

КОПИТІНА ІРИНА

Київський національний університет технологій та дизайну

<https://orcid.org/0009-0002-0721-1355>e-mail: i.v.kopytina@gmail.com

АНДРЕЄВА ОЛЬГА

Київський національний університет технологій та дизайну

<https://orcid.org/0000-0001-8374-2306>e-mail: wayfarer14@ukr.net

МОКРОУСОВА ОЛЕНА

Київський національний університет технологій та дизайну

<https://orcid.org/0000-0003-1943-8048>e-mail: olenamokrousova@gmail.com

ІННОВАЦІЙНІ ПІДХОДИ ДО ЕНЗИМІЗАЦІЇ ШКІРЯНОГО ВИРОБНИЦТВА

Проведено аналіз сучасних досліджень в області ензимізації шкіряного виробництва. Розглянуто інноваційні підходи до використання комерційно доступних і нещодавно виділених ферментних препаратів у технологічних процесах основного виробництва натуральної шкіри, первинного оброблення шкірсировини, а також при створенні вторинних матеріальних ресурсів з промислових відходів. Акцент зроблено на виготовленні якісної продукції, ресурсоощадженні та екологічному імперативі технології. Одержані результати планується застосувати у майбутніх наукових дослідженнях при розробленні та впровадженні ресурсоощадної екологічно орієнтованої технології виробництва шкіри з використанням сучасних ферментних препаратів.

Ключові слова: ферменти та ферментні препарати, шкіряне виробництво, ресурсоощадження, екологія

KOPYTINA IRYNA, ANDREYEVA OLGA, MOKROUSOVA OLENA

Kyiv National University of Technologies and Design

INNOVATIVE APPROACHES TO ENZIMIZATION OF LEATHER PRODUCTION

Genuine leather production, which involves the use of a wide range of chemicals and is accompanied by the formation of a significant amount of waste, remains a difficult area for the creation and application of cleaner technologies. To replace harmful chemicals, you can use enzymes, which are natural substances that are safe for the environment. At the same time, from an economic point of view, it is practiced to use not the enzymes themselves, but their preparations, however, all the same, the cost of their use remains high, as the cost of raw hides and other reagents used for its processing remains increasingly high. This creates new problems for the industry. Therefore, for the sustainable development of the leather industry towards the production of competitive products, resource saving and greening of production, it is necessary to look for, develop and implement effective innovative approaches to improving the technology of leather manufacturing, including through the wider use of enzymatic processes.

As a result of the analysis of modern research in the field of enzymization of leather production, innovative approaches to the use of commercially available and new enzyme preparations in the technological processes of the main production of natural leather, primary processing of raw materials, and industrial waste disposal have been identified. It has been established that the reasonable use of enzymes at different stages of the technological cycle of processing leather materials contributes to the manufacture of competitive products with a more careful attitude to raw materials, material and energy resources, and the ecological state of the environment.

Key words: enzymes and enzyme preparations, leather production, resource saving, ecology.

Постановка проблеми у загальному вигляді

та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями

Шкідливий вплив виробничої діяльності промислових підприємств на навколишнє середовище та населення у районах, розташованих поблизу цих підприємств, потребує впровадження новітніх технологій, які дозволять скоротити застосування агресивних хімічних реагентів та забезпечити ефективний захист довкілля.

Оскільки виробництво натуральної шкіри передбачає використання великого асортименту хімічних реагентів і супроводжується утворенням значної кількості відходів, оброблення шкіри залишається складним завданням зі створення та застосування екобезпечних технологій. У якості альтернативи шкідливим хімічним реагентам можна використовувати ферменти (ензими), які є природними речовинами, безпечними для навколишнього середовища. Однак, вартість застосування ферментів залишається високою, все більш високою стає і вартість шкіряної сировини та інших застосовуваних для її оброблення реагентів, що створює нові проблеми для підприємств галузі. Тому для сталого розвитку шкіряної промисловості у напрямку виготовлення конкурентоспроможної продукції, ресурсоозбереження та екологізації виробництва необхідно шукати, розробляти та впроваджувати ефективні інноваційні підходи до удосконалення технології виготовлення шкіри, у тому числі, шляхом ензимізації різних етапів технологічного циклу.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій

З аналізу попередніх досліджень і публікацій [1–4] встановлено доцільність використання ферментів і одержаних на їх основі ферментних препаратів у різних галузях промисловості, оскільки це сприяє підвищенню культури виробництва, більш раціональному використанню сировинних та матеріальних ресурсів.

Розроблення, апробація та впровадження ферментних технологій – найперспективніші напрями удосконалення процесів шкіряного виробництва, які дозволяють мінімізувати втрати колагену як основного компонента шкіри та шкіри й отримати при цьому високу якість готової продукції, надаючи їй м'якість, пластичність, рівномірне забарвлення та інші привабливі з точки зору споживача характеристики. Крім того, ці технології сприяють поліпшенню екологічного стану довкілля за рахунок скорочення скидання стічних вод та зниження вмісту в них продуктів розпаду білків, жирів, лугів, сульфідів, вапна, сполук хрому та інших виробничих забруднювачів [1, 5].

Формулювання цілей статті

Метою роботи є аналіз останніх сучасних досліджень в області ензимізації шкіряного виробництва, спрямованих на більш раціональне використання сировинних та матеріальних ресурсів, зменшення шкідливого навантаження на навколишнє середовище, одержання продукції високої якості. За об'єкт дослідження обрано ферменти та ферментні препарати, технологічні процеси основного шкіряного виробництва, первинного оброблення шкірсировини, одержання вторинних матеріальних ресурсів з промислових відходів. Предмет дослідження – інноваційні підходи до використання ферментів у шкіряному виробництві в цілому. Для кращого пізнання предмета дослідження, виявлення та визначення закономірностей його розвитку, встановлення взаємодії та зв'язків окремих частин і пізнання зазначеного предмета як єдиного цілого, застосовано поширені загальнонаукові методи у вигляді аналізу та синтезу.

Виклад основного матеріалу

Під час пошуку та аналізу інформації цікаво було прослідкувати як при розробленні інноваційних підходів до забезпечення сталого розвитку шкіряного виробництва науковці та практики поступово приходили до його ензимізації, починаючи від первинного оброблення сировини до утилізації відходів.

