

УДК 576.7

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И СОРБЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КУТИКУЛЫ КУКОЛОК МУХИ *HERMETIA ILLUCENS*

© 2023 г. С. В. Свергузова\*., И. Г. Шайхиев\*\*, Ж. А. Сапронова\*,  
А. В. Святченко\*, Н. А. Ушакова\*\*\*

\*Белгородский технологический университет им. В.Г. Шухова, ул. Костюкова, 46, Белгород, 308012 Россия

\*\*Казанский национальный исследовательский технологический университет,  
ул. Карла Маркса, 68, Казань, 420015 Россия

\*\*\*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский пр., 33, Москва, 119071 Россия  
@E-mail: pe@intbel.ru

Поступила в редакцию 06.12.2022 г.

После доработки 06.03.2023 г.

Принята к публикации 06.03.2023 г.

Исследованы физико-химические свойства кутикулы куколок мухи черная львинка *Hermetia illucens*. Определен качественный и гранулометрический составы хитинового материала, методом сканирующей микроскопии изучен микрорельеф поверхности частиц хитина. С помощью метиленового голубого исследованы сорбционные свойства материала. Установлено, что сорбционная емкость материала составляет 0.118 ммоль/г или около 38 мг/г. Математическая обработка изотермы сорбции в рамках моделей Ленгмюра, Фрейндлиха, Дубинина–Радушкевича показала, что лучше всего процесс описывается моделью Дубинина–Радушкевича ( $R^2 = 0.8031$ ), а процесс сорбции имеет физическую природу ( $E = 5.534$  кДж/моль).

**Ключевые слова:** кутикула, хитин, черная львинка, адсорбция, сорбционная емкость, метиленовый голубой

**DOI:** 10.31857/S1026347022601047, **EDN:** TQCDDH

Онтогенез насекомых, способных развиваться в чистой культуре, состав и физико-химические свойства их тканей являются объектом пристального внимания исследователей в связи с фундаментальными вопросами адаптации организма к условиям жизни, а также практической востребованностью продуктов переработки выращенной биомассы насекомых. Муха черная львинка *Hermetia illucens* широко используется в мировой практике для разведения в искусственных условиях и получению биомассы в промышленных масштабах, при этом особый интерес проявляется к тем органам и тканям насекомого, которые могут использоваться в качестве сырья для дальнейшей переработки. К их числу относится хитин кутикулы.

Муха *H. illucens* относится к насекомым с полным циклом развития, который включает стадию куколки, из которой затем вылетает взрослая муха. Кутикула куколки состоит в основном из комплекса хитина с белком. Известны сорбционные свойства хитина, в том числе и в отношении различных ксенобиотиков и избыточно поступающих металлов. Хитин содержит несколько функциональных групп – гидроксильные, карбонильные,

амино-, ацетиламидные группы и кислородные мостики, поэтому механизм сорбции металлов этими полимерами имеет довольно сложный характер. В зависимости от условий он может включать комплексообразование, ионный обмен и поверхностную адсорбцию, однако большинство исследователей в последнее время склоняются к тому, что чаще всего преобладает хелатное комплексообразование, обусловленное высокой электронодонорной способностью атомов азота и кислорода. Благодаря этому хитиновые сорбенты обладают широким спектром сорбируемых элементов. Практически это ионы всех металлов, за исключением щелочных и щелочноземельных (Ahmed *et al.*, 2020; Sirajudheen *et al.*, 2021).

