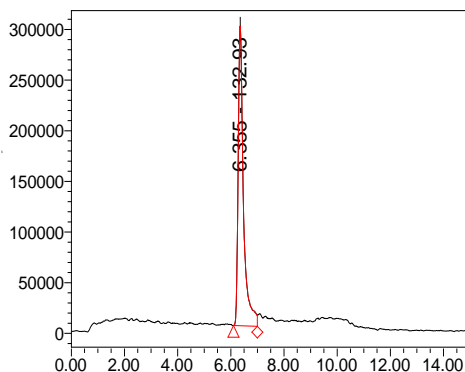


სურათი 25. ნივთიერება 22- საქაროზას UPLC-PDA-MS სპექტრი

ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში ორგანული მჟავების კვლევისას იდენტიფიცირებული იქნა შემდეგი ნაერთები:

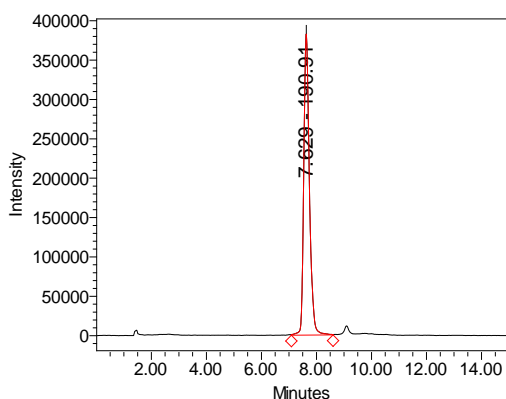


სურათი 26. ფშატის ნაყოფის ორგანული მჟავების UPLC-PDA- MS 3D ქრომატოგრამა ნივთიერება 23 $[M-H]^-$ m/z 132,93 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 6,355 ლიტერატურით ნივთიერება 23 შეესაბამება ვაშლის მჟავას (სურათი 27).



სურათი 27. ნივთიერება 23 – ვაშლის მჟავას UPLC-PDA-MS სპექტრი

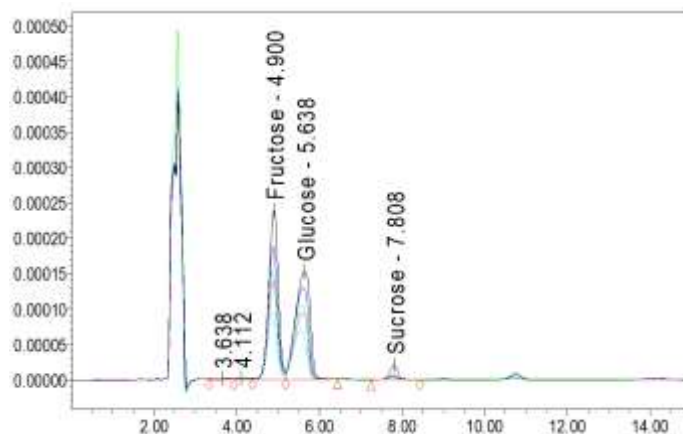
ნივთიერება 24 [M-H]⁻ m/z 190,91 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,629 ლიტერატურით ნივთიერება 23 შესაბამემა ვაშლის მჟავას (სურათი 28).



სურათი 28. ნივთიერება 24 – ლიმონმჟავა მჟავას UPLC-PDA-MS სპექტრი

ფშატის ნაყოფის ნახშირწყლებისა და ორგანული მჟავების რაოდენობრივი ანალიზი ვაწარმოეთ მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების HPLC-UV, RI მეთოდით. ნახშირწყლების ქრომატოგრაფირებისათვის საანალიზო ნიმუშის ცენტრიფუგირებულ წყლიან ექსტრაქტს (1:1) ვუმატებდით 80%-იან აცეტონიტრილს (1:1) (მოდრავი ფაზა) და ნიმუშს ვფილტრავდით 0,45მკრ ზომის ფილტრში.

ორგანული მჟავების ქრომატოგრაფირებისათვის საანალიზო ნიმუშის ექსტრაგირებას ვახდენდით 1%-იანი ფოსფორმჟავით (2:1 თანაფარდობით), პექტინოვანი ნივთიერებების დასალექად ვამუშავებდით 96%-იანი სპირტით 1:1 თანაფარდობით, შემდგომ ცენტრიფუგირებულ ნიმუშს ვფილტრავდით 0,45მკრ ზომის ფილტრში.



სურათი 29. ფშატის ნაყოფის ნახშირწყლების საერთო ქრომატოგრამა

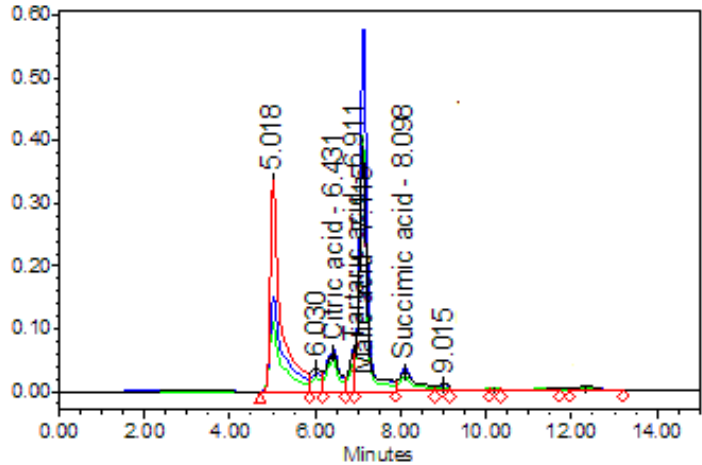
ფშატის ნაყოფში ნახშირწყლების რაოდენობრივი შემცველობა

ცხრილი № 5

ნიმუში №	ფრუქტოზა გ/კგ	გლუკოზა გ/კგ	საქაროზა გ/კგ	შაქრების ჯამი გ/კგ
1	28,03±0,42	26,81±0,40	1,82±0,03	56,66±0,85
2	32,71±0,49	33,94±0,51	1,60±0,02	68,25±1,02
3	30,68±0,46	28,62±0,43	2,13±0,03	61,43±0,92
4	17,28±0,26	16,55±0,25	0,71±0,01	34,54±0,52
5	39,85±0,60	35,47±0,53	1,56±0,02	74,47±1,12
6	23,81±0,36	23,48±0,35	0,62±0,01	47,91±0,72
7	39,54±0,59	30,47±0,46	1,24±0,02	74,47±1,12
8	40,30±0,60	43,17±0,65	2,53±0,04	86,0±1,29
9	50,37±0,76	50,58±0,76	3,66±0,05	104,41±1,57
10	43,77±0,66	44,95±0,67	2,29±0,03	91,01±1,37

მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების საშუალებით დადასტურდა რომ, ფშატის ნაყოფში საერთო ნახშირწყლების შემცველობა მერყეობს 34,54 – 104,41 გ/კგ ფარგლებში, წარმოდგენილ ნიმუშებში დომინანტია გლუკოზა 16,55–50,58 გ/კგ და ფრუქტოზა 17,28 – 50,37 გ/კგ, მცირე რაოდენობითაა საქაროზა 0,62 – 3,66 გ/კგ. ნახშირწყლების შედარებით მაღალი შემცველობით გამოირჩევა ქედის ნიმუში ნახშირწყლების საერთო ჯამი 104,41 გ/კგ, ფრუქტოზა:გლუკოზა:საქაროზა წარმოდგენილია შემდეგი ფარდობით 0,99:1:0,07, ხოლო დაბალი მაჩვენებელი აქვს ქობულეთის ნიმუშს 34,54 გ/კგ, სადაც ფრუქტოზა:გლუკოზა:საქაროზა წარმოდგენილია 1:0,96:0,04 ფარდობით (ცხრილი №5, სურათი 29, დიაგრამა 2).

ორგანული მჟავების კვლევისას მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდით იდენტიფიცირებული იქნა ოთხი მჟავა: ვაშლის მჟავა, ლიმონმჟავა, ღვინის მჟავა და ქარვის მჟავა. რაოდენობრივი ანალიზით დადასტურდა რომ, დომინანტ მჟავას წარმოადგენს ვაშლის მჟავა, რომელიც 275–501 მგ/100გ-ის ფარგლებში მერყეობს (ცხრილი №6, სურათი 30).



სურათი 30. ფშატის ნაყოფის ორგანული მჟავების საერთო ქრომატოგრამა

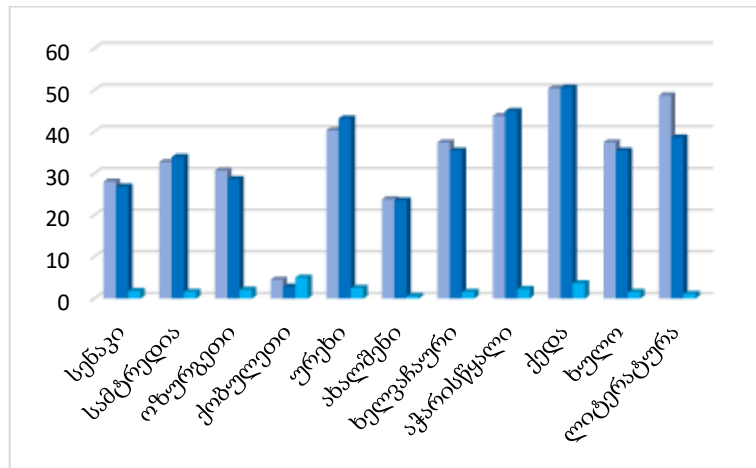
ფშატის ნაყოფში ორგანული მჟავების რაოდენობრივი შემცველობა

ცხრილი №6

ნიმუში №	ლიმონმჟავა მგ/100გ	ვაშლის მჟავა მგ/100გ	ღვინის მჟავა მგ/100გ	ქარვის მჟავა მგ/100გ
1	79±1,58	501±10,02	30±0,60	135±2,70
2	59±1,18	382±7,64	53±1,06	91±1,82
3	42±0,84	275±5,50	48±0,96	94±1,88
4	28±0,56	355±7,10	47±0,94	133±2,66
5	45±0,90	311±6,22	114±2,28	87±1,74
6	60±1,20	277±5,54	108±2,16	76±1,52
7	73±1,46	427±8,54	33±0,66	165±3,30
8	26±0,52	314±6,28	70±1,40	156±3,12
9	82±1,64	425±8,50	110±2,20	167±3,34
10	96±1,92	438±8,76	117±2,34	175±3,50

უცხოურ ლიტერატურულ მონაცემებთან შედარებით ნახშირწყლების რაოდენობრივი შემცველობა თითქმის ერთნაირია. ფშატის ნაყოფში იდენტიფიცირებულია ფრუქტოზა, გლუკოზა და საქაროზა, რომელთაგან დომინანტს წარმოადგენს ფრუქტოზა და გლუკოზა, ისევე როგორც ჩვენს ნიმუშებში (დიაგრამა 2). რაც შეეხება ორგანულ მჟავებს, ლიტერატურული მონაცემებით ფშატის ნაყოფში იდენტიფიცირებულია ექვსი ორგანული მჟავა. ჩვენს მიერ იდენტიფიცირებული იქნა

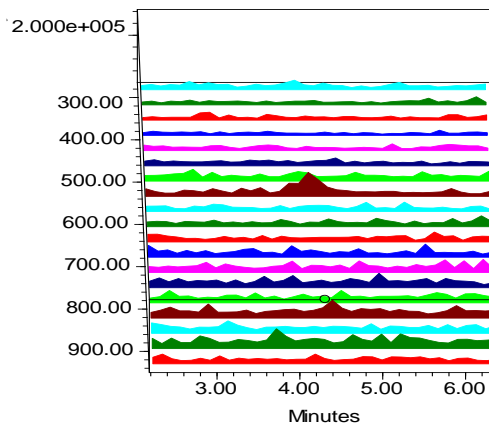
მხოლოდ ოთხი, კერძოდ ვაშლის მჟავა, ლიმონმჟავა, ღვინის მჟავა და ქარვის მჟავა, სადაც დომინანტს ასევე წარმოადგენდა ვაშლის მჟავა.



დიაგრამა 2. ნახშირწყლების რაოდენობრივი თანაფარდობა

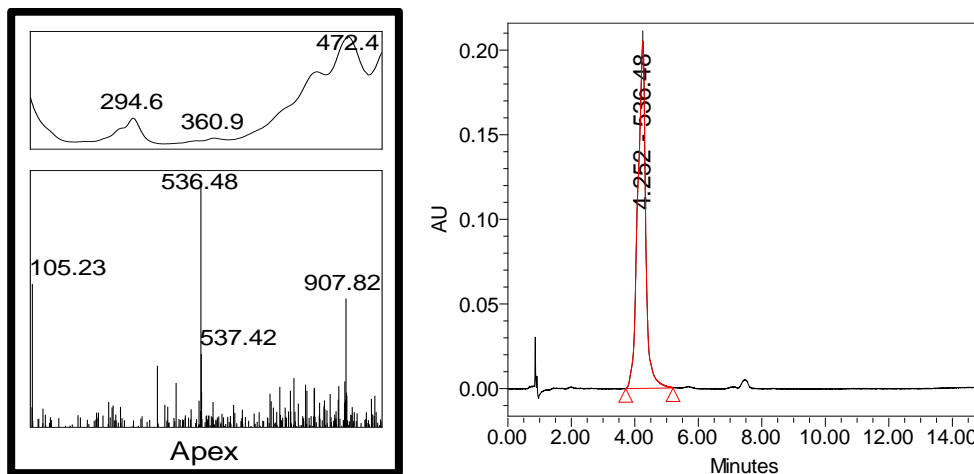
2.2.4. ფშატის (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) ნაყოფში კაროტინოიდების თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი ულტრამალალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების UPLC-PDA, MS და სპექტრული მეთოდებით

ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში კაროტინოიდების კვლევისას (სურათი 31) ლიტერატურულ მონაცემებთან შედარებით იდენტიფიცირებული იქნა შემდეგი ნაერთები:



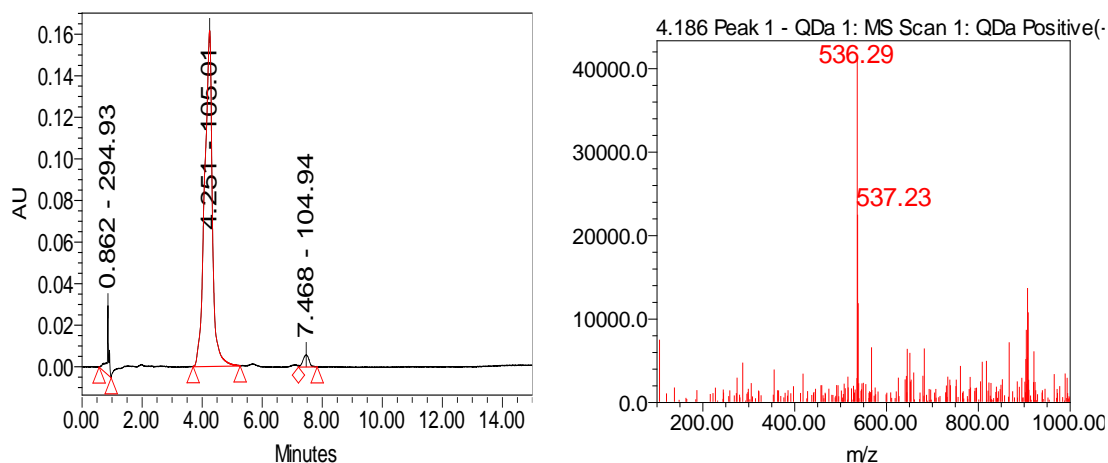
სურათი 31. ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფის კაროტინოიდების UPLC-PDA-MS 3D ქრომატოგრამა

ნივთიერება 25 $[M]^+$ m/z 536,48 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 4,251 შთანთქმის მაქსიმუმით 472,4 nm, ლიტერატურით ნივთიერება 25 შეესაბამება ლიკოპენს (სურათი 32).



სურათი 32. ნივთიერება 25 – ლიკოპენის UPLC-PDA- MS სპექტრი

ნივთიერება 26 $[M+H]^+$ m/z 537,42 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 7,468 შთანთქმის 2 მაქსიმუმით 453,1 და 379,8nm, ლიტერატურით ნივთიერება 26 შეესაბამება β კაროტინს (სურათი 33).



სურათი 33. ნივთიერება 26 – β კაროტინის UPLC-PDA- MS სპექტრი

ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში სპექტრული მეთოდით განსაზღვრული იქნა საერთო კაროტინოიდების, ლიკოპენისა და β კაროტინის რაოდენობრივი შემცველობა.

ფშატის ნაყოფში საერთო კაროტინოიდების, ლიკოპენისა და β კაროტინის რაოდენობრივი ანალიზი.

ცხრილი №7

ნიმუში №	ლიკოპენი მგ/100გ	β კაროტინი მგ/100გ	საერთო კაროტინოიდები მგ/100გ
1	43,25±0,87	0,39±0,01	54,06±1,08
2	42,85±0,86	0,35±0,01	53,56±1,07
3	47,15±0,94	0,37±0,01	54,44±1,09
4	41,08±0,82	0,31±0,01	50,35±1,01
5	37,34±0,75	0,25±0,01	45,68±0,91
6	46,08±0,92	0,49±0,01	54,10±1,08
7	46,54±0,93	0,52±0,01	54,68±1,09
8	47,58±0,95	0,54±0,01	56,23±1,12
9	48,58±0,97	0,63±0,01	56,53±1,13
10	49,21±0,98	0,73±0,01	57,01±1,14

ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში ლიკოპენის შემცველობა მერყეობს 37,34–49,21 მგ/100გ, β კაროტინი 0,25 – 0,73 მგ/100გ, საერთო კაროტინოიდები 45,68–57,01 მგ/100გ ნედლ მასაზე. აღნიშნული ნაერთები დაბალი შემცველობით დაფიქსირდა ურეხის ტერიტორიაზე აღებულ ნიმუშში ლიკოპენი 37,34 მგ/100გ, β კაროტინი 0,25მგ/100გ, კაროტინოიდები 45,68მგ/100გ ნედლ მასაზე, ხოლო მაღალი შემცველობით გამოირჩეოდა ხულოს ნიმუში ლიკოპენი 49,21მგ/100გ, β კაროტინი 0,73 მგ/100გ, კაროტინოიდები 57,01 მგ/100გ ნედლ მასაზე (ცხრილი №7).

**3. დასავლეთ საქართველოში გავრცელებული ფშატის (*Elaeagnus umbellata* Thunb.)
ნაყოფიდან ლიკოპენის ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდის ოპტიმიზაცია
მწვანე ექსტრაგენტის გამოყენებით.**

მცენარეული ნედლეულიდან გამოყოფილი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების გამოსავლიანობა და ხარისხობრივი მახასიათებლები მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული ექსტრაქციის მეთოდსა და პირობებზე. არსებობს კაროტინოიდების ექსტრაქციის რამდენიმე მეთოდი.

ნედლეულიდან ლიკოპენის მიღება ხდება ჩვეულებრივი ექსტრაქციით - დიდი რაოდენობით სხვადასხვა ორგნული გამხსნელის გამოყენებით ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში. მაღალი ტემპერატურა (80 °C–ზე მეტი), სინათლე, ჟანგბადი და გამოყოფის ხანგრძლივი პერიოდი ამცირებს მის გამოსავლიანობას.

აქედან, გამომდინარე აქტუალურია „მწვანე“ ექსტრაქციის მეთოდი. რომელიც გამოირჩევა ეკოლოგიურობით, მაღალი გამოსავლიანობითა და ეკონომიურობით [5]. ის შეიძლება გამოყენებული იქნას ულტრაბგერითი, მიკროტალღური ან მაღალი ჰიდროსტატიკური წნევის დახმარებით ექსტრაქციისას.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დასავლეთ საქართველოს ზღვის სანაპირო ზოლსა (ზღვის დონიდან 0-200 მ) და მაღალმთიან რეგიონში (ზღვის დონიდან 200 მ და ზემოთ) აღებულ ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის ექსტრაქცია ორგანული გამხსნელისა და „მწვანე ექსტრაგენტის“ - მზესუმზირის ზეთის გამოყენებით და მისი რაოდენობრივი ანალიზი. ექსტრაქციის მეთოდებისა და პირობების ოპტიმიზაცია და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ხირისხობრივი მახასიათებლების განსაზღვრა.

პირველ შემთხვევაში განვახორციელეთ ფშატის ნაყოფის ჩვეულებრივი ექსტრაქცია ჰექსანი:აცეტონი:მეთანოლის (2:1:1) ნარევის გამოყენებით. ექსტრაქტში განსაზღვრულ იქნა ლიკოპენის რაოდენობრივი შემცველობა,

კვლევის შედეგები მოცემულია ცხრილში №8. დაბლობის ნიმუშებში ლიკოპენის შემცველობა მერყეობს 35,25 – 37,58 მგ/100გ ფარგლებში, ხოლო მაღალმთიანი რეგიონის ნიმუშებში 46,08 – 60,21 მგ/100გ ფარგლებში.

ფშატის ნაყოფიდან ჰექსანი:აცეტონი:მეთანოლის ნარევით ექსტრაქციისას ლიკოპენის გამოსავალი მგ/100გ

ცხრილი 8.

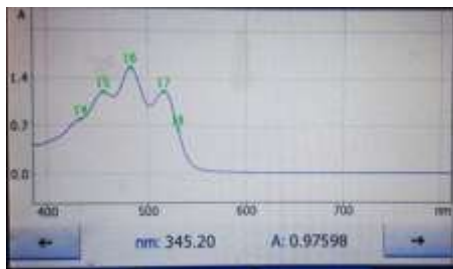
სიმაღლე ზღვის დონიდან	ადგილმდებარეობის დასახელება	ლიკოპენის გამოსავალი მგ/100გ ჰექსანი:აცეტონი:მეთანოლის ნარევით ექსტრაქციის პირობებში
0-200 მ - მდე	ქობულეთი	35,25±0,87
	ხელვაჩაური	33,15±0,94
	აჭარისწყალი	37,58±0,95
200 მ -დან ზევით	ქედა	46.08±0,88
	შუახევი	49,58±0,97
	ხულო	60,21±0,98

ხოლო მეორე შემთხვევაში ლიკოპენის ექსტრაქცია განვახორციელეთ ულტრაბგერითი ექსტრაქციით „მწვანე“ ექსტრაგენტის გამოყენებით. ექსტრაქციის დროს დავადგინეთ ტემპერატურისა და დროის ოპტიმალური მნიშვნელობები, ასევე მყარი მასისა და გამხსნელის ოპტიმალური თანაფარდობა.

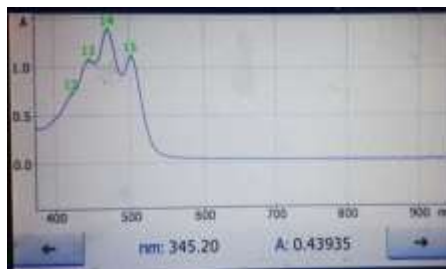
ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფის დაქუცმაცებული ნიმუში ავიღეთ სხვადასხვა რაოდენობით 100მლ გამხსნელისათვის (1:100, 2:100 და 3:100) და ექსტრაქციას ვახდენდით 5, 10 და 15 წუთის ინტერვალით. ტემპერატურა, ულტრაბგერითი სიმძლავრე და ამპლიტუდის დონე მერყეობდა 20-დან 50 °C-მდე, 60-120 W და 20 და 60% დიაპაზონში. ლიკოპენის შემცველობა ნიმუშებში განვსაზღვრეთ სპექტროფოტომეტრული მეთოდით. ნედლეულის მასის გაზრდისას 30%-ით შემცირდა ლიკოპენის გამოსავალი (34,53 mg/100g). ექსტრაქციის მაქსიმალური გამოსავალი იყო, მყარი მასისა და გამხსნელის 1:50-თან თანაფარდობის შემთხვევაში. პროცესი ეფექტურად მიმდინარეობდა იმპულსურ რეჟიმში, უწყვეტ რეჟიმთან შედარებით, ლიკოპენის ექსტრაგირებისათვის ოპტიმალურ ტემპერატურად განისაზღვრა 30° C და ულტრაბგერითი სიმძლავრე 85 ვტ.

ორგანულ ექსტრაქტსა და „მწვანე“ ექსტრაქტში ლიკოპენის იდენტიფიკაციისათვის მოვახდინეთ ნიმუშის სკანირება ულტრაიისფერი და ინფრაწითელი სპექტროსკოპიით (სურათი 34,35,36,37).

ორივე შემთხვევაში მიღებული სპექტრალური მონაცემები ემთხვეოდა ლიკოპენის ლიტერტურულ მონაცემებს. ლიკოპენისთვის დამახასიათებელი შთანთქმის მაქსიმუმია 472 ნმ.



