

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI
NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI

“Himoyaga ruxsat etildi”

Tabiiy fanlar fakulteti dekani

_____ **dots.A.Nazarov**

“ ” 2017 yil

5140500-Kimyo ta'lim yo'nalishi bitiruvchisi

Boydedayev Azizbek Anvarjon o'g'lining

« FLAVANOIDLARNING FIZIK-KIMYOVIY ANALIZI » mavzusidagi
BITIRUV MALAKAVIY ISHI

”Himoyaga tavsiya etildi”

Kimyo kafedrasi mudiri

_____ **k.f.n.dots R.Dehqonov**

” ” 2017 y

BMI rahbari katta o'qituvchi

G'.U.Siddiqov

Namangan – 2017

MUNDARIJA

KIRISH.	3
I–BOB. ADABIYOTLAR SHARXI.	5
1.1. Flavonoidlar haqida umumiy tushunchalar va ularning klassifikatsiyasi.	5
1.2.Flavonoidlarni xromotografik tahlili.	10
1.3.Gaz-suyuqlik xromato-mass-spektrometriya (GSX-MS) umumiy ma'lumotlar.	20
1.4. Flavonoidlarni tuzilishini fizik-kimyoviy usullarda tahlil qilish:	31
1.4.1.Flavanoidlarning optik spektroskopiyasi.	37
1.4.2.Flavanoidlarning YaMR spektroskopiyasi.	41
1.4.3. Flavanoidlarning Mass-spektroskopiyasi.	42
1.5. Xromotamass spektroskopiyasi haqida tushuncha.	43
1.6.Ayrim o'simliklarni fizik-kimyoviy analiz natijalari, va flavanoidlarning miqdoriy analizi.	46
II BOB. BAJARILGAN ISHLAR SHARHI	55
2.1. O'simliklarni terish va tayyorlash. Ekstraksiya	55
2.2. Ekstraktni erituvchilarda bo'lish.	57
2.3. Xromatografik va IQ spektr tahlillari.	58
2.4. Summa va moddalarni fizik-kimyoviy usullarda tekshirish.	60
2.5. Ko'kamaron o'simligini yer ustki qismi summasini geksandagi eritmasini xromotamass spektrofotometrik tahlil etish.	60
III BOB. Olingan shaxsiy izlanish natijalari muxokamasi	62
3.1. Olingan ekstraktni sifat reaksiyalari o'tkazilishi.	62
3.2. Ko'kamaron o'simligining barg va ildizidan olingan moddalarni xromotamass spektrini o'rganish.	67
3.3. Olingan moddalarni guvoh moddalarga solishtirish va adabiyotlar bilan ishlash.	68
Xulosalar	69
Foydalanilgan adbiyotlar ro'yxati	70

KIRISH

Mavzuning dolzarbligi va ahamiyati: O'simliklar tarkibidan ajratilgan efir moylari, flavanoidlar va boshqa moddalarning fizik-kimyoviy xossalarini ya'ni xromotografik tahlili, gaz-suyuqlik xromato-mass-spektrometriyasini, optik spektroskopiyasini, YaMR spektroskopiyasini, mass-spektroskopiyasini va xromotamass spektroskopiyasini o'rganish ajratib olingan moddalarni guvoh moddalar bilan solishtirish bitiruv malakaviy ishining eng muhim masalalardan biridir. Bu moddalarni tibbiyot, parfyumeriya, kosmetika va boshqa sohalarda ishlatilish imkoniyatlarini baholash nuqtai nazaridan dolzarbdir. Murakkab tarkibli yengil uchuvchan birikmalar aralashmasidan iborat bo'lgan efir moylari va flavanoidlarning fizik-kimyoviy tarkibini o'rganishda ham yuqori samarali ajratish, ham analiz usullarini o'zida mujassamlashtirgan gazoxromato-mass-spektrometriya (GX-MS) usulining o'zni beqiyosdir.

Shuning uchun ham ko'kamon o'simligidan ajratib olingan efir moyi va flavanoidlarni fizik-kimyoviy ko'rsatkichlarini aniqlash va kimyoviy tarkibini GX-MS usulida o'rganish bitiruv malakaviy ishi vazifalarining bir bandi sifatida olingan.

Ishning maqsadi va vazifalari. Flavanoidlarning fizik-kimyoviy ko'rsatkichlarini adabiyot va internet ma'lumotlaridan o'rganish biror bir o'simlikni tarkibini tekshirish va olingan ekstrakti fizik-kimyoviy tajribalar orqali laboratoriyalar o'tkazish ishning eng asosiy maqsadidir. Buning uchun bizga ko'kamon o'simligi tarkibidan flavonoidlar ajratib olish va ajratib olingan moddani fizik-kimyoviy tahlil qilish edi.

O'simliklardan dorivor preparatlarni shuningdek flavanoidlarning olinishga sabab, ko'pchilik sun'iy preparatlar, antibiotiklar kishilarda immunitetning kamayishiga allergiyalarga hamda organizmdagi mikrofloralarning buzilishiga olib keladi va boshqa ta'sirlari ham ma'lum. O'simliklar biologik faollik ko'rsatadigan tabiiy birikmalarni bitmas-tuganmas manbai bo'lib zamonaviy samarali dorivor moddalarning yaratilishi va tibbiyot amaliyotiga tadbiiq etishga sabab bo'lmoqda.

Nafaqat ijtimoiy-iqtisodiy sohalarda balki ta'lim sohasining ham tubdan yangilanishi o'zgacha mazmun va rivojlangan mamlakatlar tajribalari asosida yangicha o'zbek modelining shakllanishi ham bunga asos bo'ladi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidenti Shavkat Miramonovich Mirziyoyev tomonidan 2017-yil 7-fevral kuni "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida"gi PF-4947 sonli farmoni bilan 2017-2021 yillarda O'zbekiston Respublikasini rivojlantirishning beshta ustuvor yo'nalishi bo'yicha Harakatlar strategiyasining 4-qism 4-bandida ta'lim sohasini yanada islox qilish va unga tegishli bo'lgan har sohadagi analiz uchun zarur bo'lgan dorivor moddalarni fizik-kimyoviy metodlar yordamida tekshirish zarurligi mazmunan namoyon bo'ldi.

Shunday ekan mamlakatimizda olib borilayotgan bu muhim o'zgarishlar, yangilanishlar va uyg'onish davrida ta'lim sohasining yuksak cho'qqilarga ko'tarish, uning yangidan yangi ilg'or pedagogik tehnalogiyalarini ishlab chiqish va eng muhimi bu olingan bilimlarni amalda qo'llay olishligidir. [1]

Bitiruv malakaviy ishining ob'ekti. Tadqiqot ob'ektlari va predmeti sifatida O'zbekiston Respublikasi hududida tabiiy holda o'sadigan ko'kamaron o'simligining yer ustki qismi va gullaridan foydalanildi. Bu o'simlikdan geksanli va benzolli ekstraktlar olindi va fizik-kimyoviy usullar bilan tekshirildi.

Bitiruv malakaviy ishining tuzilishi.

Bitiruv malakaviy ishi kirish qismi, adabiyotlar sharxi (I–BOB), tajriba qismi (II–BOB), olingan shaxsiy izlanish natijalari muxokamasi (III–BOB), xulosalar va foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati kabi bo'limlardan iborat. Bitiruv malakaviy ishi 73 betli kompyuter matnida yozilgan bo'lib, 10 ta jadval, 9 ta rasm keltirilgan. Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati 47 ta manbadan iborat

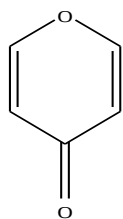
I-bob. ADABIYOTLAR SHARHI

1.1 Flavonoidlar haqida umumiy tushunchalar va ularning klassifikatsiyasi

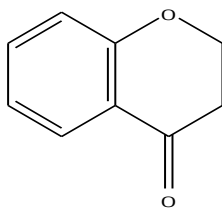
O'simliklar o'zida asosan o'zining turiga, iqlimiga, oilasiga va boshqa xususiyatlariga qarab bir necha xil turdagi moddalarni saqlaydi. Shu dorivor moddalardan biri- flavonoidlardir.

Flavonoiddarni benzo - γ - piron (xromon) unumi va asosida $C_6-C_3-C_6$ uglerod atomlaridan tashkil topgan fenil propan skeleti bo'lgan tabiiy birikmalarning katta guruxi deb qarash mumkin [2]. Flavonoidlar fenol birikmalari qatoriga kirib, ularning nomi lotincha 'flavum'- sariq degan ma'noga ega. Bunga sabab o'simlikdan ajratib olingan birinchi flavonoid sariq rangda bo'lgan [3] va ko'pchilik flavonoidlar rangi ham sariq ranglar qatoriga kiradi.

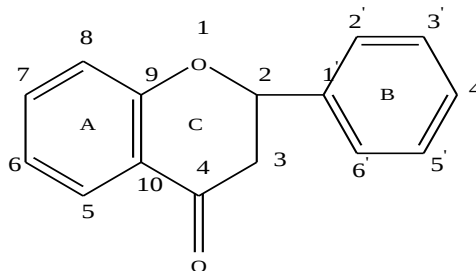
γ -piron, benzo- γ -piron (xromon) va $C_6-C_3-C_6$ uglerod atomlaridan tashkil topgan skelet flavon misolida quyidagi ifodaga ega [4]:



γ -piron
(xromon)



benzo- γ -piron



Flavon yoki 2-fenil
benzo- γ -piron

Bu yerda benzo- γ -piron halqasidagi benzo-halqa A halqa deb, γ -piron halqasi C halqa deb va 2-fenil halqasi B halqa deb nomlanadi [4].

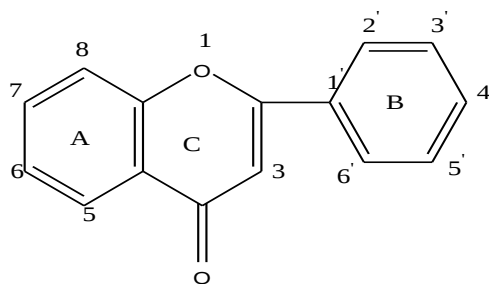
Flavonoidlar flavon molekulasidagi C halqaning oksidlanish darajasiga ko'ra quyidagi guruxlarga bo'linadi [5]:

Flavonoidlarning sinflanishi.

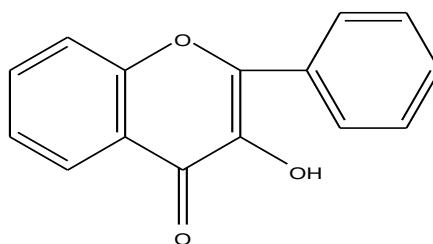
Flavonoidlar flavon molekulasidagi B halqaning oksidlanish darajasiga qarab quyidagi guruxlarga bo'linadi:

1. Flavonlar- flavonoidlarning yuqori oksidlangan birikmasi –flavon unumlari bo'lib, ularning B halqasidagi (3-uglerodli fragmentdagi) 2- va 3-

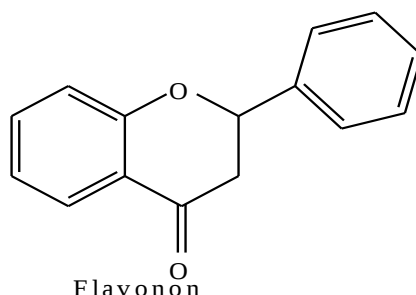
uglerod atomlari o'rtasida qo'shbog' bo'ladi. Flavonlar rangsiz yoki rangli birikmalardir.



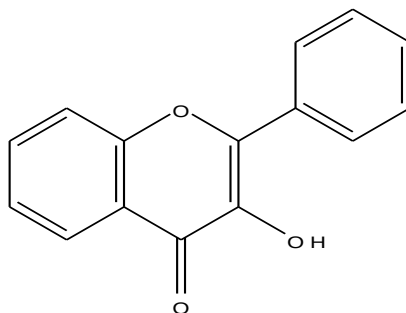
2. Flavonollar- 3-oksiflavon (flavon molekulasidagi 3-uglerod atomida gidroksil – OH guruxi bo'ladi) unumlari. Bu birikmalar rangi sariq bo'ladi.



3. Flavononlar – flavonon (B halqadagi 2-va 3-uglerod atomlari o'rtasida qo'shbog' bo'lmaydi) unumlari . Rangsiz birikma.



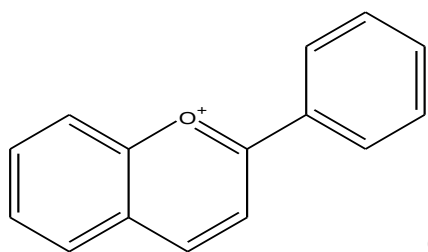
4. Flavanonollar – 3-oksi flavanon (flavanon molekulasining 3-uglerod atomida- OH guruxi bo'ladi) unumlari. Rangsiz birikma.



flavanonol (oksiflavanon)

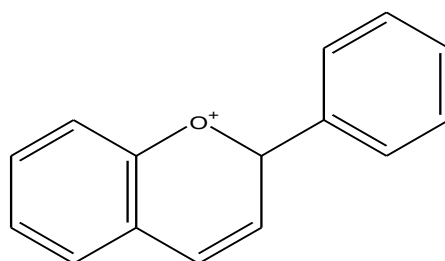
5. Antotsianidinlar – qaytarilgan benzo- γ -piran – flavan (2-fenil xroman) unumlari bo'lib, B halqadagi 3- va 4-uglerod atomlari o'rtasida qo'shbog' bor. Bu birikmalar gullar va mevalarning turli rangga bo'yalishining sababchisi hisoblanib,

odatda o'simliklarda oksoniy yoki karboniy tuzlari (ham ishqorlar, ham kislotalar bilan tuz hosil qiladi) holda bo'ladi.



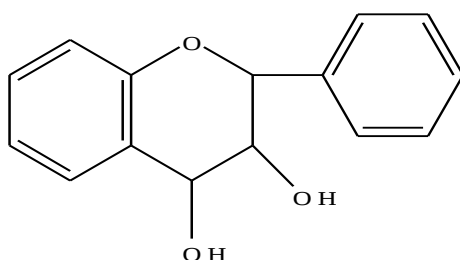
Cl^-

yoki



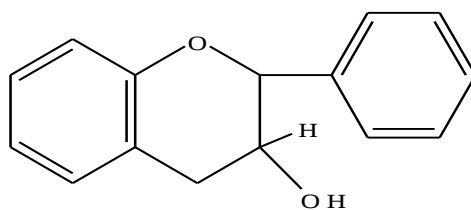
Cl^-

6. Leykoantotsianidinlar (3,4- flavaniodiollar) –katexinlarga yaqin, rangsiz birikma. Ular antotsianidinlarning qaytarilgan formasi bo'lib, kislotalar bilan qizdirilsa, rangli antosianidinlarga aylanadi. Bu birikmalar o'simliklarda sof holda uchraydi.



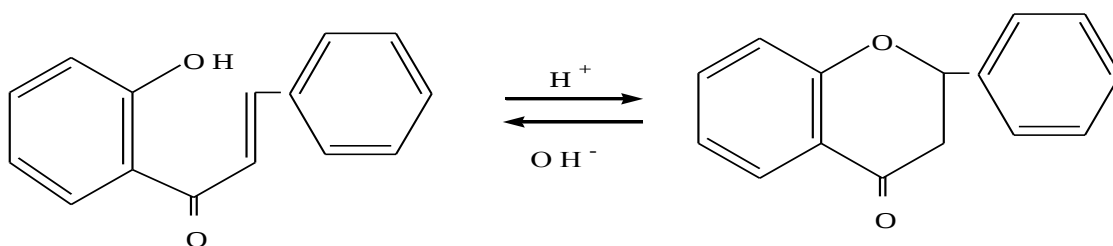
Leykoantosianidin (3,4 - flavandiol)

7. Katexinlar – qaytarilgan benzo γ -piran –flavanning unumlari bo'lib, B halqada doimo gidroksid – OH guruxi saqlanadi. Kataxinlar rangsiz birikmadir.

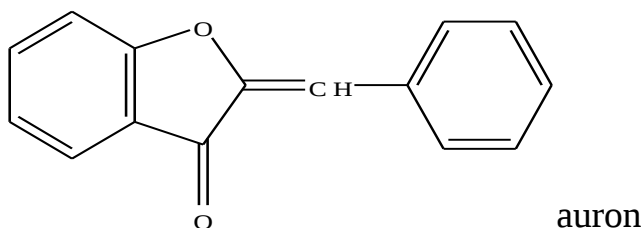


katexin (3-flavanol)

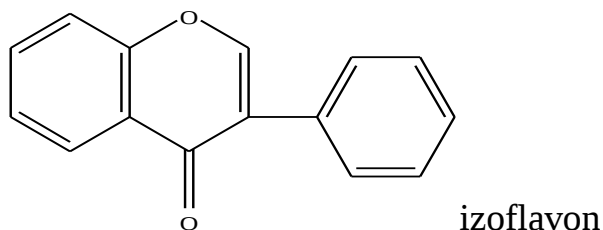
8. Xalkonlar - xalkon unumlari, sariq yoki zarg'aldoq rangli birikmalar. Xalkonlarda piron halqasi bo'lmasdan, ularni flavanonlarni izomeri deb qarash mumkin.



9. Auronlar auron unumlari, sariq yoki zarg'aldoq rangli birikmalar, B xalqasi 5 a'zoli bo'ladi.



Ba'zi flavonoidlar molekulasidagi C halqasi (fenil radikali) 2- uglerod atomiga emas, balki 3-uglerod atomiga birlashgan bo'ladi. Bunday birikmalar **izoflavonlar** deb yuritiladi.



Barcha flavonoidlar molekulasida bir nechta gidroksil guruxi bo'lib, ular ko'pincha A halqasining 5- va 7- hamda C halqasining 3¹- va 4¹-uglerod atomlarida joylashadi. A halqaning 6 va 8- hamda C halqaning 2¹ va 5¹-uglerod atomlarida ham gidroksil guruxlari bo'lishi mumkin. Lakin bu hol tabiatda kam uchraydi.

Ba'zan flavonoidlarning gidroksil guruxlari metil efiri (CH₃-guruxi bilan birlashgan) holida bo'ladi.

O'simliklar tarkibida flavonoidlar sof-aglikon yoki birlashgan – glikozidlar holida uchraydi. Faqat antosianidinlar o'simlik tarkibida doimo glikozid holida bo'ladi.

Glikozidlarni hosil qilishda ko'pincha flavonoidlarning B halqasidagi 3-uglerod atomida hamda A halqasidagi 5- va 7 –uglerod atomlarida bo'ladigan gidroksil guruxi ishtirok etadi. Odatda qand molekulasida glikozid hosil qilishda 1 ta (monoglikozid) yoki bir vaqtning o'zida 2 ta (diglikozid) gidroksil guruxi bilan birlashishi mumkin. Diglikozidlar tarkibidagi birlashgan qandlar bir hil qandning 2 ta molekulasida yoki 2 hil qandning bitta molekulasidan tashkil topgan bo'lishi

mumkin. Glikozidlar hosil qilishda ko'pincha D-glyukoza, L-ramnoza, L-arabinoza, D-galaktoza, D-ksiloza va boshqa qandlar hamda glyukuron kislota ba'zan rutinoza, saforoza kabi spetsifik disaharidlar, ba'zan trisaharidlar ishtirok etadi. [6,7]

10.Digidroxalkon- digidroxalkon unumlari bo'lib, C halqa ochiq atsiklik holati va 1- va 2- uglerod atomlari o'rtasida qo'shbog' bo'lmasligi bilan xarakterlanadi 10. Ularni xalkonlarni digidrolangan holati deb qarash mumkin. Bular qatoriga floretin, gidroksifloretin va shu kabi flavonoidlarni kiritish mumkin [8,9].

Barcha flavonoidlar molekulasida bir nechta gidroksil guruxi bo'lib, ular ko'pincha A halqasining 5- va 7- hamda B halqasining 3'- va 4'-uglerod atomlarida joylashadi . A halqaning 6- va 8- hamda B halqaning 2'- va 5'- uglerod atomlarida ham gidroksil guruxlari bo'lishi mumkin. Lekin bu xol tabiatda kam uchraydi. Ba'zan flavonoidlarning gidroksil guruxlari metil efiri holida bo'ladi.

O'simlik tarkibida flavonoidlar sof aglikon yoki birlashgan glikozidlar holida uchraydi. Faqat antosianidlar o'simliklar tarkibida doimo glikozidlar holida bo'ladi.

Glikozidlarni hosil qilishda ko'pincha flavonoidlarning C halqasidagi 3-uglerod atomida hamda A halqadagi 5- va 7- uglerod atomlarida bo'ladigan gidroksil guruxi ishtirok etadi. Odatda qand molekulasida glikozid hosil qilishda bitta (monoglikozid) yoki bir vaqtning o'zida ikkita (diglikozid) gidroksil guruxi bilan birlashishi mumkin. Diglikozidlar tarkibida birlashgan qandlar bir xil qandning ikkita molekulasida yoki ikki xil qandning bitta molekulasidan tashkil topgan bo'lishi mumkin.

Glikozidlar hosil qilishda D-glyukoza, L-ramnoza, L- arabinoza, D-galaktoza, D-ksiloza va boshqa qandlar hamda glyukuron kislota, ba'zan rutinoza va saforoza kabi spetsifik disaxaridlar, ba'zan trisaxaridlar ishtirok etadi. Glikozid tarkibida aytib o'tilgan qandlar (faqat arabinoza- furanoza) shaklida uchrab, flavonoid molekulasidagi fenol gidroksiliga B- bog'lanishda birikadi.

O'simlik tarkibida aksariyat flavonoidlarning O- glikozidlari (qand molekulasi aglikon bilan gidroksil guruxining kislorodi orqali, efir tipida birikadi) va qisman C- glikozidlari (qand molekulasi aglikon bilan gidroksil guruxi orqali bo'lmay, to'g'ridan- to'g'ri flavon molekulasidagi uglerod atomiga birlashadi) holida bo'ladi. Masalan, adabiyotlarda *Scutellaria baicalensis* (Yalpizdoshlar oilasiga mansub) o'simligi yer ustki qismidan (etilatsetat fraktsiyasi) kosmosin, apigenin- 5-glyukozid va sinarozid kabi O-glikozidlar ajratib olinganligi to'g'risida, hamda *Scutellaria indica* L (Yalpizdoshlar oilasiga mansub) o'simligi yer ustki qismidan (xloroform va etilatsetatli fraktsiyalar) flavonoidlar ajratib olinganligi va bular orasida etilatsetatli fraktsiyasidan izoorientin (6- C- B- D- glyuko- piranozillyuteolin) kabi C-glikozid ham ajratib olinganligi to'g'risida ma'lumotlar keltirilgan.