Основными источниками хитина являются раковины и панцири ракообразных. Однако перспективным также может быть получение хитина и хитозана из насекомых (Хайрова и др., 2018; Hahn *et al.*, 2020; Mohan *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020). Показано, например, что из личинок *Hermetia illucens* возможно выделение хитина (Jayanegara *et al.*, 2020; Monisha, Loganathan, 2021; Шайхиев и др., 2022). Содержание хитина в обезжиренных личинках черной львинки составило

**Таблица 1.** Состав кутикулы куколок *H. illucens*

№	Показатель	Содержание, %
1	Протеин	54.14 ± 1.83
2	Хитин	41.05 ± 2.97
3	Жир	2.49 ± 0.49
4	Безазотистые экстрактивные вещества (в том числе углеводы)	2.32

18.22%, клетчатки – 9.29% (Monisha, Loganathan, 2021). Одним из путей использования хитина, в том числе и выделенного из биомассы мухи *H. illucens*, является применения в качестве пребиотиков (Строкова и др., 2018; Aroa *et al.*, 2020). В этой связи представляло интерес исследовать хитин куколок мухи черная львинка на его сорбционные свойства для выявления теоретических основ биологического действия хитина.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали сухую биомассу тонкоизмельченной хитинсодержащей кутикулы куколок (КК) мухи *H. illucens*, состав которой был изучен в соответствии с методиками и выражен в %: протеин – по ГОСТ 13496.4–2019, п.8; хитин по клетчатке – по ГОСТ 31675–2012; жир – по ГОСТ 13496.15–2016; содержание углеводов – безазотистых экстрактивных веществ определяли расчетным способом путем вычитания из 100% суммы вышеперечисленных компонент.

Качественный состав функциональных групп хитина определялся методом ИК-Фурье спектроскопии с применением приставки нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Исследование проводилось на ИК-Фурье спектрометре марки “Frontier” (Perkin Elmer).

Для разделения материала КК на фракции использовали стандартный набор сит ГОСТ 51568–99.

Изучение микрорельефа и энергодисперсионных спектров поверхности частиц хитина куколок проводилось с помощью сканирующего электронного микроскопа “TESCAN Mira 3 LMU” (Чехия).

Для исследования сорбционных свойств материала КК использовался краситель метиленовый голубой (МГ) как общепринятое стандартное вещество при определении сорбционной емкости. Растворы, содержащие МГ в заданных концентрациях, готовились путем растворения расчетной навески реактива в дистиллированной воде.

Адсорбционные исследования проводились в статических условиях. Использовался раствор МГ с исходной концентрацией 25 мг/дм<sup>3</sup>, объемом по 100 см<sup>3</sup>, который помещали в стеклянные колбы вместимостью 250 см<sup>3</sup>, куда добавляли навески материала КК заданной массы. Колбы с

раствором МГ и навесками КК встряхивались на автоматическом шейкере в течение 24 ч при температуре 22 ± 0.1°С. Затем содержимое колб отфильтровывалось через бумажный фильтр, в фильтрате определялись остаточные концентрации МГ. Сорбционная емкость  $A$ , ммоль/дм<sup>3</sup>, рассчитывалась по формуле:

$$A = \frac{C_n - C_p}{m} V,$$

где  $C_n$  – начальная концентрация МГ, ммоль/дм<sup>3</sup>;  $C_p$  – равновесная концентрация МГ после адсорбции, ммоль/дм<sup>3</sup>;  $V$  – объем модельного раствора, дм<sup>3</sup>;  $m$  – масса сорбционного материала, г.

Изучение процесса адсорбции осуществлялось при температуре 22 ± 0.1°С.

Статистическую обработку данных осуществляли согласно ГОСТ Р 8.736–2011 “Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения”

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кутикула куколок содержит белок и хитин практически в равных количествах, составляя 95% от всех компонентов. Суммарная доля жира и безазотистых экстрактивных углеводов не превышала 5% (табл. 1). Результат указывает на перспективность кутикулы куколок как источника хитина, который не требует специального обезжиривания для последующего выделения.

Высушенный и измельченный материал КК с помощью набора сит разделится на фракции:  $\emptyset < 0.25$  мм;  $0.25 < \emptyset < 0.5$  мм;  $0.5 < \emptyset < 1$  мм. Путем взвешивания определенных объемов КК определялся насыпной вес ( $\rho_{нас}$ ) для каждой фракции (табл. 2).

