

ВПЛИВ КОМПОНЕНТІВ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА НА БІОСИНТЕЗ ТА АКТИВНІСТЬ ПРОТЕАЗ *BACILLUS* ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

Шкарлат П.А., Мітіна Н.Б., Гармаш С.М.

Український державний університет науки і технологій ННІ
«Український державний хіміко-технологічний університет», м. Дніпро,
Україна, pavelshkarlat99@gmail.com

Протеолітичні ферменти бактеріального походження розглядаються як перспективні біологічно активні речовини для розробки сучасних лікарських препаратів, призначених для прискорення процесів загоєння ран у тварин. Їхня дія заснована на здатності гідролізувати білкові субстрати, руйнувати некротизовані тканини та стимулювати процеси регенерації шкіри. Особливий інтерес представляють штами *Bacillus subtilis* та *Bacillus licheniformis*, які характеризуються високою продуктивністю позаклітинних протеаз, стабільністю за різних технологічних умов та безпекою застосування [1].

Одним із ключових етапів біотехнологічного процесу отримання ферментних препаратів є підбір та оптимізація поживних середовищ для культивування продуцентів. Склад середовища має вплив на рівень біосинтезу ферментів, активність секретованих протеаз та його біохімічні властивості. У сучасних дослідженнях виділяють кілька типів середовищ, що використовуються для вирощування штамів роду *Bacillus*: синтетичні, напівсинтетичні та комплексні. Кожна з них має певні переваги залежно від завдань експерименту та вимог до продукту.

Синтетичні середовища дозволяють суворо контролювати склад та умови культивування, що забезпечує відтворюваність результатів та зручність при дослідженні регуляторних механізмів біосинтезу. Однак для промислового виробництва ферментів вони часто виявляються економічно недоцільними. У той же час комплексні середовища на основі дешевих природних компонентів (пептону, дріжджового екстракту, кукурудзяного гідролізату, соєвого борошна) сприяють інтенсивному зростанню бактерій та підвищеному синтезу протеаз, але їх склад не завжди піддається стандартизації. Оптимальним підходом є використання напівсинтетичних середовищ, у яких поєднуються контрольовані мінеральні солі та органічні джерела вуглецю та азоту.

Особливе значення при культивуванні *B. subtilis* та *B. licheniformis* має вибір джерел азоту. Органічні сполуки (казеїн, соєве або рибне борошно, гідролізати білків) надають стимулюючий вплив на синтез протеолітичних ферментів. Встановлено, що включення в середовище низькомолекулярних пептидів сприяє індукції протеаз, а також полегшує секрецію ферментів у культуральну рідину. Як джерела вуглецю застосовують глюкозу, мальтозу, крохмаль, лактозу, що забезпечують підтримку енергетичного метаболізму та ростової активності клітин. У той же час надлишок легкозасвоюваних цукрів

здатний викликати катаболітну репресію, тому їхня концентрація має бути оптимізована.

Мінеральні компоненти середовища (фосфати, сульфати, хлориди кальцію та магнію, іони марганцю та цинку) не лише підтримують зростання бактерій, а й впливають на активність протеаз. Наприклад, іони кальцію стабілізують структуру ферментів і підвищують їхню термостійкість, що має значення при розробці препаратів пролонгованої дії. Регулювання рН середовища також відіграє критичну роль: більшість штамів *Bacillus* виявляють максимальну протеолітичну активність у слабо лужних умовах (рН 7,5-8,5), що корелює з фізіологічними параметрами шкірних ран у тварин.

Технологічні параметри культивування, а саме: аерація, перемішування та температура, тісно пов'язані зі складом живильного середовища. Оптимізація цих факторів у комплексі дозволяє збільшити вихід протеаз у кілька разів. У виробничих умовах часто застосовують двоступінчасті схеми культивування: на першій стадії забезпечується швидке зростання біомаси в умовах, збагачених вуглецем та азотом, а на другій – стимуляція синтезу ферментів за рахунок обмеження поживних речовин та введення індукторів [2, 3].

Таким чином, розробка та оптимізація живильних середовищ для культивування *Bacillus subtilis* та *Bacillus licheniformis* є ключовим етапом біотехнології отримання протеолітичних ферментів. Застосування збалансованих за складом середовищ з урахуванням особливостей метаболізму продуцентів забезпечує високий рівень біосинтезу ферментів та покращує їх функціональні характеристики. Отримані протеази можуть бути використані при створенні ефективних ветеринарних препаратів, що сприяють прискореному очищенню та загоєнню ран у тварин. Це відкриває перспективи для розробки нових біотехнологічних рішень у ветеринарній медицині та фармації, спрямованих на підвищення якості та безпеки терапії.

1. Razzaq, A.; Shamsi, S.; Ali, A.; Ali, Q.; Sajjad, M.; Malik, A.; Ashraf, M. Microbial proteases applications. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* **2019**, 7, № 110. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00110

2. Sun, B.; Zou, K.; Zhao, Y.; Tang, Y.; Zhang, F.; Chen, W.; Tang, X.; Chang, C.; Zheng, Y. The fermentation optimization for alkaline protease production by *Bacillus subtilis* BS-QR-052. *Frontiers in Microbiology* **2023**, 14. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1301065

3. Sarker, P. K.; Talukdar, S. A.; Deb, P.; Sayem, S. A.; Mohsina, K. Optimization and partial characterization of culture conditions for the production of alkaline protease from *Bacillus licheniformis* P003. *SpringerPlus* **2013**, 2 (1). DOI: 10.1186/2193-1801-2-506.