

ФІЗІОЛОГІЯ, БІОХІМІЯ І ГОДІВЛЯ ПТИЦІ

УДК: 637.4.082.474:637.412

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИФфуЗИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В БИОКЕРАМИЧЕСКОМ ЗАЩИТНОМ СЛОЕ СКОРЛУПЫ ПТИЧЬИХ ЯИЦ

Бордунова О.Г., к. вет. н., доцент (bordunova_olga@rambler.ru)

Сумской национальный аграрный университет, г. Сумы

Резюме. В работе рассмотрены особенности диффузионных процессов компонентов защитного покрытия для инкубационных яиц кур в модельных условиях и в ходе инкубации. Показано, что хитозан, как базовый элемент технологии «искусственной кутикулы», характеризуется повышенными адсорбтивными свойствами по отношению к металлам и их соединениям (наночастицам оксидов титана и железа). Это позволяет сохранять высокий уровень биоцидной активности «искусственной кутикулы» по отношению к патогенной микрофлоре и предупреждать нежелательное поступление отдельных компонентов кутикулы вовнутрь яйца в зону развития эмбриона посредством естественной и усиленной диффузии.

Ключевые слова: куры, инкубационные яйца, скорлупа, диффузия, кальцит, микроэлементы, ультразвук.

В современных технологиях промышленной инкубации достаточно широко применяются подходы, связанные с транспортом биологически активных веществ через скорлупу инкубационных яиц посредством тех или иных физико-химических факторов. По мнению авторов таких работ, поступление указанных веществ в процессе прединкубационной обработки в зону развития эмбриона способствует повышению показателей выводимости и качества молодняка [1]. В то же время, громадное количество скорлупы, являющейся отходом птицеводческой отрасли (как промышленной инкубации, так и пищевой промышленности) обусловило повышенное внимание материаловедов к кальциту как дешевому сырью для производства всевозможных адсорбентов, композитных материалов и катализаторов, применяющихся в химической промышленности [2, 3]. Поскольку главным параметром по которому оцениваются адсорбенты, является их способность удерживать на поверхности вещества той или иной химической природы и в разных фазовых состояниях (жидко-, газо- и твердофазные) посредством нековалентных связей (электростатические, водородные, ван-дер-ваальсовы) в течение определенных

промежутков времени и значениях температур, приобретает некоторую дискуссионность вопрос о том, способны ли вещества, применяемые для прединкубационной обработки (как правило в жидкофазном состоянии), пересекать биокерамические защитные структуры скорлупы птичьих яиц и если да, то в каких количествах. Последнее приобретает особую значимость в силу использования в разработанной автором технологии «искусственная кутикула» (**ART**ificial cuti**CLE** - **ARTICLE**) [4,5] биологически активных веществ, способных диффундировать в кальцитовых (CaCO_3) составляющих сложных композитных структур скорлупы птичьих яиц.

Исходя из приведенного, целью настоящей работы является изучение диффузионных процессов (естественной диффузии и диффузии, усиленной ультразвуком) в аспекте переноса наночастиц оксидов титана и железа, а также микроэлементов марганца и цинка через биокерамический защитный слой скорлупы птичьих яиц.

