

RODAMİN 6G LAZER RƏNGİ VƏ SERİSİN ZÜLALININ QARŞILIQLI TƏSİRİN DAİRƏVİ DİXROİZM VƏ OPTİK ULTRABƏNÖVŞƏYİ GÖRÜNƏN SPEKTROSKOPİYASI VASİTƏSİLƏ TƏDQIQI

A.C. MƏMMƏDOVA (QULİYEVA)

AR ETN-nin Biofizika İnstitutu,
Bakı, Azərbaycan, Zahid Xəlilov 117
a.k134@hotmail.com

Serisin zülalın Rodamin 6G lazer rəngi ilə qarşılıqlı spesifik təsirə girərək hipoxrom effekti yaradır. Dairəvi dixroizm spektroskopiyası isə Rodamin 6G-də induksiya olunmuş optik aktivlik müşahidə olunur. Belə ki, serisin zülalı struktur biomaterial kimi deyil, həm də optik matris kimi lazer rəngində istifadə oluna bilər. Nəticələr serisin zülalının gələcəkdə biomaterial kimi, optoelektronikada və biofotonikada vacib rol oynadığını göstərir.

Açar sözlər: ipək fibroin, serisin, Rodamin 6G, hipoxrom effekt, spektrometr, dairəvi dixroizm.

DOI:10.70784/azip.2.2025321

Giriş

Müasir dövrdə biomaterialların tibb, bioelektronika və optik sahələrdə istifadəsi geniş inkişaf etmişdir [1]. Bu materiallar arasında ipək zülalları- fibroin və serisin özünəməxsus xüsusiyyətləri ilə fərqlənir. Suda həll oluna bilən serisin *Bombyx mori* ipək qurdu tərəfindən sintez olunur və fibrilyar fibroin liflərini birləşdirərək ipək sapını əmələ gətirir [2]. Onun molekulyar çəkisi 20–400 kDa arasında dəyişir və tərkibi 18 müxtəlif amin turşusundan ibarətdir. Serisin zülalının əksər hissəsini serin amin turşusu (30–33%) təşkil edir [3]. Serisinin strukturunda hidroksil, karboksil və amin funksional qrupları olduğundan, müxtəlif polimerlərlə qarşılıqlı təsirə girə bilər və bu da onu antioksidant, nəmləndirici, antibakterial və yara sağaldıcı xüsusiyyətlərə sahib biomaterial edir [4]. Serisin qlobulyar quruluşu malikdir, təsadüfi spiral konformasiyasında olmaqla hiqroskopik xüsusiyyəti ilə fərqlənir. O hidrotasiya və mexaniki gərilmə təsirindən β -vərəq quruluşlarına keçə bilər. Bu keçid onun həllolma qabiliyyətini azaldır, lakin gel əmələgətirmə və kristallıq dərəcəsini artırır [3]. Beləliklə, serisin zülalın struktur xüsusiyyətləri onu boyalarla, xüsusilə güclü flüoressensiya, yüksək kvant çıxışı və fotostabilliyi ilə seçilən lazer boyası olan Rodamin 6G ilə qarşılıqlı təsirini öyrənməyi əhəmiyyətli edir. Rodamin 6G (RHD 6G) – rodamin ailəsinə və ksanten qrupuna aid sintetik boyadır [5]. Yüksək kvant çıxışına malikdir və maye lazer sistemlərində geniş istifadə olunur [6]. Rodamin 6G lazer boya biotexnologiyada geniş tətbiq olunur [7]. Əvvəlki tədqiqatlar göstərir ki, ipək fibroinin matrisi yüksək konsentrasiyada Rodamin 6G lazer rənginin molekullarını monomer halda saxlayır və aqreqasiyanın qarşısını alır. Bununla yüksək kvant çıxışını saxlayır və bio-lazer texnologiyalarında geniş istifadəsinə şərait yaradır [8] [9].

