УДК 604.8:637.58 *https://doi.org/10.31861/biosystems2026.02.240*

ФЕРМЕНТАТИВНА ВАЛОРИЗАЦІЯ ПТАШИНОГО ПІР'Я: СУЧАСНІ МЕХАНІЗМИ СИНЕРГЕТИЧНОГО КЕРАТИНОЛІЗУ ТА ПРИКЛАДНИЙ ПОТЕНЦІАЛ КЕРАТИНОВИХ ГІДРОЛІЗАТІВ

П.І. ФОЛОВКО, Н.Г. МАРІНЦОВА, С.В. ПОЛОВКОВИЧ, Л.Р. ЖУРАХІВСЬКА, А.І. КАРХУТ

Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
79013, м. Львів, вул. Степана Бандери, 12.
pavlo.i.folovko@lpnu.ua

Пташине пір'я є одним із наймасовіших кератиновмісних побічних продуктів птахівництва: лише виробництво курятини щорічно генерує понад 4,7 млн тонн пір'я, утилізація якого залишається важливою екологічною та технологічною проблемою. Традиційні методи поводження з пір'ям – захоронення на полігонах, інсинерація та гідротермічний рендеринг – супроводжуються емісією токсичних газів, значними енерговитратами та деструкцією термолабільних амінокислот з утворенням непоживних лізиноаланіну й лантіоніну. Висока стійкість β-кератину до біодеградації зумовлена багаторівневою структурною організацією, що включає дисульфідний каркас, розвинену систему водневих і гідрофобних взаємодій та поверхневий ліпідно-білковий бар'єр. У цьому огляді показано, що ефективна ферментативна деградація кератину визначається не активністю окремої кератинази, а синергетичною взаємодією редукційних і протеолітичних процесів, які забезпечують послідовне руйнування структурних бар'єрів β-кератину. Так, ізольовані кератинази деградують лише 10–20% нативного пір'я, тоді як поєднання серинової протеази з дисульфід-редуктазою підвищує кератинолітичну активність з 83 до 4450 KU/мг. Узагальнено сучасні уявлення про роль сульфітолізу, тіол-дисульфідного обміну, редокс-ферментів (цистеїндіоксигенази, глутатіонредуктази, γ-глутамілтранспептидази) та мультиферментних систем у підвищенні ефективності кератинолізу, а також про залежність механізмів генерування відновлювального потенціалу від виду мікроорганізму. Розглянуто роль метаболізму цистеїну як біогенного джерела сульфіту та показано, що вільні тіоли є транзієнтними інтермедіатами, окиснювальна конверсія яких знижує функціональну цінність гідролізату. Окрему увагу приділено механізмам утворення біоактивних пептидів, причинам втрати їх антиоксидантних властивостей унаслідок автоокиснення вільних сульфгідрильних груп та сучасним підходам до стабілізації кератинових гідролізатів – S-сульфонуванню, хелатуванню прооксидантних іонів металів і ліофілізації. Проаналізовано перспективи практичного використання продуктів ферментативної валоризації у виробництві кормових добавок, біостимуляторів рослин, функціональних біоматеріалів і біополімерів. Вивільнення триптофану – прекурсору індол-3-оцтової кислоти – та стимуляція ґрунтового мікробіому зумовлюють біостимулювальну дію гідролізатів, а їхні реакційноздатні -OH/-SH-групи дають змогу використовувати гідролізати як пластифікатори біопластиків. Представлений аналіз демонструє, що саме керування редокс-процесами та синергетична організація ферментативного каталізу є ключовими передумовами створення ефективних технологій комплексної переробки пташиного пір'я в умовах циркулярної біоекономіки.

Ключові слова: пташине пір'я, β-кератин, ферментативна деградація, кератинази, редокс-ферменти, кератинові гідролізати, антиоксидантні пептиди, біостимулятори рослин, кормові інгредієнти, циркулярна біоекономіка

Пташине пір'я як стратегічна кератиновмісна сировина: проблеми традиційної утилізації та передумови розвитку ферментативної валоризації

Масштаби утворення пір'яних відходів та екологічні виклики сучасного птахівництва

Стрімке зростання споживання м'яса птиці перетворило пташине пір'я на один із найбільш масштабних рекальцитрантних білкових відходів планети. У 2020 році світове виробництво м'яса птиці сягнуло приблизно 100,5 млн тонн, що супроводжувалося генеруванням значних обсягів твердих відходів, з яких понад 4,7 млн тонн припадає саме на куряче пір'я (Moktip et al., 2025). За іншими, ще вищими оцінками, обсяг пір'яних побічних продуктів сягає мільярдів тонн щорічно, що відображає масштаб проблеми та різнобій методологій обліку (Isembart et al., 2025; Kaewsalud et al., 2021). Пір'я становить близько 5-7% живої маси курки, причому до 90% його сухої

маси припадає на фібрилярний білок β-кератин (Li, 2019; Tamreihao et al., 2019). З огляду на прогнозоване подвоєння глобального попиту на тваринний білок до 2050 року, нераціональне використання цього ресурсу означає водночас і екологічний тягар, і марнування цінного білкового субстрату (Kshetri et al., 2020).

Кератинові відходи класифікуються в Європейському Союзі як матеріали третьої категорії тваринного походження, причому лише птахопереробна галузь генерує мільйони тонн пір'я на рік на додаток до волосся, рогів і копит від тваринництва (Verma et al., 2017). Рекальцитрантність кератину - головна причина труднощів його утилізації: щільне зшивання дисульфідними містками, водневими зв'язками й гідрофобними взаємодіями робить субстрат стійким до звичайних протеаз, таких як трипсин, пепсин і папаїн (de Menezes et al., 2021; Thadiyan et al., 2025). Унаслідок цього домінантною практикою поводження з пір'ям залишаються захоронення на полігонах та інсинерація (Adelere & Lateef, 2016; Emran et al., 2020).

Екологічні та санітарні наслідки традиційної утилізації пташиного пір'я як передумова пошуку альтернативних технологій

Обидва конвенційні шляхи утилізації пов'язані зі значними екологічними витратами. Захоронення пір'я на полігонах спричиняє вилуговування нітратів у ґрунтові води, вивільнення фосфору у водойми, утворення неприємних запахів і накопичення патогенів, оскільки рекальцитрантний субстрат слугує середовищем для росту мікроорганізмів, зокрема Vibrio та Salmonella (Moktip et al., 2025; Verma et al., 2017). Анаеробна деградація кератину в полігонних умовах вивільняє аміак і сірководень, що становить загрозу для природи й здоров'я людини (de Menezes et al., 2021). Інсинерація, своєю чергою, попри ефективне знищення патогенів, емітує забруднювачі повітря й токсичні гази - аміак, закис азоту, сірководень, діоксид вуглецю та метан, що посилюють глобальне потепління; необхідність очищення викидів робить цей підхід дорогим (Adelere & Lateef, 2016; Moktip et al., 2025). Працівники птахопереробних підприємств документують головний біль, подразнення очей, горла й носа, нудоту та діарею внаслідок одорантного забруднення (Adelere & Lateef, 2016).

Нутритивні та технологічні обмеження термічної переробки пташиного пір'я

Найбільш поширеним методом перетворення пір'я на кормовий продукт залишається гідротермічний (термохімічний) рендеринг, за якого субстрат обробляють насиченою парою за температур 80–140 °C і тиску 10–15 psi, причому додавання кислоти або лугу прискорює солюбілізацію β-кератину (Martinez et al., 2020; Moktip et al., 2025). Проте саме ці жорсткі умови зумовлюють хімічну деструкцію амінокислотного профілю: за високих температури й тиску термолабільні глутамін і аспарагін деградують, а введення лужного агента спричиняє додаткове руйнування лізину, метіоніну й триптофану (Martinez et al., 2020; Moktip et al., 2025). Паралельно відбувається рацемізація вільних і зв'язаних L-амінокислот до D-енантіомерів, що безпосередньо знижує їхню біодоступність (Martinez et al., 2020).

Окремою проблемою є утворення непоживних модифікованих залишків — лізиноаланіну та лантіоніну, які формуються відповідно з лізину та цистину за лужно-термічних умов (Martinez et al., 2020; Sypka et al., 2021). Наслідком сукупної деструкції незамінних амінокислот є низька перетравлюваність кінцевого продукту, що підтверджує пряме зіставлення методів: перетравлюваність in vitro меленого нативного пір'я становить лише 9,6%, парового (комерційного) пір'яного борошна — 57,8%, тоді як ферментативний гідроліз підвищує показник до 73,4% (Tiwary & Gupta, 2012). Отже, попри високий вміст білка (близько 87%), нутритивна цінність термічно обробленого борошна суттєво обмежена саме через теплову й лужну деструкцію амінокислот (Tiwary & Gupta, 2012). Додатковим недоліком є енергоємність процесу, що потребує послідовних стадій миття, автоклавування, сушіння й помелу (Tiwary & Gupta, 2012), тоді як інсинерація супроводжується високим споживанням енергії та емісією діоксиду вуглецю (Thadiyan et al., 2025). Лужний гідроліз концентрованими основами, зокрема гарячим KOH, що забезпечує до ≈91% розкладу субстрату, хоч і високоефективний, відтворює той самий деструктивний патерн щодо термолабільних амінокислот (Martinez et al., 2020; Thadiyan et al., 2025).