Материалы и методы исследований. В работе использовали инкубационные яйца кур Хайсекс браун (42-я неделя яйцекладки), БАТ «Мирный», кислоторастворимый хитозан (рН 1% раствора в 1% уксусной кислоте 3,0. Сорбционная активность по ионам меди 80,3 мг/г, ПО «Биопрогресс», Щелково, РФ), диоксид титана TiO_2 , в анатазной кристаллической форме, ультра- и нанодисперсный (НИИ «МинДИП», Сумы), оксид железа Fe_2O_3 , (желтый железистоокисный пигмент, ультрадисперсный, ОАТ «Сумыхимпром», сульфат меди CuSO_4 , х.ч., диметилсульфоксид (ДМСО), х.ч. Источник ультразвукового облучения – УЗ-баня, объем 2 л., 22 кГц (Чехия). Состав композиции для формирования на поверхности инкубационных яиц кур «искусственной кутикулы» посредством мелкодисперсного распыления жидкофазного рабочего раствора препарата (диаметр капель до 5 мкм) следующий: хитозан -3,4, диоксид титана (TiO_2) в анатазной кристаллической форме (диаметр частичек 2,0-0,2 мкм) -3,8, желтый железистоокисный пигмент (оксид железа (III) Fe_2O_3 -2,5, сульфат меди (CuSO_4) - 1,25, микроэлементы (марганец, цинк) - 0,1 (где указано), вода до 100 масс.%. Инкубацию проводили по общепринятой методике (Бреславец и др.) [6]. Цифровые электронномикроскопические изображения и 2-D распределение элементов образцов скорлупы получали на растровом электронном микроскопе РЭМ-106и (БАТ SELMI, Сумы).

Результаты исследований. Прединкубационная обработка, заключающаяся в воздействии на яйца химических и физических факторов, целью которого является уничтожение патогенной микрофлоры на поверхности кутикулы и прилегающих слоев кристаллов кальцита скорлупы является обязательной составляющей всех известных на сегодня технологий инкубации [1,6,7]. Следует подчеркнуть, что, несмотря на обширный выбор препаратов, используемых в инкубации в настоящее время, одни из них недостаточно эффективны или же вызывают резистентность у представителей патогенной микрофлоры, другие, как, например, формальдегид, весьма токсичны для развивающихся эмбрионов и для персонала. Исходя из приведенного, в Сумском НАУ доц. О.Г. Бордуновой разработана

технология “Искусственная кутикула” (**ART**ificial cuti**CLE** – **ARTICLE**), заключающаяся в образовании на поверхности яиц защитной газонепроницаемой пленки толщиной 0,6-8,0 мкм из хитозана, как экологически безопасного и нетоксичного для млекопитающих и птиц вещества природного происхождения, которому присущи биоцидные свойства по отношению к патогенной микрофлоре [4,5]. Для усиления указанных биоцидных свойств в состав хитозановой пленки введены мощные окислители и катализаторы окислительных процессов, в ходе которых эффективно разрушаются органические вещества, являющиеся базовой составляющей патогенной микрофлоры (надуксусная кислота (НУК), пероксид водорода (H_2O_2), диоксид титана (TiO_2) и оксид железа (Fe_2O_3) в нано- и ультрадисперсном состоянии [8-10]. Теоретическим обоснованием для подбора наиболее эффективного состава композиции для получения защитного покрытия “искусственная кутикула” (**ARTICLE**) послужили современные тенденции в дезинфектологии, в частности, сочетание в одном препарате различных активных веществ с целью усиления в соответствии с синергетическими зависимостями биоцидной активности [11]. В то же время, данных о возможном поступлении вовнутрь инкубационного яйца, в зону развития эмбриона отдельных компонентов «искусственной кутикулы» путем диффузии явно недостаточно. Основываясь на приведенном, нами поставлены эксперименты по схеме (табл. 1).

Таблица 1

Схема эксперимента (n = 3-7)

Группа	Вид обработки (опрыскивание рабочим раствором (О); обработка ультразвуком (УЗ))	Дополни- тельные компонен- ты	Время высыхания – формирования «искусственной кутикулы»	Время УЗ
Контроль 1	О	-	5 мин	-
1	О	ДМСО	50 мин	-
2	УЗ	-	5 мин	10 с
3	УЗ	-	5 мин	60 с
4	УЗ	-	5 мин	5 мин.
5	О	Mn	5 мин	-
6	О	Zn	5 мин	-

Как видно из рис. 1, скорлупа контрольных инкубационных яиц (не подвергнутых обработке опрыскиванием рабочим раствором для получения «искусственной кутикулы») отличается высокой плотностью, упорядоченной структурой кристаллов кальцита и практически неповрежденным мамиллярным слоем, что характеризует такие яйца как обладающие высокими качественными характеристиками. Что касается элементного состава, то локальное определение последних показало, что по всему