Как видно из табл. 2, с повышением размера частиц, насыпной вес материала уменьшается, что объясняется меньшей плотностью упаковки частиц.

Качественный состав материала КК фракции  $< 0.25$  мм изучали методом ИК-спектроскопии.

На ИК-Фурье спектре (рис. 1) исследованного образца в области 3500–3100 см<sup>-1</sup> присутствует

**Таблица 2.** Насыпной вес кутикулы куколок *H. illucens*

№	Размер частиц фракции, мм	$\rho_{\text{нас}}$ , г/см <sup>3</sup>
1	$\varnothing < 0.25$ мм	0.362
2	$0.5 < \varnothing < 0.5$ мм	0.252
3	$0.5 < \varnothing < 1$ мм	0.223

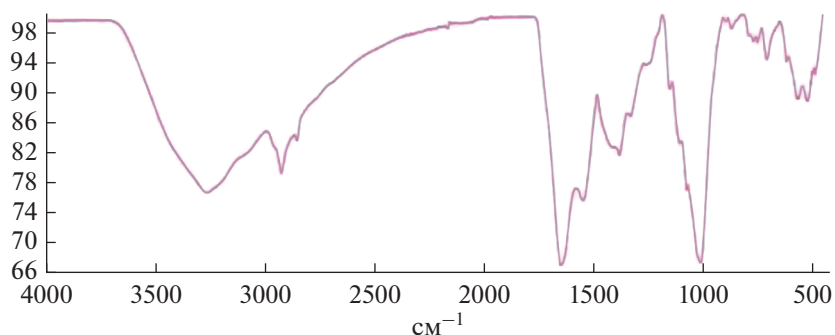
широкая полоса, характерная для валентных колебаний гидроксильных групп. В области 3000–2800 см<sup>-1</sup> имеются два пика, характерные для метильных и метиленовых групп. В области 1700–800 см<sup>-1</sup> присутствуют полосы при 1643 см<sup>-1</sup>, характерные для N–H связи, 1543 см<sup>-1</sup> для C=O-связи, полоса при 1378 см<sup>-1</sup> соответствует сумме колебаний связей N–H и C–N в амидах. Полоса 1010 см<sup>-1</sup> соотносится с валентными колебаниями C–O-связи.

Анализ полос в ИК-спектре полученного нами хитина из КК *H. illucens* показал сходство структуры

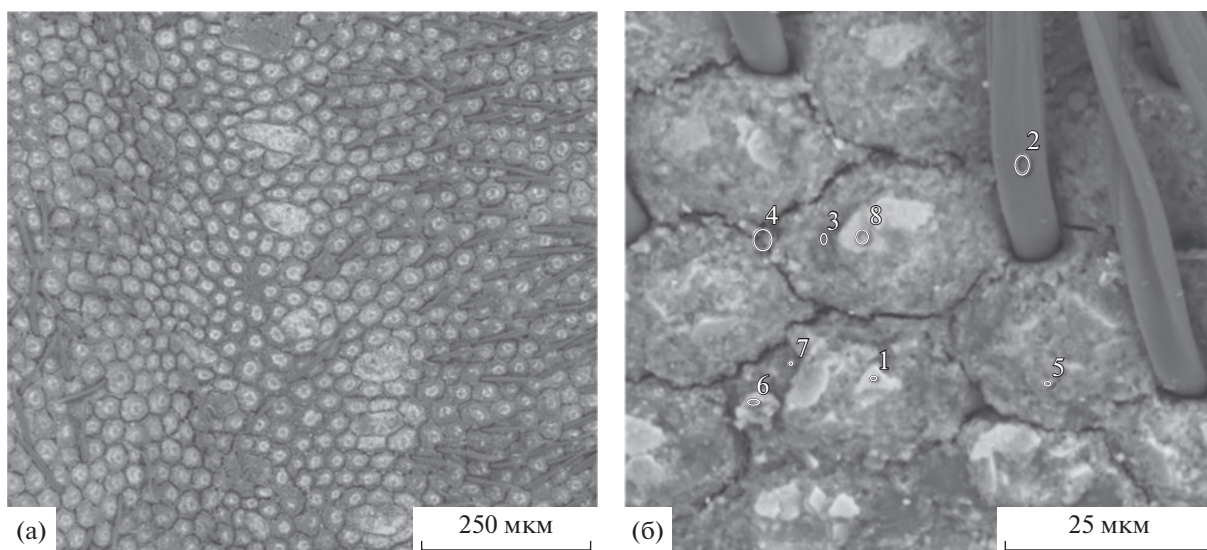
хитина, полученного из личинок, куколок и имаго насекомого другими исследователями (Soetemans *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2022), что позволяет предположить его пригодность для промышленных и биомедицинских применений.

