

О. Г. БОРДУНОВА

**МІКРОСТРУКТУРА ШКАРАЛУПИ
ПТАШИНИХ ЯЄЦЬ
ЗА НОРМИ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЯХ**

Суми 2012

УДК 541.183 + 636.5

О.Г. Бордунова

Мікроструктура шкаралупи пташиних яєць за норми та при патологіях.
Монографія/ Суми, 2012 р., 168 с, 151 рис., 158 бібл.

ISBN

Рекомендовано до друку вченою радою Сумського національного аграрного університету, протокол № 2 від 28 вересня 2010 р.

Рецензенти: **Коваленко В.П.**, член-кореспондент УААН, доктор сільськогосподарських наук, професор (Державний аграрний університет, м. Херсон);

Кассіч В.Ю., доктор ветеринарних наук, професор (Національний аграрний університет, м. Суми);

Каці Г.Д., доктор біологічних наук, професор (Національний аграрний університет, м. Луганськ).

В монографії піддані детальному аналізу морфологічні характеристики захисних бар'єрів пташиних яєць (шкаралупи, над- та підшкаралупних мембран), а також наведені результати досліджень щодо змін останніх в залежності від видів, порід, кросів та стану і умов утримання і ветеринарно-санітарного благополуччя сільськогосподарської птиці. Розглянуті новітні підходи щодо захисту інкубаційних яєць птиці з використанням технології «штучна кутикула» *ARTICLE (ARTificial cutiCLE)*.

Призначена для наукових працівників та практиків у галузі птахівництва, фахівців ветеринарної медицини, а також для студентів аграрних університетів та коледжів, аспірантів та викладачів.

© О.Г. Бордунова.

@ Сумський національний аграрний університет, 2012 р.

ЗМІСТ

| | Стор. |
|---|-------|
| Вступ | 4 |
| 1. Порівняльна характеристика шкаралупи яєць птиці та хребетних тварин..... | 6 |
| 2. Морфологічні, фізіологічні та біохімічні характеристики захисних структур яєць сільськогосподарської птиці (шкаралупа, над- та підшкаралупні оболонки) | 8 |
| 2.1. Формування шкаралупи курячого яйця | 8 |
| 2.2. Підшкаралупні оболонки яєць птиці | 11 |
| 2.3. Біокерамічні шари шкаралупи яєць птиці | 16 |
| 2.4. Надшкаралупна оболонка (кутикула) яєць птиці | 27 |
| 3. Структурно-функціональні характеристики шкаралупи яєць сільськогосподарської птиці при патологіях | 35 |
| 3.1. Зміни морфологічних параметрів шкаралупи яєць птиці при патологіях | 35 |
| 3.2. Мікроструктура шкаралупи яєць курей при заразних хворобах | 45 |
| 3.3. Мікроструктура шкаралупи яєць курей при зараженні грибом <i>Aspergillus fumigatus</i> | 59 |
| 4. Вплив дезінфектантів на морфологічні параметри шкаралупи курячих яєць..... | 74 |
| 4.1. Захисні покриття для інкубаційних яєць «штучна кутикула» ARTICLE (ARTIficial cutiCLE). | 74 |
| 4.2. Дезінфектанти на основі четвертинних амонієвих сполук .. | 83 |
| 4.3. Дезінфектанти на основі пероксидних речовин | 117 |
| 4.4. Хімічні методи дезінфекції | 128 |
| Література | 135 |
| Додатки | 145 |

ВСТУП

Проблема якості інкубаційних яєць дуже актуальна особливо для племінного птахівництва. Селекція на високу яєчну і м'ясну продуктивність, вплив негативних факторів навколишнього середовища абіотичного (ксенобіотики, токсиканти) і біотичного (патогенна мікрофлора) походження, а також стресові навантаження на птаха призводять до значних втрат продукції репродукторних господарств, у першу чергу, внаслідок погіршення захисних властивостей шкаралупи і шкаралупних мембран інкубаційного яйця, що обумовлює порушення метаболізму ембріонів, що розвиваються, підвищену летальність і зниження рівня природної резистентності молодняку. За останні роки, завдяки успіхам селекціонерів, створено нові кроси з високою яєчною продуктивністю, що спричинило глибокі зміни в біохімії і фізіології овогенезу та формуванні третинних оболонок яйцеклітини і, як невід'ємну ознаку - значне погіршення якості шкаралупи. Втрати репродукторних господарств, обумовлені останнім фактором, досягають 13-15% від сумарної кількості племінного яйця. Якщо прийняти до уваги можливу вторинну контамінацію інкубаційних яєць патогенною мікрофлорою внаслідок погіршення якості шкаралупи і порушення в такий спосіб захисних бар'єрів яєць, потенційні втрати досягнуть значно більших величин [55, 57, 82].

Дослідженнями останніх років переконливо доведено, що шкаралупа пташиних яєць являє собою складне за морфологічними та біохімічними параметрами утворення, структура котрого подібна до композитних матеріалів [58, 86]. Останнє надало підстави для поновлення уяви про шкаралупу, яка до цього часу розглядалась як суцільний шар неорганічної речовини, а саме кальциту (CaCO_3), і сучасне визначення шкаралупи пташиного яйця виглядає таким чином: «шкаралупа являє собою біокерамічну структуру, базовою складовою якої є кальцит, а морфоутворюючими чинниками - протеїни та пептиди» [155]. Поверхня біокристалічного шару шкаралупи вкрита тонкою плівкою-мембраною, до складу котрої входять полісахариди, глікопротеїни і ліпіди, вміст яких варіює в залежності від генетичних чинників, умов утримання і годівлі птиці. Основна функція кутикули полягає в захисті інкубаційного яйця від контамінування патогенною мікрофлорою і, що найбільш важливо, регулюванні швидкості втрати яйцем води та інтенсивності двосторонньої дифузії газів і здійсненні таким чином впливу на перебіг ембріогенезу. Останніми роботами дослідників з групи проф. E. Peebles, 1998 [150] показано, що морфологічні характеристики та хімічний склад кутикули інкубаційного яйця, зокрема вміст в ній ліпідів, здійснюють непередбачувану потужну дію на обмін речовин не тільки ембріонів, що розвиваються, але і на такий на перший погляд віддалений показник, як споживання корму курчатами в постембріональний період [74]. Молекулярний механізм зазначеного впливу полягає в регулюванні процесів газообміну ембріону протягом інкубації.

В монографії представлена мікроструктура шкаралупи яєць сільськогосподарської птиці різних порід та кросів, а також різного віку.

Монографія складається з чотирьох розділів. У першому розділі дана порівняльна характеристика шкаралупи яєць птиці та безхребетних тварин. У другому розділі піддані докладному розгляду морфологічні, фізіологічні та біохімічні характеристики захисних структур яєць сільськогосподарської птиці (шкаралупи, над- та підшкаралупних оболонок). Третій розділ присвячений аналізу змін морфологічних параметрів захисних структур яєць птиці різних порід та кросів в різні періоди яйценосності, отриманих від здорової та хворої птиці при патологіях різної етіології, недотриманні правил ветеринарно-санітарного благополуччя та утримання птахів, тощо. У четвертому розділі представлені морфологічні параметри захисних покрив дезінфікуючих речовин, що використовують для передінкубаційної обробки яєць, а також власні розробки автора, у першу чергу технологія «штучної кутикули» *ARTICLE* (*ARTI*ficial *cutiCLE*) [23, 31]. В додатках представлені структурно-функціональні характеристики шкаралупи та над- і підшкаралупних оболонок яєць різних видів сільськогосподарської птиці на основі електронно-мікроскопічних зображень. Електронно-мікроскопічні дослідження яєць проводили з використанням растрового електронного мікроскопу «РЕММА-102» (ВАТ SELMI, Суми, Україна) в Інституті прикладної фізики НАН України м. Суми.

Автор висловлює глибоку подяку за сприяння в проведенні електронно-мікроскопічних досліджень директорові ПФ НАНУ, академіку НАНУ Сторіжку В. Ю., зав. відділу №20 с. н. с., к. ф.-м. н. Данильченку С. М., пров. н. с., д. с.-г. н. Чіванову В. Д., к. т. н. Чемерису І. І., ст. інж. Павленку П. О., н. с. Калініченко Т. Г., асп. Станіславову О. М.

1. Порівняльна характеристика шкаралупи яєць птахів та хребетних тварин

Шкаралупа пташиних яєць містить до 99% карбонату кальцію – кальциту (CaCO_3), має складну будову і являє собою кристали, подібні до мінералів, що ростуть у тканинах тварин та рослин і з яких складаються зуби, кістки, луска, раковини молюсків. Проте, зовнішня будова шкаралупи зовсім інша, аніж у кристалів, що існують в неживій природі через те, що шкаралупа формується в живому організмі.

Структура пташиної шкаралупи також відрізняється від шкаралупи інших хребетних тварин, що відкладають яйця: динозаврів, крокодилів, черепах та деяких ящірок (геконів та їх найближчих родичів). Ці різниці мають принциповий характер, оскільки вони пов'язані з особливостями утворення біокристалів у різних типів тварин. У більшості плазунів, наприклад, шкаралупа яєць має більш простішу будову аніж у птахів і складається з лише одного, так званого «сосочкового» шару. Верхній, губчастий шар у них відсутній, а вертикальні кристалічні колонки можна простежити через всю товщу шкаралупи - від підшкаралупної оболонки до її поверхні.

Шкаралупа яєць черепах складається із сферокристалів арагонітової природи (іншої форми карбонату кальцію). Шкаралупа яєць крокодилів, як і птахів, теж має кальцитну природу, кристалічні колонки і призми в ній грубі та широкі і лише віддалено нагадують сосочки, притаманні шкаралупі яєць птахів. В цих сосочках відсутні органічні ядра, а кристали починають рости безпосередньо на волоконцях підшкаралупної оболонки. Походження птахів від крокодилів, як стверджують деякі еволюціоністи, на основі аналізу шкаралупи не підтверджується. На думку провідних вчених ця гіпотеза не витримує «шкаралупового» тестування [59].

Взагалі, поглиблені дослідження шкаралупи яєць різних видів птахів і плазунів надає фахівцям у галузі еволюційної біології і порівняльної фізіології та біохімії надзвичайно багатий матеріал як для встановлення еволюційних зв'язків між зазначеними видами, так і структурно-функціональних відносин між особливостями біохімії та фізіології плазунів і птахів певних видів та їх умовами існування. Типовим прикладом слугує шкаралупа яєць ящірок геконів. В тонкій шкаралупі яєць цих ящірок не тільки відсутні органічні ядра, але і немає сферокристалів. Така організація шкаралупи зовсім не відповідає процесам мінералізації, що відбувається в яйцях інших рептилій.

Яйця динозаврів вкриті твердою шкаралупою, що складається також із кальцитів, але будова їх шкаралупи є вкрай різноманітною. Так, шкаралупа яєць гігантів - зауропод і качконосних динозаврів нагадує шкаралупу яєць сучасних черепах та крокодилів, хоча має деякі особливості. У хижих динозаврів (теропод) шкаралупа яєць трохи нагадує шкаралупу птахів. Але, як стверджують вчені, все виглядає так, неначе шкаралупна оболонка раптом

з'явилась десь в юрський період у яєць різних рептилій і птахів, причому не залежно одна від одної.

Голландський дослідник Вільгельм Натузиус, який одним із перших вивчав шкаралупу у другій половині XIX сторіччя, вважав, що шкаралупа - це жива тканина, хоча і безклітинна. Натузиус був противником клітинної теорії будови органічної речовини. Погляди вченого на «тонку» організацію матеріалу шкаралупи були скептично сприйняті його сучасниками, а в п'ятидесятих - шестидесятих роках XX сторіччя стали вважатися застарілими, оскільки не відповідали даним поляризаційної мікроскопії. Але, як часто буває у історії науки, наразі усіма провідними вченими визнано, що Натузиус випередив своїх колег [59].

Якщо перетин шкаралупи піддати розгляду у поляризаційному світлі, то окремі її частини ведуть себе, як звичайні сферичні кристали кальциту, що набували певної структури у великій «тісняві». Кожний крупний промінь такого кристала, веде себе як монокристал, що утворюється із одного центра росту. Однак дослідження багатьох кристалів біогенного походження, до яких належать і кістки та раковини безхребетних тварин показали, що вони не підлягають зазначеному закону кристалографії.

Ріст великого монокристала біогенного походження загалом відбувається дещо інакше. Цей процес скоріш за все схожий із процесом побудовою сотів бджолами: комахи починають свою роботу одночасно із різних кінців, проте комірка сотів - шестигранник у кінці кінців ідеально стикується. Так само і біокристал росте одночасно із численних «центрів», але зістикування усіх його фрагментів у єдиній мозаїці росту є ідеальною. Отже існують особливі, строгі закони біологічної мінералізації. Вони визначаються надто високим - на молекулярному рівні - співвідношенням в тривимірній організації біогенних мінералів і органічних матриць, що і є основою росту біогенних кристалів. В основі цього співвідношення, як з'ясувалось, лежить ідеально гармонічна пропорція «золотий перетин».

2. Морфологічні, фізіологічні та біохімічні характеристики захисних структур яєць сільськогосподарської птиці (шкаралупи, надта підшкаралупних оболонок)

2.1. Формування шкаралупи курячого яйця

Шкаралупа є складною багатокомпонентною біокерамічною оболонкою яйця, що безпосередньо граничить із зовнішнім середовищем, і виконує захисну функцію і функцію газообміну. Завдяки мінералізації шкаралупа має високу міцність при тому, що товщина її невелика (до 300 мкм) [67,74].

Формування шкаралупи відбувається при послідовному проходженні різних ділянок яйцепроводу. Білкові компоненти рідкого білку яйця синтезуються шийкою матки, потім при проходженні яйцем перешийку виробляються шкаралупні мембрани. При досягненні яйцем кінцевої зони перешийку («червоної зони»), починають формуватися окремі ядра, котрі розміщені на поверхні зовнішньої шкаралупної мембрани і утворюють мамілярний шар. Потім яйце потрапляє до шкаралупної залози (у матку), де знаходиться 18-20 годин протягом мінералізації шкаралупи (рис.1).

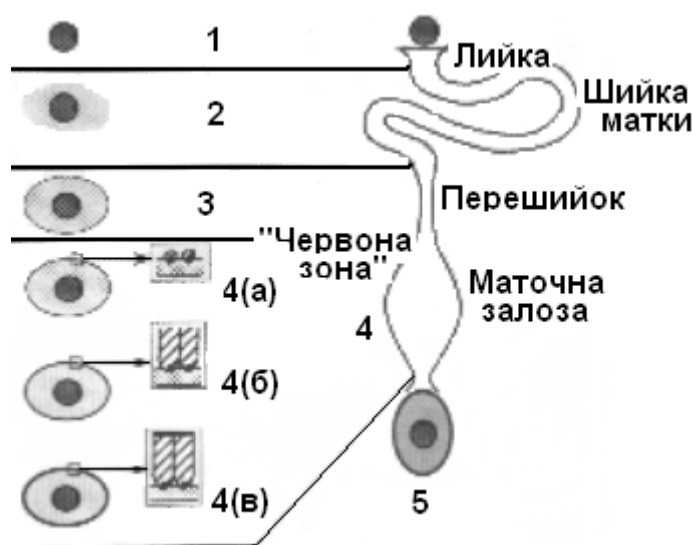


Рис. 1. Формування курячого яйця: 1 – овуляція (0 год.); 2 – утворення білого білку яйця (4 год.); 3 – утворення підшкаралупних оболонок (1 год.); 4 – формування шкаралупи в матці (19 год.); 4 (а) – фаза ініціації (формування мамілярного шару на підшкаралупних оболонках (5-10 год.); 4 (б) – фаза росту (ріст кальцитів шкаралупи), формування конусного, палісадного та кристалічного вертикального шарів (10-22 год.); 4 (в) – термінальна фаза (формування шкаралупи (22-24 год.); 5 – утворення яйця (24 год.) [119].

Біомінералізація являє собою складний процес утворення біокерамічних структур, що складаються з шарів біомакромолекул, зокрема пептидів і протеїнів в товщі неорганічних складових, переважно кальцитів.

Цей складний процес складається з серії «молекулярних подій», таких як вибіркоче розпізнавання структуроутворюючих пептидів і протеїнів, збагачення розчину на солі кальцію, після чого відбувається утворення мінеральної фази шкаралупи. В побудові останньої важливими чинниками є морфологічна однорідність та кристалографічна орієнтація кристалів кальциту. У більшості випадків біокерамічні матеріали формуються на своєрідному біомолекулярному каркасі з формоутворюючих пептидів та невеликих білків. Подібні біологічні формування приймають участь в процесах утворення кісткової тканини або панцирів у тварин. Цей складний ієрархічно упорядкований і багатофункціональний процес перебігає у порівняно м'яких умовах (фізіологічні значення рН, температура, концентрації рідкофазових попередників тощо), беручи початок з нано- і сягаючи сантиметрових розмірів. Внаслідок цього шкаралупа має незвичайні механічні якості [88, 95].

Подібні структури будуються із упорядкованої маси біомолекул, таких як протеїни, полісахариди, протеоглікани та неорганічні солі. Органічні макромолекули виступають у ролі своєрідних матриць, функція яких полягає у полегшенні взаємодії з нерозчинними основами (матриксами) і стимулюванні стереохімічно вірної побудови організованих структур. Біомакромолекули використовуються для контролювання процесу ядроутворення, параметрів росту, завдання розмірів та форми мінеральної фази. Часто ці макромолекули несуть кислотні залишки, як наприклад карбокси- та сульфокислоти, або фосфати, що дозволяє їм виступати в ролі іонів- хелаторів для ефективної взаємодії з неорганічним матриксом [90, 96].

Пташина шкаралупа являє собою унікальну і цікаву модель для вивчення процесів біомінералізації, при котрому шари CaCO_3 утворюються в процесі вибіркового формування зародкових «ядер» і осаду кристалів кальциту за допомогою протеїнів. Більш того, активні частки протеїнів розпізнають іони кальцію і стимулюють утворення ядер специфічних поліморфів CaCO_3 і контролюють сумарні морфологічні параметри мінеральної фази. При формуванні курячих яєць 5 г CaCO_3 за період знаходження у безклітинному середовищі протягом 22 годин, при проходженні яйця через яйцепровід, забезпечують формування шкаралупи курячого яйця як однієї з найбільш міцних мінеральних тканин в біологічних системах [98, 104].

Вивченню структури шкаралупи та підшкаралупних мембран приділяли увагу Романов А.Л., Bagley L.G., Chien Y.-C., Dennis J.E., Fraser A.S., NysY., Solomon S.E., Richards M.P. та ін. [68, 95, 105, 108, 118, 146, 154, 152]. Порівняно тонкий мінералізований шар шкаралупи армований органічним матриксом, що різко підвищує її міцність. (рис. 2).

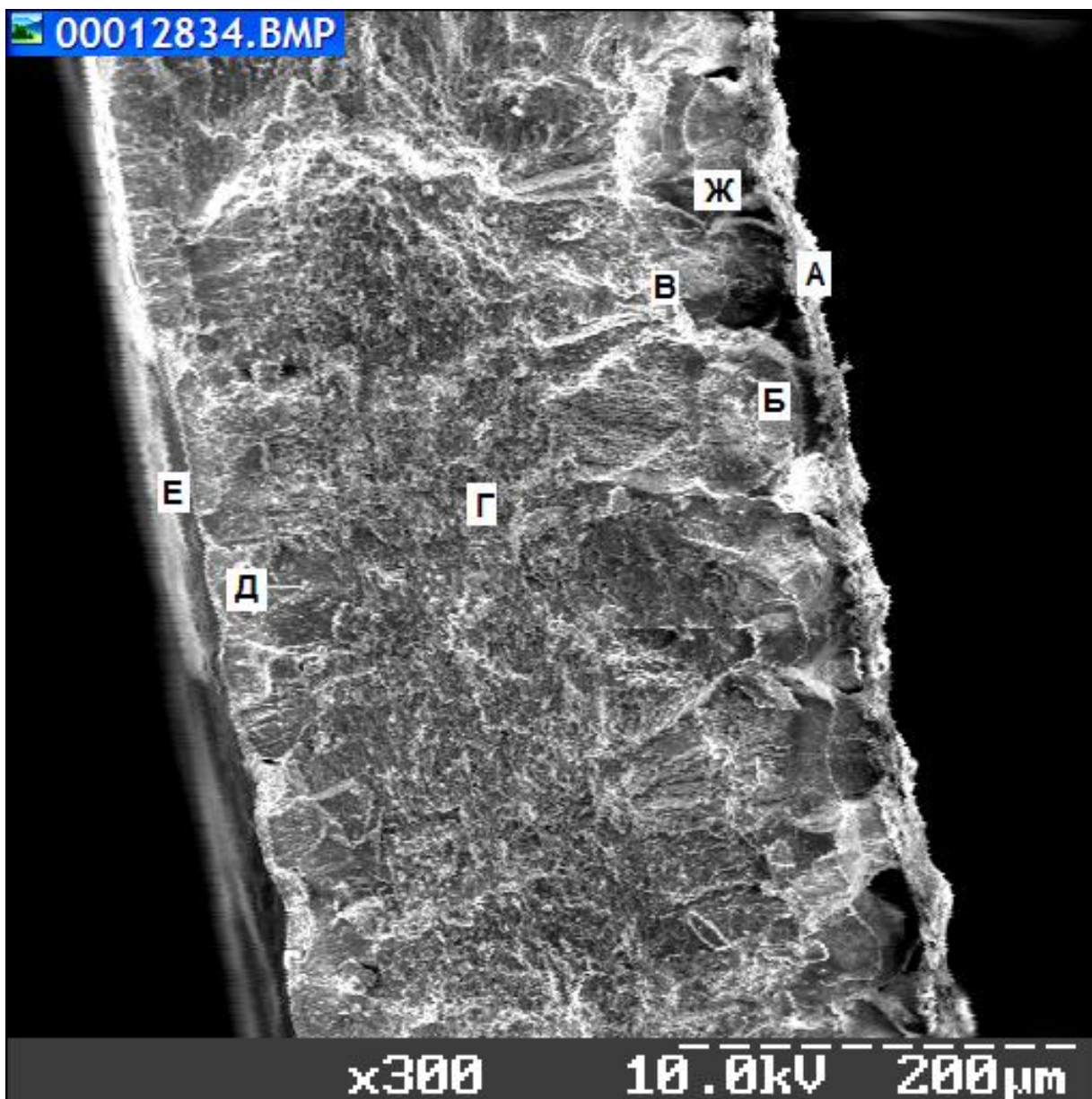


Рис. 2. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (скол) (Хайсекс браун): А – підшкаралупні оболонки (мембранний шар); Б – мамілярний шар; В – конусний шар; Г - палісадний (губчастий) шар; Д – вертикальний кристалічний шар; Е – надшкаралупна оболонка (кутикула); Ж - пори (x 300).

Примітка: x - на цьому і подальших рисунках означає ступінь збільшення.

Шкаралупа курячого яйця має мембранний шар, що складається з двох підшкаралупних оболонок (рис.2. А). Сама шкаралупа складається з мамілярного шару (рис. 2. Б), конусного шару (рис. 2. В), палісадного або губчастого шару (рис. 2. Г), вертикального кристалічного шару (рис. 2. Д) та надшкаралупної оболонки – кутикули (рис. 2. Е). В мамілярному шарі між структурами мамілярів формуються пори (рис. 2. Ж).

Для успішного розвитку ембріона потрібно постійне надходження кисню для дихання і виділення вуглекислого газу. Газообмін здійснюється

досить ефективно завдяки наявності в шкаралупі великого числа пор, що пронизують її, і сітчастої мікроструктури підшкаралупних мембран, а також унаслідок розташування бластодиску на мінімальній відстані від стінки яйця й утворення повітряної камери. Наявність органічних (білково-полісахаридних) лінійних і розгалужених макромолекул перетворює шкаралупу яйця птахів у міцний, відносно легкий «біобетон» («біокераміку»), що містить приблизно 95% карбонату кальцію у виді кристалів кальциту (CaCO_3) і 5% органічного матеріалу, що розміщується в основному у двох підшкаралупних мембранах і так званому органічному матриксі, локалізованому в самому мінералізованому шарі, або, іншими словами, у нативній шкаралупі [74].

2.2. Підшкаралупні оболонки яєць птиці

Мембранний шар - це найглибший шар шкаралупи. Він складається з двох не мінералізованих підшарів (мембран): зовнішнього, розміри якого 48 мкм і внутрішнього - 22 мкм. На рис. 3 представлена зовнішня підшкаралупна оболонка яйця, що складається з колагенових волокон.

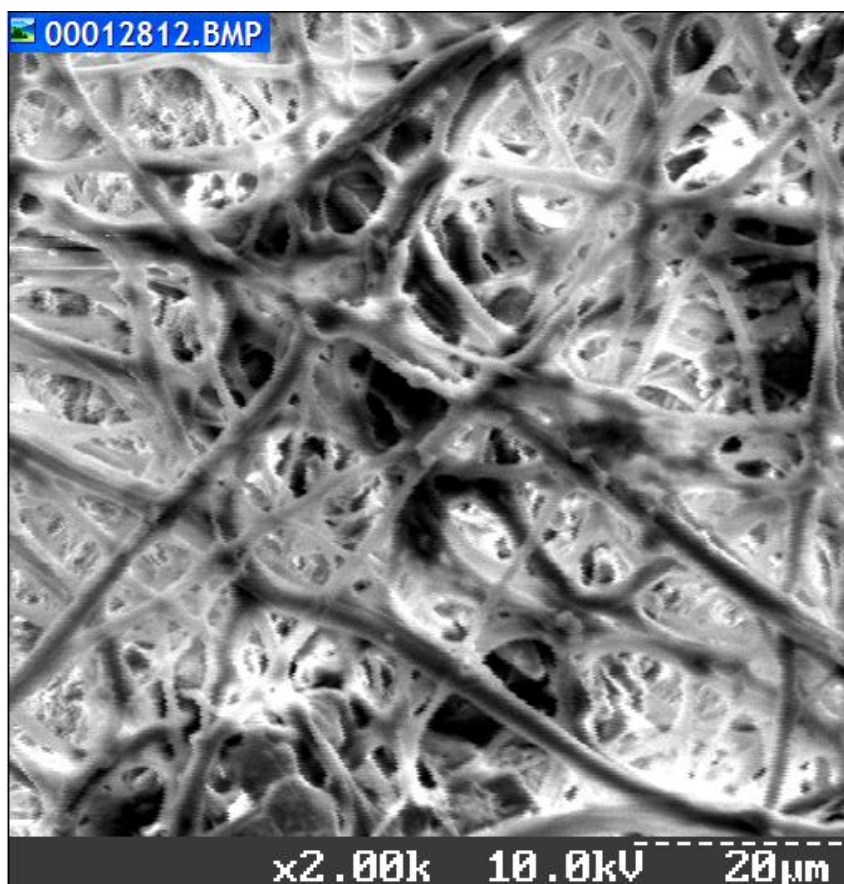


Рис.3. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки курячого яйця (x 2 000).

Внутрішня мембрана, утворена в перешийку яйцепроводу, безпосередньо зв'язана з білковою оболонкою яйця. Зовнішня мембрана тісно прилягає до внутрішньої на всій поверхні яйця, за винятком зони повітряної камери, чи пуги на тупому кінці яйця. Між внутрішньою і зовнішньою мембранами утворюється порожнина, заповнена повітрям, котра виникла внаслідок втрати води в перші години після знесення яєць [83, 87]. Волокна внутрішнього підшару більш тонкі, ніж зовнішнього (Рис. 4).

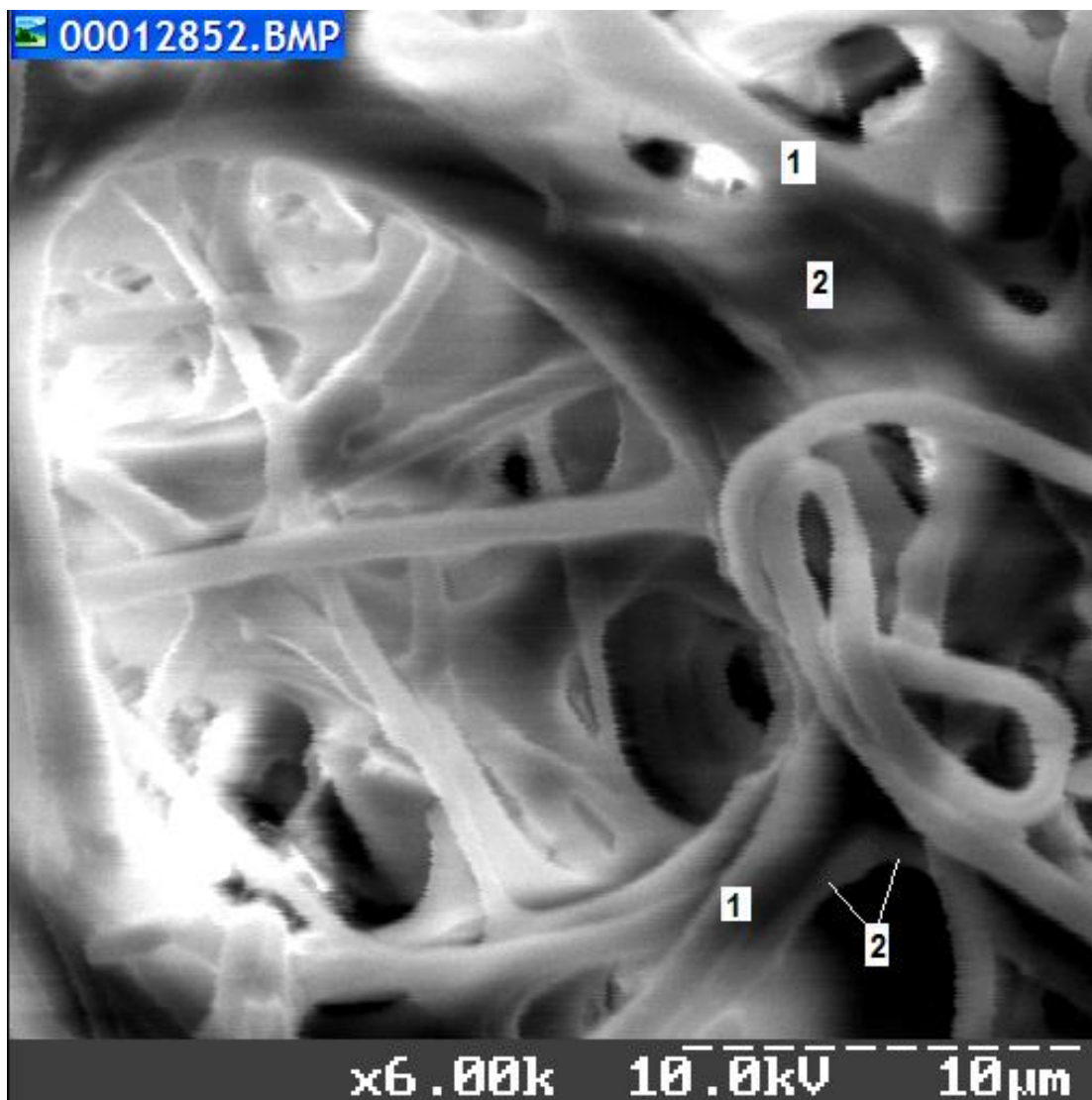


Рис. 4. Електронна мікрофотографія колагенового волокна підшкаралупної оболонки курячого яйця: 1 – фібрили; 2 – мантия навколо фібрили (x 6 000).

Примітка. На подальших рисунках наведені мікрофотографії захисних структур яєць, отриманих від несучок кросу Домінант бурій Д-102, 15-18 тиждень яйцекладки (у тих випадках, коли окремо не зазначена певна порода чи крос).

Під скануючим електронним мікроскопом обидві мембрани виглядають подібно: у вигляді шару сітки нерегулярно переплетених між собою фібрил на зразок целюлозного бактеріологічного фільтру (рис. 4).

Індивідуальні фібрили (рис. 4.1) обох мембран також подібні. Мантиї окремих фібрил при контакті зливаються між собою, фібрили неначе гілкуються (рис.4. 2).

Кожна фібрила має два компоненти (рис. 5): внутрішню щільну серцевину (ядро) фібрили (рис. 5. 1) з гладкою однорідною зовнішньою оболонкою. Це ядро оточене менш щільною речовиною – мантиєю (рис. 5. 2). Протофібрили формують внутрішню серцевину (ядро) фібрили. На колагенових волокнах є білкові утворення – місця початку росту мамілярів (рис. 5. 3).

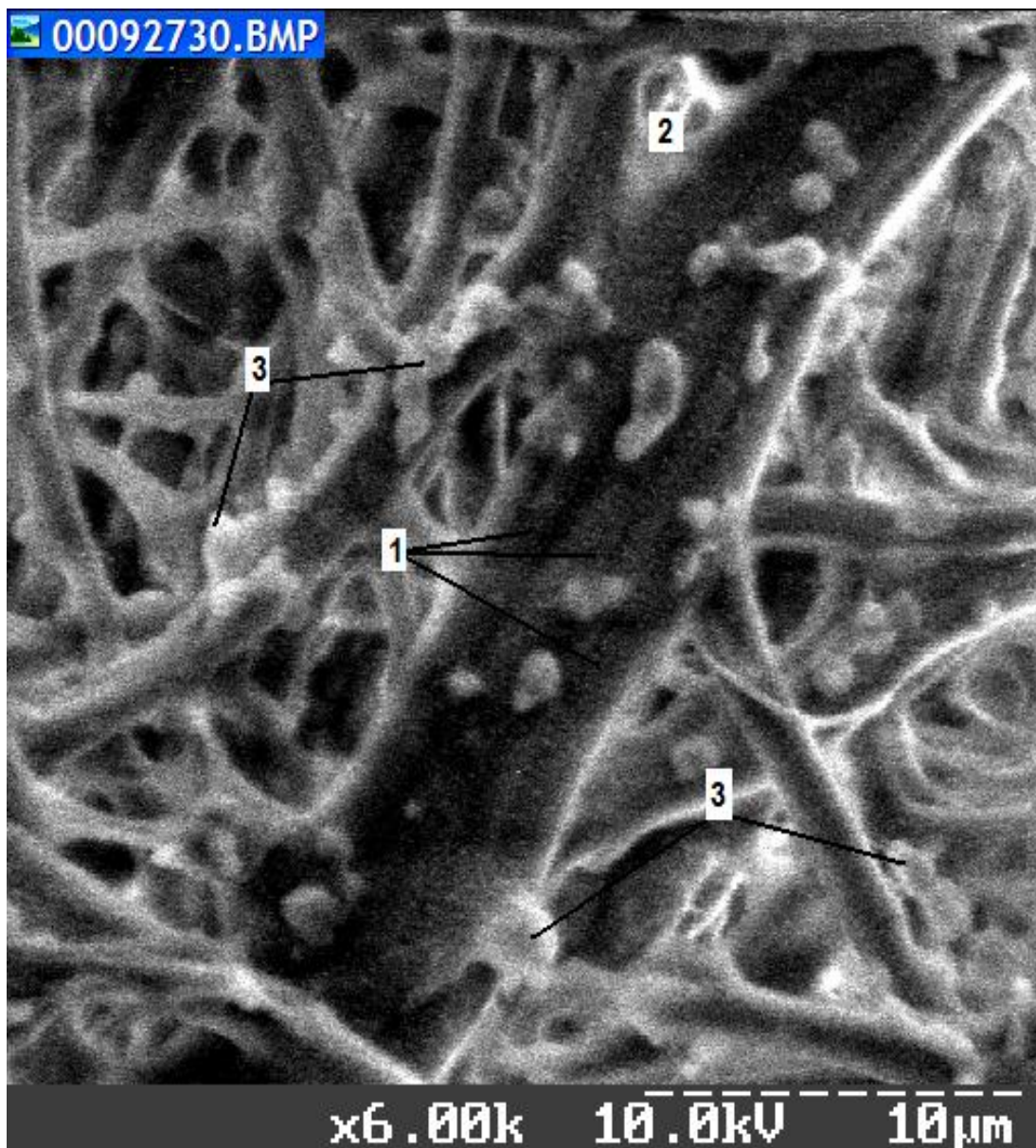


Рис. 5. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки курячого яйця (з боку шкаралупи): 1 – протофібрили; 2 – мантия; 3 – білкові утворення на колагенових волокнах (місця початку росту мамілярів) (x 6000).

Внутрішня мембрана диференціюється від зовнішньої більш тонкими фібрилами і більш щільною структурою «сітки».

Поверхня внутрішньої мембрани, звернена до білка, гладка внаслідок наявності покриваючого її гомогенного матеріалу, що виключає інфільтрацію альбуміну назовні.

Зовнішня мембрана складається з більш товстих фібрил, що утворюють сітчастий шар з більш великими осередками.

Верхня область зовнішньої мембрани є цільною структурою, нерозривно зв'язаною з мамілярним шаром.

Основний компонент шкаралупних мембран - нерозчинний білок, що є дуже стійким до звичайних способів вилучення протеїнів.

Раніше вважалось, що білки мембран ідентичні кератинам, тому що вони мають подібну амінокислотну будову. Проте, подальшими дослідженнями доведена помилковість цих суджень.

Встановлено, що до складу протеїнових фібрил входять гідроксипролін, гідроксилізін та інші похідні лізину. Ці спостереження дозволили однозначно довести колагенову природу білка підшкаралупних мембран. Білок підшкаралупних мембран не є еластичним.

Амінокислотний аналіз яєць птахів і плазунів показав, що шкаралупні мембрани містять багато цистеїну і проліну [118, 120, 124].

За допомогою імуногістохімічних досліджень у мембранах були виявлені колагени типу I, V, X; у зовнішній частині переважає тип I, а у внутрішній - тип V; тип X був виявлений в обох мембранах. Колагени включені в протеогліканоподібний матеріал, зв'язаний із сульфатами глікопротеїнів [129, 131].

У ранніх дослідженнях, присвячених вивченню складу білків підшкаралупних мембран був виявлений високий вміст цистина.

Саме тому білки підшкаралупних мембран класифікували як кератини - білки, що містяться в покривах усіх хребетних тварин, зокрема в пір'ях птахів. Ці білки дістали назву овокератинів [129].

Однак результати подальших досліджень призвели до зміни поглядів на білкову природу мембран.

Встановлено наявність оксипроліну та оксилізіну - амінокислотних залишків, притаманних колагенам - основним білкам сполучної тканини.

У білку підшкаралупних мембран виявлені похідні амінокислот, що є присутніми в іншому спеціалізованому білку сполучної тканини - еластині; а саме десмозин та ізодесмозин [123, 126].

Останні утворюються тільки в молекулі еластину шляхом посттрансляційної модифікації - об'єднання чотирьох лізинових залишків.

Порівняння амінокислотного складу колагенів, еластину, кератинів і білкових фракцій, вилучених з підшкаралупних мембран показало, що білки мембран неідентичні вказаним білкам, а являють собою окрему групу.

Еластин і колаген відрізняються від білків підшкаралупних мембран повною відсутністю цистину.

Кератини унікальні за вмістом цистину, однак у білках підшкаралупних мембран цієї сіркомісткої амінокислоти ще більше. Гістидин цілком відсутній як у еластинах, так і в кератинах і в дуже незначній кількості

присутній в колагенах, тоді як у білках мембран цієї амінокислоти відносно багато.

Незважаючи на істотні розходження у зазначених білках є загальні властивості: усі вони практично нерозчинні при фізіологічних значеннях рН, виконують опорну функцію і є екстрацелюлярними білками [126, 131, 138].

Великий вміст у білку підшкаралупних мембран цистину обумовлює велика кількість дисульфідних містків, що зшивають сусідні поліпептидні ланцюги білків.

У невеликій кількості в підшкаралупних оболонках присутні і глікопротеїди, які ще не ідентифіковані.

Нерозчинність підшкаралупних мембран пояснюється наявністю великої кількості цистеїну і, отже, дисульфідних зв'язків. Однак, мембрани не розчиняються й у присутності відновлювачів, таких як меркаптоетанол і дитіотреїтол, а це не підтверджує дисульфідної теорії. Точний склад і просторове розташування білків мембрани на даний час залишаються дискусійними питаннями. Недостатньо вивчені і функції мембран. Однак відомо, що вони дуже важливі для нормального кальцифікування шкаралупи.

Існують непрямі докази того, що структура шкаралупної мембрани є топографічною моделлю кристалічних відкладень. Амінокислотний склад підшкаралупних мембран відіграє важливу роль у формуванні яєць з м'якою шкаралупою, або взагалі без шкаралупи. Фактично, цей шар разом з мамілярним, відповідає за кальцифікування шкаралупи. Цей процес регулюється багатьма біотичними і абіотичними чинниками: мінімальний прояв патологічних процесів під час утворення шкаралупної мембрани може призвести до аномальної мінералізації останньої [83, 89, 92, 127].

Газопроникність палісадного і мембранного шарів збільшується протягом інкубації. Це необхідно головним чином для розчинення карбонату кальцію і локалізації іонів кальцію в організмі ембріона. Основним чинником у цьому процесі є близький зв'язок між шкаралупною мембраною і хоріонантоїсом на ранній стадії розвитку.

2.3. Біокерамічні шари шкаралупи яєць птиці

Перший внутрішній шар мінералізованої шкаралупи зветься мамілярним, конусним або сосочковим (рис. 6).

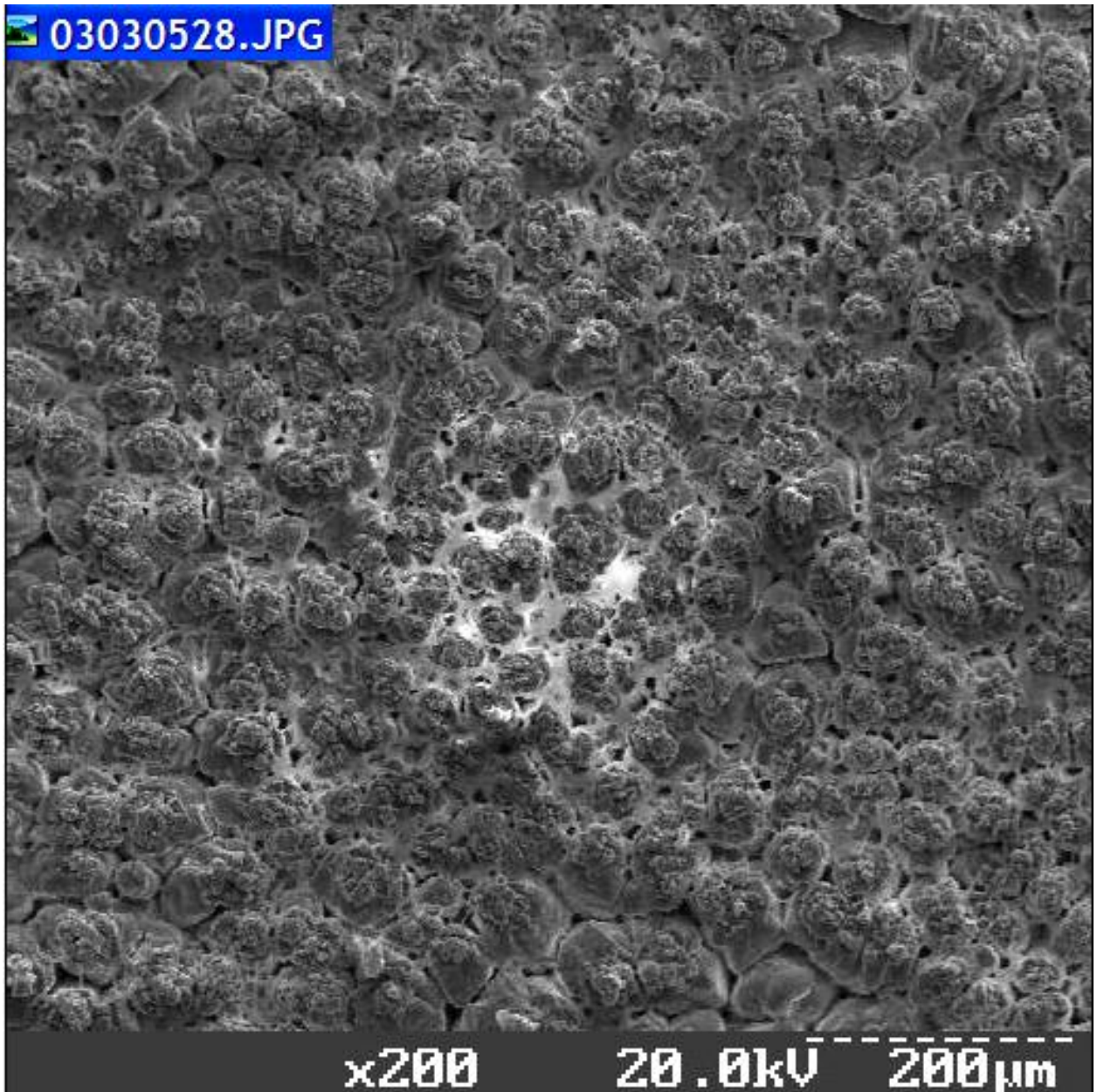


Рис. 6. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, мамілярний шар (x 200).

Верхівки мамілярних сосочків занурені в зовнішню мембрану, так що численні її фібрили проникають у кальцифіковану структуру шкаралупи (рис. 7).

На мікрофотографії (рис.7) видно ріст мамілярів на зовнішній підшкаралупній оболонці.

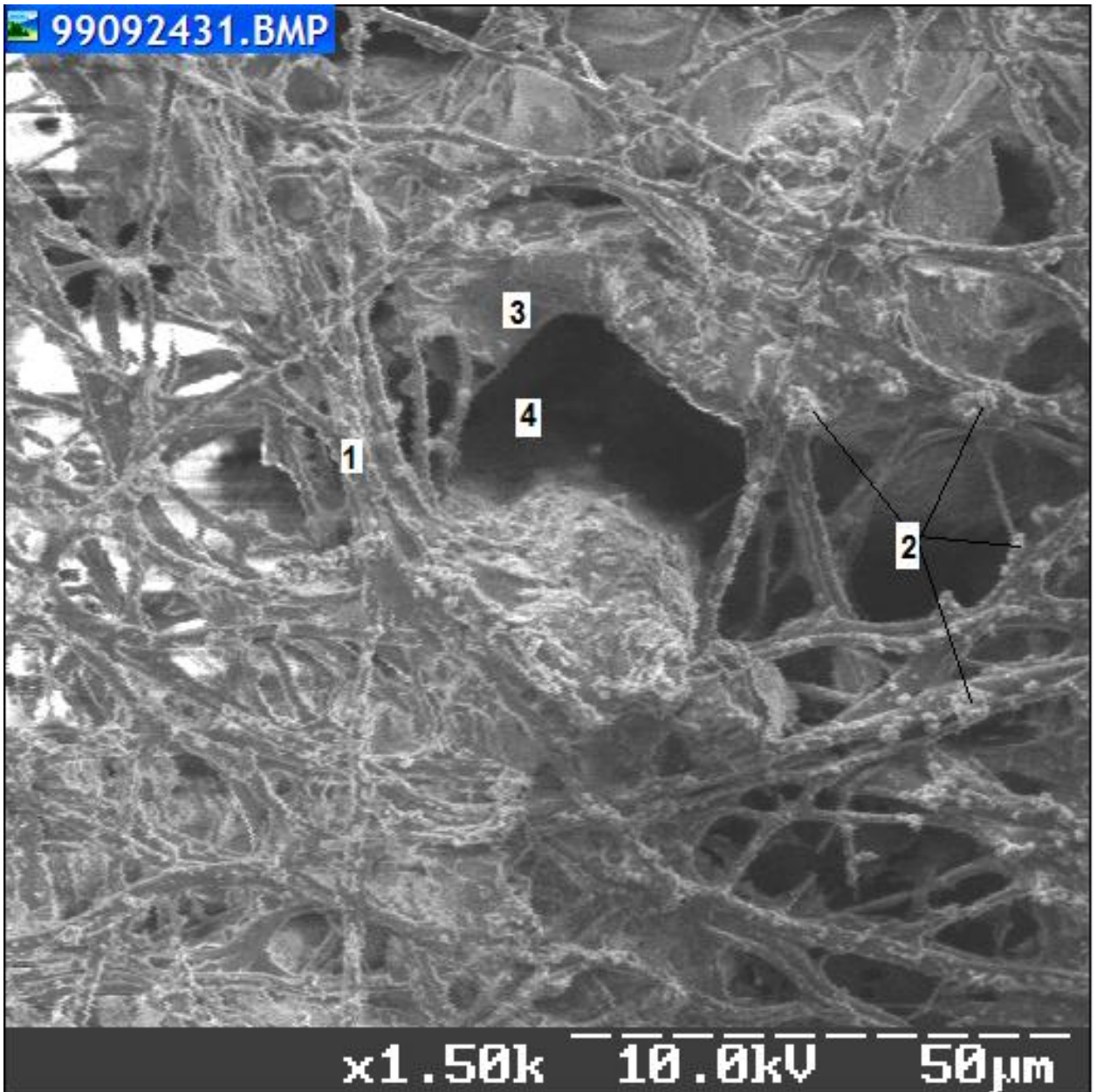


Рис. 7. Електронна мікрофотографія внутрішньої поверхні шкаралупи курячого яйця: 1 - колагенові волокна зовнішньої підшкаралупної мембрани; 2 - залишки білків, з яких були утворені маміляри; 3 - маміляри; 4 - пора, утворена між мамілярами (x 1 500).

Верхівки сосочкового шару зібрані у так звані конуси, форму яких набувають кристали кальциту у процесі росту. У центрі кожного сосочка розташований органічний матеріал із проникаючими мембранними фібрилами (рис. 8).

Зовнішня підшкаралупна мембрана зв'язана з кальцифікованою шкаралупою окремими фібрилами, що в цілому підвищує міцність шкаралупи [143].

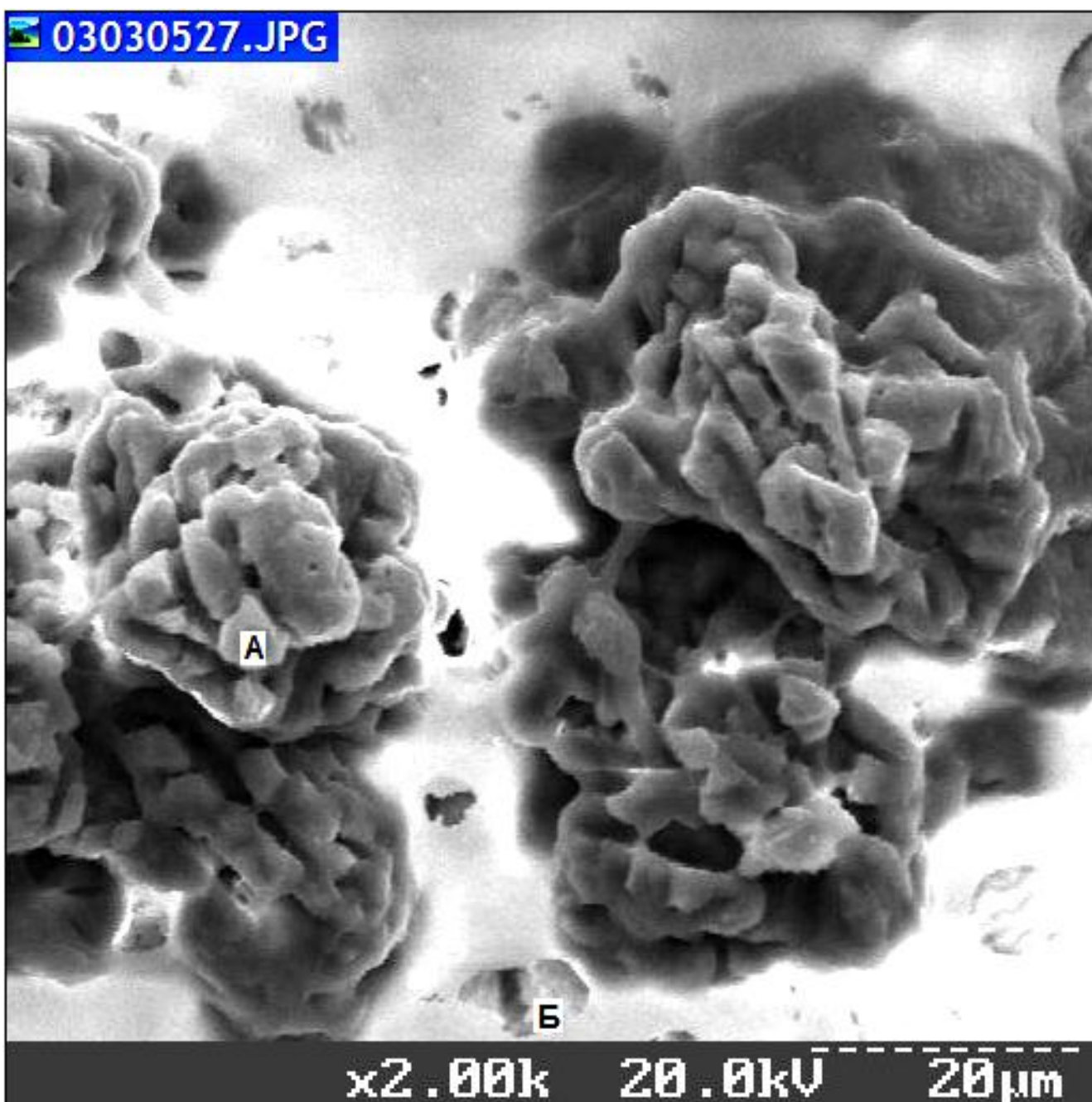


Рис. 8. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, мамілярний шар: А - маміляри (корові елементи); Б - пори шкаралупи яйця (x 2 000).

Центральні маси органічного матеріалу (ядрові або корові елементи) слугують центрами ініціації утворення кристалів кальциту (рис.9).

На рис.9 представлений маміляр, що складається із трьох пелюстків, що мають білкову природу (2) та центру між пелюстками (1).

Пелюстки є центром росту маміляру на колагенових волокнах підшкаралупних оболонок. Пелюстки переходять у гребінці (3), що мають білкову природу. На гребінцях починають рости кристали CaCO_3 (5). Маміляри між собою формують пори (4). Розміри та кількість пор у шкаралупі залежить від параметрів росту самих мамілярів.

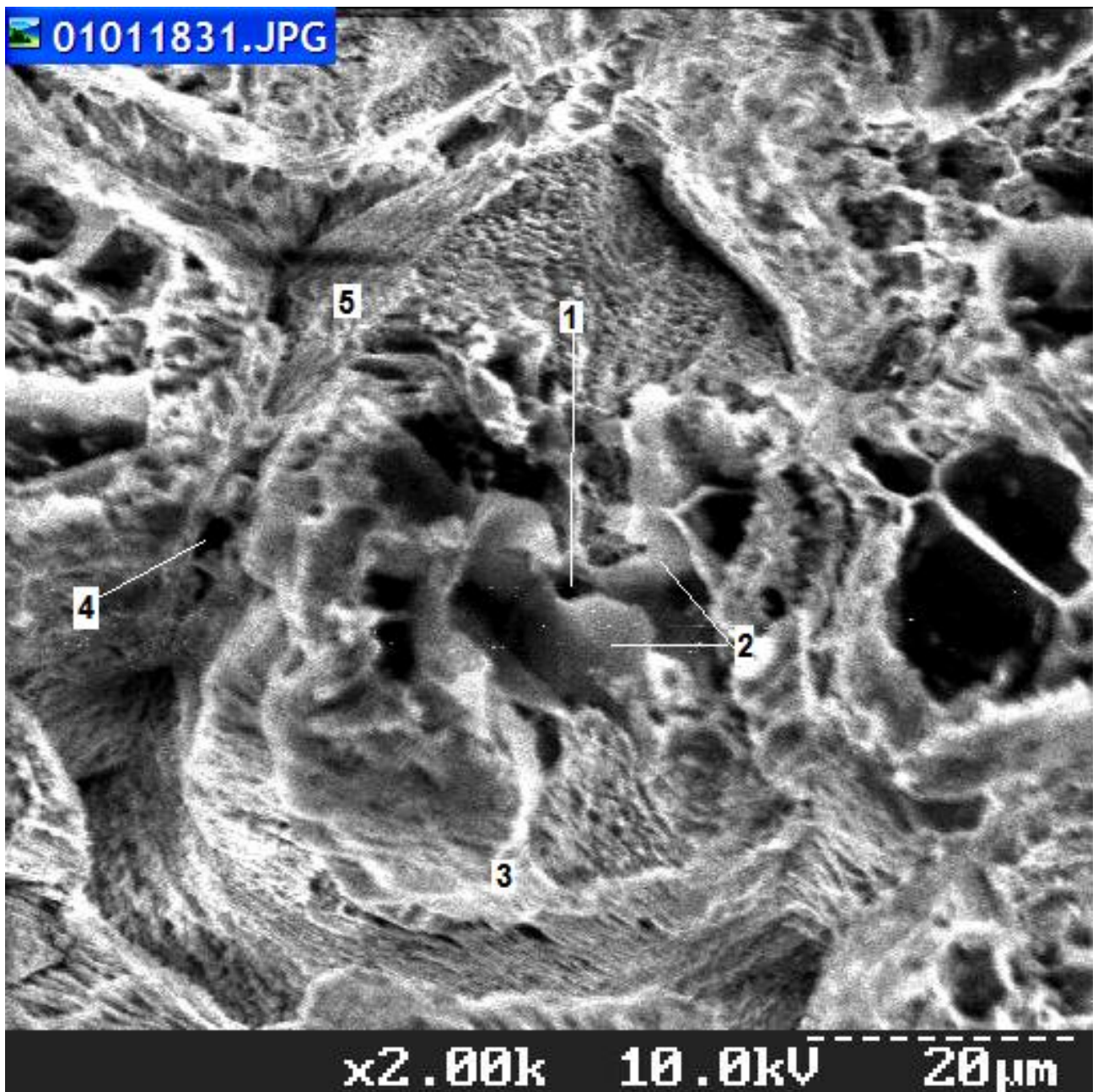


Рис. 9. Електронна мікрофотографія маміляру шкаралупи курячого яйця: (x 2000).

На рис. 10 та 11 представлені мікрофотографії електронної мікроскопії маміляру шкаралупи курячого яйця. Обробку цифрових зображень проводили за допомогою комп'ютерної програми VISILOG 6.11 (Noesis, Бельгія).

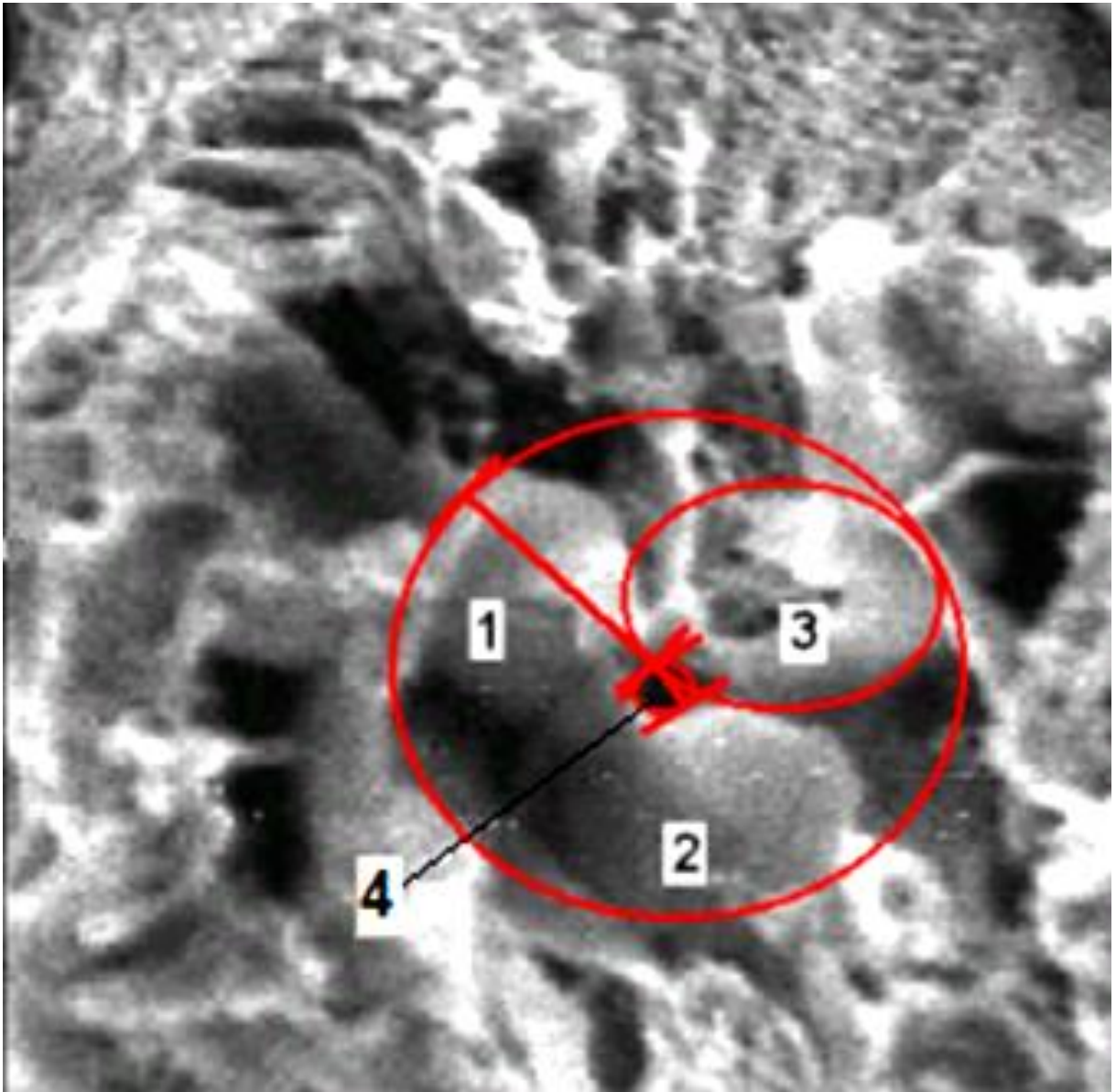


Рис. 10. Електронна мікрофотографія маміляру шкаралупи курячого яйця (x 2 000).

На мікрофотографії (рис.10) представлена центральна частина маміляру, котра складається із центру (4) і трьох пелюсток (1,2,3) Середня довжина центральних трьох пелюсток маміляру складає 55,33 pixel, середній діаметр пелюстків маміляру - 124 pixel; середній діаметр центру маміляру (4) - 12 pixel, середня довжина центру маміляру - 10,82 pixel; середній діаметр окремих центральних пелюсток маміляру складає - 59,67 pixel: перша пелюстка має діаметр 47 pixel, друга - 67 pixel, третя - 65 pixel; різниця у розмірах пелюсток через різні проєкції на мікрофотографії (1 pixel = 0,13 мкм).

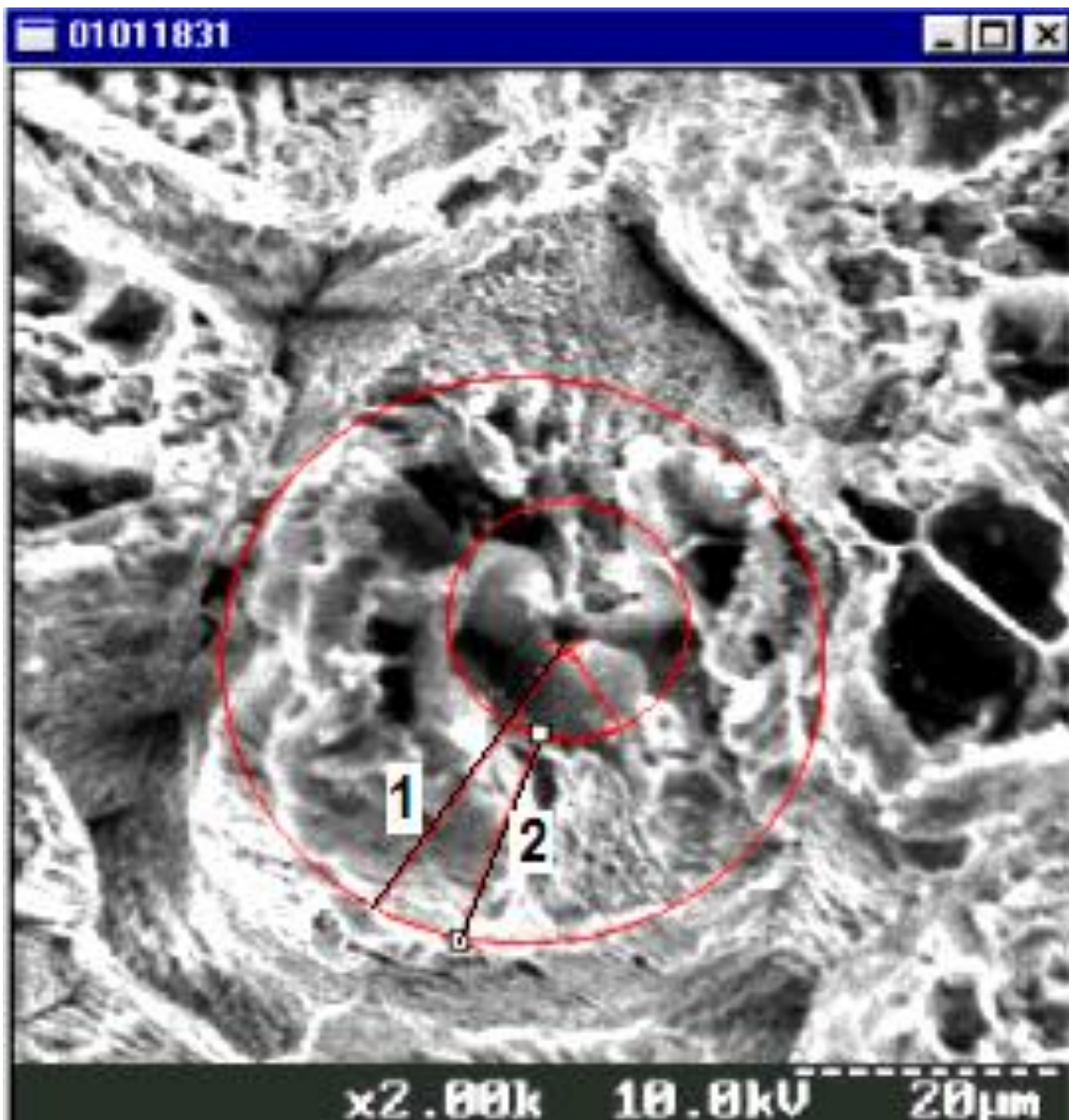


Рис. 11. Електронна мікрофотографія маміляру шкаралупи курячого яйця (x 2 000).

Середній діаметр гребінця маміляру (рис.11) – 38,3 мкм; середня відстань між центром і краєм маміляру (1) – 21,2 мкм; середня відстань між краєм пелюстки до зовнішнього краю гребінця мамілі (2) - 16,2 мкм (1 pixel = 0,13 мкм).

Сферули кристалів виростають радіально з цих ядер, поглинаючи фібрили, укорінюючись в масу зовнішньої мембрани і утворюючи базальну частину верхівки сосочка. Протягом подальшого росту кристала формуються нерегулярні полігональні конуси, які надалі зливаються із сусідніми, складаючи таким чином повний конусний шар мамілярного шару. Мамілярний шар містить приблизно 2/3 усієї органічної речовини шкаралупи, велика частина якого концентрується у центрі зазначеної структури і являє собою комплекс нейтральних мукополісахаридів із сіркомістким білком [93, 146, 148].

Інша відносно невелика частина органічних речовин мамілярного шару представлена комплексом: білки + кислі полісахариди. При декальцифікації розчином ЕДТА у яєць з високою якістю шкаралупи виявляються упорядковані, регулярно розподілені корові елементи, а у яєць з низькою якістю шкаралупи розподіл останніх по внутрішній поверхні декальцифікованої шкаралупи нерегулярний і нерівномірний [94]. Мамілярні корові елементи не здатні утворювати конуси в шкаралупі таких яєць на відміну від нормальної. Поодинокий коровий елемент у мамілярному шарі дає конусоподібний сосочок, тоді як при злитті декількох корових елементів формуються широкі мультикомпонентні сосочки.

Під скануючим мікроскопом після декальцифікації внутрішньої поверхні шкаралупи яєць високої якості можна побачити невеликі, компактно розташовані сосочки. Відомо, що шкаралупа яєць цесарок відрізняється особливою міцністю і це обумовлено щільним упакуванням у ній сосочків.

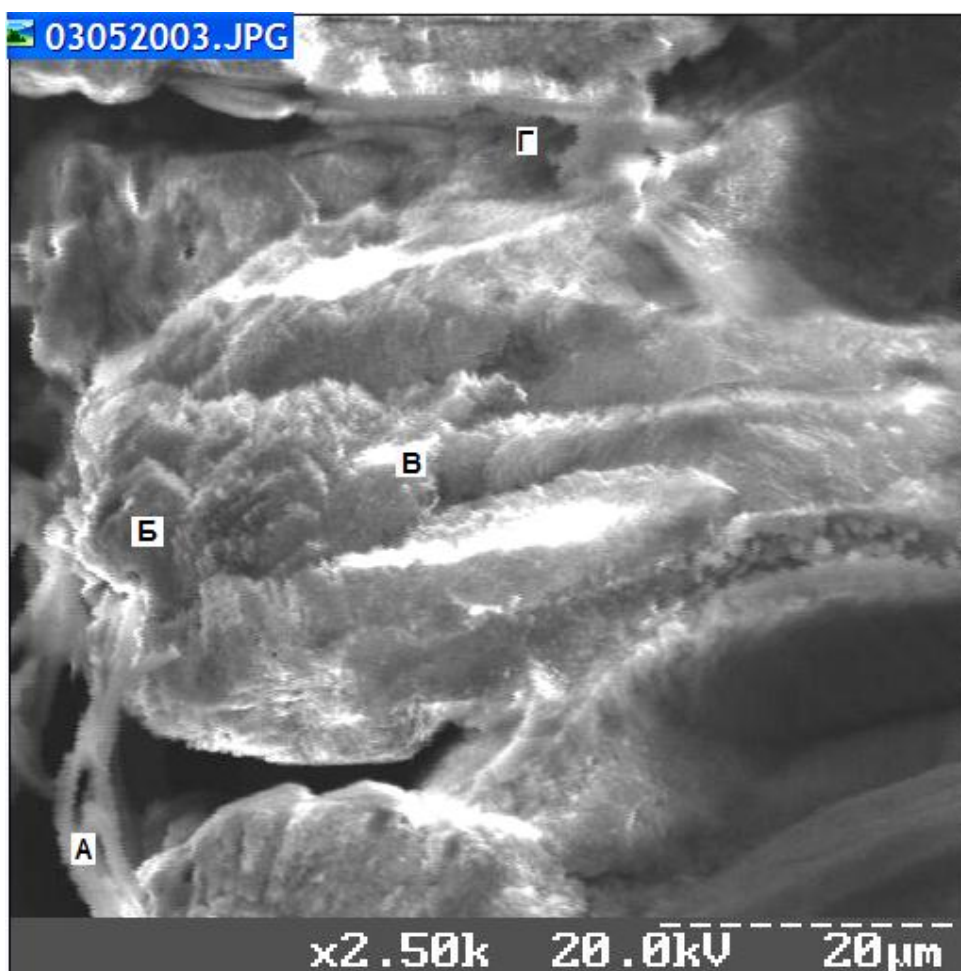


Рис. 12. Електронна мікрофотографія мамілярного шару шкаралупи курячого яйця: А - колагенове волокно підшкаралупної оболонки; Б - точка росту маміляр; В - маміляр (коровий елемент); Г - пора, сформована між двома мамілярями (x 2 500).

Ініціація процесу мінералізації відбувається безпосередньо в окремих мамілярних «шишках» (рис. 12), і це свідчить на користь гіпотези, згідно якої існують епітаксичні центри, з яких починається кальцифікація.

Вірогідно, що існує певна залежність між якістю шкаралупи і її однорідністю, щільністю і формою мамілярних «шишок».

Конічна частина мамілярного шару шкаралупи поступово, без чітких границь переходить у так званий палісадний (губчастий) шар (рис. 13. Д).

Мамілярний шар складається зі сферулітових кристалів, які виходять радіально з центральних корових елементів в усіх напрямках [99].

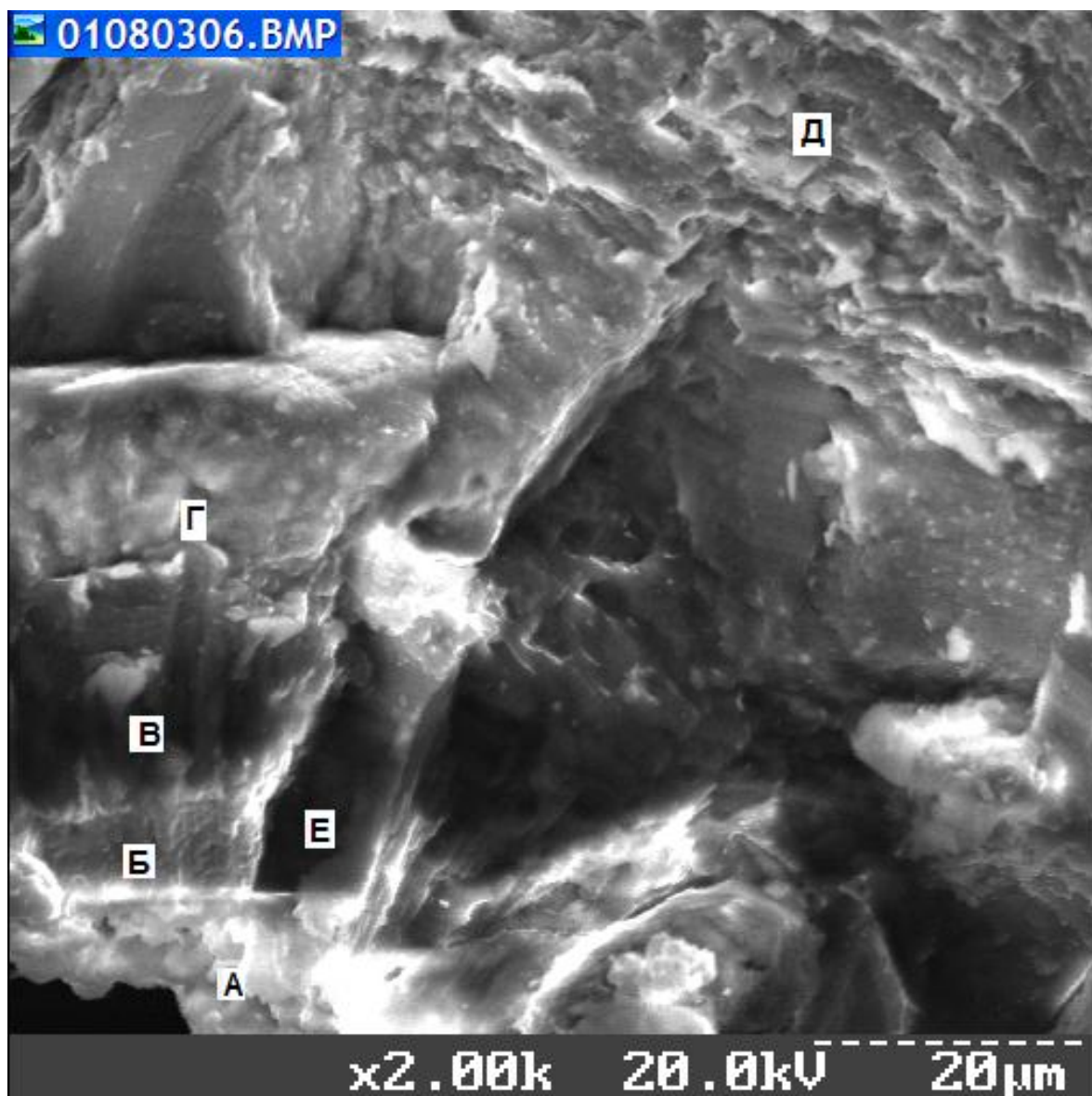


Рис. 13. Електронна мікрофотографія мамілярного та конусного шарів на сколі шкаралупи яйця індички: А - підшкаралупна оболонка; Б - маміляр (коровий елемент); В - початок росту кристалів CaCO_3 на мамілярах; Г - кристали CaCO_3 конусного шару; Д - кристали CaCO_3 палісадного шару шкаралупи; Е - зона початку формування пори між мамілярами (x 2 000).

На рис. 14 видно пластинчастий ріст кристалів CaCO_3 в конусному шарі шкаралупи курки.

Палісадний шар побудований з колончастих кристалів, перпендикулярних поверхні шкаралупи (рис. 13. Д). Ці стовпчики виникають зі сферулітових кристалів, які ростуть вертикально з нижнього шару.

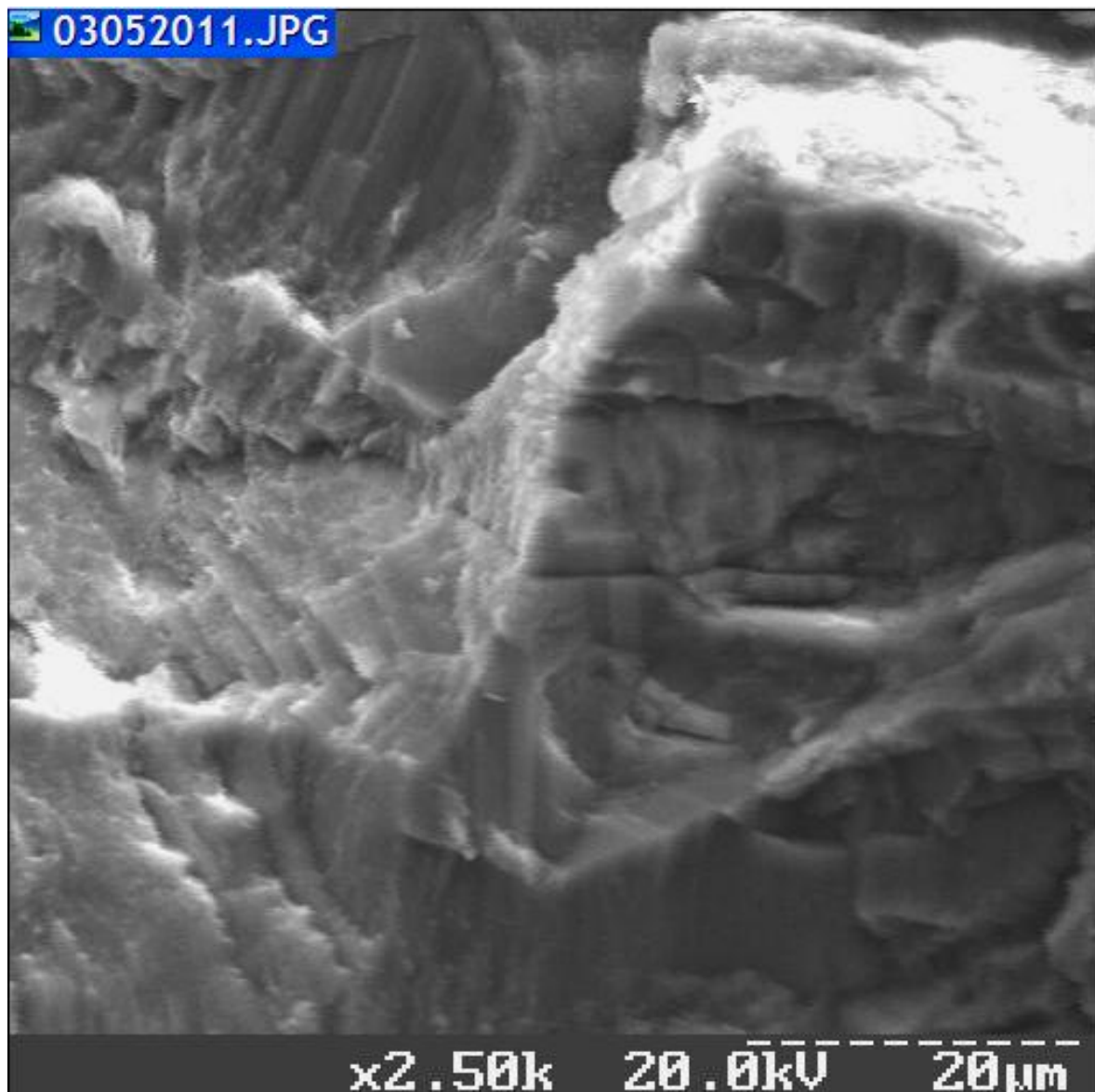


Рис. 14. Електронна мікрофотографія конусного шару шкаралупи курячого яйця (x 2 500).

