

მარიამ ტატანაშვილი ¹, თამაზ მურთაზაშვილი ¹, მალხაზ ჯოხაძე ², პაატა თუშურაშვილი ³,
კობა სივსივაძე ¹, ნათია ბოკუჩავა ¹, სოფიო გოქაძე ²

საქართველოში მოზარდი ვაზის ფოთლებში ფენოლური ნაერთების განსაზღვრა და ანტიოქსიდანტური აქტივობის დადგენა

¹თსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური ქიმიის დეპარტამენტი; ²თსუ, ფარმაცოგნომიისა და ფარმაცევტული ბოტანიკის მიმართულება; ³თსუ, ბიოქიმიის დეპარტამენტი; თბილისი, საქართველო

Doi: <https://doi.org/10.52340/jecm.2023.04.39>

MARIAM TATANASHVILI¹, TAMAZ MURTAZASHVILI¹, MALKHAZ JOKHADZE²,
PAATA TUSHURASHVILI³, KOBASIVSIVADZE¹, NATIA BOKUCHAVA¹, SOFIO GOKADZE²
DETERMINATION OF PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GEORGIAN
GRAPEVINE LEAVES

¹TSMU, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry; ²TSMU, Direction of pharmacognosy and pharmaceutical botany; ³TSMU, Department of Biochemistry; Tbilisi, Georgia.

SUMMARY

Vine products (wine, grapes) are rich in beneficial compounds for humans. However, Grapevine cultivation and grape processing generate a large number of by-products, such as grape seed, grape skin and grapevine leaf, most of them can equal or even exceed wine and grapes in terms of the content of biologically active compounds.

Grapevine leaves are a by-product of the vineyard maintenance process. According to the scant information that is currently accessible about Grape leaves, they are rich in organic acids, tannins, procyanidins, anthocyanins, enzymes, vitamins, and carotenoids.

From a scientific and practical standpoint, we considered it necessary to conduct a phytochemical analysis of grapevine leaves. The qualitative composition of phenolic compounds in Rkatsiteli and Saperavi grapevine leaves was examined using the high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method (LC-MS-MS) as a result of the performed studies. The obtained results indicate that grape leaves are particularly rich in phenolic acids and flavonoids. The following phenolic compounds have been identified: catechin, epicatechin, quercetin-3-O-glucoside, caffeic acid, trans-resveratrol, etc. (a total of 19 phenolic compounds). The antioxidant activity of the extracts prepared from the raw materials was also studied, which was determined using the DPPH reagent. During the research, a correlation was discovered between the phenolic content of the raw materials and their antioxidant activity. The findings indicate that grapevine leaves contain natural antioxidants that can be used in pharmaceutical, food, and cosmetic production.

Keywords: Grapevine leaves, Phenolic compounds, Antioxidant activity

შესავალი. ყურძენი (*Vitis vinifera* L.) მსოფლიოში ერთ-ერთი უმსხვილესი ხეხილოვანი კულტურაა, რომლის წლიურმა წარმოებამ ვაზისა და ღვინის საერთაშორისო ორგანიზაციის (OIV) 2022 წლის აპრილის მონაცემებით 80.1 მლნ ტონას მიაღწია [6]. ვაზის კულტივირების და ყურძნის გადამამუშავების პროცესში წარმოიქმნება დიდი რაოდენობით თანმხლები პროდუქტები, როგორცაა, ყურძნის თესლი, კანი და ვაზის ფოთლები. ამ პროდუქტების, როგორც ბუნებრივი ანტიოქსიდანტების წარმოებისთვის დამატებითი ღირებულების მქონე ნედლეულის მიმართ, ინტერესი ყოველწლიურად იზრდება [2,11].

