



OQSILLAR TARKIBIDA ANTIBAKTERIAL METALLARNING SPEKTROSKOPIK TADQIQOTLARI

J.A.Axmedov¹, Sh.Q.Ermatov², O.A.Toshbekov³

¹Toshkent to'qimachilik va yengil sanoat instituti

²Termiz davlat muhandislik va agrotekhnologiyalar universiteti

³Termiz davlat universiteti

Annotatsiya. Ushbu maqolada pilla, tabiiy ipak fibroini va ulardan ajratib olingan seritsinning tarkibiy xususiyatlari hamda seritsinning akril kislotasi bilan payvand sopolimerining element tarkibi o'rganildi. Namunalardagi oqsil miqdori mineral elementlar esa ICP-OES usulida tahlil qilindi. Tadqiqot natijasida pilla, fibroin va seritsin tarkibidagi oqsil hamda antibakterial xususiyatga ega metall elementlarning miqdoriy tarkibi aniqlandi. Olingan natijalar seritsin asosidagi biomateriallardan ekologik xavfsiz va funksional kompozitsion materiallar yaratishda samarali foydalanish mumkinligini ko'rsatadi.

Kalit so'zlar: seritsin, tabiiy ipak, fibroin, pilla, oqsil, Kjeldal usuli, ICP-OES, akril kislotasi, payvand sopolimer, antibakterial metallar, biomaterial.

Аннотация. В данной статье исследованы структурные особенности серицина, выделенного из коконов и натурального шелкового фиброина, а также элементный состав привитого сополимера серицина с акриловой кислотой. Содержание белка в образцах и минеральный состав были проанализированы методом ICP-OES. В результате исследований определены количественное содержание белка в коконах, фиброине и серицине, а также содержание металлических элементов, обладающих антибактериальными свойствами. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования биоматериалов на основе серицина для создания экологически безопасных и функциональных композиционных материалов.

Ключевые слова: серицин, натуральный шелк, фиброин, кокон, белок, метод Кьельдаля, ICP-OES, акриловая кислота, привитой сополимер, антибактериальные металлы, биоматериал.

Abstract. This article investigates the structural characteristics of sericin extracted from silkworm cocoons and natural silk fibroin, as well as the elemental composition of the sericin graft copolymer with acrylic acid. The protein content and mineral composition of the samples were analyzed using the ICP-OES method. The study determined the quantitative protein content in cocoons, fibroin, and sericin, as well as the content of metallic elements possessing antibacterial properties. The obtained results demonstrate the potential of sericin-based biomaterials for the development of environmentally friendly and functional composite materials.

Keywords: sericin, natural silk, fibroin, silkworm cocoon, protein, Kjeldahl method, ICP-OES, acrylic acid, graft copolymer, antibacterial metals, biomaterial.

Kirish: Seritsin tabiiy ipakning muhim tarkibiy qismi bo'lib, uni ajratib olgan holda maqsadli foydalanish mumkin [1,2]. Ma'lumki ipak seritsini oqsili asosan serin (40%), glitsin (16%), glutamin kislotasi, asparagine kislotasi, treonin va triozin kabi aminokislotalar guruhlarini o'z ichiga oladi. U gidroksil, karboksil va aminoguruhlardan tashkil topgan qutbli yon zanjirlariga ega bo'lib, ular oson o'zaro bog'lanish, sopolimerlanish reaksiyalarni amalga oshirish hamda uni boshqa polimerlar bilan birlashtirilgan holda biologik parchalanadigan materiallarni hosil qilish imkonini beradi [3]. Jumladan Seritsin - ipak qurtidan olingan biomas keluvchi, biologik parchalanadigan, immunogen bo'lmagan, oqsilga asoslangan biomakromolekula bo'lib, ipak oqsilining 25-30% ni tashkil qiladi. So'nggi yillarda fizik, kimyoviy va kop funktsiyali biologik xususiyatlari (antibakterial, yallig'lanishga qarshi va antioksidant) tufayli seritsin asosidagi nanomateriallarga katta e'tibor qaratilmoqda. Seritsinning modulyatsiyalangan shakli boshqa polimerlar bilan aralashib, seritsinning fizik-kimyoviy xususiyatlarini yaxshilashi mumkin. U turli xil biotibbiyot, to'qimachilik va farmatsevtika dasturlari,



jumladan teri to'qimalarining yangilanishi, yaralarni bog'lash va dori vositalarini etkazib berish uchun biomaterial sifatida ishlatilgan [4].

