

tion: Vitamin D Supplementation May Not Provide Any Protection If There Is No Evidence of Deficiency!" - *Nutrients*, 2019

15. Yuan S, Jiang X, at all " Genetic Prediction of Serum 25-Hydroxyvitamin D, Calcium, and Diabetes: AMendelian Randomization Study" - *Diabetes Care*, 2019

BRIEF INFORMATIONAL REVIEW OF THE TOPIC

Merkviladze N.¹, Tushurashvili P.¹, Ekaladze E.¹, Obolashvili N.²

VITAMIN D, ASSOCIATION WITH THE PATHOGENESIS OF DIABETES MELLITUS

¹TSMU, DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY; ²LIONS EYE DIABETIC CLINIC – GEORGIA

Creating a scientific basis to improve diabetes prevention and treatment has become increasingly relevant because of the alert incidences of diabetes mellitus. In parallel to the pandemic character of vitamin D deficiency raises the scientific interest in establishing the links between diabetes mellitus and vitamin D. Existing knowledge of the molecular mechanism of vitamin D action and evidence-based results confirm its positive effects on insulin production and secretion, improve insulin sensitivity of target cells, as well as systemic anti-inflammatory and antioxidant ability. All of the above said indicates a promising strategy for the treatment or prevention of diabetes, but some issues are debatable and need further research.

მურთაზაშვილი თ.¹, სივსივაძე კ.¹, ჯოხაძე მ.², თუშურაშვილი პ.³, კრაველიძე თ.¹

ფუტკრის პროდუქტებიდან ნარჩენი პესტიციდების იზოლირების და ანალიზის ოპტიმალური პირობების შემუშავება

¹თსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური ქიმიის დეპარტამენტი; ²ფარმაცევტული ბოტანიკის დეპარტამენტი; ³ბიოქიმიის დეპარტამენტი

მეფუტკრეობა სოფლის მეურნეობის ერთ-ერთი უძველესი დარგია, რომელსაც განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ფარმაცეპტული და კვების მრეწველობაში როგორც საქართველოში, ასევე, მსოფლიო მასშტაბით. ფუტკარი იძლევა ისეთ მნიშვნელოვან და სპეციფიკურ პროდუქტებს, როგორც არის თაფლი, ცვილი, ფუტკრის შხამი, ფუტკრის რძე, დინდგელი, ყვავილის მტვერი და ქეო. პირველი მინიშნება ფუტკრის პროდუქტების სამკურნალო თვისებების შესახ-

ებ ამოკითხულია პაპირუსებიდან, რომელიც შექმნილი იყო რამდენიმე ათასი წლის წინათ და განეკუთვნება ძველი ეგვიპტის ხანას. ძველმა ბერძნებმა და რომაელებმა პირველებმა ჩართეს ფუტკრის მრავალფეროვანი პროდუქტები სხვადასხვა სახის სამკურნალო საშუალების შემადგენლობაში. ფუტკრის პროდუქტებიდან აღსანიშნავია ფუტკრის რძე, რომელიც შეიცავს ორგანიზმისთვის საჭირო ამინომჟავებს, ვიტამინებს (B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, A, D, PP, E, D) და მიკროელემენტებს. ფუტკრის რძე მონაწილეობს ნივთიერებათა ცვლის და ორგანიზმისთვის მნიშვნელოვან ბიოქიმიურ პროცესებში [1, 2, 4].

ფუტკრის პროდუქტები ფართოდ გამოიყენება თანამედროვე პრაქტიკაში, შესაბამისად, ისინი თავისუფალი უნდა იყოს ნებისმიერი ქიმიური დაბინძურებისგან და უსაფრთხო ადამიანის ჯანმრთელობისთვის. განსაკუთრებით საყურადღებოა ის ფაქტი, რომ უკანასკნელ წლებში სოფლის მეურნეობაში ფიქსირდება პესტიციდებზე (დიმეთოატი, დელტამეტრინი, ციპეტმეტრინი და სხვ.) გადაჭარბებული დამოკიდებულება, რამაც გამოიწვია რიგი ეკოლოგიური პრობლემები, მათ შორის - ნარჩენი პესტიციდების არსებობა საკვებ პროდუქტებში, რაც ადამიანის ჯანმრთელობის პოტენციურ რისკია. პესტიციდები შესაძლოა მოხვდნენ ფუტკრის პროდუქტებში სხვადასხვა მცენარიდან ნექტარის შეგროვების დროს [3, 6, 13, 14, 17].

პესტიციდების კონტროლი მნიშვნელოვანია ადამიანების და ფუტკრის ჯანმრთელობისათვის და სავალდებულოა, როგორც ადგილობრივი, ასევე საერთაშორისო რეგულაციებით. საქართველოს კანონმდებლობა, ისევე, როგორც საერთაშორისო სტანდარტები, აწესებს მოთხოვნებს, რომელიც უზრუნველყოფს მოსახლეობისათვის უვნებელი ფუტკრის პროდუქტების მიწოდებას. მსოფლიო მასშტაბით ევროკავშირი ერთ-ერთი ყველაზე მკაცრი მარეგულირებელი სისტემაა პესტიციდებთან დაკავშირებით, კანონმდებლობა აწესებს ნარჩენი პროდუქტების მათ შორის - პესტიციდების მაქსიმალურ ზღვარს (Reg/37/2010, 96/23/EC, Dec/97/747/EC) [5, 7, 8, 9, 10, 15, 16, 18].