Ферментативна валоризація як біотехнологічна альтернатива традиційним методам переробки пташиного пір'я

Сукупність нутритивних, екологічних та енергетичних недоліків термохімічних методів обґрунтовує перехід до ферментативної валоризації. Мікробна та ферментативна деградація кератину перебігає за м'яких умов, зберігаючи неушкоджені амінокислоти й пептиди, і постає як економічно вигідна, екологічно безпечна альтернатива (Emran et al., 2020; Qiu et al., 2020). Оглядові роботи останнього

десятиліття одностайно позиціонують мікробні кератинази як «зелені» каталізатори нового покоління, здатні перетворювати рекальцитрантні кератинові відходи на корисні продукти - амінокислоти, біоактивні пептиди, кормові добавки, добрива та біоматеріали (Gupta et al., 2013; Li, 2021; Nnolim et al., 2020a), а також констатують їх мультифункціональність та комерційний потенціал (Adelere & Lateef, 2016). Принципово, що пір'я, попри рекальцитрантність, містить понад 85% сирого протеїну, ≈ 70% амінокислот, мінерали, вітаміни й фактори росту, що робить його привабливою сировиною для біотехнологічного виробництва (Moktip et al., 2025).

Водночас ефективність ізольованих кератиназ обмежена: бактеріальні чисті кератинази деградують лише 10-20% нативного пір'я за відсутності живих клітин або хімічних відновників (Goda et al., 2021; Tiwary & Gupta, 2012). Біологічне розщеплення триває значно довше, ніж хімічне. Процес вимагає суворого дотримання стерильності, специфічної температури, аерації (кисню) та рівня pH для підтримання життєдіяльності мікроорганізмів. Найменше відхилення може призвести до загибелі культури або зараження реактора сторонньою мікрофлорою. Ці фундаментальні обмеження, що мотивують перехід до синергетичних ферментних систем, детально розглянуто далі.

Структурна організація β-кератину як головний фактор, що визначає необхідність синергетичної ферментативної деградації

Ієрархічна архітектура β-кератину та її вплив на рекальцитрантність пір'я

Рекальцитрантність пташиного пір'я є прямим наслідком багаторівневої молекулярної організації β-кератину, що принципово відрізняє його від м'якших α-кератинів епідермісу. Кератини класифікують на два структурні типи за вторинною конформацією поліпептидних ланцюгів: α-кератин, побудований з α-спіральних котушок (волосся, вовна, нігті, роги, копита), та β-кератин, сформований із β-складчастих шарів (пір'я, луска, кігті, дзьоби птахів і рептилій) (Li, 2021; Moktip et al., 2025; Qiu et al., 2020). На відміну від α-кератину з молекулярною масою ≈60-80 кДа, β-кератин складається з β-стрендів і має значно меншу молекулярну масу - приблизно 10-22 кДа (Martinez et al., 2020; Moktip et al., 2025). Куряче пір'я є репрезентативним β-кератином, що містить упорядковані α-спіральні та β-складчасті структури поряд із обмеженою часткою невпорядкованих ділянок (Qiu et al., 2020). Кількісний розподіл вторинних структур пояснює неоднорідність деградаційної податливості різних частин пера (рис. 1).

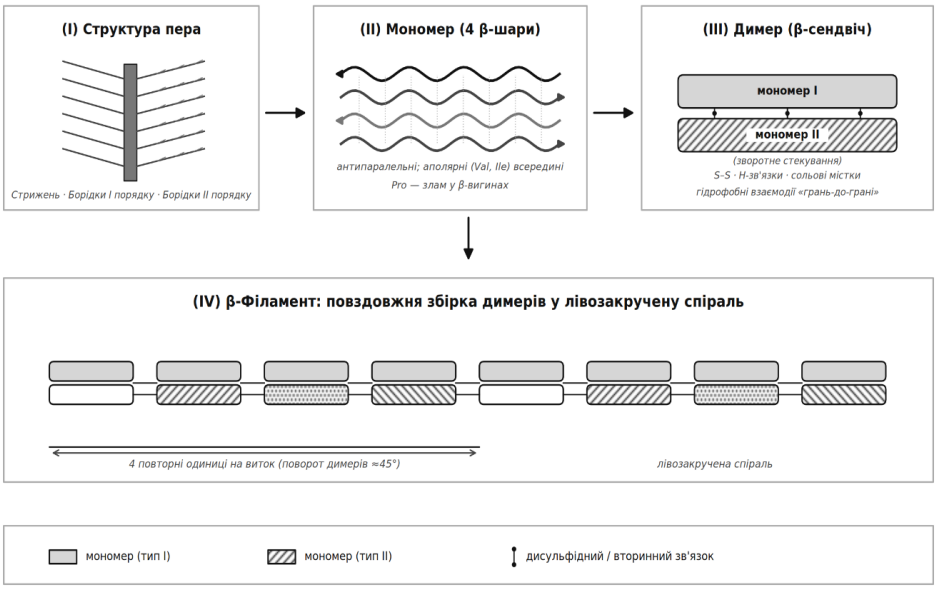


Рис. 1. Ієрархічна архітектура β-кератину пір'я. Рисунок створено з використанням ШІ Claude (Anthropic, 2026); адаптовано за: Qiu et al. (2020); Moktip et al. (2025)

Fig. 1. Hierarchical architecture of feather β-keratin. Created using Claude AI (Anthropic, 2026); adapted from Qiu et al. (2020); Moktip et al. (2025)

Вторинна структура кератинових білків цілого пера в середньому представлена α-спіралями (32,2%), β-складчастими шарами та випадковими клубками (53,6%) і поворотами (14,2%) (Moktip et al., 2025; Qiu et al., 2020). Ці усереднені значення приховують функціональну анізотропію: фракція борідок I та II порядку має дещо вищу частку α-спіралі, тоді як стрижень - переважно β-

складчасту структуру (Moktip et al., 2025; Qiu et al., 2020). Базова надмолекулярна одиниця - мономерна центральна структура β-кератину, у якій чотири β-стренди утримуються гідрофобними взаємодіями; дві мономерні одиниці формують димерну β-сендвіч-структуру, а послідовна суперпозиція складчастих шарів продукує β-кератиновий філамент із кроком спіралі 9,5 нм (Nnolim et al., 2020a; Qiu et al., 2020). Ієрархія рівнів організації β-кератину охоплює перехід від мономера до лівозакрученого філамента, у якому димери послідовно повернуті приблизно на 45° з чотирма повторюваними одиницями на виток.

Дисульфідний каркас і мережа міжмолекулярних взаємодій як основний бар'єр для протеолізу

Центральним молекулярним бар'єром деградації є густе зшивання поліпептидних ланцюгів. Жорсткість β-кератину виникає з комбінації водневих зв'язків, гідрофобних взаємодій і, що принципово, дисульфідних містків, які з'єднують внутрішньо- та міжланцюгові цистеїнові залишки, формуючи щільну, ригідну полімерну структуру з високою механічною міцністю (Moktip et al., 2025). Дисульфідний зв'язок установлюється між парами цистеїн-цистеїн, гліцин опосередковує гідрофобні взаємодії, а пари глутамін-серин і аспартат-лізин формують водневі зв'язки (Moktip et al., 2025). Саме дисульфідний місток розглядається як найважче розщеплюваний лінкер, що зумовлює ригідність структури; відповідно, вміст дисульфідних зв'язків використовують для класифікації кератину на твердий і м'який (Moktip et al., 2025). За цією класифікацією, що ґрунтується на вмісті сірковмісного цистеїну, м'який кератин (<10% цистеїну) присутній в епідермісі шкіри, тоді як твердий кератин (≈10-14% цистеїну) - у волоссі, нігтях, пір'ї та кігтях (Jin et al., 2017).

Окрім дисульфідних зшивок, рекальцитрантність посилюється гідрофобним внеском неполярних амінокислот. β-кератин містить високу частку гліцину, причому борідки I та II порядку та стрижень різняться за його вмістом, з найвищим вмістом гліцину в останньому (Moktip et al., 2025). Це пояснює, чому стрижень є гідрофобнішим і стійкішим до деградації, ніж борідки; наочним аналогом є щитки панцира черепах, які через ще вищий вміст гліцину розкладаються складніше за куряче пір'я (Moktip et al., 2025). Отже, поєднання значної кількості цистеїну та неполярного гліцину є ключовим фактором резистентності кератину до протеолізу (Martinez et al., 2020; Moktip et al., 2025). Унаслідок цього β-складчастий, насичений дисульфідами субстрат стійкий до звичайних протеаз - пепсину, трипсину й папаїну (de Menezes et al., 2021; Li, 2019). Основні типи ковалентних і нековалентних зв'язків та архітектуру зшивання кератину узагальнено на Рисунку 2.

