

მურთაზაშვილი თ.<sup>1</sup>, სივსივაძე კ.<sup>1</sup>,  
თუშურაშვილი პ.<sup>3</sup>, გოქაძე ს.<sup>2</sup>, ტატანაშვილი მ.<sup>1</sup>

## ვაზის ყლორტებიდან ზოგიერთი პნსტიციდის იზოლირების და ანალიზის ოპტიმალური პირობების შეფუთვა

თსსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური  
ქიმიის დეპარტამენტი<sup>1</sup>; ფარმაცევტული ზოტანიკის  
დეპარტამენტი<sup>2</sup> ბიოქიმიის დეპარტამენტი<sup>3</sup>

ვაზი და მისი პროდუქტები უძველესი დროიდან ტრადიციული მედიცინის ერთ-ერთ ფართოდ გავრცელებულ სამკურნალო საშუალებას წარმოადგენდა. ვაზისეული წარმოშობის პროდუქტების სამკურნალო-პროფილაქტიკური დანიშნულების შესახებ ჯერ კიდევ ჩვენს წელთაღრიცხვამდე იყო ცნობილი, რასაც არაერთი ისტორიული წყარო მოწმობს [8]. ვაზის პროდუქტებს რთული შემადგენლობა გააჩნია. ისინი მდიდარია მრავალი სამკურნალო თვისების მქონე კომპონენტებით, მათ შორის, ორგანული მჟავებით, ფენოლური შენაერთებით, მაკრო- და მიკროელემენტებით, ხსნადი და უხსნადი საკვები უჯრედისით, ამინომჟავებით, მთრიმლავი და პექტინოვანი ნივთიერებებით. ქიმიური შემადგენლობის მრავალფეროვნება ქმნის საფუძველს მათი გამოყენებისათვის საკვები, სამედიცინო და კოსმეტოლოგიური დანიშნულებით. საკვები და სამედიცინო დანიშნულებით გამოიყენება ვაზისეული წარმოშობის შემდეგი პროდუქტები: ყურძენი (მნიფე, მომნიფებული, მშრალი (ქიშიში)), ყურძნის წვენი, ღვინო, ვაზის ყლორტი, ფოთლები და ყვავილები, ნიჰნა, კლერტი და ლექი [9, 10, 11].

დღესდღეობით ყურძენსა და ღვინოში აღმოჩენილი და შესწავლილია 1000-ზე მეტი კომპონენტი, რომელთა უმრავლესობა ადამიანის ორგანიზმისთვის სასარგებლო თვისებებით ხასიათდება; უფრო მეტიც, მათ შეუძლიათ უმნიშვნელოვანესი როლი შეასრულონ სხვადასხვა დაავადების მკურნალობასა და პროფილაქტიკაში [1, 2, 6].

ვაზისეული წარმოშობის პროდუქტების მაღალი საკვები და სამკურნალო ღირებულება განაპირობებს უსაფრთხოების რუტინული კონტროლის აუცილებლობას, რაც მოიცავს სხვადასხვა ქსენობიოტიკს, მათ შორის - ნარჩენი პესტიციდების შემცველობის შეფასებას.

სოფლის მეურნეობის საერთაშორისო ორგანიზაციის (FAO) მონაცემებით, სოფლის მეურნეობის პროდუქციის მავნებლებთან წინააღმდეგ მსოფლიოს მასშტაბით ყოველწლიურად 1.5 მილიონ ტონაზე მეტი პესტიციდი გამოიყენება. შედეგად გაჩნდა ახალი ეკოლოგიური პრობლემები, მათ შორის - ნარჩენი პესტიციდების არსებობა საკვებ პროდუქტებში. ნარჩენი პესტიციდების კონტროლი მნიშვნელოვანია გარემოს უსაფრთხოებისა და ადამიანების ჯანმრთელობისათვის და სავალდებულოა როგორც ადგილობრივი, აგრეთვე, საერთაშორისო რეგულაციებით [3].