Serisin-Rodamin 6G qarşılıqlı təsirlərinin öyrənilməsi bu materialların struktur və funksional xüsusiyyətləri mühüm əhəmiyyət daşıyır. Hazırkı tədqiqatlarda serisin zülalı-Rodamin 6G kompleksi qarşılıqlı təsirə girərək spesifik və güclü bağlanma ilə müşahidə olunur. [10] Belə ki burada spesifik birləşmə mexanizimi fibroin –RHD 6G kompleksinin mexanizmindən fərqlənir.

Aparılan tədqiqatlar nəticəsində serisin RHD 6G kompleksində birləşmə zamanı hipoxrom effekt və induksiya olunmuş dairəvi dixroizm (İDD) [11] müşahidə olunmuşdur.

Materiallar və metodlar

Tədqiqatlarda istifadə olunan maddələr Rodamin 6G, MetOH, NaH₂PO₄ – Sigma – Aldrich şirkətindən alınmışdır.

Serisin zülalının alınması

1.5 gr *B. mori* ipək baramaları kiçik hissələrə bölünərək 300 ml suda 1 saat qaynadılır. Qaynadıqdan sonra baramalar sudan xaric edilir. Qalan serisin tərkibli maye petri qablarına tökülərək 60°C sobada bir neçə gün qurudulur. Quruduqdan sonra toz kimi yığılan serisin zülalı tərəzidə çəkilir. Daha sonra lazımı qədər serisin götürülərək üzərinə 10mM NaH₂PO₄ buferi əlavə olunur və konsentrasiyası təyin olunur. Ultra bənövşəyi udulma spektroskopiyası (Shimadzu UV-2700) vasitəsilə ($\epsilon_{275} = 18575 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [12] serisin zülalının konsentrasiyası təyin edilmişdir. Rodamin 6G-nin stok məhlulunun konsentrasiyası isə ϵ (MetOH) = 116,000 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [13] istifadə olunaraq müəyyən edilmişdir. Hazırlanan məhlullar +4°C soyuducuda saxlanılır.

Ultrabənövşəyi-görünən udulma spektroskopiyası

Serisin Rodamin 6G titrləmə eksperimentləri ultrabənövşəyi-görünən udulma spektrləri Shimadzu UV-2700 spektrofotometri vasitəsilə ölçülmüşdür. Spektral zolağın eni 1.0 nm seçilmişdir. Spektral məlumatların işlənməsi OriginLab proqramı vasitəsilə həyata keçirilmişdir.

Dissosiasiya konstantının təyini

Rodamin 6G sabit saxlayaraq titrə edildikdə dissosiasiya konstantı aşağıdakı düsturdan istifadə edilərək hesablanmışdır:

$$y = 0.5A_{527nm}[(P_t + K_d + L_t) - \sqrt{(P_t + K_d + L_t)^2 - 4L_tP_t}] \quad (1)$$

Burada A_{527nm} – udulmanın 527 nm-də qiyməti, P_t - ümumi zülal konsentrasiyası, L_t – ümumi liqand konsentrasiyası. Stoxiometriya bir zülal bir liqand (1:1) kimi qəbul edir.

Rodamin 6G-nin zülalə birləşmiş hissəsi aşağıdakı düstura əsasən hesablanır:

$$\Delta A_{max} = A_{max}(zülalsız) - A_{max}(zülalla) \quad (2)$$

Dissosiasiya konstant aşağıda göstərilən düstur ilə hesablanır:

$$\Delta A = \frac{\Delta A_{max} \times [RHD_T]^n}{K_d + [RHD_T]^n} + c \quad (3)$$