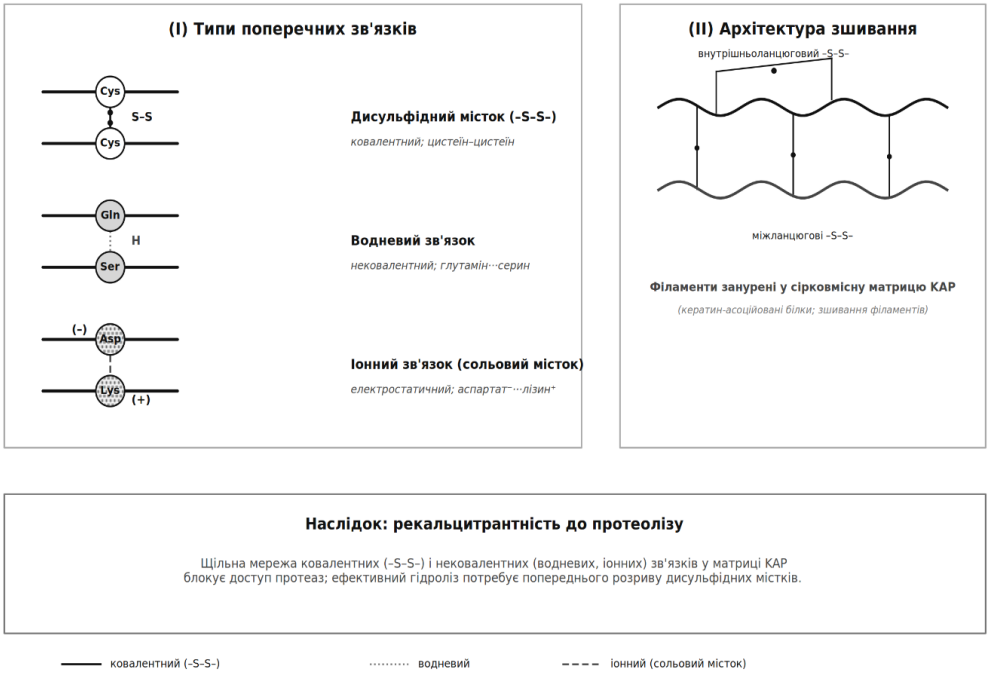


Рис. 2. Зв'язки у структурі кератину. Рисунок створено з використанням ШІ Claude (Anthropic, 2026); адаптовано за: Qiu et al. (2020)

Fig. 2. Bonds in the keratin structure. Created using Claude AI (Anthropic, 2026); adapted from Qiu et al. (2020)

Захисна роль поверхневого ліпідно-білкового шару у формуванні ферментативної резистентності

Друга лінія захисту - поверхневий ліпідно-білковий шар, що фізично ізолює внутрішню кератинову матрицю від ферментативної атаки. Зовнішня поверхнева мембрана, асоційована з кутикулярним філаментом, має товщину 2-7 нм і складається з густозшитих білків та ліпідів, утворюючи гідрофобний бар'єр, який захищає поверхню волокна від води й хімічних сполук (Martinez et al., 2020). Основною жирною кислотою поверхневих ліпідів кутикули є 18-метилейкозанова кислота, ковалентно сполучена з білковою матрицею через тіоефірний зв'язок, тоді як сама білкова матриця додатково зшита ізопептидними зв'язками (Martinez et al., 2020). Ізопептидний зв'язок виникає внаслідок трансглутаміназа-каталізованого утворення амідного зв'язку між бічними ланцюгами амінокислот, наприклад, лізину й глутаміну (Martinez et al., 2020). Цей зовнішній ліпідний шар, скріплений тіоефірними зв'язками з цистеїн-багатими білками і є першою перешкодою для кератинолітичних ендопротеаз: гіпотетично, ліпази можуть розривати поверхневий ліпідний шар, полегшуючи доступ протеаз до внутрішньої кератинової структури (Qiu et al., 2020).

Чому ізольований протеоліз не забезпечує ефективного руйнування структури β-кератину

Двошаровий молекулярний бар'єр - внутрішній дисульфідний каркас β-складчастої структури та зовнішній ліпідно-білковий шар - означає, що ефективна деградація потребує не одиничної протеолітичної дії, а скоординованого каскаду. Попереднє відновлення дисульфідних зв'язків є необхідним для підготовки кератинової структури й експонування амінокислотних ланцюгів для кератиназної атаки (Qiu et al., 2020). Цю послідовність прямо ілюструють морфологічні дослідження: під час деградації β-кератину Bacillus velezensis NCIM 5802 спостерігали поетапну колонізацію поверхні пера, ініціацію руйнування опахала, скручування й експозицію вторинних волокон, а далі - повне руйнування борідок та стрижня, причому деградований кератин зберігав переважно β-складчасту конформацію за даними інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є та рентгенівської дифракції (Sharma et al., 2022a). Складність подолання обох бар'єрів зумовила розробку кількісних аналізів кератинолітичної активності на розчинних рекомбінантних субстратах із пір'яного β-кератину: гени кератину пір'я, кодовані на хромосомах 2, 25 і 27 Gallus gallus експресували в E. coli, очищали Ni^{2+} -афінною хроматографією та рефолдингом одержували розчинні кератини, придатні для стандартизованої оцінки специфічної деградації (Jin et al., 2017).

Синергетична взаємодія редукційних і протеолітичних механізмів як основа ефективної ферментативної деградації β-кератину

Обмеження кератиназ при деградації нативного β-кератину

Основним принципом сучасного розуміння кератинолізу є те, що жоден окремий фермент не здатний ефективно деградувати нативний β-кератин. Деградація кератинових субстратів кератиназами є складним процесом, механізм якого досі залишається найбільш дискусійним питанням ензимології кератиназ; загальновизнано, однак, що він обов'язково поєднує відновлення дисульфідних зв'язків і гідроліз пептидних зв'язків (Su et al., 2020). Бактеріальні чисті кератинази деградують лише 10-20% нативного пір'я за відсутності живих клітин чи хімічних відновників (Goda et al., 2021). Кількісне підтвердження цього обмеження дають аналізи на розчинному рекомбінантному субстраті: серинові протеази трипсин і протеїназа K та цистеїнова протеаза папаїн виявляли високу активність щодо казеїну, але майже нульову - щодо розчинного β-кератину, демонструючи ≈10-кратно нижчу активність на субстратах Chr2_FK4 і Chr27_FK12 порівняно з казеїном (Jin et al., 2017). Біодеградація кератину розглядається як двостадійний процес: адсорбція ферменту на поверхні макромолекули з наступною каталітичною дією, яка поділяється на відновлення дисульфідних зв'язків і розрив пептидного ланцюга (Li, 2021; Sypka et al., 2021). Повна деградація кератину до вільних амінокислот потребує щонайменше трьох типів протеаз – ендопротеаз (родини S1, S8, S16, M4, M16, M36), екзопротеаз (S9, S10, M14, M28, M38, M55) та олігопептидаз (M3, M32) – у поєднанні з розривом дисульфідних зв'язків хімічним або ферментативним шляхом (рис. 3.).

Кооперативна дія дисульфід-руйнівних систем та протеолітичних ферментів

Ефективний кератиноліз досягається лише за кооперативної дії дисульфід-руйнівного й протеолітичного компонентів, що підтверджено багаторазовим зростанням активності при повторному поєднанні розділених ферментних фракцій. Класичний доказ надав Yamamura та співавт. на прикладі Stenotrophomonas sp.: жодна з двох розділених іонообмінною хроматографією фракцій (серинова протеаза та дисульфід-

редуктаза) не виявляла кератинолітичної активності окремо, тоді як їхнє змішування відновлювало кератинолітичну активність, підвищуючи її більш ніж у 50 разів; водночас загальна (неспецифічна) протеїназна активність за тих самих умов зростала лише приблизно вдвічі, тобто дисульфід-редуктаза посилює саме гідроліз кератину, а не протеоліз загалом (Tamreihao et al., 2019). У кількісному вимірі активність ізольованої серинової протеази Stenotrophomonas становила 83 KU/мг, але в суміші з дисульфід-редуктазою сягала 4450 KU/мг (Qiu et al., 2020). Аналогічно, Bacillus sp. MTS продукує позаклітинну лужну кератинолітичну протеазу та дисульфід-редуктазу; їх поєднання підвищувало активність на пір'яному субстраті з 4,5 U/мг (чиста протеаза) до 27,5 U/мг, причому навіть додавання хімічного відновника дитіотреїтолу до чистої протеази давало лише 12,8 U/мг (Qiu et al., 2020). Сканувальна електронна мікроскопія підтвердила, що комбінована дія кератинолітичної протеази та дисульфід-редуктази Bacillus sp. спричиняє значно сильнішу структурну перебудову нативного кератину, ніж окрема дія протеази з відновником (Nnolim et al., 2020a; Sharma et al., 2022a). Високий вміст тіолових груп у ферментаційному середовищі слугує прямим індикатором значного відновлення цистеїнових дисульфідних зшивок, що експонує пептидні зв'язки для протеолізу (Nnolim et al., 2020a; Nnolim & Nwodo, 2020).

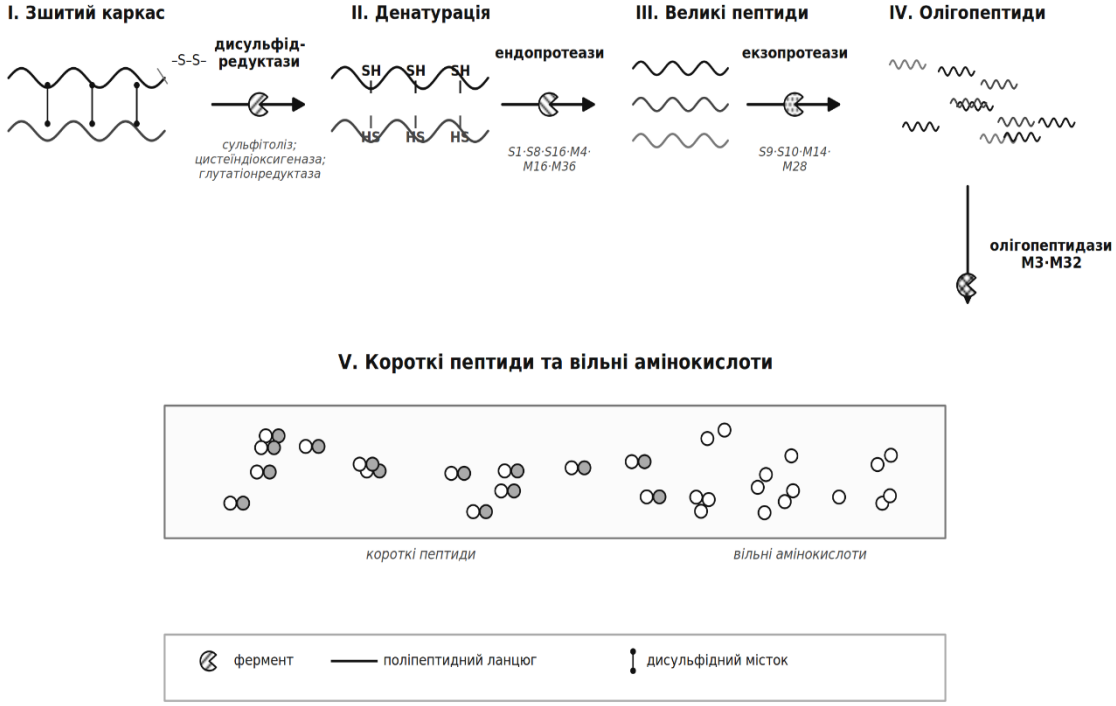


Рис. 3. Координований ензиматичний гідроліз кератину пір'я. Рисунок створено з використанням ШІ Claude (Anthropic, 2026); схему складено за даними Qiu et al. (2020)

