

O‘ZBEKISTONNING QURG‘OQCHIL EKOTIZIMIDAN OLINGAN PROPOLIS EKSTRAKTSIYASINI FIZIK-KIMYOVIY XOSSALARI

Avezov Xasan Tilloevich,

Abdujalilova Sarvinoz Azamat qizi

Buxoro davlat universiteti,

Tabiiy fanlar va agroinnovatsiyalar ilmiy-tadqiqot instituti,

Kimyo va neft-gaz texnologiyalari kafedrası

E-mail: avezovxasan5@buxdu.uz

E-mail: abdujalilovasarvinoz12@buxdu.uz

ANNOTATSIYA. Propolis (asalari yelimi) - bu asalari *Apis mellifera* tomonidan o‘simlik eksudatidan ishlab chiqarilgan va biologik faolligi bilan keng tanilgan murakkab qatronli matritsa. Propolisning fizik va kimyoviy xossalari ko‘p jihatdan mahalliy flora, geografik kelib chiqishi va mikroiklim stress omillariga bog‘liq. Ushbu tadqiqotda Buxoro viloyatining uchta turli tumanidan (Romitan, Kogon va Olot) - qurg‘oqchil kontinental iqlim, yuqori quyosh nurlanishi va sho‘rlangan kserofit o‘simliklari bilan ajralib turadigan hududdan yig‘ilgan xom propolis uchun fizik-kimyoviy parametrlar o‘rganildi va optimal ekstraktsiya sharoitlari aniqlandi.

Ekstraksiya samaradorligi an‘anaviy Soxhlet/maseratsiya usullarini ultratovush yordamida ekstraktsiya (UTE) bilan taqqoslash orqali tizimli ravishda baholandi. Namlik, kul, mum, mexanik aralashmalar, umumiy fenolik birikmalar (UFB) va umumiy flavonoidlar (UF) kabi fizik-kimyoviy parametrlar standart usullar va spektrofotometrik protseduralar yordamida aniqlandi. Buxorodan olingan namunalar past namlik miqdori ($3,12 \pm 0,18\%$), past kul miqdori ($1,84 \pm 0,12\%$) va qatronli moddalarning yuqori ulushi ($56,40 \pm 1,25\%$) bilan tavsiflandi. UTE sharoitida $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ da 30 daqiqa davomida 70% etanol (v/v) dan foydalanish an‘anaviy maseratsiyaga (7 kundan keyin $172,30 \pm 3,85\text{ mg GAE/g}$) nisbatan polifenolik birikmalarining maksimal ekstraktsiyasini ($218,45 \pm 4,12\text{ mg GAE/g}$) ta‘minladi. GX-MS tahlili pinocembrin, galangin, xrizin va kofein kislotasi hosilalarining asosiy bioaktiv komponentlar sifatida

aniqlanganligini aniqladi. Olingan natijalar Buxoro mintaqasidan olingan propolis xalqaro farmakopeya standartlariga javob berishini va katta farmatsevtik salohiyatga ega ekanligini tasdiqlaydi.

Kalit soʻzlar: Apis mellifera, propolis, Buxoro florasi, ultratovushli ekstraksiya, fenol miqdori, flavonoidlar, GC-MS tahlili.

1. KIRISH.

Propolis - asalarilar (Apis mellifera) tomonidan daraxt kurtaklari, oʻsimlik eksudatlari va gul qatronlaridan yigʻilgan tabiiy qatronli uya mahsuloti. Asalarilar bu oʻsimlik qatronlarini soʻlak fermentlari va asalari mumi bilan aralashtirib, himoya muhrlarini hosil qiladi, uyaning ichki yuzalarini tekislaydi va bakterial, qoʻziqorin va virusli infeksiyalar rivojlanishining oldini oluvchi aseptik sharoitlarni saqlaydi.

