

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

*На правах рукописи*



**БАСТРАКОВ АЛЕКСАНДР ИВАНОВИЧ**

**ОСНОВЫ БИОКОНВЕРСИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
ЛИЧИНОК *HERMETIA ILLUCENS* (L.) (DIPTERA: STRATIOMYIDAE)**

1.5.6. Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2023

Диссертация подготовлена в лаборатории инновационных технологий ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

**Научный руководитель - Ушакова Нина Александровна**

доктор биологических наук

**Официальные оппоненты - Степанов Алексей Львович**

доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, заведующий кафедрой биологии почв

**Варламов Валерий Петрович**

доктор химических наук, профессор, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, заведующий лабораторией инженерии биополимеров

**Егорова Мария Анатольевна**

кандидат биологических наук, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра микробиологии, доцент

Защита диссертации состоится «18» мая 2023 г. в 17:00 часов на заседании диссертационного совета МГУ.015.2 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1 стр. 12, ауд. 389.

Тел. 8(495)939-35-46, почта: [nvkostina@mail.ru](mailto:nvkostina@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/015.2/2474>

Автореферат разослан «14» апреля 2023 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета МГУ.015.2,  
к.б.н.



Н.В. Костина

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

Управление отходами представляет собой одну из актуальных проблем XXI века (Wilson et al., 2015). Наиболее распространенными технологиями управления пулом органических отходов являются компостирование и анаэробное сбраживание (Zurbrugg et al., 2018). Однако значительные количества отходов и длительность процесса компостирования требуют новых подходов к решению данной проблемы. Одним из путей является биотехнологический процесс ускоренной зоомикробной биоконверсии органических субстратов с использованием пищеварительной активности личинок мух. Использование насекомых для переработки органических субстратов является новым, активно развивающимся за последние 20 лет направлением в биотехнологии. Технологии CORS (Conversion of Organic Refuse by Sarcophages), применяемые для утилизации органических отходов, предлагают доступные и экономически эффективные средства переработки (Diener et al., 2009).

Перспективным биодеструктором является муха черная львинка *Hermetia illucens*, личинки которой способны развиваться в массе пищевых и иных органических отходов и питаться ими. Однако процесс биоконверсии за счет пищеварительной деятельности личинок идет в нестерильных условиях, что предполагает личиночно-микробное взаимодействие. Результатом биоконверсии является биомасса личинок, остаточная масса субстрата (зоокомпост) и летучие выделения (эмиссия газов). Применение личинок для биоконверсии органических субстратов расширяет спектр биологических агентов в современной биотехнологии. Биомасса личинок, в свою очередь, является возобновляемым сырьем для последующей переработки в белок, жир, хитин, меланин, биологически активные вещества. Личинки *H. illucens* содержат 30-45% протеина и 25-40% жира, обогащены кальцием, фосфором, железом (Spranghers et al., 2017).

К преимуществам использования личинок львинки также относятся: короткий жизненный цикл, высокая плодовитость, возможность применения в инженерных системах. Указанные особенности позволяют реализовать технологию биопереработки органических субстратов с использованием личинок *H. illucens* в промышленном масштабе. На территории России в настоящее время функционирует несколько промышленных предприятий по выращиванию биомассы личинок на растительных субстратах: ООО Биогенезис (Пензенская область) и ООО Экобелок (Московская область). Наиболее известные мировые компании: Enterafeed (Канада), Protix (Голландия), Agroprotein (Южная Африка) и др.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы является изучение биотехнологических основ биоконверсии органических субстратов с использованием личинок *Hermetia illucens*.

Для достижения цели были поставлены задачи:

1. Исследовать эффективность переработки различных органических субстратов.
2. Оценить влияние факторов внешней среды на процесс переработки субстратов.
3. Оценить массовый баланс и состав газовой фазы при биоконверсии.
4. Изучить свойства образованного зоокомпоста.

**Объектом исследования** послужили: органические субстраты, личиночная стадия мухи *H. illucens*, зоокомпост, парниковые газы.

**Предметом исследования** явился процесс биоконверсии органических субстратов при развитии личинок *H. illucens*.

**Научная новизна работы.** Представлены оригинальные характеристики процесса биоконверсии, полученные при переработке широкого спектра субстратов: эмиссии парниковых газов и аммиака, показатели конверсии субстратов, роли температуры, рН, высоты слоя субстрата и плотность личинок в массе субстрата. Приведен общий баланс масс при биопереработке осадка пищевого производства, пищевых отходов и комбикорма. Показано, что содержание биофильных элементов в зоокомпостах зависит от состава перерабатываемого субстрата. Установлено, что численность энтеробактерий в зоокомпостах ниже, чем в естественных компостах. Впервые показаны антинематодные свойства зоокомпоста. Выявлено, что массовое развитие дрожжей в субстрате при разогреве субстрата выше 43°C является показателем отклонения от нормального состояния личинок с перспективой их гибели.

**Теоретическая и практическая значимость результатов работы.** В работе обобщены данные исследований зоомикробной биоконверсии конкретных органических субстратов и их смесей в присутствии личинок *H. illucens*. Результаты могут быть использованы в практике предприятий по утилизации различных типов отходов, сотрудниками образовательных и научных учреждений при проведении экспериментов по биоконверсии органических субстратов. Представленные данные по эмиссии парниковых газов и аммиака могут быть использованы в сравнительном аспекте при оценке влияния различных технологий утилизации отходов на окружающую среду. С практической точки зрения представляют интерес данные, полученные в результате испытания зоокомпоста, как перспективного средства для оздоровления почв.

**Методология и методы исследования.** В работе использовали общий методологический подход к изучению процесса биоконверсии (Tomberlin et al, 2002; Diener, 2010), оценивали баланс масс, эмиссию газов, роль таких факторов, как температура, рН, плотность личинок в субстрате, высота слоя субстрата. Показатели эффективности биоконверсии субстрата рассчитывали по методике (Diener, 2010; Alvarez, 2012; Waldbauer, 1968; Lalander et al., 2019).

Оценку микробного сообщества зоокомпоста проводили общепризнанными микробиологическими методами.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Процесс биоконверсии субстратов с использованием личинок *H. illucens* по балансу масс включает убыль субстрата, испарение влаги, накопление биомассы личинок, получение зоокомпоста и эмиссию газов – углекислого газа, аммиака, закиси азота и метана.

2. Показатели эффективности биоконверсии значительно варьируют в зависимости от типа субстрата.

3. На процесс биоконверсии оказывают влияние температура, начальная влажность и высота слоя субстрата, плотность личинок в субстрате.

4. Содержание биофильных элементов в зоокомпостах различно, и зависит от состава изначального субстрата.

5. При зоокомпостировании общая численность бактерий и энтеробактерий в субстрате увеличивается, но общая доля энтеробактерий в зоокомпостах ниже, чем в естественных компостах. Массовое развитие дрожжей в субстрате является проявлением температурного стресса личинок и показателем нарушения их кишечного микробиоценоза.

6. При развитии личинок в субстрате, зараженном нематодами, происходит элиминация последних. Полученный зоокомпост обладает нематоцидным действием.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов обеспечивает использование современных методов исследования и многократная повторность экспериментов. Статистические расчёты осуществлялись с помощью программного обеспечения: Microsoft Excel 2018, Statistica 12. Все научные положения и выводы диссертационной работы обеспечены глубокой проработкой литературных данных, согласованностью полученных теоретических и эмпирических результатов. Полученные в ходе исследований результаты вошли в научные статьи, прошедшие редакционную и экспертную проверку при публикации в отечественных и зарубежных изданиях.

Результаты диссертации представлены на российских и международных конференциях: 6-я конференция молодых сотрудников и аспирантов института ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых» (Россия, Москва, 2014), Международный семинар «Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков и инсектариев» (Украина, Черкасы, 2013; Россия, Москва, 2016), XVIII Всероссийское совещание по почвенной зоологии (Россия, Москва, 2018); VI Всероссийская научно-практическая конференция «Инновационные технологии в АПК: теория и практика» (Россия, Москва, 2018); Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Россия, Москва, 2015, 2014, 2019), Insects to Feed the World (Канада, Квебек, 2022).

Получен диплом на конкурсе молодых ученых за лучшую научно-исследовательскую работу: «Высокоэффективная биоконверсия органических субстратов личинками черной львинки *H. illucens* на международной научно-практической конференции «Биотехнология и качество жизни» (Москва, 2014). Получена золотая медаль на конкурсе молодых ученых на 9-м Международном форуме РосБиоТех за работу: «Получение биомассы личинок мухи черная львинка *H. illucens* на органических субстратах, переработка в кормовой продукт и введение в состав комплексного пробиотического препарата» (Москва, 2015).

**Личный вклад автора.** Личный вклад автора заключается в выполнении основного объема теоретических и экспериментальных исследований, представленных в работе: анализе литературных данных, планировании и проведении экспериментов, обработке полученных данных, подготовке патентов, публикаций и докладов на научных конференциях.

**Структура и объем диссертации.** Работа состоит из следующих разделов: «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Работа изложена на 164 страницах, содержит 60 рисунков и 11 таблиц. Список литературы включает 183 литературных источников, в том числе 164 иностранных.

