

EDN: HORLYA

УДК 615.46.015

Waste Fish Oil is a Promising Substrate for the Synthesis of Target Products of Biotechnology

Natalia O. Zhila^{*a},
Vladimir V. Volkov^b, Olga Ya. Mezenova^b,
Evgeniy G. Kiselev^a and Tatiana G. Volova^a
^a*Institute of Biophysics SB RAS,
FRC “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”
Krasnoyarsk, Russian Federation*
^b*Kaliningrad State Technical University
Kaliningrad, Russian Federation*

Received 03.06.2023, received in revised form 16.08.2023, accepted 01.09.2023

Abstract. Fat derived from the waste of the Baltic sprat (*Sprattus sprattus*) canning industry was studied as a carbon substrate for the synthesis of single cell protein and degradable bioplastics, polyhydroxyalkanoates (PHAs), in the culture of three bacterial strains: *Cupriavidus necator* B-5786, *C. necator* B-8562, and *C. necator* B-10646. The fatty substrate used in the present study contained 95 % of total lipids, 4 % of proteins, and 1 % of carbohydrates. Sixteen fatty acids (FAs) of lipids were identified, with palmitic (28.0 %), oleic (25.3 %), and docosahexaenoic (16.7 %) acids prevailing. The modes of cell cultivation were varied and the concentration of nitrogen in the medium was changed to direct metabolism towards synthesis of single cell protein or reserve PHAs. On complete nutrient medium, all strains synthesized high-protein biomass containing at least 70 and 50 % of “crude” protein and protein, respectively, which were complete in amino acids, including essential ones. When bacterial growth was limited by nitrogen, high (up to 60–70 %) yields of PHAs were obtained. The PHAs were represented by 3-component copolymers poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate-co-3-hydroxyhexanoate) (P(3HB-co-3HV-co-3HHx)) with 0.20–0.31 mol.% of 3HV and 0.04–0.07 mol.% of 3HHx and with a weight average molecular weight of at least 600 kDa and a degree of crystallinity of about 70 %. Based on these parameters, the fat-containing waste of the fish-canning industry can be regarded as a promising renewable substrate for the biotechnological production of single cell protein and biodegradable “green” plastics – polyhydroxyalkanoates.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: nzhila@mail.ru

ORCID: 0000-0002-6256-0025 (Zhila N.); 0000-0001-5560-7131 (Volkov V.); 0000-0003-4472-7087 (Kiselev E.); 0000-0001-9392-156X (Volova T.)

Keywords: waste fish oil, carbon substrate, biosynthesis, single cell protein, biodegradable bioplastics.

Acknowledgements. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23–64–10007.

Citation: Zhila N. O., Volkov V. V., Mezenova O. Ya., Kiselev E. G., Volova T. G. Waste fish oil is a promising substrate for the synthesis of target products of biotechnology. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2023, 16(3), 386–397.
EDN: HORLYA



Отходы рыбопереработки – перспективный субстрат для синтеза целевых продуктов биотехнологии

**Н. О. Жила^а, В. В. Волков^б,
О. Я. Мезенова^б, Е. Г. Киселев^а, Т. Г. Волова^а**

*^аИнститут биофизики СО РАН,
ФИЦ КНЦ СО РАН*

*Российская Федерация, Красноярск
^бКалининградский государственный
технический университет
Российская Федерация, Калининград*

Аннотация. Жир, полученный из отходов производства консервов прибалтийской кильки (*Sprattus sprattus*), впервые исследован в качестве углеродного субстрата для синтеза белка одноклеточных и разрушаемых биопластиков полигидроксиалканоев (ПГА) в культуре трех штаммов бактерий: *Cupriavidus necator* В-5786, *C. necator* В-8562, *C. necator* В-10646. В исследуемом жире общие липиды составили 95 %, белок и углеводы 4 и 1 % соответственно; в составе жирных кислот (ЖК) липидов идентифицировано 16 жирных кислот с доминированием пальмитиновой (28,0 % от суммы ЖК), олеиновой (25,3 % от суммы ЖК), докозагексаеновой (16,7 % от суммы ЖК) кислот. При варьировании режимов выращивания бактерий и изменении концентрации азота в среде показана возможность синтеза белковой биомассы или резервных ПГА. На полной среде все штаммы синтезируют высокобелковую биомассу с содержанием «сырого» протеина и белка не менее 70 и 50 % соответственно с полным набором аминокислот, включая незаменимые. При лимитированном росте бактерий по азоту получены высокие (до 60–70 %) выходы ПГА, представленные 3-х компонентными сополимерами поли(3-гидроксибутират-*co*-3-гидроксивалерат-*co*-3-гидроксигексаноат) (П(ЗГБ-*co*-ЗГВ-*co*-ЗГГ)) с содержанием ЗГВ и ЗГГ соответственно 0,20–0,31 и 0,04–0,07 мол.% и со значениями средневесовой молекулярной массы не ниже 600 кДа и степенью кристалличности порядка 70 %. Исследованный жиросодержащий отход рыбопереработки можно отнести к перспективному возобновляемому и доступному субстрату для биотехнологического получения белка одноклеточных и биоразрушаемых «зеленых» пластиков.