შესაბამისად, ვაზის პროდუქტებში ნარჩენი პესტიციდების იდენტიფიკაციისა და რაოდენობრივი ანალიზისათვის ვალიდური მეთოდების არსებობა მნიშვნელოვანნილად განაპირობებს ზემოთ აღნიშნული პრობლემის ეფექტურ გადაწყვეტას.

ვაზის მავნებლების წინააღმდეგ გამოიყენება სხვადასხვა ჯგუფის და ქიმიური შემადგენლობის პესტიციდები, მათ შორის მეტად მოთხოვნად პროდუქტებს წარმოადგენს ციპერმეტრინი და პენკონაზოლი.

ციპერმეტრინი [(R,S)-ა-ციანო-3-ფენოქსიბენზილ (IRS)-ციზ-ტრანს-3-(2,2-დიქლორო ვინილ) -2,2 დიმეთილციკლოპროპან კარბოქსილატი] მეორე თაობის პირეტროიდების ჯგუფის ინსექტიციდია. გამოიყენება სოფლის მეურნეობის და საყოფაცხოვრებო მიმართულებით, მავნე მწერების საწინააღმდეგოდ. ახასიათებს ნეიროტოქსიკური მოქმედება. ადვილად გადალახავს მწერების საფარველს და არღვევს ნერვული იმპულსების გადაცემას, რაც იწვევს მათ პარალიზებას და სიკვდილს. პენკონაზოლი [1-(2,4-დიქლორო-β-პროპილფენეთილ)-1H-1,2,4-ტრიაზოლი] მიეკუთვნება ტრიაზოლების ჯგუფის პესტიციდებს. პენკონაზოლის აქტივობა განპირობებულია ციტოქრომ P450-ზე დამოკიდებული 14 α-დემეთილაზის ინჰიბირებით, რომელიც წარმოადგენს ერგოსტეროლის ბიოსინთეზის მთავარ ფერმენტს სოკოებში [4,5,7,4,8].

ვაზის ყლორტი წარმოადგენს ვაზისეული წარმოშობის ნედლეულს, რომელიც შეიცავს სხვადასხვა ჯგუფის ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს. მოცემულ პროდუქტზე ინტენსიურად მიმდინარეობს ექსპერიმენტები სამედიცინო და კოსმეტოლოგიურ პრაქტიკაში გამოყენების თვალსაზრისით.

აღნიშნულიდან გამომდინარე, აქტუალურია ქართული ვაზის ყლორტში წარჩენი ციპერმეტრინის და პენკონაზოლის რაოდენობრივი და თვისობრივი ანალიზის მეთოდების ოპტიმალური პირობების შემუშავება და მათი ვალიდაცია.

### კვლევის მასალა და მეთოდები

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა ვაზის ყლორტები, როგორც ყველაზე ნაკლებად შესწავლილი ვაზისეული წარმოშობის პროდუქტი. ყლორტები შეგროვებული იყო კახეთში, სოფელ ალვანში (ახმეტის მუნიციპალიტეტი), 2020 წლის ივნისის თვეში.

სამიზნე ნივთიერებებად შერჩეული იყო ვაზის მავნებლების წინააღმდეგ ყველაზე ხშირად გამოყენებადი პესტიციდები-ციპერმეტრინი და პენკონაზოლი. საანალიზო *in vitro* მოდელური ნიმუშების მოსამზადებლად გამოიყენებოდა SIGMA-ALDRICH-ის კატალოგით შექმნილი ციპერმეტრინის რეფერენს სტანდარტი (CAS № 52315-07-8, კატალოგის ნომერი 36128) და პენკონაზოლის რეფერენს სტანდარტი (CAS № 66246-88-6, კატალოგის ნომერი 36189); ობიექტიდან სამიზნე ნივთიერებების იზოლირებისათვის გამოვიყენეთ ექსტრაქციის QuEChERS მეთოდი.