Pilladan olingan ekologik toza seritsin plyonkalarini ishlab chiqarish ipakchilikda resurslarining mavjudligini va seritsin asosidagi materiallardan foydalanish imkoniyatlarini kengaytirishga qiziqishni oshiradi. Biroq, seritsinning mo'rtligi va zaif cho'zilish xususiyatlari, shuningdek, nam muhitga zaifligi uni ishlatishni cheklaydi. Seritsinning ushbu ikki kamchiliklarini bartaraf etish uchun bakterial tsellyulozadan (o'rtacha diametri: 25,4 nm) olingan, mavjud seritsin plyonkalarini jismoniy mustahkamlash va kimyoviy jihatdan o'zaro bog'lash qobiliyatiga ega funktsional nanokristal tayyorlandi. Seritsin plyonkasining optik, fizik-kimyoviy va mexanik xususiyatlarining yaxshilanishi ipak seritsin (SS) matritsasiga kiritilgan dialdegid bakterial tsellyuloza nanokristallari (D-CNC) bilan kuzatildi. D-CNC ning SS plyonkalariga jismoniy mustahkamlovchi ta'siri plyonkalarining mexanik xususiyatlarini yaxshilaydi. Shu bilan birga, D-CNC kimyoviy o'zaro bog'lanish reaksiyasi plyonkalarga UV himoyasi, suvga chidamlilik va antioksidant xususiyatlarni beradi. Suvli eritma yordamida olingan SS/D-CNC biokompozit plyonkasini bir vaqtning o'zida ishlab chiqarish, fizik mustahkamlash va kimyoviy o'zaro bog'lash suvda eruvchan biopolimer materiallarning, ayniqsa gidrofil oqsil resurslarining funktsionalligi va samaradorligini oshirish haqida ma'lumot beradi [5-9].

Tadqiqot usullari: Oqsil analizi Keldall usulida KDN-04C rusumli qurilmada olib borildi. Jarayon to'rt bosqichdan iborat: minerallash, distillash, titrlash va hisoblash.

Minerallash - Tajriba uchun har bir ildiz namunalari maydalanib har biridan 0,1 g miqdorda olindi. Minerallash qismida 2 ta kjeltab (tabletkalari) dan, sulfat kislotaning 98% li kons. eritmasi qo'llanildi. Katalizator sifatida har bir analiz uchun 0,2 g miqdorda Selen (Se)da foydalanildi.

Distillash - Keldal analizi uchun 37 – 40 % li ishqor (NaOH) eritmasi tayyorlab olindi. Har bir analizdan ajralib chiqqan ammiakmi birikirib olishi uchun 4 %li borat (H_3BO_3) kislotadan 50 ml eritmasidan foydalanildi. Qurilmaning texnik jihatdan to'liq ishga tayyor bo'lgach, ammiak borat kislotaga yutirib olindi.

Titrlash - Titrlash indikator sifatida 2% li metil zarg'aldog'idan foydalanamiz. Har bir ammiak yuttirilgan kolbaga 4-5 tomchidan metilzarg'aldog'i qo'shiladi va och pushti rang ($pH=3-4$)ga kirguncha tutrlanadi. Titrlash uchun sarflangan H_2SO_4 kislotaning 0.05 N li eritmasidan foydalanildi.

Hisoblash

$$x = \frac{(V_2 - V_1) * N * 0.014 * F}{m} * 100$$

X = Oqsilning foiz miqdori

V2 – Namunalari titrlash uchun sarflangan kislota ($n=0.05$; H_2SO_4) hajmi

V1 Standart namunani titrlash uchun sarflangan kislota ($n=0.05$; H_2SO_4) hajmi

N = kislota normlligi $n=0,05$

F = 6,25 (oqsil analizida qo'llaniladigan koeffisient.)

M = namuna massasi.