Gullar, mevalar va barglar tarkibida flavonoidlar ko'pincha glikozid holida, po'stloq hamda ildizlarning yog'ochlangan to'qimalari tarkibida sof aglikon holida uchraydi. Masalan, *Scutellaria prostrata* Jacq.et Benth o'simligi yer ustki qismidan flavonoidlar ajratib olingan va bu flavonoidlar ichida sinarozid va genistin glikozidlari borligi, hamda *Scutellaria rivularis* Wall o'simligi ildizidan aksariyat aglikon flavonoidlari, ya'ni kversetin, lyuteolin, kversetagentin, kempferol, izoramnetin, xrizantimin, sianin, gesperetin aglikonlari va faqat bitta gesperetin diramnoglikozidi ajratib olinganligi haqida adabiyotlarda keltirib o'tilgan [10,11]. ma'lumotlar.

1.2.Flavonoidlarni xromatografik tahlili.

Flavonoidlar ustida boshqa turdagi tahlillar ham o'tkazib, flavonoidlar haqida taxminiy to'xtamga kelish mumkin. Buning uchun o'simliklardan tayyorlangan ajratmalarda qancha flavonoid birikmalari borligi va ularni chinligini taxminiy aniqlashda (identifikasiya qilishda) taqsimlanish (bo'linish) xromatografik usulidan (qog'ozda-QX yoki BX va yupqa qatlamda-YuQX yoki TSX) va kolonkali xromatografiya usullaridan keng foydalanib kelinmoqda [12]. Bu usullarga qisqacha to'xtalib o'tsak.

Qog'ozda taqsimlanish xromatografiyasi

Qog'ozda xromatografiyalashda qo'zg'olmas suyuq faza tashuvchisi sifdida o'zining g'ovaklarida anchagina miqdorda suyuqlikni tutib tura oluvchi qog'ozning maxsus navlari ishlatiladi [13]. Bunda ikki turdagi qog'ozdan: g'ovaklarida suvni tutib turadigan gidrofil va maxsus yo'l bilan tayyorlangan hamda organik suyuqliklarni tutib turadigan gidrofob qog'ozdan foydalaniladi. Qog'ozda taqsimlanish xromatografiyasining muxim xarakteristikasi- bu harakatchanlik, ya'ni taqsimlanish koeffisientidir:

$$R_f = x/x_f$$

Bu yerda: R_f - harakatchanlik, ya'ni taqsimlanish koeffisienti;

x - komponent zonasining aralashishi;

x_f - erituvchining aralashishi;

Qog'oz xromatografiyasida R_f ni aniqlash uslubi quyidagichadir:

Xromatografiyalanuvchi namuna xromatografiyalashning boshlanishida qog'oz tasmasining boshlang'ich (start) chizig'iga joylashtiriladi va unga harakatchan faza (erituvchi) ta'sir ettiriladi. Agar namuna komponentlari rangli bo'lsa ma'lum vaqt o'tgach, xromatogrammada alohida- alohida rangli dog'larni ko'rish mumkin. Birinchi komponent uchun $R_{f1} = x_1/x_f$ ikkinchi komponent uchun

$$R_{f2} = x_2/x_f \text{ va hokazo bo'ladi.}$$

Ideal sharoitda taqsimlanish koeffisienti R_f moddaning tabiati, qog'oz parametrlari va erituvchining xossalari orqali aniqlanadi, lekin boshqa komponentlar ishtirokida moddaning konsentrasiyasiga bog'liq bo'lmaydi. Amalda esa R_f koeffisient ma'lum darajada shu omillarga ham, tajribani o'tkazish texnikasiga ham bog'liq bo'ladi. Shunga qaramay, tajriba sharoitlari uncha o'zgarmaganida va aralashmaning tarkibi barqaror bo'lganda bu koeffisientlar bir xil qiymatga ega bo'ladi va aralashma komponentlarini taqqoslash uchun kifoya qiladi. Analiz maxsus qog'oz tasmasida yuqoriga ko'tariluvchi yoki pastga tushuvchi usulda bajarilishi mumkin.

Bundan tashqari, boshlang'ich aralashma dastlab doira markaziga joylashtiriladi va keyin markazdan qog'oz chetlari tomon harakatlanib, konsentrik

halqa hosil qiladi. Bu holda doira shaklidagi xromatogramma olinadi. Harakatchan fazani kiritish uchun qog'ozdagi doira o'rtasida pilik kesiladi va uning uchi xarakatchan fazali idyushga botiriladi. . Pasayib boruvchi xromatografiyada start chizig'i qog'oz tasmasining yuqori qismida joylashgan bo'ladi. Agar tanlangan tarkibli xarakatchan faza yordamida tekshiriluvchi aralashmani tarkibiy qismlarga ajratib bo'lmasa, ikki o'lchamli xromatografiyalash usulidan foydalaniladi. Bu ' usulda xromatogramma olish uchun xromatografiyalash ikki marta qarama-qarshi yo'nalishlarda o'tkaziladi. Bunda kolonkaga birinchi erituvchi bilan ishlov berilgandan keyin, xromatogramma 90°ga aylantiriladi va ikkinchi marta boshqa erituvchi bilan xromatografiyalanadi. Bu usul aralashmalarni tarkibiy qismlarga to'laroq ajratish imkonini beradi [14].

Barcha moddalarni xromatografiyalashda eng katta e'tibor erituvchilar sistemasiga qaratiladi. Bu xromatografiya qilinayotgan moddaning eruvchanlik xususiyatiga va erituvchilarning xossalriga bog'liq. Qog'oz xromatografiyasida flavonoidlar turiga, ularga birikkan glikozidlar bog'lanish turiga va funksional guruxlar turiga ko'ra tanlanadi. Flavonoidlarni tekshirishda flavonlar va C- xamda O- glikozid tutgan flavonlar uchun sirka kislota-kons.xlorid kislota-suv (30:3:10), etanol-sirka kislota-suv (40:13:30), propanol-sirka kislota-suv (1:1:7), izopropanol-suv (3:2, 22:78, 1:3), n-butanol-sirka kislota-suv (4:1:5, 4:1:1, 5:1:4, 5:2:6, 6:2:1), suvga tuyingan fenol, etilasetat-chumoli kislota-suv (50:2:50, 3:3:1, 10:2:3), xloroform-sirka kislota-suv (13:6:2) kabilar, o'zida metil radikali tutgan flavonlar uchun benzol-piridin- suv (100:1:100,), suvga to'yingan n-butanol, benzol-ligroin-suv (50:50:50), benzol-nitrometan-suv (3:2:5)' kabilar, flavonollar va ularning O-glikozidlari uchun sirka kislota-kons.xlorid kislota-suv (30:3:10), propanol-sirka kislota-suv (1:1:7), izopropanol-suv (3:2, 22:78, 1:3), n- butanol-sirka kislota-suv (4:1:5, 4:1:1, 5:1:4, 5:2:7, 6:2:1), n-butanol-geksan-suv (20:14:57), suv bilan to'yyigan fenol, m-krezol-sirka kislota-suv (50:2:48) kabilar, antosianidin va antosianlar uchun chumoli kislota- suv-xlorid kislota (5:2:3, 45:1:3), 1% xlorid kislota, sirka kislota-kons.xlorid kislota-suv (5:1:5), izopentanol- 36% xlorid

kislota-suv (21:5:4), etilasetat-chumoli kislota-suv (50:2:50, 3:3:1, 10:2:3), suvga to'yingan etilasetat kabilar, izoflavonoidlar uchun 25% , natriy karbonat-sirka kislota- kons.xlorid kislota-suv (3:6:1:1), 25% etanol, propanol-sirka kislota-suv (1:1:7), butanol-sirka kislota-suv (4:1:5, 4:1:1, 5:1:4), suvga to'yingan etilasetat, m-krezol-sirka kislota-suv (50:2:48) kabilar, flavanon va flavanonollar uchun xloroform- etanol-suv (8:2:1), suvga to'yingan etilasetat, n-butanol-sirka kislota-suv (5:1:4), etilasetat-chumoli kislota-suv (10:2:3) kabilar, leykoanto- sianidinlar uchun 30% sirka kislotasi, pentanol-sirka kislota-suv (4:1:5) kabilar, biflavonoidlar uchun sirka kislota-suv (3:2, 1:5), izobutanol-suv (3:2, 32:78, 1:1), suvga to'yingan etilasetat, suvga to'yingan xloroform kabilar, xalkon va auronlar uchun suvga tuyingan fenol, 3% sirka kislota, n-bunatol-27% sirka kislota (1:1), butanol-2 n ammiak (1:1) kabi erituvchilar sistemalaridan foydalanish mumkin [15]. Flavonoidlarning bu sistemalarida taqsimlanish xroyatogrammalari turlicha bo'ladi. Masalan, 5 xil:

1) n-butanol-yax sirka kislotasi-suv (4:1:5),

2) yax sirka kislotasi-suv (1:1),

3) yax sirka kislotasi-suv (60:40),

4) Suvga to'yingan etilatsetat,

5) m-krezol-sirka kislota-suv (50:2:48) kabi erituvchilar sistemalarida ba'zi flavonoidlarning R_f qiymatlarini quyidagi 1.2.1- jadvalda ko'rishimiz mumkin.

1.2.1-jadval

Flavonoidlarning qog'oz xromatogrammalaridagi R_f qiymatlari

№	Flavonoidlar	Rf qiymatlari				
		1	2	3	4	5
1	Flavanon	98	55	81	98	73
2	Pinosembrin	95	-	-	-	99
3	Naringenin	88	33	-	-	88
4	Gomoeriodiktol	90	55	80	97	96
5	Naringin	61	80	88	51	56

6	4,6-digidroksi-3-metoksiflavanon-7-O-neogesperidozid	59	81		38	64
7	Flavon	92	0	---	-	99
8	Apigenin	87	11	66	87	88
9	Akasetin	90	44	71	94	-
10	Lyuteolin	77	8	-	-	63
11	Baykalein	78	19	79	97	-
12	Apigenin-7-O-glyukozid	61	23	-	-	73
13	Lyuteolin-7-O-glyukozid	43	16	-	-	-
14	Akasetin-7-O-glyukozid	58	27	-	-	-
15	Flavonol	89	26	-	-	-
16	Galangin	88	11	75	98	-
17	Kempferol	79	4	50	90	53
18	Kversetin	57	3	40	81	23
19	Kversitrin	61	58	74	50	38
20	Rutin	44	56	75	15	18
21	Robinin	40	77	84	21	43
22	Flavanonol					
23	Digidrokempferol	86	48	-	-	-
24	4', 7-digidroksiflavanonol	87	52	-	-	-
25	2-Oksixalkon	94	25	-	-	-
26	Izolikviritigenin	87	7	-	-	-
27	Izolikvirytin	52	15	-	-	-

Yupqa qatlamli xromatografiya

Taqsimlanish xromatografiyasini faqat qog'ozda emas, balki yupqa qatlamda ham aniqlab ko'rish mumkin. YuQX usuli rus olimlari N.A.Izmaylov va M.S.Shrayberlar tomonidan 1938 yili ishlab chiqilgan, xozirda organik kimyoda qo'llaniluvchi analiz usullarining eng muximlaridan biri hisoblanadi. Bu usulning asosiy jihozi sorbent joylashtirilgan yuzali metall yoki plastinkadan tayyorlangan plastinkadir [16]. YuQX.da ham QX. singari 3 xil: yuqoridan pastga siljuvchi, pastdan yuqoriga harakatlanuvchi va ikki o'lchamli xromatografiyalash usullari amalga oshirilishi mumkin. Analiz o'tkazish usuli ham QX.ga o'xshash bajariladi va bunda ham taqsimlanish koeffisienti QX.da aniqlanganidek aniqlash mumkin.

Xromatografik analiz o'tkazish uchun QX. singari o'simlikdan spirtli ajratma tayyorlanadi. Bunda o'simlikning maydalangan gulidan 1gr.ni 25ml. xajmli kolbaga solib, ustiga 10ml. spirt quyiladi. Kolbaga tik sovutgich o'rnatib, suv hammomida 10 minut qaynatiladi. Ajratma sovugandan so'ng qog'oz filtri bilan filtrlanadi. 0,1ml. filtratni va guvoh flavonoidlarning spirtli ajratmasidan 'Silufol' plastinkasinyng start chizig'iga kapillyar naycha yoki maxsus tomizgich yordamida bir- biridan 2sm masofada tomiziladi va havoda quritiladi. So'ngra plastinkani ichiga tayyorlangan erituvchili sistema quyilgan xromatografik kolonkaga joylashtirib, 30- 40 minut xromatografiya qilinadi. Keyin plastinka olinib, havoda quritiladi va ultrabinafsha (UB yoki UF) nurida ko'rib, dog'lar aniqlanadi (flavonoidlar jigarrang, sariq, zarg'aldoq rangli bo'lib tovlanadi). So'ngra plastinkaga ochiltiruvchi (ochiltiruvchilar alyuminiy xloridning spirtli eritmasi, sirkoniy xlor oksid, temir xlorid eritmalari, ammiakli suv bug'i, yod kamerasi, 1% vanilinning sulfat kislota-dagi eritmasi va boshqalar bo'lishi mumkin) purkab, quritib yana UB nurida ko'riladi. Dog'lar R_f lari xisoblanadi. Bu R_f lar 'guvoh' flavonoidlar R_f lari bilan solishtirib, o'simlik ajratmasida qanday flavonoidlar borligi to'g'risida fikr yuritiladi [12]. Flavonoidlarni YuQX.lashda 'Silufol' markali plastinka ishlatilganda flavonlar uchun benzol-piridin-chumoli kislota (36:9:5), benzol-dioksan- sirka kislota (90:25:4), benzol-aseton (4:1, 9:1), benzol- etilasetat (3:1), 3%li xloroform, 6-10% sirka kislotasining xloroformdagi eritmasi, etilasetatning benzoldagi 45% li eritmasi kabilar, O-glikozid tutgan flavonlar uchun etilasetat-metiletiketone-chumoli kislota-suv (50:30:10:10), metanol-sirka kislota-suv (18:1:1), butanol-2-etilasetat- dimetilformamid-suv (10:6:3:2) kabilar, C-glikozidli flavonlar uchun etilasetat-sirka kislota-suv (200:20:10), etilasetat-metanol (8:2) kabilar, biflavonoidlar uchun xloroform-sirka kislota-aseton (75:25:10), benzol-piridin- chumoli kislota (36:9:5), toluol-etilformiat-chumoli kislota (5:4:1), benzol-etilasetat-sirka kislota (8:5:2), benzol-piridin-etilformiat-dioksan (5:1:2:2) kabilar, flavonollar uchun benzol-piridin-chumoli kislota (36:9:5), toluol- etilformiat-chumoli kislota (5:4:1), etilasetat-metanol (8:2), etilasetat-chumoli kislota-suv (70:15:15), etilasetat-toluol-metanol

(8:6:1) kabilar, O-glikozidli flavonollar uchun etilasetat-metiletilketon-chumoli kislota-suv (50:30:10:10), etilasetat-chumoli kislota-xloroform (2:1:2, 3:3:1), etilasetat- metanol-suv (100:20:10, 100:16,5:13,5), etilasetat-chumoli kislota-suv (10:2:3), etilasetat-etanol-toluol (4:2:2) kabilar, flavanonlar uchun benzol-piridin-chumoli kislota (36:9:5), xloroform-metanol-sirka kislota (7:1:1) kabilar, izoflavonlar uchun xloroform-etanol (3:1), xloroform-11% sirka kislota (9:1), xloroform-etanol (1:1), etilatsyotat-metanol-suv (100:16,5:13,5) kabilar, antosianlar uchun n-butanol-chumoli kislota-suv (85:5:10), etilasetat-chumoli kislota-suv (70:15:15), etilasetat-chumoli kislota-suv (85:6:9) kabilar, leykoantosianidinlar uchun etilasetat-xloroform-chumoli kislota (3:3:1) kabilar va boshqa erituvchilar aralashmasidan foydalanish mumkin. Shuningdek YuQX uchun ‘Silufol’ markali plastinkadan tashqari ‘Silikagel-sellyuloza’, ‘Sellyuloza’, ‘Poliamid’, ‘Poliamid-sellyuloza’ plastinkalari ham ishlatiladi va bu plastinkalar xususiyatiga ko’ra yuqoridagi sistemalariga o’xshash erituvchi aralashmalaridan iborat sistemalardan foydalaniladi [15]. Shu sistemalariga ko’ra flavonoidlarning R_f qiymatlari ham farqlanadi. Masalan, ‘Silufol’ markali plastinkada 5 xil:

1.2.2- jadval.

Flavonoidlarning Yuqoridagi R_f qiymatlari

№	Flavanoidlar	Rf qiymatlari				
		1	2	3	4	5
1	Flavon va uning glikozidlari					
2	Apigenin	68	54	48	-	-
3	Akatsetin	69	58	48	63	68
4	Lyuteolin	20	15	25	85	82
5	Apigenin-7-O-gli.kozid (apiin)	12	5	13	76	64
6	Lyuteolin-7-O-glikozid	18	12	18	79	76
7	Flavonol va uning glikozidlari					
8	Kempferol	64	46	41	86	90

1.2.2-jadval davomi.

9	Kvertsetin	54	37	36	89	90
10	Izoramnetin	64	50	44	77	89
11	Miritsetin	4	2	7	62	49
12	Kvertsetin-3-O-g alaktozid (giperin)	14	11	23	78	74
13	Kvertsetin-3-O-ramnozid (kvertsitrin)	18	12	24	81	81
14	Kvertsetin-3-O-glyukozid	18	12	26	79	80
15	Kempferol-3-O-ramnozid	30	22	32	82	
16	Kvertsetin-3-O-rutinozid (rutin)	5	4	14	68	64
17	Kempferol-3-O-rabinozil-7- O-ramnozid (rabyinin)	2	2	7	51	51
18	Miritsetin-3-O-glyukozid	14	7	17	86	77

1) xloroform-metanol-metiletilketon-asetilaseton (70:10:5:1),

2) benzin-metanol-metiletil-keton-asetilaseton (70:10:5:1),

3) benzol-metanol (8:2),

4) etilasetat-chumoli kislotasi-suv (10:4:1),

5) xloroform-sirka kislotasi-suv (10:4:1) erituvchi aralashmalari bo'lgan sistemalarda flavonoidlarning 1.2.2-jadvalda ko'rsatilganidek turlicha R_f qiymatlariga ega bo'lishini ko'rish mumkin [17].

Kolonkali (adsorbsion) xromatografiya

Adsorbsion xromatografiya absorbent sifatida alyuminiy oksid, silikagel, gilmoya kukuni, kraxmal, sellyuloza kukuni, faollantirilgan ko'mir, poliamid va boshqalar ishlatiladi. Aralash moddalarni bir-biridan ajratishda xromatografik kolonkaning taxminan $\frac{2}{3}$ yoki $\frac{3}{4}$ qismiga elakdan o'tkazilib, bir xil maydalikda olingan ma'lum adsorbent solinib yaxshi joylashtiriladi. So'ng aralashma holda bo'lgan modda biror erituvchida eritilib tomizgich voronka yoki pipetka yordamida kolonkaga asta- sekin quyiladi. Ba'zan adsorbentni yaxshi joylashtirish uchun uni ma'lum erituvchi bilan aralashtirib turib $\frac{1}{3}$ qismiga erituvchi solingan va jo'mragi ochib qo'yilgan holda kolonkaga suyuq massa qilib quyiladi. Adsorbentni

kolonkaga yanada yaxshi joylashtirish uchun azotli yoki karbonat angidridli gaz balonidan asta-sekin biroz gaz yuborish mumkin. Kolonka turishi bilan adsorbent yuzasida ajralib qolgan erituvchi kolonkaning jo'mragi ochiq bo'lganligi uchun kamaya boradi va erituvchining miqdori adsorbent yuzasidan taxminan 3mm dan kamayishi bilan kolonkaning jo'mragi berkitilib, xromatografiya qilinishi kerak bo'lgan moddalar aralashmasining eritmasi kolonkaga quyiladi [18].

Kolonkaga moddalar aralashmasining eritmasi quyib bo'lingandan so'ng, eritma adsorbentga yutilib bo'lishi bilan kolonkaning yuqori qismidagi eritmaning yuqi ozgina toza erituvchi bilan yuvilib, bu ham yutilib bo'lgan kolonkadan ma'lum erituvchi o'tkaziladi.

Bu xromatografiya usulidan aralash moddalarning adsorbent yuzasidan adsorbsiyalanish (yutilish) va deformasiyalanish (yuvilish) jarayoni juda ko'p marta qaytariladi. Demak, bu xromatografiyada surilmaydigan adsorbent bilan kolonkali xromatografiyada harakatlanuvchi ajralayotgan aralash modda eritmasi o'rtasida qayta-qayta muvozanat o'rnatilishi aralash moddani bir- biridan ajralishiga olib keladi.

Moddalarning adsorbentda bog'lanishi va erituvchi bilan desorbsiyalanishi bir xil bo'lmaganligi sababli, moddalar adsorbent xromatografik kolonkaning yuqori qismidan pastga qarab surilib, har bir modda bir-biridan uzoqlasha borib hamda zonalarga ajralib halqalar hosil qila boshlaydi va shu tarzda moddalar erituvchi bilan birga siljib yuvilib tushadi. Kolonkali xromatografiyada moddalarni bo'lish uchun ishlatilayotgan erituvchida kamroq eriydigan moddalar keyinroq tushishi yoki boshqa erituvchi bilan surib tushirilishi mumkin. Bu yuvilib tushib bo'linayotgan moddalar eritmasi- elyuatni fraktsiyalarga bo'lib yig'iladi va har bir fraksiya aloxida- alohida tekshiriladi.

Kolonkali xromatografiya yordamida xromatografiya qilishda moddalarni oldinma- ketin bo'lish uchun ishlatiladigan erituvchilar- elyuentlar o'zlarining qutbli kuchlariga qarab elyuotrop qatoriga ega. Bu qator quyidagicha: petroleiy efir, tetraxlormetan, toluol, benzol, xloroform, dietilefir, etilasetat, aseton, etanol, metanol, sirka kislota va suv. Moddalarni yuvib olishda qo'llanilayotgan elyuent,

masalan, petroley efiri kolonkada qolgan moddani yuvib chiqara olmay qolsa, u holda elyutrop qatoridagi keyingi erituvchi qo'llaniladi. Adsorbent yuzasida kuchliroq yutilib qolgan moddalar ko'pincha metil yoki etil spirt bilan yuvib bo'lib olinadi.

Agar xromatografiya qilinayotgan eritmada rangli moddalar aralashmasi bo'lsa, kolonkada turli balandlikda har xil rangli halqalar hosil bo'ladi. Bu xromatografiya kolonkadagi rangli zonalar elyuent bilan yuvilganda bir-biridan uzoqlashgandan so'ng yuvish (bo'lish) to'xtatilib, xromatogramma kolonkadan ohistalik bilan tushirilib, zonalar bir-biridan ajratib olinadi va adsorbentda yutilgan moddalarni ma'lum erituvchida eritib olish mumkin.