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 13 научных работ, включая 3 статьи в журналах, индексируемых в базах данных WoS, SCOPUS и RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова, 4 статьи в РИНЦ, получено 6 патентов РФ.

**Благодарности.** Автор выражает благодарность научному руководителю заведующей лабораторией инновационных технологий ИПЭЭ РАН д.б.н. Н.А. Ушаковой; с.н.с. лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии ИПЭЭ РАН к.б.н. Л.Б. Рыбалову; генеральному директору ООО Биогенезис И.В. Соколову; заместителю директора по науке ИПЭЭ РАН, заведующему лабораторией экологических функций почв, профессору РАН, д.б.н. К.Б. Гонгальскому; ведущим инженерам лаборатории инновационных технологий ИПЭЭ РАН А.А. Козловой и Е.А. Левенко; сотрудникам лаборатории экологии, физиологии и функциональной морфологии высших позвоночных ИПЭЭ РАН к.б.н. М. В. Вечерскому и к.б.н. Т.А. Кузнецовой; доценту кафедры биологии почв МГУ к.б.н. Н.В. Костиной; студентке - дипломнице кафедры биологии почв МГУ Ерохиной К.А.; сотрудникам лаборатории фитопаразитологии Центра паразитологии ИПЭЭ РАН д.б.н. С.В. Зиновьевой и к.б.н. Ж.В. Удаловой.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Введение.** Во введении обосновывается актуальность темы исследования и степень ее разработанности. Формулируются цель и задачи исследования.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы проведен анализ литературных источников по основным направлениям изучения процесса биоконверсии субстратов с помощью личинок *H. illucens*. Дана характеристика вида, кратко рассмотрена история становления нового направления биотехнологии – деструкции отходов с помощью насекомых (Diener 2010; Lalander et al., 2019; Barragan-Fonseca et al., 2017). Рассмотрено влияние различных факторов окружающей среды на эффективность процесса переработки различных кормовых субстратов (Bale et al., 2002; Tomberlin et al., 2009; Cheng et al., 2017; Tomberlin et al., 2002; Diener et al., 2009; Alattar, 2012). Приведена информация о влиянии продукта переработки – зоокомпоста на урожайность различных сельскохозяйственных культур и оценен потенциал его применения в качестве средства для оздоровления почв (Lalander et al., 2015; Ooninx et al., 2015). Сопоставлен вклад в процесс эмиссии парниковых газов изученного способа биоконверсии и традиционных методов управления отходами (Ooninx et al., 2010; Lalander et al., 2018).

Процесс зоомикробной биоконверсии субстратов можно разделить на составляющие, представленные на рис.1.



Рисунок 1. Составляющие зоомикробной биоконверсии органических субстратов.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культура *H. illucens* поддерживается в лаборатории инновационных технологий ИПЭЭ РАН с 2013 г. Взрослых мух содержали в садках размером 50×50×50 см (Д×Ш×В) (1/8 м<sup>3</sup>) при температуре 26-28 °С и влажности воздуха 50-70%. Личинок при лабораторных исследованиях культивировали на комбикорме для цыплят. В экспериментах по биоконверсии использовали пластиковые контейнеры с 1,0 кг субстрата (ВВ) и заселяли личинками 2-3 возраста (8-10 суток) в плотности 2,5-8,0 экз./см<sup>2</sup>. Продолжительность биоконверсии составляла 6-15 суток. Повторность – 5-кратная.

Оценивали показатели: убыль массы субстрата, продолжительность биоконверсии, динамику роста личинок, общий выход личинок с единицы влажного субстрата (FCR). Проводили измерение температуры, влажности, и кислотности субстрата стандартными методами (Diener, 2010; Alvarez, 2012; Waldbauer, 1968; Lalander et al., 2019).

Исследование эмиссии парниковых газов и аммиака проводили на примере 2-х субстратов: смеси пищевых отходов и осадка, образующегося в результате очистки хозяйственно-бытовых и смешанных сточных вод пищевого производства. Продолжительность эксперимента составляла 8 суток. Было проведено 8 измерений эмиссии газов и рассчитан баланс масс. Содержание CO<sub>2</sub> в составе газовой фазы определяли при помощи инфракрасного газоанализатора (EGM-5), подключённого к стационарной системе микрокосмов. Измерения осуществлялись в потоке. Эмиссию закиси азота и метана измеряли на газовом хроматографе (Кристалл 2000), а аммиака – калориметрически (Leki SS 1207).

Нематоцидную активность зоокомпоста оценивали на примере картофельного субстрата, который был заражен сапробиотическими и паразитическими нематодами. После периода биоконверсии проводили оценку жизнеспособности нематод. Оценка способности зоокомпостов подавлять развитие галловой нематоды проводили на томатах сорта «Гамаюн», зараженных галловой нематодой.

Определение общей численности бактерий и энтеробактерий в зоокомпостах проводили методом посева на твердые питательные среды в соответствии с общепринятыми методиками (Методы..., 1991). Для идентификации дрожжей применяли MALDI-TOF-масс-спектрометрию в сочетании с комплексом стандартных бактериологических тестов.

Первичную обработку данных осуществляли в программном пакете Excel 2016. Отличия между вариантами высчитывали с помощью одно- и двух факторного дисперсионного анализа (Anova) в программе Statistica 12. Парные сравнения проводили методом Тьюки (Tukey's test). Для группировки кормовых субстратов по разным признакам применяли кластерный анализ (метод Ворда, мера сходства: эвклидово расстояние). Для оценки влияния различных



параметров друг на друга применяли корреляционный анализ (корреляция Спирмена).

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Биоконверсия различных органических субстратов с использованием личинок *H. illucens*

Личинки *H. illucens* способны перерабатывать широкий спектр органических субстратов. В лабораторных исследованиях рационами для выращивания личинок служила диета Генсевилля, состоящая из 50% пшеничных отрубей, 30% люцерны и 20% кукурузной муки, а также комбикорм для цыплят. В качестве субстратов для биоконверсии в работе изучены отходы производств, различные виды растительного сырья, их смеси и специализированные лабораторные среды (табл. 1).

Таблица 1. Субстраты, использованные для биоконверсии

Субстраты на основе отходов производств	Зерновые субстраты	Лабораторные субстраты
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Спиртовая барда</li> <li>• Пивная дробина</li> <li>• Подсолнечный шрот</li> <li>• Кукурузный отход (неликвид)</li> <li>• Дрожжевой осадок</li> <li>• Пищевые отходы</li> <li>• Фруктово-овощные отходы</li> <li>• Коммунальный ил</li> <li>• Осадок пищевого производства</li> <li>• Яблочный жом</li> <li>• Отруби пшеничные</li> <li>• Свекловичный жом</li> <li>• Пшеничная солома</li> <li>• Рисовая солома</li> <li>• Подстилочный куриный помет</li> <li>• Свиной навоз</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Пшеница</li> <li>• Рожь</li> <li>• Ячмень</li> <li>• Овес</li> <li>• Кукуруза</li> <li>• Горох</li> <li>• Сорго</li> <li>• Гречка</li> <li>• Продел</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Смесь 1 (80% пищевые отходы + 20% отруби)</li> <li>• Смесь 2 (60% овощи + 20% кукуруза + 10% отруби + 5% кормовые дрожжи)</li> <li>• Комбикорм для цыплят</li> <li>• Диета Генсевилля</li> </ul>

Оценивали эффективность процесса биоконверсии указанных субстратов личинками *H. illucens* по продолжительности процесса, накоплению биомассы личинок, конверсии субстратов.

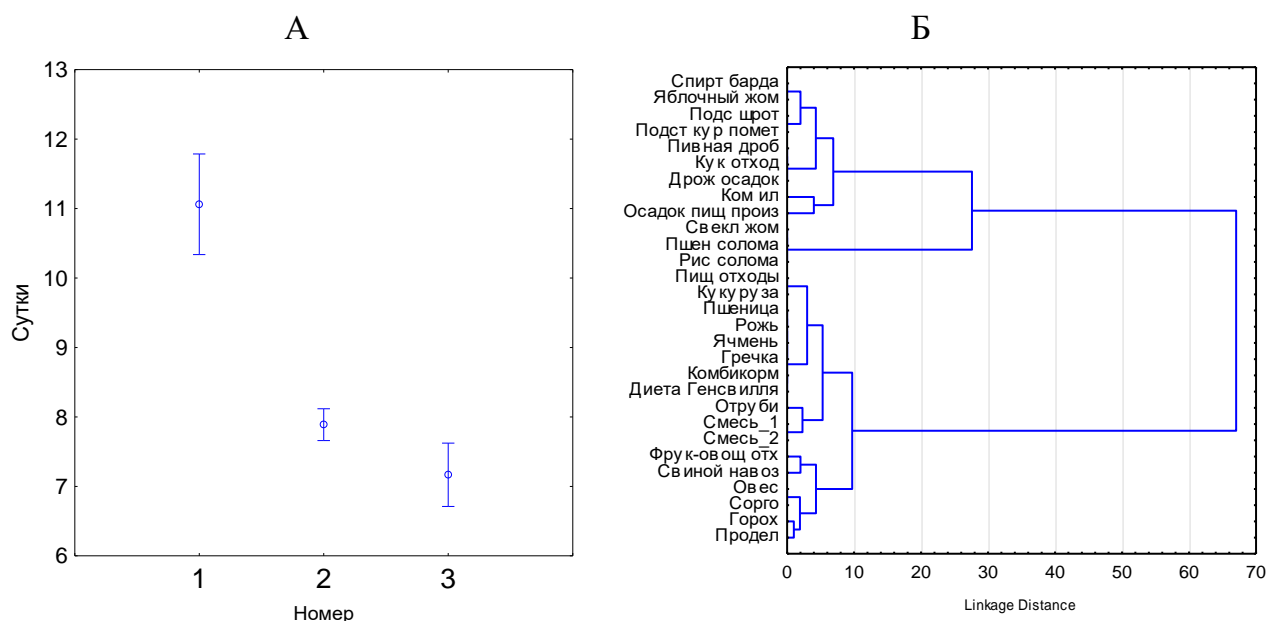


Рисунок 2. Продолжительность биоконверсии различных групп субстратов (А) и их кластеризация (Б). Примечание (здесь и на рис. 3-4): 1 – отходы производств; 2 – зерновые; 3 – лабораторные субстраты.