1. Ферменти у первинному обробленні шкірсировини

Багато шкідливих проблем у шкіряній промисловості, наприклад, пошкодження лицьової поверхні, зниження міцності шкіряного виробу, можуть виникати вже під час первинного оброблення сировини внаслідок гниття після мікробного забруднення та механічного навантаження через важкість і тиск глинобитного гною, який важко видалити зі шкур великої рогатої худоби.

Стандартний розчин для замочування сировини, який зазвичай використовується на практиці для полегшення видалення гною, складається з високої (0,10-0,15 %) концентрації біоциду та поверхнево-активної речовини. Для зниження екологічного навантаження та більш ефективного очищення необроблених шкур, для їх зберігання та транспортування терміново потрібні нові методи замочування (або миття). При складанні ідеального розчину для миття досліджено амфіфільні властивості детергентів і здатність гліцерину вбудовуватися в міцели миючого засобу. Оскільки розм'якшення затверділого гною є ключовим під час процесу його видалення, представлені у роботі [6] пошукові експерименти поставили таким чином, щоб зміну твердості кульок гною можна було відстежити за допомогою аналізатора текстури. Для забезпечення однакової кількості деформацій зразка гною вимірювання виконували до та після замочування шкур у відповідних композиціях. Різні типи миючих засобів / аніонний (SDS), неіонний (Tween 20 і TritonX-114) і цвіттеріонний (LDAO) / оцінювали та порівнювали з біорозкладною поверхнево-активною речовиною софороліпід (SL). Таким чином було виявлено, що софороліпід із додаванням неочищеного гліцерину є найбільш ефективним у розм'якшенні зразків затверділого гною. Це було враховано при видаленні зі шкіри гною типу «саман».

Виходячи із зацікавленості переробників шкірсировини у виявленні потенційного впливу складів для замочування на якість шкіри, у наступному дослідженні [7] автори встановили, що при використанні неочищеного гліцерину та карбонату натрію використання лише ~10-25 % стандартного розчину для замочування має потенціал для пом'якшення та полегшення видалення глинобитного гною. Механічні властивості та стан лицьової поверхні виробів, виготовлених зі шкур, змочених розробленими складами, виявилися кращими порівняно із виробами, виготовленими з використанням стандартного розчину.

Але і на цьому дослідники не зупинились. Мета нового дослідницького проекту [8] полягала у виявленні потенційних ефектів **включення ферментів**, які можуть атакувати гній типу «саман» та руйнувати адгезію для покращення його видалення. Автори виходили з того, що у разі включення оптимальної кількості ферментів целюлази або ксиланази, що використовуються окремо або в їх комбінації, можливим є зниження концентрації неочищеного гліцерину з 10 до 5 %. Судячи з одержаних результатів (Рис. 1), комбінація целюлази та ксиланази працювала синергетично, оскільки нижча концентрація кожної з них, ніж при окремому застосуванні, також продемонструвала покращення ефективності розм'якшення гною. Аналіз текстури замоченого затверділого гною показав наступне: ферменти є досить перспективними реагентами для пом'якшення гною, що можна пояснити розпушенням останнього. До змочувального складу також були включені діоксид хлору для зменшення запаху гною та гідроксид натрію для посилення інгібування мікробного росту патогенних бактерій, які були протестовані. Вартість впровадження нових рецептур подібна до тих, що традиційно використовуються у промисловості. Крім того, нові розчини для замочування сировини мають більш сприятливий вплив на навколишнє середовище.

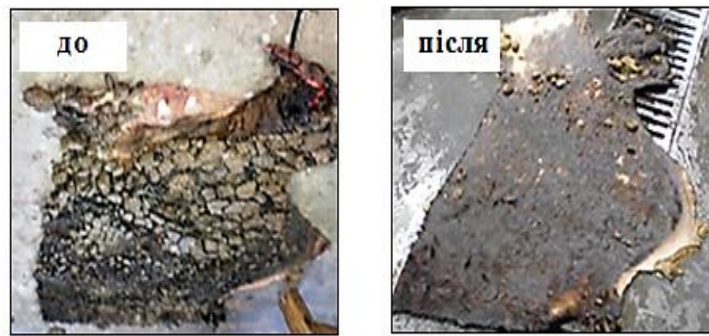


Рис. 1. Зразки шкіри із поверхневим гноєм до та після замочування [8]

2. Ферменти в основному виробництві натуральної шкіри

Завдяки своєму різноманіттю, специфічній активності та м'яким умовам реакцій ферменти знаходять широке застосування переважно у підготовчих процесах шкіряного виробництва: відмочуванні, зневолошуванні та знежирюванні.

Біокаталітичні процеси **відмочування-зоління** шкіряної сировини досліджено у роботі [9], мета якої полягала у доведенні ефективності використання бактерій *Bacillus subtilis*, ензимів панкреатину та ферментного препарату Chemizum ВН (Польща) під час зневолошування-зоління шкур бичка та шкурок кроля. Ефективність хімічних реагентів визначали оцінюванням хімічного складу і фізико-механічних властивостей сформованого шкіряного напівфабрикату. У результаті дослідження встановлено скорочення тривалості процесу відмочування вдвічі та зменшення на 20 % витрати екологічно небезпечних реагентів при золінні. Розроблена біотехнологія відмочування-зоління дає можливість об'єднати послідовні процеси лужного оброблення сировини. Реалізацію технологій зневолошування-зоління з використанням ферментного препарату Chemizum ВН за концентрації 0,3 % впродовж 12 годин з подальшим одноденним м'якшенням у виробничих умовах можна вважати перспективною для виробництва еластичних шкір хромового дублення для верху взуття (у тому числі робочого і військового), одягу та галантерейних виробів.

