

Міністерство освіти і науки України
Сумський національний аграрний університет

На правах рукопису

Бордунова Ольга Георгіївна

УДК 635.21:631.442./4+633

ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА РОЗРОБКА ІННОВАЦІЙНОЇ
ТЕХНОЛОГІЇ ПЕРЕДІНКУБАЦІЙНОЇ ОБРОБКИ ЯЄЦЬ КУРЕЙ

06.02.04 – технологія виробництва продуктів тваринництва

Дисертація на здобуття наукового ступеня
доктора сільськогосподарських наук

Науковий консультант:
доктор ветеринарних наук, професор
Чорний Микола Васильович

Суми – 2016

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	5
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ І ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	16
1.1. Особливості технології інкубації яєць курей	16
1.2. Сучасні технології в птахівництві для передінкубаційної обробки яєць курей	21
1.3. Хітозан, як речовина для створення біологічно-активних покрить	37
1.4. Морфологічні і біохімічні характеристики захисних біокерамічних структур яєць курей різних порід і кросів	49
1.5. Обґрунтування вибору напрямів досліджень	59
РОЗДІЛ 2. ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	61
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ..	86
3.1. Дослідження морфологічних параметрів біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей при порушеннях технології вирощування птиці	86
3.1.1. Дослідження морфологічних параметрів біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей у нормі	87
3.1.2. Вивчення впливу годівлі, утримання й догляду курей на якісні параметри біокерамічного захисного шару яєць	92
3.1.3. Визначення органічних складових біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей за норми та порушень технології вирощування птиці	102
3.1.4. Встановлення фазового складу біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей за умов порушень технології	

	вирощування птиці	111
3.2.	Мас-спектрометричний спосіб експрес-виявлення та ідентифікації антибіотиків в інкубаційних яйцях курей	116
3.3.	Розробка теоретичних та прикладних основ технології конструювання «штучної кутикули» для передінкубаційної обробки яєць курей	121
3.3.1.	Зміни морфологічних та функціональних параметрів природного захисного бар'єру яєць, спричинених класичними препаратами і складовими «штучної кутикули».	121
3.3.2.	Газопроникність захисних плівок «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію	136
3.3.3.	Методи утворення на поверхні шкаралупи інкубаційних яєць покриття «штучна кутикула» та їх зв'язок з транспортуванням біологічно активних речовин всередину яєць	138
3.3.4.	Особливості захисних плівок «штучної кутикули» на основі природної екологічно чистої речовини хітозану	142
3.3.5.	Розвиток технології «штучна кутикула» – композити типу «хітозан : ультра- , нанодисперсні оксиди металів»	145
3.3.6.	Дослідження дії складових речовин «штучної кутикули» на структурні показники та рівень газопроникності шкаралупи інкубаційних яєць курей	156
3.3.7.	Дослідження дифузійних процесів у біокерамічному захисному шарі шкаралупи яєць курей за використання технології «штучної кутикули»	168
3.3.8.	Біоцидна активність «штучної кутикули»	175
3.3.9.	Дослідження механізму біоцидної активності складових «штучної кутикули» на прикладі гемолітичної деструкції мембран еритроцитів	180
3.3.10.	Вивчення дії складових «штучної кутикули» на дихання та окислювальне фосфорилування мітохондрій	183

3.3.11.	Вплив пероксидних біоцидних сполук на молекулярні мішені живої клітини	188
3.3.12.	Вплив технології «штучна кутикула» на стан обміну речовин та імунний статус молодняку курей	191
3.4.	Оптимізація технології «штучна кутикула» до потреб сучасного практичного птахівництва	200
3.4.1.	Створення «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію	204
3.4.2.	Створення «штучної кутикули» ARTICLE на основі хітозану .	210
3.4.3.	Вивчення впливу передінкубаційної технології «штучна кутикула» на розвиток ембріонів та збереженість молодняку курей	232
3.4.4.	Визначення корозійної активності «штучної кутикули»	239
3.4.5.	Визначення залишків «штучної кутикули» на поверхнях обладнання інкубаторію у виробничих умовах	243
3.4.6.	Економічна ефективність застосування технології «штучна кутикула» при інкубації яєць курей	243
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ		248
ВИСНОВКИ		261
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		265
ДОДАТКИ		327

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

АДБМ	–	алкілдиметилбензиламмоний-хлорид
АТМ	–	алкілтриметиамоній -хлорид
АМР	–	аденозинмонофосфат
БАР	–	біологічно-активні речовини
Глу	–	глутамін
ДА	–	деацетилювання
ДМСО	–	диметилсульфоксид
ДДМБ	–	дидецилдиметилбензиламоній-хлорид
ДМ	–	демініралізація
ДП	–	депротеїнування
ІЛТ	–	інфекційний ларинготрахеїт
ІМДРЕ	–	імуномодуляторний рослинний екстракт
ККМ	–	критична концентрація міцелоутворення
КМІ	–	квазімолекулярні іони
КУО	–	колонії утворюючі одиниці
МР-БАР	–	модельний водний розчину БАР
«МСБХ»	–	біохімічний мас-спектрометр
НОК	–	надоцтова кислота
ПАР	–	поверхнево-активна речовина (сурфактант)
ПВС	–	полівініловий спирт
ПЕГ	–	поліетиленгліколь
ПМС	–	панциромістяча сировина
РЕ	–	рослинний екстракт
СЗЯ	–	Синдром зниження яйценоскості
TiO ₂	–	діоксид титану
УЗ	–	ультразвукові коливання

ФХ	–	фософрилхолін
ХМ	–	хвороба Марека
ХБК	–	хітин-білковий комплекс
ЦД	–	циклодекстрин
Цис	–	цистеїн
ЧАС	–	сполуки четвертинного амонію
ARTICLE	–	<i>ARTificial cutICLE</i> (“штучна кутикула”)
CID-20	–	дезінфектант на основі ЧАС
GMP	–	гуанозин-5-фосфат
n	–	чисельність вибірки
\bar{X}	–	середня арифметична величина
$S_{\bar{x}}$	–	похибка середньої арифметичної величини
PDMS (ПДМС)	–	плазмено-десорбційна мас-спектрометрія

ВСТУП

Актуальність теми. Виробництво продуктів птахівництва є однією з найважливіших складових світового та вітчизняного агропромислового комплексу і його важко переоцінити з позицій внеску у продовольчу безпеку. Реалізація основних напрямів державної політики в галузі забезпечення якості і підвищення конкурентоздатності продукції птахівництва визначається розробкою і впровадженням нових технологій, що дозволяють отримати якісну, екологічно-безпечну продукцію. Широке розповсюдження в птахогосподарствах України курей сучасних високопродуктивних яєчних кросів, переважно зарубіжної селекції, призводить до появи негативних наслідків. Так, однією з важливих проблем, яку необхідно розв'язати, є розробка заходів для запобігання погіршення якості інкубаційних яєць і, як наслідок, зниження виводимості яєць, яке притаманне сучасним яєчним кросам, зокрема тим, що відзначаються «надшвидким ростом». Погіршення якісних показників пов'язане, насамперед, з порушенням морфолого-біохімічних параметрів захисних біокерамічних структур яєць – шкаралупи і шкаралупних мембран, що призводить до бою яєць, підвищення відходу і контамінації інфекційними агентами молодняка птиці, зниження показників імунної резистентності, що у свою чергу, погіршує якісні показники продукції і завдає збитків птахогосподарствам, а також вимагає постійного удосконалення інкубаційних технологій [61, 86, 90, 94, 145, 155, 247-249, 275, 399].

Наведені негативні тенденції в сучасному племінному птахівництві потребують використання принципово нових підходів для їх подолання. Зокрема, один з перспективних напрямків полягає в удосконаленні існуючих і розробці нових технологій інкубації за біоміметичним (*biomimetics*, від *bios* – життя, *mimesis* – подібність) принципом, базовою основою якого є імітування природних структур клітин, органів, тканин за допомогою

натуральних та штучних складових з метою досягнення максимального рівня подібності структурно-функціональних характеристик штучних об'єктів до природних [170, 246, 288, 297, 323, 431, 450, 471, 474, 533]. Так, яскравим прикладом біоміметичної технології є технологія «штучної кутикули» («*ARTificial cutiCLE*» *ARTICLE*) для інкубаційних яєць, яка полягає в утворенні на поверхні яйця штучної захисної плівки, подібної за структурно-функціональними параметрами до природної кутикули пташиних яєць [179, 215, 244, 245, 333]. Захисна плівка являє собою полікомпонентне покриття для відновлення та посилення бар'єрних властивостей біокерамічних структур шкаралупи і шкаралупних мембран, якому притаманна біоцидна (антибактеріальна та антивірусна) активність, а також здатність оптимізувати газообмін ембріонів протягом інкубації та поліпшувати процеси обміну речовин ембріона і якість молодняка птиці.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота, виконана протягом 1998-2015 рр., є частиною комплексних програм науково-дослідних робіт Сумського національного аграрного університету: «Розробка, впровадження та еколого-економічна оцінка сучасних ветеринарно-санітарних заходів в птахівництві України» (державний реєстраційний номер – 0199U000548, 1999-2001 рр.), «Розробка захисної штучної кутикули для інкубаційних яєць: біохімічні та біофізичні аспекти» (державний реєстраційний номер – 0102U007421, 2002-2006 рр.); «Створення бази даних «Метаболічні параметри яєць курей» для удосконалення технології виробництва продуктів птахівництва в Україні» (державний реєстраційний номер – 0107U007962, 2007-2010 рр.), «Розробка теоретичних і експериментальних засад конструювання «штучної кутикули» (*NANOARTICLE*) для захисту інкубаційних яєць» (державний реєстраційний номер – 0107U007961, 2007-2010 рр.), «Використання технології «штучна кутикула» (*NANOARTICLE*) у птахівництві за екстремальних умов довкілля» (державний реєстраційний номер – 0112U003126, 2012-2015рр.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи були теоретичне обґрунтування та розробка інноваційної технології передінкубаційної обробки яєць курей з використанням створених за біоміметичним принципом захисних покриттів «штучна кутикула» для підвищення виводимості яєць та збереженості молодняку птиці.

Для виконання поставленої мети вирішували наступні завдання:

— вивчити дію негативних чинників на структурні, біохімічні, біофізичні і фізіологічні характеристики біокерамічного захисного шару яєць курей різних порід та яєчних кросів;

— розробити інструментальний спосіб для швидкого та непрацемісткого визначення залишкових кількостей антибіотиків в інкубаційних яйцях курей;

— піддати аналізу існуючі технології інкубації яєць курей сучасних високопродуктивних кросів на основі оцінки впливу стану біокерамічного захисного шару яєць на параметри ембріогенезу і якісні показники молодняку птиці;

— розробити та обґрунтувати теоретичні основи конструювання за біоміметичним принципом «штучної кутикули» – препарату для передінкубаційної обробки яєць курей на основі хіміко-біологічних процесів утворення на поверхні яйця захисної газопроникної плівки, до складу якої входять носій-матриця (екологічно безпечний біополімер хітозан), ультра-, нанодисперсні частки оксидів металів, що зумовлюють високоефективне окислення органічних речовин (TiO_2 , Fe_2O_3 , Fe_3O_4) та біоцидні пероксидні сполуки (надоцтова кислота, пероксид водню);

— розробити методи формування на поверхні біокерамічного захисного шару інкубаційних яєць покриття «штучна кутикула»;

— удосконалити існуючі технології інкубації яєць курей сучасних високопродуктивних кросів на основі використання в якості ключової ланки покриття «штучна кутикула» відповідного хімічного складу;

— сформувати концепцію сучасної інноваційної технології інкубації яєць курей з використанням екологічно-безпечного захисного покриття «штучна кутикула» для захисту ембріонів від негативних чинників біотичного та абіотичного походження;

— провести виробничі перевірки та розробити пропозиції виробництву.

Об'єкт дослідження – процес розробки технології передінкубаційної обробки яєць з використанням біоміметичного принципу «штучна кутикула».

Предмет дослідження – виводимість яєць, збереженість молодняку курей за умов використання різних складових захисного покриття «штучна кутикула», біохімічні показники крові та резистентності організму птиці, біоцидна активність композиції «штучна кутикула», структурні, біохімічні, біофізичні і фізіологічні характеристики біокерамічного шару інкубаційних яєць курей за норми та при порушенні технологічних процесів вирощування птиці, корозійна активність складових препарату «штучна кутикула».

Методи дослідження: технологічні (дослідження існуючих та розробка нових технологій інкубації яєць з використанням методів дезінфекції на основі використання «штучної кутикули»), зоогігієнічні (параметри мікроклімату приміщень), ембріологічні, морфологічні, біохімічні (показники крові), імунологічні (показники неспецифічного імунітету), токсикологічні (ступінь токсичності та нешкідливості препаратів), мікологічні (чутливість мікроміцетів родів: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* до дезінфікуючих засобів), бактеріологічні (дія біоцидних складових «штучної кутикули» стосовно *S. aureus*, *E. coli*), фізико-хімічні (мас-спектрометрія, просвічуюча та растрова електронна мікроскопія, полярографічне визначення кисню, рентгенівська дифракція), комп'ютерна обробка цифрових зображень, статистичні методи.

Наукова новизна одержаних результатів. Основні результати, що визначають наукову новизну проведеного дослідження полягають у наступному:

Вперше:

— розроблено та науково обґрунтовано концепцію використання інноваційної конкурентоспроможної технології інкубації яєць курей на основі принципово нового підходу до захисту інкубаційних яєць;

— в технології інкубації яєць курей запропоновано до використання екологічно безпечну речовину природного походження хітозан для створення на поверхні шкаралупи захисної біоцидної газопроникної плівки, яка позитивно впливає на розвиток ембріона курей та забезпечує підвищення виводимості яєць і збереженості курчат;

— сконструйовано, створено та впроваджено у практику біоміметичну технологію «штучна кутикула» на основі хітозану, пероксидних сполук і каталітично-активних ультра-, нанодисперсних часток оксидів заліза і титану для захисту інкубаційних яєць курей від несприятливих для розвитку ембріонів біогенних та абіогенних чинників; розроблені експериментальні методи формування на поверхні шкаралупи природного біокерамічного захисного шару інкубаційних яєць біоміметичного покриття «штучна кутикула»;

— розроблено та запропоновано мас-спектрометричний спосіб визначення антибіотиків у інкубаційних та харчових яйцях.

Удосконалено методичні підходи для аналізу біокерамічних захисних структур яєць з використанням сучасних фізико-хімічних і комп'ютерних методів; експериментально доведено, що хімічний склад «штучної кутикули» має бути коригованим залежно від порід і кросів курей, а також стану здоров'я птиці.

Поглиблено теоретичні знання щодо біологічних особливостей захисного біокерамічного шару яєць курей залежно від їх належності до породи чи кросу, умов утримання курей-несучок та інкубації яєць.

Набули подальшого розвитку дослідження щодо аналізу структурних, біохімічних, біофізичних і фізіологічних параметрів біокерамічного захисного шару яєць курей сучасних високопродуктивних яєчних кросів за норми і порушень технологічних процесів їх вирощування.

За результатами досліджень одержано вісім патентів на винахід (Додаток В).

Практичне значення одержаних результатів. Результати науково-дослідницької роботи впроваджено у практику ВАТ Птахорадгосп «Мирний» Сумського району Сумської області (акти від 25.05.2006 р.; 23.11.2006 р.), ТОВ «Буринський інкубатор» Буринського району Сумської області (26.05.2005 р.), ВАТ Племптахорадгосп «Посульський» с м т Недригайлів Сумської області (довідка від 02.10.2003 р.), ВАТ «Птахогосподарство ім. Путивльських партизан» Путивльського району Сумської області (довідка від 04.07.2003 р.), фермерського господарства «Князівське» Білопільського району Сумської області (акт від 17.09.2006 р.), ТОВ «Колос АгроТрейд» Конотопського району Сумської області (акт від 18.03.2006 р.), ФОП «Яровой В.І.» Сумського району Сумської області (акт від 20.08.2014 р.), ТОВ «Авіс-Україна» Сумського району Сумської області (акт від 26.04.2015 р.), ДПДГ АФ «Лосинівська» Ніжинського району Чернігівської області (акт від 25.10.2011 р.), ППУП «Якимовичі-Агро» Калинковичського району Гомельської області (акт від 11.06.2015 р.) та сільськогосподарського унітарного підприємства «Дудичі-Агро» Калинковичського району Гомельської області Республіки Білорусь (акт від 12.05.2015 р.) (Додаток А).

Основні положення дисертації використовуються в навчальному процесі за спеціальностями 6.090102 і 8.09010201 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», 6.110101 «Ветеринарна медицина» при викладанні професійно-орієнтованих дисциплін «Ветсанекспертиза м'яса», «Гігієна тварин», «Біотехнологія», «Клінічна біохімія» у Сумському національному аграрному університеті (акт від 25.05.2015 р.). (Додаток Б).

На підставі проведених досліджень і отриманих результатів підготовлено і запропоновано до впровадження сім методичних розробок: науково-практичні рекомендації «Використання плазмово-десорбційної мас-спектрометрії в дослідженнях продуктів птахівництва та тваринництва» (затверджені Науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини

України, протокол № 2 від 25.12.2008 р.); «Використання дезінфікуючих препаратів у промисловому птахівництві» (затверджені Науково-методичною радою колегії Головного управління ветеринарної медицини в Сумській області, протокол № 2 від 19.04.2013р.); «Технології захисту інкубаційних яєць курей з використанням композитів хітозану і оксидів металів (TiO_2 , Fe_2O_3)» (затверджені Науково-методичною радою колегії Головного управління ветеринарної медицини в Сумській області, протокол № 2 від 19.04.2013р.); «Профілактика хвороби Марека» (затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства агропромислового комплексу України від 22.12.1999 р.); «Економічні, екологічно чисті та нешкідливі сануючі засоби групи ПАР пролонгованої дії для дезінфекції інкубаційних яєць, технологічного устаткування та прихованих вогнищ інфекції (затверджені вченою радою Сумського державного аграрного університету, протокол № 9 від 29.06.1998 р.); «Методичні рекомендації по удосконаленню і впровадженню у виробництво економіко-екологічних, технологічних і ветеринарно-санітарних заходів по виробництву м'яса бройлерів на Україні» (затверджені вченою радою Сумського державного аграрного університету, протокол № 9 від 29.06.1998 р.); «Економіко-екологічні, технологічні і санітарно-гігієнічні основи підвищення ефективності виробництва яєць у птахівничих господарствах України» (затверджені вченою радою Сумського державного аграрного університету, протокол № 9 від 29.06.1998 р.).

Особистий внесок здобувача. Здобувачем самостійно розроблено програму досліджень, проведено аналіз і узагальнення матеріалу, виконані експериментальні, аналітичні роботи, статистичні обробки отриманих результатів. Автор особисто здійснила аналіз літератури за темою дисертаційної роботи, теоретично обґрунтувала та експериментально підтвердила наукову концепцію та її напрямки, вперше створила новітню технологію передінкубаційної обробки яєць «штучна кутикула», розробила та удосконалила інструкції, схеми, методики щодо проведення передінкубаційної обробки яєць, здійснила експериментальні дослідження в лабораторних і

виробничих умовах, проаналізувала та узагальнила одержані результати, сформулювала висновки та рекомендації для практичного застосування розробленої технології «штучна кутикула» в умовах птахівничих господарств. Автором самостійно виконано весь обсяг експериментальної частини роботи (за винятком імунологічних, біофізичних та біохімічних досліджень, які проводилися сумісно зі співробітниками центральної міської лікарні м. Суми, відділів №20 і №30 Інституту прикладної фізики НАН України, м. Суми), особисто проведено аналіз цифрових зображень електронних мікрофотографій, а також узагальнення результатів досліджень. Здобувач здійснила ряд аналітичних досліджень, частину із яких було проведено спільно з іншими науковцями, за що висловлює їм глибоку вдячність. Результати проведених досліджень опубліковано зі співавторами.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи представлені на II Українській конференції з птахівництва (Борки, 1996 р.), на міжнародній науково-практичній конференції «14-th International Mass Spectrometry Conference» (Tampere, Finland. – Tu, 1997), на міжнародній науково-практичній конференції «11-th European Symposium on Water fowl» (NANTES, France, 1997), на міжнародній науково-практичній конференції «10-th European Poultry Conference «The poultry Industry Towards 21st Century» (Jerusalem, Israel, 1998), на I Всеросійській науково-методичній конференції ветеринарної фармакології і токсикології (Київ, 1998 р.), на міжнародній науково-практичній конференції «Quality of Eggs and Eggs Products» (Proceedings of the European Symposium held in Bologna, Italy, 1999), на Міжнародній науково-практичній конференції «Научно-прикладные аспекты состояния и перспективы развития животноводства и ветеринарной медицины» (Курск, 2001 г.), на науково-практичній конференції «Проблеми становлення галузі тваринництва в сучасних умовах» (Вінниця, 2005 р.), на 2-му з'їзді українського товариства клітинної біології (Київ, 2007 р.), на міжнародній конференції «Нанорозмірні системи. Будова-властивості-технології» (Київ, 2007 р.), на V Міжнародній

конференції «Птахівництво-2009» (Судак, 2009 р.), на міжнародній конференції «Nanobiophysics: Fundamental and Applied aspects» NBP-2009» (ФТІНТ ім. Б. І. Веркіна НАН України, Харків, 2009 р.), на міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Молодежь и инновации – 2009», присвяченій 170 – річниці УОБГСХФ, (Горки, Республіка Білорусь, 2009 р.), на міжнародній науково-практичній конференції «Зоотехнічна наука Поділля: історія, проблеми, перспективи» (Кам'янець-Подільський, 2010 р.), на міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Молодежь и инновации – 2013» (Горки, Республіка Білорусь, 2013 р.), на 2-й Міжнародній науково-практичній конференції «Нанотехнології і наноматеріали» (Львів, 2014 р.), на міжнародних та щорічних науково-практичних конференціях професорсько-викладацького складу СНАУ (Суми, 1996-2014 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації видано 75 публікацій, у тому числі чотири монографії, з них три у співавторстві; 30 статей у фахових виданнях, чотири з яких зареєстровані в науково-метричних базах (дві – в науково-метричній базі *Scopus*); п'ять статей у періодичних виданнях інших держав; 16 – у матеріалах та тезах конференцій, з яких сім – у матеріалах конференцій інших держав; 10 статей у наукових періодичних виданнях суміжних галузей науки. За темою дисертації одержано вісім патентів України. Опубліковано сім методичних рекомендацій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 385 сторінках комп'ютерного тексту і включає: вступ, огляд літератури за темою та вибір напрямів досліджень, загальну методичку й основні методи досліджень, результати експериментальних досліджень (чотири розділи), аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки. Дисертаційна робота містить 49 таблиць, 55 рисунків, дев'ять додатків. Список літератури нараховує 560 джерел, у тому числі 390 іноземних.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ І ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1. Особливості технології інкубації яєць курей

Інкубація або штучне виведення молодняку є важливою ланкою в технології виробництва продукції птахівництва. Цех інкубації розміщують в окремому приміщенні, на певній відстані від основних цехів виробництва, з підведеними під'їзними шляхами з твердим покриттям, водопроводом, каналізацією і надійним електропостачанням. У ньому обладнують інкубаційні й вивідні зали, кімнати для сортування яєць і курчат, камеру для газациї та лабораторію. В інкубаційному залі встановлюють інкубатори типу: «Універсал-45», «Універсал-50», «Універсал-55», ІКП-90 та ін. Інкубатор складається з однієї або кількох камер (боксів), оснащених комплектом лотків для вкладання яєць і обладнанням для їх розміщення в камері чи боксі. До інкубаційного залу примикає вивідний, але він надійно ізолюваний, щоб пух і органічний пил не потрапляли в інкубаційні шафи інкубаторів. Температуру повітря в цеху інкубації підтримують на рівні 18-20 °С, а відносну вологість – до 60%. Приміщення забезпечують вентиляцією [21, 67].

Для інкубації відбирають яйця від курей-несучок батьківського стада після досягнення ними восьми місячного віку. Яйця піддають дезінфекції парою формальдегіду в спеціальних камерах, розміщених безпосередньо у пташниках, через кілька годин після знесення, що захищає їх від потрапляння інфекції всередину та поширення хвороб. У деяких господарствах яйця дезінфікують не у пташниках, а в спеціальних герметичних камерах інкубаційного цеху. Після цього їх зберігають у приміщенні яйцескладу за температури 8-12 °С і вологості повітря від 70 до 80%. Перед інкубацією яйця сортують візуально (за зовнішніми ознаками) та просвічуванням на овоскопі.

Під час зовнішнього огляду враховують їхню масу, форму, стан і якість шкаралупи; під час просвічування звертають увагу на розміри й положення повітряної камери, стан градинок, положення та рухливість жовтка, наявність у яйці включень [21, 82].

Згідно встановлених стандартів непридатними для інкубації вважають яйця неправильної форми (круглі, довгі, здавлені), з дефектами шкаралупи (бій, насічка, тонка шкаралупа, вапняні нарости), зміщеною або блукаючою повітряною камерою, кров'яними та м'ясними включеннями, старі, насиджені тощо.

Племінні яйця курей мають бути правильної форми з непошкодженою шкаралупою і масою не менше ніж 52 г. У 1 г жовтка яйця повинно бути: вітаміну А – не менше 6 мкг, каротиноїдів – 18 і вітаміну В₂ – 4 мкг.

Оскільки ембріональний розвиток птиці відбувається поза материнським організмом, режим інкубації потребує відповідних умов зовнішнього середовища, тобто певної температури, вологості та обміну повітря в інкубаторі. Важливою умовою при цьому є тепло. Під його впливом відбуваються ріст і розвиток плода протягом усього періоду інкубації. В сучасних інкубаторах середню температуру повітря підтримують на рівні 37,5 °С з коливанням від 36,8 до 38,2 °С. Посилене обігрівання яєць необхідне лише в перші 4-8 днів інкубації. В подальшому підвищена температура пригнічує розвиток зародка, а в разі тривалого перегрівання ембріон гине. З метою запобігання перегріванню ембріонів періодично (через 2-3 години) контролюють температуру поверхні яєць. Якщо вона перевищує зазначений рівень, то температуру повітря в інкубаторі знижують і застосовують охолодження. При цьому яйця охолоджують до 32-34 °С впродовж 15-30 хв [21, 67, 82].

Необхідною умовою нормального розвитку ембріонів є наявність обміну повітря між яйцем і навколишнім середовищем. Через вентиляційну систему інкубатора здійснюється заміна відпрацьованого насиченого вуглекислим газом повітря на свіже, збагачене киснем. На початку інкубації обмін повітря

мінімальний. У міру розвитку ембріонів і завантаження інкубатора його поступово збільшують і доводять до 13-18 разів за добу.

Важливий фізичний чинник інкубаційного режиму – відносна вологість повітря. В перші 7-9 днів інкубації висока відносна вологість (60-64%) позитивно впливає на розвиток ембріонів, а низька, навпаки, пригнічує його. В наступні дні, особливо після замикання алантоїса, її підтримують у межах 50-52%. Під час інкубації яйця автоматично перевертають під кутом 45 °. Для перевірки правильності режиму інкубації проводять зважування контрольних лотків на 6, 12 і 18-й день. Якщо втрата маси відповідає нормі (на 6-й день – 3%, 12-й – від 7 до 8%, 18-й – 12%), процес інкубації відбувається нормально [67, 82].

На 19-й день інкубації яйця переносять із інкубаційного у вивідний зал, де на 21-й день починається виведення курчат, при цьому відносну вологість підвищують до 65-75%. Першу вибірку курчат проводять після того, як виведеться й обсохне 70-75% молодняку від загальної кількості закладених яєць, наступну – через 8-10 год. Усього за час виведення здійснюють одну, а у більшості випадків дві-три вибірки.

Курчат через 8-12 год після виведення розподіляють за статтю (формою статевих горбиків), розміщують у ящики розміром 60 x 60 см і відправляють у цех вирощування ремонтного молодняку [21, 62, 87].

Якість яєць, призначених для інкубації – найважливіший показник для достовірного прогнозування виводимості і життєздатності потомства [21, 71, 113, 155, 343, 417, 435, 438, 520]. На якість яєць впливають різні фактори: годівля й умови утримання птиці, мікроклімат пташника, устаткування гнізд тощо. Велике значення має чистота і цілісність шкаралупи [11, 77, 79, 148, 205, 213, 338, 408, 504, 513]. Останні десятиліття в Україні ознаменувалися створенням, появою на ринку й значному росту практичного застосування різноманітних асортиментів дезінфікуючих засобів різного призначення. Сучасні дезінфікуючі засоби повинні мати широкий спектр антимікробної дії, бути зручними в застосуванні, мати миючі властивості і не бути корозійними, а

токсикологічні параметри повинні дозволяти застосування їх у присутності тварин та людей [12, 76, 94, 112, 416].

Аналіз вітчизняної і зарубіжної літератури показав, що для обробки інкубаційних яєць у даний час застосовують як хімічні речовини [1, 4, 10, 413], так і фізичні біоцидні фактори: ультрафіолетове й іонізуюче випромінювання, ультразвук низької частоти, високочастотні електромагнітні поля, високотемпературну обробку, опромінення гелій-неоновим лазером [8, 20, 73, 90, 115, 151, 156].

Хоча багато дезінфікуючих речовин доступні, найчастіше для обробки інкубаторіїв використовують четвертинні амонієві сполуки, феноли й альдегіди [94, 105, 130]. Проте дезінфікуючі речовини необхідно використовувати строго в тих цілях, для яких вони призначені й відповідно до розроблених рекомендацій.

При виборі дезінфектантів необхідно керуватися наступним:

- ефективність деяких дезінфектантів проявляється негайно. Для інших дезінфектантів необхідний певний час контакту з мікроорганізмами. Якщо протягом 30 хвилин контакту із препаратом мікроорганізми не гинуть, то його необхідно замінити [65, 472, 478];

- вибираючи дезінфікуючу речовину необхідно враховувати епізоотичну ситуацію даного господарства. Якщо в інкубаторії спостерігається неблагополучна ситуація по якому-небудь захворюванню, то в першу чергу необхідно застосовувати дезінфектанти для погашення джерела інфекції. Не всі дезінфікуючі речовини ефективні стосовно різних збудників [105, 497, 532];

- необхідно між операціями очищення й дезінфекції ретельно промивати оброблювані поверхні водою. Багато виробників пропонують препарати подвійної дії – для очищення й дезінфекції одночасно. Такі препарати досить ефективні й економічно вигідні. При застосуванні таких препаратів необхідно переконатися, що вони відповідають всім вимогам дезінфекції, які пред'являються до інших дезінфікуючих речовин;

- дезінфікуючі препарати необхідно застосовувати на ретельно висушених поверхнях. Якщо поверхня залишилася вологою, хоча й чистою, вона більш легко й швидко реконтамінується мікроорганізмами. Сухі поверхні ефективніше контактують з дезінфектантами, і це краще охороняє від збудників хвороб;

- вибираючи дезінфікуючу речовину необхідно знати, як вона діє на ембріон, що розвивається. Зародки, особливо на тих стадіях розвитку, коли переходять на легеневе дихання, особливо чутливі до дії препаратів [59, 87, 465, 472, 475].

Необхідно відзначити, що яйце не виробляється в стерильних умовах. Після знесення воно піддається контамінації мікроорганізмів, що може призвести до загибелі ембріона. Природа передбачила мережу захисних бар'єрів для зародка. Персонал інкубаторію повинен коректно поводитись з яйцями, щоб не порушити захисні системи ембріона [62, 87, 131].

Необхідно, щоб поверхня інкубаційного яйця була сухою, тому що проникненню мікроорганізмів через шкарлупу усередину яйця сприяє рідке середовище, і це є потенційною небезпекою зараження ембріона.

Зародки, як і курчата, що вилупилися, вимогливі до чистого повітря. Їм необхідно тепло, вологість і високоякісне джерело повітря. Вони дуже чутливі до парів хімічних препаратів, які розпоршуються в інкубаторії або навіть навколо інкубаторію. Пари дезінфікуючих засобів можуть негативно впливати на розвиток ембріона. Тому не рекомендується застосовувати речовини з різким задушливим запахом. Наприклад, при неправильному використанні фенолу, його пари можуть викликати зміни в білковій структурі яйця й вплинути на якість курчат [64, 468, 497].

Неправильний вибір або використання багатьох дезінфікуючих речовин, можуть ушкодити обладнання й призвести до його псування. Багато речовин можуть роз'їдати й ушкоджувати частини обладнання. Дезінфектанти, які застосовуються у вигляді аерозолів, можуть попадати у воду, яку

використовують у зволожувачах устаткування, а також на пристрої керування електронікою, і це також може призвести до псування обладнання.

Отже, з викладеного вище видно, що необхідною умовою виробництва високоякісної птахівничої продукції є постійний пошук в удосконаленні технологічних процесів інкубації яєць курей.

1.2. Сучасні технології в птахівництві для передінкубаційної обробки яєць курей

Дія фізичних способів дезінфекції заснована на знищенні патогенних мікроорганізмів на предметах, що підлягають знезаражуванню, шляхом впливу ряду фізичних факторів. До них відносяться термічні засоби (спалювання, сухе гаряче повітря, пара водяна, кип'ятіння), сонячне світло, ультрафіолетові промені, ультразвук, радіоактивне випромінювання [158, 166, 240, 481].

Термічні засоби – це використання високої температури, за допомогою якої можна знищити самі стійкі форми патогенних мікроорганізмів, включаючи й спорові (вогонь, гаряче повітря, суха й волога водяна пара, кип'ятіння), з дотриманням відповідної експозиції.

Спалювання предметів, що не представляють цінності (сміття, залишки їжі) у печах, ямах, на багаттях.

Сухе гаряче повітря проявляє бактерицидну і спороцидну дію, але за ефективністю уступає парі. Під його впливом спори гинуть при температурі від 160 до 180 °С.

Пара водяна – високоактивний знезаражуючий агент, що проникає в середину оброблюваних предметів. Її використовують у парових стерилізаціях у вигляді насиченої пари під тиском при температурі від 110 до 134 °С, також у дезінфекційних камерах.

Кип'ятіння. Вода при температурі 100 °С є надійним і зручним засобом знезаражування багатьох предметів, які не псуються при такій обробці. Шляхом кип'ятіння протягом 15-30 хвилин знезаражують предмети, контаміновані

вегетативними формами мікроорганізмів. При наявності спор мікроорганізмів тривалість кип'ятіння збільшують до 1,5-2 годин. Бактерицидна дія кип'ятіння підсилюється при додаванні у воду 2% натрію гідрокарбонату або мила. Більшість патогенних мікроорганізмів гине при температурі від 60 до 70 °С протягом 30 хвилин.