Flavonoidlarni kolonkada xromatografiyalashda ham avval kuchsizroq erituvchilar sistemasi tanlanadi. Bo'lish davomida erituvchilar sistemasi nisbatan kuchliroq qilib almashtirib boriladi. Chunki flavonoidlar ichidan har xil erituvchilarda eriydiganlari ham topiladi. Xloroformda flavonoid aglikonlari, o'zida metoksi guruxi tutgan flavonoidlar va asil flavonoidlari erish xususiyatiga ega bo'lsa, deyarli flavonoid glikozidlari normal butanolda eriydi. Etilasetatda esa barcha flavonoidlar erishi mumkin. Shuning uchun ham kolonkali xromatografiya usulida boshqa xromatografiya usullari qatori shu usullar natijalariga asoslanib erituvchilar sistemasi tanlab olinadi. Bir necha misollar keltiramiz, *Scutellaria immuculata*, *S. ocellata*, *S. Nepetoidea*, *Scutularia discolor* Colebr va *Scutularia alpina* o'simliklar tarkibidagi flavonoidlarni aniqlashda xloroform- metanol (19:1; 97:3; 9:1 va 85:15), n- butanol-piridin-suv (6:4:3) kabi erituvchilar sistemasidan foydalanilganligi to'g'risida adabiyotlarda keltirilgan [44]. Bunda xloroform-metanol (19:1) sistemasi yordamida yuqorida nomlari bayon etilgan o'simliklarda xrizin- 7- O- glyukuronid, oroksilin, vogonin,

(±)- 5,2'- digidroksi- 6,7,6'- trimetoksiflavanon, 5,2'- digid- roksi- 6,7,8,6'- tetrametoksi-flavanon, xrizin kabi flavonoid birikmalari, xloroform-metanol (97:3) sistemasi yordamida izoramnetin, xaplozid kabi flavonoidlari, xloroform-metanol (9:1) sistemasi yordamida apigenin, 3,7,4'- trigidroksi-flavon, vogonin

baykalein-7-O-glyukozid, skutellarein- 7- O-glyukozid flavonoidlari, xloroform-metanol (85:15) sistemasi yordamida esa sinarozid, oroksilozid, izoskutellarein, vogonin-7- O- β - D- glyukopiranozid flavonoidlari va n- butanol- piridin-suv (6:4:3) sistemasi yordamida baykalin, vogonozid kabi flavonoidlar ajratib olib, o'rganilgan [19]. Bundan ko'rinadiki, erituvchilar sistemasi borgan sari kuchliroq qilib borilgan.

1.3. Gaz-suyuqlik xromato-mass-spektrometriya (GSX-MS) umumiy ma'lumotlar

Bugungi kundagi gaz xromatografiyasi mass-selektiv detektor bilan xromato-mass-spektrometriya deb ataladigan usulning mashhur bo'lishi birinchi navbatda uning o'ziga xos ma'lumotlarni olish imkoniyatiga ega ekanligidir. Agar shu boshqa detektorlar bilan solishtiriladigan bo'lsa, mass-spektrometriya universaldir va uning yordamida ma'lumotlarni olish o'ziga xosdir. Boshqa detektorlarga (elektron qamrovchi detektor, galogenli birikmalar uchun, alanga, ionlovchi detektor - uglevodorodlar uchun) qarama-qarshi holda massspektrometr har qanday sinf organik moddalarini aniqlash imkonini beradi. Bundan tashqari mass-selektiv detektor omodda haqidagi elektron o'rishning mass-spektri ko'rinishidagi qo'shimcha ma'lumot beradi. Elektron o'rishlardan olingan mass- spektrlar yaxshi takrorlanadi va ko'pgina organik birikmalar uchun o'ziga xosdir. Shunday qilib, xromato-mass-spektrometriya qudratli usuldir, har qanday organik birikmalar aralashmasini analizi uchun qo'llaniladi. Analiz bir necha minutlar davom etadi, bu esa bugungi kunda xromato-massspektrometriyani eng samarali analitik usul ekanligini ko'rsatadi.

O'simliklar yengil uchuvchan birikmalarining gazoxromato-massspektrometriyasi. Gaz xromatografiyasining mass-spektrometrik detektor (GSMS) bilan birlashmasi o'simliklar tarkibidan engil uchuvchan birikmalar, sintetik va tabiiy hid beruvchi moddalar analizida, qo'ziqorinlar [20], tuproq , qoldiqlar qatlamlari , arxeologik materiallar va h.z lardan uchuvchan birikmalarni aniqlashning eng muhim usuli hisoblanadi [21].

U yoki bu usulda olingan ekstraktning GX-MS usulda tekshirilishi ikki bosqichdan iborat:

- 1) tayyorlangan namunaning xromato-mass-spektrogrammasini yozib olish;
- 2) olingan xromato-mass-spektrogrammani rashifrovkalash.

Xromato-mass-spektrogrammani yozib olish tartibi xromato-massspektrometrlarni ishlatish bo'yicha qo'llanmalarda bayon etilganligi uchun unga atroflicha to'xtalish maqsadga muvofiq emas. Shuning uchun xromatomass-spektrogrammaning rashifrovkalashga olahida to'xtalamiz.

Xromato-mass-spektrometriya bo'yicha rus tilidagi mukammal qo'llanma yozilgan bo'lib [22], uning alohida bo'limi gazxromatografiyasini massspektrometriya bilan birgalikda qo'shilishi (chatishtirilishiga) ba g'ishlangan. Xromato-mass-spektrometriya usulining asoslari [23] da berilgan. Xromato-massspektrometriya usulining asoslari va asbob-uskunolari, mass-spektrlarni olish usullari, ko'p komponentli aralashmalarni analitik usullarda tekshirish turli masalalarni echishda xromato-mass-spektrometriyaning qo'llanilishiga doir misollar [24] da berilgan. Atmosferada organik moddalar qoldiqlarini xromatomass-spektrometriya usulida aniqlash masalalari [25] da muhokama qilingan.

Mass-spektrometr detektor sifatida. Gaz xromatografini massspektrometr bilan detektor sifatida jihozlashda asbob-uskunaning xromatografik qismiga va mass-spektrometrga ba'zi muhim talablar quyiladi. Ushbu talablarga bog'liq masalalar [24,22,23] larda muokama qilingan.

Mass-spektrometrik detektor gazo-xromatografik kompleks tarkibidaishlash uchun maxsus moslashtirilgan ixcham mass-spektrometrdir.

Bugungi kundagi mavjud bo'lgan mass-spektrometriyaning instrumental, nazariy va metodologik prinsiplari [26] da atroflicha qaralganligi uchun ham ishni bajarishda zarur bo'lgan ma'lumotlarni qisqacha keltirishi maqsadga muvofiq.

Mass-spektrometriya uchta asosiy qismlardan iborat: ionlar manbai, mass-analizator va detektor.

Ionlar manbai. Zamonaviy gazoxroma-mass- spektrometriyada elektronlar bilan urish orqali ionlanish qo'llaniladi. Chunki elektronlar bilan urish orqali olingan organik birikmalarning mass- spektrlari birinchidan modda molekulasiining strukturasi haqidagi ma'lumotlarni saqlaydi, ikkinchidan esa natijalar yaxshi takrorlanadi. Elektron bilan urish orqali olingan massspektrlari organik birikmalarning eng muhim xarakteristikasi bo'lib, xromamass-spektrometrik analiz davomida identifikatsiyalash uchun ishlatiladi.

Nisbatan ommabop va ilmiy tadqiqotlarda shu bilan bir qatorda

o'simliklarning engil uchuvchan birikmalarni tekshirish uchun keng qullaniladigan mass-spektrometrik ma'lumotlar bazasi elektron bilan urish orqali olingan mass-spektrlardir [27,28,29,30,31].

Mass-analizator. Ionlanish manbaida hosil bo'lgan ionlarni ajratish uchun quyidagi 5 xil mass-analizatorlar ishlatiladi [25]:

- 1) magnitli,
- 2) elektrostatikli,
- 3) vaqt uchuvchanli,
- 4) ion-siklotronli rezonans va
- 5) kvadrupolli.

Zamonaviy xromato–mass–spektrometrik sxemalarda eng ko'p kvadrupolli analizatorlar ishlatilmoqda.

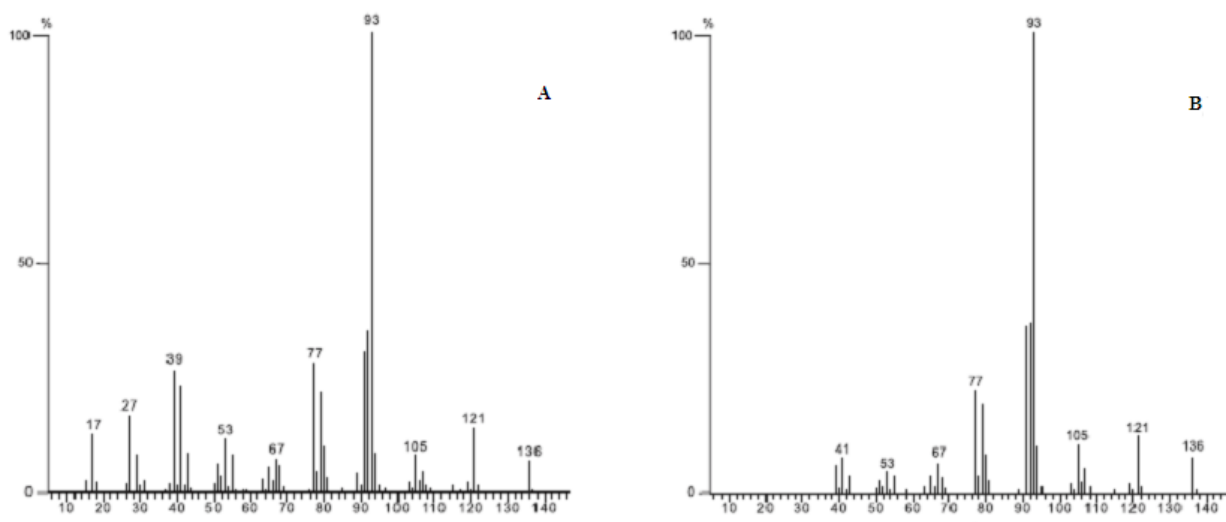
Detektor. Mass- spektrometrlarda turli detektorlar ishlatiladi. Shu bilan bir qatorda turli tipdagi elektron kuchaytirgichlar eng ko'p qo'llaniladi. Ular kuchaytirishning yuqori qiymatini ta'minlaydi va juda kichik ionli tokni detektorlash imkoniyatini beradi. Bu esa mass-spektrometrlarning gaz xromatografiyasi uchun detektor sifatida juda yuqori sezgirligini ta'minlaydi. Ko'plab zamonaviy kvadrupolli mass-spektrometrik sistemalarda shovqun (signal) nisbati 10:1 va undan katta bo'lganda moddaning piktogramm miqdorini detektorlashni ta'minlaydi.

Kvadrupolli mass-analizatorlar mass-spektrlarni etarli darajadagi tezlikda qayd etadi: skanirlash tezligi sekundiga 10000 a.m.b. gachani tashkil etadi. Bu esa

sekund ichida bir necha mass-spektrlarni to'liq qaid etish imkonini beradi. Xromato-mass-spektrogrammani yozishda har qaysi skanerlash uchun qayd etiladigan barcha ionlarning intensivligini qo'shish amalga oshiriladi. Ushbu xromato-mass-spektrometrik tekshirishda to'liq ionli tokning vaqt bo'yicha o'zgarishi oddiy xromatogrammalar ko'rinishiga ega.

Miqdoriy analiz. Xromato-mass-spektrometriya usulida miqdoriy analizni o'tkazish hamma vaqt ham qoniqarli natija beravermaydi. Xromat masspektrometrda to'liq ionli tok bo'yicha olingan xromatogramma umumiy holda ichki mo'tadillash usuli bilan miqdoriy analiz o'tkazishga yaroqsiz. Bunga asosiy sabab "to'liq ionli tok" ning to'liq bo'lmasligidir. Oddatda massani qayd etishning quyi massa chegarasi (m/z) qiymati 29-30 a.m.b.ni tashkil etadi. Bu esa massasi shundan kichik bo'lgan ionlar qayd etilmaydi deyilganidir (1.3.1-rasmga qarang).

Umuman olganda mass-spektrometrik detektor ham gaz xromatografiyasi uchun ishlatiladigan boshqa detektorlarga o'xshab miqdoriy analiz nuqtai nazaridan qaralganda bir xil modda miqdoriga bir xil chaqiriq (signal) bermaydi, pretsizion miqdoriy o'lchashlar o'tkazilganda boshqa usullardan foydalaniladi.



1.3.1-rasm. α - penin spektrlari: elektron urishning to'liq mass-spektri (A), mass 30-650 a.u.b. oralig'ida qayd etishda xromato-mass-spektrometrda olingan massspektr (B).

Ba'zi holatlarda, masalan, enantio-selektiv moddalar analizida va enantiomerlar nisbatini aniqlashda xromato-mass-spektrometrik detektorlash

to'g'ridan-to'g'ri miqdoriy analiz o'tkazish imkonini beradi. Chunki enantiomerlar juftlarining mass-spektrlari bir xildir.

Sifatli analiz. Xromato-mass-spektrometrik tekshirishlarning birlamchi natijasi gaz-suyuqlik xromatografiyasi usulida olingan xromatografiyasi usulida olingan xromatogrammadir. Xromatogrammaning har bir nuqtasi uchun quyi ajralishdagi elektronli o'rishning mass- spektrlari qayd etiladi. Shunday qilib, analiz qilinayotgan aralashmaning barcha komponentlari uchun mass-spektrlar qayd etiladi. Ular sifatliy analizda qo'llaniladigan eng muhim qo'shimcha xarakteristikadir. Xromato-mass-spektromeriyada hal qiluvchi ustunlik bu bir tajribada analiz qilinayotgan aralashmaning har qaysi komponenti uchun odatiy xromatografiyadagi kabi berilgan sharoitda nafaqat ushlanish kattaliklari, balki to'liq mass-spektri olinadi.

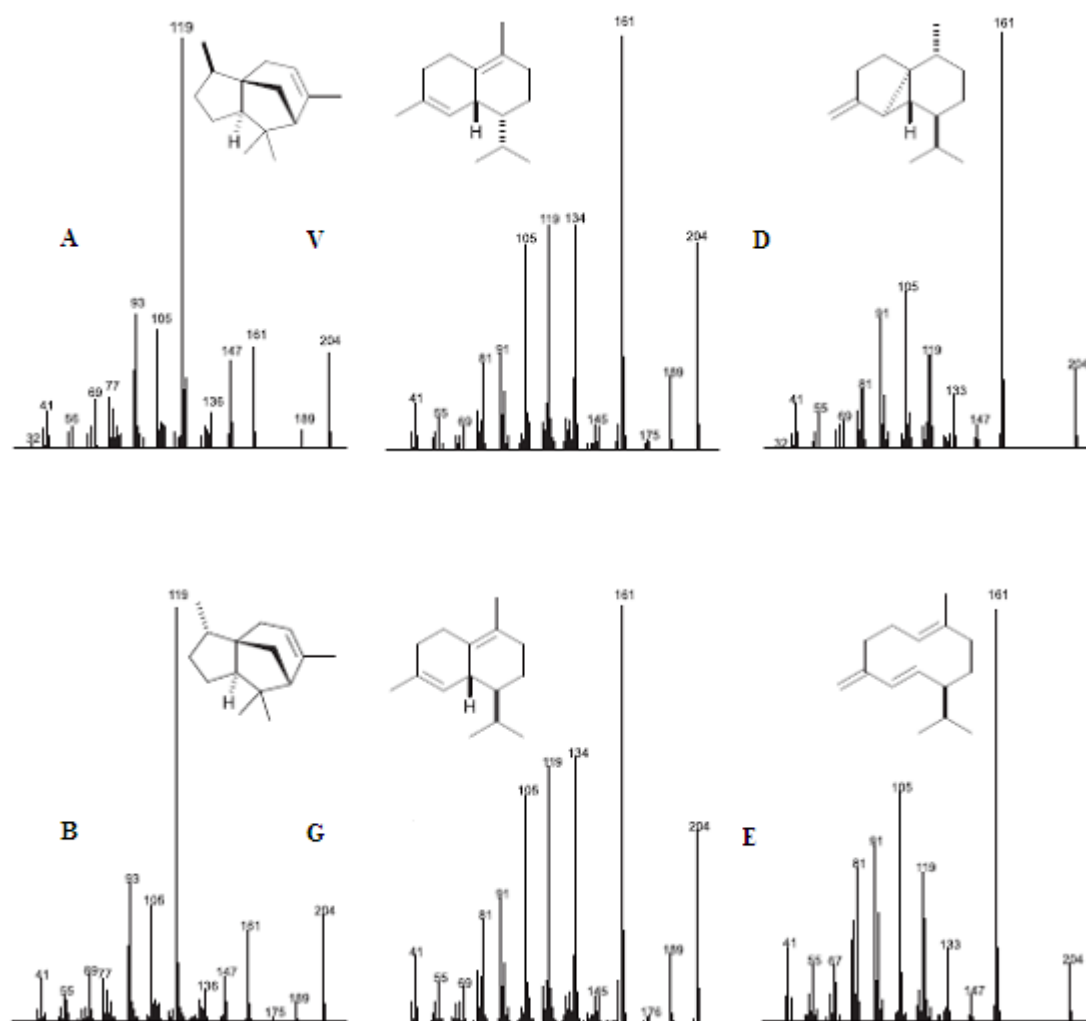
Mass-spektrometriya molekulyar spektroskopiyaning bir ko'rinishi sifatida organik molekulalarning struktur analizida juda keng qo'llaniladi. Chunki boshqa molekulyar spektrlar kabi mass-spektrning ko'rinishi tekshirilayotgan birikmaning molekulyar tuzilishiga bog'liq. Shu bilan bir qatorda elektronli urish natijasida fragmentlash bo'yicha ko'plab qonuniyatlar o'rnatilishiga qaramasdan uchuvchan moddalar va shunga o'xshash birikmalarni xromato-mass-spektrometriya usulida analizning o'ziga xos chegaralari bor.

Ma'lum qonuniyatlar asosida moddaning mass-spektrini nisbatan oson tushuntirish mumkin, ya'ni molekulyar strukturasi aniq bo'lgan moddadan aniq intensivlikdagi u yoki bu ion nima uchun hosil bo'lishini tushuntirish mumkin.

Lekin bunga teskari masalani echish va mass-spektr bo'yicha modda molekulasining strukturasi amaliyotda aniqlash mumkin emas. Pretsizion analizda mass-spektr nomu'lum moddaning qaysi sinfiga, ya'ni qaraladigan birikmaning qaysi gruppasi yoki organik birikmalar sinfiga [31], taalluqli ekanligini aniqlash mumkin, kimyoviy tuzilishi va konfiguratsiyasini aniqlash boshqa fizik usullardan foydalanishni talab qiladi.

Yuqorida qayd etilganlar terepenoidlarning strukturasi analiz qilish uchun juda to'g'ri. Bu holat ayniqsa fazoviy izomerlarning elektronli urish mass-

spektrlari farqlanmay qolganda va ba'zi tipdagi (holat) izomerlari strukturalarining almashgan aromatik masalan, birikmalar amalda bir xil massspektrlarga ega bo'lgani ko'zatiladi. 3.7-rasmda amalda bir xil mass-spektrga ega bo'lgan seskviterpenli birikmalarning jufti keltirilgan. Fazoviy izomerlar (A, V, V va G juftlar va strukturaviy izomerlar (D va E). Shunday qilib umumiy holda xromato-mass-spektrometriya komponentlar molekularining tuzilishini o'rnatish imkonini bermaydi, lekin "qul nusxasi" ga o'xshash moddani tanish uchun uning mass-spektridan foydalanib, identifikatsiyalash imkonini beradi.



1.3.2-rasm. Elektron urish mass-spektrlari o'xshash bo'lgan seskviterpen uglevodorodlari juftlari: 7-epi- α - sedrin (A) va α - sedrin (B), δ - amorfen (V) va δ - kadinen (G) larning fazoviy izomerlari; β - kubeben (D) va germakren D (E) larning struktur izomerlari.

GSX-MS ma'lumotlarini qayta ilash uchun dasturiy ta'minot. Zamonaviy xromato-mass-spektrometrlar kompyuterlar yordamida ishlaydigan murakkab

qurilma bo'lib, natijalarni fayl [5] shaklida beradi. Faylda tekshirilgan namuna haqidagi ma'lumotlar, hamda xromato-mass-spektrogramma bo'ladi. Faylning formati o'rnatilgan kompyuter tizimining dasturiy ta'minotiga bog'liq bo'ladi. Bir formatdagi fayllar boshqa formatga ixtisoslashtirilgan konvertorlar yordamida o'tkaziladi. Ko'p holatlarda fayllar JCAMP-DX formatiga o'tkaziladi, chunki ko'pgina ilmiy asbob-uskunalar va dasturiy ta'minot ishlab chiqaruvchilar ushbu faylni qo'llab – quvvatlaydi.

Xromato–mass-spektrometriya natijalarini ko'rish va xromato-massspektrogrammalar analizi (analizi qilinayotgan aralashma tarkibini sifatii va miqdoriy aniqlash xromatografik va mass-spektrometrik ma'lumotlarni pretsizion analizi, har xil ko'rinishidagi hisobotlar va o'tkazilgan tekshirishlar natijalari bo'yicha tavsiyalar tayyorlash) bugungi kunda kompyuter tizimlari bazasida ixtisoslashgan dasturiy vositalar qo'llanilishi bilan bajariladi. Ushbu maqsadda ishlatiladigan ko'plab turli dasturiy majmualar (paketlar) mavjud: ba'zi majmualarda xromato-mass-spektrogrammalarni qayta ishlash ko'plab imkoniyatlardan biri bo'lsa, ba'zilarida faqat xromato-mass-spektrogrammalar qayta ishlanadi. Ulardan HP Agilent ChemStation, AMDIS, va MassFinder dasturlari juda muhimdir [28].

GSX-MS ma'lumotlarining rasshifrovkasi. Xromatogrammani rasshifrovkasi kabi xromato-mass-spektrogrammani rasshifrovkasi aralashma komponentlarini identifikatsiyalash va ular miqdorini aniqlash imkonini beradi. Xromato-mass-spektrometriyada komponentlar identifikatsiyasi komponentlarning xromatografik ushlanish parametrlari va ular massspektrometrik xarakteristikalarini ushlanish kattaliklari bilan hamda adabiyotlarda chop etilgan yoki ma'lumotlar bazasidagi aniq moddalarning massspektrometrik xarakteristiklari bilan solishtirish asosida amalga oshiriladi.

Ko'plab mualliflarning fikriga ko'ra efir moylari komponentlarini identifikatsiyalashning eng samaralisi analitik ma'lumotlar (ushlanishi indeksleri) va ko'plab sondagi maksimal cho'qqilardan tashkil topgan qisqartirilgan mass-spektrlarini solishtirishdir. Ammo bunday yondoshuv ba'zi sinf moddalaridan

tashkil topgan nisbatan oddiy aralashmalar analizida o'z tasdig'ini topgan va o'simliklar engil uchuvchan birikmalarini analizida ma'lum chegaralarga ega. Mohiyat jihatidan qisqartirilgan mass-spektr "yomon" mass-spektrning yomonlashgan variantini tashkil etadi. Uning xromato-mass-spektrogrammada paydo bo'lishi identifikatsiyani murakkablashtiradi.

