

## 亮斑扁角水虻高附加值产品开发的研究进展

高俏, 刘馨桢, 李逵, 雷朝亮, 朱芬\* (湖北省利用昆虫转化有机废弃物国际科技合作基地, 华中农业大学, 湖北武汉 430070)

**摘要** 亮斑扁角水虻(*Hermetia illucens* Linnaeus), 俗称黑水虻, 幼虫腐食性, 生物量大, 生长周期较短, 在有机废弃物无害化处理中得到广泛应用, 生产的黑水虻可用于提取抗菌肽、提炼生物柴油、加工成昆虫蛋白或提取几丁质和壳聚糖。对以黑水虻为原料高附加值产品开发的研究进展进行了综述, 为黑水虻养殖经济效益更大化提供理论依据。

**关键词** 黑水虻; 抗菌肽; 生物柴油; 昆虫蛋白; 壳聚糖

**中图分类号** S899 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)34-0102-03

### Research Progress in the Development of High Value-added Products of *Hermetia illucens*

GAO Qiao, LIU Xin-hui, LI Kui, ZHU Fen\* et al (Huazhong Agricultural University, Hubei International Cooperation Base for Waste Conversion by Insects, Wuhan, Hubei 430070)

**Abstract** *Hermetia illucens* has been widely used in organic waste harmless treatment with the large biomass and short growth cycle. *Hermetia illucens* can be used to extract antibacterial peptide, biodiesel, processed into insect protein or extraction of chitin and chitosan. The research progress in the development of high value-added products of *Hermetia illucens* was reviewed, to provide a theoretical basis for obtaining greater economic benefits.

**Key words** *Hermetia illucens*; Antimicrobial peptide; Biodiesel; Insect protein; Chitosan

亮斑扁角水虻(*Hermetia illucens* Linnaeus)又名光亮扁角水虻, 俗称黑水虻, 属于双翅目水虻科扁角水虻属。幼虫腐食性, 食量大, 抗逆性强<sup>[1]</sup>。研究表明, 黑水虻可用于畜禽粪便、餐饮垃圾、蔬菜水果垃圾、作物秸秆等的无害化处理<sup>[2-4]</sup>。黑水虻幼虫集中取食粪便后可减少粪便中大肠杆菌及沙门氏菌的数量并有效控制家蝇的滋生<sup>[5-6]</sup>。在有机废弃物无害化处理过程中黑水虻被大量生产出来。笔者对利用黑水虻获得昆虫蛋白、抗菌肽、几丁质、壳聚糖及生物柴油等高附加值产品的研究进行了综述, 以期在黑水虻养殖经济效益评估及有机废弃物-黑水虻-高附加值昆虫产品的一体化生产提供借鉴。

## 1 黑水虻蛋白

黑水虻幼虫体内含有丰富的蛋白<sup>[3]</sup>。许彦腾等<sup>[7]</sup>以黑水虻幼虫为原料, 分别采用碱提法、酶提法、盐提法和 Tris-HCl 缓冲液提法对黑水虻幼虫蛋白质进行提取, 结果发现, 碱提法的提取效率最高, 为 88.49%。碱提法的最佳工艺: 黑水虻幼虫 40℃ 烘干粉碎后, 40℃ 下用索氏提取法去脂 12 h, 去脂部分室温风干, 过 100 目筛得到脱脂粉。1 g 脱脂粉加 22 mL 22.4 g/L NaOH, 53℃ 恒温搅拌提取 2 h, 4 800 r/min 离心 10 min 后得到上清蛋白粗提液。用 1 mol/L HCl 溶液将粗提液 pH 调至 4.8, 4℃ 静置提取 2 h, 4 800 r/min 离心 10 min, 得到蛋白质沉淀。该方法提取的蛋白质经紫外-可见光谱扫描测定, 结果显示仅在 285 nm 处有最大吸收峰, 符合蛋白质溶液在 280 nm 附近有最大吸收峰的规律, 说明所提蛋白质纯度较高。黑水虻蛋白质具有较强的抗氧化活性, 对其总还原能力, 超氧阴离子自由基清除活性, 清除羟基自由

基、DPPH 自由基、ABTS 自由基能力, 整合亚铁离子的能力, 亚油酸体系中抑制过氧化能力等体外抗氧化活性检测表明, 黑水虻蛋白质的抗氧化能力介于卵清白蛋白(OVA)和抗坏血酸(VC)之间<sup>[8]</sup>。