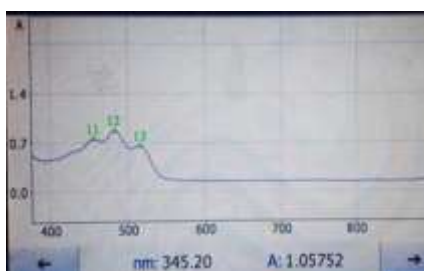
სურათი 34



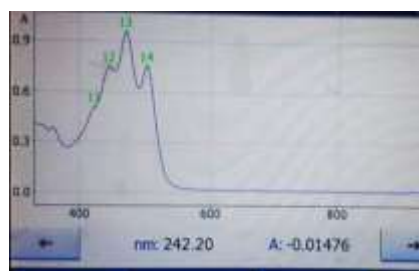
სურათი 35

სურათი 34. ზღვის სანაპირო ზოლში (ზღვის დონიდან 0-200 მ) აღებული ფშატის ნაყოფიდან ჰექსანი:აცეტონი:მეთანოლი ნარევით (2:1:1) ექსტრაგირებული ლიკოპენის შთანთქმის UV სპექტრი;

სურათი 35. მაღალმთიან რეგიონში (ზღვის დონიდან 200 მ და ზემოთ) აღებული ფშატის ნაყოფიდან ჰექსანი:აცეტონი:მეთანოლი ნარევით (2:1:1) ექსტრაგირებული ლიკოპენის შთანთქმის UV სპექტრი;



სურათი 36

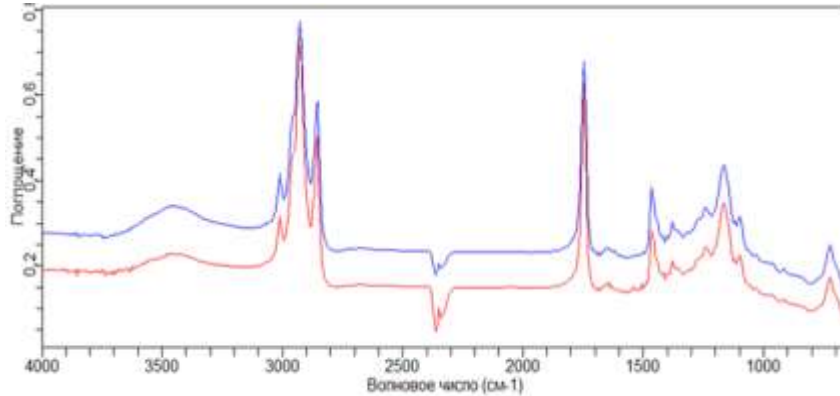


სურათი 37

სურათი 36. ზღვის სანაპირო ზოლში (ზღვის დონიდან 0-200 მ) აღებული ფშატის ნაყოფიდან „მწვანე“ ექსტრაქტში ლიკოპენის შთანთქმის UV სპექტრი;

სურათი 37. მაღალმთიან რეგიონში (ზღვის დონიდან 200 მ და ზემოთ) აღებული ფშატის ნაყოფიდან „მწვანე“ ექსტრაქტში ლიკოპენის შთანთქმის UV სპექტრი;

ინფრაწითელ სპექტრში 1468 cm^{-1} , 2920 cm^{-1} და 2950 cm^{-1} პიკი დაკავშირებული იყო CH_2 და C-H ჯგუფის რხევასთან, რაც ლიკოპენის (ცხიმში ექსტრაგირებული) სტრუქტურისთვის არის დამახასიათებელი (სურათი 38).



სურათი 38. ფშატის ნაყოფის „მწვანე“ ექსტრაქტში ლიკოპენის ინფრაწითელი სპექტრი (ნიმუში №1 – აჭარისწყლის ნაყოფები და ნიმუში №2 ხულოს ნაყოფები)

ფშატის ნაყოფის „მწვანე“ ექსტრაქტში ლიკოპენის პროცენტული გამოსავალი

ცხრილი 9.

ნიმუში - ფშატის ნაყოფი	ლიკოპენის გამოსავალი მგ/100გ		ლიკოპენის გამოსავალი მცენარეულ ზეთში %
	ჰექსანი:აცეტონი:მეთანოლის ნარევით ექსტრაქციით	„მწვანე“ ექსტრაქციით	
0-200 მ - მდე, აჭარისწყლის ნიმუში	37,58	32,23	85,76
200 მ-დან ზევით, ხულოს ნიმუში	60,21	52,0	86,36

„მწვანე“ ექსტრაგენტით ულტრაბგერითი ექსტრაქციის ოპტიმალურ პირობებში ექსტრაქციისას ლიკოპენის გამოსავალია საერთო შემცველობის 85% (ცხრილი 9).

ლიკოპენშემცველი ზეთის თითოეულ ნიმუშში განისაზღვრა შემდეგი მახასიათებლები: მჟავური რიცხვი, ზეჟანგური რიცხვი, ნ-ანიზიდინის მაჩვენებელი და ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. ეს მახასიათებლები ასევე განსაზღვრულ იქნა ზეთის შენახვის პერიოდში (1 – 3 თვე) (დიაგრამა 3–6).

საკონტროლო ზეთის ნიმუშსა და ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთის ნიმუშში მჟავური რიცხვის მაჩვენებელი თითქმის ერთნაირია: 0,06 – 0,061 მგ KOH/გ ცხიმი.

ზეჟანგური რიცხვის მაჩვენებელი ზეთში 1,20 meq/kg, ხოლო ფშატის ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთში 1,25 (ნიმუში №1) და 1,21 (ნიმუში №2) meq/kg - ია.

ნ-ანიზიდინის მაჩვენებელი: საკონტროლო ნიმუში - 3,5, ზეთი გამდიდრებული ფშატის ლიკოპენით - 3,7(ნიმუში №1) და 3,6 (ნიმუში №2) (ცხრილი 10).

ანტიოქსიდანტური აქტიურობის განსაზღვრისას ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ნიმუშები ხასიათდებოდა მაღალი აქტიურობით, კერძოდ 2-ჯერ მეტია ზეთის საკონტროლო ნიმუშთან შედარებით. ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის შემთხვევაში 0,42 (ნიმუში №1) და 0,38მგ (ნიმუში №2) ზეთი იყო საკმარისი 0.1 H DPPH -ის 50%-ანი ინჰიბირებისათვის, მაშინ, როცა საკონტროლო ზეთის 0,85 მგ ახორციელებს რადიკალის 50% ინჰიბირებას (ცხრილი 10).

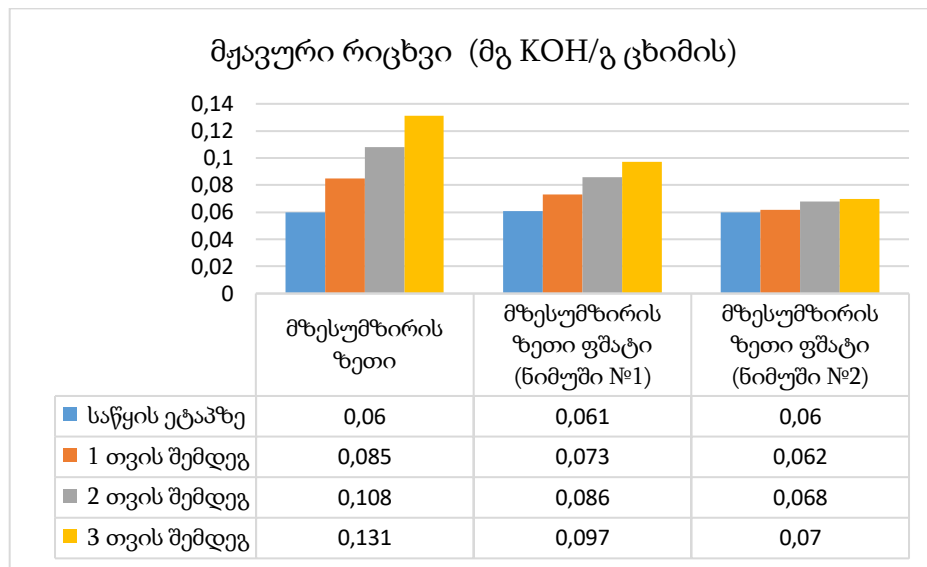
საკონტროლო ზეთისა და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ფიზიკურ-ქიმიური მაჩვენებლები

ცხრილი 10.

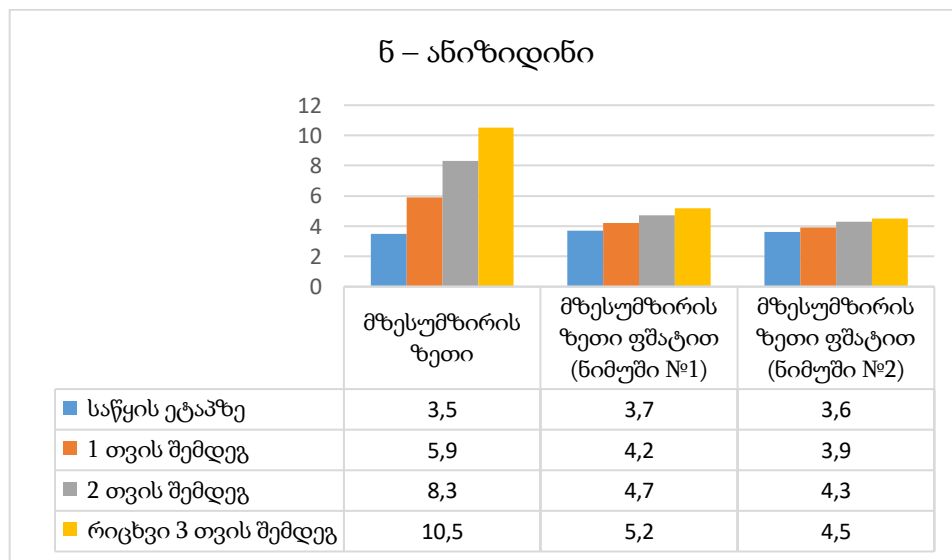
ხარისხობრივი მახასიათებლები	ზეთის საკონტროლო ნიმუში და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთი		
	ზეთის საკონტროლო ნიმუში	ზეთი გამდიდრებული ფშატის (ნიმუში №1) ლიკოპენით	ზეთი გამდიდრებული ფშატის (ნიმუში №2) ლიკოპენით
მჟავური რიცხვი (მგ KOH/გ ცხიმის)	0,060	0,061	0,060
ზეჟანგური რიცხვი meq/kg	1,20	1,25	1,21
ნ- ანიზიდინი	3,5	3,7	3,6
ანტიოქსიდანტური აქტიურობა, მგ ნიმუშის რაოდენობა 0.1H DPPH 50 % ინჰიბირებისათვის	0,85	0,42	0,38

ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთში ხარისხობრივი მაჩვენებლები განსაზღვრულ იქნა შენახვის 3 თვის განმავლობაში, მახასიათებლების ყოველთვიური კონტროლით. საკონტროლო ნიმუშში მჟავური რიცხვის მაჩვენებელი 1-დან 3-თვის განმავლობაში

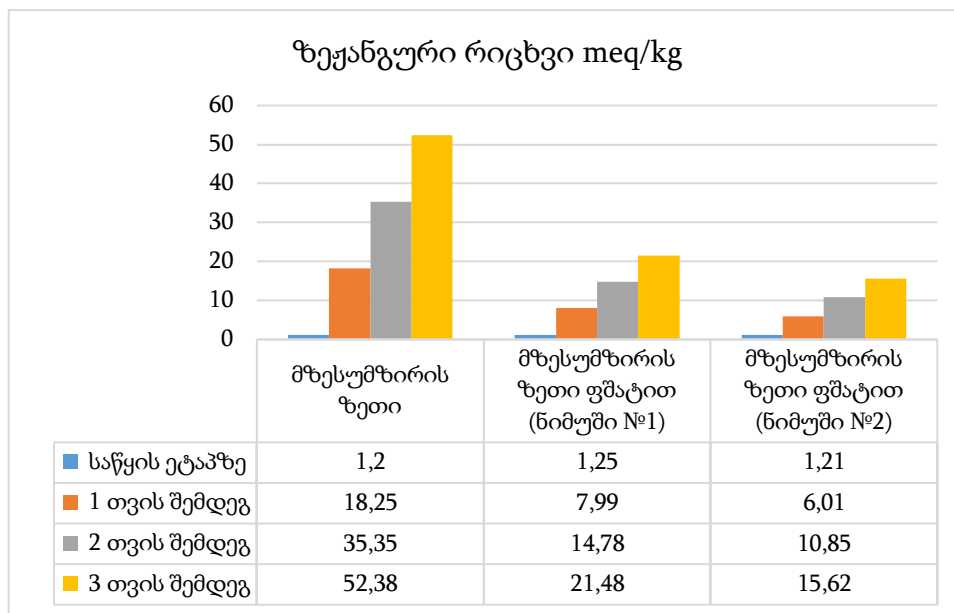
იცვლება 0,06 – 0,131 ერთეულის ფარგლებში, ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთში კი ცვლილება ნაკლებია, მჟავური რიცხვი: ნიმუში №1-ის და ნიმუში №2 -ის შემთხვევაში განისაზღვრა 0,061-0,097 და 0,06-0,07 მგ KOH/გ ცხიმის რაოდენობით (დიაგრამა 3). იცვლება ნ-ანიზიდინის მნიშვნელობაც (დიაგრამა 4).



დიაგრამა 3. შენახვის პერიოდში საკონტროლო ზეთისა და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის მჟავური რიცხვი (მგ KOH/გ ცხიმის).

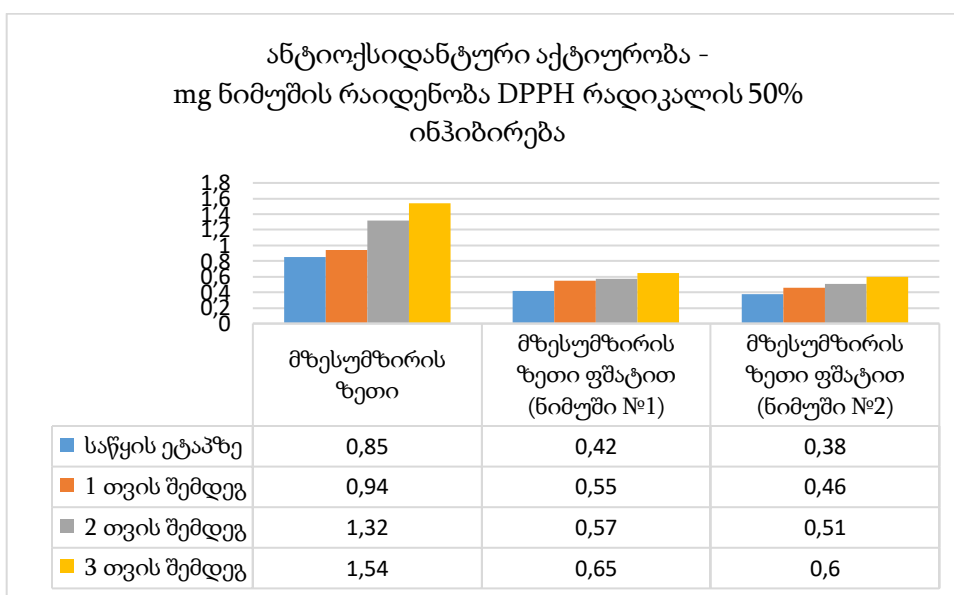


დიაგრამა 4. შენახვის პერიოდში საკონტროლო ზეთისა და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ნ – ანიზიდინის რიცხვი.



დიაგრამა 5. შენახვის პერიოდში საკონტროლო ზეთისა და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ზეჟანგური რიცხვი (meq/kg).

საკონტროლო ზეთის ნიმუშში ზეჟანგური რიცხვის მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად უარესდება შენახვის პერიოდის პარალელურად (52,38 meq/kg), ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთში მაჩვენებელი თითქმის 2 ჯერ ნაკლებია (15,82-21,48 meq/kg) (დიაგრამა 5).



დიაგრამა 6. შენახვის პერიოდში საკონტროლო ზეთისა და ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ანტიოქსიდანტური აქტიურობა.

ანტიოქსიდანტური აქტიურობის განსაზღვრამ DPPH რადიკალების ინჰიბირებით, მნიშვნელოვანი განსხვავება აჩვენა საკონტროლო და ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთის ნიმუშებს შორის. ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთში ანტიოქსიდანტური აქტიურობის მაჩვენებელი შედარებით სტაბილურია 3 თვის განმავლობაში შენახვისას. საკონტროლო ზეთში შენახვის პერიოდის დასასრულს აქტიურობა თითქმის 2-ჯერ მცირდება (დიაგრამა 6).

ულტრაბგერითი ექსტრაქციის მეთოდით ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის „მწვანე“ ექსტრაგენტით ექსტრაქციის ოპტიმალური პარამეტრების შერჩევით, წარმატებით განხორციელდა ლიკოპენის გამოწვლილვა. ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის გამოწვლილვისათვის შერჩეულ იქნა ულტრაბგერითი ექსტრაქცია და გამხსნელად გამოყენებულ იქნა „მწვანე“ ექსტრაგენტი - მზესუმზირის ზეთი. ულტრაბგერითი ექსტრაქციის ოპტიმალურ პირობად განსაზღვრულ იქნა მყარი მასისა და გამხსნელის 1:50 თან თანაფარდობა, ტემპერატურა 30 C, აპლიტუდა 40% და ძაბვა 85 W. ექსტრაქცია უნდა წარიმართოს იმპულსურ რეჟიმში, ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 10 წთ.

თეორიულ გამოსავალთან შედარებით ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის გამოსავალი მცენარეულ ზეთში შეადგენდა დახლოებით 85%. მიღებულ პროდუქტში ლიკოპენის იდენტიფიკაციისა და რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის გამოყენებულ იქნა ინფრაწითელი სპექტროსკოპია და სპექტროსკოპია ულტრაისფერ და ხილულ არეში. ლიკოპენით გამდიდრებული პროდუქტის ხარისხობრივი მაჩვენებლების შედარებისათვის, საწყისა და შენახვის შემდეგ ეტაპზე, განსაზღვრულ იქნა: მჟავური რიცხვი (მგ KOH/გ ცხიმის), ზეჟანგური რიცხვი meq/kg, ნ-ანიზიდინი და ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. მიღებული შედეგების შეჯერებით, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ზეთის ლიკოპენით გამდიდრება დადებით გავლენას ახდენს ზეთის ხარისხობრივ მაჩვენებლებზე, კერძოდ: შენახვის პერიოდში მჟავური რიცხვის ცვალებადობის მრუდი სწორხაზოვანია. ასევე დასტურდება, რომ ლიკოპენით გამდიდრებულ მზესუმზირის ზეთში ჟანგვითი პროცესები მიმდინარეობს შედარებით ნელა ვიდრე საკონტროლო ნიმუშში. ნ- ანიზიდინის მაჩვენებელი, რომელიც საწყის

ეტაპზე სამივე ნიმუშში განისაზღვრა 3,5-3,7 ერთეულით, შენახვიდან 3 თვის შემდეგ ლიკოპენით გამდიდრებულ ზეთში ნ-ანიზიდინის მაჩვენებელი 2 ჯერ ნაკლები იყო (4,5-5,2) საკონტროლო ნიმუშთან (10,5) შედარებით. ანტიოქსიდანტური აქტიურობის რიცხვითი მაჩვენებელი ლიკოპენით გამდიდრებული ზეთის ნიმუშები თითქმის 2-ჯერ ნაკლებია ზეთის საკონტროლო ნიმუშთან შედარებით.

ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის „მწვანე“ ექსტრაგენტით ულტრაბგერითი ექსტრაქცია და მისი შემდგომი მრავალმხრივი გამოყენება ეფექტური, ეკოლოგიური და დამზოგი მიდგომაა ბუნებრივი რესურსების მიმართ.

4. ფშატის (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) ნაყოფსა და ფოთოლში კატიონების

ქრომატოგრაფიული ანალიზი კონდუქტომეტრული დეტექტორის გამოყენებით

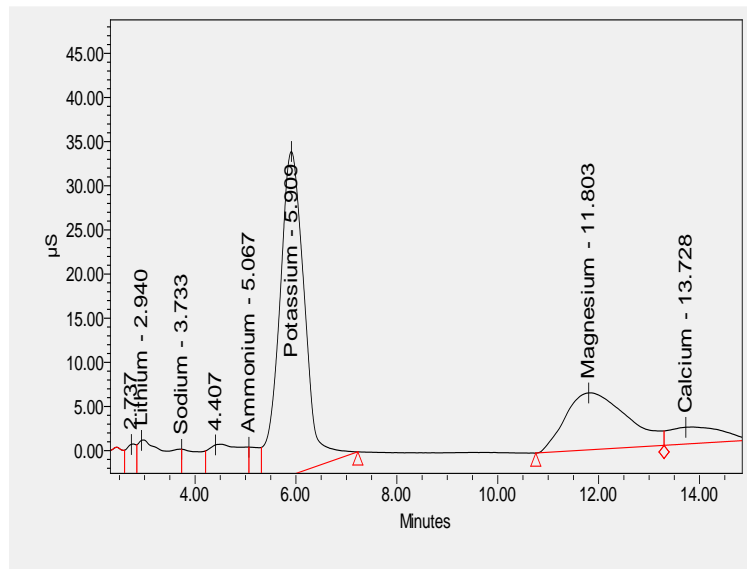
მინერალები შეუცვლელი ნივთიერებებია სიცოცხლისთვის. ისინი შედიან ზოგიერთი ჰორმონების, ფერმენტების, ვიტამინების და სხვა ბიოაქტიურ მოლეკულებში, რომლებიც მონაწილეობენ მნიშვნელოვან სასიცოცხლო პროცესებში. მინერალური ნივთიერებები არ გამომუშავდება ცოცხალი ორგანიზმის მიერ და ამიტომ ის რეგულარულად გათვალისწინებული უნდა იყოს კვების რაციონში.

ლიტერატურულ წყაროებში ისეთი კატიონების, როგორცაა თუთია, მანგანუმი, კალიუმი, ფოსფორი, რკინა, მაგნიუმი და კალციუმის შემცველობა განისაზღვრება დაყოფის სველი, ატომურ-აბსორბციული სპექტროფოტომეტრისა და ალის ფოტომეტრის მეთოდების გამოყენებით. კვლევების შედეგად ფშატის ნაყოფში დადგენილია მინერალების შემდეგი შემცველობა: 3.7 მკგ/გ თუთია Zn, 5.3 მკგ/გ მანგანუმი Mn, 53.1 მკგ/გ რკინა Fe, 91.3 მკგ/გ კალციუმი Ca, 162.4 მკგ/გ მაგნიუმი Mg, 183.3 მკგ/გ ფოსფორი P და 232.1 მკგ/გ კალიუმი K.

ქრომატოგრაფირების მეთოდის გამოყენებით ჩვენ მიერ განსაზღვრული იქნა საქართველოს სხვადასხვა ტერიტორიიდან (ზღვის დონიდან განსხვავებულ სიმაღლეზე) აღებული ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფებში კატიონების შემცველობა.

კატიონების კვლევა ჩატარდა ქრომატოგრაფიული მეთოდით კონდუქტომეტრული დეტექტორის გამოყენებით. სტანდარტებს წარმოადგენდა: ლითიუმის ჰიდროქსიდის მონოჰიდრატი (Li^+), ნატრიუმის ქლორიდი (Na^+), კალიუმის ქლორიდი (K^+), მაგნიუმის ჰიდრატი (Mg^{2+}), კალციუმის ნიტრატი ტეტრაჰიდრატი (Ca^{2+}), EDTA (Serva). ხელსაწყოს მონაცემები და რეჟიმი-იზოკრატიული ტუმბო (Isocratic HPLC pump -Waters 1515), დეტექტორი (Waters 432 -Conductivity), ქრომატოგრაფიული სვეტი IC-PakCationMD, ელუენტი 3 mM HNO_3 /0.1 mM EDTA, ელუენტის გამტარებლობა $1250 \pm 50 \mu\text{S}$, საბაზო მგრძობელობა $2000 \mu\text{S}$, ინტეგრატორის მგრძობელობა $0.01 \mu\text{S}$, სვეტის ტემპერატურა 35°C , პოლარობა-negative. ინჟექტირებამდე საანალიზო ნიმუშებს ემატებოდა 1:20 თანაფარდობით დეიონიზირებული წყალი (განზავების ფაქტორი $F=20$), ჰომოგენიზირებისა და ცენტრიფუგირების შემდეგ კი ვფილტრავდით $0,45 \mu\text{m}$ ზომის ფილტრში.

ნაერთების რაოდენობრივი გაანგარიშება ხდებოდა სტანდარტულ ნიმუშზე აგებული საკალიბრო მრუდების საშუალების, ხოლო იდენტიფიკაცია იგივე ნიმუშების ქრომატოგრაფიულ მონაცემებთან შედარებით.



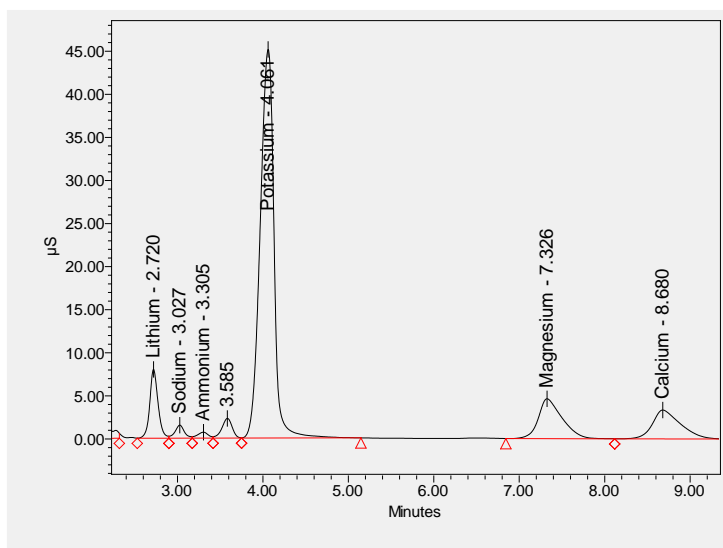
სურათი 39. ფშატის ნაყოფის კატიონების ქრომატოგრამა

ფშატის ნაყოფში კატიონების ქრომატოგრაფიული ანალიზი

ცხრილი №11

ნიმუში №	Li ⁺ ppm	Na ⁺ ppm	K ⁺ ppm	Mg ²⁺ ppm	Ca ²⁺ ppm
1	12,46±0,25	40,24±0,80	185,22±3,70	43,21±0,86	75,95±1,52
2	48,92±0,98	17,88±0,36	295,37±5,91	69,16±1,38	109,72±2,19
3	45,64±0,91	18,58±0,37	333,30±6,67	76,18±1,52	112,46±2,25
4	38,91±0,78	19,06±0,38	220,98±4,42	52,41±1,05	95,7±1,91
5	41,46±0,83	19,54±0,39	331,87±6,64	60,31±1,21	101.35±2,03
6	53,07±1,06	40,12±0,80	351,94±7,04	70,59±1,41	103,94±2,08
7	17,08±0,34	13,72±0,27	187,59±3,75	34,17±0,68	109,06±2,18
8	19,3±0,39	30,04±0,60	206,68±4,13	38,12±0,76	78,14±1,56
9	30,38±0,61	19,76±0,40	216,72±4,33	43,97±0,88	120,08±2,40
10	41,82±0,84	22,5±0,45	359,64±7,19	80,72±1,61	80,49±1,61

ქრომატოგრაფირების მეთოდის გამოყენებით ჩატარებული კვლევის საფუძველზე *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფებში დაფიქსირდა შემდეგი კატიონები: ლითიუმი 17,08-48,92ppm, ნატრიუმი 13,72-40,24ppm, კალიუმი 185,22-359,64ppm, მაგნიუმი 34,17-80,72ppm და კალციუმი 75,95-120,08ppm. მათ შორის დომინანტს წარმოადგენდა კალიუმი 185,22–359,64ppm, ხოლო ყველაზე მცირე რაოდენობით დაფიქსირდა ამონიუმი 6,98-29,74ppm (ცხრილი №11, სურათი 39).