ვაზისეული წარმოშობის პროდუქტები ბიოლოგიურად აქტიური კომპონენტების სიმრავლით ხასიათდება, განსაკუთრებით საყურადღებოა ფენოლური ბუნების ნივთიერებების, კერძოდ პოლიფენოლების მაღალი შემცველობა, რომლებიც აქტიურად მონაწილეობენ თავისუფალი რადიკალების შებოჭვის პროცესში და სხვადასხვა დაავადებების მკურნალობის ალტერნატიულ საშუალებებს წარმოადგენენ [9,10,12]. ანტიოქსიდანტური თვისებებიდან გამომდინარე ფენოლურ ნაერთებს გააჩნიათ იმუნური სისტემის მოდულირების უნარი, აგრეთვე, მოქმედებენ როგორც ანთების საწინააღმდეგო და კიბოს საწინააღმდეგო აგენტები [8,13].

ვაზისეული წარმოშობის პროდუქტებში შემავალი ფენოლური ნაერთები შეიძლება დაიყოს ორ ჯგუფად: ფენოლური მჟავები და მასთან დაკავშირებული ნაერთები და ფლავონოიდები. აღნიშნულ პროდუქტებში ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ფენოლური მჟავებია ღარიჩინის, კუმარინის, კოფეინის, ფერულის, ბენზოის პროტოკატეჟინის, ვანილის და გალის მჟავები, ხოლო ფლავონოიდებიდან გვხვდება ფლავან-3-ოლი, კატეჟინი, ეპიკატეჟინი და მათი პოლიმერები და ეთერები, ფლავანონები და ანთოციანინები [9].

ფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი შემცველობა და შემადგენლობა განსხვავებულია სხვადასხვა ყურძნის სახეობებში, ასევე თითოეული ჯიშის სხვადასხვა კულტივირებულ სახეობაში. გარდა ამისა ყურძნისა და მისგან მიღებული პროდუქტების პოლიფენოლების შემადგენლობაზე დიდ გავლენას ახდენს კლიმატი, ნიადაგი და სხვა გარემო პირობები, რომელშიც ვაზი იზრდება, ისევე როგორც მოსავლის შემდგომი დამუშავება და შენახვის პირობები [3,7]. ფენოლური ნაერთები არათანაბრადაა განაწილებული ვაზის ნაყოფებში. მთლიანი ექსტრაგირებული ფენოლური შენაერთების მხოლოდ 10%-ს ან ნაკლებს შეიცავს ყურძნის რბილობი, 60-70% შედის თესლებში და 28-35% კანში [5]. ვაზის ფოთლების შესახებ ამჟამად ხელმისაწვდომი მწირი ინფორმაციის მიხედვით, ეს ნედლეული მდიდარია ორგანული მჟავებით, ტანინებით, პროციანიდინებით, ანთოციანიდინებით, ფერმენტებით, ვიტამინებითა და კაროტინოიდებით [1,4]. აღნიშნული ინფორმაცია გვიქმნის ნიადაგს იმის დასაშვებად, რომ ეს ნედლეული შესაძლებელია განვიხილოთ ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების პოტენციურ წყაროდ.

კვლევის მასალა და მეთოდი

კვლევის მიზანი: კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ვაზის კულტივაციის და მოვლის პროცესში მიღებული გადანაყარი პროდუქტის - ვაზის ფოთლების ფენოლური ნაერთების შემცველობის და ნედლეულიდან მიღებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესწავლა.

კვლევის ობიექტი: რქანითელისა და საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლები, რომელიც შეგროვდა სოფელ არხილოში (დედოფლისწყაროს მუნიციპალიტეტი, კახეთი), 2022 წლის ივნისში. ფენოლური ნაერთების შესწავლის მიზნით ჰაერმშრალ ფოთლებს ვანკრილმანებლით ელექტრო საფუძავით, 5-5 გრამი გადაგვქონდა 250 მლ კოლბებში და ვამატებდით 50-50 მლ მეთანოლს (1:10). ექსტრაქციას ვახორციელებდით ოთახის ტემპერატურაზე (25 °C-ზე), სიბნელეში დაყოვნებით 24 სთ-ის განმავლობაში. მიღებულ ექსტრაქტებს ვფილტრავდით მემბრანული ფილტრით.

