

может быть устойчивой. Экономическая подсистема должна рассматриваться совместно с глобальной экологической системой, частью которой она является и которая и должна быть объектом научного анализа.

Создание и внедрение экологических инноваций лежат в основе новой научно-технической революции. В соответствии с этим особенно актуальной является решение проблемы экологизации всей системы образования на основе новой научной парадигмы, ориентированной на коэволюцию природы и человека. Экологизация научного знания находит свое проявление в возникновении новых научных направлений. Путь к устойчивому развитию лежит через совершенствование управления природопользования, экономикой и обществом на всех уровнях: от глобального до локального. В связи с этим первостепенная роль должна отводиться образованию, обучения и распространения знаний в области охраны природы. Это позволит мобилизовать общество в поддержку устойчивого развития, воплотить принципы экологической этики в жизнь, разработать и осуществить программу, направленную на охрану природных ресурсов и снижение уровня их потребления. Переход к устойчивому развитию создает возможность выживания и дальнейшего непрерывного развития цивилизации, но в существенно измененной, биосферосовместимой, форме, когда человек не разрушает природную среду своего обитания – эту естественную «колыбель» любой жизни, в том числе и разумной. Суть экологической грамотности заключается в усвоении мудрости природы. Следует не только понимать принципы организации экологических сообществ (экосистем), но и использовать эти принципы для организации и поддержания устойчивых человеческих сообществ в сфере образования, науки, культуры, экологии, политики и т. д. Экологическая этика в контексте экологического образования является главным средством формирования экологической культуры. Глубокое изучение системной организации биосферы, выявление роли человека по отношению к ней, основных параметров взаимодействий человека и биосферы нацеливает на разработку и осуществление стратегии коэволюции как совместного бесконфликтного развития человечества и природы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вернадский, В. И. Очерки геохимии / В. И. Вернадский // Начало и вечность жизни / Сост., вступ. ст., коммент. М. С. Бахраковой, И. И. Мочалова, В. С. Неаполитанской. – М.: Сов. Россия, 1989. – С. 249–250.
2. Вернадский, В. И. Химическое строение биосферы Земли и ее окружения / В. И. Вернадский. – М.: Наука, 2001. – 376 с. – С. 105.
3. Вернадский, В. И. Об условиях появления жизни на Земле // Владимир Вернадский: Жизнеописание. Избранные труды. Воспоминания современников. Суждения потомков / Сост. Г. П. Аксенов. – М.: Современник, 1993. – С. 384–385.
4. Вернадский, В. И. Несколько слов о ноосфере / В. И. Вернадский // сб. Философские мысли натуралиста. – М., 1988. – С. 503–512.

## МИКРОБНЫЕ КЕРАТИНАЗЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ БОРЬБЫ С ПРОМЫШЛЕННЫМИ ОТХОДАМИ MICROBIAL KERATINASES AS A POTENTIAL AGENT FOR COMBATING INDUSTRIAL WASTE

**Дж. А. Миронова**  
**J. Mironova**

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
dzhesikamironova29@mail.ru  
Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

Ежегодные глобальные отходы куриных перьев составляют 8,5 млн т. Из числа всех отходов птицы максимальную заинтересованность представляет перо-пуховое сырье, так как именно в нем содержится около 65 % кормового белка (специализированный белок – кератин), следовательно, решение такой задачи, как перевод основного белка пера в усвояемую форму имеет первостепенное значение как с позиции мобилизации резервов животного белка, так и с точки зрения охраны окружающей среды.

Поскольку биотехнологические методы считаются экономически эффективными и экологически чистыми, интересной альтернативой для борьбы с отходами является деградация кератина микроорганизмами. В работе приведены общие сведения о кератиназах, продуцируемых кератинолитическими микроорганизмами, и возможных сферах их применения.

The annual global waste of chicken feathers is 8.5 million tons. Of all the waste of poultry, feather-down raw materials are of the most interest, since it contains about 65 % of feed protein (specialized protein - keratin), therefore,

the solution of such a task as transferring the main protein of a feather to digestible form is of paramount importance as with positions of mobilization of reserves of animal protein, and from the point of view of environmental protection.

Since biotechnological methods are considered cost-effective and environmentally friendly, an interesting alternative to combating waste is the degradation of keratin by microorganisms. The paper presents a general information about keratinases, that produced by keratinolytic microorganisms, and possible scopes of their application.

*Ключевые слова:* кератин, кератиназы, кератинолитические микроорганизмы, кератиновые отходы, *B. Subtilis*.

*Keywords:* keratin, keratinase, keratinolytic microorganisms, keratin waste, *B. Subtilis*.