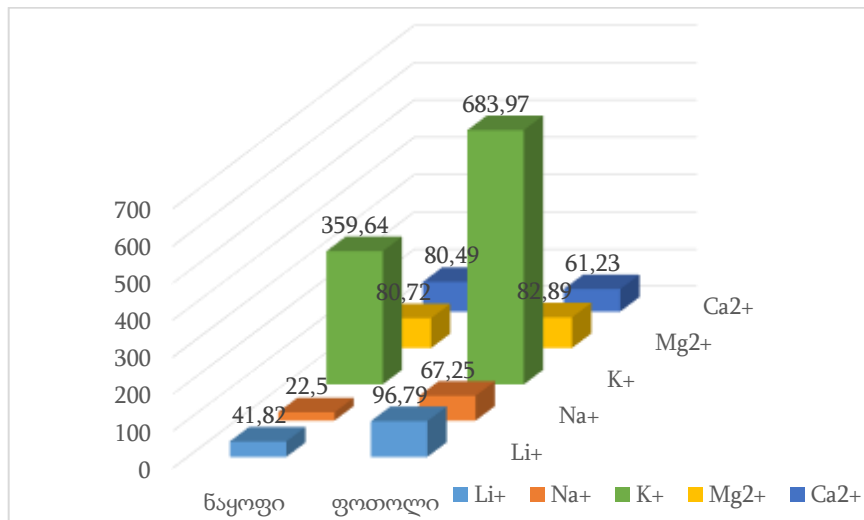
სურათი 40. ფშატის ფოთლის კატიონების ქრომატოგრამა

ფშატის ფოთოლში კატიონების ქრომატოგრაფიული ანალიზი

ცხრილი №12

ნომერი №	Li ⁺ ppm	Na ⁺ ppm	K ⁺ ppm	Mg ²⁺ ppm	Ca ²⁺ Ppm
1	91,875±1,84	61,28±1,23	459,37±9,19	29,01±0,58	14,33±0,29
2	80,595±1,61	56,99±1,14	402,97±8,06	27,16±0,54	12,94±0,26
3	88,125±1,76	75,67±1,51	440,62±8,81	123,45±2,47	62,38±1,25
4	84,63±1,69	61,75±1,24	423,15±8,46	16,36±0,33	9,39±0,19
5	71,19±1,42	62,04±1,24	355,95±7,12	71,45±1,43	53,44±1,07
6	86,49±1,73	68,87±1,38	432,45±8,65	71,12±1,42	53,87±1,08
7	65,98±1,32	63,01±1,26	329,92±6,60	112,77±2,3	40,86±0,82
8	75,06±1,50	64,53±1,29	375,35±7,51	73,24±1,46	21,56±0,43
9	76,84±1,54	59,89±1,20	484,22±7,68	54,52±1,09	42,34±0,85
10	96,79±1,94	67,25±1,35	683,97±9,68	82,89±1,66	61,23±1,22

ფშატის ფოთლების კვლევისას დაფიქსირდა შემდეგი კატიონები: ლითიუმი 65,985-96,79ppm, ნატრიუმი 56,99-75,67ppm, კალიუმი 329,92-683,97ppm, მაგნიუმი 16,36-123,45ppm და კალციუმი 9,39-61,23ppm. მათ შორის დომინანტს წარმოადგენდა კალიუმი 329,92-683,97ppm, ხოლო ყველაზე მცირე რაოდენობით დაფიქსირდა კალციუმი 9,39-61,23ppm (ცხრილი №12, სურათი 40).



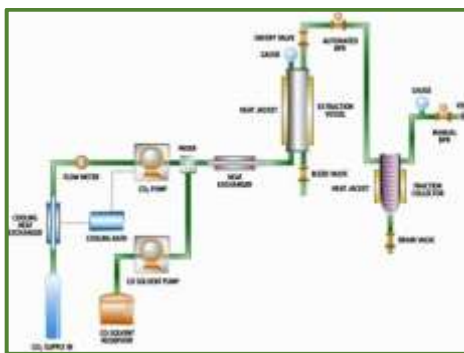
დიაგრამა 7. ფშატის ნაყოფსა და ფოთოლში მინერალური ნივთიერებების რაოდენობრივი თანაფარდობა (ppm ნედლ მასაზე)

როგორც დიაგრამიდან ჩანს ფოთოლთან შედარებით ნაყოფში ნაკლებია კატიონების შემცველობა. ეს განპირობებულია იმით, რომ ნაყოფში მეტია სხვა ნივთიერებები, წყალი, ნახშირწყლები და ა.შ. (დიაგრამა 7).

5. ფშატის (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) თესლის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები

5.1. სუპერ კრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქციის (SFE) მეთოდით მიღებული ფშატის თესლის ექსტრაქტის თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი

სუპერ კრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქციის მეთოდის (Waters-ის ფლუიდური ექსტრაქტორი მოდელები SFE -100-2-C10 და SFE -500-2- C10) (სურათი 41) გამოყენებით მოვახდინეთ ფშატის თესლიდან ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მიღება [46]. კერძოდ, დადგენილი იქნა ფშატის თესლიდან ზეთის, კაროტინოიდებისა და ფენოლური ნაერთებით მდიდარი ფრაქციების მიღების ოპტიმალური პირობები. საექსტრაქციოდ აღებულ იქნა ფშატის გამშრალი, 0,25მმ ზომის ნაწილაკებად დაქუცმაცებული თესლი (სურათი 42).



სურათი 41. SFE 500 ხელსაწყო სქემა



სურათი 42. ფშატის თესლი საწყისი და დაქუცმაცებული

ფშატის თესლის სუპერ ფლუიდური ექსტრაქციის პირველ ეტაპზე განვხორციელეთ ფშატის თესლიდან ცხიმოვანი ნივთიერებების მიღება (ფრაქცია 1). ექსტრაქციის ოპტიმალურ პირობად განისაზღვრა: წნევა - 300 ბარი, ტემპერატურა - 50°C, ნახშირორჟანგის მიწოდების სიჩქარე 30გ/წთ-ში, ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 120 წუთი. ფშატის თესლიდან მიღებული ცხიმის გამოსავალი იყო 8% (ცხრილი 13, სურათი 43).

სუპერ ფლუიდური ექსტრაქტორით მიღებული ფრაქციები

ცხრილი N 13

N	ფრაქციების დახასიათება
1	120 წუთი 300 ბარი 50°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით; (ცხიმის მიღება)
2	60 წუთი 350 ბარი 50°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით;
3	60 წუთი 500 ბარი 50°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით;
4	40 წუთი 300 ბარი 60°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით; 10% ეთანოლი
5	60 წუთი 300 ბარი 60°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით; 20% ეთანოლი
6	60 წუთი 300 ბარი 60°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით; 70% ეთანოლი
7	90 წუთი 300 ბარი 60°C-ზე; 6გ/წთ-ში 96% ეთანოლი
8	80 წუთი 300 ბარი 80°C-ზე; 6გ/წთ-ში 96% ეთანოლი;
9	500 ბარი 80°C-ზე ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით; ჩამორეცხილი ფრაქცია
10	40 წუთი 300 ბარი 100°C-ზე; 6გ/წთ-ში 96% ეთანოლი;
11	20 წუთი 300 ბარი 100°C-ზე; 6გ/წთ-ში 96% ეთანოლი; + ნახშირორჟანგი 30გ/წთ-ში სიჩქარით;
12	30 წუთი 300 ბარი 110°C-ზე; 6გ/წთ-ში 96% ეთანოლი;

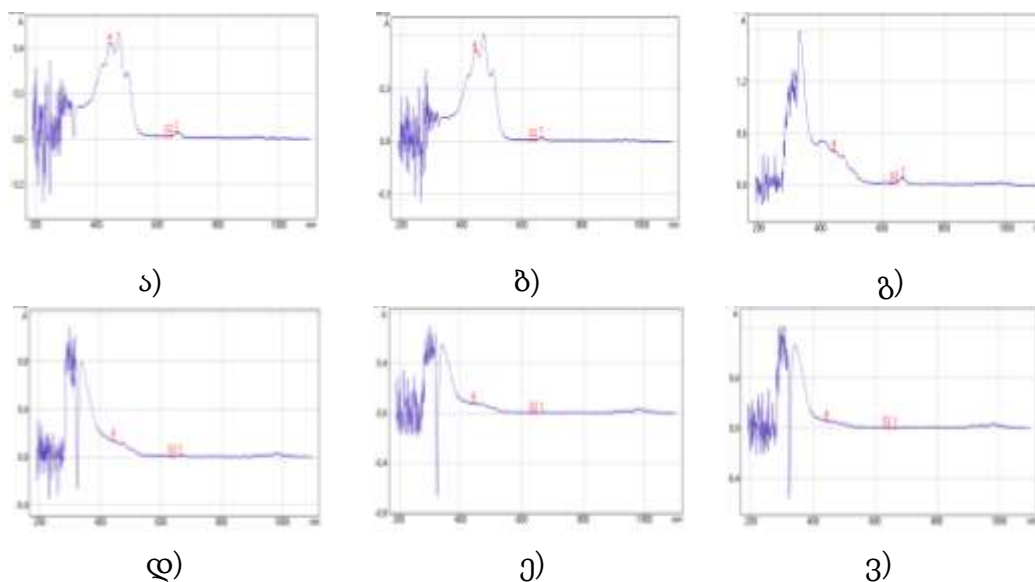


სურათი 43. ფშატის თესლის SFE ექსტრაქციის ფრაქციები

მეორე ეტაპზე განხორციელდა ლიპოფილური ნაერთების - კაროტინოიდების ექსტრაქცია (ფრაქცია 2 და 3), სადაც ექსტრაქციის ოპტიმალურ პირობად განისაზღვრა;

ექსტრაქციის ხანგრძლივობა 120 წუთი, სამუშაო წნევა 300 ბარი და ტემპერატურა 50°C, ხოლო ნახშირორჟანგის მიწოდების სიჩქარე 30გ/წთ (ცხრილი 13).

ფშატის თესლის სუპერ ფლუიდური ექსტრაქციის ყველა ეტაპზე ვაწარმოებდით ფრაქციების სპექტრალურ სკანირებას ულტრაიისფერ და ხილულ არეში (სურათი 44). თითოეულ ფრაქციაში განსაზღვრული იქნა ნაერთების რაოდენობრივი შემცველობა.



სურათი 44. ფშატის თესლის სუპერ ფლუიდური ექსტრაქციით მიღებული ექსტრაქტების სკანირების UV-VIS სპექტრები ულტრაიისფერ არეში: ა) ფრაქცია N2, ბ) ფრაქცია N3, გ) ფრაქცია N4, დ) ფრაქცია N5, ე) ფრაქცია N6, ვ) ფრაქცია N7

სპექტრული მეთოდით განსაზღვრული იქნა ფშატის თესლის სუპერ ფლუიდური ექსტრაქციით მიღებულ ექსტრაქტებში (2–4 ფრაქცია) კაროტინოიდების რაოდენობრივი შემცველობა.

ფშატის თესლის SFE ექსტრაქტებში კაროტინოიდების რაოდენობრივი ანალიზი

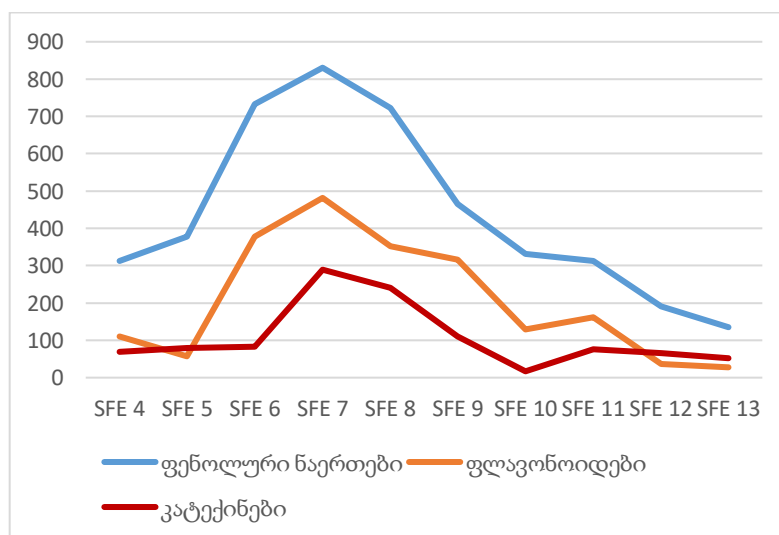
ცხრილი 14

ექსტრაქციის პირობები		
წნევა, ბარი	ტემპერატურა, °C	კაროტინოიდები მგ/მლ
350	40	0,15
350	50	0,22
350	60	0,09

კაროტინოიდების მაქსიმალური ექსტრაგირებისათვის ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობები იყო: დრო 120 წუთი, წნევა 350 ბარი, ხოლო ტემპერატურა 50°C. კაროტინოიდების შემცველობა შეადგენდა 0,22მგ/მლ. ექსტრაქციის დაბალი 40°C და მაღალი 60°C ტემპერატურის, წნევა 250 და 350 ბარის დროს კაროტინოიდების გამოსავალი შედარებით ნაკლებია (ცხრილი 14).

ექსტრაქციის მესამე ეტაპზე განხორციელდა ფენოლური ნაერთების გამოწვლილვა (ფრაქცია 4–12), სადაც კო-სოლვენტის სახით დაემატა ეთილის სპირტი. ექსტრაქციისათვის გამოცდილ იქნა ეთილის სპირტის სხვადასხვა კონცენტრაცია (10, 20, 70 და 96%), ოპტიმალურად კი ჩაითვალა 96% ეთილის სპირტი.

მე-6 ფრაქციიდან ფენოლური ნაერთების - საერთო ფენოლების, ფლავონოიდებისა და კატექინების ექსტრაგირების მრუდი აღმავალია, მე-7 ფრაქციაში აღწევს მაქსიმუმს და მე-8 ფრაქციაში მრუდი დაღმავალია, რაც გამოიწვია ტემპერატურის პარამეტრის ზრდამ (80°C). მე-8 ფრაქციის დასრულების შემდეგ, ე.ი. 180 წთ-ის შემდეგ მაღალი წნევის პირობებში (500 ბარი) მოხდა ფენოლური ნაერთების ექსტრაქტორიდან მთლიანი გამოწვლილვა, რაც აგრეთვე ეთილის სპირტის მაქსიმალური კონცენტრაციით იქნა განპირობებული (დიაგრამა 8).

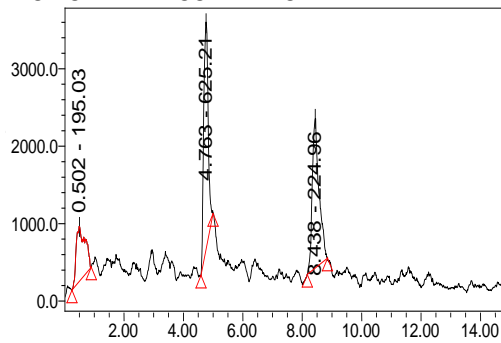


დიაგრამა 8. ფშატის თესლის SFE ექსტრაქტებში ფენოლური ნაერთების, ფლავონოიდებისა და კატექინების რაოდენობრივი შემცველობა

შედეგების შეჯერებით შეიძლება დავასკვნათ, რომ ფენოლური ნაერთების ექსტრაქციის ოპტიმალურ ხანგრძლივობად განისაზღვრა 150 წუთი, სამუშაო წნევა 300 ბარი და ტემპერატურა 60°C, ხოლო ნახშირორჟანგის მიწოდების სიჩქარე 30გ/წთ (ფრაქცია 6 - 7).

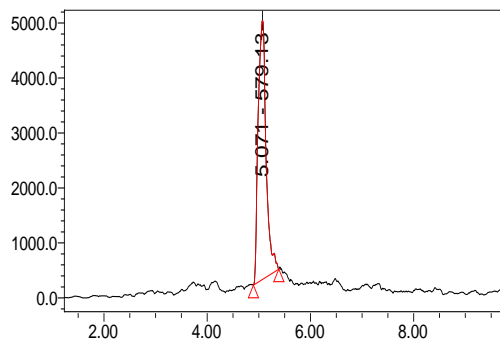
აღნიშნული ფრაქციების ფლავონოლ-გლიკოზიდების კვლევას ვაწარმოებდით LC-MS-PDA მეთოდით, რამაც საშუალება მოგვცა მოგვეხდინა შემდეგი ნაერთების იდენტიფიკაცია.

ნივთიერება 27 [M-H]⁻ m/z 625,21 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 5,043 ლიტერატურით ნივთიერება 27 შეესაბამება **Quercetin-O-dihexoside** (სურათი 45).



სურათი 45. ნივთიერება 27– Quercetin-O-dihexoside UPLC-PDA-MS სპექტრი

ნივთიერება 28 [M-H]⁻ m/z 579,13 ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე შეკავების დროით 5,071 ლიტერატურით ნივთიერება 28 შეესაბამება **Kaempferol-O-pentosyl(hexoside)** (სურათი 46).



სურათი 46. ნივთიერება 28 – Kaempferol-O-pentosyl(hexoside) UPLC-PDA-MS სპექტრი

გარდა ამისა ფშატის თესლის ექსტრაქტებში ასევე იდენტიფიცირებული იქნა ნაყოფისა და ფოთლის მსგავსად ნივთიერება 5 (Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside), ნივთიერება 11 (Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside), ნივთიერება 14 (Kaempferol-O-dihexoside), ნივთიერება 16 (Isorhamnetin-O-hexoside), ნივთიერება 19 (Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside)).

იდენტიფიცირებული ნაერთები და მათი გავრცელება მცენარის სხვადასხვა ნაწილში

№	ნივთიერება	[M-H] ⁻ m/z	ნაყოფი	ფოთოლი	თესლი
1	Quercetin-O-(pentosyl) hexoside-O-rhamnoside	740,79	+		
2	Isorhamnetin-O-glucuronide derivative	759,01	+		
3	Quercetin-O-(pentosyl)hexoside	594,77	+	+	
4	Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct)	562,87	+	+	
5	Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside	592,85	+	+	+
6	Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside	756,95	+		
7	Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside	581,70	+		
8	Sinapic acid-O-hexoside	385,04	+		
9	Dihydrokaempferol-O-hexoside	448,87	+		
10	Quercetin-O-hexoside	463,32	+		
11	Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside	754,85	+		+
12	Diosmetin-O-dihexoside	622,67	+		
13	2-Methylnonitrate derivative	649,48	+		
14	Kaempferol-O-dihexoside	608,79	+		+
15	Kaempferol-O-hexoside	446,85	+	+	
16	Isorhamnetin-O-hexoside	477,10	+		+
17	bis-HHDP-O-glucose	782,50		+	
18	Saccharide	547,05		+	
19	Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside)	608,92		+	+
20	Quercetin-O-dihexoside	625,21			+
21	Kaempferol-O-pentosyl(hexoside)	579,13			+

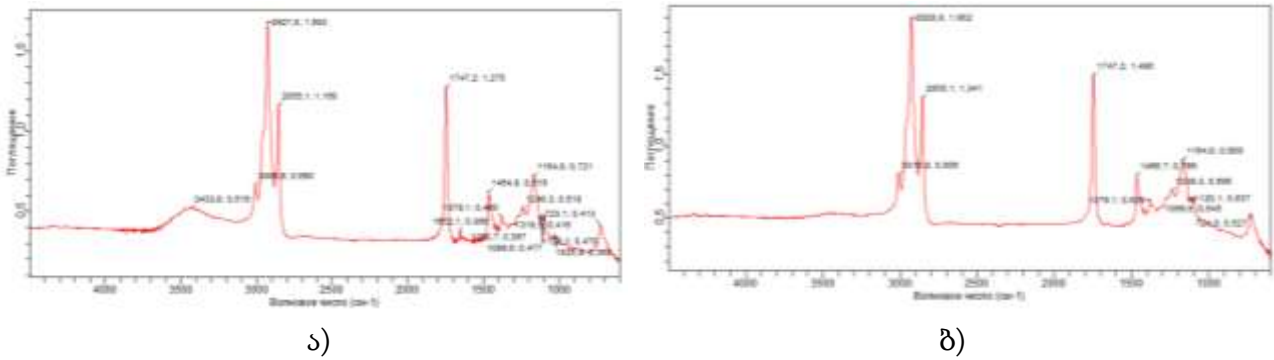
5.2. ფშატის თესლის ლიპიდური ბუნების ნაერთების კვლევა ინფრაწითელი სპექტროსკოპიისა და აირ-სითხური ქრომატოგრაფის საშუალებით

მცენარული ზეთები წარმოადგენენ ადამიანის ყოველდღიური კვების რაციონის მნიშვნელოვან შემადგენელ ნაწილს, აგრეთვე ისინი გამოიყენება სხვადასხვა პრევენციულ, პროფილაქტიკურ და კოსმეტოლოგიურ საშუალებებში. მცენარულ ზეთებში არსებობს მრავალფეროვანი სასარგებლო კომპონენტები, როგორცაა უჯერი ცხიმოვანი მჟავები, ცხიმში ხსნადი ვიტამინები და სხვა, რომელთა გამომუშავება შეუძლებელია ადამიანის ორგანიზმის მიერ.

ფშატის თესლისაგან ზეთის მისაღებად გამოყენებული იქნა ორი მეთოდი: სოქსლეტის აპარატით ექსტრაქცია (48 საათი) ჰექსანის გამოყენებით და სუპერკრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქტორით ექსტრაქცია თხევადი ნახშირორჟანგის მიწოდებით. დადგენილი იქნა, რომ ლიპიდები შეადგენს თესლის საერთო მასის 7% – სოქსლეტით, ხოლო 8% სუპერკრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქტორით ექსტრაქციის შემთხვევაში.

მიღებული ზეთების კვლევას ვაწარმოებდით ინფრაწითელი სპექტროსკოპიისა და აირ-სითხური ქრომატოგრაფის (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific) საშუალებით.

ინფრაწითელი სპექტრის არეში (700-დან 4000-ს ნმ)კვლევისათვის გამოყენებული იქნა Agilent-ის ფირმის ხელსაწყო Cary 630 FTIR. კვლევისას დაფიქსირებულ იქნა რამდენიმე შთანთქმის მაქსიმუმი. კერძოდ: 3433,8–2855,1 სმ⁻¹ დიაპაზონში, რომელიც შეესაბამება -CH და სპირტებში -OH ჯგუფს; 1747,2-1464,8 სმ⁻¹ C=O და C=C ჯგუფს, 1318,5–1025 სმ⁻¹, რომელშიც ვლინდება C-O, C-C, C-N, N-O ვალენტური და N-H, C-H, O-H დეფორმაციული რხევები (სურათი 47).

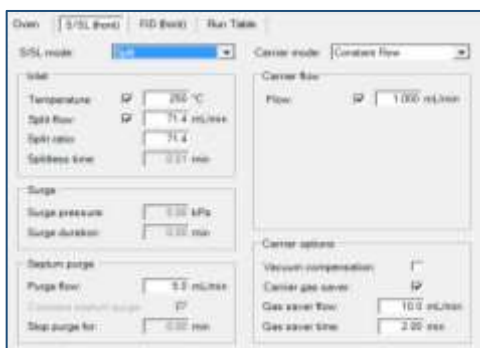


სურათი 47. ა) სუპერ ფლუიდური ექსტრაქციით მიღებული ფშატის თესლის ზეთის ინფრაწითელი სპექტრი; ბ) სოქსლეტით ექსტრაქციით მიღებული ფშატის თესლის ზეთის ინფრაწითელი სპექტრი

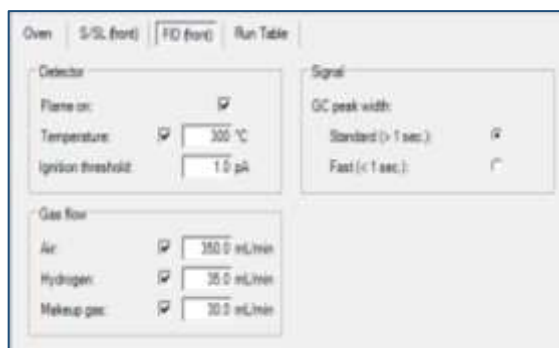
მიღებული ზეთის კვლევას ვახორციელებდით ასევე აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific) საშუალებით. ქრომატოგრაფირება მიმდინარეობდა ქრომატოგრაფიულ კაპილარულ სვეტზე Red-ის ფირმის DR-5MS-SA Capillary GC Column, 60 მ სიგრძის, 0,25 მმ დიამეტრის და 0,25 მკმ უძრავი ფაზის ნაწილაკების ზომით. უძრავ ფაზას წარმოადგენდა 5%-di-Phenyl, 95%-Methyl polysiloxane.

