ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მარიამ საზუაშვილი

სითხური ქრომატოგრაფიის ახალი მეთოდის დამუშავება ლუდში იზო-ალფა მჟავების განსასაზღვრად პირდაპირი ინიცირებით

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

სპეციალობა-ქიმიური ექსპერტიზა

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ქიმიის აკადემიური დოქტორი, პროფესორი ლალი ჭანკვეტაძე

თბილისი

2024 წელი

სარჩევი

1. ანოტაცია 3
2. Summary 4
3. ლიტერატურული მიმოხილვა 5
3.1 ქრომატოგრაფია- განმარტება, მოკლე მიმოხილვა 5
3.2 სითხური ქრომატოგრაფია 5
3.3 უძრავი და მოძრავი ფაზა 6
3.4 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სქემა და აპარატურა 7
3.4.1 ინჯექტორი 8
3.4.2 სვეტი 8
3.4.3 დეტექტორი 9
3.5 ქრომატოგრაფიული დაყოფის დახასიათება 9
3.6 მოკლე მიმოხილვა ლუდზე, სვია, სვიის მჟავები 11
3.7 რა არის იზომერი 13
3.8 ალფა მჟავებიდან იზო-ალფა მჟავების წარმოქმნა, ქიმიზმი 13
3.9 იზო-ალფა მჟავების გავლენა ჯანმრთელობაზე 15
4. ექსპერიმენტული ნაწილი 16
4.1 გამოყენებული მასალები: 16
4.2 ექსპერიმენტის მიმდინარეობა და განსჯა 17
5. დასკვნა 33
6. გამოყენებული ლიტერატურა: 34

1. ანოტაცია

ლუდი მცირედ ალკოჰოლური, ფერმენტირებული გაზირებული სასმელია, რომლის შემადგენლობაში ქერის ალაო, სვია, წყალი, საფუარი შედის. მისი მზადების და ხარშვის ტექნოლოგია საუკუნეებსაც კი ითვლის. ლუდის მიმზიდველი და სასიამოვნო გემო კი შესაძლოა დროთა განმავლობაში შეიცვალოს. ამის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზი შესაძლოა დაკავშირებული იყოს იზო-ალფა მჟავების არამდგრადობასთან სინათლის გავლენით ან ოქსიდაციის გზით. სწორედ იზო-ალფამჟავები განაპირობებენ ლუდის სიმწარეს და მის დამახასიათებელ გემოს. ასევე პასუხისმგებლები არიან ქაფის მდგრადობაზე, ლუდის სიმღვრივეზე, მიკრობიოლოგიურ სტაბილურობაზე. იზო-ალფა მჟავები ლუდში გამომუშავდება სვიის დამატების შედეგად. არსებობს რამდენიმე ხერხი, რითიც შესაძლებელია მინიმუმამდე დავიყვანოთ იზო-ალფა მჟავების დეგრადაცია: შესაბამისი შეფუთვით, ან დავამატოთ ფენოლური ნაწარმები ანტიოქსიდანტური მოქმედებით, იზო-ალფა მჟავების ცის-სტერეოიზომერები და ა.შ. ასევე, უნდა აღინიშნოს, რომ იზო-ალფა-მჟავები შესაძლოა დემენციის და ალცჰაიმერის დაავადების პრევენციას უწყობდეს ხელს. კვლევები ჩატარებულია თაგვებზე დადებითი შედეგით. დადგენილია, რომ იზო-ალფა მჟავები ადამიანებზე მოქმედებს როგორც ანტიოქსიდანტი და შეუძლია ჰიპერგლიკემიის გაუმჯობესება.

ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა დაგვემუშავებინა ახალი, არსებულთან შედარებით მარტივი მეთოდი სითხური ქრომატოგრაფის გამოყენებით, რომელიც ლაბორატორიებს საშუალებას მისცემს სხვადასხვა წარმოების ლუდში განსაზღვრონ იზო-ალფა მჟავების შემცველობა.

2. Summary

Beer is a carbonated, fermented alcoholic beverage made from malted barley, water, and yeast, and flavored with hops. The brewing of beer was invented centuries ago and has been continuously developed since then. The attractive flavor of beer changes rapidly upon storage, limiting its shelf life. Various factors, such as foam stability, haze, and microbiological stability, influence beer's overall quality. Iso-alpha acids, formed in beer after hops are added, are responsible for its bitterness and characteristic flavor. The degradation of beer flavoring is mainly due to the vulnerability of iso-alpha acids to light and oxidation.

There are several ways to minimize the degradation of these acids: adequate beer packaging, the addition of phenolic compounds with antioxidant properties, and the addition of pure stereoisomers like cis-iso-alpha acids. Interestingly, iso-alpha acids in beer may help prevent dementia and Alzheimer's disease. Research in mice supports this claim, and iso-alpha acids are known to have antioxidant activities in humans and can improve hyperglycemia.

The main aim of this master's course research is to develop a new HPLC method for the determination and quantification of the level of iso-alpha acids in beer.

3. ლიტერატურული მიმოხილვა

3.1 ქრომატოგრაფია- განმარტება, მოკლე მიმოხილვა

ქრომატოგრაფია ნარევების კომპონენტებად დაყოფის ერთ-ერთ ყველაზე ეფექტურ მეთოდს წარმოადგენს. ქრომატოგრაფიული მეთოდის დიდი უპირატესობაა ასევე გამოყენების მრავალმხრივი სფერო რაც გულისხმობს კვების პროდუქტების ანალიზს, ალკოჰოლური და არაალკოჰოლური სასმელების ანალიზს, ფარმაცევტულ ანალიზს, გარემოს კონტროლს და ა.შ.

3.2 სითხური ქრომატოგრაფია

სითხური ქრომატოგრაფია ემყარება ნარევის კომპონენტების არათანაბარ განაწილებას ორ- მოძრავ თხევად ფაზასა და უძრავ, მყარ ფაზას შორის. უძრავ ფაზას მეორენაირად სტაციონალურ ფაზასაც ვუწოდებთ. ქრომატოგრაფიული დაყოფის ფორმატი, ისევე როგორც მოძრავი და უძრავი ფაზის ბუნება შეიძლება იყოს განსხვავებული, მაგრამ აუცილებელია რომ დაყოფის პრინციპი იყოს შენარჩუნებული. ქრომატოგრაფიულად შესაძლებელია მხოლოდ ისეთი ნივთიერებების დაყოფა, რომელთაც მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის განაწილების განსხვავებული კოეფიციენტები გააჩნიათ. სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზა უშუალოდ მონაწილეობს დაყოფის პროცესში მოლეკულურ დონეზე, განსხვავებით გაზური ქრომატოგრაფიისგან, სადაც მოძრავი ფაზა არის ინერტული აირი და ის უშუალოდ დაყოფის პროცესში არ მონაწილეობს. ხოლო უძრავი ფაზა შეიძლება წარმოადგენდეს შედარებით მაღალდისპერსიულ ნაწილაკებს, რომლითაც სვეტი არის შევსებული. ნაწილაკები, რომლითაც სვეტის შევსება ხდება, არის ფოროვანი. ამის მიზანი კი არის სტაციონალური ფაზის ზედაპირის გაზრდა, რადგან რაც უფრო დიდია ზედაპირის ფართობი, უფრო მეტად ინტენსიურია ურთიერთქმედება საანალიზო ნივთიერებასა და სტაციონალურ ფაზას შორის რაც ქრომატოგრაფიულ დაყოფას აუმჯობესებს. სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზის, იგივე ელუენტის, შერჩევის პროცესი დიდ ყურადღებას მოითხოვს, რადგან მათი pH, ფიზიკო-ქიმიური მახასიათებლები დიდ ზეგავლენას ახდენს დაყოფის ხარისხზე.

სტაციონალური ფაზის არანაკლებ მნიშვნელოვანი ნაწილია მისი ზედაპირის ქიმია , რომელიც მოძრავი ფაზის ბუნებასთან ერთად განსაზღვრავს დაყოფის მექანიზმს, რის გამოც ქრომატოგრაფიული მეთოდი იყოფა სხვადასხვა სახეებად:

- ადსორბციული თხევადფაზიანი ქრომატოგრაფია
    1. ნორმალურფაზიანი სითხური ქრომატოგრაფია
    2. შებრუნებულფაზიანი სითხური ქრომატოგრაფია
- იონმიმოცვლითი ქრომატოგრაფია
- გელ-შეღწევადი ქრომატოგრაფია.

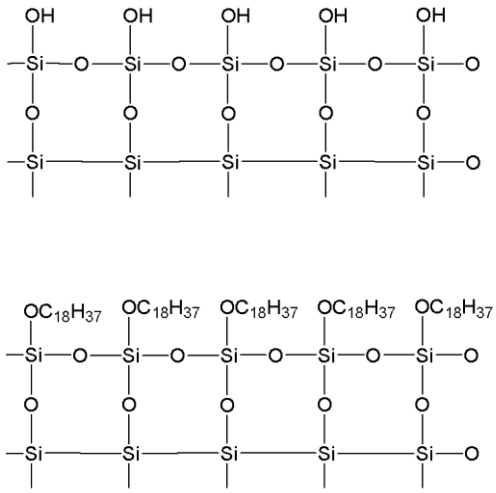
მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია გამოიყენება ორგანული და არაორგანული ნივთიერების დაყოფისა და რაოდენობრივი ანალიზისთვის. მისი გამოყენების ერთ-ერთი უპირატესობა ის არის, რომ იძლევა მეთოდის ვალიდაციის შესაძლებლობას.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ძირითადად გამოიყენება:

- ძირითადი ნივთიერებისა და მინარევების განსაზღვრისთვის;
- იზომერების დასაყოფად;
- ოლიგომერების და პოლიმერების ანალიზისთვის;
- სუბსტანციების შემცველობის განსაზღვრისთვის ფარმაცევტულ საშუალებებში;

და ა.შ. [1]

3.3 უძრავი და მოძრავი ფაზა



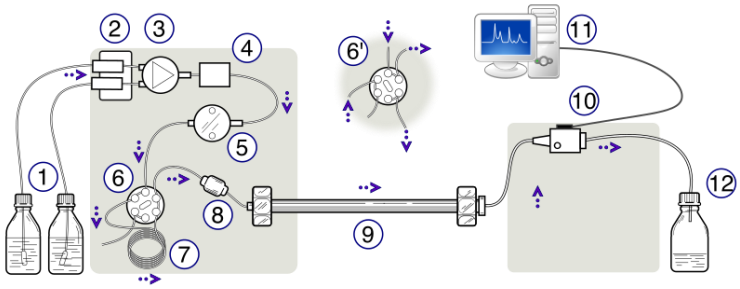
უძრავ ფაზად ქრომატოგრაფიაში ძირითადად გამოიყენება სილიკაგელი (ნორმალურფაზიანი ქრომატოგრაფია), ან სილიკაგელი, რომელზეც მოდიფიცირებულია სხვადასხვა ფუნქციონალური ჯგუფები(შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფია): C_8 ან C_{18} , ციანო, ამინო, დიოლის ჯგუფები. [2]

სურათი 1.

სურათი 2. ფოროვანი სტრუქტურა სვეტში

აუცილებელია აღინიშნოს, რომ უძრავი ფაზა არ უნდა იყოს ხსნადი მოძრავ ფაზაში ან არ უნდა ახდენდეს მოძრავი ფაზა სტაციონალურ ფაზაზე მოდიფიცირებული რადიკალების მოხსნას ფაზიდან. უძრავი ფაზის პოლარობის მიხედვით კლასიფიცირება ხდება ნორმალურ ან შებრუნებულფაზიან სითხურ ქრომატოგრაფიად. ნორმალურფაზიან სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება პოლარული უძრავი ფაზა, მოძრავი ფაზა კი - არაპოლარულია, ხოლო შებრუნებულფაზიანში, შესაბამისად უძრავი ფაზა არის არაპოლარული ან მცირედ პოლარული, მოძრავი - პოლარული.

3.4 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სქემა და აპარატურა



სურათი 3.

სურათი 4.

სურათი 3-ზე გამოსახულია სითხური ქრომატოგრაფიის ძირითადი მოდულები:

1-მოძრავი ფაზა

2-დეგაზაცია;

3-გრადიენტისთვის;

5-ტუმბო

7-ინჟექტორი

9-ქრომატოგრაფიული სვეტი;

10-დეტექტორი

11-მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა

12-ნარჩენები.

3.4.1 ინჯექტორი

ინჯექტორის ფუნქცია-მოვალეობაა ნიმუშის ინიცირება სვეტში. ინიცირება ნიშნავს მცირე რაოდენობით ნიმუშის გადატანას ქრომატოგრაფიულ სვეტში. ოპტიმალური გარჩევითობის მისაღებად სასურველია, რომ მინიმალური იყოს ინიცირებული ნიმუში, მაგრამ შესაძლებელია 1-500 მკლ ნიმუშის ინიცირება ხელსაწყოში. განასხვავებენ მანუალურ, ანუ ხელის ინჯექტორებს, და ავტოსემპლერებს. [1]

3.4.2 სვეტი

სვეტი ამ სისტემის, შეიძლება ითქვას, უმნიშვნელოვანესი ნაწილია, სადაც უშუალოდ ხდება ნივთიერების კომპონენტების ერთმანეთისგან დაყოფა. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისთვის უჟანგავი ფოლადის სვეტებს გამოიყენებენ და მათი სიგრძე იცვლება 1,5-30 სმ. [1]

სურათი 5.

