

**БУЛЦУУТ НАРАНЦЭЦЭГ (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.) УРГАМЛЫН ХАТААСАН
БУЛЦУУНЫ СТАНДАРТЧИЛАЛ**

*Д. Батдорж¹, Л. Марал¹, А. Маралгуа¹, Ж. Номин¹, Б. Баттулга¹, Г. Цэрэнханд²,
Р. Лхаасүрэн¹, Л. Хүрэлбаатар¹, С. Бадамцэцэг¹

¹Эм Судлалын Хүрээлэн, Монос, ²Ботаникийн цэцэрлэгт хүрээлэн, ШУА

*И мэйл хаяг: batdorj.d@monos.mn, Утас: +976-88803149

**STANDARDIZATION OF DRIED TUBER OF JERUSALEM ARTICHOKE
(*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.)**

*Batdorj D¹, Maral L¹, Maralgua A¹, Nomin J¹, Battulga B¹, Tserenkhand G²,
Lkhaasuren R¹, Khurelbaatar L¹, Badamtsetseg S¹

¹Drug research institute, ²Botanic Garden and Research Institute, MAS

*E mail address: batdorj.d@monos.mn, Phone: +976-88803149

Abstract

The Jerusalem Artichoke (JA) (*Helianthus tuberosus* L.) is an annual plant native to North America and widely distributed in Europe and Central Asia. The tuber of JA contains 80% water, 15% polysaccharide (Inulin etc.), 2% protein, and a small amount of starch and fat. Inulin is a polysaccharide that is widely used as a prebiotic, fat substitute, and sugar substitute. This substance has high biological activity and is contained in large quantities. The purpose of this study was to standardize the quality and safety of dried tubers of JA. Standardization includes parameters such as microscopic analysis, identification, quantification, validation of methods following the guidelines issued by ICH guidelines, and quality, including safety analysis (appearance, moisture, mechanical impurities, heavy metals, microbiological purity).

The content of inulin was 64.17±1.25%. The mean relative standard deviation of method validation (RMS%) was 1.27%, 1.18%, 1.22%, and the relative mean standard deviation (RMS) of method precision was 1.94%. The specific absorbance was 307 nm. The correlation coefficient R²=0.9998 was obtained for the reference curve of the standard substance. The detection limit of the method was 2.64 µg/ml, and the detection limit was 7.99 µg/ml. The method mentioned above has been confirmed to be suitable for the quantitative determination of inulin in the tuber of JA. Moreover, Microbiological purity and heavy metal requirements are met.

Key words: Jerusalem artichoke, inulin, polysaccharides, fructose

Үндэслэл:

Булцуут наранцэцэг (БНЦ) (*Helianthus tuberosus* L.) нь хойд Америкаас гаралтай Европ болон төв Азид өргөн тархсан нэг наст ургамал юм (Зураг 1). Уг ургамал нь нүүрс усыг инулин хэлбэрээр булцуундаа хадгалдаг. БНЦ-ийн булцуу нь ус 80%, нүүрс ус 15%, уураг 2%, цардуул

болон өөх тосыг бага хэмжээгээр агуулна¹. Судлаачид булцуунд инулины агууламж 8.16-13.46% байдаг хэмээн дурдсан байна². Инулин төст фруктанууд нь β(2-1) гликозид холбоосоор холбогдсон фруктозын мономеруудаас бүрддэг. Инулиний полимержилтийн зэрэг 2-оос 60 хооронд хэлбэлздэг³ (Зураг 2).



