

УДК 544.773.432:577.11

ВЫДЕЛЕНИЕ ХИТОЗАН-МЕЛАНИНОВОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ПОДМОРА МУХИ ЧЕРНАЯ ЛЬВИНКА И ПОЛУЧЕНИЕ НА ЕГО ОСНОВЕ НАНОВОЛОКНИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ

© 2024 г. А. Ш. Хайрова¹, *, Н. А. Сажнев², Д. В. Коробовская²,
С. А. Лопатин¹, Н. Р. Кильдеева², В. П. Варламов¹

¹Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

²Российский государственный университет имени А. Н. Косыгина, Москва, 117997 Россия

*e-mail: adelya15@mail.ru

Поступила в редакцию 15.10.2023 г.

После доработки 15.10.2023 г.

Принята к публикации 05.11.2023 г.

В статье приводятся результаты изучения вязкости растворов хитозан-меланинового комплекса из насекомого *Hermetia illucens* и процесса гелеобразования его в растворах в присутствии сшивающих реагентов. Из растворов хитозан-меланинового комплекса в разбавленных растворах уксусной кислоты методом бесфильтрованного электроформования были получены химически сшитые нановолокна. Наличие 14% меланина обеспечило возможность снижения концентрации уксусной кислоты в формовочной композиции.

Ключевые слова: хитозан, хитозан-меланиновый комплекс, электроформование, нановолокнистый матрикс.

DOI: 10.31857/S0555109924020041 EDN: GAWQMH

Разработка новых биоматериалов является приоритетным направлением одновременно для многих отраслей науки, что связано с возможностями применения таких материалов в разных областях в качестве раневых покрытий, биоразлагаемых упаковочных материалов, систем доставки лекарственных средств, биополимерных матриц для выращивания живых тканей и органов.

В последнее время популярность набирают материалы, изготовленные из комплексов хитозана с другими биополимерами: белками (фибруин, коллаген), пигментами (меланин) и др. Такие комплексы могут обладать новыми полезными свойствами [1].

Например, меланин может придавать пленкам из хитозана следующие свойства: защита от ультрафиолетовых лучей, антиоксидантные свойства, защита от вредных воздействий окружающей среды и радиации. Материалы на основе меланина способны регулировать температуру тела [2].

Сегодня широкое развитие получила технология переработки органических отходов с помощью личинок насекомого *Hermetia illucens* (черная львинка). В результате биоконверсии получают кормовой белок, энтожир и зоогумус. Важным преимуществом этого насекомого является его доступность

для переработки на всех стадиях онтогенеза. Например, на более ранних стадиях (личинки) можно получать хитин и хитозан, а хитин- и хитозан-меланиновые комплексы — на более поздних стадиях (куколки, имаго) [3]. Важно отметить, что в конце жизненного цикла остается подмор *H. illucens* — отход при воспроизводстве личинок из маточного поголовья, который является уникальным источником для получения ковалентно связанного хитозан-меланинового комплекса с содержанием меланина около 14%. При проведении реакции деацетилирования содержание меланина в хитозан-меланиновом комплексе не снижается, что служит основным отличием черной львинки от хитозана других насекомых (например, пчел, восковой моли) [4, 5].

Электроформование известно как эффективный метод изготовления волокон субмикронного размера. Различные гибкоцепные полимеры были успешно переработаны в ультратонкие волокна толщиной до нескольких нанометров этим методом. Полученные данным методом нановолокна применяются для решения широкого спектра задач: для фильтрации высокодисперсных аэрозолей в системах очистки газовоздушных выбросов и средствах защиты органов дыхания, для обеспечения антимикробных и противовирусных свойств,