Также выявлено, что ИК-спектры хитинов, выделенных из панцирей креветок, водорослей и КК *H. illucens*, сопоставимы между собой (Coltelli *et al.*, 2022). Сходную картину имеют ИК-спектры хитинов, полученных из личинок черной львинки, лосося атлантического, кальмара и панциря тигровой креветки (Brigode *et al.*, 2020).

На рис. 2 показаны микрофотографии частиц сорбционного материала при разных увеличениях. Как видно из полученных данных, поверхность частиц сорбционного материала имеет высоко-развитую структуру, а его состав содержит множество элементов, таких, как Ca, Mn, P, S, O и др. (табл. 3). Основными элементами являлись углерод (в среднем 39.3%), кислород (в среднем 32.2%), а также кальций (в среднем 11%). Можно



**Рис. 1.** ИК-спектр образца сорбционного материала из кутикулы куколок *H. illucens*.



**Рис. 2.** Микрофотографии частицы сорбционного материала с разрешением: а – 250; б – 25 нм.

**Таблица 3.** Элементный состав кутикулы куколок *H. illucens*, %

Название	C	O	Na	Mg	P	S	Cl	K	Ca	Mn
Участок 1	40.22	33.12	1.81	0.50	4.62	0.57	1.66	2.02	14.25	1.22
Участок 2	38.96	31.35	12.09	0.29	4.69	0.56	2.12	1.70	7.74	0.50

отметить, что по содержанию углерода и кислорода образцы разных участков кутикулы существенно не различались, что характерно для органической природы исследуемого материала, в то время как доля кальция различалась в два раза. Это, по-видимому, связано с особенностями структурной организации кутикулы, в которой Са располагается нерав-

номерно по всей массе кутикулы, и локализован в зоне соединения между хитиновой и белковой фазами, которая включает соли кальция, обычно карбонаты в форме кальцита, для увеличения жесткости кутикулы (Vincent, Wegst, 2004).

Для проверки возможности использования хитинового материала для очистки водных сред использовался раствор метиленового голубого, как общепринятый стандарт при определении сорбционной емкости. Рациональная масса добавки составила 2 г/дм<sup>3</sup>, длительность взаимодействия модельного раствора и хитиновым сорбционным материалом – 20 мин (рис. 3, 4).

Последующим этапом работы было определение расчетным путем удельной площади поверхности ( $S_{уд}$ ) сорбционного материала. Для этого строилась изотерма адсорбции, представленная на рис. 5, которая по классификации ИЮПАК, относится к изотермам I типа и характеризует изотерму на микропористых твердых телах.