Ushlanish indeksini aniqlash. Ma'lumki, xromatografik ushlanish indeksleri analiz qilinayotgan aralashma komponentlarining muhim xarakteristikasidir. Xromato-mass-spektrometrik tekshirishlar-ning asosida komponentlarni gazoxromatografik ajratish yotganligi uchun komponentlarning ushlanish indekslarini aniqlash "oddiy" xromatografiyadagi kabi amalga oshiriladi.

Ichki standartdan foydalanish. Mass-spektrometrning detektor sifatida qo'llanilishi ichki standart bilan ishlashni keskin yaxshilaydi. Chunki "oddiy" xromatografiyaga nisbatan kam miqdorda standartlardan foydalanish imkoniyatini yaratadi. Misol sifatida uchuvchan birikmalarni tekshirishda namunali tayyorlash tartibi keltiriladi.

Efir moyi yoki ekstrakning (5-10 mkl) analiz qilinadigan namunasi atseton (500 mkl) bilan aralashtiriladi va n-alkanlarning C_7 , C_8 , ..., C_{24} geksindagi 0,1 % li eritmasi (100 mkl) qo'shiladi. Aralashtirilgandan keyin tarkibida massa bo'yicha 0,9-2,0% bo'lgan analiz qilinadigan aralashma va har qaysi alkanning $\approx 0,001\%$ li eritmasi tayyor bo'ladi.

Xuddi shunday usulda tayyorlangan eritma har qaysi n-alkanni aralashma xromatogrammasidan ularning cho'qqilarini ishonchli aniqlash va ushlanish vaqtini aniq o'lchash hamda ushlanish indeksini hisoblash imkoniyatini beradi. Misol sifatida 1.3.3- rasmda terpenli spirtlar aralashmasining n-alkanlar qo'shilgan xromato-mass-spektrogrammasi keltirilgan. Rasmdan ko'rinib turibdiki to'liq ion tok rejimida olingan xromatogrammada nalkanlarning cho'qqilari etarli darajada kechik va aralashma komponentlarini analizida xaloqit bermaydi.

Shu bilan bir vaqtda n-alkanlar uchun xos bo'lgan $m/z = 57$ ion toki bo'yicha olingan xromato-mass-spektrogrammada standartning barcha cho'qqilarini aniqlash imkoniyati bo'ladi.

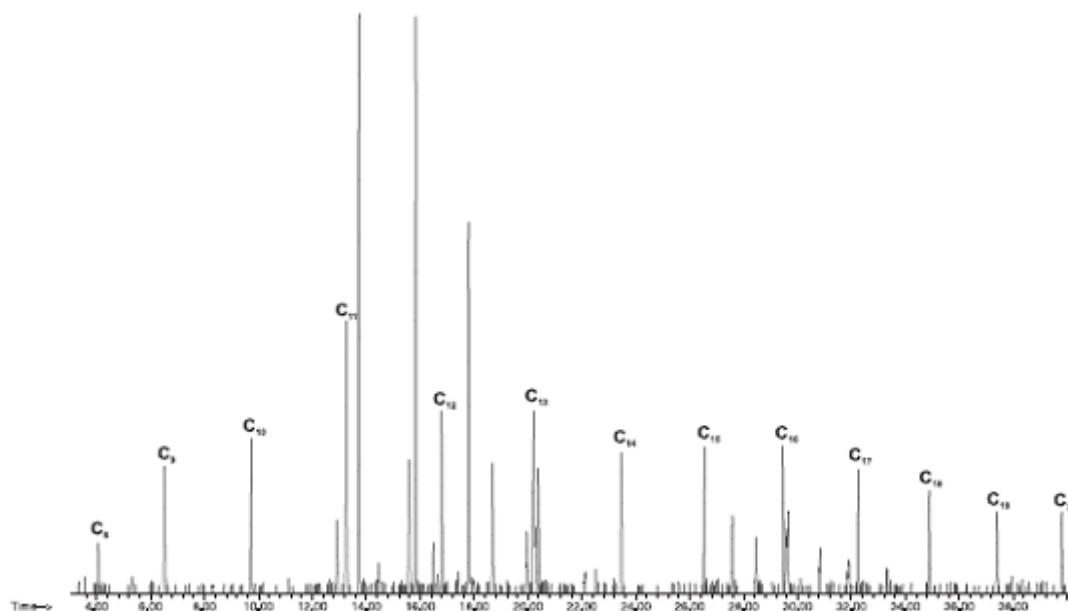
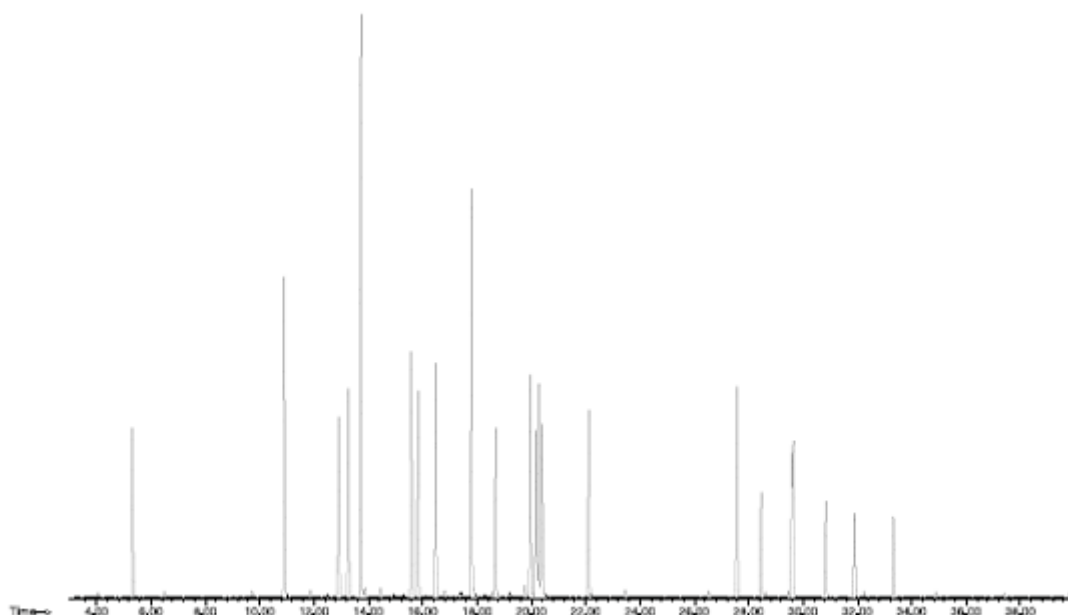
Ushlanish vaqtini qayd etish. O'simlik moddalarini xromato-massspektrometriya usulida tekshirishda kam hollarda ish bir, ikki yoki bir necha analizlar bilan chegaralanadi. Qoidaga ko'ra bir xil tipdagi ko'plab namunalar uchun bir xil sharoitda xromato-mass-spektrogrammalarni qayd etish bo'yicha ko'plab qator tajribalar o'tkaziladi. Chunki ichki standartlardan foydalanish va bu bilan bog'liq holda ushlanish indekslarini hisoblash ishlari ko'plab vaqt sarflashni talab qiladi. Qator analizlarni o'tkazishda hisoblash jarayonlarini kamaytirish hisobiga vaqtni tejash mumkin.

Gazoxromatografik asboblarni boshqarishning zamonaviy elektron tizimlari va tajribaning gazoxromatografik nazorat tizimlari moddalar ushlanish vaqtlarini yaxshi takrorlangan holda aniqlash imkonini beradi. Lekin amaliyotda bu etarli emas, chunki xromatografik kolonkaning parametrlari uni ko'p vaqt davomida ishlatilishi natijasida o'zgaradi. Bu esa qoidaga ko'ra turli sabablar natijasida komponentlarning ushlanish vaqtini kamayishiga olib keladi. Komponentlar ushlanish vaqtlarining kam o'zgarishi mos ravishda analiz qilinayotgan aralashma barcha komponentlari ushlanish vaqtlari sinxron oshiradi yoki kamaytiradi.

Bunday holda aralashmadagi aniq bo'lgan biror komponentning ushlanish vaqti aniqlanadi va olingan standart kattalik qiymatidan chetlanish bo'yicha qolgan barcha komponentlarning ushlanish vaqtlari hisoblanadi. Buni qo'lda bajarish mumkin. Lekin ko'plab zamonaviy xromatografik komplekslarda bu jarayonni bajarish avtomatlashtirilgan. Komponentning qayd etilgan ushlanish vaqti bo'yicha boshqa komponentlarning ushlanish vaqti hisoblanadi yoki boshqacha aytganda xromatogramma vaqti shkala bo'yicha darajalanadi.

Mass-spektlar bo'yicha identifikatsiya. Xromato-mass-spektrometriya bo'yicha komponentlarni identifikatsiya mumkin, lekin ularning tuzulishini o'rnatish amaliy jihatdan mumkin emas. Shuning uchun ham ko'pgina hollarda xromato-mass-spektrometiriyada o'simlik moddalarning ularning tuzilishini o'rnatish uchun ma'lumotlar manbai emas, balki identifikatsiya uchun ma'lumotlar manbai sifatida ishlatiladi.

Identifikatsiyalash maqsadida mass-spektrlar ma'lumotlarining massivlari (ba'zalar, kutibxonalar) va u yoki bu detektorlanadigan komponentning mass spektri qarayotganda analiz qilinayotgan modda mass-spektrining ishlatilayotgan bazada mavjudligiga e'tibor qaratiladi.



1.3.3-rasm. Mono- va seskviterpenli spirtlari aralashmasi namunasining to'liq ion toki (yuqoridagi) va $m/z = 57$ ion toki (quyidagi) bo'yicha olingan xromato-mass spektrogrammasi. Kolonka HP-5ms 30 m x 0,25 mm, tur g'un faza 5 % fenil-95%-metilpolisiloksan, tur g'un faza qavatining qalinligi 0,25 mkm; yuboriladigan

namuna hajmi 1 mkl; temperatura dasturlash rejimida 50 dan 240 °C gacha minutiga 4°C tezlikda.

Ma'lumotlar bazasidan mass-spektrni izlash. Ma'lumotlar bazasidan mass-spektrni izlash uchun xromato-mass- spektrogrammadan ajratilgan komponentning mass-spektrlar uchun ma'lumotlari bibliotekasini tashkil etgan kompyuter tizimidagi mass-spektrlar bilan solishtirish yondoshuvi ishlatiladi. Bunday solishtirish natijasida kompyuter spektrlar bibliotekasidan topish uchun taqdim etilgan moddaning borligi aniqlandi. Lekin analiz qilinayotgan modda spektrining bibliotekadagi mass-spektri bilan mos kelishi ushbu moddaning identifikatsiyasi qilindi degan gap emas. Mass-spektrokopiyaning o'ziga xosligi spektrlardagi turli signallar intensivliklarining past darajada qayta takrorlanishidir. Bu esa mass-spektrlarni qayd etish sharoiti bilan belgilanadi. Shunga bo g'liq holda kundalik ishda analiz qilinayotgan modda va bibliotekadagi mass-spektrlarning bir xilligiga erishib bo'lmaydi. Shuning uchun ham masspektrometrik izlovchi tizim bibliotekadagi spektrlar massivini analiz qilinayotgan komponent spektri bilan solishtirib, bibliotekadan o'xshash spektrlarni ajratadi va ularni o'xshashlik darajasi bo'yicha ajratadi. Turli dasturlarda spektrlarni solishtirishning turli algoritmlari qo'llanilgan. Ushbu algoritmlarning o'ziga xosliklariga qaramasdan ular ishlashining oxirgi natijalariga e'tibor qaratiladi. Qoidaga ko'ra dasturni ishlashning oxirgi natijasi dasturiy ta'minotni ishlab chiquvchi tomonidan shkala chegarasidagi sonli qiymatlar bilan xarakterlanuvchi chegarada olingan o'xshashlik darajasi kamayib borish tartibida joylashgan moddalar ro'yxatidir. Masalan, NTAgilent Chem Station seriyasidagi dasturlar uchun moslik darajasi Qual. parametri bilan xarakterlanadi va 0 dan 100 gacha qiymatlarni qabul qiladi. Agar 100 ga teng bo'lsa eng yuqori moslikka mos keladi. AMDIS standart dasturi mass-spektrlar bibliotekasida NIST MS Search dasturini qo'llab izlashda mass-spektrlarning o'xshashlik darajasi Match parametri bilan xarakterlanadi. Ushbu parametr (o'xshashlik yo'q) dan 1000 (maksimal o'xshashlik) gacha qiymatlarni qabul qiladi. Mass Finder dasturi Hash Value deb ataladigan moslik parametri bilan xarakterlanadi: uning qiymati qancha manfiy bo'lsa, shuncha analiz

qilinayotgan modda spektri bilan spektrlar bibliotikasi o'rtasidagi moslik shuncha yaxshi bo'ladi. Qoidaga ko'ra Hash Value ning qiymati N-20 va undan kichik bo'lsa, spektrlar yuqori darajada o'xshashlikka ega bo'ladi, musbat qiymatlarda esa spektrlarning o'xshashligi qoniqarsiz deb hisoblanadi.

Noma'lum komponentlar bilan ishlash. Agar modda spektrini biblioteka massividagi spektri bilan solishtirish natijasida uni aniqlash imkoniyati bo'lmasa, u holda uni aniqlay olmaslikning imkoniy sabablari qaraladi:

- berilgan modda mass-spektri foydalaniladigan mass spektrlar bibliotekasida bo'lmagan;

- berilgan komponentning mass-spektri foydalaniladigan mass- spektrlar bibliotekasida mavjud, lekin qandaydir sababga ko'ra izlovchi tizim uni taniy olmaydi;

- tanish uchun taqdim etilgan mass-spektrning sifati yomon;

- tanish uchun taqdim etilgan mass-spektr individual moddaning massspektri emas;

- ma'lumotlar bazasida saqlanayotgan mass-spektrning sifati yomon.

Mass-spektrlar bibliotekasida mass-spektrning uchramaslik holati ilgari o'rganilmagan yoki kam o'rganilgan ob'ektlarni o'rganishda tez-tez uchrab turadi. Bunday holatda qadamba-qadam qo'llaniladigan vositalar quvvatini oshirishdan foydalaniladi. Birinchi qadam sifatida mass-spektr bilan va fragmentlanishning ma'lum qonunlari asosida [32] pretsizion analiz bajariladi.

Ular asosida berilgan moddaning qaysi organik birikmalar sinfiga taalluqli ekanligini aniqlashga harakat qilinadi. Bu haqidagi qo'shimcha ma'lumotlar tekshiriladigan aralashmaning kam namunasi kolonkali xromatografiya usulida ajratish orqali olinadi.

1.4. Flavonoidlarni tuzilishini fizik-kimyoviy usullarda tahlil qilish

UB spektrlarni o'rganish molekuladagi atomlarning elektron holati haqida tasavvur hosil qilishga, ba'zi hollarda esa molekulaning strukturasi haqida qimmatli ma'lumotlar olishga yordam beradi.

Flovanoid molekulyar strukturasi haqida ultrabinafsha spektroskopiyasi ko'proq ma'lumot beradi. Bunda A va B halqalar ikkita asoiy hromofor bo'lib o'zaro uglerod halqaning oksidlanish darajasiga ko'ra flovanoidlarning spektrida ikkit yutilish chiziqlari namoyon bo'ladi. Ularning intensivligi va holati keng chegarada o'zgaradi. Bu chiziqlarning sharoiti 1 va 2 chi chiziqlar deb nomlanadi. B halqaga donor bo'lgan o'rinbosarlar kiritilganda ularni halqadagi n elektronlar bilan ta'sirini oshiradi, hamda birinchi chiziqni bataxrom siljishiga olib keladi. Bunday o'rinbosarlar A halqaga kiritilsa ularni zichligini oshirib ikkinchi chiziq maksimumini intensivligini ortishiga olib keladi. Birinchi va ikkinchi maksimumlari intensivliklari oldindan taxlil etishga imkoniyat beradi.

Flavonlarda chiziqlar intevsivligi o'zaro yaqin izoflavonlarda 1 r maksimumni tashkil etadi. Alkanlarda esa $1_r + 2_r$ malum darajada intensiv bo'ladi. 3 4 holatida o'rinbosarning mavjudligi 2_r da maksimum 2 ga bo'linishi yoki maksimum qovirg'alarni hosil qiladi. Agar B xalqada 4' xolatda 1 ta o'rinbosar bo'lsa 1 ta maksimum va boshqalar [14].

Flavonlarning 3,4,5 xolatlarida o'rinbosarlar bo'lsa yetarli darajada chiziqlarning olib keladi.

Masalan: agar 7-OH gurpani metillangan yoki glikazidlangan-da chiziq xolatlarining dearli o'zgartirmaydi. 3-OH xolatidagi guruxida bo'yicha emas 1_n

Siljishni 2-10 nm ga olib keladi. 5=OH gurpaning metillanish ikkala xolat chiziqlarni etalli darajada siljishga olib keladi. Xalkonlarda xromafor sistemalari quydagi strukturaga ega bo'ladi.

Shuning uchun 1_n maksimum intensiv $.1_n$ maksimum uchun 340-390 nm intensiv maksimum kuzatilib 300-320 nmlarga bo'linadi.

Izoflavonlarni B xalqa yadrosida kuchsiz karbonil gurux xisobiga shu sabab 1_n kuzatilmaydi yoki intevsivligi pas bo'ladi: atsetat natriy qo'shilganda 1_n gi maksimum 10 nm bataxrom siljiydi. Izoflavonlarning $AlCl_3$ bilan komplekslarida 5-OH gurpa borligi uchun 2 maksimum 10-14 nm siljiydi. Antasionlarda ko'rinadigan soxada yetarli darajada yutilish makimumi namoyon bo'ladi (500-550 nm). $AlCl_3$ qo'shilsa 10-15 nm ga bataxrom siljishga olib keladi. Auronlar

farqlanib 3yoki 4 maksimumlar gipsa yoki bata xrom siljish maksimumlar borligi tufayli strukturalari farqlanadi.

Flavon va flavonollarning metonaldagi spektrlarni yozish vaqtida A xalqaning oksidlanishida spektirda II maksimumni birdaniga o'zgarishi va I maksimumni intensivligi pasayib ketadi. B halqa bo'yicha oksidlanganda birinchi intensiv maksimum bataxrom siljishga olib keladi. I chi maksimumni holatiga ko'ra flavonlar flavanollardan farqlanadi. Flavonlarda I maksimum 301-350 nm soxada. Flavonollarda 352-385 nm 3 almashingan flavonollar 320-357 nm larda siljish bo'lib ya'ni I ma flavonlarda qisman qoplanib ketishi mumkin. Yuqorida ko'rsatilganday 3,5,7,3',4' xolatlarda flavanoid molekulalarida oksidlanib yuqoriroq bo'ladi [14].

UB spektroskopiyalarning deferensial metodlarni ishlatilishida yoki kompleks hosil qiluvchi reagentlar bilan birgalikda bir tomondan o'rinbosarlarning holatini aniqlash ularning nisbiy joylashishi molekulaning umumiy elektron xolati bilan har biri ifoda etiladi. Ikkinchi tomondan flavanoidlar hislatiga asosli xossalarni bilish malum bir muhim xususiyatlarni va kimyoviy harakterini va elektron tuzulishi haqida malumot beradi [38]. Ishqoriy reagentlar (metelat etilat natriy) flavon va flavononlarning ionlanish natijasida ajralish bo'lib ularning strukturasida 5,6,7-5,7,8-3,3',4' trioksi guralari va izoflavon, flavononlarda 3,4' dioksi, 3',4' dioksi guralarga ega bo'lib ikkala chiziqlarda ham gipsoxrom siljishdan namoyon etadi. Bu siljishlar sirtqi spektrlarida yoki aralashish maksimal to'lqin uzunliklarida bataxrom siljishlarga nisbatan olingandir. Masalan: 4'-OH guralari bo'lgan birikmalarda bataxrom siljish 45-65 nm ga ega bo'lib I_n maksimum intensivligi o'zgarmaydi. 3-OH gupasi erkin bo'lgan flavononlarda va 4' xolatlari band bo'lgan flavonollarda (OH emas) 45-60 nm metr bataxrom siljish aniqlanib I_n maksimum intensivligi kamayadi. 4'-OH gurasiga ega bo'lgan flavonollar odatda etilat natriy bilan ionlanib aniqlanmaydi. Chunki B xalqa C xalqaning karbonil gupasi bilan tasirlashmaydi lekin 1-OH gura o'rinbosariga almashinganida flavonollar xalkonlargacha izomerlanadi. Unda bir intensivlik 100-120 nm ga bataxrom siljish sodir bo'ladi.

4'-OH guruxi atsillanganda to'liq uzunligi uzoq soxa gipoxrom siljish bo'lib ammo atsil o'rinbosarning hammasi ham bunday siljishga olib kelavermaydi. Masalan: riogentli birikmalarda 4' holati bo'yich atsillangan oksikorichli kislotalarda atsil gurpalarda ko'pincha flavanoidlarning karbonil gurpasiga para oksi korichni kislota va kofein kislota qoldiqlari mavjud bo'lgan hollarda tasir etmaydi. Lekin bir entinsiv maksimum bo'yicha malum darajada bataxrom siljish ishqor riagentlar tasirida aniqlanadi [21]. Antasianidinlar mitilat natriy qo'shilganda barqaror birikmalar hosil qilib bir intensivlik 50-60 nmga bataxrom siljish kuzatiladi. Metanolda 465-550 nm, ikkinchi intensivlik 270-280 nm da. Antosianidinlarning metoksi va glikozidlari malum gipsoxrom siljish bilan farqlanadi. Bunda pelargonidin 3-glikozidlari

Sianidin delfinidinlar mosravishda 506-525 va 535 nm maksimumga ega bo'ladilar. 7,4',3 oksi gurpalari mavjud bo'lgan birikmalarga natriy atsetat qo'shiganida ionlanishga olib kelib mos xolda bataxrom siljish chiziqlar xosil qiladi: 3-4'-OH guruxi ionlanganda brinchi intensivlik bataxrom siljish ikkinchi holat intensivligini o'zgartirmaydi. 7-OH guruxi ionlanganda esa ikkinchi intensivlik 5-2-nmga bataxrom siljish hosil qiladi. 7-OH guruxi bo'lmagan yoki o'rinbosarga almashingan birikmalarda ikkinchi intensivlik holati o'zgarishi kuzatilmaydi. 7-OH guruxlari 6,8 kislarod tutgan o'rinbosarlar borligi ikkinchi intensivlik bataxrom siljishini kamaytiradi yoki umuman yo'qolib ketadi. Jigarang yoki qizil ranglarni paydo bo'lishi va birinchi intensivlikni bataxrom siljishi 50 nmgacha olib borilishi intensivlikni oshirib 4-OH guruxlari xalkonlarda va 6-OH guruxlari auronlarda borligini namoyon etadi. 4-OH bo'lgan flavon va flavanollarda erkin holda 3 va 7-OH guruxlari bo'lmasa odatda qo'shimcha to'liq uzunlik maksimumida beradi. 7-OH guruxlari o'rinbosarlarga almashingan holatda erkin holda 4' yoki 3,4'-OH guruxi bo'lishiga qaramasdan bironta ham bataxrom siljish kuzatilmaydi.