Ключевые слова: жировые отходы рыбопереработки, углеродный субстрат, биосинтез, белок одноклеточных, разрушаемые биопластики.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23–64–10007.

Цитирование: Жила Н. О. Отходы рыбопереработки – перспективный субстрат для синтеза целевых продуктов биотехнологии / Н. О. Жила, В. В. Волков, О. Я. Мезенова, Е. Г. Киселев, Т. Г. Волова // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2023. 16(3). С. 386–397. EDN: HORLYA

Введение

Вызовы, с которыми человечество сталкивается сегодня, включают исчерпаемость сырьевых и энергетических ресурсов, возрастающий дефицит пищи, глобальное загрязнение окружающей среды техногенными отходами и изменение климата, для решения которых, наряду с традиционными технологиями и средствами, все большее значение приобретают продукты, препараты и материалы, получаемые в процессах биотехнологии.

Проблема продовольственной безопасности и адекватное потребностям населения планеты обеспечение продовольствием – одна из ключевых и глобальных проблем, стоящих перед человечеством XXI века (Porter et al., 2014). Мировая потребность в белке в настоящее время удовлетворяется примерно на 40 % (Boland et al., 2013). Наряду с сельским хозяйством, на решение проблемы продовольственной безопасности и насыщения рынка качественными белковыми продуктами питания значительное влияние оказывает потенциал рыбохозяйственного комплекса. Аквакультура и рыболовство в совокупности составляют 17 % от общего количества белка животного происхождения и 6,7 % от всего потребляемого белка (Богачев, 2017, 2018; Годовой отчет ПАО «Русская аквакультура», 2021). Однако технологии рыбопереработки создают экологические проблемы вследствие образования огромного количества отходов.

Эффективным альтернативным способом получения аминокислот (Wendisch, Kerbs, 2022) и белковых веществ является ми-

кробиологический синтез (Ritala et al., 2017). Качество микробных белков близко белкам животного происхождения (Bourdichon et al., 2012; Wendisch, Kerbs, 2022). Применение микробных белков в кормопроизводстве улучшает качество и усвояемость традиционных растительных кормов. В технико-экономических показателях микробиологического синтеза белка (single cell protein, SCP) определяющее значение имеют удельные затраты и стоимость сырья (до 50 % в структуре всех затрат). Поэтому важнейший вопрос при разработке новых технологий получения белка одноклеточных – это доступность сырьевой базы. В биотехнологических процессах синтеза SCP возможно использование как «чистого» сырья постоянного химического состава, так и комплексных соединений, включая отходы производств. Последнее наиболее выгодно экономически и имеет огромное значение для охраны окружающей среды. В этой связи биотехнологические процессы – это не только синтез целевых продуктов, но и способ утилизации отходов различного происхождения.

Наблюдаемая в настоящее время аккумуляция в биосфере громадных объемов техногенных отходов различного происхождения в результате хозяйственной деятельности человека создает глобальные экологические проблемы. Особую опасность для здоровья человека, а также сохранения биоразнообразия и биоресурсов представляют продукты химического синтеза, среди которых – ПАВы, нефтепродукты, пестициды, синтетические

неразрушаемые пластики, объемы производства которых превысили 380 млн т/год. Накопление пластиковых отходов загрязняет воды Мирового океана, угрожает биоте и здоровью человека; под полигоны и свалки ежегодно изымаются огромные земельные площади, включая плодородные пахотные (Geyer et al., 2017; Lavers, Bond, 2017). Решение проблемы пластикового мусора – постепенный переход на разрушаемые полимерные материалы нового поколения (Awasthi et al., 2022), среди которых особое место принадлежит полигидроксиалканоатам (ПГА), полимерам микробиологического происхождения. ПГА – это семейство биоразрушаемых термопластичных полимеров разнообразного химического строения с различными физико-химическими свойствами (Laycock et al., 2013; Volova et al., 2013; Chen et al., 2020; Mitra et al., 2022; Tan et al., 2021; Koller, Mukherjee, 2022), которые можно перерабатывать в изделия известными и доступными методами из различных фазовых состояний (Kalia et al., 2019; Tarrahi et al., 2020; Pora et al., 2022), а также получать композиты для различных сфер – от коммунального и сельского хозяйства до фармакологии и биомедицины (Polyhydroxyalkanoate (PHA) market..., 2017; Koller, Mukherjee, 2020; Dalton et al., 2022; Palmeiro-Sánchez et al., 2022). Важно отметить, что ПГА, вследствие возможности синтеза на отходах, имеют большой потенциал для вклада в “The Circular Economy” (Adeleye et al., 2020; Parlato et al., 2020).