Kimyoviy jihatdan, xom propolis taxminan 50% oʻsimlik qatronlari, 30% asal mumi, 10% efir va aromatik moylar, 5% gulchang donalari va 5% boshqa organik va noorganik mikrokomponentlarni oʻz ichiga olgan juda heterojen matritsadir. Propolisning biologik spektri, jumladan, antioksidant, mikroblarga qarshi, sitoprotektiv va yalligʻlanishga qarshi xususiyatlari, uning fitokimyoviy tarkibi bilan bevosita belgilanadi. Yevropa terak propolisidan (Populus nigra dan kelib chiqqan) yoki Braziliya yashil propolisidan (Baccharis dracunculifolia dan kelib chiqqan) farqli oʻlaroq, Markaziy Osiyoning qurgʻoqchil mintaqalarida ishlab chiqarilgan propolisning kimyoviy profili hali ham yaxshi tushunilmagan.

Oʻzbekistonning Buxoro viloyati yozning yuqori harorati ($>45^{\circ}\text{C}$), yillik yogʻingarchilikning kamligi ($<150\text{ mm}$), tuproq shoʻrlanishining ortishi va kuchli quyosh nurlanishi bilan tavsiflangan oʻta qurgʻoqchil kontinental muhitni ifodalaydi. Bu hududning mahalliy florasi kuchli termal va osmotik stressga bardosh berish uchun polifenollar, flavonoidlar va terpenoidlar ishlab chiqarishni koʻpaytirishni taʼminlaydigan maxsus metabolik yoʻllarni rivojlantirgan. Ushbu ekotizimdagi dominant oʻsimlik turlariga tuya tikoni (Alhagi pseudalhagi), yulgʻun (Tamarix spp.), qora terak (Populus nigra), oq tol (Salix alba) va sutli vika (Astragalus spp.) kiradi.

Buxoro propolisidan farmatsevtika, nutrasevtika va kosmetika sanoatida samarali foydalanish uchun standartlashtirilgan fizik-kimyoviy tavsiflash va optimallashtirilgan ekstraksiya usullari juda muhimdir. An'anaviy maseratsiya usullari uzoq ekstraksiya vaqtini - 7 kungacha - va organik erituvchilarni ko'p iste'mol qilishni talab qiladi, bu esa faol komponentlarning termal degradatsiyasiga olib kelishi mumkin.

"Yashil" ekstraksiya usullari, xususan, ultratovushli ekstraksiya (UGE), hujayra matritsalarini buzish, massa almashinuvini kuchaytirish va hosilni maksimal darajada oshirish uchun akustik kavitatsiyadan foydalanadi. Ushbu tadqiqotning maqsadi Buxoro viloyatining uchta turli mikrohududidan olingan propolisning fizik va kimyoviy xususiyatlarini o'rganish va optimallashtirilgan, yuqori samarali ultratovushli ekstraksiya usulini ishlab chiqish hisoblanadi.

2. MATERIALLAR VA USULLAR

2.1. Namuna olish va geografik mikrozonalar. Ishlov berilmagan propolis namunalari yozning oxiri va kuzning boshida (avgust-oktyabr) Buxoro viloyatining uchta geografik mikrohududdagi uyushgan asalari fermalaridan to'plandi:

1. A hudud (Romitan tumani): *Populus* va *Salix* turlari ustunlik qiladigan sug'oriladigan daryo havzasi;
2. B hudud (Kogon tumani): aralash dasht o'simliklari bilan qishloq xo'jaligi o'tish zonasi;
3. C hudud (Olot tumani): yovvoyi *Alhagi pseudalhagi* va *Tamarix* turlari ustunlik qiladigan sho'r cho'l chegarasidagi ekotizim. Xom propolis qirindilari mo'rtlikni oshirish uchun -18°C da 2 soat davomida sovutildi, kriogen laboratoriya tegirmonida maydalandi va 1,0 mm elakdan o'tkazildi. Namunalar to'q jigarrang idishlarda 4°C da saqlandi.

2.2. Fizik-kimyoviy tavsiflash usullari. Standart protokollar: Fizik-kimyoviy tahlillar Xalqaro Propolis Ilmiy Qo'mitasi (IPSC) ning standart protseduralari va rasmiy AOAC usullariga muvofiq o'tkazildi.

