

ВИЗНАЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ ДІЇ ОБРОБКИ ПОВЕРХНІ ШКАРАЛУПИ РІЗНИМИ ХІМІЧНИМИ ПРЕПАРАТАМИ У ПЕРІОД ІНКУБАЦІЇ ЯЄЦЬ ГУСЕЙ

Павліченко О. В.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна, e-mail: zoovet.kharkov@gmail.com

У статті представлені результати проведення електронно-мікроскопічних та мас-спектрометричних аналізів зразків біокерамічних захисних структур інкубаційних яєць гусей до та після обробки їх поверхні розчинами гіпохлориту натрію, оцтової та соляної кислот.

Ключові слова: яйця гусей, інкубація, розчини гіпохлориту натрію, оцтової та соляної кислот

У другій половині штучної інкубації загибель зародків в основному обумовлено низькою проникністю шкаралупи для газів та водяної пари. Це пов'язано з тим, що в умовах штучної інкубації кутикула зостається незмінною. В умовах природної інкубації квочка, повертаючи яйця, поступово стирає кутикулу, що призводить до збільшення проникності шкаралупи. У зв'язку з цим, в останні роки з'явилась ціла низка робіт щодо розробки способів підвищення паро- та вологопроникності шкаралупи в період штучної інкубації яєць (Кучмістов В. О., Бреславець В. О., 1996, Шоміна Н. В., 2008, Дунаєв Ю. К., 2010 та інші) [2, 3, 7]. З метою підвищення паропроникності шкаралупи та виводимості яєць гусей Сербул В. П. та Мунтян Н. А. на 18-у добу інкубації проводили обробку яєць курей хлорною або азотною кислотою певних концентрацій [4]. Бреславець В. О. та ін. для підвищення паропроникності шкаралупи яєць водоплавної птиці запропонували використовувати розчини гіпохлориту натрію та оцтової кислоти різних концентрацій [1, 2, 3]. Обробка яєць качок та гусей цими розчинами в декілька разів підвищувала проникність шкаралупи для води та газів, що позитивно впливало на їхню виводимість і якість молодняка.

Інші дослідження на гусах показали, що просвердлювання отвору в тупому кінці яйця в процесі інкубації підвищує газопроникність шкаралупи в декілька разів та значно впливає на виводимість яєць. Так, протягом експерименту було встановлено, що просвердлювання отвору на 17 добу інкубації значно підвищувало виводимість яєць гусей, на 15–22 добу – виводимість збільшувалась тільки тоді, коли усушка не перевищувала 14 %, на 25 добу – не впливало на виводимість [6].

Підвищити виводимість яєць та знизити смертність ембріонів в кінці інкубаційного періоду можна шляхом введення у повітряну камеру додаткової кількості кисню. Таким чином на думку Meir M. (1996) можна уникнути впливу низької проникності шкаралупи на виводимість [5].

У досліджах Шоміної Н. В. застосування розчинів соляної, оцтової кислот та гіпохлориту натрію для оброблення поверхні шкаралупи інкубаційних яєць курей у виробничих умовах дало змогу підвищити їх виводимість на 0,5–2,3 % [2].

Однак механізм дії вищезазначених речовин на паро- та вологопроникність шкаралупи ще достатньо не вивчено.

У зв'язку з цим **метою** роботи було провести електронно-мікроскопічні та мас-спектрометричні аналізи зразків біокерамічних захисних структур інкубаційних яєць гусей до та після обробки їх поверхні розчинами гіпохлориту натрію, оцтової та соляної кислот.

Матеріали та методи. Електронно-мікроскопічні та мас-спектрометричні аналізи зразків біокерамічних захисних структур інкубаційних яєць були проведені у відділах електронної мікроскопії, біофізики і мас-спектрометрії Інституту прикладної фізики НАН України.

Структурні характеристики шкаралупи досліджували скануючою електронною мікроскопією (растрові електронні мікроскопи і мікроаналізатор «PEMMA-102» та «PEMMA-106» BAT «SEMI», Суми, Україна).

