

Корисна модель належить до галузі біотехнології, зокрема до способів одержання хітозан-меланінового комплексу з підмору мух чорної львинки, який може бути використаний у ветеринарії для одержання препаратів лікувально-профілактичного призначення, у медицині для профілактики й лікування кишково-інфекційних захворювань різного походження, а також ранозагоювальних мазей і як радіопротектор організму й шкірного покриву.

Муха чорна львинка *Hermetia illucens* - унікальна комаха, личинки якої здатні переробляти широкий спектр органічних відходів. Дана технологія вже застосовується в промислових масштабах в усьому світі. Важливо відзначити, що крім утилізації органічних відходів і виробництва добрива, білка й жиру, комаха служить джерелом і інших важливих біологічно активних речовин, таких як хітин, хітозан і меланін.

Меланін утворюється на більш пізніх стадіях розвитку комахи й пов'язаний з хітином із міцними ковалентними зв'язками. Меланін вважається природним фіто- і радіопротектором. Залежно від джерела й методу виділення меланін має різні фізико-хімічні властивості, які можуть доповнювати й підсилювати біологічну активність хітозану, дезацетильованого похідного хітину і використовуватися для розв'язку важливих наукових і практичних завдань.

Відомий спосіб одержання хітозан-меланінового комплексу з підмору бджіл [М.І. Селионова й Н.В. Погарская "Спосіб одержання хітозан-меланінового комплексу з підмору бджіл", Патент RU №2382051, 21.07.2008]. Спосіб включає попереднє сушіння хітин-меланінової сировини до вологості 4-6 %, що забезпечує його кришення, потім висушену масу перетирають до порошокподібного стану, депротейнують 10 % розчином лугу NaOH при температурі 78-82 °C протягом 1,5-2,0 годин. 50 % розчин NaOH додають у реакційну суміш, у такий спосіб доводячи його концентрацію до 30 % від вихідної. Отриманий хітин-меланіновий комплекс дезацетильують при температурі 90-95 °C протягом 1,5-2,0 годин, фільтрують, при цьому відфільтровану масу одержують шляхом промивання маси дистильованою водою до досягнення pH 7. З розчину, що залишився після фільтрування, осаджують меланін впливом концентрованої соляної кислоти до зміни pH середовища оброблюваного розчину в кислу область і випадання пластівчастого осаду, що і являє собою меланін. Меланін відокремлюють від рідкої фази центрифугуванням, промивають, окремо сушать хітозан і меланін при температурі 50-60 °C до вологості 8-10 % і змішують їх для одержання кінцевого продукту хітозан-меланінового комплексу.

Важливо відзначити, що в даному способі хітозан і меланін одержують роздільно, а комплекси - шляхом механічного змішування двох біополімерів.

Відомий спосіб одержання хітину з мух чорної львинки *Hermetia illucens* [С.А. Лопатин, А.Ш. Хайрова, В.П. Варламов, І.В. Соколов "Спосіб одержання хітину з личинок мух Чорної Львинки *Hermetia illucens*", Патент RU №2680691, 25.02.2019]. Спосіб одержання хітину з мух чорної львинки *Hermetia illucens* передбачає обробку знерухомлених личинок на маслопресі. До 30-50 г отриманого твердого залишку додають 150-200 мл 85 % фосфорної кислоти, ретельно перемішують і залишають на 16-20 години при кімнатній температурі. Отриману суспензію фільтрують під вакуумом через скляний пористий фільтр №1 і промивають 70-100 мл 40 % фосфорної кислоти. Об'єднаний фільтрат розбавляють 2,5-3,0 л води при інтенсивному перемішуванні, осад, що випав, хітину у фільтраті відмивають водою методом декантації до pH 5,5-6,0 і піддають ліофільному (сублімаційному) сушінню. Винахід дозволяє спростити процес одержання хітину з личинок мух чорної львинки *Hermetia illucens*, а також одержати хітин в аморфній формі.

Також в [A. Khayrova, S. Lopatin, V. Varlamov, Black soldier fly *Hermetia illucens* as a novel source of chitin and chitosan // International Journal of Sciences, Vol.8, pp. 81-86, 2019] показано, що обробка хітину із мух Чорної Львинки 50 % лугом дозволяє одержувати хітозан зі ступенем дезацетилірування 90 %, у той час як обробка більш слабким 30 % лугом не приводить до дезацетилірування хітину, а збільшення концентрації NaOH приводить до підвищення вмісту білка в комплексі. Це можна пояснити тим, що більш концентрований луг більш густий, що не дозволяє йому ефективно змочувати матерію й проникати в неї.

Відомий спосіб одержання меланіну з личинки мухи чорної львинки [Патент RU №2692260]. Спосіб одержання меланіну з личинки мухи чорної львинки *Hermetia illucens* у віці від 25 до 35 днів полягає в тому, що спочатку личинки ретельно промивають і висушують, потім поміщають в екструдер і екструдують здійснюють при температурі 37-38 °C методом холодного віджиму протягом однієї хвилини, після завершення екструдують дають отриманому екструдату відстоятися до поділу на фракції при температурі від 0 до -15 °C і отриманий на поверхні шар меланіну відокремлюють механічним способом, для повторного одержання шару меланіну суміш, яка залишилась, витримують при кімнатній температурі й отриманий на поверхні шар меланіну відокремлюють механічним способом, після чого на завершальному етапі суміш, що залишилась, заморожують, потім нагрівають її до кімнатної температури й знову отриманий на поверхні шар меланіну відокремлюють механічним способом, за певних умов. Спосіб дозволяє одержати меланін шляхом природної переробки личинок, не прибігаючи до агресивних впливів хімічних реагентів.