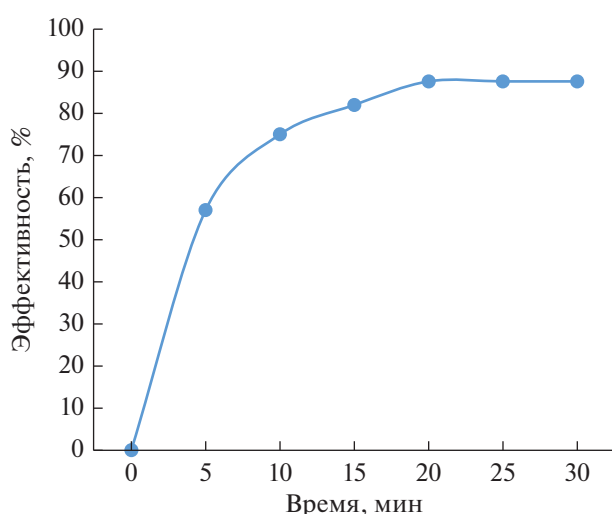
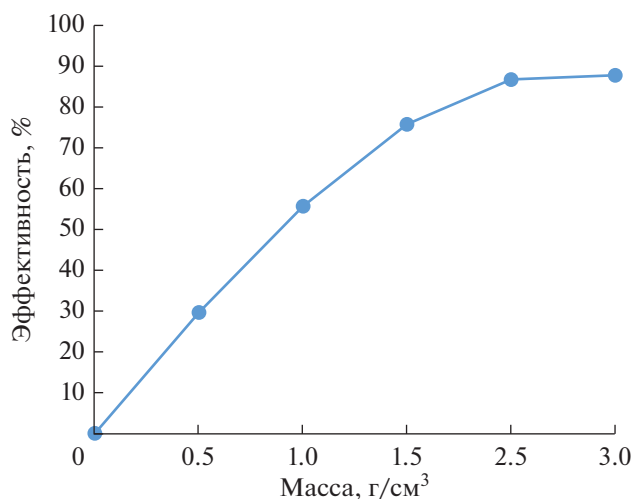
Значение  $S_{уд}$  исследуемого сорбционного материала рассчитывалось по формуле:

$$S_{уд} = \frac{A_{\infty} N_A Q}{M},$$

где  $A_{\infty} = 0.118$  ммоль/г;  $N_A$  – число Авогадро,  $6.02 \times 10^{23}$  ммоль<sup>-1</sup>;  $Q$  – площадь поперечного сечения молекулы МГ,  $M = 319.85$  г/моль.

Полученное значение  $S_{уд}$  составило 20.6 м<sup>2</sup>/г.

Изотерма адсорбции обработана методом регрессии с помощью программного обеспечения MATLAB в рамках моделей Ленгмюра, Фрейндлиха и Дубинина–Радушкевича (Галимова и др., 2016). Полученные результаты (рис. 6, табл. 4) позволяют утверждать, что адсорбция МГ материалом хитиновых КК черной львинки наиболее адекватно описывается моделью Дубинина–Радушкевича ( $R^2 = 0.8031$ ), которая описывает процесс адсорбции на твердых пористых адсорбентах, к которым можно отнести материал КК. Эта модель используется также для идентификации протекания физической или химической адсорбции, так как константа Дубинина–Радушкевича применяется для определения энергии адсорбции. По величине энергии сорбции ( $E$ ) можно судить о природе взаимодействия между КК и активными центрами сорбционной поверхности, т.е. получить ответ на вопрос, является ли процесс закрепления МГ на поверхности сорбента физическим процессом, или он имеет химический характер.

**Рис. 3.** Влияние длительности взаимодействия модельного раствора с хитиновым сорбционным материалом на эффективность очистки.**Рис. 4.** Влияние массы добавки сорбционного материала на эффективность очистки.

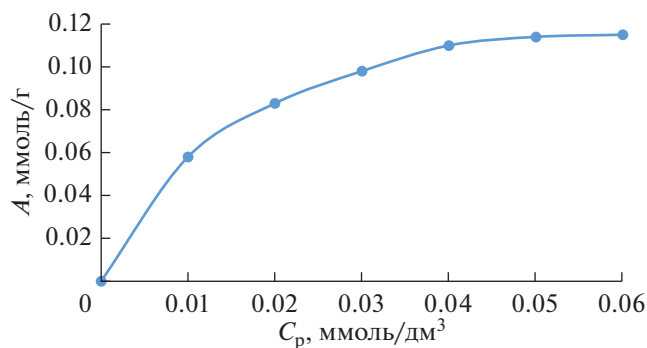


Рис. 5. Изотерма адсорбции красителя метиленовый голубой на поверхности порошка хитиновых кутикул куколок *H. illucens*.