По продолжительности переработки между группами субстратов были выявлены существенные отличия (рис. 2А). Наибольший период биоконверсии имели субстраты на основе отходов производств: пшеничная и рисовая соломы, свекловичный жом и др. ( $F=34,52$ ;  $P \leq 0,001$ ). Субстраты на основе зерновых и лабораторные смеси для выращивания личинок имели существенно более короткие сроки биоконверсии – около 7 суток, и достоверных отличий не имели.

По продолжительности биоконверсии (рис. 2Б) изученные субстраты разделились на 2 кластера. Верхний кластер со средним сроком биоконверсии  $11 \pm 0,87$  суток. К данной группе субстратов относились спиртовая барда, яблочный жом, подсолнечный шрот, куриный помет, пивная дробина, дрожжевой осадок, коммунальный ил, осадок пищевого производства. В нижний кластер вошли субстраты, средний срок биоконверсии которых составлял около  $7,8 \pm 0,77$  суток. В него вошли лабораторные смеси, зерновые и некоторые отходы производств.

По показателю накопления биомассы личинок (рис. 3А) все группы субстратов достоверно отличались ( $F=56,98$ ;  $P \leq 0,001$ ). Субстраты образовали два больших кластера (рис. 3Б). Верхний из них был поделен на два подкластера, включающих субстраты с низким выходом биомассы. Нижний кластер включал в себя субстраты с показателем выхода биомассы около  $21,8 \pm 2,49\%$ .

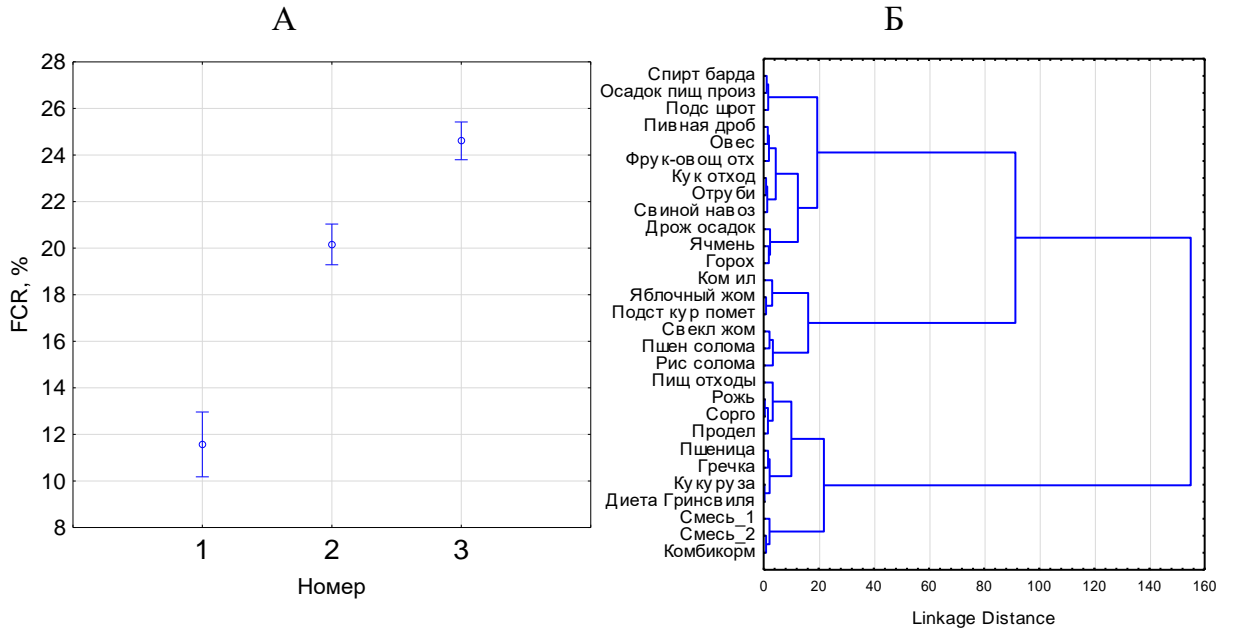


Рисунок 3. Накопление биомассы личинок при биоконверсии различных групп субстратов (А) и их кластеризация (Б).

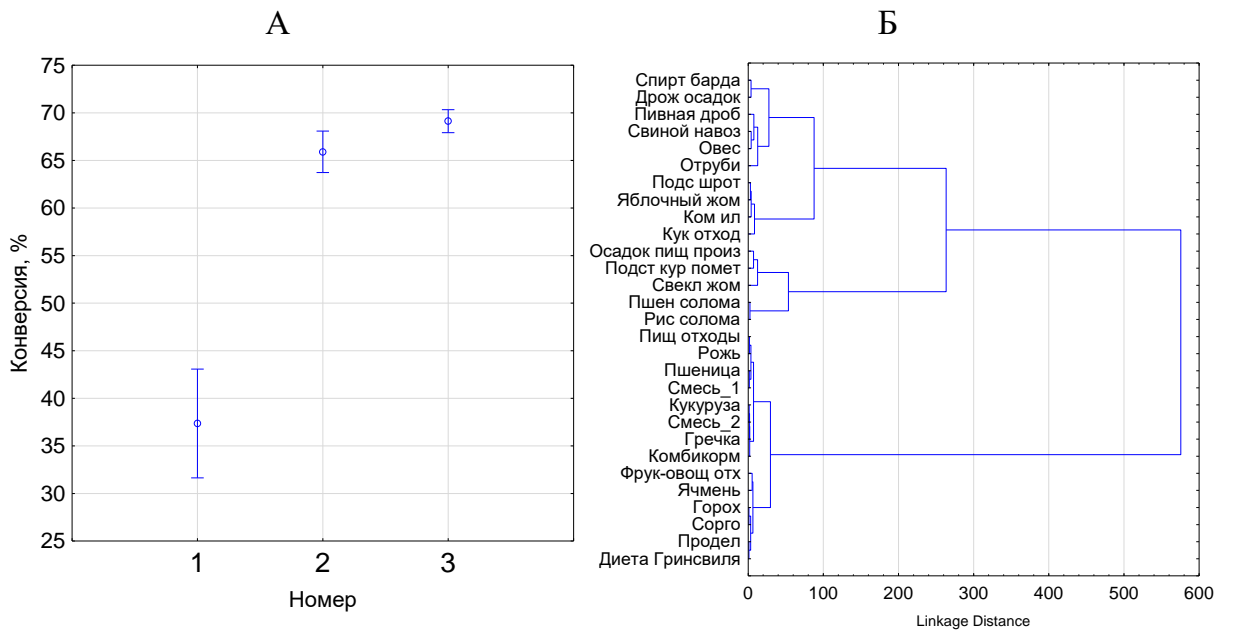


Рисунок 4. Конверсия различных субстратов (А) и их кластеризация (Б).

Самым низким показателем конверсии (рис. 4А) отличались субстраты, принадлежащие к группе отходов различных производств ( $F= 54,16; P \leq 0,001$ ). Зерновые субстраты и специализированные субстраты для выращивания личинок имели более высокий показатель конверсии и достоверных отличий не

имели. Верхний кластер состоял из субстратов со средним показателем конверсии  $27,4 \pm 15,09\%$  (рис. 4Б). В первый его подкластер были включены высокоцеллюлозные субстраты со средним показателем конверсии  $7,8 \pm 6,36\%$ : так и прочие относящиеся к группе отходов пищевых производств со средним показателем конверсии  $34,8 \pm 9,32\%$ . В нижний кластер были включены субстраты со средним показателем конверсии  $64,8 \pm 6,73\%$ .

Конверсия субстрата была в значительной степени связана со сроком переработки ( $r = -0,94$ ;  $P \leq 0,001$ ). С увеличением продолжительности процесса переработки наблюдалось достоверное снижение показателя конверсии субстрата. С увеличением сроков переработки, показатель биомассы личинок снижался ( $r = -0,91$ ;  $P \leq 0,001$ ). С увеличением показателя конверсии субстрата выход биомассы увеличивался ( $r = 0,93$ ;  $P \leq 0,001$ ).