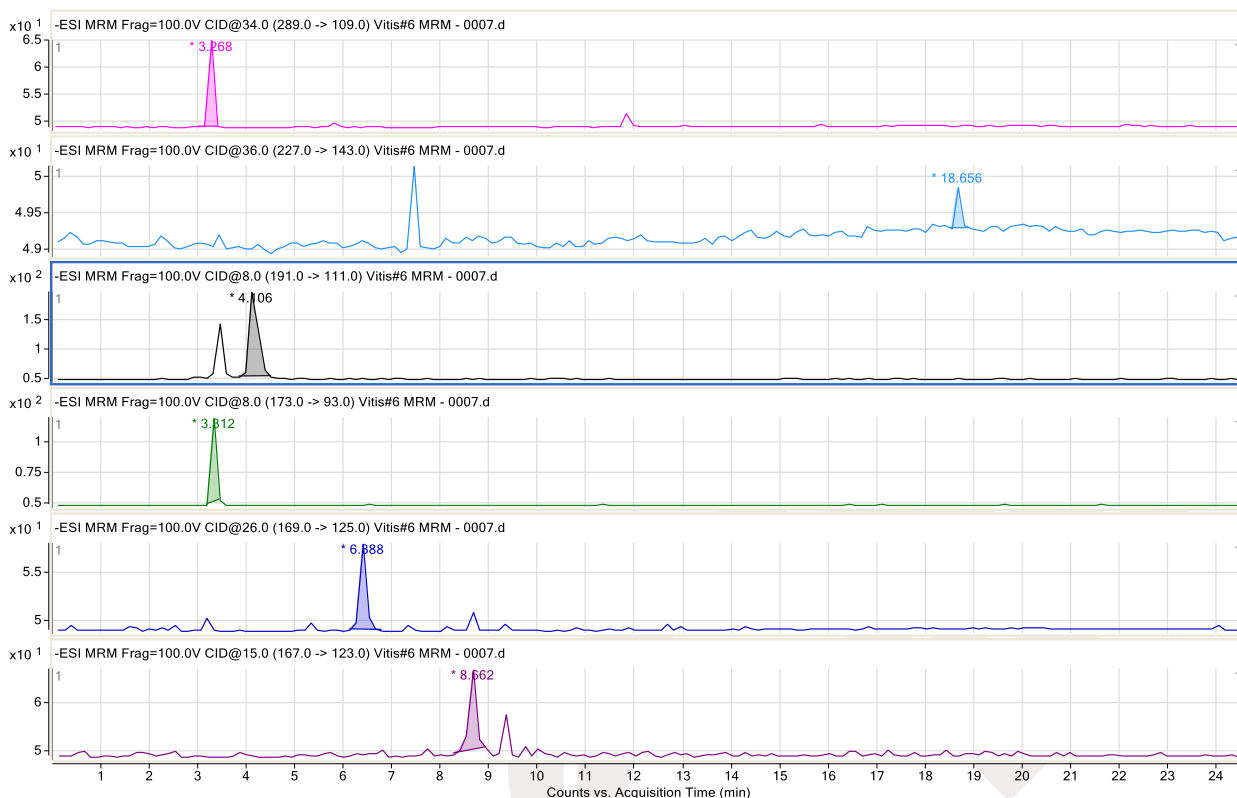
კვლევის მეთოდები: ფენოლური ნაერთების თვისობრივი ანალიზისთვის გამოვიყენეთ მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია - ტანდემური მასსპექტრომეტრული (LC-MS/MS) მეთოდი. აპარატი: მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია - ტანდემური მასსპექტრომეტრით (LC-MS-MS) - Agilent Technologies 1290 infinity, 6460 triple quad LC-MS/MS, სვეტი - Zorbax Eclipse, სტაციონარული ფაზა - C18 (100 x 2.1mm x 1.8µm); გამხსნელთა სისტემა: 0.1% ჭიანჭველმჟავას წყალხსნარი (B ხსნარი): 0.1% ჭიანჭველმჟავას ხსნარი აცეტონიტრილში - (A ხსნარი) საწყისი თანაფარდობა (95:5, v/v). გრადიენტული მოძრავი ფაზის დინების სიჩქარე - 0.8 მლ/წთ; სვეტის ტემპერატურა - 30°C; იონიზაცია - მიიღწეოდა დადებითი ელექტრო გაფრეკვით (ESI+); ქრომატოგრაფირების დრო - 30 წთ; სკანირება - მიმდინარეობდა სრული იონების ნაკადით (TIC) და მრავალჯერადი რეაქციის მონიტორინგით (MRM); მასსპექტრომეტრის (MS/MS) პირობებს წარმოადგენდა: ვაზის ტემპერატურა 300°C; ვაზის დინების სიჩქარე 7 მლ/წთ; ნებულაიზერი 35 მლ; კაპილარი 4000 ვ.

