

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ПТИЦЕФАБРИК

О.С. Корнеева, Т.В. Свиридова, Г.П. Шуваева, О.Л. Мещерякова, Е.А. Василяки

В настоящее время средний уровень переработки отходов пищевой промышленности составляет около 20 %, остальные 80 % утилизируют путем сжигания или захоронения, что может привести к серьезным экологическим последствиям. Особенно актуальна эта проблема для птицеперерабатывающей промышленности. В процессе забоя птицы образуется большое количество отходов белковой природы, которые при рациональном подходе можно использовать для получения различных полезных продуктов – от белковых гидролизатов до биополимеров и биоводорода. Особые трудности возникают при утилизации пухо-перьевых отходов, составляющих около 7,5 % от живого веса птицы. Основным компонентом перьев является фибриллярный белок – кератин, высокоустойчивый к механической и химической обработке из-за большого количества дисульфидных связей.

Решение проблемы рациональной утилизации кератинсодержащего сырья возможно средствами биотехнологии, в частности, путем использования специфических ферментов – кератиназ (КФ 3.4.99.12), которые разрушают компактную структуру кератиновой молекулы до усвояемых компонентов, что способствует улучшению их функциональности и повышению биологической ценности.

На Российском рынке в настоящее время доминируют импортные ферментные препараты, в особенности кератиназы, которые производят такие компании, как DSM (Нидерланды), NOVUS (США), DuPont (США), Moehs Group (Испания). Их доля в общем объеме импорта 2019 года составила 78 %. На продукцию же отечественных производителей приходится только 20–22 % от всего товарооборота данного биопрепарата.

В связи с этим, поиск новых высокоактивных продуцентов кератиназ, подбор питательной среды и рациональных условий их культивирования, обеспечивающих максимальную биосинтетическую способность микроорганизмов, является перспективным направлением исследований в биотехнологии. Способностью синтезировать кератиназу обладают представители микромицетов, бактерии, активные продуценты встречаются среди актиномицетов.

Поэтому, объектами наших исследований служили микромицеты *Aspergillus niger* и бактерии родов *Bacillus subtilis* и *Streptomyces variabilis* из музея чистых культур кафедры биохимии и биотехнологии ВГУИТ.

Скиринг микроорганизмов-продуцентов кератиназ осуществляли на различных питательных средах следующего состава г/л: среда ISP – пивное сусло 90 см³, крахмал растворимый 5 г, карбонат кальция 3 г, дрожжевой экстракт 5 г; Среда Чапека; пивное сусло с содержанием 7–8 % сухих веществ; мясо-пептонный бульон. Культивирование продуцентов проводили при температуре 27 °С, частоте вращения шейкер-качалки 150 об/мин, в течение трех суток.

Кератиназную активность определяли спектрофотометрическим методом. В качестве субстрата использовали перо (прошедшее предварительную обработку хлороформом и высушенное на воздухе) в 0,05 М баратном буфере рН 9,0. Гидролиз проводили при температуре 37 °С в течение 3 ч, нерасщепленный белок осаждали раствором трихлоруксусной кислоты и фильтровали. В фильтрате измеряли оптическую плотность при длине волны 340 нм. За единицу кератиназной активности принимали такое количество фермента, которое катализирует образование 1 мг белка в 1 см³ за 1 час в оптимальных условиях опыта.

Установлено, что максимальную биосинтетическую способность в отношении кератиназы проявлял актиномицет *St. variabilis* на модифицированной среде ISP, содержащей в качестве источника углерода картофельный крахмал в количестве 0,5 %, источника азота – 0,5 % пера, которую использовали в дальнейших исследованиях. Подбор оптимальных условий культивирования продуцента показал, что максимальное накопление кератиназы наблюдалось при начальном значении рН среды 8,0, температуре 25 °С и продолжительности выращивания 72 ч.

Таким образом, культивирование *St. variabilis* на модифицированной питательной среде ISP при оптимальных параметрах процесса позволило повысить биосинтетическую способность актиномицета в отношении кератиназы в 2,9 раза.