ქრომატოგრაფიულ დაყოფაზე გავლენა აქვს უძრავ და მოძრავ ფაზას, ნიმუშის მახასიათებლებს.

სვეტის გავლენა :

1. სვეტის მასალა;
2. დეაქტივაცია;
3. უძრავი ფაზა.

ინსტრუმენტული გავლენა:

1. ტემპერატურა;

2. ნაკადი;
3. დეტექტორის მგრძნობიარობა ნიმუშზე.

ნიმუშის პარამეტრები;

1. კონცენტრაცია;
2. გამხსნელის ეფექტი (სუფთა ხსნარი, ნიმუშის მატრიცა);
3. მატრიცა;
4. საანალიზო კომპონენტების თვისებები.

3.4.3 დეტექტორი

ქრომატოგრაფიული სვეტიდან დაყოფის შედეგად ელუირებული ნივთიერებები აღწევს დეტექტორს, რომელიც შესაბამისად გვაძლევს გამოძახილს, რომლის ინტენსივობაც საანალიზო ნარევში მოცემული კომპონენტის შემცველობის პროპორციულია. შედეგად ვიღებთ ორგანზომილებიან ჩანაწერს, ქრომატოგრამას დროის დამოკიდებულებას სიგნალის ინტენსივობაზე. განასხვავებენ შემდეგი ტიპის დეტექტორებს:

- ულტრაიისფერი დეტექტორი- ვალიდურია მხოლოდ ისეთი ნივთიერებებისთვის, რომელთაც აქვთ ქრომოფორები და აქვთ სინათლის შთანქთმის უნარი.
- რეფრაქტომეტრული დეტექტორი- დეტექტირება ხდება გარდატეხის მაჩვენებლის მიხედვით;
- ფლუორესცენტული დეტექტორი- ნივთიერება, რომელსაც აქვს ფლუორესცენციის უნარი ან დერივატიზაციის შემდეგ იძენს ამ უნარს.
- მასს-სპექტომეტრული დეტექტორი - ძალიან დიდი უპირატესობებით გამოირჩევა, უნივერსალურია, რომლის დახმარებითაც ძალაინ დაბალი კონცენტრაციის ნიმუშის იდენტიფიცირება და რაოდენობრივი განსაზღვრა შეგვიძლია, ან თუ საჭიროა თვისობრივად ერთმანეთთან ახლოს მდგომი კომპონენტების იდენტიფიცირება ან რაოდენობრივი განსაზღვრა.

და ა.შ.

3.5 ქრომატოგრაფიული დაყოფის დახასიათება

ქრომატოგრაფიული დაყოფა ხასიათდება შემდეგი პარამეტრებით:

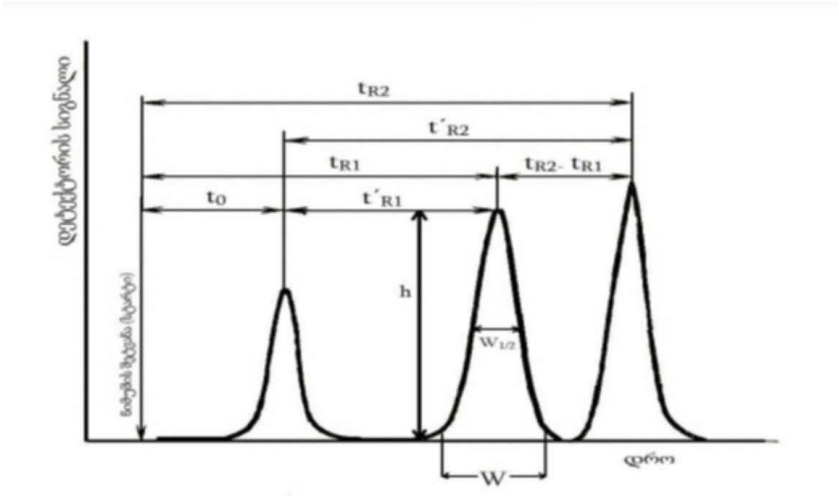
- შეკავების ფაქტორი;

- სელექტივობა
- ეფექტურობა
- გარჩევითობა
- პიკის სიმეტრია. [1]

დრო, რომელიც საჭიროა იმისთვის რომ საანალიზო ნივთიერებამ ინჯექტორიდან ქრომატოგრაფიული სვეტის გავლით დეტექტორამდე მიაღწიოს მოცემული კომპონენტის შეკავების დრო ეწოდება და აღვნიშნავთ t_r-სიდიდით. მოცემული ნივთიერების შეკავების დრო კი ორი სიდიდის ჯამს წარმოადგენს, რომელთაგან ერთ-ერთი ამ ნივთიერების ბუნებაზეა დამოკიდებული (დაყვანილი დრო t_r'), ხოლო მეორე - გამოყენებულ აპარატსა და ქრომატოგრაფიული სვეტის მახასიათებლებზე (მკვდარი დრო t_0). მკვდარი დროს გულისხმობს მკვდარ მოცულობას, რომელიც არის იმ სიცარიელეების ჯამი, რომელიც უნდა გაიაროს საკვლევმა ნივთიერებამ ინჯექტორიდან დეტექტორამდე. შეკავების დრო გამოითვლება $t_r'=t_r-t_0$

- **შეკავების ფაქტორი** k გამოითვლება შემდეგი ფორმულით $k=t_r'/t_0$.ეს სიდიდე არ არის დამოკიდებული სვეტის სიგრძეზე და მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე. თუ $k<1$ ნიშნავს რომ ნიმუშის მოლეკულები სვეტს სწრაფად ტოვებენ და სტაციონალურ ფაზასთან არ ურთიერთქმედებენ, თუ $k>5$ მაშინ მოლეკულები ძალიან დიდხანს ყოვნდება უძრავ ფაზაზე.
- **სელექტივობა**, იგივე დაყოფის ფაქტორი - შეკავების დაყვანილი დროების ფარდობა ნარევის შემადგენელი ორი კომპონენტისთვის. $\alpha= t_{r2}/t_{r1}$. ინდექსები 2 და 1 ასახავს ელუირების რიგს, ამიტომ α ყოველთვის მეტია 1-ზე.
- ქრომატოგრაფიული პიკის ეფექტურობა ხასიათდება **თეორიული თეფშების რიცხვით (N)** და გამოითვლება შემდეგი ფორმულით : $N=5.54(t_r/W_{1/2})$. სადაც $W_{1/2}$ არის პიკის სიგანე მის ნახევარსიმაღლეზე.
- ნივთიერებათა ქრომატოგრაფიული დაყოფის საუკეთესო მახასიათებელს წარმოადგენს **პიკების გარჩევითობა Rs** რომელიც გამოითვლება :

  $R_S=1.18(t_{r2}-t_{r1})/W_{1/2(1)}+W_{1/2(2)}$. [3]



სურათი 6.

უნდა აღინიშნოს რომ, სელექტივობა ქრომატოგრაფიული დაყოფის სრულფასოვან მახასიათებელს არ წარმოადგენს, რადგან სელექტივობა სისტემას არ მოიცავს და აფასებს მხოლოდ მოცემული კომპონენტის განაწილებას უძრავ და მოძრავ ფაზას შორის. სრულად სისტემის მახასიათებლებს აერთიანებს გარჩევითობა, მის ფორმულაში გათვალისწინებულია სელექტივობა, გამოსვლის დროები, პიკის სიგანეები. ზოგადად, კარგი დაყოფისთვის ქრომატოგრაფიაში არ არის მიზანშეწონილი, რომ იყოს ძალიან მაღალი სელექტივობა და დაბალი გარჩევითობა (იგივე ეფექტურობა) და არც დაბალი სელექტივობა და მაღალი გარჩევითობა. [1]

ქრომატოგრაფიული გარჩევითობის გაზრდა შესაძლებელია თუ ანალიზის პროცესში შევიტანთ შემდეგი ტიპის ცვლილებებს:

- გამოვიყენოთ შედარებით გრძელი სვეტი;
- შევამციროთ სვეტის დიამეტრი;
- შევამციროთ ნაკადი;
- შევამციროთ ინიცირებული ნიმუშის ნაკადი;
- შევცვალოთ უძრავი ფაზა;
- გამოვიყენოთ უფრო მცირე ზომის ნაწილაკებით შევსებული ფაზა. [1]

3.6 მოკლე მიმოხილვა ლუდზე, სვია, სვიის მჟავები

ლუდი მცირედ ალკოჰოლური, ფერმენტირებული გაზირებული სასმელია, რომლის შემადგენლობაშიც შედის ქერის ალაო, სვია, საფუარი, წყალი. სვია არის სწორედ

კომპონენტი, რომელიც არის პასუხისმგებელი ლუდის ძირითად გემოვნურ თვისებებზე. სვიის ყვავილები შეიცავენ მოყვითალო-მომწვანო ფისოვან ნივთიერებებს, რაც მუშავდება და ლუდს ემატება სიმწარისთვის, ხანგრძლივად მდგრადობისთვის. სვიის ქიმიური შემადგენლობა, შეიძლება ითქვას რთულია. ის შეიცავს ორგანულ α-მჟავებს ან β მჟავებს. ამ ორიდან მნიშვნელოვანია α-მჟავები, რადგან ისინი გამომშრალი სვიის მასის 2-15%-ს შეადგენენ. ამავდროულად უფრო მეტი სიმწარეც სწორედ α-მჟავებიდან მოდის, მათგან 5 ძირითადია: ჰუმულონი, კოჰუმულონი, ადჰუმულონი, პოსტჰუმულონი, პრეჰუმულონი. მოცემული α-მჟავების რაოდენობრივმა ანალიზმა აჩვენა მაღალი კონცენტრაცია ლუდის ტკბილში, იგივე ლუდის ბადაგში, მაგრამ შედარებით ნაკლები შემცველობით იყო უშუალოდ ლუდში-პროდუქტში. ეს კი განპირობებულია შემდეგი ფაქტით: ბადაგის დუღილის პერიოდში ხდება თერმული ზემოქმედება, რაც იწვევს α-მჟავების გარდაქმნას იზო-α-მჟავებად. იზო-ალფა მჟავები ნაკლები pk სიდიდით ხასიათდებიან (დაახლოებით pk=3) და არიან ლუდში კარგად ხსნადები.[4]

ბეტა მჟავები მეორე კლასია რაც სვიაში გვხვდება და ლუდში გადადის ხარშვის პროცესში. ვხვდებით სამი ტიპის ბეტა მჟავას: ლუპულონი, კოლუპოლონი და ადლუპოლონი. ბეტა მჟავები უფრო მწარე მოლეკულებია, მაგრამ ამავდროულად უხსნადებიც, ამიტომ მათი რაოდენობა უფრო მცირეა ვიდრე ალფა-მჟავები. ბეტა მჟავებს, ასევე განსხვავებით ალფა- მჟავებისგან, არ აქვთ იზომერიზაციის უნარი, მაგრამ შეუძლიათ დაჟანგვა და უფრო მწარე ნივთიერებებად გარდაქმნა.

იზო-ალფა მჟავებს აქვთ ანტისეპტიკური მოქმედება, ეს კი გულისხმობს არასასურველი ბაქტერიების ზრდის პრევენციას, რაც თავის მხრივ ლუდის ვარგისიანობის და შენახვის ვადასაც ზრდის. ასევე ლუდის ხარშვის პერიოდში ეხმარება საფუარის სოკოს გაზრდაში და მოქმედებაში დუღილისას ფერმენტაციის საფეხურზე. იზო-ალფა მჟავები ასევე მოქმედებენ ლუდის ქაფზე და მის მდგრადობაზე. თუმცა რამდენაც სასარგებლოც არის ლუდისთვის, იმდენად საზიანოც შეიძლება აღმოჩნდეს. იზო-ალფა მჟავებს შეუძლიათ რეაქციაში შევიდნენ რიბოფლავინთან, ანუ B2 ვიტამინთან, რომელსაც ქერის ალაო შეიცავს და სინათლის გავლენით გარდაიქმნენ არსასიამოვნო გემოს მქონე ნაერთებად. [5]

თითოეული ალფა-მჟავა იზომერიზაციისას წარმოქმნის ორი ტიპის იზომერს:

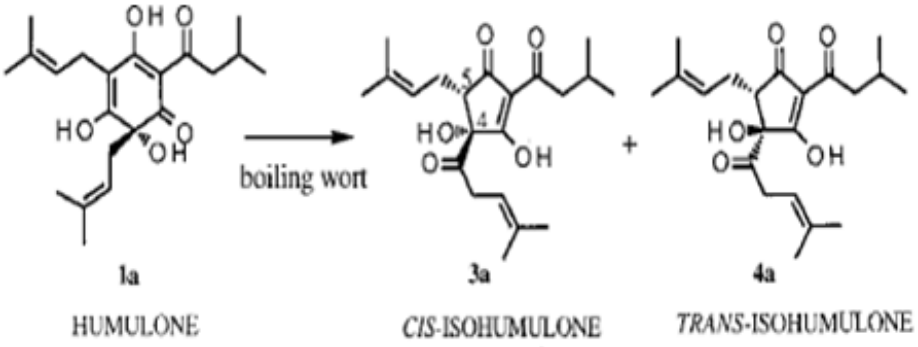
- ცის-იზო-ალფა მჟავებს

- ტრანს-იზო-ალფა მჟავებს.