ნიმუშები აირ-სითხური ქრომატოგრაფირებისათვის მექანიკური მინარევების მოსაცილებლად ვფილტრავდით, შემდგომ ვაცენტრიფუგირებდით და ეთერიფიკაციისთვის დავუმატეთ 0.5 მლ 2 ნორმალური KOH-ის 96% სპირტხსნარი, ნიმუშები გავხსენით 10 მლ ჰექსანში და დავაცენტრიფუგირეთ 10 წუთის განმავლობაში 1000 ბრ/წთ-ზე. ინჟექტორის ტემპერატურული რეჟიმი 250°C, მოძრავი ფაზის – ჰელიუმის სიჩქარე შეადგენდა 1 მლ/წთ (სურათი 48).

ქრომატოგრაფირება ხორციელდებოდა ტემპერატურულ გრადიენტით. ქრომატოგრაფირება დავიწყეთ 120°C-ზე, რომელიც მიმდინარეობდა 5 წუთის განმავლობაში. მეორე ეტაპზე 20 (°C/წუთში) სიჩქარით იზრდებოდა 220°C-მდე და ქრომატოგრაფირება გრძელდებოდა 12 წუთი. მესამე ეტაპზე 7 (°C/წუთში) სიჩქარით იზრდებოდა 300°C-მდე და გრძელდებოდა აღნიშნულ ტემპერატურაზე 7 წუთის განმავლობაში. ქრომატოგრაფირების სრული დრო შეადგენდა 51,43 წუთს (სურათი 49).

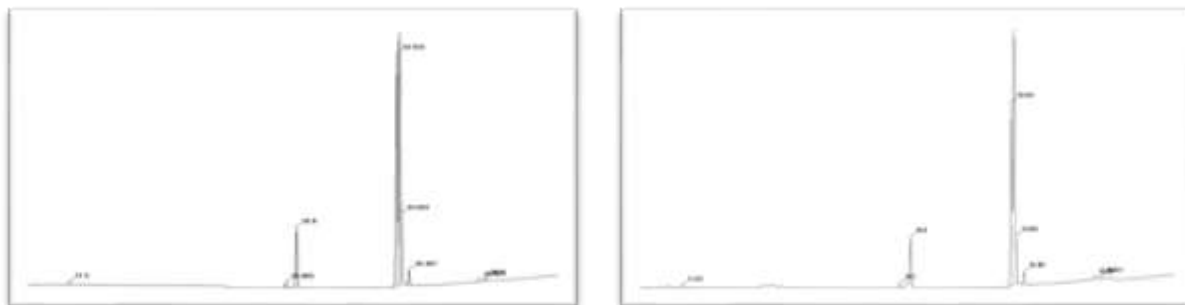


სურათი 48. ინჟექტირების პარამეტრები სურათი 49. ტემპერატურული რეჟიმი
 ქრომატოგრაფირების მეშვეობით დაყოფილი კარბონმჟავების მეთილის ეთერების
 დეტექტირება ხდებოდა ალურ-იონიზაციურ დეტექტორზე. დეტექტორის ტემპერატურა
 შეადგენდა 300°C -ს, წყალბადის მიეწოდებოდა 35 მლ/წთ., ჰაერი 350 მლ/წთ., აირების
 განდევნა ხორციელდებოდა ჰელიუმით 30 მლ/წთ (სურათი 50).



სურათი 50. დეტექტორის სამუშაო რეჟიმი

ქრომატოგრაფირების მეშვეობით მიღებული კომპონენტების იდენტიფიკაცია
 განხორციელდა ცნობილი შედგენილობის მქონე ნიმუშთან და ლიტერატურულ
 მონაცემებთან შედარებით (სურათი 51).



ა)

ბ)

სურათი 51. ა) სოქსლეტის ექსტრაქციის მეთოდით მიღებული ფშატის ზეთის აირ-
 სითხური ქრომატოგრამა; ბ) სუპერ ფლუიდური ექსტრაქციით მიღებული ფშატის
 ზეთის აირ-სითხური ქრომატოგრამა

ქრომატოგრაფიულმა კვლევამ გვაჩვენა, რომ ფშატის თესლიდან მიღებული ზეთი
 შემადგენლობაში შედის ძირითადად შემდეგ ცხიმმჟავები: ტეტრადეკანმჟავა (C14:0),
 პალმიტოლეინის მჟავა (C16:1), პალმიტინის მჟავა (C16:0), ლინოლის მჟავა (C18:2n6c)

(ომეგა 6), ოლეინის მჟავა (C18:1n9c), ალფა ლინოლენის მჟავა (ომეგა-3) (C18:3n3), სტეარინის მჟავა (C18:0), ცის 13 ეუკოზენის მჟავა (C20:1), არაქიდინის მჟავა (C20:0) (ცხრილი 16).

კარბონმჟავათა კომპონენტური შემადგენლობა

ცხრილი №16

№	კომპონენტის დასახელება	შეკავების დრო (წთ)	სოქსლეტით ექსტრაგირებული %	SFE ფრაქცია, %
1	Tetradecanoate acid methyl ester (C14:0)	11.583	0,354±0.009	0.259±0.006
2	Palmitoleic acid methyl ester (C16:1)	26.183	0.856±0.021	0.738±0.018
3	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	26.933	10.030±0.251	8.745±0.219
4	Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c)	33.617	35.496±0.887	33.663±0.842
5	Oleic acid methyl ester (C18:1n9c)	33.817	43.342±1.084	48.170±1.204
6	α-Linolenic acid methyl ester (C18:3n3)	34.050	7.140±0.0.179	5.752±0.144
7	Stearic acid methyl ester (C18:0)	34.467	2.159±0.054	2.009±0.050
8	cis-13-Eicosenoic acid methyl ester (C20:1)	39.017	0.227±0.006	0.267±0.007
9	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	39.583	0.396±0.010	0.398±0.010

დასკვნის სახით შეიძლება ითქვას, რომ ფშატის თესლისაგან მიღებული ზეთში 90,0% წარმოადგენს C18 კარბონმჟავები, დომინანტია ოლეინის მჟავა (C18:1n9c) 43,342%-48,170%. მნიშვნელოვანია, რომ ფშატის თესლის ზეთი შეიცავს ლინოლის მჟავას, ალფა ლინოლენის მჟავას, ცის 13 ეუკოზენის მჟავასა და არაქიდინის მჟავას, რომლებიც ომეგა 3-ისა და ომეგა 6-ის შემადგენლობაში შემავალ ძირითად ცხიმოვანებს წარმოადგენენ (ცხრილი 16).

დასკვნა

1. საქართველოს სინამდვილეში შესწავლილი იქნა ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ქიმიური შედგენილობა ანალიზის თანამედროვე ინსტრუმენტული მეთოდებით. დადგენილი იქნა ნაყოფის ტექნიკური, ბიოქიმიური და ქიმიური მაჩვენებლები. ოთხ სხვადასხვა რეგიონში (ზღვის დონიდან განსხვავებულ სიმაღლეზე) საანალიზოდ აღებული 10 ნიმუშიდან საუკეთესო ზომით, მასითა და მოცულობით გამოიჩვენა

ოზურგეთისა და ქედის ნაყოფი, ხოლო კარგი ქიმიური მახასიათებლებით (მშრალი ნივთიერება, მჟავიანობა, შაქარმჟავა ინდექსი) ქედისა და ხულოს ნიმუში.

2. ულტრა მაღალეფექტური (წნევის) სითხური ქრომატოგრაფის UPLC-PDA, MS მეთოდით ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb. ნაყოფში, ფოთოლსა და თესლში სულ იდენტიფიცირებულია 21 ფენოლური ნაერთი, მათ შორის ნაყოფში 16 ნივთიერება: Quercetin-O-(pentosyl) hexoside-O-rhamnoside, Isorhamnetin-O-glucuronide derivative, Quercetin-O-(pentosyl)hexoside, Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct), Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside, Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside, Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside, Sinapic acid-O-hexoside, Dihydrokaempferol-O-hexoside, Quercetin-O-hexoside, Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside, Diosmetin-O-dihexoside, 2-Methylnaconitate derivative, Kaempferol-O-dihexoside, Kaempferol-O-hexoside, Isorhamnetin-O-hexoside. ფოთოლში - 7 ნივთიერება, მათგან 4 ნივთიერება (Quercetin-O-(pentosyl)hexoside, Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct), Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside, Kaempferol-O-hexoside) ნაყოფის მსგავსია, ხოლო 3 განსხვავებული: bis-HHDP-O-glucose, Saccharide, Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside). თესლში იდენტიფიცირებულია 7 ნაერთი, მათგან 4 ნივთიერება ნაყოფში გვხვდება (Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside, Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside, Kaempferol-O-dihexoside, Isorhamnetin-O-hexoside, ერთი ნივთიერება ფოთოლში Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside) და 2 განსხვავებული ნაერთი: Quercetin-O-dihexoside, Kaempferol-O-pentosyl(hexoside) მხოლოდ თესლში.

3. ფშატის *Elaeagnus umbellata* Thunb-ს ნაყოფსა და ფოთოლში განისაზღვრა საერთო ფენოლების, ფლავონოიდებისა და კატექინების რაოდენობრივი შემცველობა. ფშატის ნაყოფში ფენოლური ნაერთების რაოდენობა მერყეობს 209,18–520,63 მგ/100გ, ფლავონოიდების 112,06–338,62 მგ/100გ, ხოლო კატექინების 76,54–160,92მგ/100გ (ნედლ მასაზე). ფშატის ფოთოლში ფენოლური ნაერთების რაოდენობა მერყეობს 1936,40–4058,00 მგ/100გ, ფლავონოიდების 1355,25–2827,59მგ/100გ, ხოლო კატექინების 563,26–1174,03 მგ/100გ (ნედლ მასაზე). რაოდენობრივად ნაყოფებთან შედარებით ფშატის ფოთოლში

ნაერთების თითქმის 5ჯერ მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა. დადგენილი იქნა მათი ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. ნაყოფში მაჩვენებელი მერყეობს 10,71–21,35, ხოლო ფოთოლში 1,13–3,04 (50%-იანი ინჰიბირება მგ ნიმუშის) ერთეულის ფარგლებში.

4. ფშატის ნაყოფიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია სამი ნახშირწყალი - ფრუქტოზა, გლუკოზა, საქაროზა. საერთო ნახშირწყლების შემცველობა მერყეობს 34,54 – 104,41 გ/კგ ფარგლებში, წარმოდგენილ ნიმუშებში დომინანტია გლუკოზა 16,55–50,58 გ/კგ და ფრუქტოზა 17,28 – 50,37 გ/კგ, მცირე რაოდენობითაა საქაროზა 0,62 – 3,66 გ/კგ. უცხოურ ლიტერატურულ მონაცემებთან შედარებით ნახშირწყლების რაოდენობრივი შემცველობა თითქმის ერთნაირია.

5. ფშატის ნაყოფიდან იდენტიფიცირებულია ოთხი ორგანული მჟავა: ვაშლის მჟავა, ლიმონმჟავა, ღვინის მჟავა, ქარვის მჟავა. განისაზღვრა მათი რაოდენობრივი შემცველობა, დომინანტ მჟავას წარმოადგენს ვაშლის მჟავა, რომელიც 165 –955 მგ/100გ-ის ფარგლებში მერყეობს.

6. ფშატის ნაყოფში შესწავლილი იქნა კაროტინოიდების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობა. იდენტიფიცირებულია 2 კაროტინი: ლიკოპენი და β-კაროტინი. რაოდენობრივი ანალიზისას მაღალი მაჩვენებელი- ლიკოპენი 49,21მგ/100გ, β კაროტინი 0,73 მგ/100გ და საერთო კაროტინოიდები 57,01 მგ/100გ (ნედლ მასაზე) დაფიქსირდა ხულოს ტერიტორიაზე აღებულ ნიმუშში.

7. ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის ექსტრაქციისათვის შერჩეული იქნა ეკოლოგიური, უსაფრთხო და ოპტიმალური მეთოდი-ულტრაბგერითი ექსტრაქცია „მწვანე“ ექსტრაგენტით. დადგენილი იქნა ოპტიმალური პირობები. პრაქტიკული გამოსავალი იყო საწყისის 85%.

8. მიღებულ პროდუქტში საწყისს და შენახვის შემდეგ ინფრაწითელი, ულტრარისფერ და ხილულ სპექტროსკოპიით იდენტიფიცირებული იქნა და რაოდენობრივად განისაზღვრა ლიკოპენი, აგრეთვე განისაზღვრა: მჟავური რიცხვი (მგ KOH/გ ცხიმის), ზეჟანგური რიცხვი meq/kg, ნ-ანიზიდინი და ანტიოქსიდანტური აქტიურობა. მიღებული შედეგების შეჯერებით, დადგენილი იქნა, რომ ფშატის ნაყოფიდან ლიკოპენის „მწვანე“

ექსტრაგენტი ულტრაბგერითი ექსტრაქციით მიღება და მისი შემდგომი მრავალმხრივი გამოყენება ეფექტური, ეკოლოგიური და დამზოგველი მიდგომაა ბუნებრივი რესურსებისადმი.

9. ქრომატოგრაფიული მეთოდით კონდუქტომეტრული დეტექტირებით ფშატის ნაყოფსა და ფოთოლში იდენტიფიცირებულია 5 კატიონი: ლითიუმი, ნატრიუმი, კალიუმი, მაგნიუმი და კალციუმი. განისაზღვრა მათი რაოდენობრივი შემცველობა, დომინანტს წარმოადგენდა კალიუმი, ფოთოლში მისი შემცველობა ორჯერ მეტია, ვიდრე ნაყოფში. კალიუმის მაღალი შემცველობა ორივე შემთხვევაში დაფიქსირდა ხულოს ნიმუშში, ნაყოფში 359,6 ppm, ფოთოლში 683,9ppm.

10. დადგენილი იქნა მცენარის თესლიდან სუპერ კრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქციის მეთოდით ზეთის, კაროტინოიდებისა და ფენოლური ნაერთებით მდიდარი ექსტრაქტების მიღების ოპტიმალური პირობები. ფენოლური ნაერთების ფრაქციების თვისობრივი კვლევისას იდენტიფიცირებული იქნა 7 ფენოლური ნაერთი.

11. ფშატის თესლისაგან ზეთი მიღებული იქნა ორი მეთოდით: სოქსლეტისა და სუპერკრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქტორით ექსტრაქციით თხევადი ნახშირორჟანგის მიწოდებით. დადგენილი იქნა, რომ სუპერკრიტიკული წნევის ფლუიდური ექსტრაქტორით ექსტრაქციის შემთხვევაში გამოსავალი მეტია და შეადგენს 8%. შესწავლილი იქნა მიღებული ზეთის ქიმიური შემადგენლობა ინფრაწითელი სპექტროსკოპიისა და აირ-სითხური ქრომატოგრაფიის საშუალებით. დადგენილი იქნა, რომ 90,0%-ს წარმოადგენს C18 კარბონმჟავები, დომინანტია ოლეინის მჟავა (C18:1n9c) 43,342%-48,170%. მნიშვნელოვანია, რომ ზეთი შეიცავს ლინოლის მჟავას, ალფა ლინოლენის მჟავას, ცის 13 ეუკოზენის მჟავასა და არაქიდინის მჟავას, რომლებიც ომეგა 3-ისა და ომეგა 6-ის შემადგენლობაში შემავალ ძირითად ცხიმჟავებს წარმოადგენენ.

გამოქვეყნებული სამეცნიერო შრომები:

1. Surmanidze, N., Diasamidze, M., Vanidze, M., kalandia, A. (2021). Prospects for the use of physiologically active compounds of *Elaeagnus umbellata*. *International Journal of Life Sciences* (ISSN: 2277-193x), Vol. 10. No.3. pp. 46–51;
2. Surmanidze, N., Vanidze, M., kalandia, A. (2022) *Elaeagnus umbellata* fruits and leaves biologically active compounds. Ivane Javakhishvili Tbilisi State University. American chemical society, „3rd International Symposium 2022”. pp.9
3. ნონა სურმანიძე, მათა ვანიძე, ალექო კალანდია. (2019). ფმატის (*Elaeagnus L.*) ნაყოფის ნახშირწყლებისა და ორგანული მჟავების ქრომატოგრაფიული ანალიზი. აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, I საერთაშორისო სამეცნიერო–პრაქტიკული კონფერენცია „ახალი ინიციატივები”. 121–128.
4. Shonia, A., Surmanidze, N., Khakhutaishvili, M., Vanidze, M., Kalandia, A. (2019). Bioactive compounds of some fruit common in Adjara. *Journal of Biotechnology* 305, S67.
5. Vanidze, M., Surmanidze, N., Putkaradze, J., Kartsivadze, I., Djaparidze, I., Kalandia, A. (2017). Antioxidants of Introductory and Endemic Plants in Georgia, *International Natural and Health Science Conference (INHSC2017)*. Antalya/Turkey. pp 131- 139.

Legal Entity of Public Law (LEPL) - Batumi Shota Rustaveli State University
Faculty of Natural Sciences and Health
Department of Chemistry



Nona Surmanidze

**"Chromatographic Study of Bioactive Compounds in the Fruits and
Leaves of *Elaeagnus Umbellata* Thunb.**

**Submitted in Fulfillment of the Requirements for PhD Degree
of Chemical Sciences
Specialty - Analysis of Natural Compounds**

ANNOTATION

Batumi - 2023

The dissertation has been completed at the at the Faculty of Natural Sciences and Health of the Department of Chemistry of Batumi Shota Rustaveli State University.

The mentioned project has been implemented with the financial support of the Shota Rustaveli National Science Foundation of Georgia (grant PHDF-22-2787; grant AP/96/13).

Scientific Adviser:

Maia Vanidze

Associate Professor,
Doctor of Biological Sciences
Batumi Shota Rustaveli State University

Dissertation Experts:

Inga bochoidze

Professor, Academic Doctor of Chemistry,
Head of Chemical and Environmental
Technologies Department, Akaki Tsereteli State University

Anna Goletiani

Doctor of Chemical Sciences,
Technical University of Georgia
visiting professor

Ketevan dolidze

Professor, Doctor of Biology
Sciences, Batumi Shota Rustaveli State University

The defense of the dissertation will take place at ----- on ----- 2023 at a meeting of the Dissertation Commission established by the Dissertation Council of the Natural Sciences and Health Faculty of Batumi Shota Rustaveli State University.

Address: Batumi Shota Rustaveli State University, 35 Ninoshvili Str, Room № .

The dissertation can be found in the library of Batumi Shota Rustaveli State University and on the website of the same university (www.bsu.edu.ge).

Secretary of Dissertation Council of Faculty of Natural Sciences and Health,
Batumi Shota Rustaveli State University

Nana Zarnadze

Introduction

Relevance of the topic. From a floristic point of view, Adjara is one of the richest regions not only in Georgia, but also in the entire Transcaucasus, and today, when the development of the

agricultural sector and tourism infrastructure is important, the chemical study and rational use of the natural resources of the region is significant, both for the region and the country as a whole.

Today, due to the current environmental conditions, it is important to study plant materials rich in biologically active substances, which can be used as prophylactic, preventive and therapeutic agents. In this regard, different species of the family *Elaeagnus* L. are of interest. Their studies are carried out in many countries of the world in order to expand the scope of their use. *Elaeagnus umbellata* Thunb is the most common variety in our country. It is one of the plants introduced in Georgia, well adapted to local climatic conditions, both in the coastal zone of Western Georgia and in high mountain regions, and is distinguished by good viability.

Nevertheless, there is no scientific literature on the chemical composition and use of the plant in our country, or information and materials are very scarce and are available only in the form of traditional medicine, where *Elaeagnus umbellata* Thunb is used as an anti-inflammatory, expectorant, anthelmintic and vitamin remedy for gastrointestinal diseases. Foreign literature contains the information about biologically active compounds of the plant: alkaloids, carotenoids, glycosides, terpenoids, steroids, flavonoids, minerals, vitamins, organic acids, etc. These compounds have a wide range of therapeutic applications. The plant is particularly rich in biologically active compounds such as lycopene, which has high antioxidant activity and is less toxic.

In Georgia, *Elaeagnus umbellata* Thunb is mainly consumed raw and less processed. This is a common floodplain plant that grows in wet areas, but at the same time tolerates long droughts well. That is why the prospect of its distribution is great, which will further increase the food supply.

Therefore, it is very important to study *Elaeagnus umbellata* Thunb as a resource, rich in biologically active compounds, and determine its prospects for the production of raw materials for functional products.

The purpose and objectives of the paper are to study the qualitative and quantitative composition of the most important chemical markers of the *Elaeagnus umbellata* Thunb plant:

carbohydrates, organic acids, minerals, phenolic compounds and carotenoids using modern physicochemical and instrumental methods HPLC-UV, Vis; implementing RI, UPLC-PDA, MS and conductometric methods, as well as various preparative and analytical columns, sorbent and solvent: determination of the optimal conditions for obtaining a "green" extractant from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit by ultrasonic extraction of a lycopene-containing preparation and detection of its qualitative characteristics; obtaining oil from *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds by superfluid extraction, selection of optimal extractants and determination of their qualitative characteristics by infrared spectroscopy and gas-liquid chromatography (TRACE™ 1310 gas chromatograph - Thermo Scientific); determination of the antioxidant activity of the obtained extracts and products by the DPPH method.

The object of the study is the fruits and leaves of the plant *Elaeagnus umbellata* Thunb. The samples were taken during the period of consumer maturity in late October, early November (during 4 years 2015-2019) in four different regions of Georgia at different heights above sea level; 10 samples have been taken in total: in Samegrelo - Senaki (28 m above sea level) (N1), in Imereti - Samtredia (25 m above sea level) (N2), Guria - Ozurgeti (80 m above sea level) (N3), Adjara - Kobuleti (5 m above sea level) (N4), Urekhi (3 m above sea level) (N5), Akhalsheni (163 m above sea level) (N6), Khelvachauri (11 m above sea level) (N7), Adjaristskali (150 m above sea level) (N8), Keda (256 m above sea level) (N9), Khulo (923 m above sea level) (N10).

Research methodology - chemical analysis of the pulp, leaves, seeds and products from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits has been carried out using modern instrumental methods.

1. Identification of phenolic compounds by ultra-high performance (under pressure) liquid chromatography UPLC-PDA, MS method;
2. Qualitative analysis of carbohydrates and organic acids by ultra-high performance (under pressure) liquid chromatography UPLC-PDA, MS method;
2. Qualitative analysis of carbohydrates and organic acids by ultra-high performance (under pressure) liquid chromatography UPLC-PDA, MS method;

3. Quantitative analysis of carbohydrates and organic acids by high performance (under pressure) liquid chromatography HPLC-UV, Vis; RI method;
4. Determination of cations by the HPLC– Conductivity method;
5. Qualitative analysis of β -carotene and lycopene by ultra high performance (under pressure) liquid chromatography UPLC-PDA, MS method;
6. Quantitative determination of β -carotene and lycopene by the spectral method;
7. Determination of antioxidant activity (using a stable radical of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) by the DPPH method;
8. Determination of the amount of total phenols according to the Folin-Ciocalteu method (in terms of gallic acid);
9. Quantitative determination of flavonoids by the spectral method (AlCl₃ reagent in terms of rutin);
10. Quantitative determination of catechins using vanillin reagent, spectral method;
11. Oil analysis by infrared spectroscopy (Agilent) and gas liquid chromatography (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific).
12. For the extraction of individual substances, supercritical fluid (SFE Waters, USA) and ultrasonic extraction (Hielscher-UP 400St ultrasonic processor, Germany) were used.
13. Determination of dry matter - by refractometric method (AOAC 2005 Official Method);
14. Determination of active acidity-pH (AOAC 2005 Official Method);
15. Determination of titration acidity (AOAC 2005 Official Method).
16. Statistical analysis: Standard error was calculated for each data using Excel software. Confidence coefficient $p \leq 0.05$.

Scientific novelty - for the first time in Georgia, there have been carried out the study of the chemical composition of fruits and leaves of the species *Elaeagnus umbellata* Thunb, common in Georgia, considering the prospects for their use. 21 phenolic compounds with high antioxidant activity, 2 carotenoids, 3 carbohydrates, 4 organic acids and 5 cations were studied using modern physicochemical and instrumental methods (high performance (pressure) liquid chromatography

HPLC-UV, RI, Conductometry and UPLC- PDA, MS methods). The quantitative content of the compounds was determined. For the first time, the optimal conditions for obtaining a lycopene-containing preparation by the “green” extractant and ultrasonic extraction from the *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits have been determined, and the qualitative characteristics of the obtained preparation have been identified. The chemical composition of seeds and oil obtained from them by fluid extraction under supercritical pressure was studied using UPLC-PDA, MS methods, infrared spectroscopy and gas-liquid chromatography (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific).

Theoretical and practical significance of the work - the results of the research represent the scientific basis for the use of this biological object as new prophylactic, preventive drugs. The studies will have not only scientific, but also practical and social significance. In particular, according to the results of the research, the *Elaeagnus umbellata* Thunb will become a more promising and recognized new source of food. Since the plant has less soil requirements and is successfully used to protect the soil on washed-out lands, it will increase the prospect of its spread in landslide-prone areas, and it will become a source of additional income for the villagers.