регулирования водо- и паропроницаемости, создания перевязочных средств при лечении обширных ожоговых поверхностей, длительно незаживающих ран и т.д. [6, 7]. Они используются в развитии тканевой инженерии, для систем контролируемой доставки лекарственных препаратов, при регенерации хрящевой, костной, нервной тканей, кожи, стенок кровеносных сосудов [8, 9]. Метод электроформования отличается сочетанием высокой эффективности, аппаратной простоты, высокой гибкости, позволяющей получать волокнистые материалы с широким диапазоном свойств и размеров единичного волокна — от микро- до нановолокон [10]. Известно, что из растворов хитозана в уксусной кислоте концентрацией менее 50% не может быть получен нановолокнистый материал методом электроспиннинга [11]. С точки зрения цитосовместимости полученных нетканых материалов из хитозана, которые используются в качестве матриц для тканевой инженерии, использование концентрированной уксусной кислоты нецелесообразно. Кроме того, в концентрированных растворах кислот интенсифицируются процессы гидролиза гликозидных связей, приводящие к снижению молекулярной массы полимера. Наличие в составе хитозана черной львинки меланина может повлиять на свойства его растворов, определяющие способность к волокнообразованию в электрическом поле. Разработка новых электроформованных изделий из хитозана и комплекса хитозана с меланином позволит расширить масштабы использования этого биоразлагаемого полимера и повысит эффективность технологии по переработке отходов с помощью *H. illucens*.

Цель настоящей работы — изучение возможности получения волокнистого нетканого материала из растворов хитозан-меланинового комплекса в разбавленных растворах уксусной кислоты методом бесфильтрного электроформования.

МЕТОДИКА

Материалы. Хитозан из краба с средневесовой молекулярной массой (ММ) 570 кДа и степенью деацетилирования 82% (ООО «Биопрогресс», Россия). Сшивающий реагент дженипин (Gp) («Xi'an Pincredit Bio-Tech Co., Ltd.», Китай); сшивающий реагент глутаровый альдегид (Ga) («Sigma Aldrich», Германия); уксусная кислота («х.ч.», ледяная) ГОСТ 61–75; поливиниловый спирт (ПВС), ММ 50 кДа («Qingdao Easthony Inc», Китай).

Хитозан-меланиновый комплекс (ХТЗ-М) получали из подмора *H. illucens* (ООО «Энтопротэк», Россия) по методике, описанной в работе [8], с некоторыми модификациями. Сначала проводили депротеинирование 15%-ным раствором NaOH на водяной бане в течение 2 ч при 100°C Деминерализацию осуществляли с использованием 1%-ной

HCl в течение 2 ч при комнатной температуре. После каждой стадии твердый остаток отделяли на пористом стеклянном фильтре, промывали дистиллированной водой до нейтральных значений pH и лиофильно высушивали.

Деацетилирование ХТЗ-М проводили в 50%-ном растворе NaOH в течение 2 ч при 100°C Промывали водой осадок до нейтрального значения pH и полученную материал растворяли в 0.5%-ной CH₃COOH, фильтровали для отделения нерастворимой части и осаждали комплекс добавлением 5%-ного раствора NaOH. Суспензию выпавшего ХТЗ-М диализовали против воды и лиофильно высушивали.

Измерение молекулярно-массовых характеристик проводили с использованием высокоэффективного жидкостного хроматографа S2100 («Sykam», Германия) в комплексе с дегазатором K-5004 («Knauer», Германия), колоночным термостатом Jet Stream+ («Knauer», Германия) и рефрактометрическим детектором K-2301 («Knauer», Германия). Молекулярную массу определяли при температуре 30°C с использованием колонки PSS NOVEMA Max analytical 1000 A («PSS», Германия) в системе 0.1 М NH₄-ацетатный буфер + 0.2 М NaCl, при значении pH 4.5 и скорости элюции 1.0 мл/мин. Контроль и анализ хроматограмм осуществляли с помощью программы «Мультихром» версия 1.6 (ЗАО «Амперсенд», Москва). В качестве калибровочных стандартов использовали пуллуланы (ММ = 342, 1260, 6600, 9900, 23000, 48800, 113000, 200000, 348000 и 805000 Да, «PSS», Германия).