Olib kelingan namunani minerallash uchun ya'ni tiniq eritma holiga keltirish uchun 200 mg miqdorda analitik tarozi (FA220 4N XYSCALE analytical balance min. 0,0001g)da tortib olindi. Namunani mineral holga utkazish uchun minerallash qurilmasi (MILESTONE Ethos Easy, Italiya)dan foydalanildi. Buning uchun qurilmaning probirkasiga namuna (200 mg), distillash asosida tozalangan 6ml nitrat kislota (HNO_3) ya'ni infraqizil nur asosida ishlaydigan kislota tozalash (Distillacid BSB-939-IR) qurilmasida distillangan kislota va oksidlovchi sifatida 2 ml vodorod peroksidi (H_2O_2) solinadi. 40 minut davomida $180^{\circ}S$ da barcha aralashma mineral holga keltiriladi.

Minerallash jarayoni yakunlangach, probirkadagi aralashma alohida konussimon o'lchov kolbaga solinib 25 ml bo'lguncha, bidisstillangan suv (BIOSAN, Latviya) bilan suyultiriladi.

Kolbadagi eritma Avtonamuna olish bo'limidagi maxsus probirkalarga solinib analiz olish uchun joylashtiriladi. Tayyorlangan namuna analiz uchun **Avio200 ISP – OES** Induktiv bog'langan



plazmali Optik emission spektrometr (Perkin Elmer, AQSH)da analiz qilindi. Qurilmaning aniqlik darajasi yuqori bo'lib, eritma tarkibidagi elementlarni 10^{-9} g aniqlikgacha o'lchash imkonini beradi.

Natijalar va uning muhokamasi: Ushbu maqolada pilla va tabiiy ipak fibroin tarkibida qanday antibakterial metallar to'g'risida jarayon nazarda tutilgan. Ya'ni pillaning uchta namunasi va tabiiy ipak fibroinidan ajratib olingan seritsin hamda seritsinning akril kislotasi bilan payvand sopolimerining natijalari ko'rib chiqilgan. Jarayonning dastlabki bosqichida pilla, tabiiy ipak fibroini va seritsin tarkibida qancha foiz oqsillar borligi o'rganildi (Jadval -1).

Jadval -1

Analiz natijalariga asoslangan holda namular tarkibida quyidagicha miqdorda oqsil borligi aniqlandi:

Namuna nomi	Namuna massasi	Sarflangan $C_N=0,05$ li H_2SO_4 miqdori, (ml)			Umumiy oqsil miqdori (%)
		V1	V2	ΔV	
Pilla (Los)	0,175	1,6	2,65	1,05	2,63
Fibroin (Tabiiy ipak)	0,4	1,6	4,2	2,6	2,84
Pilla (Xitoy)	0,33	1,6	3	1,4	1,86
Pilla (Atlas)	0,438	1,6	3,3	1,7	1,70
Seritsin	0,28	1,6	9,4	7,8	12,2
Sopolimer	0,54	1,6	4,1	2,5	2,03

Jadvaldagi natijalar shuni ko'rsatyaptiki namunadagi massa har bir namunaga sarflangan sulfat kislotaning miqdori bir xil, ajralib chiqqan oqsillarning boshlang'ich to'rtlamchi strukturaga ega bo'lganlari miqdori kam ammo ikkilamchi ya'ni suvda eriydigan oqsillarning ajralib chiqish miqdori ko'pligini ko'rsatmoqda. Bu shunday tushunish kerakki, seritsinnig suvda yaxshi erishini isbotlaydi.

Undan tashqari oqsillar va sopolimer tarkibida qanday antibakterial metallarni borligini o'rgananimizda (Jadval-2) quyida keltirilgan jadvalga e'tabor qaratsak. Jadvaldagi natijafan shuni aytishimiz mumkinki, asosiy antibakterial metall ya'ni Ag (kumush) 0 mg tashkil etgan. Ammo sopolimerlanish jarayon o'tkazgan holda antibakteriallar moddalarni tabiiy materiallarga bog'lashni amalga oshirishni taxmin qilish mumkin.

