

Gidrolizlangan Fibroin Tarkibida Oltin Nanozarrachalarini Hosil Bo‘Lishi

*M. Normetov*¹, *X. O. Eshchanov*²

Annotatsiya: Ushbu maqolada ipak fibroini asosida olingan yuqori sorbsion xossali gidrolizlangan fibroinga sorbsiyalangan oltin ionlari vaqt o‘tishi davomida oltin nanozarrachalariga aylanishi haqida ma’lumotlar keltirilgan. Tadqiqot natijalari shuni ko‘rsatdiki, sorbsiyalangan oltin ionlaridan nanozarrachalarning hosil bo‘lishi 0,0005-0,005 mol/l konsentratsiyali [AuCl₄]⁻ ionlarining eritmalari kuzatilgan. Bunday konsentratsiyali eritmalarida oltin nanozarrachalarini hosil bo‘lish sabablarini aniqlash bo‘yicha tadqiqotlar olib bordik.

Kalit so‘zlar: Hidrolizlangan fibroin, oltin nanozarrachalari, fibroin, ipak.

Dunyoda pilla yetishtirish va xom ipak ishlab chiqarish bo‘yicha O‘zbekiston Xitoy va Hindistondan keyin 3-o‘rinni egallaydi. O‘zbekiston ipakchilik sanoati rivojlangan davlatlardan biridir [1].

Hozirgi kunda yetishtirilayotgan pilla respublikaning hamma pillakashlik korxonalarini to‘liq ta‘minlash bilan birga uni chet elga sotish imkonini ham beradi. Tabiiy ipak jahonda ishlab chiqariladigan to‘qimachilik tolalarining faqatgina 0,5% ni tashkil etadi, lekin ipak va ipak gazlamalarning texnika va maishiy turmushda keng qo‘llanilishi tufayli jahon bozorida tabiiy ipakka bo‘lgan talab juda yuqori bo‘lib qolmoqda.

Sanoatda ishlatiladigan ipakning asosiy qismi (90 % dan ko‘prog‘i) *Bombyx mori* turidagi tut ipak qurtidan olinadi. *Bombyx mori* ipak ishlab chiqaruvchi hasharotlarning eng keng tarqalgani hisoblanadi. Tabiiy ipak tolalari asosan ikkita oqsil – fibroin va seritsindan iborat bo‘ladi. Fibroin ipakning mustahkamlik va barqarorligini ta‘minlovchi struktura oqsili bo‘lsa, suvda eruvchan seritsin fibroin filamentlarini bir-biriga bog‘lab turuvchi yelim vazifasini bajaradi [2].

Ipak fibroin (IF) asosan yuqori darajada takrorlanuvchi aminokislotalardan tashkil topgan bo‘lib, ular orasida glitsin (45%), alanin (30%) va serin (12 %) eng ko‘p uchraydi va odatda o‘rtacha 3:2:1 nisbatda bo‘ladi [3].

IF ning asosiy tarkibiy qismi fibroin oqsili, oz miqdordagi lipidlar va polisaxaridlardan iborat. IF katta molekulyar og‘irlikdagi modulli gidrofob tuzilishga ega bo‘lib, u kichik gidrofil guruhlar tomonidan ajratilgan holatda bo‘ladi. IF ikkita asosiy zanjirni o‘z ichiga oladi: gidrofob og‘ir (H-) zanjir va gidrofil yengil (L-) zanjir. Ushbu ikkita zanjir (HL) disulfid bog‘i bilan bog‘langan [4]. P25 molekulasida HL ga molekulararo ta‘sir kuchlari va vodorod bog‘lanishlar orqali bog‘langan gidrofob glikoprotein bo‘lib, strukturaning yaxlitligini ta‘minlashda muhim rol o‘ynaydi [5]. H-zanjirida glitsin aminokislota miqdori juda yuqori. Ikki geksapeptid, Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser va Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Tyr, Gly-X dipeptidlar H-zanjir ketma-ketligining 70 % ini tashkil qiladi [6]. H-zanjir, L-zanjir va P25 6:6:1 molyar nisbatda o‘zaro bog‘langan bo‘ladi [7]. IF ning asosiy kristall tuzilmalari ipak I va II lardan iboratdir [8]. Ipak II da β -varaqa kuchli vodorod bog‘lanishlar kuzatiladi [9].