ეს ყველაფერი დამოკიდებულია ჰიდროქსილის-ჯგუფის მდებარეობით C_4-თან და C_5-თან იზოპრენის მდებარეობით.

3.7 რა არის იზომერი

ტრადიციული განმარტების მიხედვით, **იზომერები** ნივთიერებებია, რომლებსაც აქვთ ერთნაირი თვისობრივი და რაოდენობრივი შედგენილობა, მოლეკულური ფორმულა, მაგრამ აქვთ განსხვავებული აღნაგობა და, შესაბამისად, განსხვავებული თვისებები. ხოლო თანამედროვე ინტერპრეტაციით, იზომერი ეწოდება იდენტური მოლეკულის ფორმულის მქონე ინდივიდუალურ ქიმიურ ნაერთებს, რომლებსაც განსხვავებული აქვთ ესა თუ ის ფიზიკურ-ქიმიური თვისება და რომლებიც უფრო სტაბილურები არიან დროის უფრო ხანგრძლივ ინტერვალში, ვიდრე მათი შესასწავლი თვისებების გაზომვისთვისაა საჭირო. [6] იზომერიზაციის მცირე მაგალითი ჰუმულონზე:

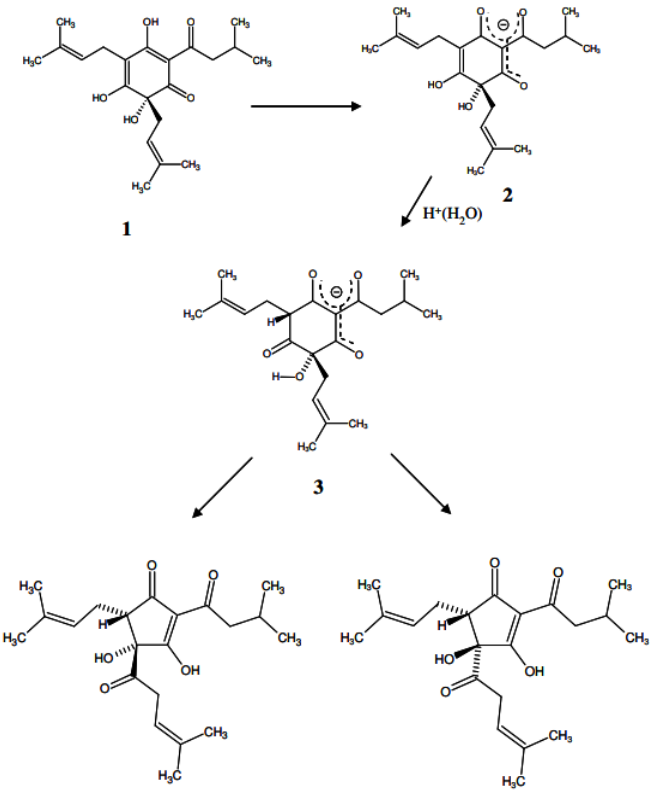


სურათი 7.

3.8 ალფა მჟავებიდან იზო-ალფა მჟავების წარმოქმნა, ქიმიზმი

ალფა მჟავებიდან იზო-ალფა მჟავების წარმოქმნა უშუალოდ ლუდის ტკბილის, ბადაგის, დუღილის პროცესში ხდება, დაახლოებით 70-130 ^{0}C-ზე. ალფა მჟავების იზომერიზაციის მექანიზმი მოიცავს თანმიმდევრულ დეპროტონირებას ბეტა-ტრიკარბონილის ნაწილის, ტაუტომერიზაციას (**ტაუტომერიზაციის** ტერმინი აღნიშნავს მარტივად შექცევად და ძირითადად, სწრაფ იზომერიზაციას, რომელიც იწვევს ერთმაგი და ორმაგი ბმების გაწყვეტას და ფორმირებას ატომებისა და ჯგუფების მიგრაციის გარეშე) არადისოცირებული C=O ბმის კეტონის, და ხდება გადაჯგუფება და ახალი სტერეო-ცენტრის ჩამოყალიბება მეოთხე ნახშირბადატომთან და წარმოიქმნება დიასტერეომერული იზომერული პროდუქტები: ცის-იზო-ალფა მჟავები და ტრანს-იზო-ალფა მჟავები. ცის-იზო-

ალფა მჟავები არიან მეხუთე ნახშირბადატომთან R-კონფიგურაციით, ხოლო ტრანს-იზო-ალფა მჟავები მეხუთე ნახშირბადატომთან S-კონფიგურაციით. [7]



სურათი 8.

პროდუქტის სახით ვიღებთ 25% ტრანს-იზომერს, ხოლო 75% წილი ეკუთვნის ცის-ზიომერს. ორვალენტიანი კათიონები, მაგალითად კალციუმის ან მაგნიუმის, იზომერიზაციის რეაქციისთვის ძალიან კარგ კატალიზატორის ფუნქციას ასრულებენ, რის ხარჯზეც პროდუქტად ვიღებთ გამოსავლიანობას ცის-ტრანს იზომერიის 1:1. იზომერიზაცია შესაძლებელია ასევე განხორციელდეს ულტრაიისფერ გამოსხივებაზე 365-366 ნმ ტალღის სიგრძეზე, მაგრამ ამ მეთოდით ალფა მჟავები მხოლოდ ტრანს-იზომერებად იზომერიზდებიან. [8]

თითოეულ სტერეოიზომერს განსხვავებული როლი აქვს ლუდისთვის როგორც სიმწარისთვის ასევე სტაბილურობისთვის. ასევე, ტრანს-იზომერებს ნაკლებად ახასიათებთ სიმწარე, ვიდრე ცის იზომერებს, ისინი მეტად არიან მიდრეკილები ოქსიდაციისკენ, ვიდრე მათი ცის-იზომერები და ტრანს-იზო-ალფა მჟავები შესაბამისად მეტად არამდგრადები არიან, შედარებით ცის-იზო-ალფა მჟავებთან.

იზო-ალფა მჟავები ძალიან არასტაბილური ნაერთებია და მათი დაშლა იწვევს ლუდის დაძველებას და გემოვნური თვისებების დაკარგვას. ეს ყველაფერი დაკავშირებულია მათ ოქსიდაციასთან. იზოჰუმულონების ოქსიდაციის გზით დაშლის ერთ-ერთი პროდუქტია უჯერი ალდეჰიდები, კონკრეტულად ტრანს-ნონენალ-2 რაც იწვევს ლუდის გემოს ცვლილებას. ხოლო მეორე ნაერთი ვიცინალური დიკეტონებია, რომლებიც მიიღება დეკარბოქსილირებით 2-აცეტიჰიდროქსიკარბო-მჟავებისგან. თუ ამ კომპონენტების ჯამური შემადგენლობა გადააჭარბებს 1 მგ/ლ-ს, ამ შემთხვევაში ლუდი მისართმევად უვარგისია. შესაბამისად, ჟანგბადის შემცველობა მინიმუმამდე უნდა იყოს დაყვანილი, რომ არ მოხდეს თვითნებური-ოქსიდაცია და გემოვნური თვისებების დაკარგვა.

ამას გარდა, იზო-ალფა მჟავებს შეუძლიათ გოგირდის ნაერთებთან რეაქციაში შესვლა 3-მეთილ 2 ბუტენ 1-თიოლის წარმოქმნით. რეაქცია მიმდინარეობს მზის სინათლეზეც კი, 350-500 ნმ ტალღის სიგრძეზე რიბოფლავინის თანაობისას. ეს რეაქცია ასევე აფუჭებს და ხარისხს უკარგავს ლუდს. სწორედ ამ იზო-ალფა მჟავების სინათლეზე უმდგრადობაა ერთ-ერთი მიზეზი, რატომაც ლუდი ყოველთვის მუქი ფერის ჭურჭელში ისხმევა და რეალიზდება, რომ თავი დავიზღვიოთ ულტრაიისფერი სხივების მოხვედრისგან. [8]

3.9 იზო-ალფა მჟავების გავლენა ჯანმრთელობაზე

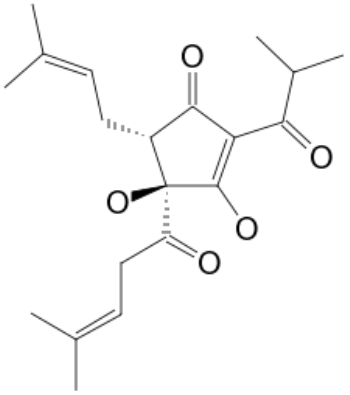
დემენცია და ალცჰაიმერი- ნერვული სისტემის დეგენერაციული დაავადებები. დემენცია გულისხმობს ინტელექტის, მეხსიერებისა და პიროვნების გლობალურ დაქვეითებას ცნობიერების დარღვევის გარეშე. დემენციის გამომწვევ მიზეზად ალცჰაიმერის დაავადება ყველაზე ხშირად სახელდება. საინტერესოა, რა კავშირი შეიძლება ჰქონდეს ლუდის შემადგენელ ძირითად კომპონენტსა და ამ ვერაგ ქრონიკულ დაავადებას ერთმანეთთან. ერთ-ერთი კვლევის თანახმად, იზო-ალფა მჟავების მიღების შედეგად ხდება ამ დაავადებების პრევენცია. ბეტა-ამილოიდი ტოქსიკური თვისებების მქონე პროტეინია, რომელიც თავის ტვინზე დამაზიანებლად ზემოქმედებს. ალცჰაიმერის პრეკლინიკურ სტადიაზე თავ-ზურგის ტვინის სითხეში ბეტა-ამილოიდის კონცენტრაცია სისხლში დაქვეითებულია, რაც გულისხმობს რომ არ ხდება ცილის სათანადო „გამორეცხვა“ და გროვდება თავის ტვინში. კვლევა სწორედ გულისხმობს ალცჰაიმერით დაავადებულ თაგვში ბეტა-ამილოიდის გამორეცხვას და დაქვეითებას ერთი კომპონენტის გამოყენებით - იზო ალფა მჟავები. მჟავების სავარაუდო დადებითი მოქმედების გამო კოგნიტურ ფუნქციაზე და

მის გაუმჯობესებაზე, ლუდის ეს კომპონენტები ნერვული სისტემის დაავადების პრევენციას უნდა ახდენდეს. თაგვებზე დაკვირვების შედეგად, იზო-ალფა მჟავები ააქტიურებს პერიფერიულ ნერვულ სისტემას, აუმჯობესებს მეხსიერებას დოპამინის სისტემის გავლით. [9]

4. ექსპერიმენტული ნაწილი

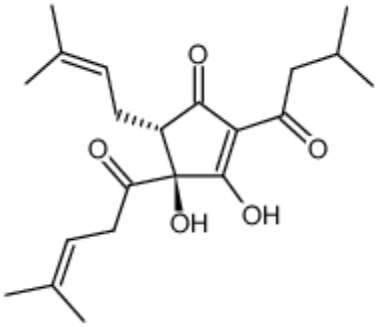
4.1 გამოყენებული მასალები:

- სტანდარტი IAA ICS-I4 65,2 %, რომელიც არის სამი იზო-ალფა მჟავის მინარევი:
    1. ტრანს-იზო-კოჰუმულონი



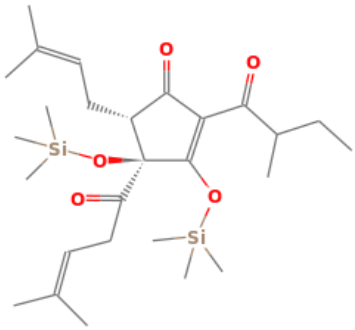
სურათი 9.

2. ტრანს-იზო-ჰუმულონი



სურათი 10.

3. ტრანს-იზო-ადჰუმულონი



სურათი 11.

[10]

- ხოლო მეორე სტანდარტი იყო THIAA-ICS-T3 99,4% რომელიც მოიცავდა ყველა ზემოთ ჩამოთვილი იზო-ალფა მჟავის როგორც ცის- იზომერს, ასევე ტრანს- იზომერს.[11]

ექსპერიმენტისთვის გამოიყენებოდა “Agilent Technologies” ფირმის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი, ოთხარხიანი გრადიენტული ტუმბოთი და ულტრაიისფერი დეტექტორით.