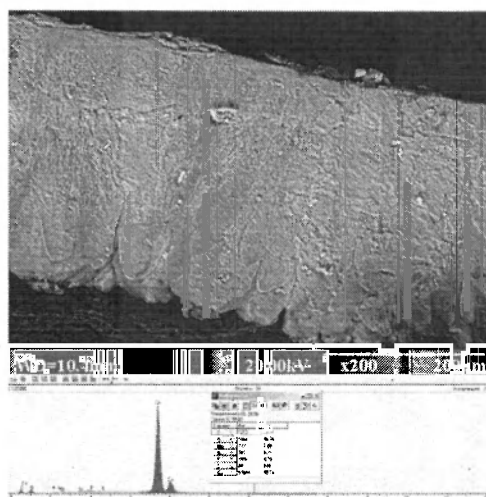


Рис. 1. Электронномикроскопическое изображение скола скорлупы контрольного яйца (без прединкубационной обработки).

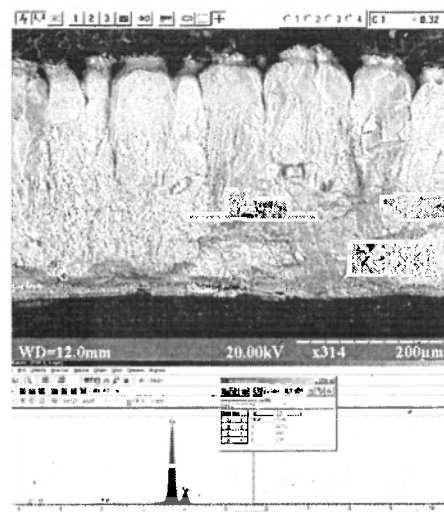


Рис. 2. Электронномикроскопическое изображение скола скорлупы яйца, подвергнутого действию ультразвука в рабочем растворе для получения «искусственной кутикулы» на протяжении 5 минут (Группа 4).

поперечному сколу в рентгеновском спектре преобладают интенсивные линии, принадлежащие кальцию (см. вкладку внизу к рис. 1.). Слева от линий кальция располагаются малоинтенсивные линии магния, фосфора,

серы, углерода и кислорода. Контроль 1 (см. таблицу 1) (инкубационные яйца, подвергнутые опрыскиванию рабочим раствором для получения «искусственной кутикулы с последующим пятиминутным высыханием») практически не отличается от необработанных ни по морфологии, ни по элементному составу биокерамического слоя скорлупы. То же самое можно сказать касательно яиц из группы 2 – внесение в состав рабочего раствора диметилсульфоксида (ДМСО), вещества, известного как мощный усилитель трансмембранного переноса веществ различной химической природы не оказало достоверного влияния на морфологические характеристики скорлупы и ее элементный состав по поперечнику скола – от поверхности до мамиллярного слоя. Это свидетельствует в пользу того, что достаточно вязкий, обладающий высоким положительным зарядом хитозан, оставляющий основу «искусственной кутикулы», обладает также высокими адсорбтивными свойствами, что не позволяет происходить переносу других химических составляющих кутикулы в сколь-нибудь значительных количествах по механизму пассивного диффузионного транспорта, а также транспорта, индуцированного переносчиками типа ДМСО.