Ключевая проблема, решение которой необходимо для наращивания объемов выпуска и расширения сфер применения разрушаемых пластиков, – это снижение их стоимости за счет привлечения доступного углеродного сырья, доля которого в структуре затрат при производстве ПГА, аналогично технологиям синтеза белка одноклеточных, составляет до 45–50 %.

Новым и малоизученным источником углеродного сырья для биотехнологических процессов могут стать жиросодержащие отходы рыбоперерабатывающей отрасли. Содержание жиросодержащих отходов оценивается до 60 % от объемов образуемых рыбных субпродуктов (Ghaly et al., 2013). Выбросы рыбоперерабатывающей промышленности превышают 20 млн т/год, что составляет 25 % от общего объема вылова морского рыбного промысла. Это означает наличие и ежегодную доступность большого количества возобновляемого жиросодержащего сырья для синтеза целевых продуктов биотехнологии с высокой добавленной стоимостью. Этот ресурс в качестве субстрата для процессов биотехнологии практически не изучен. Опубликовано незначительное число работ, посвященных исследованию жиросодержащих отходов рыбопереработки: гидролизатов сырого минтая (Ashby, Solaiman, 2008), консервированного тунца (Argiz et al., 2021; Sangkharak et al., 2021), стоков заводов по переработке рыбы (Correa-Galeote et al., 2022).

Цель настоящей работы – оценка потенциала нового источника жиросодержащих отходов, получаемых при производстве консервированных шпротов, для синтеза целевых продуктов биотехнологии – белка одноклеточных и разрушаемых биопластиков полигидроксиалканоатов.

Материалы и методы

Получение и характеристика жиросодержащих отходов

В качестве углеродного субстрата исследованы жиросодержащие отходы, извлекаемые из голов кильки (*Sprattus sprattus*) после копчения. Головы кильки измельчали, смешивали с водой в соотношении 1:1. Полученную смесь нагревали до 90 °С и выдерживали при перемешивании 15–20 мин; затем смесь

центрифугировали при 3000 g (Megafuge 1.0R, Thermo Fisher Scientific, США); жирную фракцию надосадочной жидкости отделяли от обезжиренной фракции декантацией. Жирнокислотный состав масла анализировали после получения метиловых эфиров жирных кислот с использованием газового хроматографа с масс-спектрометром (7890/5975C, Agilent Technologies, США). Условия хроматографирования: газ-носитель – гелий, скорость – 1 мл/мин; колонка капиллярная HP-5. Более подробно условия хроматографирования описаны в работе (Kalacheva, Volova, 2007).

Техника культивирования микроорганизмов

Исследованы микроорганизмы коллекции Института биофизики СО РАН: *Cupriavidus necator* B-5786, глюкозоуспеивающий мутантный штамм *C. necator* B-8562, штамм *C. necator* B-10646 с высоким органоτροφным потенциалом (Волова, Шишацкая, 2012). Бактерии выращивали на минеральной среде Шлегеля (Schlegel et al., 1961) в 0,5-л колбах с использованием термостатируемого шейкера-инкубатора «Incubator Shaker Innova®» серии 44 (New Brunswick Scientific, США) при температуре 30 °С. Для синтеза белка концентрация NH_4Cl в среде составляла 1,0 г/л; для синтеза полимеров – 0,5 г/л. Регистрировали полученный выход бактериальной биомассы в культуре (X, г/л), химический состав клеточной биомассы (содержание, состав белка и ПГА). Эксперименты проведены в трех повторностях.