Сонячне світло знищує багатьох збудників інфекційних захворювань. У літні місяці сонце є важливим чинником у зниженні бактеріального забруднення зовнішнього середовища. Цей ефект викликається короткохвильовими ультрафіолетовими променями сонячного спектра.

Радіоактивне випромінювання має антимікробну активність відносно всіх мікроорганізмів і їхніх спор. Деякі види радіоактивного випромінювання (іонізуюче) застосовуються з метою стерилізації й дезінфекції.

Фільтрація – у наш час широко застосовується метод фільтрації повітряного середовища шляхом застосування фільтрів, що забезпечують механічну затримку мікроорганізмів. Серед них використовуються різні типи: глибинні (фільтри Петрянова), мембранні й інші види фільтрів. Із сучасних розробок слід зазначити електрофільтри, дія яких заснована на іонізації повітря, що проходить повз них, й осадженні в електричному полі не тільки наявної в ньому мікрофлори, але й інших включень (пилові частки тощо). Саме цим досягається якісне тотальне очищення повітря. Застосування електронного фільтра «Ггее» (Росія), в котрому в якості вентилятора і іонізатора використається «іонний вітер», гарантує затримку мікроорганізмів до 99,9 %.

Механічні прийоми знезаражування засновані на видаленні патогенних мікробів і їхніх переносників шляхом струшування, вибивання, обробки приміщень пилососом, вологого збирання, вентиляції тощо [73, 484].

Доцільно в ряді випадків використовувати механічні прийоми з фізичними й хімічними засобами знезаражування.

Аналіз вітчизняної і зарубіжної літератури показав, що для обробки інкубаційних яєць застосовують як хімічні речовини [65, 117, 378, 169, 189, 532], так і фізичні біоцидні фактори: ультрафіолетове й іонізуюче

випромінювання, ультразвук низької частоти, високочастотні електромагнітні поля, високотемпературну обробку, опромінення гелій-неоновим лазером [7, 90, 167, 479, 482, 532].

Найбільш простим методом «фізичної» дезінфекції яєць є опромінення ртутно-кварцовими лампами типу ПРК-2, ПРК-7 протягом 2-30 хв. на відстані 0,8 м від інкубаційних лотків. Зокрема, для профілактики хвороби Марека у пташниках і інкубаторіях було запропоновано постійне знезаражування повітря ультрафіолетовими променями з попередньою фільтрацією [73, 131, 139, 546].

Для дезінфекції яєць рекомендується і озон, що отримується шляхом електросинтезу на спеціальних установках «Озон-2М», «Озон-2М-02», ДС-1, ОП-4, «Озон-180» та ін. Обробку яєць озоном проводять в концентрації 0,3-1 г/ м³ протягом 60 хвилин при температурі 15-20 °С та відносній вологості 50-70% [480, 494].

Однак, вище зазначені способи дезобробки достатньо ефективні тільки при дезінфекції чистих яєць, оскільки озон і пари формальдегіду не спроможні проникати під шар забруднення на шкаралупі. Тому в останній час широке розповсюдження набула волога дезінфекція з використанням водних розчинів різних миюче-дезінфікуючих препаратів на основі ПАР: 0,3% Віркона, 0,1% Септодора, 0,2% АТМ, 0,25% ВВ-1, 0,5% розчином глютекса чи бромосепта-50, 1% розчину Віркона-С та ін. [522]. Проте незважаючи на високу ефективність застосування формаліну для передінкубаційної обробки яєць, він не є перспективним дезінфектантом через його загрозу здоров'ю людей (сильну запальну та канцерогенну дію, токсичність, імовірну здатність спричинити захворювання на астму тощо). Тому в ряді країн формалін не рекомендують або навіть забороняють використовувати там, де його залишки можуть спричинити шкоду здоров'ю працівників. Через це в наш час триває процес створення нових, менш шкідливих для людини дезінфектантів, які за ефективністю дії на мікроорганізми не поступались би формаліну [309, 400, 485].

Озон — сильний окислювач, тому має бактерицидну, віруліцидну і спороцидну дію. Він не виявляє шкідливої дії на пластмасу, фарби, прилади і

обладнання дезінфекційних камер, проте руйнує вироби з гуми. Його отримують за допомогою генераторів різних типів: РГО-1, ЛГО-15, Озон-1м, Озон-2м-02 із кисню повітря. Озонатори розміщують всередині дезкамери. Концентрація озону в камері підтримується на рівні 330-500 мг/м³, дезінфекція триває 60 хвилин при температурі повітря 8-30 °С та відносній вологості 50-70%. Заборонено використовувати в присутності тварин, птиці та персоналу [369, 486].

Запропоновано знезаражування яєць лазером ОКГ-12 при потужності випромінювання 0,3 мВт/м². Для попередження зараження яєць мікрофлорою їх дезінфікують парами формальдегіду в спеціальних камерах, контролюючи температуру (від 20 до 37 °С) і відносну вологість (70-90%) [482].

Щодо ефективності ультразвуку (УЗ) у якості підсилувача швидкості трансмембранного перенесення БАР, то він використовується в біології та медицині протягом досить довгого часу з терапевтичною та діагностичною метою. УЗ притаманні властивості підвищувати проникність клітинних мембран, прискорювати метаболічні процеси внаслідок інтенсифікації внутрішньо- та міжклітинної дифузії біомолекул, стимулювати за умов малої інтенсивності (до 2-3 Вт/см²) за частоти 10⁵-10⁶ Гц розвиток тканин, окремих органів та суцільного організму протягом ембріогенезу та постембріонального розвитку. Останнім часом певного розвитку набули дослідження в галузі використання УЗ в якості ефективного метода («сонофорез», «фонофорез») трансмембранного транспорту біологічно-активних речовин, фармакологічних агентів, високомолекулярних білків і генів [6, 402, 487, 494, 508, 510]. Дія УЗ забезпечує ступінь інтенсифікації транспорту зазначених речовин в десятки і сотні разів. Зокрема, В. Акопян та ін. [6] використовували УЗ з метою як неструктивного транспорту антибіотиків (сонофорезу) через шкаралупу в середину неушкодженого інкубаційного яйця, так і підвищення показника виводимості курчат внаслідок стимуляції ембріонів.

В технології передінкубаційної обробки яєць курей використовують препарати, що складаються з різних груп хімічних речовин. Для обробки

приміщень, устаткування, тари і т. п. використовують дезінфектанти. До цієї групи сполук належать речовини, яким притаманна здатність знищувати мікроорганізми (але не обов'язково їх спори) і які в той же час ушкоджують живі тканини. Найбільш характерними речовинами даної групи є: хлор, гіпохлорити, сполуки хлору, сульфат міді, четвертинні амонієві сполуки [266, 386, 544]. Антисептики, це сполуки, що мають здатність знищувати мікроорганізми, але в той же час не визивають небезпеки при потраплянні на шкіру чи слизуваті оболонки. Типовими прикладами таких речовин служать похідні ртуті, нітрат срібла, розчини йоду, спирти і детергенти [138, 307, 489].

Дезінфектанти й антисептики підрозділяються, виходячи зі ступеня їх небезпеки для слизуватих оболонок (точніше, для глікопротеїдів, що входять до складу зазначених тканин). В окремих випадках ступінь небезпеки визначається концентрацією сполук. Зокрема, гіпохлорит натрію можна додавати до питної води, а такий потужний дезінфектант «*Chlorox*» украй токсичний для ссавців [243, 555].

Обробка хімічними методами інкубаційних яєць передбачає застосування речовин, що мають бактерицидну, бактеріостатичну і фунгіцидну активність. З хімічних засобів для дезінфекції широко застосовують луги, кислоти, окислювачі, хлормісткі й альдегідмісткі препарати, а також антибіотики. Однак, птахівники країн Західної Європи, Америки та ін. з розвиненим 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 [129, 272, 421, 509].

Деякі з цих дезінфікуючих речовин, наприклад формальдегід, в умовах підвищеної вологості коагулюють поверхневий лізоцимний 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 розвиток ембріона

особливо в другий період інкубації, коли ембріони мають потребу в надходженні свіжого повітря [60, 61, 405, 448].

До групи антибактеріальних сполук належать хімічні речовини, що знищують або пригнічують ріст мікроорганізмів. Ця група включає також консерванти й антисептики, а також, деякою мірою лікарські засоби, що вживаються для лікування інфекційних захворювань. Антибактеріальні сполуки можуть бути синтетичними чи натуральними [187, 207, 274, 384, 425].

Для передінкубаційної обробки яєць використовують різні дезінфектанти. Класичним серед них вважається формалін [9, 174, 319, 541]. Формалін (*Solutio Formaldehydi*) представляє собою 35-40% водний розчин формальдегіду. Це прозора рідина, без кольору, що має своєрідний різкий запах, подразнює слизову оболонку очей та носоглотки. Крім формальдегіда містить метиловий спирт, завдяки котрому формалін не полімеризується. Формалін змішується з водою у любых співвідношеннях. Препарат необхідно зберігати в темному прохолодному місці. При зберіганні мутніє через випадання осадку білого кольору (параформальдегіду). Гарантійний строк зберігання – три місяці від дня виготовлення. Після проходження вказаного терміну перед використанням препарат необхідно перевірити на відповідність його якості умовам стандарту ДСТУ1625-75. В основі механізму дії формаліну на мікробну клітину лежить його здатність вступати в реакції з білками [171]. При цьому відбувається денатурація білків і утворення нових сполук з іншими властивостями [5].

Формалін проявляє бактерицидну, віруліцидну, спороцидну, фунгіцидну активність. 1%-вий розчин формальдегіду вбиває спори збудника сибірки через 24 години, 3%-вий – через 5 годин, а 5%-вий – через 3 години.

Формалін не викликає корозію металів, не псує матеріали, що піддаються знезараженню. Формалін використовують для вологої, аерозольної та параформалінової дезінфекції [129, 132, 143, 168].

Одним з поширених способів дезінфекції яєць є їх обробка парами формальдегіду. При цьому до закладання яєць в інкубаційні шафи інкубатора пропонується проводити дезінфекцію два рази: першу у пташниках для

курей-несучок після 2-4 годин від закінчення їх збирання і другу – при доставці яєць до яйцескладу. Крім того, за існуючою технологією інкубації їх дезінфікують двічі у період інкубації: перший раз безпосередньо перед їх закладанням в інкубаційні шафи – у спеціальних дезінфікуючих лотках і другий раз – у вивідній шафі (для курей на 19 добу) після перенесення яєць із інкубаційної у вивідну шафу [130, 138]. Пари формальдегіду потрібної концентрації отримують шляхом змішування формаліну із марганцевокислим калієм із розрахунку: 30-40 мл формаліну, 30-45 мл води і 20-35 г марганцевокислого калію на 1 м³ камери. Експозиція газової обробки складає 30 хвилин після закінчення реакції [105, 116, 142].

Формальдегід може бути використаний для дезінфекції і іншими способами: шляхом змішування з вапном 1:1 чи його випаровуванням, а також у вигляді аерозолу із розрахунку 20 мл формаліну на 1 м³ приміщення при експозиції 30 хвилин.

Можна проводити дезінфекцію аерозолем формаліну шляхом розпилення розчину компресором. Для цього використовують на 1 м³ камери 35-40 мл формаліну. Експозиція 30 хвилин.

Слід зазначити, що заборонено використовувати формальдегід в присутності тварин, птиці та персоналу [115, 154].

Дезінфекцію препаратами йоду можна використовувати в виключних випадках при несприятливій епізоотичній ситуації в господарствах, особливо при аспергильозі. Для приготування розчину алюмінієву пудру і йод кладуть до ексикатору на дно камери, потім додають воду і швидко герметизують двері камери. Йод, алюміній і вода вступають в реакцію, утворюючи йодистий алюміній. Експозиція 20-25 хвилин. Така обробка можлива тільки в тому випадку, якщо в господарстві є умови для такої обробки [105, 109].

Однохлористий йод має сильну фунгіцидну дію на міцеліальний збудник аспергильозу і на його спори, а також на збудників грибкових хвороб птиці. Йод і хлор виділяють із препарату у вигляді однохлористого йоду у вільному стані. Найкраще співвідношення компонентів таке: однохлористий йод 33,3 мл,

марганцевокислий калій 10,0 і йодистий калій 2,6 г із розрахунку на 1 м³ камери при експозиції 30 хвилин.

До недоліків йодмістких препаратів слід віднести високу корозійну активність на технологічне обладнання, гідроліз і в зв'язку з цим низьку кумулятивність [116, 138].

Також до недоліків вище зазначених препаратів слід віднести їх значні витрати, короткочасну дію, а в деяких випадках високу канцерогенність [115, 168].

В птахівничих господарствах використовують препарат йодезолу, що представляє собою густу червоно-коричневу рідину зі слабким запахом йоду. До його складу входять йод, триетиленгліколь та активуючі добавки. Розчиняється в воді, утворюючи червоно-коричневий розчин. Має протизапальну дію. В аерозольному вигляді дезінфікує повітря і санує дихальні шляхи птиці [129, 142].

Глутаровий альдегід – рідина жовтуватого або коричневого кольору зі слабким характерним запахом. У чистому вигляді глутаровий альдегід швидко полімеризується в тверду масу. Залежить від температури – інактивується холодом. Проявляє високу токсичність і запальну дію, вірогідний астмаген. Швидко інактивується у зовнішньому середовищі. Потрібний тривалий час контакту [100, 143, 171].

Глутаровий альдегід не викликає корозію металів не тільки у формі аерозолів, але і при вологій обробці.

Глутаровий альдегід проявляє широкий спектр дії щодо збудників хвороб і при правильному використанні знешкоджує всі форми мікрофлори, включаючи бактеріальні і грибкові спори, збудника туберкульоза, віруси. 2%-вий розчин глутарового альдегіду вбиває вегетативні мікроби протягом двох хвилин [105, 115].

Дезінфікуючі речовини в бактерицидних концентраціях пригнічують окислювано-відновлювані процеси. При цьому подавляється здатність бактеріальних клітин до розмноження. Бактерицидна дія глутарового альдегіду

настає внаслідок руйнування транспортних білків цитоплазматичної мембрани, зниження активності дихальних ферментних систем, що призводить до зменшення надходження до клітини необхідної енергії [109, 138].

Для практичного використання рекомендують лужні розчини глютарового альдегіду (рН 7,5-8,0). Однак такі розчини необхідно використовувати протягом 14 діб у зв'язку із значним зниженням активності при зберіганні. Для підвищення протибактеріальної та спороцидної активності кислотних розчинів в якості синергістів додають катіонні поверхнево-активні речовини, неіонні, аніонні або неорганічні катіон-аніонні поверхнево активні сполуки [453, 533]. Для стабілізації додають пероксид водню, або феноли, або фенолят металу [449]. Такі розчини можуть зберігатись роками. Глутаровий альдегід випускається в металевих ємкостях від 10 до 200 кг згідно ТУ 6-02-1273-84.

Сполуки глютарового альдегіду використовують в складі дезінфікуючих препаратів для обробки тваринницьких приміщень, обладнання, залізничних вагонів. При обробці необхідно дотримуватись правил безпеки [129, 142]. У птахівництві набули поширення такі препарати цієї групи, як Біоконтакт і Буцин [112].

Для обробки птахівничих приміщень використовують групу дезінфікуючих засобів, що розроблені на основі полімерних біоцидних препаратів – поліалкілгуанідини (ПАГ). Дезінфектанти на основі ПАГ мають широкий спектр біоцидної дії по відношенню до мікроорганізмів і пролонгований ефект. Вони малотоксичні і безпечні для людей, тварин і навколишнього середовища [19, 63, 100, 164].

Широкі можливості ПАГ пов'язані з відносно великою реакційною здатністю гуанідинових груп. При різних хімічних перетвореннях низькомолекулярні сполуки втрачають свої біоцидні властивості. На відміну від них ПАГ проявляє пролонговану дію [65, 88, 142, 168]. Це пояснюється тим, що дані сполуки при багатьох хімічних реакціях зберігаються, оскільки гуанідинові групи об'єднані в загальний полімерний ланцюг і в хімічній реакції бере участь лише частина з них [109, 138, 145].

Низька токсичність ПАГ проявляється завдяки тому, що в організмі теплокровних є ферментні системи, що викликають деградацію гуанідинвмістких полімерів. Першою стадією метаболізму фосфату чи хлориду ПАГ є заміна хлоридного чи фосфатного аніона на аніон глюконату. Гідроліз гуанідинових груп відбувається з перетворенням їх на сечові, а деструкція полімерних ланцюгів – на окремі фрагменти [89, 94, 129, 174]. До даної групи належать препарати «Полідез», «Біодез», «Вантоцил».

Для дезінфекції приміщень, устаткування та обладнання інкубаторію та пташників добре зарекомендували себе дезінфектанти на основі пероксидних сполук, до яких належать надоцтова кислота (НОК) та пероксид водню.

Надоцтова кислота, як прекрасний біоцидний продукт, відома вже майже сторіччя. Перший комерційний продукт надоцтової (пероцтової) кислоти був отриманий у 1910 році, проте найбільш широкого розповсюдження у Європі зазнав тільки з початку 70-х років. На сьогодні загальноновизнаним є те, що препарати на основі надоцтової кислоти є найбільш ефективними і екологічно безпечними дезінфектантами. Ці сучасні препарати являють собою оптимізовані, чотирикомпонентні стабілізовані продукти оцтової кислоти, води, пероксиди водню і надоцтової кислоти.

Наразі ведуться успішні дослідження з поєднання надоцтової кислоти з іншими біоцидними діючими речовинами, зокрема сполуками четвертинного амонію [118, 128, 191, 198, 252, 382].

Молекули надоцтової кислоти є базовим інгредієнтом в усіх стабілізованих препаративних формах і являють собою потужний окислювач, який діє на мікроорганізми як ззовні, так і зсередини, 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 [138, 171, 188].

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 [142, 144].

Останнім часом встановлено, що 1-3%-ві концентрації надощтової кислоти можуть мати канцерогенну дію. Особливо небезпечними може бути вдихання парів при використанні аерозолів в локальних зонах з високими концентраціями.

Для Німеччини максимально допустимою нормою НОК в повітрі робочого приміщення вважається концентрація цієї речовини на рівні 5 мг/м³ [143].

Таким чином, під час роботи з надощтовою кислотою слід дотримуватися правил безпеки. Необхідно носити захисну одягу, окуляри, рукавички, а якщо є така можливість – працювати під витяжкою [144].

Необхідно також вказати і на переваги НОК: продуктами її розпаду є оцтова кислота і вода, котрі не проявляють небезпечної дії на оточуюче середовище. НОК має меншу стабільність, ніж пероксид водню [168].

НОК проявляє потужну корозійну дію. Як окиснювач вона роз'їдає метали, такі як конструкційна сталь, залізо, латунь, мідь, навіть якщо вони вкриті захисним покриттям, нікельовані або хромовані. Також сильно ушкоджуються цемент, будівничі матеріали, що містять вапно та каучук. Порівняно корозійностійким є алюміній. Інертні до дії НОК скло, фарфор, поліетилен та полівінілхлорид [144].

На цей час є комерційно доступними декілька препаратів на основі надощтової кислоти: *DIVOSAN AKTIV*, Неосептал, «Криодез», «АКВАдез-НУК» та ін. [128, 138, 169].

Пероксид водню (H₂O₂) (ДСТУ 61-75.) широко використовується 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 пероксиду водню досить нестабільний, призводить до місцевого подразнення шкіри і, у порівнянні з іншими дезінфектантами, має низьку бактерицидну активність. Рідкофазова форма дезінфектантів на основі пероксиду водню не є оптимально технологічною, що спонукає дослідників до пошуку твердофазових

пероксидних сполук. Додавання активаторів (йодиду калію, фториду калію, ацетилсаліцилової кислоти) дозволяє значно підвищити активність пероксиду водню і твердих пероксидних сполук – пероксикарбонату натрію (персоль), пероксигідрату карбаміду (гідроперит), пероксиборату натрію [163, 169, 512].

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

Шляхом поєднання пероксиду водню і фториду калія вдалося отримати препарат у твердій формі – пероксигідрат фториду калію, який отримав назву «Ниток». На основі пероксиду водню і сполук четвертинного амонію (ЧАС) були створені активні дезінфектанти з поліпшеними фізико-хімічними властивостями: Грилен, ПВК, Перамін, Пемос-1 [145, 188, 204].

При використанні розчини пероксиду водню швидко піддаються руйнації до нетоксичних продуктів – води та кисню, в концентраціях від 1 до 3% мають бактерицидні властивості, 4% – фунгіцидну і 6% – спороцидну дію [174, 378].

Для передінкубаційної дезінфекції яєць курей пропонують обробку пергідролем. Дана технологія полягає у наступному: яйця в лотках занурюють у ванну з 3% розчином пергідролу на 1,5-3 хвилини. Температура дезінфікуючого розчину повинна бути 39-41 °С (на 5-6 °С вища за температуру яєць). При використанні більш холодних розчинів відбувається всмоктування всередину яйця води, бактерій, хімічних речовин. Для стабілізації 3% робочого розчину пероксиду водню додають молочну або оцтову кислоту із розрахунку 0,5% кислоти до загального об'єму розчину пероксиду водню [184].

Препарати *Virkon* та *Virkon C*, що випускаються фірмою "КРКА", Словенія (торгова марка *Antec International Limited*; EAN:3838989502669; № П N0395-57/12-2002, 2002-02-08 от КРКА (Словенія), представляють собою

збалансовані суміші пероксидних сполук, поверхнево-активних речовин, органічних кислот і неорганічної буферної системи.

Основний компонент – персульфат калію (50%). Використовують 1% розчин препарату для дезінфекції обладнання, інструментів, посуду. Експозиція – 10 хвилин.

Virkon C 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. [259, 522].

Virkon C 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.

Для профілактичної дезінфекції вільних від тварин та птиці приміщень, а також для вимушеної дезінфекції при хворобах бактеріальної і вірусної етіології використовують 2м% розчин препарату *Virkon C* методом розприскування з нормою витрачання 0,3-0,5 л/м² поверхні і експозицією три години. Після закінчення встановленої експозиції поверхні в приміщенні та обладнання необхідно промити водою і просушити.

За токсичністю *Virkon* та *Virkon C* відносяться до третього класу помірно небезпечних речовин при введенні у шлунок і до четвертого класу при нанесенні на шкіру (ДСТУ 12. 1. 007-76) [198, 522].

Засоби для дезінфекції, 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 [1, 3, 105, 267, 278, 463, 529].

Катіонні детергенти також є ефективними антистатиками і додають поверхням гідрофобні властивості. ЧАС можуть мати самостійну біологічну активність, а також служать диспергаторами для інших сполук [67, 86, 93, 138, 256, 367, 415]. Перелік катіонних поверхнево-активних речовин, що застосовуються в складі композицій зі стерилізуючими і дезінфікуючими властивостями дуже великий.

Наявність нової патентної інформації з цього питання служить свідченням неабиякого інтересу до перспектив практичного використання антибактеріального і противірусного ефектів ЧАС [23, 66, 85, 277, 304, 480].

Аналіз літературних даних з проблем застосування ЧАС в дезінфекції дозволяє констатувати, що поліпшення характеристик композицій, що містять детергенти, йде в основному двома шляхами. Перший з них – це синтез нових, більш ефективних антисептиків, другий – комбінування відомих ЧАС з різними добавками [72, 96,97, 126, 256, 313, 325, 440, 455, 536].

В останні роки синтезована значна кількість нових катіонних детергентів, що мають виражені антимікробні властивості. Найбільша кількість розробок присвячена вишукуванню як мономерних, так і полімерних ЧАС [99, 250, 257, 372, 429, 446].

До основних представників ЧАС, що виявляють бактерицидні властивості, відносяться: алкілдиметилбензиламонійхлорид, цетилтриметиламонійбромід, N-Цетилпіридинійхлорид, N-Алкіл-N-етилпіперидинійетилсульфат, ізо-Октилфеноксietокси-2-етилдиметилбензиламонійхлорид (бензетоній-хлорид), додецилдиметил-2-феноксietиламонійбромід (доміфенбромід), алкілди-(2-гідроксietил)-метиламонійхлорид [223, 276, 308, 318, 418, 447].

Особливо високою активністю відрізняється алкілдиметилбензиламмонийхлорид (алкіл переважно C₁₃₋₁₂₋₃₁₆), відомий як «Катамін АБ» чи АДБМ. На золотавий стафілокок він діє як бактериостатик уже в концентрації 1/200 тис.ч. води. АДБМ ефективний і у відношенні спор; так, спори *Bacillus subtilis* АДБМ у концентрації 1:200, 1:1000 і 1:2000 руйнує відповідно за 30 с, одну і три хвилини. Грам-позитивні бактерії більш чутливі, ніж грам-негативні до солей ЧАС.

Мінімальну концентрацію інгібування солі ЧАС виявляють у відношенні до *S.pyogenes* і *S.aureus*, більш вищу – до *C.albicans*. Вони менш ефективні у відношенні до *P.aeruginosa* та грибкових [138, 145].

Четвертинні амонієві сполуки – катіонні поверхнево-активні речовини, антистатики з протигрибковою і антибактеріальною дією. Мають гарні емульгуючі та змочувальні властивості, помірну піноутворюючу і миючу здатність [228, 261, 282, 452].

ЧАС мають противірусну дію до грампозитивних і деяких грамнегативних мікроорганізмів, у тому числі бактерій групи кишкових паличок, стафілококів, стрептококів, сальмонелл. Активні у відношенні до бактерій, грибів і вірусів [159, 172, 186, 239, 299, 534, 540, 538].

Після закінчення дезінфекції вологі поверхні підсихають, органічні речовини концентруються в середині пористих матеріалів і на гладких поверхнях, перетворюються в найтоншу, невидиму для ока плівку [168, 234, 263, 456, 558].

Після висихання і втрати бактерицидної активності органічних речовин, що були діючими, на них швидко розмножуються мікроорганізми, використовуючи їх як середовище живлення і виробляючи резистентність до даного виду дезінфектанту [236, 265, 290, 457, 481].

Таким чином, ЧАС рекомендовані до застосування в складі технічних миючих засобів, коли немає безпосереднього контакту з харчовими продуктами або є можливість достатнього ополіскування і постійного контролю на повноту змивання. За умови достатнього ополіскування, резистентність мікроорганізмів

до дезинфікуючих засобів, у котрих активною діючою речовиною являються четвертинні амонієві сполуки, розвивається повільно і не досягає епідемічного значення [242, 267, 296, 371, 483].

Прикладом успішного застосування препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) є миючо-дезінфікуючі засоби – «Біомол КС-3», «Біомол КС-3С» і «Біомол КС-3Н». Вони цілком відповідають вимогам, запропонованим до дезинфікуючих засобів для санітарної обробки об'єктів у харчовій промисловості [145, 248, 370, 488].

Практично всі дезинфікуючі препарати в нативному вигляді або в концентрованих розчинах подразнюють шкіру, слизуваті оболонки очей і верхніх дихальних шляхів. При роботі з препаратами варто дотримуватися запобіжного заходу [157, 242, 310].

Безпечне застосування засобів, що мають миючо-дезінфікуючі властивості, у харчовій промисловості допускається при умовах повного видалення їхніх залишкових кількостей з оброблених поверхонь після завершення дезінфекційної експозиції і промивання водою. Повноту видалення залишків миючого засобу контролюють методом визначення повноти змиття ЧАС [220, 245, 528].

Узагальнюючи даний матеріал, можна зробити висновок, що миючо-дезінфікуючі засоби на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) мають ефективну антимікробну дію, досить економічні, безпечні, забезпечують якісне очищення і дезінфекцію оброблених поверхонь [200, 206, 212]. Їх використання скорочує час обробки і є економічно вигідним. Основна вимога до даних препаратів – повне видалення їхніх залишкових кількостей з оброблених поверхонь після завершення дезінфекційної експозиції [208, 271].

До препаратів ЧАС належать: декаметоксин, Катамін АБ, препарати групи ВВ, Атм-Арома, *CID 20*, *Virocid*, *Dexid-200* тощо. Дані препарати використовують як дезінфектанти та антисептики для санації приміщень [2, 110, 199, 201, 397, 495, 518].

Отже, незважаючи на багаторазову показану ефективність препаратів на основі ЧАС у боротьбі з інфекційними хворобами птиці, їм притаманна і негативна дія щодо ембріонів, зумовлена утрудненням процесів дифузії кисню, диоксиду вуглецю та інших газів через біокристалічний шар шкаралупи [219, 273, 459]. Крім того, препарати даної групи є екологічно негативними речовинами. Вони, як і сполучення групи гуанідинових препаратів, достатньо довго піддаються деструкції у природному середовищі. Більшість з препаратів мають закордонне походження, велику вартість, недостатню ефективність. Ця тенденція призводить до пошуку нових екологічно безпечних речовин природного походження для створення препаративних форм, що можуть бути використані в технології передінкубаційної обробки яєць курей.

1.3. Хітозан, як речовина для створення біологічно-активних покриттів

Біополімери хітин і хітозан привернули увагу вчених майже 200 років тому. Хітин був відкритий в 1811 р. (Н. Brasconnot, А. Odier), хітозан – в 1859 р. (С. Rouget), хоча свою нинішню назву отримав у 1894 р. (F. Норре-Seyleyler). У першій половині ХХ ст. до хітину і його похідних був проявлений заслужений інтерес, зокрема до нього мали безпосереднє відношення три Нобелівських лауреата: Е. Fisher (1903) синтезував глюкозамін, Р. Каггег (1929) провів деградацію хітину за допомогою хітінази і, нарешті, W. N Haworth (1939) встановив абсолютну конфігурацію глюкозаміну [108].

У Росії перші роботи щодо хітина відносяться до 1933-1934 рр., хоча широкомасштабні дослідження були розпочаті близько 30 років тому. Зараз інтерес до цих біополімерів небувало зріс. Чим більше вчені дізнаються про властивості хітину та хітозану, тим ширше сфера їх практичного застосування – з кожним роком виникають зовсім нові і несподівані напрямки. До основних напрямів використання хітозану можна віднести медицину, сільське господарство, косметологію і харчову промисловість [108, 140, 396].

Одним з найважливіших досягнень світового науково-технічного прогресу в області пошуку нових перспективних матеріалів за останні тридцять років стало вивчення, створення і впровадження в практику технології хітину, хітозану та його похідних [108].

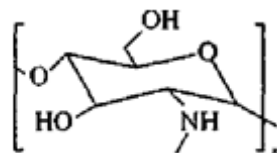
В організмах комах і ракоподібних, клітинах грибів та діатомових водоростей хітин в комплексі з мінеральними речовинами, білками і меланіном утворює зовнішній скелет і внутрішні опорні структури. Потенційні джерела хітину різноманітні і широко поширені в природі. Загальна репродукція хітину у світовому океані оцінюється в 2,3 млрд. т в рік, що може забезпечити світовий потенціал виробництва 150-200 тисяч тон хітину в рік [140, 192].

Найбільш доступним для промислового освоєння і масштабним джерелом отримання хітину є панцирі промислових ракоподібних. В промисловості найчастіше використовують панциромістячу сировину (ПМС).

Масові джерела ПМС є в багатьох країнах, але промислове виробництво хітину і хітозану освоєно переважно в Японії, де сумарно за даними на 1998 р. випускається до 2500 тон хітину і хітозану в рік. У США випускається близько 1000 тон хітозану та інших модифікацій хітину в рік. Європейські країни (Італія, Норвегія, Польща) випускають до 100 тон хітозану в рік. В останні роки розвиток промислового виробництва хітину та його похідних розвивається в Індії, Китаї, Таїланді. В якості сировини для одержання полімерів, в Японії та Китаї використовуються ПМС від переробки крабів і креветок, а в США – ПМС крабів і омарів [108, 140, 146, 396].

Вітчизняна промисловість почала освоювати виробництво хітину і хітозану в 1970-1980 рр. До теперішнього часу загальний обсяг їх випуску досягає 80 тон в рік.

Хітин – лінійний амінополісахарид, що складається з N-ацетил-2-аміно-2-дезоксі-О-глікопіранозних ланок:



За хімічною структурою він близький до целюлози і тільки їй поступається за поширеністю в природі. Хітин розчиняється у воді, розбавлених кислотах, лугах, спиртах та інших органічних розчинниках. Він розчинний у концентрованих розчинах соляної, сірчаної та мурашиної кислот, а також у деяких сольових розчинах при нагріванні, але при розчиненні він помітно деполімеризується [431, 441].

Хітин як нерозгалужений полісахарид з β -(1-4)-глікозидними зв'язками, утворює фібрилярні структури, для яких характерна лінійна конформація молекул, закріплена водневими зв'язками [384, 431].

Подібні молекули, розташовуючись приблизно паралельними пучками, утворюють структури, регулярні у трьох вимірах, що характерно для кристалів. Так, за допомогою рентгеноструктурного аналізу показано, що молекулярні ланки хітину мають конформацію 4C_1 .

У залежності від розташування полімерних молекул розрізняють три форми структури хітину – α , β і γ . α -хітин являє собою щільно упакований, найбільш кристалічний полімер, в якому ланцюжки розташовуються антипаралельно, він характеризується самим стабільним станом. У β -хітині ланцюжки розташовуються паралельно відносно один одного, а в γ -хітині два ланцюжки полімеру спрямовані «вгору» щодо однієї, спрямованої «вниз», β -і γ -хітин можуть перетворюватися в α -хітин [335, 383].

Панцир ракоподібних і кутикула комах відіграють роль зовнішнього скелета і виконують захисні функції. Хітин, що входить до складу панцира ракоподібних, утворює волокнисту структуру, він пов'язаний з білками за допомогою пептидного зв'язку деацетильованої аміногрупи з діаміномонокарбонними амінокислотами неароматичної будови, маючи вигляд хітин-білкового комплексу (ХБК) [382, 441].

Панцир ракоподібних побудований з трьох основних елементів – хітину, що грає роль каркаса, мінеральної частини, що надає панциру необхідну міцність і білків, що роблять його живою тканиною. До складу панцира входять також ліпіди, меланіни та інші пігменти. Пігменти панцира ракоподібних

представлені, зокрема, каротиноїдами типу астаксантину, астаціном і криптоксантином. У кутикулі дорослих комах хітин також ковалентно зв'язаний з білками типу артраподіна і склеротина, а також великою кількістю меланінових сполук, які можуть становити до 40% маси кутикули. Кутикула комах відрізняється великою міцністю і в той же час гнучкістю завдяки хітину, кількість якого становить від 30% до 50%. У клітинній стінці деяких фікоміцетів, наприклад в ітрідієвих, хітин виявляється разом з целюлозою. Хітин у грибів, як правило, асоціюється з іншими полісахаридами, наприклад *B-1-3*-глюканів, у членистоногих він пов'язаний з білками типу склеротина і меланіну [327, 379].