Степень деацетилирования (СДА) определяли методом кондуктометрического титрования. К навеске образца (50–100 мг), предварительно высушенного до постоянного веса в микроволновой печи, добавляли 5 мл 0.1 н. HCl и 25 мл дистиллированной воды. Полученный раствор титровали 0.1 М NaOH, добавляя его порциями по 0.1 мл через каждые 30 с при постоянном перемешивании. Количество щелочи (мл), необходимое для титрования свободных аминогрупп, определяли из графика зависимости электропроводности раствора от объема щелочи, рассчитывая «плато» на двоякоизломанной кривой титрования. Расчет СДА проводили по формуле:

$$\begin{aligned} \%СДА &= \frac{M_x \times V \times N}{p + (M_x - M_{xm}) \times V \times N} \times 100\% = \\ &= \frac{203 \times V \times N}{p + 42 \times V \times N} \times 100\%, \end{aligned} \quad (1)$$

где M_x — молекулярная масса звена хитина; M_{xm} — молекулярная масса звена хитозана; V — разница объемов NaOH («плато»), определяемая из графика, мл; N — нормальность NaOH; p — навеска хитозана, мг.

Исследование электронного парамагнитного резонанса проводили на ЭПР-спектрометре ЕМХ (“Bruker”, Германия). Спектры регистрировали для сухих образцов массой 50 мг, которые помещали в цилиндрическую кварцевую кювету. Спектры ЭПР регистрировали при следующих условиях: амплитуда модуляции 1.25–3.0 Гс; диапазон развертки 50 Г; микроволновая частота 9.8 ГГц; мощность сверхвысокой частоты 0.2 мВт; постоянная времени 100 мс. Для расчета *g*-факторов и определения концентрации спинов был использован контрольный образец ультрадисперсионного алмаза № 5 (сертификат о калибровке № 905/910–2012). Количество меланина, содержащегося в хитозан-меланиновом комплексе, определяли путем сравнения с количеством чистого диоксифенилаланина (ДОФА)-меланина, не содержащего примесей белка. Концентрация парамагнитных центров ДОФА-меланина была определена в тех же условиях и составила 1.94×10^{18} спин/г сухого материала или препарата.

В колбу вносили навеску порошка для получения 2%-ного раствора ХТЗ-М и расчетное количество уксусной кислоты (для раствора ХТЗ-М массой 50 г необходимо 1.26 мл ледяной уксусной кислоты). После этого раствор тщательно перемешивали и оставляли на 24 ч при комнатной температуре, в течение этого времени происходило полное растворение комплекса и обезвоздушивание раствора — технологическая стадия процесса переработки волокон из растворов, необходимая для удаления пузырьков воздуха из вязких растворов с целью получения бездефектных волокнистых материалов.

Для приготовления совместных растворов из хитозан-меланинового комплекса и ПВС полимеры в соотношении 1 : 3 заливали водой и перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч для полного растворения ПВС, затем в смесь добавляли ледяную уксусную кислоту (для 50 г формовочного раствора количество кислоты указано выше) для растворения хитозан-меланинового комплекса.

Приведенную вязкость определяли по среднему значению времени истечения растворов хитозана и ХТЗ-М в 0.2 М ацетатном буфере в капиллярном вискозиметре Убеллоде путем последовательного разбавления растворов. Расчет $\eta_{\text{прив}}$ проводили по формуле:

$$\eta_{\text{отн}} = \tau_{\text{р-ра}} / \tau_{\text{р-ля}}; \eta_{\text{уд}} = \eta_{\text{отн}} - 1; \eta_{\text{прив}} = \eta_{\text{уд}} / C, \quad (2)$$

где $\eta_{\text{отн}}$ — относительная вязкость; $\tau_{\text{р-ра}}$ — время истечения раствора; $\tau_{\text{р-ля}}$ — время истечения растворителя; $\eta_{\text{уд}}$ — удельная вязкость; $\eta_{\text{прив}}$ — приведенная вязкость; *C* — концентрация раствора хитозана.