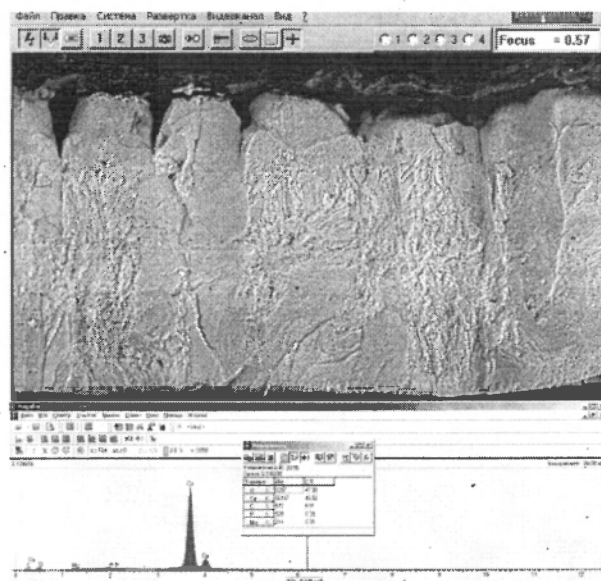


Рис. 3. Электронномикроскопическое изображение скола скорлупы яйца (после выведения цыпленка), подвергнутого перед инкубацией обработке опрыскиванием раствором для получения «искусственной кутикулы», дополненной марганцем ($MnCl_2$) 0,1 масс. % (Группа 5).

Ультразвуковое воздействие на скорлупу инкубационных яиц, проведенное по методу В.Б. Акопян [12] с модификациями, заключающееся в том, что инкубационное яйцо окунали на заданный промежуток вре-

мени в рабочий раствор, находящийся в емкости ультразвуковой бани. Как видно из рис. 2, морфология биокристаллических слоев кальцита претерпевает некоторые изменения – слои кальцита становятся более рыхлыми, разупорядочиваются, причем наибольшие изменения наблюдаются на внутренней стороне яйца – в мамиллярном слое. В то же время, хитозановый слой «искусственной кутикулы» и в таких, достаточно жестких условиях, сохраняет выраженные адсорбтивные свойства, поскольку элементный анализ поверхности скола скорлупы показал отсутствие каких-либо примесных элементов – как и в контроле в рентгеновском спектре образца преобладают интенсивные пики кальция.

Наконец, введение в состав рабочего раствора для получения на поверхности инкубационного яйца «искусственной кутикулы» соли марганца ($MnCl_2$), как определяемого с высокой чувствительностью «маркерного» элемента, показало, что хитозановый «матричный» слой кутикулы обладает способностью сохранять адсорбтивные свойства по отношению к ионам металлов и их соединениям на протяжении всего периода инкубации, в то время как морфологические параметры биокристаллического слоя скорлупы претерпевают определенные изменения (Рис. 3). Так, отмечено разрыхление кальцита в районе мамиллярного слоя внутренней поверхности яйца, откуда развивающийся эмбрион получает кальций для формирования костной ткани.

Заключение. Таким образом, в ходе изучения диффузионных процессов (естественной диффузии и диффузии, усиленной ультразвуком) установлено, что хитозан как базовый компонент газопроницаемого защитного слоя на поверхности инкубационного яйца обладает повышенными адсорбтивными свойствами по отношению к металлам и их соединениям (наночастицам оксидов титана и железа). Такая особенность хитозана позволяет конструировать сложные композитные системы на основе металлов и их оксидов для обеспечения, с одной стороны, повышенной биоцидной активности «искусственной кутикулы» по отношению к патогенной микрофлоре, с другой – гарантировать отсутствие транскорупного переноса указанных компонентов посредством естественной и усиленной диффузии кутикулы вовнутрь яйца в зону развития эмбриона с возможным последующим негативным воздействием на него.

Библиографический список

1. Бессарабов Б. Ф. Инкубация яиц с основами эмбриологии сельскохозяйственной птицы / Бессарабов Б. Ф. – М : Колос, 2006. – 264 с.
2. Mosaddegh E. Ultrasonic-assisted preparation of nano eggshell powder: A novel catalyst in green and high efficient synthesis of 2-aminochromenes / E. Mosaddegh // Ultrasonics Sonochemistry .- 2013. - V. 20, Issue 6. - P. 1436-1441.
3. Flores-Cano Jose Valente. Sorption mechanism of Cd(II) from water solution onto chicken eggshell / Flores-Cano Jose Valente, Leyva-Ramos Roberto, Mendoza-Barron Jovita [et. al.] // Applied Surface Science. - 2013. - V. 276. - P. 682-690.