## 2 黑水虻抗菌肽

**2.1 抗菌肽的诱导** 多种方法可诱导黑水虻幼虫产生抗菌肽, 不同方法诱导产生的抗菌肽活性不同, 其中, 大肠杆菌菌液针刺浸泡 60 s, 诱导后饲养 24 h 提取的抗菌肽抑菌活性最高, 其次为 100 W 超声波诱导 20 min 产生的抗菌肽<sup>[9]</sup>。赵启凤<sup>[9]</sup>用蘸有大肠杆菌菌液的针刺试虫再将试虫在菌液中浸泡 60 s, 诱导后饲养 24 h 提取抗菌肽的方法分别诱导黑水虻 2、3、4、5、6 龄幼虫后发现黑水虻抗菌肽粗提物的抗菌活性随着虫龄的增加而增加, 至 5 龄抑菌效果最佳, 6 龄时抑菌能力开始下降。因此, 5 龄可作为黑水虻抗菌肽诱导的最佳时期。

**2.2 抗菌肽的纯化鉴定** 利用高效液相色谱法纯化黑水虻抗菌肽粗提物, 结果表明, 10% 乙腈溶液洗脱第 48、61、78 min 的物质对甲氧西林金黄色葡萄球菌有较强的抑制效果<sup>[10]</sup>。从黑水虻幼虫血淋巴中诱导并纯化抗菌肽 DLP4, 其对革兰氏阳性菌包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有抗菌活性, 与 *Phlebotomus dubosqi* 防御素的相似度为 75%, 在幼虫未发生免疫反应时虫内未检测到 DLP4 基因表达, 一旦发生免疫反应 DLP4 基因在脂肪体中表达量最高<sup>[11]</sup>。夏婧等<sup>[12]</sup>研究表明, 黑水虻抗菌肽粗提物具有良好的热稳定性和反复冻融性, 适宜 pH 为 5~9, 比黄粉虫和小皱褶抗菌肽更耐碱, 但耐酸能力较弱, 室温可存放 96 h。

**2.3 抗菌谱** 黑水虻幼虫生活在动物粪便和腐烂植物等富含细菌和真菌的环境中, 猜测其具有强大的免疫系统用于抵御环境中的细菌和真菌。研究发现, 黑水虻幼虫集中取食粪便后可以减少粪便中大肠杆菌及沙门氏菌的数量<sup>[5]</sup>。Park 等<sup>[10]</sup>发现针刺黑水虻幼虫可诱导黑水虻的免疫反应, 且针刺诱导产生的抗菌肽粗提物与自然产生的抗菌肽相比抗菌

**基金项目** 中英非 AgriTT 挑战基金项目(93211301)。

**作者简介** 高俏(1992-), 女, 湖北益阳人, 硕士研究生, 研究方向: 昆虫多样性与资源化利用。\* 通讯作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事昆虫生理生化及昆虫多样性与资源化利用研究。

**收稿日期** 2016-10-21

活性更强,抗菌谱更广。

甲醇溶液提取的黑水虻幼虫抑菌物质可有效抑制多种革兰氏阴性菌,包括肺炎杆菌(*Klebsiella pneumoniae*)、淋球菌(*Neisseria gonorrhoeae*)和索氏志贺氏菌(*Shigella sonnei*)<sup>[13]</sup>。三氯甲烷溶液提取的黑水虻抗菌肽粗提物对6种革兰氏阳性菌(*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、*Kocuria rhizophila*、*Micrococcus luteus*、*Bacillus subtilis*)、3种革兰氏阴性菌(*Escherichia coli*、*Enterobacter aerogenes*、*Pseudomonas aeruginosa*)以及1种酵母菌(*Candida albicans*)均具有良好的抑制效果<sup>[10]</sup>。

### 3 黑水虻壳聚糖

近年来,有从蚕蛹壳、卤蝇蛆壳、蝇蛆壳、马尾松毛虫蛹壳中提取壳聚糖的研究<sup>[14-18]</sup>,但从黑水虻蛹壳中提取壳聚糖的研究较少。黑水虻蛹壳几丁质含量较丰富<sup>[19]</sup>,几丁质提取率在12.30%~14.27%,制备壳聚糖收率在83.24%~86.31%<sup>[20]</sup>。