ნედლეულიდან მიღებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა განვსაზღვრეთ სპექტროფოტომეტრიულად (აპარატი: i9 Hanon Instruments), 2,2-დიფენილ-1-პიკრილ-ჰიდრაზილის რადიკალის (DPPH) გამოყენებით. 4.8 მლ DPPH-ის (Sigma Aldrich, გერმანია) 0.0024% მეთანოლიან ხსნარს ვამატებდით 0,2 მლ ფოთლებიდან მიღებულ ექსტრაქტებს. ხსნარებს ვათავსებდით სიბნელეში 30 წთ-ის განმავლობაში და ოპტიკურ სიმკვრივეს ვსაზღვრავდით 517 ნმ სიგრძის ტალღაზე. შედეგები გამოვსახეთ პროცენტულად შემდეგი ფორმულის გამოყენებით:

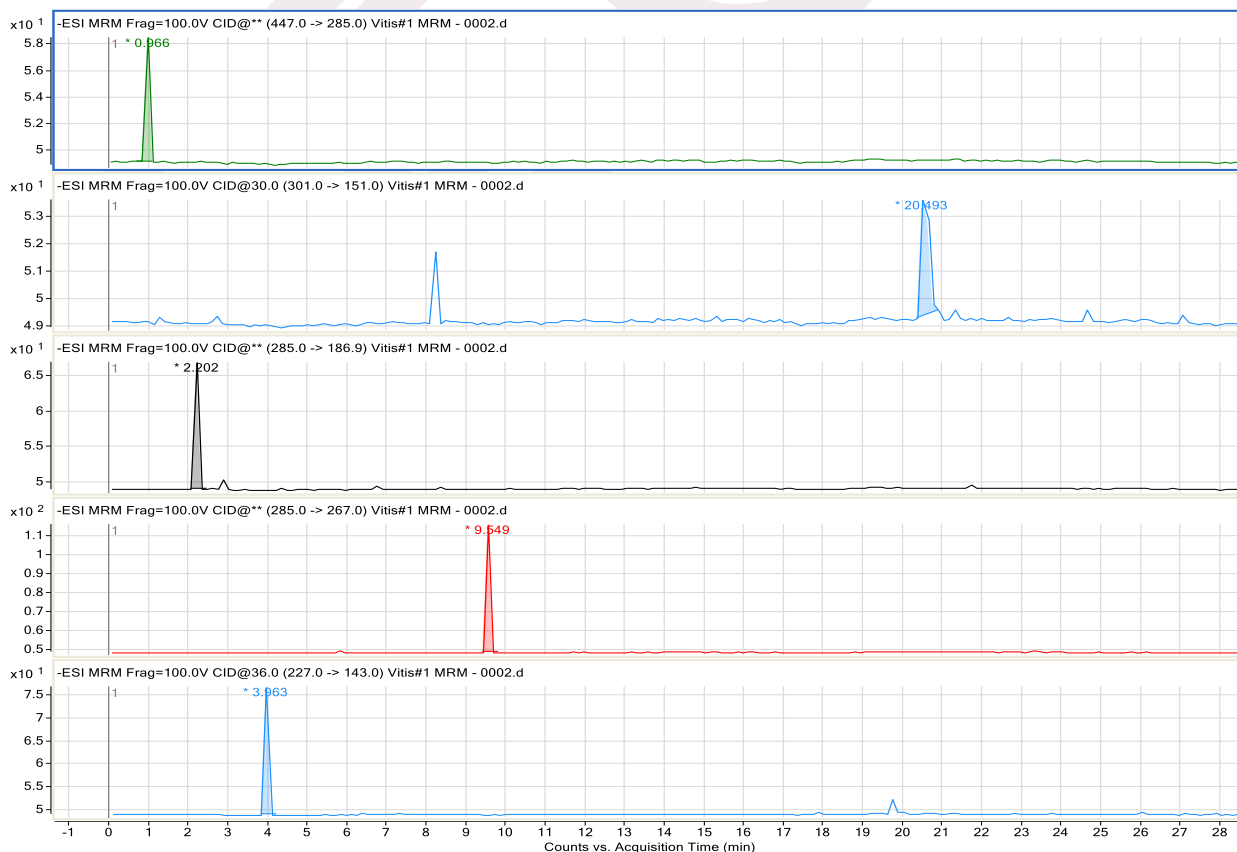
$$\text{DPPH scavenging capacity (\%)} = (\text{Abs}_{\text{blank}} - \text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}}) \times 100$$