Интенсивное развитие экономической деятельности человека, включая сельскохозяйственную и животноводческую промышленность, а также обрабатывающие отрасли кожи, связано с выделением побочных продуктов в окружающую среду. Ежегодные глобальные отходы куриных перьев составляют 8,5 млн т. По данным Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь в 2014 г. образование отходов производства достигло максимальной величины за последние 10 лет и составило 52,5 млн т, среди которых отходы растительного и животного происхождения – составляют 5349 тыс. т (28,1 %). На основе этих данных можно сделать вывод, что никакая другая отрасль общественного производства не связана так с использованием природных ресурсов, как сельское хозяйство.

Из числа всех отходов птицы максимальную заинтересованность представляет перо-пуховое сырье, так как именно в нем содержится около 65 % кормового белка (специализированный белок – кератин), следовательно, решение такой задачи, как перевод основного белка пера в усвояемую форму имеет первостепенное значение как с позиции мобилизации резервов животного белка, так и с точки зрения охраны окружающей среды.

Кератиновые побочные продукты (КПП) классифицируются на три категории отходов в соответствии с нормами Европейского парламента (табл. 1). Мировое птицеводство ежегодно производит около 2 млн т куриных перьев. Кроме того, во всем мире поголовье скота также производит миллионы тонн кератиновых отходов в форме шкуры, шерсти и копыт. Другим источником КПП являются меховая промышленность, мясоперерабатывающие предприятия, а также бойни.

*Таблица 1 – Классификация побочных продуктов животного происхождения*

Категория 1 (высокий риск)	Категория 2 (высокий риск)	Категория 3 (низкий риск)
Включает в себя туши / части тела животных, погибших от трансмиссивной губчатой энцефалопатии, заразных заболеваний; от экспериментальных процедур, незаконных методов лечения	Включает в себя туши / части тела животных, имеющих инфекционные заболевания и подвергшихся разрешенному лечению. Помимо этого включает материалы желудочно-кишечного тракта животных	Включает кожу животных, копыта, перья, шерсть, рога, волосы и т. д. без признаков инфекционных агентов. Также включает яйца и части тела животных, предназначенных для потребления человеком

Кератиновые побочные продукты состоят исключительно из кератиновых белков, которые являются одним из типов фиброзных структурных белков, синтезируемых эпителиальными клетками высших позвоночных [1]. Все вышечисленные КПП создают экологический дисбаланс и являются источником загрязнения воздуха, почвы и воды. Кроме того, они также выступают в качестве ареала для поддержания жизнедеятельности многих патогенных микроорганизмов, которые являются причиной ряда опасных заболеваний человека и животных.

Согласно отчетам Министерства сельского хозяйства США, отходы птицеводства, при отсутствии надлежащего управления, приводят к выбросам различных загрязняющих веществ, таких как аммиак, закись азота, сероводород. Из-за выброса пахучих газов работники данных предприятий жалуются на головные боли, раздражение глаз, горла и носа, тошноту, диарею и т. д. Эти газы также вызывают такие заболевания, как болезнь Ньюкасла, воздушный саккулит и кератоконъюнктивит. Таким образом, необходимы новые разработки для сокращения этих отходов кератина. В природе кератиновые отходы используются рядом микроорганизмов, известных своей способностью производить протеолитический фермент, то есть кератиназу, которая действует на жесткую структуру кератинового белка, представленного в этих отходах. Эти кератинолитические микроорганизмы используют КПП в качестве источника углерода и азота, прокладывая путь для снижения неэффективности этих отходов для окружающей среды.

Деградация этого белка возможна с участием специфических микробных протеолитических ферментов-кератиназ. Типичные способы переработки отходов кератина в кормовые ингредиенты включают механическую, гидротермальную и термохимическую обработку. Однако эти модификации обычно являются дорогостоящими и энергоемкими, а полученные продукты в значительной степени характеризуются низкой питательной ценностью, а также дефицитом основных аминокислот. Дополнительные обработки с концентрированными щелочами (KOH, NaOH, Ca(OH)<sub>2</sub>) или восстанавливающими соединениями (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>S), несмотря на повышенную эффективность гидролиза кератина, приводят к образованию других неприятных веществ, потере метионина, лизина и триптофана, а также к образованию небелковых аминокислот [2].

Поскольку биотехнологические методы считаются экономически эффективными и экологически чистыми, интересной альтернативой этим методам является деградация кератина микроорганизмами из-за более низкой стоимости, отсутствия экологической опасности и выхода потенциально значимых продуктов. Ключевым направлением современной биотехнологии являются исследования, направленные на увеличение перспектив переработки кератинсодержащего сырья с целью обеспечения экологичности производств за счет формирования безотходных и малоотходных технологий при максимальном вовлечении побочных продуктов переработки в основное производство. В связи с этим, на сегодняшний день большое значение и актуальность приобретают исследования, направленные на использование ферментативных процессов переработки кератинсодержащего сырья, в том числе с применением штаммов-продуцентов кератинолитических ферментов. Микроорганизмы разрушают кератин до пептидов и аминокислот, которые накапливаются в культуральной среде и частично метаболизируются в качестве основных строительных элементов – углерода и азота.