Палісадні стовпчики мають полігональну форму, копіюючи таким чином форму зрізу сосочків мамілярного шару. Морфогенез палісадного шару проходить у дві стадії: відкладення фібрил матрикса і подальша кальцифікація [91, 103, 117].

Матрикс складається з комплексу: білок + кислі полісахариди, що містять у своєму складі хондроїтинсульфат [103].

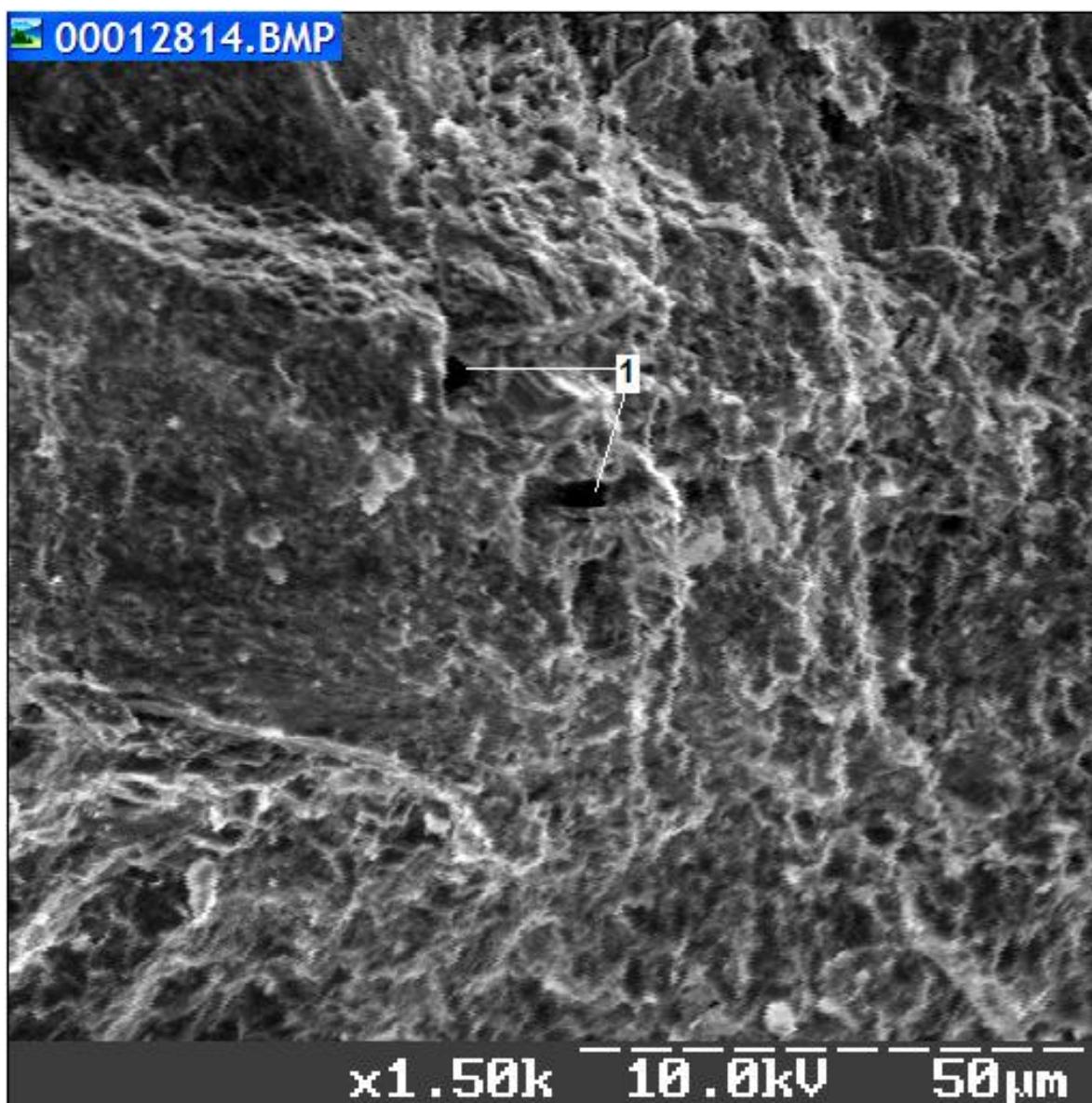


Рис. 15. Електронна мікрофотографія палісадного шару шкаралупи курячого яйця (скол): 1 - пори (x 1 500).

На мікрофотографії представлений ріст та просторове розміщення кристалів CaCO_3 та розміщення пор у палісадному шарі (рис. 15. 1).

Останнім часом винайдені низькомолекулярні білки шкаралупи, які тісно пов'язані з формоутворенням неорганічної кальцитної компоненти останньої: овоклеїдини 17 і 116, овокаликсини-21, 25, 32 і 36 [130, 133, 147].

Окрім того, доведений значний внесок, котрий вносять у процес побудови шкаралупи та підшкаралупних мембран такі білки, як овальбумін, овотрансферин, лізоцим, овомукоїд, кластерин, цистатин, овоглікан та остеопонтин [120, 125, 128, 130, 145].

Сама зовнішня частина палісадного шару шкаралупи містить дуже мало органічних речовин.

У результаті секреції карбонату кальцію шкаралуповою залозою наприкінці формування шкаралупи утворюється щільний палісадний шар.

Яйця, в яких палісадний шар шкаралупи ширший, загалом мають меншу міцність. Висота колончастого шару, вочевидь, регулюється швидкістю, з якою відбувається злиття мамілярних сосочків. Раннє злиття ущільнює просторове упакування сосочків, що підвищує міцність шкаралупи.

Останній шар мінералізованої частини шкаралупи - вертикальний кристалічний (рис. 16), товщина якого варіює від 3 до 8 мкм. При малому збільшенні під електронним мікроскопом його часто не вдається побачити.

Цей шар складається з коротких і вузьких кристалів, розташованих більш-менш перпендикулярно до поверхні шкаралупи, і містить дуже мало органічних везикул (рис. 16. Б). Ймовірно, ця органічна речовина, аналогічна такій в мамілярному шарі, але не утворює волокон через зниження швидкості їх синтезу і секреції клітинами слизової шкаралупної залози. Вважають, що перехід від палісадного колончастого шару до мілкополікристалічної структури є результатом змін умов відкладення кальцію шкаралупною залозою до кінця формування шкаралупи [141, 149, 156].

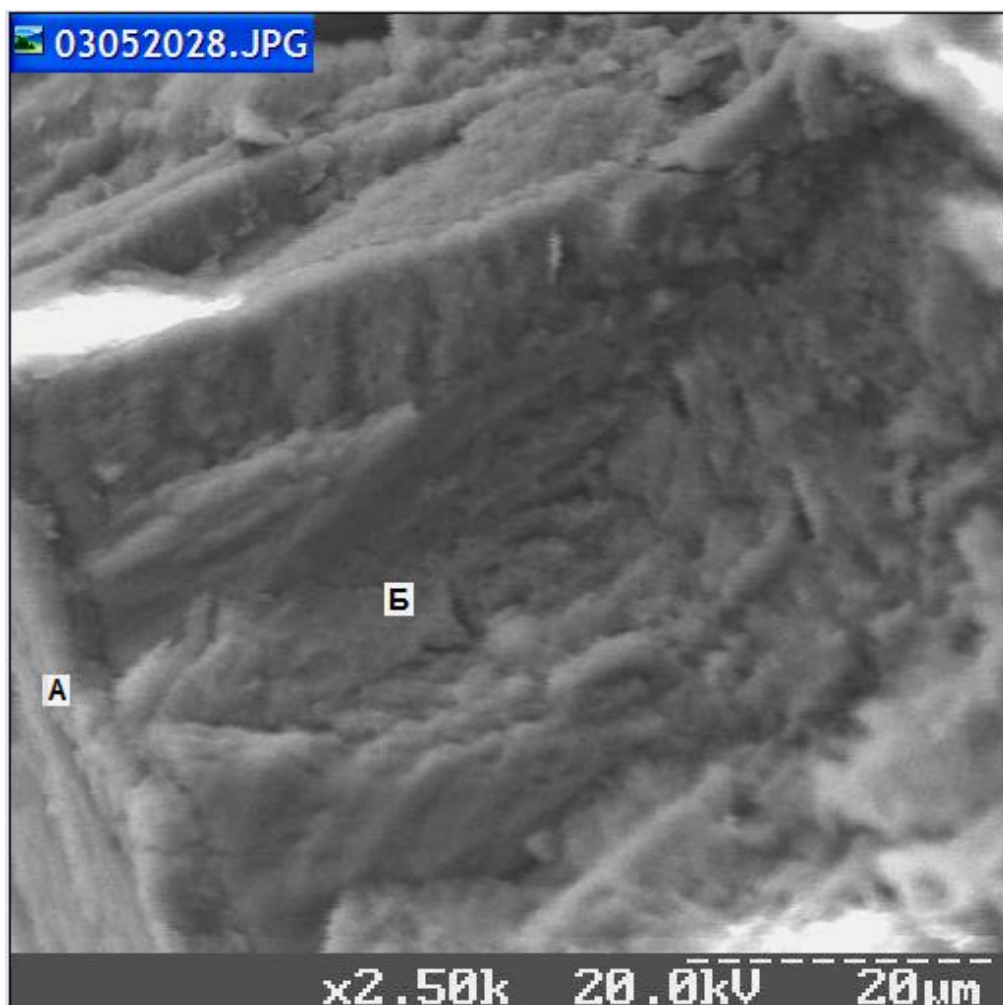


Рис. 16. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (скол): А - кутикула; Б - вертикальний кристалічний шар (x 2 500).

2.4. Надшкаралупна оболонка (кутикула) яєць птиці

Уся зовнішня поверхня шкаралупи курячого яйця покрита воскоподібним шаром органічної речовини – кутикулою (рис. 16. А). Цей шар рівномірно розподілений по всій поверхні шкаралупи і товщина його змінюється в досить широких межах: від 0,5 до 12,8 мкм. Поверхня кутикули нерівна і вкрита зіркоподібними шпаринками і лусочками (рис. 17, 18). Кутикулярний матеріал має переважно білкове походження (глікопротеїни), а також ліпідів у дуже малій кількості. Можливо, саме наявність невеликих кількостей ліпідів робить поверхню шкаралупи більшості видів птахів водовідштовхувальною, що знижує можливість проникнення патогенних мікроорганізмів усередину яйця. При видаленні кутикулярного шару значно змінюються якісні характеристики шкаралупи [118, 139, 142].

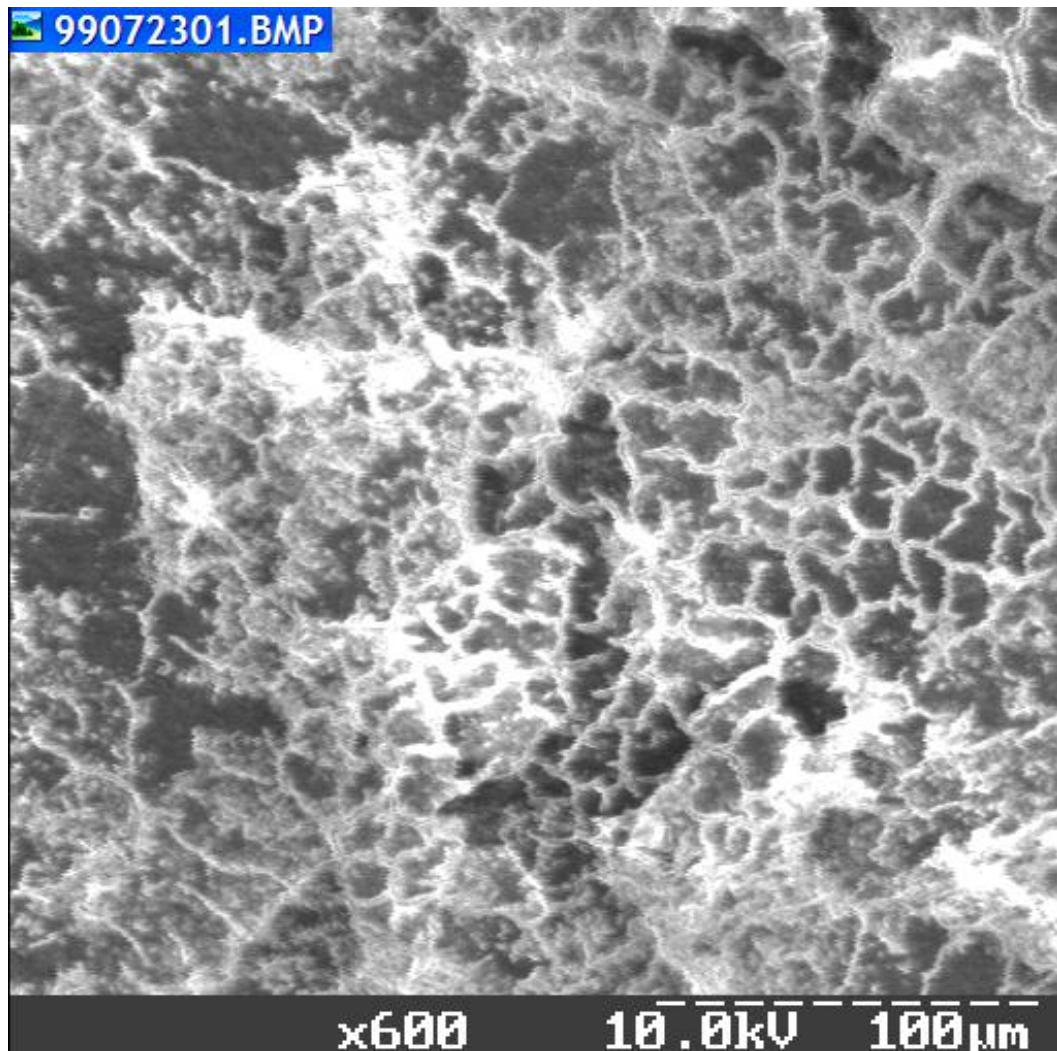


Рис. 17. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні курячого яйця (кутикули) через 10 годин після знесення (x 600).

Кутикула утворюється на яйці в дистальній області овариального тракту. Тиск, що здійснюється на шкаралупу стінками яйцепроводу укупі з

обертанням яйця при русі уздовж яйцепроводу, удавлює кутикулу в поверхню шкаралупи, закриваючи тим самим порові канали. При наступному підсиханні кутикули вона стає зморшкуватою, утворюючи щільну газопроникну пробку; що є життєво важливим для ембріона, що розвивається.

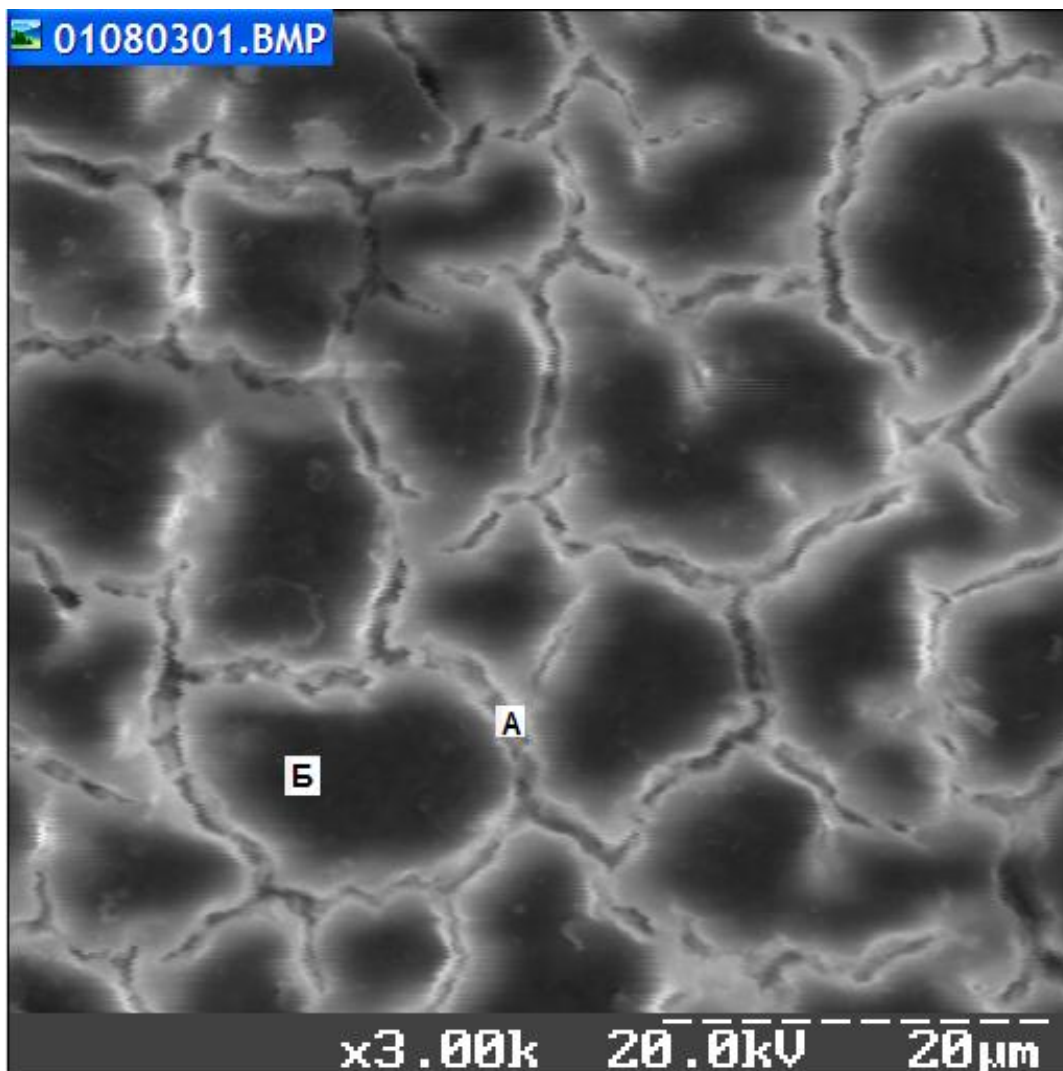


Рис. 18. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи яйця індички: А - пори; Б– кутикула (x 3 000).

Тонка глікопротеїново - ліпідна плівка, яка легко ушкоджується, надійно захищає вміст інкубаційних яєць від бактеріальної контамінації. Вона попереджує проникнення твердих (фекалії, твердофазні аерозолі, пил) і рідких (рідиннофазні аерозолі) контамінантів у поровий канал.

За відсутності води рух бактерій через шкаралупу або цілком припиняється, або в значній мірі пригнічується [85, 115, 151].

Характерно, що структура кутикули, а також сама її наявність чи відсутність, залежить від умов мешкання певного виду птахів.

Відомо, що яйця птахів які живуть у зонах пустель та напівпустель мають тонку кутикулу, або не мають її зовсім; і навпаки, яйцям птахів, які

гніздяться у місцях з підвищеним рівнем вологості, притаманна більш щільна і товста кутикула.

Саме останнім фактором обумовлюється складність розведення страусів на фермах країн Північної Європи і Великобританії [106].

У цілому, якщо шкаралупа не ушкоджена або деформована, рух бактерій і вірусів усередину інкубаційних яєць курей обмежують два найбільш важливі фактори: відсутність води в зовнішній середовищі і товстий, добре структурований шар кутикули.

Структура кутикули під час появи яйця з овариального тракту, коли яйце ще вологе, сильно відрізняється від «зрілої» структури: волога кутикула пухка і губкоподібна, «зріла» - значно більш щільна.

Характерно, що зазначена трансформація відбувається протягом 60 с і відрізняється необоротністю - змочування яйця водою не відновлює структуру кутикули.

Дуже важливим є спостереження Sparks N. et al (1996) [157], котрі встановили, що у разі безпосереднього контакту яйця із фекаліями відразу ж після знесення, бактерії можуть легко проникати через шкаралупу. Через 15 хвилин після знесення в тих же умовах піддаються зараженню тільки 10% яєць.

Як тільки бактерії проникають усередину яйця, вони стають захищеними від біоцидних впливів усіх відомих дезінфектантів і фізичних сануючих факторів, і є, таким чином, потенційними резервуарами для перехресного зараження.

Саме цим обумовлюється найважливіше правило фахівців в області інкубування, яке полягає у забезпеченні максимальної чистоти і відсутності вологи в технологічних операціях, пов'язаних з одержанням інкубаційних яєць.

Присутність води на поверхні шкаралупи призводить до міграції бактерій, адсорбованих на шкаралупі, у товщу шкаралупних мембрани.

При шліфуванні яєць більша кількість контамінантів видаляється, однак, залишкова кількість волокон може забивати канали пор і, таким чином, ембріон гине від асфіксії на останніх стадіях інкубації.

У літературі є численні припущення про те, що розповсюджений дезінфектант для інкубаційних яєць - формальдегід знищує кутикулу. Однак, роботами Sparks N. et al. (1996) [157] доведено, що при дотриманні регламентів в аспектах часу обробки і правильної концентрації препарату формальдегід зберігає здатність кутикули протистояти бактеріям і, більш того, ця здатність іноді навіть істотно підсилюється.

У той ж час, якщо інкубаційні яйця сильно забруднені органічними речовинами, зокрема, фекаліями, фумігація формальдегідом не є діючим засобом, оскільки фекалії адсорбують і нейтралізують формальдегід.

Проте, у тому разі, коли патогенні мікроорганізми вже потрапили усередину інкубаційного яйця протягом 60 сек. після знесення яєць, ніяка обробка поверхні шкаралупи не призведе до загибелі бактерій, локалізованих усередині яйця чи в каналах пор.

Повторна санація може лише негативно вплинути, оскільки призведе до підвищення внутрішньої температури і, отже, підвищить показник смертності ембріонів.

Шкаралупа яєць усіх видів птахів має численні пори різноманітної форми (рис. 19).

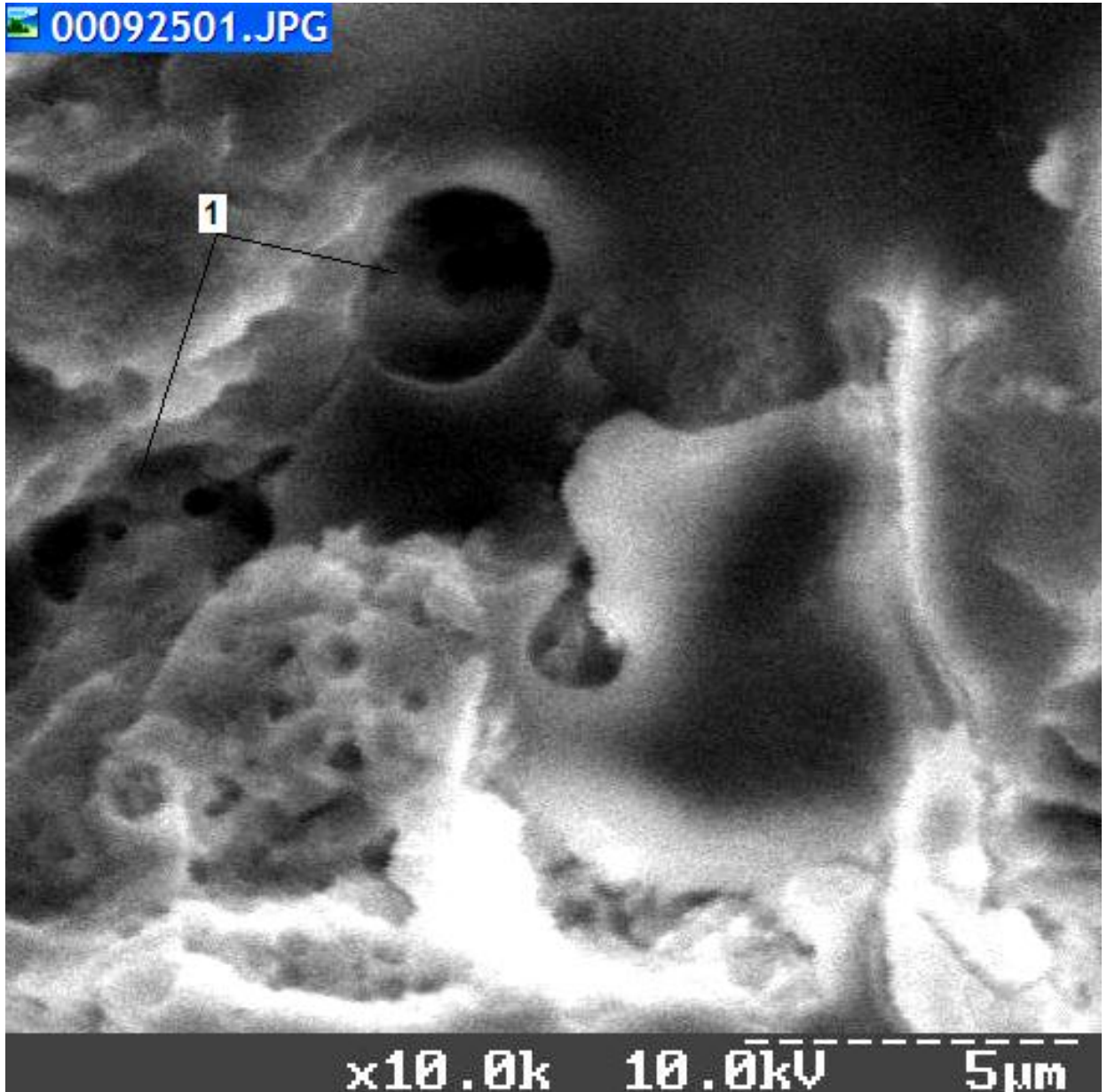


Рис. 19. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні яйця перепілки: 1 - пори, що відкриваються на зовнішню поверхню шкаралупи (x 10 000).

Пори утворюються у результаті неповного з'єднання колончастих кристалів, які характеризуються асиметричною будовою, що добре видно на поперечних зрізах (рис. 20).

На рис. 20 видно пору (6), що почала своє формування між двома мамілярами (7), проходить через всі шари шкаралупи і закінчується на поверхні шкаралупи. Більше всього пор на тупому кінці яйця, де завдяки

змінам кривизни поверхні відбувається максимальне розтягнення мікроскладок слизуватої шкаралупової залози.

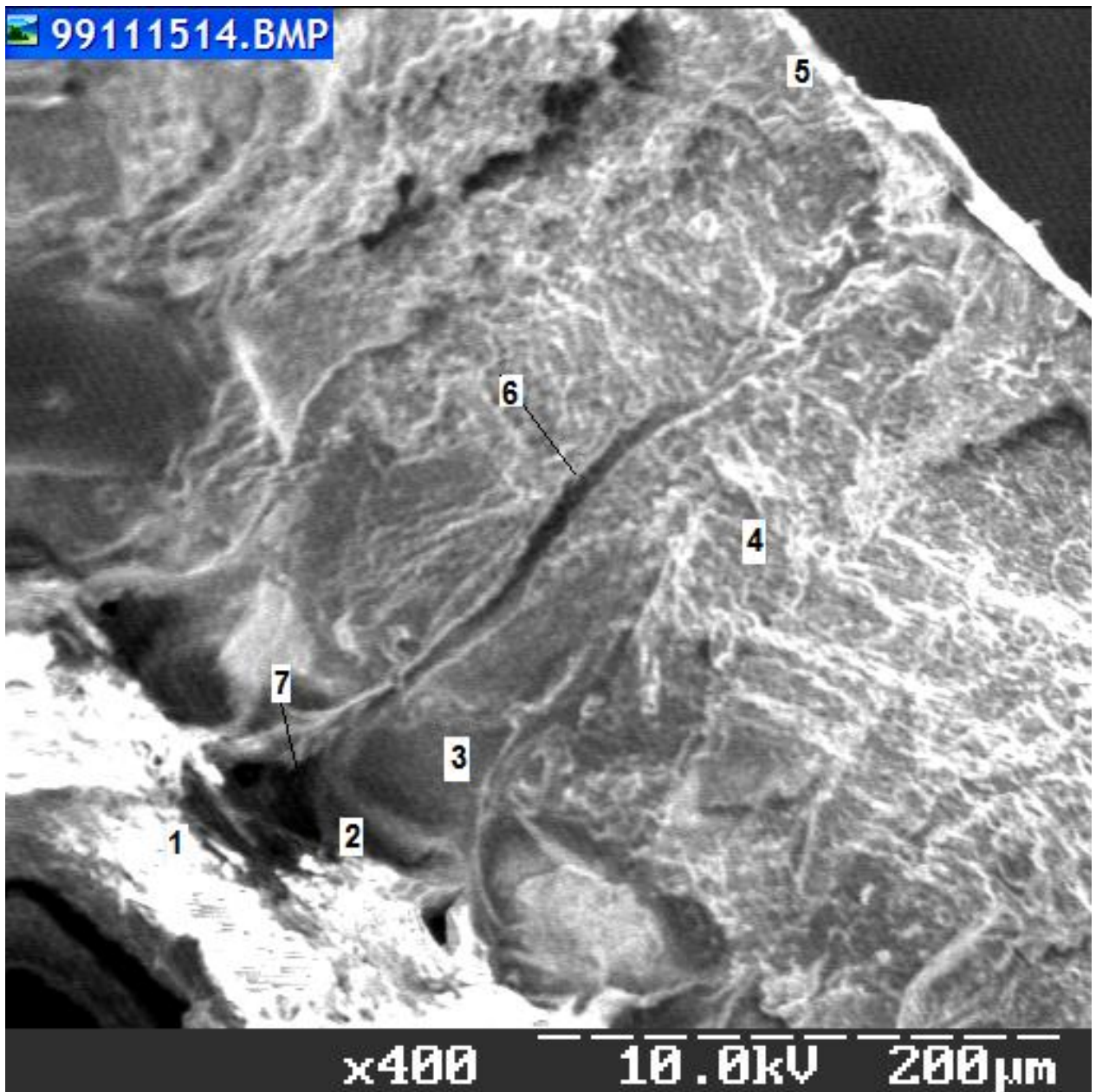


Рис. 20. Електронна мікрофотографія сколу шкаралупи курячого яйця: 1 - зовнішня підшкаралупна оболонка; 2 - маміляр; 3 - конусний шар; 4 - палісадний шар; 5 - кристалічний вертикальний шар; 6 - пора; 7 - місце початку формування пори між двома мамілярами (x 400).

Шкаралупа курячого яйця у середньому містить від 7000 до 17 000 пор (рис. 21). Найбільші з них видні неозброєним оком як невеликі поглиблення на поверхні шкаралупи. У середньому на 1 см² поверхні яйця курей приходиться близько 154 пор, а загальна їхня площа - 2,3 мм² [66].

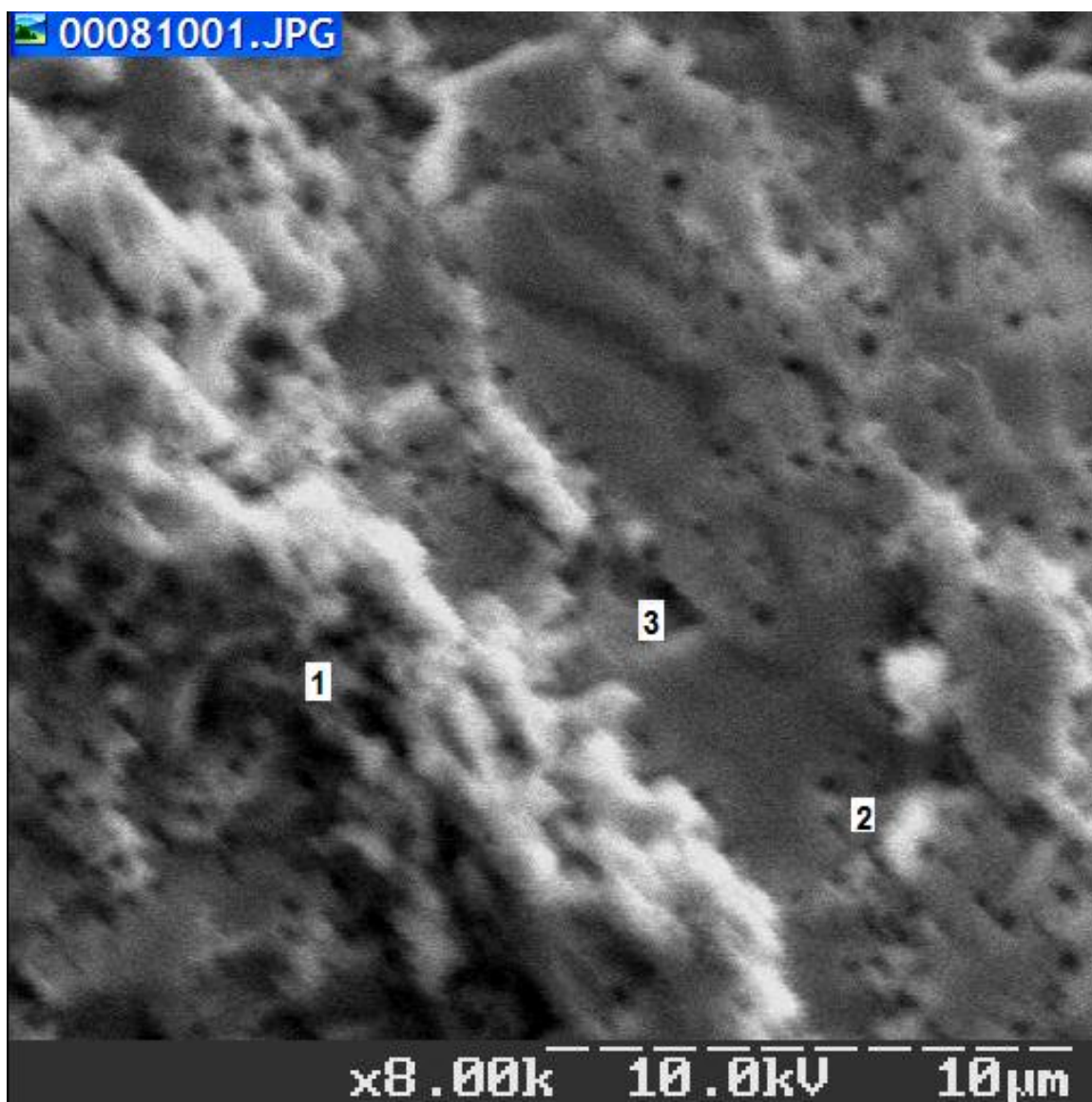


Рис. 21. Електронна мікрофотографія сколу палисадного шару шкаралупи курячого яйця: 1 - кристали CaCO_3 ; 2 – мікроевезикули; 3 - поровий канал (Хайсекс браун) (x 8000).

На мікрофотографії (рис. 21) представлено розташування кристалів CaCO_3 в палисадному шарі шкаралупи курячого яйця. Видно пори (3) та багато чисельні мікроевезикули. J. L. Arias, D. J. Fink, S. Xiao [90], а також Yoshizakj [158] довели, що в експериментальних модельних умовах мікроевезикули з'являються при додаванні до розчину неорганічних складових кальциту білків, зокрема лізоциму, і таким чином, зазначені везикули у кристалічній фазі CaCO_3 є місцями локалізації структуроутворюючих білків та пептидів [120, 125, 128, 130, 145].

Певним видам птахів притаманна усталена для даних видів форма пор. У яєць з тонкою шкаралупою частіше виявляють поодинокі пори. Грибоподібні пори притаманні яйцям домашніх курей, індичок, цесарок, фазанів (рис. 22), павичів; воронкоподібні - яйцям лебедів, співочих дроздів, гіллясті - гусям. Від поодинокого порового каналу, який починається у

сосочковому шарі, відгалужується кілька каналів, що радіально пронизують губчастий шар і, переплітаючись один з одним, закінчуються на поверхні шкаралупи групою пор, розташованих в одному поглибленні [61,75].

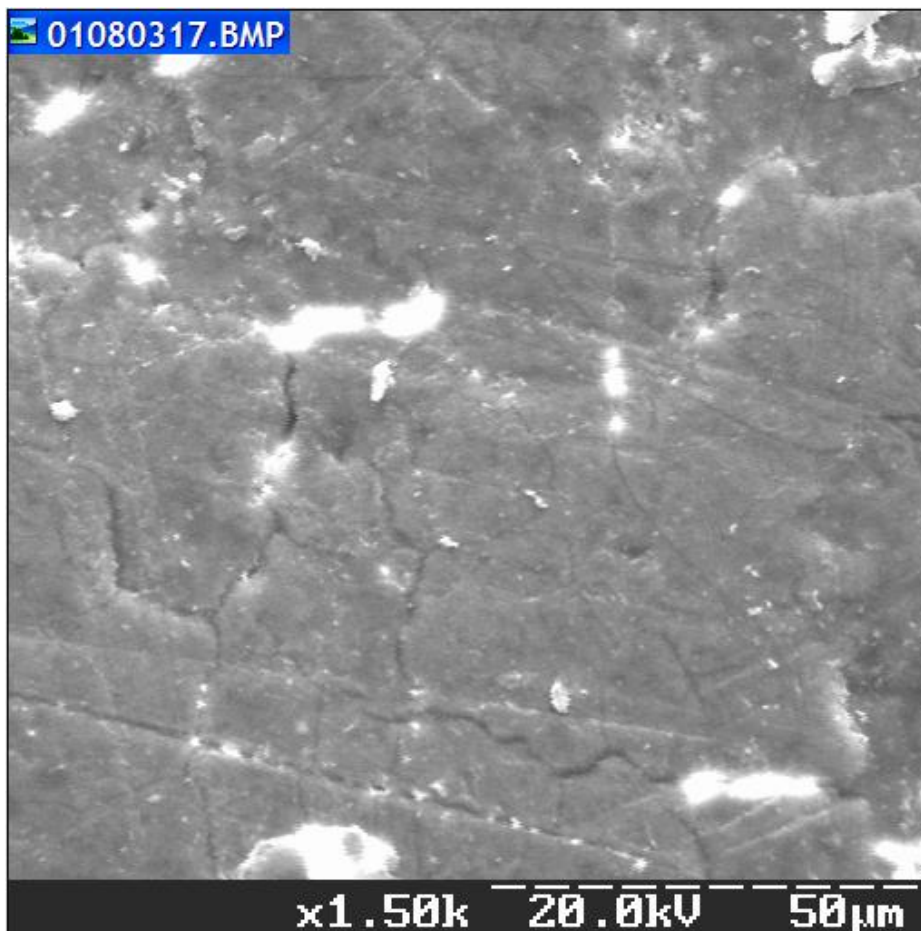


Рис. 22. Електронна мікрофотографія кутикули, що знаходиться на зовнішньої поверхні шкаралупи яйця фазана (x 1 500).

Головна біологічна функція пор шкаралупи - підтримка необхідного рівня газообміну і збереження запасів води. Збільшення товщини шкаралупи і зменшення діаметра пор призводить до ускладнення газообміну між ембріоном, що розвивається, і зовнішнім середовищем. При зниженні швидкості надходження кисню усередину яйця і вуглекислого газу назовні сповільнюються ріст і розвиток ембріона. Збільшення числа пор вище критичної величини, сприяє підсиленню газообміну і призводить, таким чином, до надлишкової втрати води яйцем, затримці росту і порушенню ембріонального розвитку.

Оптимальне значення провідності шкаралупи, необхідне для успішного розвитку ембріона, коливається в дуже вузьких межах. У порах є органічні речовини які за своїм походженням є ідентичними органічному матриксу. Зазначені речовини не заважають перебігу нормального газообміну, проте попереджують проникнення мікроорганізмів в яйце.

На основні властивості шкаралупи і її окремих елементів впливають як суто біохімічний склад шкаралупи, так і фізіологічні і фізико-хімічні (в аспекті формування кристалів кальциту на органічних матрицях) закономірності її синтезу і формування.

Ініціація кристалів шкаралупи відбувається в конічній частині корових елементів мамілярного шару. Органічна речовина корових елементів мамілярного шару відрізняється від речовини підшкаралупних мембран так само, як і від речовини органічного матриксу палісадного шару. Корові елементи мамілярного шару багаті на нейтральні мукополісахариди, що складаються з гексозаміну, сіалової кислоти, гексоз. Уронові кислоти відсутні. Тому припускають, що хондроїтинсульфат, на який відносно багатий органічний матрикс палісадного шару, не відіграє особливої ролі в ініціації кристалізації [86, 152].

Декальцифікований матеріал шкаралупи складається приблизно на 70% з білків і на 11% з полісахаридів. Близько 35 % усіх полісахаридів приходить на хондроїтинсульфат А і Б. Органічна речовина матрикса після декальцифікації шкаралупи на 60% виявляється нерозчинною і на 40 % розчинною. У результаті хроматографічного розділення розчинних частин органічного матрикса шкаралупи було отримано більш 20 різних компонентів. Молекулярна маса деяких компонентів досягала до 200 000 Да. Один з компонентів мав молекулярну масу 20 000 Да, а також виражену здатність до зв'язування іонів кальцію. Після декальцифікації шкаралупи з органічного матриксу вдалося виділити протеїнополісахаридну фракцію, що зв'язує іон кальцію [96].

Мінеральна речовина шкаралупи на 99% складається з карбонату кальцію. Однак неорганічний фосфор, магній, цинк, мідь, марганець і інші елементи, що є присутніми у невеликій кількості, можуть вплинути на якість шкаралупи.

Шкаралупа відіграє важливу роль в ембріогенезі не тільки як регулятор газообміну, але і як основне джерело кальцію для кальцифікації кістяка, починаючи з 11-12 доби інкубації курячих яєць.

До складу кутикули в якості найважливішого антибактеріального компонента входить білок лізоцим. Лізоцим яйця має молекулярну масу 14000 Да. Його вміст складає близько 4% від усіх білків вторинної білкової оболонки. Лізоцим здатний піддавати руйнації бактеріальні полісахаридні стінки.

Основна біологічна роль лізоциму в яйці – бактеріостатична і літична активність. Однак у яйці багатьох видів птахів його вміст дуже незначний. У складі лізоциму присутні всі незамінні амінокислоти, він відіграє визначену роль у забезпеченні потреб ембріона у амінокислотах [127].

3. Структурно - функціональні характеристики шкаралупи яєць сільськогосподарської птиці при патологіях

3.1. Зміни морфологічних параметрів захисних структур яєць птиці при патологіях

На якість шкаралупи впливають умови побудови її шарів у яйцепроводі. Синтез кальцитного шару залежить від складових речовин у маточній рідині. J.M. Dominguez-Vera, Y. Nys, Hernandez-Hernandez A. et al., Rodriguez-Navarro A.B., Arias J.L., Hincke M.T., Gautron J. досліджували залежність росту кристалів та їх морфологічних параметрів від складу рідин з кальцитами. Вчені вирощували кристали кальцитів у воді, а також у маточній рідині. Кристали, що вирощувалися у чистій воді мали правильну геометричну форму. Форма ж кристалів, що росли у маточній рідині, залежала від її складу [111, 147, 129, 153, 94, 129, 121].

На рисунках 23 та 24 представлені мікрофотографії штучно вирощених кристалів кальцитів в середовищах маточної рідини з різним складом речовин [111].

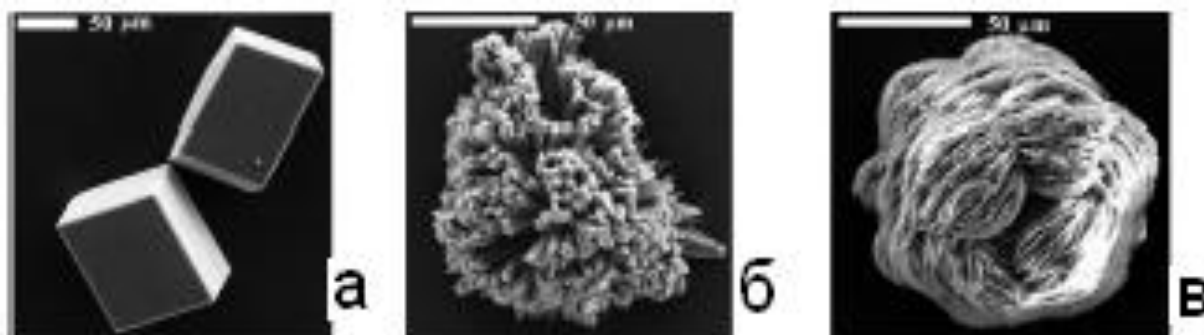


Рис. 23. Електронні мікрофотографії: а) ромбоєдроїдних кристалів кальциту, б) агломерат арагоніту, в) агломерат ватериту.

Біомакромолекули (пептиди і білки) є чинниками, які контролюють поліморфність мінеральних фаз кальциту (CaCO_3). Так кальцит представлений у природі трьома поліморфами: кальцит, арагоніт и ватерит. Арагоніт і кальцит відносяться до так званих постійних поліморф і часто спостерігаються у природі, тоді як ватерит є досить рідким явищем у біологічних системах [111]. L. Addady та ін. [114] експериментально показали, що макромолекули, виділені з шарів арагоніту з природних тканин, стимулюють утворення ядер кристалів арагоніту в штучному мікросередовищі. Більш того, А. М. Velcher та ін. [96] довели, що розчинний поліаніоновий білок (16 кДа) відповідає за процеси перебігу кальциту у фазу арагоніту.

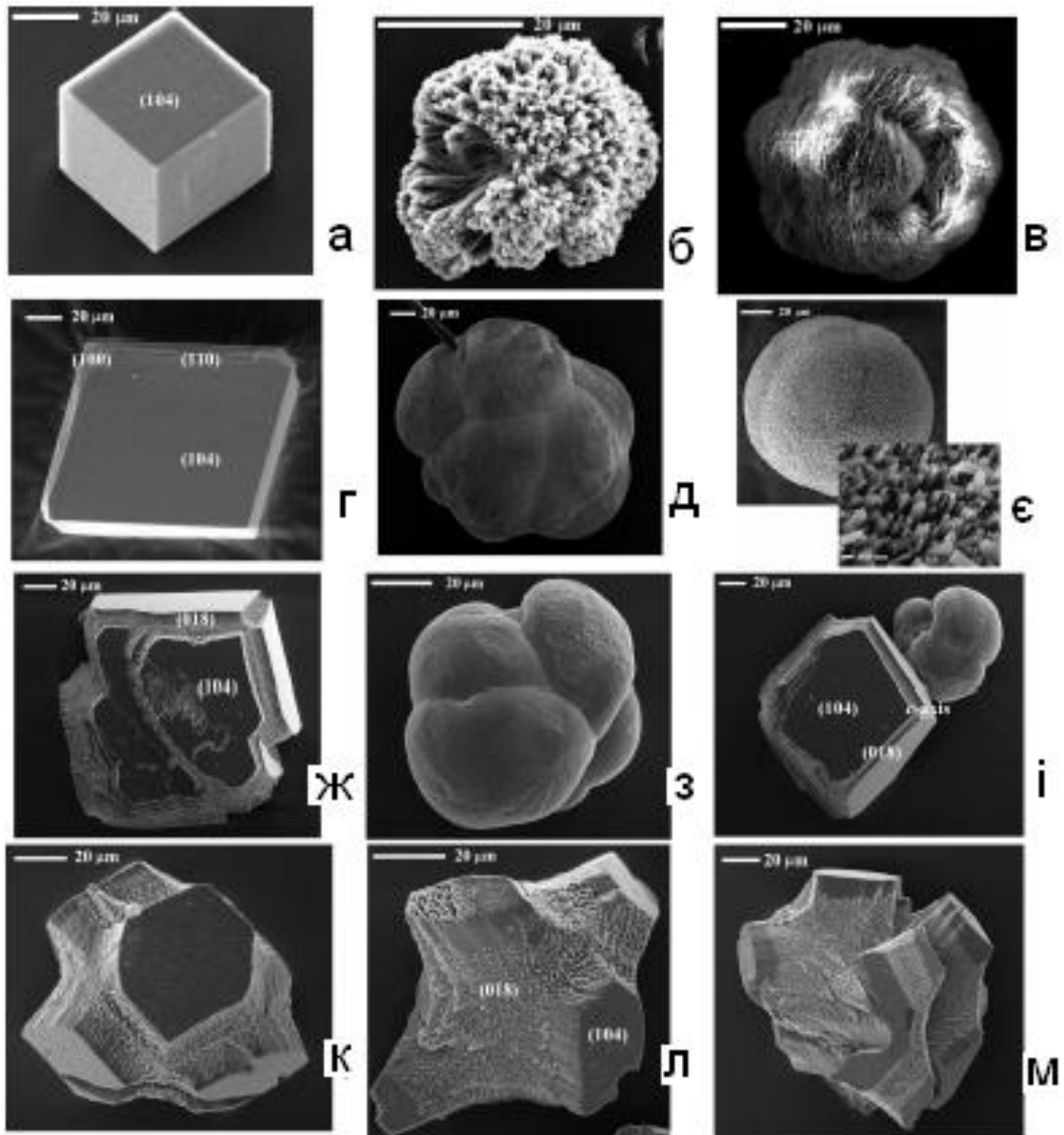


Рис. 24. Електронні мікрофотографії: а) кальцит, б) арагоніт, в) ватерит у присутності 128 мкг/мл лізоциму; г, д) кальцит, е) арагоніт у присутності 128 мкг/мл рибонуклеази А; ж, з, і) кальцит у присутності 128 мкг/мл міоглобіну; к, л, м) кальцит у присутності 128 мкг/мл лактоальбуміну.

Проте, деталі механізму за яким макромолекули контролюють поліморфізм кристалів як в біотичних, так і у абіотичних системах детально не встановлений і досі.

На рис. 25, 26, 27 представлені мікрофотографії курячих яєць з нормальною шкаралупою і добре розвиненим мамілярним шаром.

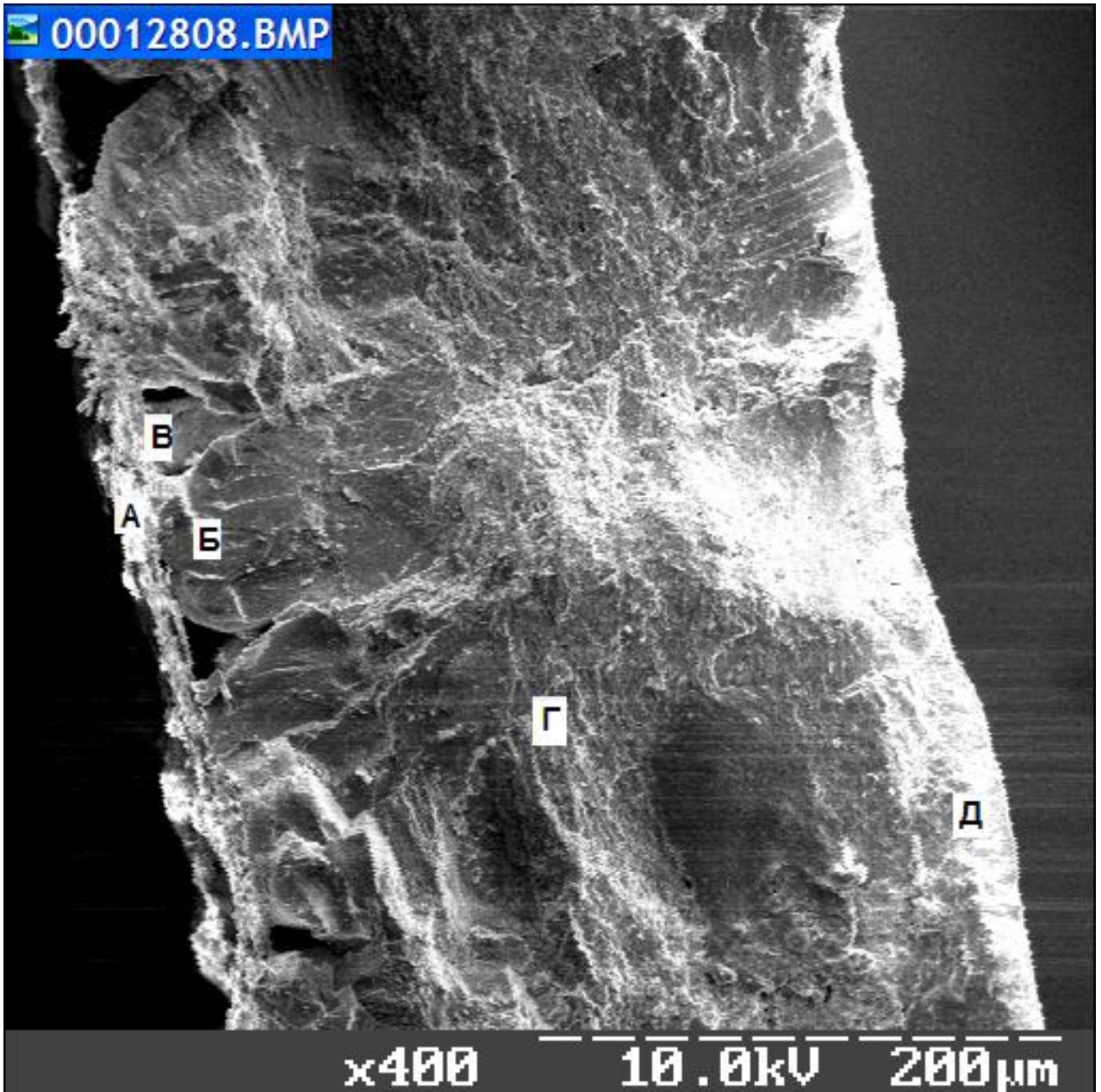


Рис. 25. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (скол) (Російські білі, 10 тиждень яйцекладки): А - підшкаралупні оболонки; Б - мамілярний шар; В - пори, сформовані між мамілярами; Г - палісадний (губчатий) шар; Д - вертикальний кристалічний шар (x 400).

Доведено, що щільність шкаралупи у значному ступені пов'язана з архітектонікою окремих її шарів. Якісні параметри шкаралупи залежать від морфологічних параметрів мамілярного шару: від величини мамілярів, від рівномірності їх розміщення по внутрішній поверхні шкаралупи, а також від наявності і величини проміжків між окремими мамілярами [121].

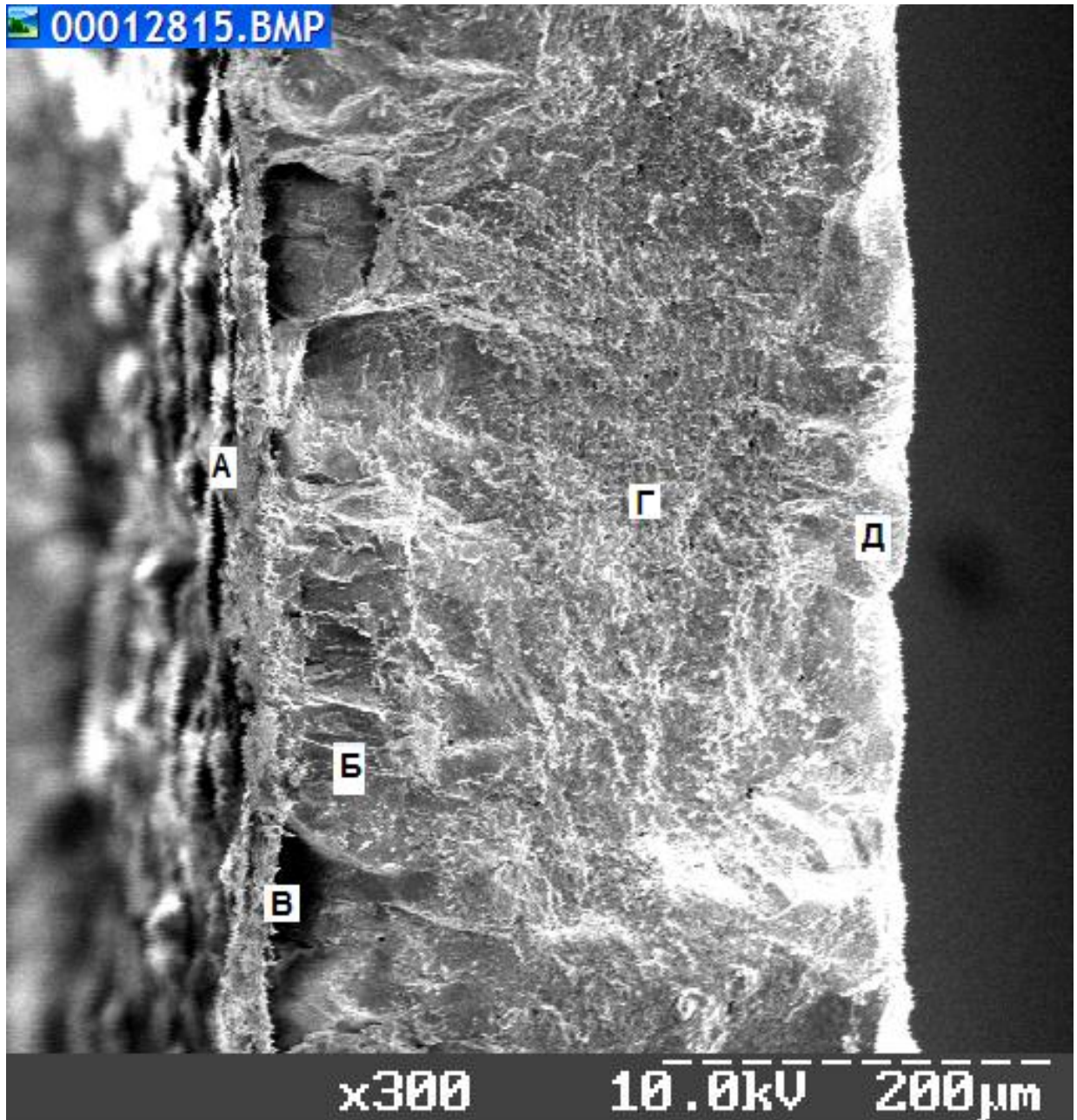


Рис. 26. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (скол) (Ломан браун, 10 тиждень яйцекладки): А - підшкаралупні оболонки; Б - мамілярний шар; В - пори, сформовані між мамілярами; Г - палісадний (губчатий) шар; Д - вертикальний кристалічний шар (x 300).

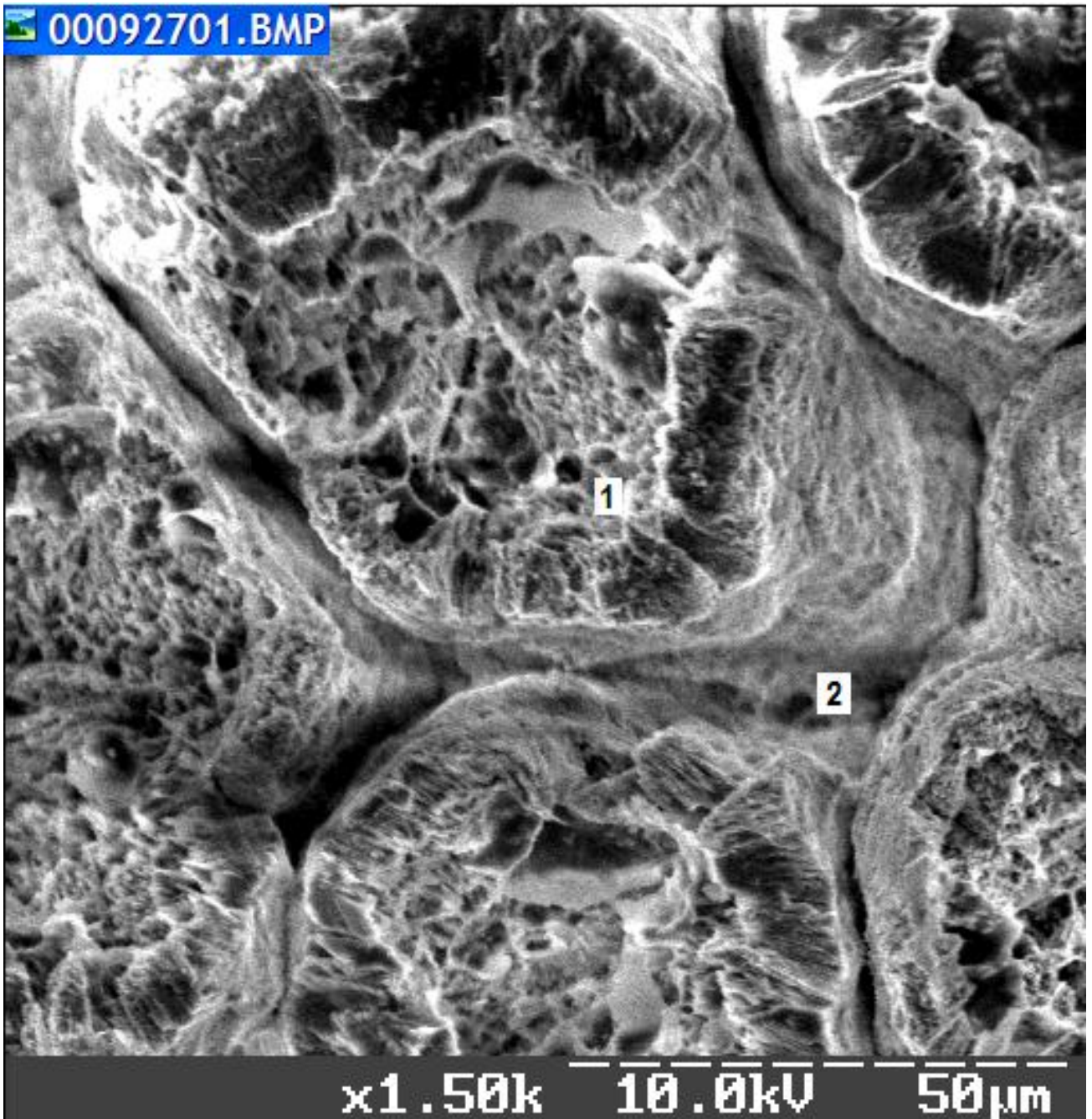


Рис. 27. Електронна мікрофотографія мамілярів шкаралупи курячого яйця: 1 - зона початкового росту кристалів CaCO_3 ; 2 – пора (x 1 500).

У нормальній щільній шкаралупі маміляри однорідні, мілкі, рівномірно розміщені з невеликими проміжками.

На відміну від цього, у менш щільній шкаралупі маміляри зливаються у агрегати по декілька штук, іноді вони розміщуються в подовж однієї лінії. У такій шкаралупі маміляри мають різний розмір і великий міжмамільярний проміжок, котрий формує пори та мікрошпарини.

Для м'якої шкаралупи характерна наявність недорозвинених мамілярів, або безмамільярні ділянки на внутрішній поверхні шкаралупи (рис. 28).

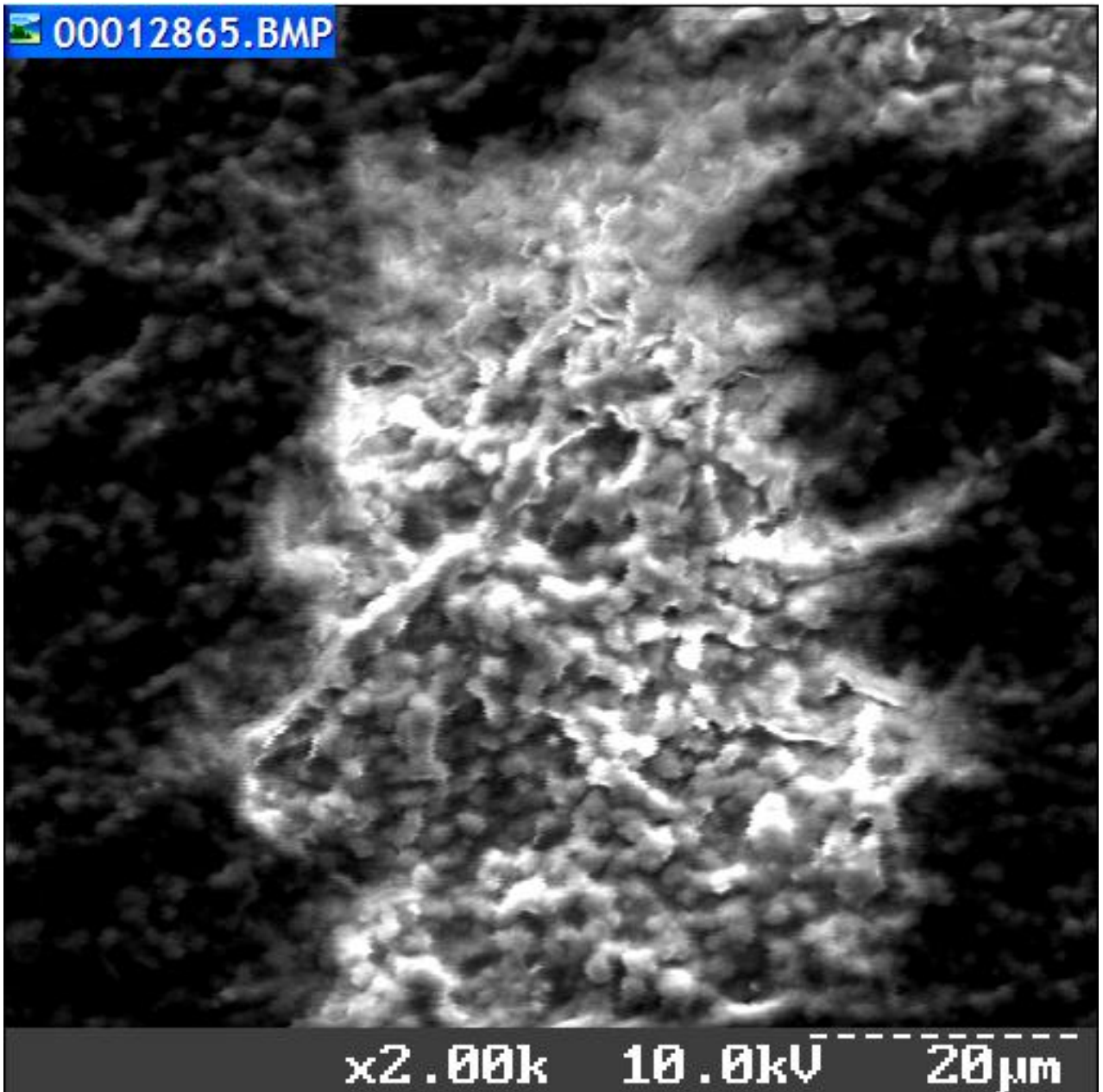


Рис. 28. Електронна мікрофотографія недорозвиненої шкаралупи курячого яйця: на колагенових волокнах спостерігається початок росту мамілярів (x 2 000).

Шкаралупа яєць – «виливок» складається із колагенових волокон, на котрих іноді спостерігаються зачатки мамілярів (рис. 28).

Конусний шар на зламі щільної шкаралупи рівний, тоді як у нещільній вершини окремих конусів розміщені на різному рівні. У цьому випадку послабляється і зв'язок між мамілярами і підшкаралупною мембраною (рис. 29).

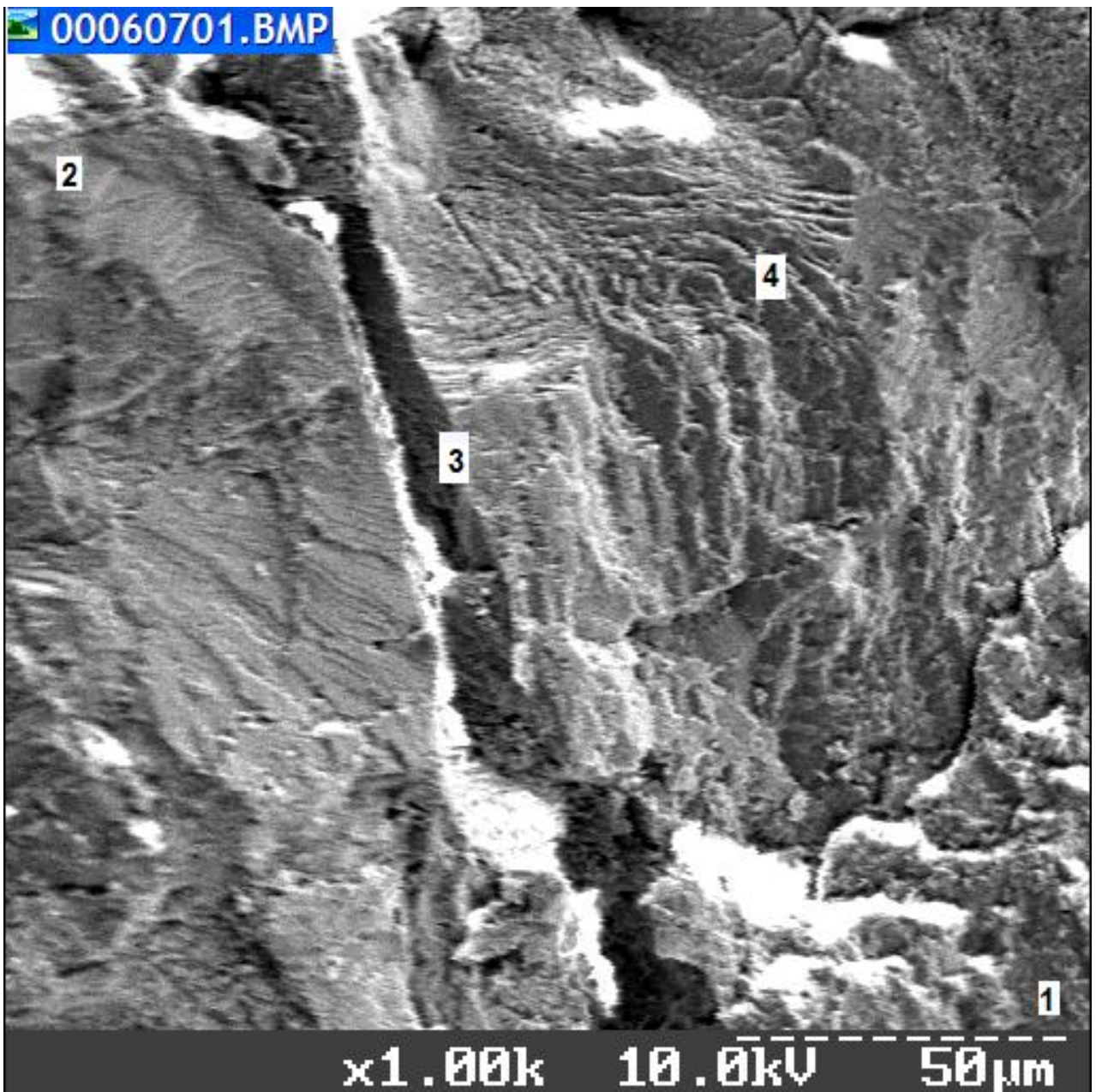


Рис. 29. Електронна мікрофотографія зони «паску» шкаралупи курячого яйця: 1 – кристали кальцитів палісадного шару; 2, 4 - кристали кальцитів кристалічного вертикального шару; 3 - мікрошпарина (x 1 000).

На рис. 29 представлена мікрофотографія зламу яйця, на поверхні котрого спостерігався патологічний потовщений «пасок». Видно кристали кальцитів палісадного шару (1); ріст кристалів кальцитів кристалічного вертикального шару (2, 4); мікрошпарина, що виходить на зовнішню поверхню шкаралупи (3). Шари шкаралупи мають більш розрихлену структуру, ніж звичайно.

На рис. 30 представлена мікрофотографія тієї ж шкаралупи курячого яйця, що на рис. 29, але при меншому збільшенні.

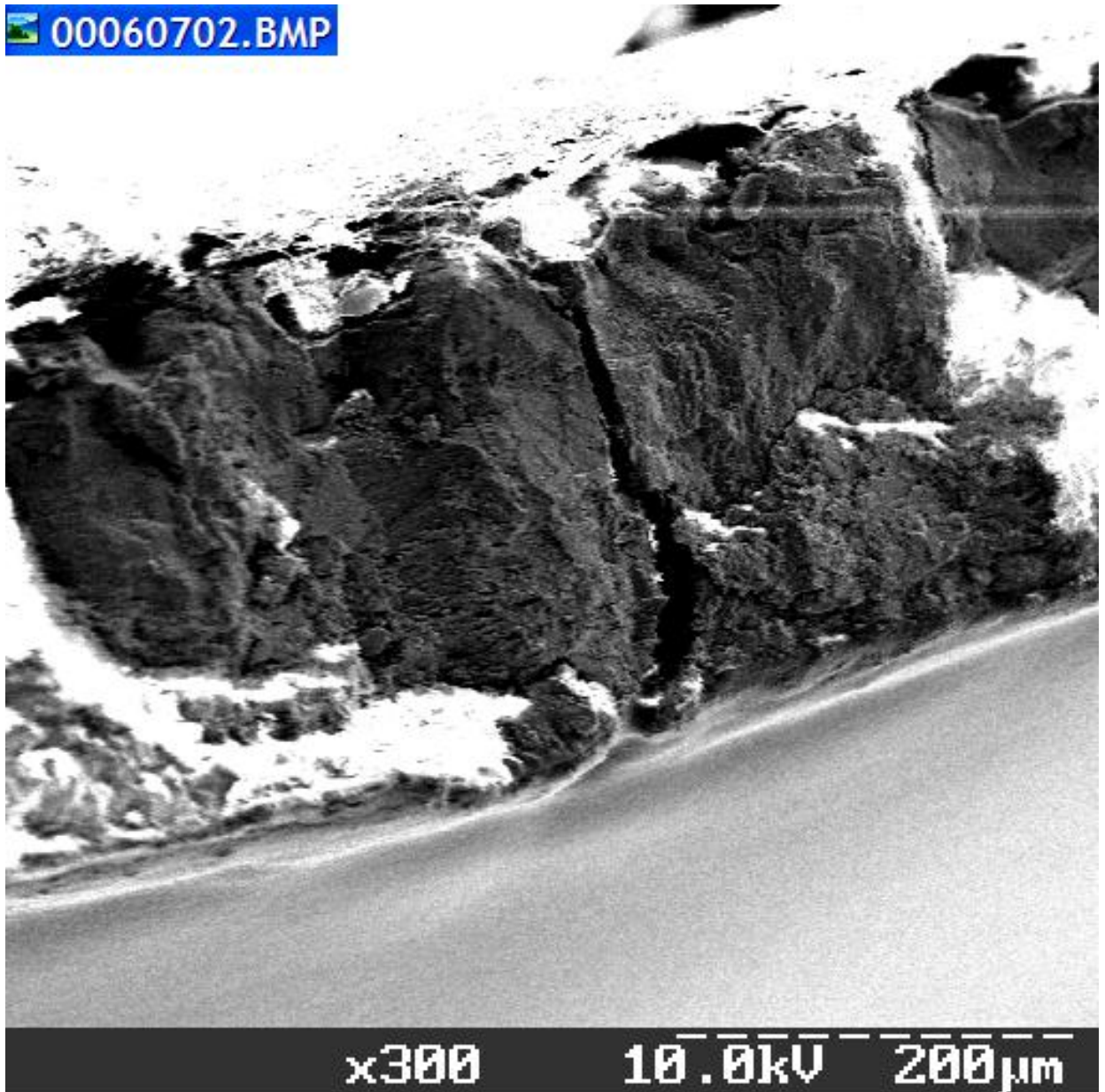


Рис. 30. Електронна мікрофотографія зони «паску» шкаралупи курячого яйця (на поверхні яйця спостерігався патологічний потовщений «пасок») (x 300).

Маміляри, що злилися, дають початок декільком недорозвиненим колонкам. За суттю, дефекти мамілярного шару визначають правильність і досконалість формування конусного та палисадного шарів. Від правильності розміщення мамілярів залежить просторовий ріст кристалів кальцитів у верхніх шарах шкаралупи, і від цього залежить якість шкаралупи як цілісного захисного бар'єру пташиного яйця.

«М'яка» шкаралупа може складатися тільки з колагенових волокон. Така шкаралупа представлена на рис. 31 та рис. 32.

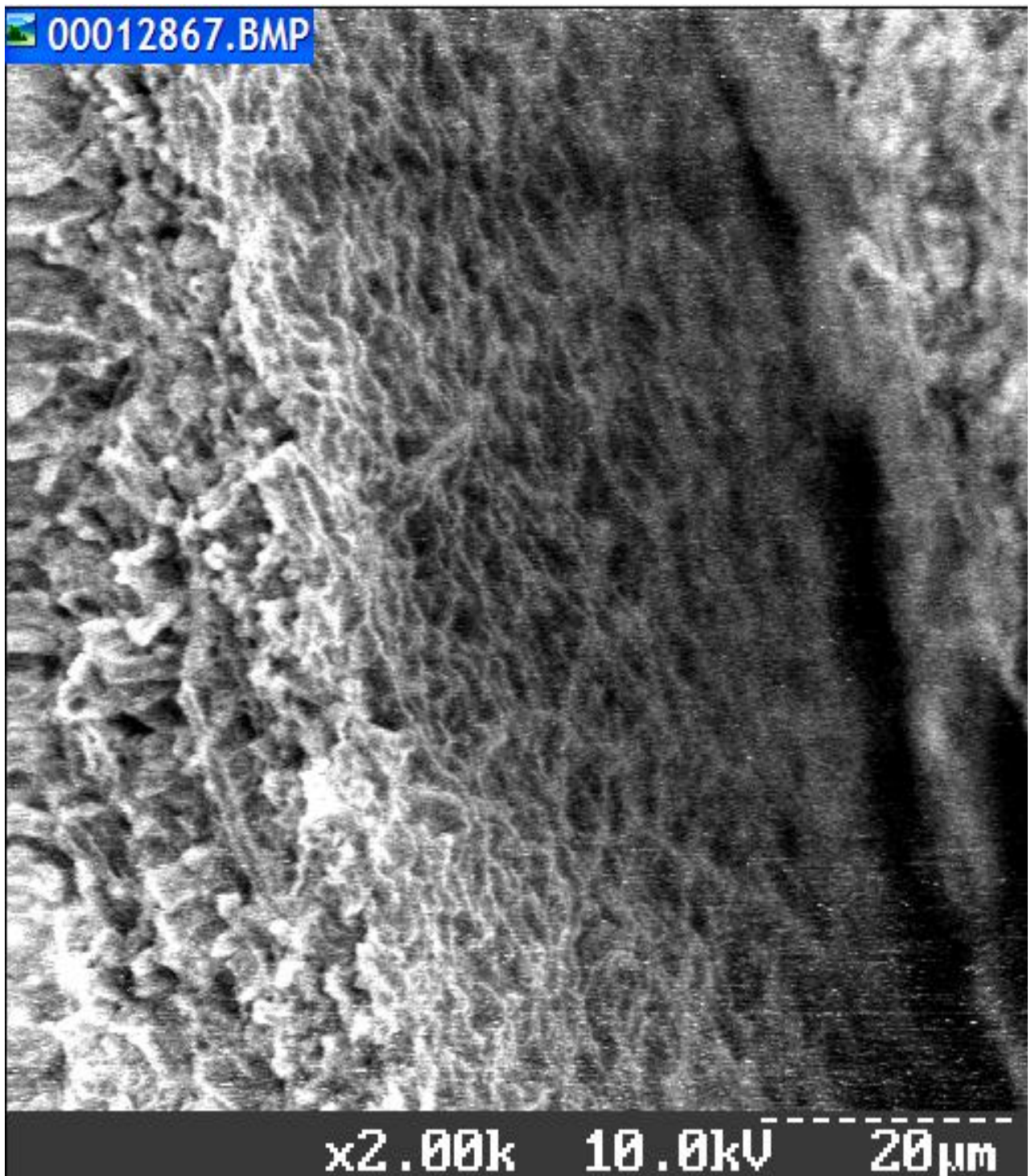


Рис. 31. Електронна мікрофотографія недорозвиненої шкаралупи курячого яйця (виливок) (x 2 000).

З мікрофотографії (рис. 31) видно, що дана шкаралупа складається з колагенових волокон.

