

УДК 57.017.85

DOI: 10.31040/2222-8349-2018-0-3-57-62

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОТЕИН-ХИТИНОВОГО КОНЦЕНТРАТА ЛИЧИНОК ЧЕРНОЙ ЛЬВИНКИ *HERMETIA ILLUCENS* В РАЦИОНЕ ВСЕЯДНЫХ РЫБ НА ПРИМЕРЕ КРАСНОЙ ТИЛЯПИИ

© Н.А. Ушакова, С.В. Пономарев, Ю.В. Федоровых, А.И. Бастратов

Биомасса личинок черной львинки *Hermetia illucens* получена при разведении насекомого в лаборатории на экологически чистом кормовом зерновом субстрате. Концентрат белка с хитином был выделен путем частичного обезжиривания сухих личинок прямым отжимом. Полученный продукт содержал 53.4% сырого протеина, 18.3% хитина и 5.1% сырого жира. Экспериментальный корм для рыб готовили методом влажного прессования при низком давлении. При этом 100% рыбной муки было заменено полученным из личинок белковым концентратом с хитином. Опытный корм содержал на 14% меньше белка и на 8.4% меньше жира, чем контроль, и включал 8.24% хитина. Контрольный корм содержал 45% рыбной муки. Рыбы экспериментальных и контрольных групп молоди красной тилляпии (гибрид альбиносных самок мозамбикской *Oreochromis mossambicus* и самцов нильской *O. niloticus* тилляпии) выращивали в 400-литровых аквариумах с искусственной аэрацией, фильтрованием и подогревом. Каждый аквариум содержал 50 особей. Рыбу кормили 3–4 раза в день. Влияние корма на выращенную рыбу оценивали по рыбоводно-биологическим и физиолого-биохимическим показателям: вес рыбы в конце и в начале эксперимента, абсолютный и среднесуточный прирост, коэффициент массонакопления, кормовой коэффициент и биохимические параметры крови.

По результатам выращивания молоди не было получено статистически достоверных различий в изученных параметрах для контрольной и опытной группы рыб. Выявленная эффективность выращивания молоди красной тилляпии на рационе с содержанием хитина более 8% косвенно свидетельствует о возможном переваривании хитина в процессе пищеварения, позволяющем сохранить питательную ценность комбикорма, а протеин-хитиновому концентрату личинок *Hermetia illucens* практически полностью соответствовать рыбной муке по питательной ценности.

Ключевые слова: протеин-хитиновый концентрат, личинки *Hermetia illucens*, кормление, красная тилляпия.

Интенсивное развитие аквакультуры вызывает потребность в белковых компонентах кормов. Основным источником белка является рыбная мука, поскольку она используется для кормления рыб в количестве, составляющем до 60% от массы комбикорма. В связи с возрастающим дефицитом высококачественной рыбной муки и ее стоимости пристальное внимание исследователей уделяется возможности введения в корма рыб личинок насекомых в качестве

альтернативной замены рыбной муки. В частности, показана принципиальная возможность замены рыбной муки на муку личинок мухи *Hermetia illucens* [1]. Однако личинки содержат много жира – до 45% от сухой массы в зависимости от типа кормового субстрата, на котором выращивались личинки. В их составе доминируют насыщенные жирные кислоты [2]. Избыточное содержание жира вызывает дисбаланс компонентов корма и технологические сложности получения гранул

УШАКОВА Нина Александровна – д.б.н., Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, e-mail: naushakova@gmail.com

ПОНОМАРЕВ Сергей Владимирович – д.б.н., Инновационный центр «Биоаквапарк – НТЦ аквакультуры» Астраханского государственного технического университета, e-mail: jaqua@yandex.ru

ФЕДОРОВЫХ Юлия Викторовна – к.б.н., Инновационный центр «Биоаквапарк – НТЦ аквакультуры» Астраханского государственного технического университета, e-mail: jaqua@yandex.ru

БАСТРАКОВ Александр Иванович, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, e-mail: aibastrakov@gmail.com

комбикорма необходимого качества. Поэтому перспективно обезжиривание биомассы личинок, но полученный концентрат протеина может включать повышенное количество хитина наружного покрова личинок [3]. Цель настоящего исследования – установить влияние на организм рыбы протеин-хитинового концентрата личинок черной львинки *Hermetia illucens* с высоким содержанием хитина в составе корма для всеядных рыб на примере красной тиляпии при полной замене им рыбной муки.