У шкіряному виробництві **зневолошування** та зоління є найбільш забруднюючими докільця процесами. Традиційна технологія гідролізу (так званого спалювання) волосу призводить до величезного забруднення стічних вод, на що вказують високі показники вмісту сульфідів, ХСК та БСК. Популярним методом заміни сульфідного видалення шерсті є ферментативне зневолошування, яке дозволяє зберегти волос. Однак, існують деякі проблеми, пов'язані із ферментативним видаленням шерсті, які обумовлені необхідністю більш суворого контролю параметрів процесу та можливістю пошкодження лицьової поверхні шкіри. Для подолання цих проблем зроблено спробу використати іони двовалентних металів для безпечного та ефективного ферментного зневолошування бичачих шкур. Досліджено вплив іонів металів Ca(II), Mg(II), Mn(II) та Zn(II), на активність протеази ASI.398 – продукту гідролізу колагену та казеїну. Одержані висновки підтверджені ефектом видалення волосу зі шкіри та гарною якістю готової шкіри. Результати дослідження доповнюють знання ферментативного видалення волосу, які призведуть до більш екологічно безпечного виробництва шкіри [10].

У роботі [11] вперше за методом флуоресцентного трасування досліджено дифузію протеази в шкіру під час ферментативного зневолошування. Встановлено, що швидкість проникнення протеази в шкіру досить низька, фермент залишається у сосочковому шарі дерми навіть після видалення волосу, що є основною причиною того, що ферментативне зневолошування може пошкодити або розпушити лицьову поверхню. Протеаза здатна ефективно видалити епідерміс за короткий час. Виходячи з цих уявлень, автори розробили ферментативне зневолошування з низькою витратою сульфідів (*EALS unhairing*), засноване на рН-чутливості нейтральної протеази. Для уникнення ризику пошкодження відмочену шкіру ВРХ (рН 8) спочатку обробили нейтральною протеазою (активність 20 од/г шкіри) протягом 40 хвилин при 22 °С для розщеплення епідермісу, але не для видалення шерсті. Потім відразу ж додали 1 % вапна (гідроксиду кальцію) для інактивації нейтральної протеази (рН > 12) та імунізації (закріплення) волосу. Нарешті, за допомогою 0,8 % сульфиду натрію шкіра була повністю позбавлена волосся з неушкодженим стрижнем волосу. Інтелектуально контрольована дія протеази, а також синергетичний ефект протеази, вапна та сульфиду натрію забезпечили повне видалення волосу та епідермісу зі зменшеною витратою хімічних матеріалів і запобігли утворенню дефектів шкіри. Склад стічних водах після використання *EALS unhairing* помітно покращився через різке зниження надходження сульфідів та вапна, а також збереження волосу.

У Бразилії оцінювалась ефективність видалення волосу з коров'ячої шкіри за допомогою ферментного екстракту, отриманого штамом *Bacillus subtilis*, у поєднанні з перексидом водню [12]. Автори проаналізували дію різних концентрацій ферментного екстракту (100 і 300 од/г шкіри) та перексиду водню (4 і 8 %). Стан шкіри оцінювали візуально, а стічних вод – за вмістом загального азоту, загальних, фіксованих та летких речовин, глікозаміногліканів, протеогліканів і гідроксипроліну. Таким чином з'ясували, що окиснювально-ферментативне зневолошування не руйнує волос, проте, скорочує тривалість процесу порівняно зі звичайним та чистоензимним зневолошуванням, тобто може бути життєздатною альтернативою використанню сульфідів натрію та вапна.

Для екологічно чистого ферментативного видалення шерсті з козячих шкур досліджено гетерологічну експресію лужних металопротеїназ у *Bacillus Subtilis* SCK6 [13]. Ген лужної металопротеази 1067 був клонований з *Planococcus halotolerans* SCU63T і гетерологічно експресований у *Bacillus subtilis* SCK6. Використовуючи у якості вихідного середовища бульйон Лурія Бертані (LB), оптимальне середовище одержали шляхом серії ферментації та оптимізації культури (г/л): екстракт дріжджів – 10, соєвий порошок – 15, сечовина – 20, хлорид калію – 6,7, хлорид кальцію – 13,3, хлорид натрію – 10. Виходячи з оптимального середовища, найбільшу ферментативну активність 1259,21 од/мл отримано при культивуванні при 30 °C протягом 40 годин з рН 8, кількістю інокуляту 4 % та обсягом заповнення 50 мл. EDTA пригнічує, а PMSF посилює активність протеази, вказуючи на те, що це метало-, а не серинова протеаза. Оптимальні умови: температура реакції 70 °C, рН 9. Іони металів Zn^{2+} , Co^{2+} та ПАР β -МЕ, Tween 80 підвищують активність протеази. Результати видалення волосу та мікроскопічного аналізу вказують на те, що ця металопротеаза повністю зневолошує козлину, а шкіра після ферментативного зневолошування має більш м'яку текстуру і гладку поверхню без явних пошкоджень.

М'якшення, яке протягом століть використовує для оброблення шкур трипсин, є важливим біотехнологічним процесом шкіряного виробництва. У роботі китайських вчених [14] оцінено дію протеази з *Bacillus subtilis* SCK6 (NGG) на лицьову поверхню шкіри. Показники активності лужної протеази у стані послаблення були подібними до показників активності трипсину (ТВЕ). М'якшення шкур для меблевої шкіри здійснювали при температурі 30-40 °C. Після витримки шкіри піддавали пікелюванню та хромовому дубленню за традиційною технологією. Порівняно з трипсином, концентрація гідроксипроліну у лужних розчинах протеази була нижчою, а розподіл сполук хрому у шкірі більш рівномірним. Результати гістологічного аналізу і СЕМ-мікроскопії дослідних шкур і шкір демонструють зменшення пошкоджень та пухкості колагенових волокон, підвищену гладкість їх поверхні. Це свідчить про те, що м'якшення новою лужною протеазою дає змогу зменшити ризик пошкодження лицьової поверхні шкіри та виключити використання дефіцитного трипсину.

Як відомо [2, 15], сильний гідроліз колагену ферментами призводить до пошкодження лицьової поверхні шкіри, що є одним із потенційних ризиків м'якшення. Електронні мікрофотографії показують, що немає очевидної різниці у малюнку мережівки шкір, пром'якшених протеазою NGG при змінній температурі від 30 до 40 °C: на мікрофотографіях добре помітні візерунки поверхні та пори від волосся, і повнота виглядає схожою. А от мережівка шкіри після м'якшення трипсином ТВЕ при 35 °C пошкоджена, і чітко видно, що її лицьова поверхня негладка. Таким чином, можна констатувати, що заміна трипсину ТВЕ на протеазу NGG може допомогти захистити колагенові волокна від надмірного пошкодження, підвищити якість і сортильність шкіри.