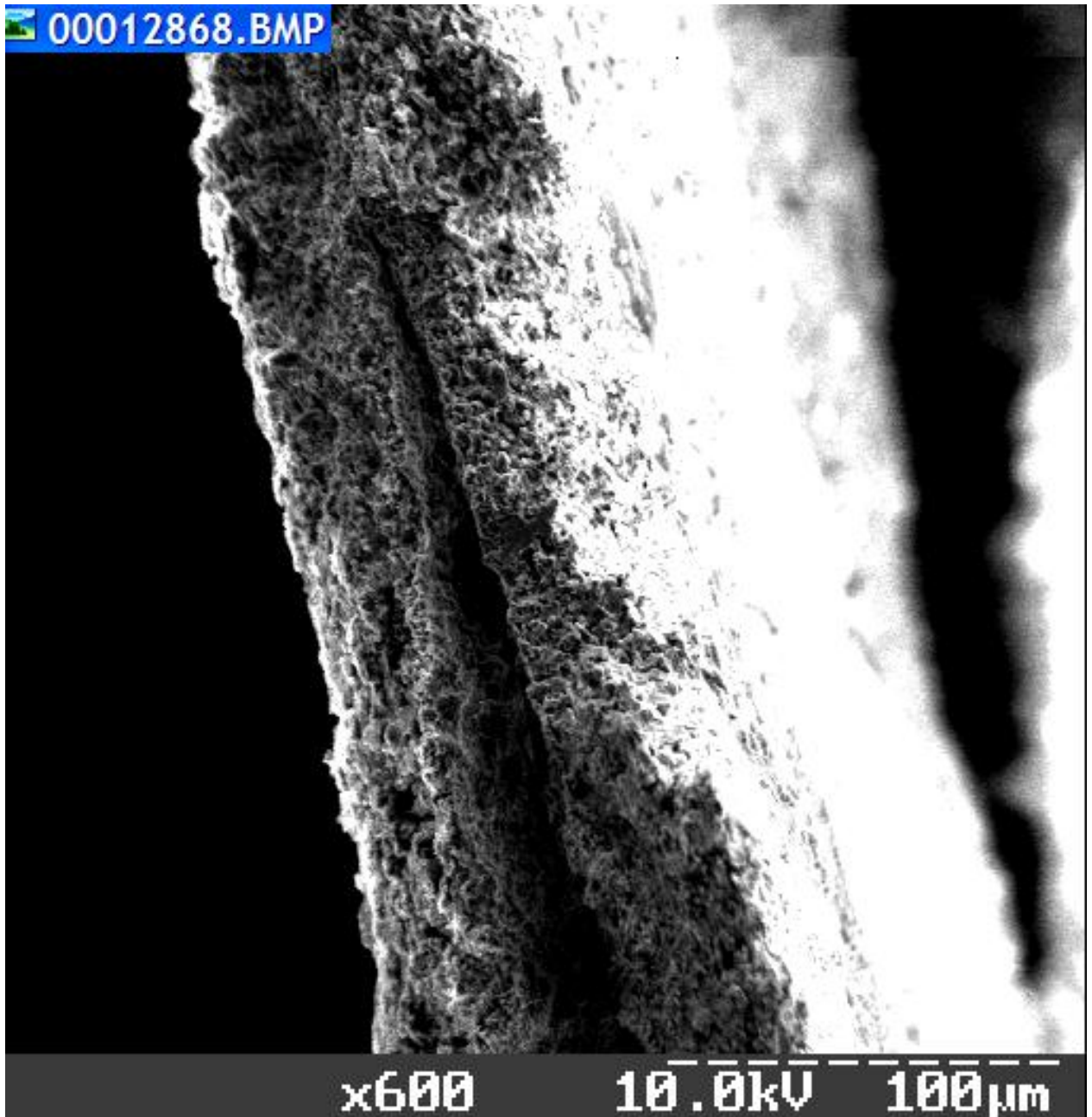


Рис. 32. Електронна мікрофотографія недорозвиненої шкаралупи курячого яйця (виливок) (x 600).

У зразках нещільної шкаралупи колонки палісадного шару спостерігаються майже до середини її товщі (близько 180 мкм), тоді як у щільній їх злиття завершується на більш ранньому етапі формування і їх можна побачити не більш, ніж до 1/3 товщини шкаралупи.

Змінюється також співвідношення діаметрів та висоти колон та висоти колон у шкаралупі різного ступеня щільності. У щільній шкаралупі воно дорівнює 1:4 - 1:5, у менш щільній - в межах 1:2,5 - 1:3.

У конусному та палісадному шарах спостерігаються пустоти у вигляді зерен або порожнин. Таких пустот мало у щільній шкаралупі, тоді як у слабкій їх може бути досить багато, причому крупних - до 10 мкм у діаметрі при звичайних розмірах до 1 - 3 мкм.

Вивчення мікроструктури шкаралупи показало, що ступінь організованості формування мамілярного і конусного шарів визначає розвиток інших, а як наслідок і щільність шкаралупи [116].

Отже, основними факторами у формуванні щільності шкаралупи яєць є індивідуальні генотипічні особливості птахів.

У курей, які мають високу продуктивність яєць спостерігається менша щільність шкаралупи [106].

3.2. Мікроструктура шкаралупи яєць курей при заразних хворобах

Не другорядними факторами при формуванні шкаралупи слід вважати режими годування та утримання птиці [2,52,113].

Неправильний розвиток шкаралупи спостерігається також у хворих курей [6,24,61,75].

На електронних мікрофотографіях (рис. 33, 34, 35, 36) подана структура шкаралупи яєць, отриманих від птиці, хворої на синдром зниження яйценоскості (СЗЯ).

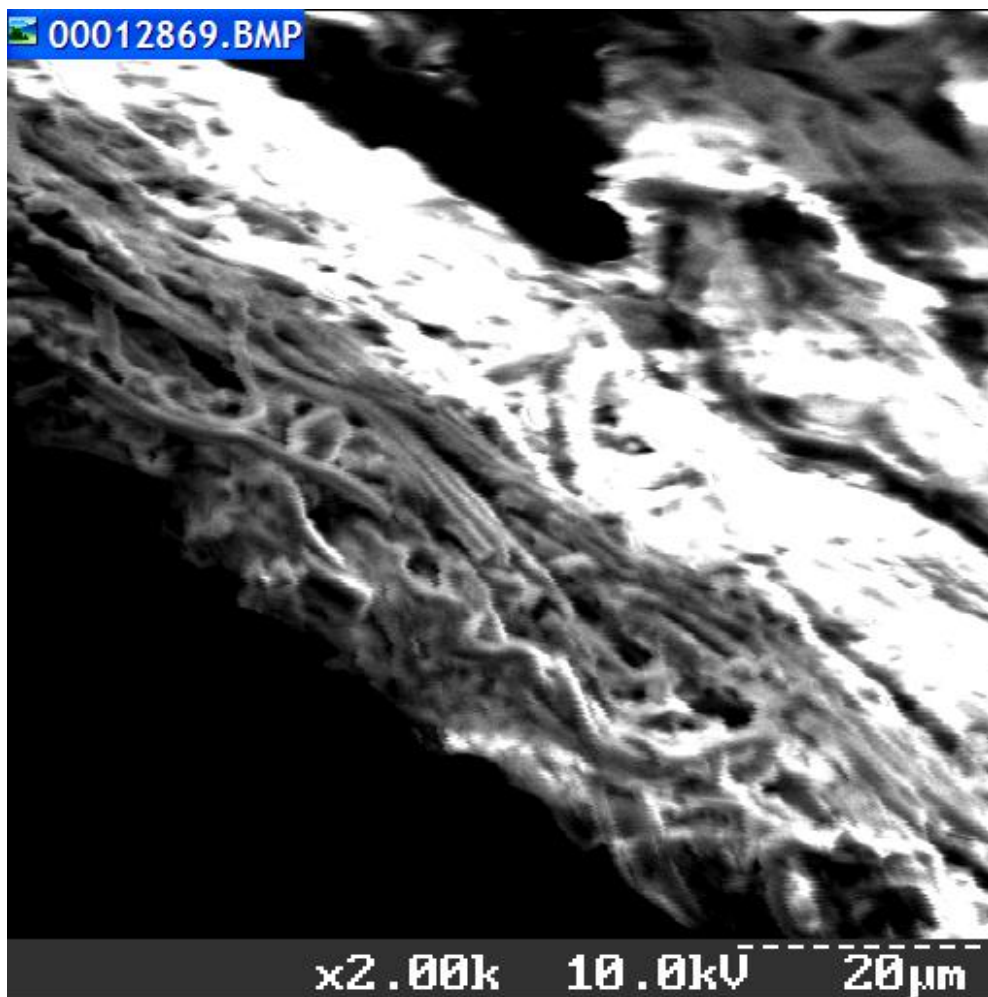


Рис. 33. Електронна мікрофотографія недорозвиненої шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки-несучки, хворої на СЗЯ (x 2 000).

На даній мікрофотографії представлена м'яка шкаралупа. Колагенові волокна пронизані кристалами кальцитів (рис. 33).

На електронних мікрофотографіях (рис. 33, 34, 35, 36) шкаралупа птиці, хворої на СЗЯ має неоформлений вигляд.

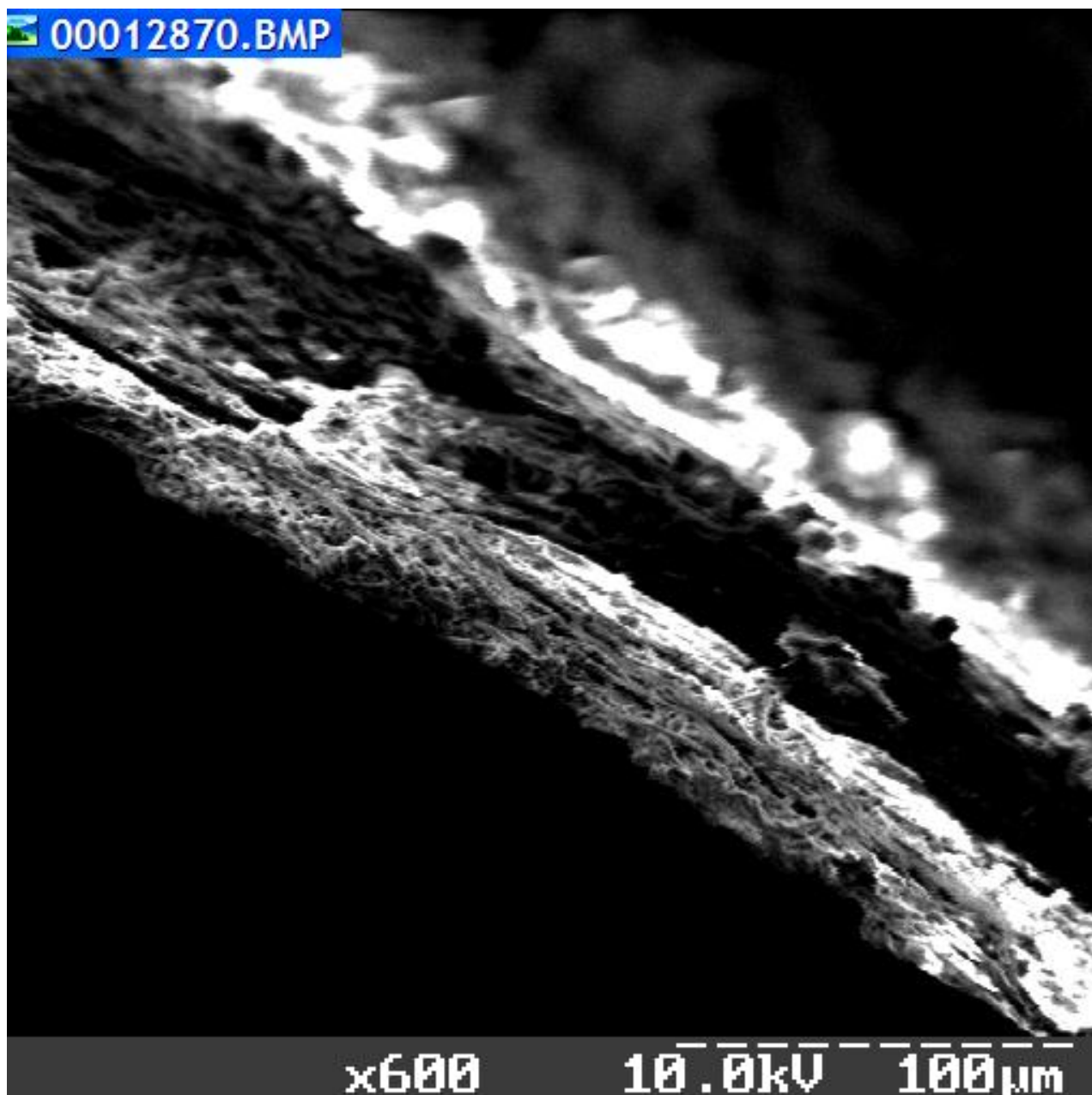


Рис. 34. Електронна мікрофотографія недорозвиненої шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки-несучки, хворої на СЗЯ (м'яка шкаралупа)(x 600).

В шкаралупі, отриманої від яєць курей, хворих на СЗЯ, відсутній характерний мамілярний шар і не спостерігається ріст кальцитових структур. Така шкаралупа побудована переважно із колагенових волокон пронизаних кристалами кальцитів.

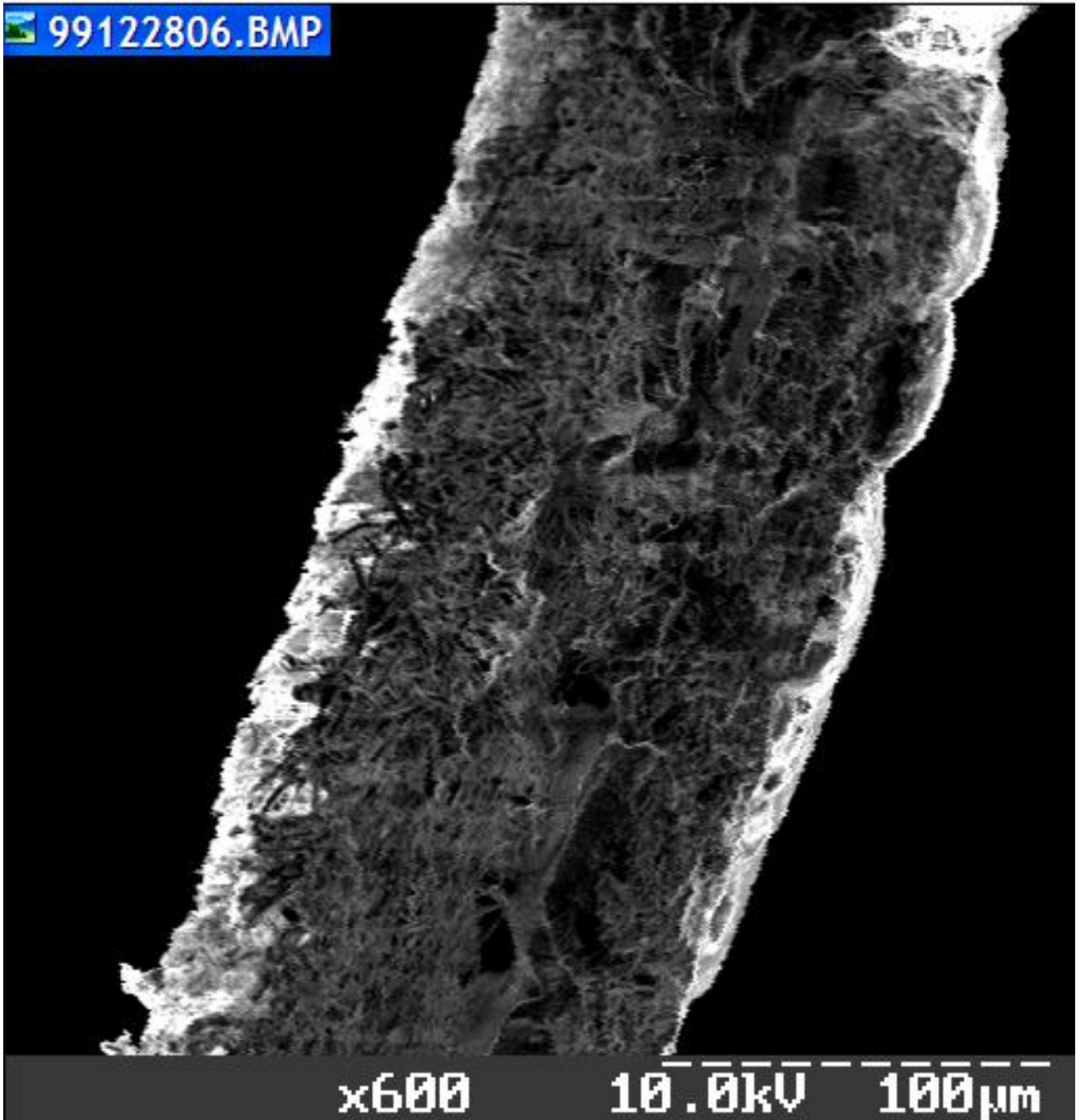


Рис. 35. Електронна мікрофотографія курячого яйця, отриманого від курки, хворої на СЗЯ (м'яка шкаралупа) (скол) (x 600).

Мамілярний шар цієї шкаралупи (рис. 36) складається із мамілярів, розташованих на досить великій відстані один від одного.

Маміляри формують занадто великі пори. Внаслідок цього кристалам CaCO_3 палісадного шару притаманний «нестандартний» ріст. В палісадному шарі також присутні колагенові волокна.

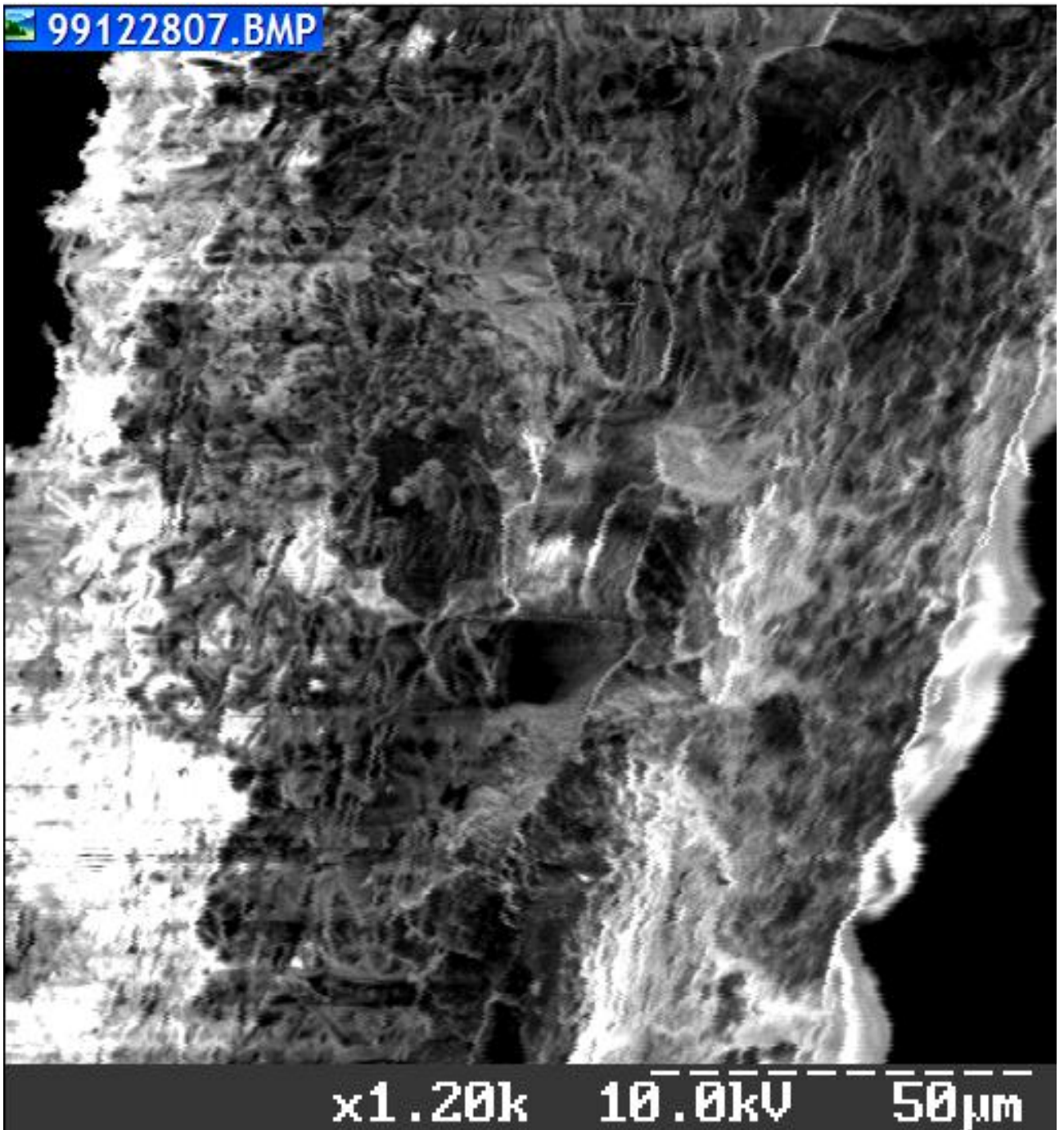


Рис. 36. Електронна мікрофотографія курячого яйця, отриманого від курки, хворої на СЗЯ (м'яка шкаралупа) (скол) (x 1 200).

Шкаралупа яєць курей, хворих на інфекційний ларинготрахеїт (ІЛТ) та хворобу Марека (ХМ) характеризується багатьма дефектами [64]. Так, маміляри розташовані нерівномірно і на великій відстані один від одного, палісадний шар має розрихлену структуру. В шкаралупі багато мікронасічок та мікрошпарин (рис. 37 - 45).

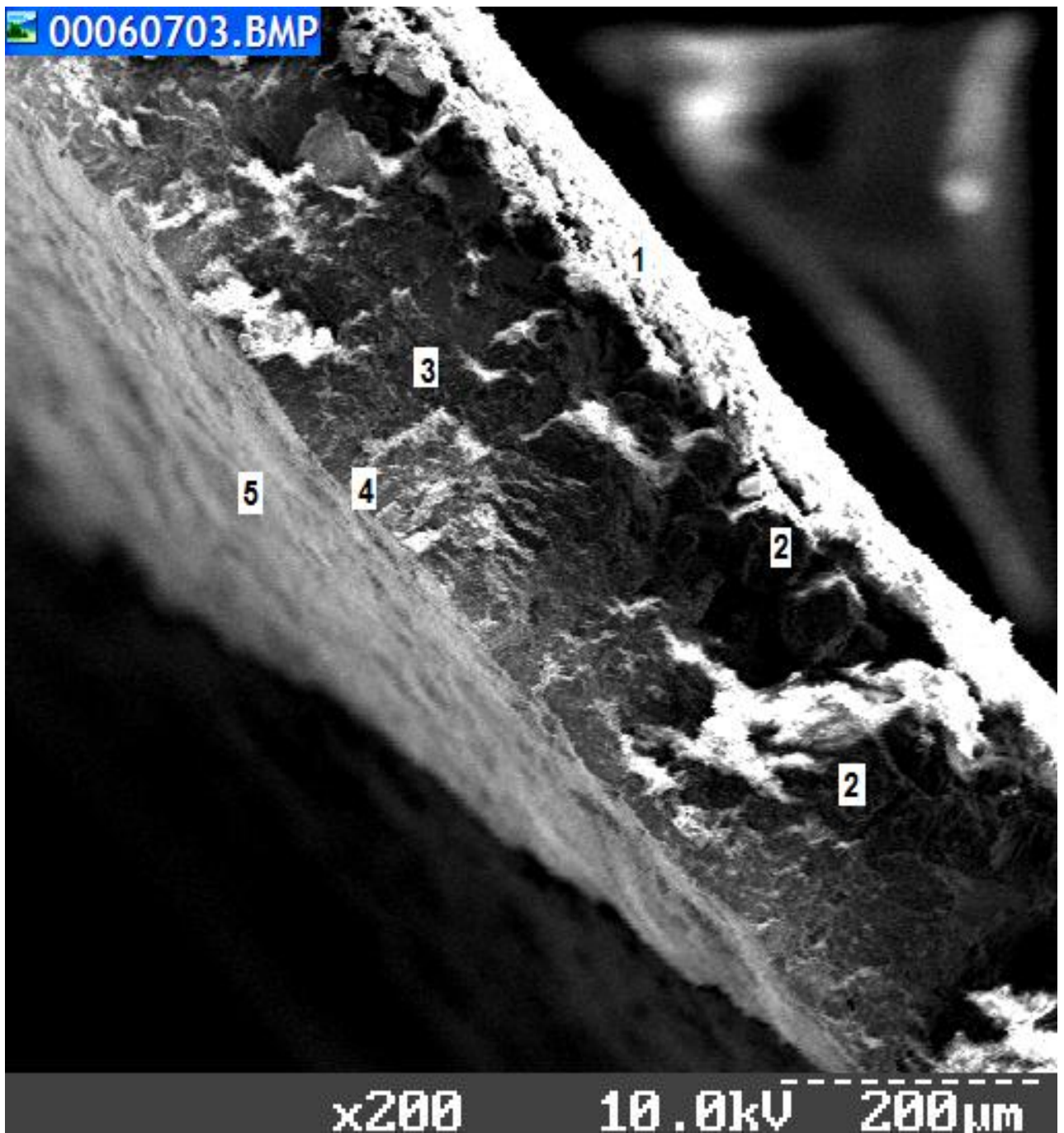


Рис. 37. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від хворої на ІЛТ курки: 1 - підшкаралупні оболонки яйця; 2 - мамілярний шар (нестандартне розташування мамілярів); 3 - палісадний шар (розрихлений вигляд); 4 - кристалічний вертикальний шар; 5 – кутикула (x 200).



Рис. 38. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ІЛТ (скол) (x 300).

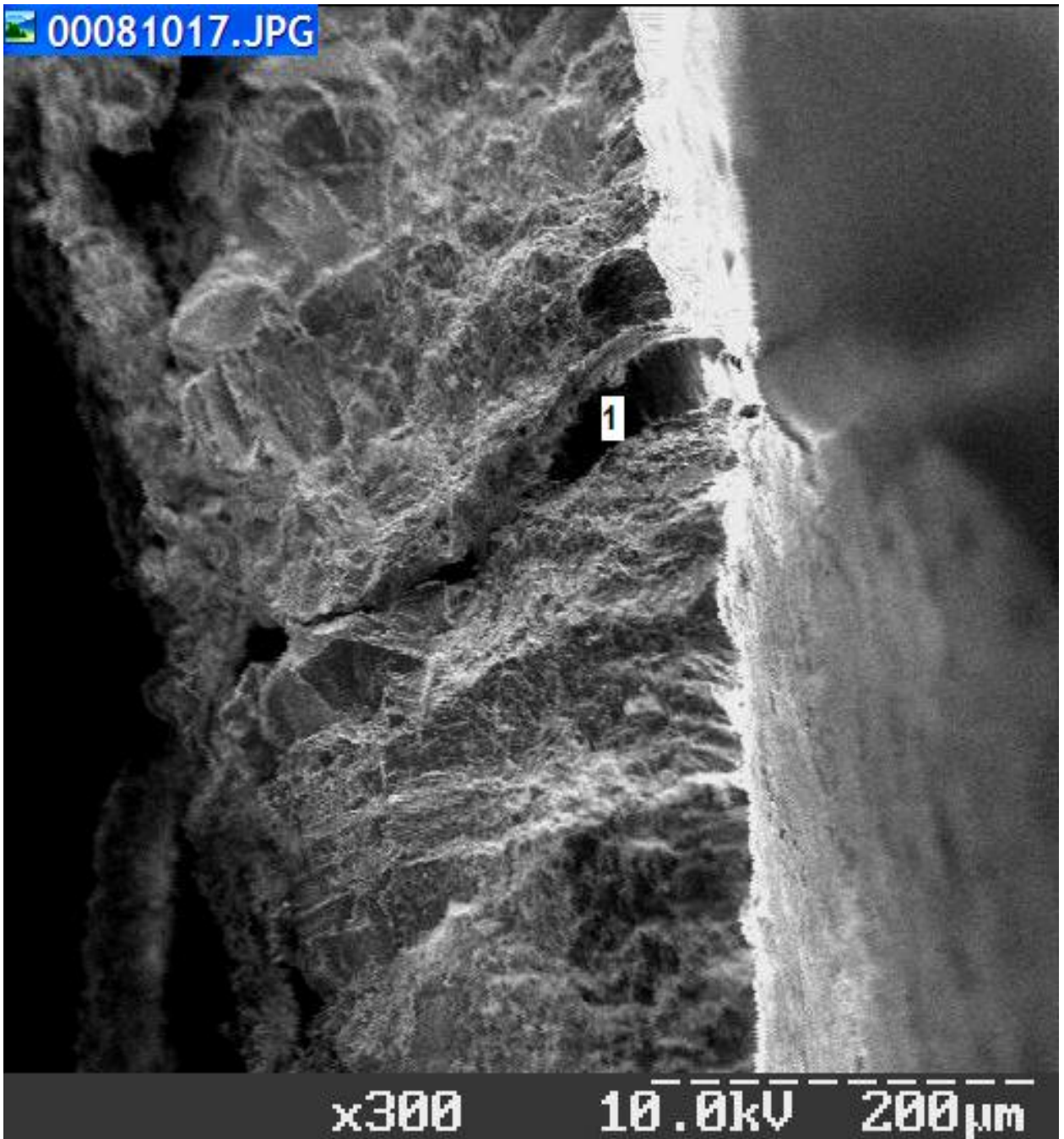


Рис. 39. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ХМ: 1 – мікронасідка (скол шкаралупи) (x 300).

З електронної мікрофотографії, представленої на рис. 39 видно, що шкаралупа має рихлий вигляд і пронизана мікрошпаринами та мікронасідками (1).

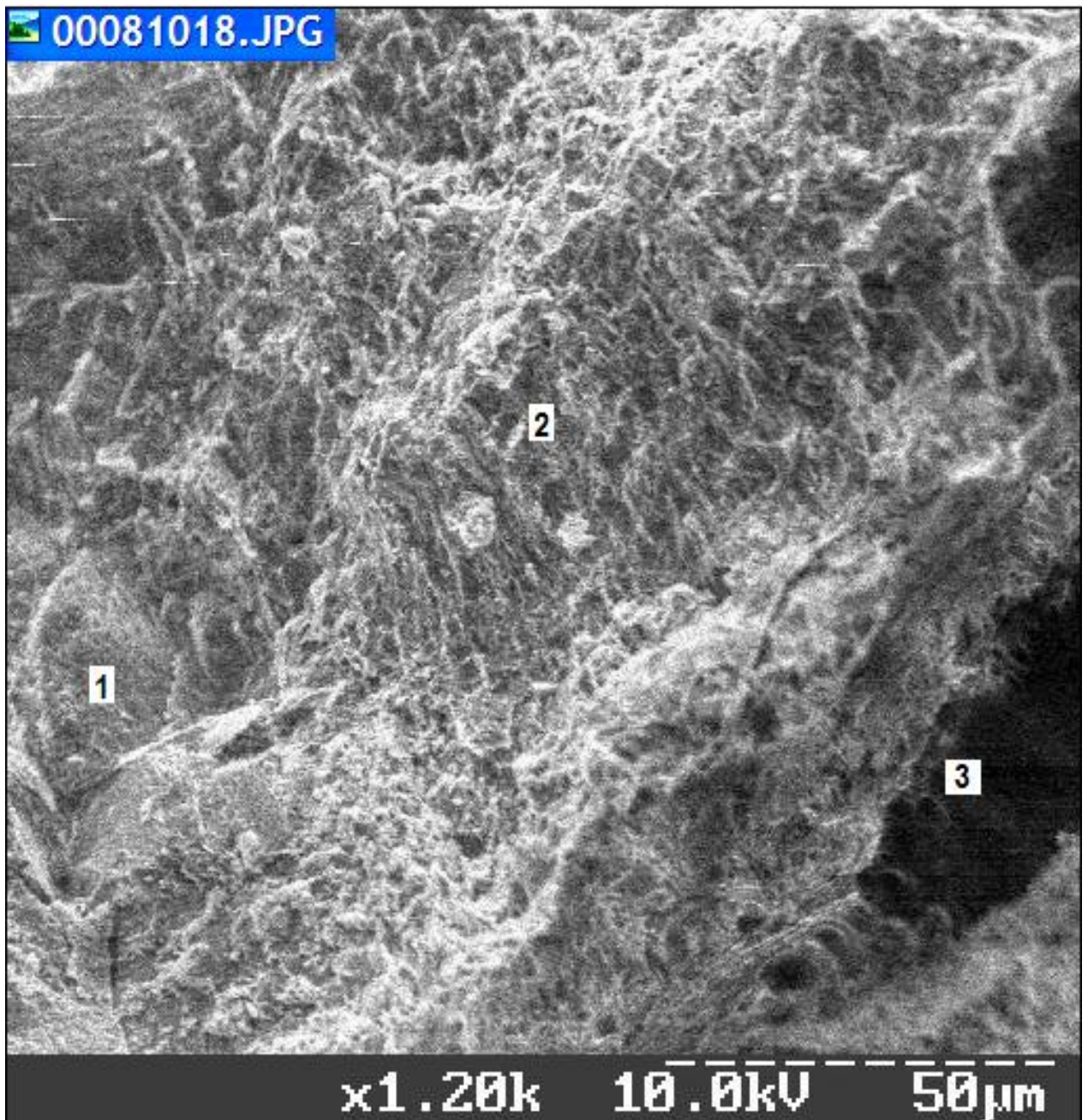


Рис. 40. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ХМ (скол): 1 - мамілярний шар; 2 – палісадний шар; 3 – мікрошпарина (x 1 200).

Шкаралупа на рис. 40 має патологічний вигляд. Мамілярний шар переходить зразу у палісадний (1). Палісадний шар має більш волокнисту структуру (2) і в ньому є мікрошпарини (3).

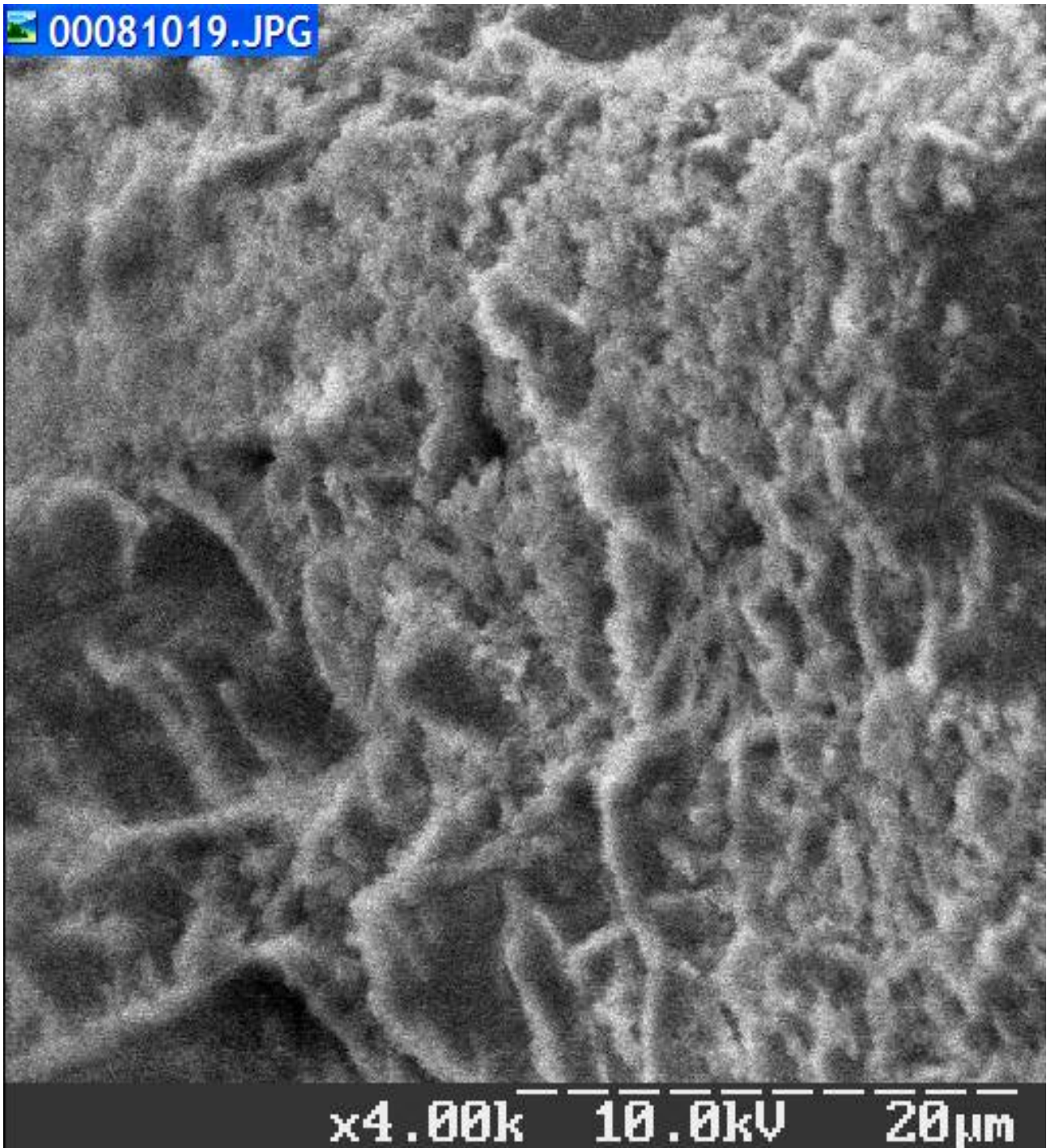


Рис. 41. Електронна мікрофотографія палісадного шару шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ХМ (скол шкаралупи) (x 4 000).

На рис. 41 представлена електронна мікрофотографія палісадного шару шкаралупи курячого яйця, тієї самої, що на попередньому знімку, але в іншому збільшенні. Видно, що кристали CaCO_3 ростуть хаотично, не «стандартно», через що утворюються мікротріщини та мікрошпарини.

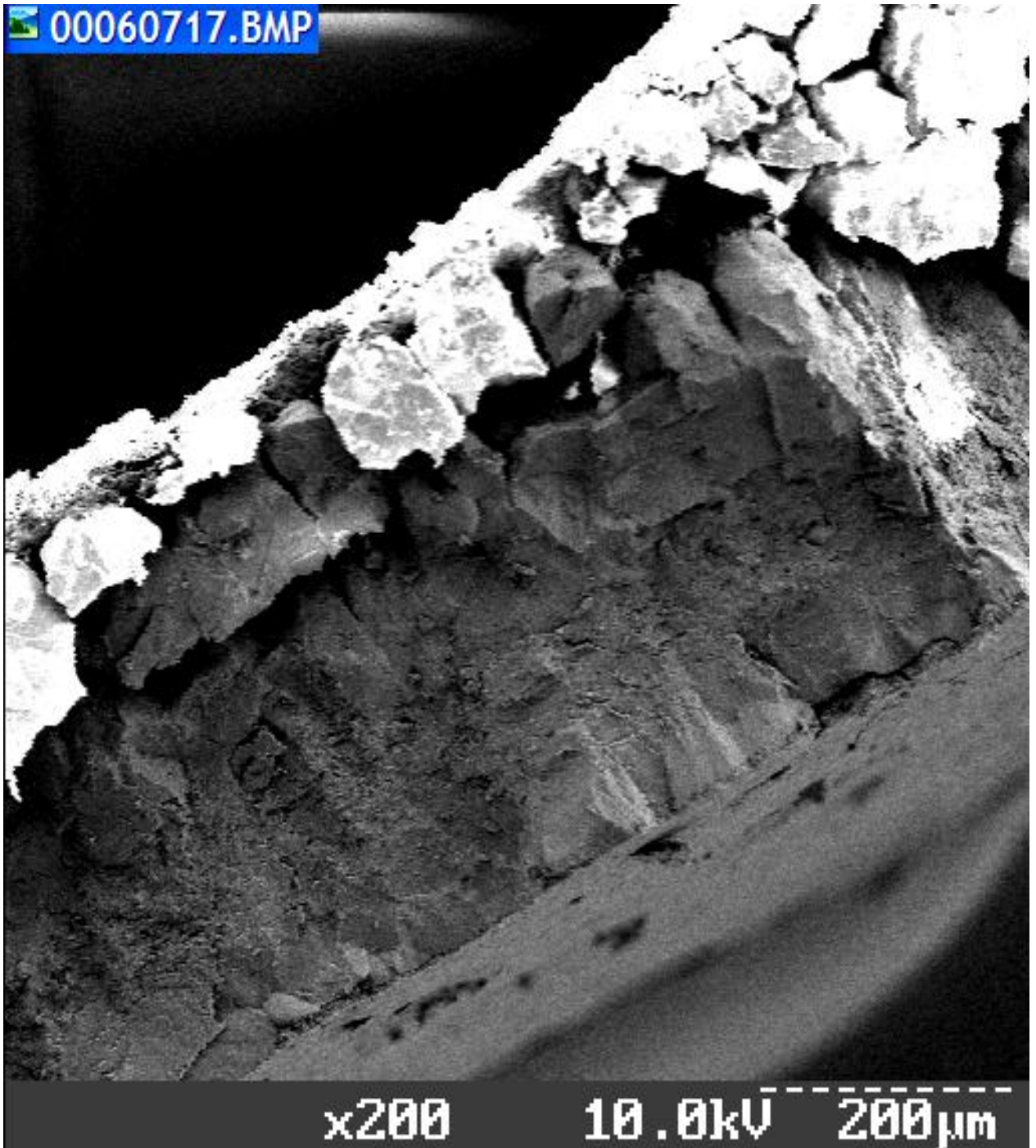


Рис. 42. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від хворої на ХМ курки (скол шкаралупи) (x 200).

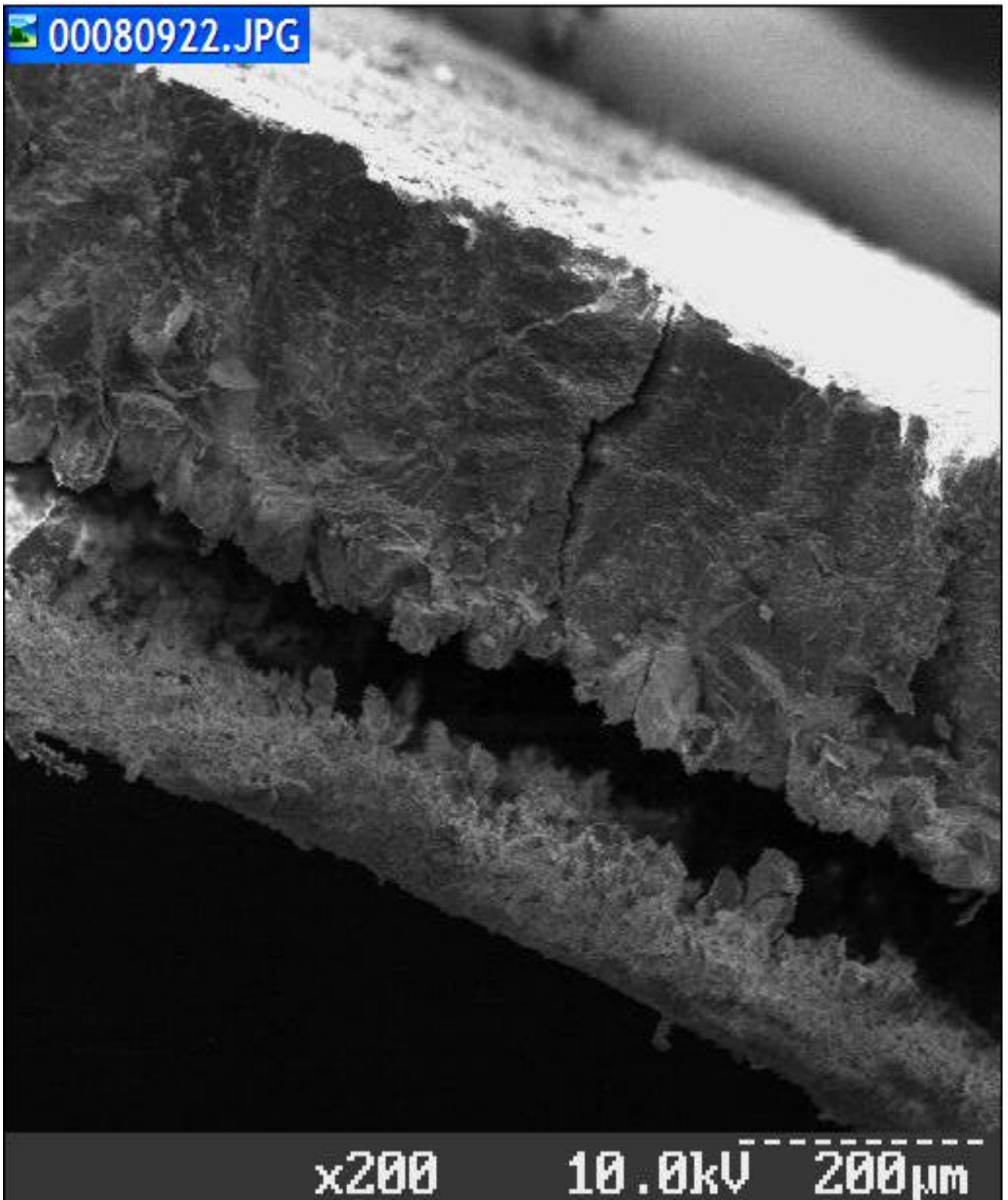


Рис. 43. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманих від куриці, хворої на ХМ (скол шкаралупи) (x 200).

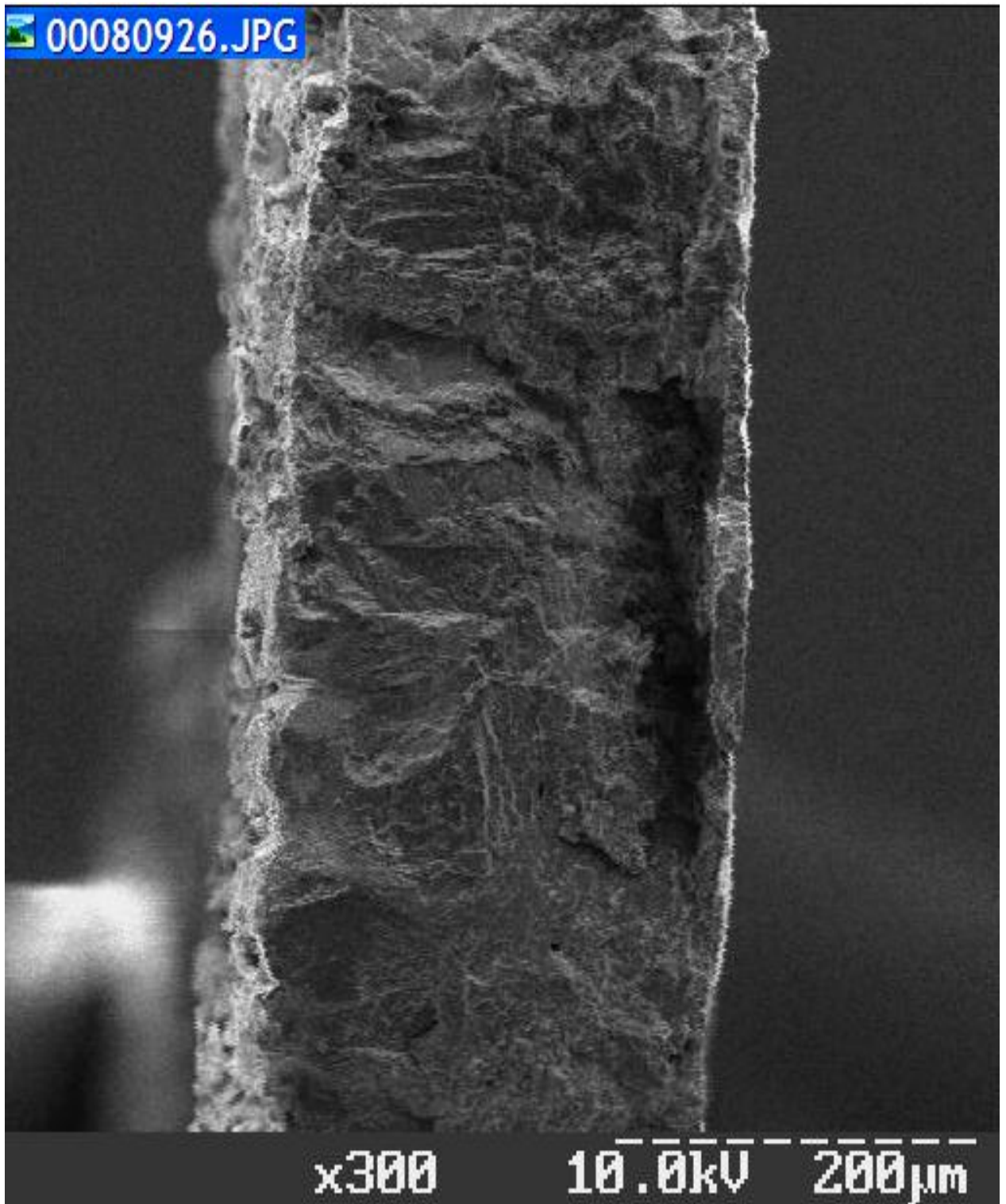


Рис. 44. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ХМ (скол шкаралупи) (x 300).



Рис. 45. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ХМ (скол шкаралупи) (x 1 000).

На електронних мікрофотографіях представлена шкаралупа яєць, отриманих від птиці, хворої на сальмонельоз. Така шкаралупа тонка, не сформована, має волокнистий пористий вигляд. Маміляри розташовані на великій відстані один від одного. Спостерігається відсутність або недорозвиненість конусного та палисадного шарів, велика кількість шпарин та насічок (рис. 46, 47).

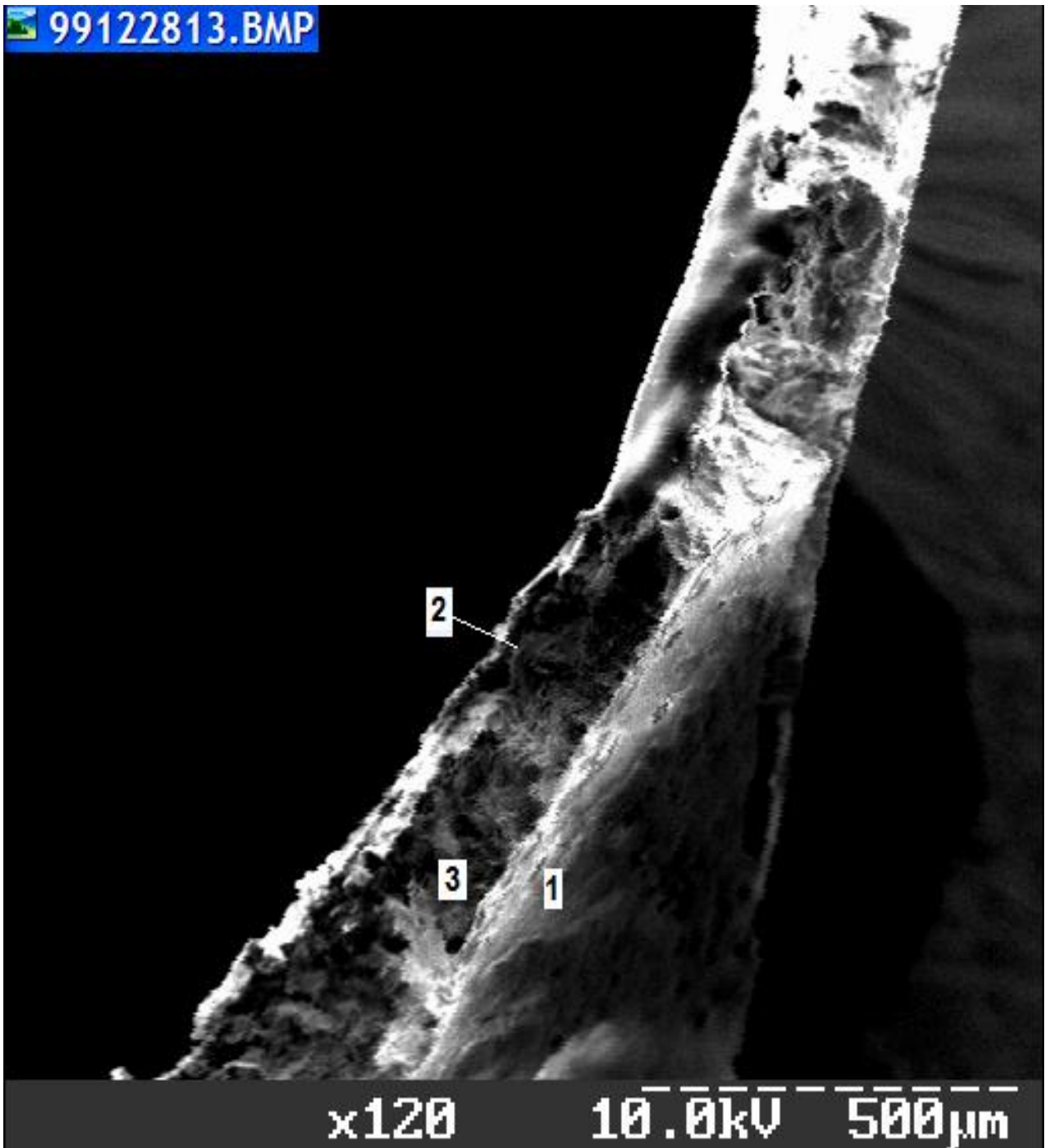


Рис. 46. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на сальмонельоз: 1 - зовнішній шар шкаралупи; 2 – маміляри; 3 – недорозвинений палісадний шар (x 120).

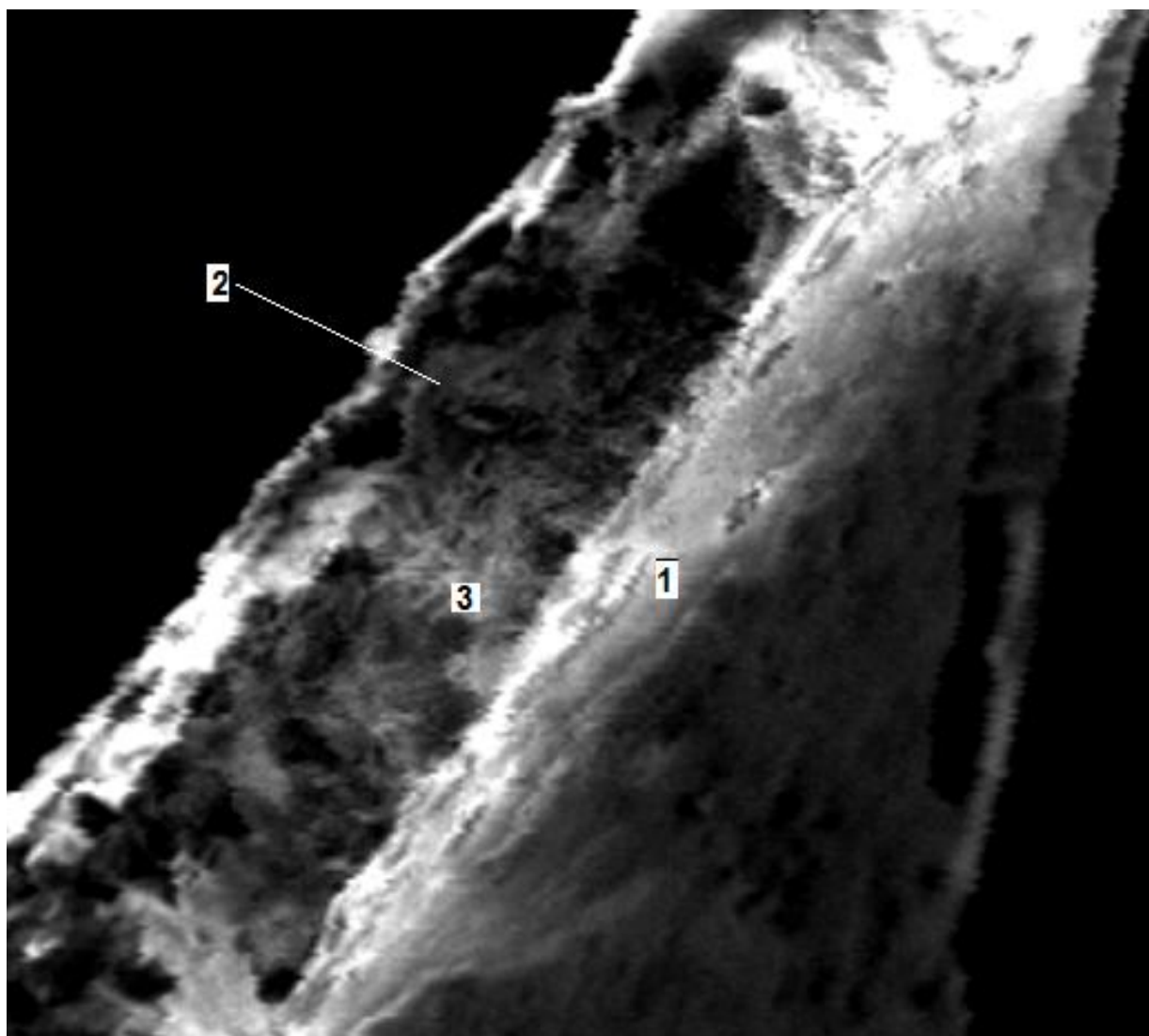


Рис. 47. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на сальмонельоз: 1 - зовнішній шар шкаралупи; 2 – маміляри; 3 – недорозвинений палісадний шар (x 120).

З мікрофотографій, що на рис. 46 і 47 видно, що шкаралупа не сформована, тонка. Зовнішній шар шкаралупи має волокнистий пористий вигляд (1). Велика відстань між мамілярами (2), відсутність конусного шару, де відбувається ріст кальцитів на мамілярах, недорозвинений палісадний шар (3) вказує на нестачу іонів Ca^{+2} для побудови шкаралупи.

3.3. Мікроструктура шкаралупи яєць курей при зараженні грибом *Aspergillus fumigatus*

Заходи з профілактики мікробного зараження яєць при їхньому виробництві, інкубації, збереженні та реалізації в значній мірі залежать від кінетичних параметрів зазначеного зараження.

У процесі формування шкаралупи яйця здорових птахів є практично вільними від мікроорганізмів; контамінація відбувається лише після знесення переважно протягом перших 60 с [157].

Ступінь поширення мікроорганізмів на поверхні яйця залежить від їхньої концентрації в навколишньому середовищі. Мікроорганізми можуть залишатися на поверхні шкаралупи довгий час. Подальшій їх транслокації через шкаралупу сприяють такі фактори: інфільтрація пор гіфами грибів, заповнення пор та шпарин водою внаслідок дії сил поверхневого натягу, засмоктування вологи при охолодженні теплих яєць.

Ступінь росту цвілей на поверхні курячого яйця відзначається відносною вологістю повітря: вони інтенсивно розвиваються за умов 100% вологості, менш інтенсивно - при 90 - 94% і, нарешті, зовсім припиняють ріст при 88% вологості і температурі зберігання 30⁰ С.

При зберіганні яєць на шкаралупі можуть розвиватися різні види цвілі. При інкубації яєць велику небезпеку представляє *Aspergillus fumigatus*. Забруднена шкаралупа служить джерелом живлення для плісень, які перетравлюючи кутикулу, усувають бар'єри для мікробної інфекції.

На електронних мікрофотографіях 48-61 представлена шкаралупа яєць, уражена цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus* [28].

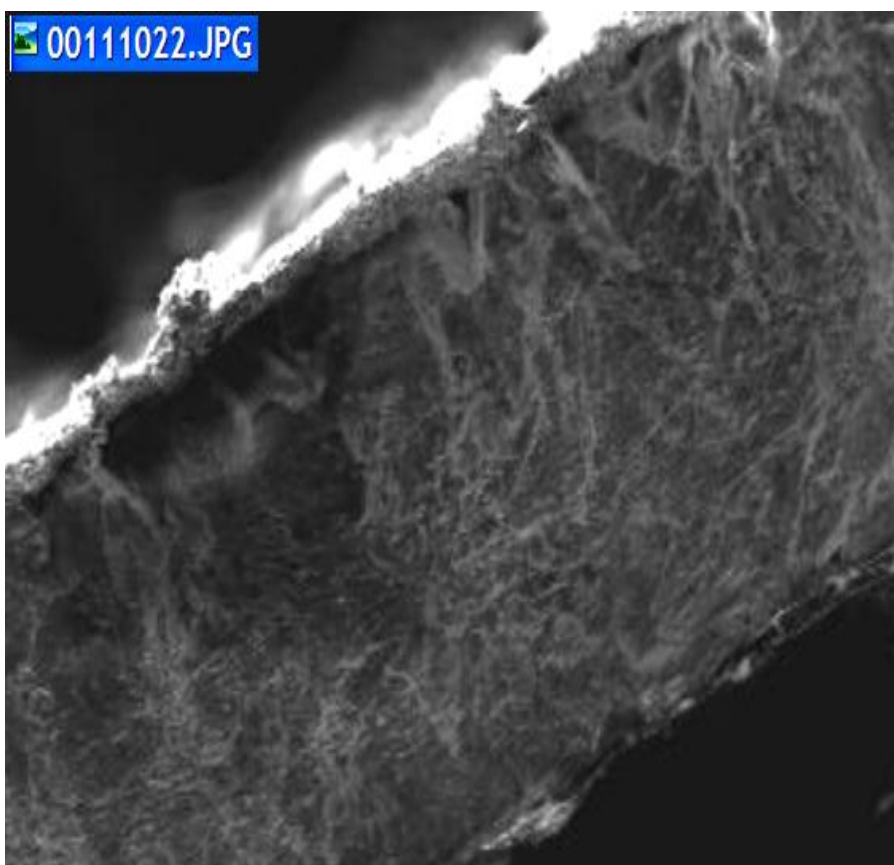


Рис. 48. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus* (скол шкаралупи) (x 200).

Уся шкаралупа курячого яйця пронизана пророслим багатоядерним твердим міцелієм, клітинна стінка якого містить хітин, що формує фібрили. Розвинені конідієносці утворюють вертикальні гіфи, які закінчуються пророслими стеригмами з конідіями.

Конідії гриба не укладені в спорангії; навпаки, вони оголені і вільно розсіюються після дозрівання.

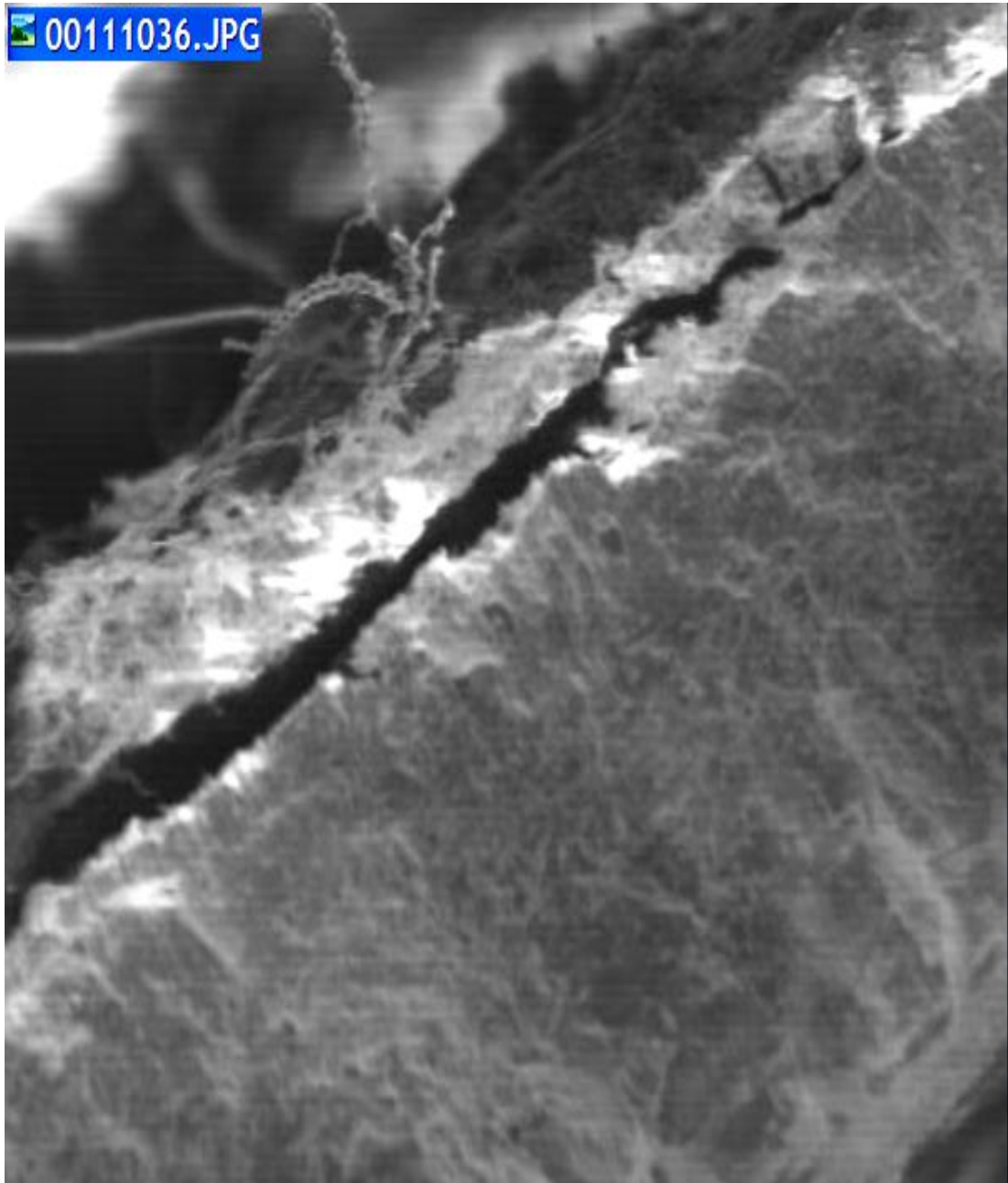


Рис. 49. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus* (скол шкаралупи) (x 300).

На мікрофотографії видно ріст міцелію гриба *Aspergillus fumigatus* як на поверхні шкаралупи, так і у шарах шкаралупи.

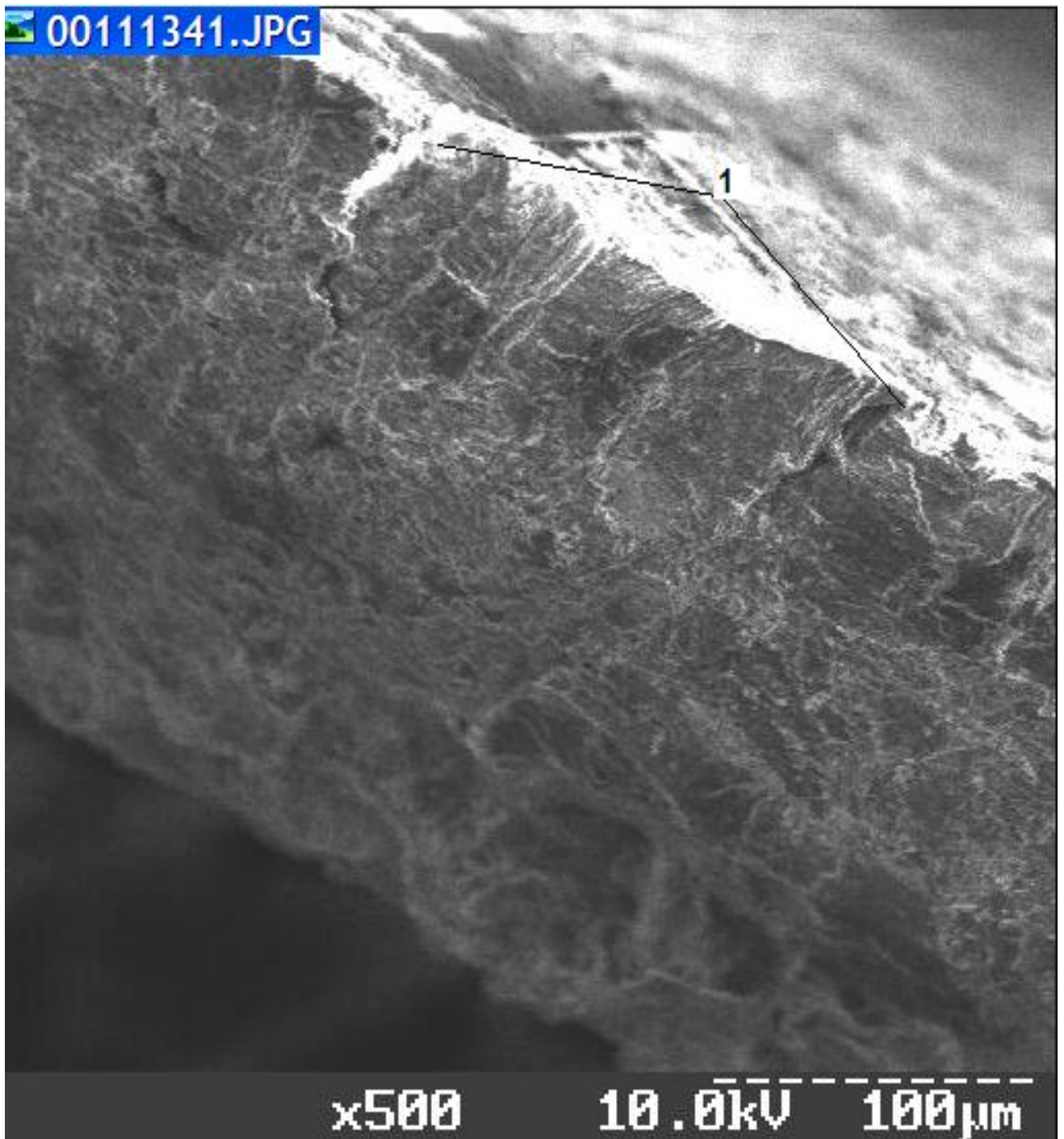


Рис. 50. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus*: 1 - пори (x 500).

На мікрофотографії добре видно вихід пори на зовнішню поверхню шкаралупи яйця (1).

Шари шкаралупи мають розрихлений вигляд. Спостерігається розростання міцелію гриба *Aspergillus fumigatus*.

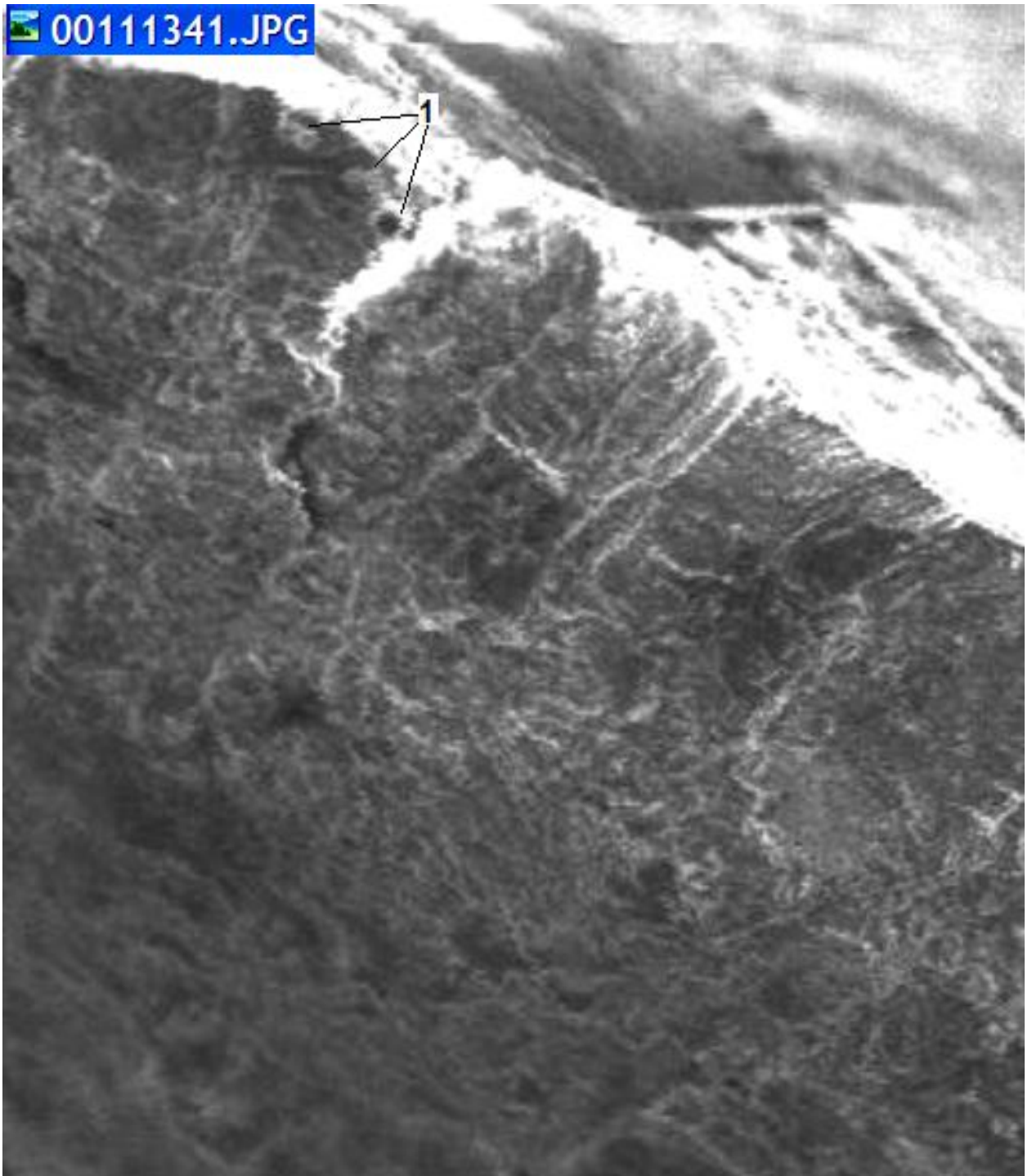


Рис. 51. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, зараженого грибом *Aspergillus fumigatus*: спорангії зі спорами гриба (скол шкаралупи) (x 500).

В шкаралупі спостерігається ріст цвілевого гриба *Aspergillus fumigatus*. Палісадний шар шкаралупи має розрихлений вигляд, видно спорангії зі спорами гриба (1).

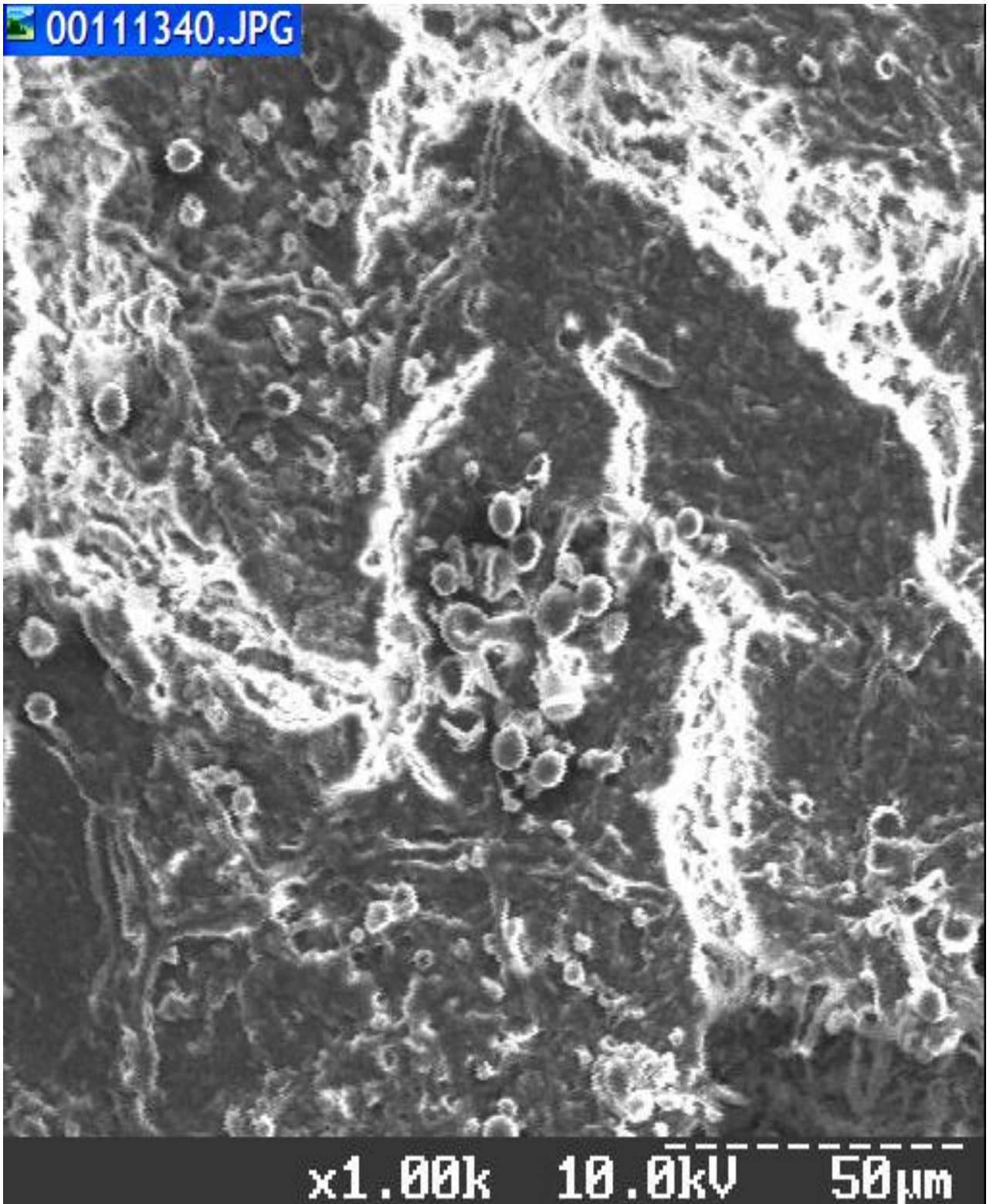


Рис. 52. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, зараженої грибом *Aspergillus fumigatus* (x 1 000).

На кутикулі шкаралупи спостерігається ріст колоній гриба *Aspergillus fumigatus*.

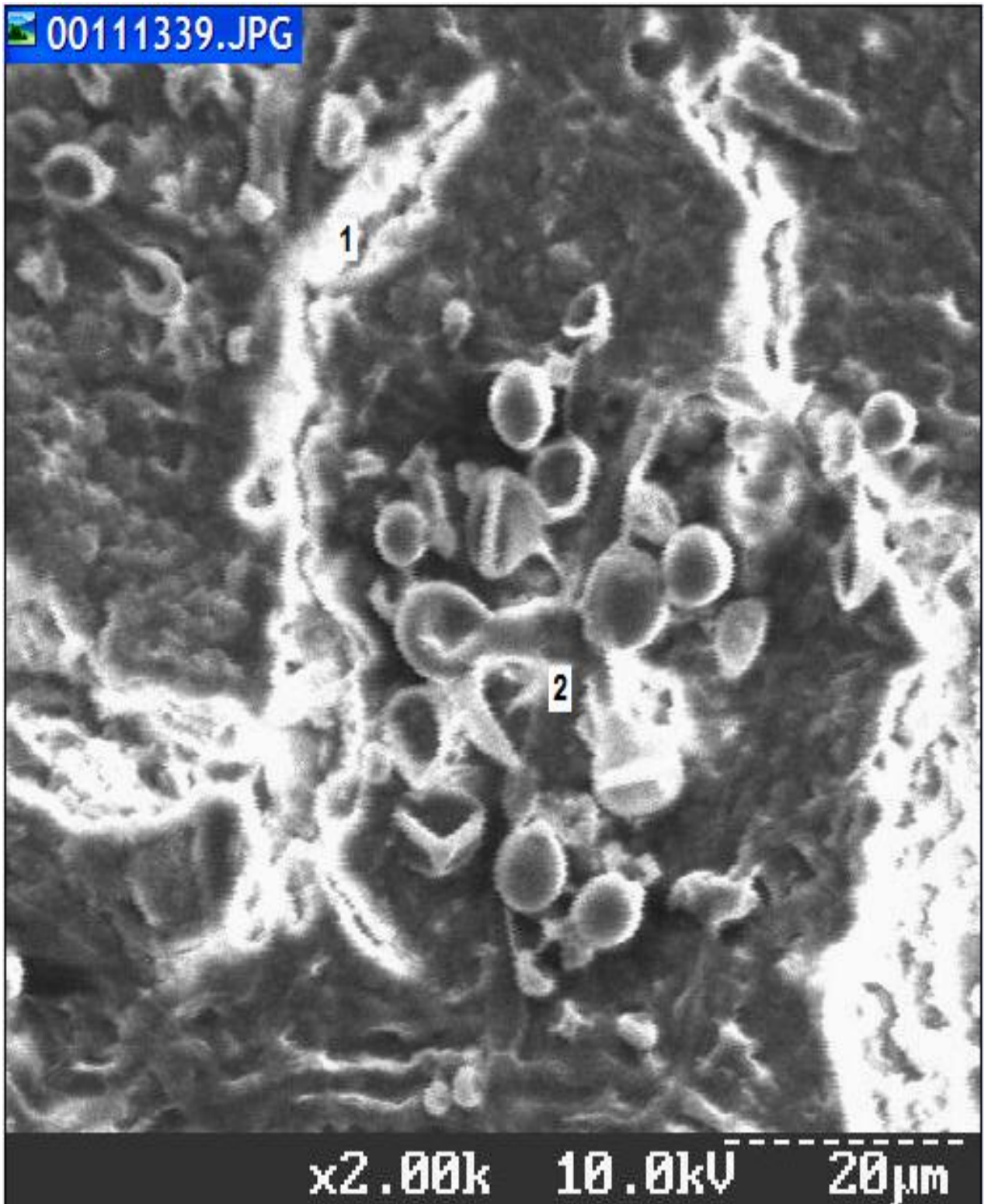


Рис. 53. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, зараженої цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus*: 1 – пора; 2 – ріст грибків *Aspergillus fumigatus* (x 2 000).