გამოყენებული იყო ერთი და იგივე მწარმოებლის ორი სხვადასხვა ტიპის ქრომატოგრაფიული სვეტი, ერთი სრულიად ფოროვანი, ხოლო მეორე ზედაპირულად ფოროვანი სვეტი:

1. Agilent Eclipse Plus C18, 250mmX4.6mm, 5 um (მწარმოებელი “Agilent Technologies”, აშშ);
2. Infinity Lab Poroshell 120 EC-C18 4.6 x100 mm 2.7 Micron P.N 695975-902 S.N. USCFS46938 (მწარმოებელი “Agilent Technologies”, აშშ)

A მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო დისტილირებულ წყალში გახსნილი 0,074 გრამი EDTA-ს ორჩანაცვლებული ნატრიუმის მარილი, 117,65 მკლ 85 %-იანი ორთოფოსფორმჟავა შევსებული გამოხდილი წყლით 1 ლ-მდე, B-აცეტონიტრილი (ACN).

4.2 ექსპერიმენტის მიმდინარეობა და განსჯა

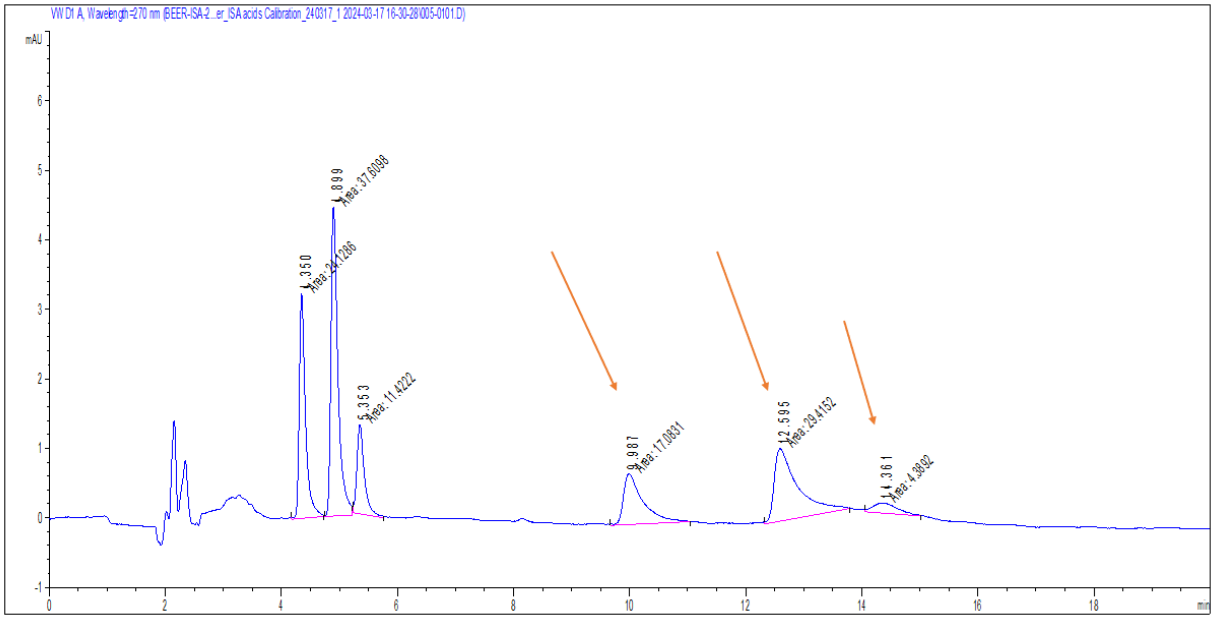
მომზადდა ორი სტანდარტული „დედა“ ხსნარი ზემოთ აღნიშნული სტანდარტებისგან. IAA/ICS-I4-დან 1,4 მგ/ლ კონცენტრაციის, ხოლო THIAA-ICS-T3-დან 14,6 მგ/ლ კონცენტრაციის. შემდეგ IAA/ICS-I4 1,4მგ/ლ რამდენჯერმე განზავდა შემდეგი კონცენტრაციების მისაღებად:

28 მკგ/მლ; 56 მკგ/მლ; 140 მკგ/მლ ; 280 მკგ/მლ; 466 მკგ/მლ.

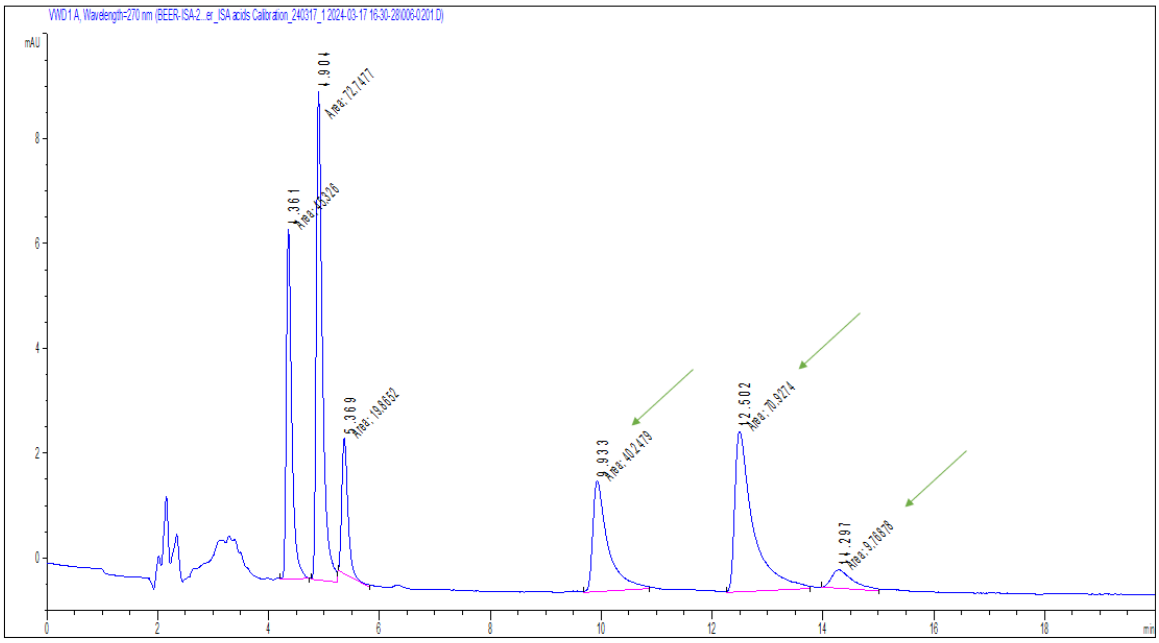
სტანდარტები გაანალიზდა ქრომატოგრაფიული ანალიზის შემდეგი მეთოდით:

- ინჯექტირება 5 მკლ სტანდარტისთვის;
- ნაკადის სიჩქარე: 1მლ/წთ
- უ.ი დეტექტირება: 270 ნმ
- სვეტი : Agilent Eclipse Plus C18, 250mmX4.6mm, 5 um
- იზოკრატული : 42% მოძრავი ფაზა A 0.1 % ფოსფორმჟავა, 0.2 მმოლი/ლ EDTA 2Na ; 58 % B - აცეტონიტრილი
- პროგრამული უზრუნველყოფა- Chemstation

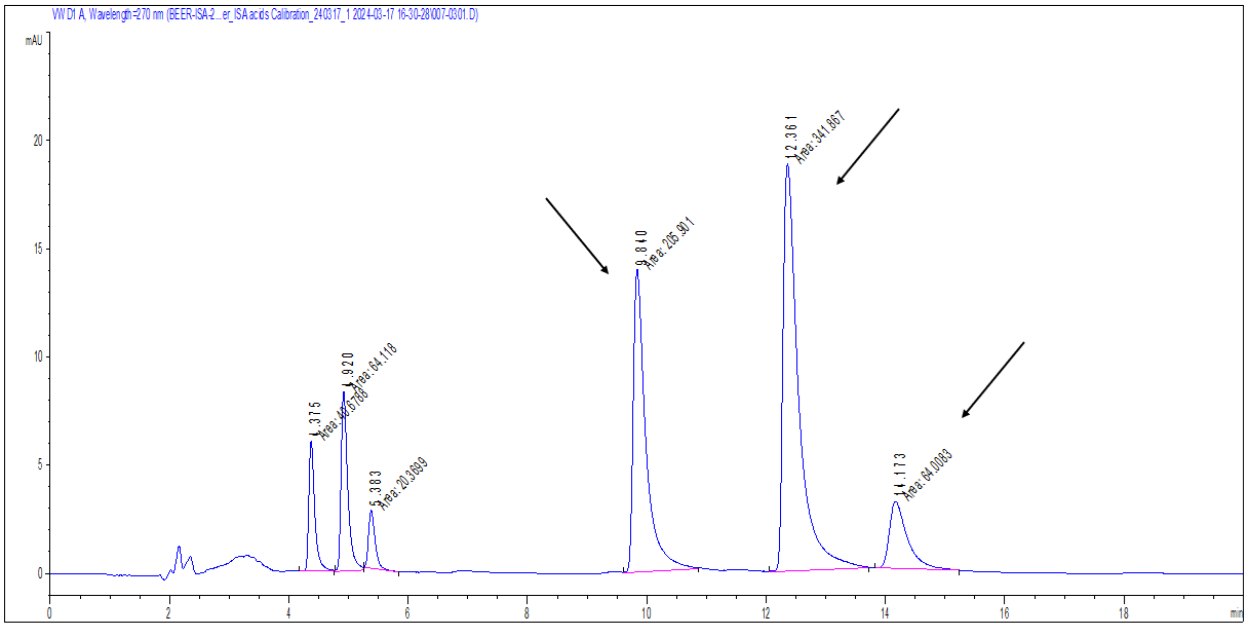
შედეგად მივიღეთ შემდეგი ქრომატოგრაფები:



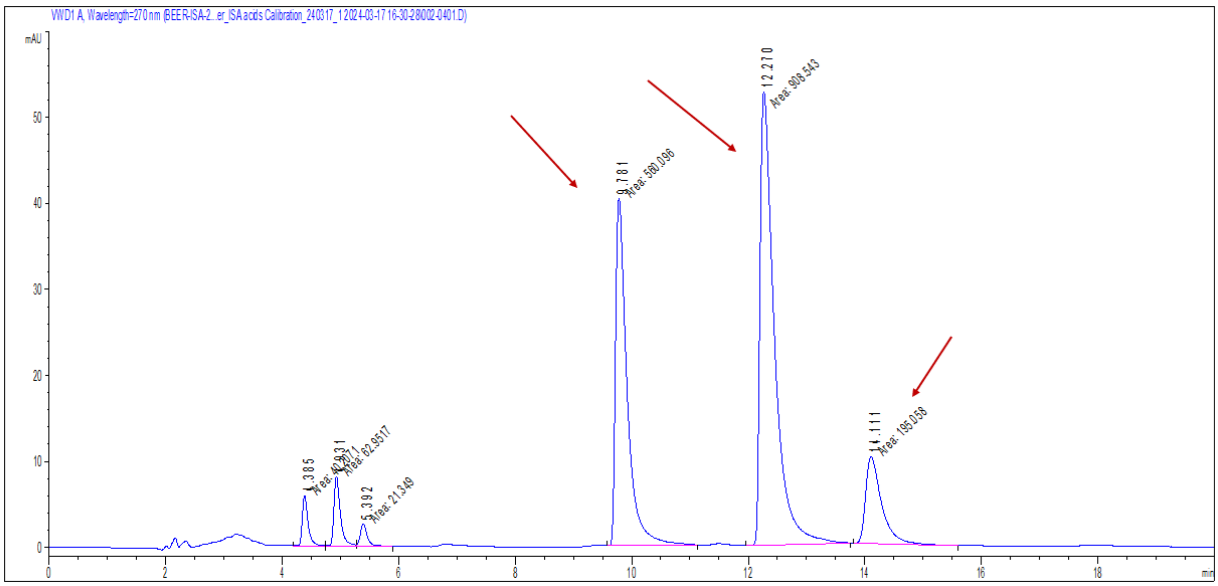
სურათი 12. ქრომატოგრამაზე მოცემულია 28 მკგ/მლ კონცენტრაციის გამოძახილები, სადაც ისრით მონიშნულია საკვლევი კომპონენტების ელუირების რიგები.



