

Файзуллаева Нодира Султановна, Олимжонова Мухлиса Шавкат қизи

ЎЗБЕКИСТОН ШАРОИТИДА ЎСТИРИЛГАН СТЕВИЯДАН ҚУРУҚ ЭКСТРАКТ ОЛИШ ТЕХНОЛОГИЯСИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ ВА ТАҲЛИЛ ҚИЛИШ

Тошкент фармацевтика институти

*e-mail: fayzullaeva.nodira@mail.ru

Биринчи марта ЎзР ФА нинг Геномика ва биоинформатика маркази ходимлари стевия (*Stevia Rebaudiana Bertone*) ўсимлигининг иқлимга чидамли навларини яратганлар (катта илмий ходим, б.ф.д. Х.А.Убайдуллаева). Мазкур изланишларда янги технология бўйича ўстирилган стевия ўсимлигининг ер устки қисмидан қуруқ экстракт олиш технологиясини ҳамда унинг таҳлил усуллари ишлаб чиқилди. Жумладан, қуруқ экстракт олиш жараёнига таъсир кўрсатувчи омиллар: хомашёни майдалик даражаси, экстрагент тури ва концентрацияси, хомашё ва экстрагент нисбати ҳамда экстракция жараёнига сарфланган вақт каби кўрсаткичлар ўрганилди. Олинган стевия қуруқ экстрактининг миқдорий таҳлили юқори самарали суюқлик хроматография (ЮССХ) усулида ўрганилди.

Таянч иборалар: ўсимлик хомашёси, биологик фаол моддалар, стевия қуруқ экстракти, сифат кўрсаткичлари, ЮССХ усули, миқдорий таҳлил.

Халқаро диабет федерацияси маълумотларига кўра, қандли диабет билан касалланганлар сони 2040 йилга келиб 642 миллионга етиши тахмин қилинмоқда. Ушбу касалликнинг олдини олиш ва даволаш, аҳолини сифатли, зарарсиз, дори воситалари ва маҳаллий ўсимлик хомашёларида тайёрланган биологик фаол моддалар билан таъминлаш катта илмий ва амалий аҳамиятга эга. Давлатимиз томонидан республикада фармацевтика соҳасини янада ривожлантириш, аҳолини юқори самарадорликка эга, безарар ва сифатли дори воситалари билан таъминлашни тўлақонли амалга ошириш масалаларига алоҳида эътибор бериб келинмоқда. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2020 йил 10 октябрдаги ПФ 4670 - сонли “Ёввойи ҳолда ўсувчи доривор ўсимликларни муҳофаза қилиш, маданий ҳолда етиштириш, қайта ишлаш ва мавжуд ресурслардан оқилона фойдаланиш чора-тадбирлар тўғрисида”ги Фармонида стратегик мақсадлар,

ўсимликларни етиштириш ва улардан фойдаланиш мақсадида истиқболли ўсимлик сифатида стевия (*Stevia Rebaudiana Bertone*) ҳам киритилган. Ҳозирги кунда бу ўсимлик Тошкент вилоятининг Қибрай туманида ва Сурхондарё вилоятининг кўплаб туманларида муваффақиятли етиштириб келинмоқда. Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, Марказий Осиё шароитида етиштирилган стевия баргларида стевיוзидларнинг миқдори МДХнинг бошқа минтақаларига нисбатан 18% га етиши аниқланди [1].

Ҳозирги кунда дунёнинг барча мамлакатларида, айниқса, саноати ривожланган мамлакатларда қандли диабет билан касалланиш барқарор равишда ошиб бормоқда. Стевия ўсимлиги ушбу касалликни олдини олиш ва даволашда ишлатилиши бўйича тиббиётда алоҳида ўрин эгаллаб келмоқда. Стевия таркибида бир қанча дитерпен гликозидлар, флавоноидлар, аминокислоталар, каротиноидлар, ёғ кислоталари, ферментлар, витамин ва минераллардан ташкил топган. Бундан ташқари бир қатор мамлакатларда ширинлаштиргич сифатида кенг миқёсда ишлатилади. Стевия ўсимлиги таркибидаги бир қатор бирикмалар гипогликемик, гипотензив, яллиғланишга қарши, ўсимтага қарши, диуретик ва иммуномодуляция қилувчи таъсирга эга ҳисобланади[2].