Цифрові зображення біокристалічних шарів обробляли за допомогою пакетів програм Photoshop 6.0 (Adobe) Digimizer та Visilog 6.11 (Noesis). Електронно-мікроскопічні зображення переводили в цифрову форму на матрикс 320 на 320 пікселів (за збільшення $\times 250$) пікселів з рівнем насиченості сірого кольору (gray level) 0-255. Цифрові зображення піддавали обробці у графічних редакторах з метою кількісної оцінки мікроефектів біокерамічного шару шкаралупи.

Результати досліджень. Оброблення поверхні шкаралупи яєць гусей проводили розчинами 0,6 % (0,08 моль/л) гіпохлориту натрію, 2,5 % (0,4 моль/л) оцтової кислоти та 5 % розчин соляної кислоти (концентрацією 1,40 моль/л).

На знімку контрольного зразку шкаралупи видно природну, добре виражену кутикулу, яка представляє собою висухлу білкову плівку на поверхні твердої фази (в даному випадку поверхневого кристалічного шару шкаралупи). При висиханні поверхні тонка плівка білкового походження тріскається, утворюючи звивисті тріщини, різної глибини (див. рис. 1 і на профілі рис. 2), знімок отриманий при обробці електронного зображення на малюнку програмою Visilog. Білі ділянки свідчать про накопичення зарядів біля тріщин.

Профіль дослідної ділянки шкаралупи яйця, обробленої розчином гіпохлориту натрію, практично не відрізняється від контрольної, іншими словами, гіпохлорит не завдає руйнівної дії на морфологічну структуру поверхні шкаралупи (рис. 3). Однак спостерігається помітне збільшення товщини кутикули, а також кількості та величини в ній отворів, що, як правило, сприяє підвищенню паропроникності всієї поверхні шкаралупи. Ця обставина підтверджується і даними ESI-MS-мас-спектрометрії органічних складових біокерамічного матриксу шкаралупи яєць гусей до обробки (X-1252,02 Y-73.00) та після обробки (X-500,61 Y-153.0) гіпохлоритом натрію (рис. 4).

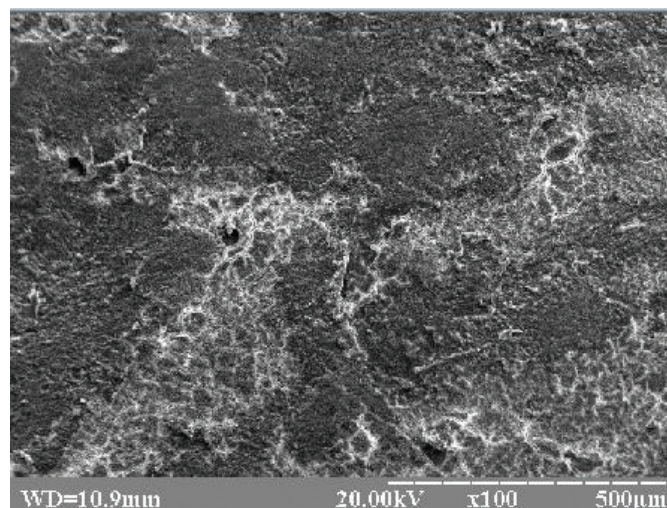


Рис. 1. Електронна мікроскопія поверхні шкаралупи яйця гуски (контроль)