Динамическую вязкость растворов измеряли на вибрационном вискозиметре SV-10 (“AMD”, Япония). После калибровки вискозиметр показывал значения с точностью до 0.1%. Изменение вязкости

определялось автоматически с помощью встроенного программного обеспечения при постоянной температуре. Диапазон измерений составлял 0.3–10000 мПа·с. Частота вибрации сенсорных пластин составляла 30 Гц, стандартная пластина для образцов предполагает использование образцов объемом 10 мл.

Время гелеобразования определяли путем визуального наблюдения. К 3 г растворов ХТЗ-М или хитозана в бюксе добавляли 0.2 мл раствора глутарового альдегида или 0.62 мл раствора дженипина разной концентрации, определяемой необходимым соотношением сшивающий реагент : NH₂. Бюкс закрывали крышкой и отмечали время начала эксперимента. За время гелеобразования принимали момент, когда раствор переставал течь при переворачивании бюкса и представлял собой единую вязко-упругую массу. Нановолокнистый материал получали методом электроформования из водно-уксусных растворов хитозана или комплекса ХТЗ-М на установке Nanospider NS-Lab (“ELMARCO”, Чехия) со свободной поверхности электрода на полипропиленовую подложку из спанбонда. Для улучшения волокнообразования в композицию добавляли ПВС. Расстояние между волокнообразующим и приемным электродами составляло 140 мм, разность потенциалов изменяли от 20 до 50 кВ и выбирали как диапазон значений стабильного волокнообразования.

Изображения поверхности волокон и значения их диаметров получали при помощи атомно-силового микроскопа (АСМ) на основе микроконсольной системы “NtegraPrima” (NT-MDT, Россия) в полуконтактном режиме работы кантилевера. Полученные данные подвергались обработке и сравнительному анализу в программе управления СЗМ “Nova” на базе платформы ИНТЕГРА и Solver.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Были определены физико-химические характеристики полученного комплекса ХТЗ-М, выделенного из подмора *H. illucens*. Чистота полученного комплекса была подтверждена путем измерения содержания примесей: остаточный белок составлял менее 1%, липиды — менее 0.1%, зола — менее 1%. Белок определяли с помощью аминокислотного анализа, жир — экстракцией диэтиловым эфиром в аппарате Сокслета, золу — гравиметрическим способом. Полученный комплекс имел ММ 566 кДа, определенную методом высокоэффективной гель-проникающей хроматографии (ВЭГПХ). Степень деацетилирования была рассчитана с помощью кондуктометрического титрования и составила 76%. Содержание меланина в комплексе измеряли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Значение составило 14%.

Электроформование является одним из наиболее технологичных методов, используемых для производства наноструктурированных материалов. Наиболее широко этот метод используется для формования волокон из растворов синтетических гибкоцепных полимеров. Для получения ультратонких волокон на основе хитозана применяют специальные приемы, такие как использование растворов в трифторуксусной кислоте или смешение хитозана с другими полимерами, такими как полиэтиленоксид, ПВС. Это связано с необходимостью разрушить межцепные взаимодействия в растворах, препятствующие формированию струи в электрическом поле. Однако даже в смеси с ПВС для получения бездефектного волокнистого материала из хитозана методом электроформования необходимо использовать в качестве растворителя 50–70%-ные растворы уксусной кислоты.

Предметом настоящего исследования стала оценка возможности получения нано- и микроволокон из растворов ХТЗ-М в разбавленной уксусной кислоте, не растворимых в воде во всем диапазоне pH, поэтому были исследованы вязкость растворов хитозана с близкой ММ, выделенного из разных источников, ее концентрационная зависимость, а также процесс гелеобразования в присутствии сшивающих реагентов.

На рис. 1 приведена зависимость $\eta_{\text{прив}}$ от концентрации C для хитозана и комплекса ХТЗ-М, которая определяется гидродинамическими характеристиками макромолекулы. Размер макромолекулярного клубка зависит от сродства полимера и растворителя. Характер зависимости приведенной вязкости от концентрации в исследованном диапазоне нелинейный, это связано с высокой ММ хитозана. В области более разбавленных растворов $C < 0.1\%$ характер кривых приближался к линейному, и можно видеть, что наклон кривой $\eta_{\text{прив}} = f(C)$ в случае комплекса с меланином выше, что свидетельствует о большем гидродинамическом радиусе макромолекулы по сравнению с размерами макромолекулярного клубка хитозана в том же растворителе. Это факт должен влиять на реологическое поведение формовочных растворов биополимеров.