QuEChERS კარტრიჯების შემადგენლობა:

კომპლექტი №1: ექსტრაგირება - აცეტონიტრილი / მაგნიუმის სულფატი 6g+ნატრიუმის აცეტატი 1.5g; გასუფთავება - 150 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 15 მგ GCB, 900 მგ უწყლო MgSO<sub>4</sub>. კომპლექტი №2: ექსტრაგირება - აცეტონიტრილი / მაგნიუმის სულფატი 6g+ნატრიუმის აცეტატი 1.5g; გასუფთავება - 25 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 7.5 მგ GCB, 150 მგ უწყლო MgSO<sub>4</sub>.

### კვლევის მეთოდები

საანალიზო ობიექტების ერთგვაროვანი სტანდარტული და საკვლევი ხსნარების მოსამზადებლად გამოიყენებოდა როტორული შემრევი. საანალიზო ნიმუშის კონცენტრირებისათვის გამოიყენებოდა აზოტის ნაკადის მონყობილობა. საანალიზო ნიმუშების ფილტრაციისათვის გამოიყენებოდა 0.45 მკმ ზომის მემბრანული ფილტრი. საკვლევი ნივთიერებების თვისობრივ-რაოდენობრივი ანალიზისათვის გამოიყენებოდა გაზური ქრომატოგრაფია მასსპექტრომეტრული დეტექტირებით (GC-MS).

### ექსპერიმენტული ნაწილი

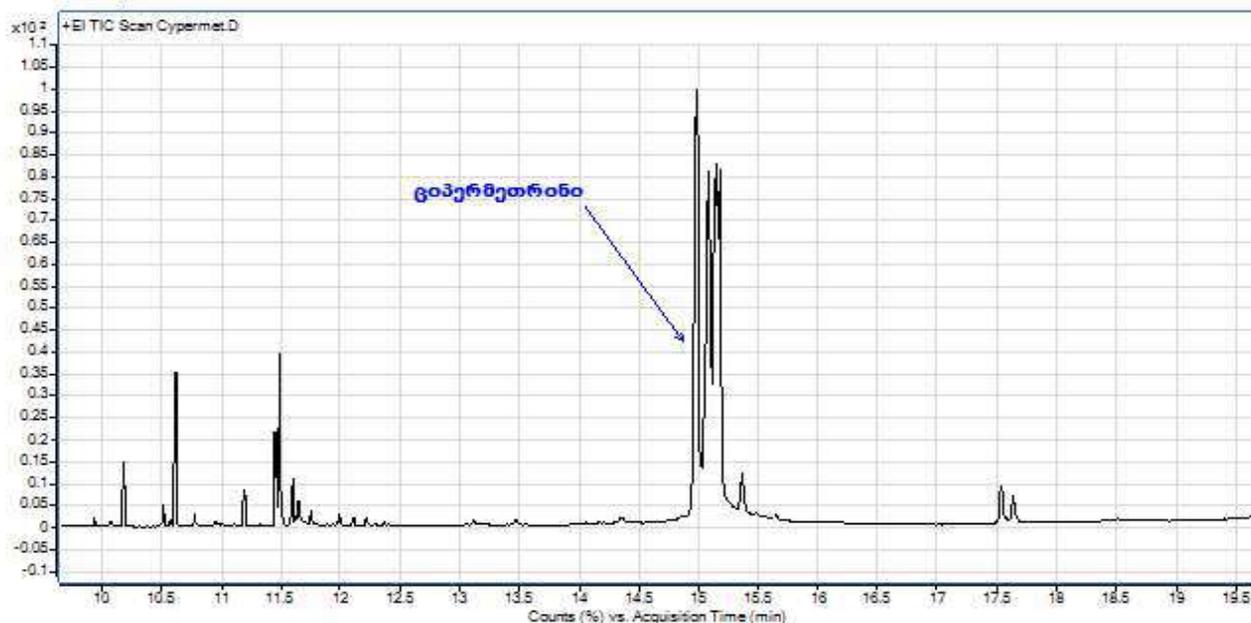
საანალიზო ნიმუშების მოსამზადებლად 3 გრამი დანვრილმანებული ვაზის ყლორტებს (მატრიცა) ათავსებდნენ ექსტრაგირებისათვის განკუთვნილ სპეციალურ ტუბებში, ამატებდნენ 30 მლ აცეტონიტრილს და ანჯლრევდნენ, უმატებდნენ მარილის ფხვნილს სპეციალური პაკეტიდან (რომელიც შეიცავდა 6 გ მაგნიუმის სულფატის ფხვნილს + 1.5 გ ნატრიუმის ციტრატს). ტუბს ანჯლრევდნენ სპეციალურ სანჯლრეველაზე 25 წუთის განმავლობაში.