Figure 1. Jerusalem Artichoke

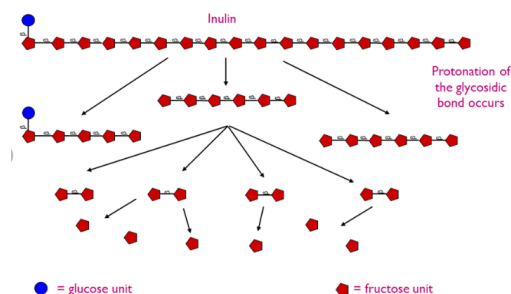


Figure 2. Hydrolysis of inulin

Инулин нь пребиотик, өөх тос орлуулагч, сахар орлуулагч зэргээр өргөн ашиглагддаг. Гэдэсний бичил биетнүүдийн оролцоотой богино гинжит тосны хүчлүүд болох пропионат, бутират болон ацетатыг үүсгэх, гэдэсний хучуур эсүүдийг энергиэр хангах, дархлааны эсүүдийн нийлэгжүүлэлтийг зохицуулах, хоол боловсруулах эрхтнийг дэмжих, гэдэсний бичил биетний бүтцийг өөрчлөх зорилгоор таргалалт, чихрийн шижингийн II хэв шинж, ясны сийрэгжилт, цус багадалт, зүрх судасны өвчний үед хэрэглэх боломжтой^{4,5}. Америкийн хүнс эмийн хорооноос 2003 онд инулинийг аюулгүй ангилалд оруулж, өдөрт 5 г хэрэглэх нь үр дүнтэй хэмээн зөвлөсөн байдаг¹. Иймд бид тус ургамлын булцууг ашиглан төрөл бүрийн биологийн идэвхт бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх боломжийг судлан, Монос группийн “Эмт ургамлын ботаник цэцэрлэг”-т тарималжуулж, БНЦ ургамлын булцууг уламжлалт аргаар хатаан нунтаглаж биологийн идэвхт бүтээгдэхүүний түүхий эдээр ашиглах туршилтыг хийв. Цаашид уг түүхий эдийг масс үйлдвэрлэлд зориулан бэлтгэхийн тулд чанар, аюулгүй байдал, булцууны морфологийн шинжилгээ, таних урвал, тооны тодорхойлолт, физик үзүүлэлтүүдийг тогтоож стандартчилах шаардлага үүссэн нь уг судалгааны үндэслэл болж байна.

БНЦ нь Монгол оронд тархан ургадаггүй, тус ургамлыг дорнын уламжлалт анагаах ухаан, ардын эмнэлэгт түгээмэл хэрэглэдэггүй байсантай холбоотойгоор Монгол улсын үндэсний фармакопейд ишлэлгүй, MNS-аар стандартчилагдаагүй байна. Мөн бусад улсын фармакопейд ишлэлгүй байна. Иймээс БНЦ ургамлын булцууг хүнс, биологийн идэвхт бүтээгдэхүүний түүхий эд болгон ашиглахын тулд стандарт үзүүлэлтийг тогтоож, баталгаажуулах шаардлага үүсэж байна.

Зорилго:

Бид булцуут наранцэцэг ургамлын булцууны хатаасан нунтгийг стандартчилах зорилго тавьсан.

Материал, арга зүй:

Түүхий эд: Судалгаанд Монос группийн “Эмт ургамлын ботаник цэцэрлэг”-т тарималжуулсан

булцуут наранцэцгийн булцууг Эм судлалын хүрээлэнгийн технологийн секторт нунтаглан бэлтгэсэн 010921 цувралын дугаартай түүхий эдийг ашигласан.

Ургамлын анатомийн судалгааны арга зүй:

Ургамлын анатомийн судалгааны дээжийг ургамлын боловсорч гүйцсэн үед үндсийг авч VCM-202III маркийн хөлдөөгч микротомоор зүсмэг бэлтгэн тунгалагжуулах шингэн ($C_2H_3Cl_3O_2$) болон NaOH-ийн янз бүрийн өтгөрөлтэй уусмалууд (5-15%), эс будагч альцианы хөх, метилийн хөх, сафранин, глицерин $C_2H_5(OH)_3$ зэргийг хэрэглэн бичил бэлдэц бэлтгэн гэрлийн микроскопоор анатомийн бүтцийг тодорхойлж, зургийг микроскопын зориулалт бүхий дижитал аппаратаар буулгав.