Биохимические анализы

Определение сырого протеина (количество общего азота в биомассе бактерий, умноженное на коэффициент 6,25) проводили по Кьельдалю, углеводов – антроновым мето-

дом (Методы биохимического исследования растений, 1972). Содержание белка определяли по Лоури (Lowry et al., 1951), аминокислотный состав белка исследовали с использованием Amino Acid Analyzer LA8080 (Hitachi, Japan) по методу Moore and Stein (1954) и Spackman et al. (1958), содержание нуклеиновых кислот в клетках бактерий определяли по методу Спирина (Спирин, 1958). Липиды экстрагировали с использованием смеси хлороформ: этанол (2:1), как описано ранее (Kalacheva, Volova, 2007).

Анализ и свойства ПГА

Полимер экстрагировали из клеточной биомассы дихлорметаном. Полученный экстракт концентрировали на роторном испарителе R/210V (Büchi, Швейцария), затем полимер осаждали этанолом. Повторение процедуры растворения и переосаждения полимера обеспечило удаление примесей и получение гомогенных образцов. Образцы полимера сушили в вытяжном шкафу при комнатной температуре в течение 72 часов. Содержание и состав полимера анализировали с помощью газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ–МС) (6890/5975C, Agilent Technologies, США). Молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение ПГА исследовали с помощью гель-проникающей хроматографии (Agilent Technologies 1260 Infinity, США). Термические свойства полимера анализировали на дифференциальном сканирующем калориметре DSC-1 (Mettler Toledo, Швейцария). Температуры плавления определяли по экзотермическим пикам на термограммах с помощью программы STARe. Деструкцию образцов исследовали с помощью системы термического анализа TGA2 (Mettler Toledo, Швейцария). Рентгеноструктурный анализ и определение кристалличности образцов проводили на порошковом

рентгеновском дифрактометре D 8ADVANCE (Bruker AXS, Германия).

Результаты и обсуждение

Химический анализ показал, что в составе жировых отходов общие липиды составляют 95 %, белки – 4 %, углеводы – порядка 1 %. В составе жирных кислот (ЖК) липидов (табл. 1) идентифицировано 16 жирных кислот. Среди доминирующих ЖК – пальмитиновая (28,0 %), олеиновая (25,3 %), докозагексаеновая (16,7 %), а также тимнодоновая (8,7 %); содержание остальных жирных кислот было низким, от менее 1 % до 3–4 %.

Культивирование бактерий на полной питательной среде Шлегеля и 100 %-ной обеспеченности азотом (NH_4Cl 1,0 г/л) при использовании в качестве источника углерода жировых отходов в концентрации 10 г/л реализовано в периодическом режиме в колбах

в культуре трех штаммов: *C. necator* В-5786, *C. necator* В-8562, *C. necator* В-10646. Показано, что все штаммы способны к росту на этом жировом субстрате в качестве единственного источника углерода. Однако показатели по величине урожая биомассы бактерий несколько варьировали, но в целом были сопоставимы с контролем (рост бактерий на глюкозе). За 40 ч процесса урожай биомассы составил 4,0, 4,2 и 4,9 г/л соответственно для штаммов *C. necator* В-5786, *C. necator* В-8562, *C. necator* В-10646. В биомассе присутствовал полимер, при этом его содержание было невысоким и составляло 25, 29 и 24 % от веса сухой биомассы соответственно.

В процессе культивирования жирные кислоты утилизировались бактериями неравномерно и с преимущественным потреблением линоленовой, тимнодоновой, докозагексаеновой кислот, концентрация которых

Таблица 1. Жирнокислотный состав жиросодержащих отходов рыбпереработки кильки балтийской
Table 1. Fatty acid composition of fat-containing waste of Baltic sprat processing industry

Индекс ЖК	Название	Содержание, % от суммы ЖК
14:0	Миристиновая	3,5
15:0	Пентадекановая	0,5
16:0	Пальмитиновая	28,0
16:1	Пальмитинолеиновая	0,3
17:0	Маргариновая	0,1
18:0	Стеариновая	4,5
18:1 ω9	Олеиновая	25,3
18:2 ω6	Линолевая	2,5
18:3 ω3	Линоленовая	4,3
20:0	Арахидиновая кислота	0,3
20:1	Эйкозеновая	1,0
20:2	Эйкозодиеновая	0,4
20:5 ω3	Тимнодоновая	8,7
22:0	Бегеновая кислота	0,5
22:6 ω3	Докозагексаеновая	16,7
24:1	Нервоновая	1,5
Другие		1,2

к концу процесса (72 ч) упала многократно, в 10 и более раз. В остаточном липидном субстрате резко сократилось содержание полиненасыщенных и моноеновых длинноцепочечных жирных кислот; остаточные насыщенные кислоты дальнейший рост клеток не обеспечивали. Поэтому продолжение процесса роста бактерий было возможно только при реализации режима культивирования с подпиткой субстратом и внесении в культуру новых порций жира. Достигнутые в предварительных экспериментах показатели полноты усвоения культурой бактерий исследуемого липидного субстрата составили 60–70 %.