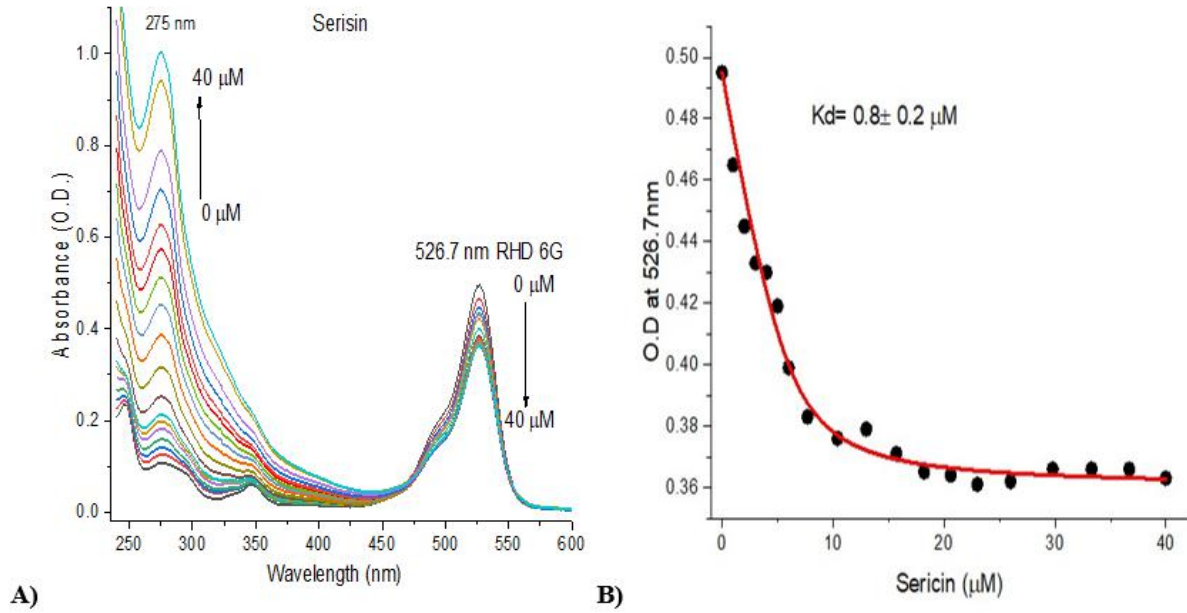
Burada RHD_T – titrlənən Rodamin 6G-nin ümumi konsentrasiyası, n - bağlanma kooperativliyi göstərən Hill əmsalı, ΔA_{max} – birləşmiş hissə, K_d - dissosiasiya konstantı .

Dairəvi Dixroizm (DD) Spektroskopiyası:

Serisin-Rodamin 6G komplekslərinin dairəvi dixroizm spektrləri Chirascan V100 (Applied Photophysics, UK) spektrometrindən istifadə olunaraq qeydə alınmışdır. DD ölçmələri 450-620 nm intervalında, addım ölçüsü 0.5 nm və spektral enliyi 1 nm olmaqla ölçülmüşdür.

Nəticələr və müzakirə

Serisin və Rodamin 6G molekulların qarşılıqlı təsir xüsusiyyətlərinin spesifikliyi və bağlanma stoxiometriyası titrləmə eksperimenti vasitəsilə tədqiq edilmişdir. Ultrabənövşəyi-görünən spektroskopiya metodundan istifadə edərək titrləmə eksperimentləri aparılmışdır. İlkin olaraq Rodamin 6G-ni sabit konsentrasiyada (6 μ M) saxlamaqla serisin zülalını konsentrasiyası 0-40 μ M dəyişdirərək spektrlər çəkilmişdi (şəkil 1A).



Şəkil 1. A) Rodamin 6G-nin sabit konsentrasiyasında (6 μ M) serisin zülalı (0-40 μ M) ilə titrləmə eksperimentinin udulma spektrləri. B) RHD 6G-nin λ_{max} = 526.7 nm udulmasının Serisin zülalının konsentrasiyasından asılılığı. OriginLab proqramı ilə analiz olunub. Qırmızı xətt- düstur (1)-ə uyğunlaşma xəttidir.

Rodamin 6G udulma spektri təqribən 530 nm ətrafında yerləşən piklə xarakterizə olunur, bu da ksanten halqa sistemindəki π - π^* elektron keçidinə aid edilir. Molekulun konformasiyası bu keçidin effektivliyini müəyyən etməkdə mühüm rol oynayır. Aparılan tədqiqatlar nəticəsində Rodamin 6G-nin udulma spektri 526.7 nm maksimum ilə müşahidə olunmuşdur [14] (şəkil 1A). Serisin zülalı üçün xarakterik maksimumu isə 275 nm dalğa uzunluğunda müşahidə olunmuşdur, bu da əsasən triptofan və digər aromatik amin turşularının udulması ilə əlaqəlidir.