Чанарын шинжилгээний арга: БНЦ ургамлын булцууны хатаасан нунтагас 1.0 Гр-ыг аналитик жин (Nimbus)-ээр жинлэн, цэвэршүүлсэн усаар усан халаагуурт хандлан, хартугалганы ацетат болон натрийн гидрофосфатаар уургийн бодисыг тунадасжуулан цаасан шүүлтүүрээр шүүнэ. Шүүгдсээс 5 мл-ийг авч 0.1 мл 20%-ийн этилийн спиртэнд уусгасан тимол болон 0.5 мл концентрацитай хүхрийн хүчил нэмэхэд улаан эсвэл улбар шар өнгө үүснэ⁶.

Тооны шинжилгээний арга: Чанарын шинжилгээнд бэлдсэн шүүгдэс ашиглан хлортустөрөгчийн хүчил болон фенолын уусмалаар комплекс үүсгэн 307 нм-ийн долгионы уртад гэрэл шингээлтийг хэмжин β -D фруктоз стандарт бодистой харьцуулан тодорхойлсон^{6,7}.

Аргын баталгаажилт: ICH Q2(R2) аргын баталгаажилтын зааврын дагуу БНЦ ургамлын хатаасан булцуунд инулины агууламж тодорхойлох аргыг баталгаажуулах ба дараах үзүүлэлтүүдээр шалган баталгаажуулна. Үүнд: Үнэмшилт чанар (Accuracy), нарийвчлал (Precision), давтагдах чанар (Repeatability), дундаж утгын нарийвчлал (Intermediate precision), өвөрмөц/сонгомол чанар (Specificity/Selectivity), шугаман чанар (Linearity), илрүүлэх хязгаар (Limit of detection) болон тодорхойлогдох хязгаар (Limit of Quantitation)⁸. Аргын регрессийн шинжилгээг Майкрософт эксель программаар тооцоолов.

Хүнд металлын агууламж: Турбидиметрийн арга

Дээжээс нарийвчлалтай жинлэн авч, шаазан тигелд хийнэ. Тигелийг 5000С-аас 6000С-ийн хоорондурьдчилан тохируулсан шатаах зууханд 3 цаг шатаана. Хөргөсний дараа ууршуулах аяганд үнсийг хийж 1 мл хаан дарс (хлортустерөгчийн хүчил: азотын хүчил, 3:1) нэмж усан халаагуурт ууршуулж, үлдэгдлийг 3 дусал хлортустерөгчийн хүчлээр чийгшүүлж, 10 мл халуун ус нэмээд 2 минут халаана. Уг уусмал руу 1 дусал 1%-ийн фенолфталеин нэмж, уусмалд цайвар ягаан өнгөтэй үүсэх хүртэл 10 %-ийн аммиакийн уусмал дусал дуслаар нэмнэ. Үүний дараа 2 мл 1 моль/л цууны хүчил нэмж, цаасан шүүлтүүрээр Несслерийн хоолойруу шүүнэ. Ууршуулах аягыг 10 мл усаар угаана. 50 мл хүртэл цэвэршүүлсэн усаар сулруулан шинжлэх уусмал бэлтгэнэ. Дээрх аргазүйн дагуу хар тугалганы нитратын уусмал ашиглан стандарт уусмал бэлтгэнэ.



Figure 3. Appearance of tuber of Jerusalem artichoke

Паренхимийн эсүүдтэй залгаа үндсээ тойрч зурвас байдлаар байрласан зуламын давхраа оршино. Булцууны дамжуулах багцын үндсэн элемент болох модлог, долон цацраг байдлаар

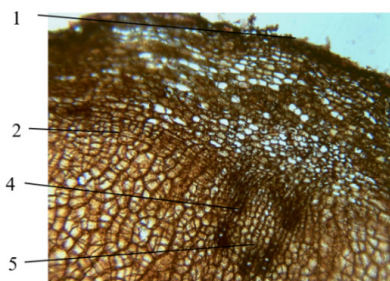


Figure 5. A portion of the tuber transfer bundle (10x10)

Зургийн тайлбар: 1-перидерм, 2-зулам, 3-дамжуулах багц, 4-модлог, 5-долон, 6-цацрагийн паренхим, 7-паренхим

Шинжлэх уусмал болон стандарт уусмал руу натрийн сульфидийн уусмалаас 1 дусал нэмээд 5 минутын турш хүлээнэ. Цагаан өнгийн дэвсгэр дээр өнгөний эрчмийг шалгана.