Структурний компонент хітину *N*-ацетил-*O*-глюкозамін у бактерій, поряд з *N*-ацетилмурамовою кислотою, є компонентом клітинної стінки. У тваринному світі *N*-ацетилглюкозамін входить до складу мукополісахаридів (глікозаміноглікани) сполучної тканини (гіалуронової кислоти, хондротин-сульфатів, гепарину), групових речовин крові та інших глікопротеїнів. Залишок *N*-ацетил-*D*-глюкозаміну у тварин зазвичай знаходиться на відновленому кінці вуглеводних ланцюгів глікопротеїнів, утворюючи зв'язок вуглевод-білок. Цим пояснюється сумісність хітину і хітозану з живими тканинами. Найбільш поширеним типом зв'язку глікопротеїнів є *N*-глікозидний зв'язок, утворений залишком *N*-ацетилглюкозаміну і β -амідною групою аспарагіну [327, 364, 431].

Хітин як нерозчинний полімер не піддається виділенню з панцира безпосередньо. Для його отримання необхідно послідовно відокремити білкову та мінеральну складові панцира, тобто перевести їх у розчинний стан і видалити.

Для отримання хітину і його модифікацій з відтворюваними характеристиками необхідно вичерпне видалення білкової і мінеральної складових панцира. Всі відомі способи добування хітину з ПМС можна розділити на дві основні групи:

- 1) хімічна обробка кислотами, лугами, комплексонами та ін.;

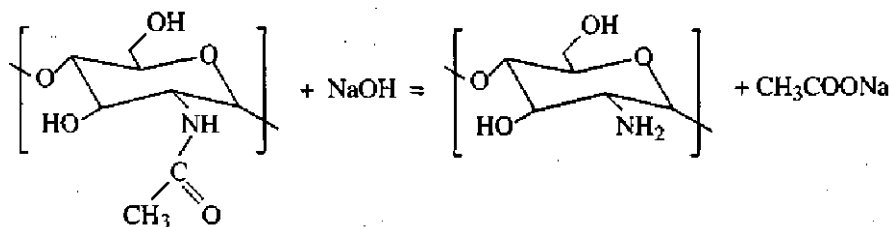
2) методи біотехнології, при котрих застосовуються ферментні препарати та протеолітичні бактерії.

Хімічна обробка ПМС заснована на одно-, двустадійному очищенню хітину від білка і мінеральних сполук – депротейнуванні (ДП) і демінералізації (ДМ). Деякі способи передбачають відділення ліпідів і пігментів.

Деякі переваги в якісних характеристиках мають хітини, отримані в умовах чередування стадій депротейнування і демінералізації. Порядок їх здійснення суттєво впливає на якість одержуваного хітину і в подальшому хітозану.

Ефективність процесів депротейнування і демінералізації істотно залежить від ступеня подрібнення панцира, тобто від збільшення площі дотику полімеру з реагентом, але при цьому знижується вихід готового продукту за рахунок збільшення технологічних втрат продукту при обробці [322, 379, 382].

В основі одержання хітозану лежить реакція відщеплення від структурної одиниці хітину – *N*-ацетил-*D*-глюкозаміну ацетильного угруповання або реакція деацетилювання (ДА):



Першою з модифікацій хітину було отримано його деацетильоване похідне – хітозан, що представляє собою високомолекулярний полімер глюкозамін, розчинний у розведених органічних і неорганічних кислотах (крім сірчаної). На відміну від практично нерозчинного хітину, хітозан, розчинний у кислих розчинах, має широкі можливості для застосування в різних галузях промисловості, сільському господарстві та медицині [396, 431, 443].

Реакція деацетилювання супроводжується одночасним розривом глікозидних зв'язків полімеру. Таким чином, хітозан являє собою полідисперсний за молекулярною масою полімер *D*-глюкозаміну, що містить

від 5 до 15% ацетамідних груп, а також до 1% груп, сполучених з амінокислотами та пептидами.

За зовнішнім виглядом хітозан являє собою лусочки розміром менше 10 мм або порошок різної тонини помелу, від білого до кремового кольору, часто з жовтуватим, сіруватим або рожевим відтінком, без запаху. Іншими властивостями сухого хітозану є здатність електризуватися і терпкий смак. По токсичності хітозан відноситься до четвертого класу і вважається безпечним.

Як уже зазначалося, структура хітину являє собою кристалічну решітку, в зв'язку, з чим ступінь розчинності і набрякання хітину в різних середовищах досить низькі. Ступінь подрібнення хітину перед деацетилюванням важлива для одержання однорідного продукту. Подрібнення хітину полегшує доступ деацетилюючого агента всередину структури, завдяки чому досягається рівномірний перебіг процесу деацетилювання.

При використанні занадто великих часток хітину процес даної реакції проходить не в повній мірі, поверхневі шари таких частинок більш деацетилювані, ніж внутрішні. При розчиненні в оцтовій кислоті ці поверхневі шари утворюють розчин, а внутрішні шари часток, не повністю деацетилювані, тільки набухають. Такий неоднорідний хітозан може мати обмежене застосування. У разі достатньо тонкого подрібнення хітину всі фракції частинок деацетилюються в однаковому ступені, що призводить до отримання більш однорідного продукту [383, 392].

Готовий хітозан являє собою сильно гідратований, набряклий продукт з вмістом води понад 70%. Для запобігання ороговіння хітозан сушать при температурі від 50 до 55 °С. При висушуванні в умовах більш високих температур хітозан ущільнюється, темніє і втрачає розчинність, що знижує можливість його використання. Низькомолекулярний водорозчинний хітозан і олігосахариди сушать на розпилювальних і ліофільних сушарках. Повітряно-сухий хітозан містить 8-10% води [393, 406, 554].

Для використання хітозану, наприклад, у фармації та ветеринарній медицині в якості субстрату для таблетування і капсулювання необхідно

подрібнити його до розміру часток 100-200 мкм. Хітозан, зберігаючи кристалічну структуру хітину, погано піддається подрібненню, і тому для отримання порошкоподібного продукту його подрібнюють послідовно різанням, стиранням і механічною деформацією, застосовуючи для цього відповідно дезінтегратори, млини та кульові млини [406].

У процесі зберігання хітозану на світлі спостерігається його потемніння до коричневого кольору, зниження розчинності. Особливо це відноситься до тонко подрібненого, а також ліофільно висушеного хітозану. Хітозан являє собою гігроскопічний матеріал, порошок хітозан може злежуватися при зберіганні в приміщеннях з підвищеною вологістю або при перепадах температур. Тому хітозан зберігають герметично запакованим в світлонепроникній упаковці (банки, пакети, мішки) в сухих закритих приміщеннях при кімнатній температурі [311, 406].

Для розширення сфери застосування хітозану в медицині велике значення має його розчинність при нейтральних значеннях рН, що може бути забезпечено зниженням його молекулярної маси. Як показує практика, молекулярна маса хітозану, отриманого з панцира ракоподібних хімічним або ферментативним способами, висока і сягає 103 кДа. Такий хітозан розчинний у водних розчинах органічних і мінеральних кислотах, що не завжди зручно.

Для отримання хітозану, розчинного при нейтральних рН, вихідний хітозан піддають гідролізу за допомогою хімічних реагентів або ферментів.

Гідроліз знижує молекулярну масу хітозану і покращує його розчинність в слабокислих водних розчинах. При цьому виходить полідисперсний по молекулярній масі продукт, розчинний у розведених розчинах кислот при $\text{pH} > 5$ [363].

В якості ферментних препаратів для деградації хітину і хітозану застосовують комплекси ферментів різного походження. Застосування ферментних препаратів для деградації хітозану дозволяє отримувати низькомолекулярні хітозан і олігомери, розчинні у воді.

Властивості низькомолекулярних хітозанів істотно розширюють сферу їх застосування в якості медичних полімерів. Наприклад, на основі низькомолекулярних хітозанів розроблені ефективні радіопротектори, хіральні селектори різних субстанцій медичного призначення, антикоагулянти з високою гепариноювою активністю [364, 423].

Інтерес до хітину і хітозану пов'язаний з їх унікальними фізіологічними та екологічними властивостями такими як біосумісність, біодеструкція, фізіологічна активність при відсутності токсичності, здатність до селективного зв'язування важких металів і органічних сполук тощо [269, 314, 427, 514].

Для повномасштабного використання похідних хітину в різних виробництвах необхідно, з одного боку, мати уявлення про колоїдні властивостях цих біополімерів в змішаних розчинах з іншими компонентами (наприклад, з ПАР) і, з іншого боку, вміти управляти цими властивостями для досягнення оптимального технологічного ефекту.

До колоїдних властивостей полімерів відносять насамперед їх здатність до адсорбції на міжфазових поверхнях різної природи, стабілізуючу здатність по відношенню до дисперсних систем (емульсій, пін, суспензій), а також структуроутворення (агрегування, міцелоутворення, гелеутворення) в різних фізико-хімічних умовах.

Особливий інтерес для практичних цілей має властивість водорозчинних аніонних і катіонних похідних хітину і хітозану утворювати динамічні асоціати з протилежно зарядженими молекулами ПАР у змішаних водних розчинах [306, 311, 535, 552, 553]. Такі асоціати, так звані ПАР-поліелектролітні комплекси, характеризуються аномально високою (у порівнянні з утворюючими їх компонентами) міжфазовою активністю і стабілізуючою здатністю по відношенню до емульсій та пін [269, 406].

Хітозан є ефективним органічним сорбентом важких металів. Хітин і хітозан містять декілька функціональних груп – гідроксильні, аміно-, ацетіламідні групи і кисневі містки, тому механізм сорбції важких металів цими полімерами має досить складний характер.

В залежності від умов він може включати комплексоутворення, іонний обмін і поверхневу адсорбцію, проте більшість дослідників останнім часом схиляються до того, що найчастіше переважає хелатне комплексоутворення, обумовлене високою електроно-донорською здатністю атомів азоту і кисню [269, 300, 336]. Завдяки цьому хітинові сорбенти мають дуже широкий спектр афінності щодо різних елементів. Практично це іони всіх металів, за винятком лужних і лужноземельних.

Хітинові сорбенти можуть успішно застосовуватися для очищення водних розчинів від самих різних забруднень: практично від всіх важких металів, багатьох радіонуклідів, бактерій, багатьох органічних домішок, пестицидів та інших сполук. Вони можуть бути використані для очищення питної води, стічних вод різних виробництв, технологічних розчинів і інших рідких систем.

В останні роки знайдені технічні рішення для очищення шлаків, донних відкладень і ґрунтів з використанням хітинових матеріалів, що мають феромагнітні властивості [222, 244, 314, 336, 551]. По ряду технологічних показників сорбенти на основі хітину та його похідних перевершують багато інших відомих сорбентів. Так хімічно оброблений міцелій деяких видів нижчих грибів ефективно витягує іони Ag, Zn, Pb, Cu, Ni, Co, Cd, Cr, Mn і інших металів з водних розчинів. Хітозано-глюкановий комплекс, одержаний з нижчих грибів, дозволяє видаляти з води також грампозитивні бактерії [225, 424, 428, 442, 550].

Нативний міцелій ряду базидіальних грибів здатний розкладати в ґрунті і у воді багато органічних токсичні речовини, наприклад, діоксин, ДДТ, нафталін, бензопірен та ін [226, 335].

Сорбційні можливості елементів хітином і хітозаном добре вивчені на тріаді залізо-кобальт-нікель. Незважаючи на значну схожість хімічних властивостей цих елементів, ефективність їх сорбції хітозаном в 0,1 М розчині хлориду калію помітно відрізняється: найгірше сорбується двовалентне залізо і найкраще – нікель [226, 427].

У такому ж порядку збільшуються і ємнісні характеристики хітозану по відношенню до цих елементів. Відрізняється сорбція і за кінетикою. Найшвидше рівновага досягається в разі заліза і найповільніше – в разі кобальту. Максимальна сорбція Fe^{2+} була отримана хітозаном в 0,1 М розчині сульфату амонію [300, 407]. В цих умовах залізо і нікель сорбуються приблизно однаково. Сорбція елементів на хітині менш ефективна, ніж на хітозані [214, 226, 428], однак використання хітину у вигляді пористої плівки, нанесеної на тверду підкладку, істотно покращує ступінь сорбції цих металів.

Однією з унікальних біологічних властивостей хітозану є його здатність інгібувати вірусні інфекції у тварин і запобігати розвитку фагових інфекцій в зараженій культурі мікроорганізмів. Хітозан, доданий у живильне середовище, перешкоджає розмноженню вірулентних бактеріофагів в зараженій культурі грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів. Ймовірно, позитивний заряд молекули хітозану має важливе значення для придушення інфекції.

Відомо, що хітозан перешкоджає розмноженню бактеріофагів декількома шляхами: а) знижуючи життєздатність бактеріальної культури; б) нейтралізуючи інфекційність зрілих фагових часток у інокулюму і / або дочірніх фагових часток; в) блокуючи процес репродукції вірулентного фага [225, 345, 430].

Хітозан пригнічує фагові інфекції не тільки за рахунок інактивації фагових часток, але і перешкоджаючи репродукції бактеріофагів. Стан бактеріальної культури має першорядне значення для розвитку фагової інфекції, тому що фаги здатні розмножуватися тільки в життєздатних клітинах. Разом з тим, відомо, що хітозан має бактерицидні властивості відносно багатьох видів мікроорганізмів, в тому числі у відношенні *Escherichia coli* і клітин роду *Bacillus* [192, 215, 225, 442].

Передбачається, що бактерицидна активність хітозану може бути опосередкована двома механізмами. Відповідно до першого з них зв'язування хітозану з негативно зарядженими структурами клітинної поверхні (ліпідом А, тейхоєвими кислоти, полярною групою фосфоліпідів) призводить до посилення

проникності і дезинтеграції клітинної стінки і плазматичної мембрани мікроорганізмів [424, 464, 559]. Другий механізм припускає, що молекули хітозану проникають у клітину і, електростатично зв'язуючись з ДНК, інгібують транскрипцію [225, 276, 345, 398].

Відомо, що *N*-карбоксіметилхітозан-*N,O*-сульфат інгібує синтез вірус-специфічних білків і пригнічує розмноження вірусу іммунодефіцита людини *HIV-1* в культурі *T*-клітин і в культурі моонуклеарних клітин периферичної крові людини, а також вірусу мишачої лейкемії Раушер в культурі мишачих фібробластів. Причому встановлено практично повну відсутність цитотоксичності похідного хітозану відносно цих клітинних культур [225, 354].

Високою активністю відзначалися похідні хітозану, сульфатовані по другому і / або третьому атому кисню в залишку глюкозаміну. Ці похідні ефективно інгібували розмноження *HIV-1* в культурі *T*-лімфоцитів людини лінії *MT-4*, перешкоджаючи злиттю вірусної і клітинної мембран [225, 354].

Таким чином, синтезовані сульфопохідні хітозану специфічно інгібують репродукцію вірусу іммунодефіциту людини. Важливо відзначити також, що хітозан інгібує розмноження хламідій *Chlamydia trachomatis* (які, як і віруси, також є облігатними внутрішньоклітинними паразитами) в клітинах *HeLa*, пригнічуючи, головним чином, адсорбцію паразита на клітинах.

З урахуванням здатності хітозану запобігати вірусні інфекції, що передаються статевим шляхом, висловлено припущення, що хітозан може бути використаний для комплексної профілактики і терапії уrogenітальних інфекцій [414, 422].

Відомі й інші механізми, що опосередковують вплив хітозану на вірусні інфекції у тварин. Так, у ссавців хітозан стимулює імунну відповідь на різні, в тому числі і вірусні, антигени. Наприклад, у мишей хітозан підсилював місцеву і системну імунну відповідь (продукцію антитіл класів *IgA* та *IgG*) до вірусу грипу типу *A* і типу *B* [225, 355].

Також виявлена висока ефективність використання хітозану відносно коклюшного і дифтерійного токсинів. Відома індукція інтерферону хітином і хітозаном, поряд з їх впливом на систему комплементу і мононуклеарно-фагоцитарну систему, може бути одним з найважливіших компонентів неспецифічної імунної відповіді, спрямованої на обмеження і пригнічення вірусної інфекції [276, 414, 423, 464, 466, 537].

Останні 30 років хітозан цілеспрямовано застосовують у виробництві продуктів харчування. Використання хітозану в технології їжі визначається функціональними властивостями і практично повною відповідністю вимогам, що пред'являються до харчових добавок [192, 396, 422, 469, 419].

Токсико-гігієнічна характеристика хітозану вивчена досить повно для обґрунтування рекомендацій щодо його використання як багатофункціональної добавки з лікувально-профілактичними властивостями. У тих країнах, де хітозан дозволений до вживання, його кількість нормується відповідно до державного законодавства [305, 379, 422, 498, 526].

Одним з найважливіших досягнень світового науково-технічного прогресу в області вишукування нових перспективних матеріалів за останні сорок років стало вивчення, створення і впровадження в практику технології хітину, хітозану та його похідних.

Отже, унікальні властивості біополімерів – хітину та його похідних (висока сорбційна здатність, біосумісність, біодеградація, нетоксичність, бактерицидність та ін), і невичерпні запаси сировини (панцирі морських і прісноводних ракоподібних, гриби, покриви комах) обумовлюють все зростаючий інтерес до їх виробництва і практичного застосування [211, 225, 306, 424, 445].

З метою поліпшення і збереження якості харчових яєць протягом тривалого зберігання Cenzig Caner et al., та Xian De Li et al. [222, 551] запропонували до використання розчин хітозану шляхом нанесення на шкаралупу методом зрошування і подальшій радіаційній обробки.

Для конструювання «штучної кутикули» ми віддали перевагу саме природній біобезпечній речовині – хітозану.

1.4. Морфологічні і біохімічні характеристики захисних біокерамічних структур яєць курей різних порід і кросів

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) [176; 246; 523; 542; 566; 557].

Формування шкаралупи відбувається при послідовному проходженні різних ділянок яйцепроводу(рис.1.1).

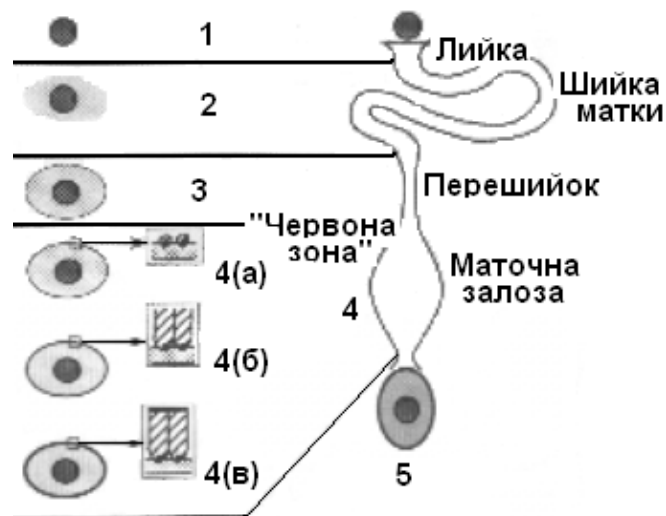


Рис. 1. 1. Формування яйця куриці

Примітка. 1 – овуляція (0 год.); 2 – утворення 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.) [301]

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 [150, 286; 301, 391; 549].

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

Створення шкаралупи яйця являє собою серію «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 [170; 177; 548].

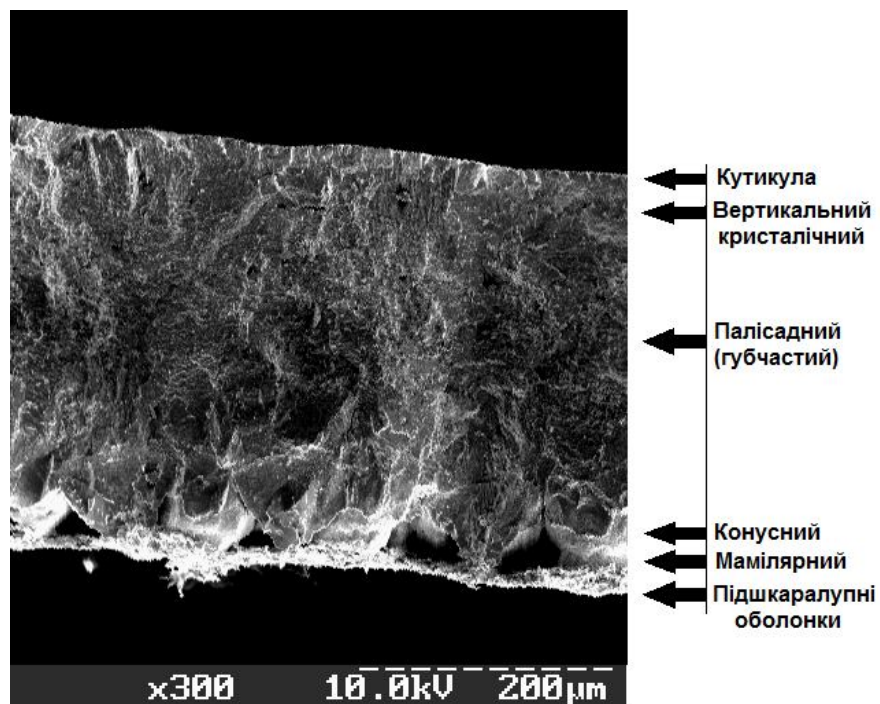
У більшості випадків біокерамічні матеріали формуються на своєрідному біомолекулярному каркасі з формоутворюючих пептидів та невеликих білків. Подібні біологічні формування приймають участь в процесах утворення кісткової тканини або панцирів у тварин [359].

Цей складний ієрархічно упорядкований і багатофункціональний процес перебігає у відносно сприятливих умовах (фізіологічні значення рН, температура, концентрації рідкофазових попередників тощо), беручи початок з нано- і сягаючи сантиметрових розмірів. Внаслідок цього шкаралупа має незвичайні механічні якості [170; 179; 177; 359; 389; 524; 548].

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 (рис. 1.2).



**Рис. 1.2. Мікроструктура шкаралупи яйця куриці
(скануючий електронний мікроскоп)**

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 [84; 135; 194; 229; 237; 251; 358; 388; 543].

Вивченню структури шкаралупи та підшкаралупних мембран приділяли увагу А. Л. Романов, М. J. Bunk, D. A. Carrino, J. E. Dennis, A. C. Fraser, W. Masshoff, Y. Nys, S. E. Solomon, M. P. Richards та ін. [476, 209, 216, 251, 288, 409, 433, 501, 470].

Порівняно тонкий мінералізований шар шкаралупи армований органічним матриксом, що різко підвищує її міцність.

Шкаралупа курячого яйця має мембранний шар, що являє собою дві підшкаралупні оболонки. Сама шкаралупа складається з мамілярного шару, конусного шару, палісадного або губчастого шару, вертикального кристалічного шару та надшкаралупної оболонки – кутикули. У мамілярному шарі між структурами мамілярів формуються пори [135].

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, та 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 [135; 178; 224; 232; 238; 285; 347; 357; 360; 521; 525; 547].

На рисунках 1.3. та 1.4. представлені мікрофотографії штучно вирощених кристалів кальцитів в середовищах маточної рідини з різним складом речовин [194].

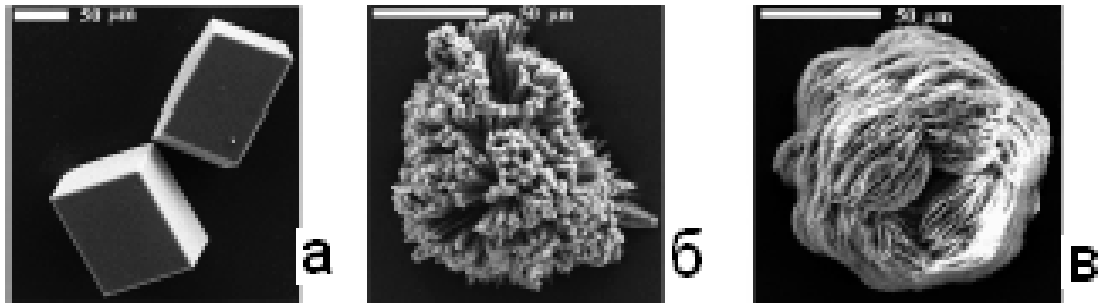


Рис. 1.3. Електронні мікрофотографії штучних кристалів кальцитів: ромбоєдрі́дні кристали кальциту (а), агломерат арагоніту (б), агломерат ватериту (в)

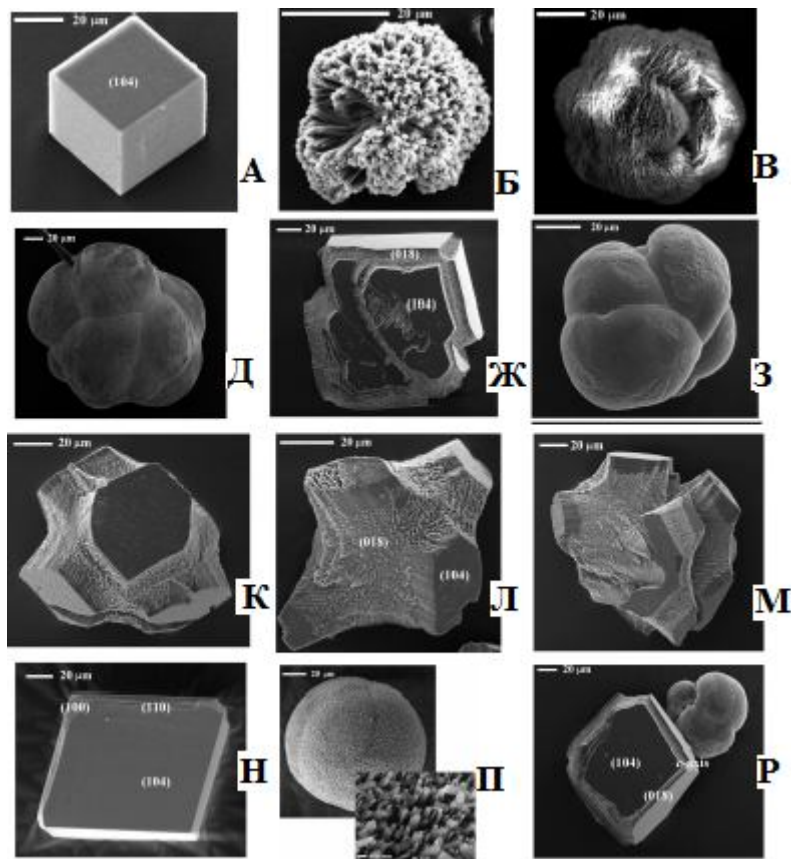


Рис. 1.4. Електронні мікрофотографії кристалів кальцитів, вирощених у штучних умовах: кальцит (А); арагоніт (Б); ватерит (В) у присутності 128 мкг/мл лізоциму; кальцит (Д, Н) і арагоніт (П) у присутності 128 мкг/мл рибонуклеази; кальцит (Ж, З, Р) у присутності 128 мкг/мл міоглобіну; кальцит (К, Л, М) у присутності 128 мкг/мл лактоальбуміну

На якість шкаралупи впливають умови побудови її шарів у яйцепроводі.

Синтез кальцитного шару залежить від складових речовин у маточній рідині. J. L. Arias [180. 181], Y. J. Gautron [301], J. M. Hernandez et al. [326], M. T. Hincke [330], Nys [434], A. B. Rodriguez-Navarro [474] 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.

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 [194; 374; 436].

Fraser A. C. та ін. [288] експериментально показали, що макромолекули, виділені з шарів арагоніту природних тканин, стимулюють утворення ядер кристалів арагоніту в штучному мікросередовищі.

Більш того, Dalbeck P. та ін. [246] довели, що розчинний поліаніоновий білок (16 кДа) відповідає за процеси трансформації кальциту у фазу арагоніту. Проте, деталі механізму за яким макромолекули контролюють поліморфізм кристалів як у біотичних, так і в абіотичних системах детально не встановлений і досі.

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 [180; 185; 287; 302; 330-333; 519]. Окрім того, доведено, що такі білки, як овальбумін, овотрансферин, лізоцим, овомукоїд, кластерин, цистатин, овоглікан та остеопонтин відіграють значну роль в процесі побудови шкаралупи та підшкаралупних мембран [181; 193; 218; 231; 292; 303; 328; 329; 545].

Мінеральна речовина шкаралупи на 99% складається з карбонату кальцію. Однак неорганічний фосфор, магній, цинк, мідь, марганець та інші

елементи, що є присутніми у невеликій кількості, впливають на якість шкаралупи [135, 353; 432; 437; 444; 500; 511; 516-518].

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 [135, 182; 255; 283; 284; 291; 326; 496].

Найглибший шар шкаралупи – мембранний. Він складається з двох мінералізованих оболонок – зовнішньої, розміри якої становлять 48 мкм, і внутрішньої – 22 мкм. Внутрішня оболонка утворена в перешийку яйцепроводу. Вона зв'язана з білковою оболонкою яйця. Зовнішня оболонка тісно прилягає до внутрішньої на всій поверхні яйця, за винятком зони повітряної камери, на тупому кінці яйця. Внаслідок втрати води в перші години після знесення яйця між внутрішньою і зовнішньою оболонками утворюється заповнена повітрям порожнина [135, 183; 217; 230; 241; 254; 433]. Волокна внутрішньої оболонки більш тонкі, ніж зовнішньої.

Підшкаралупні мембрани мають білкову природу. До складу протеїнових фібрил входять гідроксипролін, гідроксилізін та інші похідні лізину [135, 451; 454; 474; 493; 539].

Амінокислотний склад підшкаралупних оболонок відіграє важливу роль у формуванні яєць з такою патологією, як м'яка шкаралупа. Цей шар разом з мамілярним відповідає за кальцифікування шкаралупи. Цей процес регулюється багатьма біотичними і абіотичними чинниками. Мінімальний прояв негативних факторів під час утворення підшкаралупних мембран може призвести до їх аномальної мінералізації [135, 210; 235; 439, 258; 312; 316; 321; 339; 346; 531].

В процесі інкубації збільшується газопроникність палісадного і мембранного шарів. Це необхідно для розчинення карбонату кальцію і надходження іонів кальцію в організмі ембріона.

Перший внутрішній шар шкаралупи називається мамілярним. Він містить приблизно 2/3 усієї органічної речовини шкаралупи [135, 216; 288; 320; 450; 501; 505].

Частина органічних речовин мамілярного шару представлена комплексом білки + кислі полісахариди. У яєць з високою якістю шкаралупи цей шар складається з упорядкованих корових елементів (мамільарів).

У яєць з низькою якістю шкаралупи мамільари розташовані нерегулярно і нерівномірно. [262; 294; 317; 426]. На відміну від нормальної шкаралупи, в таких яйцях мамільарні корові елементи не здатні утворювати конуси. Доведено, що міцність шкаралупи залежить від просторового упакування сосочків мамільарів [135, 293; 348; 375; 499; 530].

Процес мінералізації шкаралупи починається безпосередньо в окремих мамільарних «шишках», і це свідчить на користь гіпотези, згідно якої існують епітаксичні центри, з яких починається кальцифікація. Доведено, що існує певна залежність між якістю шкаралупи та щільністю і формою мамільарних корових елементів [135, 209; 233; 268; 344; 503].

Наприкінці формування шкаралупи утворюється щільний палісадний шар, що містить мало органічних речовин. Яйця, в яких палісадний шар шкаралупи ширший, мають меншу міцність [281; 315; 340; 376; 502; 507].

Протеїни палісадного шару представлені низькомолекулярними білками шкаралупи, що зв'язують неорганічні кальцитні компоненти останньої: овоклеїдини 17 і 116, овокаликсини-21, 25, 32 і 36 [135, 264; 270; 331; 332; 403; 404].

Доведено, що в процесі побудови шкаралупи та підшкаралупних мембран відіграють значну роль такі протеїни, як овотрансферин, овальбумін, лізоцим, овомукоїд, кластерин, овоглікан та остеопонтин [135, 260; 280; 295; 366; 387; 493].

Останнім шаром мінералізованої частини шкаралупи є вертикальний кристалічний, товщина якого становить 3-8 мкм. Цей шар складається з коротких і вузьких кристалів, розташованих перпендикулярно до поверхні

шкаралупи. Вважають, що перехід від палісадного колончастого шару до мілкополікристалічної структури вертикального кристалічного шару є результатом змін умов відкладення кальцію шкаралупною залозою в останні години формування шкаралупи [135, 279; 289; 341; 349; 365; 368].

В дистальній області овариального тракту утворюється кутикула, що є останнім шаром шкаралупи курячого яйця. Вона представлена воскоподібною органічною речовиною. Кутикула рівномірно розподілена по всій поверхні шкаралупи. Товщина її змінюється в межах від 0,5 до 12,8 мкм.

На поверхні кутикули розміщені зіркоподібні шпаринки і лусочки. Кутикула має переважно білкове походження (глікопротеїни); але до складу її входять також і ліпіди у дуже малій кількості. При видаленні кутикули значно змінюються якісні характеристики шкаралупи [135, 298; 323; 342; 385; 409].

До складу кутикули входить антибактеріальний білок лізоцим. Він має здатність руйнувати полісахаридні стінки бактеріальних клітин [135, 197; 297; 373]. Крім того, він відіграє визначену роль у забезпеченні потреб ембріона в амінокислотах [334; 380; 395; 410; 420; 461; 491].

Тонка глікопротеїново - ліпідна плівка надійно захищає інкубаційні яйця від бактеріальної контамінації. Вона попереджає проникнення як рідких (рідиннофазні аерозолі), так і твердих (фекалії, твердофазні аерозолі, пил) контамінантів у порові канали.

Доведено, що, якщо шкаралупа не ушкоджена, рух бактерій і вірусів усередину інкубаційних яєць курей обмежують два найбільш важливі фактори: товстий, добре структурований шар кутикули і відсутність води в зовнішньому середовищі [324; 337; 362; 458; 462; 477; 527].

Структура кутикули під час появи яйця з овариального тракту сильно відрізняється від «зрілої»: волога кутикула пухка і губкоподібна, «зріла» – значно більш щільна. Зазначена трансформація відбувається протягом 60 с і відрізняється незворотністю. Змочування яйця водою не відновлює первинну структуру кутикули. Важливим є дослідження *Sparks N. et al* [504], котрі встановили, що у разі контакту яйця з фекаліями протягом 15 хвилин після

знесення, бактерії легко проникають через шкарлупу. Пізніше в тих же умовах можуть заразитись тільки 10% яєць. Як тільки бактерії проникають усередину яйця, вони стають захищеними від дії усіх дезінфектантів і фізичних сануючих засобів, і являються потенційним фактором для перехресного зараження. Саме цим обумовлюється найважливіше правило фахівців в області інкубування сільськогосподарської птиці, яке полягає в забезпеченні максимальної чистоти і відсутності вологи в технологічних операціях щодо одержання інкубаційних яєць [135].

