

<https://doi.org/10.36107/hfb.2025.i4.s275>

Использование гидролизата кератина, полученного микробной конверсией куриного пера, в косметической сыворотке для ухода за волосами

К. Э. Бетехтин, Е. Р. Вольнова, Л. Э. Розанцева, Н. Г. Машенцева

Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

Корреспонденция:

Машенцева Наталья Геннадьевна,
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ),
125080, Россия, Москва,
Волоколамское шоссе, 11
E-mail: natali-mng@yandex.ru

Конфликт интересов:

авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 07.05.2025

Поступила после

рецензирования: 12.09.2025

Принята: 26.12.2025

Copyright: © 2025 Авторы

АННОТАЦИЯ

Введение. Гидролизаты кератина эффективно восстанавливают структуру волос, формируя защитную пленку и придавая им эластичность. Традиционные химические методы получения кератина неэкологичны, тогда как биотехнологический подход с использованием кератинолитических микроорганизмов представляет собой экологически устойчивую альтернативу. Однако доступность промышленных кератиназов ограничена: на мировом рынке представлено лишь несколько препаратов, а в России — это единственный препарат «Кератиназа» компании ООО «Торговый дом „Биопрепарат“».

Цель. Разработать биотехнологический метод получения гидролизата кератина с использованием новых штаммов *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 и оценить его эффективность в составе косметической сыворотки для волос.

Материалы и методы. Исследование проводили с использованием штаммов *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2, куриных перьев бройлеров (влажность 75 %), клеточных линий SPEV и MDBK для биотестирования

Культивирование осуществляли на модифицированной среде с пером (5 г/100 мл) при 28 °C и 80 об/мин в течение 72 ч. Оптимизировали следующие параметры: температуру (20–40 °C), перемешивание (80–160 об/мин), содержание пера (5–20 г), добавление в питательную среду мочевины (до 8 г). Кератинозную активность определяли спектрофотометрически.

Результаты. Оптимизация условий повысила кератинозную активность в 2,4 раза: до 39 КА/см³ (БАЛ-1) и 44 КА/см³ (БАЛ-2). Гидролизат показал безопасность на клеточных линиях SPEV и MDBK (жизнеспособность клеток ≥ 65 %). Разработанная сыворотка (3 % гидролизата) при тестировании на фокус-группе ($n = 5$, 2 месяца) улучшила состояние волос: 100 % участниц отметили повышение гладкости, 80 % — улучшение упругости и блеска.

Выводы. Разработанный метод ферментативного гидролиза перьев эффективен для создания косметического ингредиента — гидролизата кератина. Дальнейшие исследования будут направлены на определение биологически активных пептидов в перьевом гидролизате и оценку их вклада в повышение эффективности косметической сыворотки для волос.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

биоконверсия, *B. licheniformis*, кератинозная активность, биотестирование, косметическая сыворотка, микроскопия, трихоскопия

Для цитирования: Бетехтин, К. Э., Вольнова, Е. Р., Розанцева, Л. Э., & Машенцева, Н. Г. (2025). Использование гидролизата кератина, полученного микробной конверсией куриного пера, в косметической сыворотке для ухода за волосами. *Health, Food & Biotechnology*, 7(4), 37-55. <https://doi.org/10.36107/hfb.2025.i4.s275>



<https://doi.org/10.36107/hfb.2025.i4.s275>

The Use of Keratin Hydrolysate Obtained by Microbial Conversion of Chicken Feathers as Part of a Cosmetic Serum for Hair Care

Kirill E. Betekhtin, Ekaterina R. Volnova, Lyubov E. Rozantseva, Natalia G. Mashentseva

Russian Biotechnological University
(BIOTECH University), Moscow, Russia

Correspondence:

Natalia G. Mashentseva,
Russian Biotechnological University,
11, Volokolamskoe highway,
Moscow, 125080, Russia
E-mail: natali-mng@yandex.ru

Declaration of competing interest:
none declared.

Received: 07.05.2025

Received in revised form: 12.09.2025

Accepted: 26.12.2025

Copyright: © 2025 The Authors

ABSTRACT

Introduction. Keratin hydrolysates have been shown to be effective in restoring hair structure, forming a protective film, and providing elasticity. Traditional chemical methods for producing keratin, however, are not environmentally friendly. A biotechnological approach using keratinolytic microorganisms presents a more sustainable alternative. Although several keratinase drugs are available on the market, only one is produced in Russia, by Biopreparat Trading House.

Purpose. This study aims to develop a biotechnological method for producing keratin hydrolysate using two newly isolated strains of *Bacillus licheniformis*, BAL-1 and BAL-2, and to assess its efficacy in a cosmetic hair serum formulation.

Materials and methods. *Bacillus licheniformis* strains BAL-1 and BAL-2 were used for the study. Chicken feathers with a moisture content of 75% were used as a source of keratin. SPEV and MDBK cell lines were employed for biotesting.

Cultivation was carried out on a modified medium with feather at 5 g/100 ml at 28 °C and 80 rpm for 72 hours. The parameters were optimized to include temperature (20–40 °C), stirring (80–160 rpm), feather content (5–20 g), and adding up to 8 g of urea to the nutrient medium. Keratinase activity was determined spectrophotometrically.

Results. Optimization of the conditions resulted in an increase in keratinase activity by 2.4 times, up to 39 KA/cm³ for BAL-1 and 44 KA/cm³ for BAL-2. The hydrolysate was safe for use on SPEV and MDBK cell lines, with cell viability ≥65 %. The serum (containing 3 % hydrolysate) improved hair condition in a focus group of 5 people over 2 months, with 100 % reporting increased smoothness and 80 % reporting elasticity and shine.

Conclusions. The developed method of enzymatic hydrolysis of feathers has been shown to be effective in creating a cosmetic ingredient, keratin hydrolysate. Future research will focus on identifying biologically active peptides in feather hydrolysate and assessing their potential contribution to the efficacy of cosmetic hair serums.

KEYWORDS

bioconversion, *Bacillus licheniformis*, keratinase activity, biotesting, cosmetic serum, microscopy, trichoscopy



To cite: Betekhtin, K. E., Volnova, E. R., Rozantseva, L. E., & Mashentseva, N. G. (2025). The use of keratin hydrolysate obtained by microbial conversion of chicken feathers as part of a cosmetic serum for hair care. *Health, Food & Biotechnology*, 7(4), 37-55. <https://doi.org/10.36107/hfb.2025.i4.s275>

ВВЕДЕНИЕ

Кератин представляет собой стабильный, нерастворимый и волокнистый структурный белок, обнаруженный в эпителиальных (мягкий кератин) и защитных тканях, таких как волосы, ногти, шерсть, перья и рога (твердые кератины) (Coulombe et al., 2002). По вторичной структуре кератины можно разделить на α -кератин и β -кератин (Meyers et al., 2008). β -кератин богат β -складчатыми листами, образующими супрамолекулярные пучки фибрилл (Bodde et al., 2011), а α -кератин состоит из α -спирально закрученных клубков, самоорганизующихся в промежуточные нити (Meyers et al., 2008; Xiao X.I. et al., 2017). Прочность кератина обусловлена указанными плотно упакованными конфигурациями α -спиралей и β -листов. Кератины отличаются высоким содержанием дисульфидных связей, что обеспечивает их прочность и химическую стабильность. Соотношение α - и β -кератинов значительно варьируется в зависимости от источника (Lange et al., 2016). Например, волосы в основном состоят из α -кератина, а перья — из β -кератина (Korniłowicz-Kowalska et al., 2011; Fraser et al., 2008).

Кератин встречается в природе главным образом в перьях, шерсти, рогах, ногтях, волосах и является структурным компонентом кожи позвоночных (Bradbury, 1973). В корне волоса волокна находятся две основные группы белков: α -кератины с низким значением серосодержащих аминокислот (ММ 40–60 кДа) и матриксные белки с высоким содержанием указанных аминокислот (ММ 10–25 кДа) (Mohamed et al., 2021). В совокупности волосное волокно состоит на 50–60 % из α -кератинов и на 20–30 % из матриксных белков (Wang et al., 2016). α -кератины агрегируются, образуя микроволокнистые структуры, известные как промежуточные кератиновые нити, которые придают волокну волоса прочность. Белки матрикса, кератин-ассоциированные белки, функционируют в первую очередь как дисульфидный сшивающий агент или «клей», который укрепляет кортикальную суперструктуру волос (Xiao et al., 2017).

Повреждение волос, обусловленное негативным воздействием окружающей среды, неправильным косметическим уходом или его отсутствием, сопровождается различными разрушениями основных структурных единиц волоса — α - и β -кератина, имеющего структуру филамент-матрикса (Bloch et al., 2019). Для снижения негативного влияния на волосы или устранения последствий повреждения используют косметические средства: шампуни, маски, бальзамы, лосьоны, сыворотки. В последнее десятилетие активным ингредиентом указанных средств стал кератин и его гидролизованные формы.

Согласно целому ряду публикаций интактный кератин, выделенный, например, из овечьей шерсти, рогов и верхнего кожного слоя сельскохозяйственных животных (Barba et al., 2010; Savaides et al., 2014; Tinoco et al., 2021; Cruz et al., 2017; Hatsbach de Paula et al., 2022), обладает низкой способностью встраиваться в поврежденный стержень волоса. Это связано в первую очередь с его высокой молекулярной массой, а также с тем, что он представляет собой прочно сшитый белок с многочисленными дисульфидными связями, но всего с несколькими доступными для взаимодействия нуклеофильными тиоловыми группами. Именно с нуклеофильными тиоловыми группами связано сродство кератина с волосами. Следовательно, разработка технологий производных кератина, обладающих повышенной реакционной способностью за счет содержания свободных активированных сульфгидрильных групп, будет способствовать созданию косметических средств с усиленным и постоянным эффектом «связывания» с волосами (Leichner et al., 2019).