高贤涛<sup>[19]</sup>对猪粪饲养的黑水虻蛹壳壳聚糖的提取工艺进行研究,结果表明,30℃下采用1.5 mol/L HCl 浸泡蛹壳4 h可最大程度地去除蛹壳中的无机盐,同时保证壳聚糖无降解,水洗至中性后采用9% NaOH 浸泡蛹壳5 h可最大程度地去除蛹壳中的蛋白质。徐齐云等<sup>[20]</sup>对黑水虻蛹壳中几丁

质的提取和壳聚糖的制备工艺进行了优化,用最佳工艺提取壳聚糖脱乙酰度值为82.24%~83.17%;100 g黑水虻蛹壳加入600 mL 5% HCl 26℃浸泡至不产生气泡,洗涤至中性后60℃烘干6 h,加入12% NaOH 90℃浸泡2 h充分去除蛋白,洗涤至中性后60℃烘干6 h。每2 g干燥后样品置于10 mL 3.6% HCl 溶液中浸泡0.5 h,然后加入40 mL NaClO 溶液在80℃水浴中处理4 h,干燥后得到几丁质。1 g几丁质加入50 mL 40% NaOH 溶液,在90℃水浴锅中反应3 h,水洗至中性,在60℃干燥箱中烘6 h,即得到壳聚糖。

### 4 黑水虻幼虫提炼生物柴油

**4.1 提炼方法** 研究表明,有机废弃物饲养的黑水虻幼虫脂肪含量较高,可用于提炼生物柴油。Li等<sup>[21]</sup>优化了从黑水虻中提取生物柴油的方法,结果表明,黑水虻幼虫烘干磨碎后石油醚浸泡48 h提取粗脂肪→甲醇:粗脂肪=8:1混合,1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 作为催化剂进行酸催化酯化反应75℃反应60 min→过滤取上层清液→甲醇:上层清液=6:1混合,以0.8% NaOH 作为催化剂进行碱催化酯基转移反应65℃水浴30 min→过滤,取上清,80℃蒸馏去除多余甲醛,获得生物柴油。

**4.2 不同饲养基质对黑水虻生物柴油产量的影响** 研究表明,黑水虻以多种基质为食,不同基质饲养的黑水虻体内的油脂含量不同,生物柴油的生产效率也不同(表1)。

表1 生物柴油生产参数

Table 1 Parameter of biodiesel production

饲养基质 Substrate	转化时间//d Time for trans- formation	1 000 头试虫生物量 Biomass of 1 000 individual//g	粗脂肪产量 Crude fat yield//g	生物柴油产量 Biodiesel yield//g	产油率 Biodiesel rate//%	参考文献 Reference
牛粪 Cattle manure	10	127.6	38.2	35.6	27.9	[21]
猪粪 Pig manure	10	207.4	60.4	57.8	27.9	[21]
鸡粪 Chicken manure	10	327.6	98.5	91.4	27.9	[21]
奶牛粪 Dairy manure	10(10日龄—21日龄)	59.0	13.7	13.2	22.3	[22]
水稻秸秆(20%) + 餐饮垃圾(80%) Rice straw + RSW	10(6日龄—16日龄)	122.8	48.6	43.8	35.7	[23]
餐饮垃圾炼油后残渣 SRF	8日龄—预蛹	64.9	25.4	23.6	36.4	[24]
玉米棒 + 猪粪厌氧发酵后残渣 Corn cob + PMRAF	8(6日龄—14日龄)	28.7	6.68	6.34	22.1	[25]

注:1 kg 不同基质饲养1 000头黑水虻。产油率=生物柴油产量/1 000头黑水虻生物量×100%,用秸秆和餐饮垃圾饲养黑水虻时加入了0.34%的细菌Rid-X提高生物柴油的产量。RSW:Restaurant Solid Waste. SRF:solid residual fraction of restaurant waste after typical grease extraction. PMRAF:Pig manure residue after anaerobic fermentation.

Note:1 000 individual black soldier fly fed on 1 kg different substance. Biodiesel rate = biodiesel yield/1 000 individual *Hermetia illucens* biomass × 100%; biodiesel extracted from *Hermetia illucens* fed on straw and restaurant waste was improved by adding 0.34% Rid-X. RSW. Restaurant solid waste; SRF. Solid residual fraction of restaurant waste after typical grease extraction. PMRAF. Pig manure residue after anaerobic fermentation.