Лужні протеази зазвичай використовуються у шкіряному виробництві у процесах зневолошування та м'якшення для отримання шкіри гарної якості. У дослідженні [16] перевіряли ефективність м'якшення новою лужною протеазою NGG, отриманою з *Bacillus crolab* MTCC, порівнювали його вплив на пористість козячих шкур, підданих ферментативному і традиційному зневолошуванню. Оброблена ферментами шкура була вільна від бубняви та плям, з тонкою, чистою, білою, більш шовковистою лицьовою поверхнею та пластичністю. Розмір/розподіл пор та паропроникність у дослідній групі були кращими, ніж у разі застосування комерційного пом'якшувача трипсина ТВЕ і традиційного зневолошування. Скануюча електронна мікроскопія та гістологічний аналіз шкіри, отриманої в результаті використання лужної протеази NGG, підтвердили повне видалення бубняви та краще розкриття колагенових волокон (рис. 2). При цьому колаген не був пошкоджений, що призвело до хорошої якості шкіри. Результати дослідження вказують на ефективність застосування бактеріальної лужної протеази для оброблення шкіри на стадії підготовчих процесів.

Звичайне знежирювання шкур та шкір потребує великої кількості органічних розчинників та миючих засобів, які викликають проблеми з навколишнім середовищем. У дослідженні туніських науковців [17] встановлено, що ліпаза LIP2 із дріжджів *Yarrowia lipolytica* (YLLIP2) ефективно знежирює овчини, тим самим зменшуючи кількість шкідливих хімічних речовин. Використовуючи 6 мг ліпази/кг

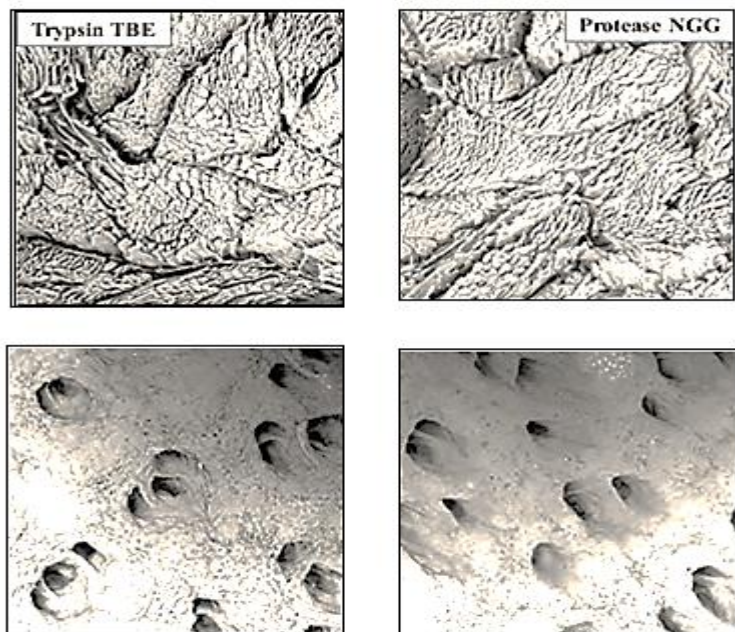


Рис. 2. СЕМ-зображення вертикального перерізу ($\times 1000$; 5кВ) та лицьової поверхні ($\times 300$; 5кВ) шкіри Краст [16]

сирої шкіри, успішне знежирення було досягнуто всього за 15 хвилин при рН 8 і 30 °С. Мас-спектри ToF-SIMS хімічно та ферментативно оброблених овчин узгоджуються з процесом селективного виключення для ферментативного оброблення. Порівняльна СЕМ-мікроскопія, ІЧ-спектроскопія та фізико-хімічний аналіз показали кращі властивості шкіри, обробленої ферментами, ніж після хімічного оброблення. Фізико-хімічні параметри стічних вод свідчать про те, що ферментативне оброблення є чистішим способом знежирювання. В цілому дана робота відкриває нові горизонти для використання ліпази YLLIP2 як більш ефективну альтернативу у шкіряній промисловості.

Останнім часом все більше уваги приділяється застосуванню ферментів у найрізноманітніших процесах виробництва шкіри. Литовські науковці визначали дію ферментативного **пiкелювання** на колаген дерми та його вплив на наступні процеси, властивості хромового напівфабрикату та готової шкіри [18]. Застосування активних у кислому середовищі протеолітичних ферментів під час пікелювання призвело до додаткового впливу на структуру дерми: колаген був задіяний сильніше, зменшувалась пористість дерми, але шкіра ставала більш термостійкою. Ферментативно пікельований напівфабрикат зв'язував більше хромового дубителя і досягав вищої температури зварювання при дубленні; барвники проникали глибше при фарбуванні; більше речовин взаємодіяло з колагеном при жируванні. Проте, дія ферментів погіршувала фізико-механічні властивості шкіри, оскільки дослідна шкіра була слабшою за звичайну як в цілому, так і у відношенні лицьового шару, мала значно більше відносне подовження. Отже, у міру поліпшення одних властивостей та погіршення інших під час пікелювання застосування кожного ферменту має бути ретельно вивчене та оптимізоване для отримання шкіри із заданими властивостями.

Останнім часом завдяки удосконаленням біотехнології підвищена увага приділяється повторному м'якшенню у післядубильних процесах. Так, у своїй новій роботі [19] науковці з Литви дослідили можливість застосування ферментного препарату під час **додублювання**, його вплив на процес додублювання, шкіряний напівфабрикат і готовий продукт. Ферментативне оброблення Вет-блу призвело до підвищення температури зварювання (1-6 °С), поглинання парів води (0,3-5,5 %), покращення використання сполук хрому при додублюванні (4-21 %) та проникнення барвника в дерму при фарбуванні. Виявлено найбільший вплив концентрації ферментного препарату на процес додублювання порівняно з його тривалістю. Проте, ніякого впливу на фізико-механічні властивості шкіри та процес жирування не спостерігалось.