Материал и методы исследования. Биомассу личинок *Hermetia illucens* получили при разведении насекомого на экологически чистом зерновом кормовом субстрате в лабораторных условиях ФГБУН ИПЭЭ РАН. Обезжиривание проводили прямым отжимом биомассы на маслопрессе Dream Modern ODM-01 Rawmid (Голландия). Был получен концентрат протеина с хитином, состава, %: влажность – 2; сырой протеин – 53.4; сырой жир – 5.1; хитин (по клетчатке) – 18.3; БЭВ – 9.3; зола – 7.6; кальций – 0.15; фосфор – 0.05.

Химический состав использованной рыбной муки, %: влажность – 10; сырой протеин – 66; сырой жир – 7.4; клетчатка – 0; Са – 4.0; Р – 2.5.

Экспериментальные работы проводили на базе Инновационного центра «Биоаквапарк – НТЦ аквакультуры» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет». Объектом исследования служили сеголетки красной тиляпии (гибрид альбиносных самок мозамбикской *Oreochromis mossambicus* и самцов нильской *O.niloticus* тиляпии). Для выращивания тиляпии использовали аквариумы объемом 400 л с искусственной аэрацией, фильтрацией и подогревом. В каждом аквариуме содержали по 50 особей.

Опытные корма изготавливали в лабораторных условиях с использованием кормовых компонентов отечественного производства методом влажного прессования при низком давлении. Рыбную муку в контрольном комбикорме (Контрольная группа рыб) полностью (100%) заменили в опытном комбикорме на протеин-хитиновый концентрат личинок (Опытная группа рыб). Состав кормов представлен в табл. 1. Опытный корм содержал на 14% меньше протеина и на 8.4% меньше жира по сравнению с контрольным кормом. Тестируемое содержание хитина в корме составило 8.24%.

При оценке влияния кормов на выращенных рыб применяли комплекс рыбоводно-биологических и физиолого-биохимических методов [4]. Для контрольного взвешивания и измерения делали случайную выборку в количестве 25 особей каждого варианта. Среднесуточную скорость роста рыб старших возрастных групп вычисляли по формуле сложных процентов:

$$A = [(m_k / m_0)^{1/t} - 1] \times 100 (\%),$$

где m_k и m_0 – масса рыбы в конце и в начале опыта, г; t – продолжительность опыта, сут.

Абсолютный прирост вычисляли по формуле:

$$P_{аб} = m_k - m_0,$$

где m_k – конечная масса молоди, г; m_0 – начальная масса молоди, г.

Среднесуточный прирост вычисляли по формуле:

$$P_{ср.сут.} = (m_k - m_0) / t$$

где m_k – конечная масса молоди, г; m_0 – начальная масса молоди, г; t – продолжительность опыта, сут.

Для более точного определения скорости роста вычисляли коэффициент массонакопления:

$$K_M = ((M_k^{1/3} - M_0^{1/3}) \cdot 3) / t$$

где K_M – общий продукционный коэффициент скорости роста; M_k и M_0 – конечная и начальная масса рыбы, г; t – время выращивания, сут.

Кормовой коэффициент вычисляли по формуле:

$$K_3 = C_k / (m_k - m_0),$$

где C_k – количество корма, затраченное на единицу прироста.

Корм давали вручную 3–4 раза в сутки. Все данные подвергали статистической обработке с применением панели программ статанализа Excel. Уровень различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента.

Для получения биохимических показателей крови, которые служат адекватным индикатором сбалансированности потребляемого корма, отбирали кровь прижизненно из хвостовой вены в пробирки Эппендорфа. В качестве антикоагулянта использовали ЭДТА.

Концентрацию гемоглобина в крови определяли фотометрически с помощью набора реактивов фирмы Агат-Мед, СОЭ определяли по методу Панченкова.