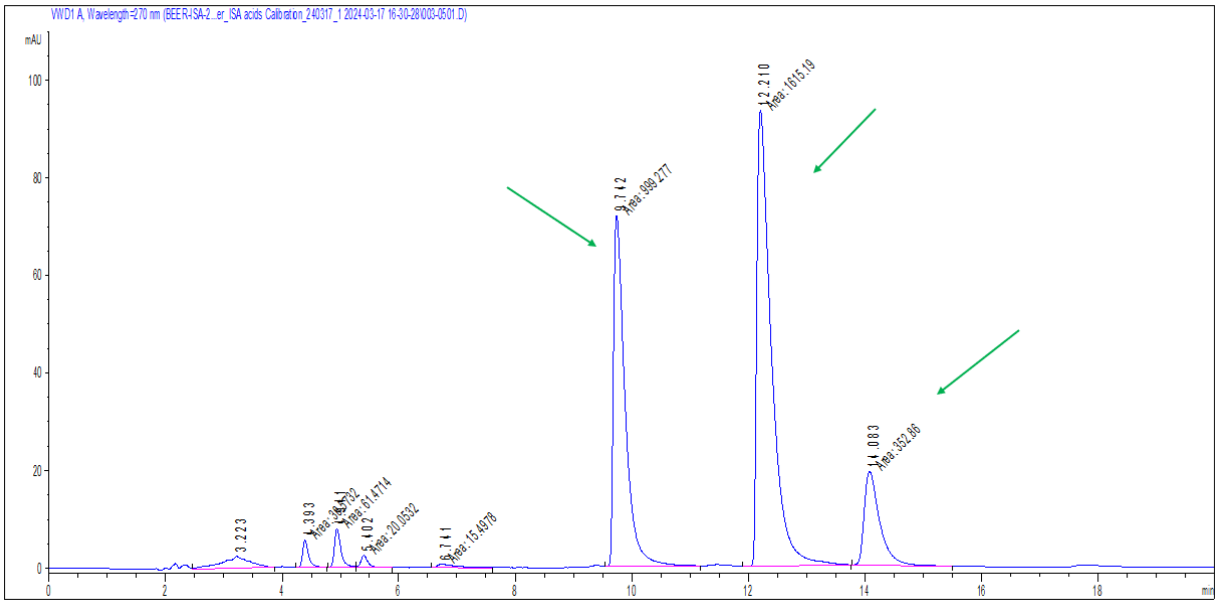
სურათი 13. 56 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტის ქრომატოგრამა



სურათი 14. სტანდარტი 140 მკგ/მლ კონცენტრაციის.



სურათი 15. 280 მკგ/მლ კონცენტრაციის მქონე სტანდარტი



სურათი 16. 466 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტი.

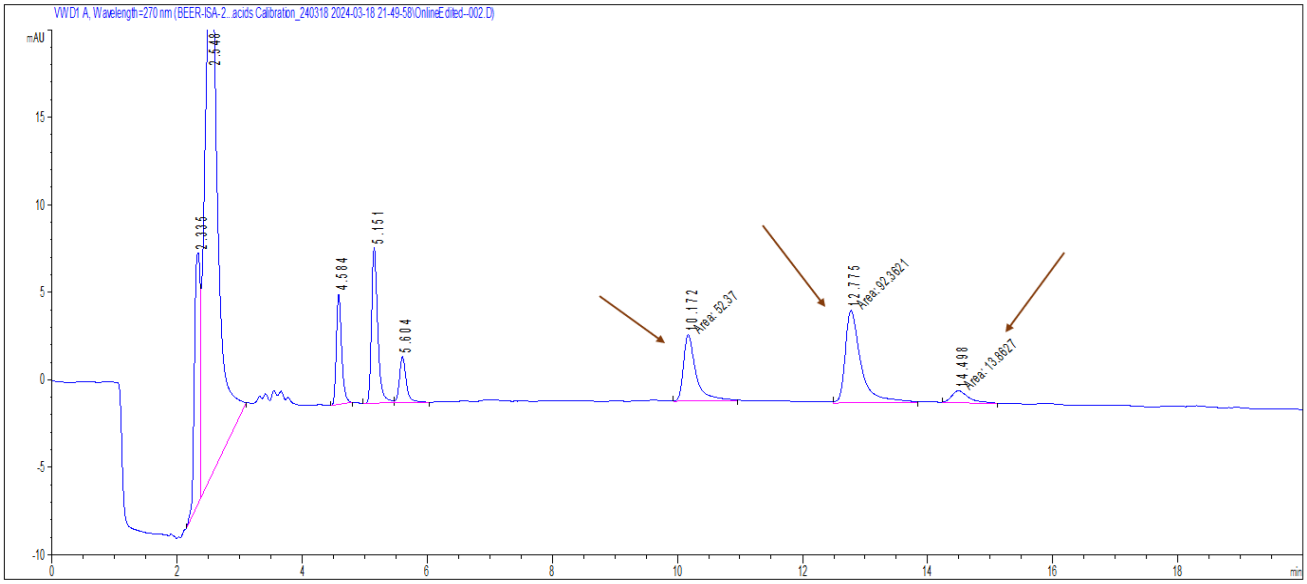
ეს კონკრეტული სტანდარტების ექსპერიმენტი პირველ ეტაპზე ჩატარდა ლიტერატურაში აღწერილი მეთოდით:

- ინჯექტირება 5 მკლ სტანდარტისთვის;
- ნაკადის სიჩქარე: 1მლ/წთ
- უ.ი დეტექტირება: 270 ნმ

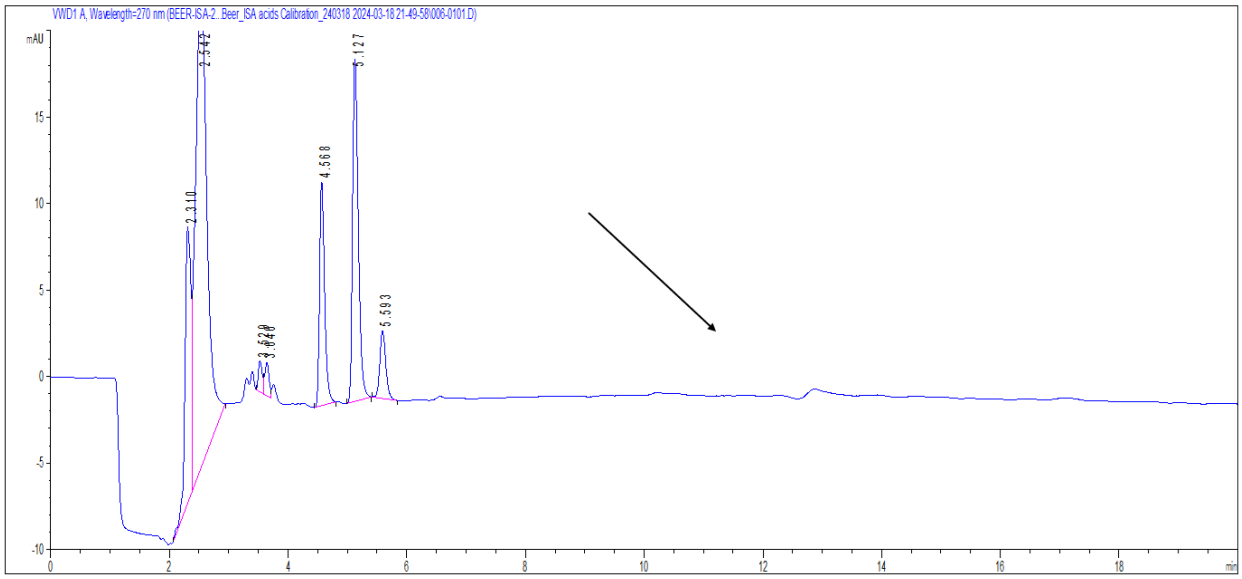
- სვეტი : Agilent Eclipse Plus C18, 250mmX4.6mm, 5 um
- იზოკრატული : 42% მოძრავი ფაზა A 0.1 % ფოსფორმჟავა, 0.2 მმოლი/ლ EDTA 2Na ; 58 % B - აცეტონიტრილი
- პროგრამული უზრუნველყოფა- Chemstation

როგორც ჩანს, კონცენტრაციების შესაბამისად იზრდება შესაბამისი პიკის ფართობებიც. მოცემული მეთოდით დაყოფა კარგია, თუმცა ნაკლი საკვლევი კომპონენტების გვიანი ელუირების დროებია.

როგორც ლიტერატურულ მიმოხილვაში აღვნიშნეთ, იზო-ალფა მჟავები არის არასტაბილურები და მარტივად ხდება გარდაქმნა და მათი დაშლა-ოქსიდაცია, აღნიშნულს ადასტურებს ქვემოთ წარმოდგენილი ქრომატოგრაფიული ანალიზის შედეგები სურათი 17-სა და სურათი 18-ზე.



სურათი 17. 56 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტი, მაცივრიდან ახალი გამოღებული



სურათი 18. 56 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტი, ოთახის ტემპერატურაზე დატოვებული, 24 სთ-ის შემდეგ.

ისრით მინიშნებულ ადგილას თვალნათლივ ჩანს, რომ საკვლევი იზო-ალფა მჟავების გამოძახილი, განსხვავებით მაცივრიდან ახლად გამოღებული ნიმუშისგან, აღარ ფიქსირდება ქრომატოგრამაზე. მეთოდი ორივე შემთხვევაში ერთი და იგივე იყო:

- ინჯექტირება 5 მკლ სტანდარტისთვის;
- ნაკადის სიჩქარე: 1მლ/წთ
- უ.ი დეტექტორი: 270 ნმ
- სვეტი : Agilent Eclipse Plus C18, 250mmX4.6mm, 5 um
- იზოკრატული : 42% მოძრავი ფაზა A 0.1 % ფოსფორმჟავა, 0.2 მმოლი/ლ EDTA 2Na ; 58 % B - აცეტონიტრილი
- პროგრამული უზრუნველყოფა- Chemstation

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგებით დადასტურდა, რომ იზო-ალფა მჟავები ნამდვილად ძალიან არატაბილური ნივთიერებები არიან და საკმაოდ მგრძნობიარეები სინათლესთან და სითბოსთან. ეს ყველაფერი იწვევს მთელ რიგ პროცესებს ლუდში, რაც ორგანოლეპტიკურ მახასიათებლებზე საკამოდ დიდ გავლენას ახდენს.

შემუშავებული მეთოდის მთავარი უპირატესობა ის არის, რომ ლუდის ნიმუშის ინიცირება სითხურ ქრომატოგრაფში შესაძლებელია პირდაპირი ინიცირებით, წინასწარი მომზადების გარეშე. წინასწარი მომზადება კი გულისხმობდა შემდეგს:

საკვლევი ლუდის ნიმუში მყარფაზიან ექსტრაქციის ეტაპს გადიოდა ვაკუუმ ტუმბოს და შემდეგი რეაგენტების გამოყენებით:

- 100 მლ დისტილირებული წყალი შემჟავებული 0,2 მლ ორთოფოსფორმჟავით; (1)
- 50 მლ დისტილირებული წყალი, 50 მლ მეთანოლი, 0,2 მლ ორთოფოსფორმჟავა; (2)
- 50 მლ მეთანოლი შემჟავებული 0,05 მლ ორთოფოსორმჟავით. (3)

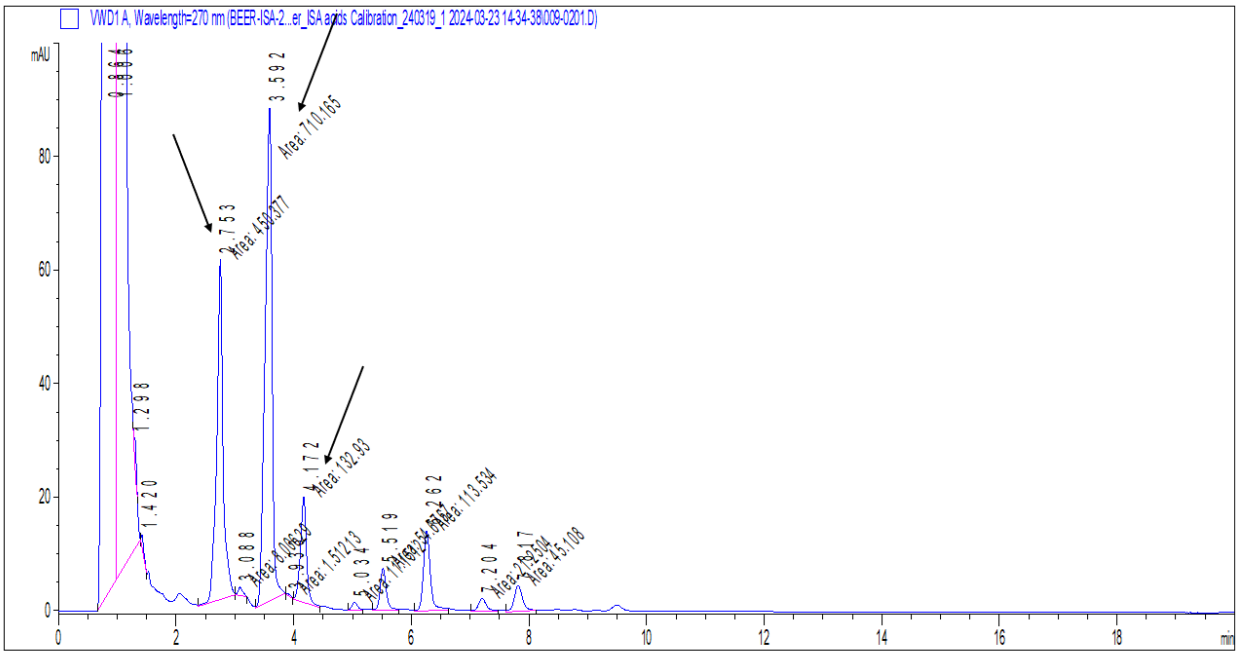
ექსტრაქციისთვის ჯერ ხდებოდა ტუბის შესველება 2 მლ მეთანოლით, შემდეგ იგივე რაოდენობა გამოხდილი წყლით, ტუმბოს გამოყენებით საკვლევი ნიმუში იფილტრებოდა. ბოლო ეტაპზე, სანამ ტუბის კარტრიჯიდან ბოლომდე ჩაიფილტრებოდა ლუდი, ემატებოდა 6 მლ (1) ხსნარი, შემდეგ 2 მლ (2) ხსნარი, ისევ სანამ კარტრიჯი სრულად გაშრებოდა, ნარჩენი მოშორდებოდა და ახალ სუფთა ჭურჭელში ხდებოდა 5 მლ (3) ხსნარით ექსტრაგირებული ნივთიერებების შეგროვება.