Для изучения физико-химических свойств хитозан и комплекс хитозана и меланина растворяли в 2.5%-ной уксусной кислоте. Полученные растворы использовали для получения растворов заданной концентрации. На рис. 2 представлены результаты измерения динамической вязкости растворов, полученные на вибрационном вискозиметре, в виде среднего значения трех измерений с различной концентрацией комплекса в сравнении с концентрационной зависимостью динамической вязкости хитозана с молекулярной массой 570 кДа. Концентрация, при которой наблюдался резкий рост вязкости, соответствующая области перекрывания макромолекулярных клубков для комплекса ХТЗ-М

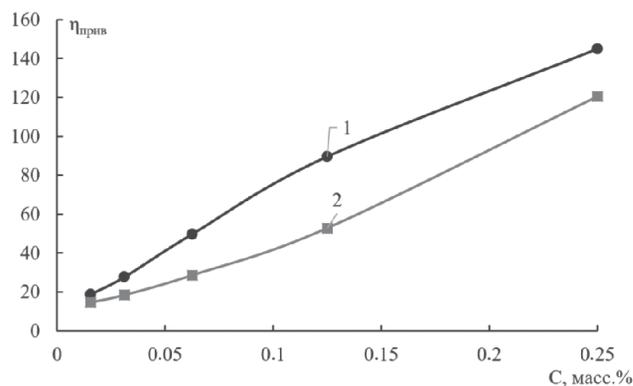


Рис. 1. Зависимость приведенной вязкости от концентрации комплекса: 1 — раствор ХТЗ-М, ММ 566 кДа, pH 4.3; 2 — раствор хитозана, ММ 570 кДа, pH 4.3.

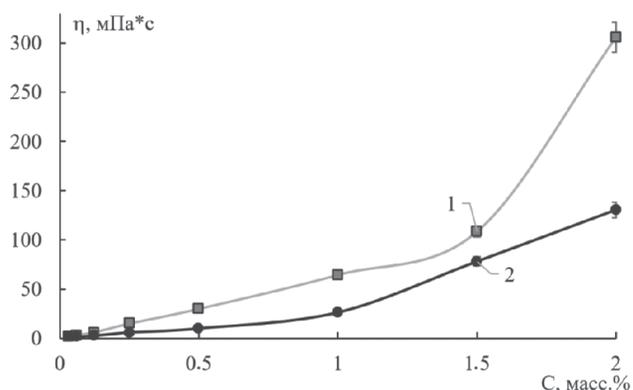


Рис. 2. Зависимость динамической вязкости от концентрации комплекса: 1 — раствор ХТЗ-М, ММ 566 кДа, pH 4.3; 2 — раствор хитозана, ММ 570 кДа, pH 4.3.

составила 1.5 масс.%, для растворов хитозана — 1 масс.%. Выше концентрации кроссовера волокнообразование возможно. Учитывая, что динамическая вязкость эквипонцентрированных растворов хитозана, содержащего меланин, выше, чем растворов хитозана с такой же ММ, можно предположить лучшую способность к волокнообразованию исследуемого хитозана из насекомого *H. illucens*.

С целью получения водонерастворимых волокнистых материалов был исследован процесс химической сшивки комплекса ХТЗ-М и хитозана традиционными для хитозана сшивающими реагентами — глутаровым альдегидом и дженипином. Зависимость времени гелеобразования 2%-ных биополимеров от содержания сшивающих реагентов (СР) представлена на рис. 3.