Approbation of the work - the results of the study are presented in 1 scientific article and 4 presentations of the international scientific conference.

Scope and structure of the dissertation - the dissertation consists of 113 printed pages, according to the requirements for preparing a dissertation for a doctoral degree, and includes a title and signature pages, content, 72 figures, 16 tables, 8 diagrams, 114 items of a list of used literature. The main text consists of: introduction, literature review, experimental part, evaluation of results, conclusion and list of references.

Literature review - the first chapter deals with the article, the biological characteristics of the *Elaeagnus umbellata* Thunb., the distribution of bioactive compounds of phenolic compounds, carotenoids, carbohydrates, organic acids and minerals in plants, their physiological activity. The dissertation is accompanied by a list of used literature.

2.1. Technical, physical and chemical characteristics of the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb.

The organoleptic and some physicochemical parameters of the fruits of the Thunb umbrella were determined: fruit size, color, shape, weight, volume, pulp and seed yield, active acidity (pH), titratable acidity, dry matter (according to the Brix scale), sugar-acid index. Physical and chemical parameters were measured using a digital caliper with a sensitivity of 0.01 mm (Traceable Digital Caliper-6, VWR International). The mass was determined to the nearest 0.01 g (Mettler-Toledo AG, Greifensee).

Tannic, sweet and sour red fruits of the pshat plant have a spherical shape. Fruit length 6.7-8.6 mm, width 8.1-9.3 mm, weight 0.31-0.55 g, volume 0.41-0.54 ml. 68-80% of the total mass of the fruit is pulp, 20-32% - seeds (Fig. 1, Table No. 1).



Figure 1. Technical characteristics of *Elaeagnus umbellata* fruits.

Technical characteristics of *Elaeagnus umbellata* fruits.

Table №1

Sample №	colour	taste	shape	Size, mm		Mass 1 piece, g	Volume, 1 piece, ml	Mass Fraction %	
				Length	Width			Pulp	Seed
1	Red	Sourish sweetish (astringent)	roundish	7,6±0,09	8,2±0,1	0,31±0,002	0,3±0,003	75±1,1	25±0,37

2	Red	Sourish sweetish	roundish	7,9±0,09	8,7±0,11	0,4±0,003	0,41±0,004	73±1,09	27±0,4
3	Red	Sweet (astringent)	roundish	8,6±0,10	9,3±0,11	0,55±0,004	0,54±0,005	78±1,1	22±0,33
4	Red	Sweetish (astringent)	roundish	6,8±0,08	8,2±0,09	0,52±0,004	0,52±0,005	68±1,02	32±0,48
5	Red	Sweetish (astringent)	roundish	7,9±0,09	8,1±0,09	0,38±0,003	0,38±0,003	73±1,09	27±0,4
6	Red	Sweetish	roundish	7,5±0,09	9,1±0,11	0,41±0,003	0,46±0,004	70±1,05	30±0,45
7	Red	Sweetish Sourish	roundish	6,7±0,08	8,1±0,09	0,45±0,003	0,42±0,003	72±1,08	28±0,42
8	Red	Sourish (astringent)	roundish	7,5±0,09	9,1±0,11	0,44±0,003	0,44±0,003	80±1,2	20±0,3
9	Red	Sweet (astringent)	roundish	7,8±0,09	9,2±0,11	0,47±0,004	0,48±0,004	77±1,15	23±0,34
10	Red	Sweetish – (astringent)	roundish	7,4±0,08	8,7±0,1	0,43±0,003	0,44±0,003	74±1,11	26±0,39

Compared to the literature data, the fruits of *Elaeagnus umbellata*, grown on the territory of Georgia, are distinguished by good technical characteristics and organoleptic properties.

chemical characteristics of *Elaeagnus umbellata* fruits

Table №2

Sample №	Dry matter %	pH	Titral acidity %	Sugar acid index
1	13.6±0,02	3.55±0,1	0.97±0,03	14,02±0,28
2	20.1±0,03	4.05±0,12	0.66±0,02	38,03±0,76
3	15.6±0,02	4.07±0,12	0.56±0,02	33.9±0,67
4	15.4±0,02	3.68±0,11	0.59±0,02	26.1±0,52
5	19,4±0,03	3.85±0,11	0.86±0,03	22,56±0,45
6	12.1±0,01	4.10±0,12	0.65±0,02	22.0±0,44
7	17.4±0,02	3.57±0,11	0.81±0,03	20,47±0,41
8	17.0±0,02	3.92±0,12	0,72±0,03	22,37±0,44
9	20.2±0,03	3.69±0,11	0,85±0,03	23,76±0,43
10	21.1±0,03	3.76±0,11	0,83±0,03	25,42±0,51

The physical and chemical parameters of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits have also been determined. The lowest dry matter index was noted in the fruits of Akhalsheni plants- 12.1%, and

the highest indicator was 21.3% in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb collected on the territory of Samtredia (Table No. 2). The titral acidity index ranged from 0.46 to 0.97%, pH from 3.55 to 4.10. The Senaki sample had the highest pH value of 3.55, while the Akhalsheni sample had the lowest pH value of 4.10. A high rate of titratable acidity was noted in Senaki - 0.97%, and a low one in Ozurgeti fruits - 0.56%.

The ratio of dry matter and titratable acids, expressed by the sugar-acid index, ranged from 14.02 to 38.03 units, which accordingly affected the organoleptic properties of fruits, in particular, fruits with a sugar-acid index of 14.02-26.01 were characterized by a sweet and sour taste, while the fruits of Ozurgeti and Samtredia, with a higher indicator - 33.9-38.03, were relatively sweet and less sour (Table No. 2).

2.2. Qualitative and quantitative analysis of biologically active compounds in the fruits and leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb. Using ultra high performance (pressure) liquid UPLC-PDA, MS, high performance (pressure) liquid chromatography HPLC-UV, RI, refractive index and spectral methods.

2.2.1. Identification of phenolic compounds in fruits and leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb.

We have carried out a qualitative study of phenolic compounds of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits, common in different territories of Georgia, using high-performance (under pressure) liquid chromatography, as well as detection of ultraviolet, refractive index and ultra-high performance (under pressure) liquid chromatography (UPLC), MAC (MS) and photodiode (PDA) detector. Screening, identification and quantification of compounds was performed using the UPLC-PDA-MS method.

Substances were identified using standard compounds at our disposal and compared with the mass of substances from the free database <https://metlin.scripps.edu>, as well as in comparison with the data of peer-reviewed literature publications. Before chromatographic separation, we prepared a sample for chromatography using the solid phase extraction method, passing it on a C18 column (Fig. 23).

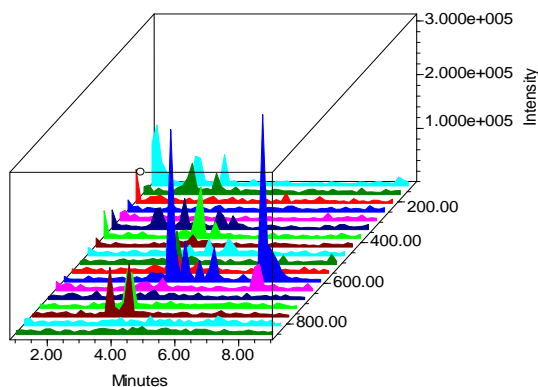


Figure 2. UPLC-PDA-MS 3D chromatogram of *Elaeagnus umbellata* fruit.

The study of flavonol glycosides in the fruit of *Elaeagnus umbellata* Thunb. using LC-MS-PDA, allowed us to identify the following compounds:

Substance 1 [M-H]⁻ m/z 740.79 is fixed on the chromatogram with a retention time of 3.647 with an absorption maximum at 223.4 nm; according to the mass of the substance in the free base and literature <https://metlin.scripps.edu>, Substance 1 corresponds to **Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-rhamnosiden** (Fig. 3).

Substance 2 [M-H]⁻ m/z 759.01 is recorded on the chromatogram with a retention time of 3.800, absorption 2 maximum at 225.9 nm and 334.8 nm mass of substance from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, **substance 2** corresponds to **Isorhamnetin-O-glucuronide derivative** (Fig. 4).

Substance 3 [M-H]⁻ m/z 594,77 is fixed on the chromatogram with a retention time of 4.126 with 3 absorption maxima at 223.4nm, 255.2nm and 349.1nm of substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 3 corresponds to **Quercetin-O-(pentosyl)hexoside** (Fig. 5).

Substance 4 [M-H]⁻ m/z 562,87 is fixed on the chromatogram with a retention time of 5,425 absorption 2 maxima at 225.3 nm and 284.1 nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 4 corresponds to **Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct)** (Fig. 6).

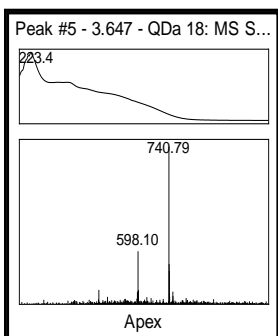


Fig. 3.

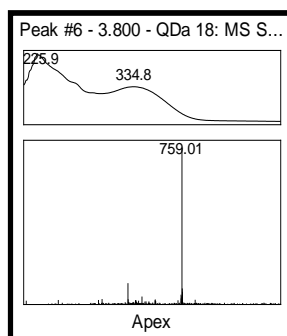


Fig. 4.

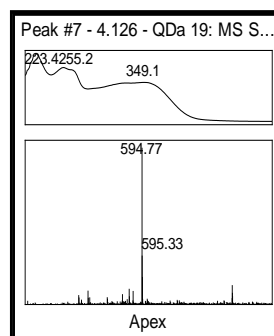


Fig. 5.

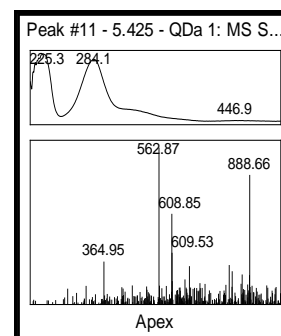


Fig. 6.

Fig. 3. Substance 1 - Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-rhamnosiden; Fig. 4. Substance 2- Isorhamnetin-O-glucuronide derivative; Fig. 5. Substance 3 - Quercetin-O-(pentosyl)hexoside; Fig. 6. Substance 4 - Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct) UPLC-PDA-MS spectrum;

Substance 5 [M-H]⁻ m/z 592,85 fixed on the chromatogram with a retention time of 6,991 with 2 absorption maxima at 266.3nm and 313.7nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 5 corresponds to **Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside** (Fig. 7).

Substance 6 [M-H]⁻ m/z 756,95 It is fixed on the chromatogram with a retention time of 7,300, absorption 2 maxima at 255.2 nm and 354.7 nm of substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 6 corresponds to **Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside** (Fig. 8).

Substance 7 [M-H]⁻ m/z 581,70 is fixed on the chromatogram with a retention time of 7,479 with 2 absorption maxima at 217.4nm and 277.3 nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 7 corresponds to **Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside** (Fig. 9).

Substance 8 [M-H]⁻ m/z 385,04 Fixed on the chromatogram with a retention time of 7,990, absorption 2 maxima at 238.7 nm and 330.4 nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 8 corresponds to **Sinapic acid-O-hexoside** (Fig. 10).

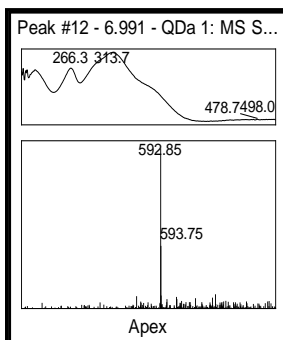


Fig. 7.

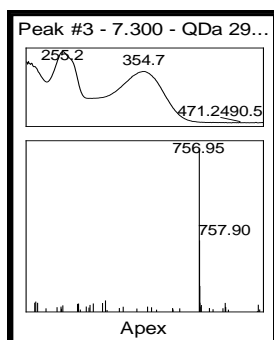


Fig. 8.

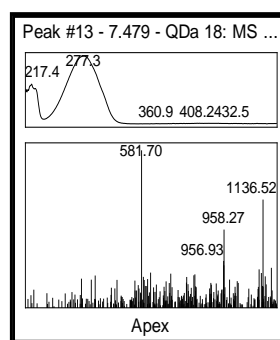


Fig. 9.

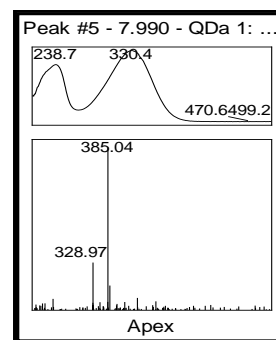


Fig. 10.

Fig. 7. Substance 5 - Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside; Fig. 8. Substance 6 - Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside; Fig. 9. Substance 7- Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside; Fig.10. Substance 8 - Sinapic acid-O-hexoside UPLC-PDA-MS spectrum.

Substance 9 $[M-H]^-$ m/z 448,87 is fixed on the chromatogram with a retention time of 8,639, absorption 2 maxima at 221.0 nm and 293.4 nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 8 corresponds to **Dihydrokaempferol-O-hexoside** (Fig. 11).

Substance 10 $[M-H]^-$ m/z 463,32 is recorded on the chromatogram with a retention time of 9.487, 2 absorption maxima at 255.9nm and 354.1nm of substance mass from <https://metlin.scripps.edu> with free base and literature, substance 10 corresponds to **Quercetin-O-hexoside** (Fig. 12).

Substance 11 $[M-H]^-$ m/z 754,85 t is fixed on the chromatogram with a retention time of 10.797, absorption 2 maximum at 254.0 nm and 354.7 nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 11 corresponds to **Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside** (Fig. 13).

Substance 12 $[M-H]^-$ m/z 622,67 is fixed on the chromatogram with a retention time of 12,104 with 2 absorption maxima at 254.6nm and 353.5nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 12 corresponds to **Diosmetin-O-dihexoside** (Fig.14).

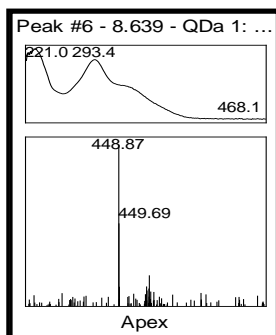


Fig. 11.

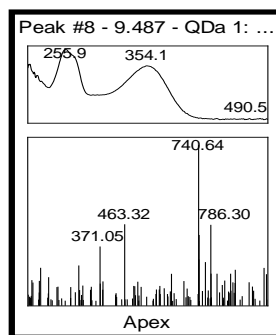


Fig. 12.

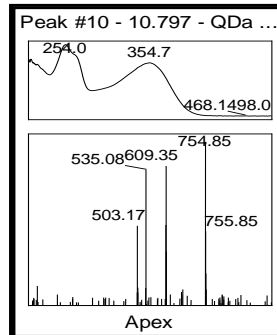


Fig. 13.

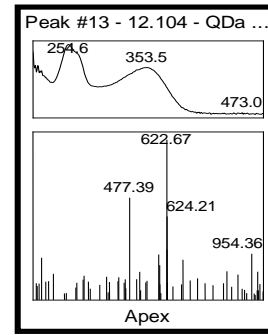


Fig. 14

Fig. 11. Substance 9 - Dihydrokaempferol-O-hexoside; Fig. 12. Substance 10 - Quercetin-O-hexoside; Fig. 13. Substance 11 - Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside; Fig. 14. Substance 12 - Diosmetin-O-dihexoside UPLC-PDA-MS spectrum

Substance 13 $[M-H]^-$ m/z 649,48 is fixed on the chromatogram with a retention time of 12,915 with 2 absorption maxima at 254.0nm and 338.5nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 13 corresponds to **2-Methylaconitate derivative** (Fig. 15).

Substance 14 $[M-H]^-$ m/z 608,79 is fixed on the chromatogram with a retention time of 14,184 with 3 absorption maxima at 226.5nm, 284.7nm and 332.9nm of substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 14 corresponds to **Kaempferol-O-dihexoside** (Fig. 16).

Substance 15 $[M-H]^-$ m/z 446,85 is recorded on the chromatogram with a retention time of 14,406 with 2 absorption maxima at 264.4nm and 347.9nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 15 corresponds to **Kaempferol-O-hexoside** (Fig. 17).

Substance 16 $[M-H]^-$ m/z 477,10 is fixed on the chromatogram with a retention time of 14,674 with 2 absorption maxima at 253.4 nm and 349.7 nm substance mass from <https://metlin.scripps.edu> with free base and literature, substance 16 corresponds to **Isorhamnetin-O-hexoside** (Fig. 18).

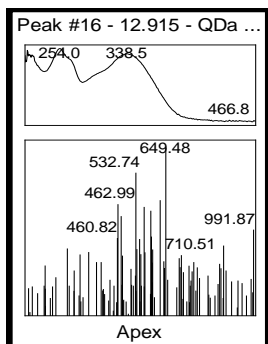


Fig. 15.

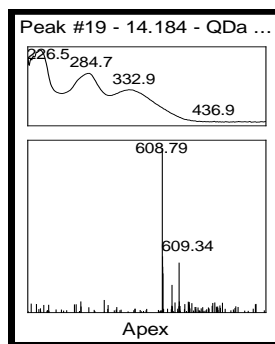


Fig. 16.

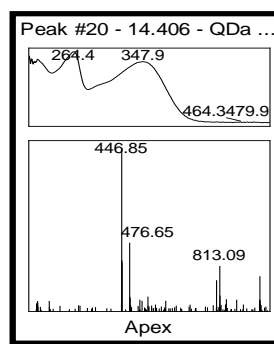


Fig. 17.

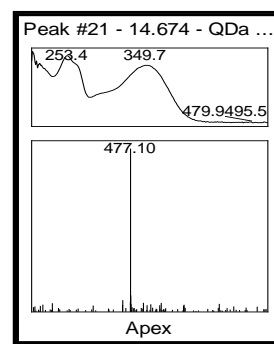


Fig. 18.

Fig. 15. Substance 13 - 2-Methylnonitrate derivative; Fig. 16. Substance 14 - Kaempferol-O-dihexoside; Fig.17. Substance 15 - Kaempferol-O-hexoside; Fig. 18. Substance 16 - Isorhamnetin-O-hexoside UPLC-PDA-MS spectrum.

The study of flavonol glycosides in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb by LC-MS-PDA allowed us to identify the following compounds (Fig. 19).

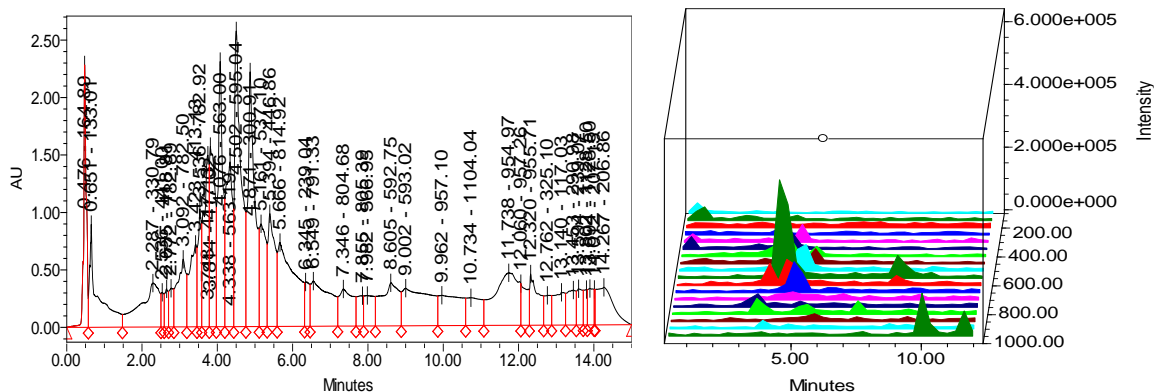


Fig. 19: UPLC-PDA-MS 3D chromatogram of *Elaeagnus umbellata* Thunb leaves.

Substance 17 [M-H]⁻ m/z 782,50 is recorded on a chromatogram with a retention time of 3.092 absorption maximum at 211.9 nm mass of substance from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 17 corresponds to **bis-HHDP-O-glucose** (Fig. 20).

Substance 18 [M-H]⁻ m/z 547,05 is recorded on a chromatogram with a retention time of 4871 with 2 absorption maxima at 252.8 nm and 350.3 nm mass of substance from <https://metlin.scripps.edu> free base and literature, substance 18 corresponds to **Saccharide** (Fig. 21).

Substance 19 $[M-H]^-$ m/z 608,92 is recorded on the chromatogram of the retention time of 4944 and mass of substance from <https://metlin.scripps.edu> with free base and literary, substance19 corresponds to **Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside)** (Fig. 22).

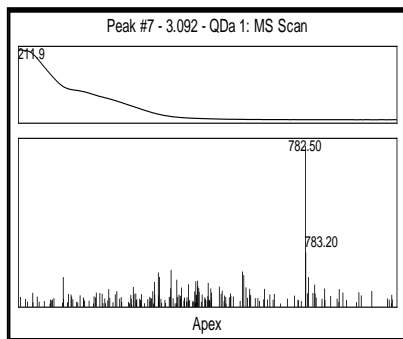


Fig. 20.

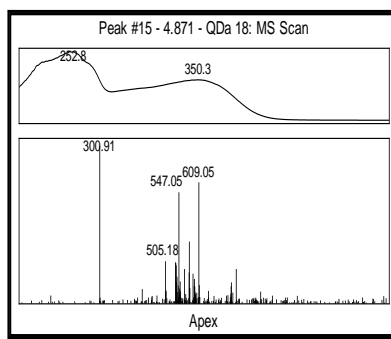


Fig. 21.

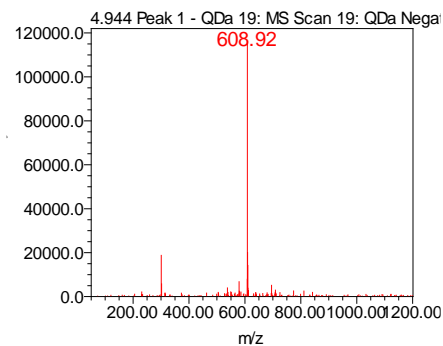


Fig. 22

Fig.20. Substance 17 - bis-HHDP-O-glucose; Fig. 21. Substance 18 - Saccharide; Fig. 22. Substance 19 - Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside) UPLC-PDA-MS spectrum.

In addition, in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb, similar to the fetus, there have been revealed: substance 3 (Quercetin-O-(pentosyl)hexoside), substance 4 (Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct)), substance 5 (Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside), substance 15 (Kaempferol-O-hexoside).

2.2.2. Quantitative determination of biologically active compounds of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits and leaves - total phenols, flavonoids and catechins and determination of their antioxidant activity.

There have been studied the phenolic compounds of 10 samples of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits and leaves taken on the territory of four different regions of Georgia: Samegrelo (Senaki), Guria (Ozurgeti), Imereti (Samtredia) and Adjara (Khulo, Keda, Adjaristskali, Khelvachauri, Kobuleti, Akhalsheni, Urekhi). There has been determined the quantitative content of total phenols, flavonoids and flavanols and their antioxidant activity.

The content of total phenols, flavonoids, catechins and their antioxidant activity in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits.

Table №3

Sample №	common phenols mg/100g on raw mass	Flavonoids mg/100g on raw mass	Catechins mg/100g on raw mass	Antioxidant activity 0.1 H 50 % inhibition of DPPH mg, with a sample
1	230,1±4,60	125,08±2,50	86,28±1,73	16,01±0,32
2	222,92±4,46	121,57±2,43	78,36±1,57	17,90±0,36
3	298,00±5,96	186,4±3,73	96,02±1,92	13,51±0,27
4	209,18±4,18	112,06±2,24	76,54±1,53	21,35±0,43
5	267,65±5,35	168,58±3,37	91,90±1,84	14,79±0,30
6	308,00±6,16	188,58±3,77	106,90±2,14	14,13±0,28
7	334,00±6,68	196,8±3,94	123,8±2,48	12,36±0,25
8	379,46±7,59	208,01±4,16	138,99±2,78	11,64±0,23
9	454,00±9,08	270,85±5,42	145,52±2,91	11,03 ±0,22
10	520,63±10,41	338,62±6,77	160,92±3,22	10,71±0,21

The amount of total phenols in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits ranges from 209.18 to 520.63 mg/100 g, flavonoids from 112.06 to 338.62 mg/100 g, catechins from 76.54 to 160.92 mg/100 g (in wet weight). In all three cases, the highest rate was observed in samples taken in the territory of Khulo: total phenols 520.63 mg / 100g, flavonoids 338.62 mg / 100g, catechins 160.92 mg / 100g, and the lowest rates were characterized by samples from Kobuleti: the sum of total phenols amounted to 209.18 mg/100 g, flavonoids 112.06 mg/100 g, catechins 76.54 mg/100 g. Their antioxidant activity was also determined. The indicator of antioxidant activity of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits ranged from 10.71–21.35 (0.1 h of 50% DPPH inhibition, mg, with a sample) within one. Samples from Khulo were characterized by high activity at 10.71, and samples from Kobuleti - 21.35 (Table No. 3).