Одними из самых перспективных производных кератина в отношении восстановления структуры волос являются гидролизаты кератина. По данным ряда исследований, гидролизаты кератина способствуют формированию защитной пленки, встраиваясь в кутикулу волос, улучшают их структуру и повышают эластичность. Структурные элементы природного кератина (пептиды и аминокислоты) способны проникать в кожу и внутренний слой волос, обеспечивая питание и восстановление (Sinkiewicz et al., 2018; Chilakamarthy et al., 2021; Liu et al., 2021; Malinauskyte et al., 2021).

В настоящее время для получения гидролизатов кератина из шелкопряда, овечьей шерсти, свиной щетины и перьевых отходов в мировой и отечественной практике используются традиционные технологии, основанные на применении агрессивных химических веществ (кислоты, щелочи и растворы солей высокой концентрации), что приводит к высоким технологическим и эксплуатационным расходам, а также увеличивает экологическую нагрузку (Altman et al., 2003; Tasaki, 2021; Deb-Choudhury, 2016). В качестве более экологичной альтернативы получения кератина был предложен способ гидролиза кератина перегретым водяным паром (Bhavsar et al., 2016). Однако было показано, что гидролиз указанным способом приводит к разрушению пептидных связей и глубокой деградации белка (Ji et al., 2014).

Наибольшим потенциалом с точки зрения экологичности и получения гидролизатов кератина, содержащих биоактивные пептиды, обладают биотехнологические методы, в частности микробная конверсия (Lange et al., 2016). На сегодняшний день поиск, исследования и производство кератина чрезвычайно актуальны и в России, и в мире. Исходя из результатов ранее проведенных исследова-

ний, для осуществления микробного гидролиза кератин-содержащего сырья уже были использованы бактерии рода *Lysobacter* (Allpress et al., 2002), *Bacillus* (Balaji et al., 2008), *Streptomyces rimosus* (He et al., 2018), *Nocardia* (Bhari et al., 2019), *Fusiformis nodosus* (Yang, Reddy, 2013), грибы рода *Scopulariopsis* (Anbu et al., 2005), *Aspergillus* (Anitha, Palanivelu, 2013), *Ctenomyces* (Gupta et al., 2013), *Penicillium* (He et al., 2018), *Fusarium* (Pawar et al., 2018), дрожжи *Candida* (Wan et al., 2018) и др. Несмотря на достаточно интенсивное накопление данных о разнообразии кератинолитических микроорганизмов, ассортимент промышленных кератиназ зарубежом достаточно ограничен (Valkerase®, Versazyme® и Prionzyme®), в России представлен лишь один коммерческий ферментный препарат с кератиназной активностью — Кератиназа (производитель ООО «Торговый дом „Биопрепарат“»).

Актуальность исследования обусловлена тем, что кератиназная активность микроорганизмов является ключевым фактором в биоконверсии кератина, однако не гарантирует безопасного и эффективного превращения отходов в полезные продукты. Критически важен целенаправленный поиск и отбор безопасных штаммов-продуцентов кератиназы, способных эффективно разлагать кератин без образования токсичных побочных продуктов. Кроме того, оптимизация состава питательной среды и параметров культивирования имеет решающее значение для повышения выхода целевых продуктов биоконверсии и обеспечения стабильности процесса. Таким образом, разработка эффективных и безопасных биотехнологических решений для переработки кератинсодержащих отходов требует комплексного подхода, включающего селекцию штаммов, оптимизацию условий культивирования и контроль безопасности конечных продуктов.

С учетом обозначенных проблем **целью** настоящего исследования является разработка биотехнологических решений получения гидролизата кератина с использованием кератиназ новых штаммов *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 и исследование его косметической эффективности в составе сыворотки для волос. Для достижения цели сформулированы задачи: 1) повысить кератиназную активность штаммов, способных расти на среде с единственным источником углерода в виде пера; 2) определить рациональные параметры ферментативного гидролиза кератинсодержащего сырья; 3) оценить безопасность полученного гидролизата кератина на клеточных тест-системах методом биотестирования; 4) разработать рецептуру косметической сыворотки с гидролизатом кератина с определением показателей качества и микробиологической безопасности; 5) определить косметическую эффективность сыворотки с помощью фокус-групп, микро- и трихоскопирования волос.

В рамках исследования для более эффективного использования перьевых отходов было предложено предварительное расщепление перьев протеолитическими микроорганизмами. Таким образом, использование перьев птицы в качестве субстрата для ферментации микроорганизмами, разлагающими кератин, может быть более экологичным подходом для создания гидролизатов кератина и косметических средств на его основе, способствующих восстановлению волос.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Объектами исследования были: (1) штаммы *Bacillus licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 — природные изоляты, выделенные из вод Балтики, депонированные во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) с присвоенными номерами В-14243 и В-14244; (2) куриное перо бройлеров, полученное с промышленной линии ощипывания птицы на базе ГК «Черкизово» с массовой долей влаги 75 %, содержащее включения крови; (3) гидролизаты кератина, очищенные от бактериальной биомассы продуцента; (4) косметическая сыворотка для волос с гидролизатом кератина куриного пера.

Кератиназная активность, вырабатываемая на базальной питательной среде, составляла для штамма *B. licheniformis* БАЛ-1 — $16,2 \pm 0,3$ КА/см³, штамма *B. licheniformis* БАЛ-2 — $18,3 \pm 0,2$ КА/см³. Подробная информация о способности штаммов разрушать кератин пера описана в публикации Bethekhtin, K. E. et al., 2024. Согласно полученным результатам (Bethekhtin, K. E. et al., 2024), была идентифицирована смесь фрагментов а. п. 47–619 Keratin, type I cytoskeletal 9 (KRT9) и 46–549 Keratin, type II cytoskeletal 1 (KRT1) при ферментации куриного пера бройлеров штаммом БАЛ-1.

Для получения косметической сыворотки для волос с гидролизатом кератина куриного пера использовали следующие косметические ингредиенты: циклометикон (ООО Mendeleev.shop, Россия), диметикон (ООО «Джетта кемикал», Россия), каприлик (ООО «ХимфармПродукт», Россия), моностеарат глицерина (ООО «Химпитекторг групп», Россия), PEG-75 Lanolin flakes FD (ООО «Зельвар», Россия), полисорбат-20 (ООО «Русхим», Россия), пликватриум-7 (ООО «Химпитекторг групп», Россия), Flocare ET 58 (ООО «Косметические решения», Россия), лимонная кислота (ООО «ХимПитекторг групп», Россия), гидролизат кератина (получен в лабораторных условиях кафедры биотехнологии и биоорганического синтеза ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ»), Д-пантенол (ООО «Джетта кемикал», Россия), отдушка (ООО «Оптовик», Россия), Euxyl PE 9010 (дистрибьютор Natur Free, Германия).

Оборудование

Культивирование штаммов осуществляли в шейкере-инкубаторе ES-20/60 (Biosan, Латвия). Для очистки культуральной жидкости использовали систему вакуумной фильтрации Corning 250 см³ с фильтрами PES и мембраной 0,22 мкм (Китай).

Для получения косметической сыворотки для волос и подтверждения её соответствия требованиям нормативной документации в части качества и безопасности было использовано следующее оборудование: весы лабораторные электронные M-ER 122ACFJR-150.005 LCD Accurate (M-ER, Южная Корея); магнитная мешалка с подогревом TAGLER Lab Technology (ООО «НПТ Таглер», Россия); погружной блендер Moulinex (Groupe SEB, Китай); pH-метр pH-150МИ (ООО «Измерительная техника», Россия); лабораторная центрифуга ОПН-8 (ОАО ТНК «Дастан», Россия); термостат электрический суховоздушный ТС-1/80 (Смоленское СКТБ СПУ, Россия), ротационный вискозиметр Brookfield Visco Basic Plus (Fungilab S.A., Испания), поверенное лабораторное оборудование аккредитованного испытательного лабораторного центра ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» для исследования микробиологической безопасности косметической сыворотки; микроскоп Levenhuk 720B (Levenhuk, США) для микроскопирования при увеличении 40×, дерматоскоп Aramo Smart Wizard ASW-300 (Aram Huvis, Южная Корея) для трихоскопирования при линзе 200×.

Участники

Для определения эффективности косметической сыворотки с гидролизатом кератина куриного пера была

собрана женская фокус-группа. Все участницы были проинформированы о цели и задачах исследования и присоединились к нему добровольно. Подробная информация о составе фокус-группы приведена в Таблице 1.

Респонденты были отобраны таким образом, чтобы охватить разные возрастные группы целевой аудитории, активно использующей сыворотки для волос, а также представить различные типы волос и подходы к уходу за ними.

Методы и процедура исследования

В работе использовались утвержденные и специальные методы исследования.

Последовательность этапов настоящего исследования приведена в виде структурной схемы (Рисунок 1).

Процедура культивирования B. licheniformis

Состав базовой питательной среды и условия культивирования B. licheniformis соответствовали данным, представленным в паспорте штаммов.