Как видно из полученных зависимостей, при одном и том же мольном соотношении СР/ NH_2 в случае дженипина гелеобразование в растворах хитозана наступает быстрее, а одинаковое время гелеобразования наблюдается при меньшем содержании сшивающих реагентов (рис. 3), что может быть обусловлено стерическими затруднениями

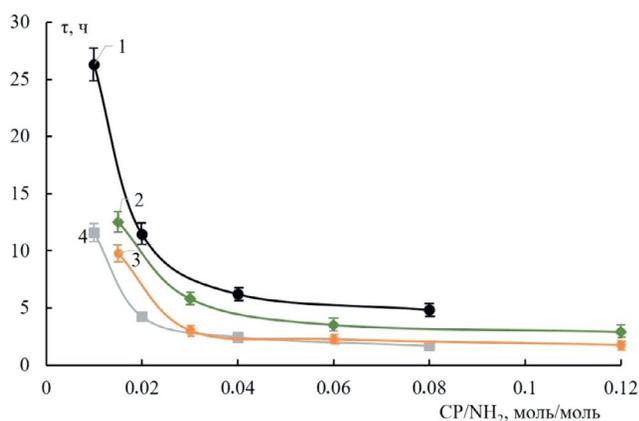


Рис. 3. Зависимость времени гелеобразования в 2%-ном растворе биополимеров (рН 4.3) от степени сшивки: 1 — хитозан, ММ 570 кДа, СР дженипин; 2 — ХТЗ-М, ММ 566 кДа, СР дженипин; 3 — хитозан, ММ 570 кДа, СР глутаровый альдегид; 4 — ХТЗ-М, ММ 566 кДа, СР глутаровый альдегид.

и особенностями строения комплекса ХТЗ-М. При использовании глутарового альдегида такая закономерность соблюдается только при низких соотношениях СР/НН₂.

Электроформование растворов полимеров может происходить при постоянных значениях вязкости и электропроводности. Для предотвращения неконтролируемого роста вязкости формовочного раствора в результате химической сшивки необходимо, чтобы процесс сшивания биополимеров завершался уже после осаждения волокна на приемном электроде. Соотношение сшивающий реагент / хитозан (0.12 моль/моль) было выбрано из полученных на рис. 3 зависимостей таким образом, чтобы подготовить операции и процесс электроформования

проходили при постоянной вязкости, а сшивка, приводящая к потере растворимости в воде, происходила уже в сформированном волокнистом материале. На основании проведенных ранее исследований [12–14] и предварительного изучения технологических характеристик формовочных растворов были выбраны составы формовочных композиций и определена возможность электроформования волокон на основе комплекса ХТЗ-М.

Составы формовочных растворов и параметры электроформования приведены в табл. 1. Сформовать волокно из хитозана, не содержащего меланин, в приведенных условиях не удалось.

Осуществить электроформование из растворов ХТЗ-М, не содержащих ПВС, также не представлялось возможным. Стабильное формование происходило из растворов, содержащих ПВС в качестве добавки, способствующей волокнообразованию. АСМ-изображение электроформованных волокон из комплекса ХТЗ-М приведено на рис. 4. Волокнистый материал состоял из наноразмерных волокон со средним диаметром 250 ± 50 нм. Такой размер шероховатостей на поверхности материала является оптимальным для прикрепления клеток и их пролиферации на волокнистой подложке. Волокна выдерживали в течение суток при постоянной влажности для завершения процесса сшивки. Полученный материал не растворялся в воде в диапазоне рН = 3.0–8.0. Таким образом, использование хитозана из насекомого *H. illucens* методом электроформования позволило снизить концентрацию уксусной кислоты с 50 до 2%, что должно способствовать снижению цитотоксичности материала при его использовании для регенерации тканевых повреждений. Более высокая волокнообразующая