Дослідження [20] було спрямоване на розуміння впливу ферментів, застосованих на різних виробничих стадіях, на характеристики шкіри. Вплив на характеристики шкіри протеази, амілази та ліпази описаний у багатьох роботах. У цьому ж дослідженні показано вплив на шкіру таких нетрадиційних ферментів протеолітичної дії, як пепсин, трипсин і папаїн. Трипсин використали для оброблення знезоленої голини, пепсин – пікельованої голини, папаїн – напівфабрикату хромового дублення. Вибір ферментів для оброблення трьох різних матеріалів визначався природою та оптимальною активністю ферментів. Пепсин є аспарагіною протеазою, тоді як трипсин є сериною протеазою. Папаїн, який ще називають «рослинним пепсином», дуже активний у нейтральному діапазоні рН, тоді як пепсин і трипсин діють у кислотному та основному діапазонах рН відповідно. Характеристики шкіри Краст оцінювали за допомогою комбінації випробувань міцності на розтяг, вимірювання міцності лицьового шару та мікроскопічного аналізу. Результати показали відсутність значного впливу на функціональні властивості шкіри, у той час як мало місце деяке зниження міцності лицьового шару, що, можливо, пов'язано з ферментативним впливом на лицьову поверхню дослідних зразків, проте, за органолептичним оцінюванням їх лицьова поверхня була гладенькою і приємною на дотик.

3. Ферменти та промислові відходи

Шкіряна промисловість не лише задовольняє соціальні потреби, використовуючи побічні продукти м'ясної промисловості (велика та дрібна шкіряна сировина), але й робить значний внесок у глобальне економічне зростання за рахунок торгівлі та створення робочих місць. Водночас, в умовах глобалізації виробники шкіри стикаються з такими проблемами, як дотримання екологічних вимог та покращення утилізації **відходів, що утворюються при обробленні шкіри**. У роботі [21] описується вилучення волосу та жиру з міздрі, отриманої після ферментативного видалення вовни з козячих шкур за допомогою протеази з ізоляту штаму *Bacillus cereus 1-p*. Для обґрунтування рекомендацій промислового застосування утилізованого волосу та жиру вони були додатково охарактеризовані. На підставі візуального оцінювання волосу визначили його довжину, густоту, однорідність, міцність та загальний стан. Утилізоване волосся виявилось неущкодженним і його якість оцінювалася від середньої до доброї. Аналіз жиру полягав у визначенні складу жирних кислот за допомогою методу газової хроматографії – мас-спектрометрії. Було встановлено, що найбільш поширеною (вміст 31,65 %) жирною кислотою є метил-9Z-октадецеаноат (9Z-гептадецеєнова кислота; олеїнова кислота). В результаті проведеного експерименту автори зробили висновок про те, що утилізація волосу та жиру при зневолошуванні козлини екстрактом ферменту зі штаму *Bacillus cereus 1-p* економічно та екологічно вигідніша у порівнянні з вилученням волосу та жиру з традиційних сульфідних систем зневолошування: продукти утилізації не містять сульфідів та домішок вапна, тому їх легше очищати і можна використати як вторинні матеріальні ресурси для виробництва кормів для птиці, органічних добрив, біодизелю та біопалива, жирувальних агентів, мила і косметики після додаткового очищення у разі необхідності.

Можливість утилізації та використання зелених голинних обрізків у якості замітника дорогого продукту є вагомим аргументом на користь більш екологічного виробництва шкіри. Зазначені відходи

містять багато колагену і є цінною сировиною для одержання гідролізату, який потенційно може бути використаний для додублювання-наповнювання шкіри. У роботі [22] розглянуто характеристику та використання гідролізату колагену, одержаного шляхом ферментативного гідролізу таких відходів. Гідролізат готували з використанням трипсину. Зразки гідролізату були проаналізовані за допомогою методів швидкісної білкової рідинної хроматографії (FPLC) та лазерної десорбції з матрицею з іонізацією-часом польоту (MALDI-TOF). При ферментативному гідролізі спостерігали близько шести переважних фракцій пептидів гідролізату колагену і встановили, що молекулярна маса гідролізатів знаходиться в діапазоні від 1750 до 5800 дальтон. Для додублювання-наповнювання використали гідролізати колагену, приготовані з використанням різних (0,8, 1,0 та 1,2 %) концентрацій трипсину. Краще поглинання барвника продемонстрував продукт, одержаний гідролізом в присутності 0,8 % трипсину протягом 3 годин. Крім того, оброблена таким гідролізатом шкіра мала значно кращі показники міцності порівняно зі шкірою, обробленою відомим білоквмісним наповнювачем.

Значна кількість відходів утворюється і в інших сферах промисловості. Так, при рибогосподарському переробленні викидається до 50 % сировини, що складається з луски, панцирів, каркасів, хребтів, нутрощів, голови, печінки, шкіри, черевних клаптів, темних м'язів тощо. До того ж, деякі види риби та молюсків призводять до виліву значної кількості прилову, який не становить комерційної цінності через низьку споживчу привабливість. Чутливість до швидкого гниття рибних відходів негативно впливає на навколишнє середовище, що вимагає вжиття серйозних заходів для виправлення цього становища. Вторинне перероблення відходів, крім усунення небезпеки навколишнього середовища, може призвести до утворення ряду цінних побічних продуктів, таких як білки, ферменти, каротиноїди, жири та мінерали [23].

Дослідження з одержання та застосування білкових речовин, і насамперед, колагену з рибних відходів знайшли відображення у низці робіт [24–28]. Наприклад, у [24] наведено результати дослідження з одержання колагенових гідролізатів з відходів скумбрії (*Scomber*) лужно-ферментативним методом окремо або у поєднанні з пероксидом водню при звичайній та підвищеній температурі. Ступінь гідролізу визначали за вмістом загального азоту у кінцевому продукті. На думку авторів, такі гідролізати можуть бути використані для виробництва органічних добрив та стимуляторів росту у тваринництві, а після подальших модифікацій – як компонент біополімерних матеріалів. Проте, публікацій з одержання ферментів з відходів морепродуктів дуже мало, до прикладу можна привести статтю V. Venugopal, науковця Vhabha Atomic Research Centre в Індії [23]. Автор зазначає, що відходи рибальства є хорошим джерелом протеази, ліпази, хітінази, лужної фосфатази, трансклотаминази, гіалуронідази, ацетилглюкозамінідази тощо. Ці ферменти можуть мати різне застосування у рибній промисловості, включаючи виділення та модифікацію білків та морських олій, у виробництві біоактивних пептидів, для прискорення традиційної ферментації, очищення та видалення молюсків, зняття луски з риби, видалення мембран з риб'ячої ікри, екстракції ароматизаторів, продовження терміну придатності, модифікації текстури, видалення неприємних запахів, а також контролю якості або безпосередньо, або у складі біосенсорів. Ферменти з риби та молюсків з холодних місць проживання особливо корисні, оскільки можуть функціонувати при нижчих температурах, тим самим заощаджуючи енергію та захищаючи харчові продукти.