აღწერილი მეთოდი ეფექტურია, თუმცა მოითხოვს დიდ დროს, ენერგიასა და რესურსს, როგორც ადამიანურს, ასევე ხელსაწყოების და რეაგენტების მხრივ. სწორედ ამიტომ ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა დაგვემუშავებინა ქრომატოგრაფიული ანალიზის ახალი, ეფექტური მეთოდი, რომელშიც საკვლევი კომპონენტებს ელუირება არ მოხდებოდა ლუდის სხვა კომპონენტებთან ერთდროულად, რომელთა მაღალი კონცენტრაცია ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს იწვევდა ალფა-იზომჟავების გადაფარვას და რის გამოც საჭირო ხდებოდა წინასწარ მყარფაზიანი ექსტრაქციის მეთოდით ლუდის ნიმუშების დამუშავება.

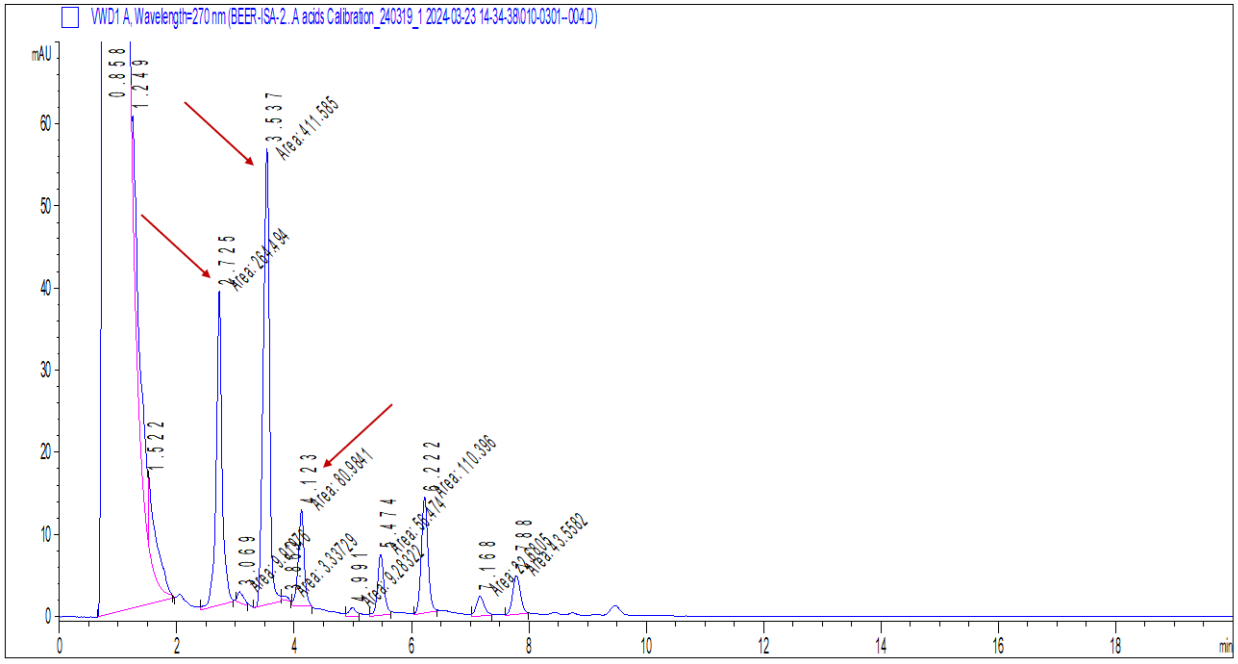
მეთოდის დამუშავების პროცესში თადაპირველად გამოვიყენეთ ლიტერატურაში აღწერილი სრულიად ფოროვანი სვეტი და ვცადეთ მოძრავი ფაზის სხვადასხვა შემადგენლობის გამოყენება. მიღებული შედეგები არ იყო საკმარისად კარგი იმისათვის, რომ აღნიშნული მეთოდი გამოყენებული ყოფილიყო ლუდში იზო-ალფა მჟავების განსასაზღვრად. ამიტომ შევცვალეთ სვეტი და მოვახდინეთ მოძრავი ფაზის შემცველობის ოპტიმიზაცია. ოპტიმიზირებული მეთოდი აღწერა:

- სვეტი - Infinity lab poroshell 120 EC-C18 4.6 x 100mm 2.7 Micron; P.N. 695975-902 ;S.N. USCFS46938;
- ინჯექტირება: 5 მკლ სტანდარტისთვის ; 20 მკლ- ნიმუშისთვის
- ნაკადის სიჩქარე: 1 მლ/წთ;
- უ.ი დეტექტორი : 270 ნმ
- იზოკრატული : 35% მოძრავი ფაზა A 0.1 % ფოსფორმჟავა, 0.2 მმოლი/ლ EDTA 2Na ; 65 % B - აცეტონიტრილი
- პროგრამული უზრუნველყოფა- Chemstation

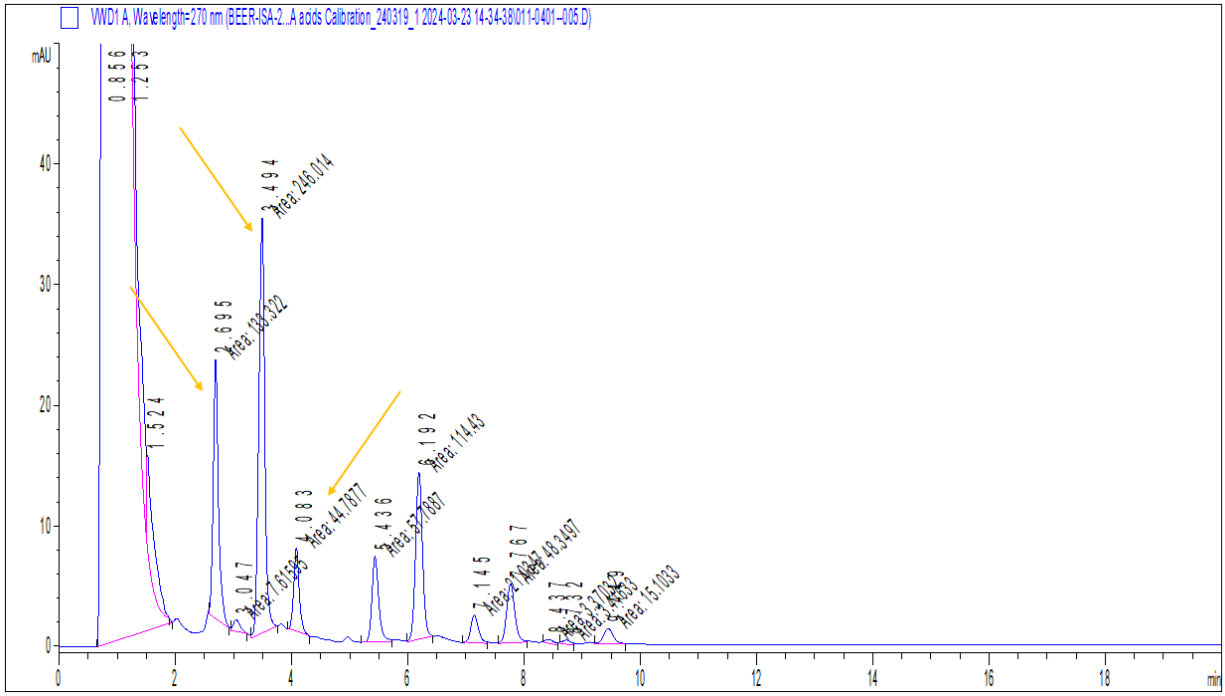
რამდენადაც ჩვენმა დაკვირვებამ აჩვენა, რომ იზო-ალფა-მჟავები გაცილებით სტაბილურია ლუდის ნიმუშში, ვიდრე სუფთა სტანდარტში, სავარაუდოდ ლუდში არსებული გარკვეული კომპონენტები ახდენენ იზო-ალფა მჟავების სტაბილიზაციას, ჩვენს მიერ საკალიბრო მრუდის ასაგებად სტანდარტების განზავება მოხდა არა სუფთა მეთანოლით ან მოძრავი ფაზით, არამედ ლუდის მატრიცით, რომელიც წინასწარი ანალიზის საფუძველზე ვიცოდით, რომ არ შეიცავდა იზო-ალფა-მჟავებს. ამიტომ 466 მკგ/მლ კონცენტრაციის IAA-ISC-I4 სტანდარტის 200 მკლ, 100 მკლ, 50 მკლ და 25 მკლ დაემატა 1 მლ ლუდს. გაანალიზების შედეგად ჩაიწერა ქრომატოგრამები:



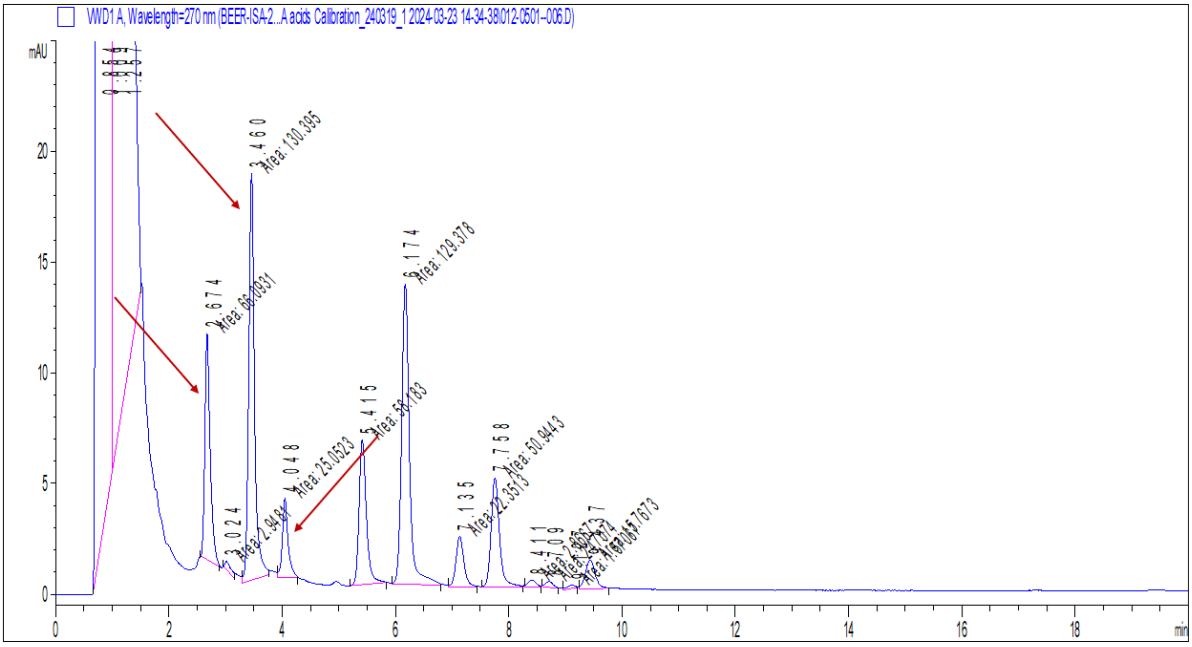
სურათი 19. 466 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტული ხსნარის 200 მკლ დამატებული 1 მლ ლუდში.



სურათი 20. 466 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტული ხსნარის 100 მკლ დამატებული 1 მლ ლუდში.