Состав продукционных комбикормов, %

Компонент	Комбикорм	
	контрольный	опытный, 100% замена рыбной муки
Шрот соевый	15	15
Шрот подсолнечный	7	7
Пшеница	15	15
Рыбная мука	45	0
Белково-хитиновый концентрат из личинок черной львинки	0	45
Рыбий жир	7	7
Пшеничный глютен	5	5
Мука мясная	5	5
Премикс ПМ-2	1	1
Содержание питательных веществ, %		
Сырой протеин	48.36	41.57
Сырой жир	12.23	11.20
Хитин	0	8.24

Для биохимического анализа крови образцы крови отбирали в пробирки без ЭДТА, оставляли коагулировать, затем центрифугировали при 3000 оборотах в минуту для отделения сыворотки.

Содержание сывороточного белка определяли на рефрактометре ИРФ-22, уровень холестерина в крови определяли энзиматическим методом. Концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли энзиматическим колориметрическим методом без депротеинизации (реакция Триндера). Для измерения оптической плотности полученных проб использовали спектрофотометр Unicо 2100.

Результаты представлены в виде среднего значения показателя и его стандартной ошибки ($M \pm m$). Оценку достоверности проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В ходе эксперимента выживаемость в аквариумах с красной тилляпией была 100%. По результатам выращивания молоди не было получено статистически достоверных различий в рыбоводно-биологических показателях для контрольной и опытной группы рыб, потреблявшей корм со 100% заменой рыбной муки на протеин-хитиновый концентрат из личинок черной львинки (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Рыбоводно-биологические показатели выращивания красной тилляпии

Показатели	Группа рыб	
	Контроль	Опыт
Масса начальная, г	109.27±5.26	108.98±4.41
Масса конечная, г	138.07±2.2	139.11±1.02
Длина начальная, см	15.03±1.09	15.46±1.12
Длина конечная, см	17.1±0.74	17.9±1.03
Абсолютный прирост, г	28.8	30.13
Среднесуточный прирост, г	0.96	1.0
Среднесуточная скорость роста, %	0.77	0.81
Коэффициент массонакопления, ед.	0.038	0.04
Кормовой коэффициент	1.4	1.3
Выживаемость, %	100	100
Продолжительность эксперимента, сут.	30	30

Примечание: различия недостоверны ($p > 0.05$).

Биохимические показатели мышечной ткани молоди красной тиляпии (содержание, % в абсолютно сухом веществе)

Показатели	Группа рыб	
	Контроль	Опыт
Влага	72.04	71.64
Белок	60.01±1.04	57.91±0.98
Липиды	20.3±0.76	22.97±0.97
Зола	19.02±0.36	18.72±0.78

Примечание: различия недостоверны ($p > 0.05$).

Физиолого-биохимические показатели крови тиляпии

Группа рыб	Гемоглобин, г/л	СОЭ, мм/ч	Общий белок, г/л	Холестерин, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л
Контроль	81.05±3.09	4.4±0.09	23.01±0.63	3.41±0.03	3.2±0.03
Опыт	78.63±1.48	4.7±0.11	23.64±2.30	4.11±0.02	3.8±0.05

Примечание: различия недостоверны ($p > 0.05$).

При изучении основного биохимического состава мышечной ткани выращенной молоди тиляпии обеих экспериментальных групп достоверных различий в содержании белка, жира и золы выявлено не было (табл. 3). Однако можно отметить тенденцию к повышению содержания липидов (на 13%) в опытном варианте при выращивании рыбы на комбикорме со 100%-й заменой рыбной муки на протеин-хитиновый концентрат из личинок черной львинки.

Объективно оценить состояние организма в предложенных условиях среды можно по физиолого-биохимическим показателям крови, которые выступают в качестве специфических индикаторов физиологических или патологических изменений организма. Рыбоводные показатели, как правило, коррелируют с физиологическим состоянием рыб, что в свою очередь подтверждается гематологическими показателями. Как видно из табл. 4, достоверных различий в физиолого-биохимических показателях крови тиляпии контрольной и опытной групп не выявлено.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что 100%-я замена рыбной муки на протеин-хитиновый концентрат личинок черной львинки *Hermetia illucens* не оказывает негативного влияния на рыбоводно-биологические и физиологические показатели молоди красной тиляпии. При этом высокое содержание хитина