Общий химический состав бактериальных клеток приведен в табл. 2. Самое высокое содержание «сырого» протеина и белка получено в культуре быстрорастущего штамма *C. necator* В-10646 (74,2 и 52,3 % соответственно).

Информация о содержании общего белка не является показателем биологической ценности белкового продукта. Более значимым является аминокислотный состав белков. Результаты сравнения аминокислотного состава белков исследованных штаммов с литературными данными по белкам водорослей, дрожжей и животного белка (казеина) приведены в табл. 3. Белок бактерий, дрожжей и водорослей по аминокислотному составу близок к казеину. При этом содержание неза-

менимых аминокислот у исследуемых штаммов, выращиваемых на жировом отходе, сопоставимо с таковым у дрожжей, но общее количество белка в биомассе (% от сухой биомассы) существенно различается. Для дрожжей это значение составляет в среднем 50 %, а для исследуемых бактериальных штаммов – 70 %. Синтезируемый бактериями белок богат незаменимыми аминокислотами (их общее количество достигает 40 %). Отмечено несколько пониженное содержание лейцина и фенилаланина на фоне повышенного содержания лизина, треонина и валина по сравнению с казеином.

Полученные результаты показали, что использование исследуемого жира, являющегося отходом рыбопереработки, в качестве углеродного субстрата позволяет получать полноценную белковую биомассу и отвечает требованиям, предъявляемым к качественным белковым продуктам (Bourdichon et al., 2012; Wendisch, Kerbs, 2022).

Изменение условий культивирования бактерий, а именно, снижение концентрации азота в два раза от содержания NH_4Cl в стандартной среде Шлегеля для лимитирования роста клеток изменяет направленность конструктивного метаболизма и переключает поток внутриклеточных первичных метаболитов в цикл синтеза резервных макромолекул липидной природы – полигидроксикалка-

Таблица 2. Химический состав биомассы бактерий, полученной на жировых отходах рыбопереработки
Table 2. Chemical composition of bacterial biomass cultivated on waste fat from fish processing

Штаммы	Состав биомассы бактерий (% к АСБ)					
	«сырой» протеин	белок	РНК+ ДНК	Углеводы	Липиды	ПГА
<i>Cupriavidus necator</i> В-10646	74,2	52,3	12,8	5,0	6,0	23,9
<i>Cupriavidus necator</i> В-5786	71,3	50,6	8,2	6,7	9,1	25,4
<i>Cupriavidus necator</i> В-8562	70,6	49,8	7,9	6,4	7,2	28,7
<i>Cupriavidus necator</i> Z1*	64,4	45,2	7,2	6,2	9,1	32,4

* – штамм академика Г. А. Заварзина (коллекция отдела литотрофных культур Института микробиологии РАН)

Таблица 3. Аминокислотный состав белков различного происхождения

Table 3. Amino acid composition of proteins of various origins

Состав аминокислот (% от суммы аминокислот)	Бактериальные штаммы			Пекарские дрожжи*, г/100 г белка	<i>Chlorella</i> *	Казеин*
	<i>C. necator</i> В-10646	<i>C. necator</i> В-5786	<i>C. necator</i> В-8562			
Валин	6,4	7,1	7,5	6,4	5,4	5,7
Изолейцин	4,5	4,6	4,5	4,5	3,6	4,1
Лейцин	8,6	8,9	8,7	7,9	8,9	9,4
Лизин	9,0	8,6	7,2	7,0	6,0	7,3
Метионин	2,6	2,5	0,4	2,6	2,2	2,5
Треонин	5,1	4,5	5,7	5,3	4,9	4,2
Триптофан	1,4	-	-	1,2	1,6	1,3
Фенилаланин	4,4	4,2	3,9	4,5	4,4	4,6
Аланин	9,1	9,5	13,7	9,1	9,2	3,0
Аргинин	7,1	8,0	7,5	7,3	7,7	3,3
Аспарагин	10,1	9,6	9,5	10,1	9,5	7,1
Гистидин	2,0	2,5	1,4	1,2	1,8	2,2
Глицин	6,1	7,1	10,2	6,1	6,3	1,9
Глутаминовая	11,6	12,4	10,8	12,6	13,3	22,2
Пролин	3,8	3,5	0,8	4,6	5,7	10,4
Серин	4,0	3,5	4,8	4,0	4,9	5,7
Тирозин	3,6	3,5	2,9	5,0	3,1	4,8
Цистеин	0,6	-	0,4	0,6	1,4	0,4