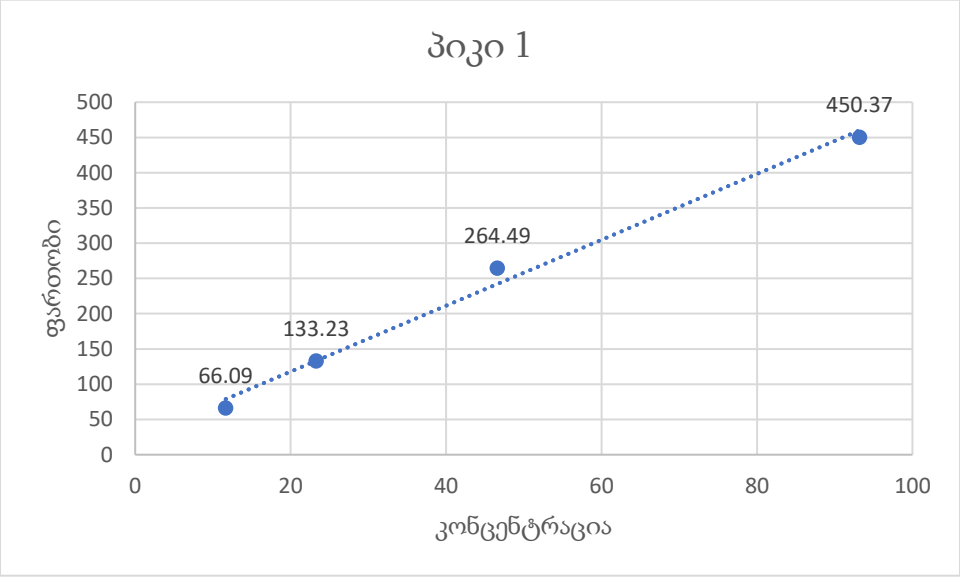


სურათი 21. 466 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტული ხსნარის 50 მკლ დამატებული 1 მლ ლუდში.

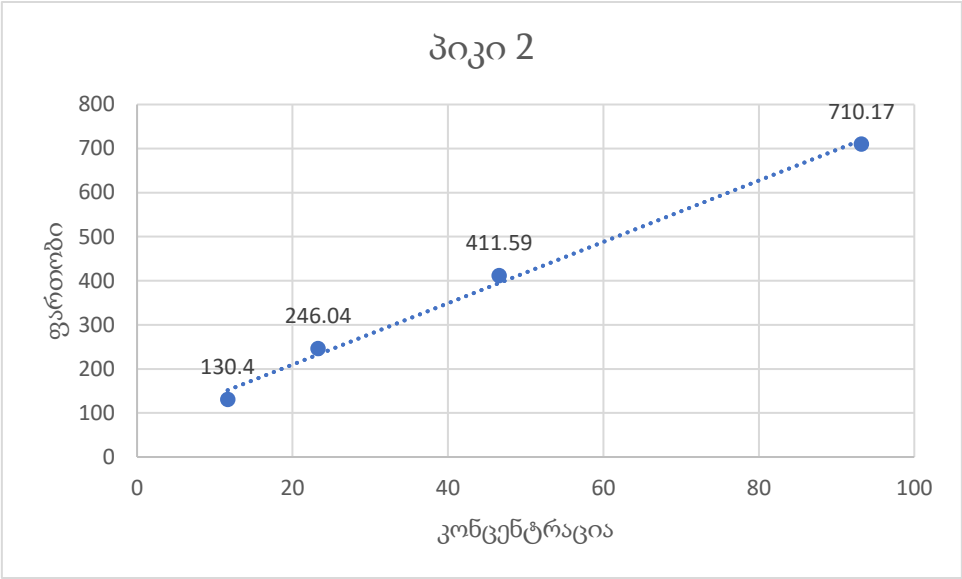


სურათი 22. 466 მკგ/მლ კონცენტრაციის სტანდარტული ხსნარის 25 მკლ დამატებული 1 მლ ლუდში.

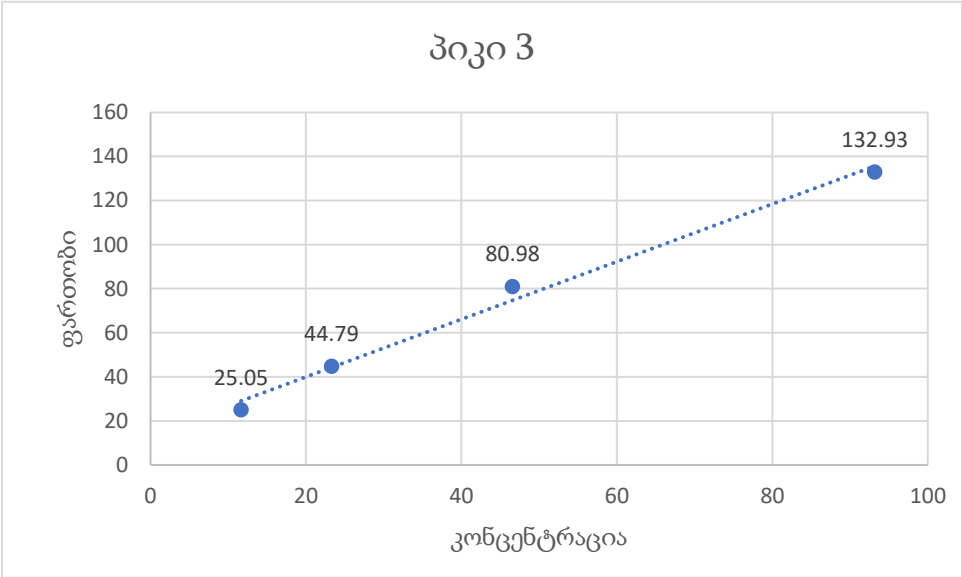
აღნიშნული სტანდარტული ხსნარების გამოყენებით აიგო საკალიბრო მრუდი. საკალიბრო თითოეული პიკისთვის, ამ შემთხვევაში სამი პიკისთვის, ინდივიდუალურად აიგო:



სურათი 23. პიკი 1



სურათი 24. პიკი 2



სურათი 25. პიკი 3

იმისათვის, რომ შემოწმებულიყო შემუშავებული მეთოდის გამოყენების შესაძლებლობა ლუდის სხვადასხვა ნიმუშებისთვის, საკვლევ ნიმუშებად შეირჩა ბაზარზე არსებული სხვადასხვა წარმოების ლუდი, ესენია:

- „შავი ლომი“
- „ყვითელი ავიატორი“
- „ქარვა“

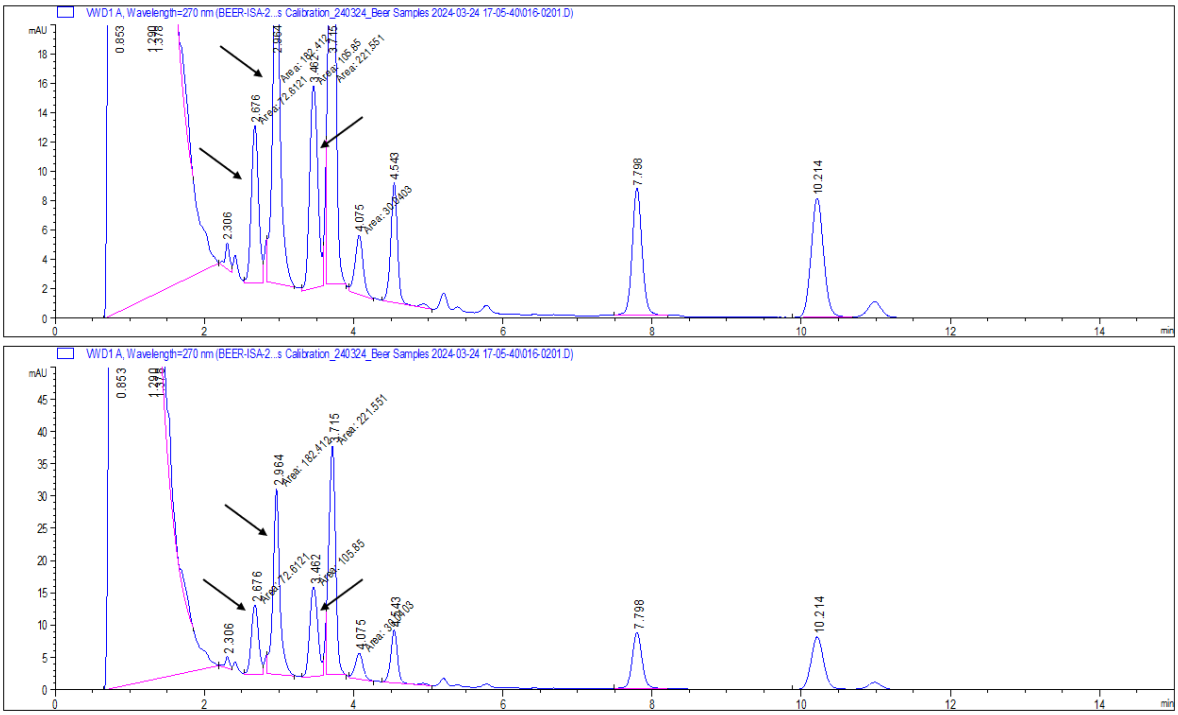
- „ჰეინეკენი“
- „მილერი“

გამოვიყენეთ ექსპერიმენტების შედეგად შემუშავებული, ოპტიმიზირებული მეთოდი:

- სვეტი - Infinity lab poroshell 120 EC-C18 4.6 x 100mm 2.7 Micron; P.N. 695975-902 ;S.N. USCFS46938;
- ინჯექტირება: 5 მკლ სტანდარტისთვის ; 20 მკლ- ნიმუშისთვის
- ნაკადის სიჩქარე: 1 მლ/წთ;
- უ.ი დეტექტორი : 270 ნმ
- იზოკრატული : 35% მოძრავი ფაზა A 0.1 % ფოსფორმჟავა, 0.2 მმოლი/ლ EDTA 2Na ; 65 % B - აცეტონიტრილი
- პროგრამული უზრუნველყოფა- Chemstation

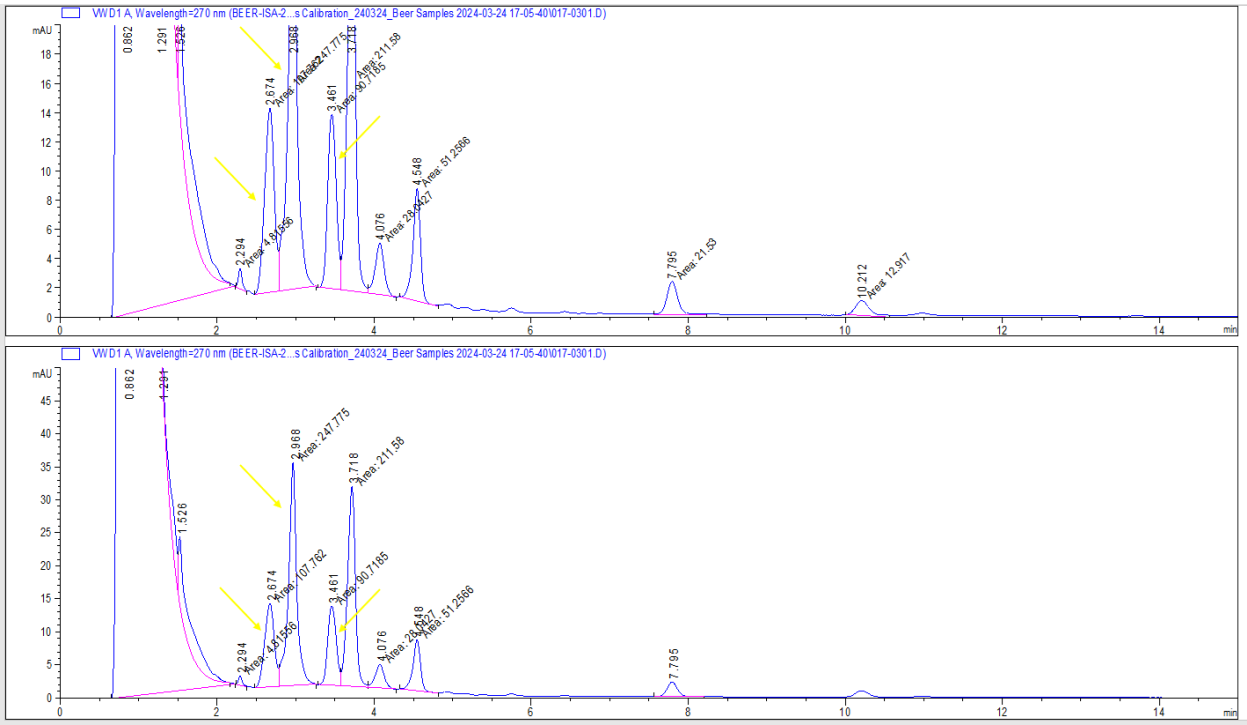
ნიმუშის მომზადების ეტაპი კი მხოლოდ და მხოლოდ ლუდის დეგაზაციას მოიცავს, რომელიც შესაძლებელია განხორციელდეს როგორც ულტრაბგერის გამოყენებით, ასევე ხელით შენჯღრევით.