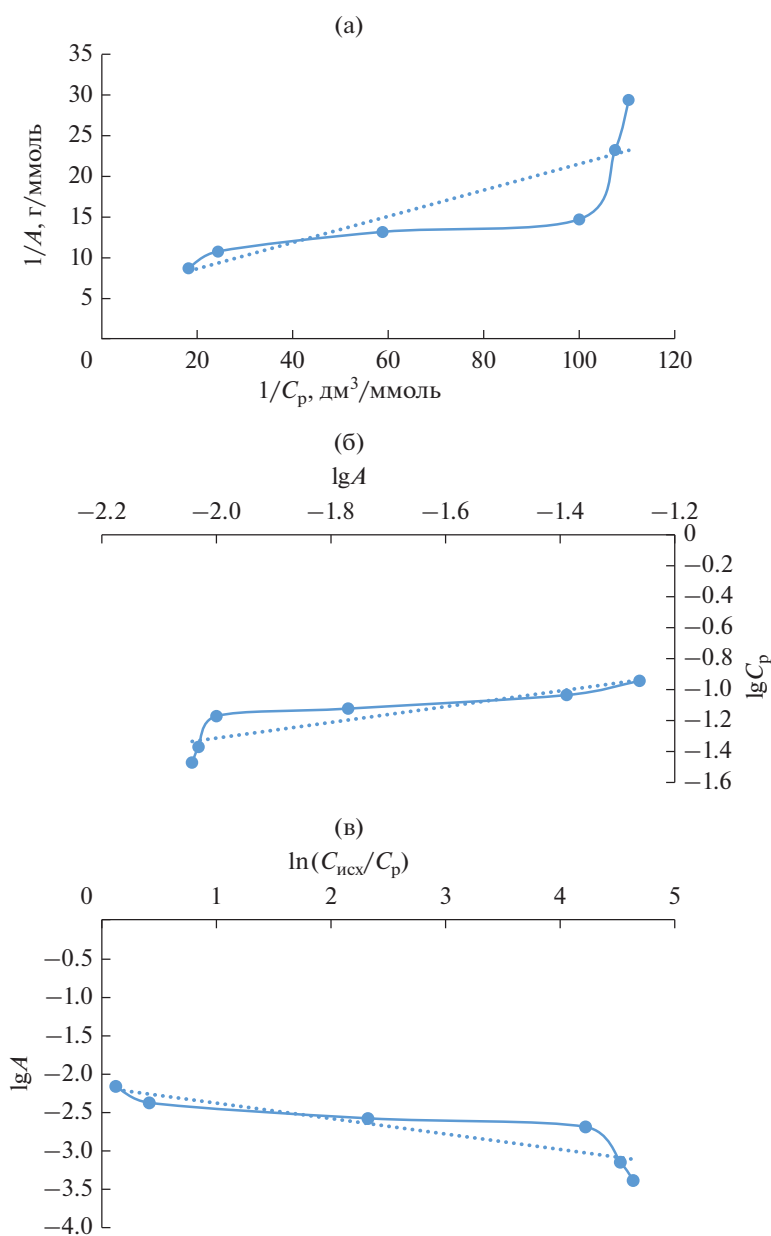


Рис. 6. Изотермы адсорбции, обработанные в рамках моделей: а) Ленгмюра, б) Фрейндлиха, в) Дубинина–Радушкевича.