მიღებული სუბსტრატის ზედა ფენა გადაქონდათ, გასუფთავებისათვის სპეციალურ ორი სხვადასხვა სახის მზა ტუბში (Cleanup tube), რომელშიც მოთავსებული იყო კომპლექტი №1 - 150 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 15 მგ GCB, 900 მგ უწყლო MgSO<sub>4</sub> და კომპლექტი №2 - 25 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 7.5 მგ GCB, 150 მგ უწყლო MgSO<sub>4</sub>. ტუბებს ანჯლრევდნენ სპეციალურ სანჯლრეველაზე და აცენტრიფუგირებდნენ 4000 ბრ/წთ სიჩქარით 5 წთ-ის განმავლობაში. მიღებული სუბსტრატის ზედა ფენას ფილტრავდნენ, ახდენდნენ კონცენტრირებას, ათავსებდნენ ავტოსემფლერის ვიალაში და ახდენდნენ ქრომატოგრაფი ინექციას.

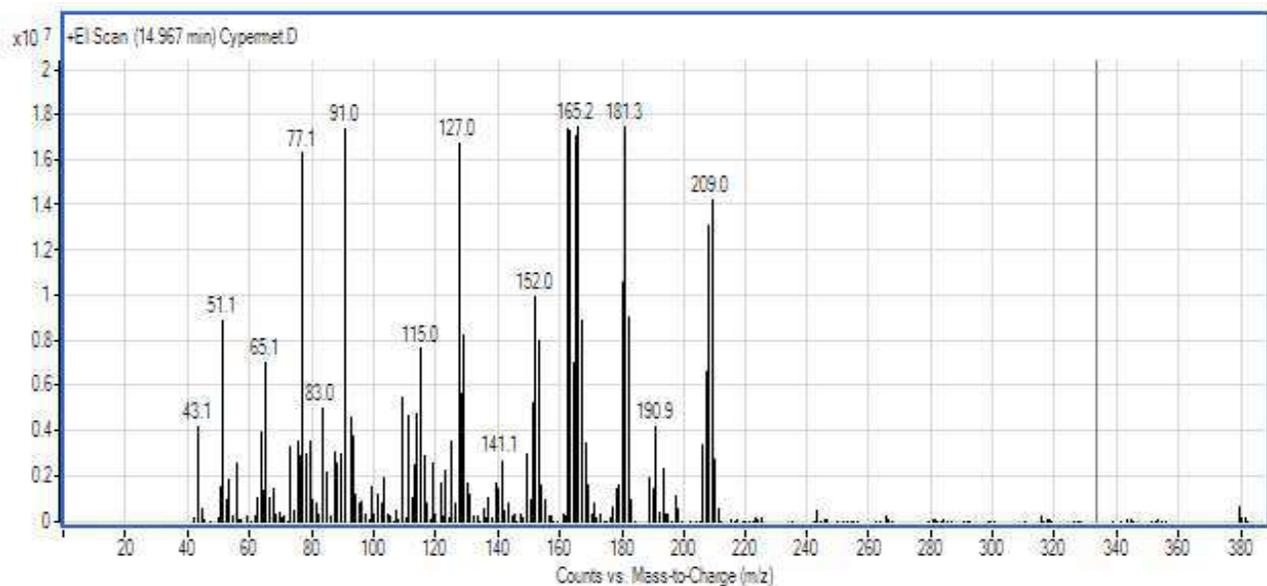
### აპარატურული გაფორმება

კვლევა ჩატარდა გაზურ ქრომატოგრაფზე Agilent 7000A Quadrupole GC-MS, რომელიც აღჭურვილი იყო გერსტელის ნიმუშის ავტომატური ამღებით. იონიზაცია მიმდინარეობდა