На мікрофотографії (рис. 53) спостерігається ріст грибків *Aspergillus fumigatus* на поверхні шкаралупи яйця (2).

Спори гриба проникають у кристалічні шари шкаралупи через пори (рис. 53.1) та мікротріщини.

Органічний матрикс шкаралупи, як і білки підшкаралупних мембран, являють собою чудовий субстрат для росту і розвитку грибів. Спори грибів, під час обсіменіння шкаралупи яйця, прикріплюються до кутикулярного шару, проростають і живляться за рахунок глікопротеїдів надшкаралупної оболонки. Надалі міцелій гриба проростає через пори і мікротріщини у внутрішні шари шкаралупи. Живлячись органічними речовинами *Aspergillus fumigatus* виробляє травні ферменти, а саме карбогідрози, ліпази і протеази. Для живлення даний гриб - гетеротроф використовує органічні джерела вуглецю, амінокислоти, що є джерелами азоту, неорганічні іони (K^+ , Mg^+), мікроелементи (Fe, Zn, Cu) і органічні фактори росту (такі, як вітаміни). На ці сполуки багаті шкаралупа і підшкаралупні мембрани яйця. Роз'їдаючи органічний субстрат шкаралупи, міцелій *Aspergillus fumigatus* пронизує кристалічну структуру кальцитного шару. Розвиваючись, гіфи грибів утворюють конідієносці з конідіями, в яких дозрівають спори. Розсіваючись, вони осіменяють підшкаралупні мембрани, що є добрим живильним субстратом для грибів.

На електронній мікрофотографії (рис. 54) видно конідієносець гриба *Aspergillus fumigatus* (1), конідій (2), та колагенові волокна підшкаралупної оболонки, уражені багатоядерним міцелієм гриба *Aspergillus fumigatus* (3).

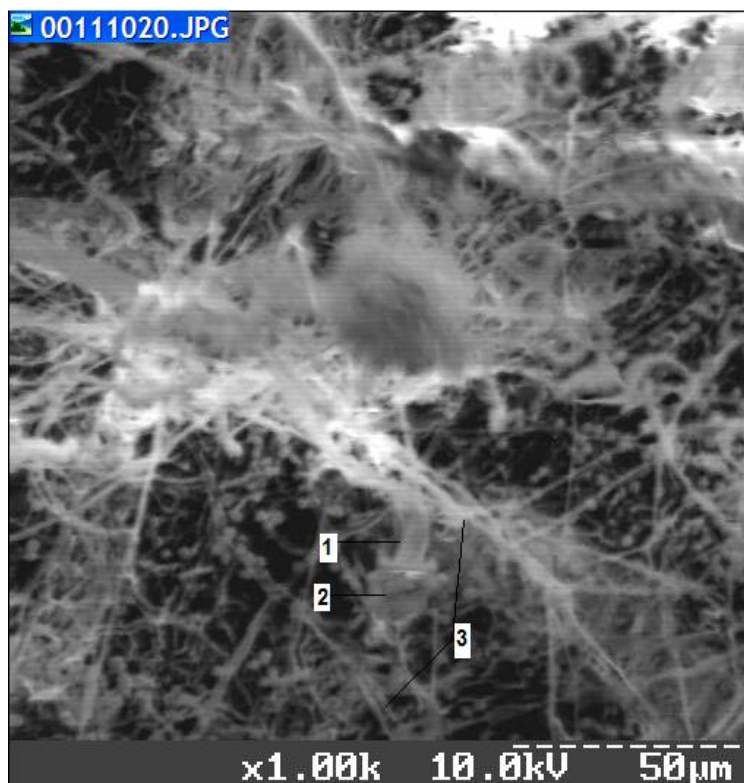


Рис. 54. Електронна мікрофотографія підшкаралупної оболонки курячого яйця, зараженого цвілевими грибками *Aspergillus fumigatus*: 1 – конідієносець; 2 - конідій; 3 - колагенові волокна підшкаралупної оболонки, уражені грибом *Aspergillus fumigatus* (x 1 000).

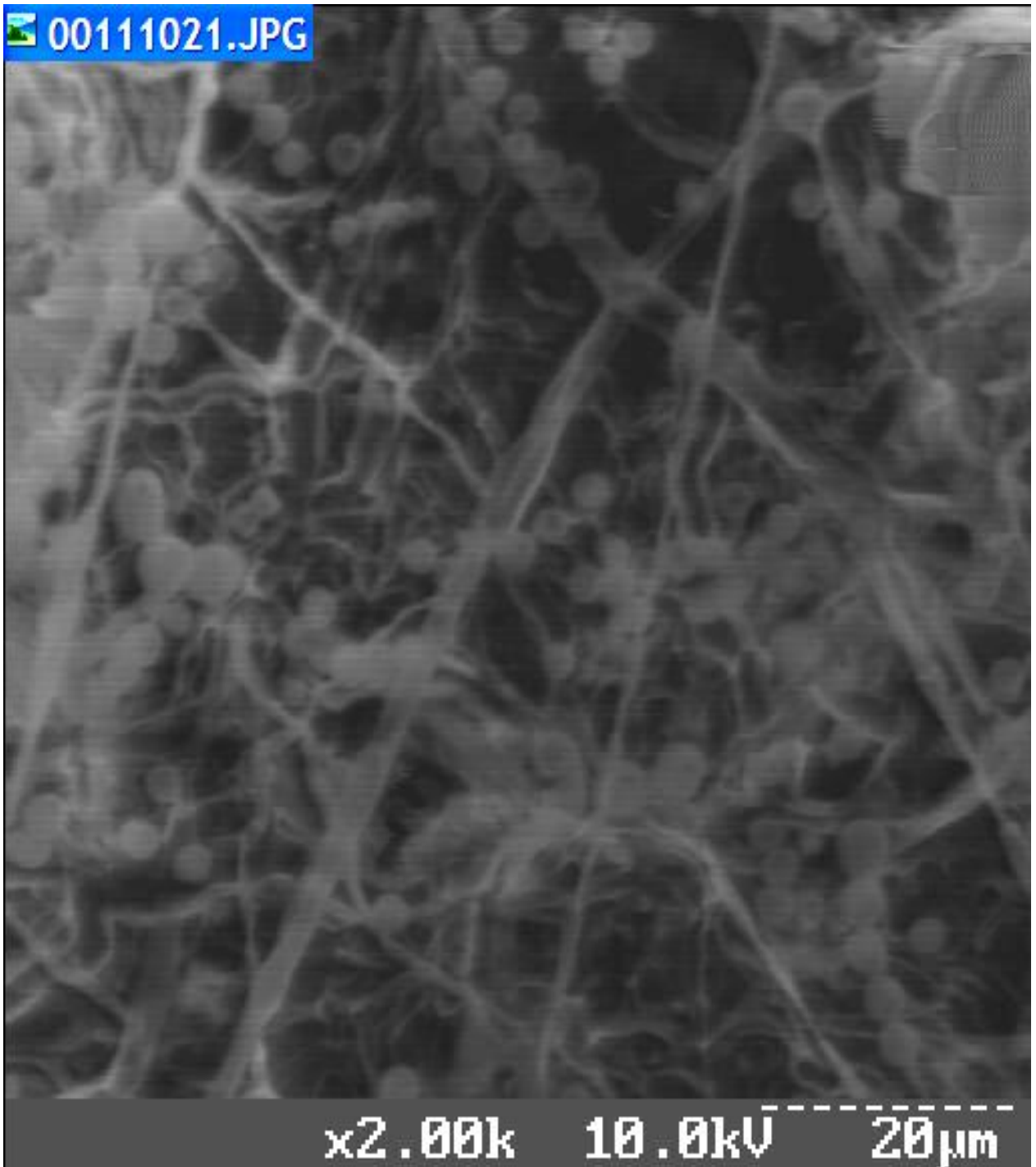


Рис. 55. Електронна мікрофотографія підшкаралупної оболонки курячого яйця, зараженого цвілевими грибками *Aspergillus fumigatus* (x 2 000).

На мікрофотографії (Рис. 55) видно розвинений багатоядерний міцелій грибів *Aspergillus fumigatus*, конідієносці, пророслі стеригми з конідіями.

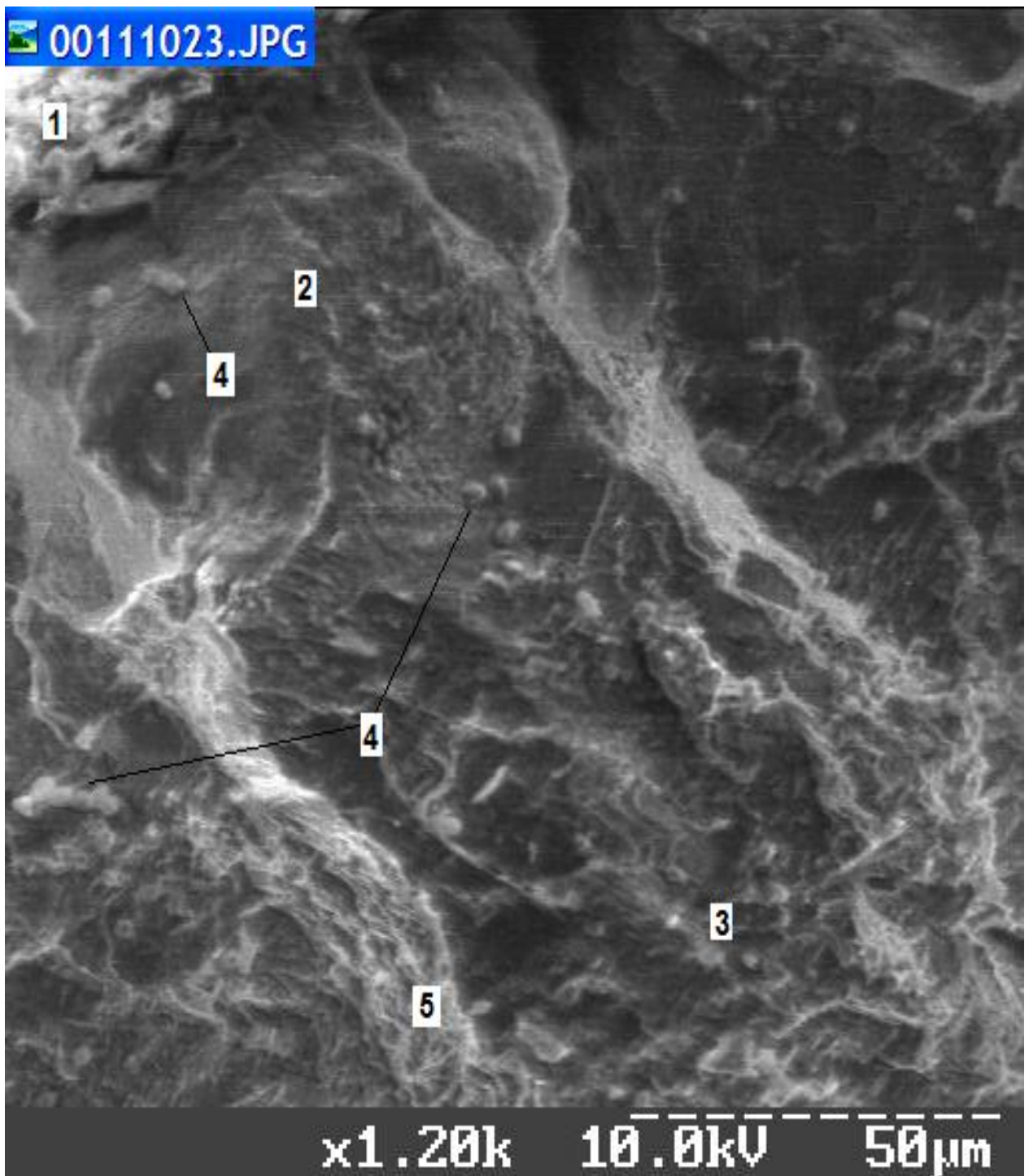


Рис. 56. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, зараженої плісневими грибами *Aspergillus fumigatus* (скол шкаралупи): 1 - підшкаралупна оболонка; 2 - мамілярний, конусний шари; 3 - палісадний шар; 4 – конідієносці з конідіями; 5 - багатоядерний твердий міцелій гриба (x 1 200).

Підшкаралупна оболонка (рис. 56. 1), мамілярний і конусний шари (2), а також палісадний шар шкаралупи (3) пронизані пророслим багатоядерним твердим міцелієм (5) з конідієносцями та розвиненими конідіями (4).

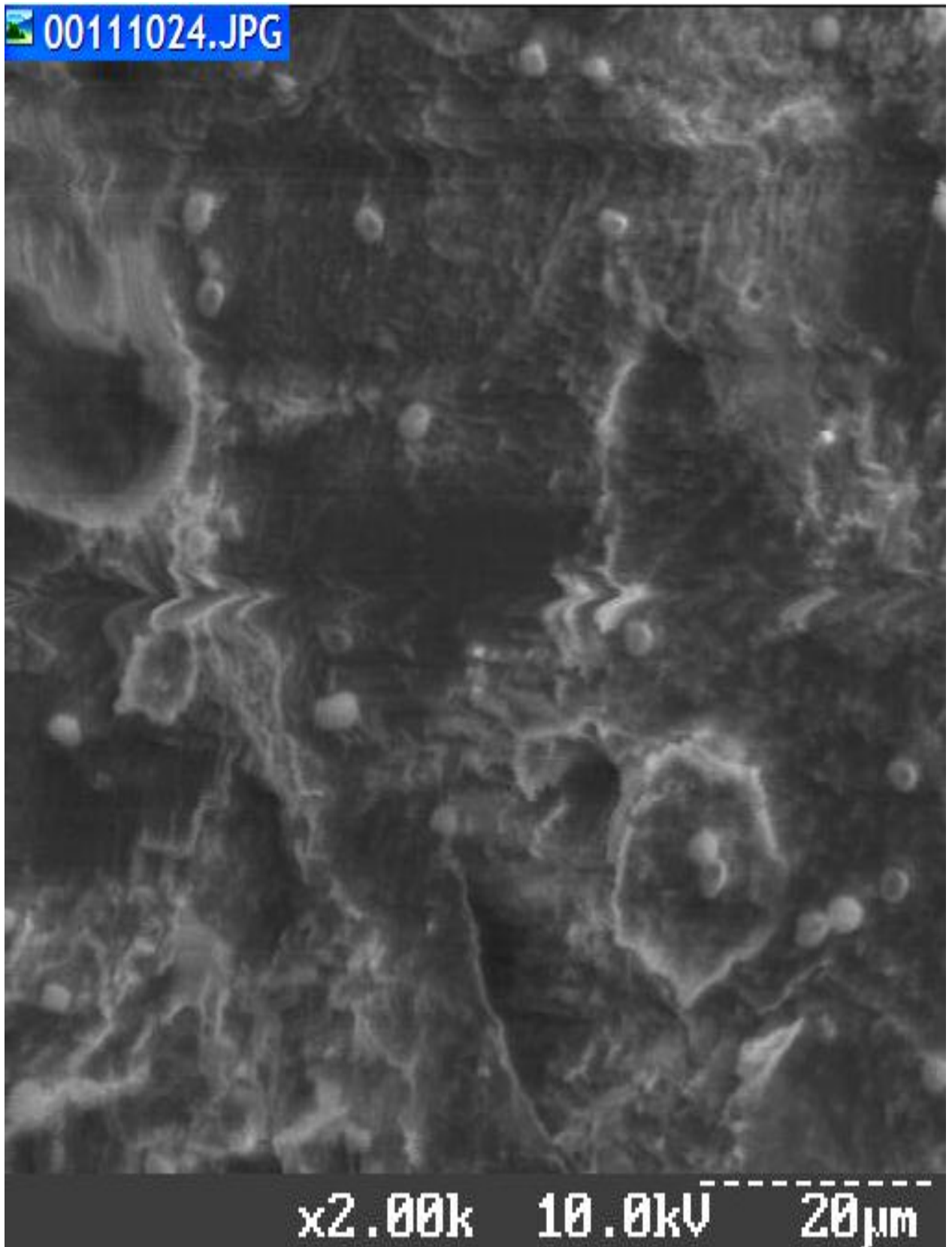


Рис. 57. Електронна мікрофотографія мамілярного шару шкаралупи курячого яйця, зараженої плісневими грибками *Aspergillus fumigatus* (x 2 000).

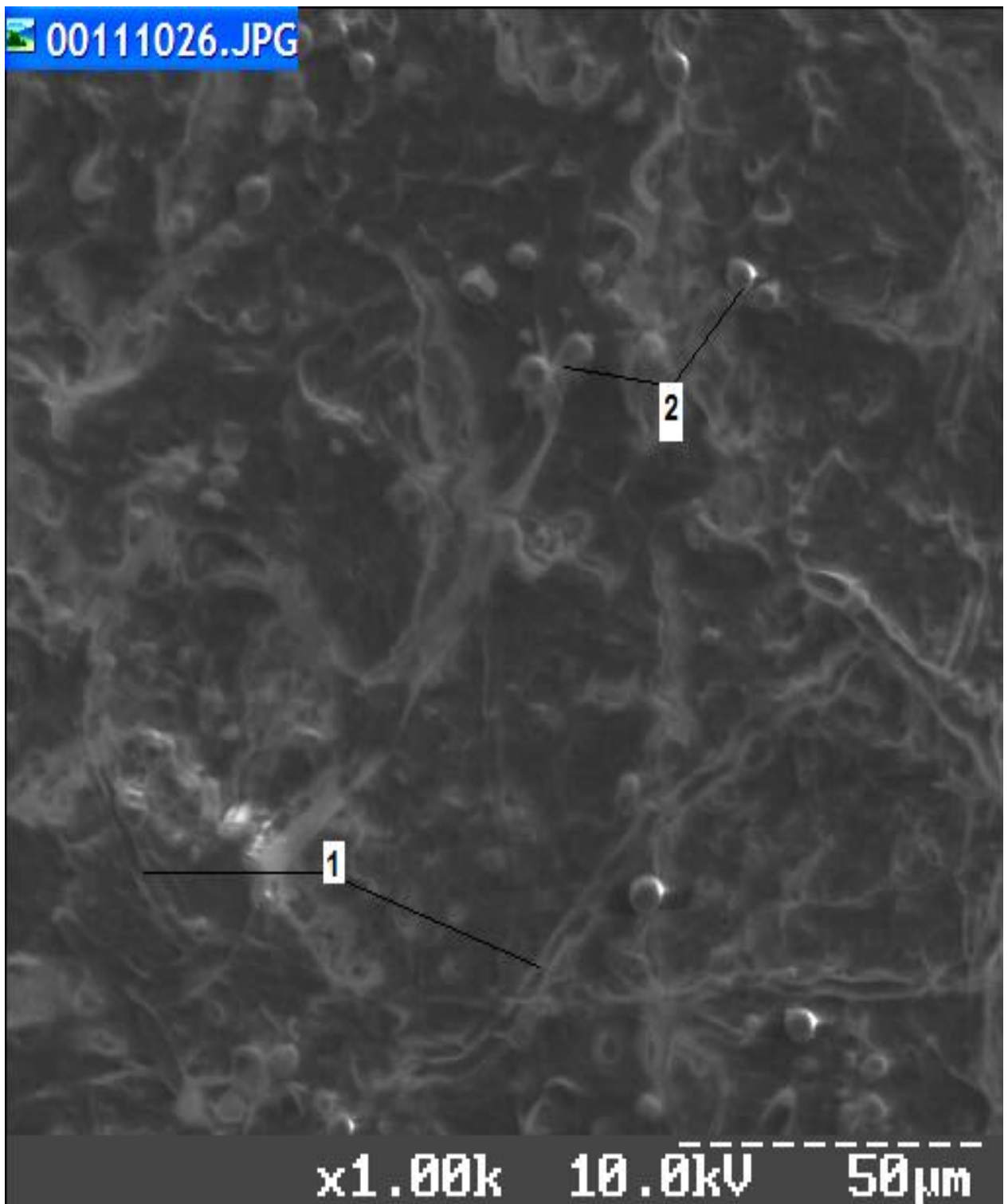


Рис. 58. Електронна мікрофотографія сколу шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus*: 1 - міцелій гриба *Aspergillus fumigatus*; 2 - конідієносці з конідіями (x 1 000).

На мікрофотографії (рис. 58) добре видно багатоядерний міцелій гриба *Aspergillus fumigatus* (1), а також конідієносці з розвиненими конідіями (2).

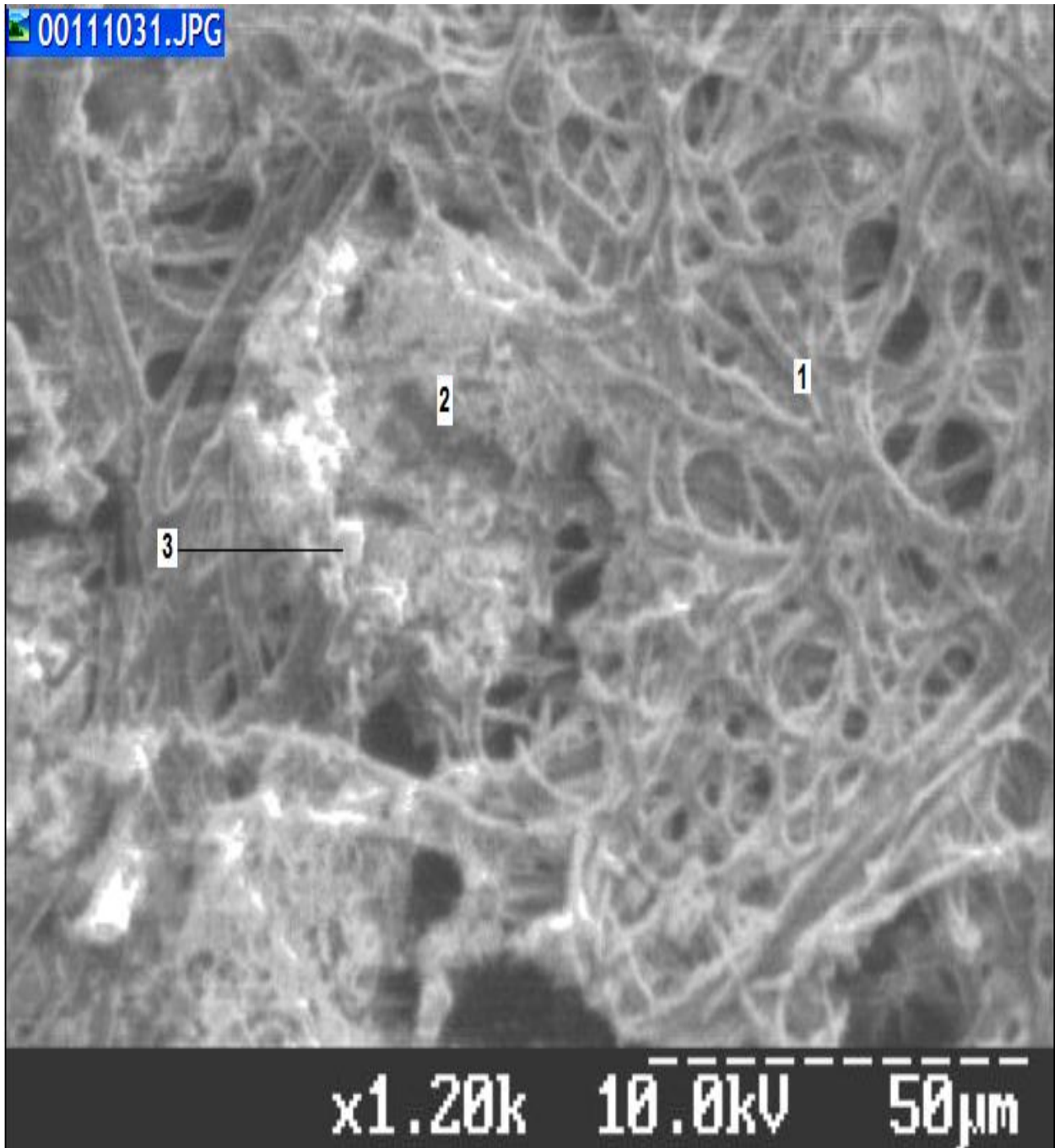


Рис. 59. Електронна мікрофотографія внутрішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибком *Aspergillus fumigatus*: 1 - зовнішня підшкаралупна оболонка; 2 – маміляри; 3 – конідії з конідієносцями гриба *Aspergillus fumigatus* (x 1 200).

На електронних мікрофотографіях 59 та 60 представлені колагенові волокна зовнішньої підшкаралупної оболонки (1), маміляри шкаралупи яйця (2) та пророслі конідії з конідієносцями гриба *Aspergillus fumigatus* (3).

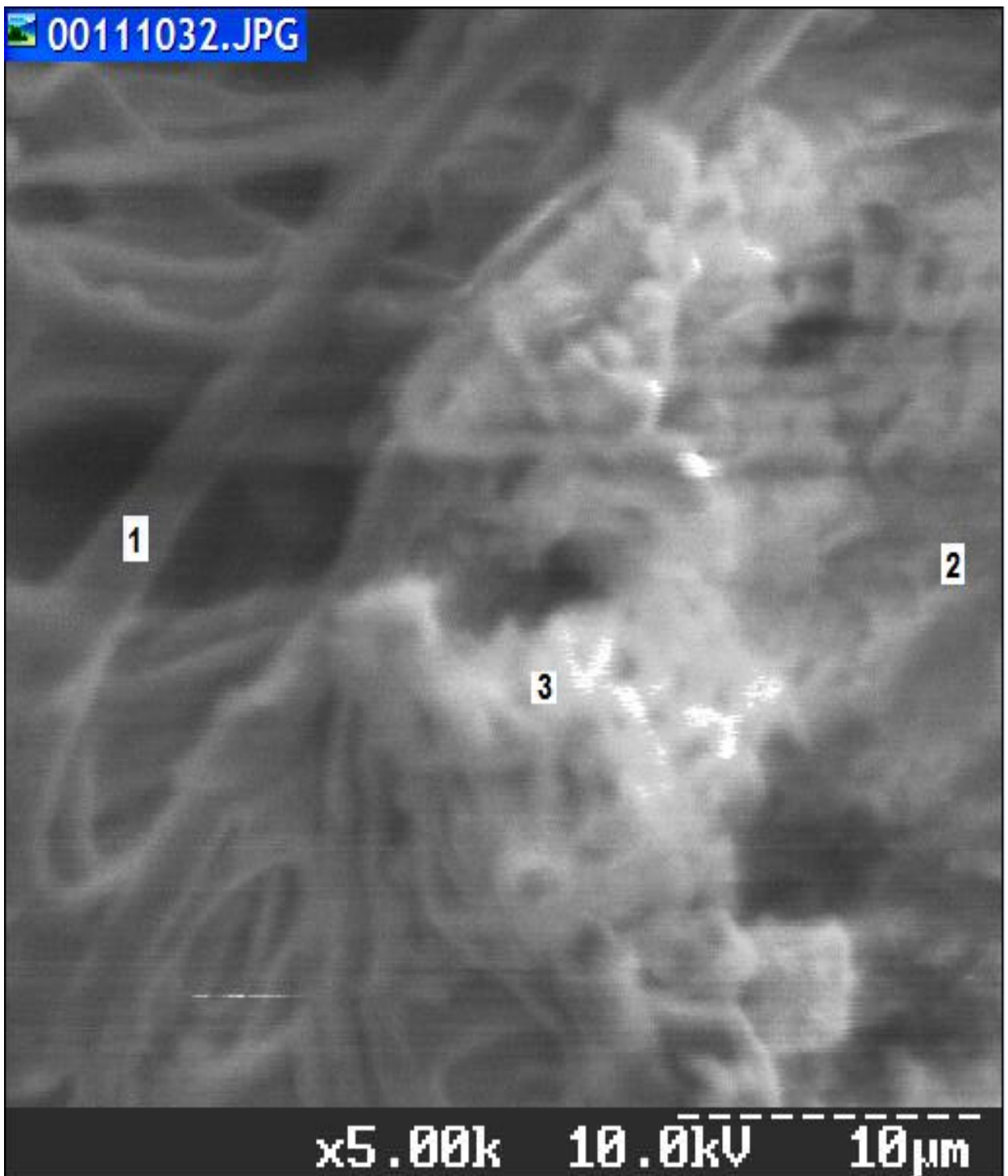


Рис. 60. Електронна мікрофотографія внутрішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибком *Aspergillus fumigatus*: 1 - зовнішня підшкаралупна оболонка; 2 – маміляри; 3 – конідії з конідієносцями гриба *Aspergillus fumigatus* (x 5 000).

На мікрофотографії (рис. 61) кристали кальцитів шкаралупи пронизані міцелієм гриба з розвиненими конідієносцями з конідіями.



Рис. 61. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, зараженого цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus* (скол шкаралупи): 1 - пори шкаралупи з пророслими грибками (x 2 000).

На мікрофотографії (рис. 61) спостерігається проростання грибків у порах шкаралупи (1).

4. Вплив дезінфектантів на морфологічні параметри шкаралупи курячих яєць

4.1. Захисні покриття для інкубаційних яєць «штучна кутикула» *ARTICLE (ARTIficial cutiCLE)*

Однією з актуальних задач промислового птахівництва є необхідність теоретичного обґрунтування найбільш значимих чинників, які визначають підтримання метаболічних показників ембріону, що розвивається, в оптимальному режимі функціонування і розробці комплексу заходів, що забезпечують можливість керування зазначеними метаболічними параметрами, кінетикою транспортних процесів біологічно-активних речовин через захисні структури інкубаційних яєць, а також захист останніх від вторинної контамінації патогенними мікроорганізмами.

Молекулярні механізми порушень обміну речовин в ембріонах птахів в онтогенезі, викликані негативним впливом типових ксенобіотиків хімічної природи, якими є всі сучасні біоцидні препарати, вивчені недостатньо. Малодослідженою залишається і проблема змін параметрів метаболізму ембріонів внаслідок негативного впливу біоцидних препаратів на фоні змінених морфологічних характеристик інкубаційних яєць [2].

Вторинна контамінація інкубаційних яєць набуває особливого значення в останні часи через те, що захисні структури яєць птиці сучасних високопродуктивних кросів мають погіршені характеристики і це обумовлює необхідність штучного підсилення рівня захисту ембріонів, що розвиваються, від дії чинників навколишнього середовища. Зважаючи на те, що протягом останнього десятиріччя активно розробляються технології керованого вивільнення іммобілізованих біологічно активних речовин «*Control Release Technique*» зі штучних полімерних носіїв - матриць до живих тканин певні перспективи набуває новий підхід до захисту інкубаційних яєць, сутність якого полягає в утворенні на поверхні яєць «штучної кутикули» («*ARTIficial cutiCLE*»); *ARTICLE* - газопроникної гетерокомпонентної тонкошарової плівки - носія з полімерної речовини, до складу якого разом з біоцидними сполуками входять біологічно активні речовини - біостимулятори та імуностимулятори природного та штучного походження, які протягом терміну інкубації поступово, із заданими попередньо швидкостями (обумовленими хімічним складом носія - матриці), надходять всередину яйця до зони розвитку ембріону через біокерамічні шари шкаралупи. Водночас спеціалізовані компоненти *ARTICLE* полегшують газообмін ембріону протягом інкубації.

ARTICLE являє собою самовпорядковане полікомпонентне захисне покриття для відновлення бар'єрних властивостей біокерамічних структур шкаралупи і шкаралупних мембран, якому притаманні біоцидна (антибактеріальна та антивірусна) і біостимулююча стосовно ембріону, що розвивається, види активності. Ключовою ланкою технології *ARTICLE* є конструювання нового лікарського і профілактичного засобу захисту

інкубаційних яєць за біоміметичним принципом, тобто максимально наближеним до відповідних природних захисних бар'єрів яйця, на основі технологій модифікації та іммобілізації молекул біологічно активних щодо ембріонів птахів речовин з метою пролонгування їх дії, захисту від передчасного руйнування та підвищення коефіцієнту продуктивної дії. Конструювання лікарських та профілактичних засобів на основі технології *ARTICLE* добре співвідноситься з сучасною тенденцією в промисловому птахівництві, пов'язаною з розробкою технологій по збагаченню in ovo інкубаційних яєць поживними речовинами, вітамінами і стимуляторами росту, а також проведенню вакцинації in ovo, і являє певні перспективи в галузі створення біоактивних препаратів «подвійної дії» на основі технології контрольованого вивільнення (*Control Release Technique*), до складу яких поряд з біоцидними інгредієнтами, входять біостимулятори й імуностимулятори, що протягом інкубації поступово, із заданими швидкостями надходять у середину яйця через подібний хроматографічному сорбенту біокерамічний шар шкаралупи. Таким чином, передбачається одночасне знищення патогенної мікрофлори з зовнішньої сторони яйця, і стимуляція розвитку і підвищення рівня резистентності пташиних ембріонів. Такі заходи попереджують погіршення виводимості та збільшення небезпеки вторинної контамінації яєць вірусними та бактеріальними патогенами. В якості біологічно-активних інгредієнтів в технології *ARTICLE* використовують біологічно-активні речовини (БАР) природного походження (зокрема рослинні екстракти), котрим притаманні біоцидні щодо патогенної мікрофлори та стимулюючі щодо ембріонів, що розвиваються, властивості [33]. Біологічно-активним агентам природного походження на цей час приділяється велика увага зважаючи на, по-перше, тенденцію до зниження використання в птахівництві країн ЄС антибіотиків і, екологічну безпеку та високу біологічну активність природних препаратів, по-друге [18].

В прикладному плані розробка теоретичних і експериментальних підходів до побудови концепції, конструювання і розробки промислової технології «штучної кутикули» *ARTICLE* на основі керування і коригування метаболічного статусу ембріона, що розвивається, є дуже актуальною як у прикладному значенні, так і у фундаментальних, загально біологічних аспектах.

Попередніми роботами автора зі співр. [23, 32] експериментально доведено, що базова процедура технології «штучної кутикули» - покриття інкубаційного яйця шаром матриксної речовини на основі водорозчинних ЧАС призводить до утворення на поверхні яйця досить щільного шару завтовшки від 0,05 до 15-20 мкм, вкритого звивистими мікротріщинами, який в тій чи іншій мірі затрудняє надходження всередину яйця патогенної мікрофлори і впливає на кінетичні параметри дифузії газів через біокристалічний шар шкаралупи (рис.62).

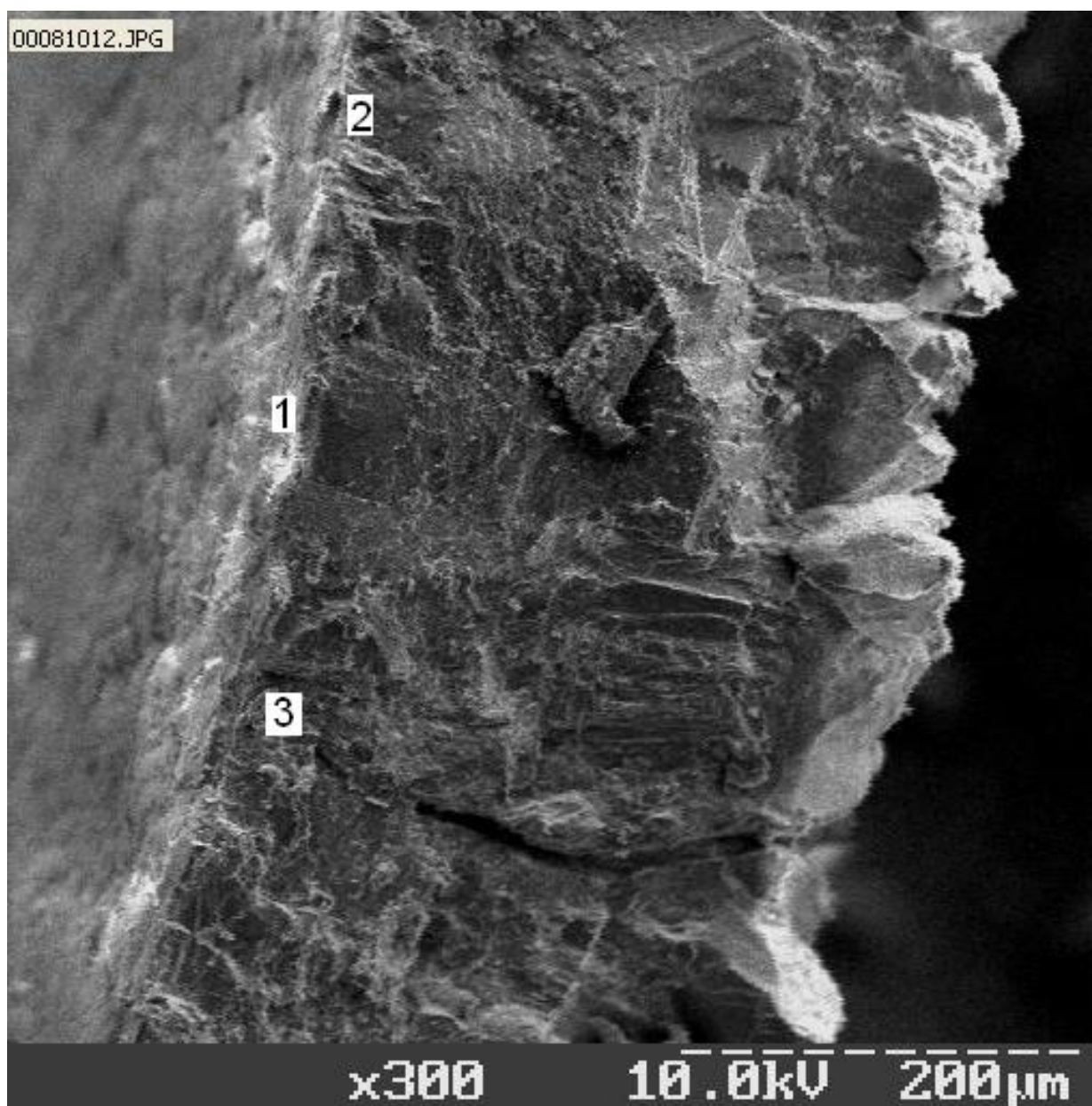


Рис. 62. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого четвертинними амонієвими сполуками (ЧАС): 1 - плівка з четвертинних амонієвих сполук (ЧАС), що сформована на поверхні курячого яйця; 2 - вертикальний кристалічний шар шкаралупи; 3 - пора, що виходить на поверхню шкаралупи яйця (на поверхні пора закрита плівкою) (x 300).

Незважаючи на багаторазово показану ефективність препаратів на основі ЧАС в боротьбі з інфекційними хворобами птахів, їм притаманна і негативна дія щодо ембріонів, обумовлена якраз утрудненням процесів дифузії кисню, діоксиду вуглецю та інших газів через зазначений шар. Останнє потребує суттєвої модифікації як складу препаратів, які утворюють *ARTICLE*, так і технологій їх нанесення на яйце. Щодо складу «штучної кутикули», то перспективним виявилось доповнення матричної речовини (ЧАС) БАР природного і штучного походження, які використовуються в технологіях інкубації з метою контролювання процесів ембріогенезу,

попередження ураження яєць інфекційними агентами, керування газообміном протягом інкубації і навіть передінкубаційного коректування статі птиці інгібіторами ароматази.

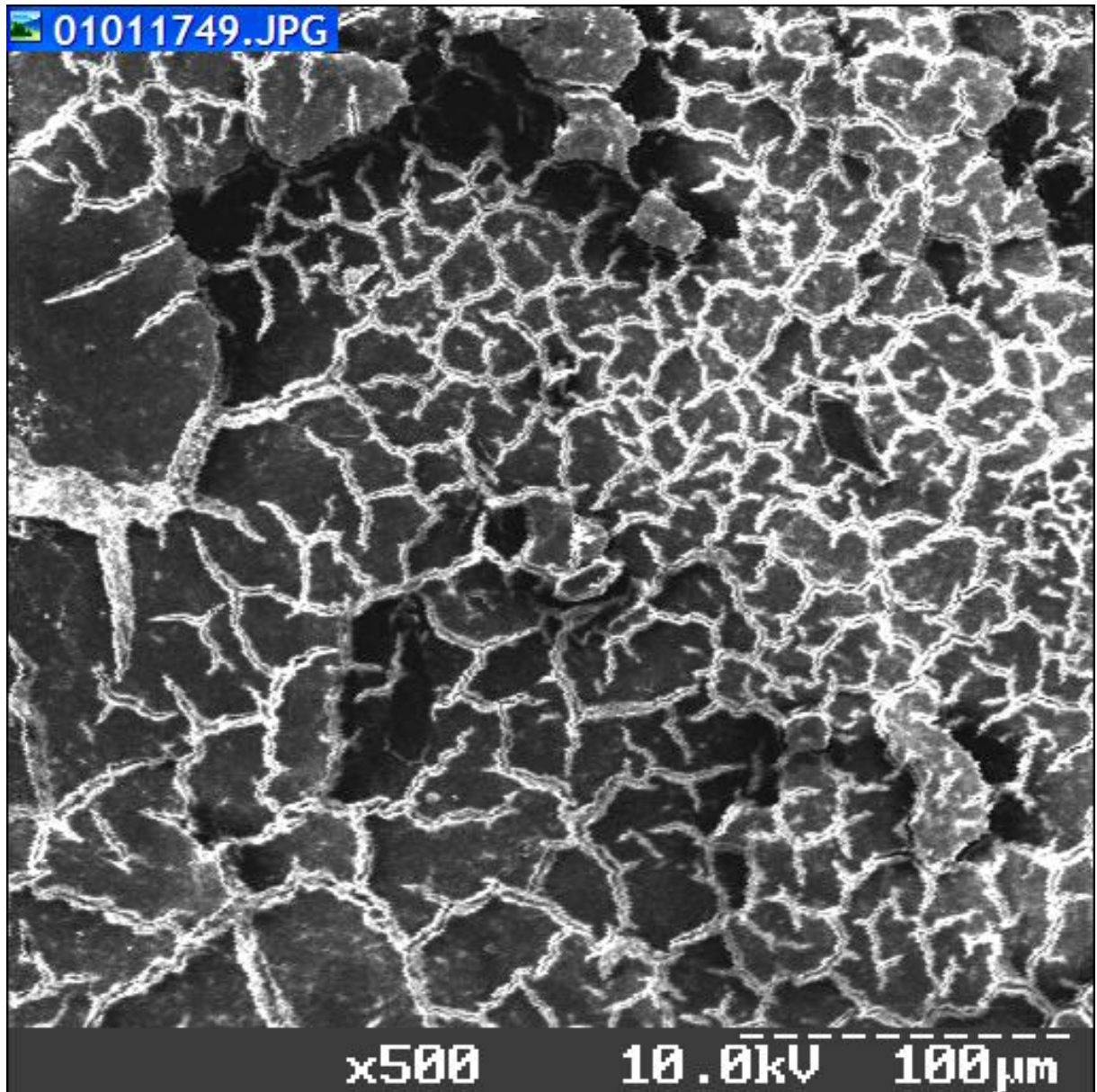


Рис. 63. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю рослинних екстрактів (зразок шкаралупи відібраний після вилуплення курчати) (x 500).

Нами використані переважно БАР рослинного походження, що обумовлене в першу чергу доступністю сировини та надзвичайно широким спектром біостимулюючих та біоцидних властивостей, притаманних зазначеним сполукам [13, 17].

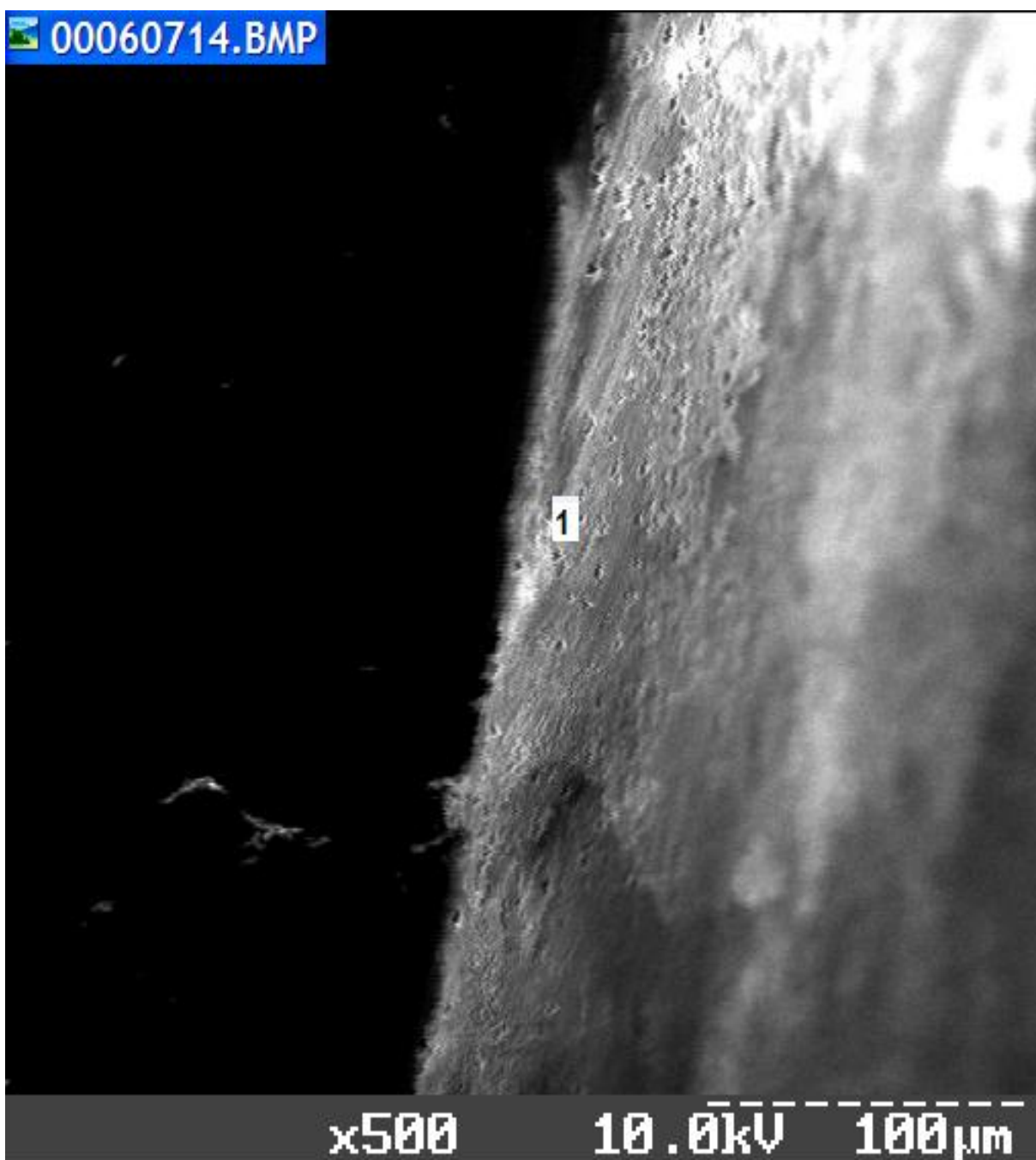


Рис. 64. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленої рослинним екстрактом з додаванням емульгатора: 1 - покриття з рослинних екстрактів (20 мкм) на кутикулі шкаралупи (x 500).

Зазначимо, що в залежності від складу та концентрації окремих інгредієнтів у вихідному препараті для отримання *ARTICLE* і технології конструювання останньої на поверхні яйця, докорінних змін зазнає як структура захисної плівки, так і її бар'єрні властивості щодо газів і органічних молекул і іонів неорганічних речовин. Встановлено, що варіювання складу вихідного розчину для конструювання *ARTICLE* впливає на морфологічні параметри захисної плівки [10,25].

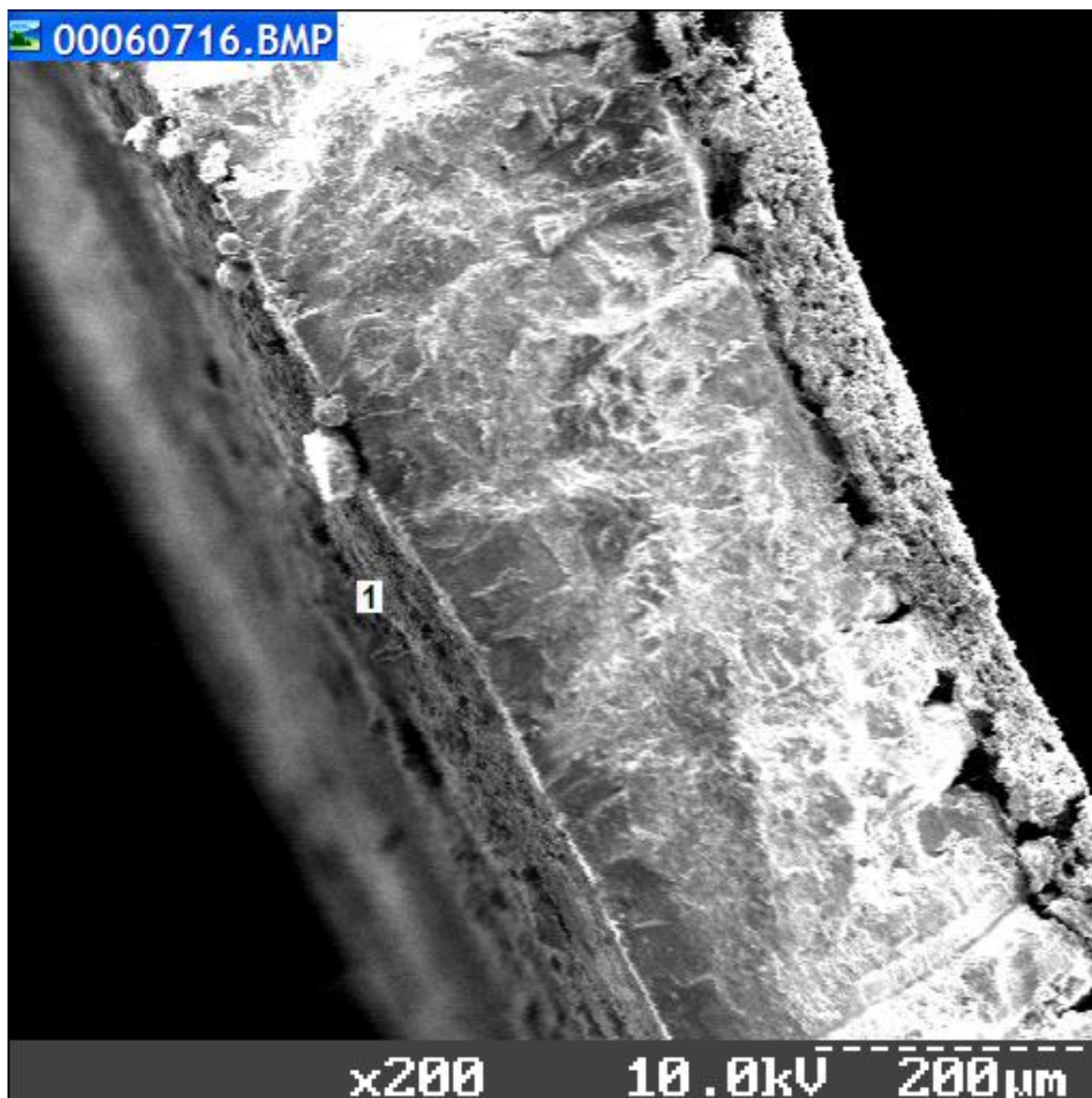


Рис. 65. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленої рослинним екстрактом з додаванням емульгатора (скол шкаралупи): 1 - покриття з рослинних екстрактів (20 мкм) на кутикулі шкаралупи (x 200).

Зокрема за щільністю модельна білкова структура, що імітує кутикулярний покрив яйця подібна відповідній структурі, яка притаманна упорядкованому шарові ЧАС, хоча шар ЧАС спричинює уповільнення дифузії газів через нього в порівнянні з кутикулою, як природним захисним шаром [19,25].

Причиною цього є характерна для ЧАС молекулярна організація, яка призводить до утворення на твердофазових поверхнях щільних багатошарових покриттів.

Так, ЧАС, які використовують в технології ARTICLE, відповідають формулам $C_nH_{2n+1}N(CH_3)_3Cl$ з $n = 12-18$. У воді такі молекули дисоціюють з утворенням алкіламонієвого катіону з гідрофільною «головою» $[N(CH_3)_3]^+$ і гідрофобним нейтральним «хвостом» $[CH_2(CH_2)_{n-1}]$.

Уже за дуже малих концентрацій у воді іони ЧАС утворюють циліндричні міцели, поверхня яких набуває позитивного заряду. При введенні в такий міцелярний розчин негативно заряджених неорганічних або органічних комплексів, ці аніони сорбуються на поверхні міцели, витискаючи власні протиіони ЧАС [53]. Одночасно такі міцели самовільно утворюють регулярну гексагональну упаковку; мікроструктура таких плівок дуже подібна до сферичних та циліндричних міцел, у формі яких зазначені сполуки існують у розчинах; латеральні бішарові структури, які утворюють, зокрема, ліпіди, в даному випадку не мають місця. Морфологічні зміни мікроструктур плівок індукує зміна протиіонів. Так, додавання до вихідного розчину ЧАС рослинних екстрактів, фосфоліпідів і надоцтової кислоти призводить до утворення полікомпонентних емульсій, котрі є основою для конструювання більш складних та розрихлених супрамолекулярних структур, які, зберігаючи біоцидну активність, значно інтенсифікують процеси дифузії газів через захисні бар'єри інкубаційного яйця [30, 31, 49].

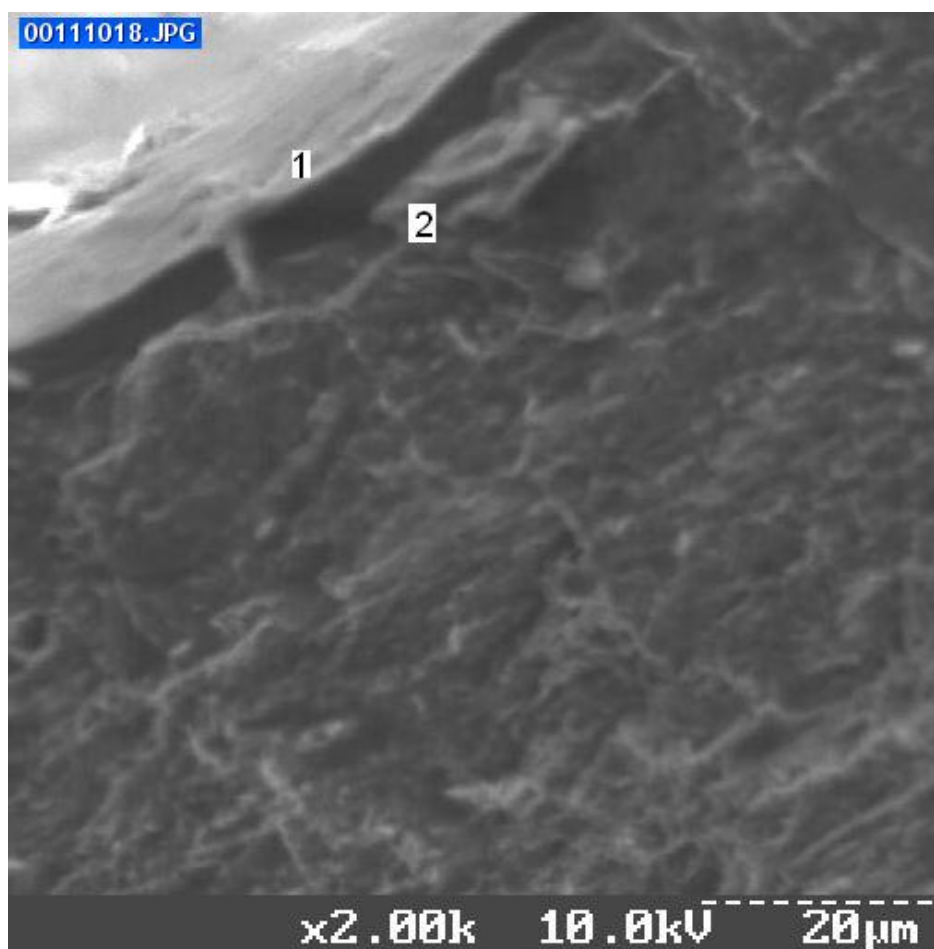


Рис. 66. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого перед закладкою на інкубацію чистим препаратом четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) (скол шкаралупи): 1 - плівка на поверхні курячого яйця, що сформована з препарату ЧАС; 2 - вертикальний кристалічний шар шкаралупи курячого яйця (x 2 000).

Як видно з мікрофотографії (рис. 66), плівка, утворена при фазовому переході з водного розчину чистого ЧАС, є досить щільною, що і спричинює недостатнє надходження до ембріону кисню і виведення з яйця діоксиду вуглецю протягом інкубації. З іншого боку, нанесення захисної плівки методом іонофорезу, як виявилось, спричинило різке посилення дифузійних процесів газів через біокристалічний шар, яке може стати в нагоді для конструювання *ARTICLE* для інкубаційних яєць водоплаваючої птиці, які вирізняються щільними захисними біокерамічними структурами і, відповідно, характеризуються поганою виводимістю [33, 49]. Проте, технології фонофоретичної обробки належить першість в аспекті ефективності транспорту БАР всередину інкубаційного яйця, за умов відсутності механічних порушень біокристалічного шару.

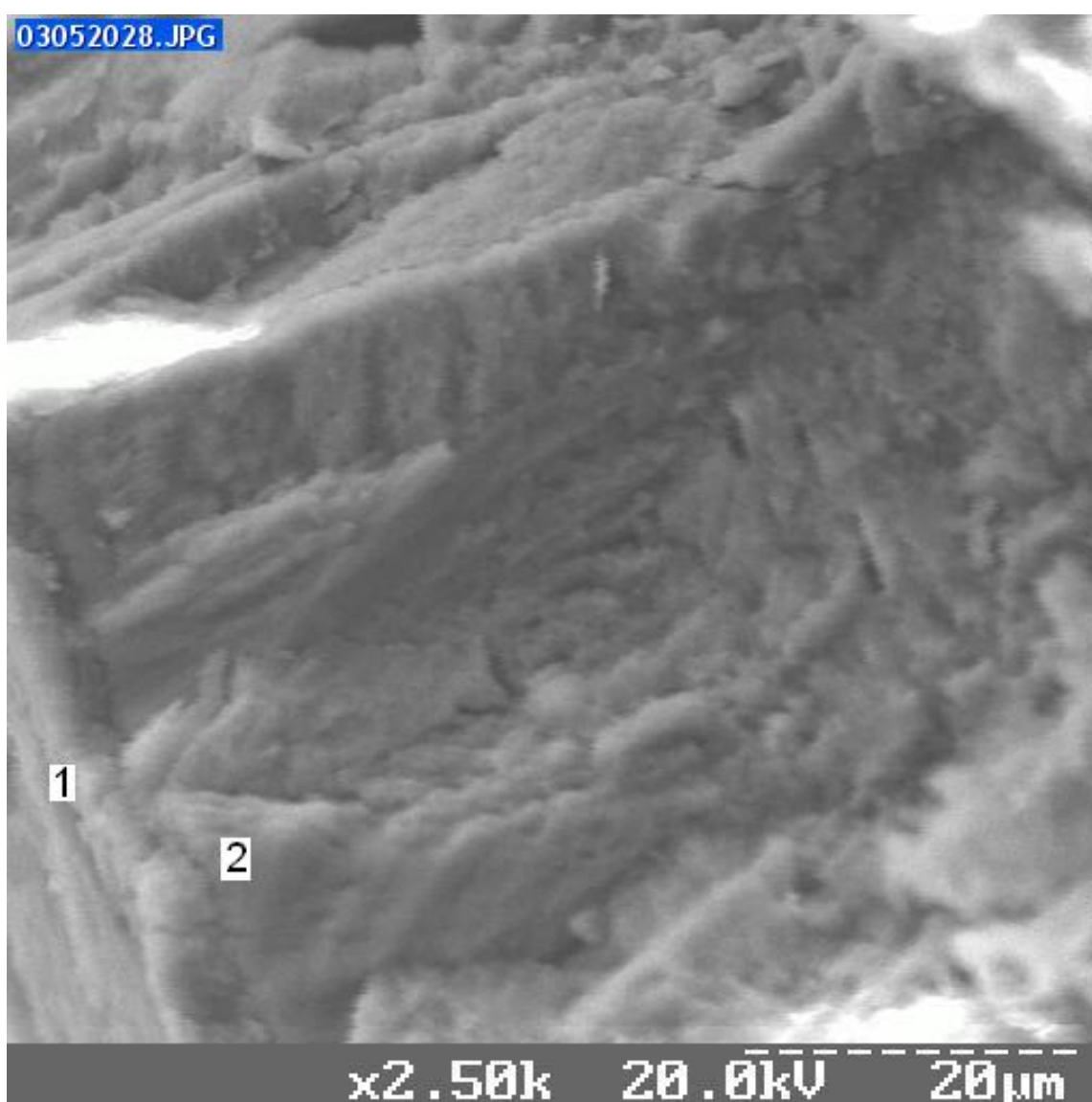


Рис. 67. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом ЧАС методом іонофорезу: 1 - плівка з препарату ЧАС, нанесеного методом іонофорезу; 2- вертикальний кристалічний шар (x 2 500).

На поверхні шкаралупи (рис. 67) видно плівку, що утворилася з препарату ЧАС за допомогою іонофорезу (1). Плівка має розрихлений вид. На поверхню виходять багаточисельні пори.

Встановлено, що найбільш перспективними чинниками для неструкуючого перенесення БАР через біокристалічний шар, є рослинні терпени (L-ментол, ментон, карвон, D-лимонен), які вже використовуються в біотехнології як підсилювачі транспорту БАР через природні захисні структури (шкіра, біокераміка тощо) і диметилсульфоксид. Певний потенціал в зазначеному напрямку належить також циклодекстринам [102, 140].

Відкриття останніх років щодо специфічних властивостей металів в ультрадисперсному стані (частки нанометрового розміру) надало широкі можливості для створення нових ефективних препаратів з високою біологічною активністю для використання у птахівництві [101, 112]. Так, на поверхні наночасток діоксиду титану TiO_2 (50-500 нм) під дією світла видимого діапазону піддаються руйнації за фотокаталітичним механізмом органічні забруднювачі і гине патогенна мікрофлора [107, 110, 122, 135-137]. В останній час доведена біоцидна дія діоксиду титану навіть за відсутності світла [56]. Нами сконструйоване штучне захисне покриття для інкубаційних яєць з використанням наночасток TiO_2 та органічної матричної речовини (хітозан), пероксидних сполук (НОК) [41, 42], БАР рослинного і штучного походження, речовин, що підсилюють процеси транспорту органічних і неорганічних сполук через шкаралупу і шкаралупні мембрани, амінокислот, речовин, багатих на енергію (креатинфосфат), рослинних терпенів (евкаліптове масло) і мікроелементів [45, 84, 97, 100, 112]. Нанесення водних розчинів, які містять зазначені складові «штучної нанокутикули» на поверхню інкубаційних яєць призводить до утворення на поверхні біокерамічного захисного шару захисної бактерицидної, волого утримуючої та газопроникної плівки завтовшки 10-30 мкм, внаслідок міжфазових переходів «рідина-золь-гель-тверда фаза» (рис. 68; 1, 2) [47].

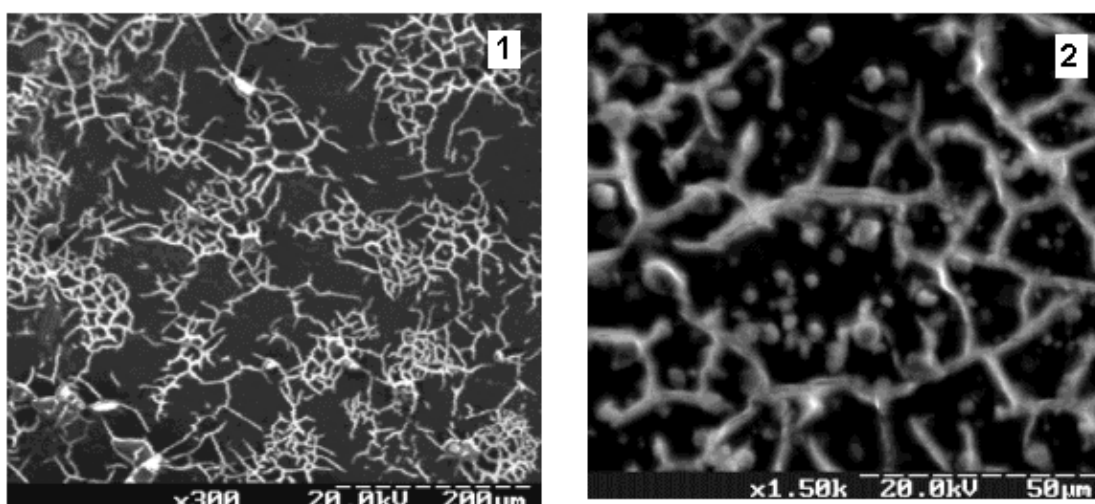


Рис. 68. Природна кутикула (1) і штучна кутикула курячого яйця «nanoTi_ARTICLE» (2) (вид зверху).

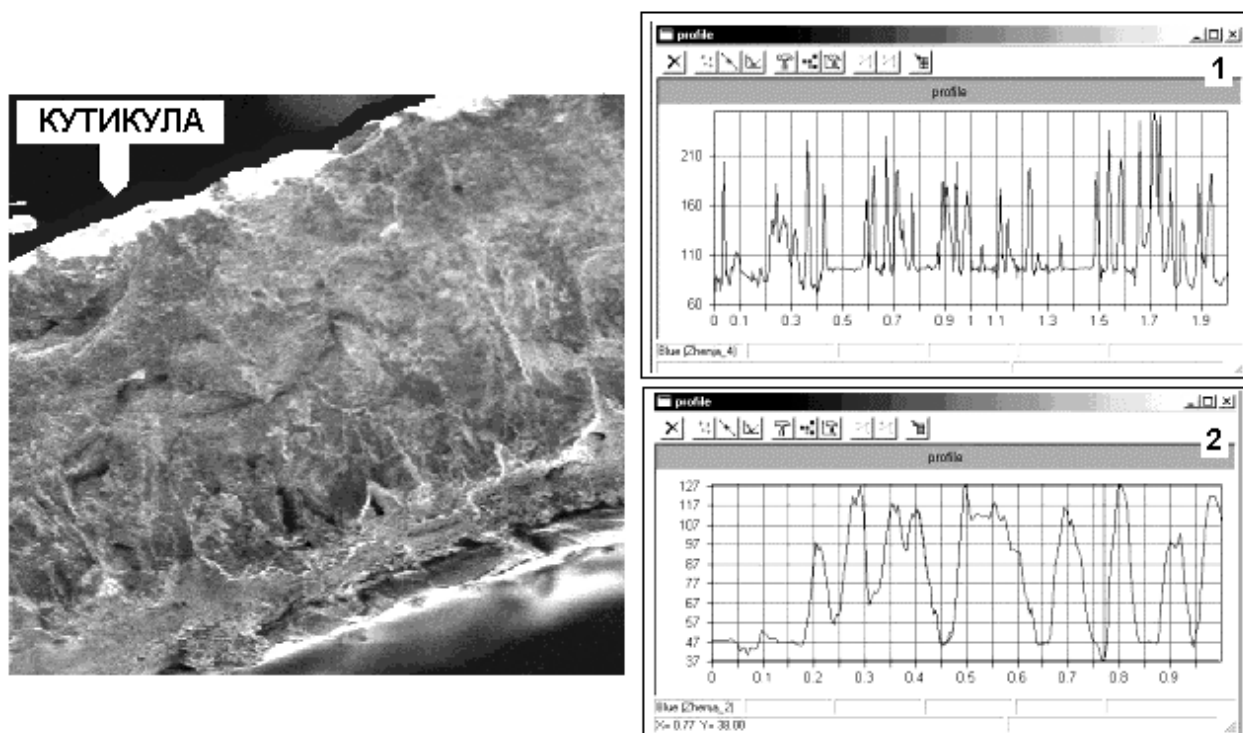


Рис. 69. Природна кутикула курячого яйця (вид збоку, скануюча електронна мікроскопія, прилад РЕММА-102) і профілі поверхні природної кутикули (1) і «штучної кутикули» (2) (комп'ютерна обробка цифрового зображення).

На рис. 68, 69 подані електронні мікрофотографії структури природної і штучної кутикул.

Добре видно, що структура твердофазових утворень як глікопротеїнів (природна кутикула (1), так і хітозанової плівки є дуже подібною і їй притаманна мозаїчна загальна будова, яка поєднує щільні ділянки зі звивистими мікрошпаринами, розміри яких і наявність краєвого заряду утруднює надходження до кальцитних біокерамічних структур поверхні яйця бактерій та вірусів і в той же час не заважає перебігу вільній дифузії газів, що є особливо важливим протягом інкубації [48]. На рис. 68 (2) чітко вирізняються також мікрочастки діоксиду титану.

4.2. Дезінфектанти на основі четвертинних амонієвих сполук

У вітчизняному промисловому птахівництві знайшли застосування деякі дезінфектанти на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) або пероксидних речовин. Дезінфікуючі засоби, до складу яких в якості основної діючої речовини входять четвертинні амонієві сполуки, мають мембраноатакуючі механізми пригнічення мікроорганізмів. Ці препарати руйнують біополімери, що входять до складу клітинної мембрани. В результаті відбувається лізис (руйнування) мікробної клітини. У малих дозах вони порушують функції мембрани: змінюють осмотичний тиск, проникність, швидкість переносу через мембрану молекул і іонів, інгібують

метаболічні процеси і біологічне окислювання, викликають гальмування поділу клітин [3,31]. Четвертинні амонієві сполуки - катіонні поверхнево-активні речовини, антистатики з протигрибковою і антибактеріальною дією, кондиціонери. Мають добрі емульгуючі та змочувальні властивості, помірну піноутворюючу і миючу здатність. ЧАС притаманна протівірусна дію щодо грам позитивних і деяких грам негативних мікроорганізмів, у тому числі бактерій групи кишкових паличок, стафілококів, стрептококів, сальмонел. Активні у відношенні до бактерій, грибів і вірусів. Після закінчення дезінфекції вологі поверхні підсихають, органічні речовини концентруються в середині пористих матеріалів і на гладких поверхнях, перетворюються в найтоншу, невидиму для ока плівку [25,53]. До препаратів ЧАС належать, зокрема, такі препарати: декаметоксин, Катамін АБ, препарати групи ВВ, АТМ - арома (РФ), CID 20 та Virocid (CID LINES, Бельгія) тощо. Діючою речовиною названих препаратів є триметилалкіламоній - хлорид (АТМ) і інші солі чотирьохзамінного амонію. Дані препарати використовують як дезінфектанти та антисептики для санації приміщень або передінкубаційної обробки курячих яєць. Зазначені препарати ефективні в боротьбі з колібактеріозом, пуллорозом, мікоплазмозом, хворобою Марека (ХМ), інфекційним ларинготрахеїтом (ІЛТ), синдромом зниження яйценоскості (СЗЯ) [19,22,27]. На рис. 70 представлена поверхня шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом АТМ - алкілтриметиламоній хлоридом.

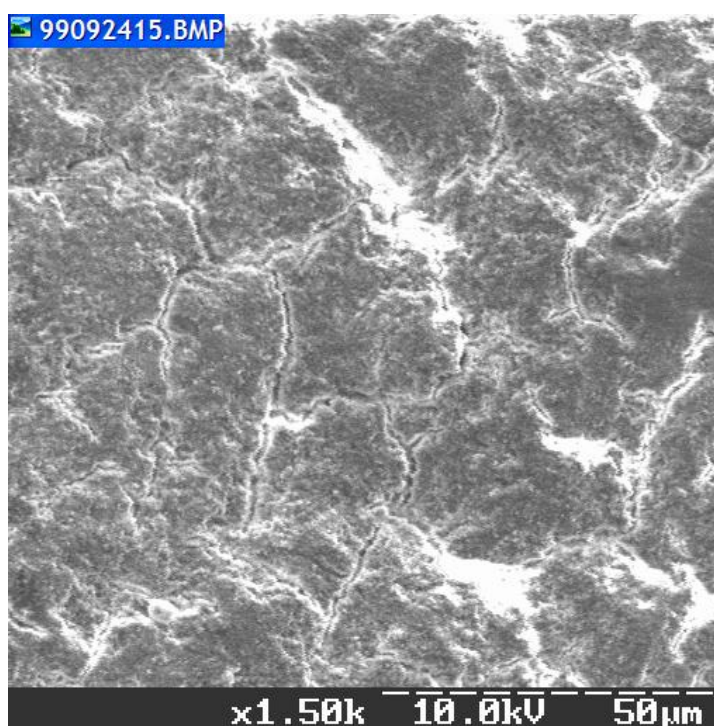


Рис. 70. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом АТМ (x 1 500).

На рис. 71-73 представлені мікрофотографії курячих яєць, оброблених препаратом АТМ - Арома. АТМ - Арома (РФ) - із групи катіоноактивних

поверхнево активних речовин, складається із суміші висококонцентрованих солей чотири заміщеного амонію в ацетатній або галогеноїдній формах.

Препарат АТМ утворює на поверхні шкаралупи курячого яйця тонку газопроникну плівку, що імітує природну кутикулу. На представленій мікрофотографії (рис. 70) видно пористу структуру, що утворилася при нанесенні даного препарату.

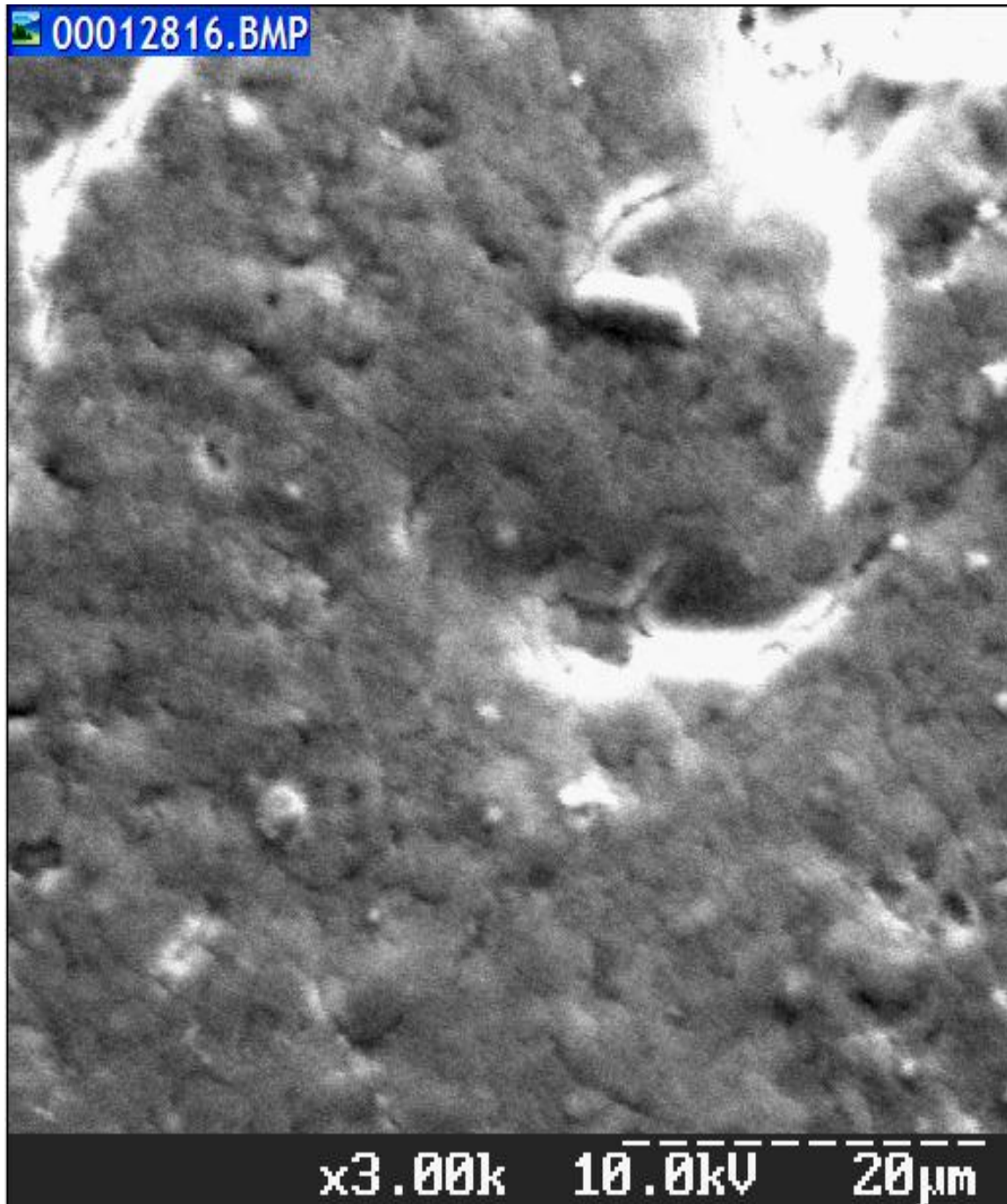


Рис. 71. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ – Арома (x 3 000).

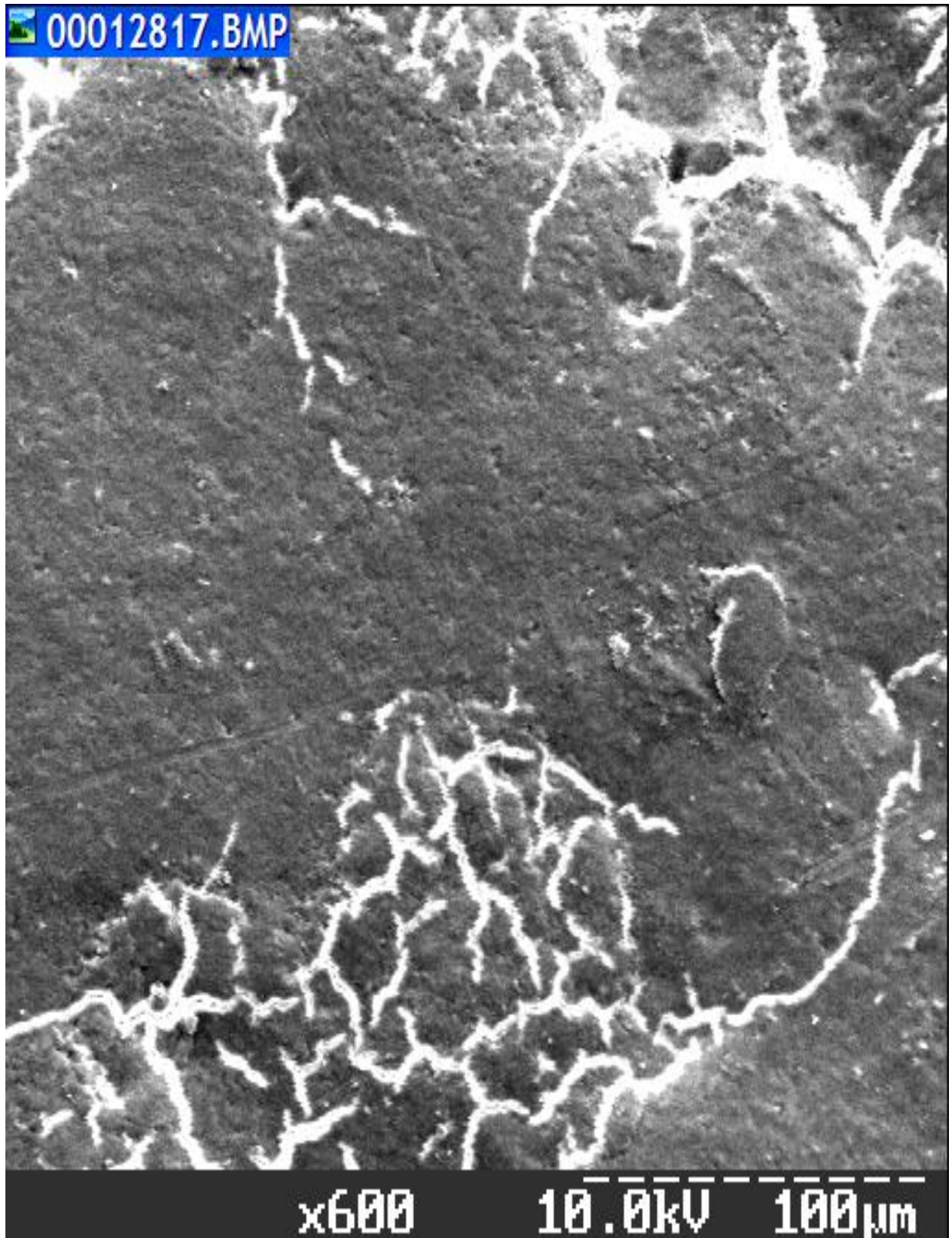


Рис. 72. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ – Арома (x 600).