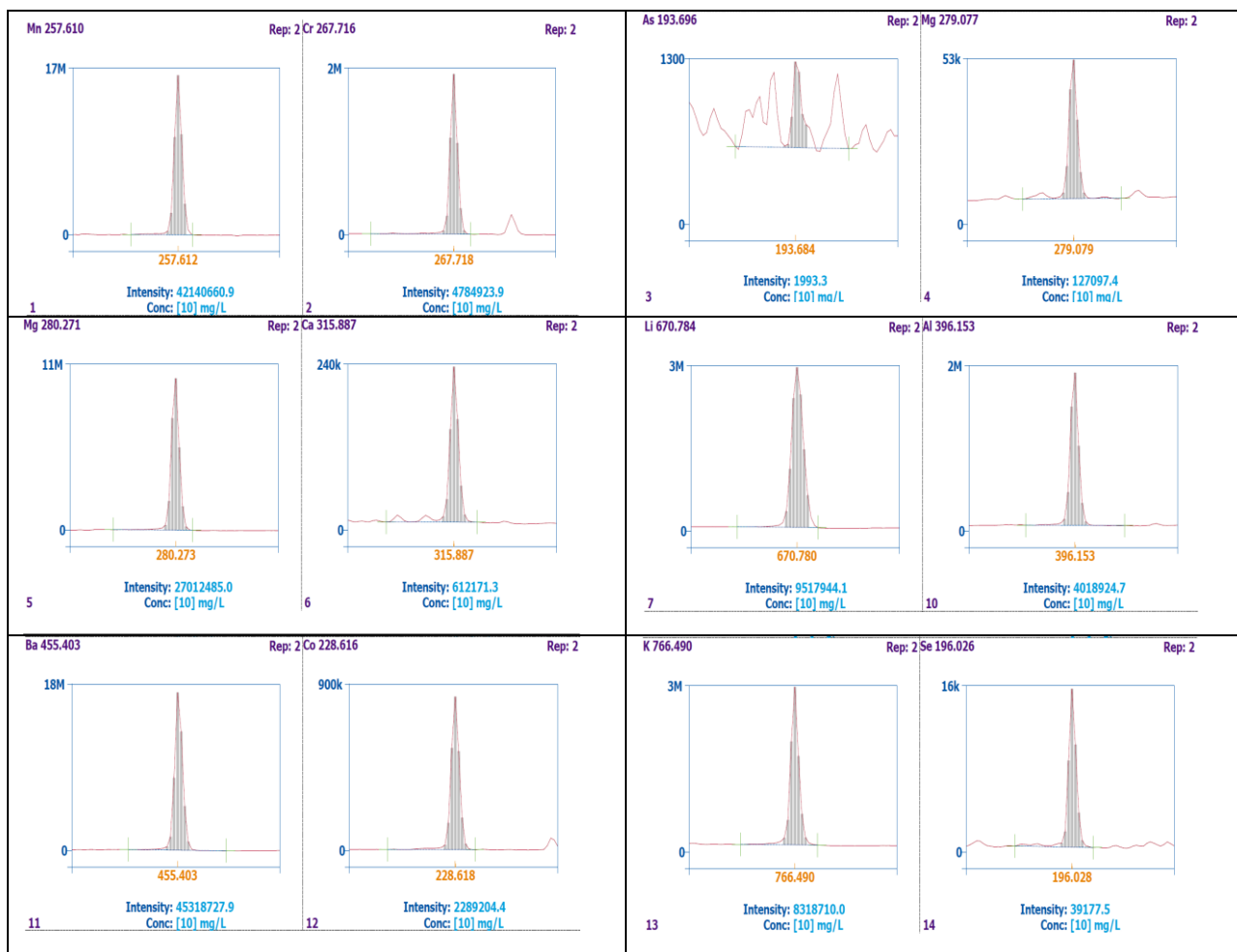
Jadval-2

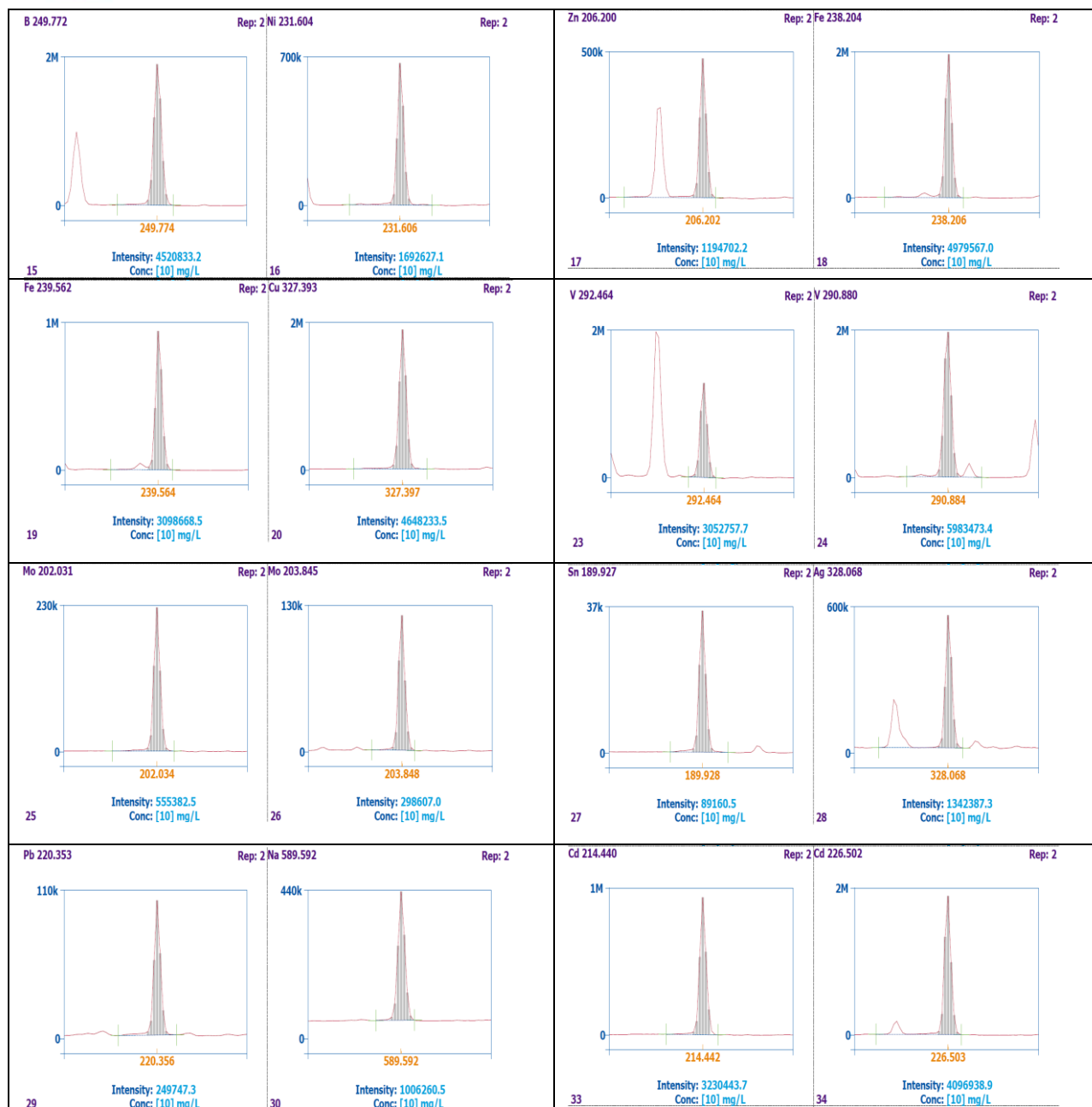
	Mn (mg/ 100g)	Cr (mg/ 100g)	As (mg/ 100g)	Mg (mg/ 100g)	Ca (mg/ 100g)	Li (mg/ 100g)	S (mg /100g)	Al (mg /100g)	Ba (mg /100g)
Xom ipak	0,696	0,566	0,266	78,097	441,227	0,225	0	22,019	1,000
Pilla atlas	0,404	0,412	0,399	60,439	302,005	0,146	0	4,424	0,176
Pilla (shiyi)	0,566	0,492	0,364	44,773	381,629	0,132	0	5,588	0,182
Seritsin	2,748	0,838	0,349	56,418	377,287	0,124	0	3,353	0,633
Los	1,592	0,369	0,121	84,120	186,166	0,466	0	7,950	0,633



Co (mg/100g)	K (mg/100g)	Se (mg/100g)	B (mg/100g)	Ni (mg/100g)	Zn (mg/100g)	Fe (mg/100g)	Cu (mg/100g)	Hg (mg/100g)	V (mg/100g)
0	57,979	1,671	1,037	1,570	4,144	36,866	0,871	0	0,514
0	54,819	2,458	0,569	0,839	0,361	7,889	0,228	0	0,320
0	31,304	2,182	0,408	0,790	0,325	7,628	0,308	0	0,288
0	31,932	1,356	1,615	1,591	31,528	7,048	0,804	0	0,176
0	13,222	0,518	1,007	2,395	2,116	14,698	1,209	0	1,015