Наявність води на поверхні шкаралупи призводить до надходження бактерій, адсорбованих на шкаралупі, у товщу шкаралупних мембран. У природних умовах при шліфуванні яєць більша кількість контамінантів видаляється. Залишкова кількість волокон може забивати канали пор і, таким чином, ембріон гине від асфіксії на останніх стадіях інкубації [160; 377; 381; 460; 470; 490; 506].

Доведено, що якщо інкубаційні яйця сильно забруднені органічними речовинами, зокрема, фекаліями, використання дезінфікуючих засобів не є ефективним, оскільки фекалії адсорбують і нейтралізують складові препаратів, наприклад формальдегіду.

Проте, коли патогени вже потрапили усередину інкубаційного яйця протягом 60 сек. після знесення яєць, ніяка обробка поверхні шкаралупи не призведе до загибелі бактерій, що знаходяться всередині яйця чи в каналах пор [135, 361; 467; 473; 492; 504]. Повторна санація може призвести до підвищення внутрішньої температури в середині яйця і підвищить показник смертності ембріонів [504].

Отже, на основні властивості захисних біокерамічних структур курячих яєць впливає як суто біохімічний склад шкаралупи, так і фізіологічні і хіміко-фізичні (в аспекті формування кристалів кальциту на органічних матрицях) закономірності її синтезу і формування. Шкаралупа відіграє важливу роль в ембріогенезі як регулятор газообміну, і як основне джерело кальцію для

кальцифікації кістяка ембріона. Важливими факторами, що регулюють якість шкаралупи, є дотримання технології годівлі та утримання птиці.

Відходи інкубації – шкаралупу використовують для виробництва добрив, адсорбентів, що поглинають важкі метали та інші забруднювачі, каталізаторів для хімічної промисловості тощо. Дане застосування вимагає максимально можливий рівень чистоти цих відходів. Технологія інкубації передбачає обов'язкову санацію яєць курей дезінфікуючими речовинами. В сучасних технологіях обробки найчастіше використовуються групи речовин (ЧАС, гуанідини), що мають довгий час деструкції у природному середовищі, забруднюючи його. Після застосування таких засобів шкаралупу не можна використовувати в промисловості.

1.5. Обґрунтування вибору напрямів досліджень

Удосконалення наявних і розроблення інноваційних технологій інкубації яєць сільськогосподарської птиці є важливою ланкою в системі заходів з поліпшення кількісних і якісних показників молодняку птиці та підвищення екологічної чистоти продуктів птахівництва.

Зважаючи на це, завданням дисертаційної роботи було теоретичне обґрунтування, розробка та впровадження у практику вітчизняного птахівництва принципово нової екологічно-безпечної технології захисту інкубаційних яєць курей за біоміметичним принципом, яка дозволяє суттєво підвищувати вихід молодняку птиці та його якісні показники.

Підставами для проведення дослідницьких робіт у зазначеному напрямку були, по-перше, недостатнє вивчення зв'язків стану біокерамічного захисного шару пташиних яєць з кількісними та якісними показниками отриманого з них молодняку, по-друге, необхідність максимального зниження використання у сучасних технологіях інкубації яєць птиці екологічно небезпечних хімічних речовин, зокрема антибіотиків і токсичних біоцидних речовин і, по-третє, сучасні тенденції до проведення розробок нових технологій у птахівництві з

використанням біоміметичних підходів, які передбачають імітування захисних природних структур пташиних яєць за допомогою нетоксичних та недорогих речовин штучного походження.

Запропонована технологія інкубації яєць курей з використанням «штучної кутикули» на основі природної екологічно безпечної речовини хітозан для утворення на поверхні шкаралупи захисної біоцидної газопроникної плівки повинна призвести до поліпшення життєздатності ембріонів, підвищення виводимості яєць на 6-8%, збереженості молодняку на 3-4%.

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження були проведені в 1998-2014 рр. на базі біохімічної лабораторії кафедри біохімії та біотехнології, проблемної лабораторії по птахівництву Сумського національного аграрного університету (Додаток Д), у відділі біофізики та мас-спектрометрії Інституту прикладної фізики НАН України (м. Суми) (Додаток Ж), Сумському державному науково-дослідному інституті мінеральних добрив і пігментів (СДНДІ МІНДІП) (м. Суми), Державному вищому навчальному закладі «Український державний хіміко-технологічний університет», (м. Дніпропетровськ) (Додаток З), в Сумській обласній ветеринарно-бактеріологічній лабораторії (Додаток К) та в клініко-біохімічній лабораторії Обласної лікарні м. Суми (Додаток Л), а також в інкубаторіях птахівничих господарств Сумської, Чернігівської областях та в республіці Білорусь. При проведенні досліджень були використані інкубаційні яйця курей різних порід і кросів, отримані з птахівничих господарств Сумської та Харківської областей. В роботі використовували інкубаційні яйця курей (Домінант бурий Д-102; Хайсекс браун; Шейвер 579; Ломан браун; Беларусь-9; Леггорн білий; Полтавські глинясті, Род-айленд червоний, Бірківська барвіста, Російські білі, Російські білі помісні (15-20-40 тижні яйцекладки), одержані від птиці, яку утримували відповідно до загальноприйнятих норм утримання та годівлі. Поживна і енергетична цінність раціонів відповідали рекомендаціям ВНДІТІП (1998). Інкубацію проводили в інкубаторі «Універсал 55» за нормами згідно з методичним посібником («Інкубація яєць сільськогосподарської птиці», 2001). Всього було оброблено і проінкубовано 1500000 шт. яєць.

Досліди проводили згідно схеми, представленої на рис. 2.1, в три етапи. На першому етапі досліджували структурні, біохімічні, біофізичні і фізіологічні характеристики біокерамічного шару інкубаційних яєць курей за норми та при порушенні технології вирощування птиці.



Рис. 2.1. Загальна схема досліджень

Досліджували напрямки та рівні впливу на захисні біокерамічні структури інкубаційних яєць негативних чинників, що виникають під час порушень умов утримання і годівлі курей-несучок різних порід і кросів, а саме: стресових факторів, патогенів бактеріальної, вірусної та грибової природи

тощо. Вивчали наслідки впливу на яйця несприятливих чинників, що викликають порушення структурних і фізіологічних параметрів шкаралупи інкубаційних яєць, що, в свою чергу, призводить до порушень обміну речовин у яйцях, а, внаслідок цього, до зниження виводимості та збереженості молодняка, рівня резистентності. Другим етапом досліджень була розробка теоретичних та прикладних основ технології конструювання «штучної кутикули» для керування структурними і фізіологічними характеристиками біокерамічного захисного шару яєць курей у сучасних технологіях інкубації. Спочатку дослідили існуючі технології передінкубаційної обробки курячих яєць. Вивчали дію класичних препаратів для передінкубаційної обробки яєць курей на морфологічні і функціональні параметри шкаралупи та на розвиток ембріонів курей. У подальшому розробляли покриття «штучна кутикула» на основі четвертинних амонієвих сполук з додаванням пероксидів, рослинних екстрактів, оксидів металів та методів нанесення даних препаратів на інкубаційне яйце. Наступні досліді були присвячені розробці нової технології передінкубаційної обробки яєць курей за біоміметичним принципом з використанням екологічно чистої речовини – хітозану. Досліджували дію складових «штучної кутикули» на основі хітозану на біохімічні та біофізичні параметри шкаралупи яєць курей, а також на розвиток ембріонів. Враховували виводимість яєць та збереженість курчат. На третьому етапі досліджень було проведено виробничу перевірку використання «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію та хітозану. Вивчено вплив названих технологій передінкубаційної обробки «штучна кутикула» на виводимість яєць та збереженість молодняка курей. Досліджено корозійну активність препарату на основі хітозану щодо металів (алюмінію та нержавіючої сталі) та кількість залишків «штучної кутикули» на поверхнях обладнання інкубаторію. Розраховано економічну ефективність від застосування інноваційної технології передінкубаційної обробки яєць курей. Етапи, обсяги та характеристика експериментальних досліджень представлені в таблиці 2.1. (В таблиці етапи дослідів відповідають підрозділам (ПР) дисертації).

Таблиця 2.1.

Етапи, обсяги та характеристика експериментальних досліджень

Група	Способи і умови утворення «штучної кутикули» на поверхні яєць	Назва препаратів; хімічні складові «штучної кутикули»	Кількість яєць
1	2	3	4
Етап 1. (ПР 3.1.) Дослідження морфологічних параметрів біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей при порушеннях технології вирощування птиці			
Ломанн браун (контроль)	-	-	1680
Шейвер 579	-	-	1680
Домінант бурий Д-102	-	-	1960
Хайсекс браун	-	-	1680
Беларусь 9	-	-	1680
Леггорн білий	-	-	1680
Російські білі помісні	-	-	1680
<p>Етап 2. (ПР 3.3.) Розробка теоретичних та прикладних основ технології конструювання «штучної кутикули» для передінкубаційної обробки яєць курей</p> <p>3.3.1. Дослідження технологій передінкубаційної обробки яєць курей в аспекті порівняння змін морфологічних та функціональних параметрів природного захисного бар'єру яєць, спричинених класичними препаратами і складовими «штучної кутикули».</p> <p>3.3.2. Газопроникність захисних плівок «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію</p>			

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4
Контроль	Без обробки		120
Досліди Леггорн білий	Зрошування	«ВВ-1» (Україна) (0,25%)	120
	Зрошування	«АТМ-Арома» (РФ) 0,25%)	120
	Зрошування	АТМ (0,25%)	120
	Зрошування	«ВВ-1» на срібній воді (0,25%); (Ag ⁺ 0,001%,)	120
	Зрошування	<i>CID 20 (CID LINES,</i> Бельгія) (0,5%)	120
	Зрошування	<i>Virocid (CID LINES,</i> Бельгія) (0,5%)	120
	Зрошування	<i>Virkon-S (Antex,</i> Великобританія; <i>KRKA,</i> Словенія)	120
	Зрошування	«Метацид» (0,10%)	120
	Фумігація	формалін (0,5%)	120
	Зрошування	глутаральдегід (0,5%)	120
Домінант бурий Д-102	Зрошування	АТМ (5%) +РЕ (10% водний розчин) +НОК (20%) + H ₂ O ₂ (20%)	120
	Електророзпилю- вання	АТМ (5%) +РЕ (10% водний розчин) +НОК (20%) + H ₂ O ₂ (20%)	120
	Фонофорез	АТМ (5%) +РЕ (10% водний розчин) +НОК (20%) + H ₂ O ₂ (20%)	120
	Зрошування	АДМБ, ДДМБ (5%), НОК (20%), РЕ (10% водний розчин)	120

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4
Дослідження газопроникності Домінант бурий Д-102	Контроль	Без обробки	200
	Досліди (12 партій яєць по 40 шт в кожній, 5 повторностей).	АТМ, АТМ + РЕ, АДМБ, АДМБ + РЕ, АДМБ +НОК, АДМБ + РЕ + НОК, ДДМБ, ДДМБ + РЕ, ДДМБ + НОК, ДДМБ + РЕ + НОК, <i>Virkon S</i> , <i>Virkon S</i> + РЕ	2400
3.3.3. Методи утворення на поверхні шкаралупи інкубаційних яєць покриття «штучна кутикула» та їх зв'язок з транспортуванням біологічно активних речовин всередину яєць			
Контроль	Вільна дифузія БАР за умов рівних температур зовні і всередині яйця	МР-БАР	80
I дослідна	Вільна дифузія БАР за умов підвищеної температури в середині яйця	МР-БАР	80
II дослідна	Вільна дифузія БАР	МР-БАР + α -ЦД(0,5%)	80
III дослідна	Вільна дифузія БАР	МР-БАР + L-ментол(0,5%)	80
IV дослідна	Вільна дифузія БАР	МР-БАР + ДМСО (0,05%)	80
V дослідна	Вільна дифузія БАР	МР-БАР + СІД-20 (0, 5%)	80
VI дослідна	Гідравлічний удар	МР-БАР	80
VII дослідна	Електрофорез	МР-БАР	80
VIII дослідна	Електророзпилення; « <i>electrospray</i> »	МР-БАР	80
IX дослідна	Іонофорез; обробка ультразвуком	МР-БАР	80

1	2	3	4
3.3.4. Особливості захисних плівок «штучної кутикули» на основі природної екологічно чистої речовини хітозану. 3.3.5. Розвиток технології «штучна кутикула»: композити типу «хітозан : ультра- , нанодисперсні оксиди металів»			
Контрольна		Формальдегід	1050
I дослідна	Зрошування	Хітозан харчовий (водорозчинний) рН 1% водного розчину 4,65	1050
II дослідна	Зрошування	Хітозан харчовий (кислоторозчинний) рН 1% водного розчину у 2% оцтовій кислоті 3,59	1050
III дослідна	Зрошування	Хітозан водорозчинний (сукцинат) рН 1% водного розчину 7,60	1050
Домінант бурий Д-102	а) зрошування; б) фонофорез; в) електророзпилення « <i>electrospray</i> »	Хітозан кислото розчинний, НОК, TiO ₂ (анатазна кристалічна форма, ультрадисперсний), CuSO ₄ , ZnSO ₄ , FeSO ₄ , БАР (вітаміни, амінокислоти, полісахариди, глікопротеїни)	90
Дослід 1-27	Зрошування	«Штучна кутикула» на основі хітозану (таблиця 2.1)	15552
3.3.6. Дослідження дії складових речовин «штучної кутикули» на структурні показники та рівень газопроникності шкаралупи інкубаційних яєць курей			

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4
Контроль	Не оброблені яйця	–	135
Дослід: Бірківська барвиста Полтавська глиняста Род-айленд червоний	Зрошування + ультрафіолетове опромінення (20 хв), пряме сонячне або штучне опромінення	Хітозан харчовий (кислоторозчинний), рН 1% водного розчину у 2% оцтовій кислоті 3,59-3,65 рН, TiO ₂ (анатазний і рутильний), Fe ₂ O ₃ (жовтий залізоокисний пігмент)	405
3.3.7. Дослідження дифузійних процесів у біокерамічному захисному шарі шкаралупи яєць курей за використання технології «штучної кутикули»			
Контроль	Фумігація	Формальдегід	40
Дослід 1-6	Зрошування, ультразвук	Хітозан кислоторозчинний, TiO ₂ , Fe ₂ O ₃ , CuSO ₄ , ДМСО, Mn, Zn	240
Етап 3. (ПР 3.4.) Оптимізація технології «штучна кутикула» до потреб сучасного практичного птахівництва. 3.4.1. Створення «штучної кутикули» ARTICLE на основі сполук четвертинного амонію (ЧАС)			
Контрольна	Без обробки	–	40
I дослідна	Домінант бурий Д-102 (уражені колібактеріозом)	Розчин хітозану; Розчин ЧАС; Розчин хітозану + НОК;	40
II дослідна	Леггорн білий	Розчин ЧАС + НОК;	40
III дослідна	Домінант бурий Д-102	Розчин хітозану + НОК + TiO ₂ ;	40
IV дослідна	Хайсекс браун	Розчин хітозану + НОК +	40
V дослідна	Ломанн браун	Fe ₂ O ₃ ;	40

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4
VI дослідна	Род-айленд червоний	Розчин хітозану + НОК +	40
VII дослідна	Полтавська глиняста	Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + CuSO ₄ ;	40
VIII дослідна	Бірківська барвиста	Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ +H ₂ O ₂ +CuSO ₄ ; Розчин ЧАС + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + H ₂ O ₂ + CuSO ₄	40
Контрольна		Формальдегід	576
Досліди 1-13	Домінант бурий Д-102	Розчин ЧАС + НОК + Оксиди металів + PE + ІМДРЕ +енхансери та ін.	7488
3.4.2. Створення «штучної кутикули» на основі хітозану			
Досліди проводили згідно методик, що були захищені патентами України на корисну модель [120-125]			33600
Ломанн браун	Визначення залишкових кількостей «штучної кутикули» на основі хітозану та її окремих хімічних складових на поверхнях лотків для інкубації яєць та виведення курчат		144
3.4.3. Вивчення впливу передінкубаційної технології «штучна кутикула» на розвиток ембріонів та збереженість молодняка курей			
Ломанн браун	Втрата маси яєць в період інкубації, жива маса ембріонів		1720
Контрольна	Інтер'єрні показники якості добових курчат		1400гол.
Дослідна	Постановочний молодняк курей		720 гол.

Вивчали вплив порушень технології вирощування курей-несучок різних порід і кросів на морфологічні та функціональні параметри природного захисного бар'єру яєць.

Схема проведення дослідів представлена в табл.2.2.

Таблиця 2.2

**Схема досліджень з вивчення впливу годівлі, утримання й догляду курей
на якісні параметри біокерамічного захисного шару яєць**

Порода/крос, голів	Негативний чинник	Група	Досліджува ли яєць, шт.
1	2	3	4
Леггорн білий (К-56; Д-210) Домінант	Вміст кальцію, г/голову на добу	Контроль (3,90 г)	60
		Д 1 (3,80 г)	60
		Д 2 (2,00 г)	60
		Д 3 (1,00 г)	60
бурій Д-102 (К-56; Д-315) Хайсекс	Мікотоксин, мг Т/кг корму	Контроль –	60
		Д 1 (1,0 мг)	60
		Д 2 (10,0 мг)	60
		Д 3 (100,0 мг)	60
браун (К-28; Д-168), Шейвер 579 (К-28; Д-168)	Рівень освітленості, тривалість світлового дня, годин (15 лк)	Контроль (10 лк) 16 год	60
		Д 1 16 год.	60
		Д 2 18 год.	60
		Д 3 20 год.	60
Ломанн браун (К-28; Д-168)	Температура повітря, °С	Контроль 16	60
		Д 1 20	60
		Д 2 25	60
		Д 3 30	60
Беларусь-9 (К-28; Д-126) Російські	Рівень вологи у пташнику, %	Контроль 65	60
		Д 1 75	60
		Д 2 85	60
		Д 3 90	60
білі помісні (К-28; Д-126)	Стресове навантаження (шум, 5 хв/год), дБ	Контроль 20	60
		Д 1 40	60
		Д 2 80	60
		Д 3 100	60

Продовж. табл. 2.2

1	2	3	4
	Вміст іонів важких металів у кормі, CdSO ₄ (мг/кг)	Контроль 0,1	60
		Д 1 0,5	60
		Д 2 1,0	60
		Д 3 5,0	60
Домінант бурій Д-102 (К-2; Д-5)	Інфекційне захворювання (колібактеріоз)	Контроль –	30
		Дослід – захворювання	30
Домінант бурій Д-102 (К-5; Д-15)	Забруднення яєць штамом плісневого гриба <i>Aspergillus fumigatus</i>	Контроль – чисті яйця	30
		Дослід – забруднені	30
Домінант бурій Д-102 (К-5; Д-15)	Забруднення кормів <i>E.coli</i>	Контроль –	40
		Д 1 цеоліти (3%)	40
		Д 2 обсіменіння <i>E.coli</i>	40
		Д 3 цеоліти + <i>E.coli</i>	40

Досліди проводили в проблемній лабораторії кафедри фармакології та терапії СНАУ. Формували ряд партій курей різних порід та кросів, котрих утримували в приміщенні віварію СНАУ в двухярусних кліткових батареях ОБН-4 по чотири голови в клітці. Контрольну партію курей утримували окремо від дослідних. Контрольна птиця оримувала комбікорм ПК-1/18. Поживна і енергетична цінність раціонів відповідали рекомендаціям ВНДІТІП (1998). Для дослідних партій курей імітували штучні порушення режиму утримання та годівлі. Досліди проводили протягом від одного до п'яти місяців.

Тривалість світлового дня підтримували за допомогою електронного регулятора. Мікотоксин Т та CdSO₄ згодовували з кормом за схемою, представленою в табл. 2.2.

Інфекційне захворювання на колібактеріоз спостерігали після штучного

зараження дослідної групи курей (5 голів) *E. coli* інтранозально. Для зараження використовували штам *E. Coli* 055 K59 № 3912/41, тест-культура отримана з ТОВ «Вет-Альянс». Хворобу реєстрували через 2 доби після зараження. Хвору птицю утримували в окремому боксі віварія. Після проведення дослідів хвору та загиблу птицю піддали розтину, труп утилізували.

У курей контрольних і дослідних груп враховували показники яйценокості, загальний клінічний стан. Шкаралупу яєць, отриманих від несучок, досліджували методами біологічної мас-спектрометрії, електронної мікроскопії, дифрактометрії. Визначали газопроникність за методом В. О. Бреславця та ін. [36].

Яйця контрольних та дослідних груп інкубували в інкубаторі «Наседка», що знаходився в приміщенні віварію. Проводили біологічний контроль методом овоскопії (на сьому, одинадцяту і дев'ятнадцяту добу) та розтину. Підраховували ембріональну патологію, рахували відсоток виводимості з числа запліднених яєць.

Проводили також дослід з вивчення впливу фактору забруднення на якість біокерамічного шару яєць курей. Для цього використовували курей кросу Домінант бурий Д-102 (15 гол., вік птиці 220 діб), яких утримували на забрудненій підлозі. Свіжі яйця (30 хв. після знесення), які були отримані в брудних умовах, обсіменяли штамом гриба *Aspergillus fumigatus*, після чого їх витримували в ексикаторах в термостаті протягом 25 діб при температурі 35 °С і вологості 90%. Шкаралупу контамінованих грибом яєць досліджували методом скануючої електронної мікроскопії з використанням електронного мікроскопа «РЕММА-102». Підготовку зразків шкаралупи яєць проводили відповідно до методики, яка передбачає напилювання срібла на зразок шкаралупи у вакуумі [162].

При вивченні впливу забруднених кормів на структуру шкаралупи яєць курей, формували одну контрольну і три дослідні групи курей кросу «Домінант бурий Д-102» (вік птиці 180-220 діб, по п'ять голів в кожній групі). Кури контрольної групи отримували комбікорм ПК-1/18. Першу дослідну групу

годовували комбікормом ПК-1/18 з вмістом цеолітів (3%; клиноптилоліт Сокирницького родовища), другу дослідну групу курей годували комбікормом ПК-1/18, в складі якого було м'ясо-кісткове борошно, обсіменене *E.coli* (штам 055 K59 № 3912/41, тест- культура отримана з ТОВ «Вет-Альянс»), третя дослідна група отримувала комбікормом ПК-1/18 з 3% вмістом цеолітів; м'ясо-кісткове борошно, що входило до складу комбікорму, було обсіменене *E.coli* (штам 055 K59 № 3912/41). Дослід тривав 4 місяці. Шкаралупу яєць, отриманих від курей всіх груп, досліджували методами скануючої електронної мікроскопії та рентгенівської дифрактометрії.

Електронно-мікроскопічні аналізи зразків біокерамічних захисних структур інкубаційних яєць, мас-спектрометричні, рентгендифракційні дослідження та визначення мікроелементного складу були проведені у відділі біофізики і мас-спектрометрії Інституту прикладної фізики НАН України м. Суми і в лабораторії електронної мікроскопії кафедри захисту рослин СНАУ.

Структурні характеристики шкаралупи досліджували з використанням скануючого електронного мікроскопа (растрові електронні мікроскопи і мікроаналізатор «РЕММА-102» та «РЕММА-106» ВАТ «*SELM*», Суми, Україна).

Цифрові зображення біокристалічних шарів обробляли за допомогою пакетів програм *Photoshop 6.0* (*Adobe*, 2001 р.) *Digimizer* та *Visilog 6.11* (*Noesis*, 2000 р.). Електронно-мікроскопічні зображення переводили в цифрову форму на матрикс 320 на 320 пікселів (за збільшення $\times 250$) пікселів з рівнем насиченості сірого кольору (*gray level*) 0-255. Цифрові зображення піддавали обробці в графічних редакторах з метою кількісної оцінки мікрodefektів біокерамічного шару шкаралупи. Молекулярне комп'ютерне моделювання проводили на ПК «*Pentium IV*» за допомогою програми *HyperChem 6*.

Білкові компоненти шкаралупи яєць досліджували за оригінальною методикою з модифікаціями авторів методики отримання екстракту біологічного об'єкту для мас-спектрометричного дослідження М. Т. Hincke et al. [68].

Дифрактометрію шкаралупи курячих яєць, оброблених перед інкубацією різними препаратами, проводили в Мюнстерському інституті ядерної фізики при Мюнстерському університеті. Для досліджень використовували прилад XR Difraktometer Siemens (D 500); CuK-опромінення; Ni-фільтр; струм на трубці – 30 мА; напруження – 40 кВ; сканування 2θ $10^{\circ} \div 60^{\circ}$.

Визначення антибіотиків в екстрактах зі зразків яєць проводили з використанням оригінальної методики авторів [70, 104].

Дослідження гемолітичної деструкції мембран еритроцитів під впливом дезінфектантів на основі поверхнево-активних речовин проводили за модифікованою методикою авторів [26].

В подальшому в дослідах використовували тільки свіжознесені яйця (не пізніше однієї доби після знесення), отриманих від курей різних порід і кросів, а саме Домінант бурий Д-102, Ломанн браун, Бірківська барвіста, Род-айленд червоний, Полтавська глиняста. Інкубацію проводили за загальноприйнятими нормами згідно з ДСТУ РСТ УССР 1924-82 «Яйця курячі інкубаційні. Технічні умови» та 4655:2006 «Яйця інкубаційні. Технологія передінкубаційного оброблення. Основні параметри», затвердженими 01.08.2006 р. наказом №227 Держспоживстандарту України, а також методичним посібником («Інкубація яєць сільськогосподарської птиці», 2001) [87]. Інкубували яйця в інкубаторі «Наседка», що знаходився в приміщенні віварію СНАУ, а також в інкубаторах птахогосподарств Сумської, Чернігівської областей, в дослідному господарстві «Бірки» Харківської області. Інкубацію яєць проводили в інкубаторах «Універсал-55» за стандартним температурно-вологісним режимом. Для передінкубаційної обробки яєць контрольних груп використовували фумігацію формальдегідом, дослідні групи обробляли робочими розчинами «штучної кутикули». В процесі інкубації яєць спостерігали за розвитком ембріонів курей шляхом проведення біологічного контролю [62]. Овоскопію проводили на п'яту, одинадцяту та дев'ятнадцяту добу інкубації. За допомогою розтину

встановлювали причини ембріональної патології. Після виводу молодняка курей підраховували відсоток виводимості яєць.

Сортування добового молодняка виконували згідно ДСТУ 2021 : 2006 «Молодняк сільськогосподарської птиці добовий. Технічні умови». ДСТУ 4661 : 2006 «Молодняк сільськогосподарський ремонтний. Технічні умови».

Досліджуючи існуючі технології передінкубаційної обробки яєць курей в аспекті порівняння змін морфологічних та функціональних параметрів природного захисного бар'єру яєць, спричинених класичними препаратами і складовими «штучної кутикули» використовували препарати з групи ЧАС та їх діючі речовини («АТМ-Арома» (РФ), *CID 20* та *Virocid (CID LINES*, Бельгія, алкілтриметиламоній-хлорид (АТМ), техн., алкілдиметилбензиламоній-хлорид (АДМБ), дидецилдиметилбензиламоній-хлорид (ДДМБ) «*Sigma*», США), препарати на основі пероксидних сполук (*Virkon-S (Antex*, Великобританія; *KRKA*, Словенія), а також «Метацид», глутаральдегід, формальдегід. Технологію обробки яєць проводили згідно інструкцій що до використання.

Препарат «штучної кутикули» на основі ЧАС модифікували, додаючи водний розчин рослинного екстракту (РЕ), надоцтову кислоту (НОК), пероксид водню (H_2O_2), аденозинмонофосфат (АМР; 5%), (*Sigma*, США); аденозинмонофосфат (АМР; 5%) (*Sigma*, США); глутамін (Глу; 10%) (*Serva*, Німеччина); цистеїн (Цис; 10%) (*Reanal*, Угорщина); диметилсульфоксид (ДМСО; 0,05% ч.) [13, 57]; α -циклодекстрин (ЦД; 0,5%) (*Sigma*, США), *L*-ментол(0,5%).

Робочий розчин для приготування «штучної кутикули» отримували, додаючи до 600 мл 10% водного екстракту РЕ 200 мл 5% розчину відповідного ЧАС, 50 мл етанолу, 50 мл 20%-го H_2O_2 та 100 мл 20%-ї НОК з наступною обробкою ультразвуком у лабораторній ультразвуковій бані УП-1 (44 кГц, 1,5 Вт/см²) протягом 5 хвилин. «Штучну кутикулу» на поверхні інкубаційних яєць отримували різними способами: 1) методом зрошування робочим розчином (діаметр крапель аерозолу – 50-200 мкм); 2) використовували фонофоретичний

метод. Після висихання водного шару розчинів на поверхні шкаралупи яєць відбирали зразки з середньої частини яйця площею 4-6 мм², які аналізували растровою електронною мікроскопією.

В експерименті з дослідження газопроникності захисних плівок «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію використовували сумарний рослинний екстракт (РЕ), водорозчинні ЧАС (АТМ, техн., АДМБ, ДДМБ «Sigma», США), надоцтову кислоту (НОК), х.ч. Робочий розчин для приготування «штучної кутикули» отримували, додаючи до 850 мл РЕ 100 мл 5% розчину відповідного ЧАС, 50 мл 20% НОК з наступною обробкою ультразвуком в лабораторній ультразвуковій бані 1,5 Вт/см² протягом 5 хв. «Штучну кутикулу» наносили на поверхню інкубаційних яєць курей шляхом зрошування робочим розчином (діаметр крапель аерозолу 50-200 мкм) з наступним висиханням і утворенням твердофазної плівки. Проникність захисних біокерамічних структур яєць щодо газової фази повітря проводили мас-спектрометричним (мас-спектрометр газовий МХ-7304А, ВАТ «SELMИ», Суми, Україна) та манометричним методами.

Наступним етапом роботи було вивчення особливостей захисних плівок «штучна кутикула» на основі хітозану. У роботі використовували: оцтову кислоту, х.ч. (ДСТУ 61-75); надоцтову кислоту (НОК) (реєстрація за № 77.99.26.8.У.2208.4.10 від 09.04.2010 р., ТУ 9392-001-57184037-03); пероксид водню (H₂O₂) (ДСТУ 177-88); хітозан водорозчинний сукцинат, хітозан водорозчинний; хітозан кислоторозчинний, ЗАТ «Біопрогрес», РФ (ТУ 9289-031-21428156-02); жовтий залізоокисний пігмент Fe₂O₃, ВАТ «Сумихімпром» (ДСТУ 14657.15-96); червоний залізоокисний пігмент Fe₂O₃, ВАТ «Сумихімпром»; чорний залізоокисний пігмент Fe₂O₃, Дніпропетровськ [122]; TiO₂ анатазна та рутильна кристалічні форми, ВАТ «Сумихімпром» (ДСТУ 9808-84); TiO₂ ультра- та нанодисперсний, УДХТУ, Дніпропетровськ; CuSO₄, х.ч. (ДСТУ 19347-99); формальдегід (ДСТУ 1625-75).

Перед інкубацією формували партії яєць, котрі були оброблені препаратами, що вказані в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3.

Схема передінкубаційної обробки курячих яєць препаратами на основі хітозану

№ групи	Препарат для дезінфекції яєць курей	Концентрація	Кількість яєць
1	2	3	4
	Формальдегід (контроль)		576
2	Оцтова кислота	3% водний розчин	576
3	Надоцтова кислота (НОК);	2% ; 3% водний розчин	567
4	Хітозан сукцинат	0,5% водний розчин	576
5	Хітозан водорозчинний	0,5% водний розчин	576
6	Хітозан кислоторозчинний з НОК	0,5% розчин хітозану у 3% НОК (водний розчин)	576
7	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і жовтим залізо окисним пігментом Fe ₂ O ₃	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням Fe ₂ O ₃ 0,5%	576
8	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма)	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (рутил) 0,5%	576
9	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (анатазна кристалічна форма)	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (анатаз) 0,5%	576
10	Хітозан кислоторозчинний з НОК, H ₂ O ₂ та оцтовою кислотою	0,5 розчин хітозану у 3% розчині НОК+ 3% H ₂ O ₂ та 3% оцтовою кислотою	576

1	2	3	4
11	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК, жовтим залізоокисним пігментом Fe ₂ O ₃ та H ₂ O ₂ та оцтовою кислотою	0,5 розчин хітозану у 3% розчині НОК, Fe ₂ O ₃ 0,5% + 3 % H ₂ O ₂ та 3% оцтовою кислотою	576
12	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма, ультрадисперсна)	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (рутил) 0,5%	576
13	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма, ступінь дисперсності – нанодисперсна)	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (рутил) 0,5%	576
14	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (анатазна кристалічна форма, ультрадисперсна ступінь)	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (анатаз) 0,5%	576
15	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (анатазна кристалічна форма ступінь дисперсності – нанодисперсна)	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (анатаз) 0,5%	576
16	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма, ступінь дисперсності – ультрадисперсна), з H ₂ O ₂ та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (рутил) 0,5% + 3% H ₂ O ₂ та 3% оцтовою кислотою	576

1	2	3	4
17	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма, ступінь дисперсності – нанодисперсна), з H ₂ O ₂ та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (рутил) 0,5% + 3% H ₂ O ₂ та 3% оцтовою кислотою	576
18	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (анатазна кристалічна форма ступінь дисперсності – ультрадисперсна), з H ₂ O ₂ та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (анатаз) 0,5% + 3% H ₂ O ₂ та 3% оцтовою кислотою	576
19	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (анатазна кристалічна форма ступінь дисперсності – нанодисперсна), з H ₂ O ₂ та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO ₂ (анатаз) 0,5% + 3% H ₂ O ₂ та 3% оцтовою кислотою	576
20	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма, ультрадисперсна), H ₂ O ₂ , CuSO ₄ та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК, TiO ₂ (рутил) 0,5% + 3% H ₂ O ₂ , 1% CuSO ₄ та 3% оцтовою кислотою	576
21	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO ₂ (рутильна кристалічна форма, ступінь дисперсності – нанодисперсна) та H ₂ O ₂ , 1% CuSO ₄ та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК + TiO ₂ (рутил) 0,5% + 3% H ₂ O ₂ , 1% CuSO ₄ та 3% оцтовою кислотою	576

Продовж. табл. 2.3

1	2	3	4
22	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO_2 (анатазна кристалічна форма ступінь дисперсності – ультрадисперсна), з H_2O_2 , та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO_2 (анатаз) 0,5% + 3% H_2O_2 , 1% CuSO_4 та 3% оцтовою кислотою	576
23	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO_2 (анатазна кристалічна форма ступінь дисперсності – нанодисперсна), з H_2O_2 , 1% CuSO_4 та оцтовою кислотою	0,5% розчин хітозану у 3% розчині НОК з додаванням TiO_2 (анатаз) 0,5% + 3% H_2O_2 , 1% CuSO_4 та 3% оцтовою кислотою	576
24	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК, жовтим залізоокисним пігментом Fe_2O_3 (ступінь дисперсності – ультрадисперсна), H_2O_2 , CuSO_4 та оцтовою кислотою	0,5 розчин хітозану у 3% розчині НОК, Fe_2O_3 0,5% + 3% H_2O_2 , 1% CuSO_4 та 3% оцтовою кислотою	576
25	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК, жовтим залізоокисним пігментом Fe_2O_3 (ступінь дисперсності – ультрадисперсна), H_2O_2 , CuSO_4 та оцтовою кислотою	0,5 розчин хітозану у 3% розчині НОК, Fe_2O_3 0,5% + 3% H_2O_2 , 1% CuSO_4 та 3% оцтовою кислотою	576

1	2	3	4
26	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК, червоним залізоокисним пігментом Fe ₂ O ₃ (ступінь дисперсності – нанодисперсна), H ₂ O ₂ , CuSO ₄ та оцтовою кислотою	0,5 розчин хітозану у 3% розчині НОК, Fe ₂ O ₃ 0,5% + 3% H ₂ O ₂ , 1% CuSO ₄ та 3% оцтовою кислотою	576
27	Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК, червоним залізоокисним пігментом Fe ₂ O ₃ , (ступінь дисперсності – нанодисперсна) H ₂ O ₂ , CuSO ₄ та оцтовою кислотою	0,5 розчин хітозану у 3% розчині НОК, Fe ₂ O ₃ 0,5% + 3% H ₂ O ₂ , 1% CuSO ₄ та 3% оцтовою кислотою	576

«Штучну кутикулу» на поверхні інкубаційних яєць отримували різними способами: 1) зрошували яйця робочим розчином (діаметр крапель аерозолі – 50-200 мкм), після його висихання утворювалась твердофазна плівка; 2) оброблювали яйця за технологією електророзпилення «*electrosprey*» (діаметр крапель аерозолі – 200 нм – 1 мкм; напруга + 7 кВ, модифікований прилад УНП, SELMI, Україна); 3) фонофоретичний метод (удосконалена технологія В. Акопяна та ін.) [7]. Шкаралупу яєць до і після обробки оцінювали методами електронної мікроскопії, проводили мікроелементний аналіз.