Тадқиқотнинг мақсади. Иммуно тизимини стимуллаш ҳамда қандли диабетни даволашда кўшимча даволовчи досита сифатида ишлатишга мўлжалланган стевия ер устки қисми қуруқ экстракти технологиясини ишлаб чиниш ва сифатини баҳолаш.

Усул ва услублар. Изланишлар объекти сифатида ЎзР ФА нинг Геномика ва биоинформатика марказида янги усулда ўстирилган стевия (*Stevia Rebaudiana Bertone*) ўсимлиги танланган. Дастлабки тажрибаларда янги технология бўйича ўстирилган стевия ер устки қисми таркибида полифеноллар (30-45%), 8 хил ширин дитерпен гликозидлар (18-20%),

УДК 615.451.164

хлороген кислотаси (2-3%), аминокислоталар (1,5-3%), макро-ва микроэлементлар (Zn, K, Mg, Se ва б. - 0,18-1%), витаминлар (В гурухи, С,Р,А, D,E,K). Стевия хом ашёсидан экстракт олишда экстрагент тури ва нисбати (40%, 70%, 90% этил спирти ва тозаланган сув), хом ашёнинг майдалик даражаси, экстракция шароити (реперколяция ва мацерация-циркуляция усуллари) ўрганилди. Экстракциянинг самараси куруқ қолдиқ, стевиозидлар ва хлороген кислотани миқдори бўйича баҳоланди [3].

Стевия куруқ экстракти таркибидаги стевиозидлар йиғиндисининг миқдори қайтарилган фазали юқори самарали суюқлик хроматография усулида аниқланди. Стевиозидларни аниқлаш учун мўътадил хроматографиялаш шарити танлашда турли қўзғалучан фазалардан (нейтрал, нордон ва асосли хаактерга) ва турли хилдаги сорбентлар билан тўлдирилган колонкалардан фойдаланилди. Хроматографиялаш шароити стевиозид куруқ экстрактини дастлабки спектрал ва хроматографик таҳлил натижалари бўйича танланди. Тажрибалар ўзгарувчан тўлқин узунлиги УБ-детектори ва насос билан жиҳозланган “Agilent technologies” фирмасини “Agilent 1100” суюқлик хроматографи-

да олиб борилди. Дастлабки олинган натижалар бўйича детекторлаш 210 нм тўлқин узунлигида, натижалар таҳлили “ChemStation 3 D” дастури ёрдамида амалга оширилди. Таҳлил қилиш учун элюатнинг таркиби танлаб олинган бўлиб, хроматографиялаш эса “Agilent technologies” колонкаларида олиб борилди [3, 4, 5, 6].

Натижалар ва уларнинг муҳокамаси. Олиб борилган тажрибалар натижасида мацерация-циркуляция усули танлаб олинди. Мацерация-циркуляция усулида куруқ экстракт олиш учун сарфланадиган спирт миқдорини аниқлаш учун хомашёнинг спирт (90% ва 70%) шимиш коэффициентини (мос равишда 3,4 ва 3,1) аниқланди ва дастлабки сарфланадиган спирт миқдори хомашёга нисбатан тўрт марта кўп бўлиши, сувли экстракция учун хомашё ва тозаланган сув 1:3 нисбатда бўлиши мақсадга мувофиқ деб топилди. Биофаол моддаларни тўлиқ ажратиш олишга сарфланган вақтни белгилаш мақсадида экстракциялаш жараёни кран билан таъминланган мацерацион идишда турли вақт (1-6 соат) оралиғида амалга ошириб кўрилди. Олинган натижалар 1-жадвалда келтирилган.