დაყოფის შედეგად ქრომატოგრამები გამოიყურებოდა შემდეგნაირად:



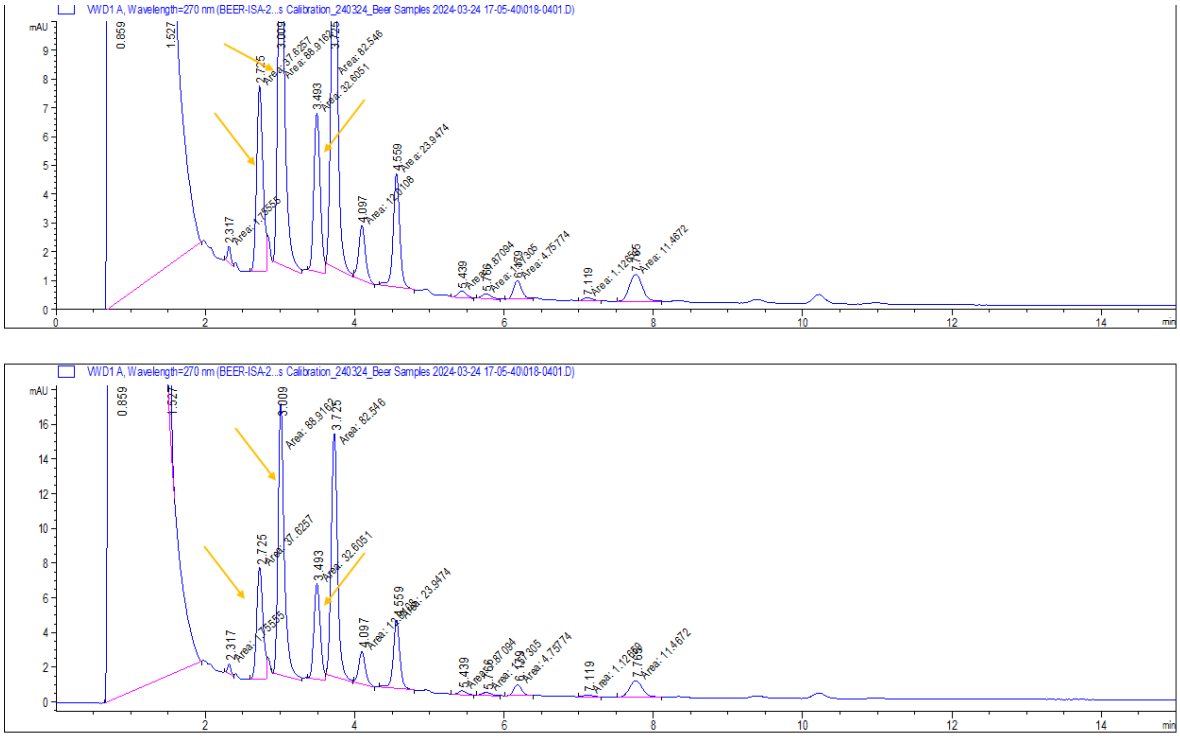
სურათი 26. ნიმუში „შავი ლომი“

ქრომატოგრამაზე ნათლად ჩანს იზო-ალფა მჟავების გამოძახილი 2,7676 წუთზე; 2,964 წუთსა და 3,462 წუთზე. მინიშნებულია შავი ფერის ისრებით.



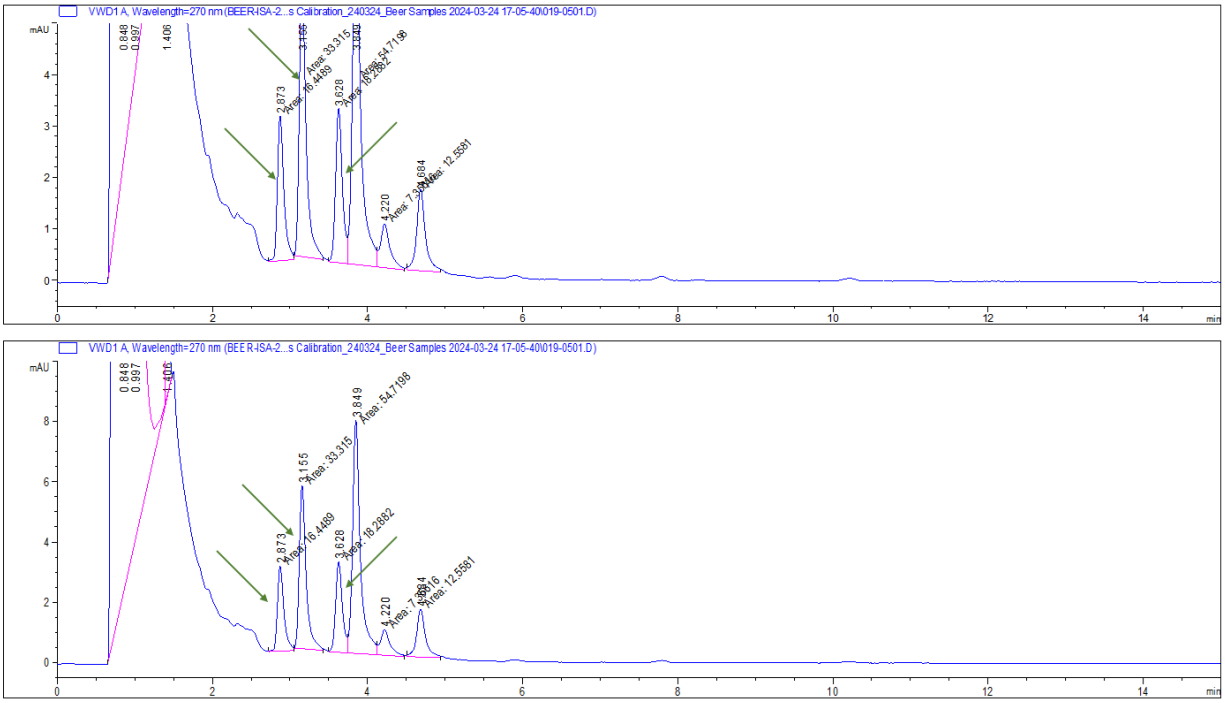
სურათი 27. ნიმუში „ყვითელი ავიატორი“

ქრომატოგრამაზე ყვითელი ფერის ისრებით მინიშნებულია იზო-ალფა მჟავების გამოძახილი 2,674 წუთზე, 2,968 წუთზე, 3,461 წუთზე.



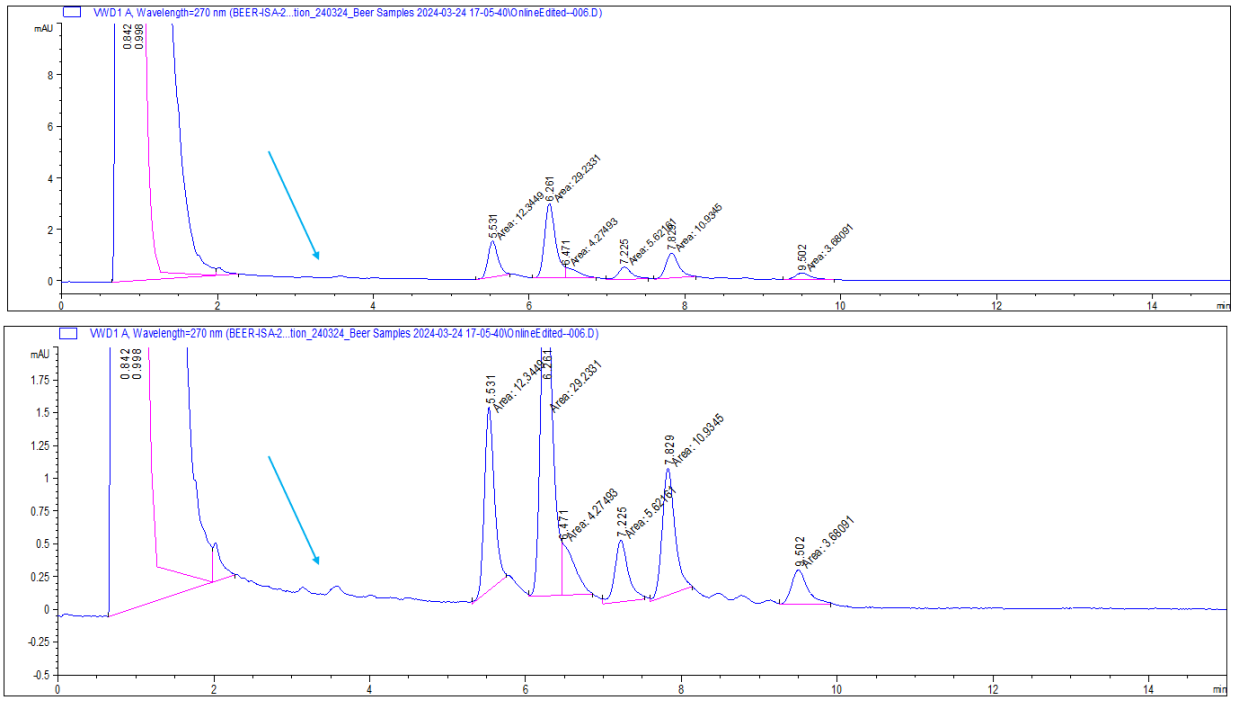
სურათი 28. ნიმუში „ქარვა“

„ქარვის“ შემთხვევაში პიკები მინიშნებულია ნარინჯისფერი ისრებით, სადაც ინტენსივობები დაფიქსირებულია: 2,725 წუთზე, 3,009 წუთსა და 3,493 წუთზე.



სურათი 29. ნიმუში „ჰეინეკენი“

ამ შემთხვევაშიც აღმოჩნდა ლუდში იზო-ალფა მჟავები, რომლებიც ქრომატოგრამაზე, რომლებიც ჩაიწერა მწვანე ისრებით მინიშნებულ დროებზე: 2,873 წუთი, 3,155 წუთი, 3,628 წუთი.



სურათი 30. ნიმუში „მილერი“

ბოლო საკვლევი ლუდი, „მილერი“, არ შეიცავს იზო-ალფა მჟავებს, განსხვავებით სხვა წარმოების ლუდებისგან. ისრით მინიშნებულ მონაკვეთზე და წუთებზე სადაც მოსალოდნელი იყო თანმიმდევრული ტრანს-იზო-კოჰუმულონის, ტრანს-იზო-ჰუმულონისა და ტრანს-იზო-ადჰუმულონის პიკები.

5. დასკვნა

ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა, კერძოდ ჩვენს მიერ დამუშავებული პირდაპირი ინიცირების მეთოდის ვალიდაციამ წარმატებით ჩაიარა. შემუშავდა სისტემა, რითიც არის შესაძლებელი ზედმეტი დანახარჯის თავიდან არიდება და პირდაპირი ინიცირების საშუალებით მოხერხდეს ლუდში იზო-ალფა მჟავების განსაზღვრა.

მიღებულმა შედეგებმა, სხვადასხვა წარმოების ლუდის გაანალიზებამ აჩვენა, რომ მეთოდი არის ვალიდური და შესაძლებელია მისი გამოყენებით საწარმოს ლაბორატორიებში ლუდში იზო-ალფა მჟავების განსაზღვრა.

ექსპერიმენტებმა ასევე დაგვანახა ლუდის დამზადების განსხვავებული ტექნოლოგია. ლიტერატურულ ნაწილში აღნიშნული იყო, რომ ალფა-მჟავები ლუდის ტკბილში სვიის დამატების შემდეგ ხვდებოდა, რომელიც ტემპერატურული ზემოქმედებით იზომერიზდებოდა. „მილერში“ იზო-ალფა მჟავები არ გვხვდება, რაც პირდაპირ გვანიშნებს, სხვა წარმოების ლუდებისგან განსხვავებით, მასში სვიის დამატება არ ხდება. ეს კი მისი მომზადების განსხვავებულ ტექნოლოგიაზე მეტყველებს.

6. გამოყენებული ლიტერატურა:

1. ლ. ჭანკვეტაძე, „თანამედროვე ინსტრუმენტული ანალიზის ფიზიკურ-ქიმიური საფუძვლები“ სითხური ქრომატოგრაფია-სალექციო კურსი, 2019 წ.
2. მ. რუხაძე, ნორმალური და შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფია, 2019 წ;
3. მ.რუხაძე, შესავალი ქრომატოგრაფიაში, 2019 წ.
4. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224412000039
5. https://chemistry.ge/publication/compoundchem/view.php?id=9
6. შ. სამსონია, მ. გვერდწითელი, ი. ჩიკვაიძე, ლ. კვირიკაძე „ორგანული ქიმია“, თბილისი, 2017წ.
7. https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/alpha-acid
8. https://scholarlypublications.universiteitleiden.nl/access/item%3A2922082/view
9. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5339755/
10. https://laborveritas.ch/wp-content/uploads/User_guide_ICS-I4.pdf
11. https://laborveritas.ch/wp-content/uploads/2013/06/Users_guide_ICS_T3.pdf