Fig. 3. Coordinated enzymatic hydrolysis of feather keratin. Created using Claude AI (Anthropic, 2026); scheme based on data from Qiu et al. (2020)

Сульфітоліз і тіол-дисульфідний обмін як ключові механізми руйнування дисульфідного каркаса

Центральним хімічним механізмом розриву дисульфідного каркаса є сульфітоліз - реакція розщеплення дисульфідних зв'язків сульфіт-іонами, що включають сульфіт (SO_3^{2-}), бісульфіт (HSO_3^-) та дисульфіт ($S_2O_5^{2-}$) і призводить до утворення тіолу та S-сульфонатного аніона, відомого як сіль Бунте (-S-SO_3^-) (Su et al., 2020). Кінетика реакції залежна від pH: сульфіт-іони (SO_3^{2-}) реагують із цистином швидше, ніж бісульфіти (HSO_3^-), причому вищі швидкості сульфітолізу досягаються підвищенням pH (Su et al., 2020). Сульфітоліз перебігає за наявності відновників - натрію сульфіту, β-меркаптоетанолу, дитіотреїтолу (DTT), тіогліколевої кислоти, глутатіону або цистеїну; можливий також ферментативний сульфітоліз (Sypka et al., 2021). Утворення вільних сульфгідрильних груп унаслідок розщеплення дисульфідних зв'язків і подальший тіол-дисульфідний обмін розпушують β-складчасту структуру, надаючи протеазам доступ до раніше екранованих пептидних зв'язків (Isembart et al., 2025; Su et al., 2020). Спектральні

маркери цього процесу зафіксовано під час деградації пір'я B. velezensis NCIM 5802: в ІЧ-спектрі гідролізованого кератину з'являється слабка смуга симетричних валентних коливань S=O залишків солей Бунте при 1024 см⁻ ¹, відсутня в нативному пір'ї, а в спектрах комбінаційного розсіювання зростає інтенсивність смуг у ділянці 560–600 см⁻ ¹, що свідчить про розщеплення -S–S-зв'язків, і посилюється смуга S–H-зв'язку при ≈2400 см⁻ ¹ (Рис. 4.).

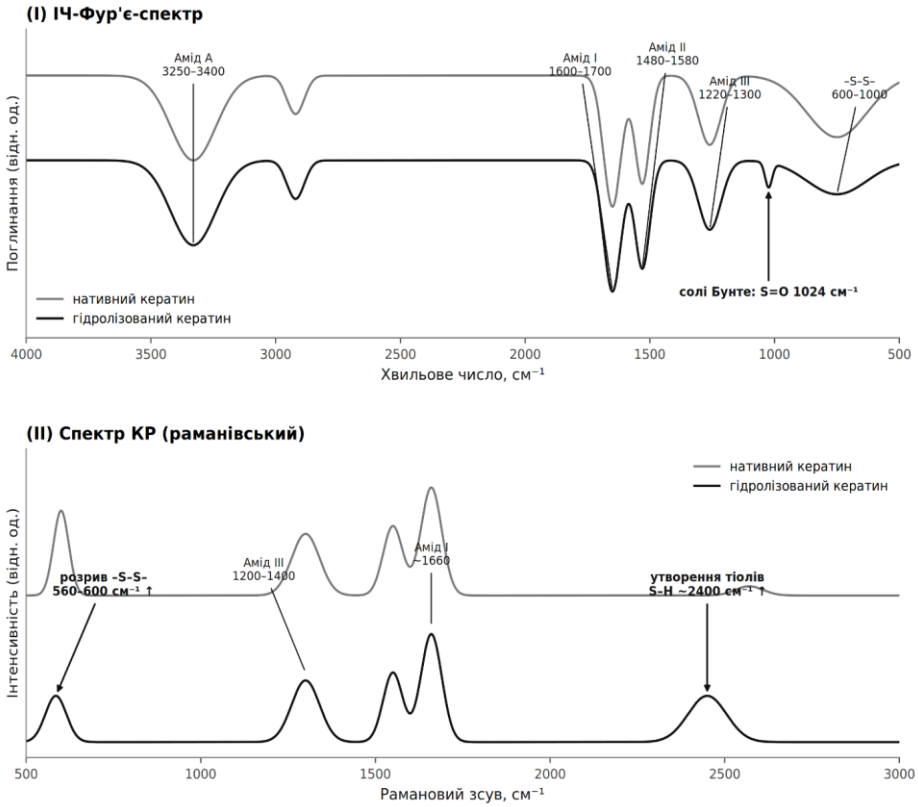


Рис. 4. Спектральні маркери сульфітолізу кератину пір'я. Рисунок створено з використанням ШІ Claude (Anthropic, 2026); схематичне зображення побудовано за даними Sharma et al. (2022a)

Fig. 4. Spectral markers of feather keratin sulfitolysis. Created using Claude AI (Anthropic, 2026); schematic representation based on data from Sharma et al. (2022a)

Біологічні джерела відновлювального потенціалу та роль редокс-ферментів

Першою стадією є відновне розщеплення дисульфідних зв'язків, яке можуть каталізувати цистеїндіоксигеназа (EC 1.13.11.20), глутатіон-редуктаза (EC 1.8.1.7), тіоредоксинредуктаза (EC 1.8.1.9) та низка інших редуктаз, серед яких дисульфід-редуктаза, цистеїндіоксигеназа й глутатіонредуктаза мають доведену роль у кератинолізі (Qiu et al., 2020). Цистеїндіоксигеназа є ключовим ферментом обміну цистеїну, що бере участь у продукуванні окиснених метаболітів - пірувату, сульфіту, сульфату, гіпотаурину й таурину; у дерматофітів, що ростуть на кератинових тканинах, утворення сульфіту з цистеїну залежить від цистеїндіоксигенази Cdo1, а секреція сульфіту забезпечується ефлюксною помпою Ssu1 (Qiu et al., 2020). Паралельно γ-глутамілтранспептидаза (GGT) - периплазматичний фермент, що гідролізує глутатіон (GSH) до цистеїнілгліцину - постачає сильний відновник, здатний далі відновлювати дисульфідні зв'язки; висунуто гіпотезу, що GGT-GSH-опосередкований редокс є одним зі шляхів сульфітолізу при деградації пір'я, а цистеїнілгліцин - активним редокс-фрагментом (Qiu et al., 2020).

Метаболізм цистеїну як фактор регуляції ефективності кератинолізу

Біогенне джерело сульфіту тісно пов'язане з утилізацією токсичного цистеїну. Деградомічний аналіз *Bacillus* sp. CN2 показав, що під час 0-72-годинної ферментації концентрація цистеїну в середовищі безперервно зростала, тоді як вміст сульфгідрильних сполук тримався на найнижчому рівні; оскільки високі концентрації цистеїну токсичні для клітин, цистеїн безперервно поглинається й перетворюється на проміжний L-цистеїн-сульфінат - субстрат для утворення сульфіту (Lai et al., 2023). Важливо, що

в системі CN2 концентрація сульфіту залишалася низькою, сягаючи лише 0,27 мкмоль/мл на 48-й годині, а виявлений сульфат (6,32 мкмоль/мл) свідчив про швидке окиснення сульфіту до сульфату; це вказує, що тут діє інший відновник, відмінний від сульфіту (Lai et al., 2023). Цю варіабельність підтвердили in vitro досліди: коли сульфіт використовували як відновник, кератиназа в синергетичній системі не могла деградувати кератин, тоді як додавання 1% DTT забезпечувало майже повну деградацію пір'я за 8 год, а 2% DTT посилювало ефект (Lai et al., 2023). Аналогічну стратегічну дивергенцію зафіксовано між видами: Bacillus licheniformis покладається на конверсію цистеїну в сульфіт для сприяння сульфітолізу (вільний сульфіт виявлено лише за наявності стадії сушіння - 20,7 мкМ для WAD і 52,7 мкМ для WADG), тоді як Aspergillus oryzae не генерує відновлювальних хімічних агентів на кшталт сульфітів і менш залежний від сульфітолізу (Isembart et al., 2025).