Микробиологийн цэвэршилт:

Микробиологийн цэвэршилтийг эрүүл мэндийн сайдын 2017 оны А/219 дугаартушаалын 1 дүгээр хавсралтад заасан үзүүлэлтээр дараах Монгол улсын стандартуудын дагуу Монос фарм ХХК-ийн Эм бэлдмэл сорилтын лабораторид тодорхойлов 10-13.

Үр дүн:

1. БНЦ ургамлын булцууны анатоми:

Булцууг хөндлөн огтлолоор авч үзвэл, дугуйдуу хэлбэртэй (Зураг 3), гадна талаараа хоёр эгнээгээр байрласан эсээс бүрдсэн перидермийн давхраатай (Зураг 4). Түүний дотор талд хэмжээгээр жижигхэн эсүүд олон эгнээгээр шигүү байрлаж үндсэн паренхимийн давхрааг үүсгэнэ (Зураг 5).

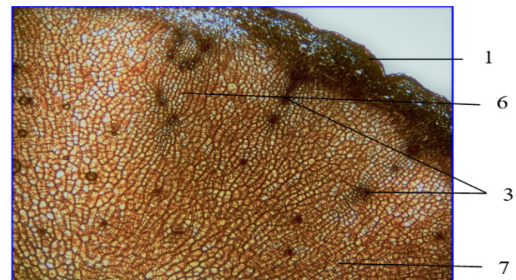


Figure 4. Anatomy of tuber of Jerusalem artichoke (4x10)

байрлана (Зураг 5). Модлогийн завсраар сунаж тогтсон эсээс бүрдсэн цацрагийн паренхим төрөлжсөн байв (Зураг 6).

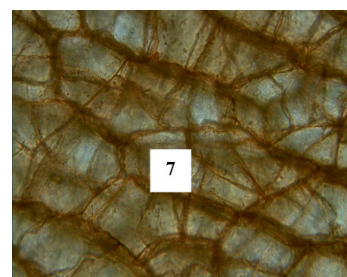


Figure 6. Parenchyma of the central part of the tuber (10x40)

2. БНЦ ургамлын булцуу дахь инулиныг таних шинжилгээний дүн: Инулиныг таних өнгөт урвалын арга нь фруктоз хүчтэй хүчлийн орчинд 5-гидроксиметил фурфуралд шилжих замаар, фенолт нэгдэлтэй урвалдаж комплекс нэгдэл үүсгэдэгт үндэслэнэ. Инулиныг таних шинжилгээгээр уусмалын өнгө улбар шар

болсон байв.

3. БНЦ ургамлын хатаасан булцуунд инулины агууламж тодорхойлсон дүн:

БНЦ ургамлын хатаасан булцууны гадна байдал, тооны тодорхойлолт хийж үр дүнг хүснэгт 1-д үзүүлэв.