1-жадвал

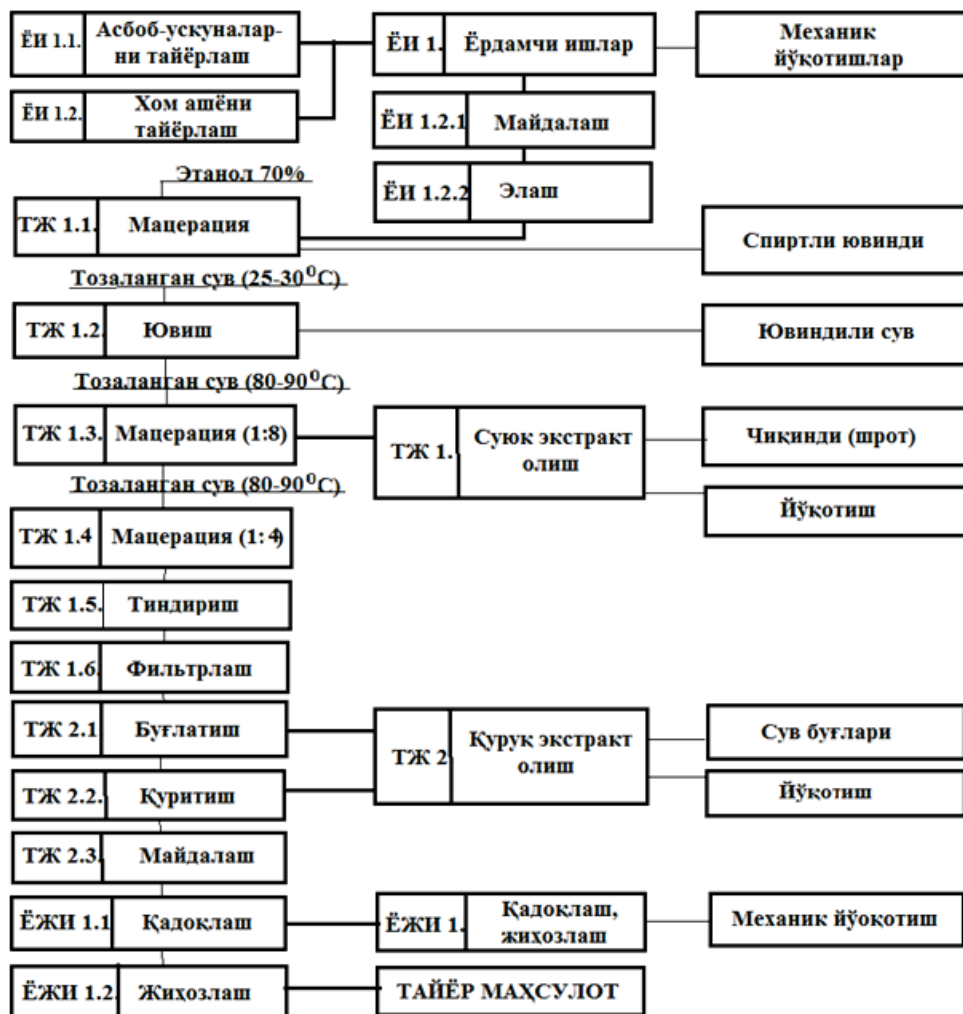
Стевия ўсимлигидан суюқ экстракт олиш жараёнига таъсир кўрсатувчи омилларни ўрганиш натижалари