კვლევის შედეგები: ფენოლური ნაერთების თვისობრივი ანალიზის შედეგები წარმოდგენილია ქრომატოგრამებზე (სურათი 1. და 2.).

სურათი 1. საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტებში იდენტიფიცირებული ფენოლური ნაერთის MRM ქრომატოგრამა



სურათი 2. რქანი თელის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტებში იდენტიფიცირებული ფენოლური ნაერთის MRM ქრომატოგრამა



რქაწითელისა და საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლების ფენოლოგიური ნაერთების თვისობრივი შემადგენლობა წარმოდგენილია №1 ცხრილში.

ცხრილი №1. რქაწითელისა და საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლებში აღმოჩენილი ფენოლოგიური ნაერთები

№	ნაერთის დასახელება	რქაწითელის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტი	საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტი
1	კოფეინის მჟავა	+	-
2	კატეჟინი	-	+
3	ეპიკატეჟინი	-	+
4	შიკიმის მჟავა	+	+
5	ლიმონის მჟავა	+	+
6	ფუმარის მჟავა	-	+
7	გალის მჟავა	+	+
8	კემპფეროლი	+	-
9	კემპფეროლ-3-გალაქტოზიდი	+	+
10	ლუტეოლინი	+	-
11	ვაშლის მჟავა	-	+
12	მალვიდინ-3-გლუკოზიდი	-	+
13	მირიცეტინი	-	+
14	პროტოკატეჟინის მჟავა	-	+
15	ქვერცეტინი	+	+
16	ქვერცეტინ-3-O-გლუკოზიდი	-	+
17	ღვინის მჟავა	-	+
18	ტრანს-რესვერატროლი	+	+
19	ვანილის მჟავა	+	+

ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის მონაცემები მოცემულია №2 ცხრილში.

ცხრილი №2. ვაზის ფოთლებიდან მიღებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის შედეგები

№	კვლევის ობიექტები	საანალიზო ნიმუშის ოპტიკური სიმკვრივე	ანტიოქსიდანტური აქტივობა (%)
1	რქაწითელის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტი	0,119	80,4
2	საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტი	0.086	85,8
	DPPH რეაქტივის 0,0039% მეთანოლიანი ხსნარი	0.608	-

შედეგების განხილვა: ორივე ჯიშის ნედლეულში განსაზღვრულია 19 ფენოლოგიური ნაერთი, აქედან 16 ნაერთი აღმოჩენილია - საფერავის ფოთლებში, 10 - რქაწითელის ჯიშის ნედლეულში. 3 ფენოლოგიური ნაერთი კოფეინის მჟავა, კემპფეროლი და ლუტეოლინი გვხვდება მხოლოდ რქაწითელის ფოთლებში, კატეჟინი, ეპიკატეჟინი, ფუმარის მჟავა, კემპფეროლ-3-გლუკოზიდი, ვაშლის მჟავა, მირიცეტინი, პროტოკატეჟინის მჟავა, ქვერცეტინ-3-O-გლუკოზიდი და ღვინის მჟავა კი გამოვლინდა მხოლოდ საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლებიდან მომზადებულ ექსტრაქტში. შესწავლილია ნედლეულიდან მომზადებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობაც, რომლებიც განისაზღვრა 2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზილის (DPPH) რეაქტივის გამოყენებით. საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლებიდან მომზადებულმა ექსტრაქტებმა აჩვენა თავისუფალი