V.A. Izmailov nazariyasiga ko'ra 7-OH guruxining ionlanishi molekulaning hamma p elektronlarni qo'zg'algan holatga keltiradi va mos holda ikkala siljish kuzatiladi. Ishlarda 7-OH guruxning ionlangandagi ikkinchi intensivli

maksimumni bataxrom siljishi molekulaning benzol qismida elektron o'tishi bilan tushuntiriladi. Qurutilgan natriy atsetat (pH 8,3) bo'lganda birinchi maksimum siljishli 7-OH bo'lgan flavonlar 32-46 nmga flavonollarda 10-24 nmga flavonlarda 10-30 nmga xalkonlarda 10-15 nmga izaflavonlarda 10-13 nmga spektrning o'rta to'liqlik siljishga olib keladi. Flavonoidlar struktursidan dioksi gurpalar bo'lsa sirkoni oksil xlorid qo'shilganda UB nurlarida yorqin ranglar namoyon bo'ladi. Masalan bunda 3',4' dioksi gurpasi bo'lsa birinchi intensivli maksimum bataxrom siljish kuzatiladi. Agar limon kislota qo'shilganda bataxrom siljish yo'qolib ketsa 5-OH gurpasi borligini flavon, flavanon va izoflavononlarda ko'rsatadi. 2 yoki 6-OH gurpaning xalkonlarida 4-OH gurux auronlarda borligini ifodalaydi. Flavanollarda 3-OH gurpalari 5-OH gurpalarga o'xshab tasirlashadi. 3 va 5-OH gurpalari mavjud bo'lganda bataxrom siljish qo'shiladi 100 nmga yetadi.

4' Ramnozid, Izoramnetin farqli ravishda spektirda 88 nm bataxrom siljish limon kislota bo'lganda dastlabgi flavonoidning spirtidagi eritmasini spektrini qaytaradi. Sirkoni oksil xlorid o'rniga sirkoni nitrati ishlatish bular uchun taklif etiladi.

Ikkita yoki uchta gurpalar yonmayon joylashgan xolatlarda bor kislotasi natriy atsetat qo'shilganda kompleks hosil qilib aniqlanadi. Unda flavonoidlarning spektrilari bo'yicha intraksiyalarni ortishi birgalikda davom etadi. Strukturasida erkin xolda 3 va 5-OH guruxi bo'lmagan flavon va flavonollarda alyuminiy xlorid qo'shilganda kompleks hosil qilmaydi. Erkinxolda 3-5-OH guruxlari bo'lganda flavon, flavanol, izaflavon, flavononlar va 2 va 6-OH guruxi bo'lgan xalkonlar alyuminiy xlorid bilan bataxrom siljishlarni namoyon qiladi. 2-OH guruxlari 6-OH guruxidan farlanuvchi xalkonlar uchun alyuminiy xlorid natriy atsetat bilan kombinatsialanadi. 5-OH guruxi bo'lganlari alyuminiy xlorid bilan bo'lgan komplekslari birikmalarni rangni chuqurlashtirib bazida ikkala chiziqli bataxrom siljishni ikki barobarga yetkazadi. 3-OH gurux ham kompleks hosil qilib suyultirilgan xlorid kislota qo'shilganda barqaror bo'ladi. 3, 5 dioksi gurpasi bilan hosil bo'lgan kompleks xlorid kislota tasiriga turg'un bo'lib bataxrom siljish 50-60 nmga yetadi. Hamma boshqa yonmayon guruxlar Meritsitinning B xalqasida hudi

shunday kompleks hosil qilib bataxrom chiziqlarni ko'rsatadi. Quydagi qatorlarga kompleks barqarorligi kamayadi. 3-OH O=C>5-OH. O=C>5-OH gurpa flavanon > orta dioksi gurpalar > digidro flavonlar A va B xalqalarda bir vaqtning o'zida kompleks hosil qilib ikkala chiziqlarda bataxrom siljish kuzatiladi, intensivligi yuqori bo'ladi. Xalkon va Avronlarning B xalqasi o'rinbasariga almashgan bo'lsa birinchi intensivlik 28-36 nmga farqlanadi. A xalqasida orta dioksi gurasini bo'lsa siljish kichik (11-30 nm) ligi bilan xarakterlanadi. 3 glikozid bo'lganlari 440 nmga intensiv yutulish chiziqlarni namayon qiladi. Agar bu soxada kichik maksimum intensivlikga ega bo'lsa ugred fragmenti 5 yoki 3, 5 xolatlarida bor ekanligini bildiradi. 5-OH guruxi bo'lgan izoflavon steukturali ikkinchi intensivlik 10-16 siljish bo'yicha bataxrom siljish hosil bo'ladi. Flavanon va digidro flavonollarda alyuminiy xloridga xlorid kislotaga qo'shilishi natijasida 20-26 nmga bataxrom siljish hosil bo'ladi harqanday flavanoidlarning orta dioksi gurasini bataxrom siljishi kichigiligi bilan B xalqasidagi orta dioksi gurasida bo'lgan flavanoidlarda alyuminiy xlorid tasiridan (11-30 nm ga) farqlanadi. Alyuminiy xlorid ta'sirida 3 va 5-OH guruxi bo'lgan digidro flavonollarda ikkinchi intensiv 30-38 nmga bataxrom siljish hosil bo'ladi. 2-OH guruxi bo'lgan xalkonlar va erkin 4-OH guruxi bo'lgan avronlar birinchi intinsiv bataxrom siljish bo'yicha alyuminiy xlorid qo'shish bilan 48-60 nmga alyuminiy xlorid xlorid kislotaga bilan esa 60-70 nmga bataxrom siljish aniqlanadi. Auronlarning 4'-OH guruxi birinchi siljish bataxromi mos xolda 80-95 va 60-100 nmga farqlanadi. 6-OH guruxi bo'lgan auronlar 60-70 nmga siljiydi lekin 2'-OH yoki 4-alkagoy gurux 4'-OH xalkonlari borligi 40-50 nmga siljish namayon etadi.

Antosionidin va Artotsianlar uchun orta xolda dioksi guralari bo'lsa $AlCl_3$ ishtrokida birinchi intensivlik pH-2.4 bo'lganda 25-35 nmga bataxrom siljiydi. Bu qonuniyatlar 151 ta flavonoid birikmalarning metanoldagi $AlCl_3$ HCl ishtirokida UB spektirlarni analiz natijalarni beradi. Permetidagilar va perattsetatlarga diagnostik qo'shimchalar qo'shib bo'lmaydi. Chunki ionlanish va kompleks hosil bo'lishi mumkin penta atseton kersitin 300-252 flavon esa 297-250 nmga. Flavonoid sulfatlarini hudi shunday identifikatsiya qilish qiyin. Spektni UB

soxasida ularning gilikozydleri va metill efirlari bir-biridan kamfarq qiladi. Bundan tashqari metanoldagidan boshqa diognostik qo'shimchalar bilan ham namoyon bo'ladi.

Bir strukturada OCH_3 guruxlari katta darajada 1 intensivlik xolatini ifoda etib belgilanadi. Bir necha spektir chiziqlariga ega bo'lgan birikmalarning foydali konstantalari miqdori bo'lib to'lqin uzunligining uzun va qisqa va moliyar yutulishi kofisentining lagarifim qiymatlarning farqi huddi shu chiziqda xolatlarining farqini ifoda etadi. Bu miqdorlar identifikatsiya farqi deb ataladi.

$$F_i = (\Delta l_{\max x} - \Delta l_{\max}) (\Delta \lg E_{\max x} - \Delta \lg E_{\max ct}).$$

1.4.1.Flavanoidlarning optik spektroskopiyasi.

IQ-spektroskopiya

Flavonoidlarning IQ-spektrlari xaqidagi ma'lumotlar kuyidagi monografiyalar, ukuv kullanmalari va ilmiy makolalarda keng yoritilgan [12,30].

Tarkibida o`rinbosarlar tutmagan flavonning IQ-spektrida karbonil guruxi 1650 sm^{-1} sohada yutilish namoyon qiladi. Flavon yadrosining C-3 holatiga gidroksil guruxni kiritilishi $\text{C}=\text{O}$ ning valent tebranishlar chastotasini 1619 sm^{-1} sohagacha pasaytiradi. C-5 holatdagi gidroksil guruxi esa yutilish chastotasini 1655 sm^{-1} sohagacha oshiradi. Qo'sh bog'larning valent tebranishlari bir necha intensiv yutilish chiziqlari holida $1600\text{-}1470 \text{ sm}^{-1}$ sohada namoyon bo'ladi.

Flavonoid benzol halqalarining skelet tebranishlariga 1600 va 1500 sm^{-1} sohadagi ikkita asosiy yutilish chiziqlari kiradi. $1580\text{-}1550 \text{ sm}^{-1}$ sohada bitta yoki ikkita yutilish chiziqlari namoyon bo'ladi. Flavonlarda bu yutilish chiziqlari kichik chastotalar tomoniga siljigan bo'ladi. Karbonil guruxini C-5 sohadagi gidroksil bilan ichki molekulyar bog'i hosil qilgan xollarda 1580 sm^{-1} sohadagi yutilish chizig'i kuzatilmaydi.

Fenol OH-guruxlar $3500\text{-}3600 \text{ sm}^{-1}$ intervalda yutiladi. Fenol glikozydleridagi gidroksil guruxlar ko'pincha molekulalararo va ichki molekulyar vodorod bog'lari bilan assotsiyalangani tufayli to'lqinlarning kichikroq chastotalarida kuzatiladi.

Qand komponentini xarakterlovchi bir qator yutilish chiziqlari $840-890\text{ sm}^{-1}$, $1000-1100\text{ sm}^{-1}$ sohada namoyon bo`ladi. [11,15]

UB-spektroskopiya

Flavonoidlarning UF-spektrlari xaqidagi ma`lumotlar quyidagi monografiyalar, o`quv qo`llanmalari va ilmiy maqolalarda keng yoritilgan.

Ko`p flavonoidlarning UB-spektrlarida ikkita yutilish maksimumi mavjud bo`lib ulardan biri $240-285\text{ nm}$ intervalda (II tur yutilish maksimumi) , boshqasi $300-400\text{ nm}$ sohada (I tur yutilish maksimumi) namoyon bo`ladi.

Flavonlar va flavonollarning spektrlaridagi uzun to`lqinli chiziqlar tegishli ravishda $304-350$ va $352-385\text{ nm}$ intervallarda joylashgan. Ushbu yutilish chiziqlarining holatiga qarab flavonoid tipini aniqlash mumkin.

Oksidlanish darajasi yuqoriroq bo`lgan flavonoidlar oksidlanish darajasi pastroq flavonoidlarga nisbatan UB-nurlarni uzunroq to`lqinli sohada yutadi. Buni quyida keltirilgan ma`lumotlardan kuzatish mumkin.

1.4.1-jadval:Flavonoidlar oksidlanish darajasining UB-spektrlaridagi yutilish chiziqlariga ta`siri

Flavonlarning oksidlanish darajalari	II tur yutilish maksimumi
3,5,7 trigidroksiflavon	$359\text{ }\lambda\text{ max , nm}$
3,5,7,4` tetragidroksiflavon	$367\text{ }\lambda\text{ max , nm}$
3,5,7,3`,4` pentagidroksiflavon	$370\text{ }\lambda\text{ max , nm}$
3,5,7,3`,4`,5` geksagidroksiflavon	$374\text{ }\lambda\text{ max , nm}$

3`,4` – digidroksiflavonlarning spektrlarida I tur yutilish maksimumi sohasida ikkita maksimum yoki asosiy cho`qqi va yelka mavjud bo`ladi, 4`-gidroksiflavonlar spektrlarida esa faqatgina bitta maksimum bo`ladi.

I tur yutilish maksimumining holatiga A halqaning oksidlanish darajasi katta ta`sir ko`rsatadi, buni quyidagi ma`lumotlardan bilish mumkin:

1.4.2-jadval:Flavonlar A halqasi oksidlanish darajasining
I tur yutilish maksimumlariga ta'siri.

A halqaning oksidlanish darajasi	I tur yutilish maksimumlari
Flavon	250 λ max , nm
7-digidroksiflavon	252 λ max , nm
5,7-digidroksiflavon	268 λ max , nm
5,6,7-trigidroksiflavon	274 λ max , nm
5,7,8-trigidroksiflavon	281 λ max , nm

Flavon yadrosining 3', 5 va 4' holatlarida gidroksil guruxlarni metillash va glikozillash yutilish maksimumining gipsoxromli siljishiga olib keladi [12,37,42]. Bu siljishning kattaligi 4'-OH guruxidagi vodorodning o'rin almashinishda 3-10 nm ni (I tur yutilish maksimumi), 5-OH o'rin almashinishida 5-15 nm ni (I tur yutilish maksimumi va II tur yutilish maksimumi) va 3-OH o'rin almashinishida 12-17 nm ni tashkil etadi. Boshqa holatlardagi OH-guruxlar vodorodlarining o'rin almashinishi UB - spektrga katta ta'sir qilmaydi.

1.4.3-jadval:Flavonoidlar asosiy sinflarining UB-spektrlaridagi
I va II tur yutilish maksimumlari qiymati

Flavonoid sinfi	II tur (nm)	I tur (nm)
Flavonlar	250-280	310-350
Flavanollar (3-O-o'rin almashgan)	250-280	330-360
Erkin 3-OH gurux tutgan flavonlar	250-280	350-385
Izoflavonlar	245-275	310-330 (yelka)
Flavanonlar va digidroflavanonlar	275-295	300-390 (yelka)

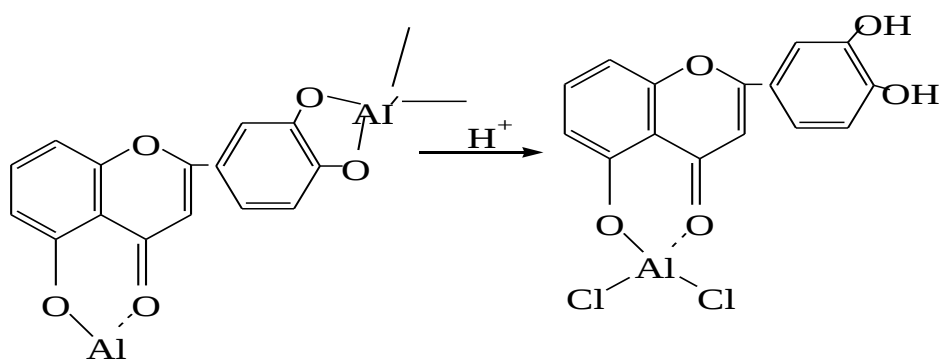
Xalkonlar	230-270 (kam intensiv)	340-390
Auronlar	230-270	380-430
Antotsianidinlar antotsianinlar	va 270-280	465-560

Flavonoid molekulasidagi gidroksil guruxlar holatini aniqlash uchun flavonoidning xromofor sistemasiga taʼsir qiluvchi turli diagnostik reagentlar keng qoʻllanadi. Flavonoidlarning gidroksil guruxlari natriy metilat yoki natriy etilat taʼsirida ionlashadi.

Flavon va flavonollarda yukorida kursatilgan reagentlar taʼsirida C-4ʼda erkin gidroksil guruxi boʻlganda intensivlik kamaymagan holda I tur yutilish maksimumini 40-65 nm ga bataxromli siljishi kuzatiladi. Agar flavonolda C-4ʼ da gidroksillanish mavjud boʻlmasa, u holda C-3 dagi gidroksil gurux I tur yutilish maksimumini 50-60 nm ga bataxromli siljishini keltirib chiqaradi, lekin bunda intensivlik kamayadi, 3ʼ,4ʼ – holatlarda gidroksil guruxlarni tutgan flavonollar natriy metilat ishtirokida oksidlanadi va vaqt oʻtishi bilan intensivligi kamayuvchi yutilish maksimumlari boʻlgan spektrlarni beradi.

C-7 da gidroksil tutgan flavon va flavonollar II tur yutilish maksimumi 5-20 nm ga bataxromli siljishni yuzaga keltiradi. Ishqorlarga sezgir boʻlgan 5,6,7-5,7,8- va 3,3ʼ,4ʼ- holatlardagi gidroksil guruxlarni mavjud boʻlishi vaqt oʻtishi bilan yutilish maksimumlarini yoʻqolishga olib keladi.

Natriy atsetat va borat kislotaning aralashmasi flavon yadrosining C-5,6- holatidan tashqari hamma holatlaridagi orto-digidroksiguruxlarni aniqlashga imkon beradi. V halqada koʻrsatilgan guruxlarni tutgan flavon va flavonollar 12-30 nm ga bataxromli siljishni yuzaga keltiradi. Alyuminiy xlorid bilan C-3 yoki C-5 gidroksil guruxlarni tutgan flavonlar va flavonollar kislotalarga chidamli boʻlgan komplekslarni hosil qiladi. Kislotali muhitda orto-dioksiguruxlanish tomonidan hosil boʻlgan komplekslar parchalanadi.



5-Oksiflavonlar UB-spektri I-tur yutilish maksimumi bataxromli siljishga ta'sir etuvchi omillar

5-Oksiflavonlarga $\text{AlCl}_3\text{-HCl}$ ni qo'shilganda birinchi polosaning bataxromli siljishi 35-55 nm ni tashkil etadi. Faqatgina 17-20 nm ga siljish S-6 da gidroksil yoki metoksil borligini bildiradi [20]. Flavonollar $\text{AlCl}_3\text{-HCl}$ ishtirokida polosa I ni 50-60 nm ga bataxromli siljishni keltirib chikaradi. AlCl_3 urniga Zn_2OCl_2 va limon kislotaning ko'llash orqali 5- oksiguruxlanish bo'lganda xam 3-oksiguruxlanishni mavjudligini aniqlash mumkin [32]. Yon fenil radikalida dioksiguruxlanishni mavjudligi AlCl_3 ishtirokida 30-40 nm ga bataxromli siljishni keltirib chikaradi. C-6 da prenil gurux tutgan bir qator flavonoidlarning spektrlarini o'rganilganda shu narsa aniqlandiki, C-5 da erkin OH-guruxni mavjudligiga qaramay ularning UB-spektrlarida AlCl_3 bilan bataxromli siljish kuzatilmadi. Mualliflar bu fakti sterik faktor, ya'ni gidroksil guruxga nisbatan orto-holatda hajmi katta o'rinbosarning borligi hisobiga kompleks hosil bo'lishning qiyinlashuvi bilan izohlanganlar.[13,31]

1.4.2.Flavanoidlarning YaMR spektroskopiyasi.

Yuqori informativligi, tahlilning tezligi, moddalarni deyarli destruktivsiz spektrlarini olish va analiz uchun moddani oz miqdorda kerak bo'lishi tadqiqotning fizik usullarini boshqa usullardan ustun qo'yadi.

Flavanoidlarning tuzilishini fizik usullarda o'rganish xususidagi ma'lumotlar bir qator monografiya va maqolalarda bayon etilgan.

Shu sohada oxirgi o'n yilliklar ichida erishilgan muvaffaqiyatlar tadqiqotning yangi samarali usullari paydo bo'lishi bilan bog'liqdir. IQ -, UB-, YAMR- ^1H , ^{13}C ,

mass-spektroskopiyalarini keng qo'llanilgani sababli flavonoidlarni biogenezi va strukturasiga oid muhim savollarga javob topildi.

1.4.3. Flavonoidlarning Mass-spektroskopiyasi.

Laboratoriyalarning zamonaviy asbob-uskunalar bilan jihozlanishi xromatomass-spektrometrik usulni o'simlik moddalarning sifat va miqdor jihatda analiz qilib, ularning sifatini atroflicha baholash imkoniyatini yaratdi [11]. Shuning uchun turli o'simliklar vegetativ va generativ organlaridan olingan namunalarning yengil uchuvchan birikmalarini [56], muvozanatda bo'lgan komponentalarini [38], turli eruvchilardagi ekstraktlarini aniqlash ishlari bajarilgan jumladan [39] da dorivor moychechak (*Chamomilla recutita* R) ning tarkibi gaz xromatografiyasi usulida o'rganilgan. Xromatografik tekshirishlar detektor bilan jihozlangan mass-selektiv Agilent 7890 GC asbobida olib borilgan. Ajratish kolonkasi o'lchami 30 m X 0,25 mm bo'lgan kvarts kapillyar shisha bo'lib, u HP- BMS turg'un fazasi bilan to'ldirilgan. Ajratish jarayoni 5 minut davomida 40 °C da izotermik rejimda, keyin esa 2 °C larni tezlik bilan 80 °C gacha va 7 °C larni tezlik bilan 150 °C gacha qizdirilgan. 150 °C da 5 minut davomida saqlanib, yana 10 °C larni tezlik bilan 250 °C gacha qizdirilgan. Bug'latgich temperaturasi 220 °C –xom ashyoning muvozanatdagi bug' fazasi analiz qilinganda, 270 °C qattiq fazali mikroekstrakt qo'llanilganda, ionmanbaining 25 temperaturasi 230 °C; kvadrupol temperaturasi 150 °C; o'tish liniyasining temperaturasi 280 °C. Gaz tashuvchi sifatida geliy ishlatilgan. Uning oqimi 1 ml/min; namunani kiritish rejimi Split 1:10; gaz holdagi namuna xajmi 1 sm³. Komponentlar identifikatsiyasi WILEYB va NISTOB mass spektrlar bankidan foydalanib bajarilgan. Spektrlarni qayd etish oralig'i 29 -500 m/z. Olingan natijalar asosida muvozanatdagi bug' fazani analiz qilish dorivor moychechak tarkibini aniqlashda ko'p ma'lumot berishi ko'rsatilgan.

Ozorboyjanda o'sadigan NEPETA MEYRI o'simligi efir moylarini o'rganish ishlari Hewlett Packard 5973-6890 GX-MS spektrometrida quyidagi sharoitda amalga oshirilgan; O'lchami 30 m X 0,25 mm bo'lgan kvars kapillyar kolonka, kolonka termostati temperaturasi 5 minut davomida 40 °C keyin esa 4 °C larni

tezlik bilan 280 °C gacha. Efir moyining yuboriladigan hajmi 0,1 ml; Oqimni bo'lish 1:50; gaz-nositel-geliy 32 sm/s chiziqli tezlik bilan [31].

1.5. Xromotamass spektroskopiyasi haqida tushuncha.

Bugungi kunda xromato-mass-spektrometriya (GX-MS) organik massspektrometriyada keng qo'llaniladigan fizika-kimyoviy tadqiqot usullaridan biri bo'lib qolmoqda. XX-asrning 90-yillaridan boshlab esa yuqori samarali suyuqlik xromato-mass-spektrometrning kombinatsiyasidan iborat sistema yetakchilik qilmoqda [9,11,15,18,27].