**Таблица 4.** Уравнения изотерм адсорбции МГ сорбционным материалом

№	Уравнение модели	Уравнение процесса	Коэффициент корреляции
1	Ленгмюра $\frac{1}{A} = \frac{1}{A_{\infty}} + \frac{1}{K_L A_{\infty} C_p}$	$y = 0.1614x + 5.3835$	0.7176
2	Фрейндлиха $\lg A = \lg K_F + 1/n \lg C_p$	$y = 0.5077x - 0.2944$	0.7662
3	Дубинина-Радушкевича $\ln A = \ln A_{\infty} - \left(\frac{RT}{E}\right)^2 \left(\ln \frac{C_n}{C_p}\right)^2$	$y = -0.2004x - 2.1795$	0.8031

При  $E < 8$  кДж/моль адсорбция носит физический характер, а при  $E$  от 40 кДж/моль и выше – химический.

В нашем случае значение  $E = 5.534$  кДж/моль, поэтому следует утверждать, что в данном случае имеет место физический процесс адсорбции.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованы некоторые физико-химические свойства хитина, выделенного из кутикулы куколок мухи *H. illucens*. Определен качественный и гранулометрический составы полученного хитина, а также изучен микрорельеф поверхности последнего. Исследованы сорбционные свойства материала на примере красителя метиленового голубого. Установлено, что сорбционная емкость материала составляет 0.118 ммоль/г (38 мг/г). Математическая обработка изотермы сорбции в рамках моделей Ленгмюра, Фрейндлиха, Дубинина–Радушкевича, показала, что лучше всего процесс описывается моделью Дубинина–Радушкевича ( $R^2 = 0.8031$ ), а процесс адсорбции имеет физическую природу ( $E = 5.534$  кДж/моль). Полученные данные свидетельствуют о возможности доставки пробиотиков, сорбированных на поверхности хитина силами физической адсорбции, в организм-реципиент, где, благодаря, слабой энергии сорбционного взаимодействия пробиотика освобождаются и вступают в биохимический круговорот веществ в организме, а хитиновая часть принимает участие в моторике кишечника.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной программы поддержки университетов “Приоритет 2030” с использованием оборудования на базе Центра высоких технологий БГТУ им. В.Г. Шухова.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Галимова Р.З., Шайхиев И.Г., Алмазова Г.А., Свергузова С.В.* Исследование кинетики процессов адсорбции фенола отходами валяльно-войлочного производства // Вестник БГТУ им. В.Г. Шухова. 2016. № 10. С. 179–184.
- Строкова Н.Г., Подкорытова А.В.* Современные способы переработки хитинсодержащего сырья // Труды ВНИРО. 2018. Т. 170. С. 124–152
- Хайрова А.Ш., Лопатин С.А., Синецкина О.А., Синецын А.П., Варламов В.П.* Получение хитина из черной львинки *Hermetia illucens* путем прямой экстракции // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 3(2). С. 84–88.  
<https://doi.org/10.31040/2222-8349-2018-2-3-84-87>
- Шайхиев И.Г., Свергузова С.В., Ушакова Н.А., Сапронова Ж.А., Воронина Ю.С.* Хитин и хитозан из личинок *Hermetia illucens*: получение, свойства и перспективы использования // Экономика строительства и природопользования. 2022. № 3(84). С. 138–148.
- Ahmed M.J., Hameed B.H., Hummadi E.H.* Review on recent progress in chitosan/chitin-carbonaceous material composites for the adsorption of water pollutants // Carbohydrate polymers. 2020. V. 247. № 116690. P. 1–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116690>
- Aroa L.-S. Mondragon A.C., Lamas A.* Animal-origin prebiotics based on chitin: an alternative for the future? A critical review // Foods. 2020. V. 9. P. 1–20.  
<https://doi.org/10.3390/foods9060782>
- Brigode C., Hobbi P., Jafari H.* Isolation and physicochemical properties of chitin polymer from insect farm side stream as a new source of renewable biopolymer // J. Cleaner Production. 2020. V. 275. № 122924. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122924>
- Coltelli M.-B., Panariello L., Vannozzi A.* Chitin and its derivatives: nanostructured materials from different marine and terrestrial sources // Chemical Engineering Transactions. 2022. V. 93. P. 295–300.  
<https://doi.org/10.3303/CET2293050>
- Hahn T., Tafi E., Paul A.* Current state of chitin purification and chitosan production from insects // Journal of Chemical Technology & Biotechnology. 2020. V. 95.