რადიკალების შებოჭვის უფრო მაღალი უნარი - 85,8%, ვიდრე რქანითელის ჯიშის ვაზის ფოთლების ექსტრაქტმა - 80,4%. კვლევის პროცესში კორელაცია გამოიკვეთა ნედლეულის ფენოლური ნაერთების შემცველობასა და ანტიოქსიდანტურ აქტივობას შორის, კერძოდ, რაც უფრო მაღალია ფენოლური ნაერთების შემცველობა, მით უფრო მაღალია ექსტრაქტის თავისუფალი რადიკალების შებოჭვის უნარი.

დასკვნა. ჩატარებული კვლევა ცხადყოფს, რომ ვაზის მოვლის პროცესში მიღებული გადანაყარი ნედლეული - ფოთლები, მდიდარია ფენოლური ნაერთებით და მისგან მიღებული ექსტრაქტები ხასიათდება მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით, რითიც დასტურდება ამ ნედლეულის ღირებულება მისი სამრეწველო და სამკურნალო მიზნით გამოყენების თვალსაზრისით, რაც შემდგომში მნიშვნელოვნად შეუწყობს ხელს როგორც წარმოების ხარჯების, ასევე წარმოების ნარჩენების შემცირებას.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Banjanin T., Uslu N., Vasic Z.R., Özcan M.M. Effect of grape varieties on bioactive properties, phenolic composition, and mineral contents of different grape-vine leaves. *J. Food Process. Preserv.* 2021; 45:15159.
2. Baroi A.M., Popitiu M., Fierascu I., Sardaescu I.D., Fierascu R.C., Grapevine Wastes: A Rich Source of Antioxidants and Other Biologically Active Compounds. *Antioxidants* 2022; 11: 393.
3. Downey M.O., Dokoozlian N.K., Krstic M.P., Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 2006; 57:257-268.
4. Filimon R.V., Rotaru L., Filimon R.M., Quantitative Investigation of Leaf Photosynthetic Pigments during Annual Biological Cycle of *Vitis vinifera* L. Table Grape Cultivars. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 37, No. 1, 2016.
5. Garcia-Cabezón C., Teixeira G.G., Dias L.G., Salvo-Comino C., García-Hernández C., Rodríguez-Mendez M.L., Martín-Pedrosa F., Analysis of Phenolic Content in Grape Seeds and Skins by Means of a Bio-Electronic Tongue. *Sensors.* 2020; 20:4176.
6. International Organisation Of Vine And Wine, State Of The World Vine And Wine Sector, Pau Roca Director General of the OIV, OIV Press Conference, 20 April 2023.
7. Lachman J., Sulc M., Faitova K., Pivec V., Major factors influencing antioxidant contents and antioxidant activity in grapes and wines. *Int. J. Wine Res.* 2009
8. Magrone, T., Magrone, M., Russo, M.A., Jirillo, E., Recent Advances on the Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Red Grape Polyphenols: In Vitro and In Vivo Studies. *Antioxidants* 2020; 9:28.
9. Sikuten I., Stambuk P., Andabaka Z., Tomaz I., Markovi Z., Stupi D., Maleti E., Konti J.K., Preiner D., Grapevine as a Rich Source of Polyphenolic Compounds. *Molecules* 2020; 25:5604.
10. Sochorova L., Prusova B., Cebova M., Jurikova T., Mlcek J., Adamkova A., Nedomova S., Baron M., Sochor J., Health Effects of Grape Seed and Skin Extracts and Their Influence on Biochemical Markers. *Molecules* 2020; 25:5604.
11. Troilo M., Difonzo G., Paradiso V.M., Summo C., Caponio F., Bioactive compounds from vine shoots, grape stalks, and wine lees: Their potential use in agro-food chains, *Foods* 2021; 10:342.
12. Xia E.Q., Deng G.F., Guo Y.J., Li H.B., Biological activities of polyphenols from grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11:622-646.
13. Yang N.G., Gao J., Cheng X., Hou C.L., Yang Y.Y., Qiu Y.X., Xu M.R., Zhang Y., Huang S.S., Grape seed proanthocyanidins inhibit the proliferation, migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma cells through suppressing the protein kinase B/nuclear factor-kappa B signaling pathway. *Int. J. Mol. Med.* 2017; 40:1881-1888.