Ipakning asosiy oqsil komponenti bo‘lgan fibroinning H-zanjir, L-zanjir va P25 zanjirlari 6:6:1 molyar nisbatda bo‘lishini inobatga olsak molekulyar massa 2,3 MDa ni tashkil etadi. Fibroindagi og‘ir zanjirning molekulyar og‘irligi 391 kDa, yengil zanjirning molekulyar og‘irligi esa 27 kDa. Og‘ir zanjir 5263 ta aminokislotalardan, yengil zanjir esa atigi 262 ta aminokislotalardan iborat. P25 molekulasida 220 ta aminokislota qoldig‘idan iborat bo‘lib, molekulyar massa 25 kDa ni tashkil qiladi.

^{1,2} Urganch davlat universiteti, Kimyo kafedrası



IF rangsiz va qattiq bo‘lib, suvda eruvchanligi yomon oqsil hisoblanadi. Chunki tabiiy IF da ko‘p miqdordagi ichki va molekulararo vodorod bog‘lanishlari borligi va uning kristalligi va o‘ziga xos fizik-kimyoviy xususiyatlari mavjud. Fibroinning izoelektrik nuqtasi eritma tayyorlash shartlariga qarab pH qiymati 3,6÷5,2 oralig‘ida o‘zgarib turadi [10-11]. Fibroin spirtida, efirda, benzolda, atsetonda, uglerod (IV) sulfidda va boshqa organik erituvchilarda erimaydi. Kaltsiy, strontsiy, bariylarning neytral muhitli eritma hosil qiladigan ba‘zi tuzlari va vodorod galogenid kislotalari, Shveytser reaktivi, ishqoriy eritmalarda kolloid sistemalar hosil qiladi.

So‘nggi yillarda nanotexnologiya keng tadqiqotlar mavzusi bo‘lib, tadqiqotchilar orasida katta qiziqish uyg‘otmoqda [12]. Nanotexnologiyaning tez rivojlanishi natijasida nanozarrachalarni (NZ) ishlab chiqarish va ulardan foydalanish keskin kengaydi. Oltin nanozarrachalari (Au NZ) eng muhim NZ lardan biri hisoblanadi va o‘ziga xos xususiyatlari – inertlik, biyoslashuvchanlik va past toksikligi tufayli tibbiy hamda tibbiyotga oid bo‘lmagan sohalarda ideal material sifatida keng qo‘llanilmoqda.

Oltin NZ larni mikroorganizmlar yordamida ichki yoki tashqi usullar yordamida tayyorlash mumkin, lekin tashqi usul izolyatsiya jihatidan qulayroqdir. Modifikatsiyalangan nanosellyuloza oltin nanozarrachalarni olish uchun afzal manba hisoblanadi. Au NZ lari o‘zining diagnostika va davolash maqsadlari, jumladan, biosensorlar, saraton terapiyasi uchun o‘simtani nishonga olish qobiliyati va nano-vositalar yordamida dori vositalarini zararlangan to‘qimalarga aniq yetkazib berish kabi ajoyib xossalarni namoyon etadi.

Xitozan moddasi Au NZ larini sintezlash uchun ham qaytaruvchi, ham stabillashtiruvchi vazifada qatnashadi. Au NZ larini olish uchun 1% li xitozanning sirka kislotadagi eritmasidan 100 ml tayyorlanadi va eritma qaynagunicha pechkada qizdiriladi. Qaynagan eritmaga 100 μL $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ eritmasi solinadi va 100°C da 15 daqiqa davomida qaynatiladi. Jarayon davomida eritma qizil rangga kiradi.