З урахуванням викладеного, у авторів [29] виникла ідея використати компоненти рибних відходів для створенні нового матеріального ресурсу – ферментного препарату для оброблення шкіри. Після проведення низки операцій з рибними відходами отримали дослідний ферментовмісний зразок (препарат) у вигляді дрібно волокнистої субстанції коричневого кольору, добре розчинної у теплій воді. Експериментально встановили, що активність ферментного препарату по специфічному хромогенному субстрату становить 260 мкмоль рNa/хв·мг білка, вміст білка в 1 мг екстракту 0,41 мг. Висока активність досліджуваного об'єкта підтверджена також методом осадження (450 од/1 г препарату). За результатами ІЧ-спектроскопії виявили поліфункціональну природу ферментного препарату, наявність низки активних груп, які беруть участь в утворенні водневих зв'язків. Пошукові дослідження з використанням 0,20-0,65 % препарату при м'якшенні овчини виявили його сумісність з колагеном і показали цілком обнадійливі результати щодо доцільності подальших досліджень у цьому напрямку.

Оскільки активність ферментів може змінюватися у часі, у новій серії експериментів дослідили активність нового препарату після зберігання у холодильній камері при температурі +7...+8 °C протягом трьох років [30]. Було виявлено, що він не втратив свого зовнішнього вигляду: не спостерігалось ані зміни консистенції та кольору, ані появи неприємного запаху. Значення рН 10 % розчину становило 4,6. При оцінюванні активності препарату методом осадження виявлено незначне зменшення показника щодо показника у вихідному стані (435 од/г проти 450 од/г). Це свідчить про певну стабільність структури та властивостей досліджуваного об'єкта. Вплив температури на активність препарату оцінювали в діапазоні 30-60 °C, цілком прийнятному для рідинних фізико-хімічних процесів шкіряного виробництва. Встановлено тенденцію підвищення активності препарату при зростанні температури від 30 до 40-50 °C та її зниження при подальшому підвищенні температури.

Висновки з даного дослідження

Використання чистіших технологій оброблення шкіри сьогодні викликає великий інтерес у зв'язку зі світовими тенденціями на користь екологічно чистого виробництва. Модернізація та впровадження таких технологій, як каталіз на основі ферментів замість звичайного неорганічного каталізу, можуть підвищити

якість та знизити вартість виробництва готової продукції, зробивши її більш екологічно стійкою.

В результаті аналізу сучасних досліджень в області ензимізації шкіряного виробництва виявлено інноваційні підходи до використання комерційно доступних і нових ферментних препаратів у технологічних процесах основного виробництва натуральної шкіри, первинного оброблення сировини, утилізації промислових відходів. Встановлено, що обґрунтоване використання ферментів на різних етапах технологічного циклу шкіряних матеріалів сприяє виготовленню конкурентоспроможної продукції при більш дбайливому відношенні до сировинно-матеріальних та енергетичних ресурсів, екологічного стану навколишнього середовища.

Перспективи подальших досліджень

Одержана інформація буде застосована у майбутніх наукових дослідженнях при розробленні та впровадженні ресурсоощадної екологічно орієнтованої технології виробництва шкіри з використанням сучасних ферментних препаратів.

Література

1. Копитіна І., Андрєєва О., Мокроусова О., Охмат О. Ферменти та підходи до їх використання у виробництві натуральної шкіри. Вісник Хмельницького національного університету. Технічні науки. 2022. № 5 (313). С. 227–232.
2. Гаркавенко С. С., Стаценко Д. В., Злотенко Б. М. Використання ензимів у шкіряно-взуттєвому виробництві : монографія. К. : КНУТД, 2016. 188 с.
3. Choundhary R. B., Jana A. K., Jha M. K. Enzyme technology applications in leather processing. Indian Journal of Chemical Technology. 2004. Vol. 11. P. 659–671.
4. Dettmer A., Schacker Dos Anjos P., Gutterres M. Special Review Paper: Enzymes in the Leather Industry. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2013. Vol. 108 (4). P. 146–158.
5. Колесник Т. О., Андрєєва О. А. Вдосконалення технології виробництва пергаменту. Інноватика в освіті, науці та бізнесі: виклики та можливості : матеріали II Всеукраїнської конференції здобувачів вищої освіти і молодих учених (18 листопада 2021 р., м. Київ). К. : КНУТД, 2021. Т. 1. С. 277-281.
6. Aldema Ramos M., Muir Z., Ashby R. and Liu C-K. Soaking Formulations that can Soften Hardened Bovine Manure. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2011. Vol. 106 (7). P. 212–218.
7. Aldema Ramos M., Muir Z. and Ashby R. Soaking Formulations that can Soften and Remove Hardened Bovine Manure: Part II, Effects on Quality of Leather. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2012. Vol. 107 (5). P. 167–174.
8. Aldema-Ramos M., Muir Z., Wheeler T. Pathogenic Bacteria Inhibition of Bovine Hide Presoaking Solutions Formulated with Enzymes that can Remove Adobe-type Manure. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2013. Vol. 108 (9). P. 355–362.
9. Данилкович А. Г., Ліщук В. І., Охмат О. А. Біотехнологічні процеси формування шкіряних матеріалів. Наукові праці НУХТ. 2018. Том 24. № 5. С. 14–24.
10. Mei Chen, Mingfang Jiang, Min Chen and Haiming Cheng. Approach Towards Safe and Efficient Enzymatic Unhairing of Bovine Hides. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2018. Vol. 113 (2). P. 59–64.
11. Yunhang Zeng, Qian Yang, Ya-nan Wang et al. Neutral Protease Assisted Low-sulfide Hair-save Unhairing Based on pH-sensitivity of Enzyme. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2016. Vol. 111 (9). P. 345–353.
12. Andrioli E. and Gutterres M. Associated Use of Enzymes and Hydrogen Peroxide for Cowhide Hair Removal. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2014. Vol. 109 (2). P. 41–48.
13. Shihao Zhang, Ruoshi Zhang, Xiaoguang Li et al. Heterologous Expression of Alkaline Metalloproteinases in Bacillus Subtilis SCK6 for Eco-Friendly Enzymatic Unhairing of Goatskins. The Journal of American Leather Chemists Association. 2022. Vol. 117 (3). P. 113–126.
14. Li Fuyi, Shi Liwen, Tao Huadong et al. Reducing the Risk of Grain Damage during Bating of Leather Manufacturing: An Alternative to Pancreatic Enzymes with Alkaline Protease from Novel Bacillus Subtilis SCK6. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2020. Vol. 115 (9). P. 315–323.
15. Андрєєва О. А. Фізика та хімія протеїнів : підручник. К. : КНУТД, 2003. 223 с.
16. Ranjithkumar A., Durga J., Ramesh R. Studies on Alkaline Protease from Bacillus crolab MTCC 5468 for Applications in Leather Making. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2017. Vol. 112 (7). P. 232–239.
17. [Emna Moujehed](#), [Zied Zarai](#), [Haifa Khemir](#) et al. Cleaner degreasing of sheepskins by the Yarrowia lipolytica LIP2 lipase as a chemical-free alternative in the leather industry. [Colloids and Surfaces B: Biointerfaces](#). 2022. Vol. 211. P. 112292.
18. [Renata Biškauskaitė](#), [Violeta Valeikienė](#), and [Virgilijus Valeika](#). Enzymes for Leather Processing: Effect on Pickling and Chroming. [Materials \(Basel\)](#). 2021 Mar. Vol. 14 (6). P. 1480.
19. Biškauskaite R., Valeika V. Wet Blue Enzymatic Treatment and Its Effect on Leather Properties and Post-Tanning Processes. [Materials](#). 2023. Vol. 16. P. 2301.