ლიტერატურის წყაროებში განხილულია სხვადასხვა ინსტრუმენტული მეთოდი ფუტკრის პროდუქტებში ნარჩენი პესტიციდების განსაზღვრისთვის. აქცენტი, ძირითადად, კეთდება თაფლზე - როგორც ყველაზე მოთხოვნად პროდუქტზე, თუმცა, ნაკლებადაა შესწავლილი ფუტკრის სხვა პროდუქტები [11, 12, 19, 20].

ფუტკრის პროდუქტებში ნარჩენი პესტიციდების ანალიზისათვის მაღალი მგრძობელობის და სპეციფიკური მეთოდების შემუშავება თანამედროვე ფარმაციის და ტოქსიკოლოგიის აქტუალური ამოცანაა. ობიექტიდან ნარჩენი პესტიციდების იზოლირების, იდენტიფიკაციისა და რაოდენობრივი ანალიზისათვის ვალიდური მეთოდების არსებობა მნიშვნელოვანწილად განაპირობებს ზემოთ აღნიშნული პრობლემის ეფექტურ გადაწყვეტას.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფუტკრის პროდუქტებში ნარჩენი პესტიციდების განსაზღვრის იზოლირებისა და ანალიზის ოპტიმალური პირობების შემუშავება.

კვლევის ობიექტად შერჩეული იყო ფუტკრის რძე, როგორც ყველაზე ნაკლებად შესწავლილი ფუტკრის პროდუქტი, შეგროვებული სამეგრელოს რეგიონში (მარტვილი).

სამიზნე ნივთიერებების საანალიზო *in vitro* მოდელი ნიმუშების მოსამზადებლად გამოიყენებოდა SIGMA-ALDRICH-ის კატალოგით შეძენილი შემდეგი რეფერენს- სტანდარტები: დელტამეტრინი (CAS # 52918-63-5, კატ. ნომერი 05995), ციპერმეტრინი (CAS # 52315-07-8, კატ. ნომერი 51991).

ექსტრაქციისათვის გამოიყენებოდა QuEChERS (Biocomo limited) კარტრიჯები შემდეგი შემადგენლობით: კარტრიჯი №1 - აცეტონიტრილი / მაგნიუმის სულფატი ნგ+ნატრიუმის აცეტატი 1.5გ (ექსტრაგირება); 400 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 1200 მგ უწყლო MgSO₄ (გასუფთავება). კარტრიჯი №2 - აცეტონიტრილი / მაგნიუმის სულფატი ნგ+ნატრიუმის აცეტატი 1.5გ (ექსტრაგირება); 50 მგ PSA, (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 50 მგ C18, 1200 მგ უწყლო MgSO₄ (გასუფთავება).

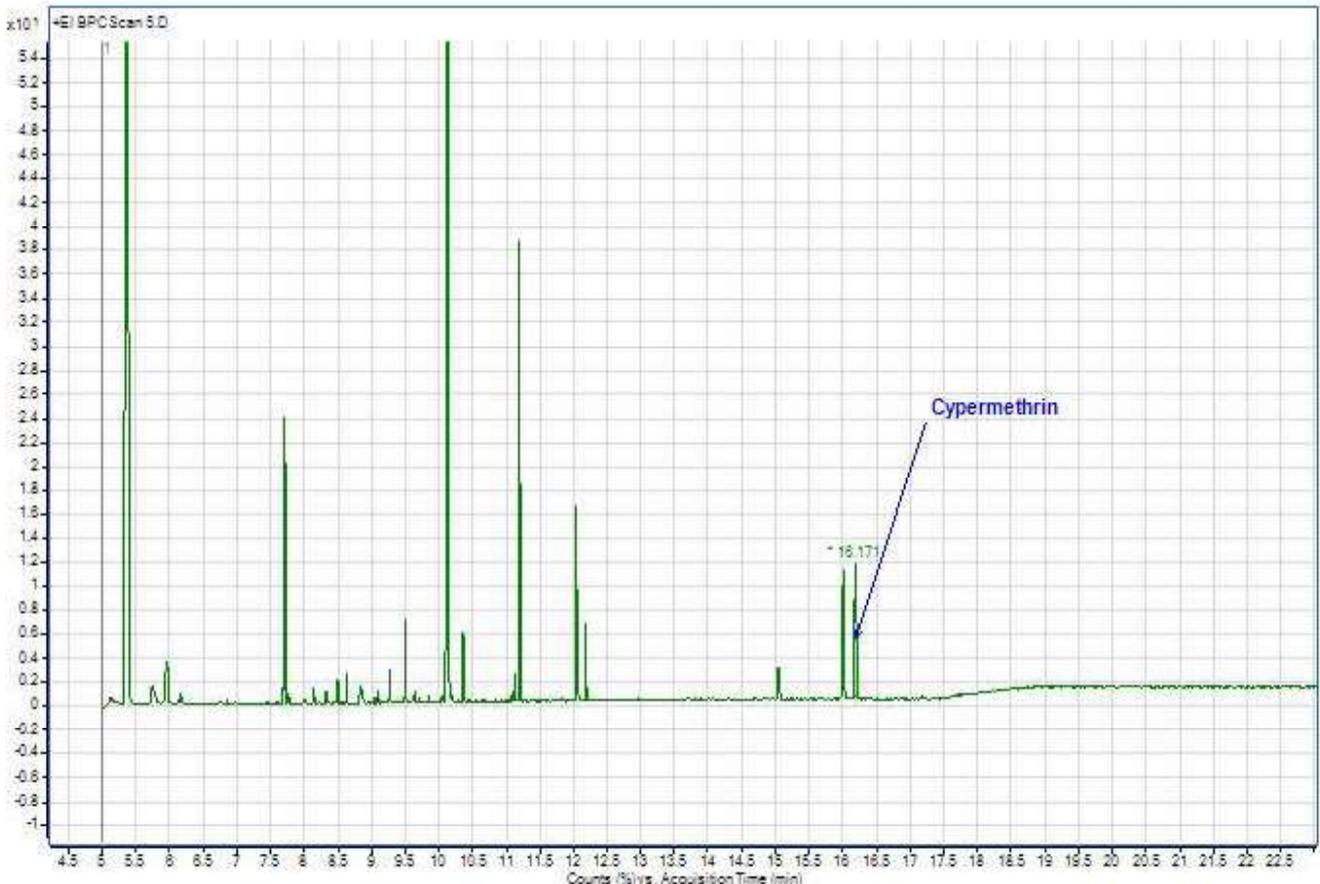
კვლევის მეთოდები. ფაზათა დაყოფისათვის გამოიყენებოდა ცენტრიფუგა Hettich® MICRO 200. ნიმუშების ულტრაბგერითი დამუშავებისთვის - MRC Ultrasonic. საანალიზო ობიექტში საკვლევი ნივთიერებების თვისობრივ-რაოდენობრივი ანალიზისათვის გამოიყენებოდა გაზური ქრომატოგრაფია მასსპექტრომეტრული დეტექტირებით (GC-MS), აპარატი - Agilent 7000A Quadrupole GC-MS. იონიზაცია მიმდინარეობდა დადებითი ელექტრონული იმპულსის რეჟიმით (EI⁺). სკანირება მიმდინარეობდა ჯამური იონური