личинок (более 8%) в опытном комбикорме не привело к ожидаемому снижению массы тела и содержания жира в мышечной ткани рыб по окончании экспериментального кормления. Из литературных источников известно, что у рыб (угорь, судак, ставрида, радужная форель, желтохвостик) в желудочном соке присутствуют ферменты гликозидазы – хитиназа, лизоцим, амилаза, гиалуронидаза, осуществляющие гидролиз гликозидных связей полисахаридов [5]. Хитиназа (рН оптимум 4.6–4.0) расщепляет хитин до хитобиозы и частично до N-ацетилглюкозамина. Хитин как основной компонент покровных тканей членистоногих, включая насекомых, находится в комплексе с белками, липидами и минеральными солями. Хитиназа, гидролизуя гликозидные связи хитина, способствует разрушению эндоскелета членистоногих. Таким образом, фермент участвует в процессе мацерирования твердых частиц пищи, и тем самым делает ее доступной для других ферментов. Считается, что активность хитиназы невелика, и полного усвоения покровных тканей членистоногих не происходит. Образующиеся продукты гидролиза хитина не представляют для организма высокой пищевой ценности и практически полностью выводятся из организма [6]. Кроме того, хитозан (производное хитина) ракообразных используется большей частью в производстве средств для

снижения веса. Хитозан способен в определенной мере связываться с молекулами жира в пищеварительном тракте. Жир, связанный с хитозаном, не усваивается и выводится из организма [7]. Однако из полученных в настоящей работе данных следует, что если бы хитин в комбикорме не усваивался, то рыба опытной группы должна была бы худеть, и масса тела была бы меньше массы тела рыб контрольной группы, что не соответствует данным, приведенным в табл. 2. Кроме того, в биохимическом составе ткани было бы понижено содержание жира, что также не отмечено (табл. 3). Учитывая, что представители тилапии хорошо используют корма как растительного, так и животного происхождения, поедают элодею, валлиснерию и даже сине-зеленые водоросли, а также личинок двукрылых, ручейников и пр. [8, 9], наличие ферментов, расщепляющих структурные полисахариды у тилапии, представляется вполне вероятным. А выявленная в работе эффективность выращивания молоди красной тилапии на рационе с содержанием хитина более 8%, косвенно свидетельствует о возможном переваривании хитина в процессе пищеварения, позволяющим сохранить питательную ценность комбикорма, а протеин-хитиновому концентрату личинок *Hermetia illucens* практически полностью соответствовать рыбной муке по питательной ценности.

Литература

1. Кияшко В.В., Гуркина О.А., Клименко А.А., Голубева Н.Ю. Тилапия как объект индустриальной аквакультуры // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы животноводства в условиях инновационного развития отрасли». 2017. С. 84–87.
2. Ushakova N.A., Brodsky E.S., Kovalenko A.A., Bastrakov A.I., Kozlova A.A., Pavlov D.S. Characteristics of lipid fractions of larvae of the black soldier fly *Hermetia illucens* // Doklady Biochemistry and Biophysics. 2016. V. 468. P. 209–212.
3. Бастраков А.И., Донцов А.Е., Ушакова Н.А. Муха черная львинка *Hermetia illucens* в условиях искусственного разведения – возобновляемый источник меланин-хитозанового комплекса // Известия Уфимского научного центра РАН. 2016. № 4. С. 77–79.
4. Пономарев С.В., Гамыгин Е.А., Никоноров С.И., Пономарева Е.Н., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России. Астрахань: Новая плюс, 2002. 264 с.

5. Минов В.М., Ковалева И.В., Сучкова И.В. Биохимия пищеварения рыб. Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2005. 28 с.

6. Shahidi F., Synowiecki J. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards // J. of Agricultural and Food Chemistry (American Chemical Society). 1991. V. 39. P. 1527–1532.

7. Кулаченко В.П., Столяров В.П., Корнев Д.А., Столяров А.П. Выращивание тилапии в установках // Сборник статей XIV Международной научно-практической конференции «World science: problems and innovations»: в 2 ч. 2017. С. 62–64.

8. Куракин И.В., Михайличенко Д.В., Пономарев С.В., Федоровых Ю.В., Баканева Ю.М., Мирошникова Е.П. Рецептура кормов для тилапии, выращиваемой в индустриальных условиях // Вестник Оренбургского государственного университета, 2015. № 6 (181). С. 49–56.