Ферментация пера цыплят-бройлеров проводилась в колбе объемом 750 см³, содержащей 100 см³ модифицированной минерально-питательной среды с составом (г/дм³): KH_2PO_4 – 2; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,125; NaCl – 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002. Значение pH среды поддерживали на уровне 7,5, после чего добавляли 5 г измельченного пера. Штаммы B. licheniformis БАЛ-1

Таблица 1
Характеристика фокус-группы
Table 1
Characteristics of the Focus Group

Участник	Возраст, лет	Тип волос	Модификации волос	Термическая обработка	Частота использования средства (в неделю)
1	18	Сухие, пористые, вьющиеся	Отсутствует	После каждого мытья головы – плойка	2
2	21	Сухие, тонкие, прямые	Осветление, окрашивание	После каждого мытья головы – фен	3
3	26	Сухие тонкие с небольшой волной	Осветление, окрашивание	После каждого мытья головы – фен	2
4	28	Плотные, волнистые с жирной кожей головы	Отсутствует	Химическое выпрямление, окрашивание	2
5	61	Сухие, волнистые (присутствует седина)	Осветление, окрашивание	После каждого мытья головы – плойка	3

Рисунок 1
Структурная схема исследования
Figure 1
Study Flow Chart



и БАЛ-2 вводили в концентрации 1×10^7 КОЕ/см³. Процесс ферментации осуществляли в течение 72 ч при температуре 28 °С с постоянным перемешиванием. В ходе эксперимента варьировали условия культивирования: температуру — в диапазоне от 20 °С до 40 °С с шагом изменения около $2,0 \pm 1,0$ °С при постоянной скорости перемешивания 80 об/мин; скорость перемешивания — от 80 до 160 об/мин с шагом 20 об/мин; количество измельченного пера — от 5 до 20 г; внесение дополнительного источника азота (мочевины) — в диапазоне от 0 до 8 г (Bethekhtin et al., 2024).

Методика определения кератиназной активности

В объем 1 см³ реакционной буферной среды с суспензией кератина (1 см³) добавляли 1 см³ раствора фермента. Смесь инкубировали при 37 °С в течение 1 ч, после чего реакцию прекращали, добавляя 2 см³ 5%-го раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ), и проводили фильтрацию. За одну единицу кератиназной активности прини-

мали такое количество фермента, которое за 10 мин вызывало снижение оптической плотности на 0,01 при длине волны 280 нм (отношение проходящего к падающему свету) (Bethekhtin et al., 2024).

Методика повышения кератиназной активности

Для повышения кератиназной активности применяли такие методы, как изменение температуры культивирования от 28 °С до 40 °С, повышение скорости перемешивания в диапазоне от 90 до 160 об/мин, внесение дополнительного источника углерода, азота и белка.

Методика проведения биотестирования на культурах SPEV и MDBK

Культуры клеток выращивали при 37 °С в стерильных пластиковых культуральных флаконах объемом 50 см³. В каждый флакон вносили 2 см³ суспензии кле-

ток со снятого монослоя и доводили объем до 10 см³ модифицированной средой Dulbecco's Modified Eagle Medium (ДМЕМ). В среду ДМЕМ предварительно вносили 5–10 % сыворотки крупного рогатого скота (КРС). В каждый флакон вносили по 0,5 см³; 0,75 см³ и 1 см³ исследуемого образца. Биотестирование проводили согласно процедуре, описанной в патенте RU (11) 2 604 802(13) C1 (Klabukova D. L. et al., 2016). К выросшему монослою вносили тест-объект и инкубировали в течение 1 ч при 37 °С. По истечению указанного времени среду удаляли, промывали раствором Версена, вносили свежую питательную среду и инкубировали 24 ч при 37 °С.

Методика подсчета культуры клеток

Для снятия монослоя клетки промывали 2 см³ 0,02 %-м раствором Версена, распределяя раствор Версена по монослою, потом сливали. Затем вносили смесь 0,02 %-го раствора Версена и 0,25 %-го раствора трипсина в соотношении 3 : 1. Закрывали флакон, встряхивали горизонтальными движениями и помещали в термостат на 10 мин при 37 °С. После снятия монослоя инактивировали трипсин, добавляя среду ДМЕМ до 10 см³ (данное разведение учитывалось при последующем подсчете).

Далее отбирали 1 см³ суспензии стерильной одноразовой пипеткой в микроцентрифужные пробирки «Эппендорф». Добавляли пипеткой в пробирку 0,1 см³ 0,1 %-го раствора трипанового синего и тщательно перемешивали. Затем помещали каплю суспензии на край покровного стекла так, чтобы она заполнила камеру Горяева. Дважды проводили подсчет количества клеток в 15 больших квадратах. Концентрацию клеток в 1 см³ рассчитывали по формуле:

$$X = a \times 15 \times 1111 \times 1,1, \quad (1)$$

где a — количество жизнеспособных клеток в 15 квадратах;
15 — общее количество квадратов;
1111 — коэффициент, необходимый для определения концентрации в 1 см³;
1,1 — поправка на разведение красителем.

Разработка рецептуры косметической сыворотки и анализ её показателей качества и микробиологической безопасности

На этапе разработки рецептуры в первую очередь были подобраны косметические ингредиенты. Было определено, что основными действующими веществами в сыворотке будут силиконы и гидролизат кератина. Силиконы, воздействуя на чешуйки кутикулы волоса, образуют окклюзионный слой, препятствующий испарению влаги. Гидролизат кератина помогает восстановить структуру и эластичность волос, а также защищает пряди от естественной потери влаги, встраиваясь в поврежденные участки.

На основании расчета гидрофильно-липофильных балансов в качестве эмульгаторов были выбраны PEG-75, полисорбат 20 и моностеарат глицерина. Они характеризуются высокими увлажняющими свойствами, позволяют контролировать пенообразование, способствуют получению устойчивой эмульсии. В качестве загустителя был выбран Flocare благодаря хорошему растворению в воде и формированию прозрачной гелеобразной текстуры. Лимонная кислота выступала как регулятор pH среды, Эуксил — в роли консерванта.

Для увеличения эффективности средства в состав были введены поликватерниум-7, действующий как антистатик, увлажняющий агент и стайлер, Д-пантенол использовали для придания упругости волосам. В качестве органического эмоленга в состав сыворотки был введен каприлик.

Процедура разработки сыворотки для волос в лабораторных условиях включала: определение последовательности введения ингредиентов, подбор подходящих температурных условий, изучение изменения физико-химических и органолептических показателей при изменении массовых долей ингредиентов.

Для определения показателей качества готовой сыворотки для волос использовали следующие методы: органолептический анализ (ГОСТ 29188.0–2014¹); измерение водородного показателя потенциометрическим методом (ГОСТ 29188.2–2014²); оценку коллоидной и термостабильности (ГОСТ 29188.3–91³); определение динамической вязкости на вискозиметре Брукфильда.

¹ ГОСТ 29188.0-2014 (2019). Продукция парфюмерно-косметическая. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний и испытаний по физико-химическим показателям. — М.: Стандартинформ.

² ГОСТ 29188.2-2014 (2019). Продукция парфюмерно-косметическая. Методы определения физико-химических показателей. — М.: Стандартинформ.

³ ГОСТ 29188.3-91 (1993). Изделия косметические. Методы определения стабильности эмульсии и воды. — М.: Стандартинформ.

Показатели микробиологической безопасности были установлены в соответствии с ТР ТС 009/2011⁴ и ГОСТ ISO 18416–2018⁵, ГОСТ ISO 21150–2018⁶, ГОСТ ISO 22717–2018⁷, ГОСТ ISO 22718–2018⁸, ГОСТ ISO 21149–2020⁹.

Исследование косметической
эффективности сыворотки с гидролизатом
кератина

Для определения положительного влияния сыворотки с гидролизатом кератина куриного пера на состояние и структуру волос была собрана женская фокус-группа. Респонденты использовали сыворотку в течение двух месяцев: после каждого мытья головы наносили её на влажные волосы, которые далее подвергались температурному воздействию при сушке и укладке.

О влиянии сыворотки с гидролизатом кератина на состояние и структуру волос судили на основании визуальной оценки, результатов микроскопирования и трихоскопирования волос до и после применения средства.

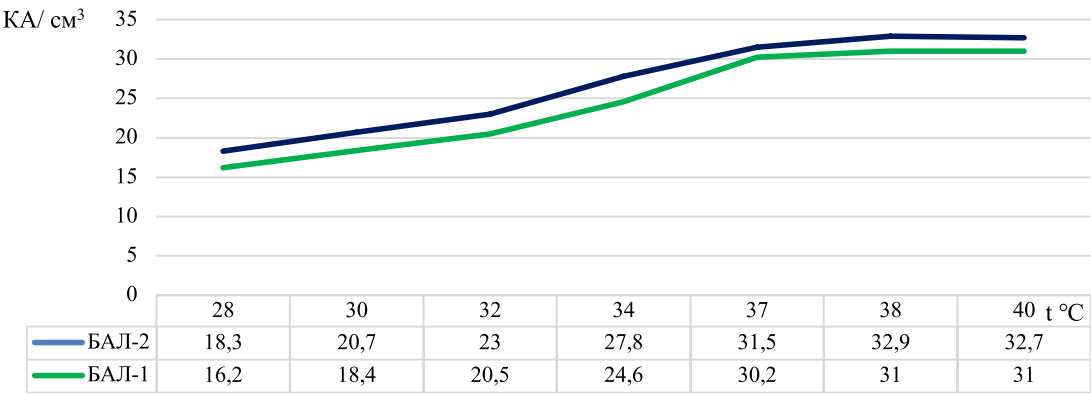
Анализ данных

Обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Excel с использованием функций: СРЗНАЧ – для расчета среднего значения выборки; СТАНДОТКЛОН – для определения стандартного отклонения выборки; СТЬЮДРАСПОБР – для нахождения коэффициента Стьюдента при $p = 0,95$, $\alpha = 0,05$ и числа степеней свободы $n - 1$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследовали влияние температуры, частоты перемешивания, концентрации пера и мочевины в среде для определения рациональных параметров культивирования и повышения кератиназной активности *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2. На Рисунках 2–5 приведены результаты ферментации при варьировании указанных параметров.

Рисунок 2
Влияние температурных режимов на кератиназную активность
Figure 2
The Effect of Temperature Conditions on Keratinase Activity



⁴ Технический регламент Таможенного союза 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» (2023) // Решение Комиссии Таможенного союза от [дата принятия]. – М.

⁵ ГОСТ ISO 18416-2018 (2020). Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение *Candida albicans*. – М.: Стандартинформ.