### 3.3. Влияние факторов внешней среды на процесс биоконверсии

При переработке разных видов субстратов отмечены различия температурных параметров процесса. Например, при переработке комбикорма наблюдалось постепенное повышение температуры без ярко выраженных пиков (рис. 5). Максимальная температура при этом составляла на 6-е сутки не более  $35,6^\circ\text{C}$ . Затем к 10 суткам температура приближалась к показателям внешней среды. Температурные кривые с выраженными температурными пиками можно наблюдать при переработке зерновых и фруктово-овощной смеси на 6 и 4 сутки, соответственно. Температура повышалась до  $47-48^\circ\text{C}$ , что находится на грани верхнего порога жизнедеятельности личинок.

В табл. 2 представлены данные по выживаемости различных стадий жизненного цикла *H. illucens* при  $28^\circ\text{C}$  и  $35^\circ\text{C}$  в субстрате. Температурный стресс негативно отразился на выживаемости всех исследованных стадий развития *H. illucens*. Суммарная смертность составила более 82%. Микробиологический анализ субстрата, в котором развивались личинки, показал массовое присутствие клеток дрожжей рода *Candida*, что связано с тем, что в кишечнике личинок идет размножение этого микроорганизма, который затем выделяется с экскрементами насекомого в кормовой субстрат (рис. 6). Из кишечника личинок (при предположительно температурном стрессе) выделен и

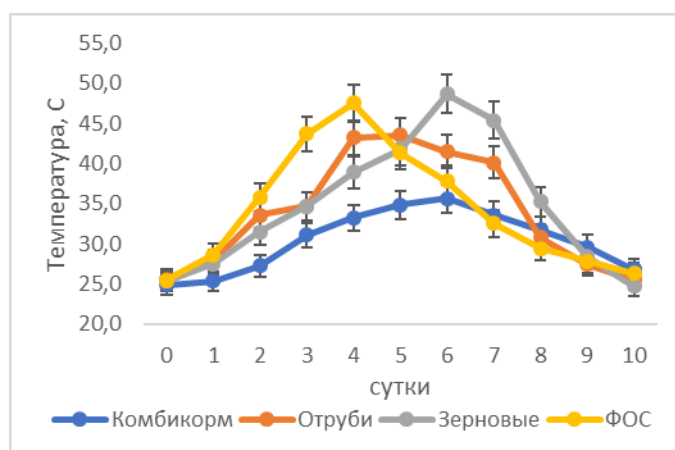


Рисунок 5. Температура субстратов при биоконверсии.

идентифицирован *Candida pararugosa*. Концентрация клеток *C. pararugosa* в личинках составила  $4 \times 10^8$  КОЕ/г.

Таблица 2. Показатели индивидуальной массы и смертности отдельных стадий развития *H. illucens* при разных температурных режимах

Режим	Личинка		Куколка		Имаго	Общая смертность, %
	Инд масса, мг	Смертность, %	Инд масса, мг	Смертность, %	Кол-во, экз	
T 28°C	208,3±26,4	1,4±0,6	184,4±24,3	3,2±0,3	956,9±84,6	4,4±0,5
T 35°C	176,6±11,4	18±1,6	136,5±17,6	64,5±8,9	179,3±12,7	82,1±9,4

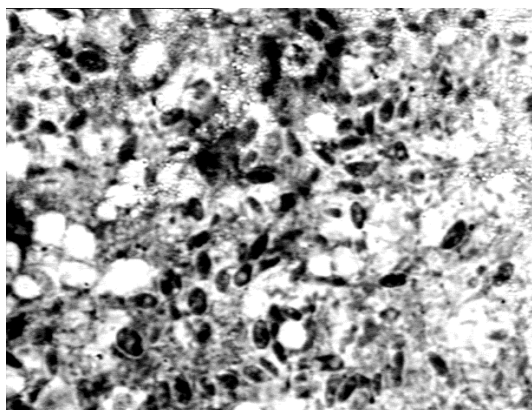


Рисунок 6. Мазок кормового субстрата при температурном стрессе личинок. Окраска генцианвиолетом. Увеличение x1000.

Изучена динамика влажности в процессе биоконверсии на примере пшеничных отрубей в качестве субстрата (рис. 7). Во всех вариантах в процессе биоконверсии наблюдалось постепенное снижение уровня влажности пшеничных отрубей. Кроме того, уровень начальной влажности оказал влияние на продолжительность процесса переработки. Меньший срок конверсии был при 60-64% влажности субстрата. От уровня начальной влажности субстрата также зависела влажность зоокомпоста, образованного после завершения процесса биоконверсии.

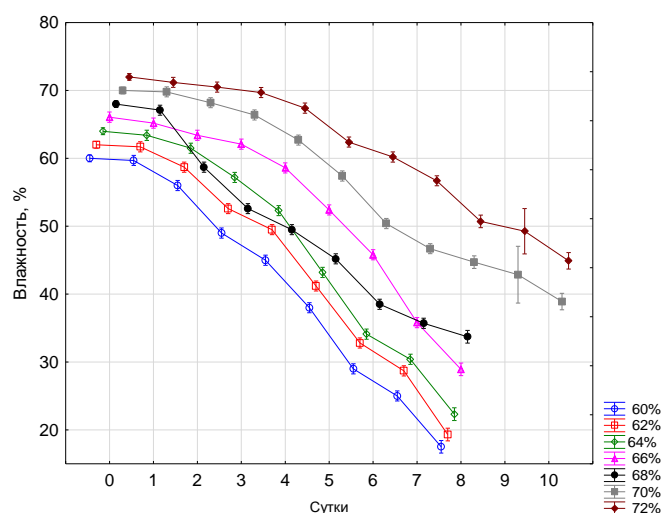


Рисунок 7. Динамика влажности субстрата в процессе биоконверсии личинками *H. illucens*.

На рис. 8 представлены результаты измерения pH в процессе биоконверсии опытных субстратов с участием личинок при различном начальном уровне кислотности. В процессе биоконверсии происходило постепенное защелачивание субстрата. На субстратах с начальной кислотностью, близкой к нейтральной (pH=7), процесс защелачивания продолжается более интенсивно и к концу срока переработки достигал 8,6-8,8 ед.

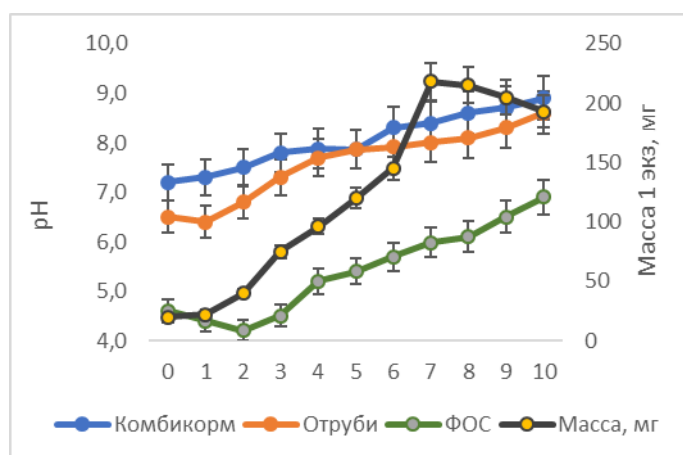


Рисунок 8. Динамика pH в процессе биоконверсии субстратов

На кислых субстратах (pH≤6) наблюдалось некоторое снижение pH в первые сроки эксперимента. Данное повышение кислотности вероятно вызвано бактериальным брожением при незначительном развитии личинок. Начиная с 3-4х суток наблюдается защелачивание субстрата на фоне интенсивного роста личинок (рис. 8 – черная кривая по вспомогательной оси).

На рис. 9 представлено измерение динамики высоты слоя субстратов с различной насыпной плотностью: комбикорма для цыплят бройлеров и пшеничных отрубей. При переработке обоих субстратов наблюдалось снижение высоты слоя в середине цикла переработки за счет редукции кормового субстрата бактериями и личинками. Далее наблюдалось увеличение слоя субстрата за счет активного набора массы личинок, а к концу эксперимента вновь отмечалось снижение слоя субстрата за счет редукции массы субстрата.

В табл. 3 приведены данные, полученные при переработке субстратов при разной начальной высоте слоя. При высоте слоя субстрата 6-14 см достоверной разницы по индивидуальной массе личинок выявлено не было.

Наблюдалась зависимость сокращения показателя выхода биомассы ( $r=0,93$ ;  $P \leq 0,001$ ) с увеличением высоты слоя

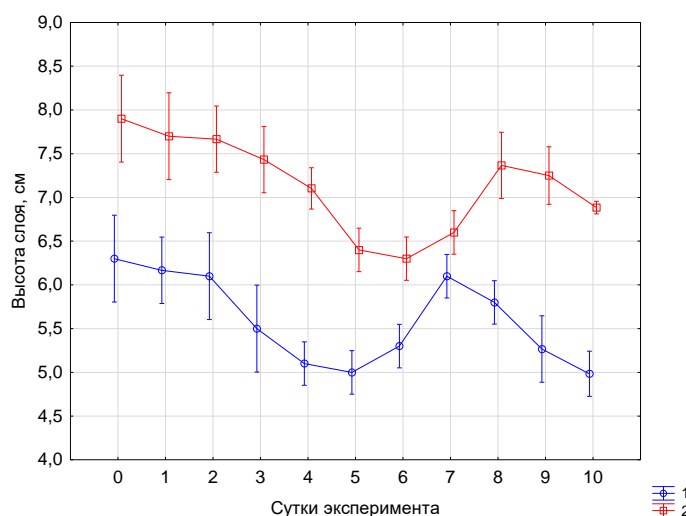


Рисунок 9. Динамика высоты слоя субстратов в процессе биоконверсии (А).