20. Jayakumar G. C., Karthik V., Jeyas Kandhan S., Kanagaraj J. [Effect of Enzymatic Treatment in Leather Manufacture at Different Processing Stage](#). The Journal of American Leather Chemists Association. 2022. Vol. 117 (12). P. 534–541.
21. Joseph Ondari Nyakundi, Jackson Nyarongi Ombui, Wycliffe Chisutia Wanyonyi and Francis Jakim Mula. Recovery of industrially useful hair and fat from enzymatic unhairing of goatskins during leather processing. The Journal of American Leather Chemists Association. 2022. Vol. 117 (6). P. 243–250.
22. Hussien M., Kumar Ramadass S., Madhan B. and Raghava Rao J. Enzymatic Hydrolysis of Limed Trimmings: Preparation, Characterization and Application of Collagen Hydrolysate. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2017. Vol. 112 (2). P. 44.
23. Venugopal V. Enzymes from seafood processing waste and their applications in seafood processing. [Advances in Food and Nutrition Research](#). 2016. Vol. 78. P. 47–69.
24. Коляда М. К., Плаван В. П., Сафранов Т. А., Мельник К. С. Розробка методу утилізації колагенвмісних відходів рибопереробної промисловості. [Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Технічні науки](#). 2016. № 2. С. 177–182.
25. Chalamaiah M., Dinesh Kumar B., Hemalatha R., Jyothirmayi T. Fishprotein hydrolysates: proximate composition, aminoacid composition, antioxidant activities and applications: a review. Food Chem. 2012. Vol.135 (4). P. 3020–3038.
26. Vázquez J. A. Production, Characterization, and Bioactivity of Fish Protein Hydrolysates from Aquaculture Turbot (*Scophthalmus maximus*). Wastes. Biomolecules. 2020. Vol.10 (2). P. 310–323.
27. Villamil O., Váquiro H., Solanilla J. F. Fishviscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. Food Chem. 2017. 224. P. 160–171.
28. Zamora-Sillero J., Gharsallaoui A., Prentice C. Peptides from Fish By-product Protein Hydrolysates and Its Functional Properties: an Overview. Mar Biotechnol (NY). 2018. 20 (2). P. 118–130.
29. Атаманова А. А., Андреєва О. А., Савчук О. М. Дослідження властивостей ферментів, одержаних з відходів промисловості. Achievements and prospects of modern scientific research. Abstracts of the 1st International scientific and practical conference. Editorial EDULCP. Buenos Aires, Argentina. 2020. P. 144–149.
30. Давидюк Д., Копитіна І., Андреєва О. Дослідження ферментного препарату, одержаного з рибних відходів : Innovative Approaches To Solving Scientific Problems. Proceedings of the XIX International Scientific and Practical Conference. Tokyo, Japan (May 16-19, 2023). С. 426–428.

