

У **перспективі** результати проведених імунологічних тестувань будуть покладені в основу розробки комплексних схем лікування та профілактики пуерперальної інфекції корів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Апатенко В.М. Ветеринарна імунологія та імунопатологія / В.М. Апатенко. – К.: Урожай, 1994. – 360 с.
2. Маслянюк Р.П. Основи імунобіології / Р.П. Маслянюк // Вертикаль. – Львів, 1999. – С. 258–264.
3. Методичні рекомендації для оцінки та контролю імунного статусу тварин / Р.П. Маслянюк, І.І. Олесюк, А.І. Падовський [та ін.]. – Львів, 2001. – 87 с.
4. Иммуный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / [Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Г., Земсков В.М.]. – Х.: УНДІИЗВ, 1995. – 210 с.
5. Стан системи фагоцитозу при клінічному ендометриті та маститі у корів / [Боднар О.О., Желавський М.М., Керничний С.П., Горкуша Г.О.] // Вісник СНАУ. – №2 (11). – Суми, 2004. – С. 15-16.
6. Упрощений метод NBT-теста / [Бажора Ю.И., Тимошевский В.Н., Протченко П.З., Головченко А.Н.] // Лабораторное дело. – 1981. – №4. – С. 195-200.
7. Боднар О.О. Імунобіологічна реактивність організму корів за гнійно-катарального ендометриту / О.О. Боднар // Аграрний вісник Причорномор'я: Збірник наукових праць. – Одеса, 2008. – Вип. 42, Ч.1. – С. 207-212.

УДК 636.5.081.575

ПОРІВНЯЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТРАНСПОРТУВАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЧЕРЕЗ ШКАРАЛУПУ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ КУРЕЙ У ТЕХНОЛОГІЯХ "IN OVO"

Бордунова О.Г.

Постановка проблеми. Одним із новітніх перспективних підходів до нагальної проблеми підвищення виводимості інкубаційних яєць і якості молодняка сільськогосподарської птиці є регулювання обміну речовин пташиного ембріону протягом інкубації з використанням різноманітних фізико-хімічних чинників, зокрема біологічно активних речовин (БАР) синтетичного та природного походження. Незважаючи на те, що, як показано численними працями, у якості БАР можна використовувати різноманітні органічні та неорганічні речовини, і досі залишаються невирішеними певні аспекти не руйнуючого транспортування зазначених БАР через біокерамічний захисний бар'єр яєць – шкаралупу.

Стан вивчення проблеми. Проблема доставки БАР у зону розвитку ембріону досягається принципово різними методами. Одним з них є внесення БАР і вакцин в середину інкубаційного яйця («in ovo») за допомогою прецизійного голкового мікродозатора (технологія Embrex Inc., США). Проте, ця технологія передбачає локальне порушення цілісності біокерамічного шару. Відомі також технології регулювання обміну речовин пташиного ембріону у яких використовується пасивний і активний транспорт БАР через біокерамічний шар. Основним рушійним чинником першого є вільна дифузія речовин, що входять до складу БАР, через кальцитинний шар шкаралупи. До чинників активного транспорту відносяться прискорена дифузія та перенесення за допомогою "молекул-транспортів" та так званих "енхансерів" – речовин, підсилювачів процесів перенесення. Особливості обох підходів до траншкаралупного перенесення БАР поєднуються у технології „штучної кутикули" для інкубаційних яєць („ARTICLE" ("ARTIficial cutiCLE"). Відмітимо, що зважаючи на складну, багатокомпонентну та гетерогенну структуру біокерамічних і глікопротеїдних захисних шарів шкаралупи та над- і підшкаралупних мембран, докладних досліджень механізмів та кінетичних показників транспорту органічних речовин, які входять до складу БАР, різної молекулярної маси, форми та заряду не проведено.

Завдання і методика досліджень. Метою дослідження було порівняльне дослідження ефективності транспортування біологічно активних речовин через