Aparılmış eksperimentlərin nəticəsi olaraq, şəkil 1A-da göstərilmişdir ki, serisin zülalın konsentrasiyasını artırıdınca (0-40 μ M) RHD 6G udulma intensivliyi

ardıcıl olaraq azalır. Bu azalma hipoxrom effektin nəticəsində baş verir və RHD 6G molekulları ilə serisin zülalın molekulları arasında qarşılıqlı təsirin olduğunu birbaşa göstərir. Belə ki, molekullar bir-biri ilə kompleks əmələ gəldiyinə görə Rodamin 6G-nin konformasiya məhdudiyəti yaranır və nəticədə onun udulma xəttinə cavabdeh olan π - π^* keçidi ksanten halqa sistemindəki π -orbitaların üst-üstə düşməsinə əsaslanaraq hipoxrom effektinə (udulmanın azalması) səbəb olur [14]. Əvvəlki tədqiqatlarda, Rodamin 6G ipək fibroini ilə qarşılıqlı təsirə girərək bazoxrom sürüşmə yaratdığı qeyd olunmuşdur [15]. Burada isə əksinə, serisin ilə qarşılıqlı təsirə girərək hipoxrom effekt yaradır.

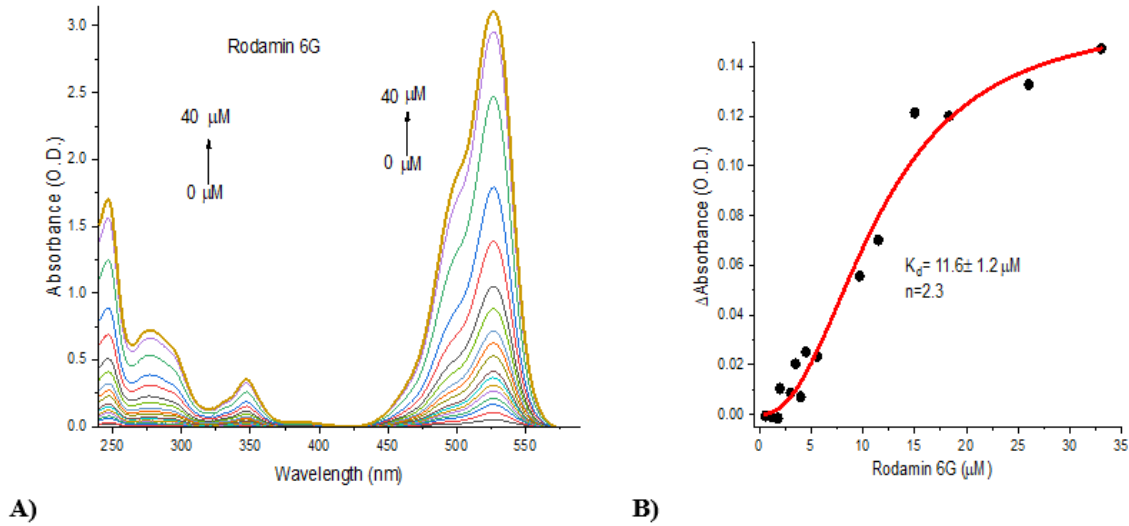
Şəkil 1B-də təqdim olunan kimi titrləmə eksperimentin nəticəsi olaraq dissosiasiya konstantı hesablanmışdır. Nəticə olaraq serisin Rodamin 6G qarşılıqlı təsiri əsasında dissosiasiya konstantı $K_d = 0.8 \mu\text{M}$ təyin edilmişdir və bu kifayət qədər güclü bağlanmanı xarakterizə edir. Digər tərəfdən stoxiometriya göstəricisi ($n \approx 1$) qəbul olunmuşdur, yəni serisin-RHD 6G molekulları bir birinə 1:1 olmaqla analiz olunub.