The content of total phenols, flavonoids, catechins in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb and their antioxidant activity

Table №4

Sample №	common phenols on mg/100g of raw mass	flavonoids on mg/100g of raw mass	catechins on mg/100g of raw mass	Antioxidant activity DPPH 0.1 H 50 % inhibition with sample mg,
1	2150,23±21,50	1505,24±15,05	595,38±5,95	2,60±0,02
2	2087,38±20,87	1460,87±14,60	577,43±5,77	2,72±0,02
3	2300,15±23,00	1623,45±16,23	637,21±6,37	2,44±0,02
4	1936,40±19,36	1355,25±13,55	563,26±5,63	3,04±0,03
5	2527,04±25,27	1718,36±17,18	789,50±7,89	2,39±0,02
6	2832,00±28,32	1915,76±19,15	902,08±9,02	2,17±0,02
7	3200,00±32,01	2173,54±21,73	1014,22±10,14	2,05±0,02
8	3136,80±31,36	2118,48±21,18	1004,32±10,04	1,94±0,01
9	3582,50±35,82	2435,76±24,35	1100,24±11,21	1,69±0,01
10	4058,00±40,58	2827,59±28,27	1174,03±11,74	1,13±0,01

The amount of total phenols in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb ranged from 1936.40–4058.00 mg/100 g, flavonoids 1355.25–2827.59 mg/100 g, catechins 563.26–1174.03 mg/100 g (per raw weight). When studying compounds in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb, a high content was recorded in Khulo samples, and a low content was recorded in samples taken in Kobuleti. In the Khulo samples, the amount of total phenols was 4058.00 mg/100g, flavonoids 2827.59 mg/100g, catechins 1174.03 mg/100g, and in the Kobuleti samples - total phenols 1936.40 mg/100g, flavonoids 1355.25 mg/100g , 563.26 mg/100 g catechins. Their antioxidant activity was also determined. Thus, depending on the content of the compounds, the antioxidant activity index of *Elaeagnus umbellata* Thunb leaves ranged from 1.13 to 3.04 (DPPH 0.1 N 50% inhibition mg, with a sample) within one. The Khulo sample was characterized by a high activity of 1.13, and the Kobuleti sample - 3.04 (Table №4).

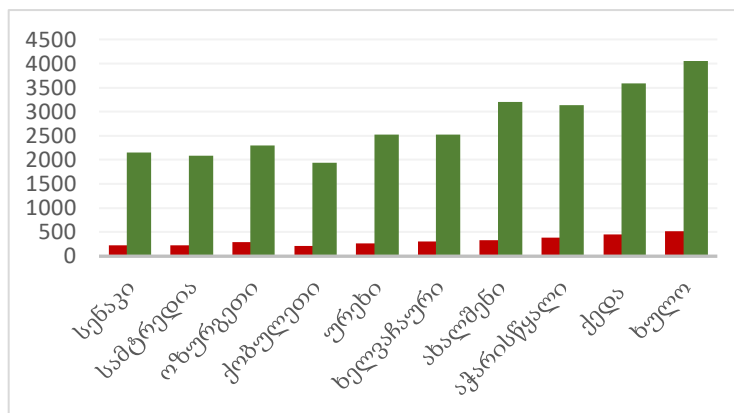


Diagram 1. Phenolic compounds in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits and leaves in mg/100g (raw mass).

Based on the above data, it can be said that when studying the compounds in samples of *Elaeagnus umbellata* Thunb, the leaf showed a 5-fold higher rate than in the fruit. This is due to intensive biosynthesis in the leaf. In addition, a high content of compounds in both fruits and leaves was observed in the samples taken at the highest altitude (Khulo) above sea level (Diagram 1), which is directly related to the high immunity of the plant in harsh climatic conditions, which is due to the high content of phenolic connections.

2.2.3. Qualitative and quantitative analysis of carbohydrates and organic acids of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits by ultra high performance (pressure) liquid UPLC-PDA, MS and high pressure liquid HPLC-UV, RI chromatography.

In the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb. there have been identified 3 dominant carbohydrates: glucose, fructose and sucrose.

Substance 20 [M-H⁻] - m/z 179.06, but as a result of the addition of formic acid, a pseudomolecule m/z 224.99 is formed. The retention time of the chromatogram is 5.276 min, the absorption maximum is not visible in the UV spectrum. When comparing the standard compound and the METLIN mass compound database, compound 20 corresponds to glucose (Fig. 23).

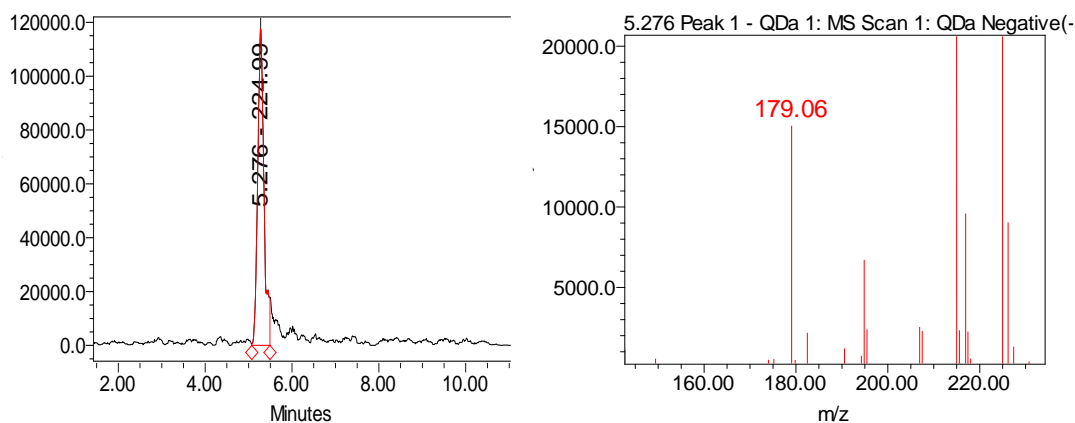


Fig. 23. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 20 - Glucose.

Substance 21 $[M-H]^-$ m/z 178.92, but as a result of addition with formic acid, a pseudomolecule m/z 224.98 is formed, and as a result of addition with a chlorine ion, m/z 214.87 is formed. The retention time is 5.394 min, the absorption maximum is not visible in the UV spectrum. According to the reference composition and mass of the METLIN compound, substance 21 corresponds to fructose (Figure 24).

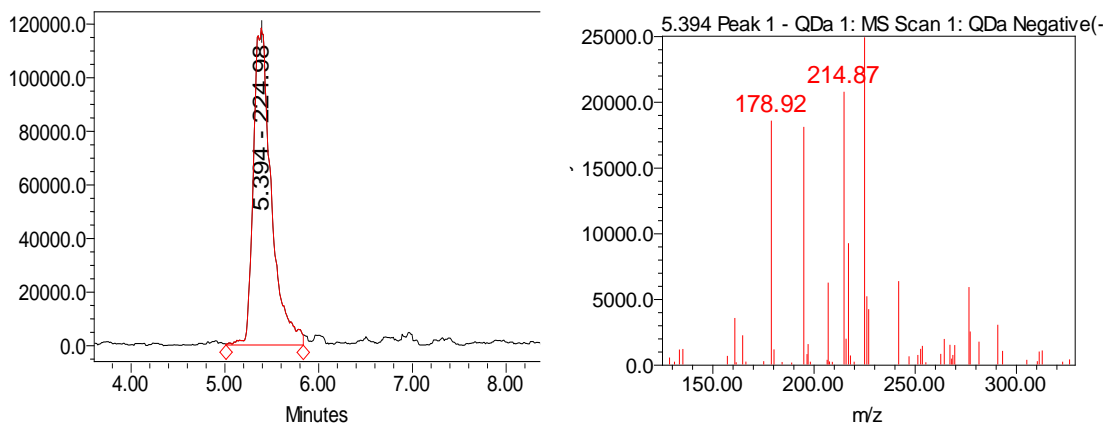


Fig. 24. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 21 - Fructose.

Substance 22 $[M-H]^-$ m/z 341.10, but as a result of addition with formic acid, a pseudomolecule m/z 387.04 is formed, and as a result of addition with a chlorine ion - m/z 377.04. The retention time is 5600 min; the absorption maximum is not visible in the UV spectrum. According to the reference composition and mass of the METLIN compound, substance 22 corresponds to sucrose (Figure 25).

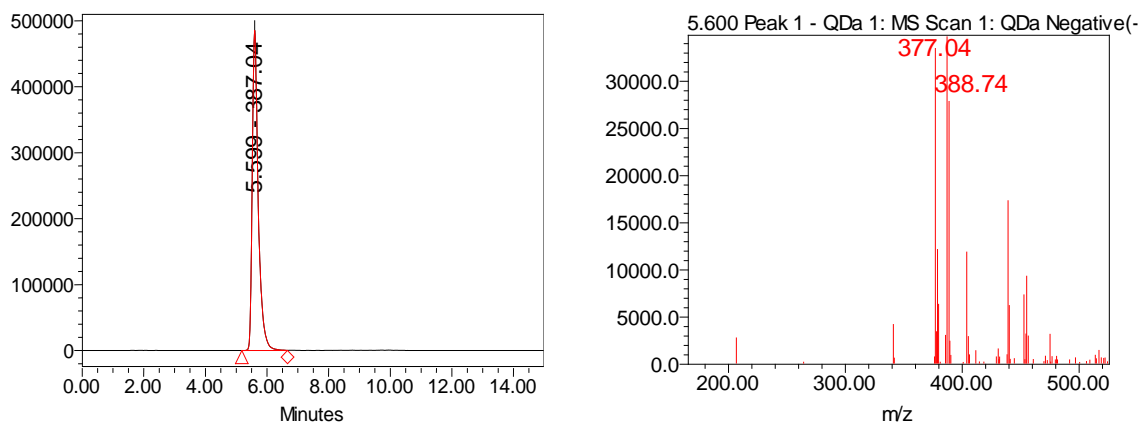


Fig. 25. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 22 – Sucrose.

In the study of organic acids in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb, the following compounds were identified:

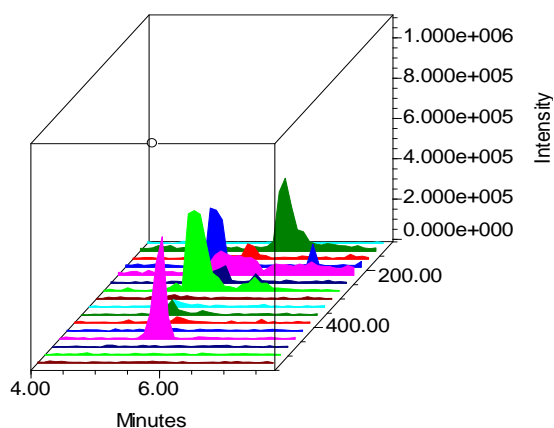


Fig. 26. UPLC-PDA- MS 3D chromatogram of organic acids of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit.

Substance 23 [M-H]⁻ m/z 132,93 is fixed on the chromatogram with a retention time of 6.355, according to the literature substance 23 corresponds to malic acid (Figure 27)

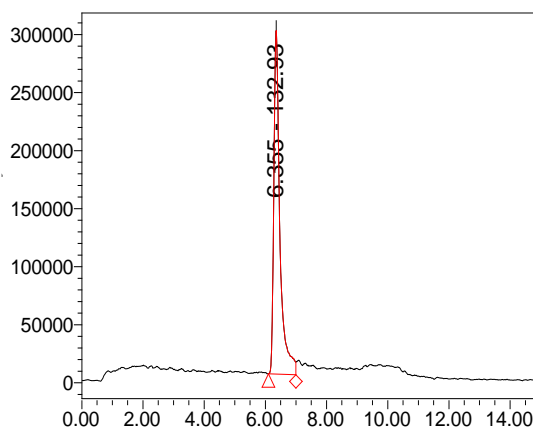


Fig. 27. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 23 - Malic acid

Substance 24 [M-H]⁻ m/z 190,91 is recorded on the chromatogram with a retention time of 7,629 in the literature, substance 23 corresponds to malic acid (Figure 28).

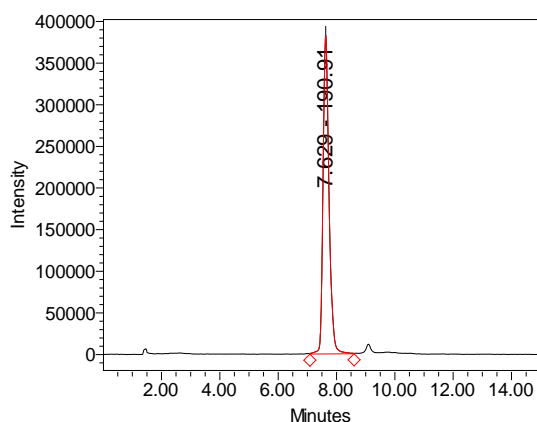


Fig. 28. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 24 - Citric acid.

Quantitative analysis of carbohydrates and organic acids of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits was carried out by high pressure liquid chromatography HPLC-UV, RI method. For carbohydrate chromatography, 80% acetonitrile (1:1) (mobile phase) was added to a centrifuged aqueous extract of an analytical sample (1:1) and the sample was filtered through a 0.45 μm filter. For organic acid chromatography, the analytical sample was extracted with 1% phosphoric acid (2:1 ratio), to precipitate pectin substances, it was treated with 96% alcohol in a 1:1 ratio, then the centrifuged sample was filtered through a 0.45 μm filter.

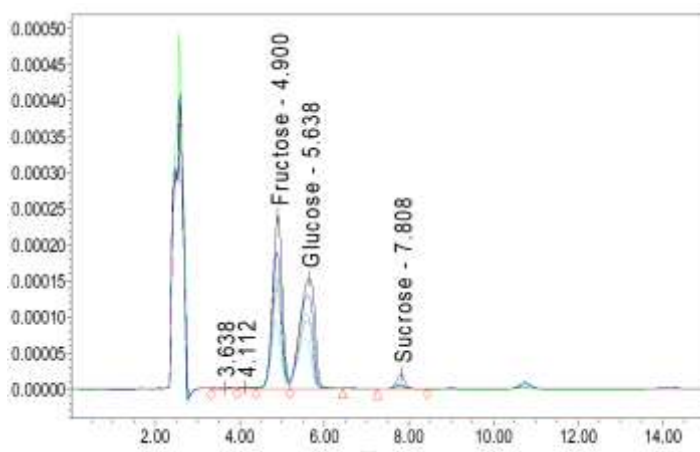


Fig. 29. Total chromatogram of carbohydrates of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit

Quantitative content of carbohydrates in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit

Table № 5

Sample №	fructose g/kg	glucose g/kg	Sucrose g/kg	Total sugars g/kg
1	28,03±0,42	26,81±0,40	1,82±0,03	56,66±0,85
2	32,71±0,49	33,94±0,51	1,60±0,02	68,25±1,02
3	30,68±0,46	28,62±0,43	2,13±0,03	61,43±0,92
4	17,28±0,26	16,55±0,25	0,71±0,01	34,54±0,52
5	39,85±0,60	35,47±0,53	1,56±0,02	74,47±1,12
6	23,81±0,36	23,48±0,35	0,62±0,01	47,91±0,72
7	39,54±0,59	30,47±0,46	1,24±0,02	74,47±1,12
8	40,30±0,60	43,17±0,65	2,53±0,04	86,0±1,29
9	50,37±0,76	50,58±0,76	3,66±0,05	104,41±1,57
10	43,77±0,66	44,95±0,67	2,29±0,03	91,01±1,37

Using high pressure liquid chromatography, it was confirmed that the content of total carbohydrates in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits ranges from 34.54 to 104.41 g/kg, in the presented samples, glucose 16.55-50.58 g/kg and fructose 17.28-50.37 g/kg. predominate. There is a small amount of sucrose 0.62 - 3.66 g/kg. Samples from Keda have a relatively high content of carbohydrates, the total amount of carbohydrates is 104.41 g/kg, fructose:glucose:sucrose is represented by the following ratio of 0.99:1:0.07, while the Kobuleti samples have a low value of 34.54 g /kg, where fructose:glucose:sucrose are presented in a ratio of 1:0.96:0.04 (Table 5, Fig. 29, Diagram 2).

In the study of organic acids by high-pressure liquid chromatography, four acids were identified: malic, citric, tartaric, and succinic. Quantitative analysis confirmed that the predominant acid is malic acid, the content of which ranges from 275-501 mg/100 g (Table No. 6, Figure 30).

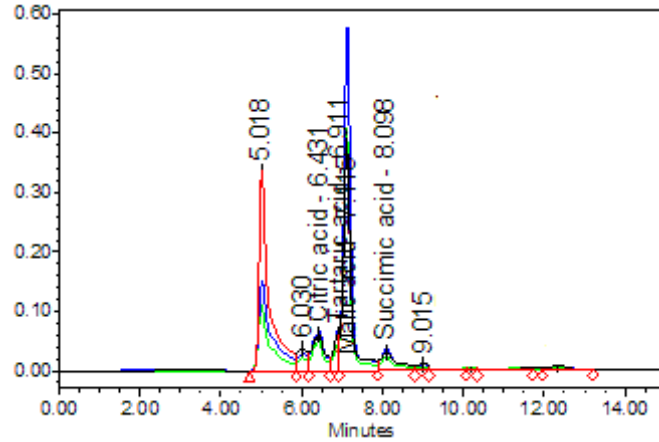


Figure 30. Total chromatogram of organic acids of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit

Quantitative content of organic acids in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits

Table №6

Sample №	citric acid mg/100g	malic acid mg/100g	tartaric acid mg/100g	succinic acid mg/100g
1	79±1,58	501±10,02	30±0,60	135±2,70
2	59±1,18	382±7,64	53±1,06	91±1,82
3	42±0,84	275±5,50	48±0,96	94±1,88
4	28±0,56	355±7,10	47±0,94	133±2,66
5	45±0,90	311±6,22	114±2,28	87±1,74
6	60±1,20	277±5,54	108±2,16	76±1,52
7	73±1,46	427±8,54	33±0,66	165±3,30
8	26±0,52	314±6,28	70±1,40	156±3,12
9	82±1,64	425±8,50	110±2,20	167±3,34
10	96±1,92	438±8,76	117±2,34	175±3,50

Compared with foreign literature data, the quantitative content of carbohydrates is almost the same. Fructose, glucose and sucrose were identified in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits, of which fructose and glucose predominate, as in our samples (Diagram 2). As for organic acids, according to the literature data, six organic acids have been identified in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits. We identified only four, namely malic acid, citric acid, tartaric acid, and succinic acid, where malic acid also dominated.

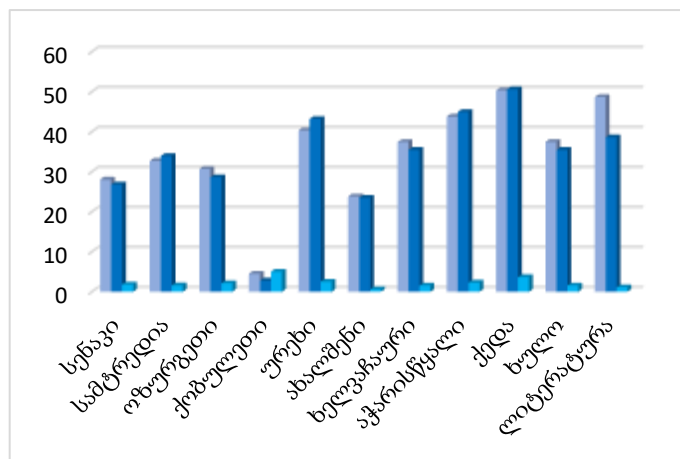


Diagram 2. Quantitative ratio of carbohydrates

2.2.4. Qualitative and quantitative analysis of carotenoids in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb.

In the study of carotenoids in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb (Fig. 31) using ultrahigh pressure liquid chromatography UPLC-PDA, MS and spectral methods, as well as comparing with literature data, the following compounds were identified:

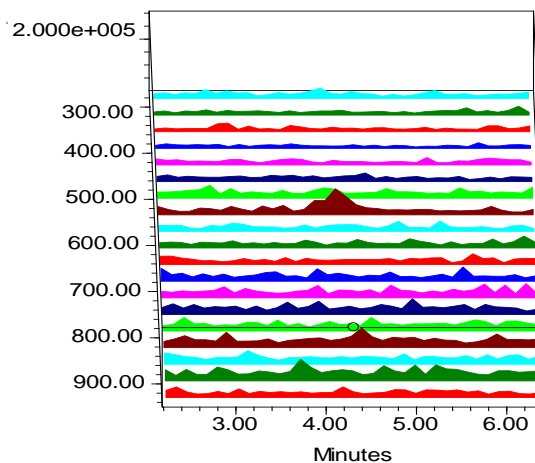


Fig. 31. UPLC-PDA-MS 3D chromatogram of carotenoids of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit
Substance 25 $[M]^+$ m/z 536,48 is fixed on the chromatogram with a retention time of 4,251 with an absorption maximum at 472.4 nm, according to the literature, substance 25 corresponds to lycopene (Figure 32).

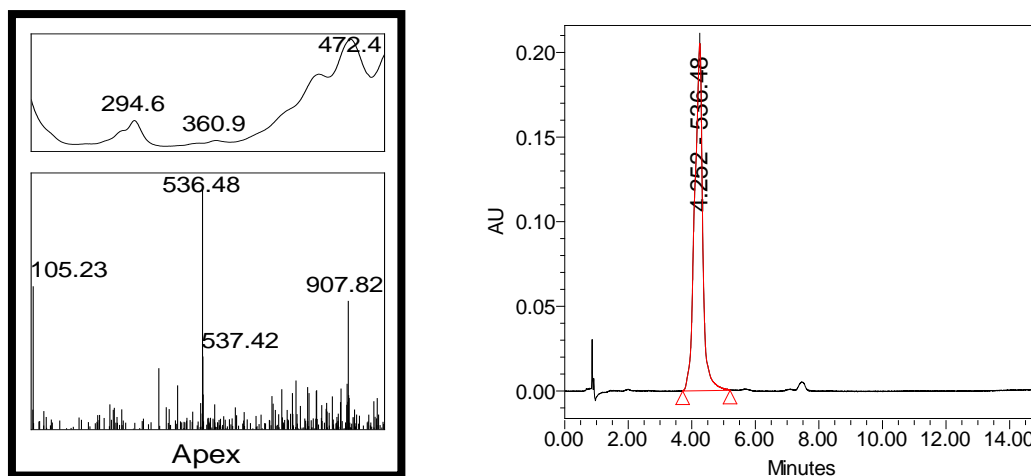


Fig. 32. UPLC-PDA- MS spectrum of substance 25.

Substance 26 $[M+H]^+$ m/z 537,42 is recorded on the chromatogram with a retention time of 7,468 with 2 absorption maxima at 453.1 and 379.8 nm, substance 26 corresponds to β -carotene in the literature (Figure 33).

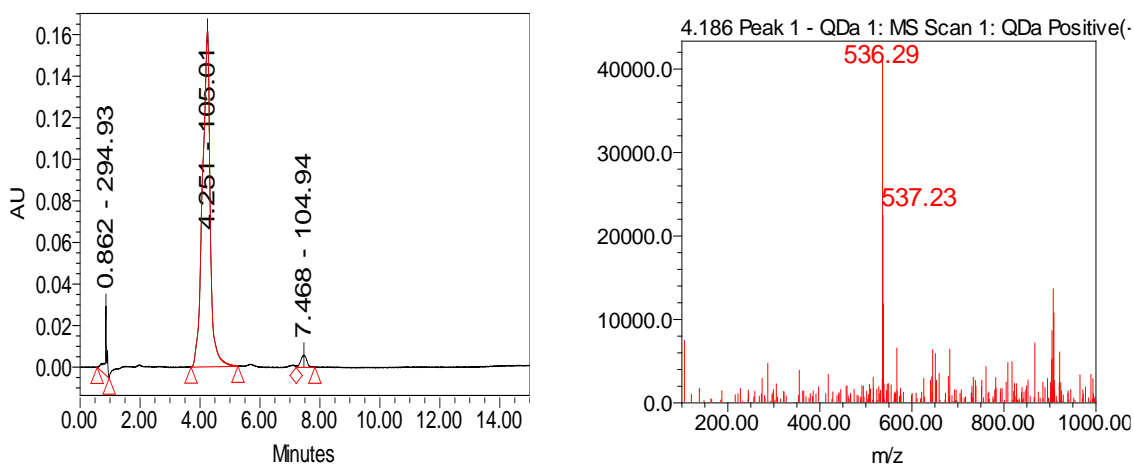


Fig. 33. UPLC-PDA- MS spectrum of substance 26.

Quantitative content of total carotenoids, lycopene and β -carotene in *Elaeagnus umbellata* Thunb. fruit was determined by spectral method.

**Quantitative analysis of total carotenoids, lycopene and β -carotene in *Elaeagnus umbellata*
Thunb. fruit.**

Table №7

sample №	lycopene mg/100g	β carotene mg/100g	Common carotenoids mg/100g
1	43,25±0,87	0,39±0,01	54,06±1,08
2	42,85±0,86	0,35±0,01	53,56±1,07
3	47,15±0,94	0,37±0,01	54,44±1,09
4	41,08±0,82	0,31±0,01	50,35±1,01
5	37,34±0,75	0,25±0,01	45,68±0,91
6	46,08±0,92	0,49±0,01	54,10±1,08
7	46,54±0,93	0,52±0,01	54,68±1,09
8	47,58±0,95	0,54±0,01	56,23±1,12
9	48,58±0,97	0,63±0,01	56,53±1,13
10	49,21±0,98	0,73±0,01	57,01±1,14

The content of lycopene in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb ranges from 37.34–49.21 mg/100 g, β -carotene 0.25–0.73 mg/100 g, total carotenoids 45.68–57.01 mg/100 g raw weight. In a sample taken from the territory of Urekhi, these compounds were found in low content: lycopene 37.34 mg/100 g, β -carotene 0.25 mg/100 g, carotenoids 45.68 mg/100 g raw weight, while the sample from Khulo was characterized by a high content of lycopene 49.21 mg/100 g, β -carotene 0.73 mg/100 g, carotenoids 57.01 mg/100 g per raw weight (table No. 7).

3. Optimization of the method of ultrasonic extraction of lycopene from the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb, common in Western Georgia, using a green extractant.

The yield and quality characteristics of biologically active substances isolated from plant materials significantly depend on the method and conditions of extraction. There are several methods for the extraction of carotenoids.