шкаралупу інкубаційних яєць курей кросу Домінант бурий Д-102. В роботі використовували інкубаційні яйця (15-20 тижні яйцекладки), одержані від птиці, яку утримували у відповідності з усталеними нормами утримання та годівлі. Кінетичні параметри транспортування БАР через біокерамічні захисні бар'єри яєць вираховували виходячи з визначення концентрації БАР на поверхні і всередині яйця мас-спектрометричним методом (мас-спектрометр з іонізацією уламками поділу ^{252}Cf "МСБХ", (ВАТ "SELMI", Суми, Україна). Реактиви: креатинфосфат динатрієва сіль, 5% (Sigma, США); аденозинмонофосфат (AMP) (Sigma, США); глутамін (Глу) (Serva, Німеччина); цистеїн (Цис) (Reanal, Угорщина); диметилсульфоксид (ДМСО); α -циклодекстрин (α -ЦД) (Sigma, США). Склад модельного водного розчину БАР (MP-БАР) для проведення експериментів з визначення ефективності транспортування БАР в середину яйця: (AMP (0,1%) + Глу (0,1%)+Цис (0,1%) + креатинфосфат динатрієва сіль (0,1%). Концентрації речовин «енхансерів»: ДМСО (0,05-1,5%), α -ЦД (0,5-3,0%), L-ментол (0,5-2,5%), сполуки четвертинного амонію (ЧАС) – CID-20 (CID-Line, Бельгія) (0,5-2,0%). Дослідження ефективності транспортування БАР в середину яйця (n=144) проводили таким чином:

Контроль (Інтенсивність дифузії БАР за умов рівних температур зовні і всередині яйця): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл MP-БАР (термостат; вологість 95-98%; $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$; 12 годин);

Група 1. – (Вільна дифузія БАР за умов підвищеної температури всередині яйця): яйце, витримане у термостаті протягом 2 годин при рівні вологості 95-98%; $25\pm 0,2^{\circ}\text{C}$, занурювали на 15 хв. у розчин MP-БАР $15\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (водяний термостат);

Група 2. – (Речовина «енхансер» α -ЦД): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл MP-БАР + α -ЦД (0,5%) (термостат; вологість 95-98%; $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$; 12 годин);

Група 3. – (Речовина «енхансер» з групи терпенів (L-ментол): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл MP-БАР + L-ментол (0,5%) (термостат; вологість 95-98%; $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$; 12 годин);

Група 4. – (Речовина «енхансер» ДМСО): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл MP-БАР + ДМСО (0,05%) (термостат; вологість 95-98%; $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$; 12 годин);

Група 5. – (Речовина «енхансер» з групи ЧАС (CID-20): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл MP-БАР + CID-20 (0,5%) (термостат; вологість 95-98%; $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$; 12 годин);

Група 6. – (Гідравлічний удар): на ділянку бокової поверхні яйця діаметром 0,3 мм подавали розчин MP-БАР у імпульсному режимі (0,5 с) під тиском 2,5 атм протягом 2 хв. (прилад «УНП» ВАТ "SELMI", Суми, Україна);

Група 7. – (Електрофорез): на бокові поверхні яйця зверху і знизу накладали поролоніві шайби діаметром 1 мм, насичені розчином MP-БАР (по 1 мл). До шайб приєднували платинові електроди (напруга 3,5 В; постійний струм; 10 хв.; термостат $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$);

Група 8. – (Електророзпилення; „electrospray”) (діаметр крапель аерозолу розчину MP-БАР 200 нм - 1 мкм; напруга + 7 кВ, модифікований прилад “УНП”, ВАТ "SELMI", Суми, Україна; 18°C ; 120 с) (рис. 1);

Група 9. – (Фонофорез; сонофорез; ультразвукова обробка) (удосконалена технологія Акоюн В.Б. та ін., [9,10]; $18\pm 0,2^{\circ}\text{C}$; 22 кГц протягом 2-15 с) (рисунок).

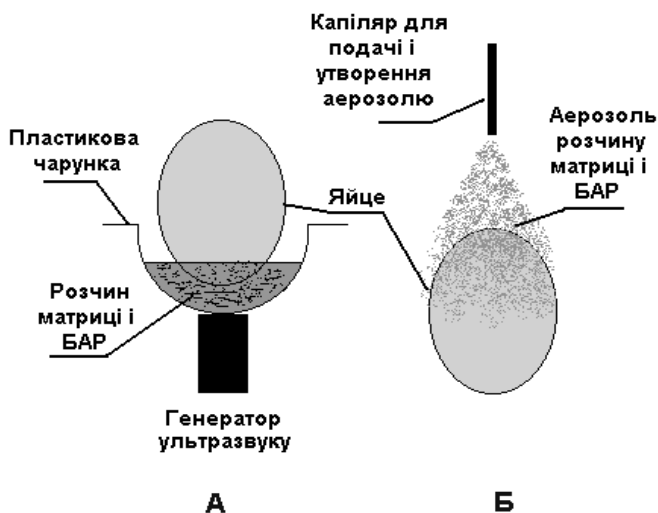


Рисунок 1 – Фонофоретичний метод (а); електророзпилення (обприскування) яйця аерозолем розчину МР-БАР (б)

Ступінь проникності біокерамічних шарів шкаралупи щодо модельної газової суміші яка є ідентичною атмосферному повітрю, вивчали методом

В.О.Бреславця та ін. та мас-спектрометричним методом (газовий мас-спектрометр "МХ 7304А", ВАТ "SELMI", Суми, Україна). Електронно-мікроскопічні дослідження проводили на скануючому електронному мікроскопі PEMMA-102 (SELMI, Суми, Україна); при обробці отриманих цифрових зображень для визначення кількості мікродфектів шкаралупи на одиницю площі цифрового зображення (Y; кількість каналів, %; таблиця), використовували програму Visilog 6.11 (Noesis, Бельгія). Результати експериментів (повторність не менше n=5-8) обробляли статистично з використанням пакету Statistica 5,1.