W. Chen, W. Wu, X. Zongpu, Sh. Liyang, C. Shivananda va B. Lakshmeesha Rao o‘z ishlarida IF ning turli muhitli sharoitlarda oltin(III) va kumush(I) ionlari bilan ta’sirlashib metall NZ lari hosil bo‘lishini ko‘rsatishgan. Bunda metall ionlari bilan IF ta’rikbidagi Tyr aminokislota qoldiqlari reaksiyaga kirishganligini ifodalashganlar [13-15].

Yuqoridagi adabiyotlarda keltirilgan ma’lumotlarga asoslangan holda shuni ta’kidlash mumkinki, oltin NZ larini ko‘plab sohalarda qo‘llash katta ijobiy muvaffaqiyatlarga erishishga yordam berishi mumkin. Shuning uchun oltin NZ larini olishning muqobil va iqtisodiy jihatdan arzon hamda uzoq vaqt o‘z holatini saqlab qolish imkoniyatlarini beruvchi usullar yaratish dolzarb masalaga aylanadi. GF asosida Au NZ larini olish ushbu muammolarni hal qilishda muhim ahamiyat kasb etadi.

2. Tajriba qism

2.1. Kukunsimon GF ga oltin ionlarini sorbsiyalash va oltin NZ larini hosil qilish

IF tolasidan [16] usul bo‘yicha olingan GF kukunlarida oltin NZ larini hosil bo‘lishi o‘rganildi. Buning uchun quyidagicha tajriba olib borildi.

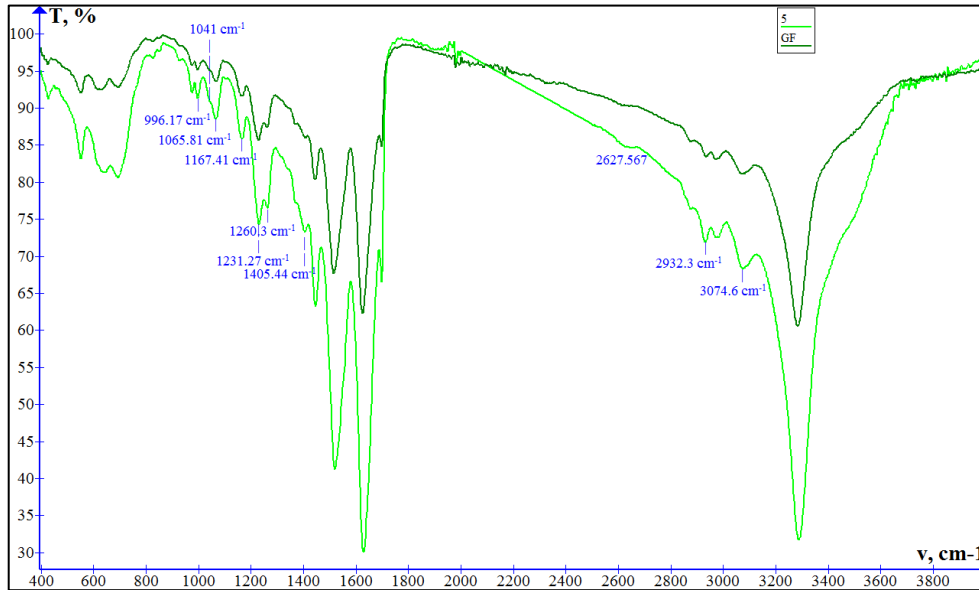
Dastlab oltin ionlarini GF kukuniga sorbsiyalash amalga oshirilib, buning uchun $[\text{AuCl}_4]^-$ ionlarini tutgan 0,00025÷0,017 M konsentratsiyali eritmalaridan foydalanildi. Sorbsiya jarayoni 298 K haroratda olib borildi. Sorbsiya jarayonidagi eritmalarining konsentratsiyalari UV-1800 UV-Vis spektrofotometri (Shimadzu) yordamida 300 nm to‘lqin uzunlikli sohada nur yutilish qiymatlari aniqlanib, nur yutilish ko‘rsatgichi (A) va konsentratsiyaning (C_M) bog‘liqlik kalibrovkali grafigidan topildi.