Кератиназы – специфический вид протеолитических ферментов, обладающих способностью к гидролизу (расщеплению) нерастворимого кератина. Данная группа ферментов играет решающую роль в гидролизе перьев, волос, шерсти, коллагена и других кератиновых структур, которые на сегодняшний день создают «проблему твердых отходов».

Из-за своих уникальных характеристик кератиназы имеют потенциальные возможности применения в промышленных областях, таких как животноводство, обработка перьев птицы, производство моющих средств, детергентов, кожевенная, кормовая промышленность и многих других. Изучение механизмов, обеспечивающих эффективную деградацию кератина, является промышленно и экологически важным.

Кератинолитическая активность обнаружена в ряде микроорганизмов, в частности стрептомицетах (*Streptomyces* sp. A11, *Streptomyces pactum* DSM 40530, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces* sp. S. K1-02, *Streptomyces ornatus*, *Streptomyces chromogenes* s. *graecus* ЛИА 0832, *Streptomyces lavendulae* ВКПМ s-910) и грибах (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum fulvum*, *Dermatophilus congolensis*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton simii*, *Trichophyton schoenleinii*, *Chrysosporum georgiae*, *Scopulariopsis brevicaulis*) [3].

Известен штамм *Bacillus subtilis*-103. При выращивании его в колбах максимальное образование ферментов в среде наблюдается после 48–50 ч роста. Максимальная протеолитическая активность (60–70 ед/мл и 29–30 мг тирозина на 1 мл) проявляется в слабокислых и нейтральных зонах pH, 6,6–7,5. Однако штамм *B. subtilis*-103 не обладает достаточно высокой протеазной активностью, что усложняет процесс получения высокоактивных препаратов протеолитических ферментов. Кроме того, при глубинном культивировании штамма результаты ферментации не стабильны, сама культура подвержена фаголизису, и, как следствие, выход продукции невысок.

Известен штамм *Bacillus* sp. АН-101, продуцирующий щелочную кератиназу с оптимальным pH действия 12–13, которая специфично гидролизует кератин человеческого волоса. Данный микроорганизм выращивают при 37 °С в течение 56 ч на достаточно сложной среде, содержащей растворимый крахмал, желатин, дрожжевой экстракт и набор неорганических солей; pH среды доводят до 9,5 добавлением NaHCO<sub>3</sub>. Активность кератиназы *Bacillus* sp. АН-101 – высока, но недостаточна для промышленного внедрения фермента.

Известен бактериальный штамм *Bacillus licheniformis* 31. Установлено, что *B. licheniformis*, выделенный из мяса крупного рогатого скота, обладает высокой кератинолитической активностью. Это в свою очередь свидетельствует о возможности использования штамма *B. licheniformis* в качестве источника кератиназы с высокой активностью.

Известен штамм *B. licheniformis* ВКМ В-222ОД – продуцент кератиназы (сериновой протеазы), который может быть использован в микробиологической промышленности для производства ферментных препаратов, применяемых в легкой промышленности и в сельском хозяйстве, где требуется гидролиз нативного кератина. Штамм *B. licheniformis* ВКМ В-222ОД обладает повышенной способностью к биосинтезу кератиназы и продуцирует не менее шести внеклеточных ферментов, в том числе щелочную протеазу и  $\alpha$ -амилазу, которые усиливают гидролизующий эффект кератиназного препарата. Однако штамм *B. licheniformis* ВКМ В-222ОД обладает высокой продуктивностью, преимущественно в отношении фермента кератиназы, специфично гидролизующей кератиноподобные белки, которые отличаются устойчивостью к деградации обычными протеолитическими ферментами, и гораздо в меньшей степени – в отношении комплекса щелочных протеаз, необходимых для гидролиза растительных белков.

Недостатками вышеперечисленных продуцентов являются низкая продуктивность и сложность способа культивирования. Кроме того, микроорганизмы рода *Microsporum*, *Dermatophilus* и *Trichophyton* являются патогенными и не могут использоваться для промышленного получения ферментных препаратов.

С целью определения наиболее эффективного штамма было проведено исследование, в котором оценивались три штамма из рода *Bacillus* (*B. subtilis* LFB-FIOCRUZ 1270, *B. subtilis* LFB-FIOCRUZ 1273 и *B. licheniformis* LFB-FIOCRUZ 1274) для производства кератиназы с использованием пера в качестве единственного источника углерода и азота. Микроорганизмы, выделенные в этом исследовании, представляют потенциал для биотехнологий. *B. subtilis* 1273 был наиболее эффективным при кератиндеградации.