В експериментах щодо вивчення дії надоцтової кислоти на шкаралупу яєць курей використовували обробку методом зрошування робочим розчином НОК відповідної концентрації (1-10%; загальний об'єм розчину – 36 мл на 144 яйця) за 20-30 хв. перед закладанням на інкубацію. Досліджували ступінь проникності біокерамічних шарів шкаралупи щодо модельної газової суміші,

яка є ідентичною атмосферному повітрю. При обробці отриманих цифрових зображень для визначення кількості мікрodefektів шкаралупи на одиницю площі цифрового зображення (Y ; кількість каналів, %), використовували програму *Visilog 6.11* (Noesis, Бельгія, 2000). Газопроникність вивчали за методикою В. О. Бреславця та ін. [36]. Вимірювання газопроникності шкаралупи з попередньо видаленими підшкаралупними мембранами проводили до обробки яєць робочими розчинами (контроль) і після обробки (експеримент).

Передінкубаційну обробку яєць курей «штучною кутикулою» на основі хітозану проводили наступним чином: перед обробкою яєць готували розчин із розрахунку: на 1500 мл розчину – 150 мл НОК, 1500 мг хітозану, 1500 мг TiO_2 , 1500 мг F_2O_3 , 150 мл H_2O_2 , 750 мг $CuSO_4$. Наважку хітозану (1500 мг) розчиняли у 150 мл 50% надоцтової кислоти при перемішуванні і слабкому нагріванні до 35-40 °С. Після повного розчинення додавали воду до повного об'єму (100 мл), знов ретельно перемішували, використовуючи високообертний міксер або ультразвуковий диспергатор. У готовий розчин вносили по 1500 мг оксиду титану та заліза, 150 мл пероксиду водню, 750 мг сульфату міді, 1,5 мл пом'якшувача води та 1,5 мг мікроелементів. Розчин ретельно перемішували протягом 10 хв за допомогою міксера або ультразвукового диспергатора. Потім додавали 0,43 л водопровідної води і знов перемішували. Перед застосуванням матковий розчин змішували з 10 л води кімнатної температури (16-18 °С). Приготованим розчином заправляли краскопульт, підключений до компресора, або ранцевий обприскувач. Яйця обробляли після їх сортування безпосередньо у візках. Щоб змочуваність була рівномірною зверху і знизу, лотки вставляли через одно гніздо – це дозволяло просувати наконечник обприскувача між лотками знизу. Експозиція становила 30-40 хв. до висихання розчину і утворення твердофазної плівки. Візки з яйцями зрошували в сортувальному залі. Однієї заправки обприскувача (10 л) вистачає на обробку 35-40 тис. яєць.

Для вологої дезінфекції інкубаторів використовували 2-3% формалін з розрахунку: на 1 м³ камери брали 35 мл 40% формаліна, додавали 17,5 мг води,

ставили розчин в камеру і висипали в нього 25 г марганцевокислого калію. Після дезінфекції протягом 30-40 хвилин їдкі пари формальдегіду знешкоджували за допомогою розбрискування по камері нашатирного спирту.

Інкубацію яєць курей контрольних і дослідних партій проводили за методикою, описаною вище.

Для оцінки чутливості санітарно-показових мікроорганізмів до різних концентрацій дослідних препаратів використовували культури *E. Coli* (паспортизований штам АТСС №25922 (F-50) серія 1, тест-культура отримана з Державної Сумської біофабрики; штам *E. Coli* 055 К59 № 3912/41, тест-культура отримана з ТОВ «Вет-Альянс»), *St. Aureus* (штам № 209-Р).

З метою визначення протимікробної дії препаратів проводили дослідження змивів з яєць, оброблених перед інкубацією препаратами, що представлені в таблиці 2.1, через дві години після обробки, на п'яту, одинадцяту та дев'ятнадцяту добу інкубації. Досліджували протимікробну та фунгіцидну дію препаратів щодо санітарно-показової мікрофлори та мікроскопічних грибів. Дослідження проводили згідно ДСТУ 4769:2007 «Методи виявлення сальмонел», та «Методичних вказівок по бактеріологічній діагностиці колібактеріозу (ешеріхіозу тварин)», «Лабораторна діагностика стафілококових інфекцій. Методичні вказівки», «Лабораторна діагностика аспергильозу. Методичні вказівки».

Показники ефективності перебігу процесів окислювального фосфорилування (біоенергетичні параметри мітохондрій у тканинах) визначали полярографічним методом за М. Н. Кондрашовою та ін. [93]. Досліди проводили на приладі полярограф *Lp-60* (Чехословаччина).

Біохімічні показники крові курчат двотижневого віку Ломанн браун (вміст загального білку в сироватці крові, г/л, вміст АТФ в печінці курчати, мг %, активність АТФази в печінці курчати, мкмоль Р/г/хв, активність СДГ в печінці курчати, нмоль сукцинату/хв., активність АлаТ в сироватці крові, ум. од., активність АсАт в сироватці крові, ум. од., D-глюкоза, ммоль/л, сечова кислота, мкмоль/л, сечовина, ммоль/л, гемоглобін, г/л, МДА, мкмоль/л, G-SH,

мкмоль/л, токоферол, мкмоль/л, вміст загальних ліпідів, г/л, активність ліпази, мкмоль/л хв., креатинін, мкмоль/л, Ca^{2+} , ммоль/л, Р, ммоль/л, Ферум, мг%, Мідь, мг%, α -амілаза, од., холестерин, моль/л.) визначали за допомогою класичних методів біохімічних та імунологічних досліджень [91], а також на клінічному біохімічному аналізаторі *LabLine-0,16* (*LabLine*, Австрія). Морфологічні показники крові молодняку курей у віці двотижневого віку (еритроцити, гемоглобін, лейкоцити) визначали класичними методами, за методиками В. Г. Колба, В. С. Камышнікова [91]. Стан неспецифічної імунної резистентності (бактерицидну та лізоцимну активності) вивчали класичними методами [91].

Вивчали вплив різних методів передінкубаційної обробки яєць на розвиток ембріонів курей. Досліджували втрату вологи інкубаційними яйцями та живу масу ембріонів методом вимірювання втрати маси яєць шляхом контрольного зважування їх перед закладкою на інкубацію, на п'яту, одинадцяту та дев'ятнадцяту добу інкубації. Якість добового молодняку оцінювали за їх живою масою, ростом і розвитком внутрішніх органів. Збереженість молодняка спостерігали протягом 140 діб. Вивчали динаміку живої маси курчат, враховуючи причини загибелі птиці [78, 95, 129]. Птицю утримували згідно норм, встановлених ВНТП-СГіП – 46-4.94, затвердженими Мінсільгосппродом України (Протокол НТР від 28.06.94 р. № 4) і введеними в дію з 1.07.94 р [132].

Для визначення корозійної активності і залишкових кількостей «штучної кутикули» та її окремих хімічних складових на поверхнях лотків для інкубації яєць та виведення курчат проведено експерименти з обробки партії інкубаційних яєць курей Ломанн браун (144 шт). Досліди проводили в Інституті Прикладної фізики НАНУ м. Суми за загальноприйнятими методиками.

Економічну ефективність від застосування розробленої технології «штучна кутикула» на основі хітозану визначали за методикою І. Ф.Баланюка, С. І. Барила, С. Р. Басуна та ін. [105].

Визначення біометричних та кореляційних показників проводили за

методикою Е. К. Меркур'євої та Н.А. Плохинського [73, 127].

Статистичну обробку отриманих масивів експериментальних даних проводили з використанням сучасних пакетів комп'ютерних програм «*Statistica for Windows 6.0*», для побудови графічних компонентів використовували пакети «*Sigma Plot 4.01 for WIN95/NT*», «*Origin 8.0*», «*TableCurve Windows 1.10*». Одержані цифрові дані були оброблені за допомогою програми *MS EXCEL 98 and Windowse*, статистично опрацьовувані за Стьюдентом. Результати вважали статистично вірогідними при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ та $p \leq 0,001$.

Висновки.

Дослідження структурних характеристик біокерамічного шару яєць курей методами електронної мікроскопії, біологічної мас-спектрометрії, дифрактометрії, визначення рівня газопроникності шкаралупи, мікроелементний аналіз, зоотехнічні, біохімічні та імунологічні методики дозволяють: а) проаналізувати вплив негативних чинників, що виникають під час порушень технології утримання та годівлі курей-несучок, на розвиток ембріонів курей в інкубаційний період, прогнозувати їх виводимість та збереженість молодняка; б) попередити негативну дію зазначених чинників на перебіг інкубаційного процесу та пов'язані з нею втрати продукції птахівництва; в) удосконалити технологію захисту ембріонів, що розвиваються, в період інкубації від несприятливих чинників оточуючого середовища.

Шляхом покрокового ускладнення препарату можна сформувати полікомпонентну регульовану газопроникну захисну плівку, якою є «штучна кутикула», для передінкубаційної обробки яєць курей, що позитивно впливає на розвиток ембріонів, підвищує виводимість та збереженість молодняка курей.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Дослідження морфологічних параметрів біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей при порушеннях технології вирощування птиці

Якість яєць, призначених для інкубації – найважливіший показник для достовірного прогнозування виводимості і життєздатності потомства, а в подальшому – отримання екологічно чистої, конкурентоспроможної продукції. На якість яєць впливають різні технологічні фактори: годівля й умови утримання птиці, мікроклімат пташника, устаткування гнізд, строге дотримання технологій отримання, зберігання та інкубації яєць тощо. Велике значення має чистота і цілісність шкаралупи. Отже метою досліджень даного розділу було встановлення залежності якісних характеристик шкаралупи яєць курей від порушень технології вирощування птиці. Шкаралупа пташиного яйця являє собою унікальний біокерамічний композитний матеріал, котрому притаманні, з одного боку, висока щільність та міцність у поєднанні з певною механічною еластичністю і досить висока газо- та вологопроникність – з іншого. Зазначені фізико-хімічні характеристики біокерамічного матеріалу, з котрого складається шкаралупа, обумовлені синергетичною дією двох складових – неорганічної частини, яка представлена кристалічним карбонатом кальцію (CaCO_3), та органічною «мінорною» складовою (специфічні пептиди, глікопротеїни, ліпіди, барвники тощо). Основна функція шкаралупи полягає у регуляції газообміну ембріонів птиці протягом інкубації, забезпечення бар'єрних властивостей щодо патогенної мікрофлори довкілля, участі у процесах підтримання водного балансу і певної температури у зоні розвитку ембріону. Зважаючи на те, що формування такого багатокomпонентного біокомполиту, як шкаралупа,

перебігає протягом невеликого проміжку часу, вплив багатьох чинників (як «внутрішніх», зокрема спадкових факторів, наслідків захворювань, так і чинників довкілля, у першу чергу умов утримання та годівлі птиці) призводять до порушень структури біокерамічного шару, а ті, у свою чергу, обумовлюють порушення фізіологічних функцій у ембріонів, зазначених вище.

3.1.1. Дослідження морфологічних параметрів біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей у нормі

У стартових дослідах методом сканувальної електронної мікроскопії вивчали морфологічні параметри захисних біокерамічних структур інкубаційних яєць курей різних прорід і кросів, отриманих за умов додержання технології утримання та годівлі. Досліджували шкаралупу яєць курей Домінант бурий Д-102, Ломанн браун. Мікрофотографії представлені в Додатку М.

На рис. 3.1, 3.2. надані мікрофотографії відколів шкаралупи яєць курей з нормальною шкаралупою і добре розвиненим мамілярним шаром.

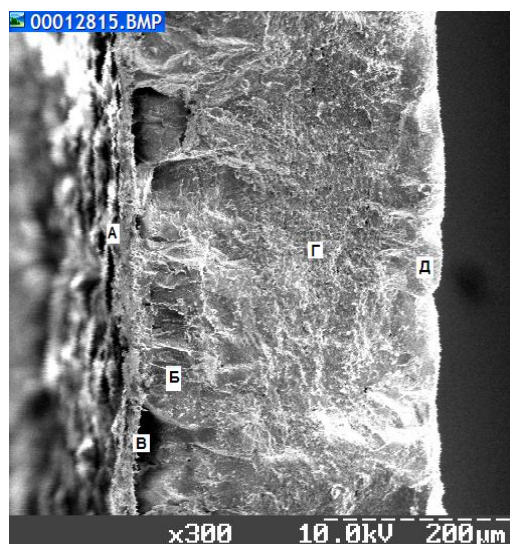


Рис. 3.1. Електронна мікрофотографія шкаралупи яйця куриці Ломанн браун (відкол): (x 300)

Примітка. А – підшкаралупні оболонки, Б – мамілярний шар, В – пори, сформовані між мамілярами, Г – палисаний (зубчатий) шар, Д – вертикальний кристалічний шар

Зазначимо, 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.

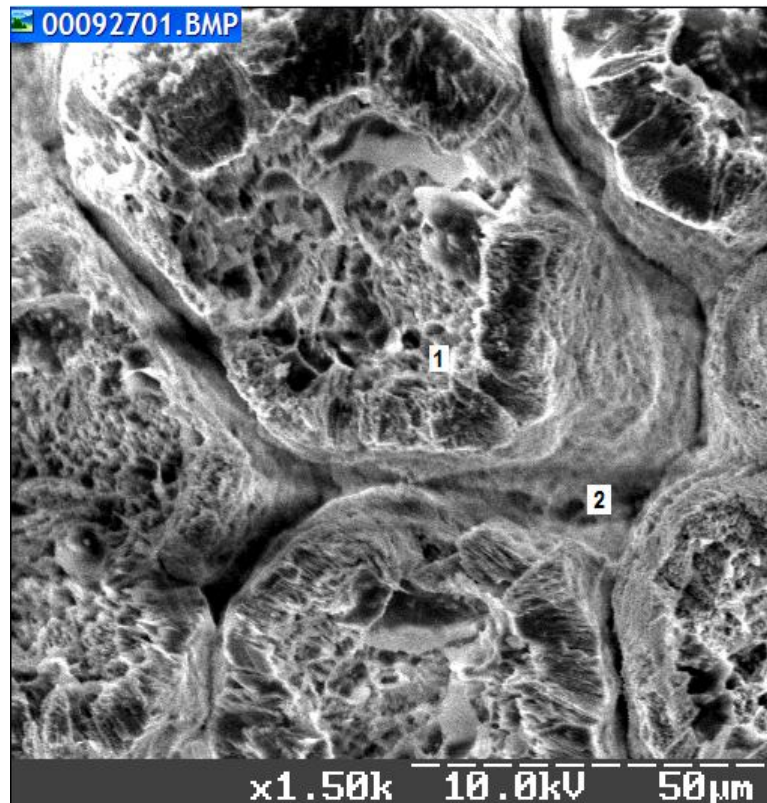
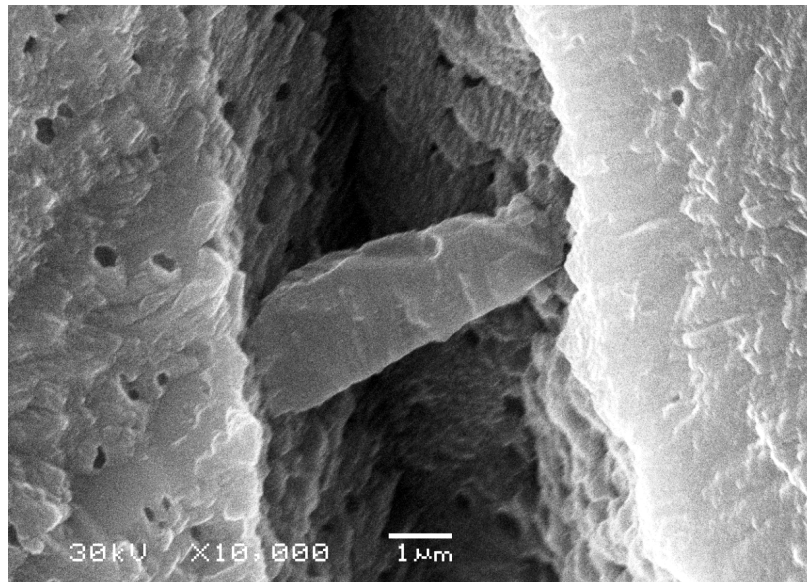


Рис. 3.2. Електронна мікрофотографія мамілярів шкаралупи яйця куриці Ломанн браун (10 тиждень яйцекладки): (x 1 500)

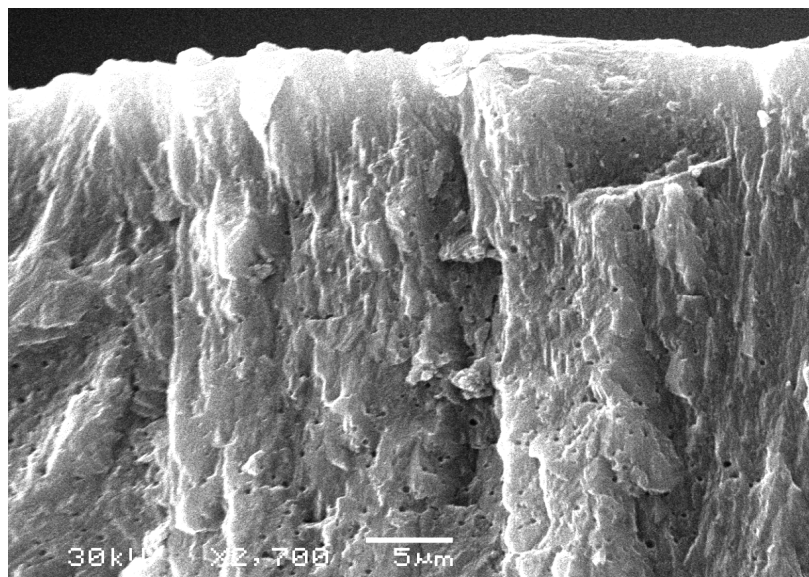
Примітка. 1 – зона початкового росту кристалів CaCO_3 , 2 – пора

У щільній шкаралупі, яка відповідає нормам, 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 вдовж однієї лінії. У такій шкаралупі маміляри мають різний розмір і великий міжмамілярний проміжок, котрий формує пори та мікрошпарини (рис. 3.3).



**Рис. 3.3. Електронна мікрофотографія пори у шкаралупі яйця куриці
(Ломанн браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 10 000)**

При більш детальному розгляді можна бачити, що вертикальний кристалічний шар шкаралупи складається з плоских кристалічних структурних елементів, які щільно прилягають один до одного у певному напрямку і така орієнтація зазначених елементів забезпечує надзвичайну міцність і щільність кристалічного шару (рис. 3.4).



**Рис. 3.4. Електронна мікрофотографія частин вертикального кристалічного та губчастого шарів шкаралупи яйця куриці
(Ломанн браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 2 700)**

Щодо губчастого шару шкаралупи, то його характерною морфологічною ознакою є наявність великої кількості мікроотворів діаметром 0,2-0,5 мкм (рис. 3.5). Вважається, що ці отвори утворюються протягом формування шкаралупи і слугують своєрідною «арматурою» для упорядкованої кристалізації карбонату кальцію з аморфної форми, оскільки саме в них містяться пептиди, що відповідають за рост кристалів карбонату.

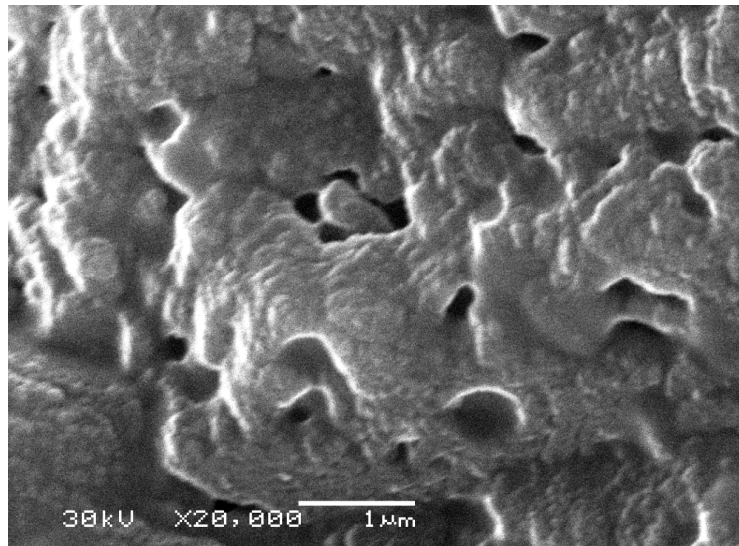


Рис. 3.5. Електронна мікрофотографія частини губчастого шару шкаралупи яйця куриці (Ломанн браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 20 000)

Такі ж мікроотвори притаманні і мамілярному шарові шкаралупи (рис. 3.6).

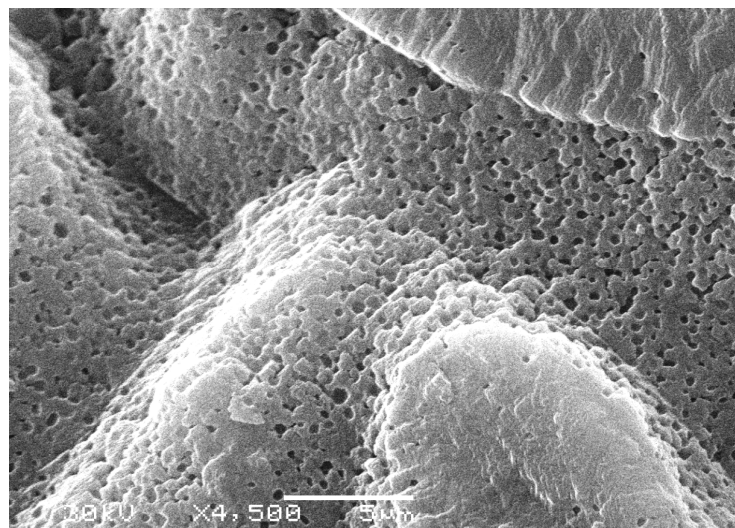


Рис. 3.6. Електронна мікрофотографія частини мамілярного шару шкаралупи яйця куриці (Ломанн браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 4 000)

На рис. 3.7 наведені мікрофотографії поверхневого шару шкаралупи — надшкаралупної мембрани (кутикули). Звивисті лінії відповідають тріщинам глікопротеїнової плівки, з котрої переважно і складається кутикула, яка утворюється протягом 5-7 хвилин після знесення яйця під час висихання поверхні. Таким чином, кутикула яйця куриці у нормі являє собою морфологічну структуру, що складається з глікопротеїнових платівок неправильної форми, які нещільно прилягають одна до одної і утворюють, таким чином, глибокі звивисті тріщини. Такі тріщини сягають поверхні кристалічного шару шкаралупи.

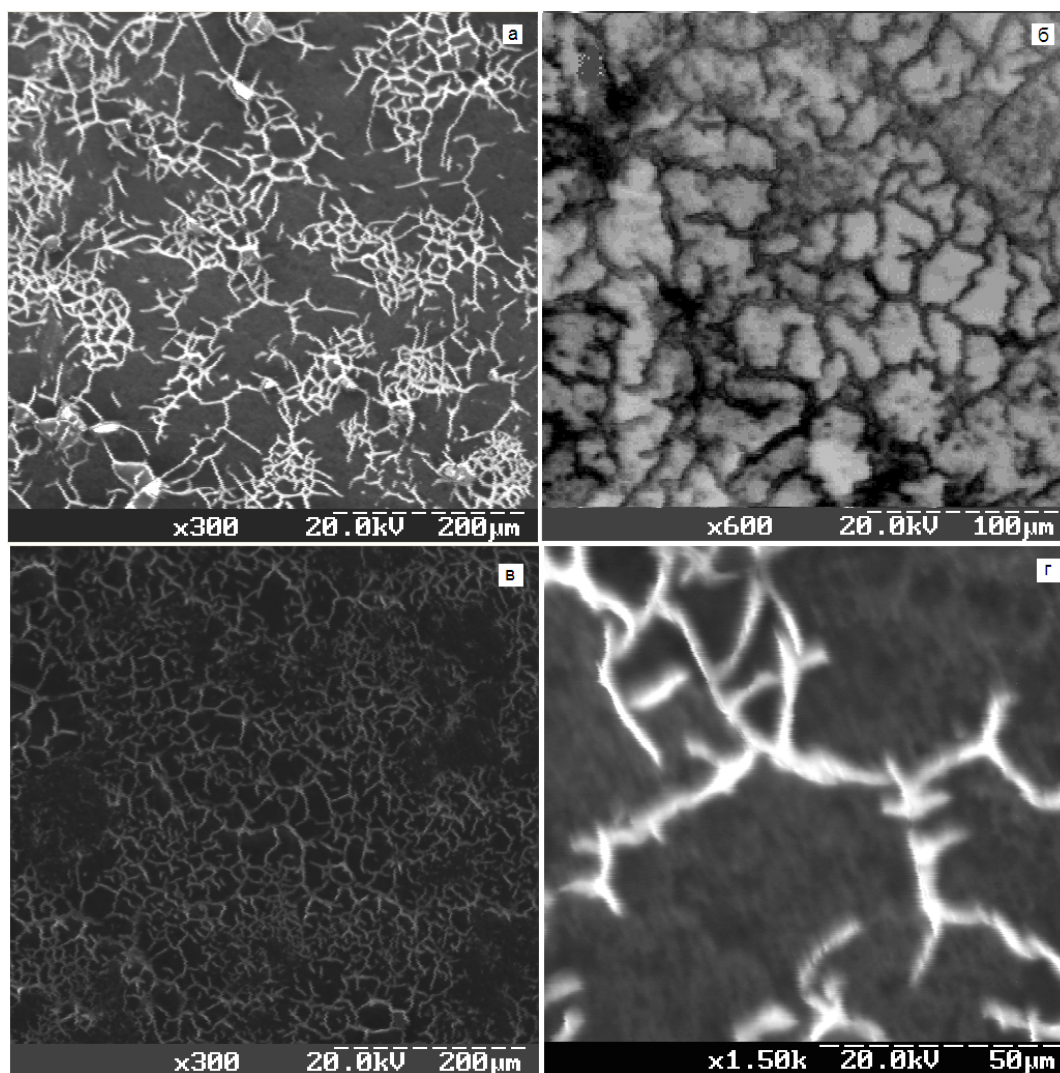


Рис. 3.7. Електронна мікрофотографія надшкаралупної мембрани (кутикули) шкаралупи яйця куриці (Домінант бурий Д-102, 14 тиждень яйцекладки): (x 300, а; x 600, б; x 300, в; x 1 500, г)

3.1.2. Вивчення впливу годівлі, утримання й догляду курей на якісні параметри біокерамічного захисного шару яєць

Мету цієї частини роботи склало дослідження показників яєчної продуктивності курей різних порід і кросів та їх зв'язку з якісними показниками біокерамічного захисного шару яєць і рівнем резистентності птахів.

Нашими попередніми дослідженнями, захищеними дисертацією Самохіної Є.А., [135] і представленими в публікаціях [39,41,42], було розроблено методику кількісної оцінки мікродефектів, пор і мікрошпарин у шкаралупі. Автор запропонувала комп'ютерну обробку цифрових зображень, отриманих за допомогою програм, що входять до складу програмного забезпечення сучасних сканувальних електронних мікроскопів («РЕММА-102», «РЕМ-106і», ВАТ «*SELM*»), графічними редакторами *Photoshop 6.0 (Adobe)*, *Digimizer та Visilog 6.11 (Noesis)*. Було досліджено зв'язок між порушеннями у технології утримання і годівлі курей з кількістю мікродефектів у шкаралупі яєць курей різних порід і кросів.

Метою наших наступних досліджень було вивчення морфологічних параметрів, фазового складу та органічних складових біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей за норми та порушень технології вирощування птиці. Для проведення дослідів формували групи курей, яким штучно створювали негативні умови утримання і годівлі. Досліди проводили в лабораторії віварію СНАУ. В дослідях використовували птицю Домінант бурий Д-102, Ломанн браун, Хайсекс браун, Леггорн Білий, Шервер 579, Беларусь-9, Російські білі помісні. Вивчали зміни кальцієвого раціону у кормах (I), наявність мікотоксинів (II), рівень освітленості (III); температуру повітря в приміщенні (IV); рівень вологи у приміщенні (V); стресорні навантаження (VI); інфекційні захворювання (VII); важкі метали (VIII). Досліджували вплив названих негативних факторів на організм птиці, якість біокерамічного захисного шару яєць курей та на показники виводимості.

Досліди проводили згідно схем, поданих у розділі № 2 «Загальна методика й основні методи досліджень».

Контрольні та дослідні групи курей (окрім дослідів щодо вивчення змін технологій утримання) вирощували згідно вимог до параметрів мікроклімату: вологість – 65-70%, температура – 14-16 °С, освітленість – 9-10 Люкс. Контрольні та дослідні групи курей (окрім дослідів щодо вивчення впливу кальція на шкаралупу яєць) отримували комбікормом ПК-1/18, поживна і енергетична цінність якого відповідали рекомендаціям ВНДІТІП (1998).

До складу комбікорму входили: кукурудза, шрот соняшниковий, шрот соєвий, макуха соєва, макуха соняшникова, дріжджі кормові, борошно рибне, борошно м'ясо-кісткове, мука черепашкова, сіль кухонна, ферменти, вітаміни, мікроелементи, мінеральні речовини, адсорбент токсинів.

Якісні показники комбікорму ПК-1/18 представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Показники якості комбікорму ПК-1/18 Крупка

Показники	Одиниці виміру	Розрахунок
1	2	3
Обмінна енергія	Ккал	270
Сирий протеїн	%	15,5
Сира клітковина	%	5,8
Метіонін	%	0,40
Метіонін+цистеїн	%	0,73
Лізін	%	0,80
Треонін	%	0,58
Кальцій	%	3,80
Доступний фосфор	%	0,38
Натрій (Na)	%	0,15
Хлор (Cl)	%	0,19
Вітамін А	МО	15 000
Вітамін Д3	МО	3 000
Вітамін Є	мг	37,50
Холін-хлорид	мг	400,00
Мідь	М2г	10,00

Продовж. табл. 3.1

1	2	3
Марганець	мг	100,00
Цинк	мг	60,00
Залізо	мг	25,00
Кобальт	мг	20,00
Селен	мг	0,25
Йод	мг	0,50
Добова норма згодовування	грамм/гол.	90-120

Шкаралупу яєць, отриманих від курей дослідних і контрольних груп, досліджували, використовуючи скануючу електронну мікроскопію. Встановлено, що порушення технології утримання птиці призводять до змін в мікроструктурі біокерамічних захисних систем інкубаційних яєць. Так, для м'якої шкаралупи яєць, отриманих від курей, котрих утримували з порушенням санітарно-гігієнічних норм освітлення приміщення, збільшенням світлового часу (15 Люкс, тривалість світлового дня 20 годин) характерні порушення кристалічного і губчастого шарів шкаралупи, а також наявність недорозвинених мамілярів, або безмамілярних ділянок на внутрішній поверхні шкаралупи (рис. 3.8).

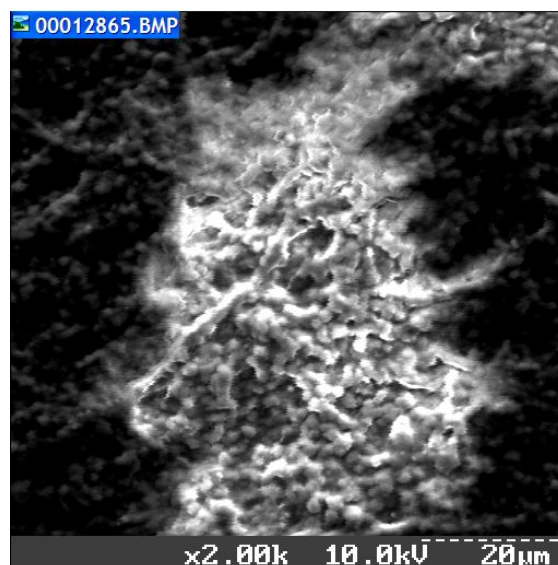


Рис. 3.8. Електронна мікрофотографія недорозвиненої шкаралупи яйця куриці: на колагенових волокнах спостерігається початок росту мамілярів (x 2 000)

Шкаралупа яєць – «виливок» складається із колагенових волокон, на котрих іноді видно зачатки мамілярів.