Примечание: «-» – не обнаружено; *- Покровский, Солин (1972)

ноатов. Выращивание исследуемых штаммов на среде, содержащей уменьшенную концентрацию источника азота, привело к урожаю биомассы бактерий 4,7–5,1 г/л и значительному увеличению содержания полимера в клетках бактерий, до 58–64 % от веса сухой биомассы (АСБ). Удлинение процесса культивирования до 72 ч не влияло на урожай биомассы бактерий, но повышало до 65–72 % внутриклеточное содержание полимера (табл. 4). Полученные результаты по урожаю биомассы и выходу полимеров сопоставимы или превосходят показатели, полученные при синтезе ПГА на жировых отходах из других источников (Ashby, Solaiman, 2008; Argiz et al., 2021; Sangkharak et al., 2021; Correa-Galeote et al., 2022).

Образцы ПГА, синтезированные всеми штаммами на жировом субстрате из отходов рыбопереработки, представляли собой трехкомпонентный полимер, образованный мономерами 3-гидроксibuтирата (ЗГБ), 3-гидроксивалерата (ЗГВ) и 3-гидроксигексаноата (ЗГГ). Доминирующим мономером (более 99 мол.%) был 3-гидроксibuтират (табл. 4). Аналогичный эффект синтеза сополимерных ПГА на растительных маслах отмечен в работе Pérez-Arauz et al. (2019) и Volova et al. (2020).

Включения 3-гидроксивалерата и 3-гидроксигексаноата были минорными и составляли, соответственно, 0,20–0,31 и 0,04–0,07 мол.%. Синтезированные полимеры имели значения средневесовой молекуляр-

Таблица 4. Урожай бактериальной биомассы, состав и свойства образцов ПГА, синтезированных на жировом субстрате рыбопереработки

Table 4. Yield of bacterial biomass, composition and properties of PHA samples synthesized on the waste fat from fish processing

Штамм	Урожай биомассы (г/л)	ПГА (% к АСБ)	Состав ПГА (мол.%)			M _w , кДа	Đ	C _x , %	T _{пл} , °C	T _{дегр} , °C
			ЗГБ	ЗГВ	ЗГГ					
<i>C. necator</i> B-5786	4,7	66	99,72	0,24	0,04	600	5,7	68	170	285
<i>C. necator</i> B-8562	4,8	65	99,75	0,20	0,05	590	5,5	72	169	278
<i>C. necator</i> B-10646	5,1	72	99,62	0,31	0,07	620	5,5	69	172	283

ной массы (M_в) от 590 до 620 кДа при повышенных значениях полидисперсности (Đ) (5,5–5,7); степень кристалличности определена на уровне 68–72 %. Показатели температуры плавления (T_{пл}) и термической деградации (T_{дегр}) полигидроксиалканоев, синтезируемых исследуемыми штаммами, имели близкие значения. Значения T_{пл} лежали в диапазоне 169–172 °C; T_{дегр} – 278–285 °C.

Заключение

Полученные пионерные результаты оценки жирового сырья из отходов переработки балтийской кильки (*Sprattus sprattus*) позволяют отнести его к перспективному субстрату для биотехнологического получения белковой биомассы с полноценным аминокислотным составом и биоразрушаемых «зеленых» пластиков – полигидроксиалканоев.

Список литературы / References

Богачев А. И. (2017) Роль рыболовства и аквакультуры в обеспечении продовольственной безопасности: мировой аспект. *Вестник сельского развития и социальной политики*, 4: 2–4 [Bogachev A. I. (2017) The role of fisheries and aquaculture in food security: the world aspect. *Bulletin of Rural Development and Social Policy* [Vestnik sel'skogo razvitiya i sotsial'noi politiki], 4: 2–4 (in Russian)]

Богачев А. И. (2018) Обеспечение продовольственной безопасности на основе развития рыбного хозяйства. *Вестник НГИЭИ*, 5: 110–121 [Bogachev A. I. (2018) Provision food security based on development fisheries. *Bulletin NGIEI* [Vestnik NGIEI], 5: 110–121 (in Russian)]

Волова Т. Г., Шишацкая Е. И. (2012) Штамм бактерий *Cupriavidus eutrophus* ВКПМ В-10646 – продуцент полигидроксиалканоев и способ их получения. Патент РФ № 2439143 [Volova T. G., Shishatskaja E. I. (2012) *Cupriavidus eutrophus* VKPM В-10646 bacteria strain – producer of polyhydroxyalkanoates and production method thereof. RF Patent No. 2439143 (in Russian)]