დადებითი ელექტრონული იმპულსის რეჟიმით (EI<sup>+</sup>), სკანირება სრული იონური ნაკადით (TIC). მეთოდი: ექსპერიმენტის ფარგლებში შერჩეული იყო გაზური ქრომატოგრაფის ოპერირების ოპტიმალური პირობები: ინჟექტორის ტემპერატურა: 200°C, ლუმელის ტემპერატურა: 50°C, ტემპერატურული გრადიენტი: 50°C→200°C 15°C/წთ; 200°C→300°C 10°C/წთ; სვეტი: MS-5, 30 მ X 250 მკმ, ტრანსფერლაინის ტემპერატურა: 300°C; ინექციის მოცულობა: 1 მკლ, იონიზაცია: 70 ევ, აირმატარებელი: ჰელიუმი, აირის დინების სიჩქარე: 1 მლ/წთ. დეტექტირება: TIC - m/z 45-50 Da. საკვლევი ნივთიერებების ანალიზისათვის გამოიყენებული იყო ზემოთ მოცემული პირობები. ანალიზის შედეგად მიღებული GC-MS ქრომატოგრამები და მას სპექტრი მოცემულია №1-4 სურათზე.

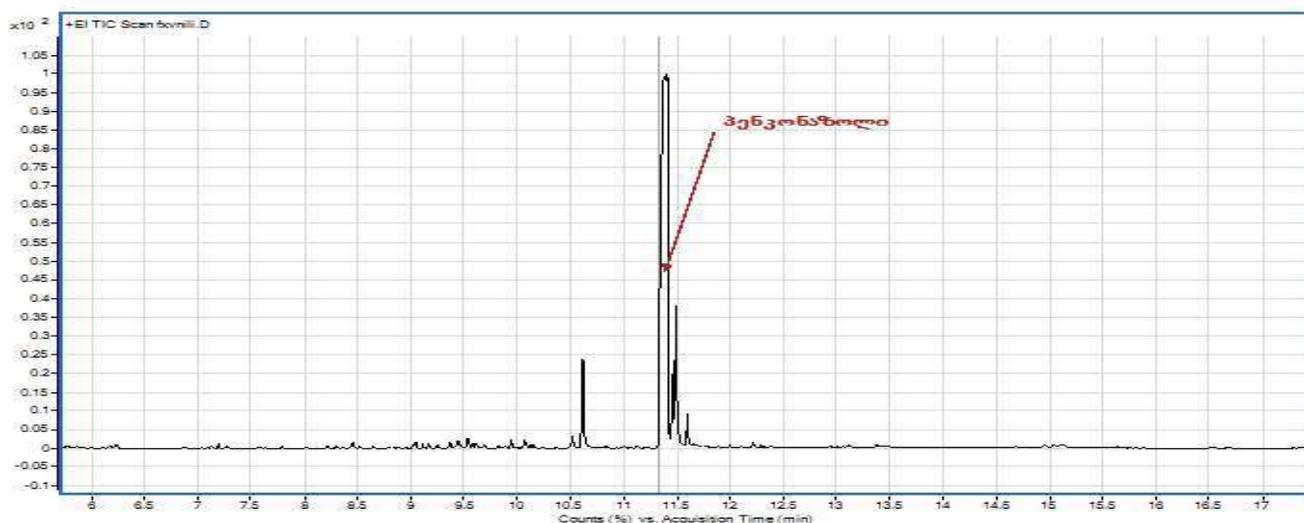
ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგები წარმოდგენილია ქრომატოგრამების და მასსპექტრების სახით.