Результати досліджень. У таблиці наведені результати серії експериментів з порівняння ступеня ефективності методів транспортування БАР через біокристалічний шар шкаралупи. За контроль приймали кількість БАР, що надійшла шляхом звичайної дифузії протягом 12 годин при рівні вологості 95-98% і температурі $18 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; в середину яйця за умов рівних температур зовні і в середині яйця. По закінченні досліду краплю БАР на зовнішній поверхні шкаралупи підсушували, потім яйце обережно вивільняли від білку та жовтку, знову підсушували, після чого відбирали $0,5 \text{ см}^2$ шкаралупи з нанесеним на зовнішню поверхню шаром БАР, розламували на 2 однакових частини, які фіксували на поверхні диску для утримання зразку приладу "МСБХ" (одну частину зовнішньою поверхнею, другу внутрішньою. Таким чином, аналіз органічної складової зовнішньої і внутрішньої поверхонь шкаралупи дозволив провести порівняння у певному наближенні кількості БАР, що надійшла протягом інкубації в середину яйця. Так, у випадку звичайної дифузії в середину яйця надійшло $0,03 \pm 0,009\%$ від кількості БАР, що містилася на поверхні.

З таблиці видно, що показали, що найбільш перспективними чинниками для недеструкуючого перенесення БАР через біокристалічний шар є ультразвукова обробка (фонофорез, сонофорез), рослинні терпени (L-ментол), які вже використовуються в біотехнології як підсилювачі транспорту БАР через природні захисні структури (шкіра, біокераміка тощо), ДМСО і ЦД.

Зокрема, фонофоретична обробка інкубаційних яєць птиці кросу Домінант бурий Д-102 підвищує показник виводимості з вихідного значення 80,4% до 88,0% (+7,6). При цьому значно зростає газопроникність (до 1,91 з вихідного значення $1,48 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3/\text{м}^2 \cdot \text{с}$) (+0,43) за умов перенесення в середину яйця 79,2% БАР від сумарної кількості нанесених на поверхню яєць (табл.1).

Таблиця 1

Порівняння за ефективністю різних фізико-хімічних методів транспортування біологічно активних речовин (БАР) в середину інкубаційних яєць (крос Домінант бурий Д-102)

Групи	Вид транспортування	Вміст БАР в середині яйця, % від контролю	Y, %	Газопроникність, $10^{-4} \text{ м}^3/\text{м}^2 \cdot \text{с}$	Виводимість яєць, %	Від загальної кількості відходів інкубації, %		
						Кров-кільце	Задох-лики	Зав-мерлі
(К)	Контроль (інтенсивність дифузії БАР за умов рівних температур зовні і в середині яйця)	0,03±0,009	65,2±1,84	1,48±0,052	80,4±2,42	2,5	3,5	1,1
1	Вільна дифузія БАР за умов підвищеної температури в середині яйця	2,5±0,11**	65,0±2,33	1,48±0,091	81,1±3,10	3,8	2,57	1,0
2	Циклодекстрини (ЦД)	13,4±0,09**	65,6±0,71	1,56±0,173*	85,6±0,71*	2,68	2,5	2,0
3	L-ментол	58,2±0,27**	65,0±1,54	1,49±0,562	86,0±0,94*	2,96	2,7	2,0
4	Диметилсульфоксид (ДМСО)	65,1±0,14**	66,0±2,03	1,48±0,183	86,0±0,22*	3,85	2,2	1,56
5	Сполуки четвертинного амонію (ЧАС) CID-20	10,8±0,31**	65,6±2,40	1,44±0,114	82,8±1,61	2,58	2,78	2,14
6	Гідравлічний удар	22,1±0,05**	81,1±1,33**	1,51±0,273	81,7±0,40	3,85	3,5	1,67
7	Електрофорез	56,4±0,23**	78,0±3,44**	1,71±0,363**	86,0±2,33*	4,7	1,3	1,0
8	Електророзпилення	35,3±0,16**	69,4±1,73*	1,56±0,150*	82,8±2,03	1,2	1,2	1,75
9	Фонофорез	79,2±0,08**	74,0±2,11**	1,91±0,091**	88,0±1,10**	2,9	1,8	1,87