Mo (mg/100g)	Sn (mg/100g)	Ag (mg/100g)	Pb (mg/100g)	Na (mg/100g)	P (mg/100g)	Cd (mg/100g)	Sb (mg/100g)
0,097	1,627	0	0,165	40,777	26,772	0,244	0,166
0,057	1,152	0	0,059	8,715	28,174	0,163	0,115
0,044	0,983	0	0,052	6,645	27,867	0,145	0,099
0,172	0,595	0	0,030	57,371	121,833	0,088	0,058
0,082	2,726	0	0,160	47,595	26,064	0,468	0,308





Xulosa: Pilla, Ipak va tabbiy ipakda ajratib olingan setitsin hamda uning sopolimeridan qandan antibacterial metallar borligi taxlil qilindi. Oqsillar tarkibida kam miqdorda bo'lsa ham metallar borlogini o'rgandik. Sopolimerlanish jarayoni bo'yicha antibakterial metallarni tolalarga bog'lanishini xulosa qilish mumkin. Chunki Ag metali mavzud bo'lmasada boshqa Zn va Al metallar antibacterial ekanligi adabiyotlardan ma'lum.



ADABIYOTLAR:

1. Jia Liu., Lin Shi Yan Deng., Meizhen Zou., Bo Cai., Yu Song., Zheng Wang., Lin Wang // Silk sericin-based materials for biomedical applications // Biomaterials Volume 287, August 2022, 121638
2. Rémi Bascou., Julie Hardouin., Mohamed Amine Ben Mlouka., Erwann Guénin. // Detailed investigation on new chemical-free methods for silk sericin extraction. Materials today communications Volume 33, December 2022, 10449
3. A.S.Rafikov, N.D.Nabiyev, S.X. Karimov // Physicochemical properties of graft copolymers of collagen and fibroin with polyacrylic acid // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science this link is disabled, 2021, 939(1), 012075
4. Сатиш Сундар Дилип Кумар Хайди Абрахамсе. Глава 10. Наноматериалы на основе серицина и их применение в доставке лекарств // Bio-Based Nanomaterials Протоколы синтеза, механизмы и приложения. Микро- и нанотехнологии 2022, страницы 211-229
5. Чонмин Нам, Юджин Хён, Субин О, Джинсок Парк, Хён-Джун Джин Хё, Вон Квак. Влияние сшиваемых нанокристаллов бактериальной целлюлозы на физико-химические свойства шелковых серициновых пленок // Тестирование полимеров Том 97, май 2021, 107161
6. Мунджу Шин, Седжун Ян, Хё Вон Квак, Ки Хун Ли. Синтез наночастиц золота с использованием серицина шелка в качестве восстанавливающего и закрывающего агента // European Polymer Journal Volume 164, 5 февраля 2022 г., 110960
7. Pornchai Rachtanapun, Araya Kodsangma, Nattagarn Homsaard, Sudarut Nadon, Pensak Jantrawut, Warintorn Ruksiriwanich Phisit, Seesuriyachan Noppol Leksawasdi Yuthana, Phimolsiripol, Thanongsak Chaityaso, Suphat Phongthai, Sarana Rose Sommano, Чарин Течапун, Тошиаки Угизава, Тосак Киттикорн, Сути Вангтуай, Джо М. Регенштейн, Киттисак Джантанасакулвонг. Термопластичные смеси крахмала бобов мунг/натуральный каучук/серицин для повышения маслостойкости // Международный журнал биологических макромолекул Том 188, 1 октября 2021 г., страницы 283-289
8. Джеймс Спаркс Крис Холланд. Реологические свойства нативного серицина // Acta Biomaterialia Volume 69, 15 марта 2018, Стр. 234-242
9. Реми Баску, Джули Хардуэн, Мохамед Амин Бен Млука, Эрванн Генен, Алла Нестеренко. Подробное исследование новых безхимических методов экстракции серицина из шелка // Materials today communications Volume 33, декабрь 2022, 104491