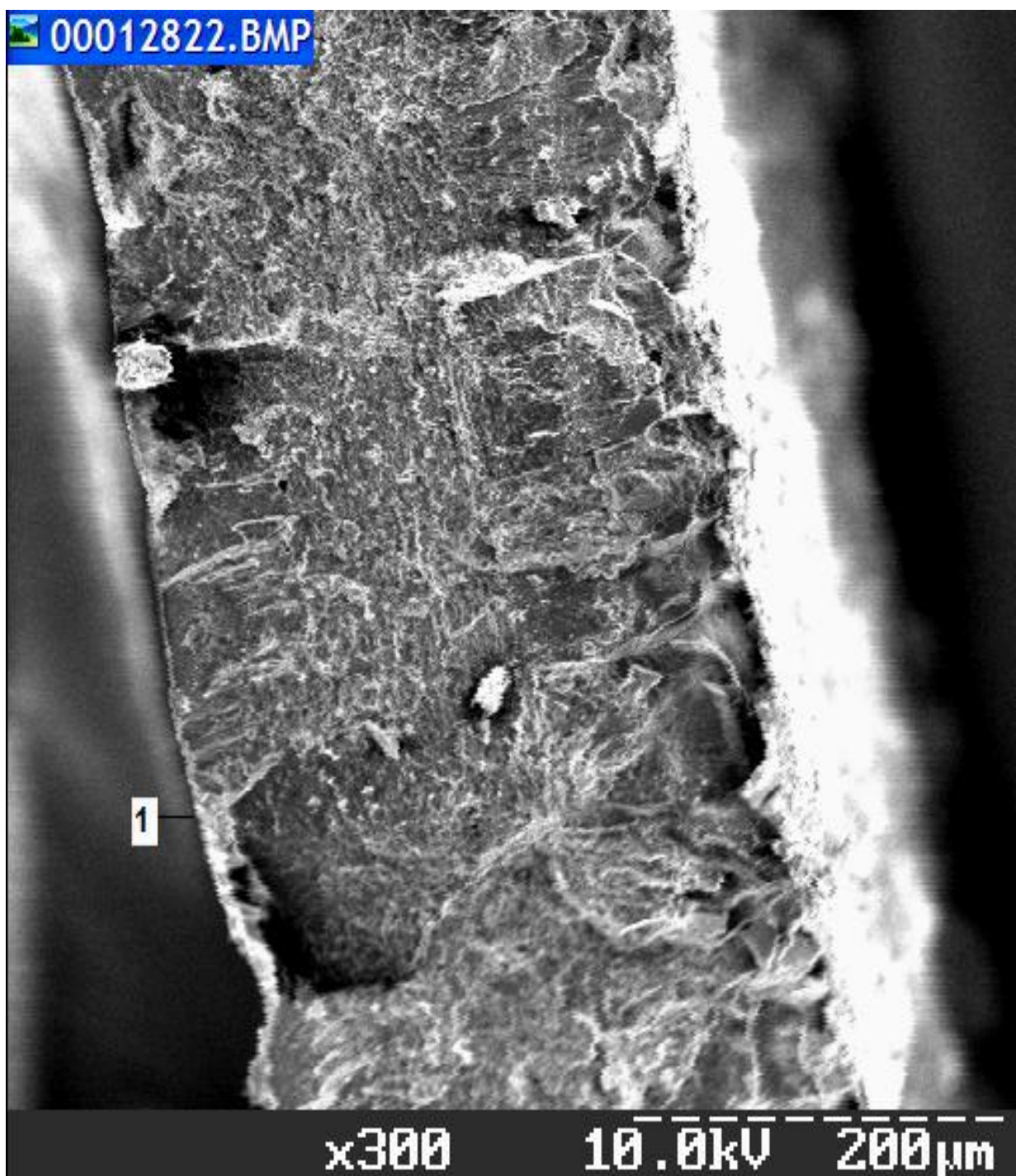


Рис. 73. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ – Арома (скол шкаралупи): 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, оброблена АТМ – Арома (x 300).

На рис. 74-81 представлені мікрофотографії шкаралупи курячих яєць, оброблених препаратом АТМ - Арома з додаванням іонів металів. Іони (FeCl_3) та (CoCl_2) додавали в якості стимуляторів, а іони срібла з метою підсилення дезінфікуючого ефекту препарату на основі ЧАС [84,97,100,112].

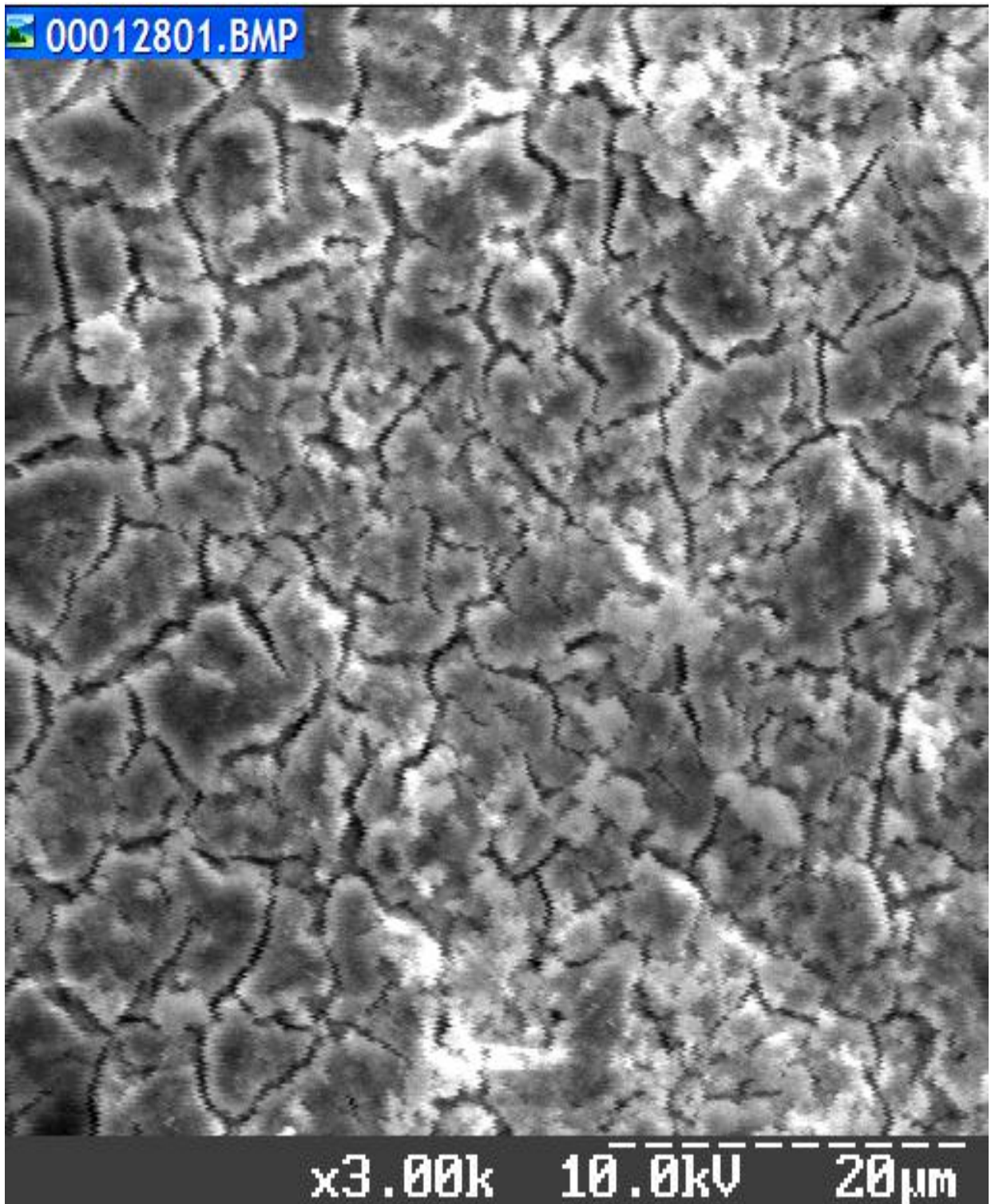


Рис. 74. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами металів (FeCl_3) (x 3 000).

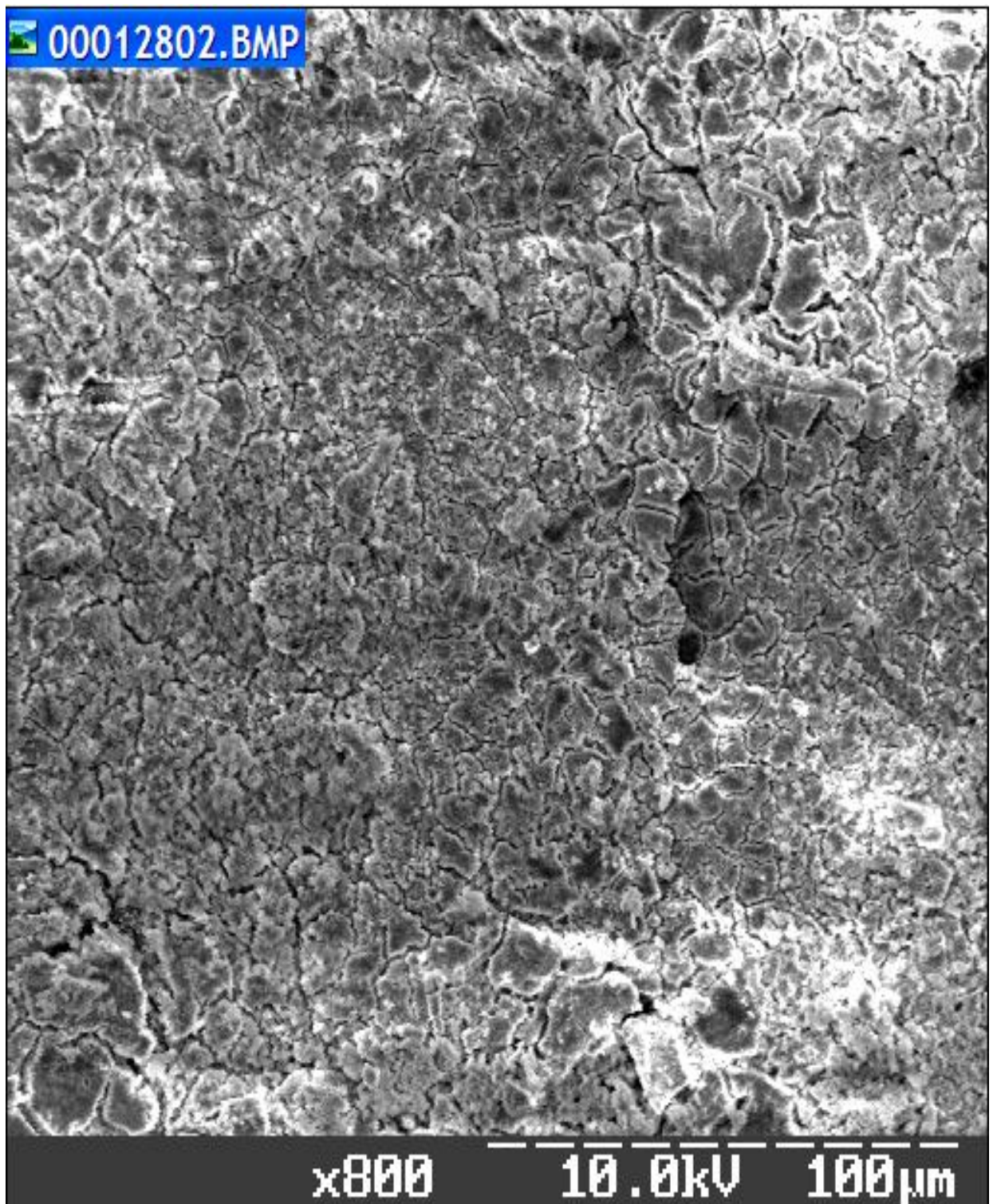


Рис. 75. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, вкритої препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами металів (FeCl_3) (x 800).

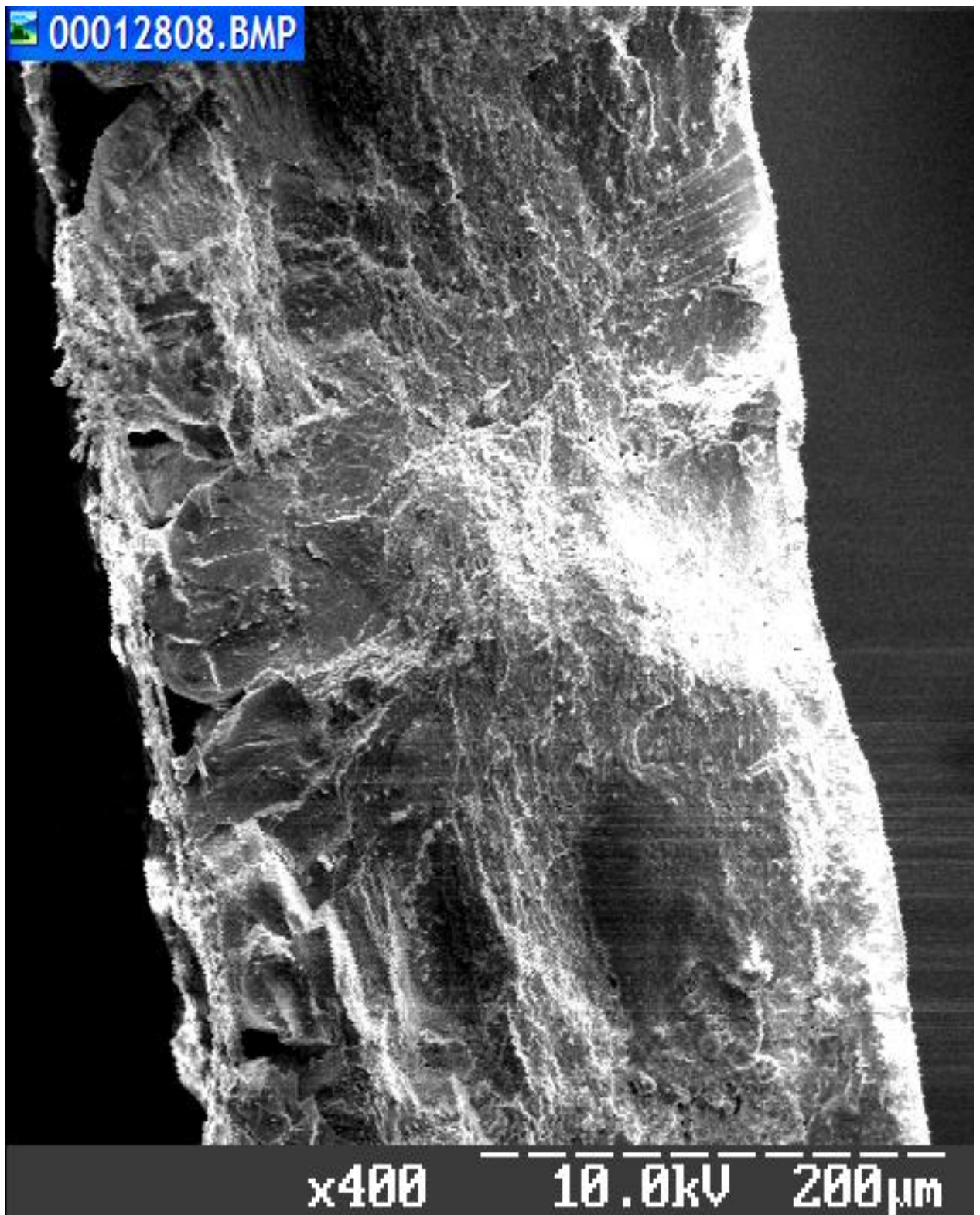


Рис. 76. Електронна мікрофотографія сколу шкаралупи курячого яйця, вкритого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами металів (FeCl_3) (x 400).

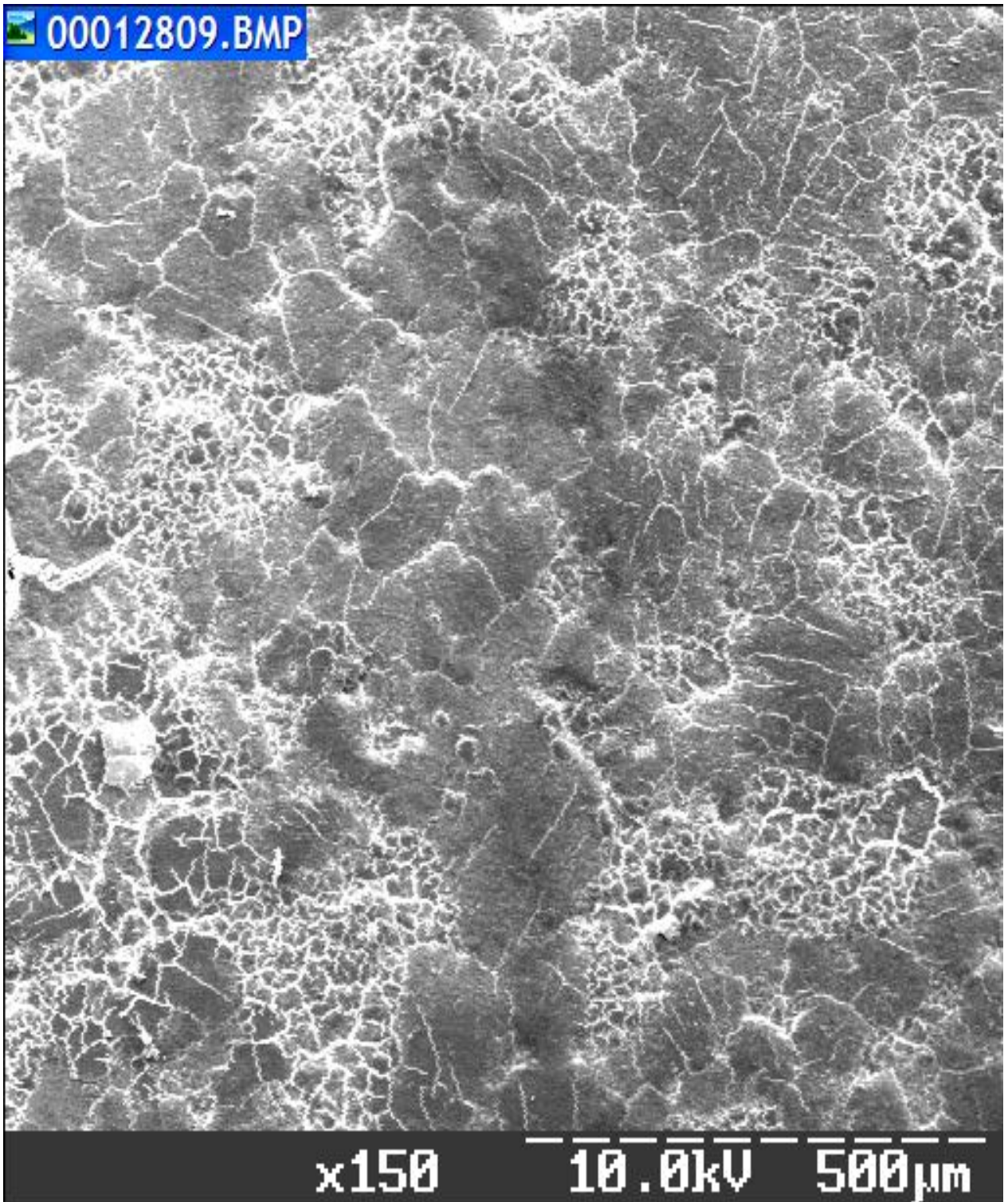


Рис. 77. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами кобальту (CoCl_2) (x 150).

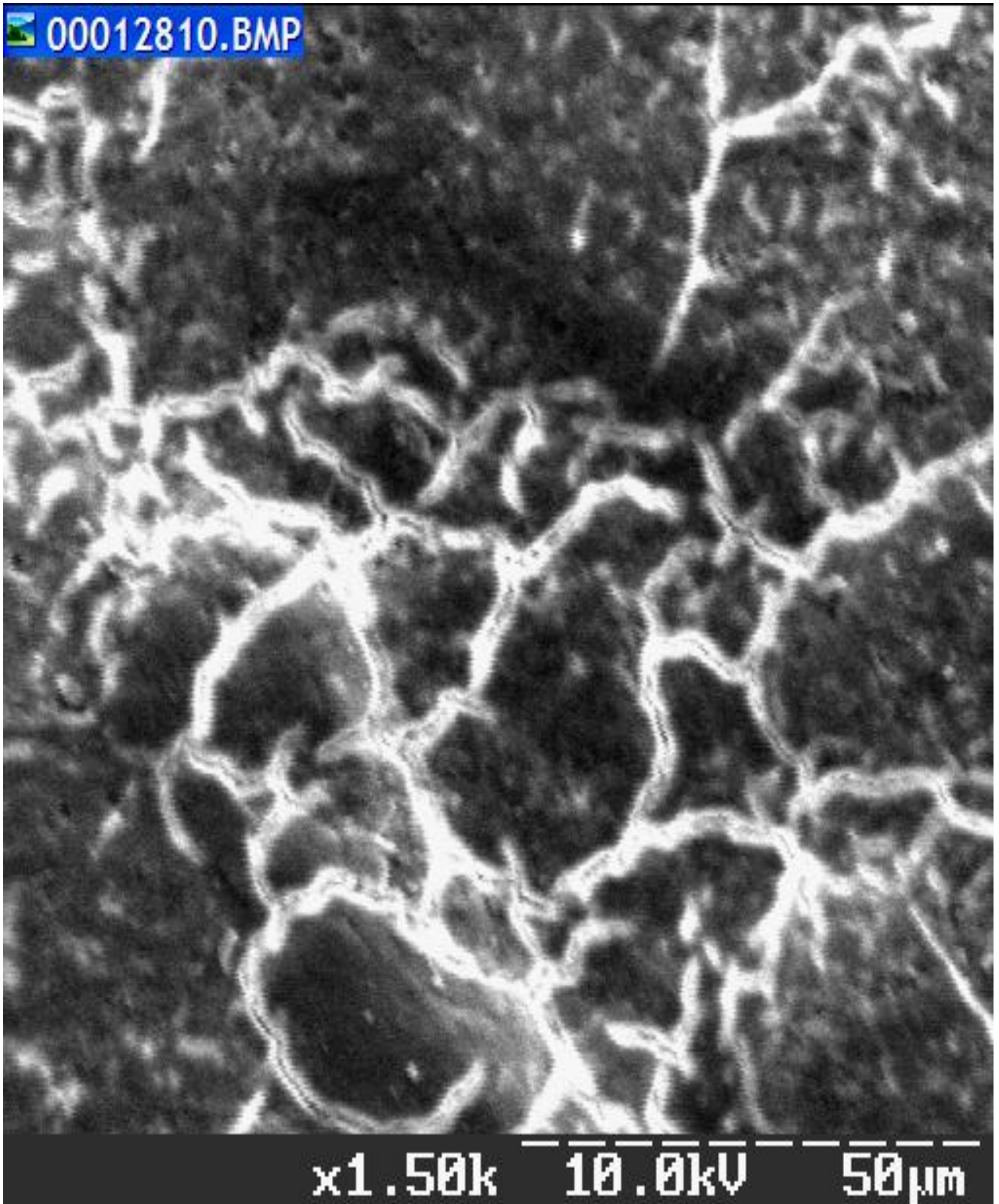


Рис. 78. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами кобальту (CoCl_2) (x 1 500).

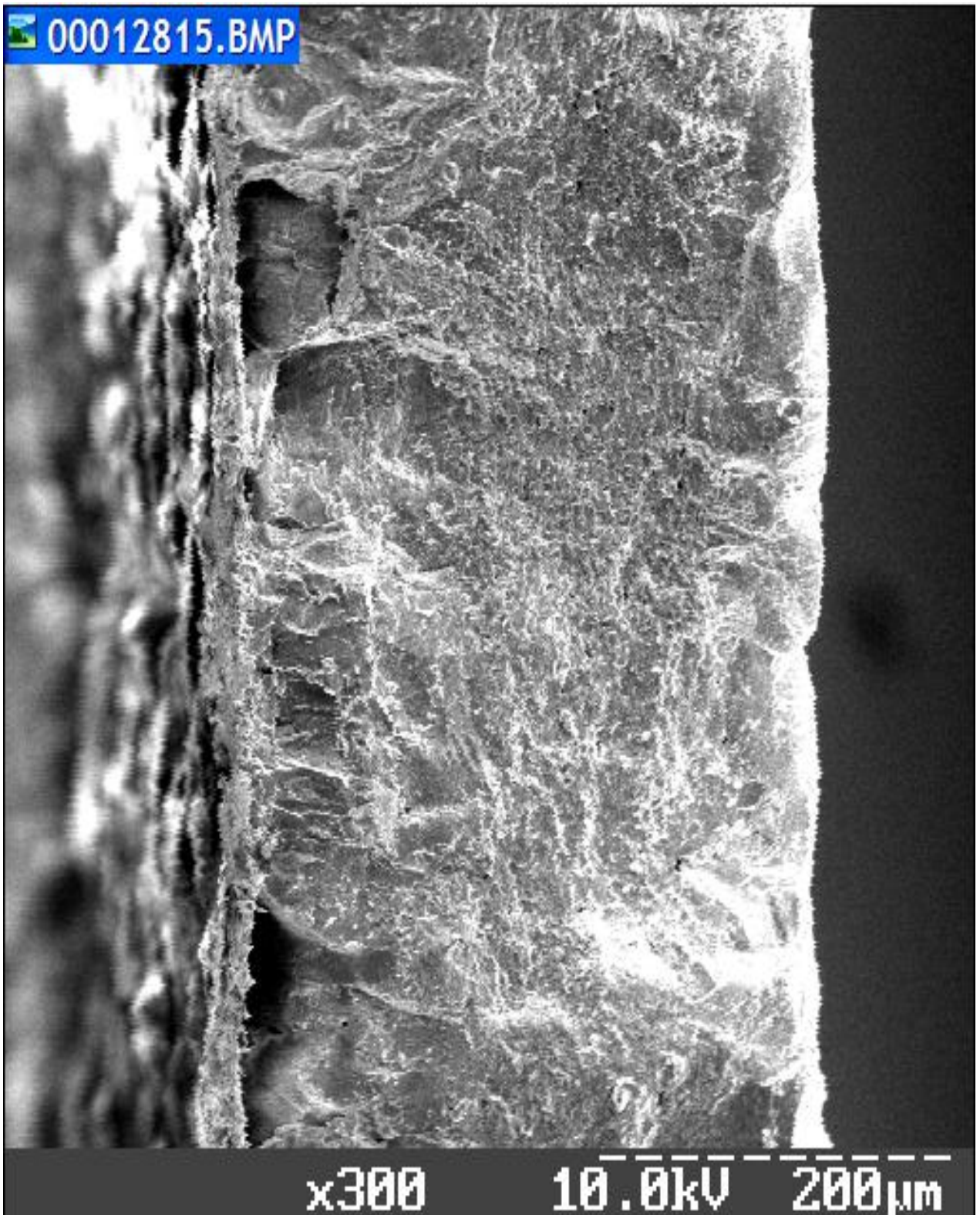


Рис. 79. Електронна мікрофотографія торцевого сколу шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами кобальту (CoCl_2) (x 300).

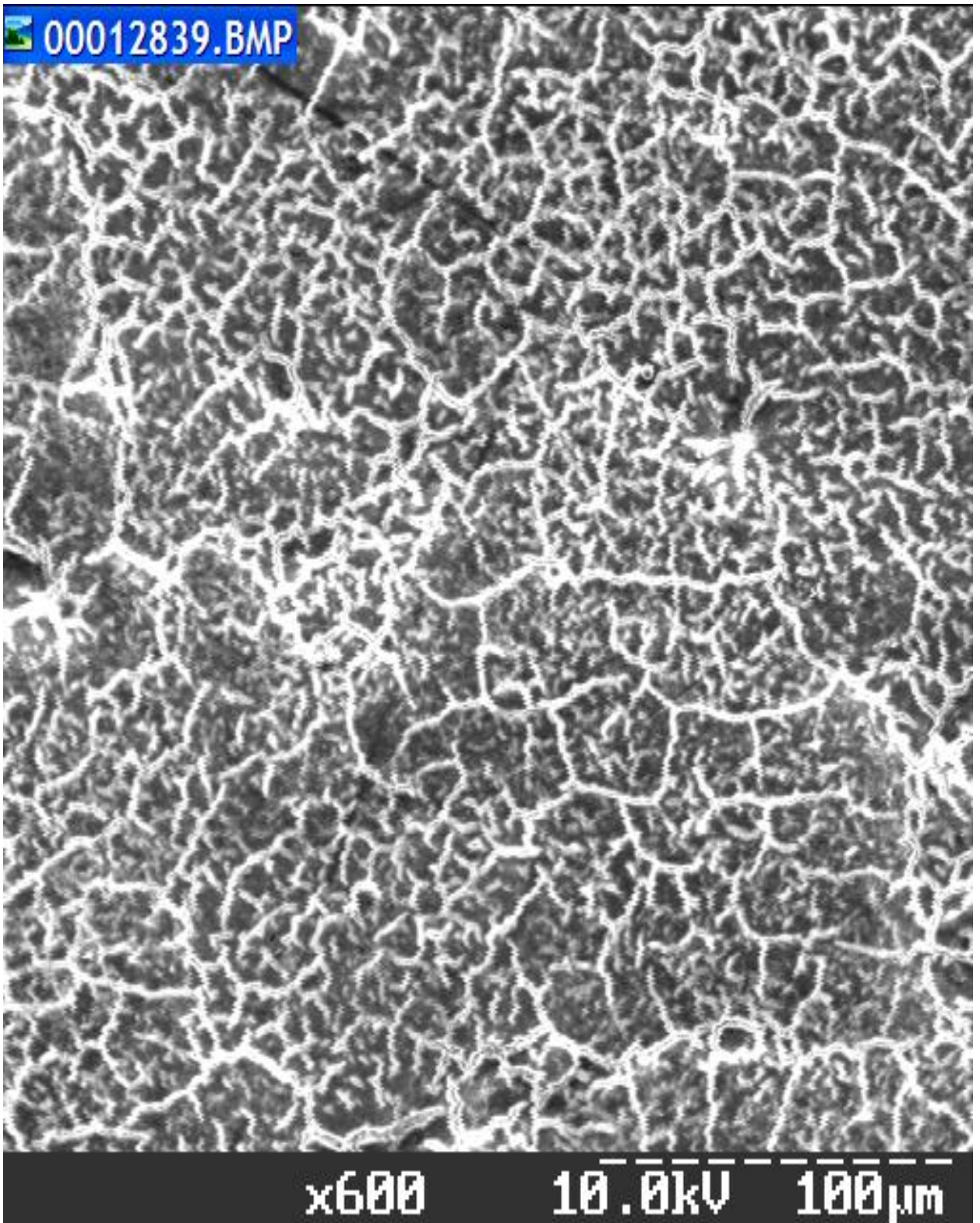


Рис. 80. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, вкритого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами срібла (x 600).

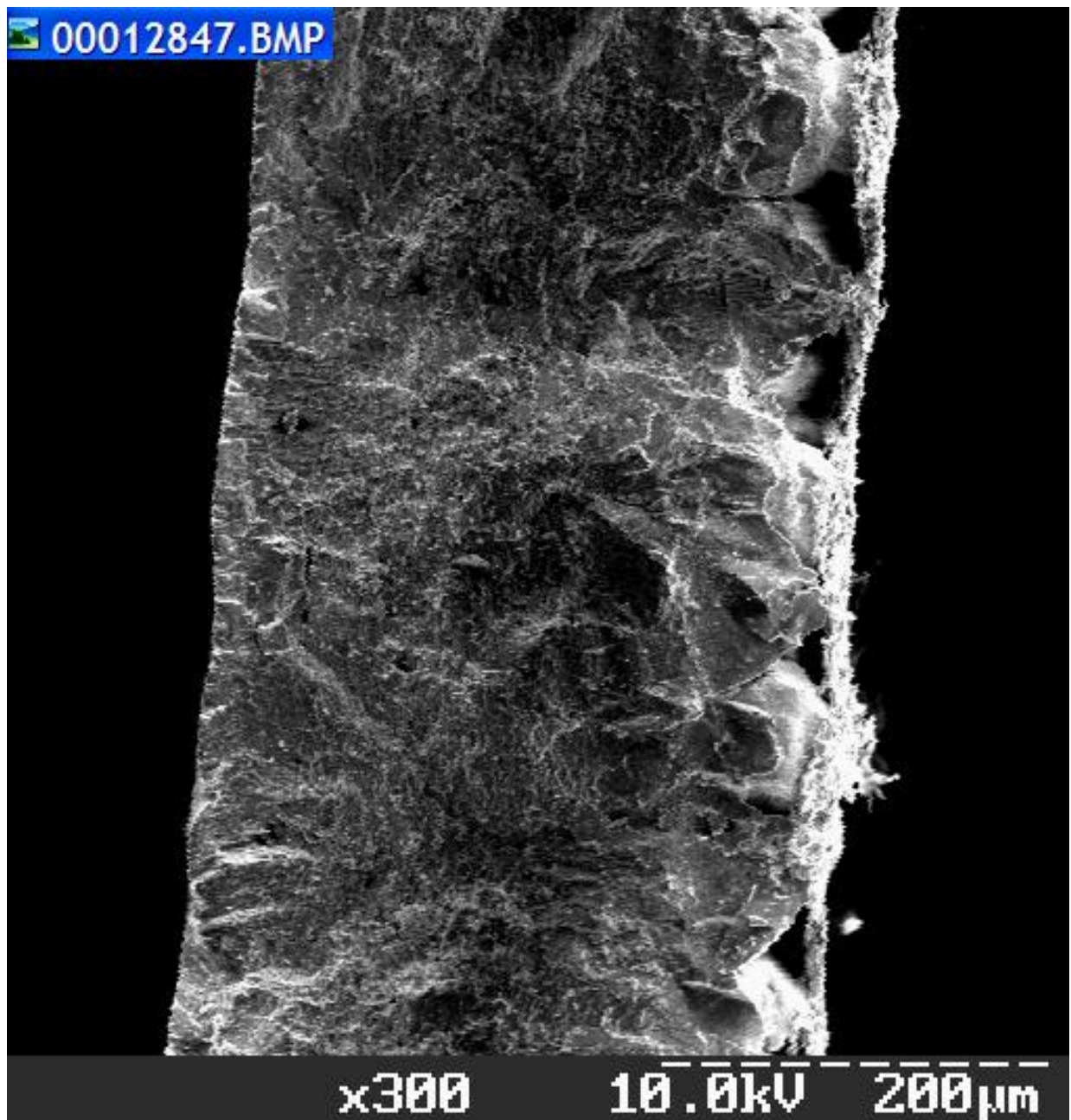


Рис. 81. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, вкритого препаратом на основі ЧАС АТМ - Арома, доповненого іонами срібла (скол шкаралупи) (x 300).

Основою препарату ВВ - 1 (Україна) є поверхнево - активні речовини (ПАР), зокрема полімерні четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) - сополімери стиролу і дивініл бензолу (АТМ, АДБМ), доповнені синтетичними і натуральними біологічно - активними речовинами [3, 4, 5]. При нанесенні на поверхню шкаралупи курячих яєць препарат утворює тонку газопроникну плівку [12] (рис. 82 - 84).

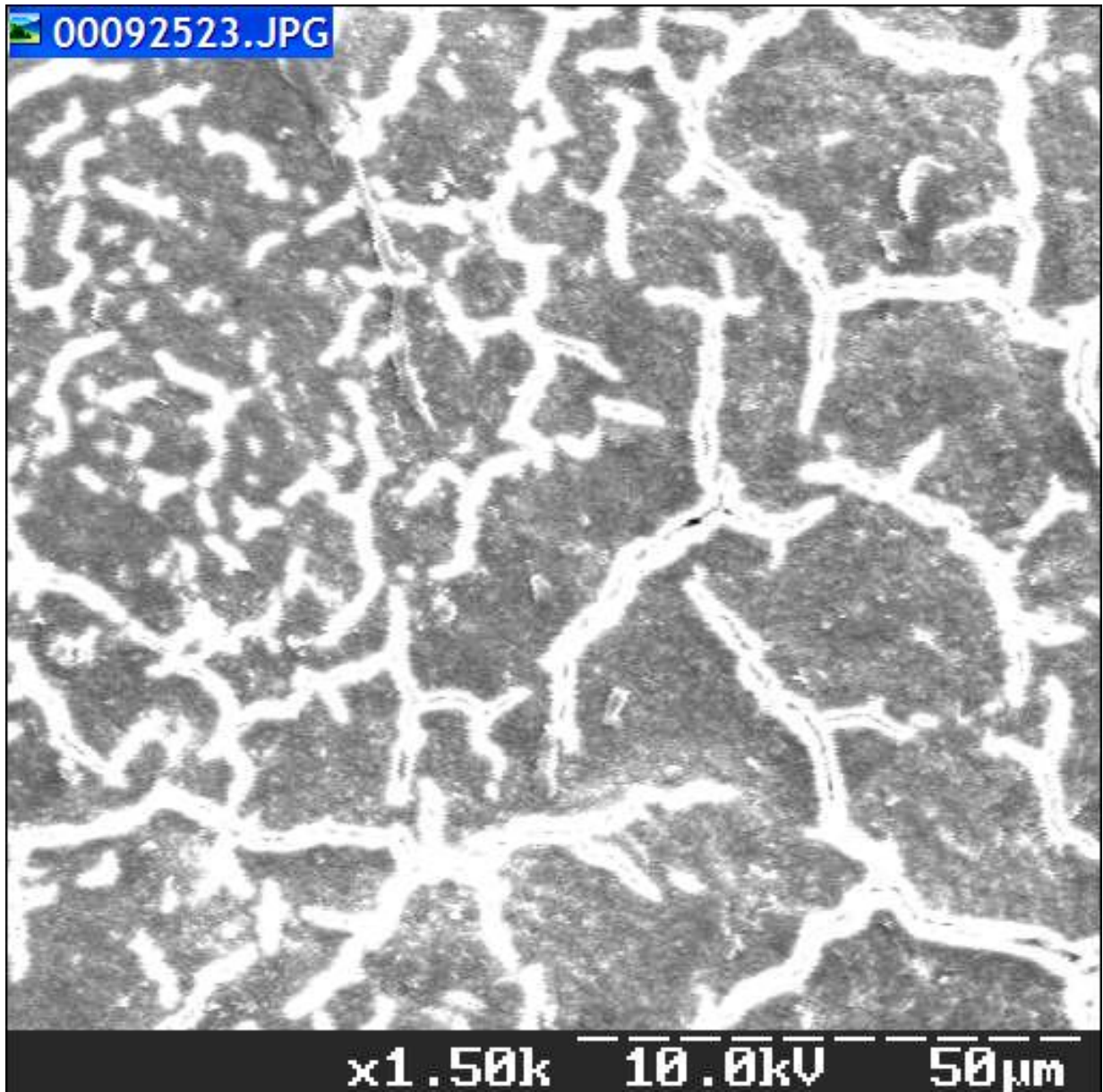


Рис. 82. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфікуючим препаратом ВВ-1 (x 1 500).

Утворена на поверхні інкубаційного яйця плівка має антистатичну дію і знижує вірогідність вторинної контамінації через пори і багато чисельні мікродефекти шкаралупи.

Препарат «ВВ - 1» проявляє протибактеріальний та противірусний ефект за допомогою: 1) «підсилення» бар'єрної функції надшкаралупної оболонки – кутикули яйця внаслідок адсорбції на ній базового компонента препарату – аніоніту (An); і 2) зниження проникності бар'єрних систем яйця (шкаралупи, підшкаралупних оболонок) для патогенної мікрофлори, завдяки розподіленню мінорних низькомолекулярних поверхнево – активних компонентів препарату в порах і ділянках шкаралупи з великою кількістю мікро дефектів [16,20].

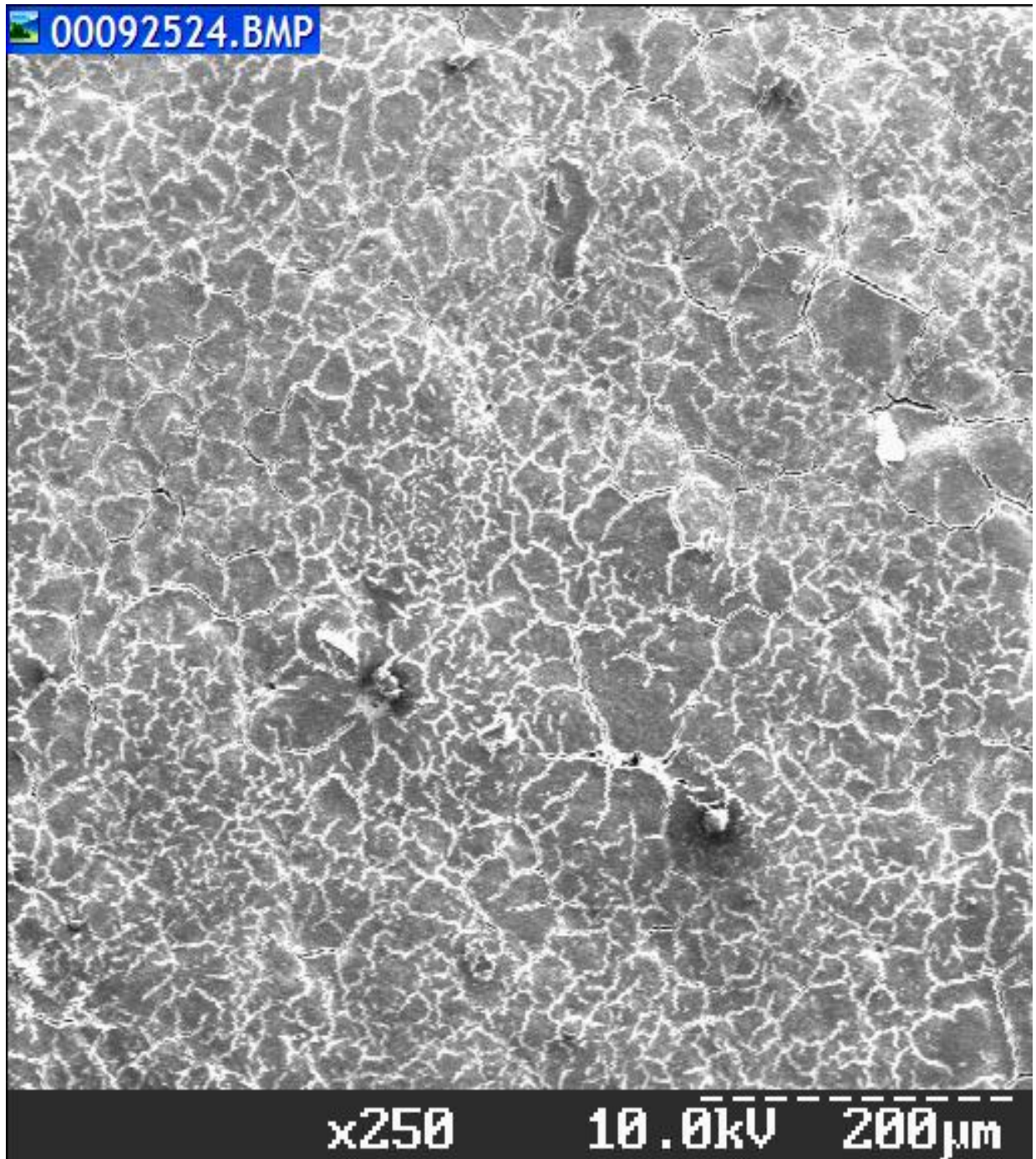


Рис. 83. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфікуючим препаратом ВВ-1 (x 250).

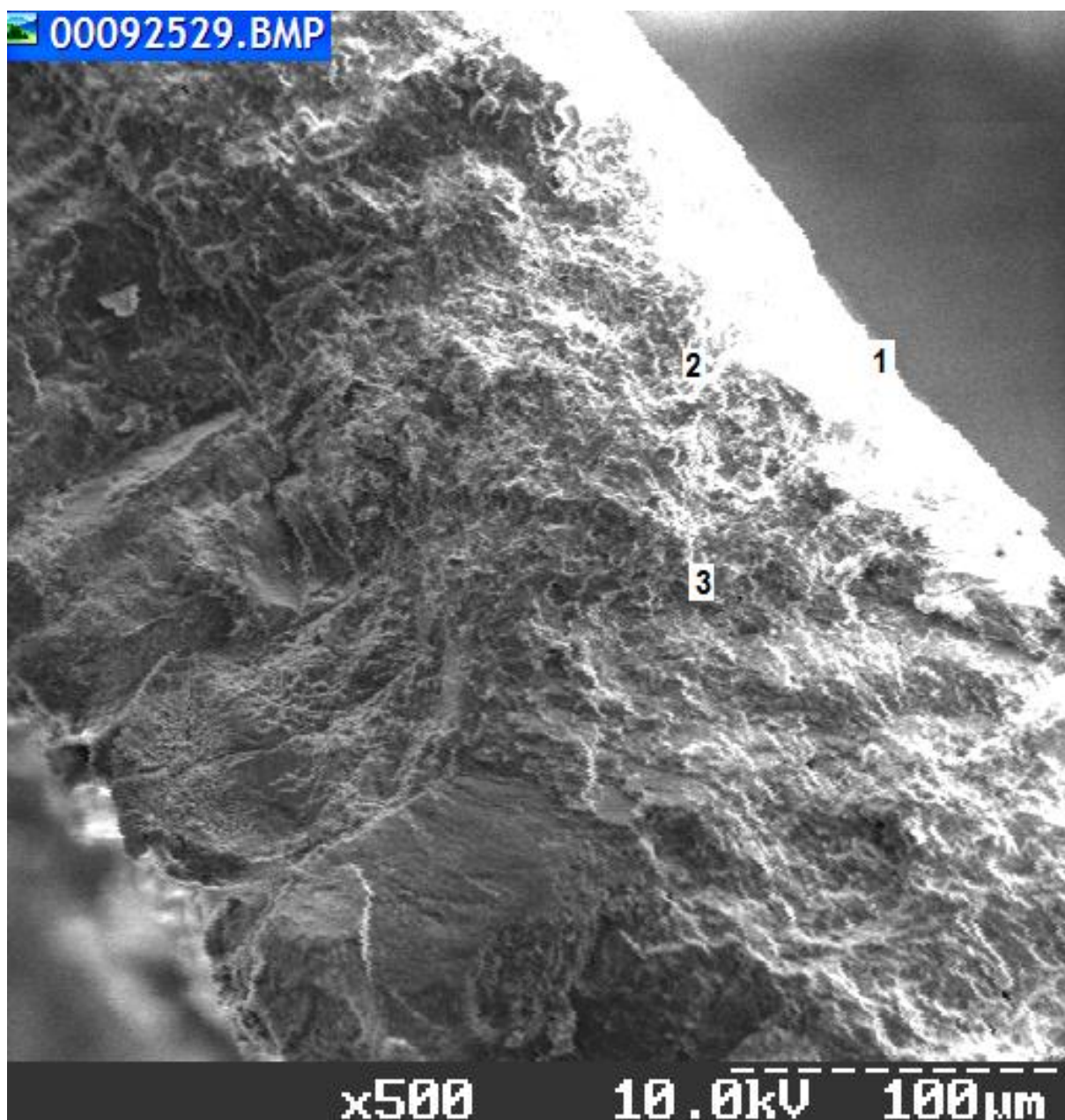


Рис. 84. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом ВВ-1 (скол шкаралупи): 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, оброблена препаратом ВВ-1; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісадний шар (x 500).

Високомолекулярні компоненти препарату «ВВ – 1» аніоніт (An) і окремі низькомолекулярні (октадециламід) практично не проходять у процесі передінкубаційної обробки через шкаралупу яєць в умовах цілісності білково – вуглеводної надшкаралупної оболонки – кутикули. При строгому дотриманні технології обробки яєць препаратом (дотримання заданих концентрацій і температури робочого розчину, як факторів, що впливають на параметри адсорбції) зовнішня поверхня шкаралупи разом із кутикулою набувають додаткові бар'єрні функції, обумовлені як механічним (усунення дефектів надшкаралупної оболонки і шкаралупи при вкриванні вказаних

дефектів шаром ПАВ), так і електростатичною дією, обумовленою тим, що ЧАС мають здатність надавати обробленим ними поверхням електричного заряду. Не виключено, що азотмісткі компоненти препарату - октадециламід та монооктадециламід разом з мономерними сумішами четвертинних амонієвих сполук до полімерного аніоніту, можуть відповідати за характерне для азотмістячих похідних кислот $C_{11} - C_{20}$ і ЧАС стимулювання розвитку ембріонів.

За допомогою методу мас - спектрометрії [5] було досліджено, що деякі складові препарату надходять до мамілярного шару шкаралупи яйця. Найбільша кількість адсорбується на кутикулі. Якщо яйце має шкаралупу з мікротріщинами та мікронасічками, то проходять через шкаралупу до рівня простору між зовнішньої та внутрішньої підшкаралупними оболонками, а в деяких випадках монооктадециламід в мікрокількостях може надходити безпосередньо до зони розвитку ембріона (0,01% від загальної маси препарату, нанесеного на яйце) [17]. Основними лімітуючими факторами проникнення складових препаратів на основі ЧАС в середину яйця є морфологічні параметри пор, цілісність надшкаралупної кутикули і дефекти шкаралупи (мікротріщини та мікронасічки).

Особлива увага приділяється фулеренам, до котрих в останнє десятиріччя прикута увага фармакологів. Молекули фулеренів складаються із 60 атомів вуглецю (C_{60}) і являють собою майже ідеальні мікросфери діаметром 0,7 нм. Доведено, що фулерени здійснюють позитивний вплив на енергетичний обмін клітини. Нами були використані фулерени у якості біологічно-активних речовин. На мікрофотографіях (рис. 85, 86) представлена шкаралупа курячих яєць, оброблених різним складом препаратів з фулеренами.

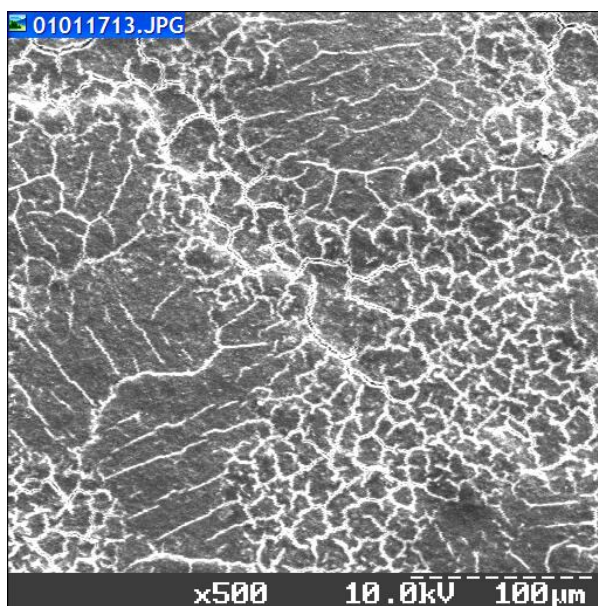


Рис. 85. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого розчином фулеренів в толуолі (x 500).

Як видно з даних мікрофотографій, фулерени не проявляють будь якої негативної дії на поверхню шкаралупи курячих яєць.

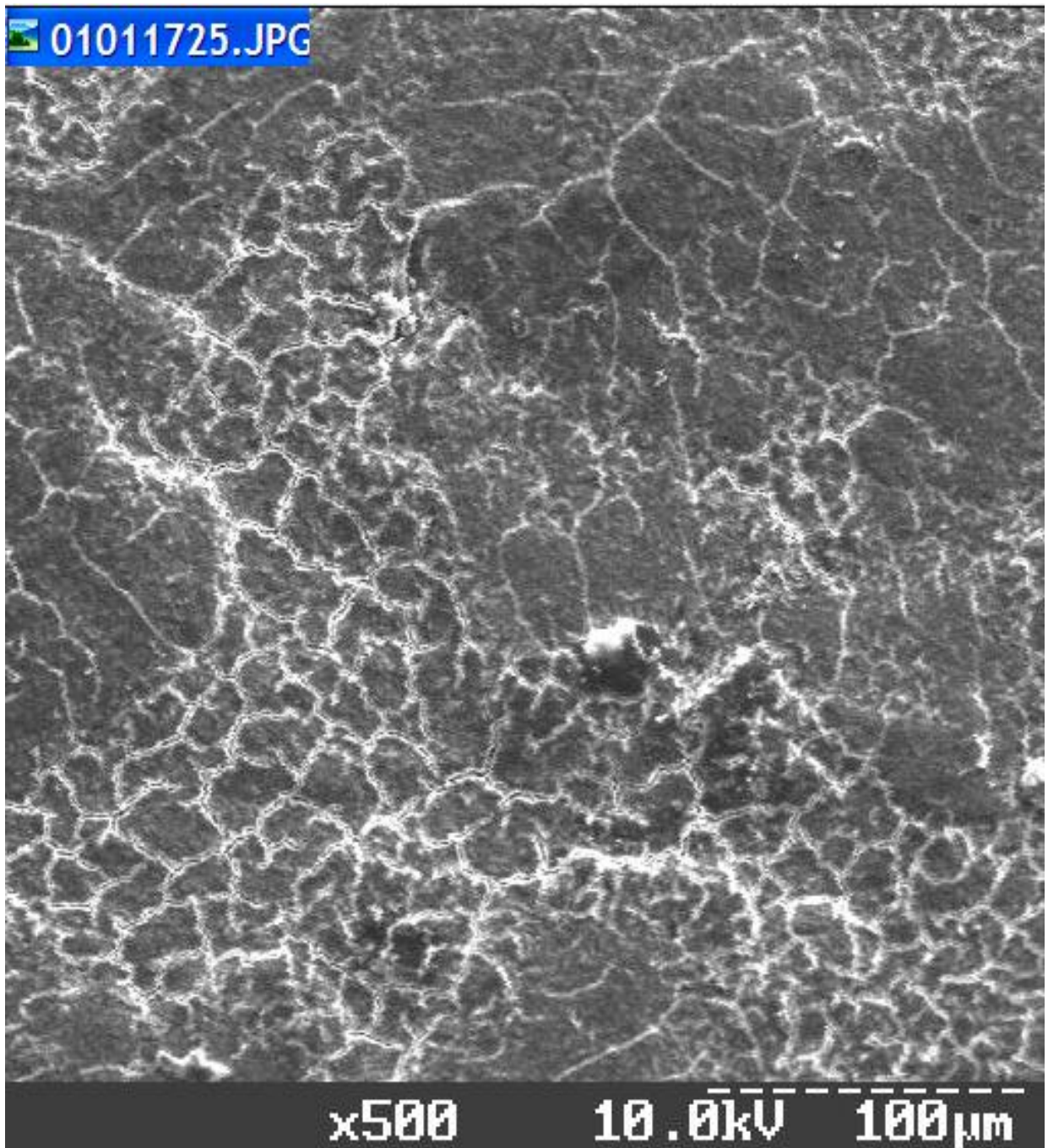


Рис. 86. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого розчином фулеренів в препараті ВВ – 1 (x 500).

Мікроструктура зовнішньої поверхні даної шкаралупи (рис. 86) схожа на мікроструктуру поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією чистим препаратом «ВВ - 1» (рис. 82, 83).

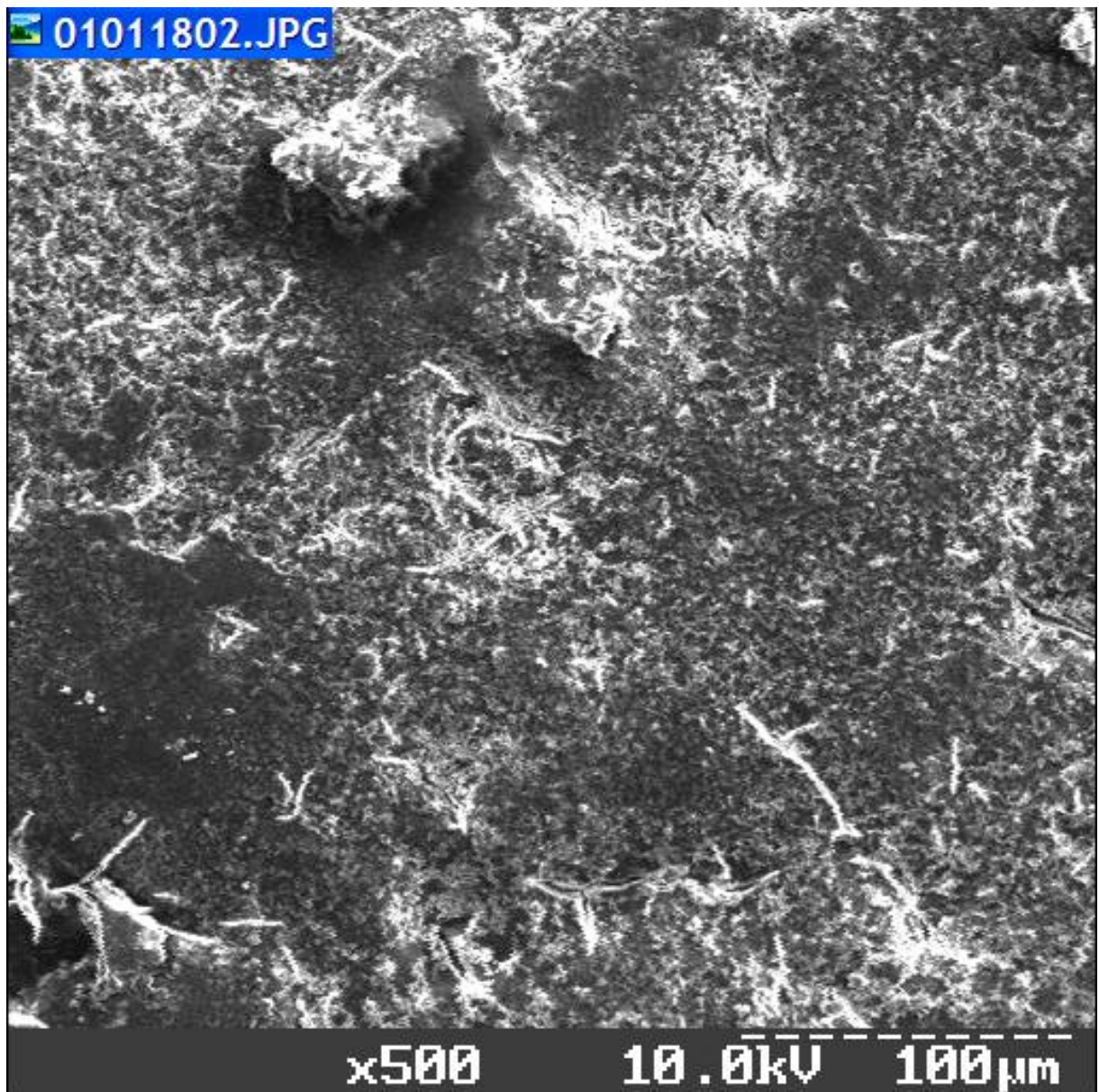


Рис. 87. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю розчину фулеренів в толуолі та препарату ВВ-1; до обробленої поверхні застосували електричний струм 4 кВ (зразок шкаралупи яйця, з якого вилупилося курча) (x 500).

Препарат CID 20 (CID LINE, Бельгія) представляє собою високоефективний дезінфікуючий засіб широкого спектру дії. Препарат використовують в птахівництві для обробки приміщень, матеріалів обладнання тощо. CID 20 має швидку дію і довгий період активності [28].

Дезінфектант CID 20 - добре збалансований розчин, що має високу активність проти грам позитивних та грам негативних бактерій, вірусів, грибів, дріжджів, водоростей. До складу препарату CID - 20 входять: сполука четвертинного амонію алкілдиметилбензиламмоній - хлорид, глютаральдегід, гліоксаль, формальдегід, ізопропанол.

На рис. 88 - 96 представлені електронні мікрофотографії шкаралупи курячих яєць, оброблених перед закладкою на інкубацію дезінфікуючим препаратом CID 20.

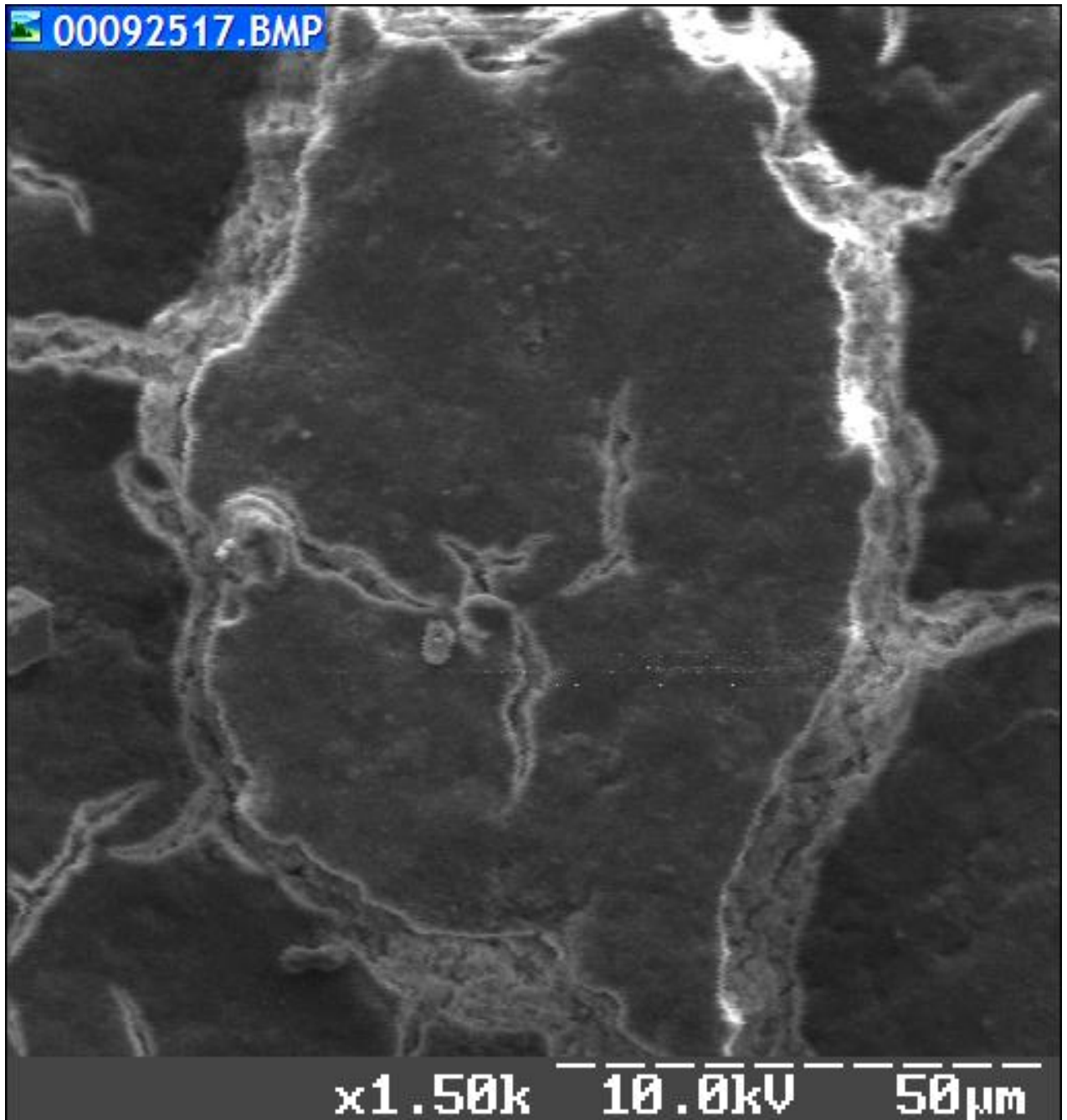


Рис. 88. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID – 20 (x 1 500).

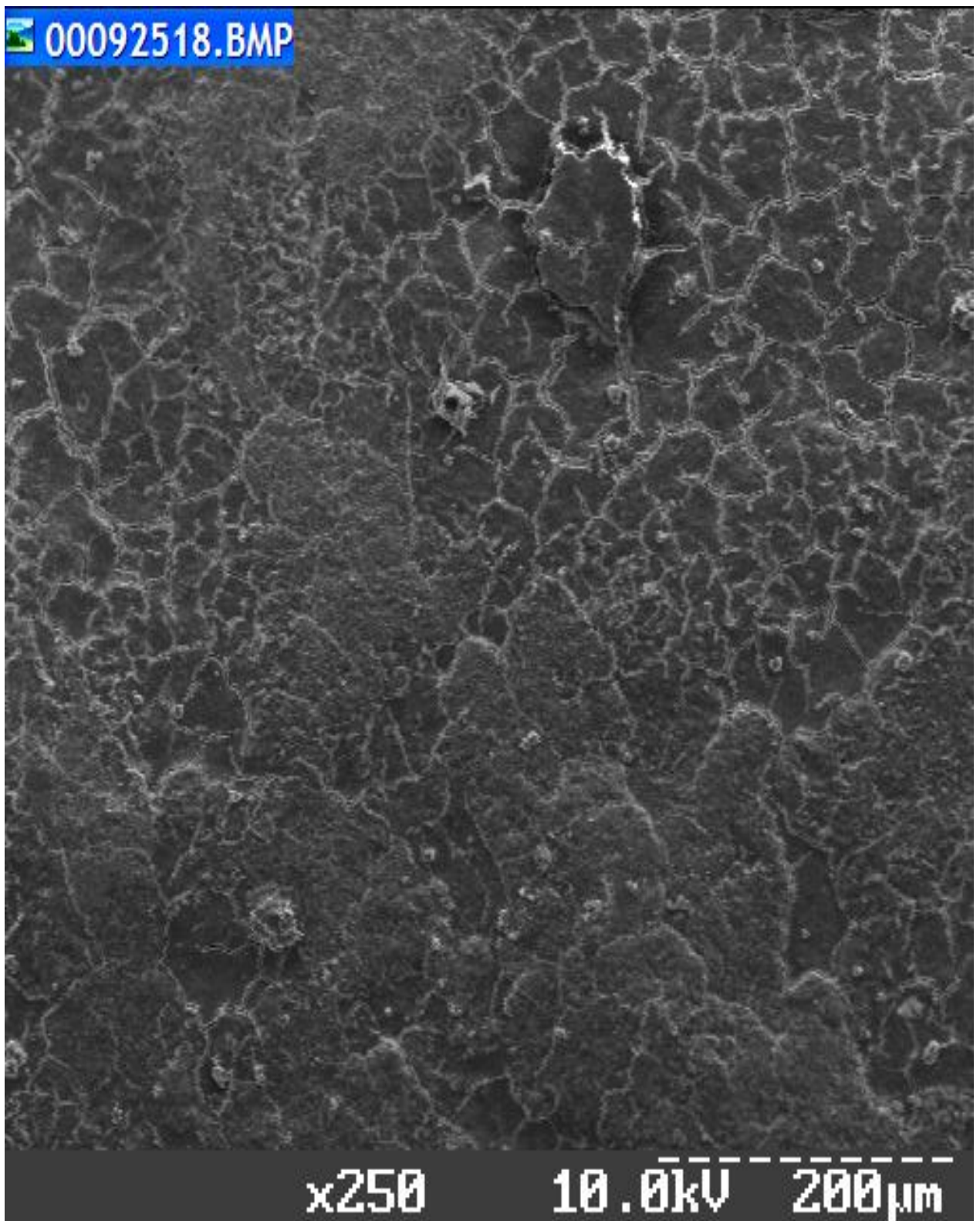


Рис. 89. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID – 20 (x 250).

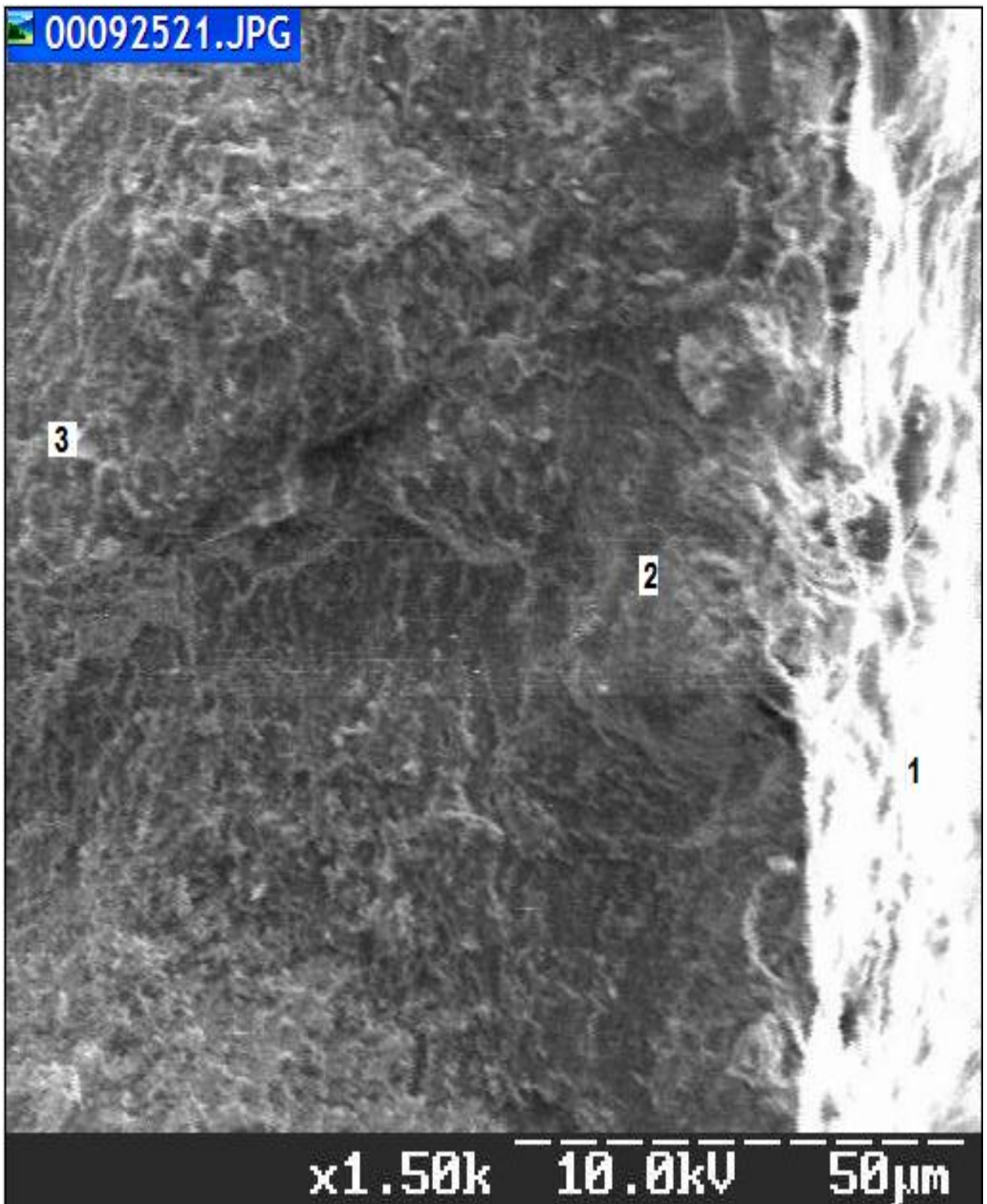


Рис. 90. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID – 20 (скол шкаралупи): 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, оброблена препаратом CID - 20; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісадний шар (x 1 500).

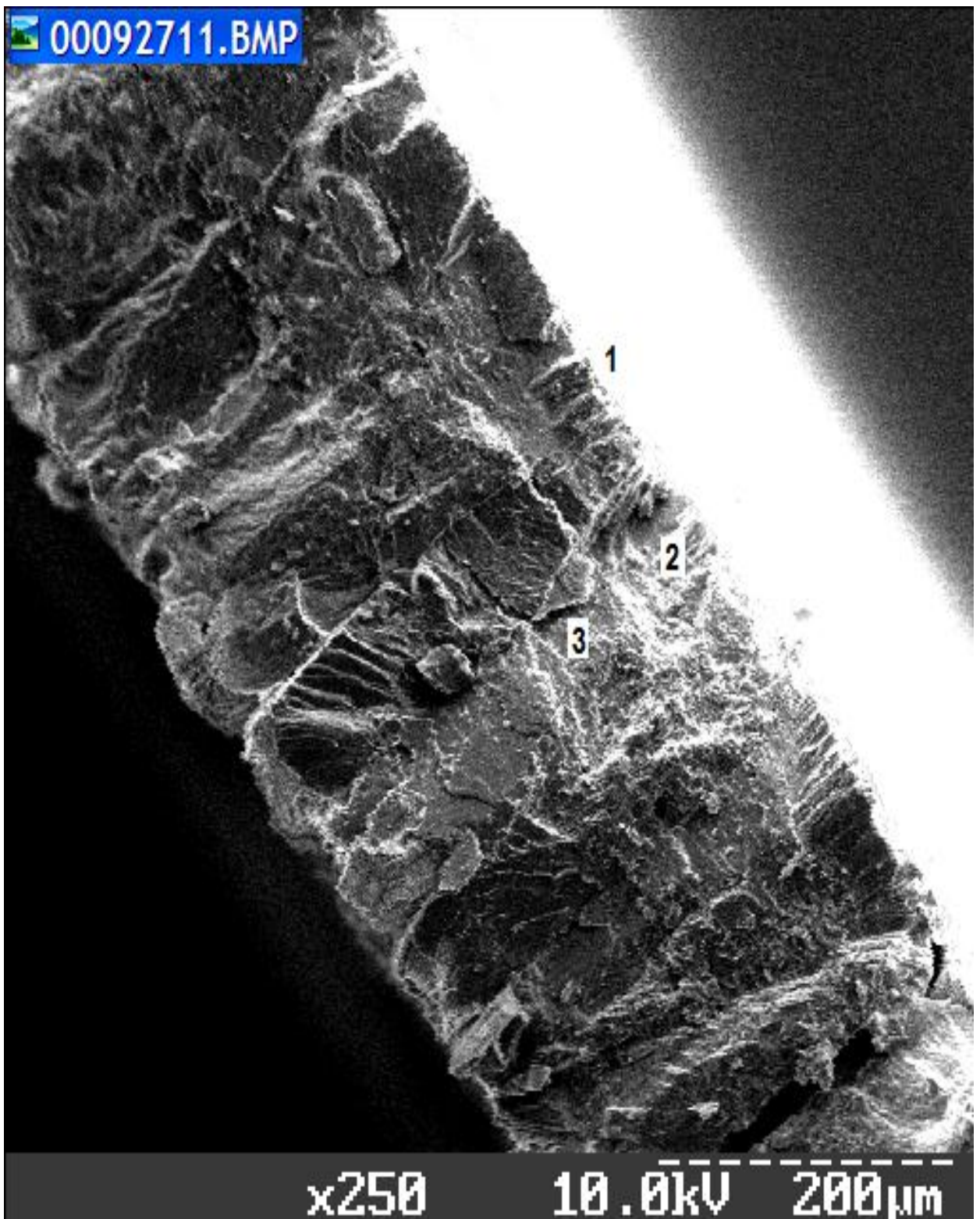


Рис. 91. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID – 20: 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, оброблена препаратом CID - 20; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісадний шар (x 250).

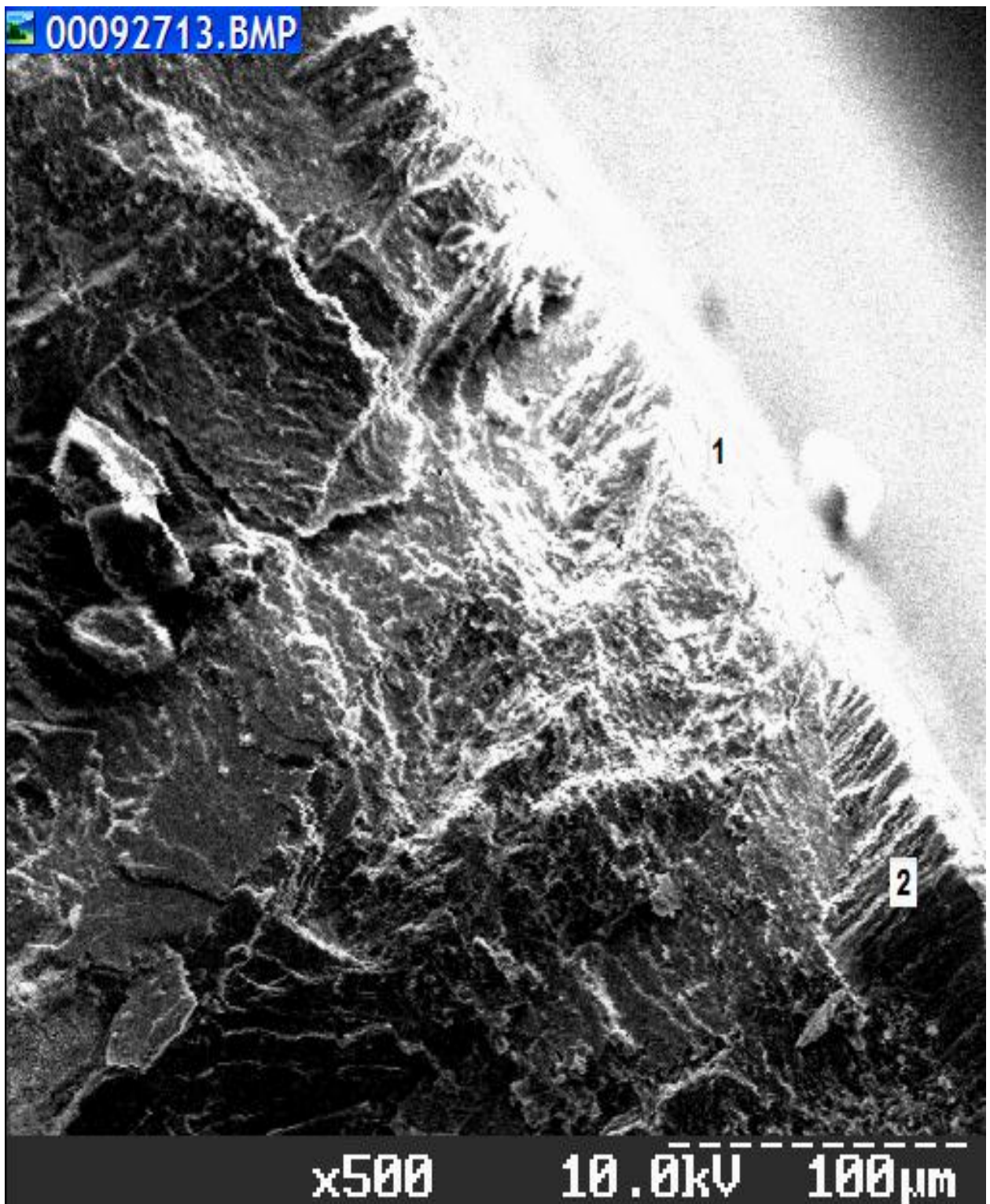


Рис. 92. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID – 20 (скол шкаралупи): 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, оброблена препаратом CID - 20; 2 - вертикальний кристалічний шар (x 500).