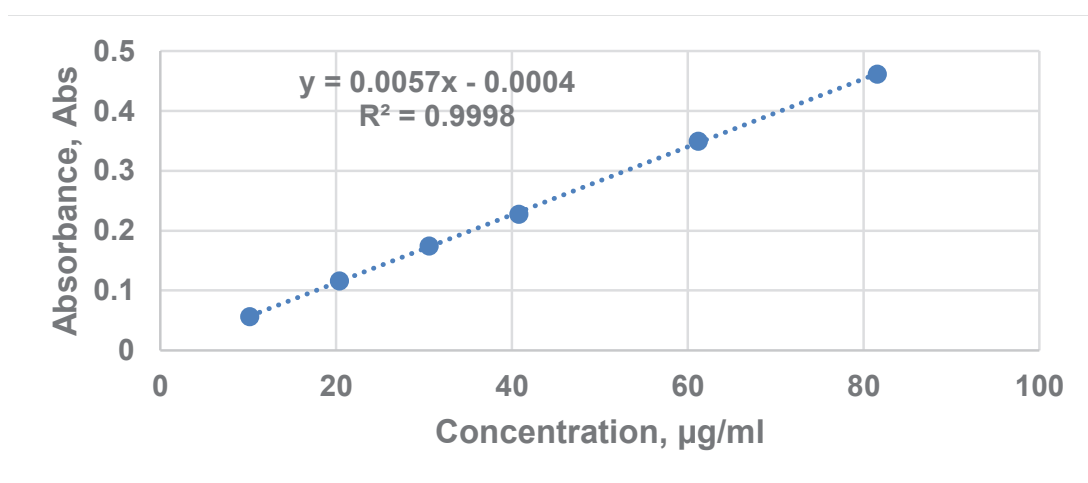
Table1. Test results of dried tuber of JA

№	Parameters	Result
1	Appearance	A slightly powder
2	Color	A pale yellow
3	Moisture, %	0.95±0.01
4	Inulin, %	64.85±0.98

БНЦ ургамлын хатаасан булцуунд инулиний агууламжийг дээрх арга зүйгээр тодорхойлох боломжтой гэж үзсэн тул инулиний агууламжийг тодорхойлох аргыг ICH Q2(R2) аргын баталгаажилтын зааврын дагуу баталгаажуулав.

4. Аргын баталгаажилтын үр дүн: Аргын баталгаажилтын үнэмшилт чанарын харьцангуй стандарт дундаж хазайлт (ХСХ%) 1.27%, 1.18%, 1.22% аргын нарийвчлалын харьцангуй стандарт дундаж хазайлт (ХСХ%) нь 1.94 % байсан. БНЦ ургамлын хатаасан булцуунд агуулагдах инулины

тооны тодорхойлолтын өвөрмөц, сонгомол чанарыг шалгахдаа тооны тодорхойлолтод хэрэглэгддэг дээж болон стандарт уусмалыг шинжилгээний аргазүйн дагуу бэлтгэж спектрофотометр багажаар 190-1100нм долгионы мужид гэрлийн шингээлтийг хэмжихэд 307 нм долгионы уртад өвөрмөц шингээлт өгсөн. Стандарт бодисын жиших муруйн корреляцийн коэффициент $R^2=0.9998$ гарсан ба график 1-ээр фруктозын шугаман чанарыг үзүүлэв. Аргын илрүүлэх хязгаар нь 2.64 мкг/мл, тодорхойлогдох хязгаар нь 7.99 мкг/мл байв.



Graphic 1. Fructose linearity

5. Хүнд металлын агууламжийн үр дүн: БНЦ ургамлын хүнд металлын агууламжийг турбидиметрийн аргаар тодорхойлсон ба

шинжлэх уусмалд стандарт уусмалаас илүү булингар үүсээгүй байв.

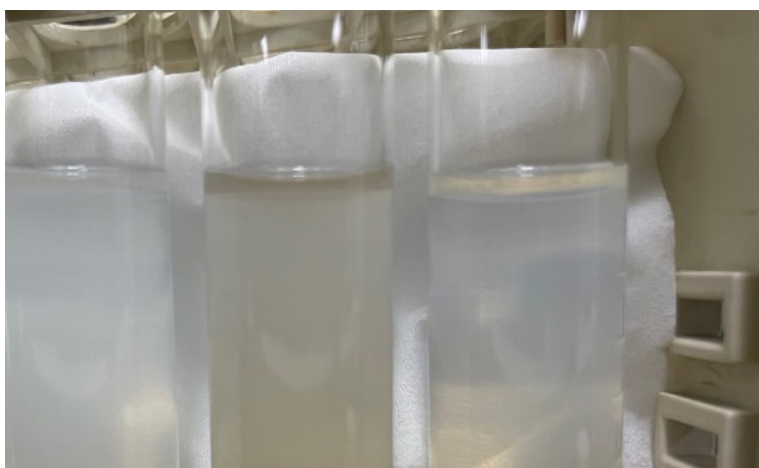


Figure 7. From left: Control solution, Standard solution, Test solution

6. Микробиологийн цэвэршилт:

Микробиологийн шинжилгээний үр дүнг хүснэгт 2-т үзүүлэв.

Table 2. Microbiological assay of dried tuber of JA

№	Parameter	Specification	Result
1	Total aerobic microbial count (TAMC)	Not more than 10^7 CFU/g	2×10^3
2	Total yeast and mold count (TYMC)	Not more than 10^5 CFU/g	$<10^1$
3	<i>Escherichia coli</i>	Not more than 10^2 CFU/g	Absent
4	<i>Salmonella spp.</i>	Absent in 10 g	Absent

БНЦ ургамлын хатаасан булцууны Япон улсын фармакопейн дагуу, микробиологийн цэвэршилтийг Монгол улсын стандартын дагуу шаардлага хангаж байна. стандартчилах шаардлагыг тогтоов.

Хэлцэмж:

БНЦ ургамлын хатаасан булцуунд ОХУ-ын фармакопейн дагуу чанарын болон тооны зааснаар шалгаж, холбогдох баримт бичгийн тодорхойлолтыг, хүнд металлын агууламжийг дагуу шаардлагыг тогтоов.

Table 3. Technical requirements dried tuber of JA

№	Parameter	Analytical method	Specification
1	Appearance	Sensory method	Slightly grainy
2	Color	Sensory method	From light yellow to Light brown
3	Identification	Polysaccharide (Inulin) Chemical method	Gives orange and red color
4	Moisture, % NMT	Thermal method	5
5	Assay, % NLT	Polysaccharide (Inulin) Spectrophotometric method	50
6	Heavy metals	Turbidimetric method	The sample solution will not give more color intensity than the standard solution. No black color is produced
7	Microbiological assay	TAMC Microbiological method	Not more than 10^7 CFU/g
		TYMC Microbiological method	Not more than 10^5 CFU/g
		<i>Escherichia coli</i> Microbiological method	Not more than 10^2 CFU/g
		<i>Salmonella spp.</i> Microbiological method	Absent in 10 g

БНЦ ургамлын хатаасан булцууны нунтгийн гадна байдал шаардлага хангасан. Таних урвалаар улбар шар өнгө үүссэн. Чийглэгийн агууламж нь шаардлага хангасан. Хатаасан булцуунд инулин $64.17 \pm 1.25\%$ агуулагдаж байна. Н. Эрдэнэчимэг нарын (2020) судалгаанд богино долгион ашиглан хандласан дээжинд 84%, хэт авиа ашиглан хандлахад 70%, уламжлалт аргаар буюу усаар хандлахад 69% болон Д. Мөнгөннаран нарын (2022) судалгаанд севагийн урвалж ашиглан ялган авсан инулины полифруктаны агууламж 72.1% агууламжтай гарсан байна. Мөн J. Brkljača нар (2014) булцуунд агуулагдах инулины агууламжийг өндөр идэвхт шингэний хроматографийн аргаар 8.16-13.46%, Van Loo нарын (1995) судалгааны дүн 8-21% болон Матиас нарын (2011) 136.75-164.78 (мг/г) болохыг тогтоосон байна. Дээрх үр дүн нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.

Үр дүнгээс үзэхэд түүхий эдийн хүнд металлын агууламж, микробиологийн цэвэршилт зөвшөөрөгдөх хэмжээнд байгаа нь БНЦ ургамлын хатаасан булцууг аюулгүй болохыг харуулж байна.