ნაკადით (TIC).

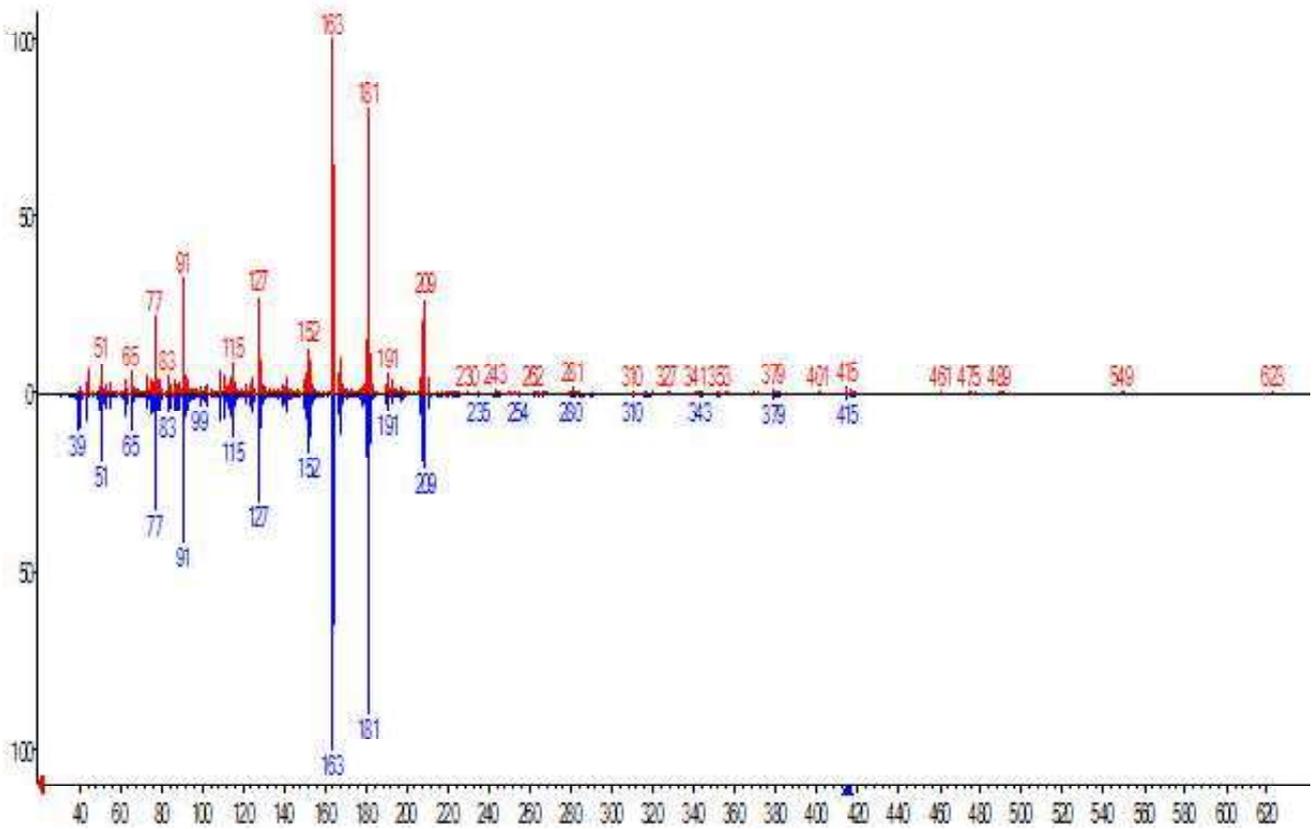
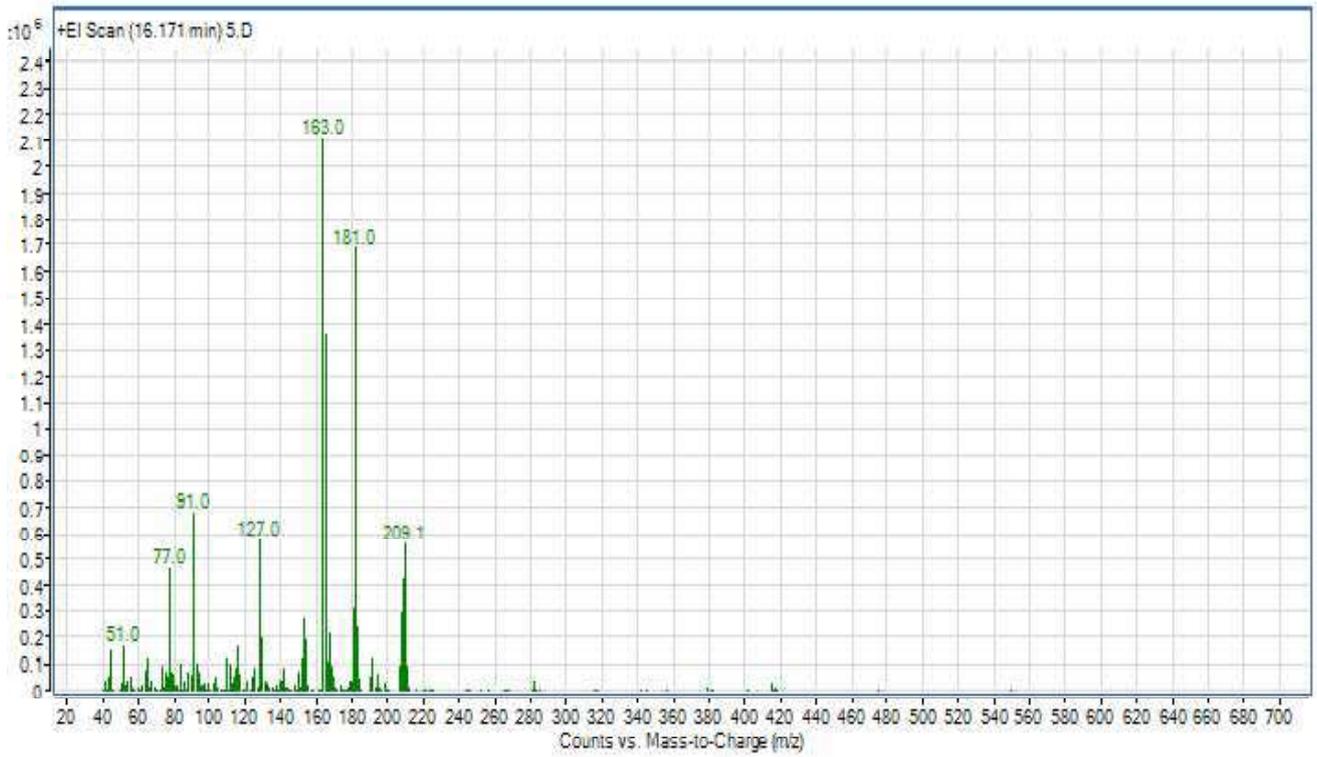
ფუტკრის რძიდან პესტიციდების იზოლირების ოპტიმალური პირობების შერჩევა მიმდინარეობდა შემდეგი სქემის მიხედვით: *in vitro* ნიმუშების მოსამზადებლად 2 გ ფუტკრის რძის (მატრიცა) 3 ნიმუში თავსდებოდა 50 მლ მოცულობის ფლაკონში, ემატებოდა 4 მლ წყალი, ციპერმეტრინის და დელტამეტრინის სტანდარტები 100 მკლ მოცულობით. ნივთიერების ოპტიმალური განაწილებისათვის და ჰომოგენიზაციისათვის გამოიყენებოდა ულტრაბგერითი აბაზანა 15 წუთის განმავლობაში 40°C ტემპერატურაზე. მზამატრიცა გადაიტანებოდა ექსტრაგირებისათვის განკუთვნილ სპეციალურ ტუბებში, ემატებოდა 10 მლ დეიონიზირებული წყალი, მარილის ფხვნილი, რომელიც შეიცავდა 6 გ მაგნიუმის სულფატს 1.5 გ ნატრიუმის ციტრატს და 10 მლ აცეტონიტრილს. ტუბები თავსდებოდა სანჯღრეველაზე და ცენტრიფუგირდებოდა 4000 ბრ/წთ სიჩქარით 5 წთ-ის განმავლობაში.