Ўрганилган омиллар	Олинган натижалар		
	Ташки кўриниш	Қуруқ қолдиқ, %	Экстрактив моддалар стевиозидлар йиғиндиси,%
Хомашёни майдалиқ даражаси, мм			
2,0	тўқ яшил ўзига хос ҳидли ажратма	4,25	20,17
3,0		4,27	20,34
4,0		4,29	21,16
5,0		4,31	21,31
Экстрактент (%) концентрацияси			
20	тўқ яшил ўзига хос ҳидли ажратма	5,18	16,80
40		4,80	17,60
60		4,61	19,15
70		4,33	20,17
90		4,21	20,45
Сув(90°C)		3,21	15,20
Хомашё ва экстрагент (70% этил спирти) нисбати			
1:4	тўқ яшил ўзига хос ҳидли ажратма	4,22	20,15
1:6		4,03	19,8
1:8		3,21	18,65
Экстракция умумий вақти, соат			
1	тўқ яшил ўзига хос ҳидли ажратма	3,20	18,20
4		3,83	19,64
6		4,20	20,42

УДК 615.451.164

Стевия куруқ экстрактини олишда мацерация-циркуляция усулида суёқ экстракт олиш учун оптимал майдалик даражаси - 5 мм дан катта бўлмаган стевия ер устки қисмини бўктириш учун 70% этил спирти ва бўктириш вақти 3 соат деб танланди, бунда хомашё ва этанол нисбати 1:4 тенг, сўнг минерал тузлар ва оддий қандларни ювиш учун 1:3 нисбатдаги

совуқ (25-30°C) сувдан фойдаланилди. Сўнг иссиқ сув (85±5°C) билан экстракция 60 ва 30 дақиқада, 1:8 ва иккинчи мартада эса 1:4 нисбатда амалга оширилди. Ажратмалар бирлаштирилиб, 60±5°C ҳароратда қуритилди ва 50±2°C қуритгич жавонида 4,3±0,5% қолдик намликкача қуритилди ва физик-механик кўрсаткичлари баҳоланди.(1-расм)



1-расм. Стевия қуруқ экстрактини олиш технологик жараён тасвири

Стевия қуруқ экстрактининг сифат кўрсаткичларини ўрганиш натижалари:

Чинлиги. Стевиозиднинг стандарт намуна (СН) эритмасини тайёрлаш: 0,05 г атрофида стевиозид СНси сиғими 50 мл ўлчов колбасига солинди ва 25 мл 96% этил спиртда эритилди, эритманинг ҳажми шу эритувчи билан белгисигача етказилди ва аралаштирилди.

Усул моҳияти: 0,6 г стевия қуруқ экстракти сиғими 100 милли ўлчов колбасига солинади, устига 20 мл 96% этил спирти қуйилиб, 10-15 дақиқа давомида чайқатилади ва филтр қоғози орқали филтрланади. Суёқлик 96% ли этил спирти билан

белгисигача етказилади ва хроматографиялаш учун ишлатилади. “Kieselgel 60 F 254” (Merck) навли юпка қатламли хроматография пластинкасининг старт чизиғига 20 мкл (250 мкг атрофидаги экстракт) филтрат ва 30 мкл дан (30 мкг атрофида) “гувоҳ” моддаларнинг СН эритмалари томизилади. Пластинка 20 дақиқа хона ҳароратида қуритилади, сўнггра камерадаги эритувчилар аралашмасига (этилацетат – чумоли кислотаси - сув - этанол 8:1:1:2 нисбатда) 0,5 см гача тегиб турадиган қилиб туширилиб қўйилади. Хроматография юқорига кўтарилиш усули-

УДК 615.451.164

да олиб борилади. Эритувчиларнинг старт чи-
зиғидан юқорига қараб кўтарилиш fronti 10
см га етганида, пластинка камерада олиниб,
ҳавода 15 дақиқа қурилади. Сўнгра пластин-
кага 0,1% ли натрий эозинат эритмаси пуркала-
ди ва 254 нм тўлқин узунлигидаги ультраби-
нафша нурда кўрилади. Хроматограмма
очилганидан сўнг ультрабинафша нурда
кўрилганида стевиозиднинг СН эритмаларига
хос масофага кўтарилганида оч-оловранг доллар
пайдо бўлганлиги маълум бўлди (стевиозид).
Стевиозиднинг Rf қиймати $0,20 \pm 0,02$ га тенг.

Стевиозид миқдори аниқлаш.