Дүгнэлт:

Булцуут наранцэцэг ургамлын булцууны хатаасан нунтгийг стандартчилах үзүүлэлтүүдийг шалгаж арга зүйг баталгаажуулж, техникийн шаардлага боловсруулан үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүлэл, MNS стандарт боловсруулж, хөгжүүлэлт хийх боломжтой нь судалгааны дүнгээс харагдаж байна.

Талархал: Энэхүү эрдэм шинжилгээний ажлыг хийж гүйцэтгэхэд бүх талын боломж нөхцөлөөр хангаж, дэмжлэг үзүүлсэн Монос фарм ХХК, Эм бэлдмэл сорилтын лабораторийн удирдлага, хамт олондоо талархаж буйгаа илэрхийлье.

Ном зүй:

1. Stanley J. Kays and Stephen F. Nottingham. Biology and Chemistry of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). 2008;53-7.

2. J. Brkljača*, M. Bodroža-Solarov, J. Krulj, S. Terzić, A. Mikić and A. Marjanović Jeromela. Quantification of Inulin Content in Selected Accessions of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), HELIA 2014; 37(60):105–112
3. Peter Philip James Jackson, Anisha Wijeyesekera, Robert Adrian Rastall. Inulin-type fructans and short-chain fructooligosaccharides-their role within the food industry as fat and sugar replacers and texture modifiers-what needs to be considered. Food science and Nutrition, 8 August 2022;17-38
4. Г.Ганчимэг, Д.Батдорж, Р.Лхаасүрэн, Б.Одчимэг, Б.Баттулга, Б.Өлзиймөнх, А.Баянмөнх, С.Цэцэгмаа, Л.Лхагва, Л.Хүрэлбаатар. Булцуут наранцэцэг (*Helianthus tuberosus* L.)-ийн түүхий эдийг дулааны болон хүйтний аргаар боловсруулсан дээжинд инулины агууламжийг тодорхойлсон дүн. Монголын Эм зүй Эм судлал сэтгүүл. 2021;2(19):38-42.
5. Somda, Z.C., McLaurin, W.J., and Kays, S.J. Jerusalem artichoke growth, development, and field storage. II. Carbon and nutrient element allocation and redistribution. J. Plant Nutr. 1999; 22:1315–1334.
6. Оросын холбооны улсын фармакопей. 2018; TOM IV: 6017-6018.
7. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem; 1956; 28:350–356
8. ICH harmonized guideline, validation of analytical procedures Q2(R2), 31 March 2022
9. Япон улсын фармакопейн (XVIII), General tests, Heavy metals limit test, 3-p арга;
10. MNS ISO 4833, 30°C-д ургасан бичил биетний колони тоолох ерөнхий арга;

11. MNS ISO 7954, 25°C-д ургасан хөгц, мөөг, хөрөнгөнцрийн колони тоолох ерөнхий арга;
12. MNS ISO 6579, Salmonella илрүүлэх аргын ерөнхий заавар;
13. Монгол улсын үндэсний фармакопей, Escherichia coli тодорхойлох арга;
14. Намжилын Эрдэнэчимэг, Ганзоригийн Оюундарь, Баярсайханы Оргилмаа, Бямбаагийн Мөнхцэцэг, Бархүүгийн Баярмаа. Булцуут цэцэг (Helianthus tuberosus L.) Өндөр зоосон цэцэг (Inula helenium L.)-ийн үндэснээс инулин гарган авах боломж. Mongolian Journal of Agricultural Sciences; 2020; Vol 31 No 3:174-9
15. Дамдиндорж Мөнгөннаран, Лодонжав Мөнхгэрэл, Мөнхжаргал Одончимэг, Дүгэр Рэгдэл, Намжил Эрдэнэчимэг. Байгалийн гаралтай түүхий эдээс полисахарид ялгах тохиромжтой горим тогтоосон дүнгээс. BICCT: MAS; 2022; № 10:17-23

*Уншин танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:
БУ-ы доктор, дэд профессор Д.Бадрал*