4. Пат. 72945 Україна, МПК (51) *A61L 2/18* (2006.01). Композиція для захисту інкубаційних яєць курей. / О. Г. Бордунова, О. Г. Астраханцева, О. М. Байдевятова, В. Д. Чіванов: заявник та патентовласник Сумський НАУ. - № u 2011 12186; заявл. 18.10.2011, опубл. 10.09.2012, Бюл. № 17.
5. Бордунова О. Г. Нанокompозит хітозану і діоксиду титану у біоміметичній технології захисту інкубаційних яєць сільськогосподарської птиці / О. Г. Бордунова // Птахівництво: між вид. темат. наук. збірник. - Бірки, 2010. - Вип. 65. - С. 116-127.
6. Інкубація: [метод. посібник] / В. О. Бреславець, М. І. Сахацький, Б. Т. Стегній [та ін.]; ІП УААН. - Харків, 2001. - С. 56.
7. Solomon S. E. Egg and Eggshell Quality / S. E. Solomon. - London: Wolfe Publications Limited, 1990. - 182 p.
8. Alasri A. Bactericidal properties of peracetic acid and hydrogen peroxide, alone and in combination, in comparison with chlorine and formaldehyde against bacterial water strains / A. Alasri, M. Valderde, C. Roques // Canadian Journal of Microbiology. - 1992. - V. 38, № 7. - P. 635-642.
9. Markowska-Szczupak A. The application of titanium dioxide for deactivation of bioparticulates: An overview / A. Markowska-Szczupak, K. Ulfig, A. W. Morawski // Catalysis Today. - 2011. - V. 169. - P. 249-257.
10. Kumar M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications / M. N. V. R. Kumar // React. Funct. Polym. - 2000. - V. 46. - P. 1-27.
11. Russell Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection / Ed. By A. P. Fraiese, P. A. Lambert, J.-Y. Maillard. - UK: Blackwell Science Ltd., 2004. - 688 p.
12. Акопян В. Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии / В. Б. Акопян, Ю. А. Ершов - М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. - 224 с.

THE STUDY OF THE DIFFUSION PROCESSES IN BIOCERAMIC PROTECTIVE LAYER OF THE BIRDS EGGSHELL

Bordunova O.G., PhD (Veterinary),
Associate Prof. (Bordunova_olga@rambler.ru)

Sumy national agrarian university, Sumy

Summary. *The paper discusses the characteristics of diffusion processes components of protective coating for hatching eggs of chickens under model conditions and during incubation. Shown that chitosan as a base element technology "artificial cuticle", is characterized by high adsorptive properties to metals and their compounds (nanoparticles of titanium oxides and iron). This allows you to maintain a high level of biocidal activity of "artificial cuticle" in relation to pathogenic microflora and prevent unwanted entry of the individual components of the cuticle area inside eggs in embryo development and enhanced by natural diffusion.*

Key words: *hens, hatching egg, eggshell, diffusion, calcite, microelements, ultrasound.*

Наукове видання

ПТАХІВНИЦТВО

Міжвідомчий тематичний науково-виробничий збірник

Свідоцтво про державну реєстрацію
друкованого засобу масової інформації
серія КВ № 20049-9849 ПР від 29.04.2013 р.

Заснований у 1964 році

Випуск 70

Підп. до друку 18.12.2013 р.
Папір офсетний. Гарнітура Newton 7С.
Друк різнографія. Формат 64х90 ¹/₁₆.
Загальний наклад 100 прим.

Видавець: ТОВ «НТМТ», свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до державного реєстру видавців, виробників
і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 1748 від 15.04.2004 р.

Адреса видавництва:
м. Харків, пр. Леніна, 58, к. 106
ТОВ «НТМТ»
тел. +38 057 763-03-80, +38 057 763-03-72
E-mail: ntmt@mail.ru