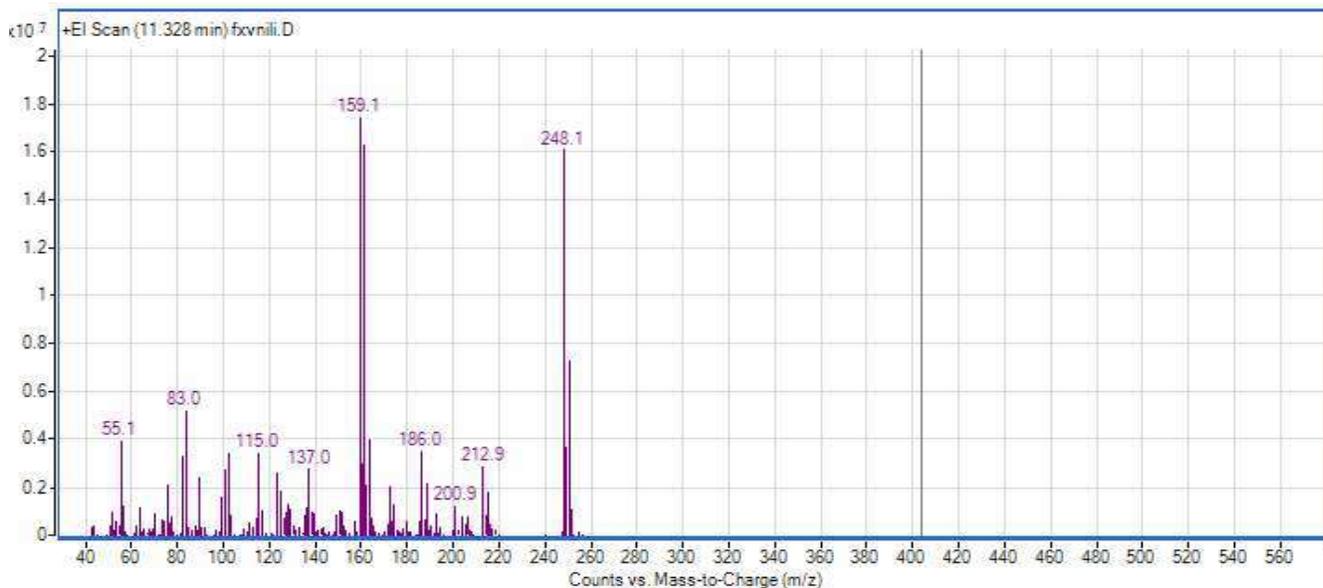
სურათი №1. ვაზის ყლორტის ექსტრაქტში ციპერმეტრინის GC-MS ქრომატოგრამა



სურათი №2. ვაზის ყლორტის ექსტრაქტში ციპერმეტრინის MS სპექტრი



სურათი №3. ვაზის ყლორტის ექსტრაქტში პენკონაზოლის GC-MS ქრომატოგრამა



სურათი №4. ვაზის ყლორტის ესტრაქტში პენკონაზოლის MS სპექტრი

ანალიზით მიღებული მასსპექტრების NIST-ის ბაზასთან შედარების საფუძველზე განხორციელდა ციპერმეტრინის და პენკონაზოლის იდენტიფიკაცია, ხოლო GC-MS ქრომატოგრამაზე მოცემული პიკების საშუალებით განისაზღვრა სამიზნე ნივთიერებების რაოდენობა. ასევე ქრომატოგრამების ანალიზის მიხედვით დადგინდა სამიზნე ნივთიერებების შეკავების დრო პენკონაზოლი - 10.22 წუთი, ციპერმეტრინი - 16.71 წუთი. ასევე დადგინდა პესტიციდები, იზოლირების ხარისხის QuEChERS მეთოდის სხვადასხვა შემადგენლობის კომპლექტის გამოყენების პირობებში. ორივე სამიზნე ნივთიერების შემთხვევაში, მაღალი იზოლირების ხარისხის მიღება, შესაძლებელი გახდა QuEChERS კომპლექტი №2-ის გამოყენების შემთხვევაში.