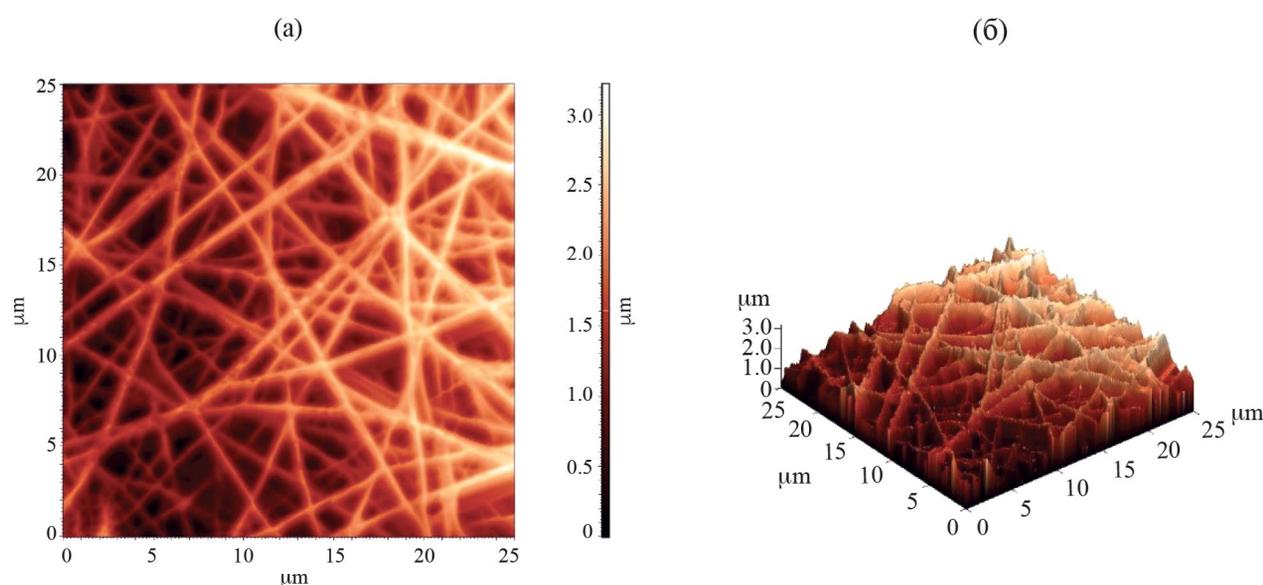


Рис. 4. АСМ-изображение электроформованных волокон из ХТЗ-М, сшитого глутаровым альдегидом (соотношение СР/НН₂ = 0.08 моль/моль, рН 5.51): а — 2D-изображение; б — 3D-изображение.

Таблица 1. Параметры электроформования волокон из 2%-ных растворов хитозан-меланинового комплекса

Состав смеси	Содержание сшивающего реагента, моль/моль	U наноспайдера, кВ	Характеристика электроформования	Диаметр волокон, нм
ХТЗ-М : ПВС, 1 : 3. 2%-ный раствор уксусной кислоты	Дженипин, 0.08	46.7–51.2	Стабильное	250 ± 50
ХТЗ-М : ПВС, 1 : 3. 2%-ный раствор уксусной кислоты	Глутаровый альдегид, 0.08	47.8–53.4	Стабильное	250 ± 50
Хитозан : ПВС, 1 : 3. 2%-ный раствор уксусной кислоты	Глутаровый альдегид, 0.08	35.5–55.0	Разбрызгивание раствора	–

способность ХТЗ-М по сравнению с хитозаном краба может быть вызвана наличием в составе комплекса меланина, нарушающего систему межцепных взаимодействий, что способствует преодолению сил, препятствующих образованию волокон под действием электрического поля.

Полученный волокнистый материал может быть использован в качестве раневых покрытий, а также в тканевой инженерии в качестве волокнистых матриц для роста и пролиферации живых клеток.

В работе были определены молекулярно-массовые характеристики и физико-химические свойства комплекса ХТЗ-М, выделенного из подмора насекомого *H. illucens*. Изучены концентрационные зависимости приведенной и динамической вязкости, установлено, что для комплекса ХТЗ-М концентрация, при которой происходит резкий рост вязкости, соответствует области перекрытия макромолекулярных клубков и выше, чем у хитозана с той же ММ на 1.5%.

Наличие в составе комплекса ХТЗ-М меланина приводит к изменению размеров макромолекулярного клубка по сравнению с чистым хитозаном такой же ММ, а также нарушению межмолекулярных взаимодействий, что положительно сказывается на волокнообразующей способности в процессе электроформования из смешанных растворов в 2%-ной уксусной кислоте.