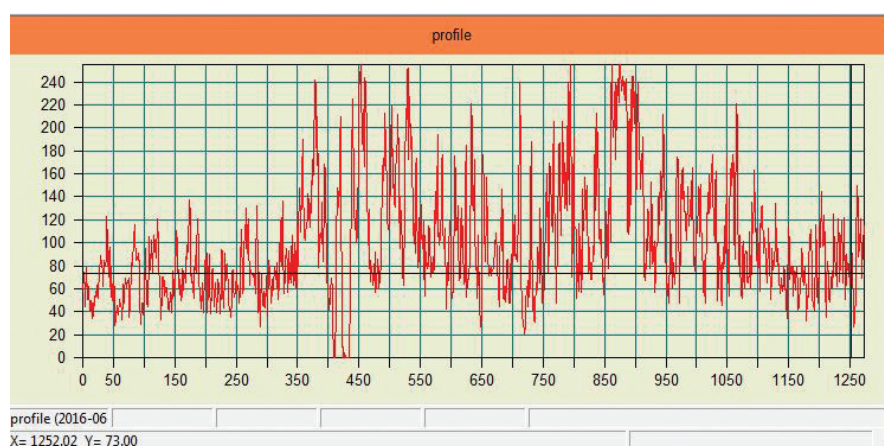


Рис. 2. Профіль поверхні шкаралупи яйця гуски до обробки препаратами, контроль

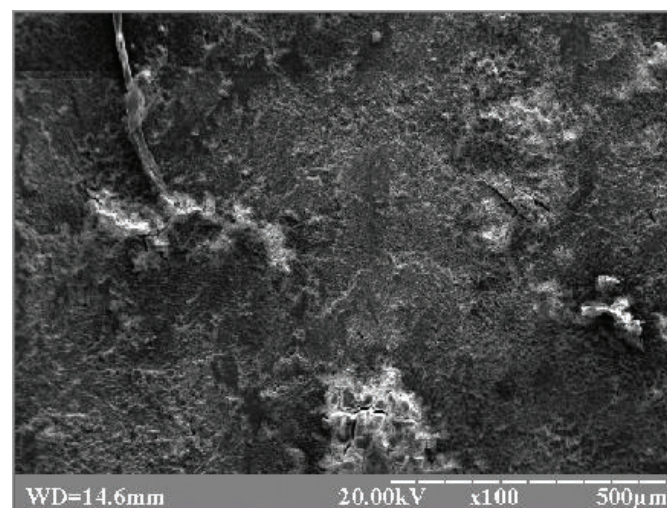


Рис. 3. Електронна мікроскопія поверхні шкаралупи яйця гуски, обробленої гіпохлоритом натрію, 0,6 %

Згідно даних Бреславець В. О. та інш.(2001) після обробки поверхні шкаралупи яєць розчином гіпохлориту натрію підвищення повітро- та паропроникності шкаралупи настає не раніше, ніж через 10–20 хвилин після обробки, що пов'язано з реакцією між розчином і кутикулою [1]. Значне підвищення повітро- та паропроникності шкаралупи уже через хвилину відбувається у разі обробки шкаралупи 2,5 % розчином оцтової кислоти. Автори пов'язують цю обставину з тим, що реакція між розчином оцтової кислоти та поверхнею шкаралупи проходить значно швидше і глибше, ніж з гіпохлоритом натрію. Тобто, оцтова кислота вступає в реакцію з мінеральною частиною шкаралупи і змінює її властивості. Через 5 хвилин після обробки в їх дослідях паропроникність шкаралупи підвищилась майже у два рази.

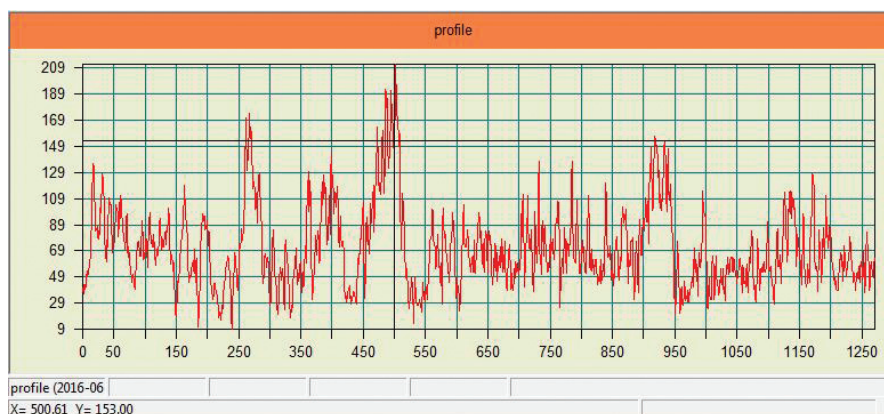


Рис. 4. Профіль поверхні яйця гуски, обробленого гіпохлоритом натрію, 0,6 %

У наших дослідях обробка поверхні шкаралупи оцтовою кислотою (2,5 % водний розчин) сприяла ущільненню кутикулу, але збільшувала кількість і величину тріщин, які утворювались в період висихання розчину (рис. 5). Ця обставина підкріплюється і даними ESI-MS-мас-спектрометрії, а саме – рівень органічних складових біокерамічного матриксу шкаралупи яєць гусей до обробки складав X-1252,02 Y-73.00, а після обробки -X-670,50 Y-218.00 (рис. 6).