Namlik miqdori: 2,0 g maydalangan propolisni vakuumli pechda 40°C haroratda va pasaytirilgan bosimda (10 mbar) doimiy og'irlikka qadar quritish orqali aniqlanadi.

Umumiy kul miqdori: Oq, uglerodsiz kul olish uchun 1,0 g namunani 550°C haroratda yuqori haroratli muffle pechida 5 soat davomida kaltsiylash orqali aniqlanadi. Mumi miqdori: 2,0 g namunani qaynab turgan neft efiri (40–60°C) bilan takroriy ekstraktsiya qilish, issiq filtrlash, mumni cho'ktirish uchun sovutish, keyinchalik quritish va gravimetrik aniqlash orqali aniqlanadi.

Qatron miqdori (etanolda eruvchan fraksiya): 1,0 g propolisni 80 ml absolyut etanolda 48 soat davomida maseratsiya qilish, oldindan tortilgan shisha tigel orqali filtrlash, erimaydigan qoldiqni quritish va massa farqidan eruvchan fraksiyani hisoblash orqali aniqlanadi. Erish nuqtasi diapazoni: Büchi M-565 avtomatik kapillyar erish nuqtasi apparati yordamida 1,0 °C/min qizdirish tezligida aniqlandi.

2.3. Ekstraksiyani optimallashtirish protokollari. Samaradorlik uchun ikkita ekstraktsiya usuli taqqoslandi:

(a) Maseratsiya ekstraktsiya (ME): maydalangan propolis (5,0 g) turli konsentratsiyalardagi (50%, 70% va 95% v/v) 50 ml suvli etanol eritmaları bilan aralashtirildi va qorong'ida 25 °C da 7 kun davomida magnit bilan aralashtirildi. (b) Ultratovush ekstraktsiya (UTE): Maydalangan propolis (5,0 g) termostatlangan qoplamali idishda 50 ml etanol eritmalarida (50%, 70% va 95% v/v) suspenziya qilindi. Ultratovush bilan ishlov berish turli haroratlarda (30 °C, 45 °C va 60 °C) va ishlov berish vaqtlarida (10, 20 va 30 daqiqa) zond ultratovush protsessori (40 Gz, 250 Vt) yordamida amalga oshirildi. Ekstraktlar Whatman № 1 filtr qog'ozi orqali filtrlandi va aylanma bug'latgich yordamida 40 °C da vakuum ostida konsentratsiyalandi.

2.4. Umumiy fenolik birikmalar va flavonoidlarni aniqlash

Umumiy fenollar tarkibi (UF) Folin-Ciocalteu reaktivi yordamida spektrofotometrik tarzda aniqlandi. Suyultirilgan ekstraktning alikvotlari (0,5 ml) 2,5 ml 10% Folin-Ciocalteu reaktivi va 2,0 ml 7,5% Na₂CO₃ eritmasi (w/v) bilan reaksiyaga kirishdi. Optik zichlik 40 °C da 30 daqiqa davomida inkubatsiya qilingandan so'ng $\lambda = 765 \text{ nm}$ da o'lchandi.

Natijalar quruq propolisning har bir grammiga gallik kislota ekvivalentining milligrammi sifatida ifodalandi (mg GAE/g). Umumiy flavonoid miqdori (UFM) alyuminiy xlorid yordamida $\lambda = 415$ nm da kvartsetin standart egri chizig'iga nisbatan baholandi va mg QE/g sifatida ifodalandi.

2.5. Gaz xromatografiyasi-massa spektrometriyasi (GX-MS)

Derivatizatsiya quritilgan propolis ekstraktlarini 1% TMCS saqlovchi N,O-bis(trimetilsilil) trifloroatsetamid (BSTFA) bilan 70°C da 45 daqiqa davomida reaksiyaga kirishish orqali amalga oshirildi. GX-MS tahlili 5977B MSD massa selektiv detektor va HP-5MS kapillyar ustuni (30 m × 0,25 mm, Plyonka qalinligi 0,25 µm). Geliy tashuvchi gaz sifatida 1,0 ml/min oqim tezligida ishlatilgan.