⁶ ГОСТ ISO 21150-2018 (2023). Продукция парфюмерно-косметическая. Методы испытаний ингредиентов и составов на микробиологическую стабильность. – М.: Стандартинформ.

⁷ ГОСТ ISO 22717-2018 (2023). Продукция парфюмерно-косметическая. Методы испытаний и оценки микробиологической безопасности продукции и компонентов упаковки. – М.: Стандартинформ.

⁸ ГОСТ ISO 22718-2018 (2023). Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение и подсчет *Escherichia coli*. – М.: Стандартинформ.

⁹ ГОСТ ISO 21149-2020 (2021). Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет и обнаружение мезофильных аэробных бактерий. – М.: Стандартинформ.

Рисунок 3
Динамика изменения кератиназной активности в зависимости от частоты перемешивания среды

Figure 3
Dynamics of Changes in Keratinase Activity Depending on the Frequency of Medium Stirring

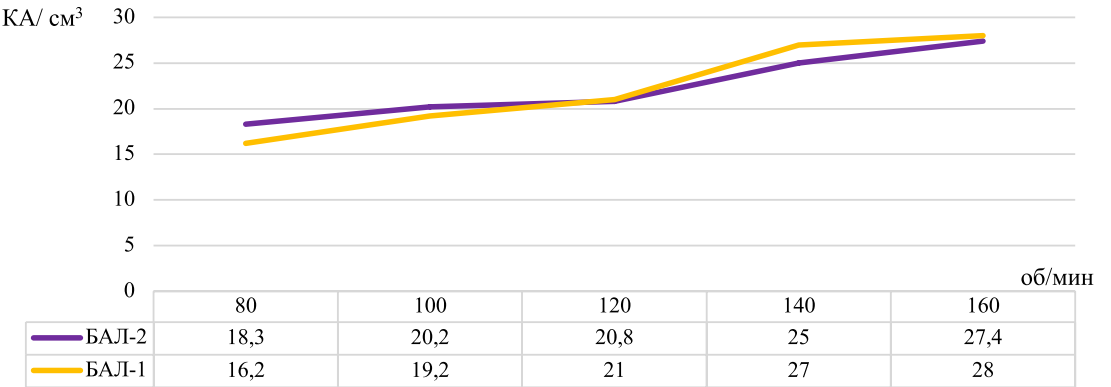


Рисунок 4
Влияние дозировки куриного пера в среде на изменение кератиназной активности

Figure 4
The Effect of Chicken Feather Dosage in the Medium on Changes in Keratinase Activity

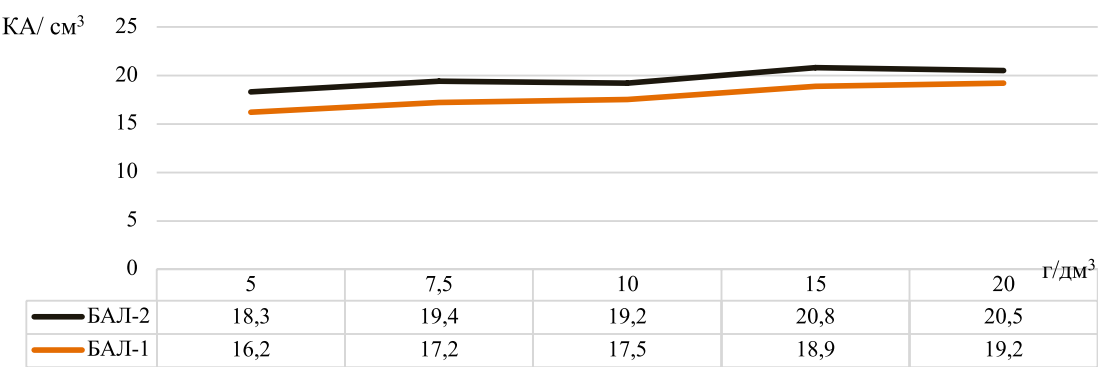
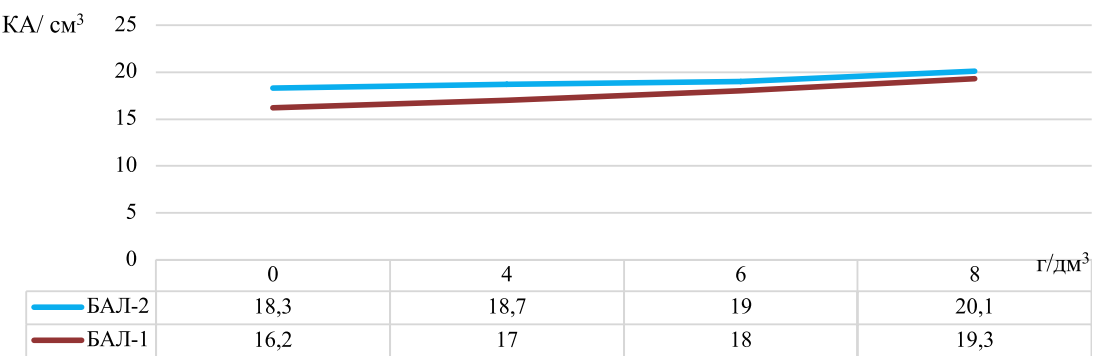


Рисунок 5
Влияние концентрации вносимой мочевины на кератиназную активность

Figure 5
The Effect of Applied Urea Concentration on Keratinase Activity



Далее штаммы *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 культивировали при параметрах с максимальной кератиназной активностью: $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, числе оборотов при перемешивании 160 об/мин, внесении измельченного пера до 15 г/дм³ и мочевины до 8 г/дм³. При указанных условиях кератиназная активность увеличилась в 2,4 раза по сравнению с первоначальной: у штамма БАЛ-1 – с 16,2 КА/см³ до 39 КА/см³, а у БАЛ-2 – с 18,3 КА/см³ до 44 КА/см³.

Полученную культуральную жидкость пропускали через ватно-марлевый тампон и фильтровали через систему

вакуумной фильтрации Corning 250 см³, полученный гидролиз кератина без остатков пера и биомассы продуцента использовался далее в экспериментах.

Для определения безопасности полученного гидролизата кератина провели биотестирование на культурах клеток SPEV и MDBK: в каждый монослой клеточной линии вносили по 0,5; 0,75 и 1 см³ гидролизата кератина. Результаты представлены на Рисунках 6 и 7.

Рисунок 6
Монослой клеточной, линии SPEV и MDBK после внесения проб гидролизата кератина (объектив 10×)
Figure 6
Monolayer of SPEV and MDBK Cell Lines after Addition of Keratin Hydrolysate Samples (10× objective)

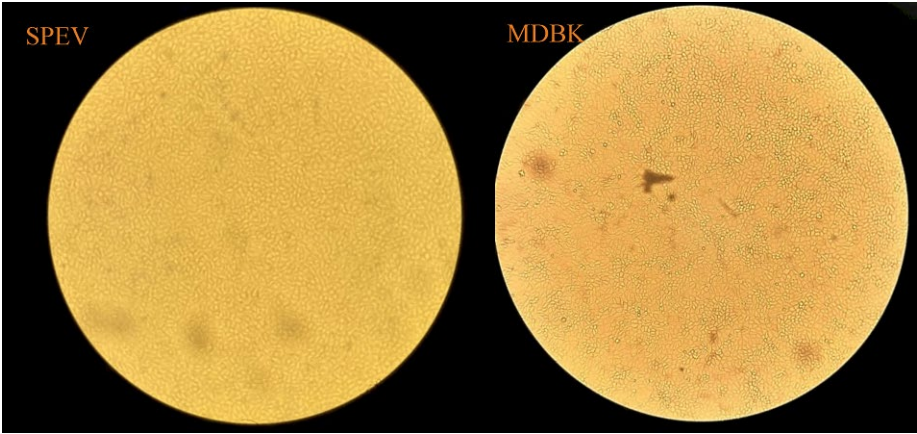
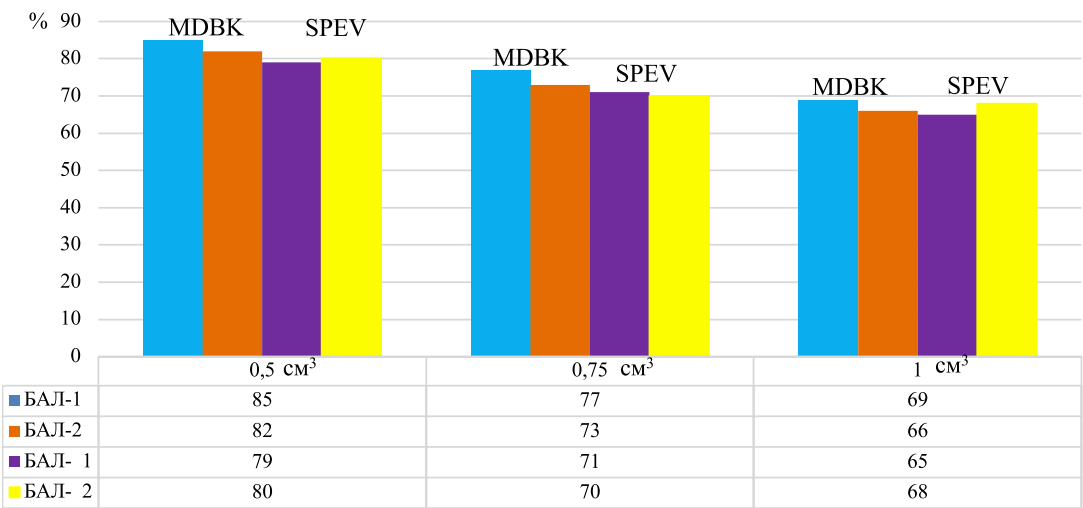


Рисунок 7
Содержание жизнеспособных клеток в культурах MDBK и SPEV после внесения проб гидролизата кератина в объеме 0,5; 0,75 и 1 см³, %
Figure 7
Viable Cell Content in MDBK and SPEV Cultures after Addition of Keratin Hydrolysate Samples in Volumes of 0.5, 0.75, and 1 cm³, %



Жизнеспособность культур MDBK и SPEV после внесения исследуемых образцов не снижалась ниже 65 %, что свидетельствует о безопасности гидролизата кератина.