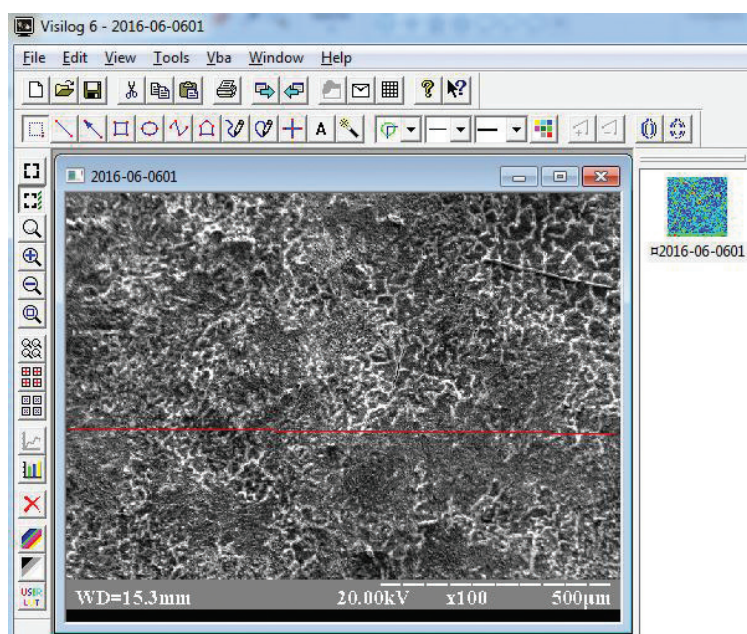


Рис. 5. Електронна мікроскопія поверхні шкаралупи яйця гуски, обробленого CH_3COOH , 2,5 %

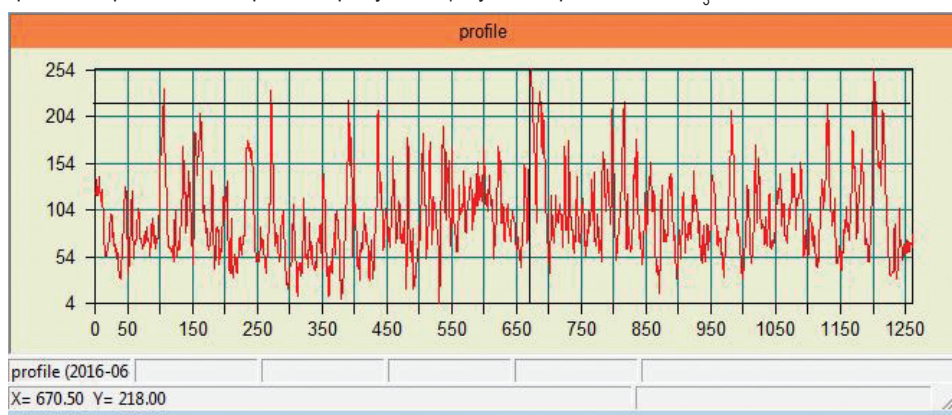


Рис. 6. Профіль шкаралупи яйця гуски, обробленого CH_3COOH , 2,5 %

При обробці поверхні шкаралупи 5 %-м розчином соляної кислоти спостерігається ущільнення кутикули, однак на окремих її ділянках збільшується чисельність, величина та глибина розривів (рис. 7).