Промышленное применение кератинолитических протеаз требует крупномасштабного производства с большими экономическими затратами. Получение микробной кератиназы индуцируется, когда кератин используется в качестве субстрата, и, таким образом, остатки, богатые кератином (например, куриные перья или волоски) часто добавляют в культуральную среду. Эти кератиновые материалы получают в больших количествах путем агропро-

мышленной деятельности и обычно выделяются как отходы, которые вызывают загрязнение окружающей среды и представляют собой угрозу для здоровья. Кератиновые отходы также сопровождаются другими примесями. Например, перья домашней птицы имеют остаточную плоть, хрящ, кровь и т. д.; человеческие волосы содержат пыль, косметические средства и т. д. Для правильного использования их необходимо предварительно обработать растворителем для удаления жирового материала; высушить и измельчить, чтобы довести этот отработанный материал до подходящего размера. Только после всех этих этапов кератинолитические микроорганизмы смогут эффективно воздействовать на кератиновые отходы [4].

Исследования показали, что дополнительные источники азота, а именно: мочевины, пептон, триптон, дрожжевой экстракт, хлорид аммония и нитрат натрия приводят к увеличению титра кератиназы. Основная причина увеличения производства ферментов может быть обусловлена первоначальной поддержкой роста микроорганизмов этими легко доступными метаболитами, которые в дальнейшем повышают их потенциал использования кератина. Кроме того, этот процесс является специфическим и зависит от изучаемых микроорганизмов. Следовательно, исследование микробиологического разнообразия, а также идентификация и выбор подходящих штаммов необходимы для достижения экономически целесообразного производства кератиназы.

Однако полный коммерческий потенциал кератиназы еще предстоит реализовать. Применение технологии рекомбинантной ДНК для увеличения выхода кератиназы имеет определённый успех. В настоящее время основной упор в этой области по-прежнему лежит на выявлении новых изолятов с высокой активностью кератиназы и улучшении выхода с использованием обычных и рекомбинантных ДНК-подходов в дополнение к оптимизации физических и пищевых параметров для максимизации выхода кератиназы.

Кератиназы и кератинолитические микроорганизмы могут быть использованы в различных отраслях, а именно: моющие средства, кожевенная промышленность, продукты питания и корм, медицинская и фармацевтическая промышленности, утилизация отходов и т. д. В сравнении с традиционными микробными протеазами, кератиназы могут продуцироваться микроорганизмами, которые обладают способностью использовать обильные кератиновые отходы как источники углерода и азота. Высокая производственная стоимость является одним из основных препятствий в промышленном производстве ферментов. Следовательно, использование избыточных количеств кератиновых отходов сделает процесс более экономичным и увеличит области применения кератиназы.

В текстильной промышленности кератиназы могут заменить традиционные физико-химические методы, создающие загрязнение. Кроме того, кератиназы используются для производства многих продуктов (таких как детергенты, лекарства и косметика), а также в кожевенной промышленности.

Также кератиназы являются перспективными препаратами и применяются в различных областях, где необходим гидролиз кератинов: в биомедицинской, фармацевтической и косметической отрасли для гидролиза прионов, приготовления вакцин при лечении дерматофитозов, производства биоактивных пептидов, удаления кератина при лечении псориаза и акне. С помощью фермента растворяются отмершие клетки кожи, осуществляется основательное и глубокое очищение.

Растительные материалы, богатые кератином, производятся в огромных количествах естественным путем, но ограничены в практическом использовании из-за их нерастворимости и неразлагаемости обычными протеолитическими ферментами.

Таким образом, в последнее время число экологических проблем непрерывно возрастает, следовательно, существует потребность в экологически чистых технологиях для борьбы с неразлагающимися самостоятельно кератиновыми отходами, для того чтобы защитить окружающую среду и нас самих от их вредных последствий. Кератиназы, в свою очередь, являются естественными катализаторами для борьбы с проблемой кератиновых отходов, превращая их в высокоценные продукты. Однако, это требует детальных исследований в изучении различных видов микроорганизмов, которые могут быть рассмотрены в качестве потенциальных производителей кератиназы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kornilowicz-Kowalska, T. Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects / T. Kornilowicz-Kowalska, J. Bohacz // Waste Manage. 2014. – Vol. 14. – P. 49–56.
2. Gupta, R. Microbial keratinases and their prospective applications: an overview / R. Gupta, P. Ramnani // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2006. – Vol. 70. – P. 21–33.
3. El-Naghy, M. A. Degradation of chicken feathers by *Chrysosporium georgiae*. / M. A. El-Naghy [et al.] // Mycopathologia. – 1998. – V. 143. – No 2. – P. 77–84.
4. Anbu, P. Optimization of extracellular keratinase production by poultry farm isolate *Scopulariopsis brevicaulis* / P. Anbu [et al.] // Bioresource Technology. 2007. – Vol. 98. – P. 1298–1303.