მიღებული სუბსტრატის ზედა ფენა გადაიტანებოდა გასუფთავების ორი სხვადასხვა სახის მზა ტუბში (Cleanup tube), რომელშიც მოთავსებული იყო №1 - 400 მგ PSA (პირველადი და მეორეული ამინების სორბენტი), 1200 მგ უწყლო MgSO₄ და №2 - 50 მგ PSA, 50 mg C18, 1200 მგ უწყლო MgSO₄. ტუბები თავსდებოდა სანჯღრეველაზე და ცენტრიფუგირდებოდა 4000 ბრ/წთ სიჩქარით 5 წთ-ის განმავლობაში. მიღებული სუბსტრატის ზედა ფენა იფილტრებოდა ვილაში და ხორციელდებოდა ქრომატოგრაფში ინიექცია.

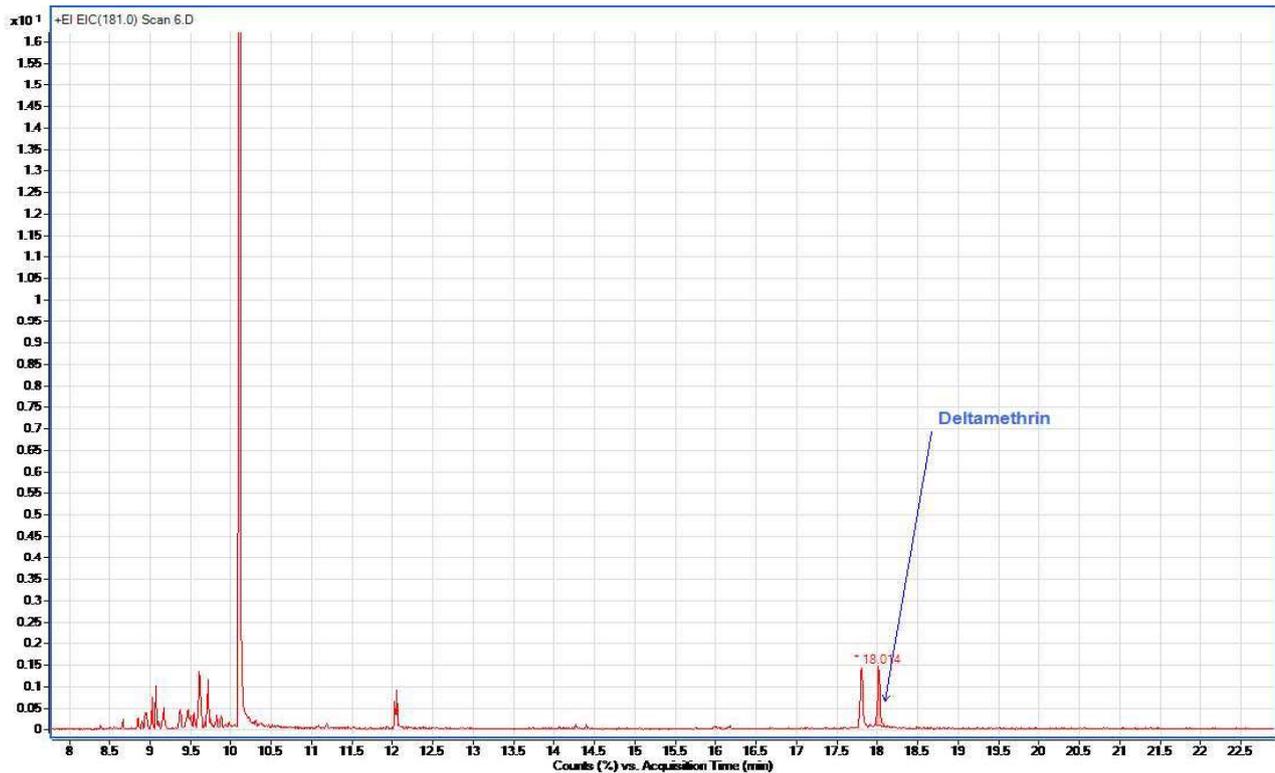
ანალიზი ჩატარდა გაზურ ქრომატოგრაფზე მასსპექტრომეტრული დეტექტირებით (GC-MS). ჩვენს



სურ. №1. ფუტკრის რძეში ციპერმეტრინის GC-MS ქრომატოგრაფია



სურ. №2. ფუტკრის რძეში ციპერმეტრინის GC-MS მასპექტრები



სურ. №3. ფუტკრის რძეში დელტამეტრინის GC-MS ქრომატოგრამა

მიერ შერჩეული იყო გაზური ქრომატოგრაფის მუშაობის ოპტიმალური პირობები: ინჟექტორის ტემპერატურა - 250°C; ღუმელის ტემპერატურა - 60°C; ტემპერატურული გრადიენტი - 60°C→250°C 15°/წ/წთ; 250°C→300°C 10°C/წთ; სვეტი - MS-5, 30 მ x 250 მკმ; ტრანსფერლაინის ტემპერატურა - 300°C; ინჟექტირების მოცულობა - 1 მკლ; იონიზაცია - 70 ევ; აირმატარებელი - ჰელიუმი; დინების სიჩქარე - 1 მლ/წთ; დეტექტირება - TIC - m/z 45 - 750 Da.

ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგები წარმოდგენილია GC-MS ქრომატოგრამების და მასსპექტრების სახით, სურ. №1-4.

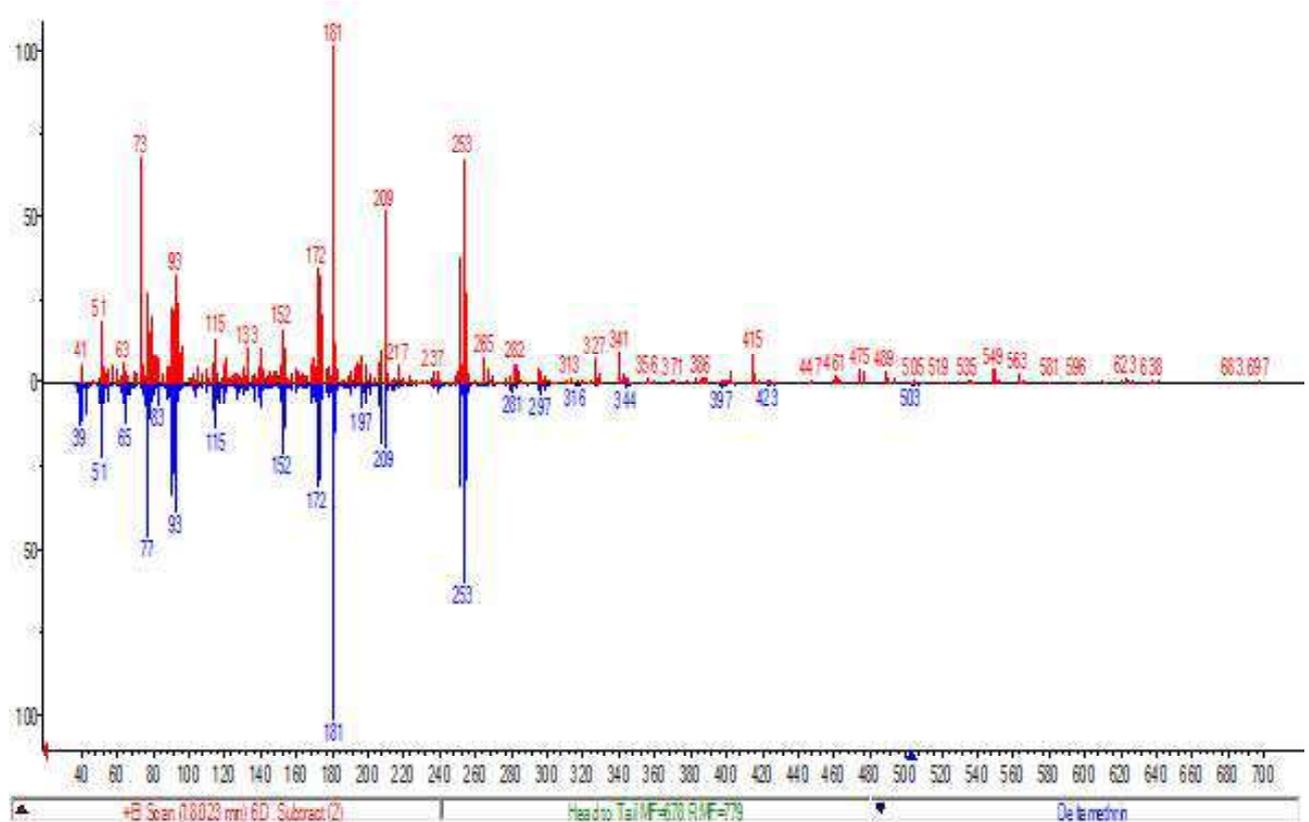
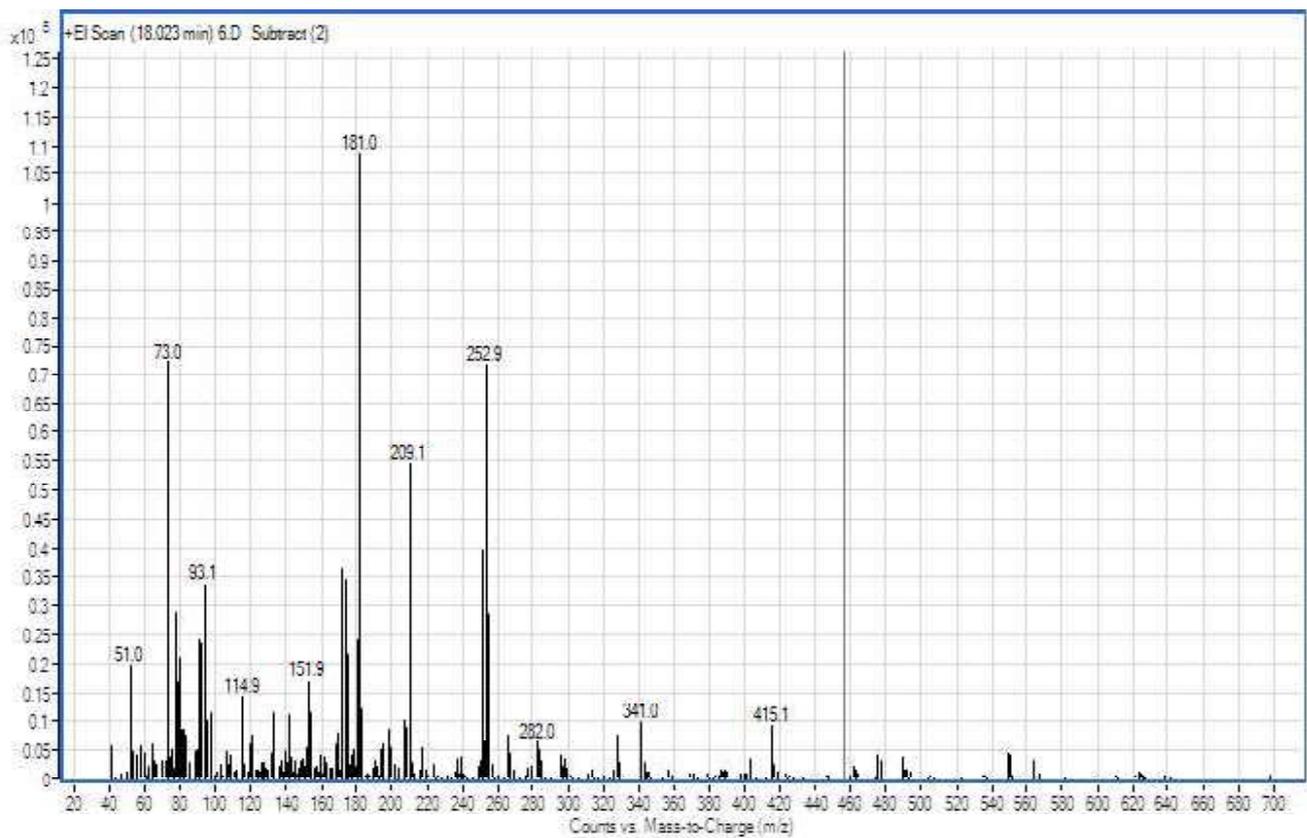
ექსპერიმენტის საფუძველზე განსაზღვრული იყო ფუტკრის რძიდან სამიზნე ნივთიერებების იზოლირების ხარისხი, რომელიც შეადგენდა: *QuEChERS* კარტრიჯი №1- ციპერმეტრინი 37 %, დელტამეტრინი 31 %; *QuEChERS* კარტრიჯი №2 - ციპერმეტრინი 87 %, დელტამეტრინი 88 %.