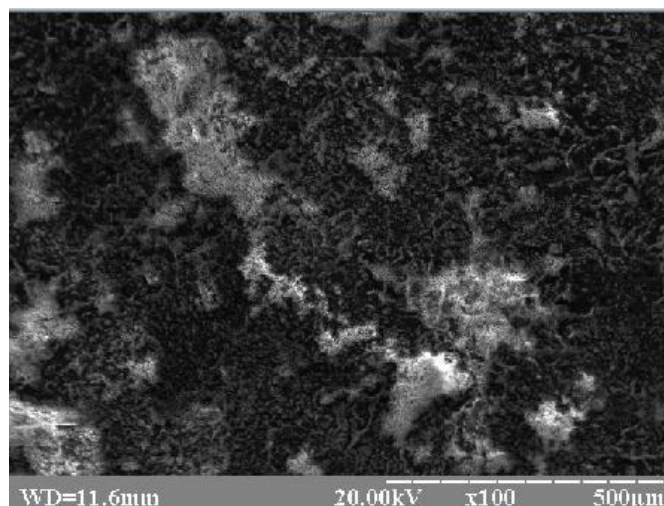


Рис. 7. Електронна мікроскопія поверхні шкаралупи яйця гуски, обробленого соляною кислотою, 5%



Рис. 8. Профіль поверхні шкаралупи яйця гуски, обробленого 5 %-вим розчином соляної кислоти.

Електронна мікроскопія шкаралупи (рис. 8) вказує на наявність безлічі пор в ущільненій кутикулі. Це наочно видно виходячи з даних ESI-MS-мас-спектрів. Окрім того помітно збільшилось кількість отворів в області сосочкового шару, що сприяє підвищенню паропроникності всієї поверхні шкаралупи. Отримані нами результати обґрунтовують дані, які отримали Бреславець В. О. та інш.(2001) з приводу того, що розчини оцтової та соляної кислот сприяють підвищенню повітропроникності шкаралупи відповідно в 1,7 та 1,9, а її паропроникність – в 1,5 та 2,0 рази.

На підставі проведених досліджень можна зробити **ВИСНОВКИ**, що:

1. Кожна з випробуваних речовин (після висихання на обробленій поверхні яєць гусей) впливає в тій чи іншій мірі на морфологію природної кутикули, але не руйнує її повністю.

2. Гіпохлорит натрію надає найбільш не шкідливу дію на поверхню кутикули. Однак збільшує кількість отворів в області сосочкового шару, що і сприяє підвищенню паропроникності всієї поверхні шкаралупи.

3. Розчини оцтової та соляної кислот за даними електронної мікроскопії не роблять вираженого деструкційного впливу на кальцитні шари шкаралупи, але збільшують кількість і глибину розривів на поверхні кутикули та підвищують її щільність між розривами. У зв'язку з цим паропроникність шкаралупи у порівнянні з дією гіпохлориту натрію в даному випадку значно підвищується.

Список літератури

1. Бреславець В.О., Дунаєв Ю. К., Князев Ю. Р., Захаренко В. А. Розробка способів підвищення повітро- та паропроникності шкаралупи яєць водоплавної птиці./ Птахівництво. – Міжвід. наук. зб. – ІП УААН. – 2001.- Вип. 50. – С. 188-198.
2. Шоміна Н.В. Удосконалення технології інкубації яєць курей шляхом підвищення газо- та вологопроникності шкаралупи. Дисертація на здобуття наукового ступеня канд.. с.-г- наук... Харків, 2008.
3. Дунаєв Ю.К. Разработка способов деконтаминации инкубационных яиц уток. Диссертация на соискание ученой степени кандидата вет. наук. Харьков 2010.
4. Способ инкубации гусиных яиц: А. с. 1335233. СССР. Кл. А01 К 67/02 / В.П. Сербул, Н.. Мунтян – № 3865072/30-15; Заявл. 17.01.85; Опубл. 07.09.87, Открытия и изобретения № 33. – С. 21.
5. Рольник В.В. Изучение состава газов воздушной камеры куриных яиц в течение инкубации // Материалы по эволюционной физиологии. - 1960. - №4. - С. 208.

6. Meir M. Artificial increase of eggshell conductance improves hatchability of early laid goose eggs / M. Meir, A. Ar // Brit. Poult. Sci.- 1996.-Vol. 37, N 5.-P. 937-951.
7. Кучмистов В.А. Влияние удаления кутикулы с поверхности яиц на выводимость/
8. В.А. Кучмистов, В.А. Бреславец // II Украинская конференция по птицеводству. Борки, 14-16 мая 1996. – Харьков, 1996. - С. 79.

DETERMINING THE MECHANISM OF ACTION DIFFERENT SHELL SURFACE TREATMENT CHEMICALS DURING THE INCUBATION OF EGGS OF GEESE

Pavlichenko O. V.