Sorbsiyadan keyin qizil rangga kirgan GF namunalarini ajratib olib, ulardagi oltin NZ larini aniqlash uchun fizik tadqiqot usullari yordamida tahlil qilish amalga oshirildi.



3. Natijalar va muhokamalar

Oltin ionlarini sorbsiyalagan GF kukunlari sariq rangda bo'lib, undagi oltin ionlari qaysi funksional guruhlar bilan o'zaro ta'sirlashganligini aniqlash uchun ATR-IQ Furiye spektroskopiya tahlilidan foydalanildi (1-rasm).

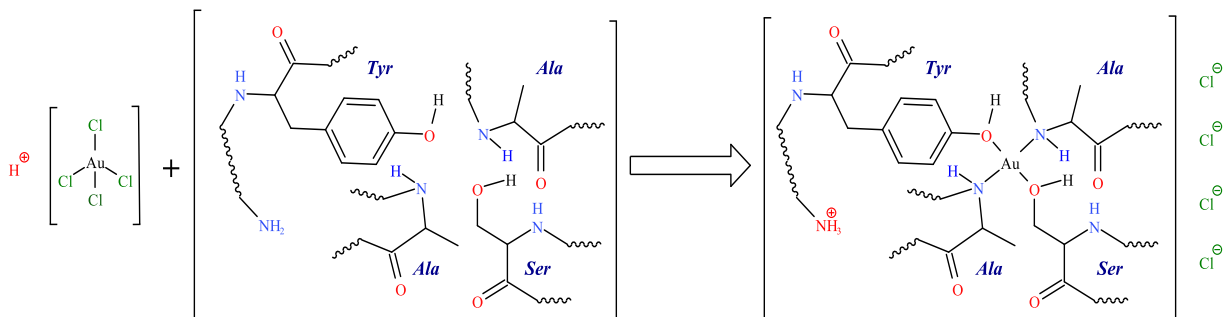


1-rasm. Oltin ionlarini sorbsiyalagan GF ning ATR-IQ Furiye spektri.

Tahlil qilish natijasida $3500\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ sohada yutilish intensivligi ortishi kuzatilib, bu oltin ionlarini sorbsiyalagan GF da erkin --OH guruhlar oshganini anglatadi. $3074,6\text{ cm}^{-1}$ dagi yutilishni ortishi aromatik halqadagi C--H bog'larning tebranishlarini o'zgariganligi bilan bog'liq. $2932,3\text{ cm}^{-1}$ dagi yutilishni nisbiy ortishi $\text{--CH}_2\text{--}$ guruhlarni o'zgarishga uchrangani sababli bo'lishi mumkin. $1405,44\text{ cm}^{-1}$ sohada yutilishni kuchli ortishi *Ala* aminokislota qoldig'idagi $\text{CH}_3\text{--}$ guruhining tebranishlarini bilan bog'liq bo'lib, bu *Ala* aminokislota qoldig'ini C=O yoki --NH-- guruhi orqali oltin ionlari bilan koordinatsion bog'langan bo'lish ehtimolini ko'rsatadi.

$1231,27\text{ cm}^{-1}$ sohada yutilish intensivligini $1260,3\text{ cm}^{-1}$ sohaga nisbatan kamayishi GF tarkibidagi tartibsiz va α -struktura zanjirlari kamayib, kristallikni keltirib chiqaruvchi β -strukturalar hosil bo'lganligini bildiradi.

$1167,41\text{ cm}^{-1}$ sohada yutilishdagi o'zgarish *Tyr* aminokislotasidagi --NH--CO-- va --OH guruhlari bilan oltin ionlari o'zaro ta'sirda ekanligini ifodalaydi. 1041 cm^{-1} dagi cho'qqini paydo bo'lishi birlamchi spirtning C--OH guruhining (*Ser*) tebranishiga tegishli hisoblanadi. ATR-IQ Furiye spektroskopiyasi natijalarining tahlilidan kelib chiqqan holda quyidagi kimyoviy reaksiyani yozish mumkin.