Полученный гидролизат кератина использовался для составления лабораторных образцов сыворотки для волос. Гидролизат кератина, полученный путем расщепления кератина на более мелкие пептиды и аминокислоты, обладает рядом ценных свойств, которые делают его полезным ингредиентом в косметических средствах для волос. Благодаря небольшому размеру пептидов, гидролизат кератина легко проникает в кортекс волоса, укрепляя его изнутри.

В результате эмпирического подбора массовых долей косметических ингредиентов и оценки их влияния на качественные показатели сыворотки в лабораторных условиях была получена следующая рецептура (Таблица 2).

Таблица 2
Рецептура сыворотки для волос с гидролизатом кератина
Table 2
Hair Serum Formula with Hydrolyzed Keratin

Наименование косметического ингредиента	Массовая доля, %
Вода	80,25
Моностеарат глицерина	4,00
Гидролизат кератина	3,00
Диметикон	2,50
Циклометикон	2,00
Поликватерниум-7	2,00
Каприлик	1,50
Полисорбат-20	1,50
Д-пантенол	1,00
Отдушка	1,00
PEG 75 Lanolin flakes FD	0,50
Euxyl PE	0,50
Лимонная кислота	0,15
Flocare	0,10

Полученный образец сыворотки был исследован по основным показателям качества и микробиологической безопасности. Результаты представлены в Таблице 3.

Таблица 3
Показатели качества и микробиологической безопасности косметической сыворотки с гидролизатом кератина куриного пера
Table 3
Quality and Microbiological Safety Indicators of Cosmetic Serum with Hydrolyzed Chicken Feather Keratin

№ п/п	Наименование показателя	Результаты
<i>Органолептические показатели</i>		
1	Внешний вид	Свойственный сыворотке
2	Консистенция	Однородная, водянистая
3	Цвет	Молочно-белый, естественный
4	Запах	Приятный, ненавязчивый, в течении дня остается на волосах
<i>Физико-химические показатели</i>		
5	Водородный показатель pH	4,3 ± 1,2
6	Вязкость	25,6 ± 3,7
7	Коллоидная стабильность	Стабилен
8	Термостабильность	Стабилен
<i>Микробиологические показатели</i>		
9	<i>Candida albicans</i> , не допускается в 0,1 г (мл), г (мл)	не обнаружено в 0,1 г (мл)
10	<i>Escherichia coli</i> , не допускается в 0,1 г (мл), г (мл)	не обнаружено в 0,1 г (мл)
11	Бактерии вида <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , не допускается в 0,1 г (мл), г (мл)	не обнаружено в 0,1 г (мл)
12	Бактерии вида <i>Staphylococcus aureus</i> , не допускается в 0,1 г (мл), г (мл)	не обнаружено в 0,1 г (мл)
13	Общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г (мл)	менее 1,0 ×10 ¹

Далее полученную сыворотку в течение двух месяцев тестировала группа респондентов. Результаты применения сыворотки представлены на Рисунке 8.

Рисунок 8

Фотографии состояния волос участниц: исходное и после двух месяцев использования сыворотки с гидролизатом кератина

Figure 8

Photos of the Participants' Hair Condition: Initial and after Two Months of Using the Keratin Hydrolysate Serum



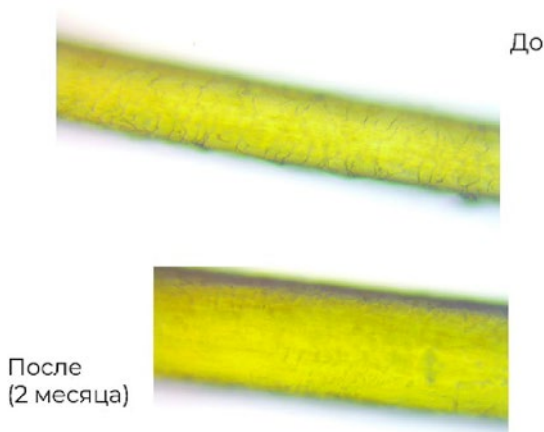
Только визуальная оценка не дает полного представления о влиянии гидролизата на структуру волос, поэтому была проведена диагностика с помощью микроскопа. Структура верхнего слоя волоса представлена чешуйками, которые при механическом воздействии приподнимаются, из-за чего волосы становятся пористыми, сухими и хрупкими. Степень связывания с волосами гидролизата кератина была оценена с помощью микроскопа Levenhuk 720B. Результат приведен на Рисунке 9.

Рисунок 9

Микроскопическое исследование волоса до и после двух месяцев использования сыворотки с гидролизатом кератина

Figure 9

Microscopic Examination of Hair before and after Two Months of Using a Serum with Hydrolyzed Keratin



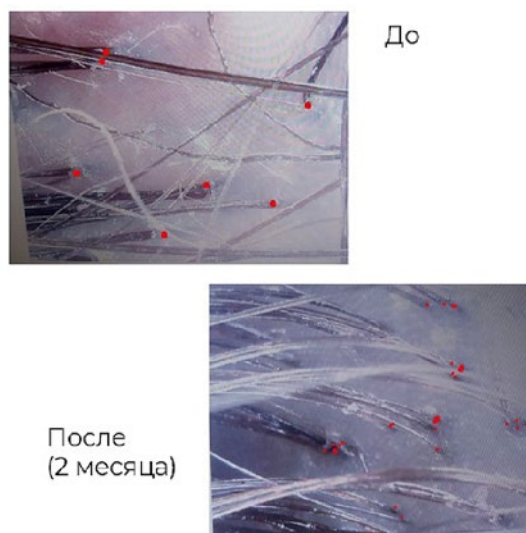
Для общей оценки благоприятного влияния сыворотки с гидролизатом кератина куриного пера на состояние волос и кожи головы провели трихоскопию (Рисунок 10).

Рисунок 10

Трихоскопия Aramo Smart Wizard ASW-300 при линзе 200x

Figure 10

Aramo Smart Wizard ASW-300 Trichoscopy with a 200x Lens



ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе была создана минерально-питательная среда, обеспечивающая высокую кератиназную активность штаммов *Bacillus licheniformis*. Для приготовления 100 см³ среды использовали следующие компоненты (г/дм³): KH_2PO_4 — 2; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,125; NaCl — 0,5; $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ — 8; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,002. Значение pH-среды регулировали до 7,5, после чего добавляли 15 г/дм³ измельченного пера. Штаммы *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 вводили в концентрации 1×10^7 КОЕ/см³. Ферментацию пера проводили при температуре 37 °С в течение 72 ч с постоянным перемешиванием при скорости вращения мешалки 160 об/мин.

Полученные данные соответствуют сведениям из литературы. Так, в исследовании (Fakhfakh et al., 2009) был выделен микроорганизм, способный разлагать перья, из загрязненной реки и идентифицирован как *Bacillus licheniformis* RPK. Этот изолят проявил высокую активность протеаз при культивировании на среде с куриным пером. В ходе выращивания наблюдалась полная деградация перьев. Максимальная протеазная активность (4150 Ед/см³ при использовании казеина и 37,35 Ед/см³ при применении кератина в качестве субстрата) была достигнута при культивировании штамма на среде, содержащей 7,5 г/дм³ куриных перьев; 2 г/дм³ дрожжевого экстракта; 0,5 г/дм³ NaCl ; 0,1 г/дм³ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,7 г/дм³ KH_2PO_4 и 1,4 г/дм³ K_2HPO_4 , при температуре 37 °С в течение 48 ч. Однако в данной работе применяли более высокую скорость перемешивания (200 об/мин) и дополнительный источник азота (дрожжевой экстракт), что повлияло на кератиназную активность.

Другой штамм *B. licheniformis*, описанный в работе Abdel-Fattah (Abdel-Fattah et al., 2018), показал увеличение продукции кератиназы в 2,9 раза (до 72 Е/мл) после оптимизации состава среды, включающей источники углерода (глюкоза, галактоза), азота (кукурузный экстракт, мочевины), и физико-химических параметров (pH 6, температура 42 °С). В нашем исследовании также использовались мочевины и сульфат аммония в качестве источников азота, однако концентрации и условия культивирования отличались, что могло повлиять на эффективность ферментации.

Таким образом, разработанная нами среда обеспечивает эффективное культивирование *B. licheniformis* с высокой кератиназной активностью, что подтверждается сравнением с литературными данными. Дальнейшая

оптимизация, включая варьирование источников углерода и азота, а также параметров ферментации (температура, pH, аэрация), может способствовать увеличению выхода фермента.

Полученные нами гидролизаты кератина прошли биотестирование. Жизнеспособность культур MDBK и SPEV после внесения исследуемых образцов в монослой составила 65–85 %, что свидетельствует о безопасности гидролизата кератина при использовании данных клеточных линий. Принципиальная возможность применения клеточной линии ЛЭЧ при оценке относительной токсичности готовых кремовых композиций была апробирована Дециной А. М. и Мартынец Л. Д. (Decina, A. N. et al., 2002). Предварительные данные указывают на достаточную чувствительность метода вне зависимости от типа кремовой основы, используемой разработчиками.