Gaz xromatografi va mass-spektrometrning kombinatsiyasi mutlaq mantiqiy bo'lib, ikkala usulda ham organik birikmalar aralashmasining tahlil gaz fazasida olib boriladi. Mazkur usullar deyarli bir xil sezgirlikga ega. Bu usullarni bir yagona asbobda yoki sistemaga birlashtirishga to'sqinlik qiladigan yagona omil, bu ularning ishlash sharoiti yani bosim omilidir. Gaz xromatografiyasida tahlillar atmosfera bosimida olib borilsa mass-spektrometr esa chuqur vakuum sharoitida ishlaydi. Mazkur usullar yagona sistemaga uyg'unlashtirishning asosiy prinsiplari 1957 yili [9] hayotga tadbiiq etilgan edi. Vakuum sistemalarining kuchsiz quvvati, xromatografik kolonkalar va harakatlantiruvchi gaz fazasi oqimi bilan bog'liq bo'lgan dastlabki muammolar turli turdagi separatorlarni o'rnatish orqali [11] bartaraf etildi. Mazkur uskunalar xromatografik kolonkaning chiqishi va spektrining ionli manbasi oralig'ida joylashtirilib, tahlil qilinadigan namunani boyitishga mo'ljallangan. Kuchli quvvatli sistemalarning hamda kapillyar kolonkalarining (0,5-2ml/min gazoqimida ishlaydigan) paydo bo'lishi xromatografik kolonkalar uchini mass-spektrometrning ion manbasiga bevosita ulashga imkon tug'diradi. Mazkur tadbirlar GX-MS sistemasi effektivligini yanada oshirishga olib keladi. GX-MS usulida namuna 1 atm bosimda 250-300 °C temperaturada ishlaydigan xromatografik kolonka orqali o'tadi. Mazkur sistemadan foydalanishning o'ziga xos qiyinchiliklari ham mavjud [15,16]. Ta'kidlash joizki, GX-MS usuli birinchi navbatda organik birikmalar aralashmasini tahlil qilishga qaratilgan, ya'ni moddalar aralashmasi oldin

xromatografik kolonkada alohida komponentlarga ajratiladi, so'ng mass-spektrometrining ion manbasida ionlashtiriladi. Har bir komponent massasi bo'yicha muayyan chastotali spektr olinadi. Xromatografik cho'qqining yuksalish va pasayish yo'nalishi bo'ylab mass-spektrlar olinadi. Albatta eng aniq spektr xromatogrammaning cho'qqisida (nuqtasida) olingan spektr bo'ladi, chunki cho'qqisida modda konsentratsiyasi maksimumda va uning vaqtga bog'liq o'zgarishi minimum darajada bo'ladi. Tahlil aniqligini oshirish uchun har bir komponent bo'yicha 5-10 ta spektr olish maqsadga muvofiqdir. Spektr sifatida oshirish uchun fonni yo'qotish yoki o'rtacha qiymatlar darajasiga erishish kerak. Xromatogrammaning cho'qqisida olingan spektr bilan qiyoslanib, farqi ajratiladi. Mazkur jarayonlarni kompyuter amalga oshiradi va amaliy spektrni fondan filtrlaydi hamda yakuniy spektrni olishga imkon beradi. Miqdoriy tahlilni o'tkazishda spektr olish tezligi muhim ahamiyat kasb etadi. Spektrlarni etarli sonda, talab darajasida olmaslik xromatografik cho'qqi maydonini hisoblashdagi noaniqliklarga olib keladi. Zamonaviy xromato -mass-spektrlar 0,1-0,5 s da spektr olish imkoniyatiga ega bo'lib, xromatogrammadagi cho'qqining kengligi (eni) bilan qoniqarli ifodalanadi. Xromato -mass spektrometrik tahlil o'rtacha 30min davom etadi. Kompyuter xotirasida 6000 spektr 0,3 s tezlikda tahlil qilinadi. Bu esa aniq tahlil natijalariga erishish uchun kuchli kompyutersiz bo'lmasligini ko'rsatmoqda. Bugungi kunda katta tezlikda ishlay oladigan "Rapid GS-MS" sistemali xromato-mass-spektrometrlar yaratilgan. Ta'kidlash joizki, xromato-mass-spektrometrik informatsiyaga yana bir muhim parametr ushlanish vaqtini qo'shdi. Aynan mazkur parametr, ya'ni ushlanish vaqtiga asosan organik birikmalar izomerlarini sifat va miqdor tahlil qilish imkoniyati kengaydi. Ma'lumki izomerlarning mass-spektrlaridan ularni farqlash mumkin emas. Xromato-mass-spektrometriya usulida moddalarning ultramikro komponentlarini ham boshqa moddalarning yuqori konsentrasiyalari fonida ham qayd etish imkoniyatiga ega. Buning uchun kerakli ionlarning monitoringi olib boriladi. Yuqori polyar, termolabel va qiyin uchuvchi moddalar aralashmasini tahlil qilish uchun oldin yuzaga keladigan muammolarni bartaraf etish talab etiladi. Buning uchun reaksiya

xromato-mass-spektrometriya usuli qo'llaniladi. Mazkur usulda xromatografik kolonka oldidan yoki kolonka va mass-spektrometr oralig'ida (o'rtasida) reaksion kamera o'rnatiladi kamerada tahlil qilinadigan polyar, termolabil birikmalar o'zgarishga, ya'ni boshqa holatga aylantiriladi (bu jarayonga "derivatizatsiya" deb aytiladi.) Namunani aniqlash jarayoni, ya'ni derivatizatsiya ajratish va tahlil qilish "online" rejimida o'tkaziladi. Reaksion xromato-mass-spektrometriya usuli aralashmalar komponentlarini ajratishni ijobiylashtirishda hamda struktur tahlillar o'tkazishda ishlatilmoqda. Masalan, reaksion kamerada alkenlarni deyteriylashtirish molekulada qo'shbog'lar holatini o'rnatishga, aniqlashga imkon bermoqda [27]. Xromato-mass-spektrometriya usulida komponentlarni identifikatsiyalashda kolonkadan chiqqan modda yonib turgan vodorod alangasiga kelib tushmaydi, standart energiyaga (70 ev) ga ega bo'lgan elektronlar oqimiga yo'naltiriladi. Lekin gaz aralashmasi mass-detektorga yuborilishidan oldin aralashmadagi gaz-tashuvchi ajratiladi va namuna ikki bosqichdan iborat o'zora bog'langan molekulyar ajratgichga (separatorga) yuboriladi. Har qaysi bosqich vakuumli kamera va ikki naychadan iborat. Separatorada engil gaz sifatida gaz-tutuvchi molekulalari tortib olinadi, shu vaqtning o'zida tekshiriladigan namuna og'ir 23 molekulalar sifatida separatorada qoladi. Mass –spektrometrda kelib tushgannamuna molekulalari elektronli bilan bombardirovkaga uchraydi. Bundamolekula bitta elektronini yo'qotadi. Agar bombardirovka qilinayotgan elektronlar energiyasi ionlanish energiyasidan katta bo'lsa, u holda hosil bo'ladigan musbat zaryatli ion qoldiq energiyaga ega bo'ladi. Bu energiya molekulyar ionni parchalanishini keltirib chiqaradi. Parchalanish turli yo'nalishlarda boradi va ionli manbaada turli massadagi har xil ionlar hosil bo'ladi. Ularning zaryadi va miqdori standart sharoitlarda har qaysi modda uchun o'zgarmas va ulkandir. Terpenoidlar elektronli urishlar ta'sirida fragmentlanishga uchraydi. Bu asosan ionlarning massa soni (m/z) bo'yicha bir xil bo'lgan nisbiy ravshanlik (Inisb) bilan xarakterlanuvchi cho'qqilar hosil bo'lishiga olib keladi. Mass-spektrlarda monoterpenlarning bunday joylashishi ionlar molekulyar cho'qqilarida zaryad joylashuvi o'rnining yo'qigi bilan bog'liq. Bu sikldagi qo'sh

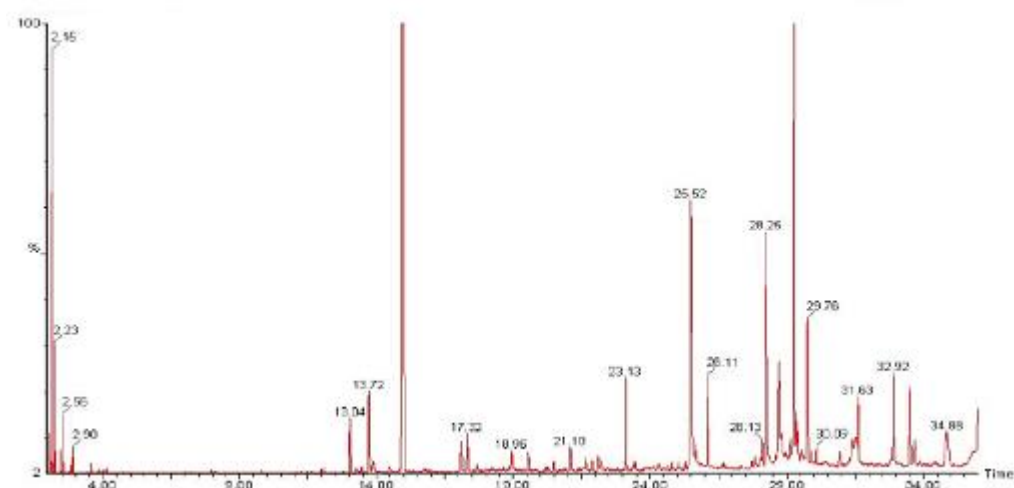
bo'g'ning energetik qo'llay joylashuvi bilan izohlanadi va fragmentlanadigan strukturaning o'rtachalanishiga olib keladi. Boshqa farazlarga ko'ra monoterpenlar izomerlaridagi parchalangan asosiy ionlar ravshanligidagi farq molekular dastlabki uglevodorod tuzilishida qayta qurilish bo'lishi bilan bo'g'liq. Buo'zgarishlar ma'lum energetik sarflarni talab qiladi va stereoizomerlar uchun yashash vaqtiga qaraganda ko'p vaqtda borishi mumkin [15-18]. Elektronli ionlanish mass-spektrlari ma'lumotlar bazasi (NIST, WELEY-275) foydalanib, aniqlanadigan komponentlarni yuqori aniqlikda identifikatsiyalash mumkin. Olinadigan mass-spektrning sifati massalar intervalini skanerlash vaqtining davomiyligiga bo'g'liq. Shuning uchun ham xromato-mass analiz uchun qo'llaniladigan asboblarda tez skanirlash qobiliyatiga ega bo'lishi kerak. Bunday asboblarda yordamida birikmalarning ishonchli mass-spektrlari olinadi. Bunday talabga efir moylari analizi uchun keng qo'llaniladigan kvadrupolli mass-spektrometrlar javob beradi. Terpenoidlarning termik barqarorligi xromato-mass spektrom mass-spektrometr qismiga alohida talablarni qo'yadi. Xususan xromatograf va ionli manba o'rtasidagi o'tuvchi liniya inert bo'lishligi talab etiladi. Interfeys orqali ionli manbaaga kiritilgan kvartslar kapillyar kolonka bu masalani asosan yechadi [9]. Shunday qilib, yuqorida keltirilganlar asosida qayd etish mumkinki, efir moylari analizida asosiy usul xromato-mass-spektrometriya gibriddir - gazsuyuqlik xromatografiyasining mass-spektrometrik deteksiyasidir. Ionlanish usulining eng maqbuli sifatida analiz qilinayotgan komponentlar strukturasini ishonchli xarakterlovchi parchalanishdan hosil bo'lgan ionlar xarakteri buyicha imkoniyat beradigan elektronli urishdir. Shuning uchun bunday yondashuv kam o'rganilgan efir moylari tarkibini o'rganishda muhimdir.

1.6. Ayrim o'simliklarni fizik-kimyoviy analiz natijalari, va flavanoidlarning miqdoriy analizi.

***Ocimum basilicum* (Rayxon) efir moyining GX-MS analizi**

Rayxondan ajratib olingan efir moyining sifat va miqdoriy tarkibi GX-MS usulida o'rganildi. Uning xromatogrammasi 1.6.1 rasmda keltirilgan.

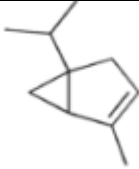
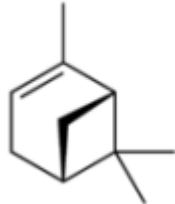
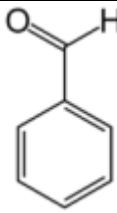
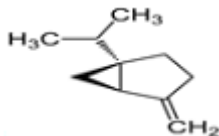
1.6.1-rasm.Uy rayxonidan ajratib olingan efir moyining xromotogrammasi.



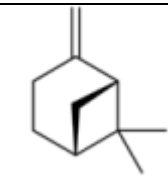
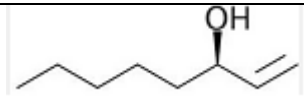
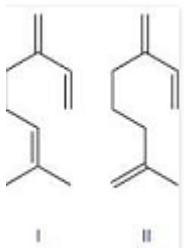
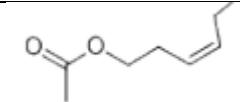
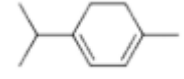
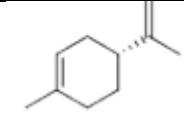
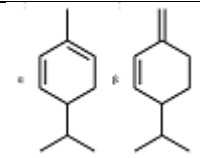
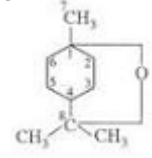
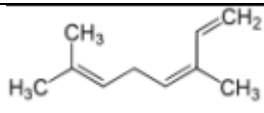
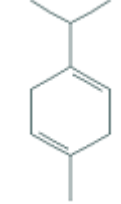
Uy rayxonidan ajratib olingan efir moyining sifat va miqdoriy tarkibi 1.6.1-jadvalda keltirilgan

1.6.1-jadval

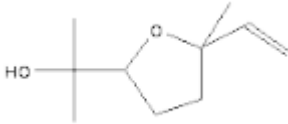
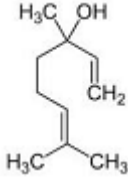
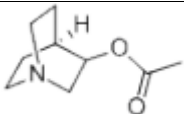
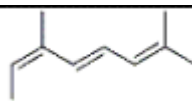
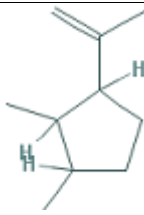
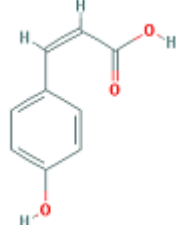
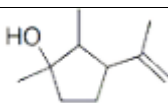
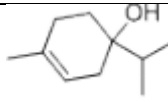
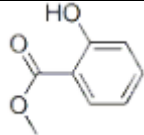
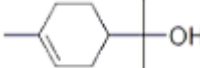
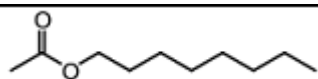
Uy rayxonidan ajratib olingan efir moyining sifat va miqdoriy tarkibi

	Ulanish vaqti	Nomi	Formulasi	Nisbiy miqdori %
1	8.50	α - thujen		0.002
2	8.77	α - pinen		0.004
3	9.97	Benzaldegid		0.007
4	10.27	Sabinen		0.010

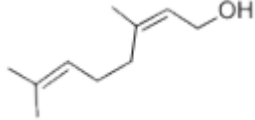
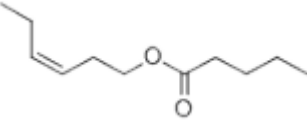
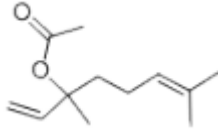
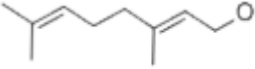
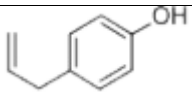
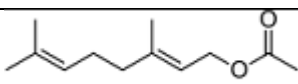
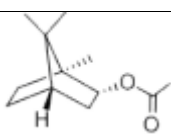
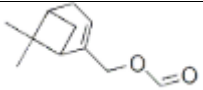
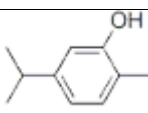
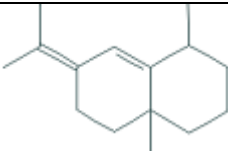
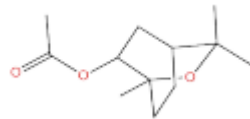
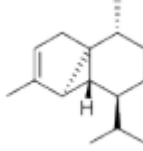
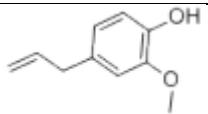
1.6.1-jadval davomi.

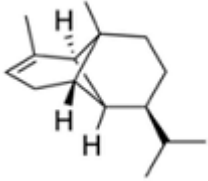
5	10.42	β - pinen		0.003
6	10.66	Octen-3-ol		0.004
7	10.92	Myrcen		0.013
8	11.52	Cis-3-hexenyl acetat		0.002
9	11.87	α - terpinen		0.003
10	12.29	Limonen		0.002
11	12.36	β - phellandren		0.003
12	12.44	Eucalyptol		0.010
13	12.94	Trans- β -ocimen		0.006
14	13.33	Gamma-terpinen		0.13

1.6.1-jadval davomi.

16	14.32	Trans-linalool oxid		0.030
17	14.60	n-octanol		0.355
18	15.55	Linalool		0.012
19	15.69	octan-3-yl acetat		0.720
20	15.92	neo-allo-ocimen		0.013
21	15.97	cyclopentanal-1,2-dimethyl-3(1-methylethenyl)		0.055
22	16.31	cis-menth-2-en-1-ol		0.033
23	16.44	Plinol		0.022
24	17.43	terpinen-4-ol		2.352
25	17.73	Methyl salicylat		0.019
26	17.88	α - terpineol		0.022
27	18.26	n-octyl acetat		0.007

1.6.1-jadval davomi

28	18.69	Nerol		0.034
29	18.82	Cis-3-hexenyl valerat		0.027
30	19.36	Linalyl acetat		0.194
31	19.43	Geraniol		0.070
32	19.66	Chavicol		0.224
33	20.31	Geranyl acetat		69.84
34	20.37	Bornyl acetat		0.095
35	20.68	Myrtenyl format		0.03
36	20.90	Carvacrol		0.043
37	21.69	bicycloelemen		0.032
38	21.86	Exo-2-hydroxycineol acetat		0.018
39	22.09	α -cubeben		0.120
40	22.37	Eugenol		0.126

41	22.89	α -copaen		0.028
----	-------	------------------	--	-------

Jadvaldagi ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, uy rayxonidan ajratib olingan efir moyining asosiy tarkibidan 41 modda aniqlangan bo'lib, ulardan geranil atsetat qariyb 70,0 % ni tashkil etadi. Terpinen-4-ol miqdori 2,35 % atrofida bo'lib, miqdori 0,1 % dan yuqori bo'lgan birikmalar jumlasiga oktan-il-atsetat (0,72 %), n-oktanol (0,355 %), chavikol (0,224 %), linalil atsetat (0,194 %), -perpenin (0,130 %), eugenol (0,126 %), -cubeben (0,120 %) kabi moddalar kiradi. Qolgan moddalarning efir moyidagi miqdori 0,1 % dan kam.

Flavanoidlarni miqdoriy analizi.

Flavanoidlar- katta ilmiy-amaliy ahamiyatga ega bo'lgan, o'simlik organizmida keng tarqalgan fiziologik faol moddalar. Flavanoidlar tuzilishini o'rganish xemotaksonomiya bilan bog'liq masalalarni hal qilish va yangi fiziologik faol moddalarni izlab topish uchun muhim xisoblanadi.

Flavanoidlar toza holda ajratib olingach, uning fizik-kimyoviy konstantalari (erish harorati, eruvchanligi, IaIA qiymati va boshqalar) aniqlanadi. Flavanoidning kimyoviy tuzilishini o'rganish uning molekulyar formulasini aniqlashdan boshlanadi. Moddaning molekulyar formulasini aniqlashning bir necha xil usullari mavjud bo'lib, hozirgi paytda eng qulay, kam modda va vaqt talab etiladigan mass-spektroskopiya usulidan keng foydalaniladi.

Flavanoidning tuzilishi haqida spektroskopiya (IK, UB, YaMR, mass) usullari ko'rsatgan ma'lumotlarni tasdiqlash va moddani strukturasi ma'lum bo'lgan flavonoidlar bilan solishtirish uchun kimyoviy reaksiyalardan foydalaniladi. Ushbu kimyoviy reaksiyalardan kislotali va ishqoriy sharoitda gidroliz qilish, metillash, ishqoriy sharoitda parchalash, fermentlar ishtirokida gidrolizlash, atsillash, oksidlash odatda keng miqyosda ishlatiladi [28,29,31.].

Flavonoid-O-glikozidlarni kislotali sharoitda gidroliz qilinganda ular aglikon hamda monosaxaridlarga parchalanadi. Flavonoid-O-glikozidlarning gidrolizlanish tezligi kislotali kontsentratsiyasidan tashqari uglevod qismining tabiatiga va uning flavonoid yadrosiga birikkan joyiga bog'liq. Masalan, flavanoid-7-O-glikozidlar 4-O-glikozidlarga nisbatan, keyingisi esa 3-O-glikozidlarga nisbatan qiyinroq gidrolizga uchraydi. Odatda flavanoid -O-glikozidlar xlorid yoki sulfat kislotali 2-5% li eritmalar bilan gidroliz qilinadi.

Flavanoid-C-glikozidlar va ba'zi flavanoid-O-glyukuronidlar bunday sharoitda gidrolizga uchramasligi mumkin. Gidroliz mahsuloti vakuumda qisman quyultirilganda aglikon cho'kmaga tushishi mumkin, aks holda u etilatsetat bilan ekstraktsiya qilib olinadi. Gidroliz natijasida hosil bo'lgan monosaxaridlar qog'oz yoki yupqa qatlamli xromatografiya hamda gaz-suyuqlik xromatografiyasi usulida aniqlanadi. Agar flavanoid glikozidning aglikon qismi yuqori harorat ta'sirida parchalanib ketadigan bo'lsa, fermentativ gidroliz usulida foydalaniladi. Fermentativ gidroliz polisaxarid qoldig'ining flavanoid (aglikon) bilan bog'lanish tabiatini, ya'ni glikozid bog'i mavjudligini aniqlash imkonini beradi.

Flavonoid-O-glikozidlarni gidroliz qilish uchun glyukozidaza (yoki emulsin), galaktozidaza, glyukuronidaza, pektinaza, ramnodiastaza, naringinaza va boshqa fermentlar ishlatiladi. Atsillangan glikozidlar va C-glikozidlar, fermentlar ishtirokida gidrolizga uchramaydi

Flavanoid-O-glikozidlar ishqoriy sharoitda oson oksidlanishi va parchalanish tufayli bu usulda gidroliz qilish kamdan-kam qo'llaniladi. Flavanoid yadrosining 7-va 4-holatidagi gidroksil guruhlar hisobiga hosil bo'lgan O-glikozidlar ishqoriy sharoitda nisbatan tez gidrolizga uchraydi. Odatda, flavanoidning oksidlanib parchalanishini bartaraf etish uchun ishqoriy gidroliz azot atmosferasida amalga oshiriladi. Atsillangan flavanoid -O-glikozidlar kuchsiz ishqor eritmasi ta'sirida past haroratda ham gidrolizga uchraydi

Flavanoidlar va ularning glikozidlari tarkibidagi fenol va spirt gidroksil guruhlarini atsillash orqali aniqlash mumkin. Buning uchun flavanoid kam miqdordagi piridinda eritiladi va sirka angidridi bilan aralashtiriladi. Ajralib

chiqqan peratsetat filtrlab olinadi, so'ngra suv bilan yuviladi va qayta kristallanib tozalanadi.