შემუშავებული ანალიზის მეთოდების ვალიდაცია ჩატარდა შემდეგ ძირითად პარამეტრებზე: სწორხაზოვნება - ციპერმეტრინის კორელაციის კოეფიციენტი  $R^2=0.9982$ , პენკონაზოლის  $R^2=0.9977$ . მეთოდის სიზუსტე/სისწორე: მეთოდის სიზუსტე შეადგენდა: პენკონაზოლი - დღის განმავლობაში ვარიაციის კოეფიციენტი (CV %) 10.28% - 10.95%, დღეთაშორისი CV % 12.08% - 12.68%; ციპერმეტრინის - დღის განმავლობაში CV % 13.37% - 13.83%, დღეთაშორისი CV % 10.00% - 11.52%; ქრომატოგრამების ანალიზით დადგინდა, რომ მეთოდი სელექციურია, რადგან ვაზის ყლორტში არსებულმა სხვადასხვა ნივთიერებებმა არ მოახდინეს გავლენა ციპერმეტრინის და პენკონაზოლის შეკავების დროზე და ნულოვანი ნიმუშის ქრომატოგრამაზე არ აღინიშნება საკვლევი ნივთიერების პიკები. ასევე დადგინდა აღმოსაჩენი და განსასაზღვრი მინიმუმი: ციპერმეტრინი 86.12-101.45ნგ/მლ; პენკონაზოლი 98.26-108.50ნგ/მლ. ზემოთ მოცემული შედეგებით დადასტურდა, რომ ექსპერიმენტის ფარგლებში შერჩეული ანალიზის მეთოდი სრულად აკმაყოფილებს ვალიდაციის პარამეტრების დადგენილ ნორმებს.

### დასკვნა

ჩატარებული კვლევის საფუძველზე შემუშავებულია ვაზის ყლორტიდან ციპერმეტრინის და პენკონაზოლის ექსტრაქციის QuEChERS მეთოდის ოპტიმალური პირობები (კომპლექტი: ექსტრაგირება-აცეტონიტრილი/მაგნიუმის სულფატი  $6g+$  ნატრიუმის აცეტატი 1.5გ; გასუფთავება - 25 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 7.5 მგ GCB, 150 მგ უწყლო  $MgSO_4$ , რომელიც უზრუნველყოფს ორივე სამიზნე ნივთიერების, როგორც ინდივიდურ, ასევე, კომბინირებული თანაარსებობისას სწრაფ და ეფექტურ ექსტრაქციას (91-93% ფარგლებში). შემუშავებულია ვაზის ყლორტში ციპერმეტრინის და პენკონაზოლის თვისობრივ-რაოდენობრივი განსაზღვრის გაზურ ქრომატოგრაფიული-მასსპექტრომეტრული მეთოდი (GC-MS). მეთოდი გამოირჩევა სწორხაზოვნებით, სელექციურობით, დაბალი აღმოსაჩენი და განსასაზღვრი მინიმუმით, სიზუსტით და სისწორით.