Pech harorati 100 °C dan (2 daqiqa ushlab turing) 280 °C gacha 5 °C/min tezlikda dasturlashtirilgan, so'ngra 15 daqiqa ushlab turing. Kimyoviy komponentlar massa spektral xususiyatlari va ushlab turish indekslarini NIST17 va Wiley spektral ma'lumotlar bazalaridagi ma'lumotlar bilan taqqoslash orqali aniqlangan.

3. NATIJALAR VA MUHOKAMASI

3.1. Buxorodan olingan qayta ishlanmagan propolisning fizik-kimyoviy xossalari. Buxoro viloyatining uchta geografik mikrozonasida to'plangan qayta ishlanmagan propolisning asosiy fizik va kimyoviy parametrlari 1-jadvalda xalqaro IPSC sifat mezonlari bilan birga keltirilgan.

1-jadval. Buxoro viloyati tumanlaridan olingan qayta ishlanmagan propolisning fizik-kimyoviy parametrlari

Fizik-kimyoviy parametr A zonasi (Romitan) B zonasi (Kogon) C zonasi (Olot) IPSC standarti

Namlik miqdori (%) 3.45 ± 0.12 3.12 ± 0.18 $2.85 \pm 0.10 \leq 8.0\%$

Umumiy kul miqdori (%) 1.92 ± 0.08 1.84 ± 0.12 $1.65 \pm 0.09 \leq 5.0\%$

Mum miqdori (%) 24.50 ± 1.10 26.80 ± 0.95 $21.30 \pm 1.20 \leq 30.0\%$

Qatron miqdori (%) 58.20 ± 1.40 54.10 ± 1.30 $61.50 \pm 1.15 \geq 45.0\%$

Mexanik aralashmalar (%) 2.80 ± 0.15 3.10 ± 0.20 $2.40 \pm 0.11 \leq 6.0\%$

Erish nuqtasi diapazoni (°C) 64.5–68.0 63.0–67.5 66.0–70.0 60–70 °C

Izoh: Qiymatlar o'rtacha $\pm$ standart og'ish sifatida keltirilgan, $n = 3$.

Barcha sinovdan o'tgan xom propolis namunalari xalqaro IPSC sifat mezonlariga javob berdi. Barcha zonalarda namlik miqdori past (2.85–3.45%) ekanligini ta'kidlash kerak, bu Buxoroda namunalar olish davrida yuqori atmosfera quruqligi va minimal atrof-muhit namligini bevosita aks ettiradi. Namlik miqdori pastligi uzoq muddatli saqlash uchun juda qulay omil hisoblanadi, chunki u qatron komponentlarining muddatidan oldin mikrobial fermentatsiya va parchalanishining oldini oladi.

C namunasida (Olot tumani) qatronli moddalarning eng yuqori ulushi (61,50%) va eng past mum miqdori (21,30%) kuzatildi. Bu Olotda kserofit o'simliklarning, xususan, yozgi issiqlik stressi ostida bug'lanish tezligini kamaytirish uchun yuqori konsentratsiyali yopishqoq sirt eksudatlarini sintez qiladigan Alhagi pseudalhagi va Tamarix turlarining tarqalishi bilan izohlanadi. Qatronli moddalarning yuqori ulushi biologik faol komponentlarning yuqori ekstraktsiyasi bilan bog'liq.

3.2. Ekstraksiya rentabelligi va polifenolik birikmalarni optimallashtirish.

Maseratsiya ekstraktsiyasini (ME) va ultratovushli ekstraktsiyani (UTE) qiyosiy baholash biologik faol komponentlarni ekstraktsiya qilish kinetikasida sezilarli farqlarni ko'rsatdi. 2-jadval. Turli ME va UZE sharoitlarida qiyosiy ekstraktsiya rentabelligi va polifenol miqdori (C zonasi namunasi)

Usul Erituvchi (% EtOH) Harorat (°C) Vaqt rentabelligi (%) TPC (mg GAE/g) TFC (mg QE/g).