Oltin ionlarini sorbsiyalagan GF namunalari vaqt va tashqi muhitning ta'siri o'rganildi. Oltin ionlarining $0,0005$; $0,001$ va $0,005\text{ M}$ konsentratsiyali ($\text{pH} = 2,75\text{--}3,6$) eritmalarida 12 soatdan keyin GF namunalari ranglari mos ravishda och pushti, qizil-pushti, to'q qizil ranglarga o'tdi.





2-rasm. $[AuCl_4^-]$ ionlarining turli konsentratsiyali eritmalarida GF namunalarining ranglarini o'zgarishi

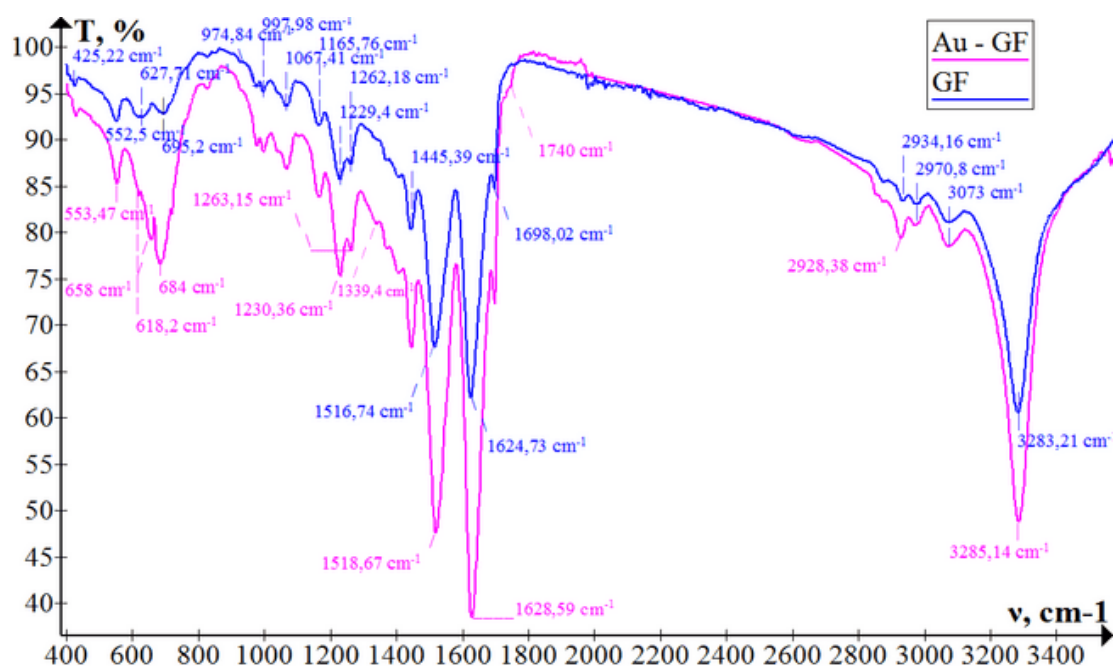
0,00025 M konsentratsiyali eritmadagi namunaning rangi sarg'ish rangga o'zgardi. Lekin, 0,0001 M konsentratsiyali eritmadagi namunada rang o'zgarishi kuzatilmadi. Eritmalardagi namunalarning rang o'zgarishlari va eritmalarining pH qiymatlarini o'zgarishi quyidagi 1-jadvalda keltirilgan.

1-jadval.

№	C ₁ , mol/L	pH (1)	pH (2)	Rang o'zgarishi
1	0.00500	3,00	2,75	To'q qizil
2	0.00100	2,70	3,60	Qizl-pushti
3	0.00050	2,90	3,66	Och pushti
4	0.00025	2,87	3,87	Sarg'ish
5	0.00010	3,04	4,44	O'zgarmagan

Rang o'zgarishi kuzatilgan namunalarning ATR-IQ Furye spektrlari olindi va tahlil qilindi.