На основе полученного гидролизата кератина была разработана рецептура косметической сыворотки для волос. В лабораторных условиях приготовили серии образцов сыворотки и оценили их качественные показатели. В результате были определены рациональные массовые доли косметических ингредиентов, включая: моностеарат глицерина — 4,0 %; гидролизат кератина — 3,0 %; диметикон — 2,5 %; циклометикон — 2,0 %; поликватерниум-7 — 2,0 %; каприлик — 1,5 %; полисорбат-20 — 1,5 %; Д-пантенол — 1,0 %; отдушка — 1,0 %; PEG 75 — 0,5 %; Эуксил — 0,5 %; лимонная кислота 0,15 %; Floccare — 0,1 %; вода очищенная до 100 %. Полученная сыворотка отвечала всем требованиям нормативной документации по показателям качества и микробиологической безопасности (ТР ТС 009/2011 и ГОСТ 31460-2012¹⁰).

Разработанный состав косметической сыворотки сопоставим с другим ранее разработанными формулами эмульсионных средств с гидролизатами кератина. В работе Pavel Mokrejš и соавторов представлена косметическая эмульсионная мазь с гидролизатом кератина из куриных перьев, содержащая воду, парафин, вазелиновое масло, цетеариловый спирт, лаурет-4, гидроксид натрия, карбомер, метилпарабен, пропилпарабен (Mokrejš, P. et al., 2018). В другой работе, Eser Eke BayraMoglu и соавторов, была разработана эмульсионная формула, содержащая экстракт календулы, цетеариловый спирт, изопропилмиристан, гидролизат кератина из козьей шерсти, буру, ланолин, Твин 60, глицерин, пчелиный воск (BayraMoglu E. E. et al., 2014). Принципиальное отличие данной рецептуры от нашей — это тип эмульсии. В работе Eser Eke BayraMoglu получена обратная эмульсия (BayraMoglu E. E. et al., 2014). Данный факт в последующем позволит разработать линейки косметических продуктов различного функционала.

¹⁰ ГОСТ 31460-2012 (2019). Кремы косметические. Общие технические условия. — М.: Стандартинформ.

В ходе исследования (фокус-группы) косметической эффективности сыворотки с гидролизатом кератина методом было установлено, что волосы у респондентов стали более гладкими, упругими, блестящими и легче поддавались укладке. Все участники исследования остались довольны результатом и выразили заинтересованность в регулярном использовании разработанной сыворотки.

Исходя из того, что визуальная оценка состояния волос носит субъективный характер, для подтверждения эффективности сыворотки провели микроскопирование волос до и после применения средства. На Рисунке 9 представлены волосы респондента под номером 1, так как именно на натуральных кудрявых сухих волосах эффект от применения сыворотки был наиболее явным. На Рисунке 9 (до) заметны микротрещины между чешуйками и шероховатая поверхность стержня волоса. На Рисунке 9 (после) показан снимок волос после использования сыворотки (в течение 2 месяцев). Видно, что микротрещины заполнены. Можно сделать вывод, что в составе гидролизата кератина присутствуют серосодержащие пептиды. Кератиназы *B. licheniformis*, обладая широкой субстратной специфичностью, гидролизуют пептидные связи вблизи различных аминокислотных остатков. Точные сайты расщепления зависят от конкретной кератиназы и ее аминокислотной последовательности. Однако ключевым фактором, определяющим способность кератиназ к гидролизу кератина, является их способность расщеплять дисульфидные связи. Данный результат соотносится с проведенными ранее исследованиями. В исследовании (Fernandes et al., 2012) одновременное применение протеиндисульфидизомеразы (PDI) успешно способствовало ковалентному прикреплению цистеинсодержащих пептидов, полученных из кератина, к обесцвеченным волосам. В работе (Barba et al., 2010) химическая реактивность остатков цистеина в кератине по отношению к волосам была улучшена за счет предупреждения их от окисления с помощью тиоловой защиты во время окислительного сульфитолиза с образованием S-сульфированного производного.

На основании данных трихоскопии было установлено, что общее состояние кожи волосистой части головы хорошее. По результатам, представленным на Рисунке 10, видно, что через два месяца применения сыворотки с гидролизатом кератина количество активных волосных фолликулов увеличилось практически в 3 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно сделать вывод, что косметическая сыворотка с гидролизатом кератина (полученным из куриных перьев путем ферментации *B. licheniformis*) оказывает благоприятное воздействие на состояние волос и кожи головы. Респонденты указали, что средство с поставленными задачами справляется. Микроскопия и трихоскопия показали, что сыворотка воздействует как на внешние, так и на внутренние системы волоса.

Дальнейшие исследования будут направлены на определение биологически активных пептидов в перьевом гидролизате и оценку их вклада в повышение эффективности косметической сыворотки для волос.

ВКЛАД АВТОРОВ

Бетехтин К.Э.: осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов или сбор данных/ доказательств, создание и подготовка рукописи: написание черновика рукописи, включая его перевод на иностранный язык.

Вольнова Е.Р.: формулирование идеи исследования, целей и задач, административное управление планированием и проведением исследования, создание и подготовка результатов исследования: визуализация результатов исследования и полученных данных, создание и подготовка рукописи: критический анализ черновика рукописи, внесение замечаний и исправлений членами исследовательской группы, в том числе на этапах до и после публикации.

Розанцева Л.Э.: создание и подготовка рукописи: критический анализ черновика рукописи, внесение замечаний и исправлений членами исследовательской группы, в том числе на этапах до и после публикации.

Машенцева Н.Г.: научное руководство, формулирование идеи исследования, целей и задач, административное управление планированием и проведением исследования, создание и подготовка рукописи: критический анализ черновика рукописи, внесение замечаний и исправлений членами исследовательской группы, в том числе на этапах до и после публикации.

AUTHOR'S CONTRIBUTION

Betekhtin K.E.: conducting a research and investigation process, specifically performing the experiments, or data/evidence collection, preparation, creation and/or presentation of the published work, specifically writing the initial draft (including substantive translation)

Volnova E.R.: formulation or evolution of overarching research goals and aims, management and coordination responsibility for the research activity planning and execution, preparation, creation and/or presentation of the published work, specifically visualization/data presentation, preparation, creation and/or presentation of the published work by those from the original research group, specifically

critical review, commentary or revision – including pre- or post-publication stages.

Rozantseva L.E.: preparation, creation and/or presentation of the published work by those from the original research group, specifically critical review, commentary or revision - including pre- or post-publication stages.

Mashentseva N.G.: supervision, formulation or evolution of overarching research goals and aims, management and coordination responsibility for the research activity planning and execution, preparation, creation and/or presentation of the published work by those from the original research group, specifically critical review, commentary or revision - including pre- or post-publication stages

ЛИТЕРАТУРА

- Бетехтин, К. Э., Сазонова, О. И., Соколов, С. Л., Ковалев, Л. И., Ковалева, М. А., Машенцева, Н. Г., & Неретина, А. Н. (2024). Новые штаммы *Bacillus licheniformis*, их идентификация и ферментативная активность при переработке пера в кормовую добавку. *Сельскохозяйственная биология*, 59 (2), 385-406. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2024.2.385rus>
- Abdel-Fattah, A. M., El-Gamal, M. S., Ismail, S. A., Emran, M. A., & Hashem, A. M. (2018). Biodegradation of feather waste by keratinase produced from newly isolated *Bacillus licheniformis* ALW1. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 311-318. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.05.005>
- Allpress, J. D., Mountain, G., & Gowland, P. C. (2002). Production, purification and characterization of an extracellular keratinase from *Lysobacter* NCIMB 9497. *Letters in Applied Microbiology*, 34(4), 337-342. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01093.x>
- Altman, G. H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R. L., Chen, J., Lu, H., Richmond, J., & Kaplan, D. L. (2003). Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, 24(3), 401-416. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00353-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00353-8)
- Anbu, P., Gopinath, S. C. B., Hilda, A., Priya, T. L., & Annadurai, G. (2005). Purification of keratinase from poultry farm isolate—*Scopulariopsis brevicaulis* and statistical optimization of enzyme activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(5), 639-647. <https://doi.org/10.1016/j.enzmtec.2004.07.019>
- Anitha, T. S., & Palanivelu, P. (2013). Purification and characterization of an extracellular keratinolytic protease from a new isolate of *Aspergillus parasiticus*. *Protein Expression and Purification*, 88(2), 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2013.01.007>
- Balaji, S., Kumar, M. S., Karthikeyan, R., Kumar, R., Kirubanandan, S., Sridhar, R., & Sehgal, P. K. (2008). Purification and characterization of an extracellular keratinase from a hornmeal-degrading *Bacillus subtilis* MTCC (9102). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(11), 2741-2745. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9782-7>
- Barba, C., Martí, M., Manich, A. M., Carilla, J., Parra, J. L., & Coderch, L. (2010). Effect of wool keratin proteins and peptides on hair water sorption kinetics. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 102(1), 43-48. <https://doi.org/10.1007/s10973-010-0936-0>
- Bayramoglu, E. E., Yorgancioglu, A., Yeldiyar, G., & Onem, E. (2014). Extraction of keratin from unhairing wastes of goat skin and creating new emulsion formulations containing keratin and calendula flower (*Calendula officinalis* L.). *Journal of the American Leather Chemists Association*, 109(13), 49-55.
- Bhari, R., Kaur, M., & Singh, R. S. (2019). Thermostable and halotolerant keratinase from *Bacillus aerius* NSMk2 with remarkable dehairing and laundry applications. *Journal of Basic Microbiology*, 59(6), 555-568. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900001>
- Bhavsar, P., Zoccola, M., Patrucco, A., Montarsolo, A., Mossotti, R., Rovero, G., Giansetti, M., & Tonin, C. (2016). Superheated Water Hydrolysis of Waste Wool in a Semi-Industrial Reactor to Obtain Nitrogen Fertilizers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(12), 6722-6731. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b01664>