субстрата.

Таблица 3. Биоконверсия при разной начальной высоте слоя субстрата

Высота слоя	Инд масса, мг	FCR, %	Сутки переработки, сут	Конверсия, %
6	186,2±5,2	23,3±0,6	6,3±0,5	71,9±4,6
8	188,3±3,9	17,1±0,4	7,7±0,4	68,8±5,6
10	182,6±4,2	14,1±0,3	9,3±0,7	64,2±3,2
12	179,2±9,1	11,2±0,6	11,3±0,6	51,9±2,9
14	182,3±4,1	9,6±0,2	13,4±0,8	46,4±2,1

Эффективность переработки субстрата при увеличении его слоя существенно снижалась ( $r=0,97$ ;  $P \leq 0,001$ ), а срок переработки увеличивался.

Плотность личинок в субстрате является еще одним важным параметром процесса биоконверсии.

В качестве модельного субстрата был взят комбикорм для цыплят, который был заселен личинками в плотности 2,5 - 8 экз/см<sup>2</sup>.

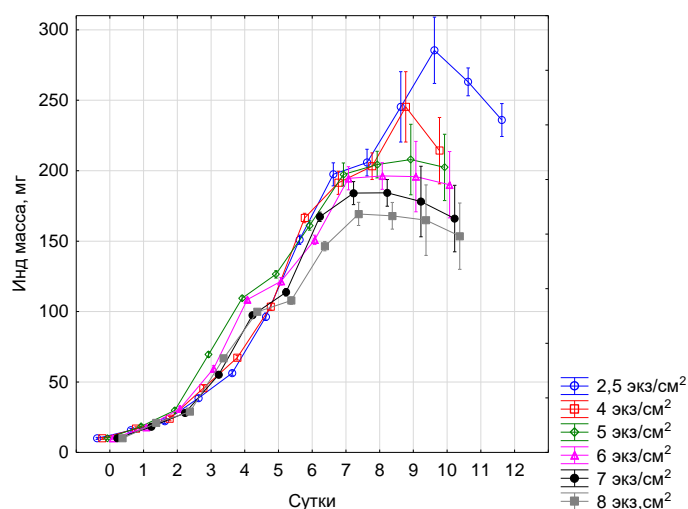


Рисунок 10. Динамика индивидуальной массы личинок при разной плотности посадки экз/см<sup>2</sup>.

Таблица 4. Средние показатели процесса биоконверсии комбикорма при разных начальных плотностях личинок в субстрате

Плотность, экз/см <sup>2</sup>	Срок, сут	FCR, %	Средн. темп., °С	Инд. масса личинки, мг	Конверсия субстрата, %	Влажность зоокомпост а, %
2,5	12	14,1±0,3	29,5±0,7	281,2±6,3	66,8±0,3	51,5±0,9
4	10	18,7±0,9	31,7±0,5	234,2±11,6	67,9±0,5	46,4±1,1
5	9	20,7±0,2	33,3±0,5	206,6±1,9	69,3±0,9	41,7±0,9
6	9	23,3±0,3	34,0±0,3	194,2±2,4	69,9±0,5	37,5±1,1
7	8	25,6±0,2	35,2±0,7	183,2±1,7	71,3±0,7	33,1±0,4
8	7	26,8±0,4	37,1±0,3	167,8±2,2	72,3±0,3	29,6±1,1

На рис. 10 представлены кривые накопления массы личинок при разной плотности посадки. С увеличением плотности посадки личинок сокращались: срок переработки субстрата, индивидуальная масса личинок и влажность

зоокомпоста. Но при этом повышались: показатель выхода биомассы, средняя температура, конверсия субстрата (табл. 4).

### 3.4. Эмиссия парниковых газов, аммиака и баланс массы субстратов при биоконверсии с личинками *H. illucens*

Эмиссию парниковых газов (углекислый газ, закись азота, метан) и аммиака определяли на примере 2-х субстратов: осадка пищевого производства (ОПП) и пищевых отходов (ПО). На рис. 11 представлена эмиссия  $\text{CO}_2$  в процессе эксперимента.

Показано, что уровень эмиссии  $\text{CO}_2$  зависит от вида субстрата и уровня микробной активности. На смеси пищевых отходов микробная активность была значительно выше, чем на ОПП, что говорит о наличии в составе субстрата легко доступных соединений. В результате уровень микробного дыхания субстрата значительно возрастал.

По динамике эмиссии углекислого газа в процессе эксперимента при биоконверсии обоих субстратов прослеживаются схожие тенденции: резкое увеличение эмиссии с 5-6 суток эксперимента и пик – к его завершению. Это согласуется с динамикой накопления массы личинок.

Уровень эмиссии аммиака в процессе переработки зависел от типа органического субстрата, но динамика процесса была сходной: резкое увеличение с 4-5 суток до 8 суток эксперимента (рис. 12).

При использовании личинок суммарная эмиссия аммиака значительно увеличивалась, что согласуется с динамикой роста личинок в процессе эксперимента.

На рис. 13 представлена эмиссия закиси азота в процессе эксперимента. Данный показатель также зависел от типа органического субстрата.

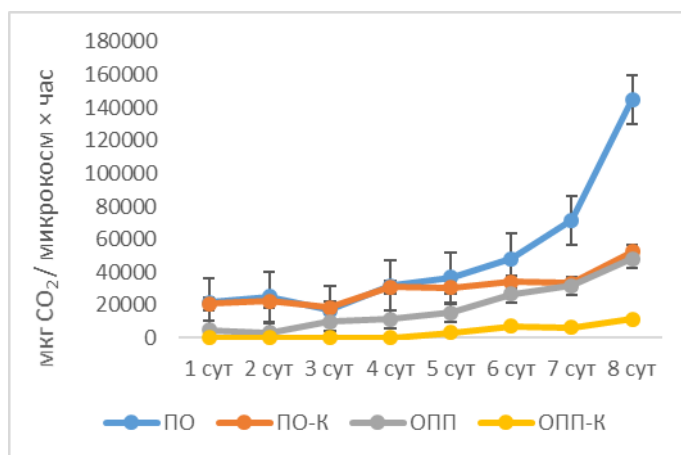


Рисунок 11. Динамика эмиссии углекислого газа ( $n=4$ ).

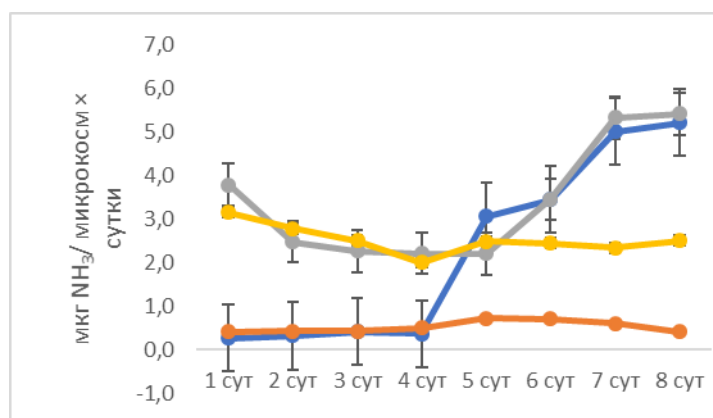


Рисунок 12. Динамика эмиссии аммиака из микрокосмов ( $n=4$ ).



На обоих экспериментальных субстратах наблюдалось снижение эмиссии закиси азота к концу эксперимента. При использовании личинок суммарная эмиссия закиси азота значительно снижалась.

Эмиссия метана в процессе переработки зависела от типа органического субстрата (рис. 14). На обоих субстратах наблюдалось снижение эмиссии метана к концу эксперимента. В вариантах с личинками уровень эмиссии метана был значительно ниже, чем в контрольных вариантах. Что связано с туннельной деятельностью личинок и сведению на нет анаэробных зон. График выделения метана также согласуется с кривыми накопления массы личинок.

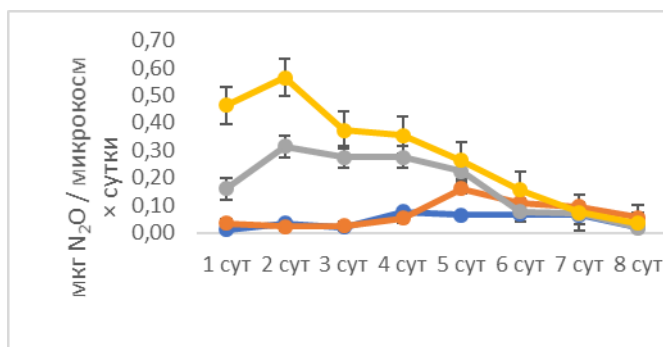


Рисунок 13. Динамика эмиссии закиси азота из микрокосмов (n=4).