Годовой отчет ПАО «Русская аквакультура» (2021) 127 с. [Annual report of PJSC «Russian Aquaculture» (2021) 127 p (in Russian)]

Методы биохимического исследования растений (1972) Ермаков А. И. (ред.) Ленинград, Колос, 306 с. [Methods of biochemical research of plants (1972) Ermakov A. I. (ed.) Leningrad, Kolos, 306 p. (in Russian)]

Покровский А. А., Сомин В. И. (1972) Аминокислотный состав некоторых одноклеточных организмов. *Медико-биологические исследования углеводородных дрожжей*. Покровский А. А.

(ред.) Москва, Наука, с. 103–109 [Pokrovskiy A. A., Somin V.I. (1972) Amino acid composition of some unicellular organisms. *Medical and biological studies of hydrocarbon yeast*. Pokrovskiy A. A. (ed.) Moscow, Nauka, p. 103–109 (in Russian)]

Спирин А. С. (1958) Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот. *Биохимия*, 23(5): 656–662 [Spirin A. S. (1958) Spectrophotometric determination of total nucleic acids. *Biochemistry* [Biokhimiya], 23(5): 656–662 (in Russian)]

Adeleye A. T., Odoh C. K., Enudi O. C., Banjoko O. O., Osiboye O. O., Odediran E. T., Louis H. (2020) Sustainable synthesis and applications of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from biomass. *Process Biochemistry*, 96: 174–193

Argiz L., Gonzalez-Cabaleiro R., Correa-Galeote D., del Rio A. V., Mosquera-Corral A. (2021) Open-culture biotechnological process for triacylglycerides and polyhydroxyalkanoates recovery from industrial waste fish oil under saline conditions. *Separation and Purification Technology*, 270: 118805

Ashby R. D., Solaiman D. K. Y. (2008) Poly(hydroxyalkanoate) biosynthesis from crude alaskan pollock (*Theragra chalcogramma*) oil. *Journal of Polymers and the Environment*, 16(4): 221–229

Awasthi S. K., Kumar M., Kumar V., Sarsaiya S., Anerao P., Ghosh P., Singh L., Liu H., Zhang Z., Awasthi M. K. (2022) A comprehensive review on recent advancements in biodegradation and sustainable management of biopolymers. *Environmental Pollution*, 307: 119600

Boland M. J., Rae A. N., Vereijken J. M., Meuwissen M. P. M., Fischer A. R. H., van Boekel M. A. J. S., Rutherford S. M., Gruppen H., Moughan P. J., Hendriks W. H. (2013) The future supply of animal-derived protein for human consumption. *Trends in Food Science and Technology*, 29(1): 62–73

Bourdichon F., Casaregola S., Farrokh C., Frisvad J. C., Gerds M. L., Hammes W. P., Harnett J., Huys G., Laulund S., Ouwehand A., Powell I. B., Prajapati J. B., Seto Y., Schure E. T., Boven A. V., Vankerckhoven V., Zgoda A., Tuijelaars S., Hansen E. B. (2012) Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3): 87–97

Chen G.-Q., Chen X.-Y., Wu F.-Q., Chen J.-C. (2020) Polyhydroxyalkanoates (PHA) toward cost competitiveness and functionality. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1): 1–7

Correa-Galeote D., Argiz L., del Rio A. V., Mosquera-Corral A., Juarez-Jimenez B., Gonzalez-Lopez J., Rodelas B. (2022) Dynamics of PHA-accumulating bacterial communities fed with lipid-rich liquid effluents from fish-canning industries. *Polymers*, 14(7): 1396

Dalton B., Bhagabati P., De Micco J., Padamati R. B., O'Connor K. (2022) A review on biological synthesis of the biodegradable polymers polyhydroxyalkanoates and the development of multiple applications. *Catalysts*, 12(3): 319

Geyer R., Jambeck J. R., Law K. L. (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7): e1700782

Ghaly A. E., Ramakrishnan V. V., Brooks M. S., Budge S. M., Dave D. (2013) Fish processing wastes as a potential source of proteins, amino acids and oils: a critical review. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 5(4): 107–129

Kalacheva G. S., Volova T. G. (2007) Fatty acid composition of *Wautersia eutropha* lipids under conditions of active polyhydroxyalkanoates synthesis. *Microbiology*, 76(5): 535–540