Lycopene is obtained from raw materials by conventional extraction - using a large number of different organic solvents over a long period of time. High temperature (more than 80°C), light, oxygen, and a long incubation period reduce its yield.

Therefore, the "green" extraction method is relevant, which is environmentally friendly, high yield and economical. It can be used for extraction using ultrasound, microwave radiation or high hydrostatic pressure.

The aim of our study was to extract lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits taken in the coastal zone of Western Georgia (0-200 m above sea level) and in the highland region (200 m above sea level), using an organic solvent and "green extractant" - sunflower oil, and its quantitative analysis; to optimize methods and conditions of extraction and to determine the nutritional characteristics of oil enriched with lycopene.

In the first case, the usual extraction of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits was carried out with a mixture of hexane: acetone: methanol (2: 1: 1). In the extract, the quantitative content of lycopene was determined,

The results of the study are shown in Table No. 8. The content of lycopene in lowland samples ranges from 35.25 to 37.58 mg/100 g, and in high mountain samples from 46.08 to 60.21 mg/100g.

When extracting lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits with a mixture of hexane: acetone: methanol, its yield was mg/100.

Table 8.

Altitude above sea level	Area Name	Lycopene yield mg/100 g with hexane:acetone:methanol under extraction conditions
0-200 m	Kobuleti	35,25±0,87
	Khelvachauri	33,15±0,94
	Acharistskali	37,58±0,95
From 200 m - above	Keda	46.08±0,88
	Shuakhevi	49,58±0,97
	Khulo	60,21±0,98

And in the second case, lycopene was extracted by ultrasonic extraction using a “green” extractant. During the extraction, the optimal values of temperature and time were determined, as well as the optimal ratio of solid mass and solvent.

A samples of crushed fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb were taken in different amounts per 100 ml of solvent (1:100, 2:100 and 3:100) and extracted at intervals of 5, 10 and 15 minutes. The temperature, ultrasound power, and amplitude level varied from 20 to 50°C, 60–120 W, and ranged from 20 to 60%. The content of lycopene in the samples was determined by the spectrophotometric method. With an increase in the mass of raw materials, the yield of lycopene decreased by 30% (34.53 mg/100 g). The maximum extraction yield was at a solids to solvent ratio of 1:50. The process was effectively carried out in a pulsed mode, in comparison with the continuous mode, the optimum temperature for the extraction of lycopene was determined as 30°C and the ultrasound power was 85 W.

To identify lycopene in the organic extract and the "green" extract, we scanned the sample using ultraviolet and infrared spectroscopy (Fig. 34,35,36,37).

In both cases, the spectral data obtained corresponded to the literature data for lycopene. The characteristic absorption maximum for lycopene is 472 nm.

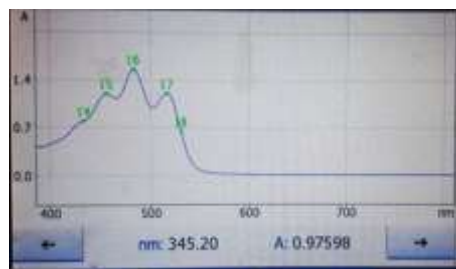


Figure 34

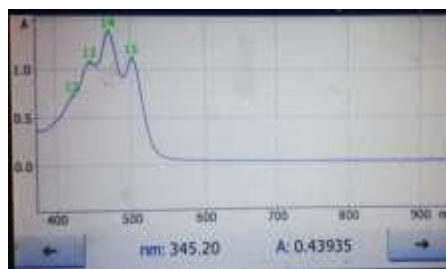


Figure 35

Fig. 34. UV absorption spectrum of lycopene extracted with a mixture of hexane:acetone:methanol (2:1:1) from the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb, collected in the coastal zone of the sea (0-200 m above sea level);

Fig. 35. UV absorption spectrum of lycopene extracted with a mixture of hexane:acetone:methanol (2:1:1) from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits collected in a high mountain region (200 m above sea level);

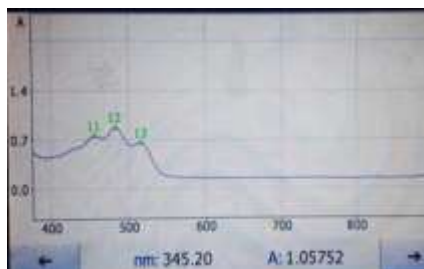


Figure 36

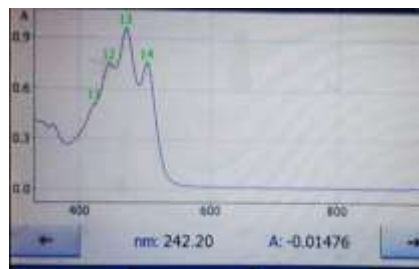


Figure 37

Fig. 36. UV absorption spectrum of lycopene in the "green" extract of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits taken in the coastal zone (0-200 m above sea level);

Fig. 37. UV absorption spectrum of lycopene in the "green" extract of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits, taken in a high-mountainous region (200 m above sea level);

In the infrared spectrum, the peaks at 1468 cm⁻¹, 2920 cm⁻¹ and 2950 cm⁻¹ belong to the vibrations of the CH₂ and C-H groups, which is typical for the structure of lycopene (extracted into fat) (Fig. 38).

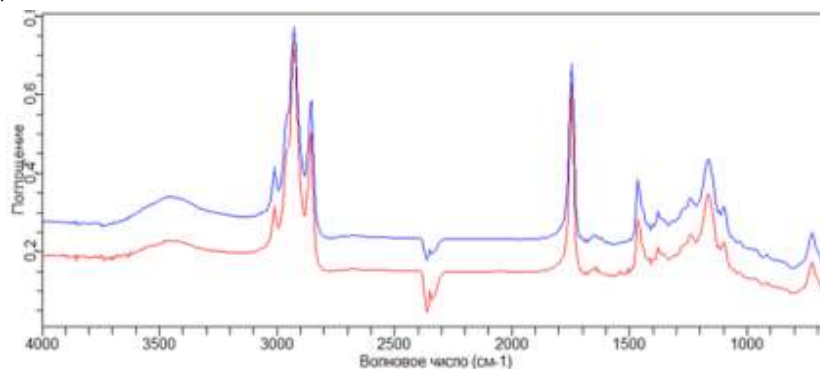


Fig. 38. Infrared spectrum of lycopene in the "green" extract of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits (sample No. 1 - Adjaristskali fruits and sample No. 2 - Khulo fruits)

The percentage yield of lycopene in the "green" extract of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit

Table 9.

Sample – fruit of <i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb	lycopene yield mg/100g		lycopene yield in vegetable oil %
	Extraction with a mixture of hexane:acetone:methanol	"green" extraction	
0-200 m, Acharistskali sample	37,58	32,23	85,76
Above 200 m, Khulo sample	60,21	52,0	86,36

Under optimal conditions for ultrasonic extraction with a "green" extractant, the yield of lycopene was 85% of the total content (Table 9).

In each sample of lycopene-containing oil, the following characteristics were determined: acid value, peroxide value, n-anisidine index, and antioxidant activity. These characteristics were also determined during the shelf life of the oil (1-3 months) (Fig. 3-6).

The acid number of the control oil sample and the oil sample enriched with lycopene is almost the same: 0.06–0.061 mg KOH/g fat. The peroxide index in the oil is 1.20 meq/kg, and in the lycopene-enriched oil it is 1.25 (sample no. 1) and 1.21 (sample no. 2) meq/kg.

N-anisidine index: in control sample - 3.5, in oil enriched with lycopene sample - 3.7 (sample No. 1) and 3.6 (sample No. 2) (Table 10).

When determining the antioxidant activity, oil samples enriched with lycopene were characterized by high activity, namely, 2 times higher than the control oil sample. In the case of the lycopene enriched oil, 0.42 (sample #1) and 0.38 mg (sample #2) of the oil were sufficient to inhibit 0.1 H DPPH by 50%, while 0.85 mg of the control oil inhibited the radical by 50%. (Table 10).

Physical and chemical parameters of control oil and oil enriched with lycopene

Table 10.

Qualitative characteristics	Control oil sample and oil enriched with lycopene		
	Control oil sample	oil enriched with lycopene (Sample №1)	oil enriched with lycopene (Sample №2)
acid number (mg KOH/g of fat)	0,060	0,061	0,060
Peroxide number meq/kg	1,20	1,25	1,21
N-anisidine	3,5	3,7	3,6
Antioxidant activity, mg sample 0.1H DPPH for 50% inhibition	0,85	0,42	0,38

The quality indicators of lycopene in oil enriched with lycopene were determined during 3 months of storage with monthly monitoring of characteristics. In the control sample, the acid

number index varies within 0.06-0.131 units. within 1-3 months, while the change in oil enriched with lycopene is less; the acid number in the case of sample No. 1 and sample No. 2 was determined to be 0.061-0.097 and 0.06-0.07 mg KOH/g fat (diagram 3). The value of n-anisidine also changes (diagram 4).

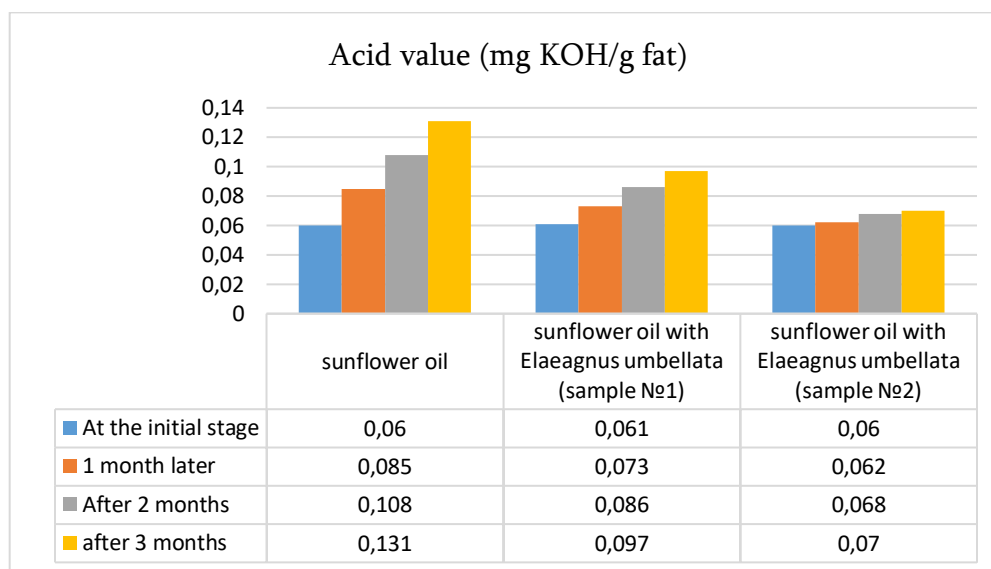


Diagram 3. Acid number (mg KOH/g fat) of control oil and lycopene-enriched oil during storage

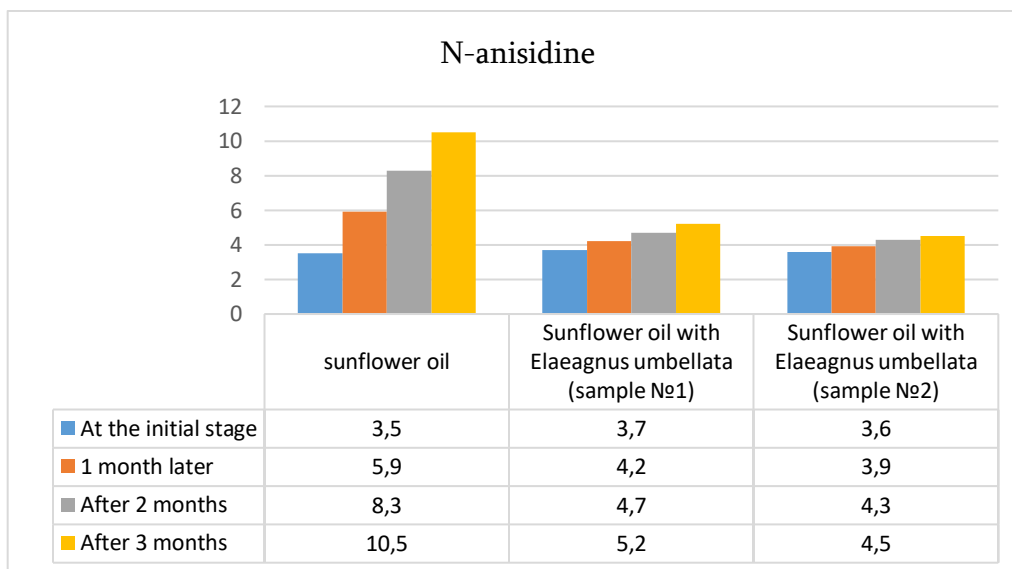


Chart 4. N-anisidine number of control oil and lycopene-enriched oil during storage period.

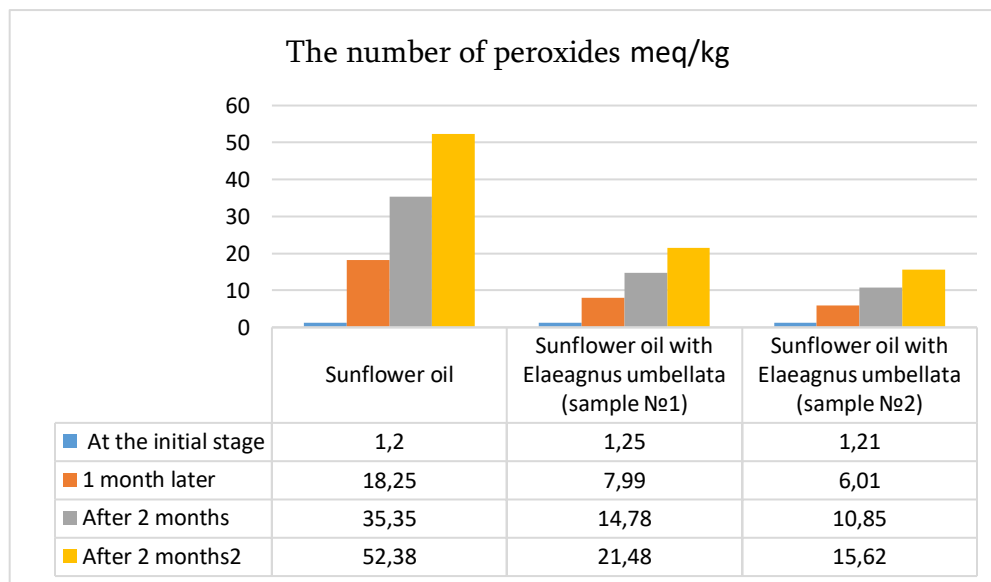


Diagram 5. Peroxide number (meq/kg) of control oil and lycopene-enriched oil during storage.

In the control oil sample, the indicator of the peroxide value significantly worsens during the storage period (52.38 meq/kg), in the oil enriched with lycopene, the indicator is almost 2 times lower (15.82-21.48 meq/kg) (Chart 5).

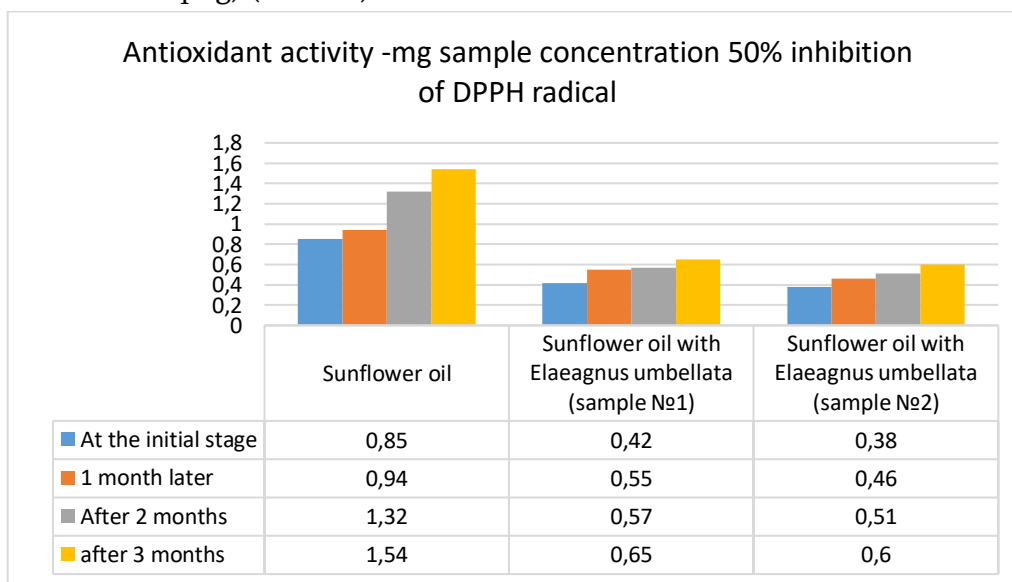


Diagram 6. Antioxidant activity of control oil and oil enriched with lycopene during storage.

Determination of antioxidant activity by inhibition of DPPH radicals showed a significant difference between control and lycopene enriched oil samples. The level of antioxidant activity

of lycopene-enriched oil is relatively stable over 3 months of storage. At the end of the storage period in the control oil, the activity decreases by almost 2 times (Diagram 6).

By selecting the optimal parameters for the extraction of lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits with a “green” extractant, the ultrasonic extraction method was used to successfully extract lycopene. Ultrasonic extraction was chosen to extract lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds, and the “green” extractant, sunflower oil, was used as a solvent. The optimal conditions for ultrasonic extraction were determined: the ratio of the solid mass and the solvent was 1:50, the temperature was 30°C, the amplitude was 40%, and the voltage was 85 W. Extraction should be carried out in a pulsed mode, the duration of extraction is 10 minutes.

Compared to the theoretical yield, the yield of lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb in vegetable oil was approximately 85%. Infrared spectroscopy and spectroscopy in the ultraviolet and visible regions were used to identify and quantify lycopene in the resulting product. To compare the quality indicators of the product enriched with lycopene at the initial and subsequent stages of storage, the following were determined: acid number (mg KOH/g fat), peroxide number meq/kg, N-anisidine and antioxidant activity. Comparing the obtained results, we can conclude that the enrichment of oil with lycopene has a positive effect on the quality of the oil, namely: the curve of the change in acid number during the storage period is linear. It has also been confirmed that the oxidation processes in lycopene-enriched sunflower oil are relatively slower than in the control sample. The level of N-anisidine, which was determined in all three samples at the initial stage by 3.5-3.7 units, after 3 months of storage changed. The level of N-anisidine in the oil enriched with lycopene decreased by 2 times (4.5-5. 2) than in the control sample (10.5). The numerical indicator of the antioxidant activity of oil samples enriched with lycopene is almost 2 times lower than that of the control oil sample.

Ultrasonic extraction of lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb with a "green" extractant and its subsequent universal use is an efficient, environmentally friendly and economical approach to natural resources.

4. Chromatographic analysis of cations in fruits and leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb using a conductometric detector.

Minerals are essential substances for life. They are part of some hormones, enzymes, vitamins and other bioactive molecules involved in important life processes. Minerals cannot be produced by a living organism and therefore must be regularly included in the diet.

In the literature, the content of such cations as zinc, manganese, potassium, phosphorus, iron, magnesium and calcium is determined by wet distribution methods, atomic absorption spectrophotometer and flame photometer. As a result of research, the following content of mineral substances was established in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb: zinc Zn 3.7 µg/g, manganese Mn 5.3 µg/g, iron Fe 53.1 µg/g, calcium 91.3 µg/g, calcium 162, 4 mcg/g. magnesium Mg, 183.3 µg/g phosphorus P and 232.1 µg/g potassium K.

The content of cations in the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb taken from different regions of Georgia (at different altitudes above sea level) was determined by chromatography.

The study of cations was carried out by the chromatographic method using a conductometric detector. The standards were: lithium hydroxide monohydrate (Li^+), sodium chloride (Na^+), potassium chloride (K^+), magnesium hydrate (Mg^{2+}), calcium nitrate tetrahydrate (Ca^{2+}), EDTA (Serva). Instrument data and mode: iso cratic pump (Isocratic HPLC pump -Waters 1515), detector (Waters 432 -Conductivity), chromatography column IC-PakCationMD, eluent 3 mM HNO_3 /0.1 mM EDTA, eluent conductivity $1250 \pm 50 \mu\text{S}$, base sensitivity 2000 μS , integrator sensitivity 0.01 μS , column temperature 35°C, negative polarity. Before injection, deionized water was added to the analytical samples in a ratio of 1:20 (dilution factor $F=20$), after homogenization and centrifugation, it was filtered through a 0.45 μm filter.

Compounds were quantitatively counted using calibration curves built on a standard sample; the identified data of the same samples was compared with the chromatographic one.

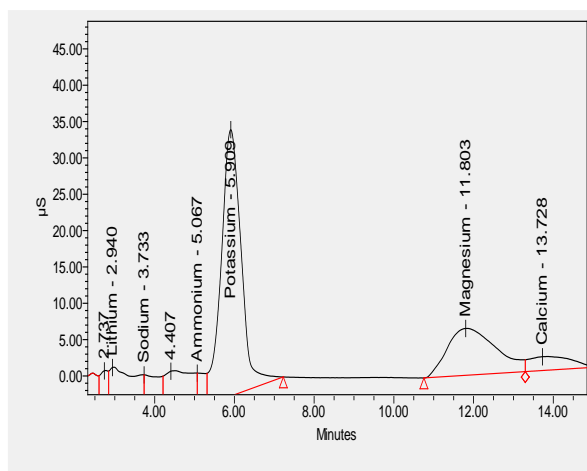


Figure 39. Chromatogram of cations of *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit

Chromatographic analysis of cations in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruit

Table №11

Simple №	Li ⁺ ppm	Na ⁺ ppm	K ⁺ ppm	Mg ²⁺ ppm	Ca ²⁺ ppm
1	12,46±0,25	40,24±0,80	185,22±3,70	43,21±0,86	75,95±1,52
2	48,92±0,98	17,88±0,36	295,37±5,91	69,16±1,38	109,72±2,19
3	45,64±0,91	18,58±0,37	333,30±6,67	76,18±1,52	112,46±2,25
4	38,91±0,78	19,06±0,38	220,98±4,42	52,41±1,05	95,7±1,91
5	41,46±0,83	19,54±0,39	331,87±6,64	60,31±1,21	101,35±2,03
6	53,07±1,06	40,12±0,80	351,94±7,04	70,59±1,41	103,94±2,08
7	17,08±0,34	13,72±0,27	187,59±3,75	34,17±0,68	109,06±2,18
8	19,3±0,39	30,04±0,60	206,68±4,13	38,12±0,76	78,14±1,56
9	30,38±0,61	19,76±0,40	216,72±4,33	43,97±0,88	120,08±2,40
10	41,82±0,84	22,5±0,45	359,64±7,19	80,72±1,61	80,49±1,61

Using the chromatography method, the following cations were observed in fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb: lithium 17.08-48.92ppm, sodium 13.72-40.24ppm, potassium 185.22-359.64ppm, magnesium 34.17-80.72ppm and calcium 75.95-120.08ppm. Among them, potassium 185.22-359.64ppm was dominant, while ammonium 6.98-29.74ppm was recorded in the smallest amount (Table No. 11, Figure 39).

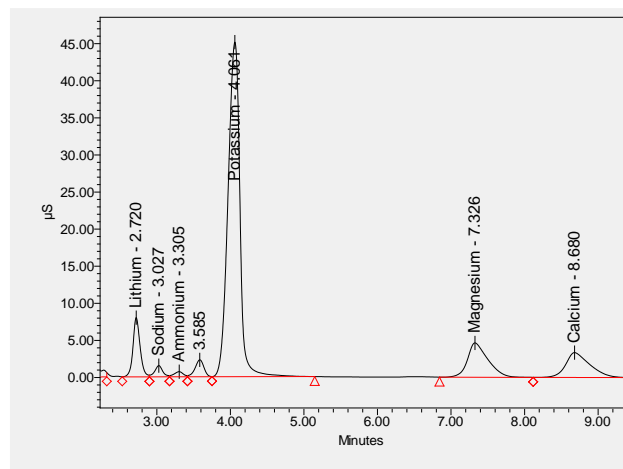


Figure 40. Chromatogram of cations of *Elaeagnus umbellata* Thunb leaf

Chromatographic analysis of cations in *Elaeagnus umbellata* Thunb leaves

Table №12

Sample №	Li ⁺ ppm	Na ⁺ ppm	K ⁺ ppm	Mg ²⁺ ppm	Ca ²⁺ Ppm
1	91,875±1,84	61,28±1,23	459,37±9,19	29,01±0,58	14,33±0,29
2	80,595±1,61	56,99±1,14	402,97±8,06	27,16±0,54	12,94±0,26
3	88,125±1,76	75,67±1,51	440,62±8,81	123,45±2,47	62,38±1,25
4	84,63±1,69	61,75±1,24	423,15±8,46	16,36±0,33	9,39±0,19
5	71,19±1,42	62,04±1,24	355,95±7,12	71,45±1,43	53,44±1,07
6	86,49±1,73	68,87±1,38	432,45±8,65	71,12±1,42	53,87±1,08
7	65,98±1,32	63,01±1,26	329,92±6,60	112,77±2,3	40,86±0,82
8	75,06±1,50	64,53±1,29	375,35±7,51	73,24±1,46	21,56±0,43
9	76,84±1,54	59,89±1,20	484,22±7,68	54,52±1,09	42,34±0,85
10	96,79±1,94	67,25±1,35	683,97±9,68	82,89±1,66	61,23±1,22

The following cations were observed during the research of *Elaeagnus umbellata* Thunb leaves: lithium 65,985-96,79ppm, sodium 56,99-75,67ppm, potassium 329,92-683,97ppm, magnesium 16,36-123,45ppm and calcium 9,39-61,23ppm. Among them, potassium was dominant at 329.92-683.97ppm, and the smallest amount was calcium at 9.39-61.23ppm (Table No. 12, Figure 40).