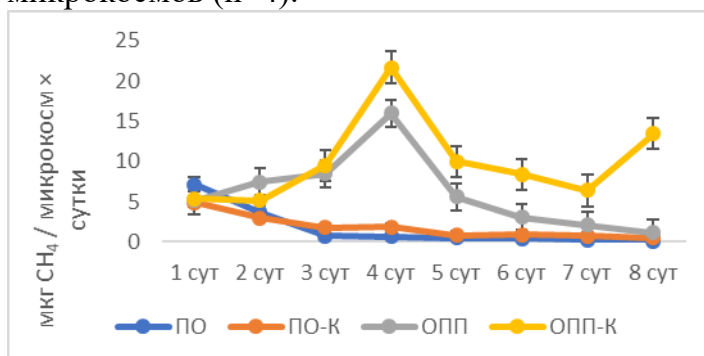


Рисунок 14. Динамика эмиссии метана из микрокосмов (n=4).

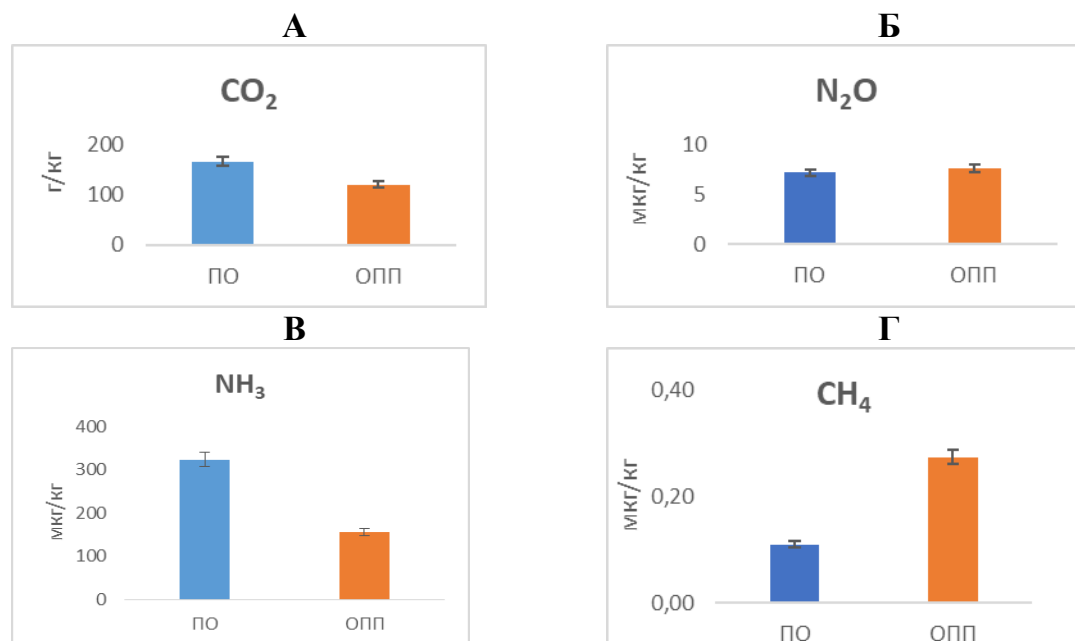


Рисунок 15. Валовая эмиссия парниковых газов и аммиака в процессе биоконверсии. А – углекислый газ; Б – закись азота; В – аммиак; Г – метан.

Суммарная газовая эмиссия парниковых газов и аммиака представлена на рис. 15 (А-Г). 99,9% от всей газовой эмиссии пришлось на углекислый газ – продукт дыхания личинок и микроорганизмов. На втором месте аммиак –

продукт разложения продуктов выделения личинок. Меньше всего в процессе эксперимента было выделено метана. Стоит отметить, что суммарная эмиссия всех представленных газов достоверно зависит от вида органического субстрата.

Показатели баланса массы в процессе переработки связаны с видом органического субстрата. На рис. 16 показан баланс масс 4-х видов субстратов. Показано, что баланс масс зависел от вида органического субстрата.

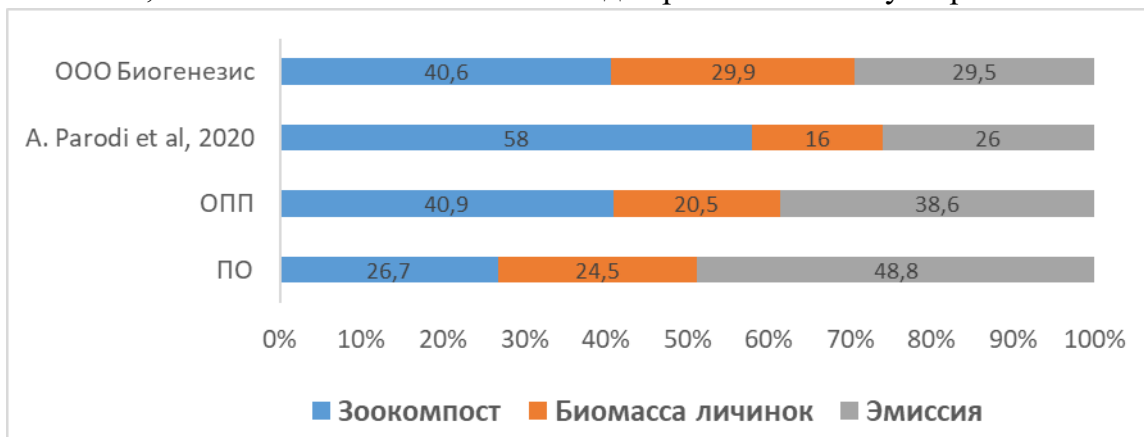


Рисунок 16. Баланс масс субстратов (по СВ) в процессе биоконверсии личинками *H. illucens* (ОПП – осадок пищевого производства; ПО – пищевые отходы; A. Parodi et al., 2020 – пшеничные отруби с мукой; ООО Биогенезис – производственные данные компании «Биогенезис»).

Выход зоокомпоста составил от 27 до 58%. Данный показатель связан с эффективностью переработки: чем ниже выход зоокомпоста, тем выше убыль массы субстрата. Общая эмиссия варьировала от 26 до 49% от начальной массы субстрата по СВ. В биомассу насекомых перешло от 16 до 30%.

По результатам исследований, представленным на схеме (рис. 17), в процессе биоконверсии комбикорма образуется 25,4% биомассы личинок влажностью 67,5% и 16,2% зоокомпоста влажностью 34,5% от начальной влажной массы субстрата. Таким образом редукция массы субстрата составила 69,7% (по СВ), и произошло увеличение биомассы личинок с 0,018 до 0,254 кг (в 14 раз по ВВ). Кроме того, за цикл биоконверсии выделилось в атмосферу 0,165 кг газов (в основном CO<sub>2</sub>) и 0,437 водяных паров. Всего от начальной точки биоконверсии до конечной продукции, в виде высушенной биомассы личинок и зоокомпоста, эмиссия водяных паров, составила 0,646 кг (63,4 % от начальной массы влажного субстрата).



Рисунок 17. Баланс масс при переработке 1 кг комбикорма.

### 3.5. Свойства зоокомпоста личинок *H. illucens*

Зоокомпост включал все биофильные элементы, однако их содержание было различно, и зависело от типа изначального субстрата (табл. 5). Для оценки способа использования его как органического удобрения необходимо получать характеристики зоокомпоста в каждом конкретном случае.

Таблица 5. Содержание валовых и подвижных форм биофильных элементов в зоокомпостах

№	Валовые формы				C/N	Подвижные формы		
	СВ, %					мг/100 г		
	N	P	K	C		N-NH <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
КЗ*	1,5	5,3	2,3	42,1	28,1	1557	772,5	3408
ФОЗ**	2,3	5,3	2,2	41,1	18,3	1545	863	4235
ФОЗ (дрожжи)	1,1	3,5	2,1	41,7	39,5	2293	950	5269

\*КЗ – зоокомпост, полученный на основе картофельного субстрата с отрубями.

\*\* ФОЗ – Зоокомпост на основе фруктово-овощной смеси

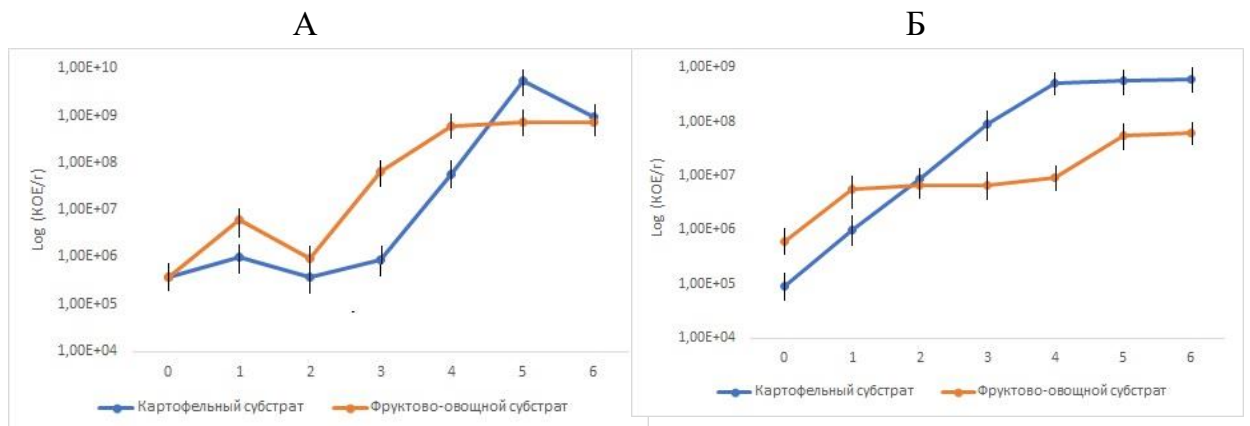


Рисунок 18. Динамика общей численности бактерий при зоомикробной биоконверсии (А) и при естественном компостировании (Б).