კვლევის დასკვნით ეტაპზე განხორციელდა შერჩეული მეთოდების ვალიდაცია საერთაშორისო სტანდარტების შესაბამისად. ანალიზის მეთოდის ვალიდაცია ჩატარდა შემდეგ ძირითად პარამეტრებზე: სწორხაზოვნება - ციპერმეტრინის კორელაციის კოეფიციენტი $R^2=0.9980$, დელტამეტრინის $R^2=0.9961$. მეთოდის სიზუსტე: ციპერმეტრინის - დღის განმავლობაში CV % 7.1%- 7.9%, დღეთაშორისი CV % 9.4%-10.1%; დელტამეტრინის - დღის განმავლობაში CV % 7.2%- 7.3%, დღეთაშორისი CV % 9.9% - 9.1%; დღის განმავლობაში სისწორე ციპერმეტრინი - 93.70% - 102.66% და დღეთაშორისი 90.98% - 99.32%. დღის განმავლობაში სისწორე დელტამეტრინი - 92.50% - 101.34% და დღეთაშორისი სისწორე 89.69%- 99.49%. განსასაზღვრი

მინიმუმ (ნგ/მლ) - ციპერმეტრინი 52.13, დელტამეტრინი 55.27; აღმოსაჩენი მინიმუმ (ნგ/მლ) - ციპერმეტრინი 17.35, დელტამეტრინი 18.42; სიგნალის და ხმაურის თანაფარდობა იყო განსასაზღვრი მინიმუმის შემთხვევაში $\leq 10:1$, ხოლო აღმოსაჩენი მინიმუმის შემთხვევაში $\leq 3:1$. ქრომატოგრამების ანალიზით დადგინდა, რომ მეთოდი სელექციურია, რადგან ენდოგენურმა ნივთიერებებმა არ მოახდინა გავლენა ციპერმეტრინის და დელტამეტრინის შეკავების დროზე და ნულოვანი ნიმუშის ქრომატოგრამაზე არ აღინიშნა საკვლევი ნივთიერების პიკები.

მოცემული შედეგით დასტურდება, რომ ანალიზის მეთოდი სრულად აკმაყოფილებს ვალიდაციის დადგენილ მოთხოვნებს.