Oltin tutgan GF namunasining qizg'ish ranga kirishi oltin ionlari qaytarilib NZ holatiga o'tganligi sababli deb qaraldi. Qizg'ish rangli oltin tutgan GF namunasining ATR-IQ Furye spektrlari tahlil qilindi (3-rasm).

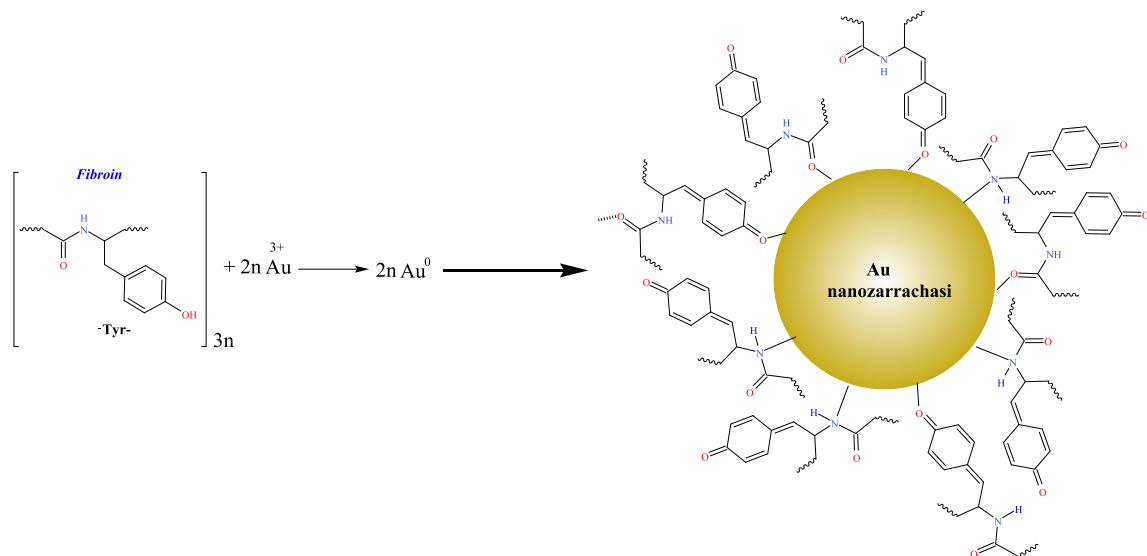


3-rasm. Oltin ionlari qaytarilgan namunaning ATR-IQ Furye spektri.

ATR-IQ Furye spektrdagi $3285,14 \text{ cm}^{-1}$ yutilish intensivligini o'zgarishi -OH va amid guruhlarida o'zgarish bo'lganini tushuntiradi. 3073 cm^{-1} sohadagi yutilish aromatik halqadagi C-H tebranishiga tegishli. $2928,38 \text{ cm}^{-1}$ sohadagi yutilish intensivligi -CH₂- guruhi o'zgarishga uchraganligini anglatadi. 1740 cm^{-1} da cho'qqini vujudga kelishi Tyr aminokislota qoldig'idagi -OH va fenilen guruh tarkibiy o'zgarishga uchrab, xiron guruh hosil bo'lgan deb qarash mumkin. Oltin ushlagan GF ning ATR-IQ Furye spektridagi $1165,76 \text{ cm}^{-1}$ sohadagi yutilishni o'zgarishi Tyr aminokislota qoldig'idagi -CO-NH- bog'i oltin NZ lari bilan bog'lanish hosil qilganligini ko'rsatadi. 684 cm^{-1} sohadagi yutilish Au-N va Au-O bog'lari mavjud ekanligini ko'rsatadi.