В процессе зоокомпостирования общая численность бактерий в субстратах увеличивалась, резко возрастая после третьих суток, и достигая  $6.5 \times 10^9$  КОЕ/г (рис 18 А). При естественном компостировании количество бактерий за такой же период в среднем было в 1,5 – 2 раза ниже (рис. 18 Б).

Динамика численности энтеробактерий была схожа с динамикой сапротрофных бактерий: экспоненциальный рост на протяжении всего периода компостирования с плавным снижением к 6-му дню, но отличалась по количеству КОЕ (рис. 19 А). При обычном компостировании на 6-е сутки численность энтеробактерий в среднем в полтора раза выше, чем при зоокомпостировании (рис. 20 Б).

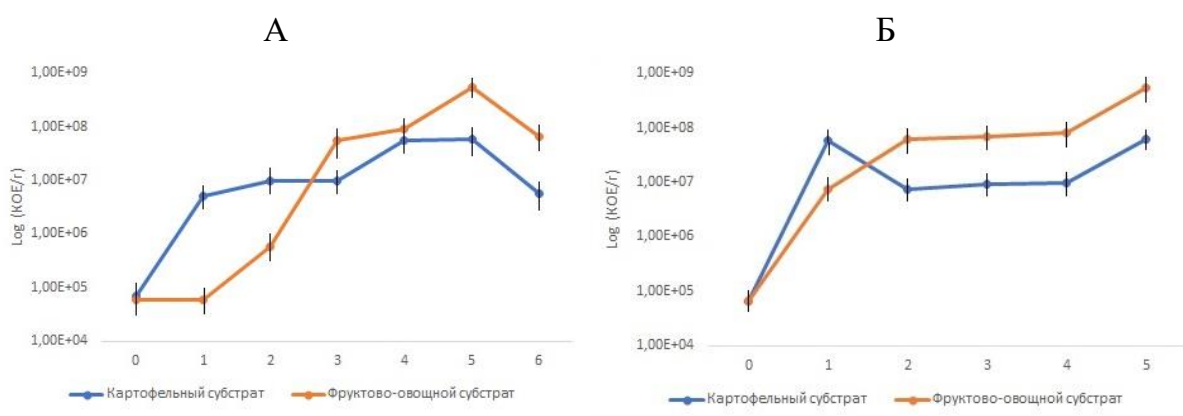


Рисунок 19. Динамика численности энтеробактерий при зоомикробной биоконверсии (А) и при естественном компостировании (Б).

Наименьшая численность бактерий отмечена на картофельном субстрате с максимумом на пятые сутки. При естественном компостировании количество сапротрофных бактерий и кишечных форм примерно равны, в то время как при зоокомпостировании доля энтеробактерий составляет всего от 2 до 30% от общего числа микроорганизмов.

Переработка личинками опытного варианта картофельной смеси, зараженного нематодой, и контрольного варианта, зараженного, но без личинок, проходила в течение 12 суток, спустя которые был проведен анализ жизнеспособности нематод в образованных компостах (табл. 6). В варианте с личинками *H. illucens* было выявлено полное отсутствие фитогельминтов и сапробиотических нематод.

Таблица 6. Количество сапробиотических и фитопаразитических нематод в субстрате на основе картофеля до и после переработки личинками *H. illucens*

Вариант	<i>D. destructor</i> , экз		<i>Rabditis spp</i> , экз	
	0 сут	12 сут	0 сут	12 сут
Личинки	4000±220	-	4000±238	-
Без личинок	4000±218	400±33	4000±95	11000±1213

Зоокомпосты, образованные после переработки личинками фруктово-овощной смеси (ФОЗ) и субстрата на основе картофеля (КЗ), были протестированы в качестве органического удобрения на примере роста и развития томатов. Зоокомпосты добавляли в почвогрунт в количестве 6,5 г на 1 растение. Оценивали способность подавлять развитие галловой нематоды *M. incognita*, которой заражали рассаду томатов сорта «Гамаюн».

#### Результаты

представлены на рис. 20. Заражение нематодой в целом негативно отразилось как на длине стебля ( $F = 55,2$ ;  $P \leq 0,001$ ), так и на массе надземной части ( $F = 13,1$ ;  $P \leq 0,01$ ) растений. Внесение в почвогрунт обоих видов зоокомпоста достоверно повысило показатели массы надземных органов ( $F=80,13$ ;  $P \leq 0,002$ ) по сравнению с зараженным контролем. На длину стебля томатов внесение зоокомпостов не оказало достоверных отличий по сравнению с зараженным контролем. Из двух зоокомпостов лучшие показатели по массе надземных органов отмечены при добавлении зоокомпоста на основе фруктово-овощной смеси (ФОЗ) ( $F=12,1$ ;  $P \leq 0,04$ ).

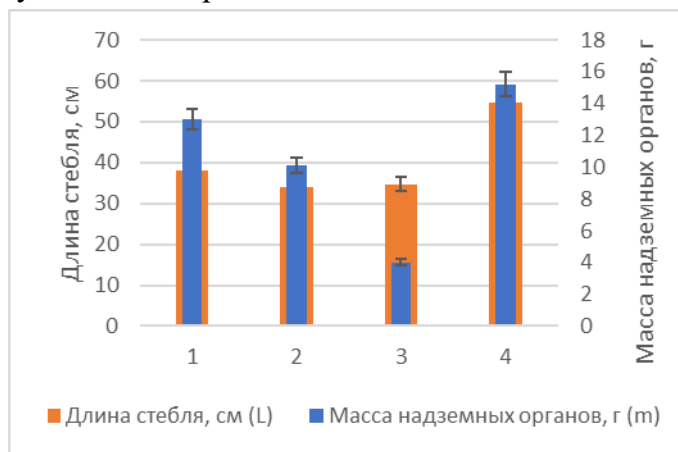


Рисунок 20. Параметры надземной части растений томата. Обозначения: 1 – ФОЗ + *M. incognita*; 2 – КЗ + *M. incognita*; 3 – Контроль зараженный; 4 – Контроль незараженный.

### 3.6. Стадии технологического процесса биоконверсии органических субстратов при участии личинок *H. illucens*.

Биоконверсия субстратов с получением биомассы личинок *H. illucens* включает стадии технологического процесса, представленные на рис.21.

На вспомогательной стадии приготовления субстрата (ВР 1) ингредиенты измельчают и смешивают, доводят до уровня технологической влажности как за счет добавления воды, так и за счет внесения осушающих структураторов. На стадии ТП 1 получают, на стадии ТП 2 выращивают стартовую личинку для посадки в кормовой субстрат. Перед инокуляцией личинок в кормовой субстрат из них формируют навески, которые соответствуют определенной плотности личинок в массе субстрата в биореакторе. На стадии биоконверсии (ТП 3) происходит деструкция органических субстратов, в ходе чего личинки увеличивают свою биомассу и сокращают массу кормового субстрата. Продолжительность стадии переработки составляет 7-14 суток в зависимости от условий и типа кормового субстрата. К концу этапа переработки наблюдается значительное снижение

влажности остатка, что позволяет провести механическое отделение биомассы личинок (ТП 4) от зоокомпоста (ТП 9). Зоокомпост досушивают, а биомассу личинок отправляют на переработку (ТП 8).



Рисунок 21. Технологическая схема биоконверсии органических субстратов и производства биомассы личинок *H. illucens*.

В ходе выполнения консультативных работ для ООО «Биогенезис» были запатентованы различные варианты воспроизведения данной технологии, способ увеличения конверсии субстратов с высоким содержанием целлюлозы путем введения целлюлолитических микроорганизмов, способ получения кормового белково-липидного концентрата из отходов растительного и животного происхождения, а также штабелируемый контейнер-реактор для биоконверсии органических субстратов с вентиляционными отверстиями для газообмена и удаления продуктов метаболизма личинок и микроорганизмов. Совместно с ООО «НТЦ БИО» разработана и запатентована биологически активная кормовая добавка для сельскохозяйственных животных и птицы с пробиотиком и белком насекомых.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате зоомикробной биоконверсии твердых органических субстратов с помощью личинок *H. illucens* происходит превращение значительного количества содержащегося в субстрате углерода в белковую массу личинок, образуется биоактивный зоокомпост и наблюдается существенная газовая эмиссия.

На широком спектре органических субстратов установлено, что показатели эффективности их биоконверсии значительно варьируют. Длительным сроком биопереработки при низком выходе биомассы и невысокой конверсии отличались субстраты на основе отходов производств с высоким содержанием растительных полимеров. Данные виды субстратов без дополнительной обработки не подходят для эффективной переработки по технологии с использованием личинок. Значительно более высокие показатели эффективности биоконверсии можно получить, используя более питательные субстраты. Период биоконверсии большинства представленных субстратов составлял 6-10 суток; выход биомассы – 15-24,5%; убыль массы субстрата – 50-70%. Основным газовым продуктом (исключая водяной пар) являлся углекислый газ, который составлял 99,9% от суммарной эмиссии фиксируемых газов. Химический состав биомассы личинок значительно связан с видом субстрата.