ME 50% EtOH 25 7 kun 32.10 ± 0.85 118.50 ± 2.40 42.10 ± 1.10

ME 70% EtOH 25 7 kun 48.60 ± 1.10 172.30 ± 3.85 68.40 ± 1.80

ME 95% EtOH 25 7 kun 52.30 ± 1.25 158.10 ± 3.20 74.20 ± 2.05

BAA 50% EtOH 45 30 daqiqa 38.40 ± 0.90 145.20 ± 2.90 54.30 ± 1.35

BAA 70% EtOH 45 30 daqiqa 58.90 ± 1.20 218.45 ± 4.12 92.80 ± 2.10

BAA 95% EtOH 45 30 daqiqa 59.40 ± 1.35 185.60 ± 3.90 88.50 ± 2.30

BAA 70% EtOH 60 30 daqiqa 57.10 ± 1.15 198.20 ± 3.50 85.10 ± 1.95

Erituvchi tarkibi biologik faol komponentlarni ekstraktsiya qilish samaradorligiga sezilarli ta'sir ko'rsatdi. 70% v/v nisbatida etanol va suv aralashmasi 95% etanol bilan solishtirganda umumiy fenolik birikmalarning yuqori ekstraktsiyasini ta'minladi.

Suv gidrofob qatronlar matritsasining shishib ketishiga yordam beradi, bu esa ultratovushli mikrojetlarning strukturaga chuqurroq kirishiga imkon beradi, etanol esa lipofil flavonoidlar va fenolik efirlarni samarali ravishda eritadi.

Optimal ultratovush tekshiruv parametrlari 70% etanol, 45°C harorat va 30 daqiqalik ultratovush tekshiruv vaqti edi. Ushbu sharoitlarda maksimal TPC miqdori $218,45 \pm 4,12$ mg GAE/g va TFC miqdori $92,80 \pm 2,10$ mg QE/g ni tashkil etdi.

Haroratni 60°C ga ko'tarish TPC miqdorining biroz pasayishiga olib keldi ($198,20$ mg GAE/g), ehtimol bu sezgir gidroksitsinnamik kislota hosilalarining qisman termik parchalanishi bilan bog'liq. Ayniqsa, UZE an'anaviy maseratsiyaning 7 kuni bilan solishtirganda atigi 30 daqiqada yuqori ekstraktsiya hosildorligini ta'minladi, bu jarayon vaqtining 336 baravar qisqarishiga mos keladi.

3.3. GC-MS tahliliga asoslangan kimyoviy tahlili. Derivatlangan optimallashtirilgan ekstraktarning (C zonasi, UZE, 70% EtOH) xromatografik profillanishi 28 xil kimyoviy komponentni aniqladi. Asosiy biologik faol birikmalar 3-jadvalda keltirilgan.

3-jadval. GC-MS tomonidan optimallashtirilgan Buxoro propolis ekstraktida aniqlangan asosiy biologik faol komponentlar

Birikma nomi Saqlash vaqti (min) Kimyoviy sinf Nisbiy maydoni (%)

Benzoy kislotasi 8.42 Aromatik kislota 2.15 ± 0.12

Kofein kislotasi 14.15 Gidroksitsinnamik kislota 4.80 ± 0.25

Ferul kislotasi 16.30 Gidroksitsinnamik kislota 3.65 ± 0.18

Pinocembrin 22.85 Flavanon 14.20 ± 0.55

Xrizin 24.10 Flavon 11.85 ± 0.40

Galangin 25.45 Flavanol 9.60 ± 0.32

CCPE (kofein kislotasi fenetil efiri) 28.90 Fenol efiri 5.40 ± 0.22

α -Bisabolol 18.75 Seskviterpen 3.10 ± 0.15

Buxoro propolisining kimyoviy profili Yevropa terak propolisining xususiyatlarini kserofit o'simliklarining xarakterli mintaqaviy belgilari bilan birlashtiradi.