Flavanoid-O-glikozid molekulasida uglevod qoldig'i birikkan joyni aniqlash, turli flavanoidlardan bir hil O-metilxosilalar olish orqali ularning kimyoviy tuzilishini belgilash hamda ayrim reaksiyalarni amalga oshirishdan avval fenol gidroksil guruhlarini himoyalash uchun permetillash reaksiyasi o'tkaziladi. Bunda barcha fenol va spirt gidroksil guruhleri to'la metillanadi. Flavanoidlarning permetilatleri ularning mass-spektrlarini o'rganish uchun qulay bo'lgan moddalardir. Flavanoidlar va ularning glikozidlarini to'la metillash metil yodid va natriy gidrid ishtirokida amalga oshiriladi. Reaksiya azot atmosferasida olib boriladi, erituvchi sifatida esa dimetilformamiddan foydalaniladi. Hosil bo'lgan permetilat xloroformda yaxshi eriydi.[27,30]

Flavanoid yadrosidagi fenol gidroksil guruhlarini metillash uchun diazometan ishlatiladi. Bu usul bilan metillanganda kislotali xususiyati kuchliroq bo'lgan fenol gidroksil guruhlar (7-OH) eng oson metillanadi.

Qayta-qayta metillash orqali 3- va 4- holatlardagi gidroksil guruhlarini ham metillash mumkin. Flavanoid yadrosining 5- holatidagi xelat gidroksil guruh karbonil guruh bilan kuchli vodorod bog'i hosil qilganligi tufayli diazometan ta'sirida metil efir hosil qilmaydi. Ushbu usulda metillash uchun flavanoidning suvsiz metanol yoki xloroformdagi eritmasi diazometanning efirli eritmasi bilan aralashtiriladi.

Diazometan bilan metillash natijasida 5,6- digidroksi-7,8-dimetoksiflavon strukturasi ma'lum bo'lgan alnetinga aylantirilgan.

Flavanoid yadrosidagi gidroksil guruhlarini dimetilsulfat bilan NaHCO_3 ishtirokida xam metillash mumkin. Gidroksil guruhlarining metillanishi tezligi, quyidagi tartibda kamayib boradi: 7-OH>4-OH>3-OH>5-OH. Flavanoidning 5-OH guruhini bu usulda metillash ancha qiyin.

Erkin holdagi flavanoidlar va aglikonlarning kimyoviy tuzilishini aniqlashda ishqor ta'sirida parchalash natijasida hosil bo'lgan mahsulotlarni o'rganish katta ahamiyatga ega.

Bu usul bilan flavanoidning A va B xalqasidagi o'rinbosarlar (funksional guruhlar) haqida aniq ma'lumot olish mumkin. Reaksiya azot atmosferasida olib boriladi.

So'nggi paytlarda analizning fizik –kimyoviy usullari keng tarqalmoqda, ularni gravimetrik va titrametrik analizdan farqlari mavjud, aniqrog'i aniqlik va tekshirish tezligi juda kam bo'lsa ham aniqlash, yana bir muhim tomoni, o'simlik homashyosidan ayrim flavonoidlarni ajratib olish mumkin.

Bunday usullarga fotoelektrokolorimetriya, spektrofotometriya, densidometriya (bunda qog'oz va sorbentning yupqa qatlamidan foydalaniladi) xromatografiya flavanoidlarini tozalash va ularni summalarini alohida komponentlarga bo'lish uchun ham qo'llaniladi. Ayniqsa, xromatadensitometrik usul juda muhim hisoblanadi, uning asosiy mazmuni xromatogrammada bo'yalgan zonani to'g'ridan- to'g'ri miqdoriy densitometrik ravishda flavanoidlarni aniqlash mumkin . Bu uslub analiz tezligi va aniqligi bilan ajralib turadi, bu uslubda elyuirlash stadiyasi qo'llanilmaydi.

II bob. BAJARILGAN ISHLAR SHARHI:

2.1. O'simlikni terish va tayyorlash. Ekstraksiya.



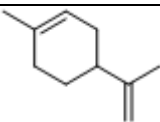
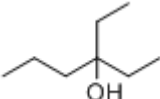
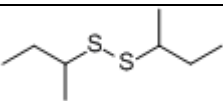
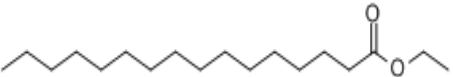
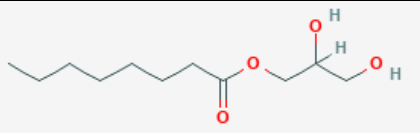
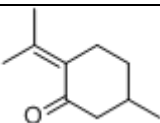
Yangiqo'rg'on tumanining Poromon soyi atrofidan *Scutellaria Adenostegiya* ya'ni Ko'kamaron o'simligining yer ustki qismini gullagan paytida 2017 yil may oyi boshlarida quruq holda hisoblaganda 3 kg miqdorda terdik. Uni maydalab, ildiz qismidan 5 g va bargidan ham 5 g miqdorda olib shisha idishga soldik va ustiga 15 ml ekstraksion benzin quyib, 1 kunga qoldirdik. So'ng 10 ml ekstrakt oldik. So'ngra yana takroran toza 15 ml ekstraksion benzin quyib, 1 sutkaga qoldirdik.

Bu ishlarni 3 marotaba 3 sutka davomida bajardik va har bir ildiz va barg qismidan 30 mldan ekstrakt olib, olingan ekstraktni sinov uchun xromotamasspektrometr asbobida tekshirdik. So'ng idishdagi o'simlik qismlarini olib quritdik va quritilgan o'simlikni barg va ildiz qismini qaytadan shisha idishga joylab, 70%

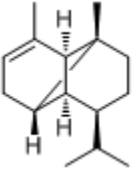
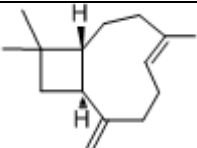
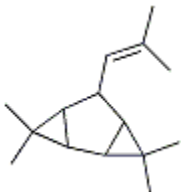
li etanolda ekstraksiyani davom ettirish uchun 15 ml 70% li etil spirti quydik. Uni 1 sutka qoldirib, ertasi kuni 15 ml dan ekstraktni filtrlab ajratib oldik. Natijalarni ildiz qismida mavjud moddalarni barg qismi tarkibida bor moddalar miqdorlari bilan solishtirdik.

“*Sc.Adenostegiya*” o’simligi yer ustki qismi tarkibidagidagi uchuvchan moddalarning komponent tarkibi bo’yicha solishtirish

2.1.1-jadval.

№	Nomi	Struktura formulasi	Unumi	
			barg, hexane	ildiz, hexane
1	4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene		12.29	1.44
2	1,1-Diethyl-1-butanol		-	1.19
3	1-Methylpropyl disulfide		-	0.69
4	n-Tetradecane		-	0.27
5	Ethyl palmitate		-	5.25
6	2,3-dihydroxypropyl ester		-	85.40
7	n-Dodecane		1.98	-
8	5-methyl-2-(1-methylethylidene)-		8.58	-

2.1.1-jadval davomi

9	Tricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]dec-3-ene,1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, (1R,2S,6S,7S,8S)-		1.66	-
10	n-Heptadecane		1.98	-
11	(1R,9S)-8-methylen-4,11,11-trimethyl-bicyclo[7.2.0]undec-4-ENE(1-Caryophyllene)		4.26	-
12	3,3,7,7-Tetramethyl-5-(2-methyl-1-propenyl)tricyclo[4.1.0.0 ^{2,4}]heptane		1.15	-
13	n-Hexadecane		3.10	-

Jadval ma'lumotlaridan ko'rinib turibdiki ko'kamaron o'simligining ildiz va barg qismining geksanli ekstraktidan olingan moddalarning miqdorlari taqoslanganda ildiz qismida eng ko'p miqdorda ya'ni 85.40 % da 2,3-dihydroxypropyl ester, bargida esa 12.29% 4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene borligi qolgan moddalar miqdori ozligi aniqlandi.

2.2. Ekstrakti erituvchilarda bo'lish.

60 ml ekstrakti benzin bilan 3 marotaba har safar 40 ml dan ekstraksiya qildik va benzinli fraksiyani ajratib oldik. 1.2 gr benzinli summa ajratib olindi. Benzol bilan 150 ml dan 4 marotaba ajratish voronkasida ekstraksiya qildik. So'ng

olingan ekstraktlarni rotorli bug'latgichda bug'latib 1.5 gr xloroformli summa olindi. So'ng 0,5 l dan etilatsetat quyib, 14 marotaba etilatsetatli fraksiya olindi va rotorli bug'latgichda bug'latganimizda 66 gr etilatsetatli fraksiya olindi. So'ngra 500 ml dan n-butanol bilan ajratish voronkasida ekstraksiyani boshladik va yuqoridagi tartib bilan 11 ta n-butanolli fraksiya oldik. So'ngra rotorli bug'latgichda bug'latib 78,6 gr n-butanolli ekstrakt oldik.

2.3. Xromatografik va IQ spektr tahlillari.

Olingan barcha fraksiyalardan xromatografik analizlar olib borildi.

2.3.1-jadval. Benzinli fraksiya

Modda	Oddiy nurdagi rangi	UB 272-325	NH ₃	Rf	Izoh
1	Jigarrang	Qizil	Yashil	0,76	Xlorofill
2	och sariq	Sariq	to'q sariq	0,8	Flavon aglikon

2.3.2-jadval.Xloroformli fraksiya

Modda	Oddiy nurdagi rangi	UB 272-325	NH ₃	Rf	Izoh
1	Och sariq	to'q sariq	to'q sariq	0,1	1,3,4-Flavonoidlarga xos, 2-kumarinlarga
2	-	Havorang	-	0,2	
3	Sariq	Sariq	to'q sariq	0,3	
4	och sariq	Sariq	to'q sariq	0,53	

2.3.2-jadval davomi

5	Zangor	Qizg'ish	Zangor	0,76	Xlorofillga xos
6	to'q zangor	to'q qizil	to'q zangor	0,8	

2.3.3-jadval. Etilatsetatli fraksiya

Modda	Oddiy nurdagi rangi	UB 272-325	NH ₃	Rf	Izoh
1	och sariq	to'q sariq	to'q sariq	0,06	1,3,4-Flavonoidlarga xos, 2-kumarinlarga
2	-	Havorang	-	0,4	
3	Sariq	Sariq	to'q sariq	0,3	
4	och sariq	Sariq	to'q sariq	0,53	
5	Zangor	qizg'ish	Zangor	0,76	Xlorofillga xos
6	to'q zangor	to'q qizil	to'q zangor	0.8	

2.3.4-jadval. n-butanolli fraksiya

Modda	Oddiy nurdagi rangi	UB 272-325	NH ₃	Rf	Izoh
-------	---------------------	------------	-----------------	----	------

1	Och jigarran g	och qizil	och yashil	0,06	1,2- Xlorofillargaxos
2	to'q jigarran g	to'q qizil	zangor	0,1	
3	-	Havorang	-	0,16	3,4-kumaringa xos
4	-	Havorang	-	0,26	
5	och sariq	Sariq	to'q sariq	0,33	5-flavonoidlarga xos.

2.4. Summa va moddalarni fizik-kimyoviy usullarda tekshirish.

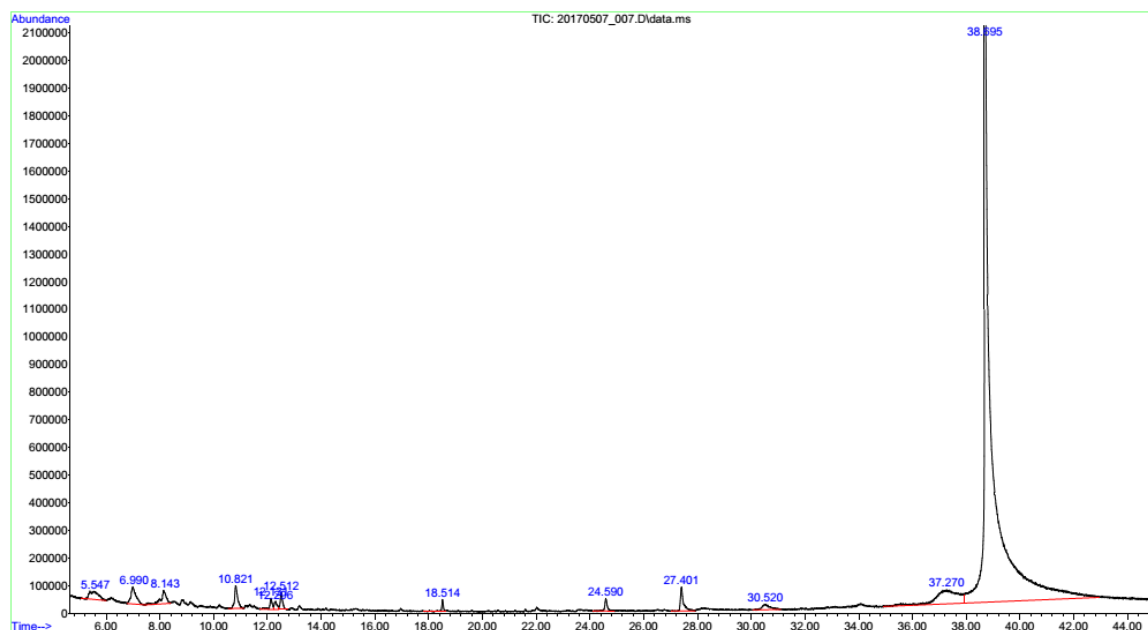
Ajratib olingan fraksiyalarni UB spektrlarini olish UB, IQ natijalarida ko'rsatishicha, moddalar erituvchilar ta'sirida fraksiyalarga ajralganligi yaqqol ko'rindi.

Olingan signallariga qarab adabiyotlarga solishtirganimizda o'simlik tarkibi etilatsetatli va n-butanolli fraksiyalarda flavonoidlar miqdor jihatdan ko'p ekanligi ko'rildi. Bundan tashqari n-geksandagi ekstrakt spektrlari tahlil qilish mumkin.

2.4. Ko'kameron o'simligini yer ustki qismi summasini geksandagi eritmasini xromotamass spektrofotometrik tahlil etish.

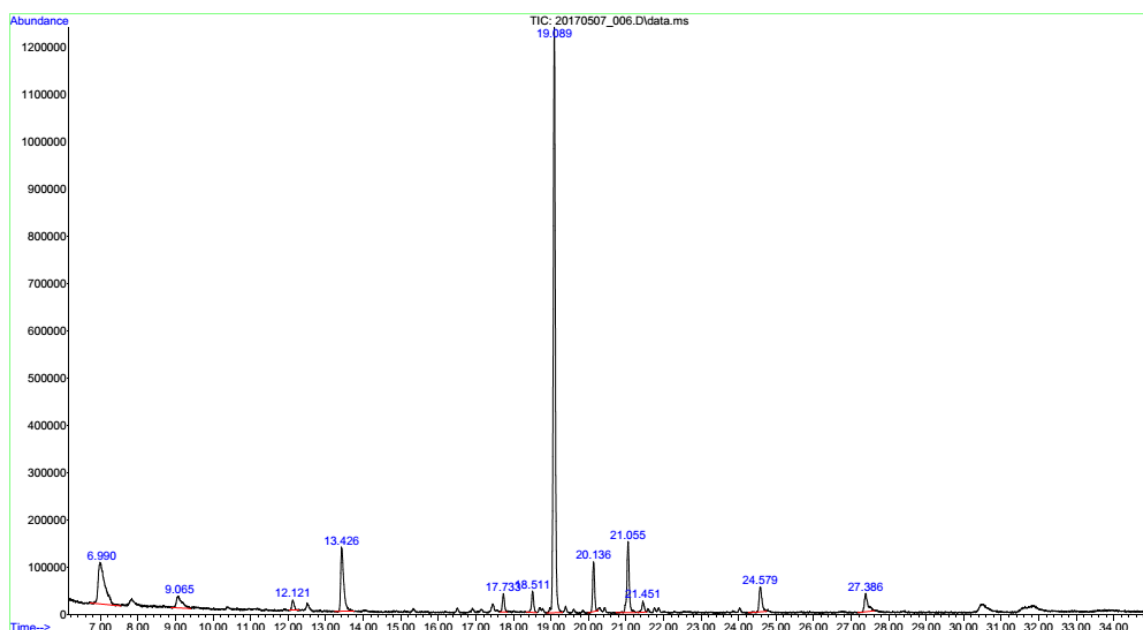
Ko'kameron o'simligining bargidan efir moyi suv bug'i bilan haydash orqaliva n-geksandagi eritmasidan juda kam miqdorda ajratib olindi. Ajratib olingan efir moyining fizik-kimyoviy ko'rsatkichlari: zichligi – 0,8351 0,0312 g/ml; sindirish ko'rsatkichi 1,216 0,000253; yorug'likni burish burchagi, gradus 0^0 - 3,2 0 . Efir moyining sifat va miqdor tarkibi GX-MS usulida analiz qilindi. Uning xromatogrammasi 2.4.1-rasmda keltirilgan.

2.4.1-rasm. Ko'karon o'simligining ildiz qismining xromotamass spektri.



2.4.2-rasm. Ko'karon o'simligining barg qismining xromotamass spektri.

Ko'karon o'simligining bargidan efir moyi suv bug'i bilan haydash orqali ajratib olindi. Ajratib olingan efir moyining fizik-kimyoviy ko'rsatkichlari: zichligi – 0,9261 0,021 g/ml; sindirish ko'rsatkichi 1,4762 0,0007; yorug'likni burish burchagi, gradus 0° - $2,8^{\circ}$. Efir moyining sifat va miqdor tarkibi GX-MS usulida analiz qilindi. Uning xromatogrammasi 2.4.2-rasmda keltirilgan.



III Bob. Olingan natijalar muhokamasi.

3.1. Olingan ekstraktning sifat reaksiyalari o'tkazish.

Ajratib olingan ekstraksion benzinli ekstrakt quyidagi sifat reaksiyalar orqali tekshirildi.

1. Veber va Tollens reaksiyasi. Reaksiyani sulfat kislotasi va floroglyutsin bilan o'tkaziladi. Metilendioksi guruhning flavonoidda eritmaning qizil rangi va cho'kma tushishi bilan aniqlanadi.[9,43-48]

Metoksi guruhni sifatini aniqlash: Reaksiya flavonoidli birikmani yodli vodorod bilan dezmetillashga asoslangan. Hosil bo'lgan yodli metil bug'i filtr orqali o'tib, simob nitrat bilan shimdirilgan filtr qog'oz bilan ta'sirlashtiriladi. Reaksiya yaxshi o'tganda simob yodid hosil bo'ladi. U harakterli kinovar rangga ega va cho'kma hosil qiladi.

2. Azobirikish reaksiyalari. Azobirikish fenol birikmalarga xos reaksiyadir. Gidroksil elektronodonor guruh shaklida O - yoki p-ho'lalarga almashinishga yo'naltiradi. Agar p-holat egallangan bo'lsa, unda birikishning 2 ta yo'nalishi mavjud. Lekin azobirikish qaysi uglerodda qo'sh bog' bo'lgan gidroksil hisobidan bo'ladi. Shu orqali flavonoiddagi azobirikish o'rnini oldindan aytish mumkin.

Flavonoidlar nazariyotida 5,7 va 4- holatda o'rnbosarlar bo'lsa, azobirikish A-xalqada 6- va 8-holatda, B-xalqada 3-holatda bo'ladi. Eksperimentda esa asosan A-xalqada 6- va 8-holatda isbotlangan.

7-gidroksil guruhi azobirikishni 8- holatga yo'naltiradi, rezorsin tipi (likviritegenin) da azobirikish diazotirlangan sulfanil kislotasi, bisdiazotirlangan benzidin yoki boshqa barqaror diazoboyuqlar hosil bo'lishi orqali sifat aniqlanishi mumkin.

Agar 7-holat gidroksil shakar komponenti bilan almashsa hosil bo'lgan glikozidlar reaksiyaga kirishmaydi, chunki 8- va 6- holatlar ekranlanadi, to'siladi. Tekshirishlarda azobirikish reaksiyalar tezligi flavonoid birikmalar sinfiga ham bog'liq ekan. Flavonollar bilan bu reaksiya juda tez, flavononlar bilan o'rtacha, flavonlar bilan juda ham sekin boradi.

4-gidroksil guruhini aniqlash: 4-holatdagi erkin fenol guruhi ko'pincha sifat reaksiyalarda qiyin aniqlanadi. Lekin sianidin reaksiyasidagi qaytarilgan bo'yalgan mahsulotlarni ishlatib yaxshi javob olish mumkin. Buning uchun bo'yoq oktanol bilan olinadi va quruq natriy atsetat yoki bikarbonat natriy bilan aralashtiriladi. Agar qizil bo'yoq bo'ladigan yoki ko'k rangga bo'yalsa bu reaksiya tasdiqidir. Bunda rangni o'zgarishi bo'yoqning karboniy shaklidan xinoid shakliga ishqoriy muhitda bo'lishiga sababdir.

Metilindioksi-gruppani aniqlash reaksiyasi: Metilindioksi guruhni aniqlashning usullarini hammasi issiq sulfat kislota ta'sirida formaldegidni ajralishi va uni sifatini aniqlashga asoslangan.

3. Boze reaksiyasi. Reaksiya ishqorli muhitida orto-nitrobenzol bilan o'tkaziladi. Bunda p- yoki 0-holatda gidroksil tutgan guruhi flavonoidlar binofsha rangga bo'yaladi.

7-oksi guruhni aniqlash: 7-holatidagi oksid almashganlar (4-xalkonlarda, 6-auronlarda) ko'proq tabiiy flavonoid birikmalarda uchraydi. Bu moddalarning o'ziga xos xususiyati ularni boshqa molekuladan fenol guruhlarga nisbatan yuqori kislotaliligidir. 7-holatidagi erkin gidroksil guruh flavonoidlarning karbonat va bikarbonat suvli eritmalarida eruvchanligi yuqoridir.

4. Vilson-Taubek reaksiyasi. Flavonollar flavon va xalkonlardan farqli bu reaktiv bilan reaksiyada sariq rangli ko'k yoki yashil fluoressensiyali komplekslar hosil qiladi. Agar bu komplekslarga atsetat nikel eritmasi qo'shilsa, intensiv qizil yoki binafsha ranglarga o'tishga erishiladi. Flavononlar geterosikl xalqasida tutashgan sistemaga ega bo'lmagani uchun bo'yalgan kompleksni hosil qilmaydi.

Gidroxinon guruhi: P-Digidroksil guruhi flavonoidlarda 0-digidroksil guruhlarga xos xususiyatlariga ega. Lekin ayrim reaksiyalar faqat birinchi guruhlarga hosdir.