Методом электроформования нановолокон из растворов ХТЗ-М в разбавленной уксусной кислоте в составе композиций с ПВС получены образцы нановолокон со средним диаметром 250 нм, устойчивые к воде в диапазоне рН 3.0–8.0.

Таким образом, результаты исследования морфологии поверхности полученного волокнистого материала из хитозан-меланинового комплекса, способность биополимера к разложению показали перспективы его использования в качестве матриц для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ. Данная работа выполнена в рамках государственного задания при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ghattavi S., Homaei A., Kamrani E., Saberi D., Daliri M.* // Progress in Organic Coatings. 2023. V. 174. P. 107327.
2. *Бастраков А. И., Донцов А. Е., Ушакова Н. А.* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2016. № 4. С. 77–79.
3. *Khayrova A., Lopatin S., Varlamov V.* // Int. J. Biol. Macromol. 2021. № 167. P. 1319–1328.
4. *Немцев С. В., Зуева О. Ю., Хисматуллин М. Р., Албулов А. И., Варламов В. П.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. № 1. С. 46–50.
5. *Останина Е. С., Лопатин С. А., Варламов В. П.* // Биотехнология. 2007. № 3. С. 38–45.
6. *Xue J., Wu T., Dai Y., Xia Y.* // Chem. Rew. 2019. № 119. P. 5298–5415.
7. *Cui J., Lu T., Li F., Wang Y., Lei J., Ma W., Huang C.* // J. Colloid Interface Sci. 2021. № 582. P. 506–514.
8. *Rahmati M., Mills D. K., Urbanska A. M., Saeb M. R., Venugopal J. R., Ramakrishna S., Mozafari M.* // Progress in Materials Science. 2021. № 117. P. 100721.
9. *Yang C., Shao Q., Han Y., Liu Q., He L., Sun Q., Ruan S.* // Applied Sciences. 2021. № 11. P. 9082.
10. *Parham S., Kharazi A. Z., Bakhsheshi-Rad H. R., Ghayour H., Ismail A. F., Nur H., Berto F.* // Materials. 2020. № 13. P. 2153.
11. *Cui C., Sun S., Wu S., Chen S., Ma J., Zhou F.* // Engineered Regeneration. 2021. V. 2. P. 82–90.
12. *Kildeeva, N., Chalykh, A., Belokon, M., Petrova, T., Matveev, V., Svidchenko et. al.* // Polymers. 2020. V. 12. № 5. P. 1086.
13. *Kildeeva N., Chalykh A., Belokon M., Petrova T., Matveev V., Svidchenko E. et. al.* // Polymer Sci., Ser. D. 2017. V. 10. P. 189–193.
14. *Khayrova A., Lopatin S., Varlamov V.* // J. Physics: Conf. Ser. 2021. № 1942. P. 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1942/1/012003>

Isolation of Chitosan-Melanin Complex from Black Soldier Fly Adults and Obtaining Nanofibrous Materials Based on It

A. Sh. Khayrova^{a, *}, N. A. Sazhnev^b, D. V. Korobovskaya^b,
S. A. Lopatin^a, N. R. Kildeeva^b, and V. P. Varlamov^a

^aBioengineering Institute, Federal research centre "Fundamentals of biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

^bThe Kosygin Russian State University, Moscow, 117997 Russia

*e-mail: adelya15@mail.ru

The article presents the results of studying the viscosity of chitosan-melanin complex solutions from the larvae of the insect *Hermetia illucens* and the process of gelation in these solutions in the presence of crosslinking reagents. Chemically cross-linked nanofibers were obtained from solutions of the chitosan-melanin complex in dilute solutions of acetic acid by the method of spinneretless electrospinning. The presence of 14% melanin made it possible to reduce the concentration of acetic acid in the spinning composition.

Keywords: chitosan, chitosan-melanin complex, electrospinning, nanofiber matrix