При згодовуванні курям кормів з недостатнім вмістом кальцію (1,0 г/голову на добу протягом 30 діб) спостерігали порушення синтезу шкаралупи яєць. На рис. 3.9 представлена мікрофотографія зламу яйця, на поверхні якого є патологічний потовщений «пасок». На мікрофотографії добре видно: кристали кальцитів палісадного шару (1); ріст кристалів кальцитів кристалічного вертикального шару (2, 4); мікрошпарину, що виходить на зовнішню поверхню шкаралупи (3). Зазначимо, що шари шкаралупи мають більш розрихлену структуру, а ніж у нормі. Недорозвиненість палісадного шару вказує на нестачу іонів Ca^{+2} для побудови шкаралупи.

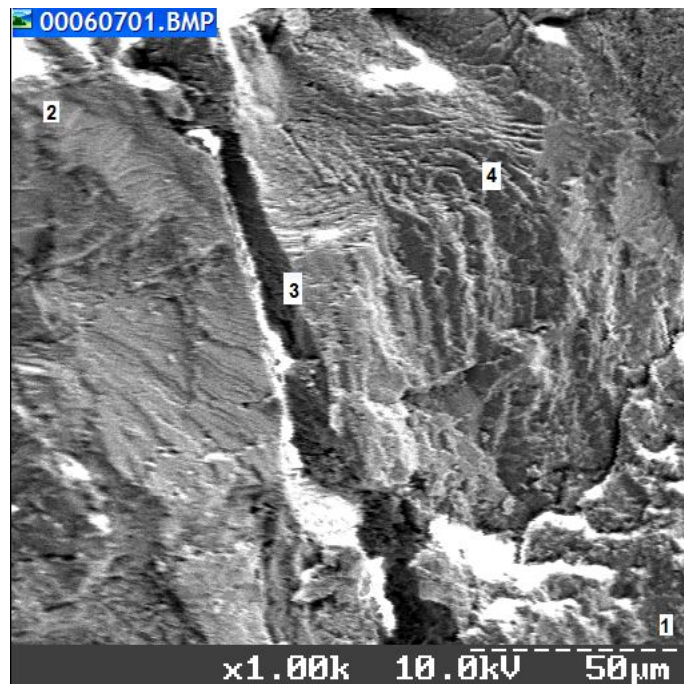


Рис. 3.9. Електронна мікрофотографія зони «паску» шкаралупи яйця, отриманого від куриці, якій згодовували корми з недостатнім вмістом кальцію (1,0 г/голову на добу протягом 30 діб)

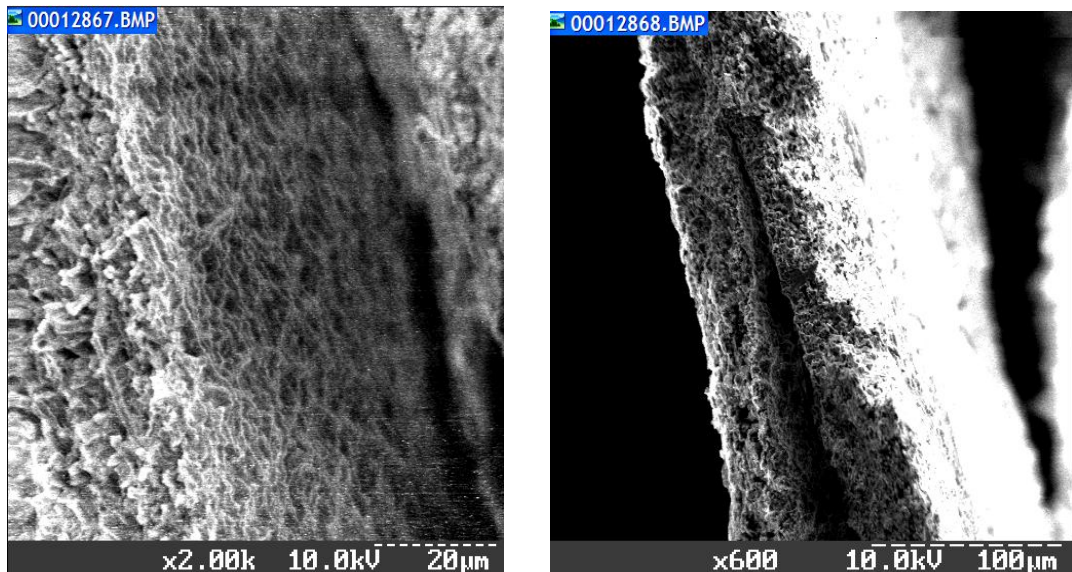
(Ломанн браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 1 000)

Примітка. 1 – кристали кальцитів палісадного шару, 2, 4 – кристали кальцитів кристалічного вертикального шару, 3 – мікрошпарина

Маміляри, що злилися, дають початок декільком недорозвиненим колонкам. За суттю, дефекти мамілярного шару визначають правильність і

досконалість формування конусного та палісадного 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 яйця птиці.

«М'яка» шкаралупа може складатися тільки з колагенових волокон. Шкаралупа яйця, отриманого від куриці-несучки Ломанн браун, котрій згодовували з кормом мікотоксин Т (100 мг/кг корму), подана на рис. 3.10.



а

б

Рис. 3.10. Електронні мікрофотографії недорозвиненої шкаралупи яйця куриці, що отримувала мікотоксин Т з кормами (100 мг/кг корму) (Ломанн браун, 12 тиждень яйцекладки) (виливок)

Примітка. На мікрофотографіях представлені різні збільшення шкаралупи яйця куриці: а – х 2 000; б – х 600

У зразках нещільної шкаралупи колонки палісадного шару подовжуються 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 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.

Неправильний розвиток шкаралупи спостерігається також у хворих на колібактеріоз курей. На електронній мікрофотографії (рис. 3.11) представлена шкаралупа яєць, отриманих від птиці, хворої на колібактеріоз.

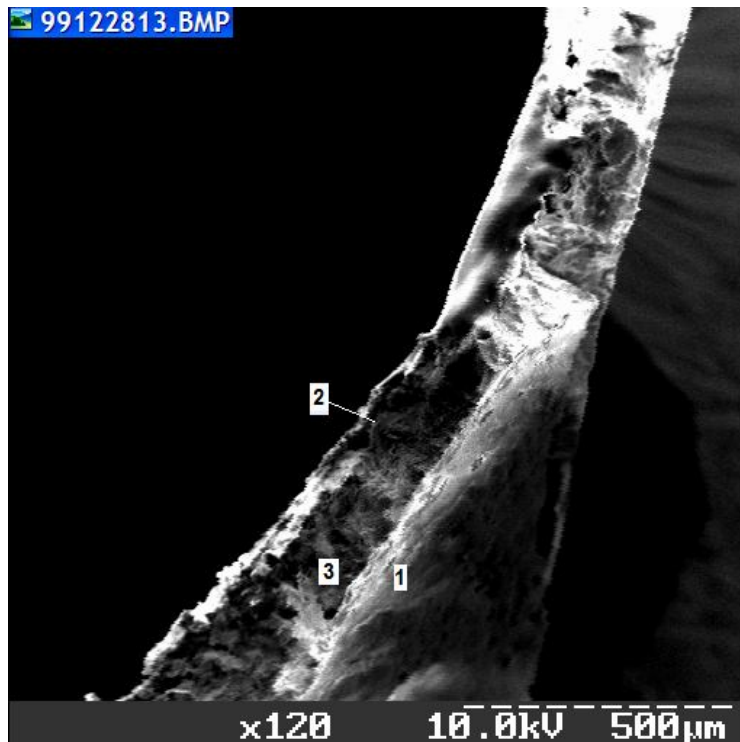


Рис. 3.11. Електронна мікрофотографія шкаралупи яйця, отриманого від куриці, хворої на колібактеріоз: (x 120)

Примітка. 1 – зовнішній шар шкаралупи, 2 – маміляри, 3 – недорозвинений палісадний шар

Така шкаралупа тонка, не сформована, має волокнистий пористий вид. Маміляри розташовані на великій відстані один від одного. Спостерігається відсутність та недорозвиненість конусного та палісадного шарів, велика кількість шпарин і насічок.

З мікрофотографії, (див. рис. 3.11) 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.

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 здорової птиці є практично вільними від мікроорганізмів; контамінація відбувається лише після знесення переважно протягом першої години.

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 яйця куриці 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 30 °С.

При порушенні параметрів зберігання 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.

В досліджах шкаралупу яєць курей через 30 хв. після знесення штучно осіменяли штамом *Aspergillus fumigatus*. Оброблені яйця зберігали в ексикаторах в термостаті при температурі 35 °С, вологості 90%. Контрольні яйця, не піддані обробці грибок, зберігали в термостаті в тих же умовах. На 15 добу після закладання яєць в дослідній групі спостерігали ріст цвілевих грибків *Aspergillus fumigatus*.

На електронній мікрофотографії 3.12 (а, б) представлена шкаралупа яєць, уражена цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus*. Уся шкаралупа яйця куриці 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.

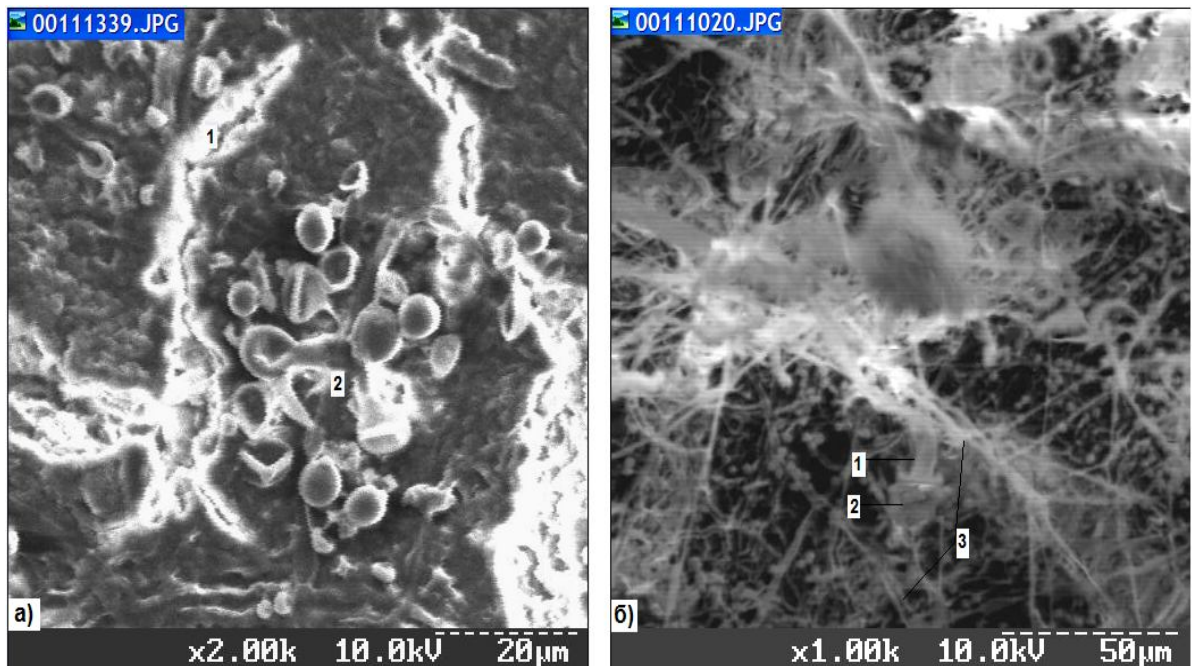


Рис. 3.12. Електронні мікрофотографії шкаралупи яйця, зараженої цвілевим грибом *Aspergillus fumigatus*

Примітки: а) зовнішня поверхня шкаралупи (кутикула): 1 – пора, 2 – гіфа грибка *Aspergillus fumigatus* (x 2 000); б) підшкаралупна оболонка курячого яйця: 1 – конідієносець, 2 – конідій, 3 – колагенові волокна підшкаралупної оболонки, уражені грибом *Aspergillus fumigatus* (x 1 000)

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. Руйнуючи органічний субстрат шкаралупи, міцелій *Aspergillus fumigatus* пронизує кристалічну структуру кальцитного шару.

Розвиваючись, гіфи грибів утворюють конідієносці з конідіями, в яких дозрівають спори. Розсіваючись, вони обсіменяють підшкаралупні мембрани, що є добрим живильним субстратом для грибів.

Бактеріальні забруднення кормів також здійснюють суттєвий вплив на структуру біокерамічних бар'єрів інкубаційних яєць курей. На рис. 3.13 наведені електронні мікрофотографії зколів шкаралупи яєць курей кросу «Домінант бурий Д-102» (вік птиці 180-220 діб) з контрольної групи (рис. 3.13, а) та групи, яка отримувала цеоліти (3%; клиноптилоліт Сокирницького родовища) та м'ясо-кісткове борошно, обсіменене *E.coli* (рис. 3,13, б).

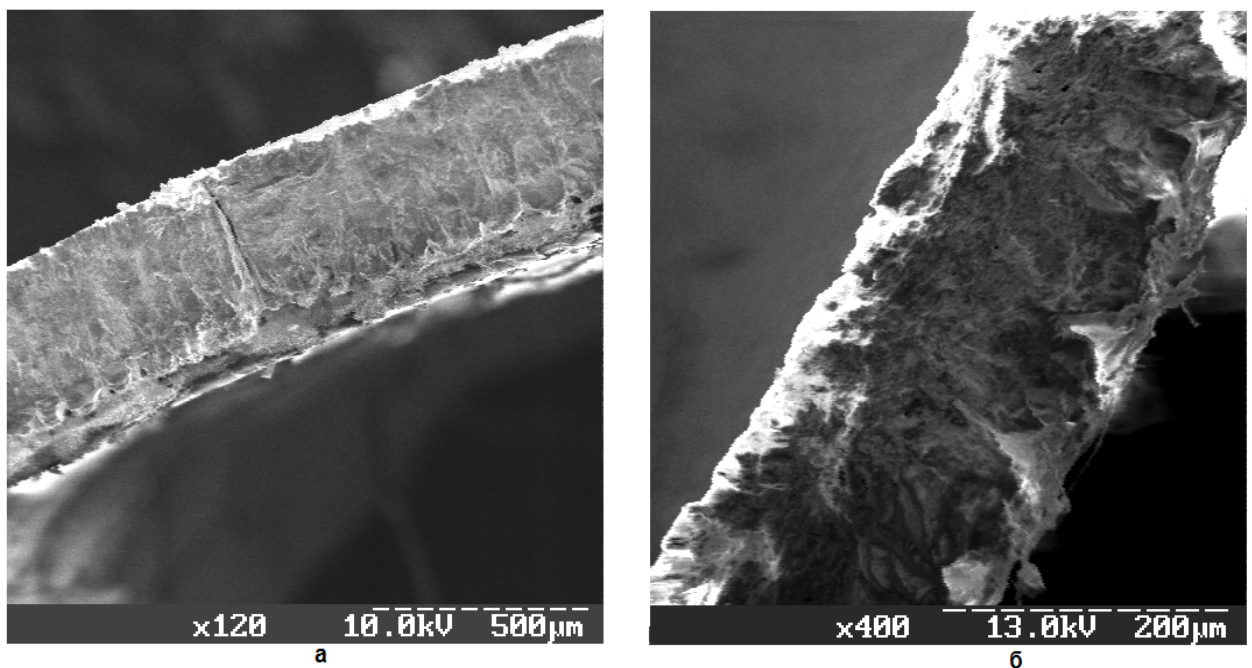


Рис. 3.13. Мікрофотографії відколів шкаралупи яєць курей контрольної групи (а), та групи курей, що отримували цеоліти та корм, обсіменений *E.coli* (б)

Можна бачити, що шкаралупа контрольних яєць вирізняється щільною структурою, пронизаною нечисленними шпаринами правильної форми (див. рис. 3.13, а).

Аналогічна будова притаманна яйцям курей, які отримували цеоліти (результати не наведені). В той же час, токсини *E.coli* здійснили деструктуючий вплив на морфологію яєць курей. Структура шкаралупи яєць,

отриманих від таких курей, характеризується розрихленістю та невпорядкованістю мамілярного шару (див. рис. 3.13, б). Останнє обумовлене тим, що токсини бактерій порушують обмін речовин організму, на котрий здійснюють свою дію, і в першу чергу, білків. Теоретично можна припустити вплив токсинів, який полягає в зміні кількості та появі нових (або зникненні наявних) кристалічних форм кальциту шкаралупи, обумовлений дією зазначених речовин.

На рис. 3.14 наведені результати дослідження шкаралупи курей методом рентгенівської дифракції.

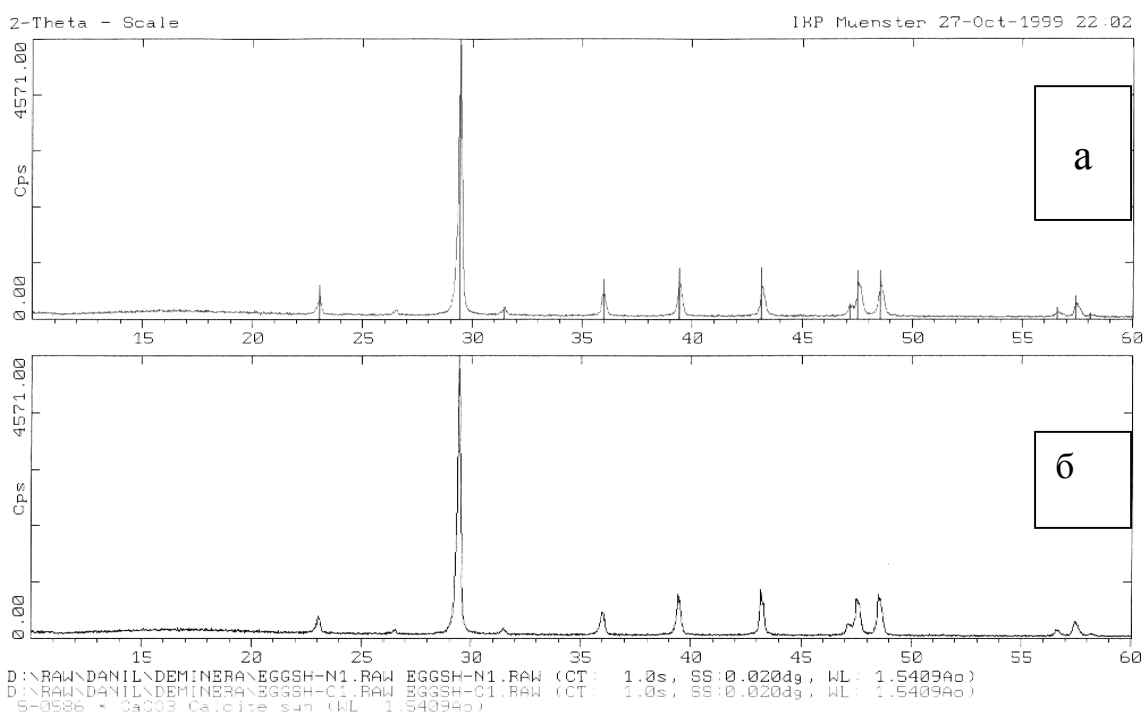


Рис. 3.14. Рентгенівські дифрактограми шкаралупи яєць курей контрольної групи (а), та групи курей, що отримували цеоліти та корм, обсіменений *E.coli* (б)

Як видно, розподіл та інтенсивність рефлексів, що відповідають певним кристалічним формам кальциту достовірно не відрізняються для яєць птиці з контрольної групи (див. рис. 3.14, а) та яєць птиці, що отримала токсини *E.coli* та цеоліти (див. рис. 3.14, б).

Таким чином встановлено, що порушення режиму годування, утримання та інфекційні хвороби курей-несучок призводять до змін у формуванні

біокерамічних шарів шкаралупи яєць, що призводить до погіршення їх якісних характеристик.

Дослідженнями мікроструктури шкаралупи доведено, що ступінь організованості формування мамілярного і конусного шарів визначає розвиток інших, а , як наслідок, і щільність шкаралупи.

3.1.3. Визначення органічних складових біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей за норми та порушень технології вирощування птиці

Виходячи з новітніх уявлень про шкаралупу яйця куриці як багат шарову біокерамічну структуру, міцність і еластичність якої визначається формою, складом і просторовим розміщенням неорганічних і органічних компонентів у біокерамічному шарі дослідження білків та пептидів, що утворюють органічний каркас шкаралупи, є досить перспективним, оскільки саме ці складники шкаралупи переважно і зумовлюють значення важливого для практичного птахівництва інтегрального показника – якість шкаралупи.

Оскільки білки/пептиди, що входять до складу біокерамічного складу шкаралупи, становлять не більше 1-2% загальної маси зазначеного шару, їхнє дослідження потребує новітніх методичних підходів, зокрема біологічної мас-спектрометрії.

Отже, за основний експериментальний метод дослідження білково-пептидних складових було використано м'якоіонізаційну мас-спектрометрію, (МС)-електророзпилювальну МС (*ESI-MS*) та плазмово-десорбційну (ПДМС).

У попередніх роботах, захищених в кандидатській дисертації аспіранткою Самохіною Є. А. [135], та викладених в опублікованих працях [39,41,42], отримані данні, які висвітлюють характер і ступінь впливу негативних чинників утримання та годівлі курей на структурні параметри біокерамічного матриксу шкаралупи яєць курей.

Дослідами Самохіної Є. А. було встановлено, що на кількість мікродфектів в шкаралупі впливають різною мірою такі чинники: вміст кальцію в раціонах годівлі, наявність мікотоксинів, зокрема мікотоксину Т у кормах, температура повітря і рівень вологості в приміщенні для утримання птиці, стресові навантаження, захворювання інфекційної природи, а також наявність та кількість залишків важких металів у кормах, насамперед кадмію, та визначено ступінь впливу цих факторів.

Метою ж наших досліджень було встановлення кількісного та якісного складу структуроутворювальних білків/пептидів біокерамічного шару шкаралупи інкубаційних яєць курей різних порід і кросів методами біологічної мас-спектрометрії та дослідження зв'язків цих параметрів з якісними показниками шкаралупи яєць, отриманих від курей під впливом негативних факторів утримання та годівлі.

В роботі використовували інкубаційні яйця курей Домінант бурий Д-102, Хайсекс браун, Ломанн браун, Беларусь-9, Леггорн білий, Російські білі (15-20-й тиждень яйцекладки). Курей утримували відповідно до установлених норм утримання та годівлі (контроль) та з порушеннями зазначених норм (дослід).

У дослід брали тільки свіжознесені яйця (не пізніше 1 доби після знесення). Структурні характеристики шкаралупи досліджували за допомогою скануючої електронної мікроскопії, використовуючи растровий електронний мікроскоп-мікроаналізатор «РЕММА-12».

Цифрові зображення біокристалічних шарів обробляли за методикою, розробленою Самохіною Є. А. з використанням пакетів програм *Photoshop 6.0 (Adobe)*, *Digimizer ma Visilog 6.11 (Noesis)* [135].

Для вивчення білково-пептидних складників шкаралупи модифікували методом М. Hincke et al. [329, 333]. Отримані твердофазові зразки досліджували МІ-плазмово-десорбційною мас-спектрометрією (ПДМС) на біохімічному мас-спектрометрі з іонізацією уламками поділу ^{252}Cf «МСБХ», *SEMI*, а рідиннофазові зразки – електророзпилювальною мас-спектрометрією

«Electrospray» (ESI-MS) «Mariner», США. Результати експериментів (повторність не менше 8) обробляли статистично з використанням пакетів *Statistica for Windows 6.0* та *Origin 8.0*.

Обробка цифрових зображень електронномікроскопічних даних показала, що кількість мікрodefektів шкаралупи яєць курей залежить від наступних базових факторів: вмісту кальцію і мікотоксин Т у кормах, температури і вологості повітря в приміщенні для утримання птиці, стресові навантаження (шум), інфекційні захворювання (колібактеріоз), наявність іонів важких металів (кадмію) у кормах (рис. 3.15).

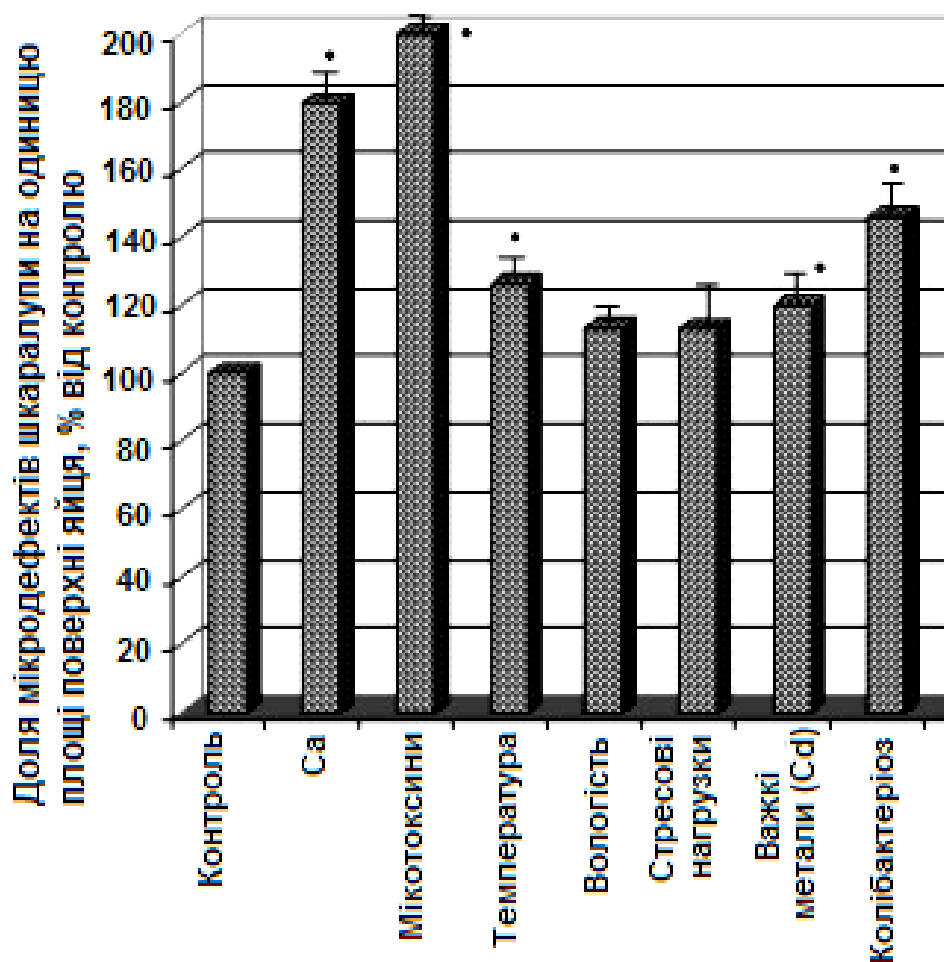


Рис. 3.15. Залежність кількості мікрodefektів біокерамічного шару шкаралупи яєць курей від впливу зовнішніх факторів (Домінант бурий Д-102)

Примітка. Точками відмічені достовірні розбіжності з контролем ($p < 0,005$)

Для мас-спектрометричного дослідження яйця групували за інтегральним показником якості біокерамічного бар'єру таким чином:

- 1) добре структурований біокерамічний бар'єр (контроль);
- 2) середньо-структурований бар'єр (недотримання показників температури, вологості і дія стресу при утриманні);
- 3) недостатньо структурований бар'єр (хвороби бактеріального походження (колібактеріоз), наявність важких металів у кормах);
- 4) хаотичний (неструктурований) бар'єр (нестача кальцію в раціоні, наявність мікотоксину Т у кормі).

Мас-спектрометричний аналіз білково-пептидних фракцій, отриманих зі шкаралупи, показав, що у нормі склад і розподіл їх компонентів відповідає наведеним на рис. 3.16 і 3.17.

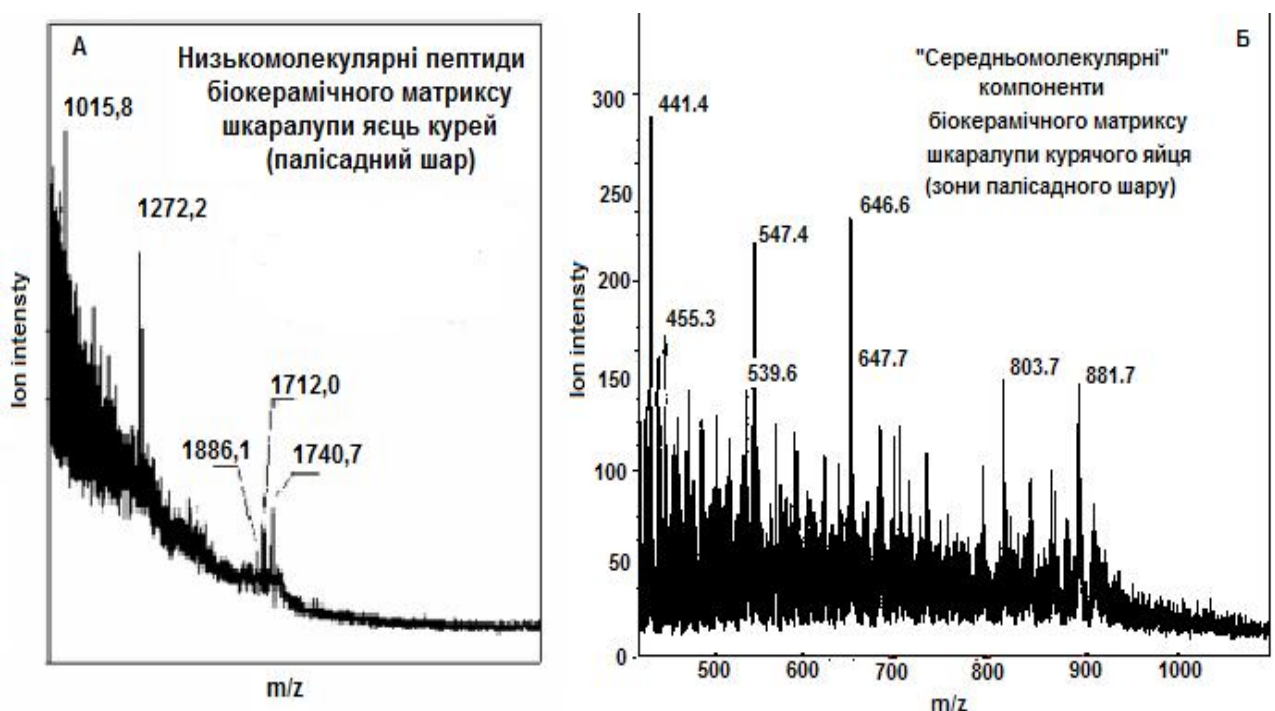


Рис. 3.16. ESI-MS-мас-спектри пептидних низькомолекулярних (а) і середньо молекулярних (б) органічних складових біокерамічного матриксу шкаралупи яєць курей (Домінант бурій Д-102)

В кислотних екстрактах та твердофазових зразках з біокерамічного матриксу захисних структур яєць виявлені фракції пептидних складових у

діапазоні мас 1600-1750 а.о.м. (див. рис. 3.16, а) і «середньо молекулярних» інгредієнтів органічної природи масою 400-880 а.о.м. (три-, гексапептиди, їх похідні тощо) (див. рис. 3.16, б).

Окрім того, зареєстровані піки квазімолекулярних іонів, що відповідають низькомолекулярним білкам шкарлупи, які тісно пов'язані з формоутворенням неорганічної кальцитової компоненти останньої: овоклеїдину-17, овокаліксинів-21 і 32, а також неідентифікованих білків/олігопептидів з масами 1272,8 (пептид Х) і 2792,7 а.о.м. (пептид У).

З рис. 3.17, а також можна встановити, що овоклеїдин-17 схильний утворювати міжмолекулярні комплекси-кластери з натрієм і калієм ($[M+Na]^+$ і $[M+Na+K]^+$ з молекулярними масами 1712 а.о.м. і 1740 а.о.м. відповідно).

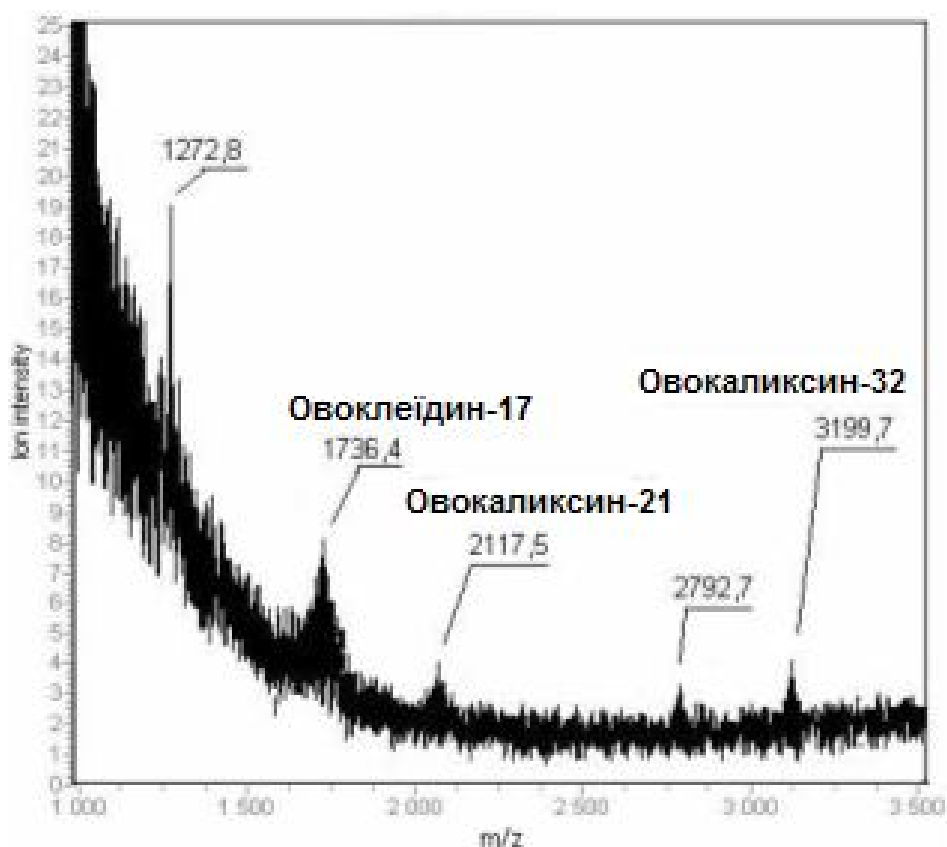


Рис. 3.17. ESI-MS-мас-спектри високомолекулярних білкових складових біокерамічного матриксу шкаралупи яєць курей (Домінант бурий Д-102)

Стандартною процедурою в біологічній мас-спектрометрії є визначення кількості певної речовини в суміші за інтенсивністю піку іону, що йому відповідає за значенням молекулярної маси.