Сучасні біотехнологічні підходи до підсилення синергетичного ферментативного каталізу

Розуміння двокомпонентної природи кератинолізу спрямувало інженерні зусилля на оптимізацію як відновлювальної, так і протеолітичної складових. Спрямована еволюція через ПЛР зі схильністю до помилок дала змогу сконструювати мутантну кератиназу: з бібліотеки понад 8000 мутантів відібрали варіанти з підвищеною активністю, а застосування ферментації підняло активність із 1150 до 8448 U/мл, збільшивши ступінь деградації пір'я з 49 до 88% (Zhang et al., 2022). Мутантна кератиназа набула вищої відновлювальної та антиоксидантної дії, знешкоджуючи понад 60% ABTS-радикалів за 6 хв, а її поєднання з трипсином далі підвищувало деградацію (Zhang et al., 2022). Синергію ендо- та екзопептидаз ілюструє Pseudomonas aeruginosa 4-3: спільна дія кератинази й амінопептидази забезпечувала 78% деградації пір'я за 8 год сирими ферментами, тоді як повна ферментація давала 295,28 U/мл активності та 95,3% деградації (Pei et al., 2022). Метало-кератиназа Pseudomonas sp. LM19 досягала 86% деградації пір'я за 60 год, причому вивільнення тіолів під час розриву дисульфідних і водневих зв'язків корелювало з прогресом гідролізу (Mohamad et al., 2017). Рекомбінантна гіпертермостабільна кератиназа GacK з Geoglobus acetivorans, експресована в E. coli, демонструвала специфічну активність 481,63 U/мг за наявності β-меркаптоетанолу як зовнішнього тіолового кофактора (Parinayawanich et al., 2021). Нарешті, *Bacillus* sp. CSK2 продукував термостабільну лужну кератиназу з характерним тіоловим маркером, активність якої посилювалася 2-меркаптоетанолом і пригнічувалася Fe^{3+} - поведінка, узгоджена з редокс-залежним механізмом (Nnolim & Nwodo, 2020). Інженерія сигнальних і пропептидів та модифікація каталітичного центру для гетерологічної експресії й промислового впровадження кератиназ систематизовані в спеціалізованих оглядах (Su et al., 2020).

Формування, біологічна активність і стабілізація кератинових пептидів як завершальний етап ферментативної валоризації

Антиоксидантні властивості сірковмісних пептидів і роль сульфгідрильних груп

Ферментативна валоризація пір'я генерує не лише незамінні амінокислоти, а й пептидні фракції з вираженою біоактивністю, серед якої антиоксидантна дія є найбільш дослідженою. Кератинові гідролізати демонструють здатність нейтралізувати вільні радикали, що підтверджується стандартними аналізами DPPH та ABTS. Пір'яний кератиновий гідролізат (FKH), вироблений кератиназою KER102 з *Bacillus* sp. RCM-SSR-102 без додавання відновників, мав значення IC_{50} у DPPH-аналізі 1,02 ± 0,01 мг/мл і в ABTS-аналізі 20 ± 0,04 мкг/мл, а також виявляв антитирозиназну активність (IC_{50} 1,2 ± 0,22 мг/мл) і здатність захищати ДНК від оксидативного пошкодження •OH-радикалом (Kshetri et al., 2020). Для порівняння, IC_{50} стандарту аскорбінової кислоти становили 8 ± 0,02 мкг/мл у DPPH- і 5,6 ± 0,01 мкг/мл в ABTS-аналізі (рис. 5.) (Kshetri et al., 2020). Радикал-знешкоджувальна активність FKH була вищою в ABTS-аналізі, ніж у DPPH, що узгоджується з даними для гідролізату *Bacillus* sp. CL18 (Kshetri et al., 2020; Sypka et al., 2021). Мутантна кератиназа, отримана спрямованою еволюцією, знешкоджувала понад 60% ABTS-радикалів упродовж 6 хвилин, причому її антиоксидантна дія корелювала з відновлювальною потужністю (Zhang et al., 2022).

Молекулярною основою цієї дії значною мірою є присутність сірковмісних залишків - цистеїну та метіоніну. Дисульфідне розщеплення під час сульфітолізу й тіол-дисульфідного обміну вивільняє вільні сульфгідрильні (-SH) групи, накопичення яких у гідролізаті є прямим індикатором ефективного розриву дисульфідних зшивок (Nnolim et al., 2020a; Nnolim & Nwodo, 2020). Тіолат-аніон ($-S^-$) діє як донор атома водню та одноелектронний відновник, переводячи радикали у стабільніші форми, тоді як

сам цистеїнільний залишок при цьому окиснюється. Профілі деградації підтверджують збагачення продукту сірковмісними амінокислотами: під час повного гідролізу пір'я Bacillus pacificus RSA27 (94,5% за 24 год у 5-л ферментері) концентрація цистеїну зростала у 2,07 раза, а метіоніну - у 2,32 раза, причому загальний вміст амінокислот сягав 153,97 мкмоль/мл (Sharma et al., 2022b). Низька цитотоксичність гідролізату (1,02% на лінії HepG2 при 0,09%) підтверджує його безпечність (Sharma et al., 2022b). Таким чином, реакційноздатна -SH-група є водночас носієм біоактивності та джерелом наступної нестабільності.

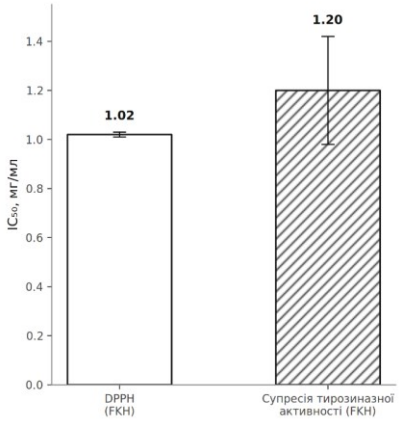


Рис. 5. Антиоксидантна активність та супресія тирозиназної активності пір'яного кератинового гідролізату (FKH), отриманого кератиназою KER102 Bacillus sp. RCM-SSR-102; стандарт – аскорбінова кислота. Рисунок створено з використанням ШІ Claude (Anthropic, 2026); побудовано за даними Kshetri et al. (2020)

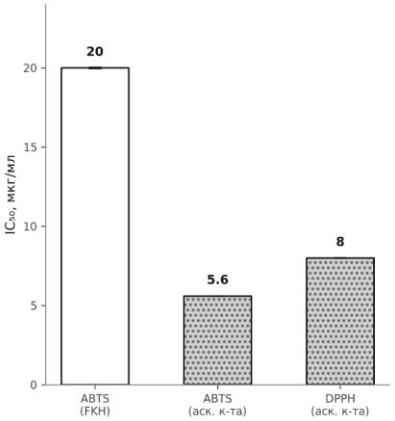


Fig. 5. Antioxidant activity and suppression of tyrosinase activity of the feather keratin hydrolysate (FKH) obtained with KER102 keratinase from Bacillus sp. RCM-SSR-102; ascorbic acid was used as the standard. Created using Claude AI (Anthropic, 2026); plotted using data from Kshetri et al. (2020)

Причини втрати біологічної активності внаслідок автоокиснення тіолів

Парадоксально, що той самий хімічний патерн, який забезпечує антиоксидантну функцію, є термодинамічно нестабільним. Вільні сульфгідрильні групи схильні до автоокиснення: за присутності молекулярного кисню та слідових кількостей перехідних металів (Fe^{2+} , Cu^{2+}) тіоли спонтанно окиснюються назад до дисульфідів, втрачаючи відновлювальну -SH-функцію. Динаміка ферментаційних систем безпосередньо ілюструє цю лабільність. У Bacillus sp. FPF-1 концентрація тіолів була незначною на 48-й годині, поступово зростала до максимуму 379,53 ± 22,13 мкМ на 96-й годині, а після 168 год знижувалася - спад, який автори пов'язують зі зниженням кератиназної активності та подальшим перетворенням вивільнених сульфгідрильних продуктів (Nnolim et al., 2020b). Ще показовіше, що в системі Bacillus sp. CN2 сульфіт залишався на низькому рівні через швидке окиснення до сульфату (виявлено 6,32 мкмоль/мл SO_4^{2-}), а вміст вільних сульфгідрильних сполук тримався на найнижчому рівні впродовж усієї ферментації, попри безперервне руйнування дисульфідних зв'язків (Lai et al., 2023). Це означає, що тіоли є транзієнтними інтермедіатами, чия окиснена доля (цистин → сульфінат → сульфат) знижує антиоксидантну цінність кінцевого продукту (Lai et al., 2023; Su et al., 2020).

Хімія кератеїну прямо демонструє оборотність цього окиснення. Відновлення цистину тіогліколатом, дитіотреїтолом, 2-меркаптоетанолом, натрію сульфітом, бісульфітами чи цистеїном у поєднанні з сечовиною або поверхнево-активними речовинами, що руйнують водневі зв'язки, продукує кератеїн, який містить цистеїновий тіол і цистеїновий сульфонат на місці дисульфідних містків; кератеїн менш розчинний у воді й здатний до повторного зшивання при дії окисника з відновленням інтермолекулярних -S-S-зв'язків (Martinez et al., 2020). Це обґрунтовує потребу в стратегіях стабілізації, які запобігають небажаному окисненню вивільнених пептидів.

Сучасні підходи до стабілізації кератинових гідролізатів та збереження їх функціональних властивостей

Хімічна конверсія тіолу в S-сульфоновану форму. Першою лінією стабілізації є перетворення лабільного тіолу в інертніший інтермедіат. Окиснювальний сульфітоліз перетворює цистинові групи на S-сульфоцистеїн

за допомогою натрію сульфіту або метабісульфіту з наступним окисненням; ця контрольована модифікація зберігає структурну цілісність білка та дає стабільніший продукт, ніж вільний тіол (Martinez et al., 2020). На відміну від керату (кератози), що утворюється повним окисненням пероцтовою чи пероксикарбоксимідною кислотою до сульфонових/цистеїнових кислот, гігроскопічний і нездатний до спонтанного повторного зшивання за окиснювальних умов, S-сульфоновані інтермедіати поєднують розчинність із керованою реактивністю та структурною стабільністю (Martinez et al., 2020).