Kalia V. C., Ray S., Patel S. K. S., Singh M., Singh G. P. (2019) The dawn of novel biotechnological applications of polyhydroxyalkanoates. *Biotechnological applications of polyhydroxyalkanoates*. Kalia V. C. (ed.) Singapore, Springer, p. 1–11

Koller M., Mukherjee A. (2020) Polyhydroxyalkanoates—linking properties, applications, and end-of-life options. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 34(3): 115–129

Koller M., Mukherjee A. (2022) A new wave of industrialization of PHA biopolyesters. *Bioengineering*, 9(2): 74

Lavers J.L., Bond A.L. (2017) Exceptional and rapid accumulation of anthropogenic debris on one of the world's most remote and pristine islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(23): 6052–6055

Laycock B., Halley P., Pratt S., Werker A., Lant P. (2013) The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates. *Progress in Polymer Science*, 38(3–4): 536–583

Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–275

Mitra R., Xu T., Chen G.-Q., Xiang H., Han J. (2022) An updated overview on the regulatory circuits of polyhydroxyalkanoates synthesis. *Microbial Biotechnology*, 15(5): 1446–1470

Moore S., Stein W.H. (1954) Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four per cent cross-linked sulfonated polystyrene resins. *Journal of Biological Chemistry*, 211(2): 893–906

Palmeiro-Sánchez T., O'Flaherty V., Lens P.N. L. (2022) Polyhydroxyalkanoate bio-production and its rise as biomaterial of the future. *Journal of Biotechnology*, 348: 10–25

Parlato M. C. M., Valenti F., Porto S.M. C. (2020) Covering plastic films in greenhouses system: a GIS-based model to improve post use sustainable management. *Journal of Environmental Management*, 263: 110389

Pérez-Arauz A. O., Aguilar-Rabiela A. E., Vargas-Torres A., Rodríguez-Hernández A. I., Chavarría-Hernández N., Vergara-Porras B., López-Cuellar M. R. (2019) Production and characterization of biodegradable films of a novel polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesized from peanut oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 20: 100297

Polyhydroxyalkanoate (PHA) market by type, manufacturing technology and application – global forecast to 2021 – research and markets (July 26, 2017) <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/pha-market-395.html>

Popa M.S., Frone A.N., Panaitescu D.M. (2022) Polyhydroxybutyrate blends: A solution for biodegradable packaging? *International Journal of Biological Macromolecules*, 207: 263–277

Porter J.R., Xie L., Challinor A.J., Cochrane K., Howden S.M., Iqbal M.M., Lobell D.B., Travasso M.I. (2014) Food security and food production systems. *Climate change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of working group II to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Field C.B., Barros V.R., Dokken D.J., Mach K.J., Mastrandrea M.D., Bilir T.E., Chatterjee M., Ebi K.L., Estrada Y.O., Genova R.C., Girma B., Kissel E.S., Levy A.N., MacCracken S., Mastrandrea P.R., White L.L. (eds.) Cambridge and New York, Cambridge University Press, p. 485–533

Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. (2017) Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2009

Sangkhakar K., Paichid N., Yunu T., Klomkiao S., Prasertsan P. (2021) Utilization of tuna condensate waste from the canning industry as a novel substrate for polyhydroxyalkanoate production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(5): 2053–2064

Schlegel H. G., Kaltwasser H., Gottschalk G. (1961) A submersion method for culture of hydrogen-oxidizing bacteria: growth physiological studies. *Archiv für Mikrobiologie*, 38: 209–222

Spackman D.H., Stein W.H., Moore S. (1958) Automatic recording apparatus for use in chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry*, 30(7): 1190–1206

Tan D., Wang Y., Tong Y., Chen G.-Q. (2021) Grand challenges for industrializing polyhydroxyalkanoates (PHAs). *Trends in Biotechnology*, 39(9): 953–963

Tarrahi R., Fathi Z., Seydibeyoğlu M. Ö., Doustkhah E., Khataee A. (2020) Polyhydroxyalkanoates (PHA): From production to nanoarchitecture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146: 596–619

Volova T. G., Shishatskaya E. I., Sinsky A. J. (2013) *Degradable polymers: Production, properties, applications*. New York, Nova Science Publishers, 380 p.

Volova T., Sapozhnikova K., Zhila N. (2020) *Cupriavidus necator* B-10646 growth and polyhydroxyalkanoates production on different plant oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164: 121–130

Wendisch V.F., Kerbs A. (2022) Microbial production of amines and amino acids by fermentation. *Microbial production of high-value products*. Rehm B.H. A., Wibowo D. (eds.) Cham, Springer, p. 47–80