Використавши цей підхід встановлено, що з погіршенням рівня структурованості біокристалічного шару шкаралупи достовірно ($p < 0,05$) знижується вміст в останньому білку овоклеїдину-17 і спостерігається тенденція до зниження іншого структуроутворюючого білку – овокаликсину-32 ($p > 0,05$) (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Інтенсивність піків іонів високомолекулярних білково–пептидних складових біокерамічного матрикса шкаралупи яєць курей
(% від контролю)**

Структурованість біокерамічного матриксу	Пептид X (контроль) (1272,8 а.о.м.)	Овоклеї- дин-17 (1736,4 а.о.м.)	Овокалик- син–21 (2117,7 а.о.м.)	Пептид Y (2792,7 а.о.м.)	Овокалик- син–32 (3199 а.о.м.)
Добра	100	45	19	17	22
Середня	100	40	18	20	19
Погана	100	34	17	21	16
Хаотична, неструктурована	100	22	19	20	11

Вміст інших білків овокаликсину-21 і пептидів невизначеного складу «X» та «Y» залишається сталим незалежно від ступеню структурованості біокераміки захисного шару шкаралупи.

Щодо середньомолекулярних інгредієнтів зазначеного шару мас-спектрометричні дані свідчать про наявність позитивної кореляції між зростанням ступеня неструктурованості та підвищенням інтенсивності піків іонів, що відповідають компонентам з молекулярними масами

455 а.о.м., 481 а.о.м., 547 а.о.м., 646 а.о.м. з одночасним зниженням інтенсивності піків іонів з масами 803 а.о.м. і 881 а.о.м. (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Інтенсивність піків іонів низько- та середньомолекулярних білково–пептидних складових біокерамічного матрикса шкаралупи яєць курей (% від контролю)

Структурованість біокерамічного матриксу	Молекулярна маса компонента, а.о.м							
	441 (контроль)	455	481	539	547	646	803	881
Добра	100	57	49	51,4	78	82	53	51
Середня	100	59	65	54	85	85	45	50
Погана	100	67	72	58	97	89	32	44
Хаотична, неструктурована	100	73	84	66	112	98	20	36

Найбільшими значеннями позитивної кореляційної залежності між ступенем неструктурованості біокерамічного шару та інтенсивністю піку іонів вирізнялася органічна сполука з масою 547 а.о.м. ($r=0,7-0,75$) і, навпаки, найбільш виражений негативний кореляційний зв'язок був притаманний сполучі з молекулярною масою 803 а.о.м. ($r=0,60-0,67$).

На основі значень наведених типів кореляційних залежностей, притаманних яйцям різних порід і кросів (Домінант бурий Д-102, Хайсекс браун, Ломанн браун, Беларусь-9, Леггорн білий, Російські білі) отримані дані щодо ступеню «відклику» білково-пептидних складових біокерамічного шару інкубаційних яєць курей на дію однотипових негативних чинників, наведених далі (рис. 3.18).

Як виявилось, за цим показником можна розділити птицю досліджених порід і кросів на дві групи – «чутливі» ($r=+0,65-0,88$; $r=-0,60-0,75$) і «резистентні» ($r=+0,18-0,44$; $r=-0,13-0,39$).

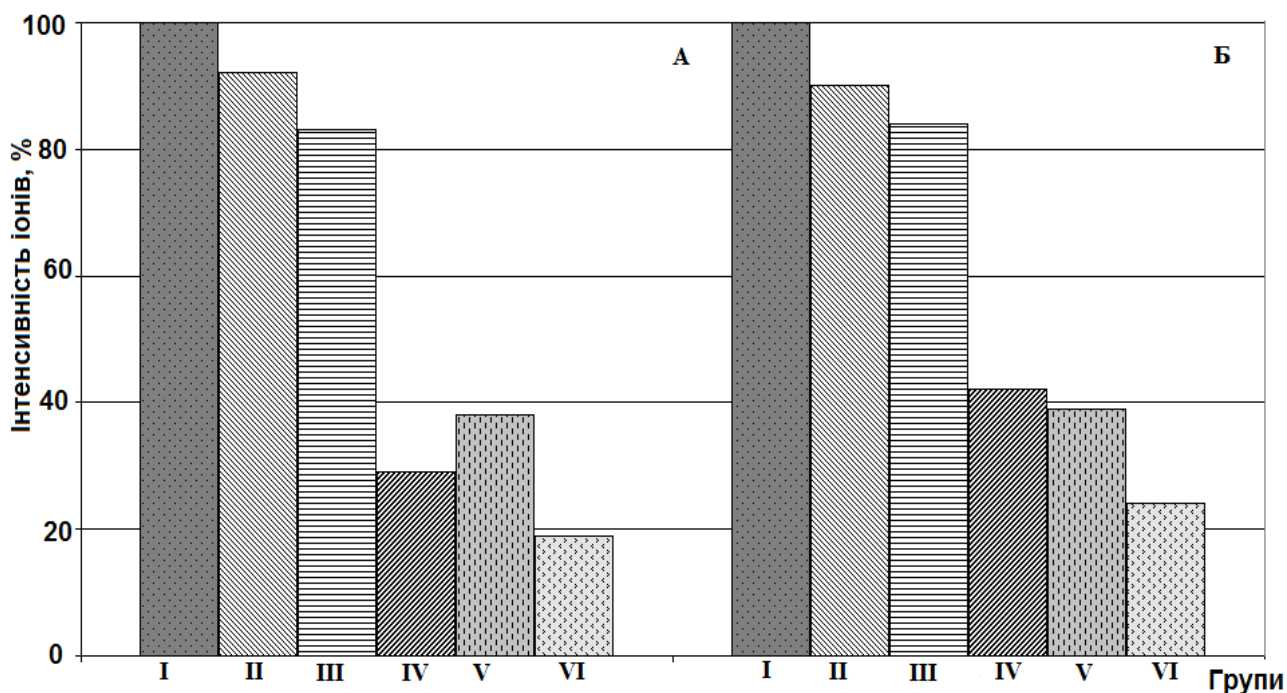


Рис. 3.18. Кількість овоклеїдину-17 (а), середньо- і низькомолекулярних компонентів (б), що входять до складу біокерамічного матриксу шкаралупи яєць курей різних порід і кросів під впливом негативних факторів

Примітка. I, II, III, IV, V, VI – кури порід і кросів: I – Російські білі помісні (контроль); II – Леггорн білий, Російські білі; III – Беларусь 9; IV – Хайсекс браун, Домінант бурий Д-102; V – Шейвер 579, VI – Ломанн браун

До чутливих відносяться: Домінант бурий Д-102, Хайсекс браун, Ломанн браун; відповідно до резистентних: Беларусь-9, Леггорн білий, Російські білі. В групі чутливої птиці відносно резистентністю відрізнялась птиця кросу Ломанн браун ($r=+0,67$); $r=-0,64$), а в групі резистентної – Російські білі ($r=+0,21$; $r=-0,15$).

Характерно, що кури кросів Домінант бурий Д-102, Хайсекс браун і Ломанн браун відрізняються високою яєчною продуктивністю і в той же час, на відміну від птиці резистентної групи, потребують прецизійного дотримання технології утримання й годівлі і в одночас є порівняно чутливими до інфекційних агентів.

На рівні умовних ступіней чутливості та величин інтенсивності «відклику» морфологічних параметрів біокерамічних структур інкубаційних

яєць курей різних порід і кросів на дію негативних чинників довкілля доведено загальнобіологічну парадигму, яка полягає у загальному зниженні ефективності функціонування тих органів – тканин – ферментних систем, які не пов'язані безпосередньо з діяльністю відповідних систем, максималізація ефективності та гіперфункціонування котрих досягається під час селекції птиці за однією ознакою, у нашому випадку яйценесучості.

Метод ПДМС придатний для вивчення таких речовин, яким притаманні такі параметри, як термолабільність, нелетючість, висока молекулярна маса, а також поверхнева активність і, в наслідок цього, здатність утворювати на поверхні зразка тонку плівку. Таким чином, ліпіди є тією групою молекул, які успішно досліджуються даним методом.

Так, розроблено спосіб діагностування хвороби Марека у курей, який пропонує використання часопрольотної плазмово-десорбційної мас-спектрометрії, за допомогою котрої визначають піки квазімолекулярних іонів холестеролу та фосфатидилхоліну у зразках ліпідної фракції крові птиці. Співвідношення висот зазначених піків менше за 0,95 діагностують хворобу Марека, більше за 1,55 – відсутність хвороби, значення від 0,95 до 1,55 вказує на вірогідність навантності захворювання [119].

Таким чином, методом біологічної мас-спектрометрії експериментально доведено, що зниження якісних показників біокерамічних захисних бар'єрів інкубаційних яєць курей, проявом якого є втрата структурованості, тобто впорядкованості кристалічних шарів шкаралупи, пов'язане зі змінами вмісту в ній структуроутворюючих білково-пептидних складових, зокрема овоклеїдину-17 та низки середньомолекулярних пептидів зі значеннями молекулярних мас від 455 до 881 а.о.м.

Встановлено, що ступінь «чутливості» морфологічних і біохімічних параметрів біокерамічних структур інкубаційних яєць курей щодо дії негативних чинників довкілля залежить від породи і кросу птиці; так, високий рівень зазначених параметрів корелює з показником яєчної продуктивності.

3.1.4. Встановлення фазового складу біокерамічних захисних шарів інкубаційних яєць курей за умов порушень технології вирощування птиці

Дослідження біокерамічного захисного шару інкубаційних яєць курей почали з вивчення фазового складу основної неорганічної складової шкаралупи – карбонату кальцію.

Підставою для цих досліджень був брак інформації щодо змін кристалічних форм карбонату кальцію у товщі шкаралупи внаслідок дії негативних чинників довкілля і тому мета роботи полягала у дослідженні напрямків змін морфологічних параметрів кристалічної структури біокерамічного захисного шару шкаралупи інкубаційних яєць курей (а саме, кристалічних форм карбонату кальцію) внаслідок порушень технології утримання птиці.

Значущість таких досліджень полягає у тому, що відомі кристалічні форми (поліморфні модифікації) карбонату кальцію, а саме кальцит, ватерит та арагоніт різняться між собою не тільки за фізико-хімічними параметрами (твердість за шкалою Мооса, щільність тощо), а й за морфологічними та структурними характеристиками. Останні, у свою чергу, обумовлюють підвищення (або зниження) суцільної проникності шкаралупи щодо газів та пари води, захисної активності щодо патогенної мікрофлори, інтегральної та локальної міцності шкаралупи.

У досліді використовували інкубаційні яйця, отримані від курей порід Род-айланд червоний, Полтавські глинясті та Бірківська барвіста.

На рис. 3.19 наведена дифрактограма порошку, отриманого з біокерамічного шару шкаралупи заплідненого яйця, підготовленого для інкубації (Полтавська глиняста), яке відповідає усім нормативним показникам ДСТУ «Яйця курячі інкубаційні. Технічні умови», Бреславець В. О. та ін. (Код УКНД 636.52/.58.637.4.082.474 67.120.20).

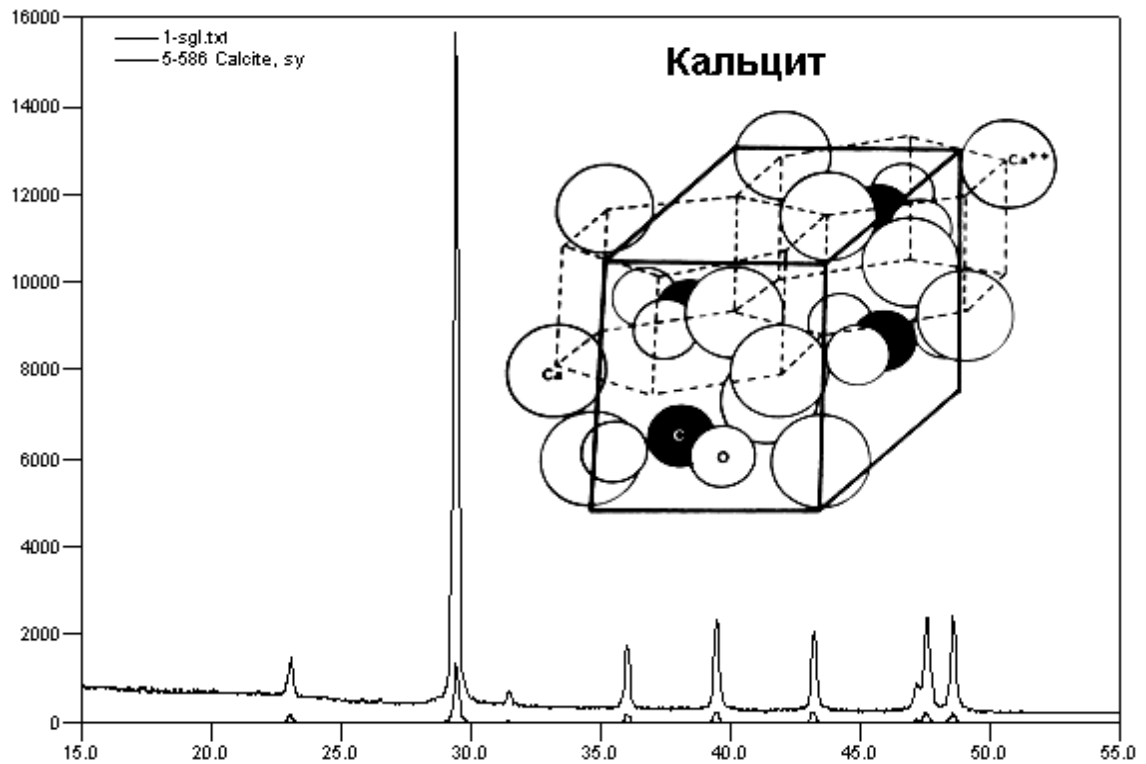


Рис. 3.19. Фазовий склад біокерамічного шару шкаралупи яйця куриці (яйце відповідає нормативним показникам ДСТУ)

Примітка. Тут і далі по осі ординат наведена відносна інтенсивність (в.і.), по осі абсцис значення кута 2θ (°)

З рисунку видно, що розташування та інтенсивність ліній у дифрактограмі, свідчать про те, що фаза карбонату кальцію у товщі шкаралупи являє собою кальцит (тригональна сингонія, досконала спайність по ромбоєдру, низька твердість).

З дифрактограм, наведених на рисунку 3.20 (1, 2) добре видно, що морфологічні дефекти шкаралупи, що належать до виду браку у інкубаційних яєць (див. мікрофотографії, що представлені на рис. 3.8 та 3.10), супроводжуються також суттєвими змінами у фазовому складі – у дифрактограмах з'являються лінії, притаманні арагоніту та ватериту.

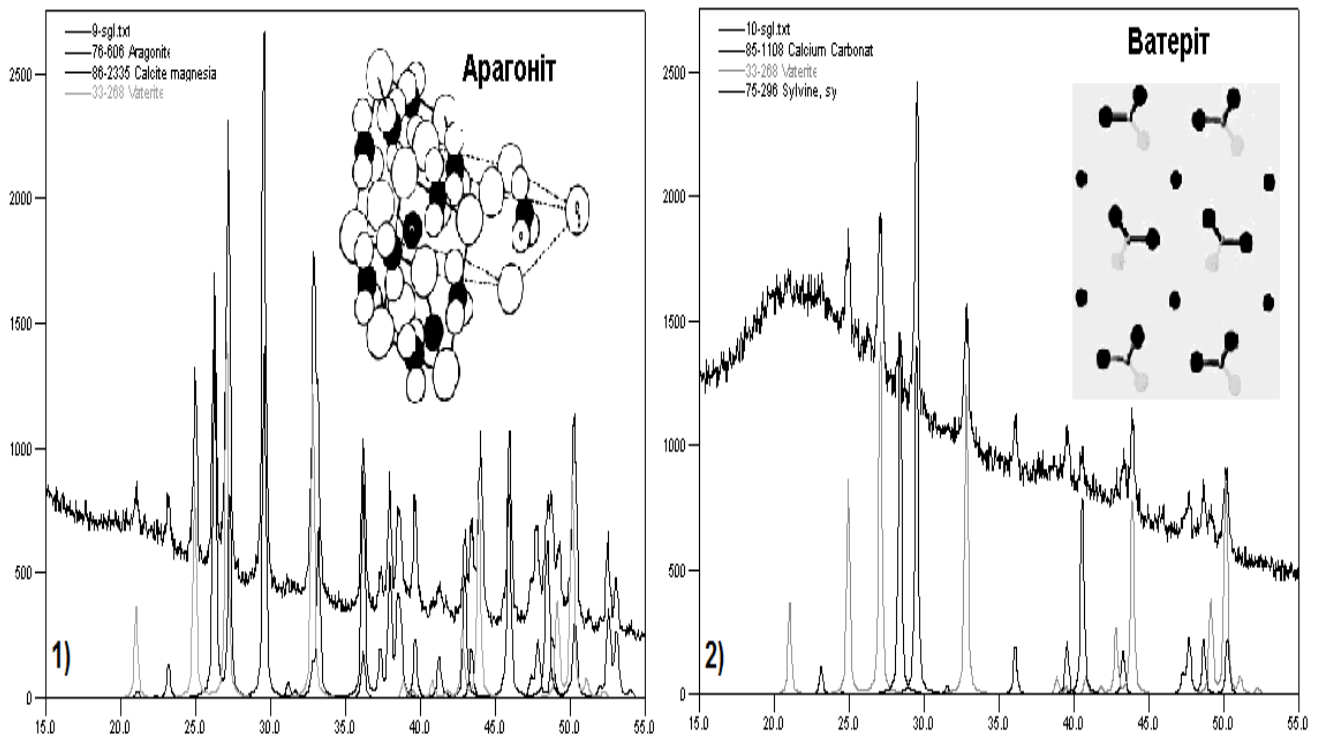


Рис. 3.20. Фазовий склад біокерамічного шару шкаралупи яйця куриці (яйце дуже мілке, з м'якою шкаралупою)

Примітки: 1. Арагоніт (зразок відібраний з тупого кінця).

2. Карбонат кальція представлений у вигляді ватерита (зразок відібраний з центральної частини)

Арагоніт характеризується, зокрема, ромбічною сингонією та підвищеною міцністю; ватерит, у свою чергу гексагональною сингонією. Такі відмінності кристалічних форм карбонату кальцію, обумовлюють різну морфологію біокерамічного захисного шару шкаралупи яєць курей, причому слід зазначити, що збагачення шкаралупи на арагоніт та ватерит супроводжується загальним розрихленням та розупорядкованістю шарів карбонату кальцію.

На рис. 3.21 представлена дифрактограма фазового складу шкаралупи яйця куриці, відібраної після проведення біологічного контролю на 19 добу інкубації. Встановлено, що загиблій зародок у яйці, який має назву «задохлик» (n=8) часто супроводжується появою у дифрактограмах

порошків, отриманих зі шкаралупи інкубаційних яєць такої фази як монетит (monetite) CaHPO_4 .

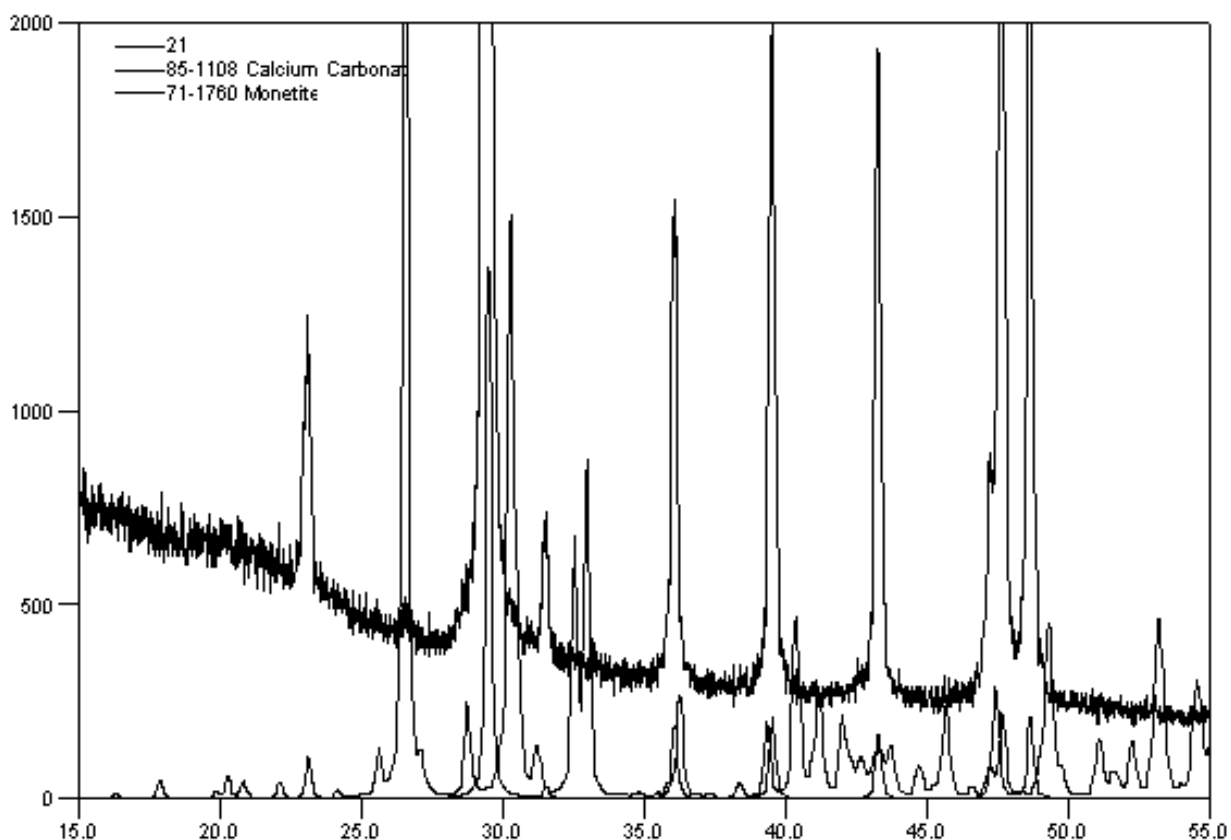


Рис. 3.21. Фазовий склад біокерамічного шару шкаралупи яйця куриці (Бірківська барвиста); брак інкубації – «задохлик»

Нарешті, поєднання такого виду браку шкаралупи інкубаційних яєць як шорсткість укупі з наростами і паском та пліснявою (див. мікрофотографію, на рис. 3.9), обумовленими порушеннями в годівлі птиці – курей годували кормами з недостатнім вмістом кальцію (1,0 г/голову на добу протягом 30 діб), призводить до грубих порушень структури біокерамічного шару – замість типового для якісних інкубаційних яєць кальциту, з'являються арагоніт, ватерит і кальцит магнію (Рис. 3.22).

Аналіз дифрактограм, отриманих на зразках карбонату кальцію, як базової неорганічної складової шкаралупи яєць птиці, показав, що в залежності від умов отримання інкубаційних яєць курей і внаслідок дії негативних чинників доквілля та похибок в технології утримання птиці спостерігаються

значні зміни у фазовому складі шкаралупи, як біокерамічного захисного бар'єру яєць.

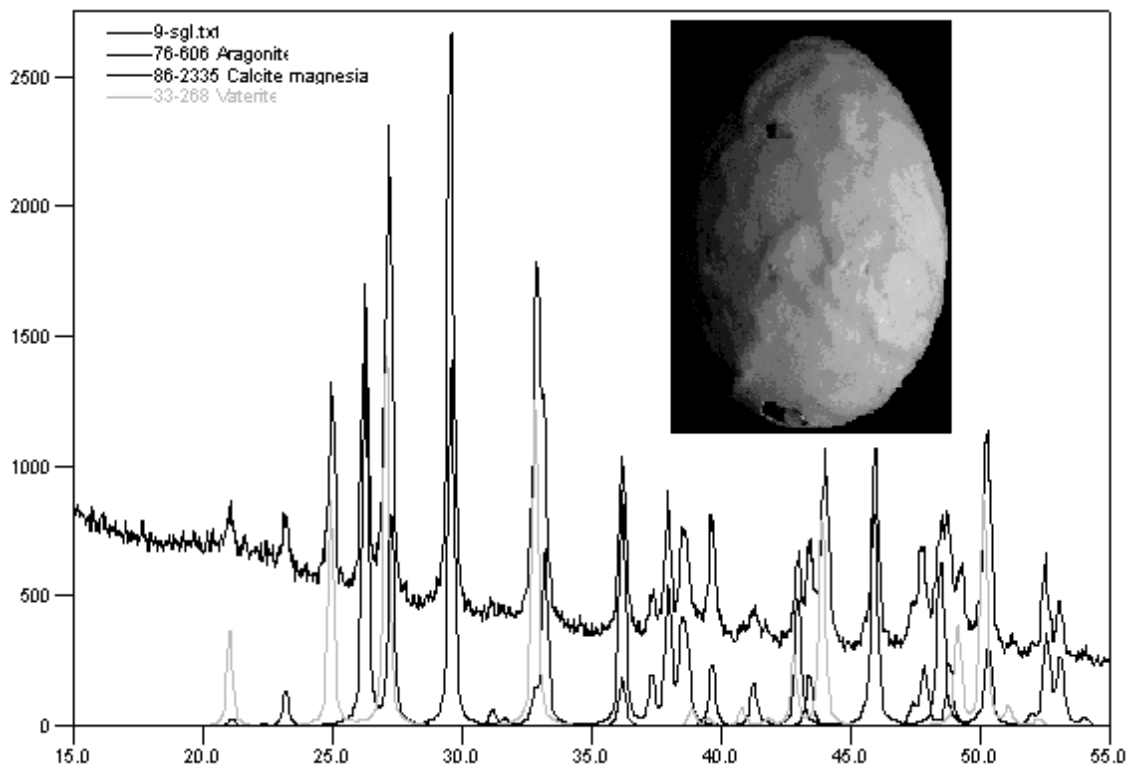


Рис. 3.22. Фазовий склад біокерамічного шару шкаралупи яйця курки (Род-айленд червоний); брак шкаралупи

Таким чином, фазовий склад шкаралупи інкубаційних яєць курей, що відповідають ДСТУ, представлений певною кристалічною формою карбонату кальцію, а саме – кальцитом. Дія негативних чинників різного походження на інкубаційне яйце супроводжується появою замість кальциту інших кристалічних форм – арагоніту та ватериту, що також призводить до загального розрихлення та розупорядкованості шарів карбонату кальцію з наступними негативними фізіологічними наслідками, у першу чергу порушенням газообміну ембріонів, що розвиваються.

Матеріали підрозділу 3.1. опубліковано: монографія [52]; статті [28, 31, 33, 35, 39, 41, 42, 58, 227]; патент на винахід [119].

3.2. Мас-спектрометричний спосіб експрес-виявлення та ідентифікації антибіотиків в інкубаційних яйцях курей

Антибіотики різної хімічної природи знаходять усе більш широке застосування у птахівництві в якості профілактичних, терапевтичних засобів і стимуляторів росту. Відзначена тенденція призводить до збільшення ймовірності надходження в організм людини з продуктами харчування залишкових кількостей цих сполук (чи їхніх метаболітів). Залишкам антибіотиків не притаманна токсична дія, проте вони здатні викликати алергічні реакції, дисбактеріози і сприяти розвитку резистентності окремих штамів хвороботворних бактерій внаслідок дії субтерапевтичних доз препаратів.

Виходячи з зазначеного, метою досліджень була розробка інструментального способу для швидкого та працеземного визначення залишкових кількостей антибіотиків (олеандоміцину, стрептоміцину, канаміцину, триметоприму, еритроміцину, окситетрацикліну і левоміцитину) в інкубаційних, харчових яйцях курей, а також у м'ясопродуктах.

Незважаючи на те, що до теперішнього часу розроблена велика кількість методик для виявлення і кількісного визначення антибіотиків: вискоєфективна рідинна хроматографія, імуноферментний метод, газорідинна хроматографія (ГРХ), газорідинна хроматографія-мас-спектрометрія (ГРХ-МС), електрофорез, мікробіологічні методи, тонкошарова хроматографія тощо, але проблема швидкого якісного виявлення (кількісного визначення) залишкових кількостей широкого спектру антибіотиків у продуктах харчування досить далека від завершення.

Розробка способу для одночасного визначення декількох антибіотиків у яйцях і м'ясопродуктах курей, у якому використання аналітичного приладу для експрес-контролю якісного складу зразка зазначених продуктів, дозволить проводити достовірну ідентифікацію та визначення вмісту низки антибіотиків, що значно здешевшує процедуру аналізу.

Поставлена мета досягається тим, що у пропонуємому способі, захищеному деклараційним патентом [74], використовується м'якоіонізаційна часопрольотна плазмово-десорбційна мас-спектрометрія (біохімічний мас-спектрометр «МСБХ», SELMI, Україна), яка дозволяє з великою чутливістю визначати термолабільні не летючі органічні речовини.

Розроблено оригінальну методику підготовки проб та проведення визначення низки антибіотиків у яйцях та м'ясі курей, яка полягала в наступному: зразок м'язової тканини або об'єднаних зразків жовтків та білків яєць птиці масою 100 г. подрібнювали в диспергаторі з нержавіючої сталі (0 °С), додавали 200 мл H₂O (додатково вносили у воду 20 мг щавлевої кислоти, х.ч.) і ретельно перемішували. Залишали зразок при температурі + 5 °С протягом чотирьох години, після чого проводили центрифугування (300 g) у центрифугі з охолодженням «К-24» (Німеччина), супернатант зливали й екстрагували хлороформом (три рази по 100 мл). Об'єднані екстракти упарювали при зниженому тиску до об'єму 2 мл і 20 мкл отриманого розчину наносили мікрошприцом «*Hamilton*» на зразконесучий диск. Підсушували в термостаті при температурі +20 °С в атмосфері азоту (діаметр плями 4,5-5 мм). Прискорююча напруга: + 15 кВ, - 10 кВ; обсяг накопичуваних даних (подій розпаду ²⁵²-Cf (стартів) 100000); 1 нс / канал. Довжина труби 15 см. Зняття спектрів проводили в режимі віднімання постійного і гладкого фонів. Пік квазімолекулярних іонів (КМІ) вважали придатним для однозначної ідентифікації за умови, якщо співвідношення «сигнал : шум» дорівнював (чи перевищував) 3 : 1. Кожен експеримент проводили в шестиразовій повторності.

Контрольні спектри антибіотиків готували за допомогою нанесення мікрошприцем «*Hamilton*» на поверхню зразконесучого позолоченого диску 10 мкл водно-метанольних (співвідношення розчинів за об'ємом 1:1; концентрація антибіотику 1 мкг / мкл) розчинів препаратів з наступним висушуванням в термостаті при температурі + 20 °С в атмосфері азоту (діаметр плями від 4,5 до 5 мм). Таким же чином отримували мас-спектр «сумарного» зразку антибіотиків (розчин 1), в який входили всі названі вище антибіотики в

концентрації 1 мкг / мкл. Модельні експерименти щодо визначення антибіотиків в екстрактах із об'єднаних зразків жовтків та білків яєць або зразків м'яса птиці масою 100 гр. подрібнювали в блендері з нержавіючої сталі при 0 °С, в отриманий фарш вносили 1 мл розчину 1, додавали 200 мл H₂O, 20 гр щавелевої або пікринової кислоти та ретельно перемішували. Залишали зразок при температурі + 5 °С протягом 30 хв., після чого проводили центрифугування (300 g) у центрифугі з охолодженням «К-24» (Німеччина), надосадову рідину зливали і проводили екстракцію хлороформом (3 рази по 100 мл). Екстракти упарювали при зниженому тиску до об'єма 2 мл; 20 мкл отриманого розчину наносили на диск для зразків і висушували в термостаті. Пік КМІ вважали придатним для ідентифікації, якщо співвідношення «сигнал : шум» був не меншим, ніж 3 : 1. Кожний експеримент повторювали шість разів.

На початку дослідів було встановлено здатність даних речовин до інтенсивного іоноутворення (за наявності в мас-спектрах квазімолекулярних іонів типу $[M + H]^+$ або $[M - H]^-$, де М – молекула речовини, що аналізується, Н – протон) під дією високоенергетичних (90-100 MeV) уламків поділу ²⁵²Cf. Показано, що у твердофазовому контрольному зразку, отриманому при повільному висушуванні водно-етанольного розчину суміші антибіотиків олеандоміцина, стрептоміцина, канаміцина, триметоприма, еритроміцина, окситетрацикліна і левоміцетина (розчин 1) можливість проведення однозначної ідентифікації квазімолекулярних іонів $[M + H]^+$ всіх вказаних антибіотиків за виключенням бензилпеніциліну, феноксиметилпеніциліну і левоміцетину (рис. 3.29, а). Найбільш інтенсивний пік квазімолекулярних іонів з $m/z = 291$ (1) належить триметоприму.

Додавання до зразка аналізованої речовини щавелевої кислоти призводить до зниження інтенсивності піка КМІ триметоприму, що супроводжується появою в мас-спектрі піків КМІ бензилпеніциліну і феноксиметилпеніциліну, та достовірного підвищення інтенсивності КМІ окситетрацикліну, стрептоміцину і олеандоміцину (рис. 3.29, б). Антибіотик левоміцетин можна зареєструвати тільки за негативної прискорювальної

напруги ($U_{\text{приск.}} = -10$ кВ) у вигляді піка КМІ типу $[M-H]^-$, m/z 322 і відсутності у складі зразка органічних кислот (рис. 3.23, в).