Усунення прооксидантних металів хелатуванням. Оскільки автоокиснення тіолів каталізується перехідними металами, їх усунення є самостійною стратегією стабілізації. EDTA хелатує іони металів (зокрема Fe^{2+} /Cu^{2+}), що каталізують окиснення; негативний вплив Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} і Cd^{2+} на кератинолітичні системи добре задокументований (Nnolim et al., 2020a). Для *Bacillus* sp. CSK2 саме Cu^{2+} (45% залишкової активності), Hg^{2+} (43%), Al^{3+} (13%) і Fe^{3+} (12%) найсильніше пригнічували фермент, тоді як 2-меркаптоетанол активував його (111%) - узгоджено з прооксидантною роллю важких металів і протективною дією тіолів (Nnolim & Nwodo, 2020).

Фізична стабілізація ліофілізацією. Третім напрямом є усунення водного середовища й кисню. Ліофілізація є стандартним прийомом концентрування та збереження гідролізатів: зразки висушують за −53 °C і 0,052 мбар перед аналізом і зберіганням, що мінімізує гідролітичне й окиснювальне руйнування (Isembart et al., 2025). Подальша консолідація ліофілізату холодним пресуванням у щільну тверду форму застосовується для отримання стабільної кормової добавки, збагаченої розчинним білком (Adelere & Lateef, 2016). Водночас слід враховувати, що сама стадія сушіння модифікує структуру: висушування знижувало рівні тіолів у гідролізатах досліджених штамів - тобто, сприяючи сульфітолізу, воно може водночас пригнічувати наступне вивільнення або стабільність -SH-груп (Isembart et al., 2025). Узгоджене застосування цих стратегій - конверсія тіолу в сіль Бунте, хелатування прооксидантних металів та ліофілізація з контролем вологості - є передумовою збереження антиоксидантного потенціалу гідролізату. Прикладна цінність цих функціональних груп виходить за межі антиоксидантної дії: реакційноздатні -OH/-SH-групи кератинових гідролізатів використовують як подвійні пластифікатори в композиції з крохмалем і гліцерином для підвищення механічних властивостей біопластику (Kaewsalud et al., 2021), що розглянуто нижче.

Практична реалізація ферментативної валоризації пташиного пір'я: від технології до продуктів з високою доданою вартістю

Технологічні та економічні передумови промислового впровадження ферментативної валоризації пташиного пір'я

Економічна привабливість ферментативної валоризації пір’я ґрунтується на трьох взаємопов’язаних факторах: дешевизні субстрату, перевазі якості продукту над термічним аналогом та усуненні енергоємних стадій рендерингу. Глобальний попит на промислові ферменти зростає із річним темпом 5,8% і мав сягнути 6,30 млрд доларів США до 2022 року (Goda et al., 2021). За оцінками BCC Research, попит на ферменти наближався до 7 млрд доларів США станом на 2013 рік, причому гідролази формували ≈75% продажів, а протеази - 40-60% ринку ферментів; завдяки робастності, специфічності та широкому спектру субстратів кератинази потенційно здатні зайняти провідні позиції в традиційно протеазо-домінованих секторах детергентів, обробки шкіри, кормів і текстилю (Gupta et al., 2013). Принципово, що сучасні безклітинні ферментативні процеси не потребують біореактора для деградації пір’я та не вимагають додаткових редокс-реагентів, що робить їх простими, швидкими й економічно життєздатними (Goda et al., 2021; Tiwary & Gupta, 2012). Якість продукту перевершує термічний аналог: ферментативно гідролізоване пір’яне борошно містило 14% азоту, 44% вуглецю, 3,2% сірки, тобто 87% білка за масою, було збагаченішим незамінними амінокислотами, ніж парогідролізоване чи кислотно-гідролізоване, та демонструвало in vitro перетравлюваність 73,4% (вивільнення 670 мг білка/г за 18 год дії пепсину й трипсину) проти 57,8% для комерційного пір’яного борошна й лише 9,6% для меленого нативного пір’я (Tiwary & Gupta, 2012). Ферментативна конверсія також уникає утворення непоживних лізиноаланіну й лантіоніну, характерного для лужно-термічної обробки (Gupta et al., 2013). Основні напрями використання продуктів ферментативної валоризації представлено на рисунку 6.

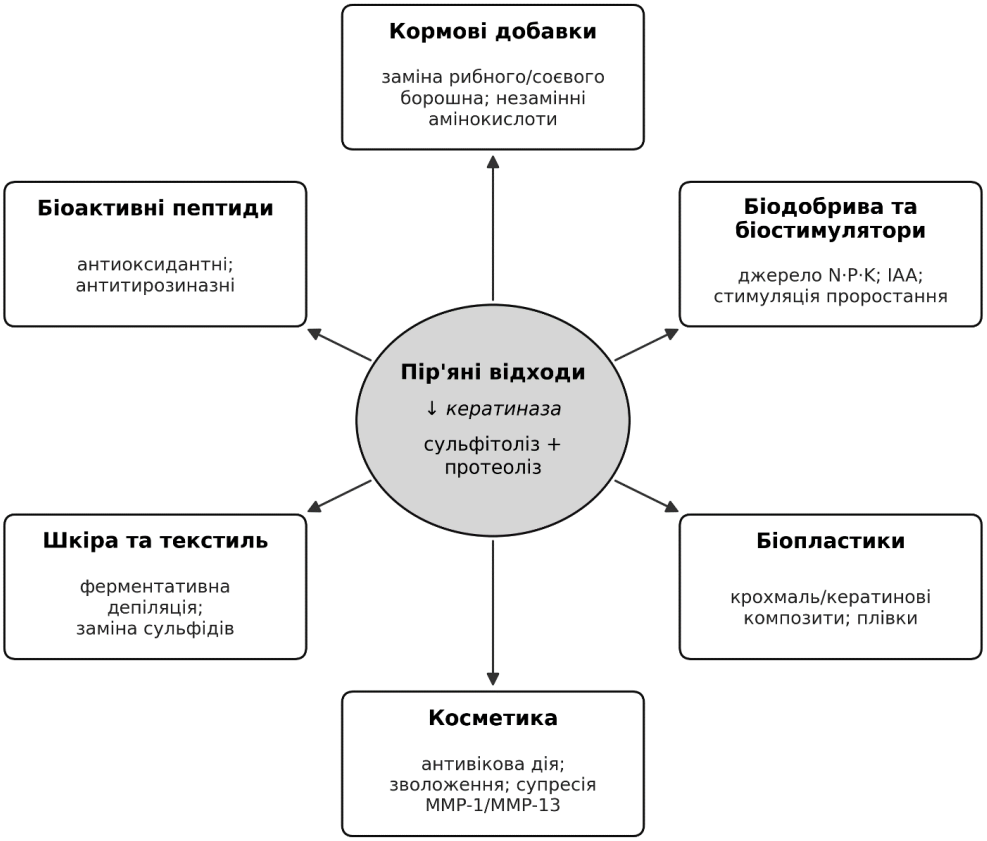


Рис. 6. Напрями ферментативної валоризації пташиного пір'я. Рисунок створено з використанням ШІ Claude (Anthropic, 2026); узагальнено за даними: Kaewsalud et al. (2021); Kshetri et al. (2020); Moktip et al. (2025); Sypka et al. (2021); Tamreihao et al. (2019)

Fig. 6. Directions of enzymatic valorization of poultry feathers. Created using Claude AI (Anthropic, 2026); summarized from Kaewsalud et al. (2021); Kshetri et al. (2020); Moktip et al. (2025); Sypka et al. (2021); Tamreihao et al. (2019)

Кератинові гідролізати як високобілкові кормові інгредієнти для тваринництва та аквакультури

Першим масштабним напрямом є кормове застосування, де гідролізати є джерелом протеїну й амінокислот. Парогідролізоване пір'яне борошно вже визнане більш сталою заміною рибного борошна в аквакультурі, причому ферментативно отримані гідролізати потенційно перевершують його завдяки кращій перетравлюваності та збереженню термолабільних амінокислот; додавання кератиназ до кормів покращує перетравлюваність, ріст мікробіоти й імунну відповідь у тварин, оскільки перетравлюваність корму корелює з коефіцієнтом конверсії корму (Sypka et al., 2021). Сірковмісні метіонін і цистеїн, тирозин, фенілаланін і треонін, збагачені під час повного гідролізу, є визначальними для якості кормового протеїну (Sharma et al., 2022b). Конкретні приклади підтверджують ефективність: гідролізат, отриманий кератиназою Bacillus sp. SLII-1, заміщав близько 5% соєвого протеїну в кормі бройлерів, причому продуктивність птиці перевищувала показники на звичайному соєвому борошні (Qiu et al., 2020). Streptomyces sp. SCUT-3 застосовували для конверсії пір'я в джерело живлення тварин (тилапії) й рослин (рису) (de Menezes et al., 2021). Комерційні препарати на основі Bacillus licheniformis PWD-1 (Versazyme, Cibenza DP100) як кормові добавки покращують перетравлюваність сирого протеїну, коефіцієнт конверсії корму, вихід грудного м'яса, масу тіла та співвідношення висоти ворсинок до глибини крипт у птиці й свиней (de Menezes et al., 2021). Низька цитотоксичність протеїнового гідролізату підтверджує безпечність для кормових застосувань (Sharma et al., 2022b), а ферментативний гідроліз B. amyloliquefaciens 3-2 підвищував розчинність білка та in vitro перетравлюваність пір'яного борошна у 20,75 та 10,27 раза відповідно (de Menezes et al., 2021).