Таҳлил шароити:

- Diasorb NH₂ (4x250 мм), сорбент заррача-
ларнинг ўлчами 7 мкм;
- кўзгалувчан фаза – ацетонитрил-сув
(80:20);
- оқим тезлиги – 1,0 мл/дақиқа;
- детекторлаш – 210 нм тўлқин узунлигида;
- таҳлил шароити – хона ҳарорати.

Усул моҳияти: куруқ экстрактдан 0,13 г
(аниқ тортма) атрофида олиб, сиғими 100 мл ли
ўлчов колбага солинади, устига 50 мл тозалан-
ган сув солинади ва 15 дақиқа чайқатиб эрити-
лади. Эритманинг ҳажми тозаланган сув билан
белгисигача етказилади ва олдиндан тозаланган
сув билан намланган филтр қоғози орқали фи-
льтрланади. Филтратнинг биринчи 10-15 мл
ташлаб юборилади.

2 мл филтрат сиғими 25 мл ли ўлчов кол-
басига солинади, устига кўзгалувчан фазанинг
аралашмаси (ацетонитрил-сув (80:20)) билан,
белгисигача етказилади ва аралаштирилади.
Ҳосил бўлган эритма ва стевиозиднинг СН эри-
тмаси 20 мклдан навбатма-навбат УБ детектор-
ли суяқлик хроматографиясида юқорида кел-
тирилган шароитда 5 та намунадан кам бўл-
маган ҳолда хроматографияланади.

Куруқ экстракт таркибидаги стевиозид
миқдори фоизда қуйидаги келтирилган тенгла-
ма ёрдамида ҳисобланади:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_{ст} \cdot 5 \cdot W}{S_0 \cdot a \cdot 4},$$

бу ерда:

S_1 – текширилаётган эритманинг хроматограммаларидан ҳисоблаб олинган стевиозид чўққи
майдонларини ўртача қиймати;

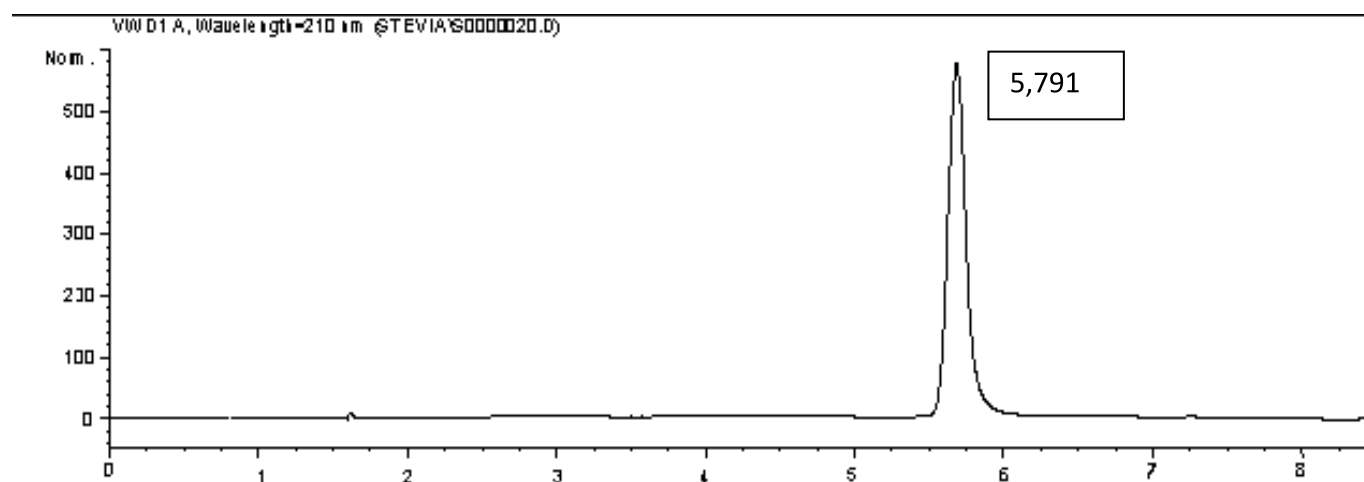
S_0 – стандарт намуна эритманинг хроматограммаларидан ҳисоблаб олинган стевиозид СНнинг
чўққи майдонларини ўртача қиймати;

a – куруқ экстракт массаси, г;

$a_{ст}$ – стевиозид СН массаси, г.