ჩატარებული კვლევის საფუძველზე შემუშავებულია ფუტკრის რძიდან დელტამეტრინის და ციპერმეტრინის ექსტრაქციის ოპტიმალური პირობები - *QuEChERS* კარტრიჯი №2, რომელიც უზრუნველყოფს ორივე სამიზნე ნივთიერების სწრაფ და ეფექტურ ექსტრაქციას. ექსპერიმენტების მონაცემების მიხედვით შერჩეული იყო ფუტკრის რძეში დელტამეტრინის და ციპერმეტრინის თვისობრივ-რაოდენობრივი განსაზღვრის გაზურ ქრომატოგრაფიული - მასსპექტრომეტრული მეთოდის პირობები. მეთოდი გამოირჩევა სწორხაზოვნებით, სელექციურობით, დაბალი აღმოსაჩენი და განსასაზღვრი მინიმუმით, სიზუსტით და სისწორით.



სურ. №4. ფუტკრის რძეში დელტამეტრინის მასსპექტრი

ლიტერატურა:

1. რუტიდი ა. და თანაავტორები, მეფუტკრეობის ენციკლოპედია, თბილისი, 1992
2. თ. ლოლობერიძე, გრ. ლოლობერიძე, სამრეწველო მეფუტკრეობა, 2017
3. ვ.სტეფანიშვილი, ფუტკრის ბიოლოგია და მოვლა-პატრონობა, 2010
4. მაძღარაშვილი გ., ფუტკრის პროდუქტები და არატრადიციული საკვები. 2002
5. თაფლის შესახებ ტექნიკური რეგლამენტის დამტკიცების თაობაზე, საქართველოს მთავრობის დადგენილება N 714, ქ. თბილისი, 2014
6. Туников Г. и др., Технология производства и переработки продукции пчеловодства. М., 2016
7. Karazafiris E., Tananaki C., et. all, Pesticide Residues in Bee Products, Pesticides in the Modern World - Risks and Benefits, 2011
8. Council Directive 96/23/EC of 29 April 1996 on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products
9. 97/747/EC: Commission Decision of 27 October 1997 fixing the levels and frequencies of sampling provided for by Council Directive 96/23/EC for the monitoring of certain substances and residues thereof in certain animal products (Text with EEA relevance)
10. Isra M., Sameen R., et all, Effects of Pesticides on Environment, Plant, Soil and Microbes Volume 1: Implications in Crop, December 2015
11. Janet I, Raina B., Determination of pesticide residues in honey: a preliminary study from two of Africa's largest honey producers, International Journal of Food Contamination, 2016
12. Patrícia A., Tette P., Souza A., Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods, j.talanta, 2015
13. Ediriweera R., Premarathna N., Medicinal and cosmetic uses of Bee's Honey – A review, Ayu. 2012
14. Motuma A., et all, Medicinal Uses of Honey, Biology and Medicine, 2016
15. King S., Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards, The Scientific World Journal, 2012
16. Dauterman, W. C.; Viado, G. B.; Casida, J. E.; O'Brien, R. D., "Insecticide Residues, Persistence of Dimethoate and Metabolites Following Foliar Application to Plants". Journal of Agricultural and Food, 2015
17. Tomlin C., Crop Protection The Pesticide Manual - World Compendium, 2011
18. Bogdanov S. Contaminants of bee products. Apidologie, 1, 2006.
19. Raikos N., Spagou K., Vlachou M., Pouliopoulos A., Thessalonikeos E., Tsoukali H., Development of a Liquid-Liquid Extraction Procedure for the Analysis of Amphetamine in Biological Specimens by GC-FID. The Open Forensic Science Journal, 2009, 2, pp. 12-15.
20. Bylda C., Thiele R., Kobold U., Dietrich A., Volmer b., Recent advances in sample preparation techniques to overcome difficulties encountered during quantitative analysis of small molecules from biofluids using LC-MS/MS Analyst, 2014

Murtazashvili T.¹, Sivsivadze K.¹, Jokhadze M.², Tushurashvili P.³, Kravelidze T.¹

DEVELOPMENT OF OPTIMAL CONDITIONS FOR ISOLATION AND ANALYSIS OF RESIDUAL PESTICIDES IN BEE PRODUCTS

¹TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL AND TOXICOLOGICAL CHEMISTRY; ²DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL BOTANY; ³DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

Beekeeping is one of the oldest branches of agriculture, which is of particular importance in the pharmacy and food industry. Bees provide a variety of specific products, including bee milk, which contains essential amino acids, vitamins (B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₂, A, D, PP, E, D) and microelements. Bee products should be free of any chemical contamination and safe for human health. Particularly noteworthy is the fact that in recent years there has been an excessive increase in pesticides (dimethoate, deltamethrin, cypermethrin, etc.) in agriculture. Given this, bee milk may contain pesticides from nectar collected from various plants. Accordingly, for the analysis of residual pesticides in bee products, the development of high sensitivity and specific methods is an important task of modern pharmacy and toxicology. Based on this study, optimum conditions for the extraction of deltamethrin and cypermethrin from bee milk have been elaborated - QuEChERS Cartridge # 2, which provides rapid and effective extraction of the target substance (within 87-88%). According to the experimental data, optimum conditions for the quantitative determination of deltamethrin and cypermethrin in bee milk were determined by GC-MS method. The method was validated on following parameters is linearity (calibration concentration 50 - 800 ng / ml, correlation coefficient - cypermethrin R² = 0.9980, deltamethrin R² = 0.9961); selectivity; LOD (17.35 ng / ml - 18.42 ng / ml) and LOQ (52.13 ng / ml - 55.27 ng / ml) with precision and accuracy.