მარიამ ტატანაშვილი ¹, თამაზ მურთაზაშვილი ¹, მალხაზ ჯოხაძე ², პაატა თუშურაშვილი ³,
კობა სივსივაძე ¹, ნათია ბოკუჩავა ¹, სოფიო გოქაძე ²

**საქართველოში მოზარდი ვაზის ფოთლებში ფენოლური ნაერთების განსაზღვრა და
ანტიოქსიდანტური აქტივობის დადგენა**

¹თსსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური ქიმიის დეპარტამენტი; ²თსსუ, ფარმაკოგნოზისა და ფარმაცევტული ბოტანიკის მიმართულეობა; ³თსსუ, ბიოქიმიის დეპარტამენტი; თბილისი, საქართველო

რეზიუმე

ვაზის პროდუქტები (ღვინო, ყურძენი) მდიდარია ადამიანისთვის სასარგებლო ნივთიერებების შემცველობით. თუმცა, ვაზის კულტივაციის და ყურძნის გადამამუშავების პროცესში წარმოიქმნება დიდი რაოდენობით გადანაყარი პროდუქტები, როგორცაა თესლი, ყურძნის კანი და ვაზის ფოთლები, მათი უმრავლესობა ბილოგიურად აქტიური ნაერთების შემცველობით არა თუ უტოლდება, შეიძლება აღემატებოდეს კიდევ ღვინოსა და ყურძენს.

ვაზის ფოთლები წარმოადგენს ვენახის მოვლის პროცესის თანხმლებ პროდუქტს. ლიტერატურაში არსებული მწირი ინფორმაციის თანახმად, ეს ნედლეული მდიდარია ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებით, კერძოდ, ორგანული მჟავებით, ტანინებით, პროციანიდინებით, ანთოციანიდინებით, ფერმენტებით, ვიტამინებითა და კაროტინოიდებით.

სამეცნიერო პრაქტიკული თვალსაზრისით საჭიროდ მივიჩნიეთ ჩაგვეტარებინა ვაზის ფოთლების ფიტოქიმიური ანალიზი. ფენოლური ნაერთების შემცველობის შესწავლის მიზნით, ჩატარებული კვლევების შედეგად, შესწავლილია რქანითელისა და საფერავის ჯიშის ვაზის ფოთლების, ფენოლური ნაერთების თვისობრივი შემადგენლობა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია – ტანდემური მასსპექტრომეტრული მეთოდის (LC-MS-MS) გამოყენებით.

მიღებული შედეგები მიუთითებს, რომ ვაზის ფოთლები განსაკუთრებით მდიდარია ფენოლური მჟავებით და ფლავონოიდებით. იდენტიფიცირებულია შემდეგი ფენოლური ნაერთები: კატეჟინი, ეპიკატეჟინი, ქვერცეტინ-3-O-გლუკოზიდი, კოფეინის მჟავა, ტრანს-რესვერატროლი და სხვ. (სულ 19 ფენოლური ნაერთი). აგრეთვე შესწავლილია ნედლეულიდან მომზადებული ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რომელიც განისაზღვრა DPPH რეაქტივის გამოყენებით, კვლევის პროცესში კორელაცია გამოიკვეთა ნედლეულის ფენოლური ნაერთების შემცველობასა და ანტიოქსიდანტურ აქტივობას შორის. მიღებული შედეგები ცხადყოფს, რომ ვაზის ფოთლები წარმოადგენს ბუნებრივი ანტიოქსიდანტების წყაროს, რომელიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას ფარმაცევტულ, კვების და კოსმეტიკურ წარმოებაში.