Fig. 42. Original and crushed seeds of *Elaeagnus umbellata* Thunb.

At the first stage of the superfluid extraction of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds, fatty substances were obtained from the plant seeds (fraction 1). The optimal extraction conditions were determined: pressure - 300 bar, temperature - 50°C, carbon dioxide supply rate 30 g/min, extraction time 120 minutes. The yield of fat obtained from *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds was 8% (Table 13, Fig. 43).

Fractions obtained by super fluid extractor

Table N 13

N	Characterization of fractions
1	120 minutes 300 bar at 50°C carbon dioxide at a rate of 30g/min; (fat intake)
2	60 minutes at 350 bar at 50°C carbon dioxide at a rate of 30 g/min;
3	60 minutes at 500 bar at 50°C carbon dioxide at a rate of 30 g/min;
4	40 minutes at 300 bar at 60°C carbon dioxide at a rate of 30 g/min; 10% ethanol
5	60 minutes at 300 bar at 60°C carbon dioxide at a rate of 30 g/min; 20% ethanol
6	60 minutes at 300 bar at 60°C carbon dioxide at a rate of 30 g/min; 70% ethanol
7	90 minutes at 300 bar at 60°C; 96% ethanol at 6g/min
8	80 minutes at 300 bar at 80°C; 96% ethanol in 6g/min;
9	500 bar at 80°C carbon dioxide at a rate of 30 g/min; washed fraction
10	40 minutes at 300 bar at 100°C; 96% ethanol in 6g/min;
11	20 minutes at 300 bar at 100°C; 96% ethanol in 6g/min; + carbon dioxide at a rate of 30 g/min;
12	30 minutes at 300 bar at 110°C; 96% ethanol in 6g/min;



Figure 43. SFE extraction fractions of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds.

At the second stage, there were carried out the extraction of lipophilic compounds - carotenoids (fractions 2 and 3), where the optimal extraction conditions were determined; Extraction time 120 minutes, operating pressure 300 bar and temperature 50° C., carbon dioxide feed rate 30 g/min (Table 13).

At all stages of the superfluid extraction of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds, spectral scanning of fractions in the ultraviolet and visible regions was performed (Fig. 44). In each fraction, the quantitative content of compounds was determined.

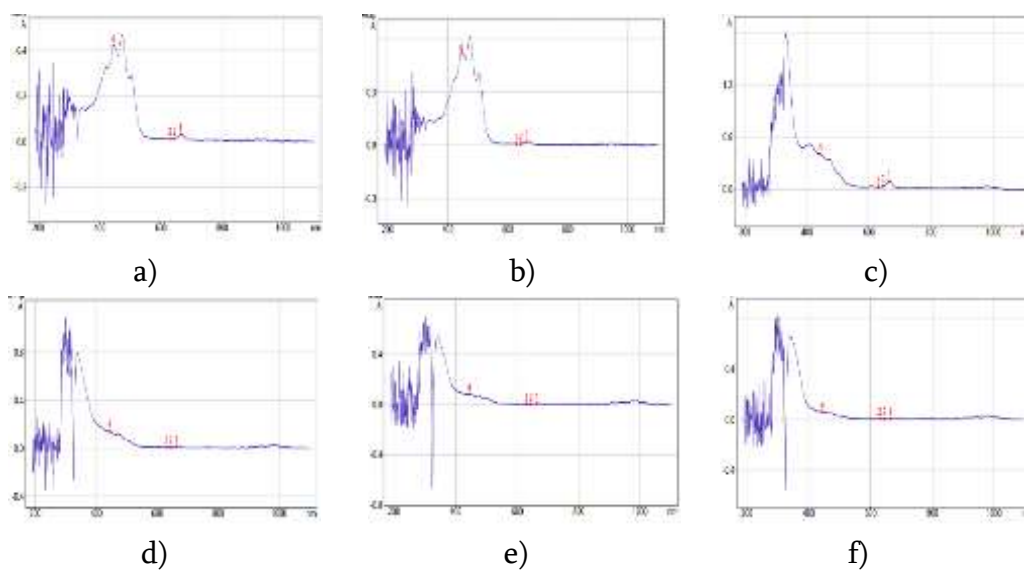


Fig. 44. Scanning of UV-VIS spectra of extracts obtained by ultraviolet extraction of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds. a) fraction N2, b) fraction N3, c) fraction N4, d) fraction N5, e) fraction N6, f) fraction N7.

The quantitative method was used to determine the quantitative content of carotenoids in extracts (2-4 fractions) obtained by superfluid extraction of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds.

Quantitative analysis of carotenoids in SFE extracts of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds

Table 14

Extraction conditions		
Pressure, bar	Temperature, °C	Carotenoids mg/ml
350	40	0,15
350	50	0,22
350	60	0,09

The optimal extraction conditions for maximum extraction of carotenoids were: time 120 minutes, pressure 350 bar and temperature 50°C. The content of carotenoids was 0.22 mg/ml. At extraction temperature of low was 40°C and high - 60°C, at pressures of 250 and 350 bar, the yield of carotenoids was relatively lower (Table 14).

At the third stage of extraction, the extraction of phenolic compounds (fractions 4–12) was carried out, where ethyl alcohol was added as a cosolvent. For extraction, different concentrations of ethyl alcohol were tested (10, 20, 70 and 96%), 96% ethyl alcohol was recognized as optimal.

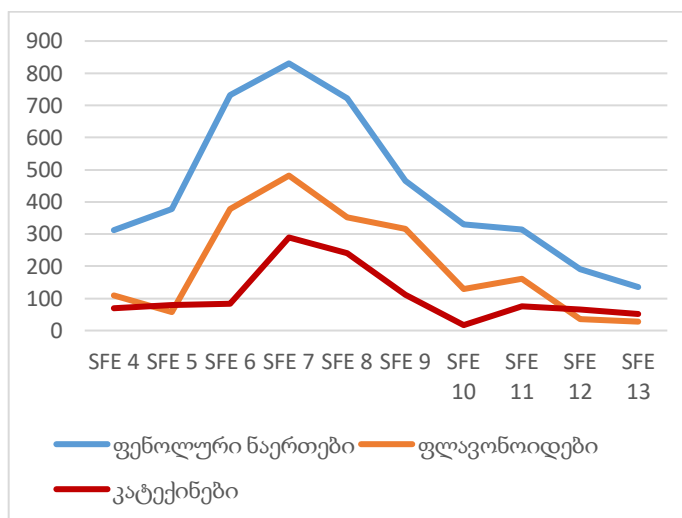


Diagram 8. Quantitative content of phenolic compounds, flavonoids and catechins in SFE extracts of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds

The curve for the extraction of phenolic compounds - the sum of phenols, flavonoids and catechins from the 6th fraction is ascending, it reaches a maximum in the 7th fraction and the

curve is descending in the 8th fraction, due to an increase in the temperature parameter (80°C). After the completion of the 8th fraction, i.e. after 180 min under high pressure (500 bar) there was a complete extraction of phenolic compounds from the extractor, which was also determined by the maximum concentration of ethanol (diagram 8).

Comparing the results, we can conclude that the optimal duration of extraction of phenolic compounds is determined to be 150 min, operating pressure 300 bar and temperature 60°C, carbon dioxide supply rate 30 g/min (fraction 6-7).

We have conducted a study of flavonol glycosides of these fractions by LC-MS-PDA, which made it possible to identify the following compounds.

Substance 27 [M-H]⁻ m/z 625.21 is fixed on the chromatogram with a retention time of 5.043; according to the literature data, substance 27 corresponds to **Quercetin-O-dihexoside** (Fig. 45).

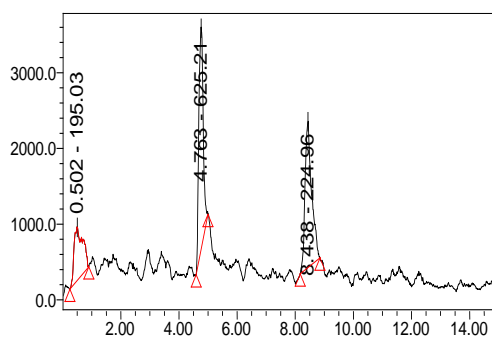


Fig. 45. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 27 - Quercetin-O-dihexoside

Substance 28 [M-H]⁻ m/z 579.13 is fixed on the chromatogram with a retention time of 5.071; according to literature, substance 28 corresponds to **Kaempferol-O-pentosyl(hexoside)** (Figure 46).

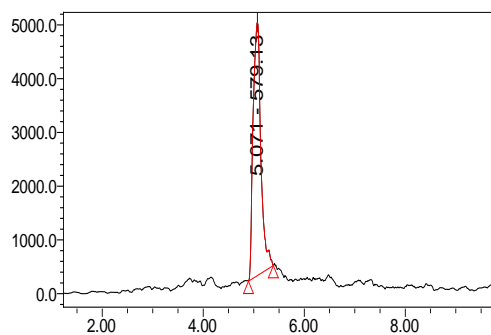


Figure 46. UPLC-PDA-MS spectrum of substance 28 - Kaempferol-O-pentosyl(hexoside)

In addition, in extracts of *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds, as well as fruits and leaves, we have also identified: substance 5 (Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside), substance 11 (Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside), substance 14 (Kaempferol-O-dihexoside), substance 16 (isoramnetin-O-hexoside), substance 19 (isoramnetin-O-pentosyl (hexoside)).

Table №15

Identified compounds and their distribution in different parts of the plant

№	Substance	[M-H] ⁻ m/z	fruit	leaf	Seed
1	Quercetin-O-(pentosyl) hexoside-O-rhamnoside	740,79	+		
2	Isorhamnetin-O-glucuronide derivative	759,01	+		
3	Quercetin-O-(pentosyl)hexoside	594,77	+	+	
4	Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct)	562,87	+	+	
5	Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside	592,85	+	+	+
6	Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside	756,95	+		
7	Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside	581,70	+		
8	Sinapic acid-O-hexoside	385,04	+		
9	Dihydrokaempferol-O-hexoside	448,87	+		
10	Quercetin-O-hexoside	463,32	+		
11	Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside	754,85	+		+
12	Diosmetin-O-dihexoside	622,67	+		
13	2-Methylaconitate derivative	649,48	+		
14	Kaempferol-O-dihexoside	608,79	+		+
15	Kaempferol-O-hexoside	446,85	+	+	
16	Isorhamnetin-O-hexoside	477,10	+		+
17	bis-HHDP-O-glucose	782,50		+	
18	Saccharide	547,05		+	
19	Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside)	608,92		+	+
20	Quercetin-O-dihexoside	625,21			+
21	Kaempferol-O-pentosyl(hexoside)	579,13			+

5.2. The study of compounds of the lipid nature of pshat seeds by infrared spectroscopy and gas-liquid chromatography.

Vegetable oils are an important part of the daily human diet, and they are also used in various preventive, prophylactic and cosmetic products. Vegetable oils contain many useful components, such as unsaturated fatty acids, fat-soluble vitamins, and others that cannot be produced by the human body.

Two methods were used to obtain oil from wheat seeds: Soxhlet extraction (48 hours), using hexane, and extraction with a supercritical fluid extractor, using liquid carbon dioxide. It was determined that lipids make up 7% of the total mass of seeds by Soxhlet extraction, and 8% - by supercritical pressure liquid extraction.

The resulting oils were examined by infrared spectroscopy and gas-liquid chromatography (TRACE™ 1310 Gas Chromatograph - Thermo Scientific).

For studies in the infrared spectrum (from 700 to 4000 nm), an Agilent Cary 630 FT-IR spectrometer was used. Several absorption maxima were observed during the study. Namely, in the range of 3433,8-2855,1 cm^{-1} , which corresponds to the -CH and -OH groups in alcohols; 1747,2-1464,8 cm^{-1} into the group C=O and C=C, 1318,5-1025 cm^{-1} , in which C-O, C-C, C-N, N-O are valence vibrations and N-H, C-H, O-H are deformation vibrations (Fig. 47).

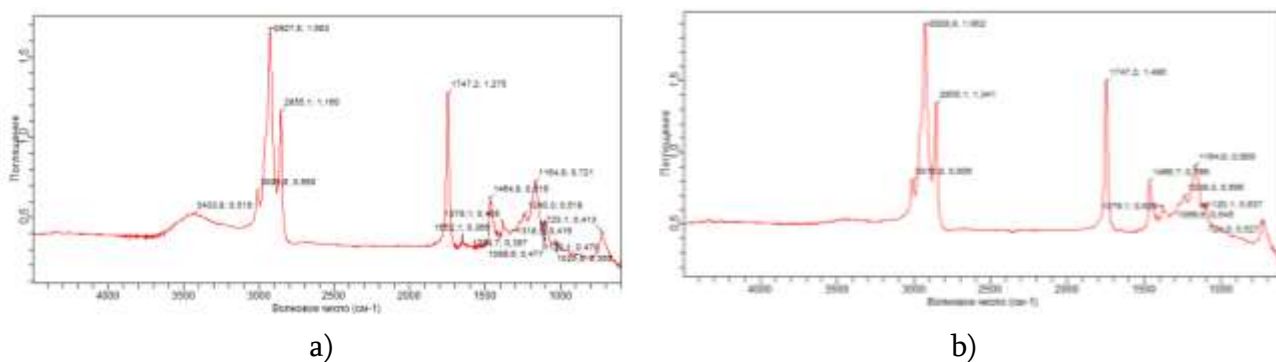


Fig. 47. a) Infrared spectrum of *Elaeagnus umbellata* Thunb seed oil obtained by superfluid extraction; b) Infrared spectrum of *Elaeagnus umbellata* Thunb seed oil obtained by Soxhlet extraction.

We also examined the obtained oil using gas liquid chromatography (gas chromatograph TRACE™ 1310 - Thermo Scientific). Chromatography was carried out on a chromatographic

capillary column DR-5MS-SA Capillary GC Column from Red, 60 m long, 0.25 mm in diameter, and stationary phase particle size 0.25 μm . The stationary phase was 5% diphenyl, 95% methylpolysiloxane.

The samples were filtered for gas-liquid chromatography from mechanical impurities, then centrifuged and 0.5 ml of a 96% alcohol solution of 2 normal KOH was added for esterification, the samples were dissolved in 10 ml of hexane and centrifuged for 10 min at 1000 rpm. The temperature regime of the injector is 250°C, the rate of the mobile phase - helium is 1 ml/min (Fig. 48).

Chromatography was carried out with a temperature gradient. Chromatography was started at 120°C for 5 minutes. At the second step, the temperature was raised to 220° C. at a rate of 20 (° C./min) and chromatography continued for 12 minutes. At the third step, it was raised to 300° C at a rate of 7 (° C./min) and continued at this temperature for 7 minutes. The total chromatography time was 51.43 minutes (fig. 49).



Fig. 48. Injection parameters



Figure 49. Chromatography temperature regime

Chromatographically separated methyl esters of carboxylic acids were detected on an aluminum ionization detector. The detector temperature was 300°C, hydrogen was supplied at a rate of 35 ml/min, air at 350 ml/min, degassing with helium at a rate of 30 ml/min (Fig. 50).



Figure 50. Working mode of the detector

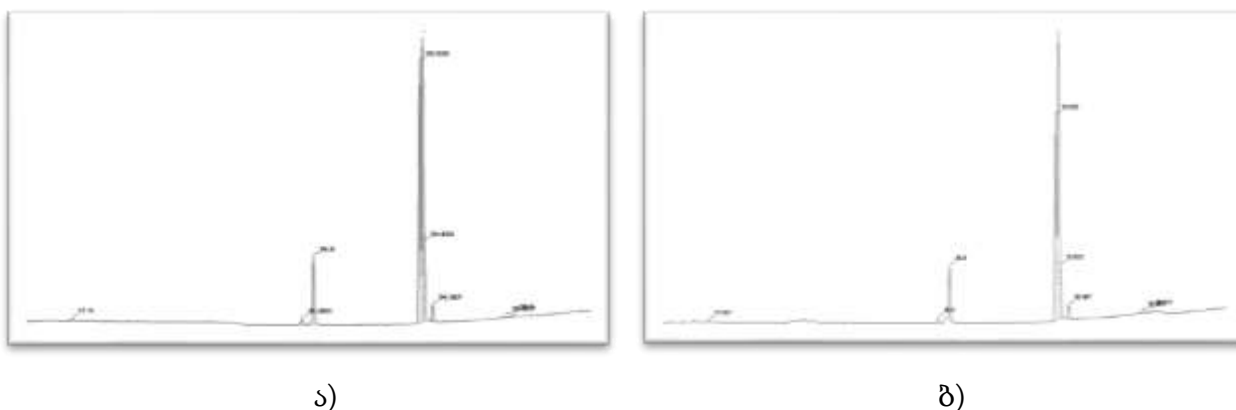


Fig. 51. a) Gas-liquid chromatogram of pshat oil obtained by Soxhlet extraction; b) Gas-liquid chromatogram of pshat oil obtained by superfluid extraction.

The components obtained by chromatography were identified by comparison with a sample of known composition and literature data (Fig. 51).

Chromatographic studies have shown that the oil, obtained from the seeds of *Elaeagnus umbellata* Thunb mainly, contains the following fatty acids: tetradecanoic acid (C14:0), palmitoleic acid (C16:1), palmitic acid (C16:0), linoleic acid (C18:2n6c) (omega-6), oleic acid (C18:1n9c), alpha-linolenic acid (omega-3) (C18:3n3), stearic acid (C18:0), cis-13-eucosenoic acid (C20:1), arachidic acid (C20:0) (Table 16).

Component composition of carboxylic acids

Table №16

№	Component name	Retention time (min)	extracted by Soxhlet, %	SFE fraction, %
1	Tetradecanoate acid methyl ester (C14:0)	11.583	0,354±0.009	0.259±0.006
2	Palmitoleic acid methyl ester (C16:1)	26.183	0.856±0.021	0.738±0.018
3	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	26.933	10.030±0.251	8.745±0.219
4	Linoleic acid methyl ester (C18:2n6c)	33.617	35.496±0.887	33.663±0.842
5	Oleic acid methyl ester (C18:1n9c)	33.817	43.342±1.084	48.170±1.204
6	α -Linolenic acid methyl ester (C18:3n3)	34.050	7.140±0.0.179	5.752±0.144
7	Stearic acid methyl ester (C18:0)	34.467	2.159±0.054	2.009±0.050
8	<i>cis</i> -13-Eicosenoic acid methyl ester (C20:1)	39.017	0.227±0.006	0.267±0.007
9	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	39.583	0.396±0.010	0.398±0.010

In conclusion, we can say that 90.0% of the oil, obtained from *Elaeagnus umbellata* Thunb seeds, is C18 carboxylic acids, oleic acid (C18:1n9c) predominates, 43.342%-48.170%. Importantly, castor oil contains linoleic acid, alpha-linolenic acid, cis-13-eucosenoic acid, and arachidic acid, which are the main omega-3 and omega-6 fatty acids (Table 16).

Conclusion

1. We have studied the technical, physical and chemical characteristics of the fruits of *Elaeagnus umbellata* Thunb. The fruits of the Ozurgeti and Keda varieties are distinguished by the best size, weight and volume, while the Keda and Khulo samples have good biochemical indicators (dry matter, acidity, sugar-acid index).
2. In the fruits, leaves and seeds of *Elaeagnus umbellata* Thunb, there have been identified 21 phenolic compounds by UPLC-PDA, MS method, including 16 substances in fruits: Quercetin-O-(pentosyl) hexoside-O-rhamnoside, Isorhamnetin-O-glucuronide derivative, Quercetin-O-(pentosyl)hexoside, Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct), Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside, Quercetin-O-(pentosyl)hexoside-O-hexoside, Diosmetin-8-C-hexoside-C-hexoside, Sinapic acid-O-hexoside, Dihydrokaempferol-O-hexoside, Quercetin-O-hexoside, Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside, Diosmetin-O-dihexoside, 2-Methylnonate derivative, Kaempferol-O-dihexoside, Kaempferol-O-hexoside, Isorhamnetin-O-hexoside; in the leaf - 7 substances, 4 of them (Quercetin-O-(pentosyl)hexoside, Sinapic acid-O-pentosyl(hexoside) (formate adduct), Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside, Kaempferol-O-hexoside) are similar to the fruit. and 3 different ones: bis-HHDP-O-glucose, Saccharide, Isorhamnetin-O-pentosyl(hexoside). 7 compounds have been identified in the seeds, 4 of them are found in the fruit (Kaempferol-O-(coumaroyl)hexoside, Kaempferol-O-dihexoside-O-rhamnoside, Kaempferol-O-dihexoside, Isorhamnetin-O-hexoside, one substance in the leaf isorhamnetin-O-pentosyl (hexoside) and 2 different compounds: Quercetin-O-dihexoside, Kaempferol-O-pentosyl(hexoside) only in the seed.
3. The quantitative content of total phenols, flavonoids and catechins in the fruits and leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb has been determined. The amount of phenolic compounds in the plant fruits ranges from 209.18 to 520.63 mg/100 g, flavonoids from 112.06 to 338.62 mg/100 g and catechins from 76.54 to 160.92 mg/100 g (on raw weight). The amount of phenolic compounds in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb ranges from 1936.40 to 4058.00 mg/100 g, flavonoids from 1355.25 to 2827.59 mg/100 g, catechins from 563.26 to 1174.03 mg/100 g (on raw weight).

Quantitatively, in comparison with the fruits, almost 5 times higher norm of compounds was observed in the leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb. Their antioxidant activity was determined. The value in fruits ranges from 10.71–21.35, and in leaves - within 1.13–3.04 (50% inhibition mg of the sample).

4. Three carbohydrates - fructose, glucose, sucrose - have been isolated and identified from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits. The content of total carbohydrates ranges from 34.54 to 104.41 g/kg; amount from 0.62 to 3.66 g/kg. Compared with foreign literature data, the quantitative content of carbohydrates is almost the same.

5. Four organic acids have been identified from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits: malic, citric, tartaric, and succinic. Their quantitative content was determined, the dominant acid is malic acid, which ranges from 165 to 955 mg/100g.

6. The qualitative and quantitative content of carotenoids in *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits was studied. Two carotenes have been identified: lycopene and β -carotene. When analyzed quantitatively, a sample taken from the Khulo region showed high levels of lycopene at 49.21 mg/100 g, β -carotene at 0.73 mg/100 g, and total carotenoids at 57.01 mg/100 g (on raw weight). An ecological, safe and optimal method for extracting lycopene from pshat fruits was chosen - ultrasonic extraction with a "green" extractant. Optimal conditions are determined. The practical yield was 85% of the original.

8. In the obtained product at the beginning and after storage, lycopene was identified and quantified by infrared, ultraviolet and visible spectroscopy; the following were determined: acid number (mg KOH / g fat), peroxide value meq / kg, n-anisidine and antioxidant activity. By comparing the results obtained, it has been established that the ultrasonic extraction of lycopene from *Elaeagnus umbellata* Thunb fruits with a "green" extractant and its subsequent versatile use, is an effective, environmentally friendly and resource-saving approach.

9. In the fruits and leaves of *Elaeagnus umbellata* Thunb, 5 cations were identified by conductometric detection, using the chromatographic method: lithium, sodium, potassium, magnesium and calcium. Their quantitative content was determined; potassium was predominant,

its content in the leaf was twice as high as in the fruit. A high content of potassium was noted in both cases in Khulo samples: in fruits 359.6 g/t, in leaves 683.9 g/t.

10. The optimal conditions for obtaining extracts rich in oil, carotenoids and phenolic compounds from plant seeds by the method of liquid extraction with supercritical pressure have been established. In a qualitative study of fractions of phenolic compounds, 7 phenolic compounds were identified.

11. *Elaeagnus umbellata* Thunb seed oil was obtained by two methods: Soxhlet and extraction with a supercritical pressure liquid extractor with liquid carbon dioxide. It has been established that during extraction with a fluid extractor of supercritical pressure, the yield is higher and amounts to 8%. The chemical composition of the resulting oil was studied by infrared spectroscopy and gas-liquid chromatography. It was found that 90.0% are C18 carboxylic acids, oleic acid (C18:1n9c) predominates, 43.342%–48.170%. Importantly, the oil contains linoleic acid, alpha-linolenic acid, cis-13-eucosenoic acid, and arachidic acid, which are the main fatty acids found in omega-3 and omega-6.

Published scientific works:

1. Surmanidze, N., Diasamidze, M., Vanidze, M., kalandia, A. (2021). Prospects for the use of physiologically active compounds of *Elaeagnus umbellata*. *International Journal of Life Sciences* (ISSN: 2277-193x), Vol. 10. No.3. pp.46–51;
2. Surmanidze, N., Vanidze, M., kalandia, A. (2022) *Elaeagnus umbellata* fruits and leaves biologically active compounds. Ivane Javakhishvili Tbilisi State University. American chemical society, „3rd International Symposium 2022”. pp.9
3. Surmanidze, N., Vanidze, M., kalandia, A. (2019). Chromatographic analysis of carbohydrates and organic acids of Pshat (*Elaeagnus L.*) fruit. Akaki Tsereteli State University, I International Scientific-Practical Conference "New Initiatives". 121–128.

4. Shonia, A., Surmanidze, N., Khakhutaishvili, M., Vanidze, M., Kalandia, A. (2019). Bioactive compounds of some fruit common in Adjara. *Journal of Biotechnology* 305, S67.
5. Vanidze, M., Surmanidze, N., Putkaradze, J., Kartsivadze, I., Djaparidze, I., Kalandia, A. (2017). Antioxidants of Introductory and Endemic Plants in Georgia, International Natural and Health Science Conference (INHSC2017). Antalya/Turkey. pp 131- 139.