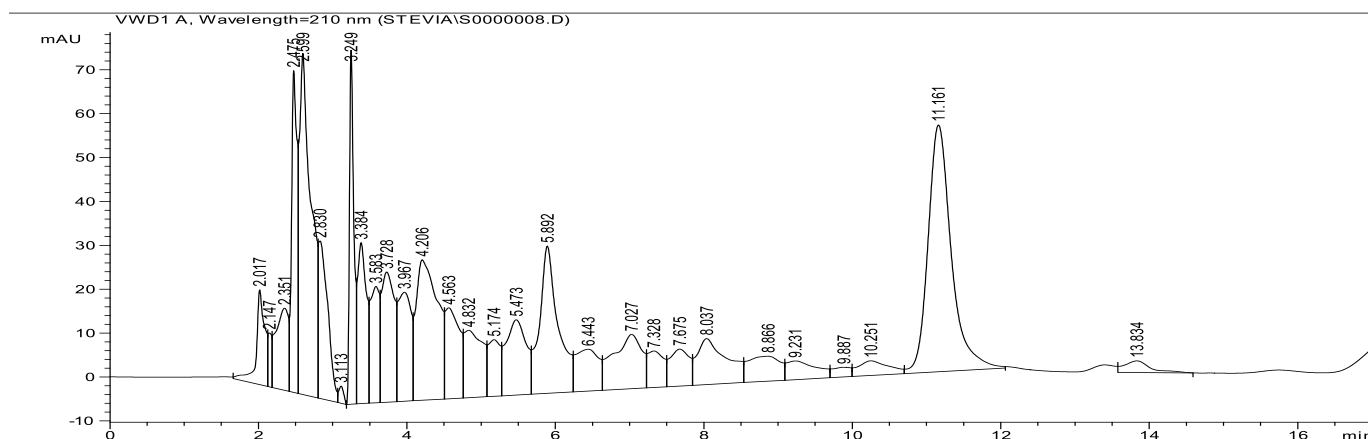
W – СН таркибидаги стевиозиднинг миқдори, %.

Стевия баргидан олинган намуналар таркибидаги стевиозид миқдори – 40,0% дан, ер устки
кисмидан олинган куруқ экстрактда эса стевиозид миқдори 20,0% дан кам бўлмаслиги керак.
Олинган натижалар 2 ва 3–расмларда ва 2-жадвалда келтирилган.



2-расм. Стевиозиднинг стандарт намунаси хроматограммаси

УДК 615.451.164



3-расм. Стевия ер устки қисмидан олинган курук экстрактнинг хроматограммаси

2-жадвал

Стевия ер устки қисмидан олинган курук экстрактнинг миқдорий таҳлил натижалари

Тортма, г	Олинган натижалар, %	Метрологик тавсиф
0,264	21,31	$f = 4$ $P = 95\%$
0,265	21,20	$X_{\text{ўр}} = 20,8140$
0,260	20,17	$S^2 = 0,2110$
0,252	20,17	$S = 0,4594$
0,258	20,64	$S_x = 0,2054$
		$e = 6,136\%$
		$e_{\text{ўр}} = 2,74\%$

Хулосалар.Тажрибалар натижасида стевия ўсимлигининг ер устки қисмидан курук экстракт олинди ва стевия курук экстракти таркибидаги стевיוзидлар йиғиндисининг миқдори ЮССХ усулида ўрганилди. Стевюзидлар миқдори 12% дан кам бўлмаслиги белгиланди.

Адабиётлар рўйхати.