- Bloch, L. D., Goshiyama, A. M., Dario, M. F., Escudeiro, C. C., Sarruf, F. D., Velasco, M. V. R., & Baby, A. R. (2019). Chemical and physical treatments damage Caucasian and Afro-ethnic hair fiber: analytical and image assays. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(11), 2158–2167. <https://doi.org/10.1111/jdv.15761>
- Hatsbach de Paula, J. N., Basilio, F. M. A., & Mulinari-Brenner, F. A. (2022). Effects of chemical straighteners on the hair shaft and scalp. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 97(2), 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.02.010>
- Bodde, S., Meyers, M., & McKittrick, J. (2011). Correlation of the mechanical and structural properties of cortical rachis keratin of rectrices of the Toco Toucan (*Ramphastos toco*). *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4(5), 723–732. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.01.010>
- Bradbury, J. H. (1973). The structure and chemistry of keratin fibers. *Advances in Protein Chemistry*, 27, 111–211. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(08\)60447-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60447-7)
- Chilakamarry, C. R., Mahmood, S., Saffe, S. N. B. M., Arifin, M. A. B., Gupta, A., Sikkandar, M. Y., Begum, S. S., & Narasaiah, B. (2021). Extraction and application of keratin from natural resources: A review. *3 Biotech*, 11(5), 220. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02734-7>
- Coulombe, P. A., & Omary, M. B. (2002). «Hard» and «soft» principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Current Opinion in Cell Biology*, 14(1), 110–122. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(01\)00301-5](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(01)00301-5)
- Cruz, C. F., Martins, M., Egipto, J., Osório, H., Ribeiro, A., & Cavaco-Paulo, A. (2017). Peptide-protein interactions within human hair keratins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 805–814. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.190>
- Deb-Choudhury, S., Plowman, J. E., Harland, D. P., & Clerens, S. (2016). Isolation and analysis of keratins and keratin-associated proteins from hair and wool. *Methods in Enzymology*, 568, 279–301. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2015.09.024>
- Децина, А. Н., & Мартынец, Л. Д. (2002). Выбор клеточной тест-системы для оценки сырья в производстве косметических и некоторых лекарственных средств. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, (5-6), 66–69.
- Fakhfakh, N., Kanoun, S., Manni, L., & Nasri, M. (2009). Production and biochemical and molecular characterization of a keratinolytic serine protease from chicken feather-degrading *Bacillus licheniformis* RPK. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(4), 427–436. <https://doi.org/10.1139/W08-142>
- Fernandes, M., & Cavaco-Paulo, A. (2012). Protein disulphide isomerase-mediated grafting of cysteine-containing peptides onto over-bleached hair. *Biocatalysis and Biotransformation*, 30(1), 10–19. <https://doi.org/10.3109/10242422.2012.644435>
- Fraser, R. D. B., & Parry, D. A. D. (2008). Molecular packing in the feather keratin filament. *Journal of Structural Biology*, 162(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2008.01.011>
- Gupta, R., Sharma, R., & Beg, Q. K. (2013). Revisiting microbial keratinases: Next generation proteases for sustainable biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(2), 216–228. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.685051>
- He, Z., Sun, R., Tang, Z., Bu, T., Wu, Q., Li, C., & Li, Z. (2018). Biodegradation of feather waste keratin by the keratin-degrading strain *Bacillus subtilis* 8. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(2), 314–322. <https://doi.org/10.4014/jmb.1708.08077>
- Ji, Y., Chen, J., Lv, J., Li, Z., Xing, L., & Ding, S. (2014). Extraction of keratin with ionic liquids from poultry feather. *Separation and Purification Technology*, 132, 577–583. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.06.009>
- Klabukova, D. L., Mashentseva, N. G., Nikonov, I. N., Fisinin, V. I., Chebotareva, S. E., & Chebotarev, I. I. (2016). Способ определения безопасности пищевых ингредиентов с помощью клеточных тест-систем [Method for determining the safety of food ingredients using cellular test systems] (Patent No. RU 2604802C1). *Russian Agency for Patents and Trademarks*. <https://new.fips.ru/>
- Korniłowicz-Kowalska, T., & Bohacz, J. (2011). Biodegradation of keratin waste: Theory and practical aspects. *Waste Management*, 31(8), 1689–1701. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.024>
- Lange, L., Huang, Y., & Busk, P. K. (2016). Microbial decomposition of keratin in nature—a new hypothesis of industrial relevance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(5), 2083–2096. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7262-1>
- Lechner, C., Steinbring, C., Baus, R. A., Baecker, D., Gust, R., & Bernkop-Schnürch, A. (2019). Reactive keratin derivatives: A promising strategy for covalent binding to hair. *Journal of Colloid and Interface Science*, 534, 533–541. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.09.057>

- Liu, Y., Liu, J., & Xiao, J. (2023). Enzymatic crosslinking of amino acids improves the repair effect of keratin on hair fibre. *Polymers*, 15(9), 2210. <https://doi.org/10.3390/polym15092210>
- Malinauskite, E., Shrestha, R., Cornwell, P. A., Gourion-Arsiquaud, S., & Hindley, M. (2021). Penetration of different molecular weight hydrolyzed keratins into hair fibers and their effects on the physical properties of textured hair. *International Journal of Cosmetic Science*, 43(1), 26-37. <https://doi.org/10.1111/ics.12672>
- Meyers, M. A., Chen, P.-Y., Lin, A. Y.-M., & Seki, Y. (2008). Biological materials: Structure and mechanical properties. *Progress in Materials Science*, 53(1), 1-206. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2007.05.004>
- Mohamed, J. M. M., Alqahtani, A., Al Fatease, A., Alqahtani, T., Khan, B. A., Ashmitha, B., & Vijaya, R. (2021). Human hair keratin composite scaffold: characterisation and biocompatibility study on NIH 3T3 fibroblast cells. *Pharmaceuticals*, 14(8), 781. <https://doi.org/10.3390/ph14080781>
- Mokrejš, P., Pavlačková, J., Janáčová, D., & Huťta, M. (2018). Hydration and barrier properties of emulsions with the addition of keratin hydrolysate. *Cosmetics*, 5(4), 64. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5040064>
- Pawar, V. A., Prajapati, A. S., Akhani, R. C., Patel, D. H., & Subramanian, R. B. (2018). Molecular and biochemical characterization of a thermostable keratinase from *Bacillus altitudinis* RBDV1. *3 Biotech*, 8(2), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1130-5>
- Savaides, A., & Tasker, R. (2014). Formulations and methods for straightening and revitalizing hair (U.S. Patent No. US2014/0261518A1). U.S. Patent and Trademark Office.
- Sinkiewicz, I., Staroszczyk, H., & Śliwińska, A. (2018). Solubilization of keratins and functional properties of their isolates and hydrolysates. *Journal of Food Biochemistry*, 42(2), e12494. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12494>
- Tasaki, K. (2020). A novel thermal hydrolysis process for extraction of keratin from hog hair for commercial applications. *Waste Management*, 104, 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.01.011>
- Tinoco, A., Gonçalves, D., Silva, C., Loureiro, A., Dias, M., & Cavaco-Paulo, A. (2021). Keratin:Zein particles as vehicles for fragrance release on hair. *Industrial Crops and Products*, 159, 113067. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113067>
- Wan, M.-Y., Dong, G., Yang, B.-Q., & Feng, H. (2016). Identification and characterization of a novel antioxidant peptide from feather keratin hydrolysates. *Biotechnology Letters*, 38(4), 643-649. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-2016-9>
- Wang, B., Yang, W., McKittrick, J., & Meyers, M. A. (2016). Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Progress in Materials Science*, 76, 229-318. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.06.001>
- Xiao, X. L., Hu, J. L., Gui, X. T., & Qian, K. (2017). Shape memory investigation of alpha-keratin fibers as multi-coupled stimuli of responsive smart materials. *Polymers*, 9(3), 87. <https://doi.org/10.3390/polym9030087>
- Yang, Y., & Reddy, N. (2013). Utilizing discarded plastic bags as matrix material for composites reinforced with chicken feathers. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(1), 307-312. <https://doi.org/10.1002/app.39173>

REFERENCES

- Abdel-Fattah, A. M., El-Gamal, M. S., Ismail, S. A., Emran, M. A., & Hashem, A. M. (2018). Biodegradation of feather waste by keratinase produced from newly isolated *Bacillus licheniformis* ALW1. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 311-318. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.05.005>
- Allpress, J. D., Mountain, G., & Gowland, P. C. (2002). Production, purification and characterization of an extracellular keratinase from *Lysobacter* NCIMB 9497. *Letters in Applied Microbiology*, 34(4), 337-342. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01093.x>
- Altman, G. H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R. L., Chen, J., Lu, H., Richmond, J., & Kaplan, D. L. (2003). Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, 24(3), 401-416. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00353-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00353-8)
- Anbu, P., Gopinath, S. C. B., Hilda, A., Priya, T. L., & Annadurai, G. (2005). Purification of keratinase from poultry farm isolate—*Scopulariopsis brevicaulis* and statistical optimization of enzyme activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(5), 639-647. <https://doi.org/10.1016/j.enzmtec.2004.07.019>
- Anitha, T. S., & Palanivelu, P. (2013). Purification and characterization of an extracellular keratinolytic protease from a new isolate of *Aspergillus parasiticus*. *Protein Expression and Purification*, 88(2), 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2013.01.007>