**4.3 不同饲养基质对黑水虻生物柴油质量的影响** 研究表明,从不同基质饲养的黑水虻中提取的生物柴油质量不同,但均符合欧盟生物柴油质量标准 EN14214(表2)。

**4.4 提高黑水虻生物柴油产量的方法** Li等<sup>[26]</sup>在黑水虻的饲料中添加葡萄糖和木糖可以提高黑水虻的油脂累积量:在黑水虻人工饲料中添加6%葡萄糖,油脂含量从26.53%增加至34.31%;在黑水虻的人工饲料中添加6%木糖,黑水虻的油脂含量从26.85%增加至34.60%。黑水虻对饲料中添加的葡萄糖和木糖的转化率分别为97.3%和93.8%。因此,在利用黑水虻生产生物柴油时可适量添加葡萄糖和木糖

以提高生物柴油产量。

### 5 展望

该研究通过综述黑水虻蛋白、抗菌肽、壳聚糖、生物柴油4种物质的提取过程等,结果表明,黑水虻体内含有丰富的高附加值活性物质,需要改进方法将其提取出来。另外,抗菌肽提取后的残渣可继续进行生物柴油的提炼,生物柴油提炼剩余的残渣可用于提取昆虫蛋白,通过不断优化调节各物质的提取工艺可以形成黑水虻抗菌肽-生物柴油-昆虫蛋白的高附加值产品生产链,实现黑水虻养殖经济效益的最大化。

表2 不同基质饲养的黑水虻中提取的生物柴油质量参数与欧盟生物柴油质量参数(EN14214)

Table 2 Parameter of quality of biodiesel extracted from black soldier fly fed on 1kg different substance compare to EN14214

参数 Parameters	EN14214 <sup>[21]</sup>	以牛粪、猪粪、鸡粪 为基质饲养的黑水 虻生物柴油 <sup>[21]</sup> Biodiesel extracted from <i>Hermetia illucens</i> fed on cattle manure, pig manure and chick- en manure	以牛粪为基质饲 养的黑水虻生物柴 油 <sup>[22]</sup> Biodiesel extrac- ted from <i>Hermetia il- lucens</i> fed on dairy manure	以餐饮垃圾炼油后残渣 为基质饲养的黑水虻生 物柴油 <sup>[24]</sup> Biodiesel ex- tracted from <i>Hermetia illu- cens</i> fed on solid residual fraction of restaurant waste after typical grease extrac- tion
密度 Density//kg/m <sup>3</sup>	860~900	885	872±0.3	860
40℃下黏度 Viscosity at 40℃//mm <sup>2</sup> /s	1.9~6.0	5.8	4.5±0.01	4.9
含硫量 Sulfur content//wt.%	0.05	—	—	—
酯含量 Ester content//%	96.5	97.2	97.2±1.4	96.9
含水量 Water content//mg/kg	<0.03	0.03	—	0.02
沉淀含量 Sedimentcontent//mg/kg	500	—	300±3.7	—
闪点 Flash point//℃	120	123	121±2.6	128
十六烷指数 Cetane index	48~60	53	—	58
酸值 Acid number//mg KOH/g	<0.8	1.1	0.8±0.2	0.6
甲醇或乙醇含量 Methanol or ethanol content //%(M/M)	0.2	0.3	—	—
蒸馏温度 Vaporizing temperature//℃	—	360	360	360

注:—代表未检测到,空白处代表未报道。

Note:—Stand for no detected,blank stand for no reported.