Bu nəticələr göstərir ki, serisin-Rodamin 6G qarşılıqlı təsiri yalnız elektrostatik qarşılıqlı təsir nəticəsi kimi izah edilmir, həm də molekulların struktur xüsusiyyətləri vacib rol oynayır. Serisinin yüksək hidrofily xüsusiyyətləri və çoxsaylı polar funksional qrupları ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$) Rodamin 6G-nin aromatik xromofor sistemi ilə hidrogen rabitələri və $\pi-\pi$ yığılması qarşılıqlı təsirlərinin formalaşmasına imkan yaradır.

Tamamlayıcı eksperimentlər olaraq serisin zülalının konsentrasiyasını sabit saxlamaqla ($15 \mu\text{M}$) RHD

6G konsentrasiyası dəyişdirilmişdir (şəkil 2). Bu tədqiqatın nəticələrinə görə, Rodamin 6G konsentrasiyası artdıqca hipoxrom effekt daha güclü müşahidə edilir, lakin müəyyən həddə çatdıqdan sonra sistem doyma mərhələsinə keçir və udulma dəyişiklikləri platoya çıxır (şəkil 2B). Bu növ kinetik xüsusiyyət zülal-liqand qarşılıqlı təsir modeli üçün xarakterikdir və bağlanma yerlərinin məhdud sayda olduğunu göstərir. Burada hesablanan $K_d = 11.6 \mu\text{M}$, $n = 2.3$ müsbət kooperativlik nümayiş etdirir.

Beləliklə, aparılan tədqiqatlar göstərir ki, Rodamin 6G ilə serisin zülalının qarşılıqlı təsiri hipoxrom effekt vasitəsilə baş verir, burada bağlanma kifayət qədər güclüdür ($K_d = 0.8 \mu\text{M}$) və 1:1 stoxiometriya ilə xarakterizə olunur. Bu nəticələr yalnız zülal-boya qarşılıqlı təsirlərinin əsas mexanizmlərini aydınlaşdırmır, həm də gələcəkdə bio-optik materiallarda və müxtəlif foto-funksional tətbiqlərdə serisinin potensial matris rolunu göstərir.[16]



Şəkil 2. A) Serisin zülalının sabit konsentrasiyasında ($15 \mu\text{M}$) RHD 6G konsentrasiyası dəyişməklə udulma spektrləri. B) Serisin zülalının $\lambda_{\text{max}} = 526.5 \text{ nm}$ udulmasının RHD 6G-nin konsentrasiyasından asılılığı. OriginLab proqramı ilə analiz olunub. Qırmızı xətt- düstur (3)-ə uyğunlaşma xəttidir.

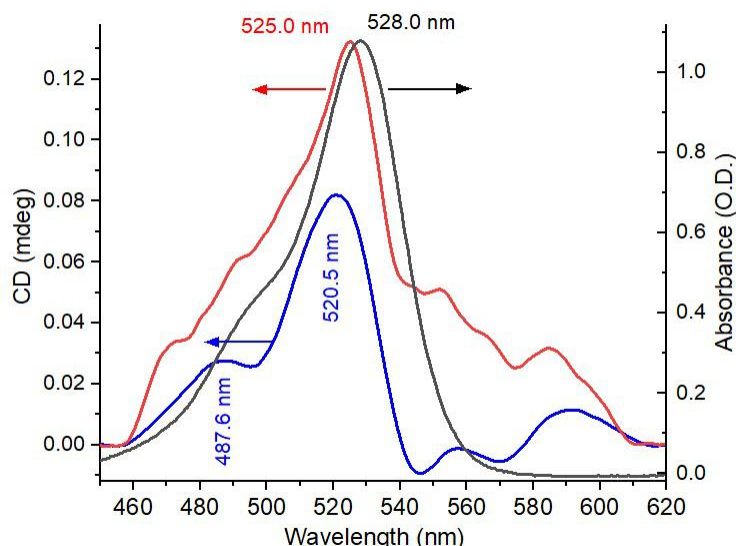
Dairəvi Dixroizm spektroskopiyası

Dairəvi dixroizm (DD) spektroskopiyası xiral molekulların quruluş və konformasiya xüsusiyyətlərini öyrənmək üçün geniş istifadə olunan güclü metodudur. Metodun əsası sol və sağ dairəvi polarizasiya olunmuş işığın müxtəlif dərəcədə udulması prinsipinə əsaslanır, bu da optik aktiv sistemlərin elektron keçidləri xarakterizə edir [17].