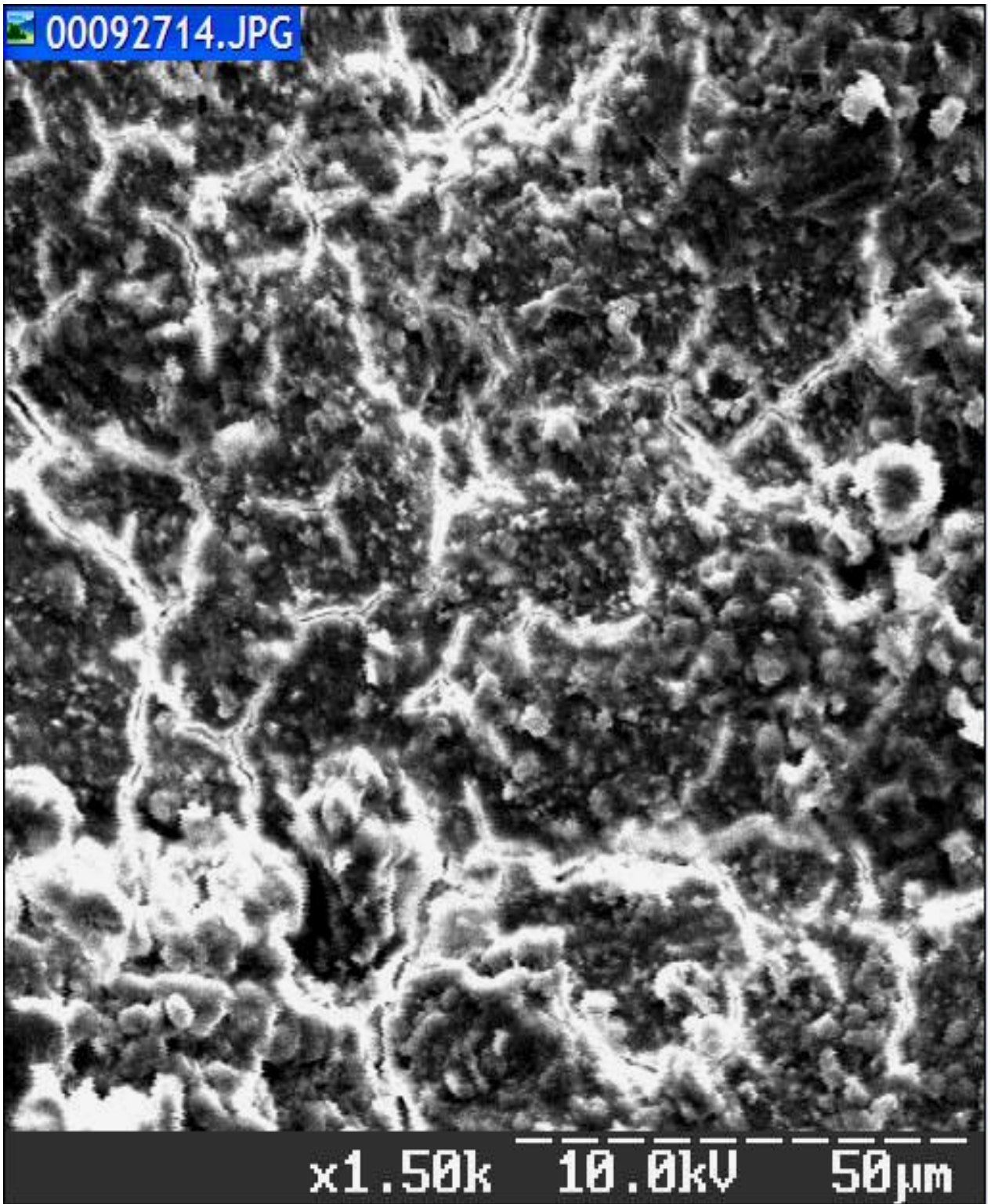


Рис. 93. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID - 20. Зразок шкаралупи відібраний після вилуплення курчати (x 1 500).

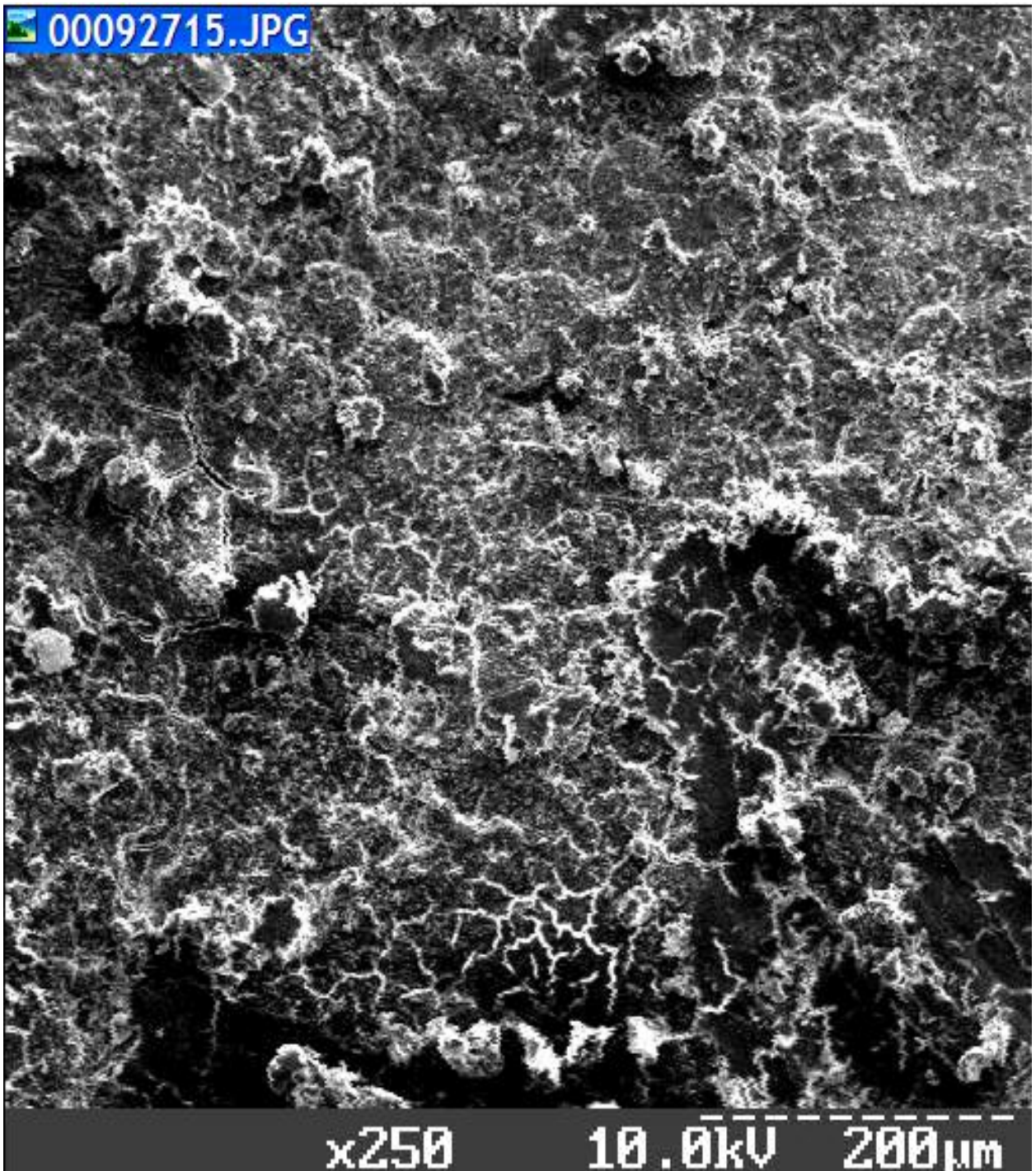


Рис. 94. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID - 20. Зразок шкаралупи відібраний після вилуплення курчати (x 250).

На рис. 93 і 94 представлені мікрофотографії зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією дезінфектантом CID – 20, у різних збільшеннях електронного мікроскопу [26]. Даний зразок шкаралупи був відібраний з яйця, з якого вилупилося здорове курча. З мікрофотографій видно, що препарат CID – 20 знаходився на шкаралупі протягом всього терміну інкубації.

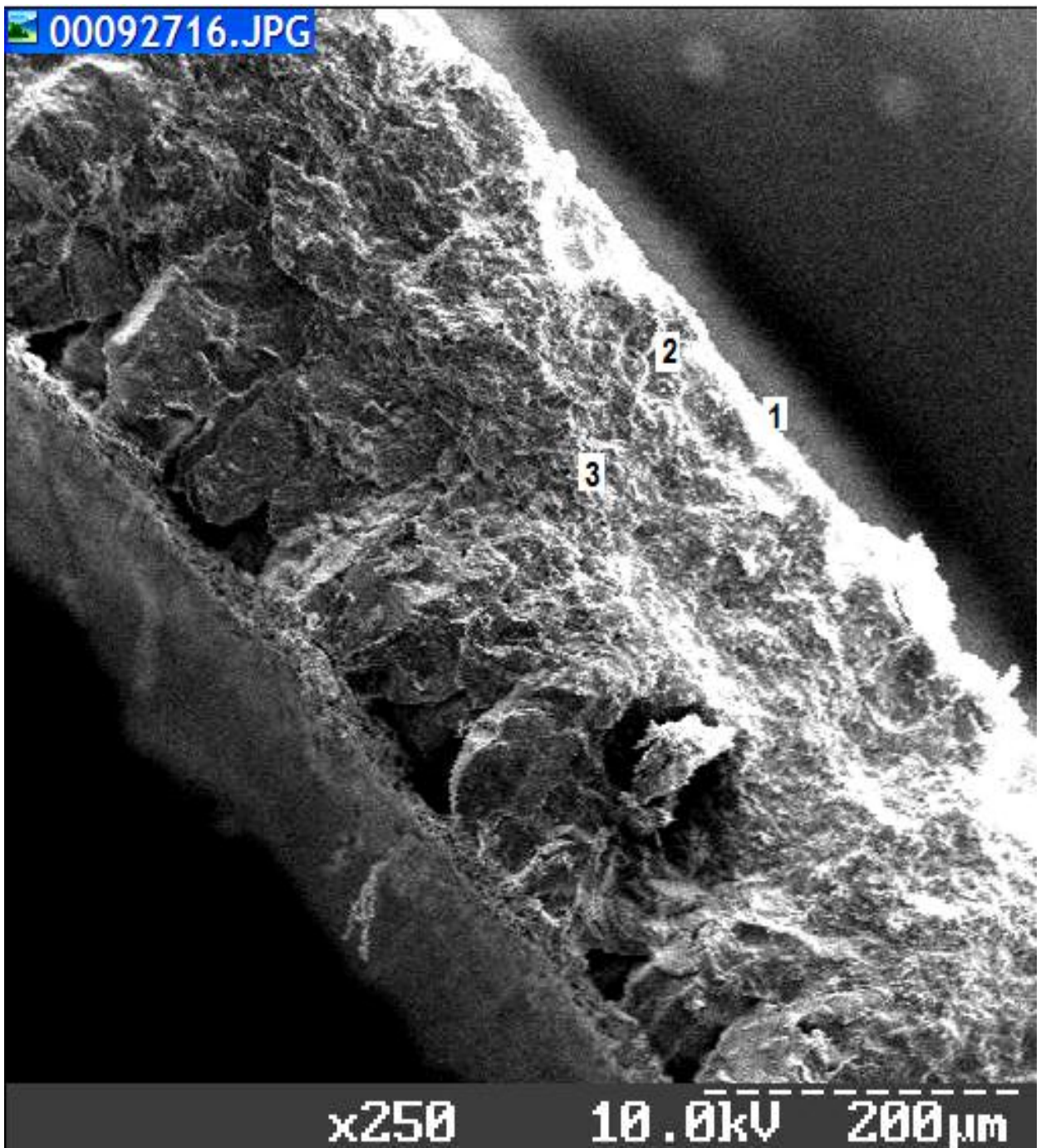


Рис. 95. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця після вилуплення курча (скол шкаралупи): 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, оброблена препаратом CID - 20; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палисадний шар (x 250).

Зразок шкаралупи (рис. 96) був отриманий після вилуплення здорового курча. Яйце перед інкубацією було оброблене дезінфектантом CID-20. На даному спостерігаються кристали CaCO_3 палисадного шару шкаралупи курячого яйця.

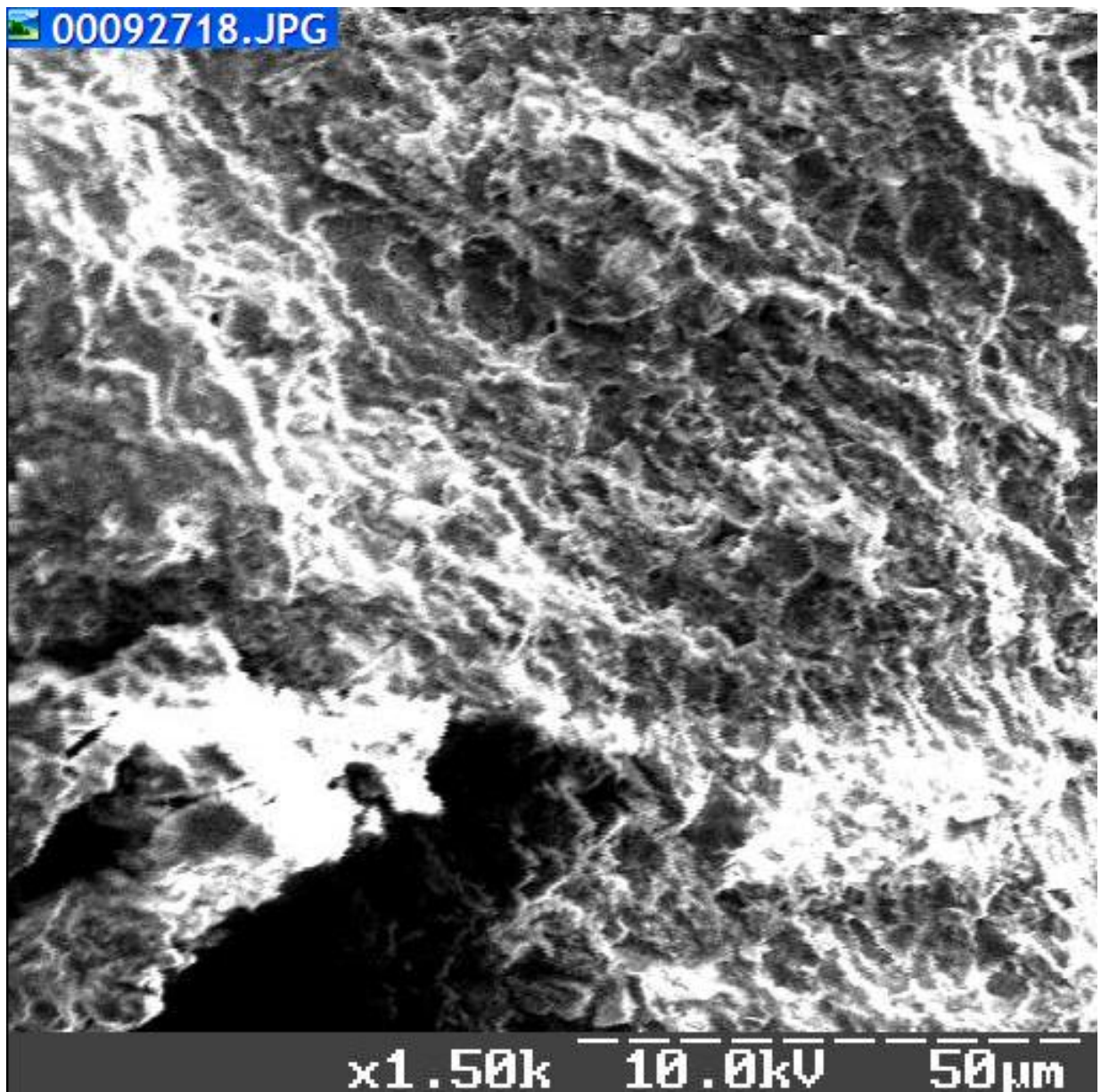


Рис. 96. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом CID – 20 (шкаралупа відібрана після вилуплення курча) (скол шкаралупи) (x 1 500).

Шкаралупа має рихлий вигляд, з порожнинами. Відомо, що протягом розвитку курячого ембріона під час інкубації CaCO_3 шкаралупи іде на побудову кістяку та інших тканин ембріона.

Дезінфікуючий препарат VIROCID розроблений компанією CID LINES, Бельгія і є високо ефективним сануючим засобом широкого спектру дії [34]. Препарат був застосований проти бактерій, грибів, вірусів, водоростей. Всі дослідження показали, що концентрація препарату 0,25 % проти бактерій та водоростей, та 0,5% - проти вірусів та грибів є надзвичайно ефективною.

На рис. 97 - 104 представлені мікрофотографії шкаралупи курячих яєць, оброблених перед інкубацією дезінфектантом VIROCID.

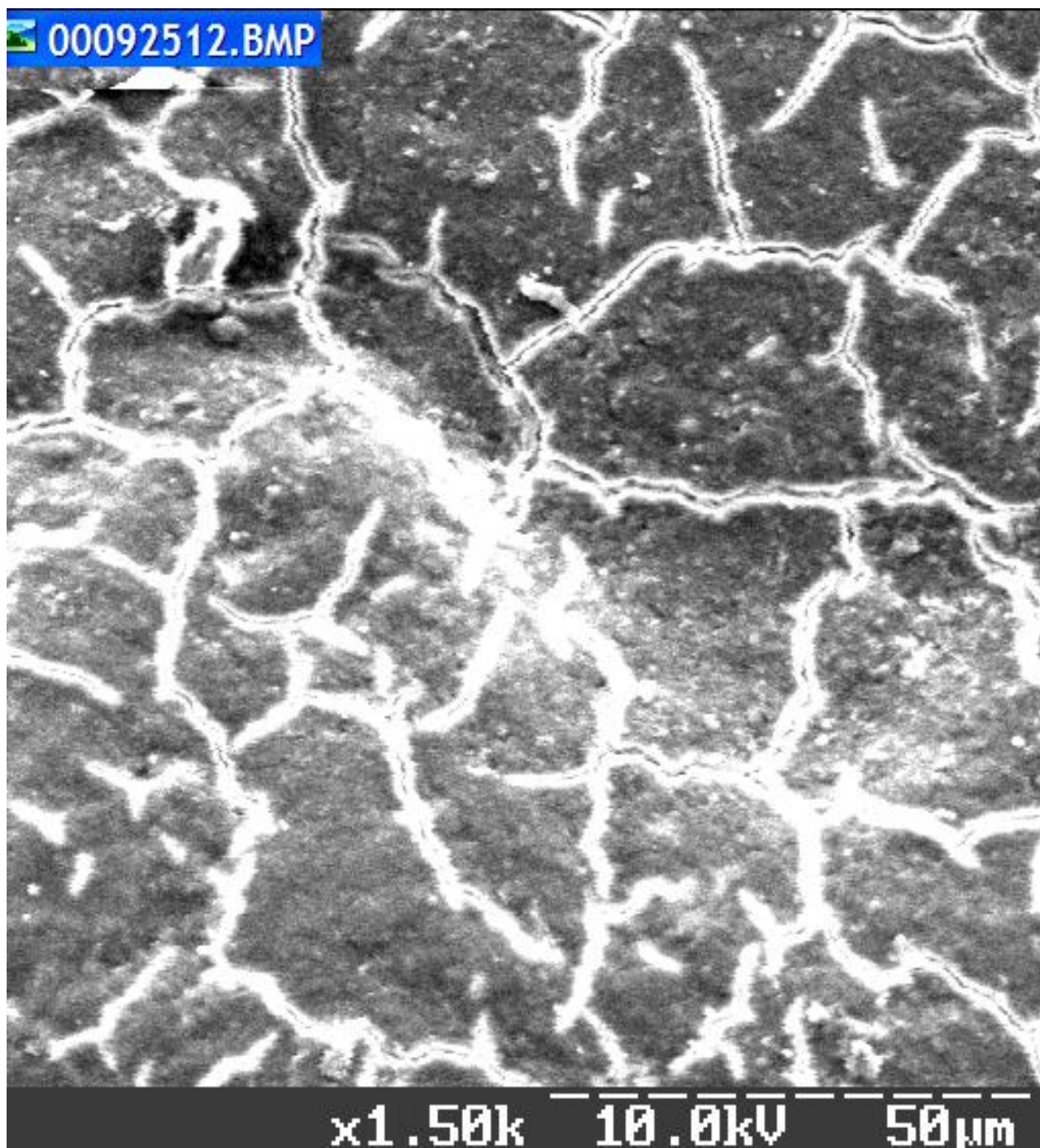


Рис. 97. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця обробленого препаратом VIROCID (x 1 500).

Препарат VIROCID складається із четвертинних амонієвих сполук та пероксидних речовин. До складу входять: алкілдиметилбензиламмоній - хлорид, дідецилдиметиламмоній - хлорид, глютаральдегід, ізопропанол та суміш терпенових сполук з ліпідів сосни звичайної.

На поверхні шкаралупи препарат утворює плівку з невеликою кількістю пор, що утруднює проникнення вологи та газів до ембріона [26].

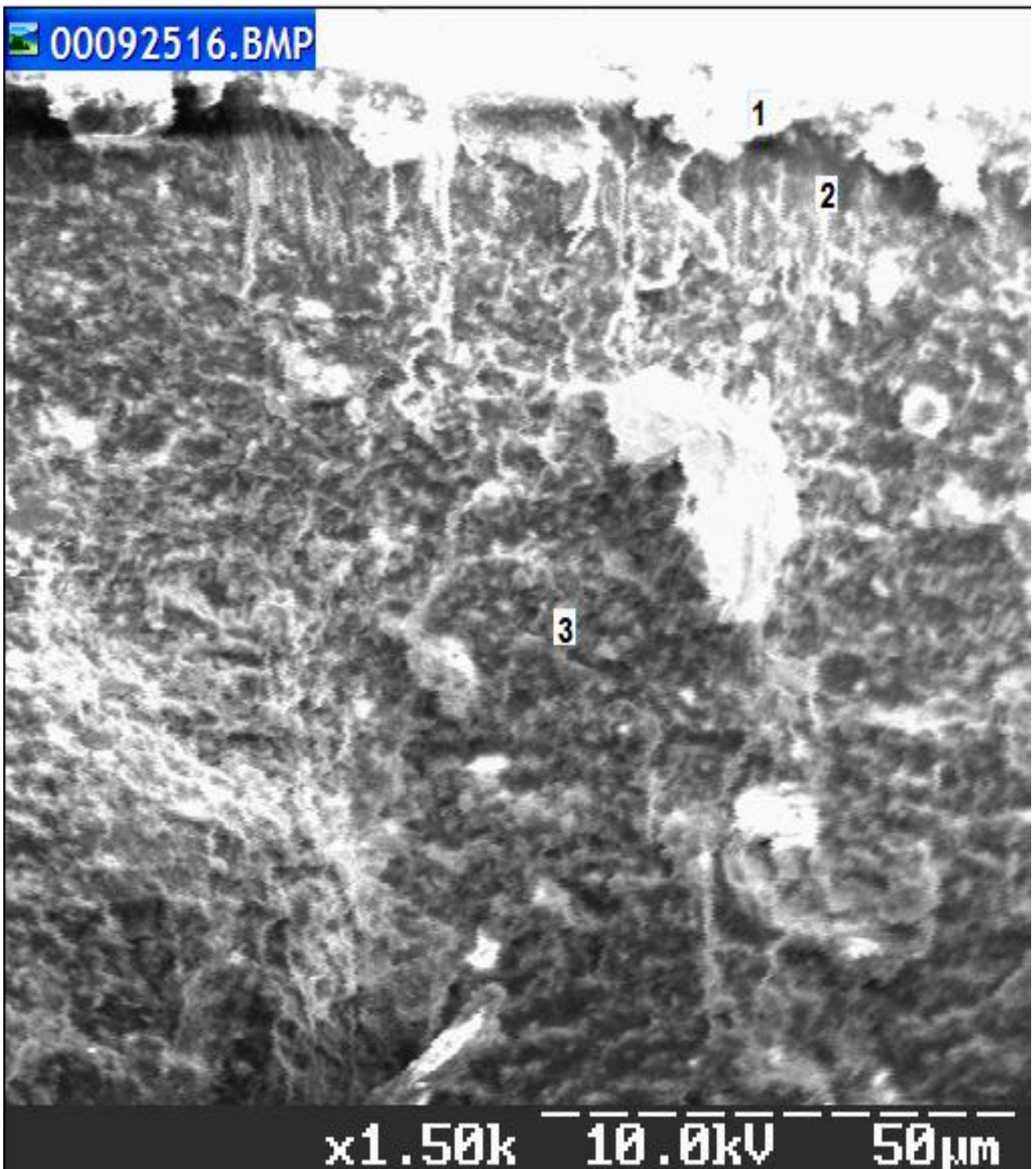


Рис. 98. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця обробленого препаратом VIROCID: 1 - зовнішній шар шкаралупи, оброблений препаратом VIROCID; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісадний шар (x 1 500).

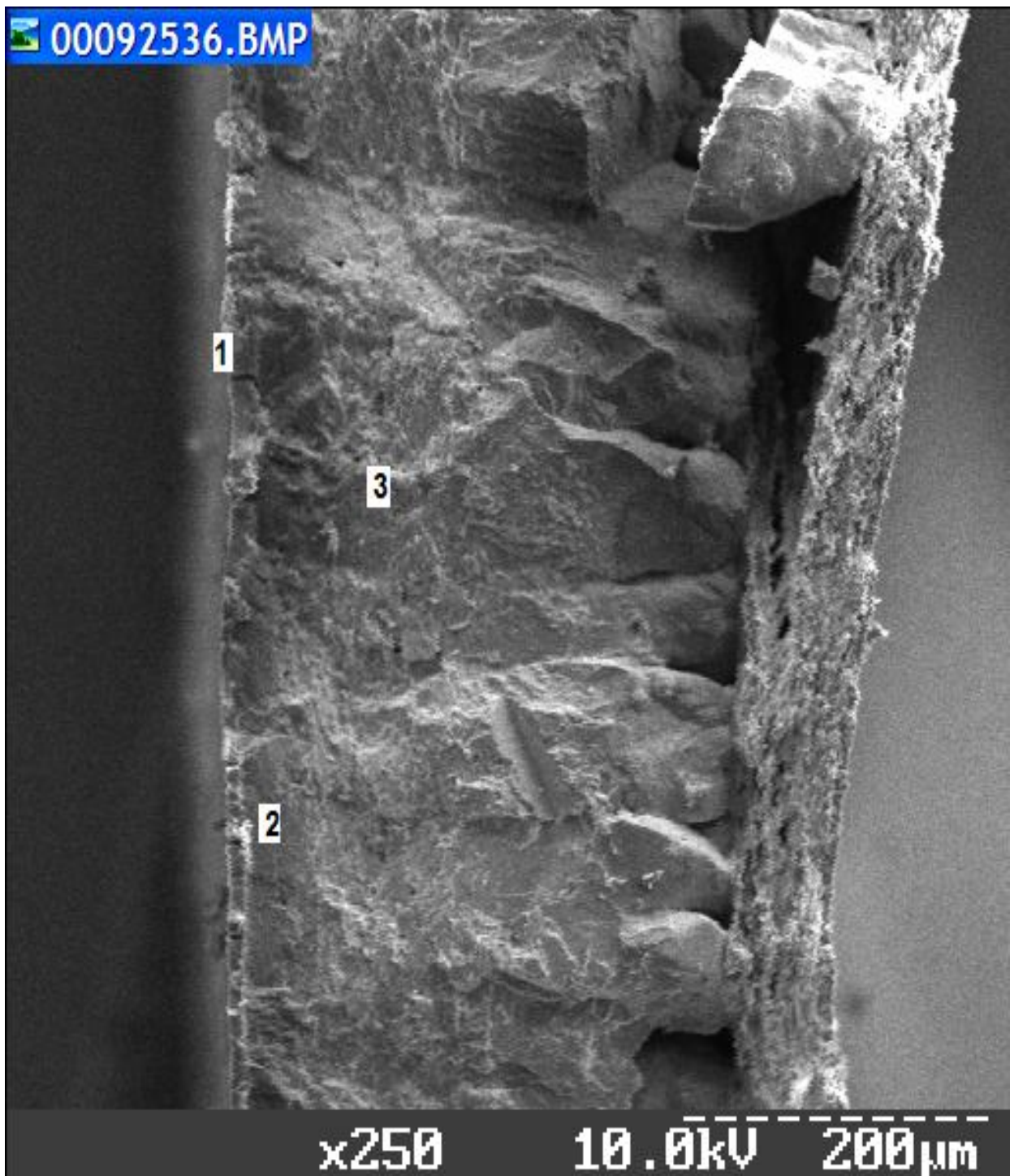


Рис. 99. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця обробленого препаратом VIROCID (шкаралупа відібрана після інкубації): 1 - шар препарату на зовнішній поверхні шкаралупи; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісадний шар; 4 – пори (x 250).

Як видно з даних мікрофотографій (рис. 99, 100) препарат не здійснює негативної дії на шкаралупу. Не спостерігаються прямі порушення цілісності шкаралупи та шкаралупних оболонок, як компонентів захисних бар'єрів яйця. На шкаралупі утворюється захисна пориста плівка, що попереджує

контамінацію патогенною мікрофлорою та регулює газовий та водний баланс протягом інкубації [25].

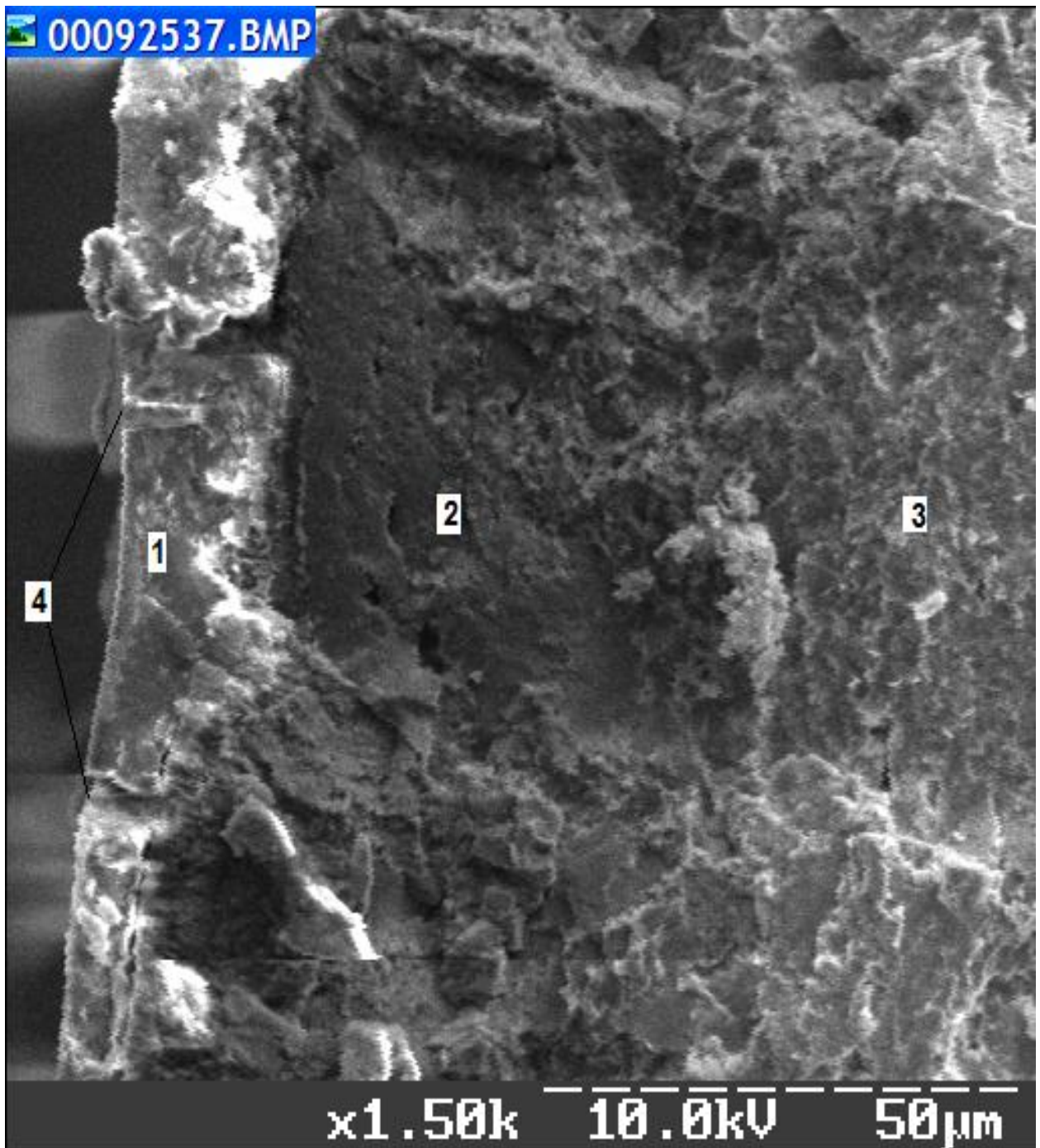


Рис. 100. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця обробленого препаратом VIROCID (шкаралупа відібрана після інкубації): 1 - шар препарату на зовнішній поверхні шкаралупи; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісадний шар; 4 – пори (x 1 500).

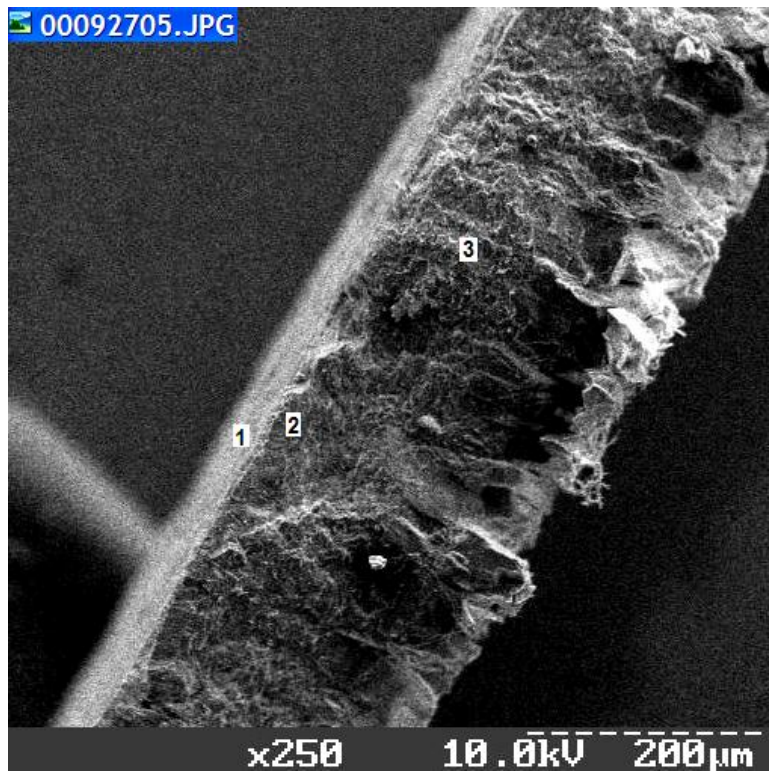


Рис. 101

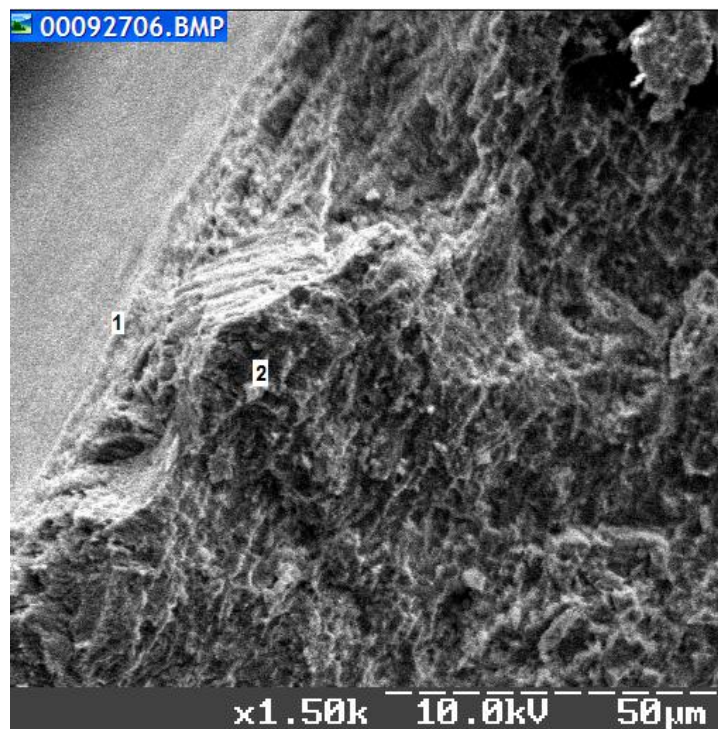


Рис.102

Рис. 101, 102. Електронні мікрофотографії шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом VIROCID (шкаралупа після інкубації): 1 - шар препарату на зовнішній поверхні шкаралупи; 2 - вертикальний кристалічний шар; 3 - палісаний шар (x 250; x 1 500).

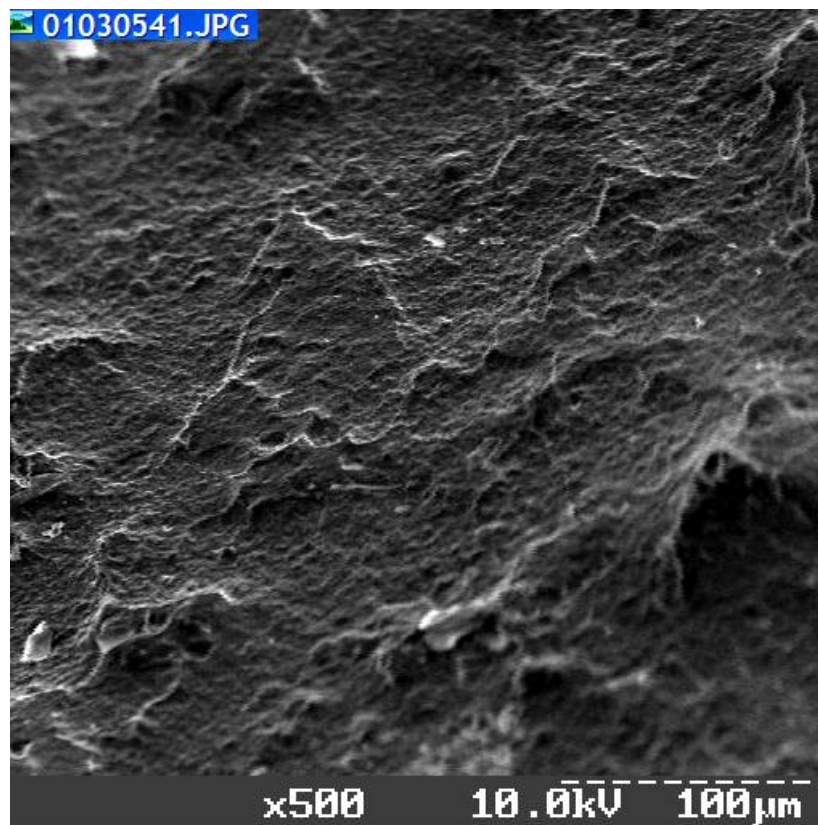


Рис. 103

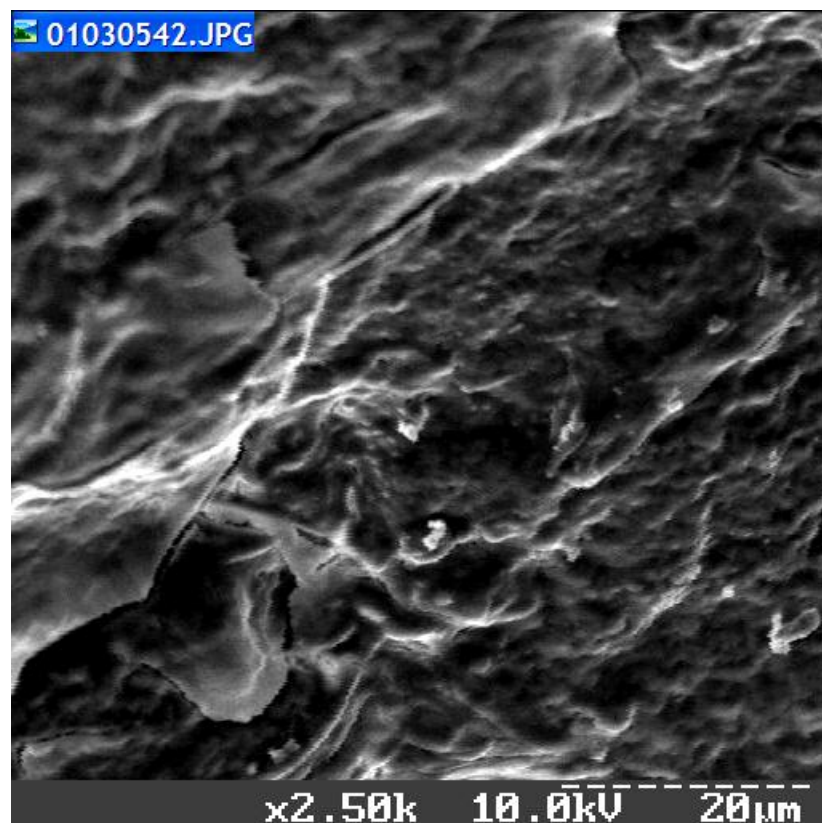


Рис. 104

Рис. 103, 104. Електронні мікрофотографії зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією препаратом VIROCID (бокова проекція) (x 500; x 2 500).

4.3. Дезінфектанти на основі пероксидних речовин

Дезінфектанти на основі пероксидних сполук (зокрема, перекису водню (H_2O_2)) широко використовуються для дезінфекції та стерилізації. Цій речовині притаманні такі цінні властивості, як відсутність запаху, швидка деструкція у навколишньому середовищі на нетоксичні продукти, відсутність алергенної дії.

Проте препарат перекису водню досить нестабільний, призводить до місцевого подразнення шкіри і, у порівнянні з іншими дезінфектантами, має недостатню бактерицидну активність.

Рідкофазова форма дезінфектантів на основі перекису водню не є оптимально технологічною, що спонукає дослідників до пошуку твердофазових перекисних сполук.

Додавання активаторів (йодиду калію, фториду калію, ацетилсаліцилової кислоти) дозволяє значно підвищити активність перекису водню і твердих перекисних сполук - пероксикарбонату натрію (персоль), пероксигідрату карбаміду (гідроперит), пероксиборату натрію.

Підаючи оцінці перспективність цих препаратів слід відмітити, що бактерицидний ефект дезінфектантів на основі перекису водню зумовлений своєрідним аутолітичним «вибухом» за рахунок реакцій перекисного окислення ліпідів, що забезпечує вибірковий механізм бактерицидної дії з компонентами лізису внаслідок деструкції відповідних компонентів клітинної стінки [101,112].

Шляхом поєднання перекису водню і фториду калію вдалося отримати препарат у твердій формі - пероксигідрат фториду калію, який отримав назву «Ниток».

На основі перекису водню і сполук четвертинного амонію (ЧАС) були створені активні дезінфектанти з поліпшеними фізико-хімічними властивостями: Грилен, ПВК, Перамін, Пемос-1, Virkon - S тощо.

Препарати Virkon та Virkon - S (Virkon(r), «КРКА», Словенія) представляють собою збалансовані суміші пероксидних сполук, поверхнево-активних речовин, органічних кислот і неорганічної буферної системи. Основний компонент - персульфат калію (50%) [21].

На рис. 105 –108 представлені мікрофотографії шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією препаратом Virkon - S (Antex, Великобританія; КРКА, Словенія) [44].

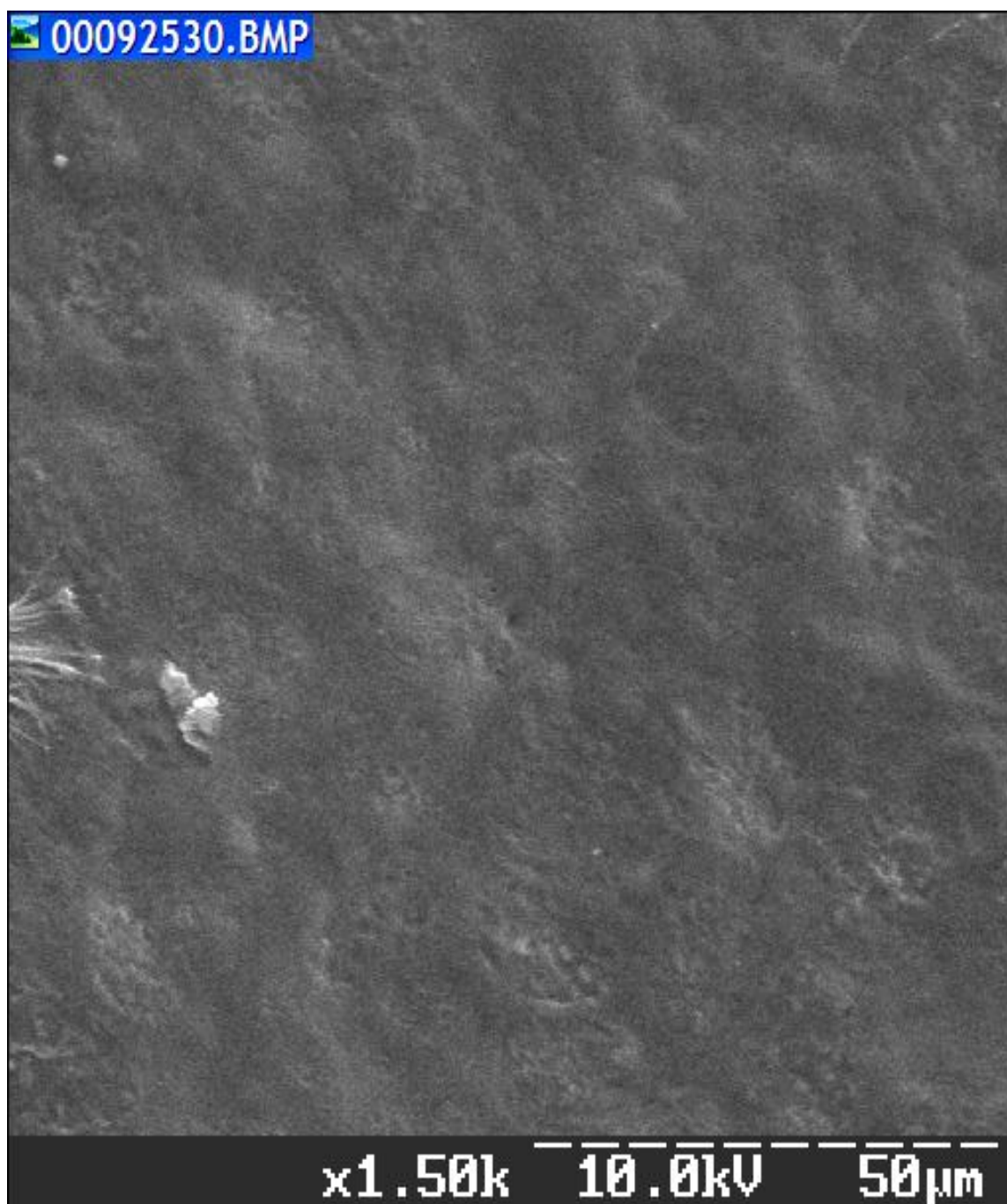


Рис. 105. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленої дезінфікуючим препаратом Virkon - S (Antex, Великобританія; KRKA, Словенія) (x 1 500).

Virkon - S має широкий спектр дії у відношенні до бактерій, вірусів, грибів. За рівнем токсичності відноситься до помірно небезпечних сполук. У рекомендованих концентраціях не подразнює шкіру, злегка подразнює слизові оболонки, не виявляє сенсibiliзуючої дії. Робочі розчини характеризуються слабкою корозивною активністю, практично не псують матеріали поверхонь, що обробляються і зберігають протимікробну активність протягом 5 днів [36].

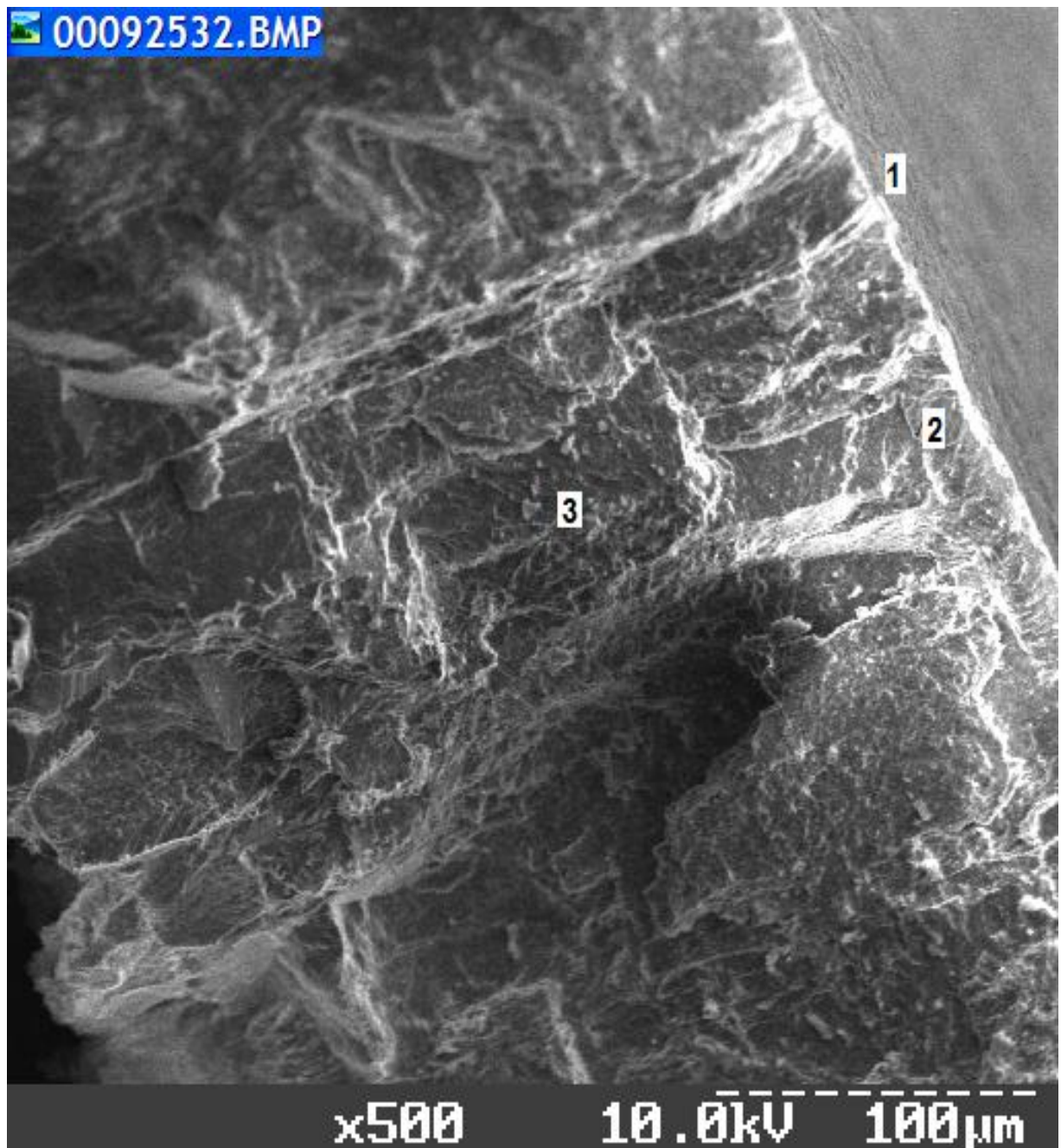


Рис. 106. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (скол), обробленого дезінфікуючим препаратом Virkon - S (Antex, Великобританія; KRKA, Словенія): 1 - зовнішня поверхня шкаралупи (кутикула), оброблена препаратом; 2 - кристалічний вертикальний шар; 3 - палісадний шар (x 500).

Virkon - S призначений для проведення профілактичної дезінфекції виробничих, побутових, допоміжних приміщень і обладнання птахофабрик та тваринницьких господарств, у ветеринарних клініках, ветеринарних лабораторіях, на ветеринарних станціях, забійних цехах птахофабрик, а також при вимушеній дезінфекції названих об'єктів під час інфекцій бактеріальної (виключаючи туберкульоз) і вірусної етіології.

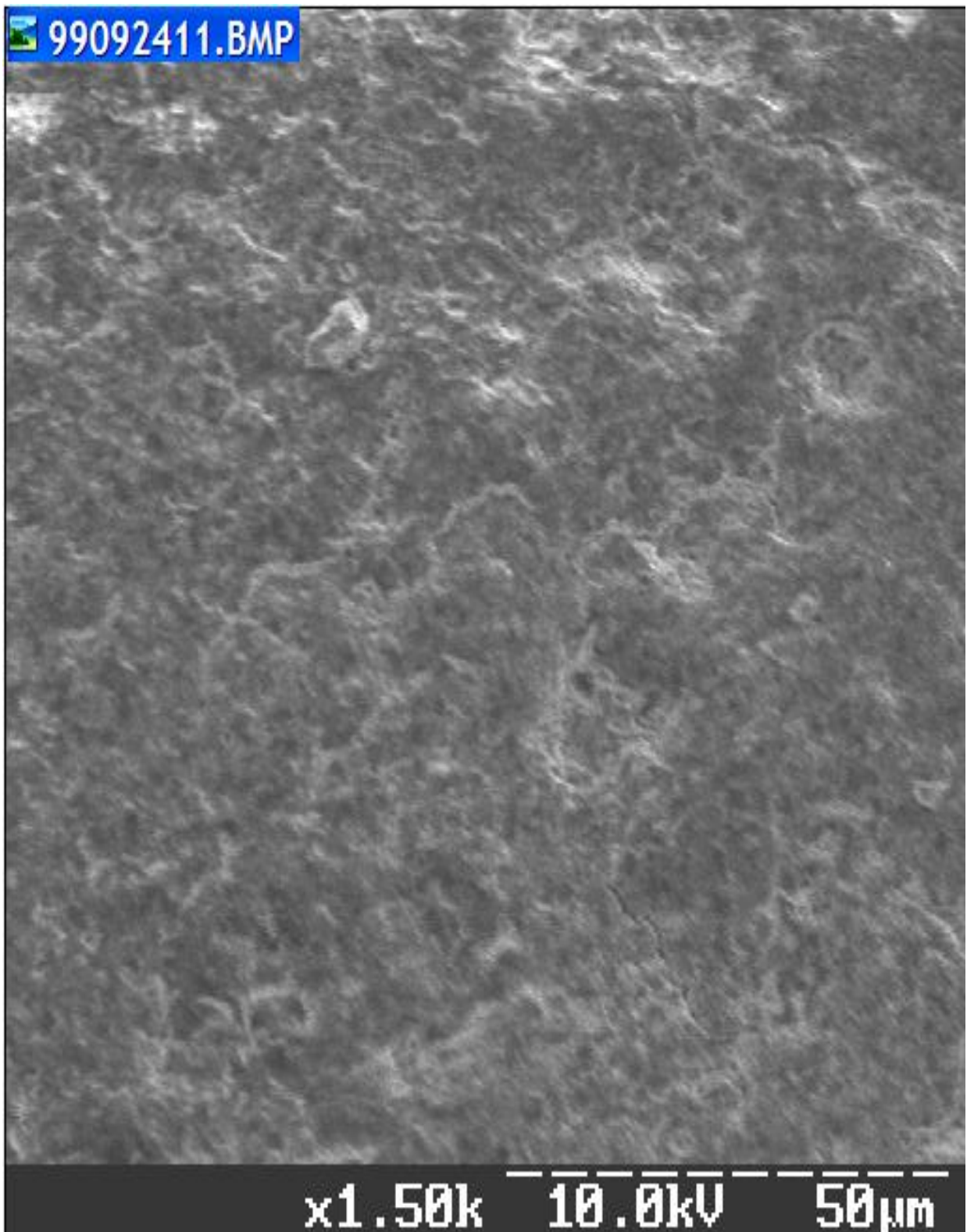


Рис. 107. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого перед інкубацією препаратом Virkon - S (Antex, Великобританія; KRKA, Словенія). Зразок шкаралупи відібраний після вилуплення курчати (x 1 500).

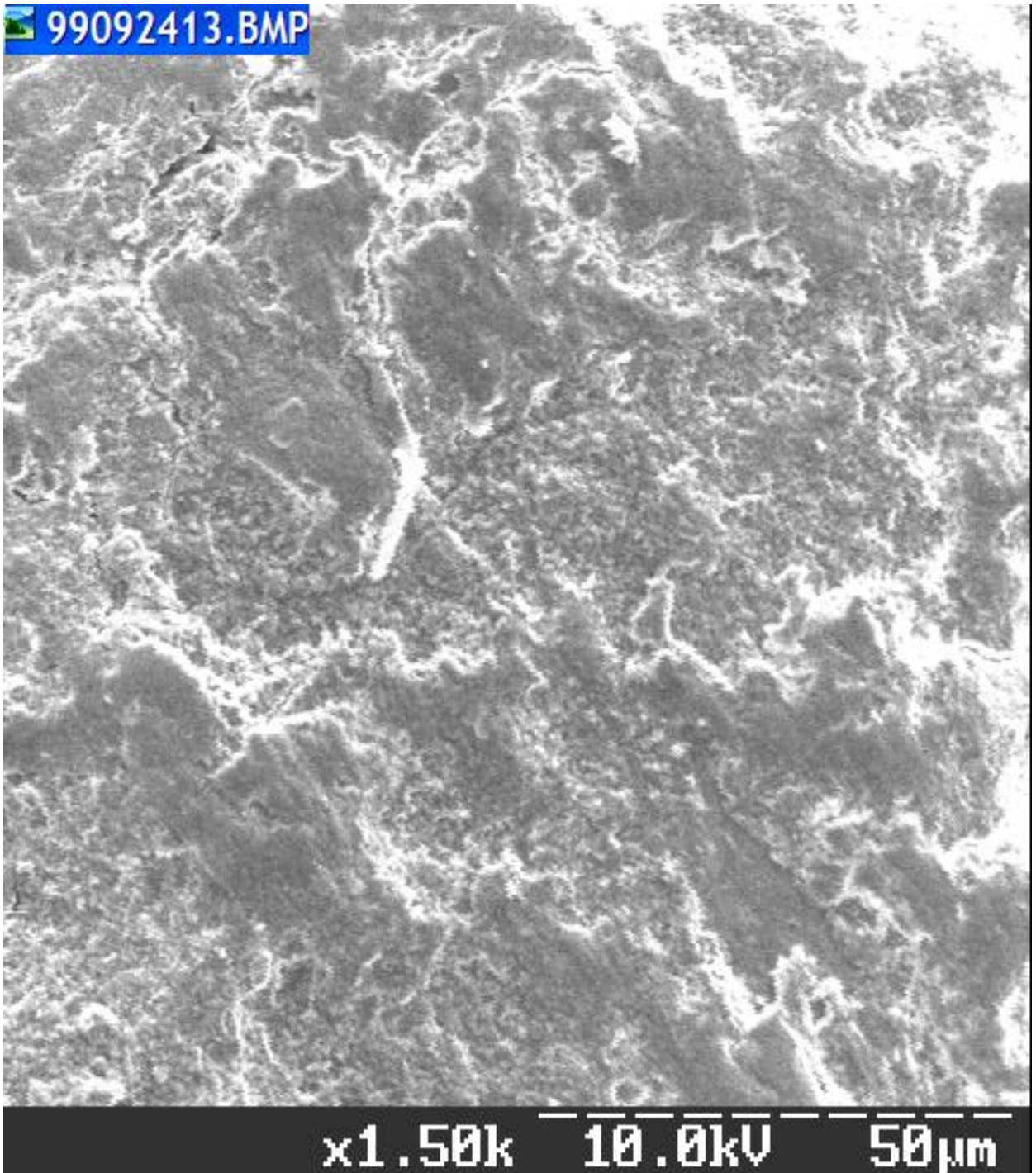


Рис. 108. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого перед інкубацією препаратом Virkon - S (Antex, Великобританія; KRKA, Словенія). Зразок шкаралупи відібраний після вилуплення курчати (x 1 500).

Надоцтова кислота (НОК), як прекрасний біоцидний продукт, відома вже майже сторіччя. На сьогодні загальноновизнаним є те, що препарати на основі надоцтової кислоти є найбільш ефективними і екологічно безпечними дезінфектантами: «АКВАдез-НУК-15», «АКВАдез-НУК 5» (ООО «АКВА-КЕМИКАЛ», С.-Пб., РФ), РЗ -оксонія® актив (ЭКОЛАБ), DIVOSAN АКТИВ, Неосептал – РЕ (Др. Вайгерт), “Кріодез” [101,112]. Ці сучасні препарати

являють собою оптимізовані, чотирикомпонентні стабілізовані продукти оцтової кислоти, води, перекиси водню і надоцтової кислоти. Наразі ведуться успішні дослідження з поєднання надоцтової кислоти з іншими біоцидними діючими речовинами, зокрема сполуками четвертинного амонію [109].

Молекули надоцтової кислоти є базовим інгредієнтом в усіх стабілізованих препаративних формах і являють собою потужний окислювач, який діє на мікроорганізми як з зовні, так і з середини, піддаючи деструкції мембрани та білки і ліпіди, що входять до їх складу. Такий механізм забезпечує швидку руйнацію будь яких мікроорганізмів, зокрема бактерій, вірусів, а також спор. Надоцтова кислота належить до обмеженого кола дезінфектантів, яким притаманна здатність одночасно впливати на аеробну і анаеробну мікрофлору. Важливо і те, що надоцтова кислота не викликає появи резистентних штамів мікроорганізмів. В медицині препарати на основі надоцтової кислоти відносять до дезінфектантів високого рівня і стериліантів.

В складі препаратів пероксидний компонент - НОК розрихлює плівку, сформовану базовими складовими ЧАС, і робить її проникною для газів та вологи, просочує неорганічний кальцитний матрикс, забезпечуючи надійну санацію останнього від патогенної мікрофлори (рис. 109 - 111).

Для пом'якшення дії на шкаралупу яєць надоцтової кислоти в препарат додавали сумарний рослинний екстракт (РЕ), який складався з рівних об'ємів екстрактів, отриманих з таких біологічно-активних компонентів: горіху волоського - *Juglans regia*; елеутерококу колючого - *Eleuterococcus senticosus* Maxim; ехіноцеї пурпурової, - *Echinacea purpurea* Moench.; звіробою звичайного - *Hypericum perforatum* L.; золотого кореню - *Rhodiola rosea* L.; лимоннику китайського - *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; нагідок лікарських (календули) - *Calendula officinalis* L.; обліпихи крушиноподібної - *Hippophaë rhamnoides* L.; полину гіркою - *Artemisia absinthium* L.; ромашки лікарської - *Matricaria recutita* (Chamomilla) L.; сосни лісової - *Pinus silvestris* L.; тополі чорної - *Populus nigra* L.; хмелю звичайного - *Humulus lupulus* L.; ялівця звичайного - *Juniperus communis* L.; екстракту з виноградних кісточок (10 % водний розчин) [10,36].

РЕ є біологічно - активним компонентом, що підвищує виводимість та збереженість птиці.

Рослинний екстракт (РЕ) завдяки сполукам, що містяться у ньому, має протирадикальні властивості і знижує деструктивну активність надоцтової кислоти щодо біокерамічного шару шкаралупи (рис. 112, 113).

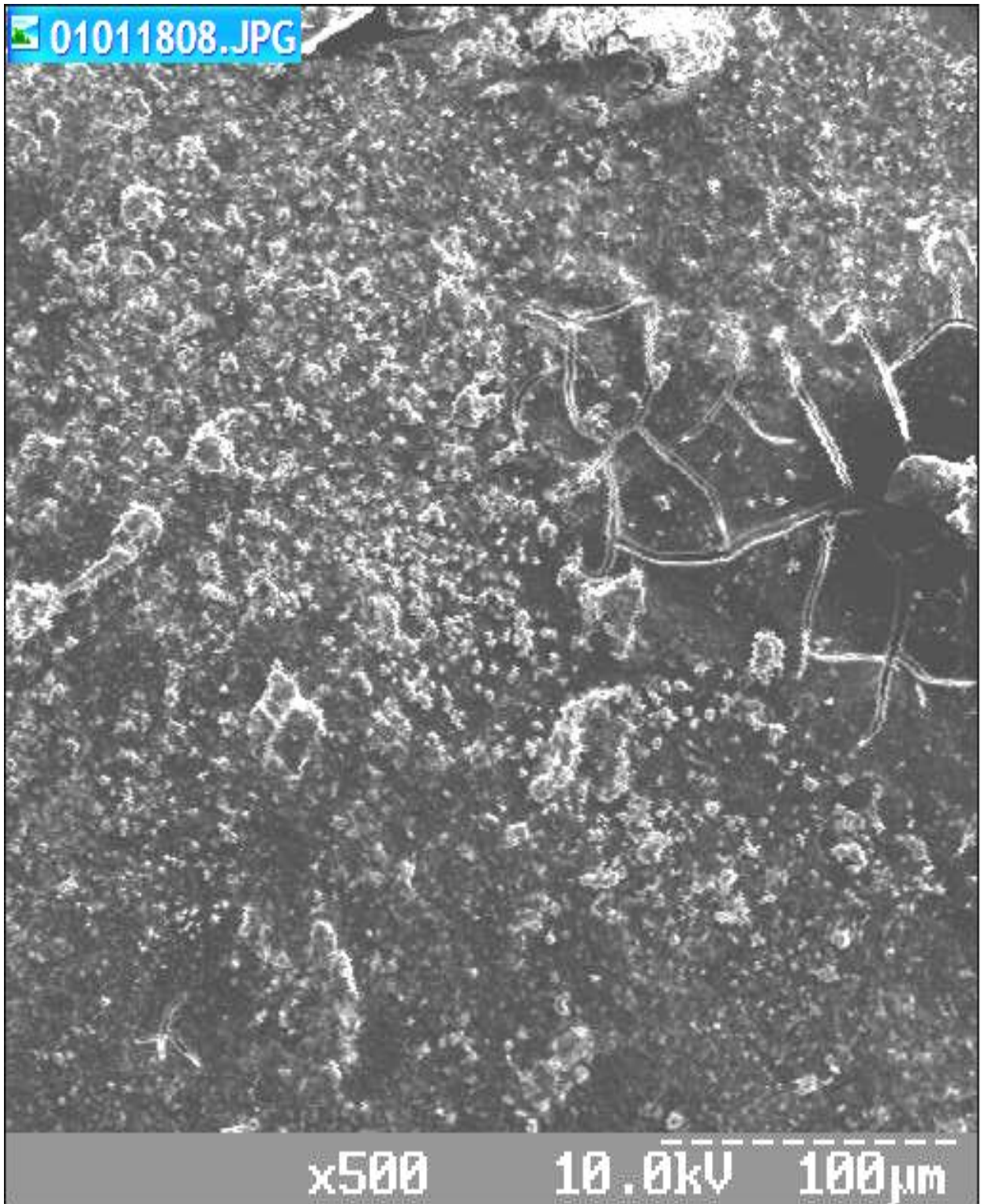


Рис. 109. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю препарату CID - 20 та НОК (x 500).

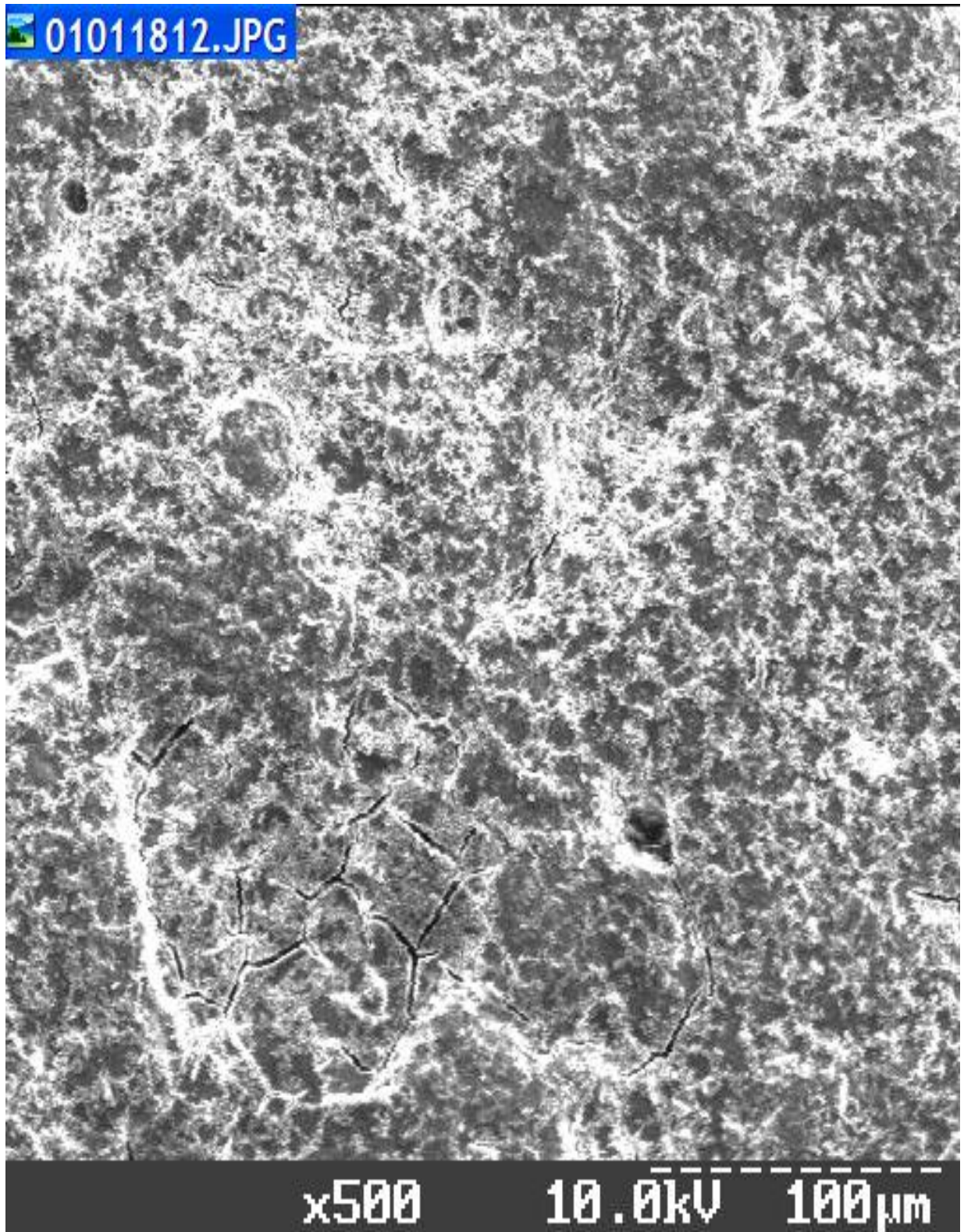


Рис. 110. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю препарату VIROCID та НОК (x 500).

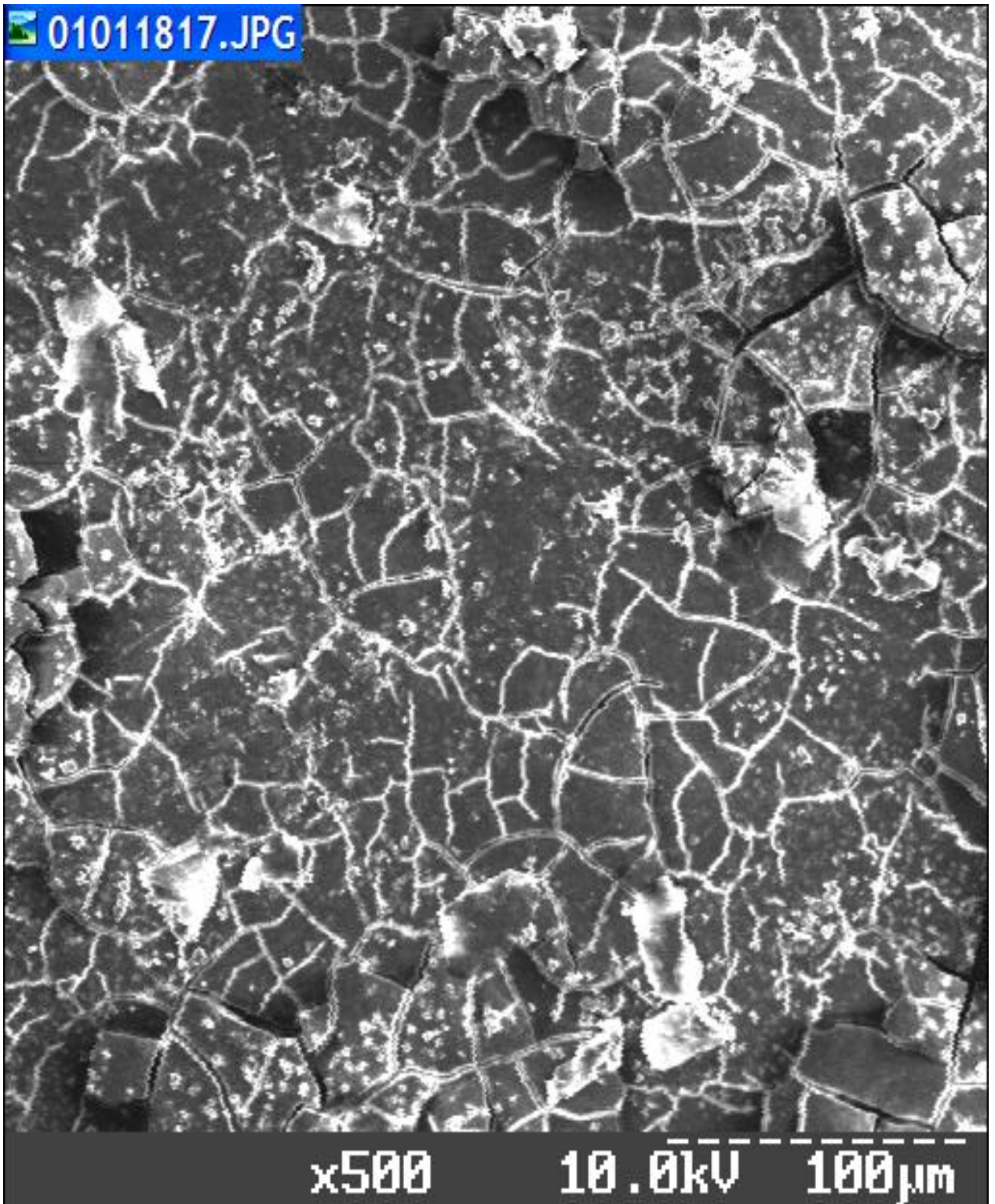


Рис. 111. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю препарату ВВ-1 та НОК (x 500).

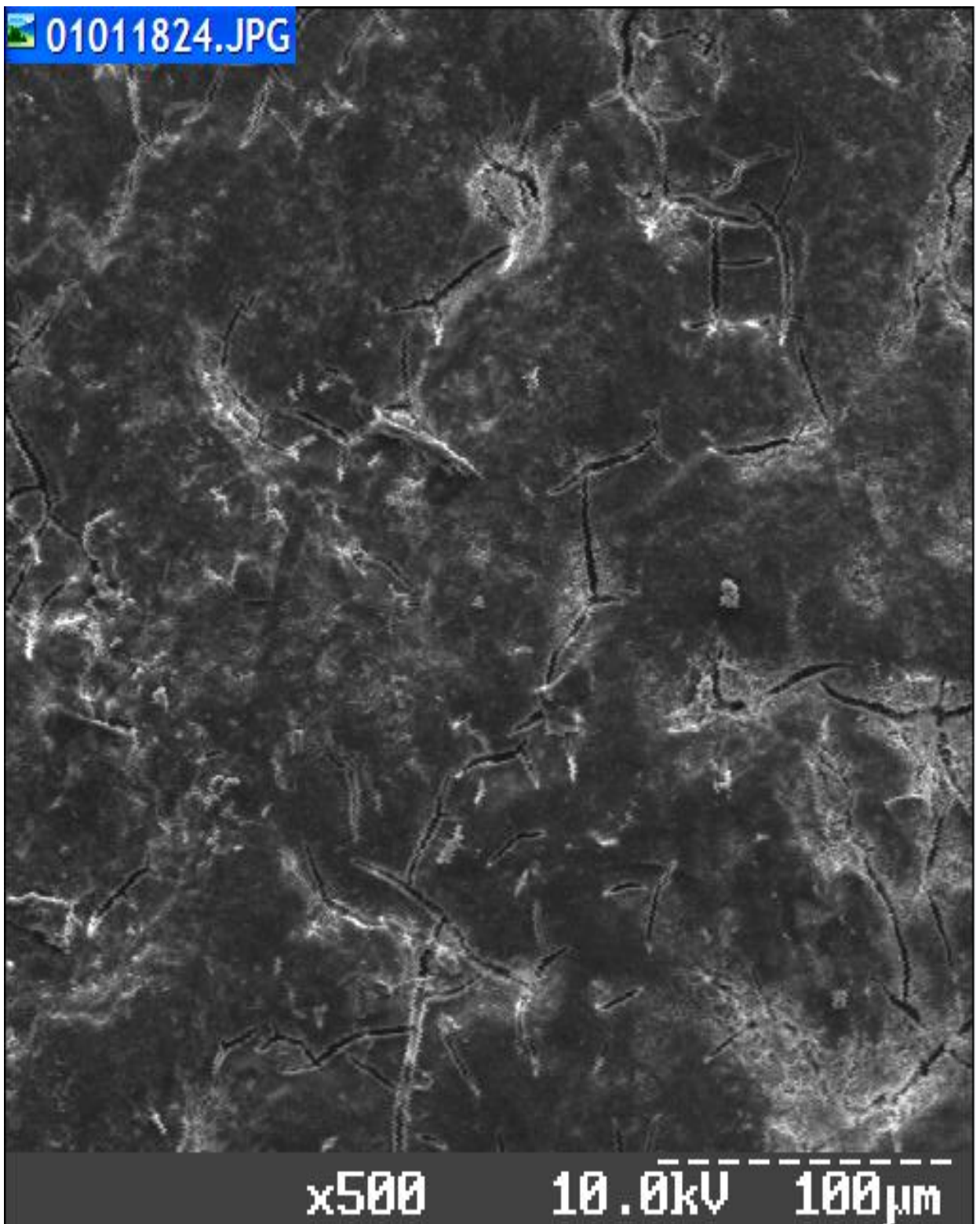


Рис. 112. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю препарату CID - 20, НОК та рослинних екстрактів (x 500).

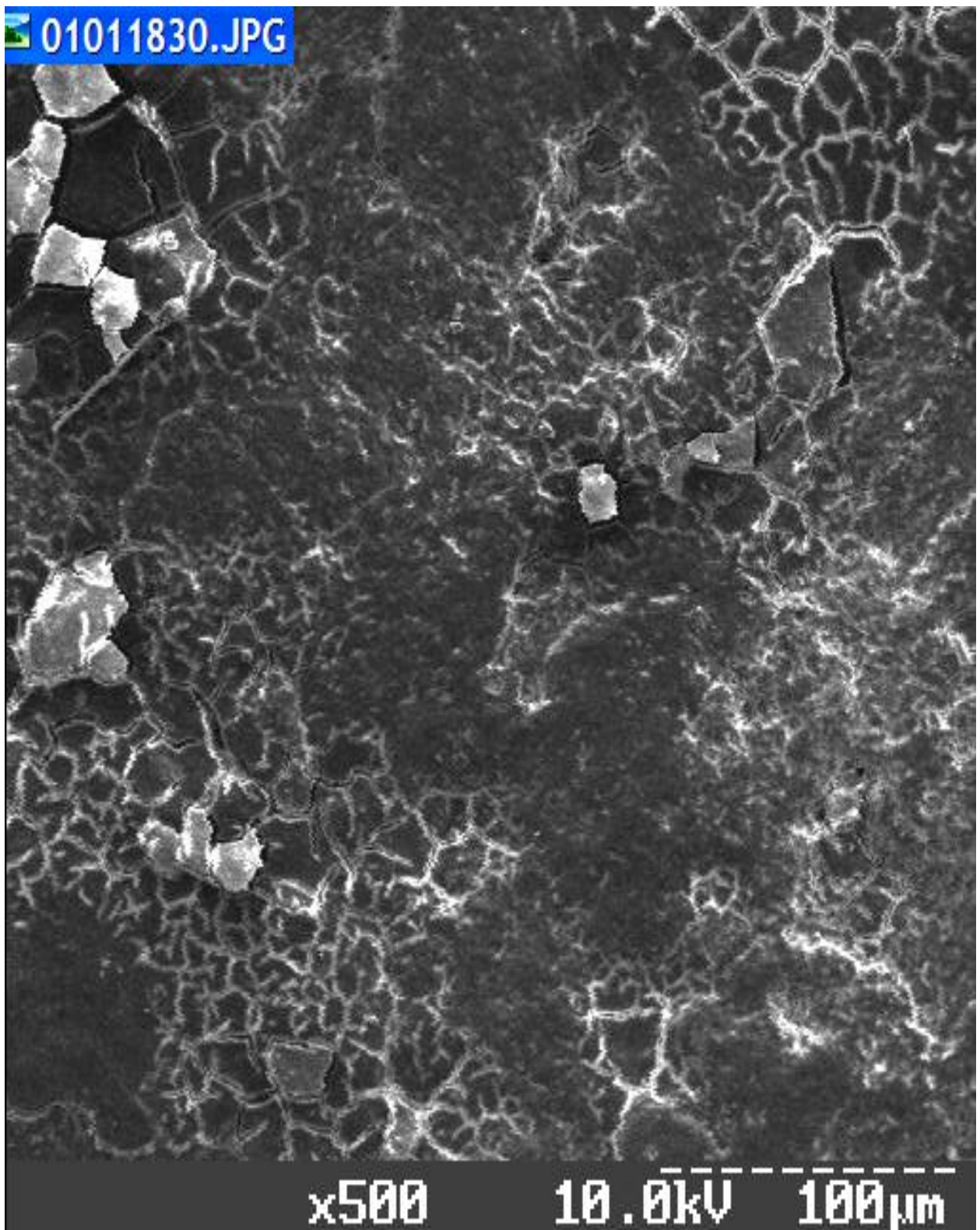


Рис. 113. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого перед інкубацією сумішшю препарату VIROCID, НОК та рослинних екстрактів (зразок шкаралупи відібраний після вилуплення курчати) (x 500).