## 参考文献

- [1] 喻国辉,陈燕红,喻子牛,等.黑水虻幼虫和预蛹的饲料价值研究进展[J].昆虫知识,2009,46(1):41-45.
- [2] LI W,LI Q,ZHENG L Y,et al. Potential biodiesel and biogas production from corn cob by anaerobic fermentation and black soldier fly[J]. Biore-source Technol,2015,194:276-282.
- [3] NGUYEN T T,TOMBERLIN J K,VANLAERHOVEN S. Ability of black soldier fly (Diptera:Stratiomyidae) larvae to recycle food waste[J]. Environ Entomol,2015,44(2):406-410.
- [4] ZHENG L Y,HOU Y F,LI W,et al. Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes[J]. Energy,2012,47(1):225-229.
- [5] ERICKSON M C,ISLAM M,SHEPPARD C,et al. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly[J]. Jood Protect,2004,67(4):685-690.
- [6] SHEPPARD C. House fly and lesser fly control utilizing the black soldier fly in manure management systems for caged laying hens[J]. Environ Entomol,1983,12(5):1439-1442.
- [7] 许彦腾,张建新,宋真真,等.响应面法优化黑水虻幼虫蛋白质提取工艺[J].昆虫学报,2014,57(4):401-410.
- [8] 许彦腾,张建新,宋真真,等.黑水虻幼虫蛋白质的制备及体外抗氧化活性[J].核农学报,2014,28(11):2001-2009.
- [9] 赵启凤.黑水虻抗菌肽诱导及粗提物活性研究[D].遵义:遵义医学院,2012.
- [10] PARK S I,CHANG B S,YOE S M. Detection of antimicrobial substances from larvae of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera:Stratiomyidae) [J]. Entomol Res,2014,44(2):58-64.
- [11] PARK S I,KIM J W,YOE S M. Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae [J]. Dev Comp Immunol,2015,52(1):98-106.
- [12] 夏端,赵启凤,廖业,等.黑水虻抗菌肽粗提物生物学稳定性观察[J].山东医药,2013,53(36):91-92.
- [13] CHOI W H,YUN J H,CHU J P,et al. Antibacterial effect of extracts of *Hermetia illucens* (Diptera:Stratiomyidae) larvae against Gram-negative bacteria[J]. Entomol Res,2012,42(5):219-226.
- [14] 贾延华,刘颖,张燕玲,等.蚕蛹皮壳聚糖的制备工艺研究[J].辽宁丝绸,2003(1):10-12.
- [15] 刘卫星.马尾松毛虫蛹壳甲壳素的提取和壳聚糖的制备研究[D].广州:中南林学院,2005:11-13.
- [16] 王稳航,刘安军,黄巍,等.卤蝇蛆壳甲壳素的提取及壳聚糖的制备工艺[J].食品与发酵工业,2003,29(6):18-22.
- [17] 王晓玲,章怀云.马尾松毛虫蛹壳中甲壳素的提取研究[J].食品研究与开发,2007,28(11):10-14.
- [18] 徐宁彤,曲琪环,周玉岩,等.从蝇蛆中提取壳聚糖的研究[J].饲料博览,2006(7):32-34.
- [19] 高贤涛.猪粪饲养亮斑扁角水虻及水虻蛹壳和转化猪粪后残渣的应用[D].武汉:华中农业大学,2011:14-45.
- [20] 徐齐云,喻国辉,安新城.黑水虻蛹壳中几丁质的提取及壳聚糖制备研究[J].广东农业科学,2012,39(5):87-88.
- [21] LI Q,ZHENG L Y,CAI H,et al. From organic waste to biodiesel:Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible[J]. Fuel,2011,90(4):1545-1548.
- [22] LI Q,ZHENG L Y,LIU N. Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera:Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production[J]. Waste Manage,2011,31(6):1316-1320.
- [23] ZHENG L Y,HOU Y E,LI W,et al. Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes[J]. Energy,2012,47(1):225-229.
- [24] ZHENG L Y,LI Q,ZHANG J B,et al. Double the biodiesel yield:Rearing black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production[J]. Renew Energ,2012,41(2):75-79.
- [25] LI W,LI Q,ZHENG L Y,et al. Potential biodiesel and biogas production from corn cob by anaerobic fermentation and black soldier fly[J]. Biore-source Technol,2015,194:276-282.
- [26] LI W,LI M S,ZHENG L Y,et al. Simultaneous utilization of glucose and xylose for lipid accumulation in black soldier fly[J]. Biotechnol Biofuels,2015,8(1):1-6.

(上接第92页)

际,有计划、有重点、有步骤地分步实施。

## 参考文献

- [1] 四川省丹巴县地方志编纂委员会.丹巴县志[M].成都:四川科学技术出版社,2009.

- [2] 薛东剑,陈晓杰,张怡,等.丹巴县土壤侵蚀强度评价及空间分异研究[J].人民黄河,2012,34(9):76-78.