У даній роботі не описується метод визначення домішок у кінцевому продукті. За даними автора,

вміст меланіну становить 88-90 %, що свідчить про наявність домішок. Жир, більш легкий у порівнянні з меланіном, утворюється на поверхні, і входить до складу кінцевого продукту.

Вищевказані способи дозволяють одержувати кожний з біополімерів - хітин, хітозан і меланін - роздільно. Відповідно, щоб одержати хітин- або хітозан-меланіновий комплекс додатково потрібно з'єднати біополімери механічним способом.

В процесі патентного пошуку аналогу корисної моделі не було виявлено.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб отримання хітозану й меланіну як хімічної сполуки, де обидва біополімери з'єднано один з одним ковалентними зв'язками.

Запропонована корисна модель направлена на одержання нового продукту - хітозан-меланінового комплексу, який поєднує в собі властивості цих біополімерів.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб одержання ковалентного хітозан-меланінового комплексу з мухи чорна львинка *Hermetia illucens*, який полягає в тому, що 200-500 г підмору знежирюють діетиловим ефіром в апараті Сокслета, висушують при кімнатній температурі, подрібнюють і фракціонують через сито до 0,2-0,5 мм, демінералізують 1000-2500 мл 2,5 л 1 % HCl при кімнатній температурі протягом 2 годин при перемішуванні, твердий залишок фільтрують на пористому скляному фільтрі, промивають дистильованою водою до нейтральних значень pH і ліофільно висушують, потім висушену масу обробляють 30-50 % розчином NaOH при 90-100 °C протягом 2 годин з перемішуванням, твердий залишок фільтрують на пористому скляному фільтрі, промивають дистильованою водою до pH 5,5-6,0 і ліофільно висушують.

Основна відмінність даного способу полягає в тому, що на відміну від попередніх способів одержання хітозан-меланінових комплексів, отриманий продукт є не механічною сумішшю двох з'єднань - хітозану і меланіну, а хімічною сполукою, де обидва біополімери з'єднано один з одним ковалентними зв'язками. Крім того, у зазначеному способі контролюється повнота видалення домішок, що раніше не зустрічалося в літературі. Важливою відмінністю запропонованого способу є введення первинної стадії знежирення органічним розчинником. Було виявлено, що після обробки 10 % NaOH (90-100 °C, 2 години) у підморі втримувалося 26 % жиру. При обробці 30 % NaOH (90-100 °C, 2 години) залишалося 8 % жиру й навіть при обробці 50 % NaOH лугом у тих же умовах жир повністю не видаляється (залишається 5,4 %). Можливо, що в підморі чорної львинки крім тригліцеридів може отримуватися й віск, який не гідролізується лугом. Наявність жиру в біомасі призводить до погіршення її змочування й неповному видаленню золи й білка. У результаті обробки діетиловим ефіром, жир з вихідної сировини був вилучений.

Вміст меланіну було показано з даних Епр-Аналізу. Вміст меланіну в перерахуванні на Дофа-Меланін у вихідному підморі становило 10 %, а в комплексах перевищувало 14 %.

Визначення вільних аміногруп в отриманих комплексах проводили за допомогою реакції з нінгідрином по методу [Taylor I., Hovard A.G. Measurement of primary amine groups on surface-modified silica and their role in metal binding // *Analytica Chimica Acta*. 1993. V. 271. №1. P.77-82]. Результати титрування аміногруп показують, що після обробки 50 % NaOH значно зростає концентрація аміногруп у порівнянні з матеріалом, обробленим 30 % NaOH, що підтверджує протікання реакції деацетилювання хітину.

Приклад 1

500 г підмору мухи чорна львинка знежирюють діетиловим ефіром в апараті Сокслета, висушують при кімнатній температурі у витяжній шафі й одержують 325 г знежиреного підмору. Потім препарат подрібнюють у ступці й фракціонують через сито. Розмір часток становить 0,2-0,5 мм (вихід = 275 г).

275 г здрібненої й знежиреної маси демінералізують 2,5 л 1 % HCl при кімнатній температурі протягом 2 годин при перемішуванні. Твердий залишок фільтрують на скляному пористому фільтрі №2, промивають дистильованою водою до нейтральних значень pH і піддають ліофільному (сублімаційному) сушінню. Одержують 200 г демінералізованої матерії, що містить менш 0,3 % золи.

60 г демінералізованого матеріалу демінералізують обробкою 600 мл 50 % розчином NaOH при 100 °C протягом 2 годин при перемішуванні, твердий залишок фільтрують на скляному пористому фільтрі №2. Отриманий хітозан-меланіновий комплекс відмивають дистильованою водою до pH 5,5-6,0 і піддають ліофільному (сублімаційному) сушінню. Одержують 11 г ковалентно-зв'язаного хітозан-меланінового комплексу, що містить 3,5 % білка.

Приклад 2

Аналогічно прикладу 1, але після стадії демінералізації 60 г демінералізованого матеріалу обробляють 400 мл 50 % розчину NaOH при 90 °C протягом 2 годин при перемішуванні. Твердий залишок фільтрують на скляному пористому фільтрі №2, відмивають дистильованою водою до pH 5,5-6,0 і піддають ліофільному (сублімаційному) сушінню. Одержують 23 г ковалентного хітозан-меланінового комплексу, що містить 4,3 % білка.

Отриманий хітозан-меланіновий комплекс з підмору мух чорної львинки може бути використаний у ветеринарії для одержання препаратів лікувально-профілактичного призначення, у медицині для профілактики й лікування кишково-інфекційних захворювань різного походження, а також ранозагоювальних мазей і як радіопротектор організму й шкірного покриву.