4.4. Хімічні методи дезінфекції

Обробка хімічними методами інкубаційних яєць передбачає застосування речовин, яким притаманна бактерицидна, бактериостатична і фунгіцидна активності. З хімічних засобів для дезінфекції широко застосовують луги, кислоти, окислювачі, хлормістячі й альдегідвмісткі препарати, а також антибіотики [63, 70, 72, 81, 132, 144,]. Однак, птахівники країн Західної Європи, Америки, Ізраїлю та інших країн з розвитим птахівництвом відмовляються від цих препаратів, тому що більшість із них мають підвищену токсичність стосовно ембріонів, що розвиваються, а також виражену канцерогенну й алергенну дію на працівників інкубаторіїв [1]. Деякі з цих дезінфікуючих речовин, наприклад формальдегід, в умовах підвищеної вологості коагулюють поверхневий шар надшкаралупової оболонки, а інші - зв'язують білкові компоненти кутикули яйця і тим самим інгібують її захисні властивості (глутаральдегід). У першому випадку пори яйця стають проникними для інфекції, а в другому - ущільнюється верхній захисний шар і погіршується проходження газів усередину яйця, що негативно позначається на розвитку ембріона особливо в другий період інкубації, коли ембріони мають потребу в надходженні свіжого повітря [8].

На рисунках 114 - 118 представлені мікрофотографії шкаралупи курячого яйця, оброблені перед інкубацією парами формальдегіду (рис. 114, 115) та глутаральдегідом (рис. 116, 117, 118).

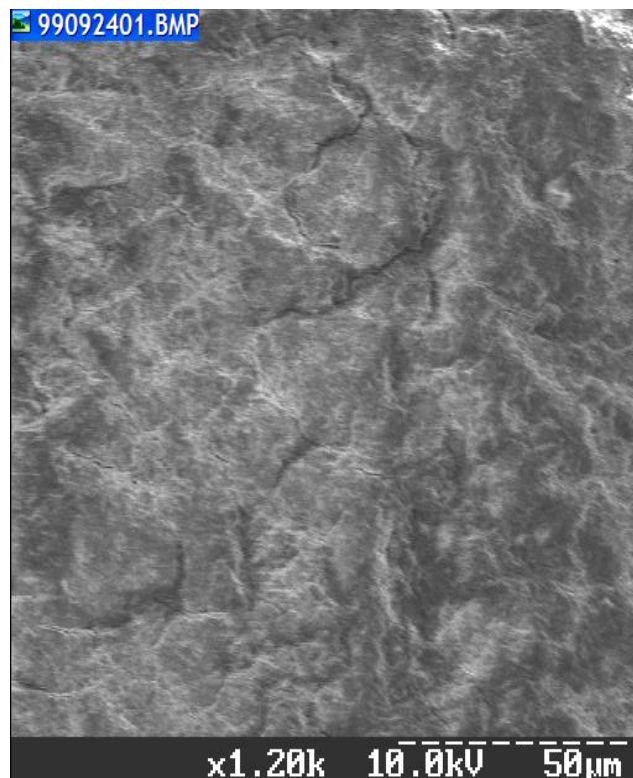


Рис. 114. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого формальдегідом (x 1 200).

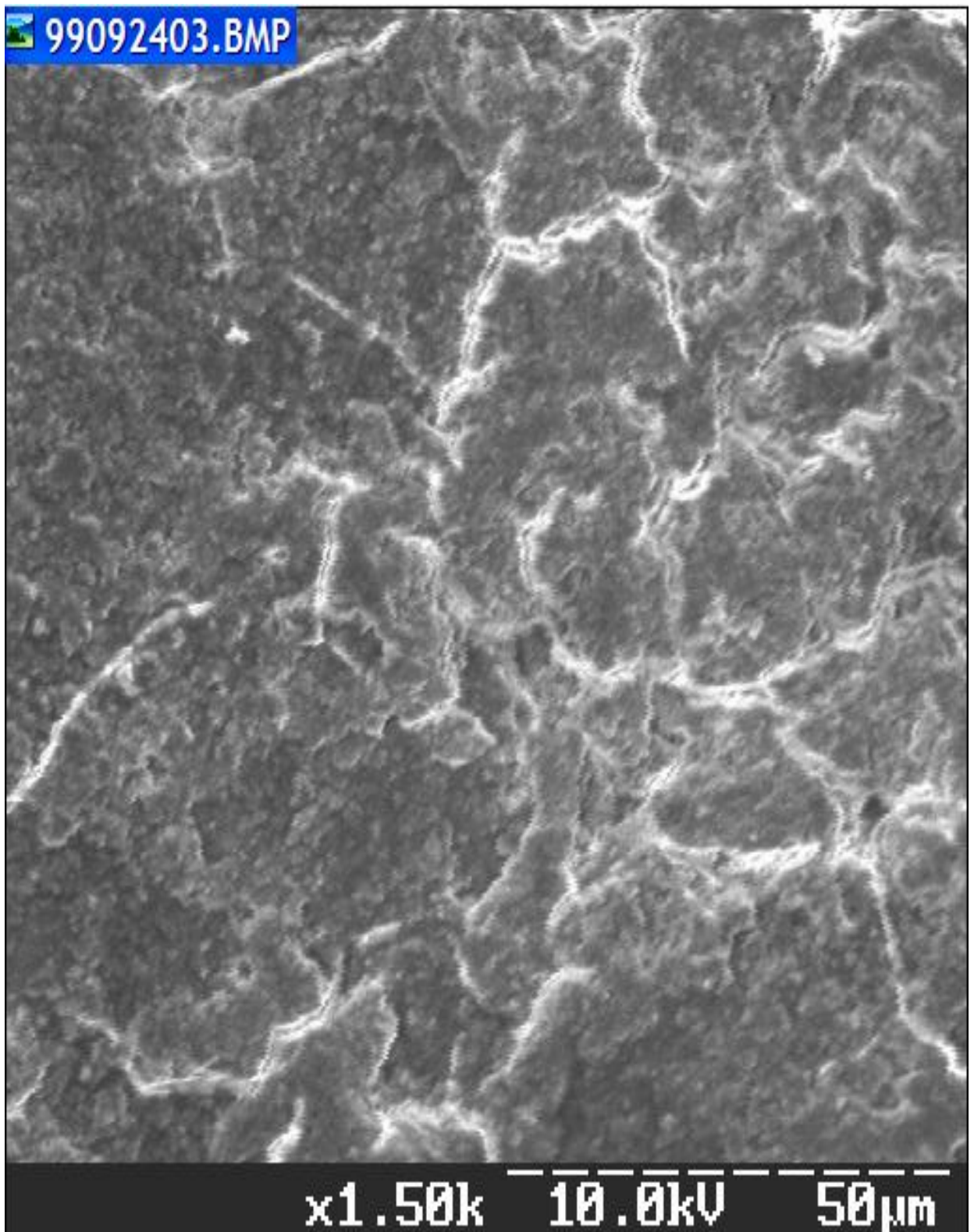


Рис. 115. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого формальдегідом (x 1 500).

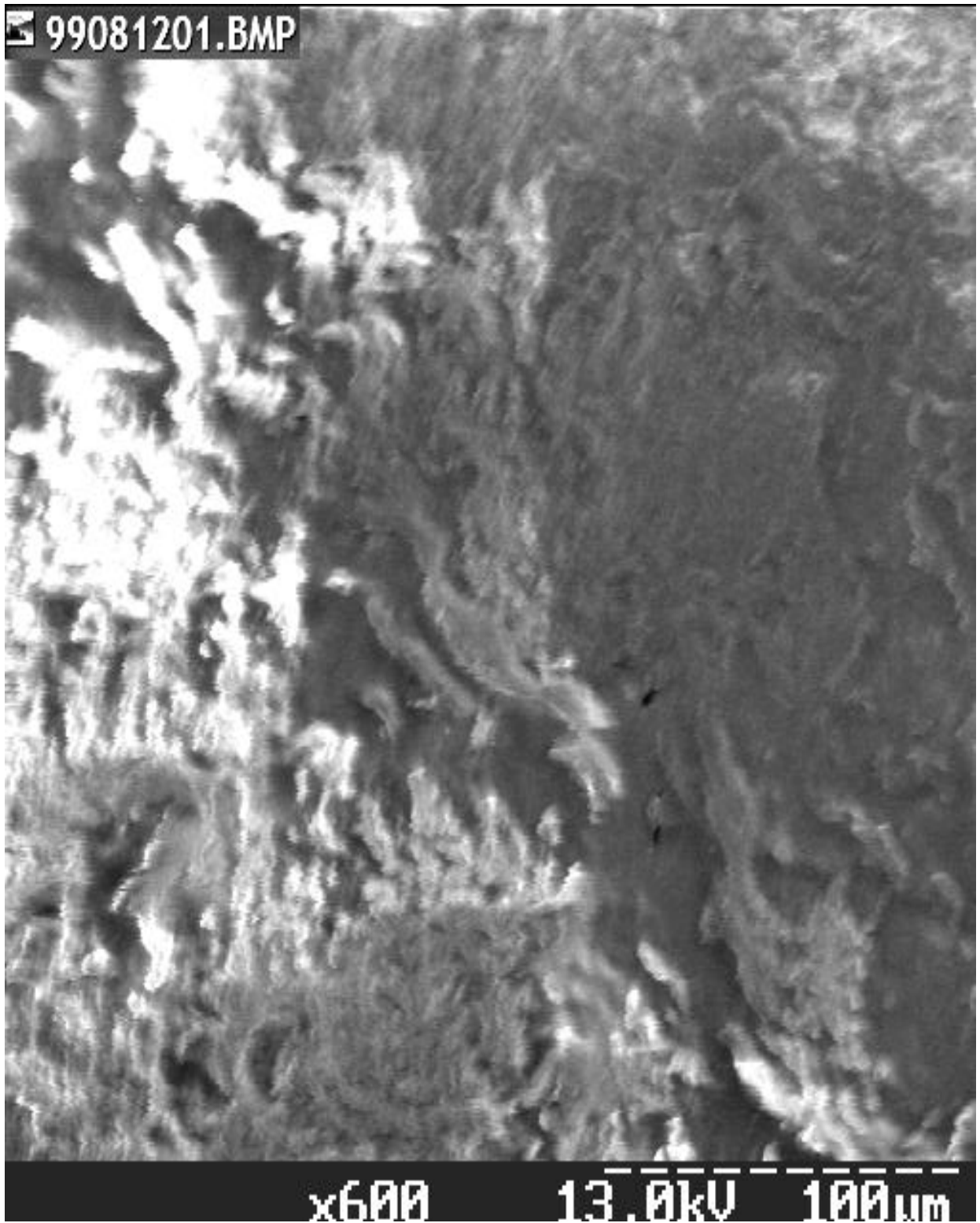


Рис. 116. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого глутаральдегідом (x 600).

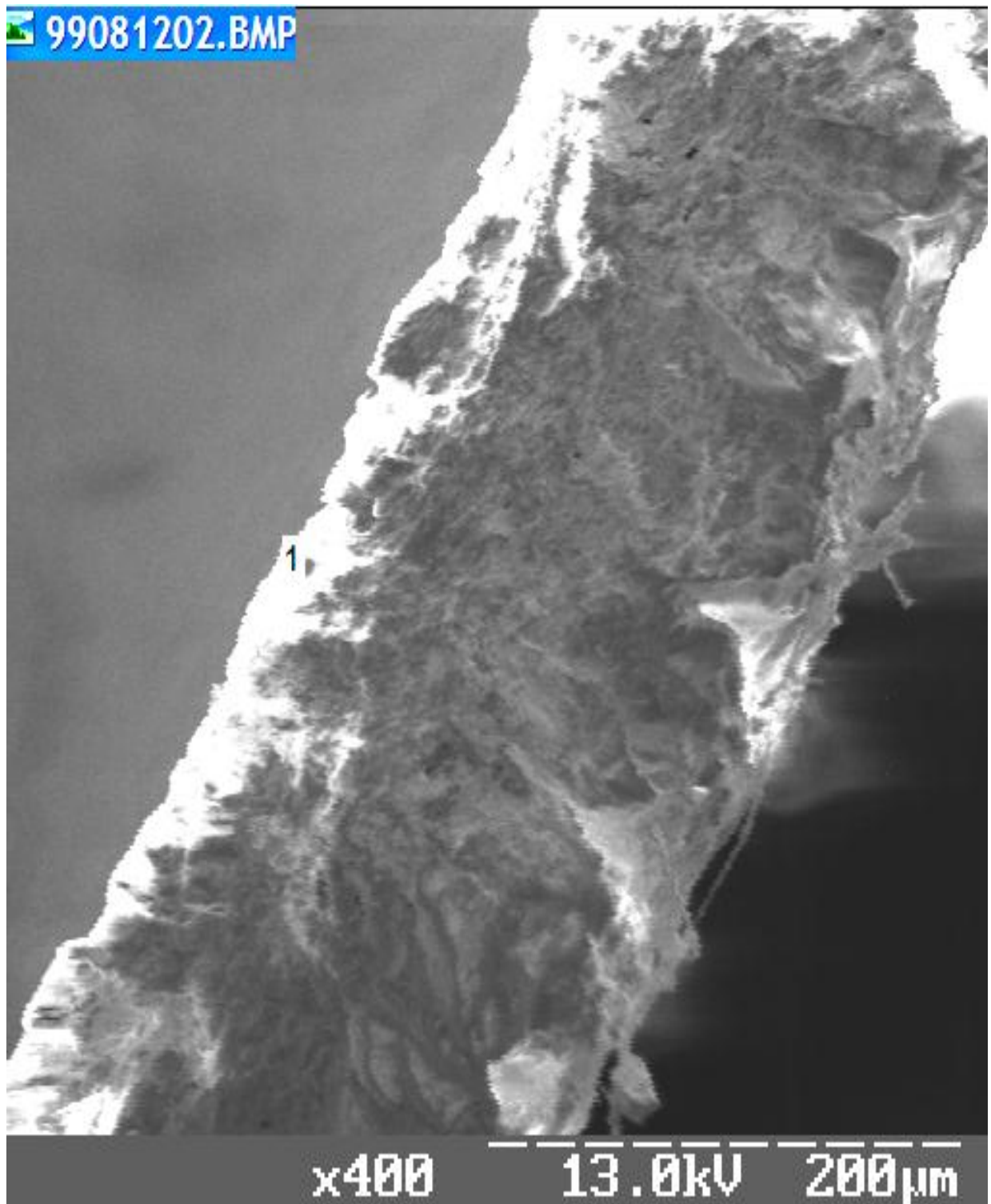


Рис. 117. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого глутаральдегідом (скол). 1 - зовнішня поверхня шкаралупи, обробленої глутаральдегідом (x 400).

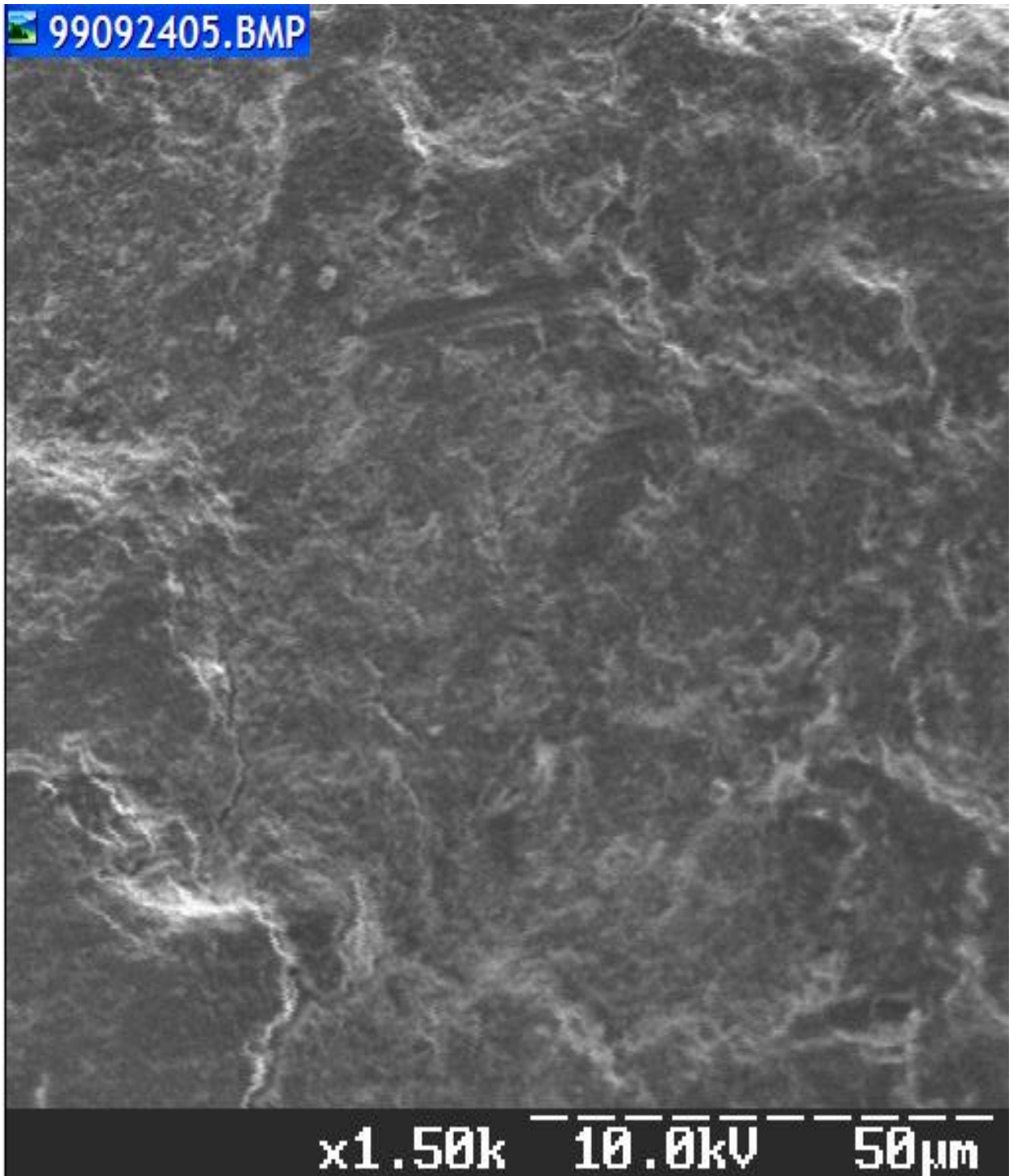


Рис. 118. Електронні мікрофотографії зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого глютаральдегідом (x 1 500).

Використання метациду в якості дезінфікуючого засобу інкубаційних яєць також негативно впливає на зовнішню поверхню шкаралупи курячих яєць. При нанесенні на шкаралупу він утворює газонепроникну плівку різної товщини, утруднює при цьому проникнення повітря і вологи до ембріона (рис. 119 - 121). Метацид рекомендується використовувати не в чистому вигляді, а в препаративній формі з іншими речовинами.

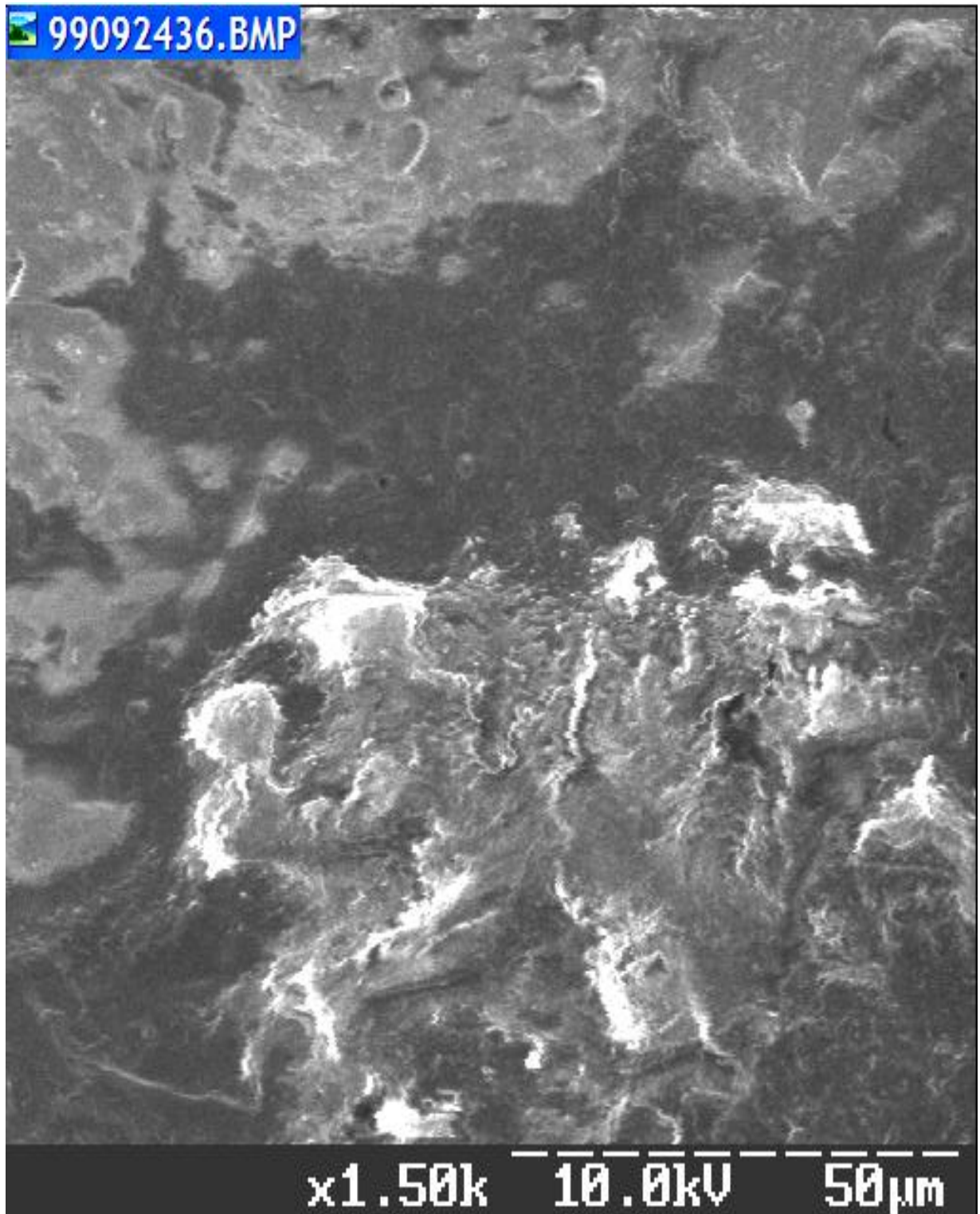


Рис. 119. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого метацидом (x 1 500).

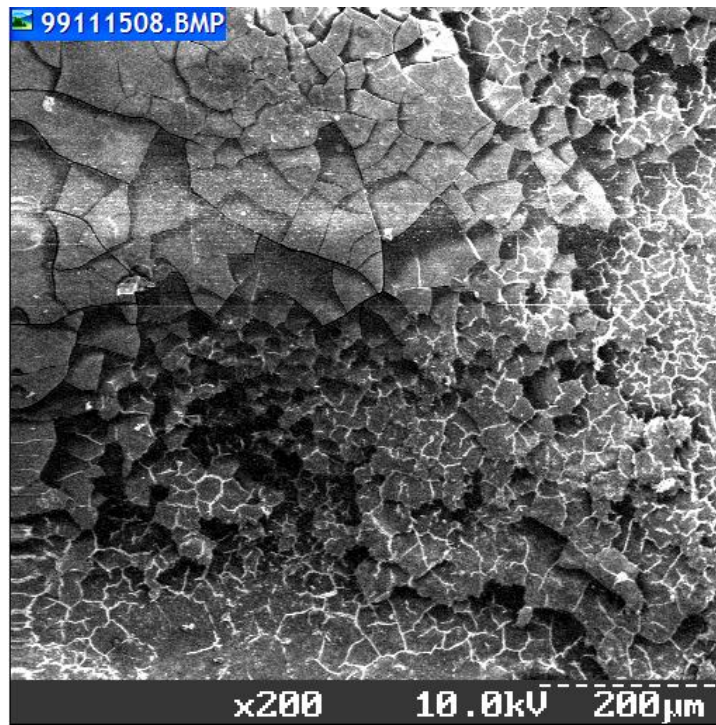


Рис. 120

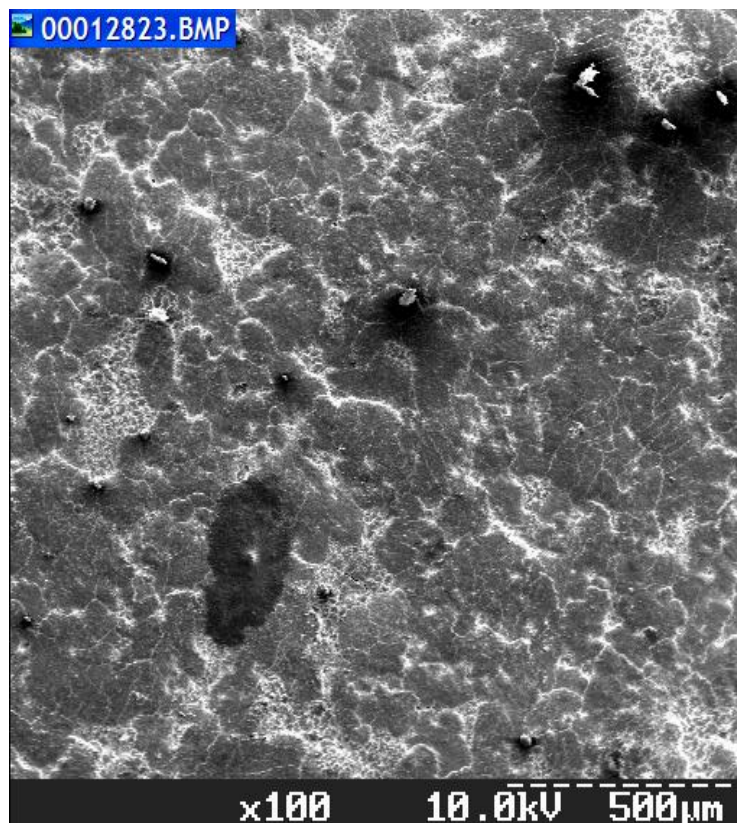


Рис.121

Рис. 120, 121. Електронні мікрофотографії зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого метацидом (x 200; x100).

ЛІТЕРАТУРА

1. Альматарнех М.М.А. Чи є альтернатива формаліну? Ефективність використання нових дезінфектантів для передінкубаційної обробки курячих яєць / М.М.А. Альматарнех // Сучасне птахівництво.-2007.-2 (51).-С.10-13.
2. Бессарабов Б.Ф. Практикум по инкубации яиц и эмбриологии сельскохозяйственной птицы. / Б.Ф. Бессарабов - М.: Агропромиздат, 1992.- 144 с.
3. Байдевятов А. Препарат для дезинфекции яиц / А. Байдевятов, А. Белоус, В. Санталов // Птицеводство. - 1991.№ 9. - С. 5-6.
4. Бордунова О.Г. Противірусна дія препарату “ВВ-1”. /О.Г. Бордунова, А.Б. Байдевятов, Ю.А. Байдевятов // Тваринництво України. 1995. № 4-5. - С.25.
5. Бордунова О.Г. Вивчення механізму дії нового дезінфектанту для промислового птахівництва “ВВ-1” мас-спектрометричним методом / О.Г. Бордунова, В.Д. Чиванов, А.Б. Байдевятов // Вісник аграрної науки 1996. №8. - С.41-44.
6. Бордунова О.Г. Высокоэффективное средство для дезинфекции яиц/ О.Г. Бордунова, А.Б. Байдевятов, Ю.А. Байдевятов// Птицеводство. 1996. № 2. - С.26-27.
7. Бордунова О.Г. Факторы, влияющие на проницаемость оболочек и скорлупы яиц кур при дезинфекции /О.Г.Бордунова, В.Д. Чиванов, А.Б. Байдевятов// Ветеринария. 1996. № 10. - С. 40-43.
8. Бордунова О.Г. Порівняльне вивчення впливу нового дезінфікуючого препарату “ВВ-1” та формальдегіду на яйця курей в процесі передінкубаційної обробки /О.Г. Бордунова, А.Б. Байдевято, В.Д. Чиванов // Праці II Української конференції з птахівництва (14-16 травня, Борки). Харків. 1996.- С. 22-23.
9. Бордунова О.Г. Метод експрес - оцінки рівня афінності біологічно-активних речовин до модельних мембран-біоматриць /О.Г. Бордунова // Вісник Сумського сільськогосподарського інституту. – Суми, 1997. – Вип.. 1. – С. 131.
10. Bordunova O.G. PDMS as a Technique for Characterization of Bimolecular Adhesion on Natural and Artificial Surfaces / O.G. Bordunova, V. Chivanov, T. Kalinichenko // Abstracts of 14-th International Mass Spectrometry Conference, 25-29 August 1997, Tampere, Finland. - Tu Po 116.
11. Bordunova O.G. Spectrometric Investigation of the Interaction of the new “ВВ-1” Disinfectant with an egg shell / O.G. Bordunova, A. Baidevlatov, V. Chivanov // Proceedings 11-th European Symposium on Water fowl. NANTES (France). September 8-10. 1997. P.479-482.
12. The Use of New Disinfectant Agent “ВВ-1” of Mass Single Preincubation Egg Treatment /O.G. Bordunova, A. Baidevlatov, V. Chivanov // Proceedings 11-th European Symposium on Waterfowl. NANTES (France). September 8-10. 1997. P.475-477.
13. Бордунова О.Г. Дезінфектанти для ветеринарної медицини на основі поверхнево-активних речовин (перспективні напрямки, розробки і використання)/О.Г. Бордунова // Вісник Сумського державного аграрного університету. – Суми, 1998. – Вип.. 2. – С. 147-150.
14. Бордунова О.Г. Високоєфективний засіб для дезінфекції яєць/О.Г. Бордунова, П. Романюк, Ю. Байдевятов та ін.// Ветеринарна медицина України. Вересень. 1998. - С. 12-13.
15. Bordunova O.G. Interaction of multicomponent disinfectant with incubation egg shell/ O.G. Bordunova, V. Chivanov, A. Baidevlatov// 10-th European Poultry Conference “The poultry Industry Towards 21st Century. - Jerusalem, Israel, June 21-26, 1998. - P.117.
16. Бордунова О.Г. Механізм біоцидної дії полімерних дезінфектантів для промислового птахівництва 1.Визначення молекулярних «мішеней» дезінфектанту “ВВ-1”/О.Г. Бордунова // Вісник Сумського державного аграрного університету. Суми, 1999. – Вип.3. – С. 18-22.

17. Бордунова О.Г. Поверхнево-активні речовини та їх застосування у ветеринарній медицині // О.Г. Бордунова // Шляхи прискорення науково-технічного прогресу у птахівництві. - Суми: "Козацький вал", 1999 - С.226-244.
18. Бордунова О.Г. Дезінфектанти для ветеринарної медицини на основі поверхнево-активних речовин: перспективні напрямки розробки і використання / О.Г. Бордунова // Ветеринарна медицина України. Грудень. 1999. - С. 34.
19. Bordunova O.G. [Experimental and theoretical studies of surface-active disinfectant for industrial poultry](#) / O.G. Bordunova, A.B. Baidevlatov // [Quality of Eggs and Eggs Products](#) (Proceedings of the European Symposium held in Bologna (Italy) (19th to 23rd September, 1999)). Vol.II -P595-601.
20. Бордунова О.Г. Деякі аспекти молекулярного механізму біоцидної дії дезінфектанта "ВВ-1" / О.Г. Бордунова, Ю.А. Байдевятов, В.Д. Чиванов // Вісник аграрної науки.-1999.-№12. - С.43-45.
21. Бордунова О.Г. Визначення механізмів біоцидної дії дезінфектантів "Virkon" та "Virkon - S" / О.Г. Бордунова, В.П. Бородай // Вісник Сумського державного аграрного університету. Суми, 1999. – Вип.4. – С. 21-24.
22. Бордунова О.Г. Передінкубаційна обробка яєць за допомогою дезінфектантів. Експериментально-виробнича оцінка їх ефективності/О.Г. Бордунова, А.Б. Байдевятов, Б.Ф. Бессарабов// Ветеринарна медицина України. Січень. 2000. – С. 11-13.
23. Бордунова О.Г. Проект «Искусственная кутикула для инкубационных яиц»/О.Г. Бордунова// Тезиси докладов на международной научно- практической конференции (24-26 апреля 2001 г., Курск). С. 29-30.
24. Бордунова О.Г. Рентгенівська дифрактометрія та електронна мікроскопія шаралупи яєць курей за умов харчового токсикозу та домішок цеолітів у кормі / О.Г. Бордунова, І.О. Шкурат // Вісник Сумського державного аграрного університету. Серія "Тваринництво". Вип.. 5, 2001. С.-17-21.
25. Бордунова О.Г. Растрова електронна мікроскопія захисних плівок дезінфектантів на поверхні інкубаційних яєць / О.Г. Бордунова, Л.В. Бондарчук, І.І. Чемерис // Вісник Сумського державного аграрного університету. Серія "Тваринництво". Вип.. 5, 2001.С.-22-29.
26. Бордунова О.Г. Електронно - мікроскопічне дослідження особливостей структуроутворення плівок дезінфектантів "Virocid" та "CID - 20" на поверхні інкубаційних яєць / О.Г. Бордунова, В.Д. Чиванов // Вісник Сумського державного аграрного університету. Серія "Ветеринарна медицина". Вип.. 6, 2001.
27. Бордунова О.Г. Птахівництво ХХІ століття: штучні біоактивні захисні покриття для інкубаційних яєць/ О.Г. Бордунова // Тезиси докладів на 1 міжнародній конференції "Економічні проблеми виробництва і споживання екологічно чистої продукції" (Суми, 2001). С.-260-261.
28. Бордунова О.Г. Оцінка фунгіцидної активності дезінфектанту CID-20 щодо *Aspergillus fumigatus* / О.Г. Бордунова // Вісник Сумського державного аграрного університету. Серія "Тваринництво". Вип. 6, 2002. С.-66-68.
29. Бордунова О.Г. Показники газопроникності інкубаційних яєць курей різних порід та кросів/О.Г. Бордунова, Є.А. Самохіна// Таврійський науковий вісник. Вип.30, 2004. С.-134-140.
30. Бордунова О.Г. Деякі біотехнологічні та біофізичні аспекти "штучної кутикули" для інкубаційних яєць/ О. Г. Бордунова // Науково-технічний бюлетень №87. Інститут тваринництва УААН, 2004.-С.26-31.
31. Бордунова О.Г. Регулювання ступеня газопроникності захисних структур інкубаційних яєць курей у біоміметичній технології „ARTICLE"/О.Г. Бордунова, Г.П. Котенджи, Є.А. Самохіна // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія "Тваринництво". Вип. 5(8), 2004. С.-13-18.

32. Бордунова О.Г. Дослідження мембранотропної активності хімічних складових захисних покриттів «штучна кутикула» для інкубаційних яєць/О.Г. Бордунова//Збірник наукових праць Вінницького державного аграрного університету. Матеріали науково-практичної конференції «Проблеми становлення галузі тваринництва в сучасних умовах» 23-25 травня, 2005. Вип. 22, 2005. С. 82-84.

33. Бордунова О.Г. Сонофоретичний транспорт біологічно-активних речовин через біокерамічні захисні структури пташиних яєць/О.Г. Бордунова, Є.А. Самохіна// Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія “Тваринництво”. Вип. 9-10, 2005.С.-156-161.

34. Бордунова О.Г. Електронно мікроскопічні дослідження особливостей структуроутворення плівок дезінфектантів “Virocid” та “CID - 20” на поверхні інкубаційних яєць/О.Г. Бордунова, Т.О. Чернявська, Є.А. Самохіна// Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія “Тваринництво”. Вип. 9-10, 2005.С.-20-24.

35. Бордунова О.Г. Белково-пептидные составляющие биокерамического матрикса скорлупы инкубационных яиц кур под влиянием различных факторов среды /О.Г. Бордунова, В.И. Еременко// Сельскохозяйственная биология. Серия Биология животных.- 2005.- № 6.- С. 51-55.

36. Бордунова О.Г. До питання захисних покриттів для інкубаційних яєць/ О.Г. Бордунова, Т.О. Чернявська// Вісник аграрної науки, -N 9, 2005.С.40-43.

Бордунова О.Г. Біково-пептидні складники біокерамічного шару курячих яєць/О.Г. Бордунова, Т.О. Чернявська, В.Д. Чіванов// Вісник аграрної науки, -N 1, 2006.С.32-35.

37. Бордунова О.Г. Захисні покриття для інкубаційних яєць на основі фотокаталітично активних наночасток двоокису титану/О.Г. Бордунова, Є.А. Самохіна, В.Д. Чіванов// Збірник наукових праць СНАУ. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Аграрний форум – 2006» (25-29 вересня, 2006, Суми, Україна) – Суми: ВТД „Університетська книга”, 2006. С. 6-7.

38. Бордунова О.Г. Прогнозування якості інкубаційних яєць/О.Г. Бордунова Т.О. Чернявська// Вісник аграрної науки, -N 6, 2007.С.53-58.

39. Бордунова О.Г. Біоміметична модифікація кристалічного кальцитного шару шкаралупи інкубаційних яєць курей за участі наночасток оксидів металів та біологічно-активних речовин/О.Г. Бордунова, Є.А. Самохіна, О.Г. Астраханцева// Збірник наукових праць СНАУ. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (4-6 квітня, 2007, Суми, Україна) – Суми: ВТД „Університетська книга”, 2007. – Ч.1.- С. 10-11

40. Бордунова О.Г. Фізичні та хімічні фактори в ембріостимуляції інкубаційних яєць курей/О.Г. Бордунова Є.А., Самохіна// Збірник тез 2-го з'їзду українського товариства клітинної біології (23-26 жовтня 2007, Київ, КНУ ім. Т. Шевченка), С.87.

41. Бордунова О.Г. Биомиметические защитные покрытия для птицеводства на основе наноконкомпозитов хитозана и TiO_2 (nanoTiARTICLE)/О.Г. Бордунова, Е.А. Самохіна, В.И. Еременко [та ін.]// Матеріали міжнародної конференції „Нанорозмірні системи. Будова-властивості- технології” (21-23 листопада 2007).НАН України.- Київ.- С.437.

42. Бордунова О.Г. Біометрична технологія захисту інкубаційних яєць курей з використанням наноконкомпозитів хітозану і діоксиду титану /О.Г. Бордунова, Є.А. Самохіна, В.Д. Чіванов// Таврійський науковий вісник. Збірник праць ХДАУ. Вип..56 -. Херсон: Айлант 2008. С.104-115.

43. Бордунова О.Г. Захисні покриття для інкубаційних яєць на основі хітозану і ультрадисперстних часток оксиду заліза (III) Fe_2O_3 /О.Г. Бордунова, В.Д. Чіванов, О.Г. Астраханцева// Збірник наукових праць СНАУ. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів (8-25 квітня, 2008, Суми, Україна) – Суми: ВТД „Довкілля”, 2008. С. 3.

44. Бордунова О.Г. Використання плазмово-десорбаційної мас-спектрометрії в дослідженнях продуктів птахівництва та тваринництва (Методичні рекомендації)/ О.Г. Бордунова, Ю.А. Байдевятов А.Й. Раєвський [та ін.]. – Суми: Козацький вал, 2009р. - 35с.
45. Бордунова О.Г. Фотокаталітичні захисні покриття для інкубаційних яєць на основі нанодисперсних TiO_2 та FeO_3 . / О.Г. Бордунова, О.Г. Астраханцева, В.Д. Чіванов // „Nanobiophysice: Fundamental and Applied aspects.” NBP-2009 Фізико-технологічний інститут низьких температур ім. Верніка НАН України м.Харків – 2009р. - С.86.
46. Бордунова О.Г. Биометрические защитные покрытия для инкубационных яиц на основе хитозана и ультрананодисперсных частиц диоксида титана TiO_2 и оксида железа (III) $Fe_2 O_3$./О.Г. Бордунова, О.Г. Астраханцева// Молодежь и инновации -2009. Материалы международно - практической конференция молодых ученых, посвящается 170-летию УОБГСХФ. Ч1 Борки – 2009. - С. 264-265.
47. Бордунова О.Г. Фото каталітично активні наночастки двоокису титану в органічних матрицях як захисні покриття для інкубації /О.Г. Бордунова, О.М. Байдевятова, В.Д. Чіванов// Зоотехнічна наука Поділля: історія, проблеми, перспективи. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Кам'янець – Подільський – 2010р.- С. 26-27.
48. Бордунова О.Г. Наноккомпозит хітозану і діоксиду титану у біоміметичній технології захисту інкубаційних яєць сільськогосподарської птиці/О.Г. Бордунова// Птахівництво. Міжвідомчий тематичний науковий збірник.Вип.65. – Бірки, 2010. – с. 116 – 127.
49. Бордунова О.Г. Порівняльна ефективність транспортування біологічно-активних речовин через шкаралупу інкубаційних яєць в технологіях «in ovo»./О.Г. Бордунова// Вісник СНАУ. Серія «Ветеринарна медицина» № 3. – Суми, 2010. с. 20 – 24.
50. Бреславець В.О. Дослідження повітропроникності яєчної шкаралупи / В.О. Бреславець, В.А. Захаренко, Ю.Р. Князев// Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. - III УААН.-1993.-№46.-С.41-44.
51. Бреславець В.О. Розробка способів підвищення повітро- та паропроникності шкаралупи яєць водоплавної птиці /В.О. Бреславець, Ю.К. Дунаєв, Ю.Р. Князев, В.А. Захаренко// Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. - III УААН.-2001.-№50.-С.188-197.
52. Бреславець В.О. Дослідження газо- та вологопроникності шкаралупи яєць курей різних порід та віку /В.О. Бреславець, Н.В. Шоміна// Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. - III УААН.-2006.-№58.-С.355-360.
53. Виевский А.Н. Механизмы биологического влияния катионных поверхностно активных веществ / А.Н. Виевский - М.: Наука, 1991. - 250 с.
54. Використання м'якоіонізаційної мас – спектрометрії в аналітичній біохімії сільськогосподарського спрямування/ [Бордунова О.Г., Царенко О.М., Чіванов В.Д., та ін.]. – Суми: Козацький вал, 2001. – 201 с.
55. Гальперн И. Новые принципы создания отечественных кроссов кур / И. Гальперн // Птицеводство.-2002.-№3.-С.47-49.
56. Мазуркова Н. А. Взаимодействие наночастиц диоксида титана с вирусом гриппа /Н. А. Мазуркова, Ю.Е. Спицына, Н.В. Шикина// Российские нанотехнологии.- 2010.-№5-6.-С.125-127.
57. Мартынов Г.Н. Фармако-токсикология дезинфектантов на основе ЧАС и их применение в птицеводстве: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра вет. наук: спец. 03.00.07 / Г.Н. Мартынов. - Казань, 2002. - 36 с.
58. Мертешев С. Микроструктура и прочность скорлупы/С. Мертешев, Л. Куликов// Птицеводство. - 1988. - № 12. - С. 27 - 28.
59. Михайлов К. Скорлупа под микроскопом / К. Михайлов // Наука и жизнь.-1997.- № 11. - С.48-52.
60. Молекулярні аспекти біоцидної дії дезінфектантів на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС). I. Морфологія плівок ЧАС на поверхні інкубаційних яєць/ О.Г.

Бордунова, А.Б. Байдевятов, В.В. Герман [та ін.] //Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. Т.78 (II).-Харків.-2000.С.23-34.

61. Нарушин В.Г. Методы оценки формы и расчет параметров птичьих яиц / В.Г. Нарушин - Запорожье: ПЦ "Х-ПРЕСС", 1996.-27 с.

62. Озерин А.Н. Наноккомпозиты на основе модифицированного хитозана и оксида титана / А.Н. Озерин // Высокомолекулярные соединения. - 2006. - Т.48, № 6. - С. 983 – 989.

63. Пат. 60485 Україна, А, 7 G 01 J 3/28. Мас-спектрометричний спосіб визначення антибіотиків в м'ясопродуктах та харчових і інкубаційних яйцях / О.Г. Бордунова, Л.В. Бондарчук; заявник та патентовласник Сумський НАУ. - № 2002108080; заявл. 11.10.2002; опубл. 15.10.2003, Бюл. № 10.

64. Пат. 80939 Україна, МПК⁵¹ А 61 В 5/00, G 01 N 33/49. Мас-спектрометричний спосіб діагностування хвороби Марека у курей / О.Г. Бордунова, В.Д. Чіванов, Л.В. Бондарчук, Д.М. Семьонов; заявник та патентовласник Сумський НАУ. - № 2003076566; заявл. 14.07.2003; опубл. 26.11.2007, Бюл. № 19.

65. Пат. 59917 Україна, МПК⁵¹ А 01 К 43/00, А 01 К 41/00. Спосіб захисту інкубаційних яєць курей покриттям з хітозану / О.Г. Бордунова, О.Г. Астраханцева, О.М. Байдевятова, В.Д. Чіванов; заявник та патентовласник Сумський НАУ. - № u 2010 11919; заявл. 08.10.2010; опубл. 10.06.2011, Бюл. № 11.

66. Рагозина М.Н. Развитие зародыша домашней курицы в его соотношении с желтком и оболочками яйца / М.Н.Рагозина.- М.: Изд-во АН СССР, 1961.- 168 с.

67. Рольник В.В. Биология эмбрионального развития птиц / В.В. Рольник.- Л.: Наука, 1968.- С.351-368.

68. Романов А. Л. Птичье яйцо / А. Л. Романов, А. И. Романова. - М. : Пищепромиздат, 1959. - 620 с.

69. Савинов Е.Н. Фотокаталитические методы очистки воды и воздуха / Е.Н. Савинов // Соросовский образовательный журнал.-2000.-№5.-С. 36-42.

70. Сахацький І. Дезінфекційні засоби для птахівництва: порівняльна ефективність (огляд) / І. Сахацький // Ветеринарна медицина України.-2005.-№1.-С.40-43.

71. Старцев В.Ф. Антимикробные, дезинфицирующие, коррозионные и токсические свойства препаратов надуксусной кислоты и механизм их антимикробного действия /В.Ф. Старцев, Н.И. Старцева, В.В. Пиголкина, А.В. Капустин// Проблемы ветеринарии Сев. Кавказа.-Новочеркасск, 1997.-С.66-69.

72. Стегній Б.Т. Порівняльна оцінка препаратів для передінкубаційної обробки яєць /Б.Т. Стегній, В.О. Бреславець, П.С. Калин, Ю.К. Дунаєв// Міжнарод. тематичний науковий збірник. - Харків, 2005.-Т.2.-№85.-С.1022-1025.

73. Суздаев И.П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов / Суздаев И.П. - М. : КомКнига, 2006. - 592 с.

74. Фисинин В.И. Эмбриональное развитие птиц / В.И. Фисинин, И.В. Журавлев, Т.Г. Айдинян. - М.: Агропромиздат, 1990.-240 с.

75. Фисинин В.А. Повышение эффективности яичного птицеводства / В.А. Фисинин, Ш.А. Имангулов, Ш.А. Кавтарашвили. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 1999.-144 с.

76. Фотокаталитическое преобразование солнечной энергии. Фотокатализ: Вопросы терминологии / [В.Н. Пармон и др.]; под ред. К.И. Замараева. - Новосибирск: Наука, 1991.- С. 7-17.

77. Хазин Л.Г. Двоокись титана / Л.Г. Хазин. - Л.: Химия, 1970. - 176 с.

78. Шиммель Г. Методика электронной микроскопии / Г. Шиммель.- М.: Мир, 1972.-300 с.

79. Шоміна Н.В. Підвищення виводимості яєць. Штучне регулювання газо- та вологопроникності шкаралупи як один із прийомів поліпшення важливого показника при одержанні бройлерів/ Н.В. Шоміна, В.О. Бреславець // Сучасне птахівництво. - 2004. - №1. - С. 6 - 8.

80. Екологічно безпечні дезінфектанти для птахівництва./ О.Г. Бордунова, О.М. Царенко, А.Б. Байдевятов [та ін.] // Вісник аграрної науки, -N 7, 2001.С.30-33.
81. Якубчак О.М. Чим краще обробити? Порівняльна оцінка сучасних і традиційних дезінфекційних засобів, що використовуються в галузі птахівництва / О.М. Якубчак // Сучасне птахівництво.- 2006.-№6ю-С.14-15.
82. Ярошенко Ф. Сучасні світові тенденції розвитку птахівництва / Ф. Ярошенко - К.: Новий друк, 2003. - 335 с.
83. Abdel-Salam Z.A. Elemental and ultrastructural analysis of the eggshell: Ca, Mg and Na distribution during embryonic development via LIBS and SEM techniques / Z.A. Abdel-Salam, A.M. Abdou, M.A. Harith // Int. J. Poult. Sci.- 2006.-V.5, Issue 1.-P.35-42.
84. Angela-Guiovana Rincon, Absence of E. coli regrowth after Fe³⁺ and TiO₂ solar photoassisted disinfection of water in CPC solar photoreactor / Angela-Guiovana Rincon, Cesar Pulgarin // Catalysis Today.- 2007.-V.124, Issues 3-4.-P. 204-214.
85. Alejandro Moncayo-Lasso, Simultaneous E. coli inactivation and NOM degradation in river water via photo-Fenton process at natural pH in solar CPC reactor. A new way for enhancing solar disinfection of natural water / Alejandro Moncayo-Lasso, Janeth Sanabria, Cesar Pulgarin, Norberto Benitez // Chemosphere.- 2009.-V. 77, Issue 2.- P. 296-300.
86. Arias J. L. Absence from avian eggshell membranes of epitopes recognized by anti-keratin antibodies./ J. L. Arias, M. S. Fernandez, A. I. Caplan // Poult. Sci. -1991.-V.70.-P. 1647-1650.
87. Arias J. L. Collagens of the chicken eggshell membranes./ J. L. Arias, M. S. Fernandez, J. E. Dennis, A. I. Caplan // Connect. Tiss. Res.-1991.-V. 26.-P. 37-45.
88. Arias J. L. The avian eggshell as a model of bio-mineralization./ J. L. Arias, M. S. Fernandez, V. J. Laraia, J. Janicki // Mat. Res. Soc. Symp. Proc. 1991.-V.218.-P. 193-201.
89. Arias J. L. Partial biochemical and immuno chemical characterization of avian egg shell extracellular matrices. / J. L. Arias, D. A. Carrino, M. S. Fernandez, J. P. Rodriguez // Biophys. J. -1992.-V.298.-P. 293-302.
90. Arias, J. L. Biomineralization and eggshells: cell-mediated acellular compartments of mineralized extracellular matrix./ J. L. Arias, D. J. Fink, S. Xiao, A. H. Heuer // Inter. Rev. Cytology.- 1993.-V. 145.- P.217-250.
91. Arias, J. L. Effect of beta-aminopropionitrile on the eggshell mineralisation. / J.L. Arias, M. Cataldo, M S. Fernandez, E Kessi // Br. Poultry Sci.- 1997.- V.38.-P. 351-356.
92. Arias, J. L., Role of type X collagen on experimental mineralization of eggshell membranes. / J. L. Arias, O Nakaruma, M. S. Fernandez, J. Wu // Connect. Tiss. Res.-1997.- V.36.-P. 21-33.
93. Arias J. L. Avian eggshell as a template for biomimetic synthesis of new materials / J. L. Arias, J. I. Arias, M.S. Fernandez // Handbook of Biomineralization.-V.2. / Ed. By P. Behrens, E. Bäuerlein.- Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2007.-P.109-117.
94. Ashokkumar M. Ultrasound assisted chemical processes / M. Ashokkumar, F.Grieser // Rev.Chem. Eng.-1999.-15.-P. 41 –83.
95. Bagley L.G. Hatchability and physiology of turkey embryos incubated at sea level with increased eggshell permeability / Christensen V.I. // Sci.-1991.-V.70.-P.1412-1418.
96. Belcher A. M. Control of crystal phase switching and orientation by soluble mollusc-shell proteins / A. M. Belcher, X. Wu, R. J. Christensen, P. K. Hansma [et al.] // Nature, 1996. – V.381, 56-58.
97. Benabbou P. Photocatalytic inactivation of Escherischia coli: Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation / Benabbou, Z. Derriche, C. Felix, P. Lejeune, [et al.] // Applied Catalysis B: Environmental.- 2007.-V. 76, Issues 3-4. - P.453-458.
98. Carrino D. A. The avian eggshell extracellular matrix as a model for biomineralization / D. A. Carrino, J. E. Dennis, T. M. Wu, J. Arias [et al.] // Connect. Tiss. Res., 1996. 35, 325-329.

99. Carrino D. A. Dermatan sulfate proteoglycans from the mineralized matrix of the avian eggshell / D. A. Carrino, J.P. Rodriguez, A. Caplan // *Connect. Tiss. Res.*- 1997.- V.36.-P. 175-193.
100. Chen S.P. Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan –Ag⁺complex / S.P. Chen, G.Z. Wu, H.Y. Zeng // *Carbohydr. Polym.*-2005.- V.60.- P. 33 –38.
101. Cheng M. Visible-light-assisted degradation of dye pollutants over Fe(III)-loaded resin in the presence of H₂O₂ at neutral pH values / M. Cheng, Ma J. Li, Y. Huang, J. Zhao [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2004.-38.-P. 1569 –1575.
102. Chii Shang. Repression of photoreactivation and dark repair of coliform bacteria by TiO₂-modified UV-C disinfection / Chii Shang, Lok Man Cheung, Chiu-Man Ho, Minzhen Zeng // *Applied Catalysis B: Environmental.*- 2009.-V. 89, Issues 3-4.- P.- 536-542.
103. Chien Y.-C. Ultrastructural matrix-mineral relationships and localization of osteopontin in avian eggshell, and effects of osteopontin on calcite growth in vitro / Chien Y.-C., M.T. Hincke, J. Gautron, H. Vali [et al.] // *J. Struct. Biol.*- 2008.- V.163.-P.84-99.
104. Chien Y.C. Ultrastructure of avian eggshell during resorption following egg fertilization / Y.C. Chien, M.T. Hincke, M.D. McKee // *Journal of Structural Biology.*-2009.- V.168.- P.527-538.
105. Chien Y.-C. Avian eggshell structure and osteopontin / Y.-C. Chien, M.T. Hincke, M.D. McKee // *Cells Tissues Organs.*-2009.- V.189.-P.38-43.
106. Clements M. Using genetics to improve egg safety / M. Clements // *Poultry International.* – 2011.- V.2.- P. 16, 18.
107. Chockalingam Karunakaran. Photocatalytic degradation of 1-naphthol by oxide ceramics with added bacterial disinfection / Chockalingam Karunakaran, Sona Narayanan, Paramasivan Gomathisankar // *Journal of Hazardous Materials.*-2010.- V. 181, Issues 1-3.-P. 708-715.
108. Dennis J.E. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from White Leghorn chickens (*Gallus gallus*) / Dennis J.E. et al. // *Journal of Morphology.*-1996.- V.228.-P.287-306.
109. Disinfectant formulations containing quaternary ammonium compounds and hydrogen peroxide (USPTO Patent Application 20090004287); U.S. Provisional Application No. 60/898,411, filed on Jan. 31, 2007, and of European Patent Application No. EP 07005428, filed on Mar. 16, 2007.
110. Dheaya M.A. Alrousan. Photocatalytic inactivation of E. coli in surface water using immobilised nanoparticle TiO₂ films / M.A. Dheaya, S.M. Patrick Dunlop, A. Trudy McMurray, J. Anthony Byrne // *Water Research* – 2009.-V. 43, Issue 1.- P. 47-54.
111. Dominguez-Vera J. M. The effect of avian uterine fluid on the growth behavior of calcite crystals / J.M. Dominguez-Vera, J. Gautron, M. Garcia-Ruiz, Y. Nys // *Poult. Sci.*- 2000.- 79.-P.901-907.
112. Dorothee Spuhler. The effect of Fe²⁺, Fe³⁺, H₂O₂ and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12 / Dorothee Spuhler, Julian Andres Rengifo-Herrera, Cesar Pulgarin // *Applied Catalysis B: Environmental.*- 2010.-V. 96, Issues 1-2.- P. 126-141.
113. Dunn I.C. Breeding strategies to improve the egg's natural defence / I.C. Dunn // *World's Poultry Sci. J.*-2005.- V. 60.-P. 458-468.
114. Falini M. Control of aragonite or calcium polymorphism by mollusk shell / M. Falini, Albeck S., Weiner S., Addady L. // *Science.*- 1996. – V. 271.- № 52 – 45.-P.- 67-69.
115. Fengna Chen. Photocatalytic oxidation for antimicrobial control in built environment. A brief literature overview / Fengna Chen, Xudong Yang, Henry K.C. Mak, W.T. Daniel Chan // *Building and Environment.*- 2010.-V. 45, Issue 8.- P.- 1747-1754.
116. Fraser A.C. Genetic Influences On The Ultrastructural Integrity And Protein Chemistry Of Broiler Breeder Eggshells / A.C. Fraser, M. Cusack, S.E. Solomon, M.M. Bain // *Proc. VIII European Symp. on the Quality of Egg and Egg Production, V.II (19-23 Sept, 1999),*

Bologna, Italy.-P.31-36.

117. Fraser A.C. Organic matrix morphology and distribution in the palisade layer of eggshells sampled at selected periods during lay / A.C. Fraser, M.M. Bain, S.E. Solomon // *British Poultry Science*.-1998.-V.39.-P.225-228.

118. Fraser A.C. Transmission electron microscopy of the vertical crystal layer and cuticle of the eggshell of the domestic fowl / A.C. Fraser, M.M. Bain, S.E. Solomon // *Brit.Poultry Sci*.-1999.-V.40.-P.626-631.

119. Gautron J. Soluble matrix of hen's eggshell extracts changes in vitro the rate of calcium carbonate precipitation and crystal morphology / J. Gautron, M. Bain, S. Solomon, Y. Nys // *Br. Poult. Sci*.-1996.- V.37.-P.853-866.

120. Gautron J. Ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein / J. Gautron, M. T. Hincke, K. Mann [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 2001. -276.-P.39243-39252.

121. Gautron J. Molecular approaches for the identification of novel egg components / J. Gautron, F. Nau, K. Mann [et al.] // *World's Poult. Sci. J.* -2007.-63.P.82-90.

122. Guoliang Yan. Roles of H₂O₂ and OH radical in bactericidal action of immobilized TiO₂ thin-film reactor / Yan Guoliang, Jian Chen, Zhaozhe Hua // *An ESR study Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* Volume 207, Issues 2-3, 25 September 2009, Pages 153-159/

123. Hincke M.T. Soluble protein constituents of the domestic fowl's eggshell / M.T. Hincke, A.M. Bernard, E.R. Lee, C.P. Tsang [et al.] // *British Poultry Science*.-1992.- 33.-P. 505-516.

124. Hincke M.T. Ovalbumin is a component of the chicken eggshell matrix / M.T. Hincke // *Connective Tissue Research*.-1995.- 31.-P. 227-233.

125. Hincke M.T. Purification and immunochemistry of a soluble matrix protein of the chicken eggshell (ovocleidin 17) / M.T. Hincke, C.P. Tsang, M. Courtney, V. Hill [et al.] // *Calcified Tissue International*.-1995.- 56.-P. 578-583.

126. Hincke M.T. Molecular cloning and ultrastructural localization of the core protein of an eggshell matrix proteoglycan, ovocleidin-116 / M.T. Hincke, J. Gautron, C.P. Tsang, M.D. McKee [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*.-1999.- 274.-P.32915-32923.

127. Hincke M.T. Identification and localization of lysozyme as a component of the eggshell membranes and shell matrix / M.T. Hincke, J. Gautron, M. Panheleux, J.M. Garcia-Ruiz [et al.] // *Matrix Biology*.-2000.- V. 19.-P.443-453.

128. Hincke M. T. Purification of ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein / M.T. Hincke, J. Gautron, K. Mann, M. Panheleux [et al.] // *Connective Tissue Research*.-2003.- V. 44 (Suppl. 1).-P.16-19.

129. Hincke M. T. Colloidal-gold immunocytochemical localization of osteo-pontin in avian eggshell gland and eggshell / M.T. Hincke, Y.-C. Chien, L. C. Gerstenfeld, M. D. McKee // *J. Histochem. Cytochem*.-2008.-56.-P.467-476.

130. Hernandez-Hernandez A. Identification of some active proteins in the process of hen eggshell formation / A. Hernandez-Hernandez, J. Gomez-Morales, A. B. Rodriguez-Navarro, J. Gautron [et al.] // *Cryst. Growth Des.* - 2008. -V.8.-P.-4330-4339.

131. Hernandez-Hernandez, A., Influence of eggshell matrix proteins on the precipitation of calcium carbonate (CaCO₃). / A. Hernandez-Hernandez, M. L. Vidal, J. Gomez-Morales, A. B. Rodriguez-Navarro [et al.] // *J. Cryst. Growth* 2008.-V.-310.-P.1754-1759.

132. Herruzo R. Efficacy of a new peracetic acid-based disinfectant agent ('Adaspor® ready to use') / R. Herruzo, M.J. Vizcaino, I. Herruzo // *Journal of Hospital Infection*, Volume 74, Issue 2, February 2010, Pages 192-193

133. Iwasawa I. The crystal polymorphism of calcium carbonate is determined by the matrix structure in quail eggs / I. Iwasawa, M. Uzawa, M.A. Rahman, Y. Ohya [et al.] // *Poult. Sci*.-2009.-V.88.-P.2670-2676.

134. Jacopo P. Growth of the chicken embryo: Implications of egg size / P. Jacopo Mortola, Khalid Al Awam // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2010.-V. 156, Issue 40.- P. 373-379.
135. Jeanette M.C. Robertson. A comparison of the effectiveness of TiO₂ photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic micro-organisms / Jeanette M.C. Robertson, Peter K. J. Robertson, Linda A. Lawton // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*- 2005.-V. 175, Issue 1.-P. 51-56.
136. Karunakaran C. Cu-doped TiO₂ nanoparticles for photocatalytic disinfection of bacteria under visible light / C. Karunakaran, G. Abiramasundari, P. Gomathisankar, G. Manikandan // *Journal of Colloid and Interface Science*.-2010.- V. 352, Issue 1.- P. 68-74.
137. Luigi Rizzo. Inactivation and injury of total coliform bacteria after primary disinfection of drinking water by TiO₂ photocatalysis / Luigi Rizzo // *Journal of Hazardous Materials*.- 2009.-V. 165, Issues 1-3.- P. 48-51.
138. Mikhailov K.E. The principal structure of the avian egg-shell: data of SEM studies / K.E. Mikhailov // *Acta Zoologica (Gracov)*. - 1987. – V.30.- P.53-70.
139. Mikšík I. Proteins of insoluble matrix of avian (*Gallus gallus*) eggshell / I. Mikšík, P. Eckhardt A., P. Sedláková, K. Mikulikova // *Connect. Tissue Res*.-2007.-48.-P.1-8.
140. Lanao M.. Inactivation of *Clostridium perfringens* spores and vegetative cells by photolysis and TiO₂ photocatalysis with H₂O₂ / M. Lanao, M.P. Ormad, P. Goni, N. Miguel [et al.] // *Solar Energy*.- 2010.-V. 84, Issue 4.-P. 703-709.
141. Narushin V.G. Influence of egg parameters on the hatchability (review of investigations). / V.G. Narushin, M.N. Romanov // *Poultry Science. Intra-Branch Thematic Scientific Collection*. Birky, 2001.- V.51.-P. 422-429 (In Russian).
142. Narushin V.G. Egg physical characteristics and hatchability / V.G. Narushin, M.N. Romanov // *World's Poultry Science Journal*.-2002.-V. 58, Issue 3.- P. 297-303.
143. Narushin V.G. Relationship between pre-incubation egg parameters and chick weight after hatching in layer breeds. / V.G. Narushin, M.N. Romanov, V.P. Bogatyr // *Biosystems Engineering*.-2002,-V. 83, Issue3.-P. 373-381.
144. Nobuaki Shimizu. Potential uses of titanium dioxide in conjunction with ultrasound for improved disinfection. / Nobuaki Shimizu, Kazuaki Ninomiya, Chiaki Ogino, Mohammad Mizanur Rahman // *Biochemical Engineering Journal*.- 2010.-V.48, Issue 3.- P. 416-423.
145. Nys Y. Biochemical characterization and in vitro functional properties of eggshell matrix extracts and of uterine fluid in hens / Y. Nys, M.T. Hincke, J.L. Arias, J.M. García-Ruiz [et al.] // *Proc. VII Europ. Symp. Quality of Eggs & Egg Prod.*, Poznan, Poland, 21-26 Sept.-1997.- P.107-121.
146. Nys Y. Evaluation de l'efficacite relative de xanthophylles vegetales et de l'apocarotene ester en presence de canthaxanthine pour colorer le jaune d'oeuf / Y. Nys // *3^a Journées de la Recherche Avicole*. - Saint Malo.-1999.-34 p.
147. Nys Y. Avian eggshell mineralization (Review) / Y.Nys, M.Hincke, J.L. Arias, J.M. Garda-Ruiz [et al.] // *Poultry and Avian Biology*.-1999.-V.10.-P.143-166.
148. Nys Y. Particularities In Eggshell Structure And Formation In Guinea Fowl Compared To Hen / Y.Nys, M. Panhéleux, O. Kälin, J. Gautron // *Proc. VIII European Symp. on the Quality off Egg and Egg Production*, V.II (19-23 Sept, 1999), Bologna, Italy.-P.69-73.
149. Peebles E.D. Effects of dietary fat and eggshell cuticle removal on egg water loss and embryo growth in broiler hatching eggs / Peebles E.D. [et al.] // *Poultry Sci*.-1998.-V.77.-P.1522-1530.
150. Peebles E.D. Effects of Breeder Dietary Fat and Eggshell Cuticle Removal on Subsequent Broiler Growout Performance / E.D. Peebles, J. Appl // *Poultry Res*.-1998.-V.7.-P.377-383.
151. Perianu C. Finite element approach for simulating the dynamic mechanical behaviour of a chicken egg / C. Perianu, B. De Ketelaere, B. Pluyms, W. Desmet // *Biosystems Engineering*- 2010.-V. 106.- P. 79-85.

152. Richards M.P. Trace mineral metabolism in the avian embryo/ M.P. Richards // Poultry Sc.-1997.-V.76, №1.-P.152-164.
153. Rodriguez-Navarro A. Importance of electrostatic interactions between calcite surfaces and proteins / A. Rodriguez-Navarro, C. Jimenes-Lopez, R. Messier // Mat. Res. Soc. Symp. Proc. – 2000.-V.599.-P. 353-359.
154. Solomon S.E. Egg and Eggshell Quality / S.E. Solomon. - London: Wolfe Publications Limited, 1990.-182 p.
155. Solomon S. E. Reproductive Pathophysiology / S. E. Solomon, S. Cranstoun, K. Crawford // Proc. VIII European Symp. on the Quality off Egg and Egg Production, V.II (19-23 Sept, 1999), Bologna, Italy.-P.43-46.
156. Soterakoua E. Asymmetric ceramic membranes from Langmuir-Blodgett deposition precursors: deposition of fatty acid salts on porous ceramic substrates/ E. Soterakoua, K. Beltsiosa, N. Kanellopoulosa // J. Eur. Ceramic Soc.-2000.-V.20.-P.1105-1113.
157. Sparks N. Bacterial Contamination of Hatching Eggs / N. Sparks // Poultry International.- 1996.- V.35, N4.-P. 40-44.
158. Yoshizakj P. The crystal polymorphism of calcium carbonate is determined by the matrix structure in quail eggs / [P.Yoshizakj I. Iwasawa, M. Uzawa, M.A. Rahman, et al.] // Poult. Sci.-2009.-V. 88, -P.2670-2676.

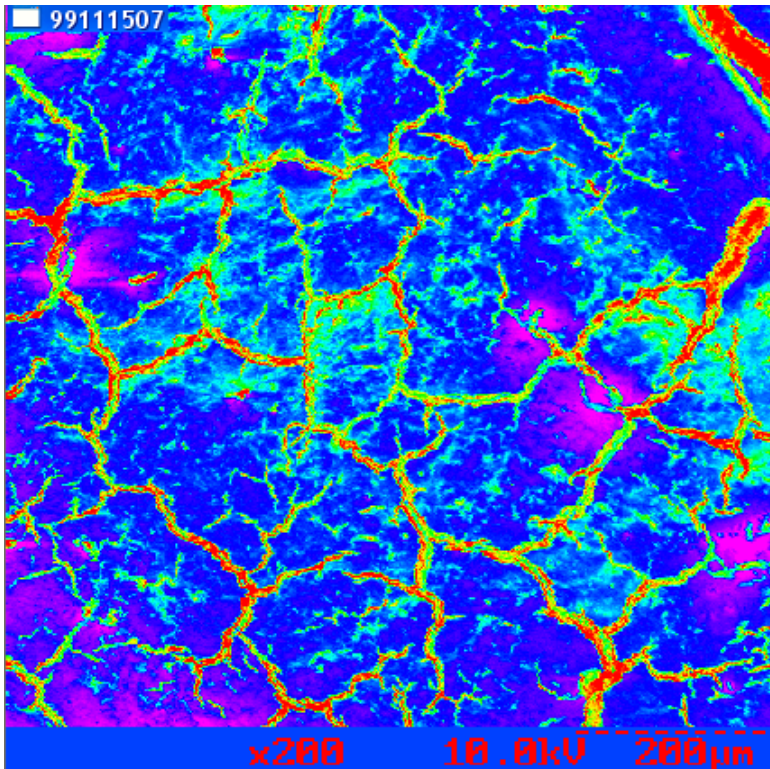


Рис. 122. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого формальдегідом (x 200).

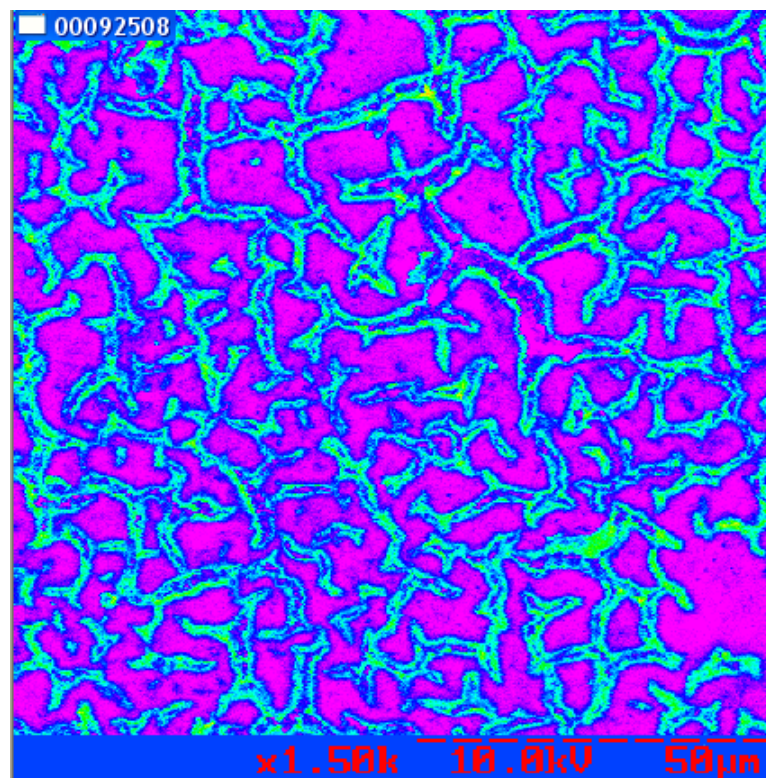


Рис. 123. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи перепілки (x 1 500).

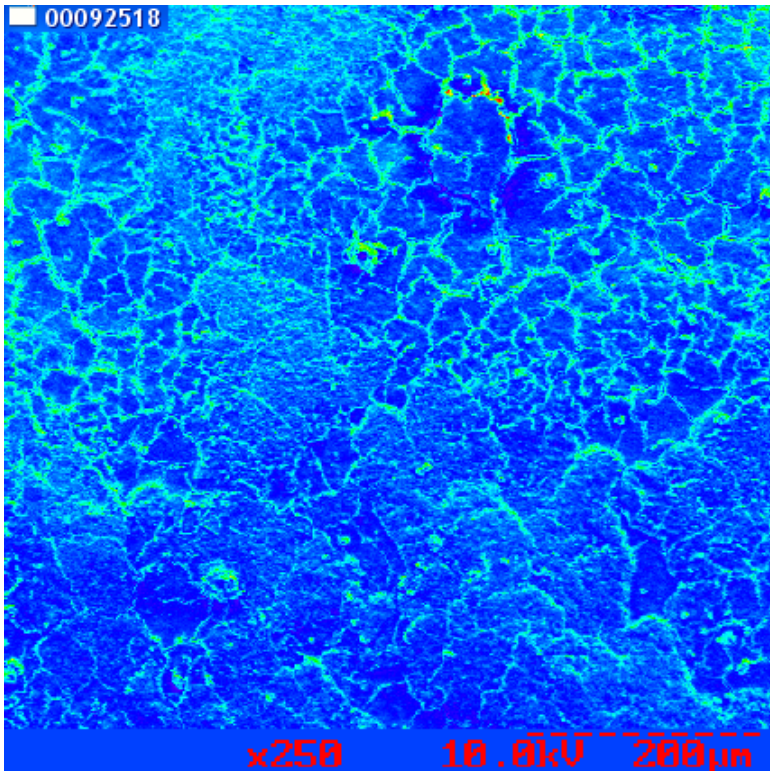


Рис. 124. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом CID – 20 (CID LINE, Бельгія (до складу препарату входять четвертинні амонієві сполуки)) (x 250).

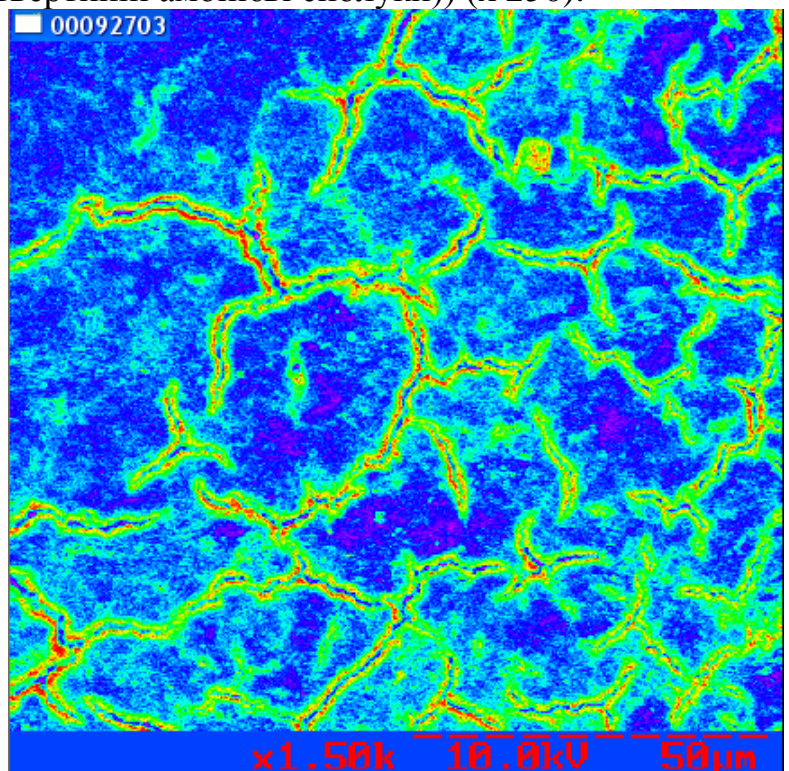


Рис. 125. Електронна мікрофотографія поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом VIROCID (CID LINE, Бельгія (препарат складається із четвертинних амонієвих сполук та пероксидних речовин)) (x 1 500).

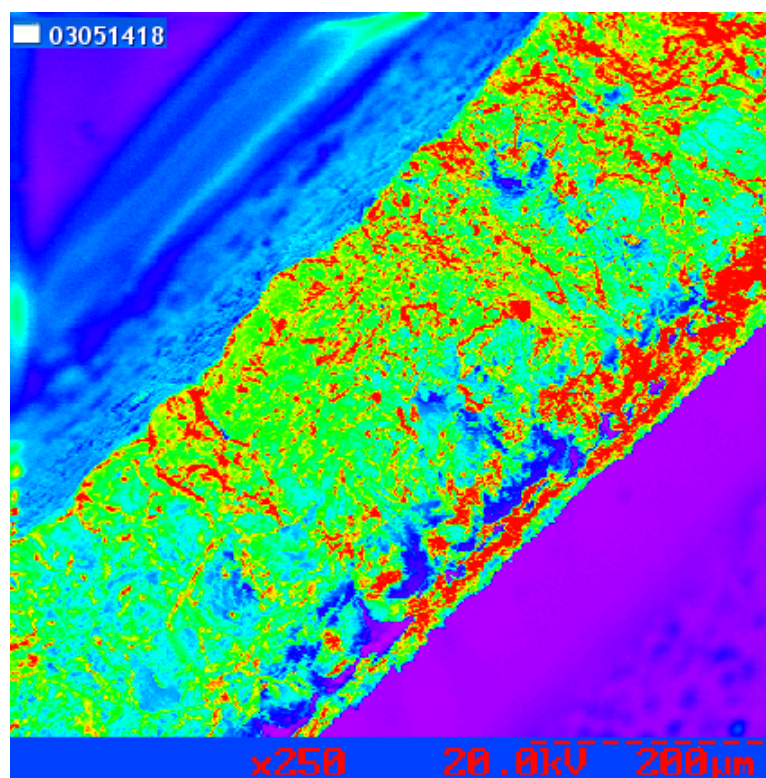


Рис. 126. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (скол), (леггорн білий) (x 250).

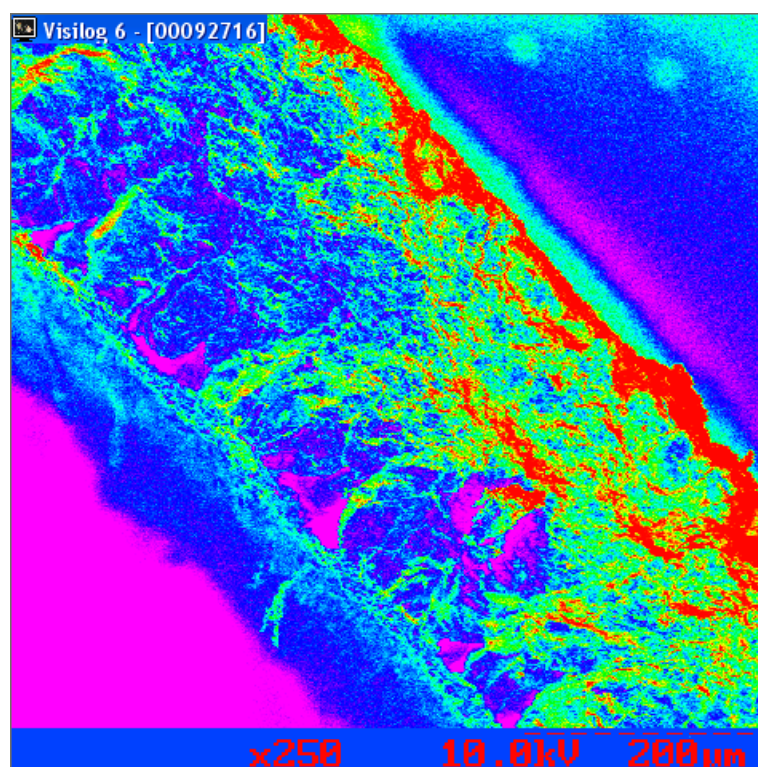


Рис. 127. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця (леггорн білий) після вилуплення курча (x 250).