1. Тарасенко Н.А. Сахарный диабет: действительность, прогнозы, профилактика //Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 6.- С. 14-22.
2. Курдюков Евгений Евгеньевич Фармакогностическое исследование семян льна и листьев стевии как компонентов растительного сбора «стелинол» //Автореф. канд. фарм. наук.- Пенза, 2019.- 22 с.
3. Кедик С.А., Ярцев Е.И., Станишевская И.Е., Федоров С.В. Технология получения сухого очищенного экстракта из листьев стевии // «Вестник МИТХТ», 2008, т. 3, № 2 83-87 с.
4. Холтоев Ф.Т., Алиев Х.У., Файзуллаева Н.С. Стевия баргининг курук экстрактини организм иммун тизимига таъсири//Kimyo va farmatsiya.- 2002.- №1.- Б.47-49.
5. Усманова Н.У., Ташпулатова А.Д.Определение стевюзида в густом экстракте листьев стевии методом ТСХ/“Фаол инвестициялар ва ижтимоий ривожланиш йили”га бағишланганталабалар илмий жамиятининг анъанавий 76-илмий анжуман материаллари тўплами.- 23-24 май, 2019 йил, Тошкент.- С. 63.
6. Холтоев Ф.Т., Назаров Э.А., Файзуллаева Н.С. Количественное определение стевюзидов в сухом экстракте листьев стевии и в таблетках/Материалы Республиканской научно-практ.конф. Новые достижения в получении и применении природного сырья, посвященная 100 летию проф. Р.Л. Хазанович.-Ташкент, 2006.-С.53-54.

Файзуллаева Нодира Султановна, Олимжонова Мухлиса Шавкат кизи

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И АНАЛИЗ СУХОГО ЭКСТРАКТА СТЕВИИ, ВЫРАЩЕННОЙ В УСЛОВИЯХ УЗБЕКИСТАНА

Ташкентский фармацевтический институт

*e-mail: fayzullaeva.nodira@mail.ru

Впервые сотрудниками Центра Геномики и биоинформатики АН РУз (старшим научным сотрудником, д.б.н. Х.А.Убайдуллаевой) культивированы устойчивые к местному климату сорта стевии (*Stevia Rebaudiana Bertone*). Настоящие исследования посвящены получению сухого экстракта стевии и разработке методов анализа, из надземной части растения, выращенного по новой технологии. В частности, были изучены факторы, влияющие на процесс экстракции: степень измельчённости сырья, вид и количество экстрагента, соотношение сырья и экстрагента, а также время затраченное на экстракцию. Количественное содержание суммы дитерпеновых гликозидов в сухом экстракте стевии определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Ключевые слова: растительное сырьё, биологически активные вещества, сухой экстракт стевии, качественные показатели, высокоэффективная жидкостная хроматография, количественное определение.

Fayzullayeva Nodira Sultanovna, Olimjonova Mukhlisa Shavkat qizi

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND ANALYSIS OF DRY EXTRACT OF STEVIA GROWN IN THE CONDITIONS OF UZBEKISTAN

Tashkent pharmaceutical institute

*e-mail: fayzullaeva.nodira@mail.ru

For the first time, employees of the Center for Genomics and Bioinformatics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan (senior researcher, Doctor of Biological Sciences H.A. Ubaydulayeva) cultivated varieties of stevia resistant to the local climate (*Stevia Rebaudiana Bertone*). The present research is devoted to the production of a dry extract of stevia and the development of analization methods from the aerial part of a plant grown using a new technology. In particular, the factors influencing the extraction process were studied: the degree of grinding of raw materials, the type and amount of extractant, the ratio of raw materials and extractant, as well as the time spent on extraction. The quantitative content of the sum of diterpene glycosides in the dry extract of stevia was determined by high performance liquid chromatography (HPLC).

Key words: plant raw materials, biologically active substances, dry extract of stevia, qualitative indicators, HPLC chromatograph, quantitative determination.