### ლიტერატურა:

1. დურმიშიძე ს., ხაჩიძე ო., ვაზის ბიოქიმია. თბილისი (1985), გამომცემლობა, 354 გვ.
2. დურმიშიძე ს., ხაჩიძე ო., ყურძნის ქიმიური შედგენილობა. თბილისი (1979), მეცნიერება, 189 გვ.
3. საქართველოს კანონი პესტიციდებისა და აგროქიმიკატების შესახებ, დოკუმენტის ნომერი 1696, 340.120.000.05.001.000.451, 1998 წ.
4. Воробьева Т. д-р с.-х. наук, Волкова А. канд. с.-х. наук Макеева А., канд. с.-х. наук Применение методов ВЭЖХ и Газовой хроматографии для определения трансформаций фунгицидов в системе ампелоценозов, Плодоводство и виноградарство Юга России № 25(01), 2014 г.
5. Подгорная М.Е., Динамика разложения топаза в садовых агроценозах. Журнал «Защита и карантин растений», №12, 2003г, с.39-40
6. Biais B., Krisa S., Cluzet S., Da Costa G., Waffo-Teguop P., Mérillon J.M., Richard T., Antioxidant and Cytoprotective Activities of Grapevine Stilbenes J Agric Food Chem. 2017 Jun 21;65(24):4952-4960. doi: 10.1021/acs.jafc.7b01254. Epub 2017 Jun 7. - 29

---

7. Mercadante R., Polledri E., Scurati S., Moretto A., Fustinoni S., Identification of Metabolites of the Fungicide Penconazole in Human Urine *Chemical Research in Toxicology* 2016, 29, 7, 1179-1186

8. Norrie P., „The History of Wine as a Medicine From its Beginnings in China to the Present Day” Cambridge Scholars Publishing 2019.

9. Pihlström T., Blomkvist G., Friman P., Pagard U., Osterdahl B.-G., Analysis of pesticide residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection, *Anal. Bioanal. Chem.* 389 (2007) 1773–1789, <http://dx.doi.org/10.1007/>

10. Tabeshpour J., Mehri S., Shaebani Behbahani F., Hosseinzadeh H., Protective effects of *Vitis vinifera* (grapes) and one of its biologically active constituents, resveratrol, against natural and chemical toxicities: A comprehensive review *Phytother Res.* 2018 Nov;32(11):2164-2190. doi: 10.1002/ptr.6168. Epub 2018 Aug 8.

11. Yadav M., Jain Sh., Bhardwaj A., Nagpal R., Puniya M., Tomar R., Singh V., Parkash O., G.B.K.S. Prasad, F. Marotta, H. Yadav, Biological and Medicinal Properties of Grapes and Their Bioactive Constituents: An Update, *J Med Food.* 2009 Jun;12(3):473-84. doi: 10.1089/jmf.2008.0096

## SUMMARY

Murtazashvili T.<sup>1</sup>, Sivsivadze K.<sup>1</sup>, Tushurasvili P.<sup>3</sup>, Gokadze S.<sup>2</sup>, Tatanashvili M.<sup>1</sup>

---

## DEVELOPMENT OF THE OPTIMAL CONDITIONS FOR ISOLATION AND ANALYSIS OF SOME PESTICIDES IN GRAPEVINE SHOOTS

---

TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL AND TOXICOLOGICAL CHEMISTRY<sup>1</sup>; DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL BOTANY<sup>2</sup>; DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY<sup>3</sup>

Vine and its products have been one of the most widely used medical products in traditional medicine since ancient times. Vine products have a complex composition, they are rich in biologically active substances with different therapeutical activities. The high nutritional and medicinal value of products of vine origin necessitates routine safety control, which includes the assessment of the content of various xenobiotics, including residual pesticides. Within the framework of this experiment, the optimal conditions for the quantitative and qualitative analysis methods of cypermethrin and penconazole residues in Georgian vine shoots were developed. For the isolation of cypermethrin and penconazole QuEChERS extraction was developed, which ensures rapid and efficient extraction of both target substances, individually and in combination (within 91-93%), and GC-MS method was used for quantitative and qualitative analysis of pesticides. Based on validation method has shown linearity (Cypermethrin  $R^2=0.9982$ , Penconazole  $R^2=0.9977$ ), selectivity, low limit of detection and quantification, accuracy and precision.