Hazırkı tədqiqatda DD spektroskopiyası serisin ilə Rodamin 6G (RHD 6G) kompleksinin arasındakı qarşılıqlı təsiri izləmək üçün tətbiq edilmişdir. Şəkil 3-də görüldüyü kimi, serisin-RHD 6G kompleksinin görünən işıq intervalında dairəvi dixroizm spektrləridir, bununla yanaşı sərbəst Rodamin 6G-nin udulma və dairəvi dixroizm spektri verilib.

Sərbəst halda RHD 6G molekulunun ətrafı simmetrik olduğuna görə zəif DD siqnalı göstərir. Lakin şəkildə də görüldüyü kimi, zülalla birləşərək kompleks yaratdıqda RHD 6G-nin ətrafı assimetrik olur və induksiya olunmuş dairəvi dixroizm (İDD) hadisəsi baş verir. Nəticə göstərir ki, sərbəst RHD 6G molekulun DD maksimumu 520.5 nm olduğu halda, serisin ilə qarşılıqlı təsire girərək 525 nm qırmızı sürüşmə nümayiş etdirir. Kompleksin udulması 528 nm -də müşahidə olunur. Bu sürüşmə və udulma dəyişiklikləri zülal-boya birləşmənin spesifik olduğunu göstərir.

Aparılan təcrübələrdə kompleks halında serisinin konsentrasiyası $40 \mu\text{M}$, RHD 6G-in konsentrasiyası isə $12 \mu\text{M}$. Nəticələr serisin-RHD 6G qarşılıqlı təsir nəticəsində molekulyar dinamikliyin azaldığını və daha stabil birləşmənin əmələ gəldiyini göstərir.



Şəkil 3. Serisin-Rodamin 6G kompleksinin görünən işıq intervalında dairəvi dixroizm spektrləri. Qırmızı xətt- Serisin-Rhd 6G kompleksin DD spektri, qara xətt- serisin RHD 6G kompleksin udulma spektri, mavi xətt sərbəst Rodamin 6G-nin görünən işıq spektri.

Nəticə

Aparılan tədqiqatlar göstərir ki, serisin zülalı RHD 6G lazer rəngi ilə qarşılıqlı təsirə girərək spesifik və güclü bağlanma nümayiş etdirir ($K_d=0.8 \mu\text{M}$, $n=1$). Bu qarşılıqlı təsir nəticəsində RHD 6G lazer rəngin optik xüsusiyyətləri dəyişir, udulma spektrlərində hipoxrom effekti müşahidə olunur.

Dairəvi dixroizm spektroskopiyası isə RHD 6G-da induksiya olunmuş optik aktivliyi aşkar etmişdir. Bununla, serisin zülalı struktur biomaterialı kimi deil, həm də optik matris kimi lazer rəngində istifadə oluna bilər. Bu nəticələr ipəyin 20% təşkil edən serisin zülalının gələcəkdə biomaterial kimi, optoelektronikada və biofotonikada vacib rol oynadığını göstərir.