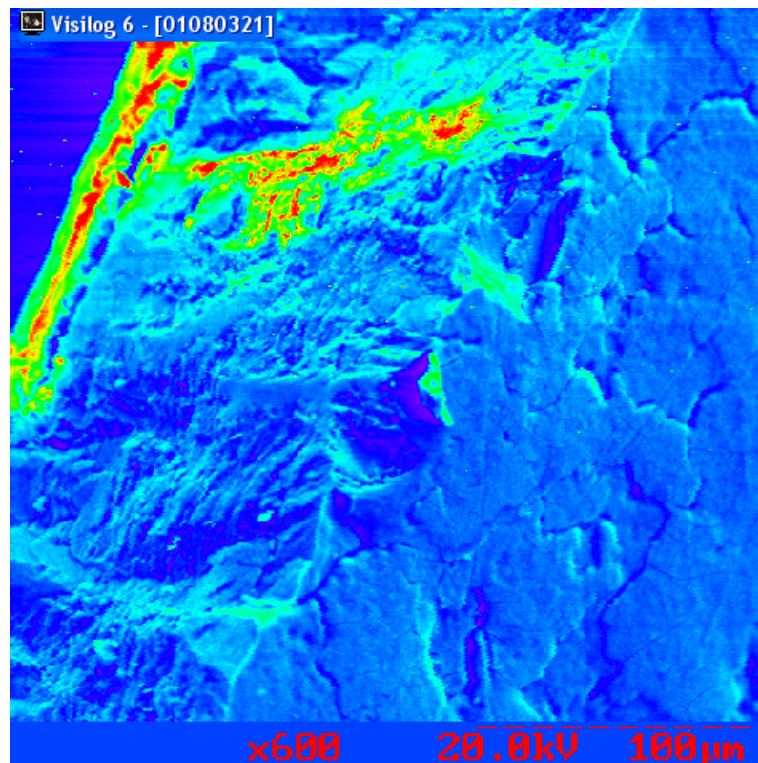


Рис. 128. Електронна мікрофотографія шкаралупи яйця фазана (скол) (x 600).

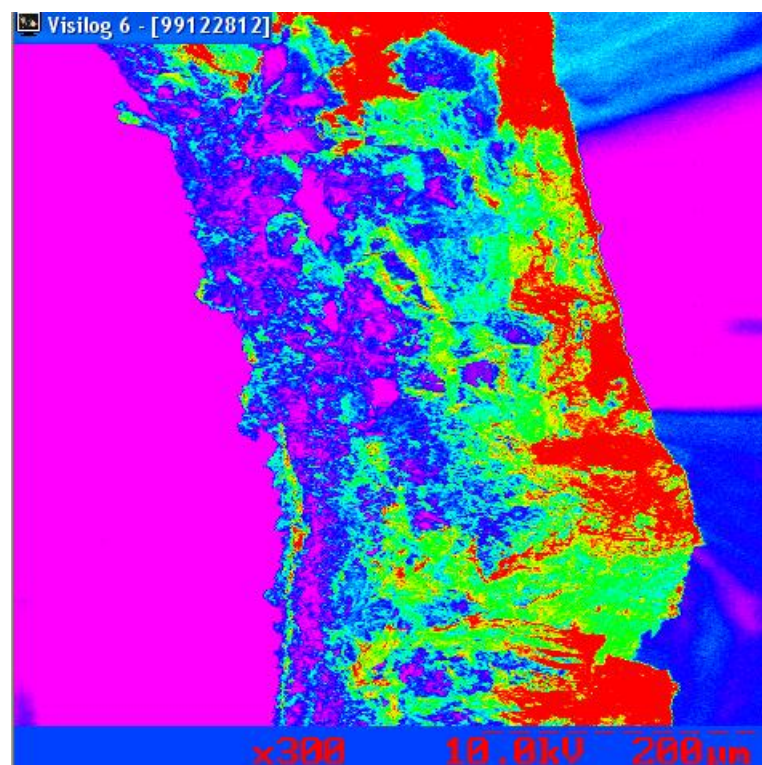


Рис. 129. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від хворої на ІЛТ курки («зона пояску» на шкаралупі) (x 300).

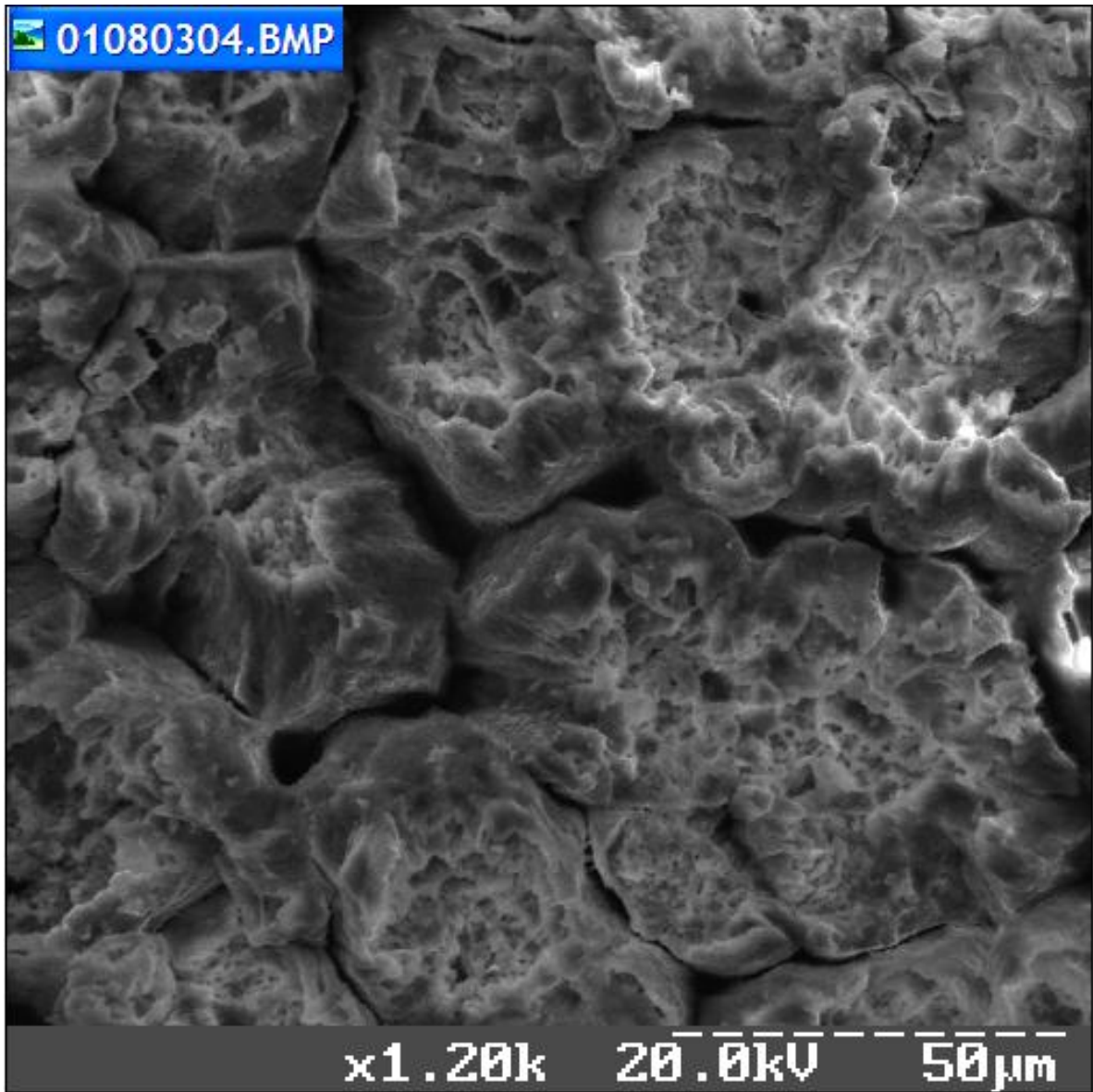


Рис. 130. Мікрофотографія мамілярного шару шкаралупи яйця індички (x 1 200).

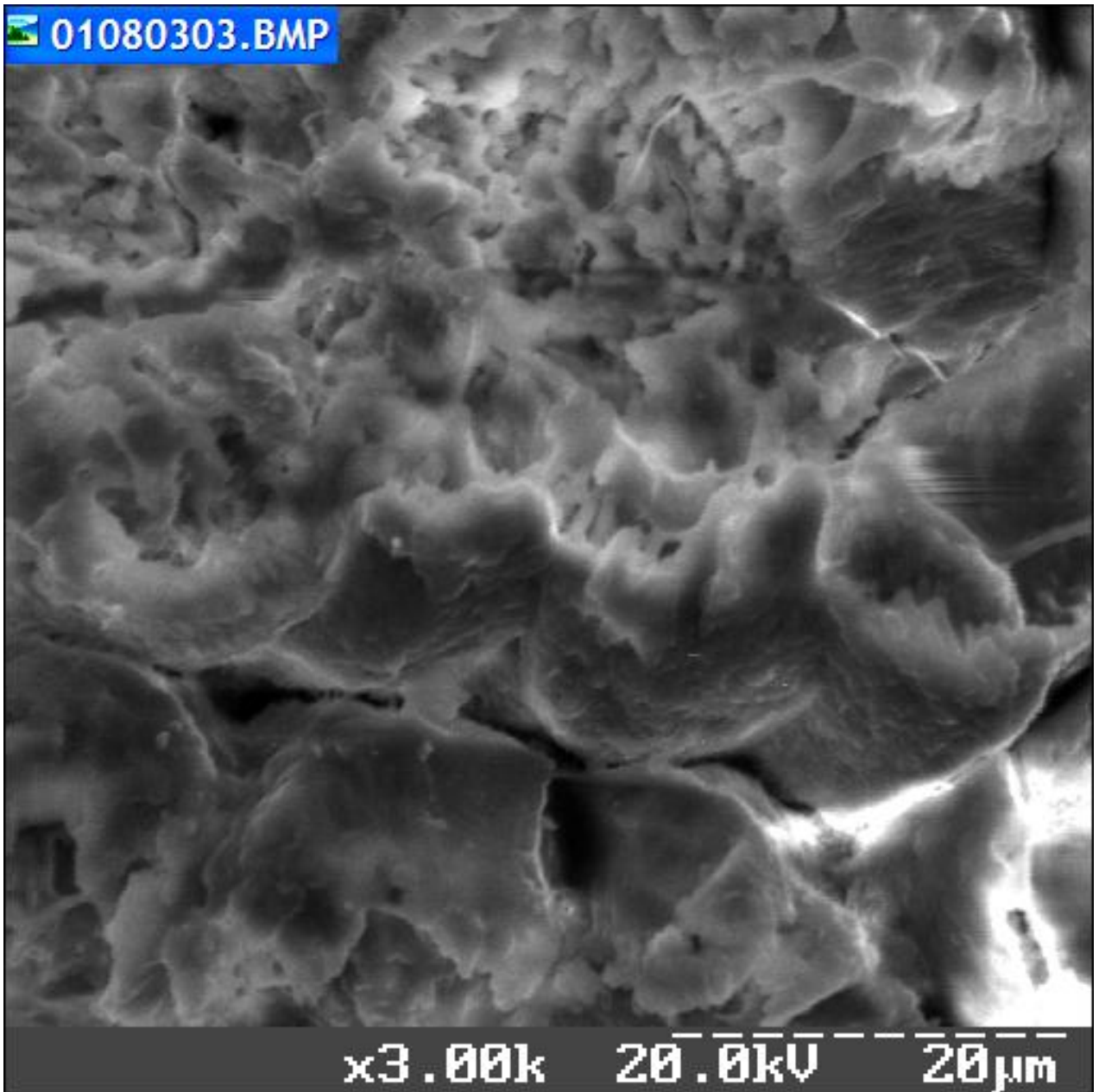


Рис. 131. Електронна мікрофотографія мамілярного шару шкаралупи яйця індички (x 3 000).

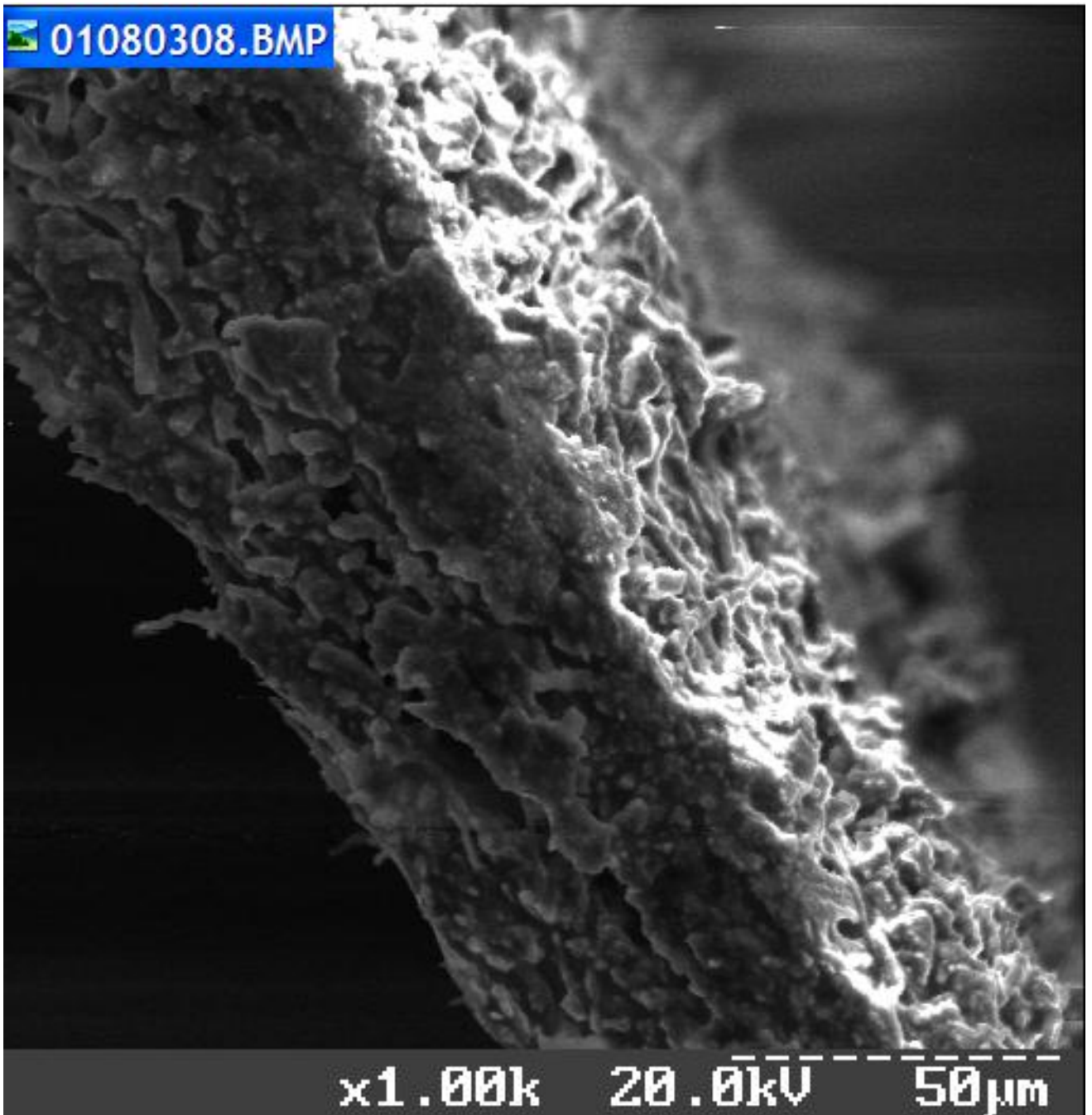


Рис. 132. Електронна мікрофотографія внутрішньої підшкаралупної оболонки яйця індички (x 1 000).

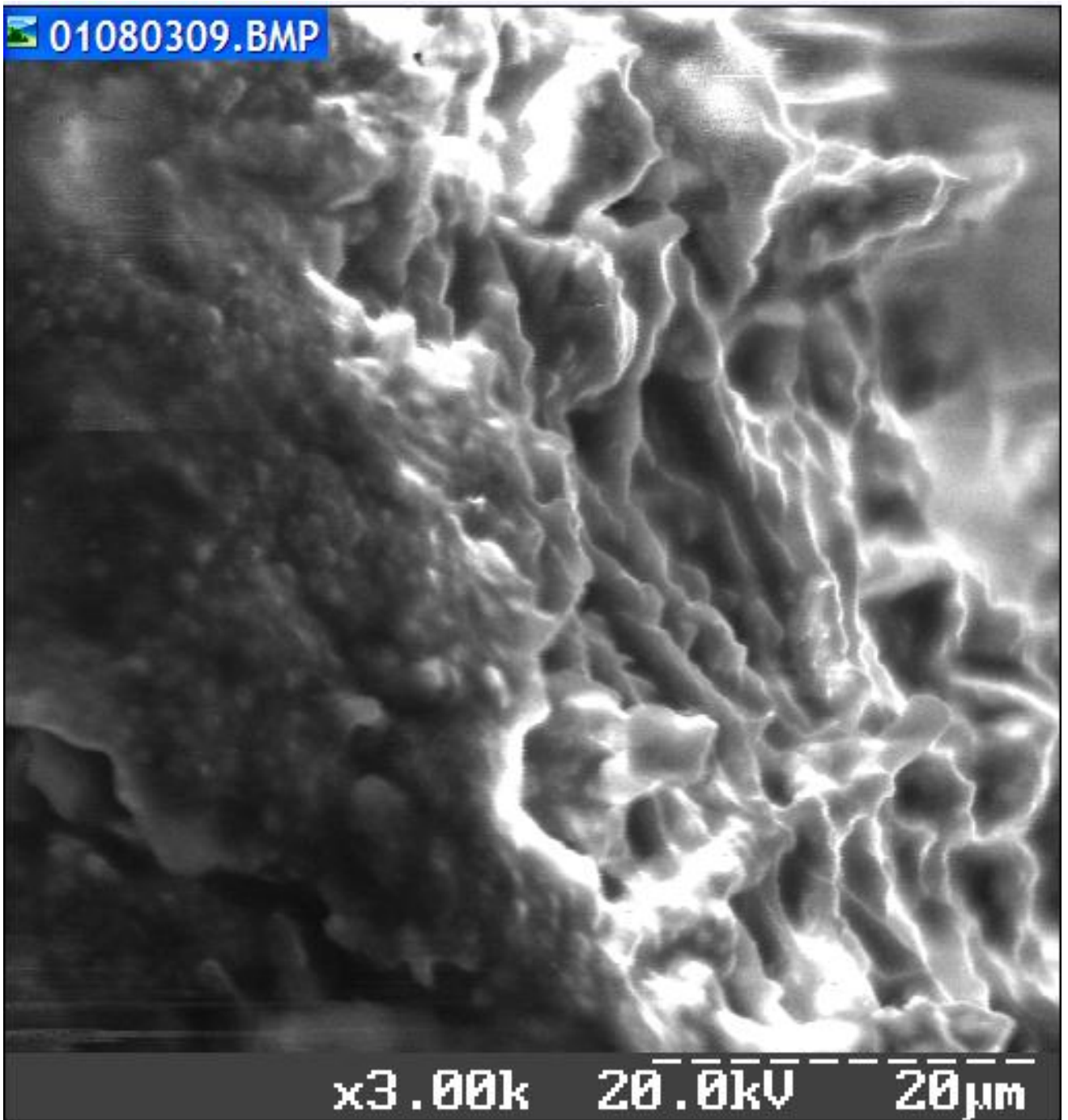


Рис. 133. Електронна мікрофотографія внутрішньої підшкаралупної оболонки яйця індички (x 3 000).

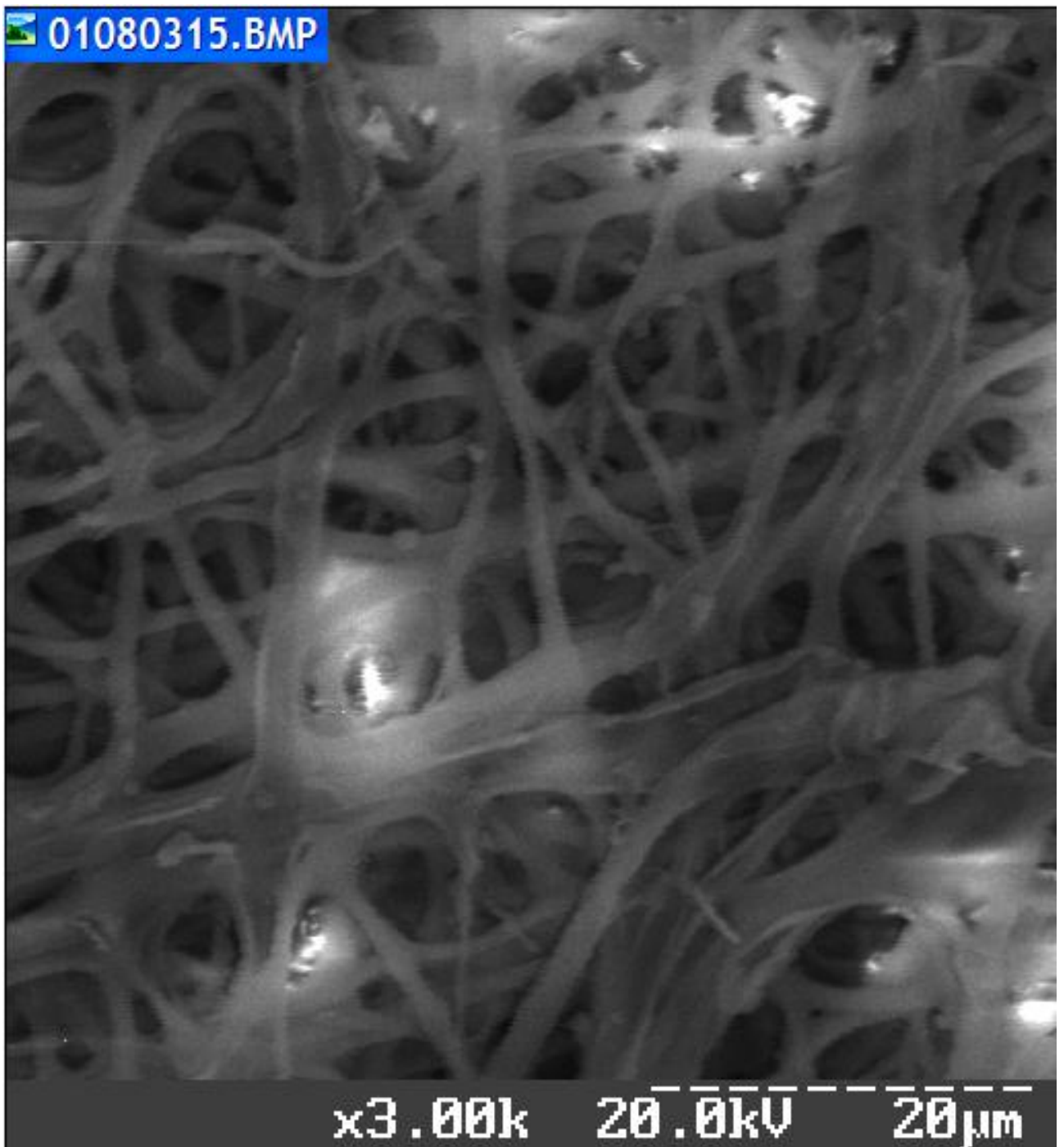


Рис. 134. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки яйця фазана. На мікрофотографії представлені колагенові волокна (x 3 000).

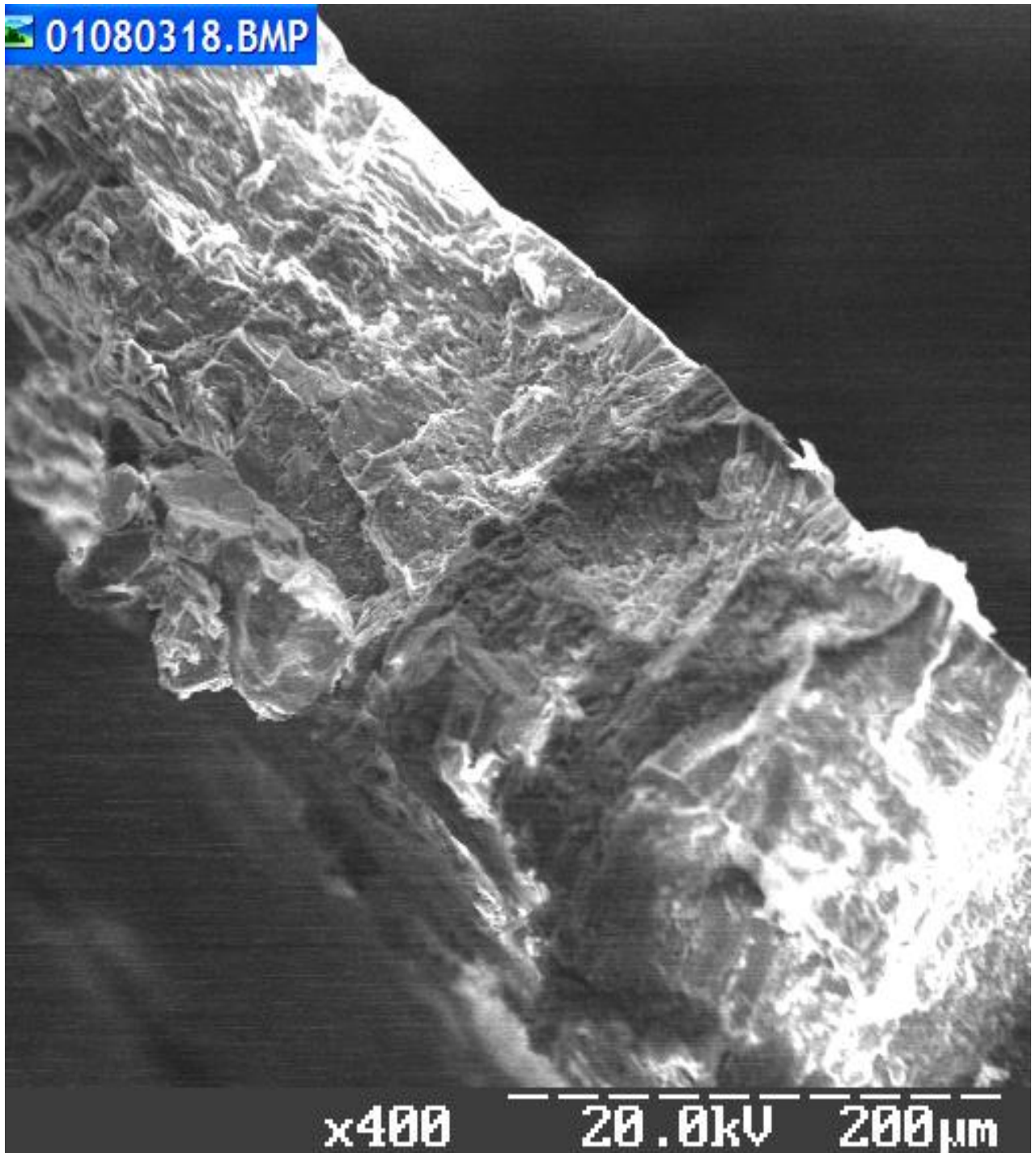


Рис. 135. Електронна мікрофотографія шкаралупи яйця фазана (скол) (x 400).

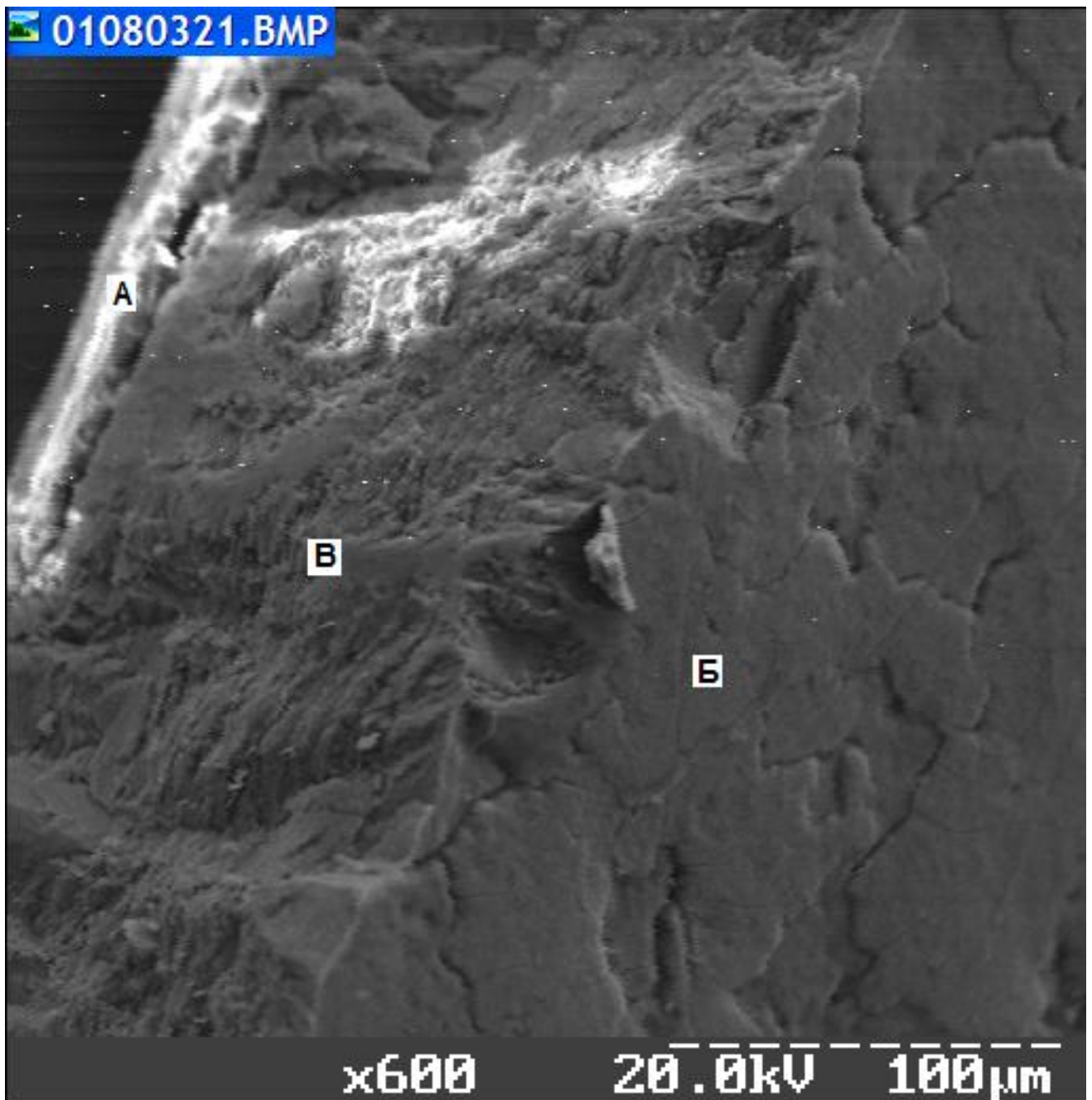


Рис. 136. Електронна мікрофотографія шкаралупи яйця фазана: А – підшкаралупні оболонки; Б – кутикулярний шар на поверхні шкаралупи; В – палісадний (губчатий) шар, що складається з кристалів CaCO_3 (x 600).

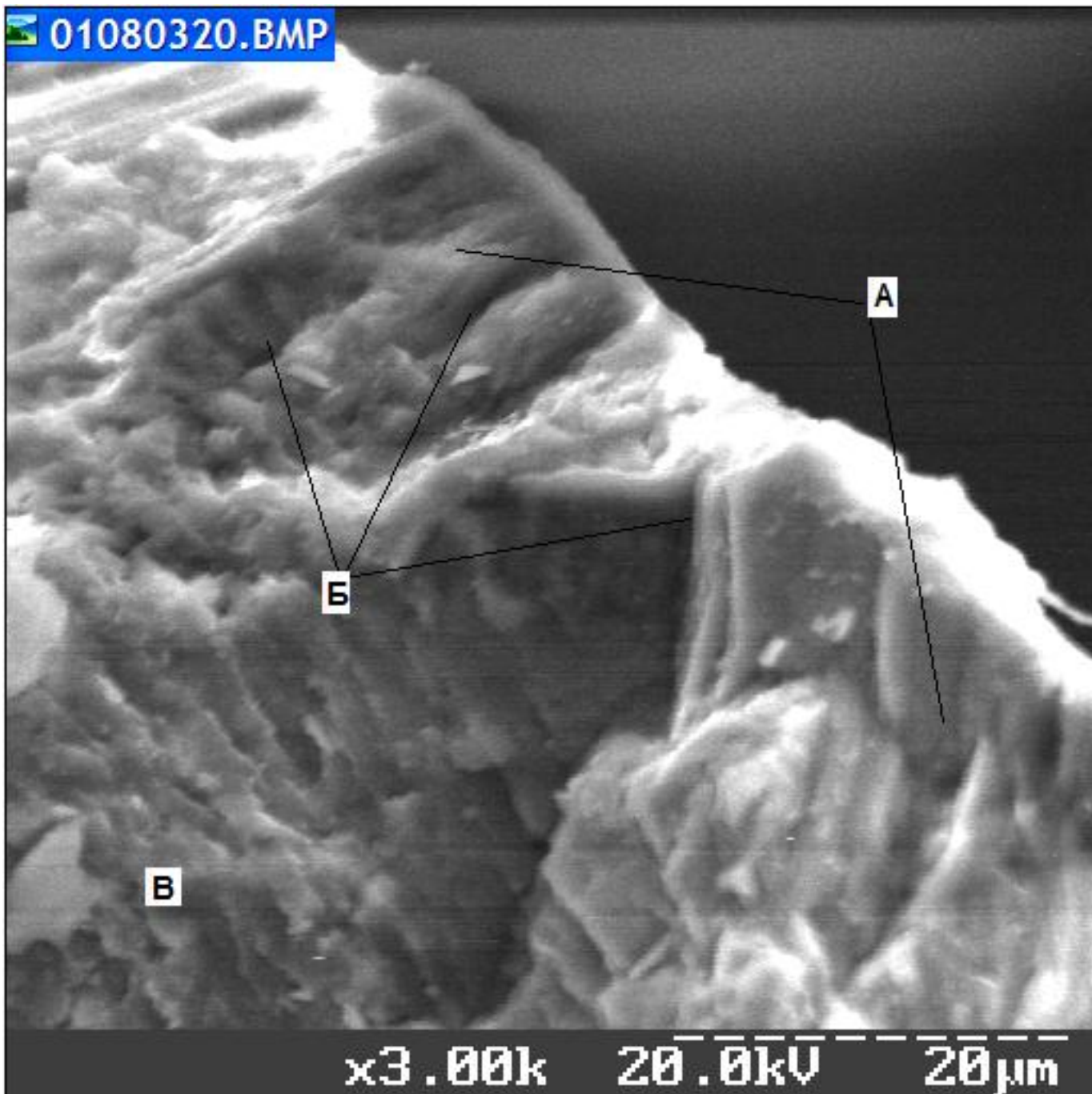


Рис. 137. Електронна мікрофотографія вертикального кристалічного шару шкаралупи яйця фазана: А - ріст кристалів CaCO_3 вертикального кристалічного шару; Б - пори; В - кристали CaCO_3 палісадного шару (x 3 000).

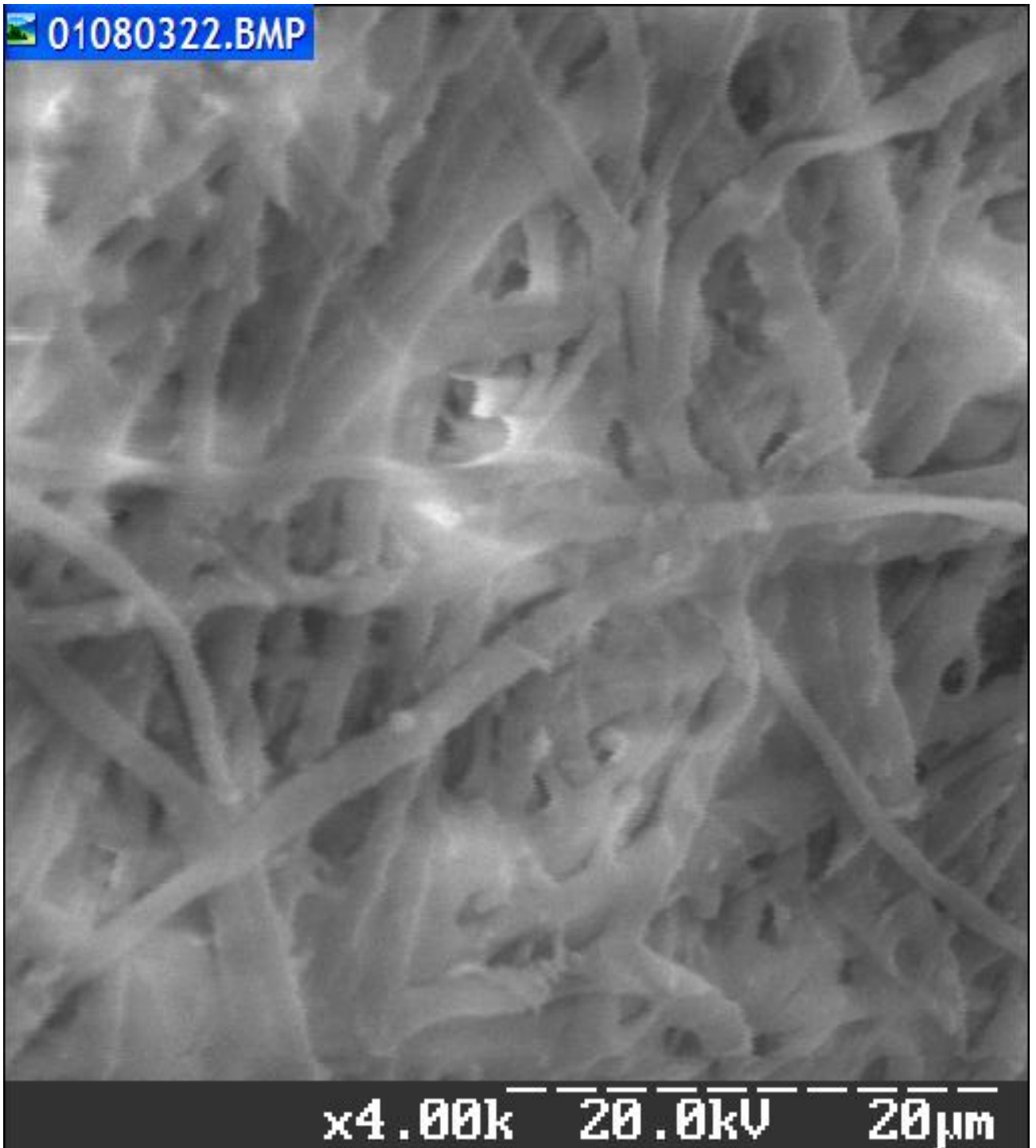


Рис. 138. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки яйця фазана (x 4 000).

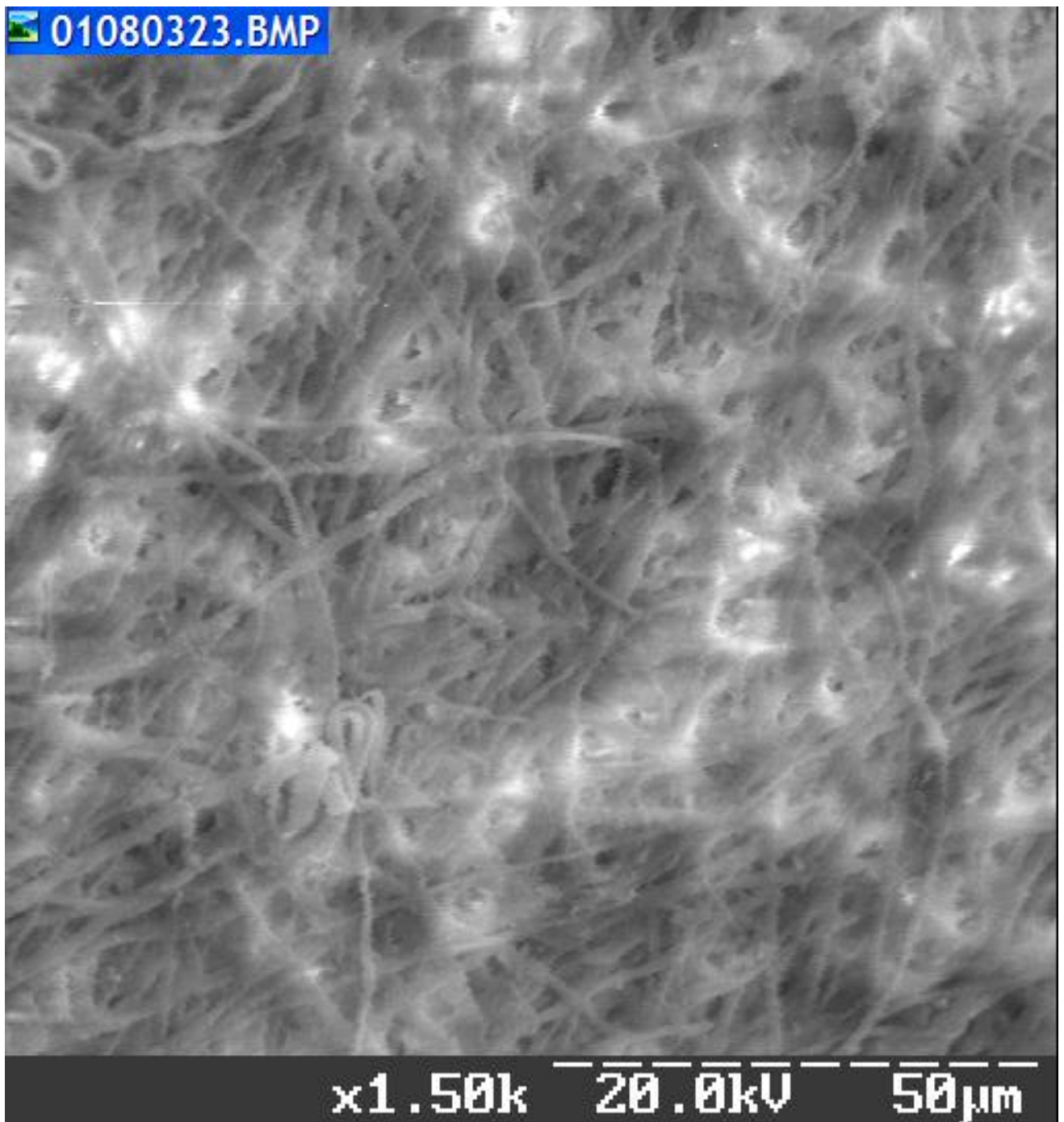


Рис. 139. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки яйця фазана (x 1 500).

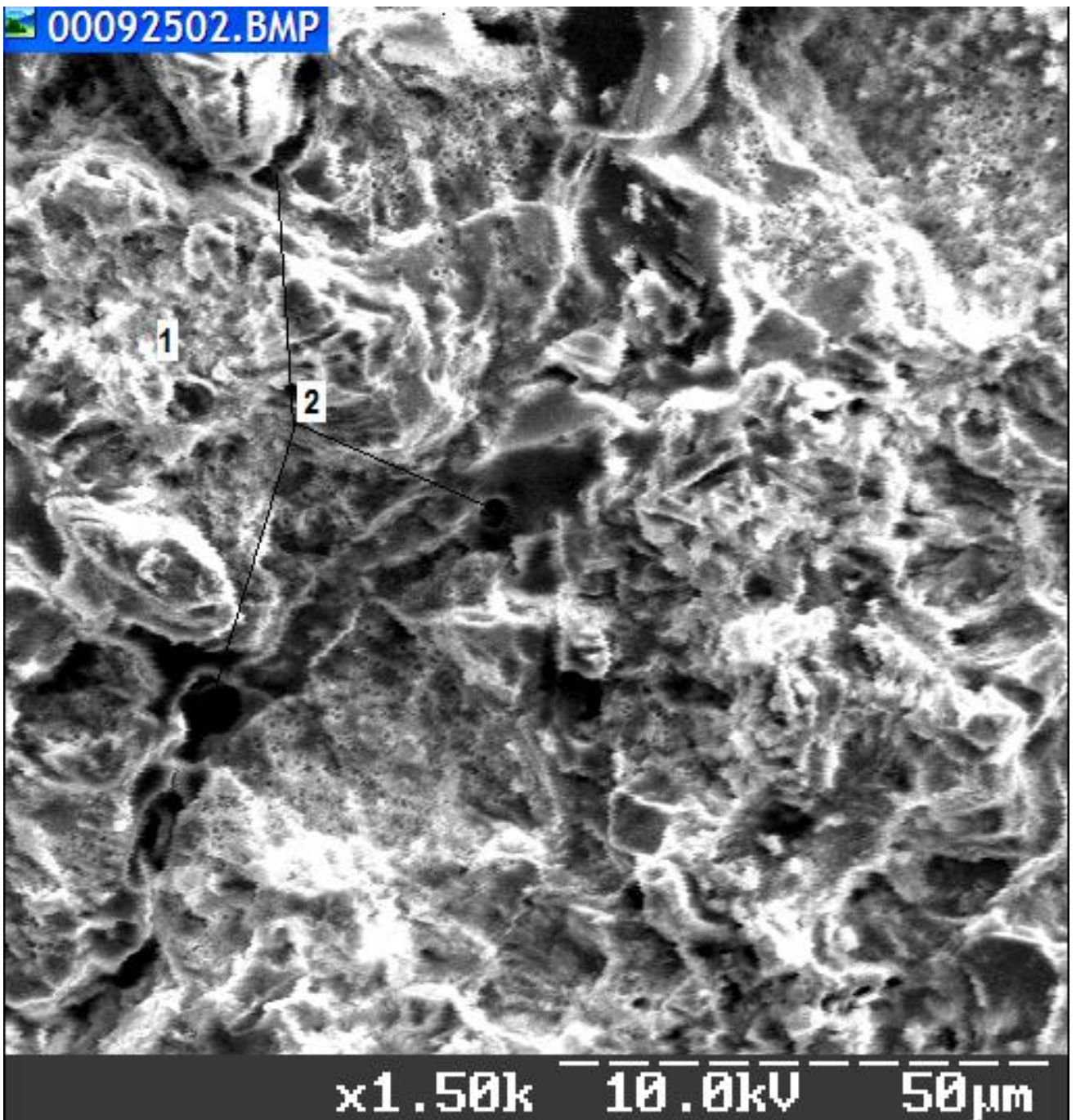


Рис. 140. Електронна мікрофотографія мамілярного шару шкаралупи яйця перепілки: 1 – маміляр (коровий елемент); 2 – пори, сформовані між мамілярами (x 1 500).

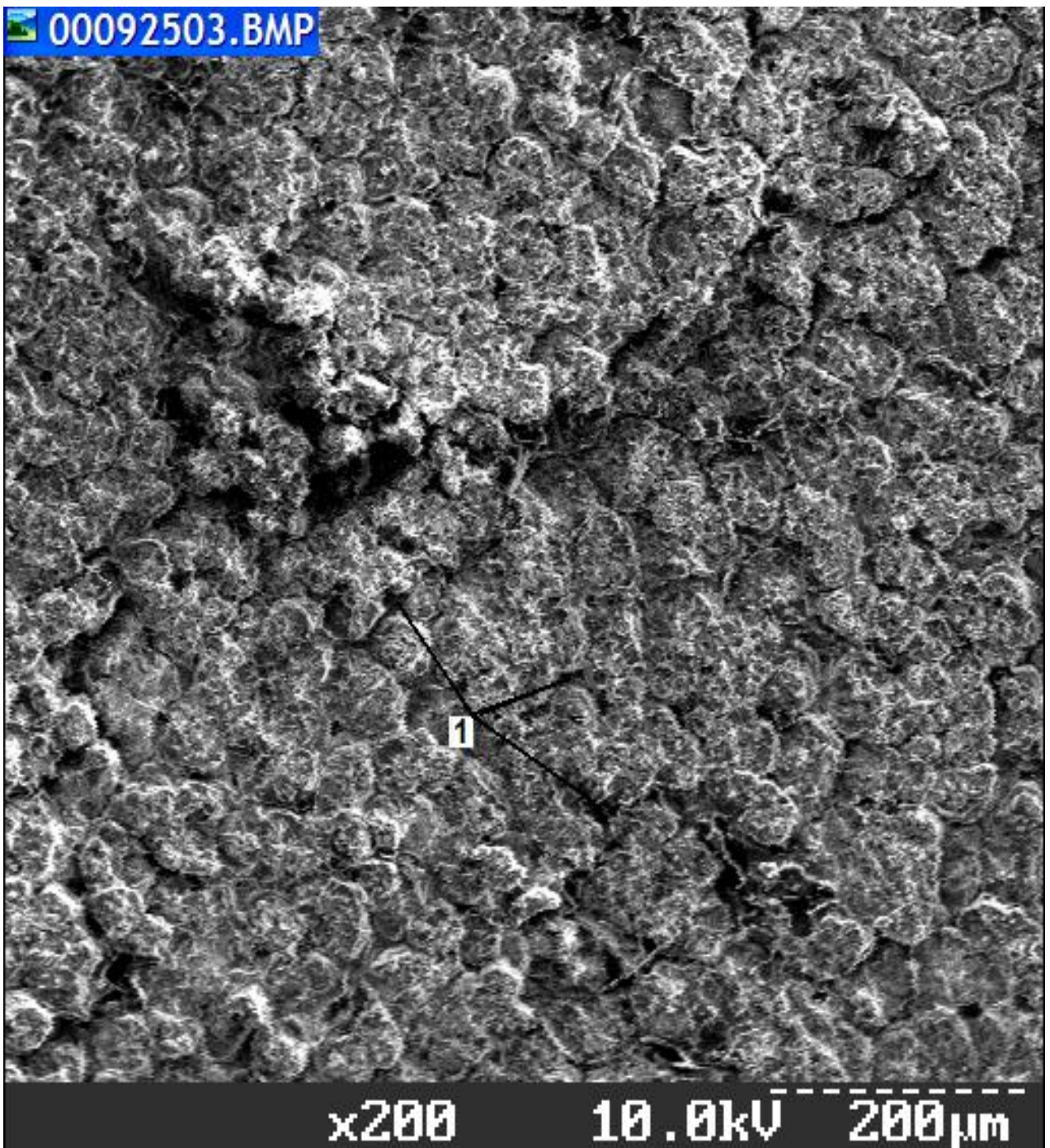


Рис. 141. Електронна мікрофотографія мамілярного шару шкаралупи яйця перепілки: 1 – пори, розташовані між мамілярами (x 200).

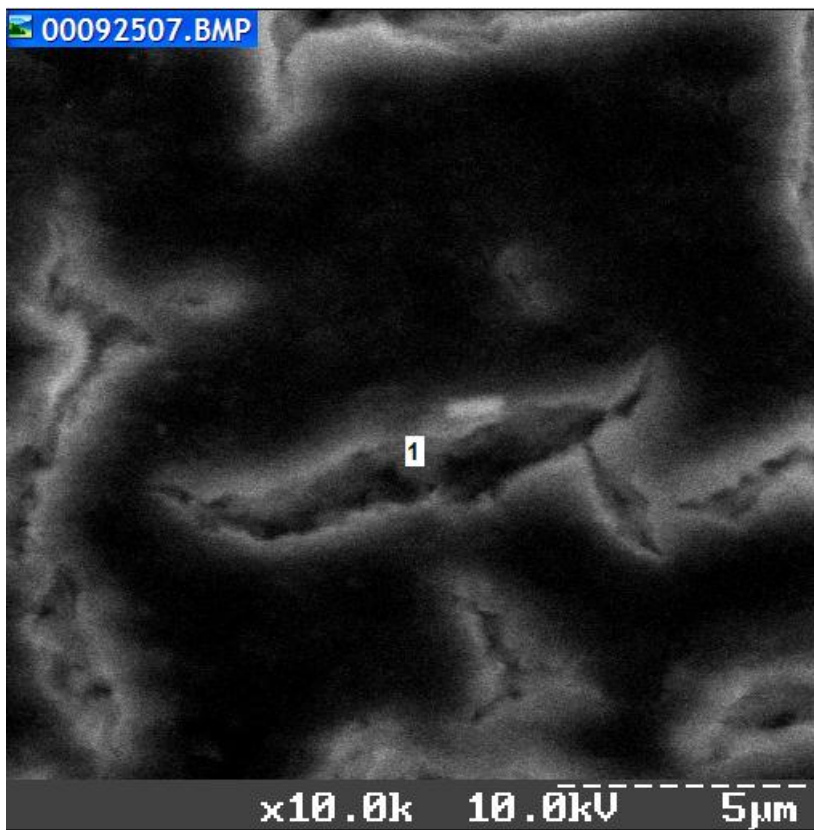


Рис. 142.

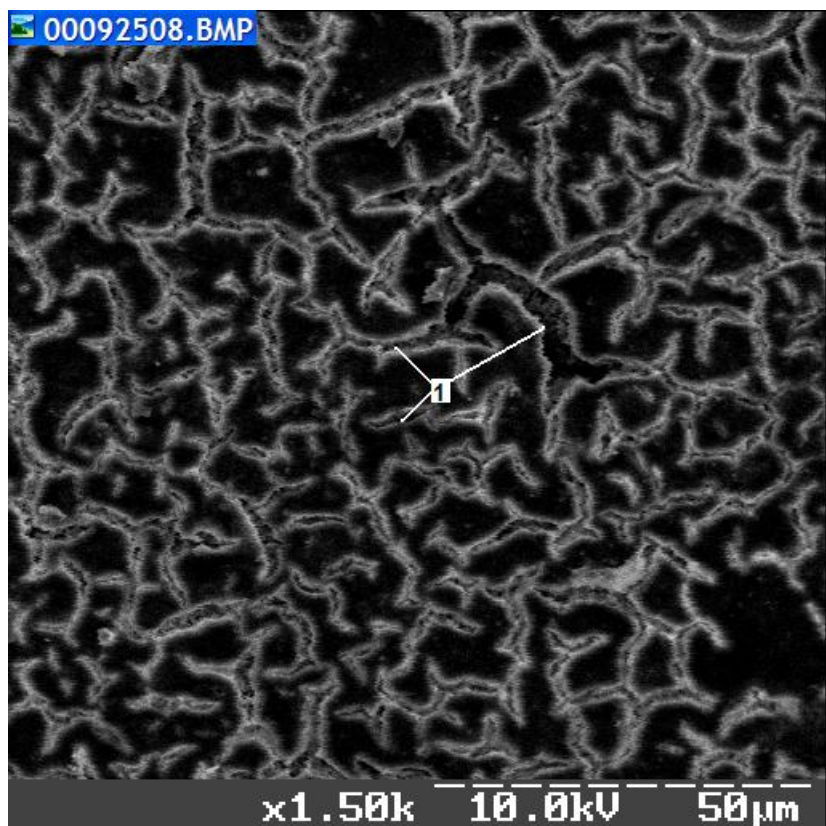


Рис. 143.

Рис. 142, 143. Електронні мікрофотографії зовнішньої поверхні яйця перепілки: 1 – звивисті порові канали з порами на зовнішній поверхні шкаралупи (x 10 000); (x 1 500).

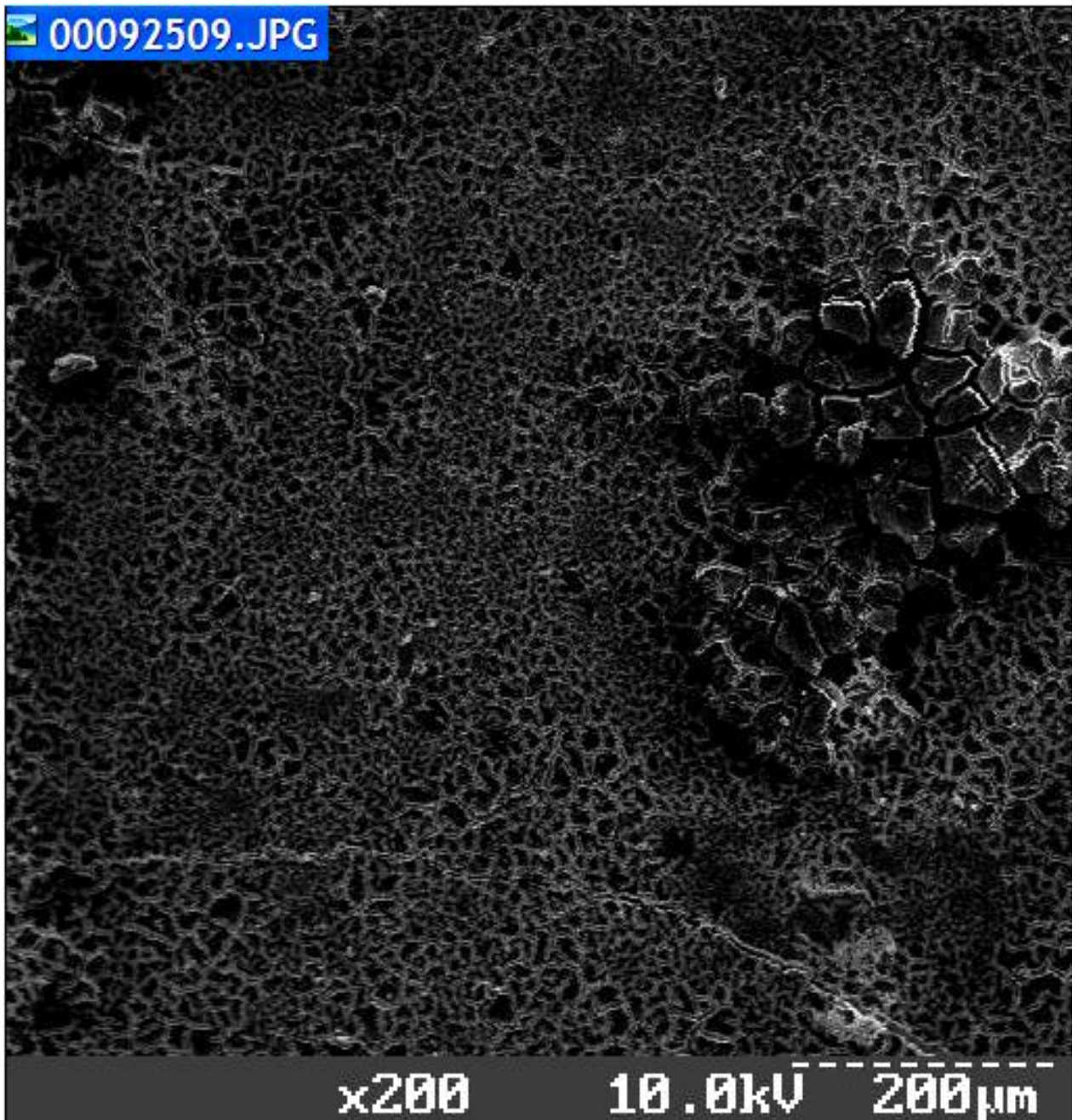


Рис. 144. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи яйця перепілки (яйце зберігалось протягом 2 місяців) (x 200).

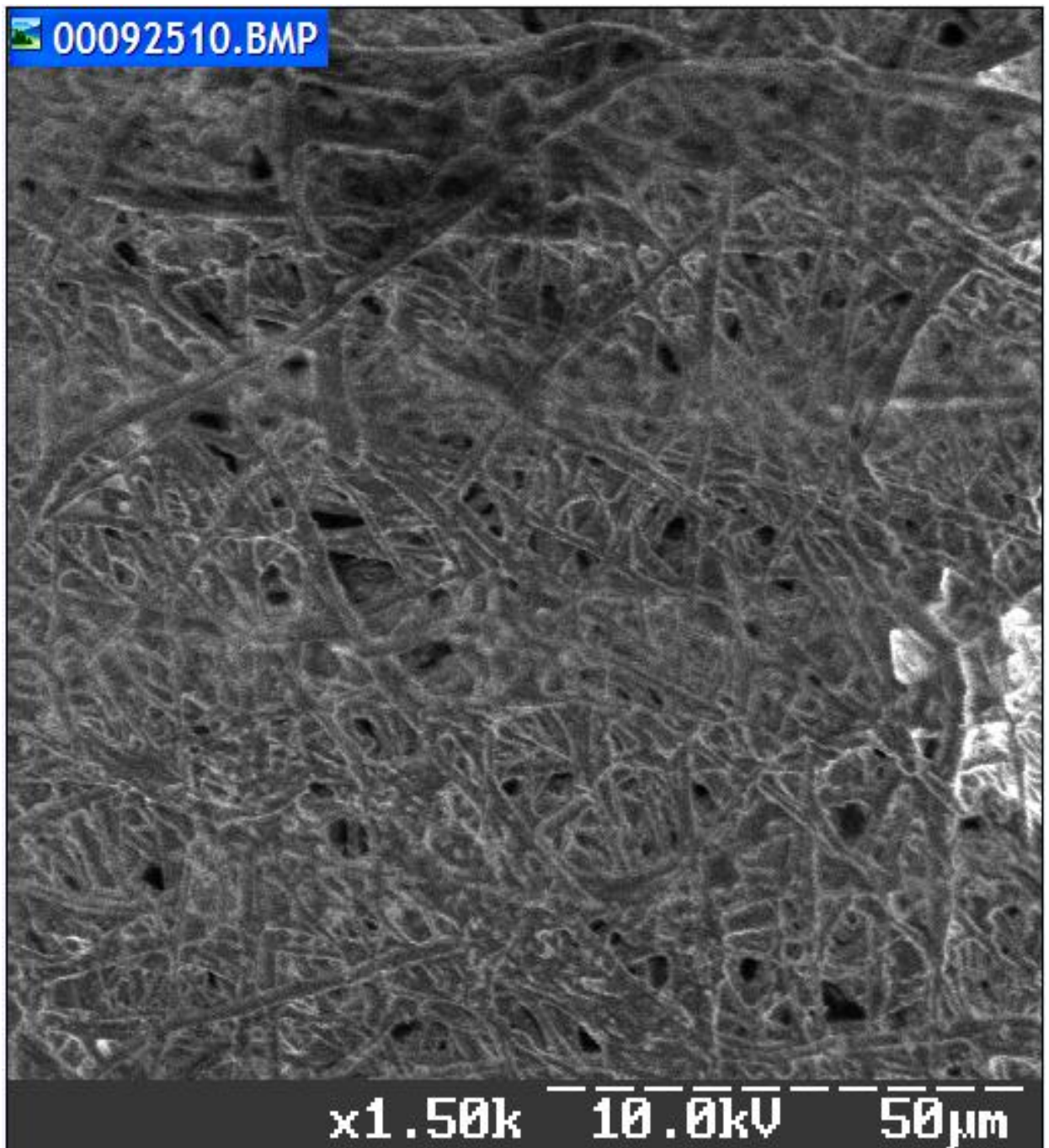


Рис. 145. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки яйця перепілки (x 1 500).

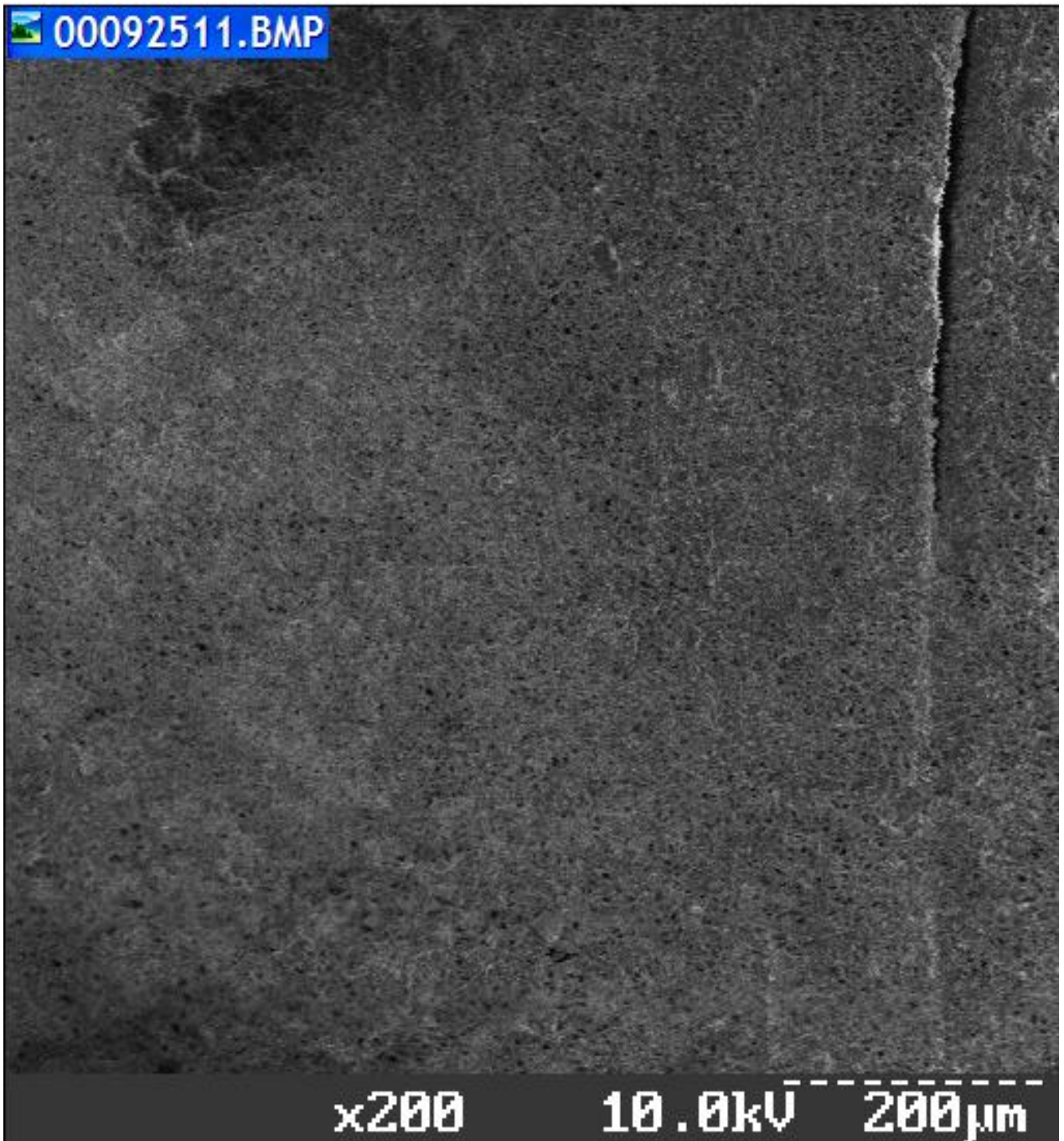


Рис. 146. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки яйця перепілки (x 200).

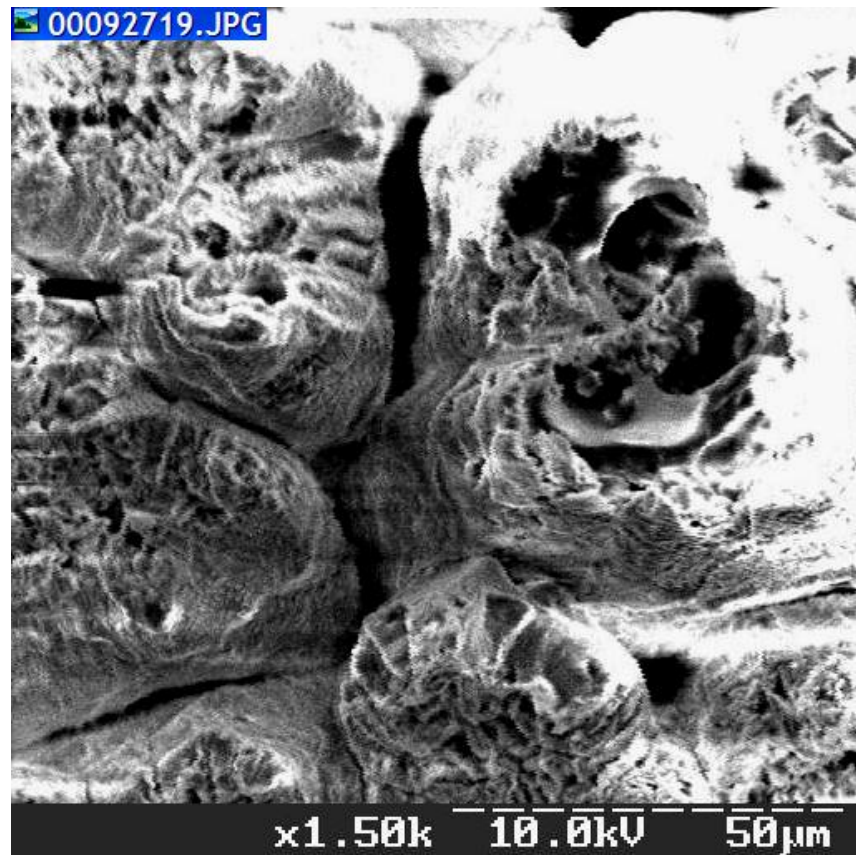


Рис. 147

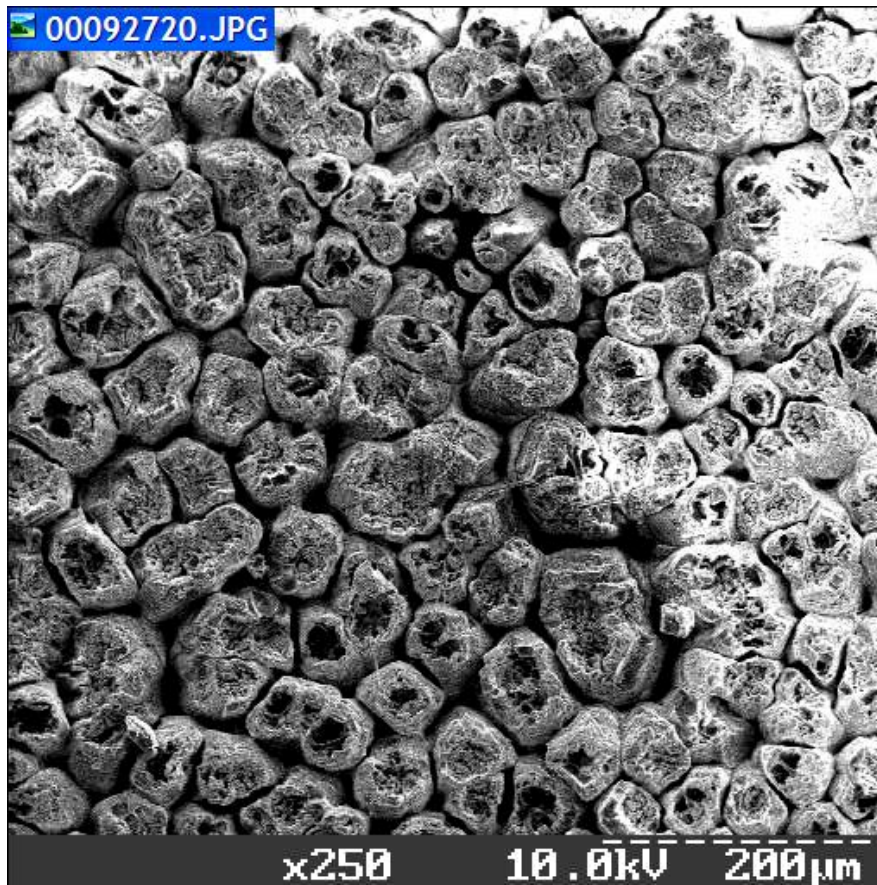


Рис. 148

Рис. 147, 148. Електронні мікрофотографії мамілярного шару шкаралупи курячого яйця, з якого вилупилося курча (Леггорн білий) (x 1 500); (x 250).

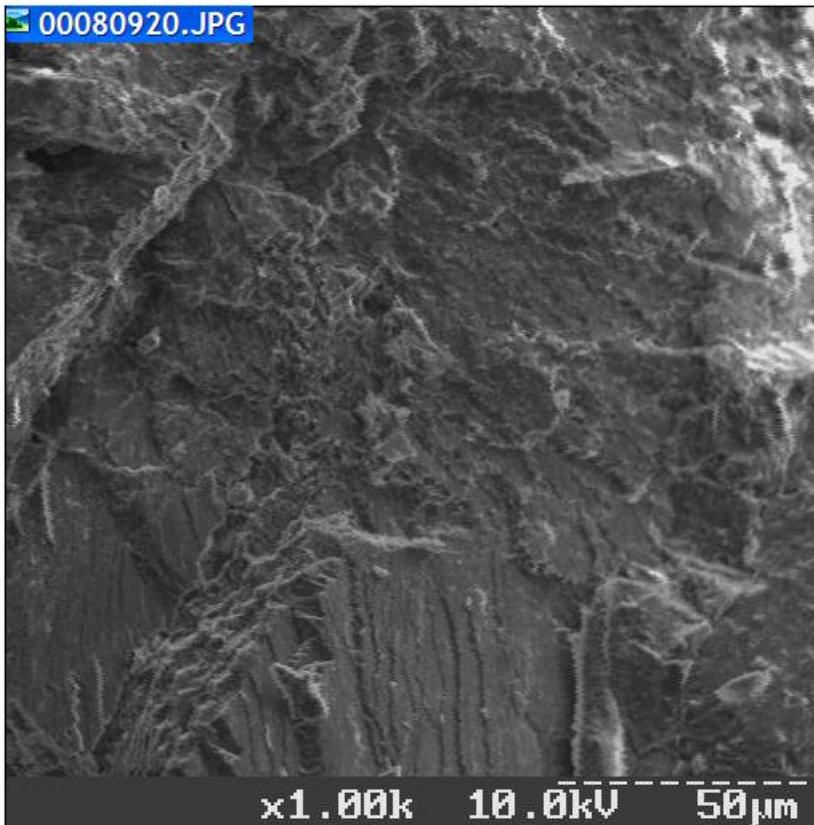


Рис. 149. Електронна мікрофотографія палісадного шару шкаралупи курячого яйця (скол, Російські білі, 18 тиждень яйцекладки). Спостерігається ріст кристалів CaCO_3 палісадного шару (x 1 000).

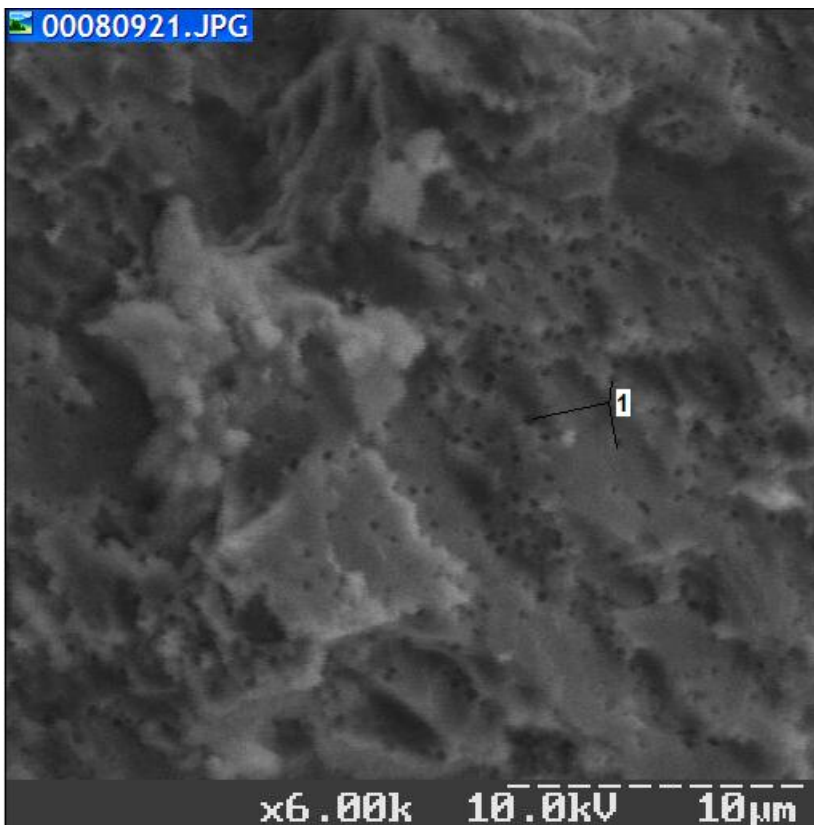


Рис. 150. Електронна мікрофотографія палісадного шару шкаралупи курячого яйця (скол, Російські білі, 18 тиждень яйцекладки): 1 – мікропори (x 6 000).

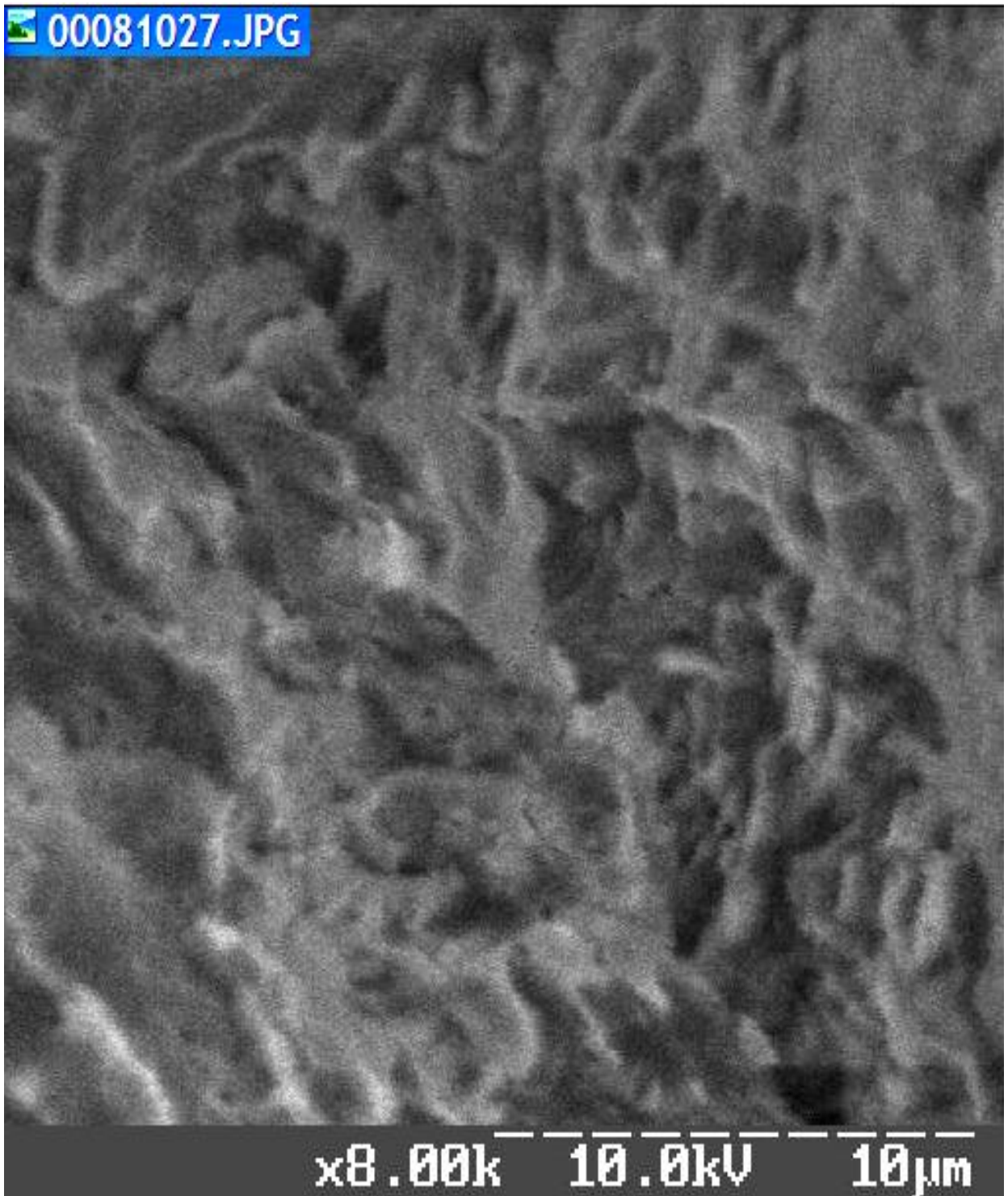


Рис. 151. Електронна мікрофотографія розміщення кристалів CaCO_3 палісадного шару шкаралупи курячого яйця (скол, представлена шкаралупа яйця від несучки домінант бурий Д-102, 15 тиждень яйцекладки) (8 000).

Наукове видання

Бордунова Ольга Георгіївна

**МІКРОСТРУКТУРА ШКАРАЛУПИ ПТАШИНИХ ЯЄЦЬ
ЗА НОРМИ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЯХ**

МОНОГРАФІЯ

Підписано до друку з готових депозитивів . Формат 60x84/16. Гарнітура
Pragmatica. Тираж 300 примірників. Вид. № . Зам. . Умовн. друк. арк. 10.
Обл.- вид. арк. . Ціна договірна.