References

1. Kopytina I., Andreieva O., Mokrousova O., Okhmat O. Fermenty ta pidkholdy do yikh vykorystannia u vyrobnytstvi naturalnoi shkiry. Visnyk Khmelnytskoho natsionalnoho universytetu. Tekhnichni nauky. 2022. № 5 (313). S. 227–232.
2. Harkavenko S. S., Statsenko D. V., Zlotenko B. M. Vykorystannia enzymiv u shkiriano-vzuttievomu vyrobnytstvi : monohrafiia. K. : KNUVD, 2016. 188 s.
3. Choudhary R. B., Jana A. K., Jha M. K. Enzyme technology applications in leather processing. Indian Journal of Chemical Technology. 2004. Vol. 11. P. 659–671.
4. Dettmer A., Schacker Dos Anjos P., Gutterres M. Special Review Paper: Enzymes in the Leather Industry. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2013. Vol. 108 (4). R. 146–158.
5. Kolesnyk T. O., Andreieva O. A. Vdoskonalennia tekhnologii vyrobnytstva perhamentu. Innovatyka v osviti, nautsi ta biznesi: vyklyky ta mozhlyvosti : materialy II Vseukrainskoi konferentsii zdobuvachiv vyshchoi osvity i molodykh uchenykh (18 lystopada 2021 r., m. Kyiv). K. : KNUVD, 2021. T. 1. S. 277-281.
6. Aldema Ramos M., Muir Z., Ashby R. and Liu C-K. Soaking Formulations that can Soften Hardened Bovine Manure. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2011. Vol. 106 (7). R. 212–218.
7. Aldema Ramos M., Muir Z. and Ashby R. Soaking Formulations that can Soften and Remove Hardened Bovine Manure: Part II, Effects on Quality of Leather. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2012. Vol. 107 (5). R. 167–174.
8. Aldema-Ramos M., Muir Z., Wheeler T. Pathogenic Bacteria Inhibition of Bovine Hide Presoaking Solutions Formulated with Enzymes that can Remove Adobe-type Manure. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2013. Vol. 108 (9). R. 355–362.
9. Danylkovych A. H., Lishchuk V. I., Okhmat O. A. Biotekhnologichni protsesy formuvannia shkirianykh materialiv. Naukovi pratsi NUKhT. 2018. Tom 24. № 5. S. 14–24.
10. Mei Chen, Mingfang Jiang, Min Chen and Haiming Cheng. Approach Towards Safe and Efficient Enzymatic Unhairing of Bovine Hides. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2018. Vol. 113 (2). R. 59–64.
11. Yunhang Zeng, Qian Yang, Ya-nan Wang et al. Neutral Protease Assisted Low-sulfide Hair-save Unhairing Based on pH-sensitivity of Enzyme. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2016. Vol. 111 (9). R. 345–353.
12. Andrioli E. and Gutterres M. Associated Use of Enzymes and Hydrogen Peroxide for Cowhide Hair Removal. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2014. Vol. 109 (2). R. 41–48.
13. Shihao Zhang, Ruoshi Zhang, Xiaoguang Li et al. Heterologous Expression of Alkaline Metalloproteinases in Bacillus Subtilis SCK6 for Eco-Friendly Enzymatic Unhairing of Goatskins. The Journal of American Leather Chemists Association. 2022. Vol. 117 (3). R. 113–126.
14. Li Fuyi, Shi Liwen, Tao Huadong et al. Reducing the Risk of Grain Damage during Bating of Leather Manufacturing: An Alternative to Pancreatic Enzymes with Alkaline Protease from Novel Bacillus Subtilis SCK6. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2020. Vol. 115 (9). R. 315–323.
15. Andreieva O. A. Fyzyka ta khimiiia proteiniv : pidruchnyk. K. : KNUVD, 2003. 223 s.
16. Ranjithkumar A., Durga J., Ramesh R. Studies on Alkaline Protease from Bacillus crolab MTCC 5468 for Applications in Leather Making. The Journal of the American Leather Chemists Association. 2017. Vol. 112 (7). R. 232–239.
17. Emna Moujehed, Zied Zarai, Haifa Khemir et al. Cleaner degreasing of sheepskins by the Yarrowia lipolytica LIP2 lipase as a chemical-free alternative in the leather industry. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2022. Vol. 211. R. 112292.
18. Renata Biškauskaitė, Violeta Valeikienė, and Virgilijus Valeika. Enzymes for Leather Processing: Effect on Pickling and Chroming. Materials (Basel). 2021 Mar. Vol. 14 (6). R. 1480.

19. Biškauskaite R., Valeika V. Wet Blue Enzymatic Treatment and Its Effect on Leather Properties and Post-Tanning Processes. *Materials*. 2023. Vol. 16. R. 2301.
20. Jayakumar G. C., Karthik V., Jeyas Kandhan S., Kanagaraj J. Effect of Enzymatic Treatment in Leather Manufacture at Different Processing Stage. *The Journal of American Leather Chemists Association*. 2022. Vol. 117 (12). R. 534–541.
21. Joseph Ondari Nyakundi, Jackson Nyarongi Ombui, Wycliffe Chisutia Wanyonyi and Francis Jakim Mula. Recovery of industrially useful hair and fat from enzymatic unhairing of goatskins during leather processing. *The Journal of American Leather Chemists Association*. 2022. Vol. 117 (6). R. 243–250.
22. Hussien M., Kumar Ramadass S., Madhan B. and Raghava Rao J. Enzymatic Hydrolysis of Limed Trimmings: Preparation, Characterization and Application of Collagen Hydrolysate. *The Journal of the American Leather Chemists Association*. 2017. Vol. 112 (2). R. 44.
23. Venugopal V. Enzymes from seafood processing waste and their applications in seafood processing. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2016. Vol. 78. P. 47–69.
24. Koliada M. K., Plavan V. P., Safranov T. A., Melnyk K. S. Rozrobka metodu utylizatsii kolahenvmisnykh vidkhodiv rybopererobnoi promyslovosti. *Visnyk Kyivskoho natsionalnoho universytetu tekhnologii ta dyzainu. Tekhnichni nauky*. 2016. № 2. S. 177–182.
25. Chalamaiah M., Dinesh Kumar B., Hemalatha R., Jyothirmayi T. Fishprotein hydrolysates: proximate composition, aminoacid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chem*. 2012. Vol.135 (4). P. 3020–3038.
26. Vázquez J. A. Production, Characterization, and Bioactivity of Fish Protein Hydrolysates from Aquaculture Turbot (*Scophthalmus maximus*). *Wastes. Biomolecules*. 2020. Vol.10 (2). P. 310–323.
27. Villamil O., Váquiro H., Solanilla J. F. Fishviscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. *Food Chem*. 2017. 224. P. 160–171.
28. Zamora-Sillero J., Gharsallaoui A., Prentice C. Peptides from Fish By-product Protein Hydrolysates and Its Functional Properties: an Overview. *Mar Biotechnol (NY)*. 2018. 20 (2). P. 118–130.
29. Atamanova A. A., Andreieva O. A., Savchuk O. M. Doslidzhennia vlastyvostei fermentiv, oderzhanykh z vidkhodiv promyslovosti. Achievements and prospects of modern scientific research. Abstracts of the 1st International scientific and practical conference. Editorial EDULCP. Buenos Aires, Argentina. 2020. R. 144–149.
30. Davydiuk D., Kopytina I., Andreieva O. Doslidzhennia fermentnoho preparata, oderzhanoho z rybnykh vidkhodiv : Innovative Approaches To Solving Scientific Problems. *Proceedings of the XIX International Scientific and Practical Conference*. Tokyo, Japan (May 16-19, 2023). S. 426–428.