- [1] F.J. O'Brien, "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," *Mater. Today*, vol. 14, № 3, pp. 88–95, 2011, doi: 10.1016/S1369-7021(11)70058-X.
- [2] M. Tsukada, T. Komoto, and T. Kawai, "Conformation of liquid silk sericin," 1979. doi: 10.1295/polymj.11.503
- [3] J.T. B Shaw and S.G. Smith, "Amino-acids of Silk Sericin.pdf," 1951.
- [4] R.I. Kunz, R.M. C. Brancalhão, L.D.F.C. Ribeiro, and M.R.M. Natali, "Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications," *Biomed Res. Int.*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/8175701.
- [5] P. Mandal, M. Bardhan, and T. Ganguly, "A detailed spectroscopic study on the interaction of Rhodamine 6G with human hemoglobin," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 99, № 2, pp. 78–86, 2010, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2010.02.009
- [6] P. Mandal, M. Bardhan, and T. Ganguly, "Spectroscopic investigations to reveal the nature of interactions between the haem protein myoglobin and the dye rhodamine 6G," *Luminescence*, vol. 27, № 4, pp. 285–291, 2012, doi: 10.1002/bio.1348.
- [7] P. Rao and S. D. George, "Optical spectroscopic probing of the interaction of graphene oxide-Au composite and Rhodamine 6G," *J. Mol. Struct.*, vol. 1334, no. July 2024, p. 141825, 2025, doi: 10.1016/j.molstruc.2025.141825.
- [8] O.K. Gasymov, C. Botta, L. Ragona, A.J. Guliyeva, and H. Molinari, "Silk Fibroin-Based Films Enhance Rhodamine 6G Emission in the Solid State: A Chemical-Physical Analysis of their Interactions for the Design of Highly Emissive Biomaterials," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 220, № 4, 2019, doi: 10.1002/macp.201970007.
- [9] S. Tomaselli et al., "Encapsulation of a rhodamine dye within a bile acid binding protein: Toward water processable functional bio host-guest materials," *Biomacromolecules*, vol. 14, № 10, pp. 3549–3556, 2013, doi: 10.1021/bm400904s.
- [10] A.C. Məmmədova (Guliyeva) "Rodamin 6G lazer rənginin ipək fibroini təbəqəsində zülal agregasiyasına təsiri: SEM strukturun analizi" *AJP Fizika*, volume XXXI № 2, section:A doi: 10.70784/azip.2.2025251.
- [11] J. Gawroński and J. Grajewski, "The significance of induced circular dichroism," *Org. Lett.*, vol. 5, № 18, pp. 3301–3303, 2003, doi: 10.1021/ol0352456.
- [12] J. Passent, "The molecular weight of sericin," *BBA - Protein Struct.*, vol. 147, № 3, pp. 595–

- 597,1967, doi: 10.1016/0005-2795(67)90021-9.
- [13] *R.F. Yunus, Y. M. Zheng, K. G. N. Nanayakkara, and J. P. Chen*, “Electrochemical removal of rhodamine 6G by using RuO₂ coated Ti DSA,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 48, № 16, pp. 7466–7473, 2009, doi: 10.1021/ie801719b.
- [14] *A.Al Masum et al.*, “Biochemical activity of a fluorescent dye rhodamine 6G: Molecular modeling, electrochemical, spectroscopic and thermodynamic studies,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 164, pp. 369–379, 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.002.
- [15] *L. Ragona et al.*, “Rhodamine binds to silk fibroin and inhibits its self-aggregation,” *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics*, vol. 1866, № 5–6, pp. 661–667, 2018, doi: 10.1016/j.bbapap.2018.03.009.
- [16] *R. Aad, I. Dragojlov, and S. Vesentini*, “Sericin Protein: Structure, Properties, and Applications,” *J. Funct. Biomater.*, vol. 15, № 11, 2024, doi: 10.3390/jfb15110322.
- [17] *G.D Fasman*,. *Circular dichroism and the conformational analysis of biomolecules*. Plenum Press, 1996.

A.J. Mammadova (Guliyeva)

STUDY OF THE INTERACTION BETWEEN RHODAMINE 6G LASER DYE AND SERICIN PROTEIN BY CIRCULAR DICHROISM AND OPTICAL ULTRAVIOLET-VISIBLE SPECTROSCOPY

Sericin protein interacts specifically with the Rhodamine 6G laser dye to produce a hypochromic effect. Circular dichroism spectroscopy shows induced optical activity in Rhodamine 6G. Thus, sericin protein can be used not only as a structural biomaterial, but also as an optical matrix in laser dye. The results indicate that sericin protein will play an important role in the future as a biomaterial, in optoelectronics, and in biophotonics.

Qəbul olunma tarixi: 14.09.2025