Gossipetin sinovi: P-benzoxinonlik 5,8-dioksiflavonoidlarning spirtli muhitidagi ta'sirida qizil-qoramtir ranga bo'yaladi yoki cho'kma ajraladi.

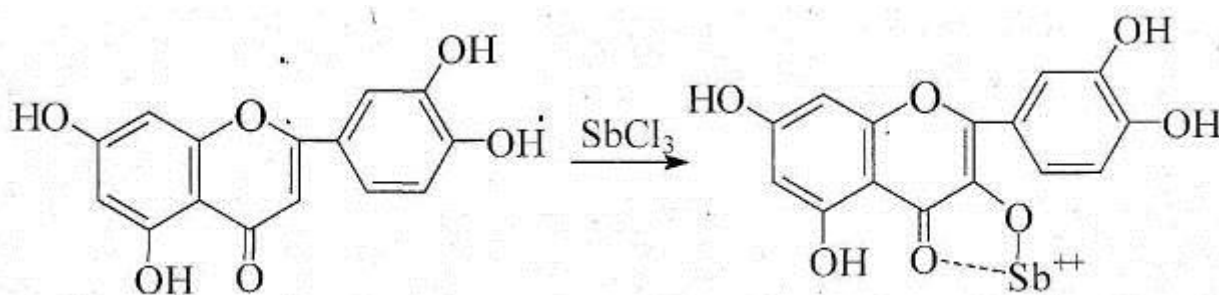
5. Xlorli sirkonil bilan reaksiya. Bu reaksiya flavonoidlarga hosdir. Xlorli sirkonilning metanolli eritmasi va flavonoid bilan o'tkaziladi. Keyinroq limon

kislotasining metanolli eritma quyiladi. Flavononlar yorqin sariq kompleksidan hosil qiladi. Ular sariq-yashil fluoressensiyaga ega. Bu reaksiyaning tanlov xususiyati shundaki, hosil b'lgan 3- va 5-gidroksil guruhlarini 4-holatidagi karbonil bilan limon kislotasining buzuvchi ta'siriga har xil munosabatda bo'ladi. Limon kislotasi xlorli sirkoniy bilan raqobatda xelat hosil qilishi reaksiyasida qaytarsada bo'yalmagan, 5-oksiflavonidlardan farqli barqaror holat hosil qiladi. 3,5-dioksiflavonlarda olti a'zoli kompleks parchalanadi, 3-oksixromon guruhli besh xalqalisi saqlanib qoladi. Shu sababli, bu reaksiya orqali gidroksil guruhining flavonol va flavononoldagi holatini aniq ko'rsatish mumkin. 2-oksixalkonlar o'zlarini 5- oksiflavonoidlarga xos bo'ladilar.

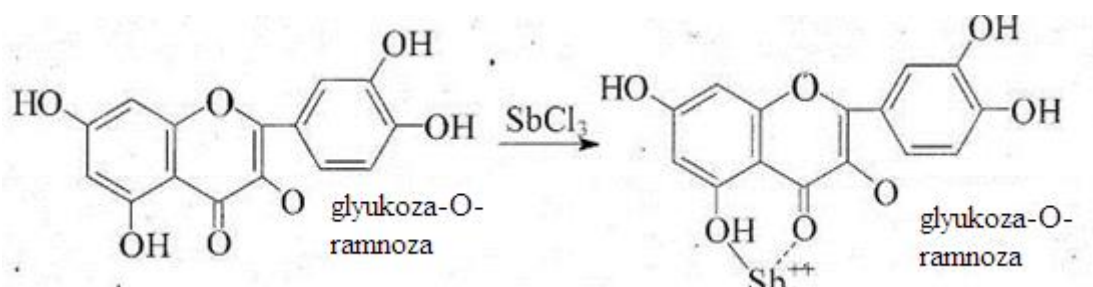
6. Magniy atsetat bilan reaksiya. 5-oksiflavononlar atsetat magniy bilan xromatogrammada sariq rangli UB-nurida havorang fluoressensiya beradigan dog'lar beradi. Boshqa flavononli birikmalarda bu reaksiya bo'lmaydi.

7. Surma (III)-xlorid tuzlari bilan reaksiyasi. Flavonoidlarning spirtidagi eritmasini surma (III)- xlorid eritmasi bilan chinni idishchada aralashtirilsa, sariq yoki qizil rang hosil bo'ladi. Reaksiya 5- gidroksiflavonlar hamda 5-gidroksiflavonollarning 3- yoki 5- uglerod atomiga joylashgan gidroksil

guruhi bilan surma va flavonoidlarning karbonil guruhi ishtirokida kompleks birikma hosil bo'lishiga asoslangan. Agar 5- gidroksiflavonollarning 3-uglerod atomidagi gidroksil guruhi bo'sh bo'lsa, oldin shu guruh reaksiyaga kirishadi:



Agar 5- gidroksiflavonollarning 3-uglerod atomidagi gidroksil guruhi band (qandlar bilan glikozid hosil qilgan) bo'lsa, u holda 5- uglerod atomidagi gidroksil guruhi reaksiyaga kirishadi:



8. Ishqorlar bilan reaksiya.

Bu umumiy uslub hisoblanadi. Ko'pchilik polioksiflavonoid birikmalar ishqor eritmalarida eritiladi, darrov yoki ma'lum vaqtdan so'ng bo'yalgan moddalarga aylanadi.

Flavonoidlar sovuq suyultirilgan ishqorda eritilganda rangsiz yoki kuchsiz sariq rangli eritmaga aylanadi. Izomerizatsiya jarayoni qizdirilganda tezlashadi. Flavonoidlar, erkin 4'-OH bo'lganda 7- holat o'rinbosar almashilgan holatda ularga suyultirilgan ishqorlarning ta'siri ham juda yuqori bo'ladi. Agar 4-fenol guruh almashilgan bo'lsa, izomerizatsiyada xalkon o'zgarishi yorqin ranglar paydo bo'lmaydi. Xalkon suyuqlangan ishqorlarda eriganda qizil va qirmizi eritmalar hosil qiladi. Ranglarni intensivligi gidroksil guruhlarining soni va holatiga bog'liq bo'ladi.

Flavonol va flavanollar ko'pincha ishqorlar bilan sariq rangli eritmalar hosil qiladi.

Auronlardan farqi, rezorsin tipidagi xalkonlar oson flavonoidlarga izomerlanadi. Qaytarilish reaksiyasi sharoitida floroglyutsin tipidagi xalkonlar ko'proq vaqt ichida qizdirilgan rangli modda eritmalar hosil qiladi va u flavonoidlarga o'xshashdir. Flavonon va xalkonlarda farqlaganda, sianid reaksiyasida hosil bo'lgan reaksiya aralashmaga mo'ltroq kislota quyiladi. Bunda xalkon qaytarilgandan qizil rang sarg'ayadi. Flavonon qaytarilganida rang yanayam kuchayadi.

Sianid reaksiyasida aniq javob bo'lishiga qarab tekshirilayotgan moddaning aglikon yoki glikozid holatini aniqlanadi. Bunda reaksiya aralashma teng miqdordagi suv bilan suyultirilganda oktil spirti bilan aralashtiriladi. Aglikondan hosil bo'lgan pigmentlar organik fazaga o'tadi, glikozidlilar esa suvda qoladi.

Agar qaytarilish reaksiyasida magniy o'rniga rux ishlatilsa, flavonoidlar musbat reaksiyali, flavononlar esa reaksiyaga kirishmaydi.

Agar qaytarilishda natriy amalgamasi ishlatilsa unda flavononlar, flavonlar va 3-almashgan flavononlarga ta'sir etadi. Natijada qizil rang paydo bo'ladi. Flavononlar va flavonollar esa sariq rangga bo'yaladi. Amalgamali natriy yordamida qaytarilish orqali birinchi marta ham qizil rangi orqali izoflavon va izoflavononlar aniqlangan. Bunda piriliy tuzlarining hosil bo'lishi sababdir.

Geysman va Klinton qaytarilish reaksiyasi mexanizmini tekshirishni davom etdilar. Ular tekshirilishicha, qaytarilish mahsulotlari murakkab aralashma bo'lib, unda flavilliy tuzlari yo'q ekan. Asosiy komponent 4-oksiflavon hosilalari bo'lib, ular konsentsentrlangan xlorid kislota bilan tuzlar berar ekan. Olingan axborotlarga asosan Geysman va Klinton flavonoidlarni qaytarishning quyidagi sxemasini taklif etdilar.

Kulkarn va uning hodimlarini ko'rsatishicha [*], flavon va izoflavonlarni qaytarganda karbonil guruh to'la qaytarilar edi va olingan flavon va izoflavon hosilalari kislotali muhitda bo'yalgan mahsulot hosil qilingan ekan. Flavononlarni qaytarganda 4-oksiflavonon paydo bo'lib, ular kislotalar ta'sirida bo'lgan tuzlarga aylanadi. Xalkonlardagi reaksiya pinakol kondensatsiya xisobida boradi.

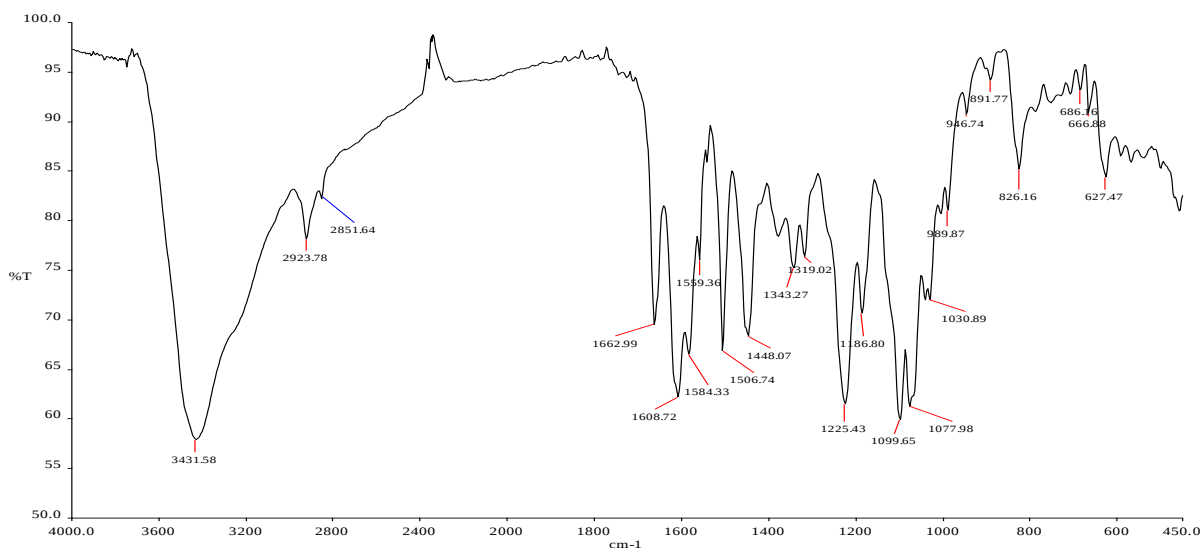
Agar yuqoridagi reaksiyalar bir nechta keng xalkali flavonoid sinflariga xos bo'lsa, natriy borid bilan qaytarish faqat flavononlarni ko'proq analiz qilinadi. Flavononlar bu reaksiyada purkim qizildan binafsha ko'k ranggacha bo'ladi. Agar faqat A xalqa bo'yicha almashilgan bo'lsa qizil va olovrang mahsulotlar, faqat V xalqada almashilganda esa och ko'k rang paydo bo'ladi.

Tabiiy flavonoidlar asosan polioksibirikmalardir. Shu sababli, tahlillanayotgan modda tuzilishini aniqlashda faqat o'rinbosar tabiati emas, balki molekuladagi o'rni katta ahamiyatga ega. Mana shu holatlarni aniqlashda funksional guruhlarni aniqlash sifat reaksiyalari qo'llaniladi.

0-oksikarbonil guruhlari xalkonlarda, flavononlarda va karbonil guruhi tutgan polioksiflavononlarda uchraydi.

3.2. Ko'kamaron o'simligining barg va ildizidan olingan moddalarni xromotamass spektrini o'rganish.

3.2.1-rasm n-butanolli summa tahlili:



n-butanolli fraksiyani tarkibida flavanoid glikozidlariga xos bo'lgan yutilish chiziqlari 1650-1500 sm⁻¹ sohalarda va kumarinlarga xos 1714 sm⁻¹ va undan yuqori sohalarda yutilish chiziqlari ko'rildi.[33,49,53,56]

Ekstraksion benzinli summa tahlili:

Ekstraksion benzinli fraksiyada esa 1738 sm⁻¹ da laktonlarga xos va 1714 sm⁻¹ da da kumarinlarga xos yutilish maksimumlari kuzatildi. Ekstraksion benzinli fraksiyada flavon aglikonlari va laktonlar, kumarinlarga xos bo'lgan yutilish maksimumlari 1779-1453 sm⁻¹ sohada ko'rildi. Xulosa qilib shuni aytish mumkinki, o'simlik tarkibida asosan flavon aglikonlari va laktonlar borligi aniqlandi.[33,49,56]

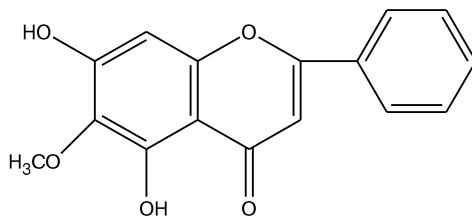
n-geksan fraksiyali summa tahlili:

n-geksan fraksiyada IQ spektrining 1600-1470 sm⁻¹ sohada bir nechta yutilish chiziqlarini mavjudligi qo'shbog'larga xos va 1620 sm⁻¹ sohada flavon karboniliga xos bo'lgan va flavon benzol halqasiga xos bo'lgan hamda flavon-benzol halqasiga xos bo'lgan 1600-1500 sm⁻¹ sohada asosan 1550-1580 sm⁻¹ sohada kuzatiladigan

yutilish chiziqlarining mavjudligi summa tarkibida flavonoidlar borligini yaqqol ko'rsatadi.[33,52,56]

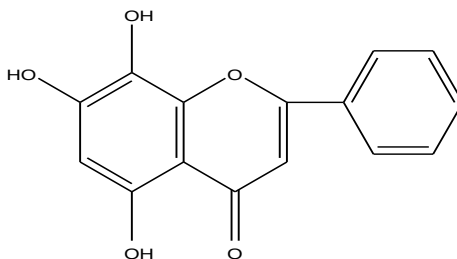
3.3. Olingan moddalarni guvoh moddalarga solishtirish va adabiyotlar bilan ishlash.

Oroksilin A (5,7-digidroksi 6-metoksi flavon) ekanligi aniqlandi. Uni suyuqlanish harorati ham mos ravishda 218-219° C ekanligi aniqlandi va bu fikrimiz isboti bo'ldi.



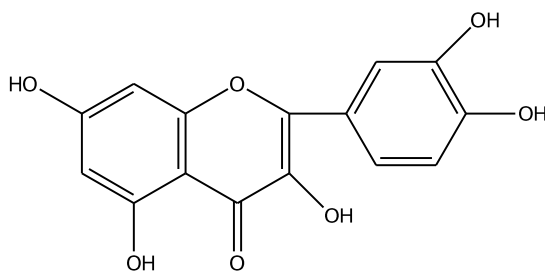
Oroksilin A (5,7-digidroksi-6-metoksiflavon)

Norvagonin (5,7,8- trigidroksi flavon) ekanligi va uning suyuqlanish harorati 250-252° C ekanligi, uni xromatogrammadagi guvoh modda bilan solishtirganda fikrimizni to'liq tasdiqladi.[56]



Norvagonin (5,7,8-trigidroksiflavon)

Guvoh modda bilan solishtirganda ko'rilgan natijalar va aniqlangan suyuqlanish harorati 313-314°C ekanligi va ushbu № 3-moddani **Kversetin** (3,5,7, 3',4'-penta gidroksiflavon) ekanligi tasdiqlandi.[52,56]



Kversetin (3,5,7,3',4'-pentagidroksiflavon)

Xulosalar:

Xulosa qilib aytganda maqsad flavonoidlarning fizik-kimyosini o'rganish va ajratib olingan moddani fizik-kimyoviy tahlil qilish edi.

1. Flavanoidlarning fizik-kimyosi haqida adabiyot va internet ma'lumotlari yig'ildi, fizik-kimyoviy tahlili o'rganildi hamda adabiyotlar sharxi yozildi.

2. To'plangan materiallarga ko'ra flavanoidlarning klasifikatsiyalanishi, xromotografik tahlili, flavanoidlarning YaMR spektroskopiyasi, flavanoidlarning optik spektroskopiyasi, xromotomass spektroskopiyasi va boshqalar o'rganildi.

3. Namangan viloyati Yangiqo'rg'on tumani Poramon qishlog'idan terilgan ko'kamaron o'simligining yer ustki qismi fizik-kimyoviy tahlil qilindi.

4. Ko'kamaron o'simligining yer ustki qismi ketma – ketlikda geksan va benzolda ekstraksiya qilindi.

5. Ko'kamaron o'simligining yer ustki qismining etanolli summasini flavonoidlariga sifat reaksiyalar o'tkazildi.

6. Olingan moddalarning spektr ma'lumotlari va standartlar bilan taqqoslash natijasida ildizida 2,3-dihydroxypropyl ester 85.40% va bargida (1R,9S)-8-methylen-4,11,11-trimethyl-bicyclo[7.2.0]undec-4-ENE(l-Caryophyllene) 52.64% lar ko'p miqdorda borligi aniqlandi.

7.n- geksanli ekstraktlarni uchuvchan komponentlari xromato-mass-spektri usulida kutubxona ma'lumotlari bilan taqqoslab 35 modda aniqlandi undan 13 tasi identifikatsiya qilindi.

9. Identifikatsiya qilingan moddalar adabiyot ma'lumotlariga asoslanib olingan ildiz va bargdan ajratilgan 15 moddadan 13 tasi ikkala qismi tarkibida turli % da borligi ko'kamaron o'simligi tarkibida birinchi marta aniqlandi.

Foyfalanilgan adabiyotlar.

1. Sh. M. Mirziyoyev 2017-2021 yillarda O'zbekiston Respublikasini rivojlantirishning beshta ustuvor yo'nalishi bo'yicha Harakatlar strategiyasi. Xalq so'zi 2017-yil 10-aprel 30-soni.
2. A.G. Mahsumov, A.J. Jo'rayev „Biorganik kimyo” Toshkent. „ O'zbekiston milliy ensiklopediyasi” nashriyoti 2007-yil
3. Muxtorov M „100 dardga 100 davo shifobaxsh o'simliklar bilan davolash”
4. Abdullayev Sh. V, Dehqonov R, Mo'minova M, Qirg'izova H, „O'simlik va hayvonlarning toksin moddalari”. Namangan 2010 – yil
5. Xolmatov X.X, Ahmedov O'.A, „Farmakognoziya”. Toshkent. 1995
6. Q. Xojimatov. «Uzbekistonning xushbo'y va xushta'm o'simliklari». T., «Fan» nashriyoti. 1992 y.
7. A.L. Shinkarenko, V.A. Bandyukova, A.L. Kazakov. Metodo` issledovaniya flavonoidov, Pyatigorsk 1977.
8. O.V. Jurbo`, A.M. Rabinovich, A.P. Terzieva, S.D. Alekseev, V.A. Kozmin. «Kultivirovaniye i dikorasteniye rasteniya». Moskva, «Planeta». 1988 .
9. E. Akopov. «Krovoostanavlivayushie rasteniya». Tashkent, «Meditsina». UzSSR, 1981 .
10. G.D. Mustaqimov. «O'simliklar fiziologiya va mikrobiologiya asoslari». Toshkent, «O'qituvchi». 1995 y.
11. Н.Н. Капранова. «Комнатно эрастения в интерере». Изд. Московского университета, 1989.
12. Гогия В. II Биохимия чайного производства. 1950. № 6. С. 70-72.
13. Бердимуратова Г.Д., Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю., Авилов Ж.А. Биологически активные вещества растений: выделение, разделение, анализ. Алматы: Изд-во КазНУ, 2006. 438 с.
14. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.И. Химический анализ лекарственных растений. М.: Высш. шк., 1983. 176 с.
15. Comte R, Snaith J.-E., Moser R., Humphry-Baker D. II Bull. Soc. Chem. Biol. 1960. V. 42(9-10). P. 1079-1085.

16. Heller W, Forkmann G. The flavonoids - advances in research since 1980. London: Chapman and Hall, 1988. P. 399-425.
17. Хефтман Э. Хроматография. Практическое приложение метода. М.: Мир, 1986. Ч. 2. 488 с.
18. Государственная фармакопея СССР. XI изд. М.: Медицина, 1990. Ч. 1, 2.
19. Тюкавкша Н.А., Бауков Ю.И. II Хим.-фармацевт. журн. 1978. № 22(10). С. 81-84.
20. Miller F. C., Macauley B. J. Odours arising from mushroom composting: a review. // Australian Journal of Experimental Agriculture.- 1988.- V. 28, No. 4.- P. 553-560.
21. Kubota K., Shijimaya H., Kobayashi A. Volatile components of roasted shrimp. // Agricultural and biological chemistry.- 1986.- V. 50, - N. 11. - P. 2867-2873.
22. Толкачёв О.Н., Абизов Е.А., Абизова Е.В. Химическое изучение плодов *Elaeagnus angustifolia* L. – сырья для разработки препаратов в практической терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта // XIV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».
23. Карасек Ф., Клемент Р. Введение в хромато-масс-спектрометрию. / Пер. с англ. И.А.Ревельского, Ю.С.Яшина. - Москва: Мир, 1993. - 236 с.
24. Ткачёв А.В. Исследование летучих веществ растений. – Новосибирск: Офсет, 2008. – 969 с.
25. Исидоров В. А., Зенкевич И. Г. Хромато-масс-спектрометрическое определение следов органических веществ в атмосфере. — Ленинград: Химия, 1982. — 136 с.
26. Заикин В. Г., Варламов А. В., Микая А. П., Простаков Н. С. Основы масс-спектрометрии органических соединений. - Москва: МАИК «Наука/ Интерпериодика», 2001. - 286 с.
27. Adams R. P. Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectroscopy.- Allured Publishing Corporation,

Illinois, USA, 1995.- 475 P.

28. Adams R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy.- Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 2001.- 456 P.

29. Adams R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, 4th Edition.- Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 2007.- 804 P.

30. Adams R. P. Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy.-San Diego: Academic Press, 1989.- 302 P.

31. Joulain D., König W. A. Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons.- EB-Verlag, 2001.- 658 P.

32. Столяров Б.В. и др. Практическая газовая и жидкостная хроматография. Учебное пособие. - СПб: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 1998. - С. 248-249.

Internet saytlari:

ru.wikipedia.org

www.minsk-flowers.com

www.gardenia.ru

wolkow.rosnet.ru

www.lepestok.kharkov.ua

fabr.ru

www.iriska.zp.ua

floristua.com.ua

www.liveinternet.ru

sadovod.net

www.myjulia.ru

migranov.ru

blogs.mail.ru

blogs.mail.ru

ruiris.narod.ru