Звертає увагу відсутність однозначної кореляції між рівнем морфологічної “упорядкованості” біокерамічних шарів шкаралупи, яка у нашій роботі виражена через показник Y (кількість мікрodefектів у шкаралупі на одиницю площі цифрового зображення шкаралупи), і рівнем газопроникності біокерамічного шару і ефективністю транспортування БАР через останній. Так, кількість мікрodefектів біокерамічного шару на одиницю площі шкаралупи у порівнянні з контролем достовірно підвищується (+15,9%) під впливом “гідравлічного удару”, як і за використання фонофоретичної техніки (+8,8% щодо контролю). Проте, відповідне підвищення кількості БАР, що надійшли в середину

яйця ,складає +22,07% і 79,17% у порівнянні з контролем. Ці результати надають підстави до припущення наявності різних механізмів перенесення органічних сполук через біокерамічний шар у першому і другому випадках. Зокрема, фонофоретична технологія базується на використанні ультразвукового випромінення, якому притаманний так званий “сонокапілярний ефект”, який полягає у багаторазовому (іноді на порядки) підсиленні капілярного транспорту рідкофазових речовин у гетерогенних твердофазових середовищах.

В той же час, техніка “гідралічного удару”, яка добре зарекомендувала себе у пристроях для недеструкуючого перенесення рідкофазових речовин через мембранні системи живих тканин, у випадку твердофазових структур не є достатньо ефективною. В цьому аспекті більш ефективною виявилася техніка електророзпилювання - як видно з таблиці, кількість мікрodefektів біокерамічного шару на одиницю площі шкаралупи достовірно не відрізняється від контролю, проте ефективність трансшкаралупного перенесення БАР перевищує відповідний показник, притаманний техніці “гідралічного удару” на 58,1%.

Як випливає з наших даних, вельми перспективними є класичні речовини-“енхансери” - ДМСО і рослинні терпени (*L*-ментол). Ці речовини значно підвищують швидкість трансшкаралупного переносу БАР (+65,07% і 58,17% відповідно) і в той же час практично не впливають на ступінь упорядкованості гетерогенних шарів біокераміки (таблиця). ДМСО і *L*-ментол також позитивно впливають на показники виводимості яєць, хоча і не здатні підвищувати газопроникність біокерамічного шару.

Висновки:

1. Експериментально доведено, що для підвищення ефективності транспортування біологічно активних речовин (БАР) через біокерамічні шари шкаралупи інкубаційних яєць курей кросу Домінант бурий Д-102 доцільно використовувати ультразвукову обробку (фонофорез, сонофорез), речовини “енхансери”, зокрема рослинні терпени (*L*-ментол), ДМСО і ЦД.

2. Фонофоретична обробка інкубаційних яєць підвищує показник виводимості яєць на 7,6%. При цьому значно зростає газопроникність біокерамічного шару (на $0,43 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3/\text{м}^2 \cdot \text{с}$).

ЛІТЕРАТУРА:

1. Якименко І.Л. Регуляторна дія монохроматичного видимого світла нетеплової інтенсивності на розвиток птиці (за функціонуванням енергетичної, гідроксилуючої та антиоксидантної систем) І.Л. Якименко : автореф. дис. ... доктора біол. наук: 03.00.02; Київський нац. ун-т. - К., 2003. - 34 с.
2. Добренко А. Обработка яиц в магнитном поле // А.Добренко, П.Хвосторезов Птицеводство. - 1999. - № 4. - С. 21 – 22.
3. Кириллов Н.К. Электрофизические методы воздействия в технологии инкубации яиц // Н.К.Кириллов, Г.В.Новикова, О.В.Михайлова Изв. Нац. Акад. Науки и искусств Чувашской Респ. – 2001. - Т.5., № 2. - С. 63 - 68.
4. Иванов В.О. Влияние биологически активных веществ, введенных химическим способом в яйцо, на выводимость яиц мясных и яечных птиц // В.О. Иванов В.О. Сучасне птахівництво. - 2004. - № 4. - С. 2 - 3.

УДК 620.2 (075.8)

ВИЗНАЧЕННЯ КІСТКОВИХ ВКРАПЛЕНЬ В КОВБАСНИХ ВИРОБАХ.

Василенко О. О., Сорокіна Н.О.

Актуальність теми. Здоров'я нації визначає повноцінне харчування, яке забезпечує нормальний ріст та розвиток людини, сприяє профілактиці захворювань, продовженню життя, підвищенню працездатності та створює умови для адекватної адаптації її до навколишнього середовища. У більшості населення України існують порушення в харчуванні, обумовлені недостатнім споживанням мінеральних речовин,