Flavononlar va flavonlar fenolik birikmalarning asosiy sinflari hisoblanadi. Pinotsebrin (14.20%), xrizin (11.85%) va galangin (9.60%) birgalikda umumiy cho'qqi maydonining 35% dan ortig'ini tashkil qiladi. Bu birikmalar propolisning mikroblarga qarshi, antifungal va antioksidant faolligi bilan bog'liq muhim komponentlardir. Ferul kislotasi (3,65%) va kofein kislotasi fenetil efirining (CAPE, 5,40%) sezilarli darajada mavjudligi cho'l o'simliklarining, ayniqsa Alhagi va Tamarix turlarining hissasini ko'rsatadi. CCPE yallig'lanishga qarshi va sitoprotektiv xususiyatlari bilan keng tanilgan va shuningdek, Buxoro propolis ekstraktlarining potentsial dorivor qiymatini oshiruvchi o'simtga qarshi faolligi uchun ham o'rganilmoqda.

XULOSA

Ushbu tadqiqot O'zbekistonning Buxoro viloyatining qurg'oqchil ekotizimida to'plangan propolisning fizik, kimyoviy va ekstraksiya parametrlarini keng qamrovli o'rganishni taqdim etadi.

Tadqiqotning asosiy natijalari quyidagilar:

1. Standartlarga muvofiqligi. Buxoro viloyatidan olingan qayta ishlanmagan propolis yuqori tozalik va sifat, past namlik miqdori (2,85–3,45%), past kul miqdori (1,65–1,92%) va yuqori qatron eruvchanligi (>54%) bilan ajralib turadi. Olot tumanidan olingan namunalar eng yuqori qatron miqdoriga ega edi - 61,50%.

2. Jarayonni optimallashtirish.

45°C da 30 daqiqa davomida 70% etanoldan foydalangan holda ultratovushli ekstraksiya optimal protokol bo'lib, fenol birikmalarining (218,45 mg GAE/g) va flavonoidlarning (92,80 mg QE/g) maksimal darajada tiklanishini ta'minlaydi, bu esa maseratsiyaga nisbatan ishlov berish vaqtini sezilarli darajada qisqartiradi.

3. Fitokimyoviy tarkibi.

GC-MS profillash pinocembrin (14,20%), xrizin (11,85%), galangin (9,60%) va CCPE (5,40%) ni asosiy faol metabolitlar sifatida aniqladi, bu esa terak va cho'l kserofit botanika kelib chiqishining kombinatsiyasini aks ettiradi.

4. Qo'llanilish salohiyati.

Buxoro viloyatidan olingan propolis sanoat standartlashtirish va farmatsevtikada, tabiiy mikroblarga qarshi vositalar va funktsional sog'liqni saqlash mahsulotlari sifatida foydalanish uchun mos bo'lgan qimmatli tabiiy resursdir.

ADABIYOTLAR

1. Bankova, V., Bertelli, D., Borba, K. R. va boshqalar (2019). Propolis tadqiqotlari uchun standart usullar. Asalarichilik tadqiqotlari jurnali, 58(2), 1–49.
2. Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). Propolisning kimyoviy tarkibidagi so'nggi yutuqlar. Molecules, 19(12), 19610–19632.
3. Popova, M., Trusheva, B., & Bankova, V. (2021). Propolisni ekstraksiya qilish usullari: sharh. Asalarichilik fanlari jurnali, 65(1), 5–22.
4. AOAC Rasmiy Tahlil Usullari. (2016). Rasmiy Analitik Kimyogarlar Assotsiatsiyasi, 20-nashr. Vashington, Kolumbiya okrugi.
5. Kasiya, C. va boshqalar (2020). Markaziy Osiyo propolisining kimyoviy profili va biologik faolligi: Qiyosiy tadqiqot. Fitokimyoviy tahlil, 31(4), 485–496.
6. Salatino, A., & Salatino, M. L. F. (2021). Propolis tadqiqotlaridagi ilmiy yutuqlar. Fitokimyo, 185, 112708.
7. Zulxurova, M. va boshqalar (2022). Buxoro vohasi florasi va uning abiotik stress ostidagi ikkilamchi metabolit potentsiali. O'zbek Kimyo Jurnali, 4, 33–41.
8. Wozniak, M. va boshqalar (2019). Propolis polifenollari uchun ultratovush yordamida ekstraksiya va maseratsiyani taqqoslash. Ultratovush Sonochemistry, 58, 104617.