- Balaji, S., Kumar, M. S., Karthikeyan, R., Kumar, R., Kirubanandan, S., Sridhar, R., & Sehgal, P. K. (2008). Purification and characterization of an extracellular keratinase from a hornmeal-degrading *Bacillus subtilis* MTCC (9102). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(11), 2741–2745. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9782-7>
- Barba, C., Martí, M., Manich, A. M., Carilla, J., Parra, J. L., & Coderch, L. (2010). Effect of wool keratin proteins and peptides on hair water sorption kinetics. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 102(1), 43–48. <https://doi.org/10.1007/s10973-010-0936-0>
- Bayramoglu, E. E., Yorgancioglu, A., Yeldiyar, G., & Onem, E. (2014). Extraction of keratin from unhairing wastes of goat skin and creating new emulsion formulations containing keratin and calendula flower (*Calendula officinalis* L.). *Journal of the American Leather Chemists Association*, 109(13), 49–55.
- Betekhtin, K. E., Sazonova, O. I., Sokolov, S. L., Kovalev, L. I., Kovaleva, M. A., Mashentseva, N. G., & Neretina, A. N. (2024). New strains of *Bacillus licheniformis*, their identification and enzymatic activity in the processing of feathers into a feed additive. *Agricultural Biology*, 59(2), 385–406. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2024.2.385rus>. (In Russian)
- Bhari, R., Kaur, M., & Singh, R. S. (2019). Thermostable and halotolerant keratinase from *Bacillus aerius* NSMk2 with remarkable dehairing and laundry applications. *Journal of Basic Microbiology*, 59(6), 555–568. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900001>
- Bhavsar, P., Zoccola, M., Patrucco, A., Montarsolo, A., Mossotti, R., Rovero, G., Giansetti, M., & Tonin, C. (2016). Superheated Water Hydrolysis of Waste Wool in a Semi-Industrial Reactor to Obtain Nitrogen Fertilizers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(12), 6722–6731. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b01664>
- Bloch, L. D., Goshiyama, A. M., Dario, M. F., Escudeiro, C. C., Sarruf, F. D., Velasco, M. V. R., & Baby, A. R. (2019). Chemical and physical treatments damage Caucasian and Afro-ethnic hair fiber: analytical and image assays. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(11), 2158–2167. <https://doi.org/10.1111/jdv.15761>
- Hatsbach de Paula, J. N., Basilio, F. M. A., & Mulinari-Brenner, F. A. (2022). Effects of chemical straighteners on the hair shaft and scalp. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 97(2), 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.02.010>
- Bodde, S., Meyers, M., & McKittrick, J. (2011). Correlation of the mechanical and structural properties of cortical rachis keratin of rectrices of the Toco Toucan (*Ramphastos toco*). *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4(5), 723–732. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.01.010>
- Bradbury, J. H. (1973). The structure and chemistry of keratin fibers. *Advances in Protein Chemistry*, 27, 111–211. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(08\)60447-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60447-7)
- Chilakamarry, C. R., Mahmood, S., Saffe, S. N. B. M., Arifin, M. A. B., Gupta, A., Sikkandar, M. Y., Begum, S. S., & Narasaiah, B. (2021). Extraction and application of keratin from natural resources: A review. *3 Biotech*, 11 (5), 220. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02734-7>
- Coulombe, P. A., & Omary, M. B. (2002). «Hard» and «soft» principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Current Opinion in Cell Biology*, 14(1), 110–122. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(01\)00301-5](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(01)00301-5)
- Cruz, C. F., Martins, M., Egipto, J., Osório, H., Ribeiro, A., & Cavaco-Paulo, A. (2017). Peptide-protein interactions within human hair keratins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 805–814. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.190>
- Deb-Choudhury, S., Plowman, J. E., Harland, D. P., & Clerens, S. (2016). Isolation and analysis of keratins and keratin-associated proteins from hair and wool. *Methods in Enzymology*, 568, 279–301. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2015.09.024>
- Decina, A. N., & Martynets, L. D. (2002). Vybór kletочноy test-sistemy dlya otsenki syr'ya v proizvodstve kosmeticheskikh i nekotorykh lekarstvennykh sredstv [The choice of a cellular test system for the evaluation of raw materials in the production of cosmetics and some medicinal products]. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedeniy. Pishchevaya Tekhnologiya* [Proceedings of Higher Educational Institutions. Food Technology], (5–6), 66–69.
- Fakhfakh, N., Kanoun, S., Manni, L., & Nasri, M. (2009). Production and biochemical and molecular characterization of a keratinolytic serine protease from chicken feather-degrading *Bacillus licheniformis* RPK. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(4), 427–436. <https://doi.org/10.1139/W08-142>
- Fernandes, M., & Cavaco-Paulo, A. (2012). Protein disulphide isomerase-mediated grafting of cysteine-containing peptides onto over-bleached hair. *Biocatalysis and Biotransformation*, 30(1), 10–19. <https://doi.org/10.3109/10242422.2012.644435>
- Fraser, R. D. B., & Parry, D. A. D. (2008). Molecular packing in the feather keratin filament. *Journal of Structural Biology*, 162(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2008.01.011>

- Gupta, R., Sharma, R., & Beg, Q. K. (2013). Revisiting microbial keratinases: Next generation proteases for sustainable biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(2), 216-228. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.685051>
- He, Z., Sun, R., Tang, Z., Bu, T., Wu, Q., Li, C., & Li, Z. (2018). Biodegradation of feather waste keratin by the keratin-degrading strain *Bacillus subtilis* 8. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(2), 314-322. <https://doi.org/10.4014/jmb.1708.08077>
- Ji, Y., Chen, J., Lv, J., Li, Z., Xing, L., & Ding, S. (2014). Extraction of keratin with ionic liquids from poultry feather. *Separation and Purification Technology*, 132, 577-583. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.06.009>
- Klabukova, D. L., Mashentseva, N. G., Nikonov, I. N., Fisinin, V. I., Chebotareva, S. E., & Chebotarev, I. I. (2016). *Sposob opredeleniya bezopasnosti pishchevykh ingredientov s pomoshch'yu kletochnykh test-sistem* [Method for determining the safety of food ingredients using cellular test systems] (Patent No. RU 2604802C1). Russian Agency for Patents and Trademarks. <https://new.fips.ru/>
- Korniłowicz-Kowalska, T., & Bohacz, J. (2011). Biodegradation of keratin waste: Theory and practical aspects. *Waste Management*, 31(8), 1689-1701. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.024>
- Lange, L., Huang, Y., & Busk, P. K. (2016). Microbial decomposition of keratin in nature—a new hypothesis of industrial relevance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(5), 2083-2096. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7262-1>
- Lechner, C., Steinbring, C., Baus, R. A., Baecker, D., Gust, R., & Bernkop-Schnürch, A. (2019). Reactive keratin derivatives: A promising strategy for covalent binding to hair. *Journal of Colloid and Interface Science*, 534, 533-541. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.09.057>
- Liu, Y., Liu, J., & Xiao, J. (2023). Enzymatic crosslinking of amino acids improves the repair effect of keratin on hair fibre. *Polymers*, 15(9), 2210. <https://doi.org/10.3390/polym15092210>
- Malinauskite, E., Shrestha, R., Cornwell, P. A., Gourion-Arsiquaud, S., & Hindley, M. (2021). Penetration of different molecular weight hydrolyzed keratins into hair fibers and their effects on the physical properties of textured hair. *International Journal of Cosmetic Science*, 43(1), 26-37. <https://doi.org/10.1111/ics.12672>
- Meyers, M. A., Chen, P.-Y., Lin, A. Y.-M., & Seki, Y. (2008). Biological materials: Structure and mechanical properties. *Progress in Materials Science*, 53(1), 1-206. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2007.05.004>
- Mohamed, J. M. M., Alqahtani, A., Al Fatease, A., Alqahtani, T., Khan, B. A., Ashmitha, B., & Vijaya, R. (2021). Human Hair Keratin Composite Scaffold: Characterisation and Biocompatibility Study on NIH 3T3 Fibroblast Cells. *Pharmaceuticals*, 14(8), 781. <https://doi.org/10.3390/ph14080781>
- Mokrejš, P., Pavlačková, J., Janáčová, D., & Huřta, M. (2018). Hydration and barrier properties of emulsions with the addition of keratin hydrolysate. *Cosmetics*, 5(4), 64. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5040064>
- Pawar, V. A., Prajapati, A. S., Akhane, R. C., Patel, D. H., & Subramanian, R. B. (2018). Molecular and biochemical characterization of a thermostable keratinase from *Bacillus altitudinis* RBDV1. *3 Biotech*, 8(2), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1130-5>
- Savaides, A., & Tasker, R. (2014). Formulations and methods for straightening and revitalizing hair (U.S. Patent No. US2014/0261518A1). U.S. Patent and Trademark Office.
- Sinkiewicz, I., Staroszczyk, H., & Śliwińska, A. (2018). Solubilization of keratins and functional properties of their isolates and hydrolysates. *Journal of Food Biochemistry*, 42(2), e12494. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12494>
- Tasaki, K. (2020). A novel thermal hydrolysis process for extraction of keratin from hog hair for commercial applications. *Waste Management*, 104, 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.01.011>
- Tinoco, A., Gonçalves, D., Silva, C., Loureiro, A., Dias, M., & Cavaco-Paulo, A. (2021). Keratin:Zein particles as vehicles for fragrance release on hair. *Industrial Crops and Products*, 159, 113067. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113067>
- Wan, M.-Y., Dong, G., Yang, B.-Q., & Feng, H. (2016). Identification and characterization of a novel antioxidant peptide from feather keratin hydrolysates. *Biotechnology Letters*, 38(4), 643-649. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-2016-9>
- Wang, B., Yang, W., McKittrick, J., & Meyers, M. A. (2016). Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Progress in Materials Science*, 76, 229-318. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.06.001>
- Xiao, X. L., Hu, J. L., Gui, X. T., & Qian, K. (2017). Shape memory investigation of alpha-keratin fibers as multi-coupled stimuli of responsive smart materials. *Polymers*, 9(3), 87. <https://doi.org/10.3390/polym9030087>
- Yang, Y., & Reddy, N. (2013). Utilizing discarded plastic bags as matrix material for composites reinforced with chicken feathers. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(1), 307-312. <https://doi.org/10.1002/app.39173>