References

1. Kiyashko V.V., Gurkina O.A., Klimenko A.A., Golubeva N.Yu. Tilapia as an object of industrial aquaculture. Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Sovremennye problemy zhivotnovodstva v usloviyakh innovatsionnogo razvitiya otrasli» (March 23, 2017, Lesnikovo). Kurgan, Kurganskaya GSA im. T.S. Maltseva, 2017, pp. 84–87.
2. Ushakova N.A., Brodsky E.S., Kovalenko A.A., Bastrakov A.I., Kozlova A.A., Pavlov D.S. Characteristics of lipid fractions of larvae of the black soldier fly *Hermetia illucens*. Doklady Biochemistry and Biophysics, 2016, vol. 468, pp. 209–212.
3. Bastrakov A.I., Dontsov A.E. Ushakova N.A. Black soldier fly *Hermetia illucens* under *in vitro* breeding as a renewable source of melanin-chitosan complex. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2016, no. 4, pp. 77–79.
4. Ponomarev S.V., Gamygin E.A., Nikonorov S.I., Ponomareva E.N., Grozesku Yu.N., Bakhareva A.A. Technologies for breeding and feeding aquaculture objects in southern Russia. Astrakhan, Nova plus, 2002. 264 p.
5. Minov V.M., Kovaleva I.V., Suchkova I.V. Fish digestion biochemistry. Gorki, Belorusskaya gosudarstvennaya selskokhozyaystvennaya akademiya, 2005. 28 p.
6. Shahidi F., Synowiecki J. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. Journal of Agricultural and Food Chemistry (American Chemical Society), 1991, vol. 39, pp. 1527–1532.
7. Kulachenko V.P., Stolyarov V.P., Korenev D.A., Stolyarov A.P. Breeding tilapia in aquaponics. Sbornik statey XIV Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii "World Science:

Problems and Innovations". In 2 parts. (October 30, 2017, Penza). Nauka i prosveshchenie, 2017, pp. 62–64.

8. Kurakin I.V., Mikhaylichenko D.V., Ponomarev S.V., Fedorovykh Yu.V., Bakaneva Yu.M.,

Miroshnikova E.P. Feed formula for tilapia grown under industrial conditions. Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta, 2015, no. 6 (181), pp. 49–56.



USING PROTEIN AND CHITIN CONCENTRATE OF BLACK SOLDIER FLY LARVAE (*HERMETIA ILLUCENS*) IN OMNIVOROUS FISH FEEDING: A CASE STUDY OF RED TILAPIA

© N.A. Ushakova¹, S.V. Ponomarev², Y.V. Fedorovykh², A.I. Bastrakov¹

¹Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, 33, Leninswky prospekt, 119071, Moscow, Russian Federation

²Innovation Centre "Bioaquapark – Scientific and Technical Centre of Aquaculture", Astrakhan State Technical University, 16, ulitsa Tatishcheva, 414056, Astrakhan, Russian Federation

The biomass of *Hermetia illucens* larvae was obtained by growing insects under laboratory conditions on the ecologically clean grain-based substrate. The protein and chitin concentrate was produced via partial degreasing of dry larvae using direct pressing. The resulting product contained 53.4% of crude protein, 18.3% of chitin and 5.1% of crude fat. The test feed was prepared by wet pressing at low pressure. In doing so, the protein concentrate with larval chitin was substituted for 100% of fishmeal. The test feed contained 14% less protein and 8.4% less fat than the reference sample and included 8.24% of chitin. The reference feed contained 45% of fishmeal. The experimental and control groups of red tilapia juveniles (a hybrid of albino females of the *Oreochromis mossambicus* and males of the *O. niloticus* tilapia species) were grown in 400 litre fish tanks with artificial aeration, filtration and heating. Each tank contained 50 individuals. Fish were fed 3–4 times a day. The impact of the feed on the raised fish was assessed using a set of biological, physiological and biochemical indicators: weight at the end and at the beginning of the experiment, absolute and average daily weight gain, coefficient of mass accumulation, feed coefficient and blood biochemical parameters. The results of fish breeding showed no statistically significant differences in the parameters under investigation between the control and experimental groups. The revealed efficiency of raising young red tilapia with the feed that contains more than 8% of chitin testifies indirectly to possible digestion of chitin enabling it to enhance the nutritional value of the mixed feed. Thus, the protein and chitin concentrate of *Hermetia illucens* larvae almost completely corresponds to fishmeal according to its nutritional benefits.

Key words: protein and chitin concentrate, *Hermetia illucens* larvae, feeding, red tilapia.