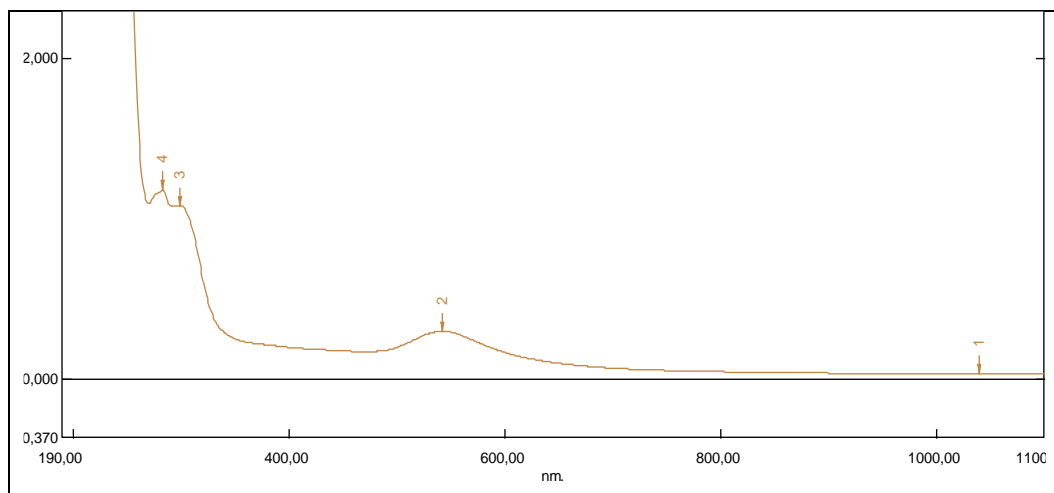
Bu natijalar GF tarkibida oltin NZ lari shakllanganligini tasdiqlaydi. Hosil bo'lgan oltin NZ lari GF tarkibidagi funksional guruhlar bilan kimyoviy bog'lanadi va stabilanadi.

ATR-IQ Furye spektrlari va kvant kimyoviy hisoblashlarga asoslangan holda GF tarkibidagi oltin NZ larini hosil bo'lishini quyidagi reaksiya orqali tushuntirildi:



GF tarkibidagi oltin NZ lari mavjudligini tasdiqlash uchun UB-spektroskopiya tahlillari ham amalga oshirildi.

Rang o'zgarishi kuzatilgan oltin tutgan GF kukunlarini kalsiy xloridning spirt-suvli 1:2:8 mol nisbatli eritmasida eritilib UB-spektroskopiya tahlili o'tkazilganda 542 va 280 nm sohalarda maksimal nur yutilish kuzatildi (4-rasm). UB-spektrdagi 280 nm to'lqin uzunlikdagi nur yutilish sohasi eritmadagi fibrin oqsiliga tegishli, 542 nm to'lqin uzunlikdagi maksimal nur yutilish oltin NZ lari uchun tegishlidir [17].



4-rasm. GF tarkibidagi oltin NZ larining UB-spektri



4. Xulosa

IF dan olingan yuqori sorbsion xossali GF kukunlariga sorbsiyalangan oltin ionlari vaqt o'tishi davomida oltin NZ lariga aylanishi aniqlandi. Bu jarayon $[AuCl_4]^-$ ionlarining 0.0005-0.005 mol/l li va pH qiymati 2,75-3,66 bo'lgan eritmalarida kuzatildi. Ushbu usulda oltin NZ larini olish uchun hech qanday qo'shimcha reaktivlar va maxsus sharoit tanlash talab qilinmaydi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yhati.