- № 11. P. 2775–2795.  
<https://doi.org/10.1002/jctb.6533>
- Jayanegara A., Haryati R.P., Nafisah A. Derivatization of chitin and chitosan from Black soldier fly (*Hermetia illucens*) and their use as feed additives: An *in vitro* study // *Advanced in Animal and Veterinary Sciences*. 2020. V. 8. № 5. P. 472–477.  
<https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.5.472.477>
- Kumar M. Insect chitin and chitosan: structure, properties, production, and implementation prospective / M. Kumar, V. Vivekanand, N. Pareek // *Natural Materials and Products from Insects: Chemistry and Applications* / Eds. Kumar D., Shahid M.: Springer Nature Switzerland AG, 2020. P. 51–66.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-36610-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-36610-0_4)
- Mohan K., Ganesan A.R., Muralisankar T. Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects // *Trends in Food Science & Technology*. 2020. V. 105. P. 17–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>
- Monisha C., Loganathan M. Impact of drying methods on the physicochemical properties and nutritional composition of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae flour // *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021. P. 1–10.  
<https://doi.org/10.1111/jfpp.16184>
- Sirajudheen P., Poovathumkuzhi N.C., Vigneshwaran S. Applications of chitin and chitosan based biomaterials for the adsorptive removal of textile dyes from water – A comprehensive review // *Carbohydrate Polymers*. 2021. V. 273. № 118604. P. 1–40.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118604>
- Soetemans L., Uyttebroek M., Bastiaens L. Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages // *International J. Biological Macromolecules*. 2020. V. 165. P. 3206–3214.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.041>
- Triunfo M., Tafi E., Guarnieri A. Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process // *Scientific Reports*. 2022. V. 12. № 6613. P. 1–17.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-10423-5>
- Vincent J.F.V., Wegst U.G.K. Design and mechanical properties of insect cuticle // *Arthropod Structure & Development*. 2004 V. 33. P. 187–199.  
<https://doi.org/10.1016/j.asd.2004.05.006>
- Wang H., Rehman K., Feng W. Physicochemical structure of chitin in the developing stages of black soldier fly // *International J. Biological Macromolecules*. 2020. V. 149. P. 901–907.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.293>

## Physicochemical and Sorption Characteristics of the *Hermetia illucens* Fly Pupal Cuticle

S. V. Sverguzova<sup>1, #</sup>, I. G. Shaikhiev<sup>2</sup>, Zh. A. Sapronova<sup>1</sup>, A. V. Svyatchenko<sup>1</sup>, and N. A. Ushakova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Belgorod Technological University. V.G. Shukhov, st. Kostyukova, 46, Belgorod, 308012 Russia

<sup>2</sup> Kazan National Research Technological University, st. Karl Marx, 68, Kazan, 420015 Russia

<sup>3</sup> Institute of Problems of Ecology and Evolution. A.N. Severtsov Russian Academy of Sciences, Leninsky pr., 33, Moscow, 119071 Russia

#e-mail: pe@intbel.ru

Physicochemical and sorption characteristics of the Black Soldier fly pupal cuticle have been studied. The qualitative and granulometric compositions of chitin material were determined, and the surface microrelief of chitin particles was studied by scanning microscopy. The sorption properties of the material were studied using the methylene blue dye. It was found that the sorption capacity of the material is 0.118 mmol/g, or about 38 mg/g. Mathematical processing of the sorption isotherm using the Langmuir, Freundlich, Dubinin-Radushkevich models showed that the process is best described by the Dubinin-Radushkevich model ( $R^2 = 0.8031$ ), and the sorption process has a physical nature ( $E = 5.534$  kJ/mol).

**Keywords:** cuticle, chitin, black soldier fly, adsorption, sorption capacity, methylene blue