Kharkov State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The paper presents data of electron microscopy and mass spectrometric analysis of samples of bioceramic protective properties after treatment of the surface of the scroop of incubating eggs of geese with solutions of sodium hypochlorite, hydrochloric acid or acetic acid. It has been established that the test preparations affect, to varying degrees, the morphology of the natural cuticle, but does not completely destroy it. Thus, sodium hypochlorite, although it has a gentle effect on the surface of the cuticle, fluffs it and thereby increases the number of holes, which increases the vapor permeability of the shell. The test acetic and hydrochloric acids do not cause a pronounced destructive effect on calcite shell layers, but they increase the number and depth of ruptures on the surface of the cuticle, which contributes to an increase in its vapor permeability.

Keywords: eggs, geese, sodium hypochlorite treatment, acetic and hydrochloric acids, electron microscopy of the shell

УДК: 636:578.824.11:57.083

КАЛІБРУВАННЯ ГАЛУЗЕВОГО СТАНДАРТНОГО ЗРАЗКУ АНТИРАБІЧНОГО ІМУНОГЛОБУЛІНУ ІЗ СИРОВАТКИ КРОВІ КРОЛІВ

Полупан І. М., Мазур Н. В.*, Недосєков В. В.

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна, e-mail: vetmedic@ukr.net

У статті надано результати калібрування отриманого нами Галузевого стандартного зразку антирабічного імуноглобуліну до Другого міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини активністю 30 МО/см³.

Показано активність препарату у РН на білих мишах на рівні 11,03 МО/см³, а у FAVN-тесті – 11,27 МО/см³.

Ключові слова: антирабічний імуноглобулін, антирабічна активність, Галузевий стандартний зразок

Важливою ланкою в системі епізоотологічного контролю за сказом є лабораторна діагностика, одним із завдань якої є визначення рівня віруснейтралізуючих антитіл у сироватках крові домашніх і диких м'ясоїдних тварин, а також імуноглобуліну антирабічного для постекспозиційної профілактики сказу в людей. Важливим аспектом визначення антитіл до вірусу сказу є необхідність калібрування позитивних контрольних сироваток, які використовуються для рутинних досліджень [1; 2].

Найбільш поширеними методами таких досліджень є реакція нейтралізації (РН) на білих мишах, FAVN-тест (fluorescent antibody virus neutralisation) або ж RFFIT (rapid fluorescent focus inhibition test) в культурі клітин [3; 4; 5].

Суть цих методів полягає у нейтралізації постійної дози вірусу рядом послідовних розведень дослідної сироватки і порівняння результатів із референтною сироваткою [6]. В якості такої використовують стандартну позитивну антирабічну сироватку крові собак, рекомендовану Міжнародним епізоотичним бюро (активність 6, 7 Міжнародних одиниць в см³), яку виробляє Європейська референс-лабораторія зі сказу AFSSA (м. Нансі, Франція). Цей стандартний препарат призначений для оцінки напруженості антирабічного імунітету методами *in vitro* у домашніх тварин. Партії цього продукту відкалібровані до Другого міжнародного стандарту імуноглобуліну людини (The 2nd International Standard for anti-rabies immunoglobulin, human).

Отже, на сьогодні головним стандартом антирабічної сироватки, який придатний для досліджень титрів антирабічних антитіл методами *in vivo* та *in vitro*, є Другий міжнародний стандарт антирабічного імуноглобуліну людини. Цей препарат (об'єднаний зразок сироваток крові вакцинованих людей) був вироблений і апробований в лабораторії біологічних стандартів SSI (Копенгаген, Данія) в 1993 році. Після численних досліджень йому присвоєно антирабічну активність у 30 МО/см³ (Міжнародних одиниць) [7]. Власником і розповсюджувачем міжнародних стандартів є Національний інститут біологічних стандартів і контролю (NIBSC, Potters Bar, Великобританія). Випуск Другого міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини, як й інших міжнародних стандартів антирабічних препаратів, досить обмежений, тому він не рекомендується для рутинного використання, а тільки для калібрування національних стандартів [8].

* Аспірант – науковий керівник Недосєков В. В.