Кератинові гідролізати як біостимулятори росту рослин і модифікатори ґрунтового мікробіому

Другим напрямом є застосування пір'яних гідролізатів як органічних біостимуляторів. Оскільки пряме внесення пір'я ускладнене рекальцитрантністю, що спричиняє повільну

мінералізацію азоту (≈15 % азоту за масою), ферментативна конверсія попередньо вивільняє амінокислоти, пептиди та мікроелементи (Ca, Fe, P, K, Mn, Zn), доступні для рослин; ґрунтові бактерії мінералізують протеїнові гідролізати, вивільняючи азот, а тканини рослин можуть прямо поглинати пептиди й амінокислоти коренями та листям (Thadiyan et al., 2025). Центральним механізмом біостимуляції є фітогормональна дія через ауксин: триптофан, вивільнений під час деградації пір'я, слугує прямим прекурсором індол-3-оцтової кислоти (IAA) - фітогормону, критичного для пластичності клітин, видовження тканин, ембріогенезу та емергенції латеральних коренів (Tamreihao et al., 2019). Рослинні біостимулятори, зокрема IAA як мікробний метаболіт, покращують поглинання нутрієнтів, стресостійкість і нутритивну цінність культур (Sypka et al., 2021). Кератинолітичні бактерії продукують IAA у пір'яному середовищі навіть без додавання триптофану, що свідчить про одночасне вивільнення його із субстрату; синтез IAA лінійно зростає з концентрацією пір'я (Tamreihao et al., 2019; Thadiyan et al., 2025). Кількісні дані вражають: Stenotrophomonas maltophilia продукувала 21,5 мкг/мл IAA в оптимальному пір'яному середовищі та 327,7 мкг/мл при доповненні 0,1% триптофану, тоді як Chryseobacterium sediminis давала 44,4 мкг/мл IAA навіть за відсутності амінокислоти (і 64,26 мкг/мл при доповненні) (Tamreihao et al., 2019).

Безпосередній вплив на кореневу структуру описано морфологічно: фільтр-стерилізований ферментований гідролізат суттєво посилював проростання насіння й ріст проростків нуту (Cicer arietinum), підвищував родючість ґрунту, збільшуючи вміст N, P, K і співвідношення C/N в 1,2 раза, та сприяв трикратному зростанню числа кореневих бульбочок (Moktip et al., 2025; Thadiyan et al., 2025). На рівні ґрунтового мікробіому внесення гідролізату підвищувало популяцію вільноживучих азотфіксаторів у 2 рази та фосфат-солюбілізуючих бактерій у 5,8 раза порівняно з контролем (Moktip et al., 2025). Застосування кератинолітичних бактерій зі здатністю стимулювати ріст рослин поряд із гідролізатом додатково посилює живильний ефект, оскільки самі бактерії синтезують IAA й солюбілізують неорганічний фосфор (Tamreihao et al., 2019). Зелене добриво з кератинових відходів активує ріст рослин, підвищує здатність ґрунту акумулювати воду та сприяє його мікробній активності (Nnolim et al., 2020a). Слід враховувати обмеження: оскільки лише ≈0,1% ґрунтового фосфору перебуває в розчинній формі, доступній рослинам, а 70-90% внесеного P-добрива швидко іммобілізується, біостимулятори на основі гідролізату є комплементарним, а не повним замінником мінерального живлення (Tamreihao et al., 2019).

Нові напрями використання кератинових гідролізатів у біотехнології, матеріалознавстві та косметичній промисловості

Кератинові гідролізати знаходять застосування в косметичних і матеріалознавчих сегментах. Антиоксидантні й антитирозиназні властивості пір'яного кератинового гідролізату з Bacillus sp. RCM-SSR-102 роблять його кандидатом для косметичних продуктів і відбілювальних засобів (Kshetri et al., 2020). Реакційноздатні функціональні групи кератинових пептидів використовують як подвійні пластифікатори: гідролізат Bacillus halodurans SW-X у композиції з крохмалем і гліцерином підвищував механічні властивості біопластику (Kaewsalud et al., 2021), а кератин-гліцеролова плівка з B. cereus BAM3 демонструвала термостабільність і повну біодеградацію протеазами за 11 год (Moktip et al., 2025). Прикладом мультифункціональності є Bacillus haynesii ALW2, чия кератиназа за 60% деградації пір'я забезпечувала повну депіляцію шкіри та видалення білкових плям, поєднуючи валоризацію зі шкіряним і мийним застосуванням (Emran et al., 2020; Tiwary & Gupta, 2012). Огляд промислової сталості мікробних кератиназ систематизує застосування гідролізатів у виробництві біогазу - метану й водню, вітамінів групи B, глюкокортикоїдів і знебарвленні меланоїдинів стічних вод (de Menezes et al., 2021). Утім, у комерційний обіг впроваджено лише поодинокі препарати - Versazyme, Valkerase, Pure100 Keratinase: продукти Versazyme і Valkerase мали світовий дохід близько 10 млн доларів США у 2011 році (Gupta et al., 2013).

Висновки:

1. Рекальцитрантність пташиного пір'я, щорічний обсяг якого лише у виробництві курятини перевищує 4,7 млн тонн, зумовлена ієрархічною архітектурою β-кератину: дисульфідним каркасом, мережею водневих і гідрофобних взаємодій та поверхневим ліпідно-білковим шаром. Унаслідок цього ізольовані кератинази без відновників деградують лише 10–20% нативного пір'я.

2. Ефективний кератиноліз забезпечується поєднанням відновного розриву дисульфідних зв'язків (сульфітоліз, тіол-дисульфідний обмін, дисульфід-редуктази, цистеїндіоксигеназа, GGT–GSH-система) з послідовною дією ендо-, екзопротеаз та олігопептидаз. Додавання

дисульфід-редуктази підвищує кератинолітичну активність серинової протеази Stenotrophomonas sp. з 83 до 4450 KU/мг. Джерело відновлювального потенціалу залежить від мікроорганізму: B. licheniformis використовує конверсію цистеїну в сульфіт, тоді як у Bacillus sp. CN2 та A. oryzae домінують механізми, не пов'язані з накопиченням сульфіту.

3. Вивільнені сульфгідрильні групи зумовлюють антиоксидантну активність кератинових гідролізатів (IC_{50} 1,02 мг/мл у DPPH- і 20 мкг/мл в ABTS-аналізі), але водночас є причиною їхньої нестабільності через автоокиснення тіолів. Збереження біоактивності потребує включення до технологічної схеми стадій S-сульфонування, хелатування прооксидантних іонів металів і ліофілізації з контролем вологості.

4. Ферментативний гідроліз підвищує in vitro перетравлюваність пір'яного продукту до 73,4% (проти 57,8% для парового пір'яного борошна) без утворення лізиноаланіну й лантіоніну, що обґрунтовує використання гідролізатів як кормових інгредієнтів. Вивільнення триптофану – прекурсору IAA – та дворазове зростання чисельності вільноживучих азотфіксаторів і 5,8-разове – фосфат-солюбілізуючих бактерій у ґрунті визначають потенціал гідролізатів як біостимуляторів рослин.

5. Пріоритетними напрямами подальших досліджень є конструювання мультиферментних систем «кератиназа – дисульфід-редуктаза – екзопептидаза», інженерія кератиназ (спрямована еволюція вже дала змогу підвищити ступінь деградації пір'я з 49 до 88%) та оптимізація стадій стабілізації гідролізатів для масштабування безклітинних технологій.

Конфлікт інтересів. *Автори заявляють, що дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.*

Фінансування та подяки. *Дослідження виконано без залучення зовнішнього фінансування.*

References:

1. Adelere, I. A., & Lateef, A. (2016). Keratinases: Emerging trends in production and applications as novel multifunctional biocatalysts. Kuwait Journal of Science, 43(3), 118–127.
2. Anthropic. (2026). *Claude* [Opus 5]. https://claude.ai
3. de Menezes, C. L. A., Santos, R. C., Santos, M. V., Boscolo, M., da Silva, R., Gomes, E., & da Silva, R. R. (2021). Industrial sustainability of microbial keratinases: Production and potential applications. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 37, 86. https://doi.org/10.1007/s11274-021-03052-z
4. Emran, M. A., Ismail, S. A., & Abdel-Fattah, A. M. (2020). Valorization of feather via the microbial production of multi-applicable keratinolytic enzyme. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 27, 101674. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101674
5. Goda, D. A., Bassiouny, A. R., Abdel Monem, N. M., Soliman, N. A., & Abdel-Fattah, Y. R. (2021). Feather protein lysate optimization and feather meal formation using YNDH protease with keratinolytic activity afterward enzyme partial purification and characterization. Scientific Reports, 11, 14543. https://doi.org/10.1038/s41598-021-93279-5
6. Gupta, R., Rajput, R., Sharma, R., & Gupta, N. (2013). Biotechnological applications and prospective market of microbial keratinases. Applied Microbiology and Biotechnology, 97(23), 9931–9940. https://doi.org/10.1007/s00253-013-5292-0
7. Isembart, C., Smirnova, M., Kohler, A., & Shapaval, V. (2025). Impact of feather pre-treatment methods on microbial feather hydrolysis by Bacillus licheniformis and Arthrobacter oryzae. Microbial Cell Factories, 24, 118. https://doi.org/10.1186/s12934-025-02743-8
8. Jin, H.-S., Park, S. Y., Kim, K., Lee, Y.-J., Nam, G.-W., Kang, N. J., & Lee, D.-W. (2017). Development of a keratinase activity assay using recombinant chicken feather keratin substrates. PLOS ONE, 12(2), e0172712 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172712
9. Kaewsalud, T., Yakul, K., Jantanasakulwong, K., Tapingkae, W., Watanabe, M., & Chaiyaso, T. (2021). Biochemical characterization and application of thermostable-alkaline keratinase from Bacillus halodurans SW-X to valorize chicken feather wastes. Waste and Biomass Valorization, 12, 3951–3964. https://doi.org/10.1007/s12649-020-01287-9
10. Kshetri, P., Roy, S. S., Chanu, S. B., Singh, T. S., Tamreihao, K., Sharma, S. K., Ansari, M. A., & Prakash, N. (2020). Valorization of chicken feather waste into bioactive keratin hydrolysate by a newly purified keratinase from Bacillus sp. RCM-SSR-102. Journal of Environmental Management, 273, 111195. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111195
11. Lai, Y., Wu, X., Zheng, X., Li, W., & Wang, L. (2023). Insights into the keratin efficient degradation mechanism mediated by Bacillus sp. CN2 based on integrating functional degradomics. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 16, 59. https://doi.org/10.1186/s13068-023-02308-0
12. Li, Q. (2019). Progress in microbial degradation of feather waste. Frontiers in Microbiology, 10, 2717. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02717
13. Li, Q. (2021). Structure, application, and biochemistry of microbial keratinases. Frontiers in Microbiology, 12, 674345. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.674345
14. Martinez, J. P. D. O., Cai, G., Nachtschatt, M., Navone, L., Zhang, Z., Robins, K., & Speight, R. (2020). Challenges and opportunities in identifying and characterising keratinases for value-added peptide