Существенный вклад в эффективность процесса биоконверсии вносят динамика температуры массы субстрата, его начальная влажность, плотность личинок в субстрате, высота слоя субстрата. Эти показатели необходимо контролировать на производстве для обеспечения эффективности процесса.

Соотношение C/N в полученных после завершения биоконверсии зоокомпостах колеблется в широком интервале 18,3 – 39,5. Поэтому возможность использования зоокомпоста в качестве органического удобрения зависит от состава кормового субстрата, в котором развивались личинки, и требует специального изучения в каждом конкретном случае.

При зоомикробном компостировании общая численность бактерий и энтеробактерий увеличивалась в ходе биоконверсии, но затем снижалась за сутки до завершения процесса. При этом общая доля энтеробактерий в зоокомпостах была ниже, чем в естественных компостах, что имеет важное санитарное значение. Зоокомпост, полученный при переработке личинками *H. illucens* органических субстратов, при внесении в почву проявлял оздоровительный эффект, подавляя развитие фитопаразитических нематод.

## ВЫВОДЫ

1. В ходе биоконверсии органических субстратов с участием личинок *H. Illucens* показатель эффективности процесса, баланс массы, уровень эмиссии парниковых газов и аммиака варьируют в зависимости от вида субстрата. На разных субстратах конверсия вещества в биомассу личинок составляет от 16 до 25 %, в зоокомпост – от 27 до 58 %, уровень газовой эмиссии колеблется от 26 до 48 % от начальной массы субстрата (по сухому веществу).
2. Продолжительным периодом биоконверсии наряду (более 15 суток) с низкими показателями конверсии характеризуются субстраты из группы отходов производств с высоким содержанием растительных полимеров.

Зерновые и питательные лабораторные смеси имеют более высокий показатель конверсии.

3. Технология биоконверсии субстратов с помощью личинок является экологически безопасным способом управления органическими субстратами. В процессе биоконверсии эмиссия углекислого газа и аммиака значительно возрастает, а метана и закиси азота – снижается.

4. На процесс биоконверсии с помощью личинок *H. illucens* значительно влияют температурные колебания внутри субстрата, высота слоя, начальный уровень влажности, плотность посадки личинок. Температурный стресс на стадии личинки отрицательно влияет на выживаемость дальнейших стадий жизненного цикла *H. illucens*, вызывает развитие дрожжей рода *Candida* в кишечнике личинок и обогащение дрожжами массы субстрата. Начальный уровень влажности субстрата сказывается на продолжительности биоконверсии, конечной влажности зоокомпоста и динамике температуры. С увеличением плотности личинок в субстрате наблюдается повышение его конверсии, выхода биомассы личинок и сокращение периода биоконверсии при уменьшении индивидуальной массы личинок. С увеличением высоты слоя субстрата сокращаются выход биомассы личинок и конверсия субстрата, а срок переработки – увеличивается.

5. Общая численность бактерий и энтеробактерий увеличивается на начальной стадии зоомикробной биоконверсии исследованных субстратов, а при завершении процесса – снижается. Общая доля энтеробактерий в зоокомпостах ниже, чем в естественных компостах. Содержание биофильных элементов в зоокомпостах различается при развитии личинок на разных типах субстратов. Соотношение C/N колеблется в интервале 18,3 – 39,5.

6. Личинки *H. illucens* и образованный зоокомпост обладают способностью подавлять развитие фитопатогенных нематод. При развитии личинок в процессе биоконверсии субстрата, зараженного нематодами, происходит их полная элиминация. Внесение зоокомпоста в почвогрунт, зараженный галловой нематодой, достоверно повышает показатели массы надземных органов томатов и снижает патогенное воздействие нематоды.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Список статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных WoS, SCOPUS, RSCI:**

1. Ушакова Н.А., Бродский Е.С., Коваленко А.А., **Бастраков А.И.**, Козлова А.А., Павлов Д.С. Особенности липидной фракции личинок чёрной львинки *Hermetia illucens* // Доклады Академии наук. 2016. Т. 468. № 4. С. 462-465. DOI: 10.7868/S0869565216160258 (IF РИНЦ - 0,845, Q3) [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. Т. 468, № 1, P. 209-212. DOI:10.1134/S1607672916030145 (IF WoS - 0,471, Q4; Scopus SJR - 0,202, Q3)].



Вклад автора в печатных листах: (0,5/0,3) (здесь и далее в скобках приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора в печатных листах).

2. Ушакова Н.А., **Бастраков А.И.**, Карагодин В.П., Павлов Д.С. Особенности биоконверсии органических отходов личинками мухи *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae, L, 1758) // Успехи современной биологии. 2018. № 2. Т. 138. С. 172-182. DOI: 10.7868/S0042132418020060 (IF РИНЦ = 0,939) [Ushakova N.A., **Bastrakov A.I.**, Karagodin V.P., Pavlov D.S. Specific Features of Organic Waste Bioconversion by *Hermetia illucens* Fly Larvae (Diptera: Stratiomyidae, Linnaeus, 1758) // Biology Bulletin Reviews. 2018. Vol. 8. № 6. P. 533-541. (DOI: 10.1134/S2079086418060117)]. (1,0/0,5).

3. Ушакова Н.А., Зиновьева С.В., Удалова Ж.В., **Бастраков А.И.**, Бутенко А.И. Биоутилизация органических отходов личинками мухи *Hermetia illucens* и возможность применения образованного зоокомпоста против фитонематод // Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 2. С. 163-169. DOI: 10.25750/1995-4301-2021-2-163-169 (IF РИНЦ = 0.828; IF WoS = 0.12, Q4; IF SJR - 0.326, Q3). (0,7/0,2).

#### Публикации в прочих научных изданиях:

1. **Бастраков А.И.**, Ушакова Н.А., Павлов Д.С. Получение биомассы личинок мухи черная львинка *Hermetia illucens* использование ее как кормовой добавки и в составе комплексного пробиотического препарата для животных // Проектная культура и качество жизни. 2015. № 1. С. 538-547. EDN YTZOLR (РИНЦ) (0,4/0,3).

2. **Бастраков А.И.**, Рыбалов Л.Б., Ушакова Н.А. Влияние пробиотиков в составе кормового субстрата на аминокислотный профиль личинок *Hermetia illucens* // Chemical Bulletin. 2021. Т. 4. № 4. С. 39-47. EDN XUVTCT (IF РИНЦ = 0,062) (0,5/0,4).

3. **Bastrakov A.I.**, Zagorinsky A.A., Kozlova A.A., Ushakova N.A. Production of biomass from plant substrates by *Hermetia illucens* larvae // Journal of Nature Science and Sustainable Technology. 2021. Т. 15. №. 1. С. 23-27 (0,5/0,3).

4. Соколов И., Абалакин И., **Бастраков А.** Свойства кормовых добавок из биомассы личинок в зависимости от субстрата // Комбикорма. 2020. №. 10. С. 41-43. DOI: 10.25741/2413-287X-2020-10-3-120 (IF РИНЦ = 0,432) (0,2/0,1).

#### Патенты:

1. Ушакова Н.А., Павлов Д.С., Правдин В.Г., Кравцова Л.З., **Бастраков А.И.**, Козлова А.А. Способ получения биологически активной кормовой добавки для сельскохозяйственных животных и птицы с пробиотиком и белком насекомых. Патент на изобретение RU 2576200 С1, 27.02.2016. Заявка № 2014150425/13 от 12.12.2014.

2. Бабаев Н.А., **Бастраков А.И.**, Соколов И.В. Способ переработки органических отходов личинками мух *Hermetia illucens* с получением белка

животного происхождения и биогумуса. Патент РФ. Дата приоритета 31.03.2017. RU2017109420А. Дата публикации 17.05.2018. RU2654220С1.

3. Бабаев Н.А., Соколов И.В., Ильин Д.Ю., **Бастраков А.И.** Способ получения белково-липидной биомассы путем выращивания личинок *Hermetia illucens* на целлюлозосодержащих отходах. Патент на изобретение RU 2688315 С1, 21.05.2019. Заявка № 2018127886 от 30.07.2018.

4. Бабаев Н.А., Соколов И.В., Ильин Д.Ю., **Бастраков А.И.**, Абалакин И.Н. Способ получения энтомологической биомассы – сырья для производства кормовых добавок. Патент на изобретение RU 2688470 С1, 21.05.2019. Заявка № 2018143884 от 11.12.2018.

5. Бабаев Н.А., Соколов И.В., Абалакин И.Н., **Бастраков А.И.** Ящик для выращивания энтомологической биомассы. Патент на изобретение RU 123552, 25.01.2021. Заявка № 2020503899 от 26.08.2020.

6. Ильин Д.Ю., Корнеев Д.С., Ильина Г.В., **Бастраков А.И.** Способ переработки целлюлозосодержащих отходов. Патент на изобретение RU 2780463, 23.09.2022. Заявка № 2021123599 от 5.08.2021.