1. D.M.Xatamova, I.I.Turg'unboyev. Tabiiy ipakning kimyoviy tarkibini o'rganish. 19.10.2022. 12-son
2. Koh L-D, Cheng Y, Teng C-P, Khin Y-W, Loh X-J, Tee SY, Low M, Ye E, Yu H-D, Zhang Y-W, Han M-Y, Structures, Mechanical Properties and Applications of Silk Fibroin Materials, Progress in Polymer Science (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.001>
3. Zhou, C.-Z.; Confalonieri, F.; Medina, N.; Zivanovic, Y.; Esnault, C.; Yang, T.; Jacquet, M.; Janin, J.; Duguet, M.; Perasso, R.; et al. Fine Organization of Bombyx Mori Fibroin Heavy Chain Gene. *Nucleic Acids Res.* **2000**, 28, 2413–2419
4. Tanaka K., Kajiyama N., Ishikura K., Waga S., Kikuchi A., Ohtomo K., Takagi T., Mizuno S. Determination of the site of disulfide linkage between heavy and light chains of silk fibroin produced by Bombyx mori. *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Mol. Enzymol.* 1999;1432:92–103. doi: 10.1016/S0167-4838(99)00088-6.
5. Tanaka K., Mori K., Mizuno S. Immunological identification of the major disulfide-linked light component of silk fibroin. *J. Biochem.* 1993;114:1–4. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a124122.
6. F., Kikuchi Y., Kikuchi A., Mizuno S., Shimura K. Further evidence for importance of the subunit combination of silk fibroin in its efficient secretion from the posterior silk gland cells. *J. Cell Biol.* 1987; 105:175–180. doi: 10.1083/jcb.105.1.175.
7. Inoue S., Tanaka K., Arisaka F., Kimura S., Ohtomo K., Mizuno S. Silk Fibroin of Bombyx mori is Secreted, Assembling a High Molecular Mass Elementary Unit Consisting of H-chain, L-chain, and P25, with a 6:6:1 Molar Ratio. *J. Biol. Chem.* 2000; 275:40517–40528. doi: 10.1074/jbc.M006897200.
8. Lotz B., Cesari F.C. The chemical structure and the crystalline structures of Bombyx mori silk fibroin. *Biochimie.* 1979;61:205–214. doi: 10.1016/S0300-9084(79)80067-X.
9. Marsh R.E., Corey R.B., Pauling L. An investigation of the structure of silk fibroin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1955;16:1–34. doi: 10.1016/0006-3002(55)90178-5.
10. Freddi G., Pessina G., Tsukada M. Swelling and dissolution of silk fibroin (Bombyx mori) in N-methyl morpholine N-oxide //International Journal of Biological Macromolecules. – 1999. – Vol. 24. – №. 2-3. – P. 251-263. [https://doi.org/10.1016/s0141-8130\(98\)00087-7](https://doi.org/10.1016/s0141-8130(98)00087-7)
11. Medronho B. et al. Silk fibroin dissolution in tetrabutylammonium hydroxide aqueous solution //Biomacromolecules. – 2019. – Vol. 20. – №. 11. – P. 4107-4116. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b00946>
12. Gold Nanoparticles: Preparation, Properties, and Applications in Bionanotechnology Yi-Cheun Yeh 1, Brian Creran 1, Vincent M Rotello
13. Xu Z. et al. Preparation and biomedical applications of silk fibroin-nanoparticles composites with enhanced properties-a review //Materials Science and Engineering: C. – 2019. – Vol. 95. – P. 302-311.
14. Chen W. et al. Preparation and characterization of noble metal nanocolloids by silk fibroin in situ reduction //Science in China Series B: Chemistry. – 2003. – Vol. 46. – №. 4. – P. 330-338.



15. Shivananda C. S. et al. Synthesis of silver nanoparticles using bombyxmori silk fibroin and their antibacterial activity //IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – IOP Publishing, 2016. – Vol. 149. – №. 1. – P. 012175. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/149/1/012175>
16. Sarymsakov, A. A., Baltaeva, M. M., & Eshchanov, K. O. (2024). Preparation and study of properties of sorbents based on the fibrous waste of “Bombyx mori” natural silk. *Latin American Applied Research-An international journal*, 54(4), 531-538.
17. Mane P. C. et al. Highly sensitive label-free bio-interfacial colorimetric sensor based on silk fibroin-gold nanocomposite for facile detection of chlorpyrifos pesticide //Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61130-y>