production. Catalysts, 10(2), 184. https://doi.org/10.3390/catal10020184
15. Mohamad, N., Phang, L.-Y., & Abd-Aziz, S. (2017). Optimization of metallo-keratinase production by Pseudomonas sp. LM19 as a potential enzyme for feather waste conversion. Biocatalysis and Biotransformation, 35(1), 41–50. https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1280031
16. Moktip, T., Salaipeth, L., Cope, A. E., Taherzadeh, M. J., Watanabe, T., & Phitsuwan, P. (2025). Current understanding of feather keratin and keratinase and their applications in biotechnology. Biochemistry Research International, 2025, 6619273. https://doi.org/10.1155/bri/6619273
17. Nnolim, N. E., Udenigwe, C. C., Okoh, A. I., & Nwodo, U. U. (2020). Microbial keratinase: Next generation green catalyst and prospective applications. Frontiers in Microbiology, 11, 580164. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580164
18. Nnolim, N. E., & Nwodo, U. U. (2020). Bacillus sp. CSK2 produced thermostable alkaline keratinase using agro-wastes: Keratinolytic enzyme characterization. BMC Biotechnology, 20, 65. https://doi.org/10.1186/s12896-020-00659-2
19. Nnolim, N. E., Okoh, A. I., & Nwodo, U. U. (2020). Bacillus sp. FPF-1 produced keratinase with high potential for chicken feather degradation. Molecules, 25(7), 1505. https://doi.org/10.3390/molecules25071505
20. Parinayawanich, S., Sittipol, D., Ajingi, Y. S., Rodpan, S., Pattanapanyasat, K., & Jongruja, N. (2021). Application of recombinant hyperthermostable keratinase for degradation of chicken feather waste. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 36, 102146. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102146
21. Pei, X.-D., Li, F., Yue, S.-Y., Huang, X.-N., Gao, T.-T., Jiao, D.-Q., & Wang, C.-H. (2022). Production and characterization of novel thermo- and organic solvent-stable keratinase and aminopeptidase from Pseudomonas aeruginosa 4-3 for effective poultry feather degradation. Environmental Science and Pollution Research, 29, 80548–80561. https://doi.org/10.1007/s11356-022-22367-4
22. Qiu, J., Wilkens, C., Barrett, K., & Meyer, A. S. (2020). Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function. Biotechnology Advances, 44, 107607. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107607
23. Sharma, I., Pranaw, K., Soni, H., Rawat, H. K., & Kango, N. (2022). Parametrically optimized feather degradation by Bacillus velezensis NCIM 5802 and delineation of keratin hydrolysis by multi-scale analysis for poultry waste management. Scientific Reports, 12, 17118. https://doi.org/10.1038/s41598-022-21351-9
24. Sharma, C., Timorshina, S., Osmolovskiy, A., Misri, J., & Singh, R. (2022). Chicken feather waste valorization into nutritive protein hydrolysate: Role of novel thermostable keratinase from Bacillus pacificus RSA27. Frontiers in Microbiology, 13, 882902. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.882902
25. Su, C., Gong, J.-S., Qin, J., Li, H., Li, H., Xu, Z.-H., & Shi, J.-S. (2020). The tale of a versatile enzyme: Molecular insights into keratinase for its industrial dissemination. Biotechnology Advances, 45, 107655. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107655
26. Sypka, M., Jodłowska, I., & Białkowska, A. M. (2021). Keratinases as versatile enzymatic tools for sustainable development. Biomolecules, 11(12), 1900. https://doi.org/10.3390/biom11121900
27. Tamreihao, K., Mukherjee, S., Khunjamayum, R., Devi, L. J., Asem, R. S., & Ningthoujam, D. S. (2019). Feather degradation by keratinolytic bacteria and biofertilizing potential for sustainable agricultural production. Journal of Basic Microbiology, 59(1), 4–13. https://doi.org/10.1002/jobm.201800434
28. Thadiyan, V., Sharma, V., & Gupta, R. (2025). Keratinase and its diverse applications. 3 Biotech, 15, 151. https://doi.org/10.1007/s13205-025-04319-0
29. Tiwary, E., & Gupta, R. (2012). Rapid conversion of chicken feather to feather meal using dimeric keratinase from Bacillus licheniformis ER-15. Journal of Bioprocessing & Biotechniques, 2(4), 1000123. https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000123
30. Verma, A., Singh, H., Anwar, S., Chattopadhyay, A., Tiwari, K. K., Kaur, S., & Dhilon, G. S. (2017). Microbial keratinases: Industrial enzymes with waste management potential. Critical Reviews in Biotechnology, 37(4), 476–491. https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1185388
31. Zhang, J., Su, C., Kong, X.-L., Gong, J.-S., Liu, Y.-L., Li, H., Qin, J., Xu, Z.-H., & Shi, J.-S. (2022). Directed evolution driving the generation of an efficient keratinase variant to facilitate the feather degradation. Bioresources and Bioprocessing, 9, 38. https://doi.org/10.1186/s40643-022-00524-4

ENZYMATIC VALORIZATION OF POULTRY FEATHERS: MODERN MECHANISMS OF SYNERGISTIC KERATINOLYSIS AND THE APPLIED POTENTIAL OF KERATIN HYDROLYSATES

P. I. Folovko, N. G. Marintsova, S. V. Polovkovych, L. R. Zhurakhivska, A. I. Karkhut

Lviv Polytechnic National University,
Department of Technology of Biologically Active Compounds, Pharmacy and Biotechnology
12 Stepana Bandery St, Lviv, 79013, Ukraine
pavlo.i.folovko@lpnu.ua

Poultry feathers are among the most abundant keratin-containing by-products of the poultry industry: broiler production alone generates over 4.7 million tonnes of feathers annually, and their utilization remains an important ecological and technological problem. Landfilling, incineration and hydrothermal rendering cause toxic gas emissions, high energy consumption and destruction of heat-labile amino acids with formation of non-nutritive lysinoalanine and lanthionine. The resistance of β-keratin to biodegradation results from its multilevel organization, including a disulfide framework, a network of hydrogen and hydrophobic interactions, and a surface lipid–protein barrier. This review shows that efficient enzymatic keratin degradation is determined not by a single keratinase but by the synergy of reductive and proteolytic processes that sequentially disrupt these barriers. Isolated keratinases degrade only 10–20% of native feathers, whereas combining a serine protease with a disulfide reductase raises keratinolytic activity from 83 to 4450 KU/mg. The roles of sulfitolysis, thiol–disulfide exchange, redox enzymes (cysteine dioxygenase, glutathione reductase, γ-glutamyl transpeptidase) and multienzyme systems are summarized, together with species-dependent mechanisms of reducing-power generation. Cysteine metabolism is considered as a biogenic source of sulfite, and free thiols are shown to be transient intermediates whose oxidative conversion lowers the functional value of hydrolysates. Particular attention is paid to bioactive peptide formation, the loss of antioxidant properties through autoxidation of sulfhydryl groups, and stabilization approaches – S-sulfonation, chelation of pro-oxidant metal ions and lyophilization. Applications in feed additives, plant biostimulants, functional biomaterials and biopolymers are analyzed. Release of tryptophan, a precursor of indole-3-acetic acid, and stimulation of the soil microbiome underlie the biostimulant effect, while reactive -OH/-SH groups allow hydrolysates to serve as bioplastic plasticizers. Control of redox processes and synergistic organization of enzymatic catalysis are key prerequisites for effective comprehensive processing of poultry feathers within a circular bioeconomy.

Keywords: poultry feathers, β-keratin, enzymatic degradation, keratinases, redox enzymes, keratin hydrolysates, antioxidant peptides, plant biostimulants, feed ingredients, circular bioeconomy

Отримано редколегією 18.06.2026 р.
Підписано до друку 15.10.2026 р.
Дата публікації 31.10.2026 р.

ORCID ID
Павло Фоловко: https://orcid.org/0009-0007-0155-0249
Наталія Марінцова: https://orcid.org/0004-0003-3705-4443
Святослав Половкович: https://orcid.org/0000-0002-7143-6931
Леся Журахівська: https://orcid.org/0000-0002-8217-1414
Андрій Кархут: https://orcid.org/0000-0003-2386-1973