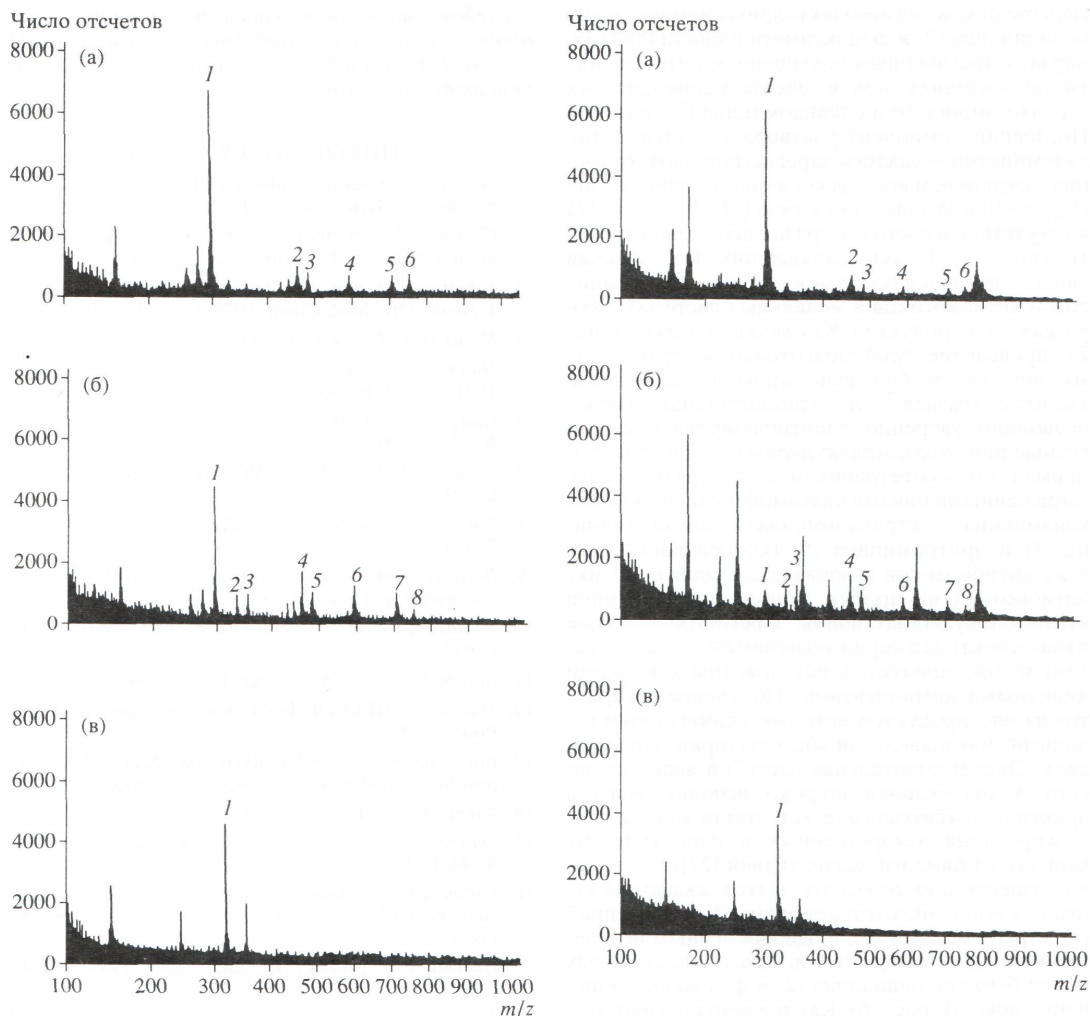


Рис.3.23. Мас-спектри антибіотиків у контрольних зразках

Примітки: 1. суміші антибіотиків ($U_{\text{приск.}} = +15$ кВ): 1-[Триметоприм + H^+], $m/z = 291$; 2-[Окситетрациклін + H^+], $m/z = 461$; 3-[Канаміцин + H^+], $m/z = 487$; 4-[Стрептоміцин + H^+], $m/z = 583$; 5-[Олеандоміцин + H^+], $m/z = 689$; 6-[Еритроміцин + H^+], $m/z = 734$ (а).

2. суміші антибіотиків з додаванням щавелевої / пікринової кислоти ($U_{\text{приск.}} = +15$ кВ): 1-[Триметоприм + H^+], $m/z = 291$; 2-[Бензилпеніцилін + H^+], $m/z = 334$; 3-[Феноксиметилпеніцилін + H^+], $m/z = 351$; 4-[Окситетрациклін + H^+], $m/z = 461$; 5-[Канаміцин + H^+], $m/z = 487$; 6-[Стрептоміцин + H^+], $m/z = 583$; 7-[Олеандоміцин + H^+], $m/z = 689$; 8-[Еритроміцин + H^+], $m/z = 734$ (б).

3. суміші антибіотиків ($U_{\text{приск.}} = -10$ кВ): 1-[Левоміцетин - H^-], $m/z = 322$ (в)

Отримані результати слугували контролем для наступних дослідів.

Аналіз зразків інкубаційних яєць курей проводили на МСБХ з іонізацією уламками поділу ²⁵²Cf. Об'єднані зразки жовтків та білків яєць птиці готували

згідно запатентованої методики [74]. ПДМС спектр хлороформного екстракту з яйця курей, що отримували антибіотики, представлений на рис. 3.24.

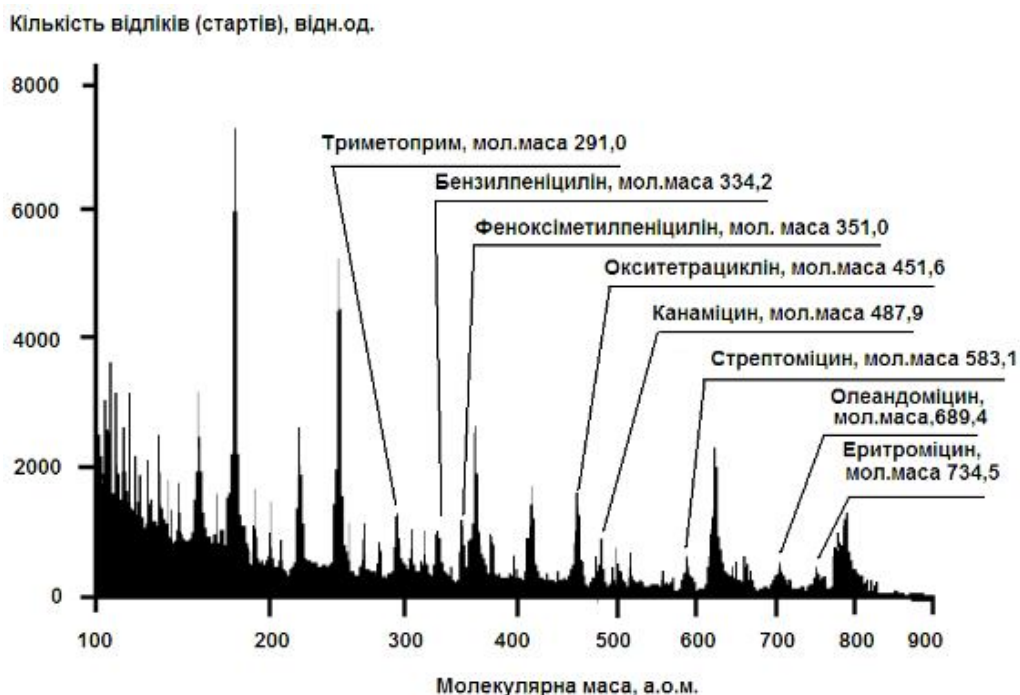


Рис. 3.24. ПДМС спектр хлороформного екстракту з яйця куриці

Таким чином, з проведених досліджень можна зробити висновок, що метод мас-спектрометрії з плазмовою десорбцією (ПДМС) найбільш чутливий до триметоприму: пік іонів даного антибіотика достовірно ідентифіковано при його концентрації у зразку 0,1-0,2 мкг; для всіх інших препаратів, що були в досліді, найнижчий рівень прояву 4-5 мкг на зразок.

Розроблений та запропонований до впровадження мас-спектрометричний спосіб експрес-виявлення антибіотиків у інкубаційних і харчових яйцях є достовірним для ідентифікації при їх концентрації не менше 4-5 мкг на зразок. Даний спосіб можна використовувати для визначення антибіотиків і у м'ясопродуктах.

За матеріалами підрозділу 3.2 опубліковано монографію у співавторстві [68], дві статті [104, 152], методичні рекомендації [70], деклараційний патент на винахід [74].

3.3. Розробка теоретичних та прикладних основ технології конструювання «штучної кутикули» для передінкубаційної обробки яєць курей

3.3.1. Зміни морфологічних та функціональних параметрів природного захисного бар'єру яєць, спричинених класичними препаратами і складовими «штучної кутикули»

У попередньому розділі наведені переконливі дані щодо наявності певної гетерогенності біокерамічного захисного шару шкаралупи інкубаційних яєць курей. Означена особливість спричинює значні зміни показників газопроникності і підвищення здатності до вторинної контамінації яєць патогенами бактеріального та вірусного походження, що, у кінцевому рахунку, призводить до втрат як молодняка птиці, так і продукції птахівництва взагалі. Для попередження таких негативних наслідків порушення структурно-функціональних захисних параметрів шкаралупи яєць птиці стає у нагоді передінкубаційна обробка яєць, яка є обов'язковою складовою технології інкубації. Класичним методом передінкубаційної обробки яєць є фумігація паром формальдегіду, яка за низькою вартістю та високою біоцидною активністю й досі лишається еталоном в інкубаційних технологіях. Проте, принципова нездатність фумігації паром формальдегіду забезпечити пролонгований біоцидний ефект, що викликане високою летючістю пари, а також канцерогенні та подразнюючі властивості обмежує його використання у країнах з розвинутим птахівництвом.

В останні часи в технології отримання молодняка курей для передінкубаційної обробки яєць частіше використовують препарати, створені на основі синтетичних поверхнево-активних полімерних матеріалів, які утворюють на поверхні яєць досить міцну, витривалу і одночасно тонку газопроникну плівку. У вітчизняному промисловому птахівництві знайшли застосування деякі дезінфектанти на основі ЧАС.

Препаратам, до складу яких в якості основної діючої речовини входять четвертинні амонієві сполуки, притаманні мембраноатакуючі механізми пригнічення мікроорганізмів. ЧАС активні у відношенні до бактерій, грибів і вірусів. Після закінчення обробки вологі поверхні підсихають, органічні речовини концентруються в середині пористих матеріалів і на гладких поверхнях, і, нарешті, перетворюються в тонкі безбарвні плівки товщиною 2-15 мкм. До препаратів ЧАС належать, зокрема, такі препарати: декаметоксин, «Катамін АБ», препарати групи «ВВ» (Україна), «АТМ» і «АТМ – арома» (РФ), «CID 20» та «Virocid» (CID LINES, Бельгія) тощо. Діючою речовиною названих препаратів є триметилалкіламоній-хлорид («АТМ») та інші солі чотирьохзамінного амонію. Дані препарати використовують, зокрема, і для передінкубаційної обробки яєць курей. Зазначені препарати ефективні в боротьбі з колібактеріозом, пуллорозом, мікоплазмозом, хворобою Марека (ХМ), інфекційним ларинготрахеїтом (ІЛТ), синдромом зниження яйценоскості (СЗЯ). Проте, механізм захисної та біоцидної дії дезінфектантів глибоко не вивчений. Так, не відома структура захисної плівки ЧАС, яка утворюється на поверхні кутикули яйця.

Отже метою наших досліджень було порівняльне вивчення дії вищезазначених препаратів на розвиток ембріонів, виводимість, збереженість молодняка, а також вплив даних препаратів на структуру біокерамічного захисного шару яєць курей.

Дослідження були проведені у проблемній науковій лабораторії на кафедрах фармакології, біохімії та біотехнології Сумського НАУ, на птахофабриці «Мирний» Сумської області. Дезінфектанти застосовували відповідно до існуючих настанов. Оброблені перед інкубацією яйця інкубували в інкубаторах «Універсал-55» згідно вимог до інкубації [87].

Першу партію яєць, що слугувала контролем, обробляли парами формальдегіда. Другу третю і четверту партії яєць обробляли препаратами «ВВ-1», «АТМ-арома» і *Virkon-S* (Antex, Великобританія) згідно з чинною

інструкцією до використання. Робоча концентрація препаратів ВВ-1, АТМ-арома становила 0,25 %, *Virkon-S* – 0,5 %.

Через 60 хвилин після обробки яйця закладали в інкубатори, попередньо продезінфіковані цими ж препаратами. На першу, другу, третю, четверту, п'яту, десяту і вісімнадцяту добу інкубації проводили бактеріологічні дослідження щодо санітарно-показової мікрофлори методом серійних розведень [ДСТУ 4769:2007 «Методи виявлення сальмонел», «Методичні вказівки по бактеріологічній діагностиці колібактеріозу (ешеріхіозу тварин)»].

На рис. 3.25 представлені результати бактеріологічних досліджень поверхні шкаралупи яєць курей після обробки дослідними препаратами.

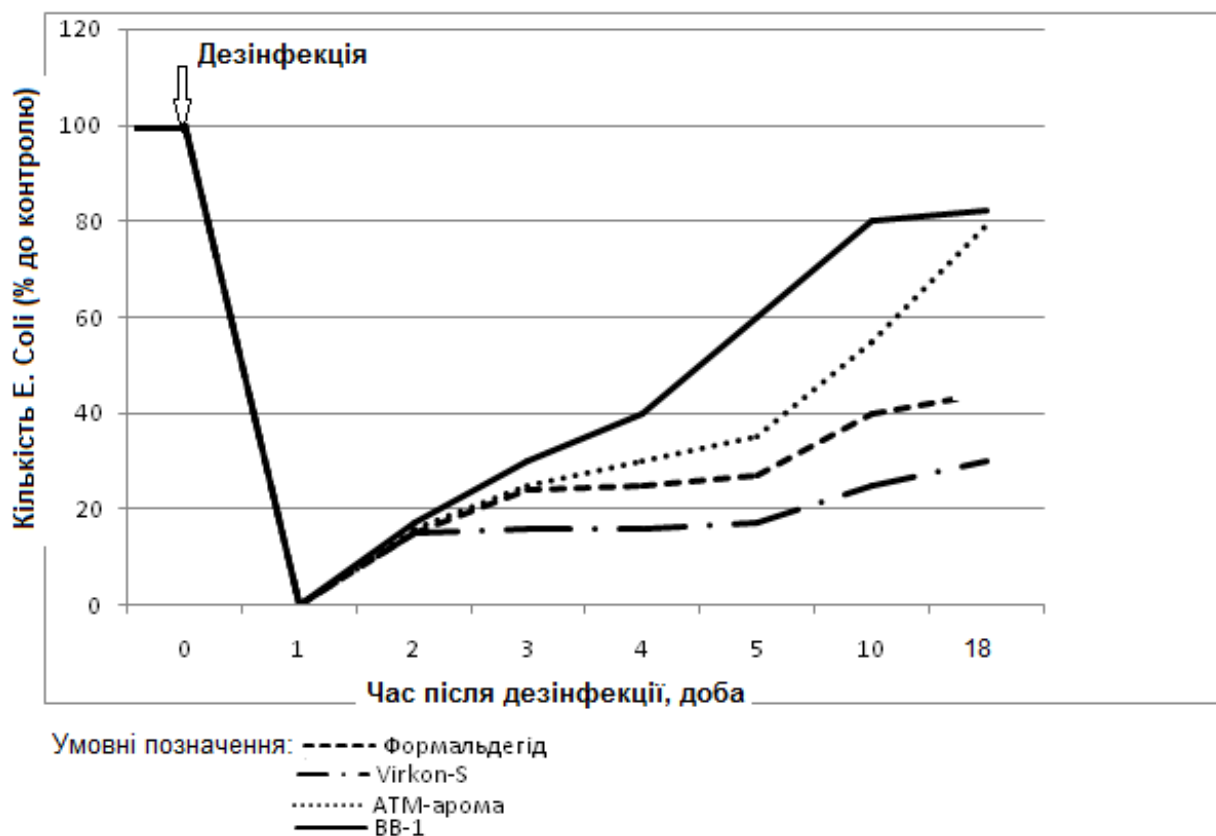


Рис. 3.25. Результати бактеріологічних досліджень поверхні шкаралупи інкубаційних яєць у процесі їх інкубації після обробки різними дезінфектантами

Встановлено, що всім випробуваним препаратам притаманна загальна тенденція до потужної біоцидної активності протягом першої доби після обробки.

При цьому кількість патогенних мікроорганізмів (*E. Coli*) на одиницю поверхні яйця різко знижується до 3-8% від контрольного показника (див. рис. 3.25 – поверхня яйця до обробки). Розбіжності починаються з другої доби інкубації. Так, відмічене різке наростання контамінації яєць, оброблених формальдегідом. На 18-у добу інкубації рівень контамінації досягає від 80 до 85% від вихідного показника у контролі. *Virkon-S* також ефективно знижує рівень мікробної контамінації протягом перших п'яти діб з наступним підвищенням цього показнику до 65 і 78% від контролю відповідно на 10 і 18 добу. Препарати з групи ЧАС АТМ-арома та ВВ-1 мають пролонгований ефект. На 10 і 18 добу інкубації рівень контамінації становить 52 і 58% від контролю відповідно. Протягом інкубації спостерігали за розвитком ембріонів, враховували ембріональну патологію. Після інкубації рахували виводимість і збереженість молодняка до 60 добового віку (таб. 3.4).

Таблиця 3.4

Показники виводимості та збереженості курчат при різних методах передінкубаційної обробки яєць у виробничих умовах

Методи обробки	Виводимість		Збереженість (до 60-добового віку)	
	Всього, гол.	%	Всього, гол.	%
Фумігація формальдегідом (контроль)	33660	74,8	26342	78,4
<i>Virkon-S</i>	32940	73,2	24872	75,6
ВВ-1	38025	84,5	33136	87,2
АТМ-арома	35595	79,1	29607	83,4

Хоча первинний (протягом приблизно доби після обробки) санаційний ефект усіх випробуваних дезінфектантів у кількісному аспекті майже не відрізнявся, під час подальшої інкубації оброблених яєць були виявлені значні

розбіжності в дослідних групах як за показниками загальної контамінації поверхні яєць патогенною мікрофлорою, так і за біологічними показниками (виводимість та збереженість курчат).

Зазначимо, що формальдегід і *Virkon-S* дуже схожі за характером дії на інкубаційне яйце: якщо у початковій стадії контакту дезінфектантів з поверхнею біокерамічного захисного шару яйця значно пригнічується життєдіяльність скупченої на ньому патогенної мікрофлори, то в міру поширення, висихання чи резорбції та нейтралізації розчину санаційна дія їх різко знижується або припиняється. При цьому водночас перестають функціонувати природні механізми захисту, внаслідок чого яйце під час подальшої інкубації легко піддається вторинній контамінації.

Особливо небезпечне застосування дезінфектантів у період вилуплювання курчат. Так, наприклад, проведення безперервної формалізації шляхом змочування мішковини у виводкових шафах інкубаторіїв спричинює пневмонію і набряк легень у 25-35% вилуплених курчат.

Встановлено, що препарати групи ЧАС ВВ-1 та АТМ-арома схожі за спектром біоцидної активності та механізмом дії. Базовою складовою обох препаратів є нетоксичний для теплокровних і недорогий хімічний реагент з групи четвертинних амонійних сполук АТМ (алкілтриметиламоній Am^+ , де Am^+ галогени або інші аніоніти), якому властиві біоцидні властивості, поверхнева активність та антистатична здатність.

Зважаючи на це, базовою ідеєю наших досліджень на початкових стадіях роботи було використання ЧАС для імітування у певному наближенні природного захисту пташиних яєць – поверхневої надшкаралупної плівки – кутикули, шляхом створення «штучної кутикули» з органічних сполук різного походження, яким була б притаманна здатність до утворення на поверхні шкаралупи газопроникної еластичної плівки з біоцидними властивостями. Для встановлення морфологічних особливостей захисної плівки, яку утворюють на поверхні інкубаційних яєць курей препарати для передінкубаційної обробки на основі ЧАС, нами використані такі препарати: «ВВ-1» (Україна),

«АТМ-Арома» (РФ), *CID 20* та *Virocid* (*CID LINES*, Бельгія); *Virkon-S* (*Antex*, Великобританія; *KRKA*, Словенія); біоцидні сполуки: алкілтриметиламоній – An^+ ; де An^+ – галогени або інші аніони (АТМ), метацид (полігексаметиленгуанідингідрохлорид) $[C_7H_{16}N_3Cl]n$, формальдегід та глутаральдегід (контроль).

Яйця курей Леггорн білий не пізніше, як через дві години після знесення обробили водними розчинами методом зрошування «ВВ-1» (0,25%), «АТМ-Ароми» (0,25%), АТМ (0,25%), «Метациду» (0,10%), формаліну (0,5%), глутаральдегіду (0,5%), *Virkon-S* (0,5%). 0,25% розчин «ВВ-1» на срібний воді готували з використанням побутового приладу для іонізації води (ВАН *SELMI*, Суми, Україна). Після висихання водного шару розчинів на поверхні шкаралупи яєць виділили зразки з середньої частини яйця площею 4-6 мм², які було проаналізовано растровою електронною мікроскопією. На електронній мікрофотографії, що подана на рис. 3.26, представлена зовнішня поверхня кутикули курячого яйця через чотири години після знесення (контроль).

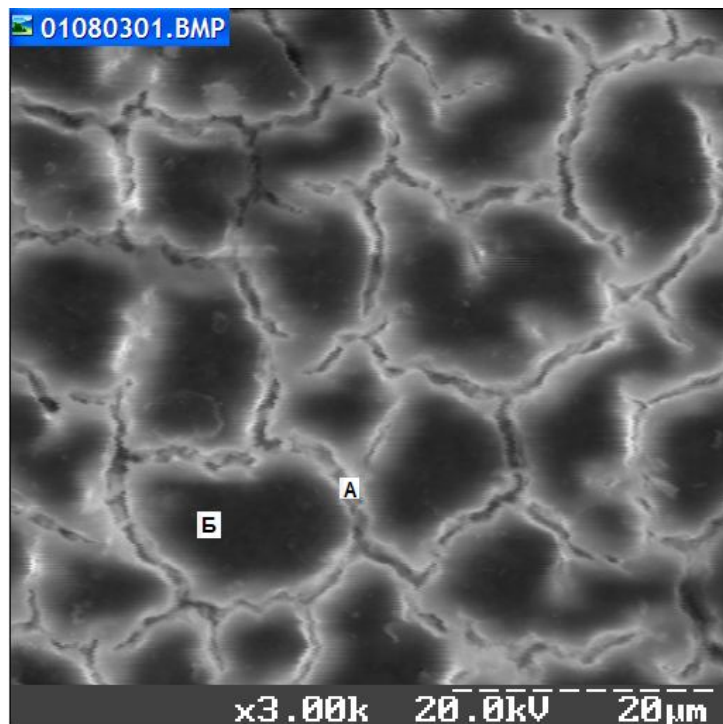


Рис. 3.26. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи яйця (поверхня нативної кутикули) (Леггорн білий) (x 3 000)

Примітка. А – пори, Б – кутикула

З мікрофотографії видно, що неорганічна біокерамічна речовина шкаралупи (кальцит, CaCO_3) вкрита плівкою глікопротеїдів та інших органічних та неорганічних сполук, які складають природну кутикулу. При підсиханні на повітрі вона утворює невеликі вузькі шпарини, через які до поверхні шкаралупи надходять гази та пари води при одночасній затримці бактерій.

Покриття інкубаційного яйця шаром основного інгредієнта препаратів «ВВ-1» та «АТМ-Арома» алкілтриметиламонієм (АТМ) утворює на поверхні кутикули щільний шар речовини, вкритий звивистими утвореннями – не наскрізними шпаринами (Рис.3.27).

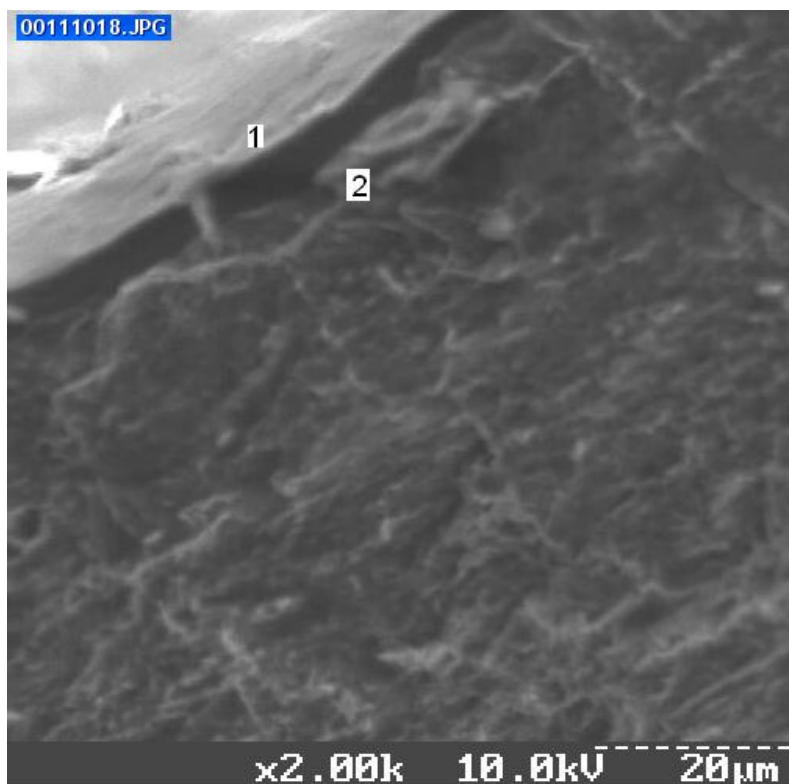


Рис. 3.27. Електронна мікрофотографія шкаралупи яйця куриці (Леггорн білий), обробленого перед закладенням на інкубацію чистим препаратом АТМ (x 2 000)

Примітки: 1. Плівка на поверхні курячого яйця, що сформована з препарату ЧАС (1).

2. Вертикальний кристалічний шар шкаралупи курячого яйця (2)

Доповнення алкілтриметиламонію додатковими хімічними речовинами, зокрема ароматизаторами для одержання дезінфектанту «АТМ-Арома», спричинює перерозподіл зарядів у поверхневому шарі плівки, що утворилася на кутикулі з майже незмінними морфологічними характеристиками (рис. 3.28).

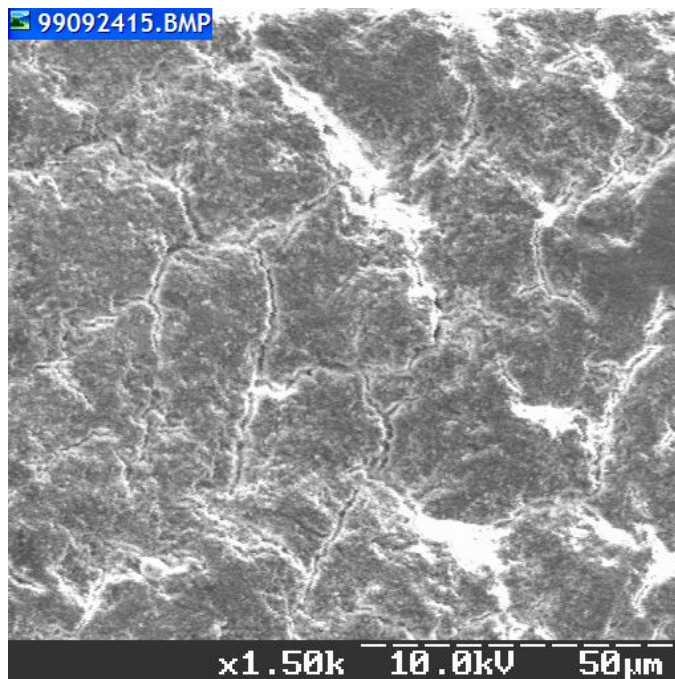


Рис. 3.28. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи яйця куриці, обробленого препаратом АТМ (x 1500)

Про перерозподіл зарядів свідчить загальний вид поверхні плівки: просвітлення фону, яке супроводжується інтенсивним висвітленням крайових частин звивистих шпарин, що пов'язане із загальним для електронної мікроскопії явищем «зарядження». Останнє може бути викликане певним хімічним складом окремих частин досліджуваного біооб'єкту.

У даному випадку здається вірогідним підвищення концентрації молекул ароматизаторів у місцях дефектів, що утворюються під час формування та наступного підсихання твердої фази плівки на підкладинці-кутикулі. Підвищення величини заряду на крайових поверхнях шпарин надає такій плівці здатності затримувати мікроорганізми, навіть ті, розміри яких значно менші за діаметр шпарин внаслідок дії електростатичних сил.

На рис. 3.29 наведено електронну мікрофотографію поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом «ВВ-1», основною складовою якого є алкілтриметиламоній (АТМ).

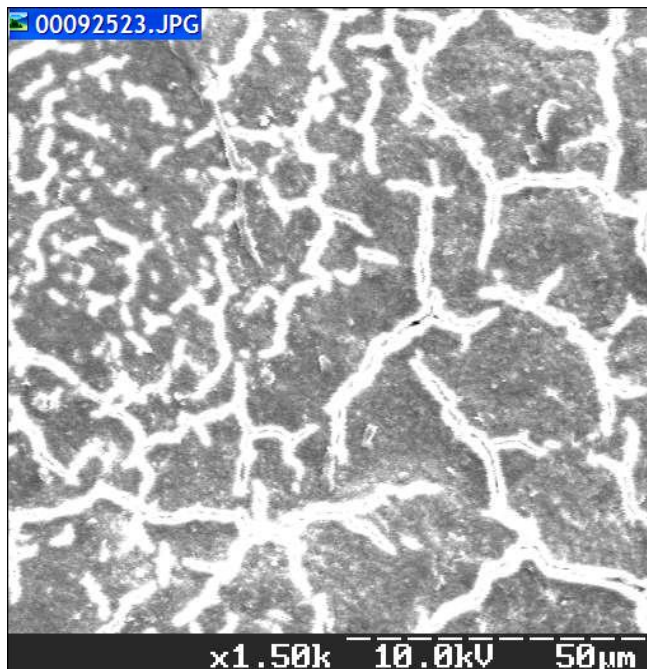


Рис. 3.29. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого препаратом «ВВ-1» (x 1500)

Проте на відміну від препарату «АТМ-Арома», який є чистою діючою речовиною (АТМ), до складу «ВВ-1» входять додаткові біоцидні та біоактивні компоненти, зокрема октадециламін, моноетанолоктадециламід, октадециламід, антибіотики, жовчні кислоти, жирні кислоти, мурашина кислота тощо, котрі зумовлюють пролонгований біоцидний ефект. Зазначені додаткові інгредієнти надають більші можливості «ВВ-1» в аспекті утворення на поверхні кутикули плівок різної товщини та структури. Зокрема, на рис. 3.29 видно, що «ВВ-1» утворює плівку значної товщини, структура якої подібна до структури нативної кутикули (для порівняння див. рис.3.26). Однак ця плівка характеризується меншою кількістю шпарин на одиницю поверхні та їх більшою глибиною.

В подальших дослідках ми модифікували штучну плівку на основі ЧАС, додаючи до її складу іони металів, зокрема срібла (Ag^+).

З рис. 3.30 видно, що присутність у водному розчині «ВВ-1», котрий наносять на інкубаційні яйця у вигляді аерозолю, срібла в кількостях, що не перевищують 0,001%, призводить до повної зміни структури плівки – вона стає щільнішою, з меншою кількістю шпарин.

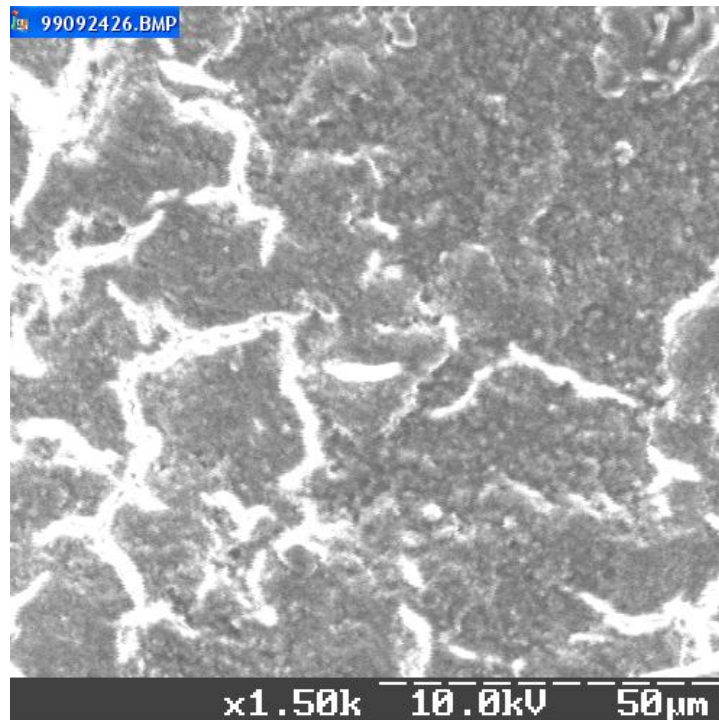


Рис. 3.30. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи яйця куриці, вкритого препаратом на основі ЧАС «ВВ-1», доповненого іонами срібла(х 600)

Отже, введення до складу дезінфектанту мікродомішок іонів металів дає змогу змінювати морфологічні параметри плівок (товщину, щільність, кількість та характер мікродефектів).

Створюючи першу «штучну кутикулу» на основі четвертинних амонієвих сполук було отримано комбіновані препаративні форми ЧАС, до складу котрих входили різні біологічно активні та біоцидні сполуки як синтетичного так і природного походження (солі металів, похідні полісахаридів, окислювачі, хелатуючі речовини, гідролітичні ферменти, біоактивні пептиди, антибіотики).

За допомогою растрової електронної мікроскопії експериментально доведено, що завдяки базовій процедурі технології «штучної кутикули» покриття інкубаційного яйця шаром «матриксної» речовини на основі водорозчинних ЧАС на поверхні яйця утворюється досить щільний шар плівки завтовшки 0,05-15-20 мкм, вкритий звивистими мікротріщинами. Він тією чи іншою мірою утруднює надходження в середину яйця патогенної мікрофлори і впливає на кінетичні параметри дифузії газів через кристалічний шар шкаралупи.

Проте, незважаючи на багаторазово показану ефективність препаратів на основі ЧАС у боротьбі з інфекційними хворобами птиці, їм притаманна і негативна дія щодо ембріонів, зумовлена якраз утрудненням процесів дифузії кисню, діоксиду вуглецю, та інших газів через цей шар.

Останнє потребувало істотної модифікації як складу препаратів, які утворюють «штучну кутикулу», так і технології їхнього нанесення на яйце.

Щодо інгредієнтів «штучної кутикули», то перспективним виявилось доповнення матриксної речовини ЧАС біологічно активними речовинами (БАР) природного і штучного походження, які використовують у технологіях інкубації для контролювання процесів ембріогенезу, попередження ураження яєць інфекційними агентами, керування газообміном протягом інкубації тощо.

В роботі було використано БАР переважно рослинного походження, що зумовлено, насамперед, доступністю сировини та надзвичайно широким спектром біостимулюючих та біоцидних видів активності.

Експериментально доведено, що нанесена на яйце «штучна кутикула» має здатність змінювати параметри природних захисних мембран і біокерамічних компонентів шкаралупи інкубаційного яйця. Так, склад і концентрація окремих складових «штучної кутикули» а також метод її нанесення на яйце призводить до змін як параметрів кутикули самого яйця, так і структури самої плівки.

Наприклад, рослинний екстракт є біологічно-активним компонентом, що підвищує виводимість та збереженість птиці. РЕ, завдяки сполукам, що містяться у ньому, має протирадикальні властивості та знижує деструктивну

активність надоцтової кислоти щодо біокерамічного шару шкаралупи. Зміни складу препарату для створення на поверхні шкаралупи яйця захисної плівки «штучної кутикули» впливає на її морфологічні параметри (рис. 3.31).

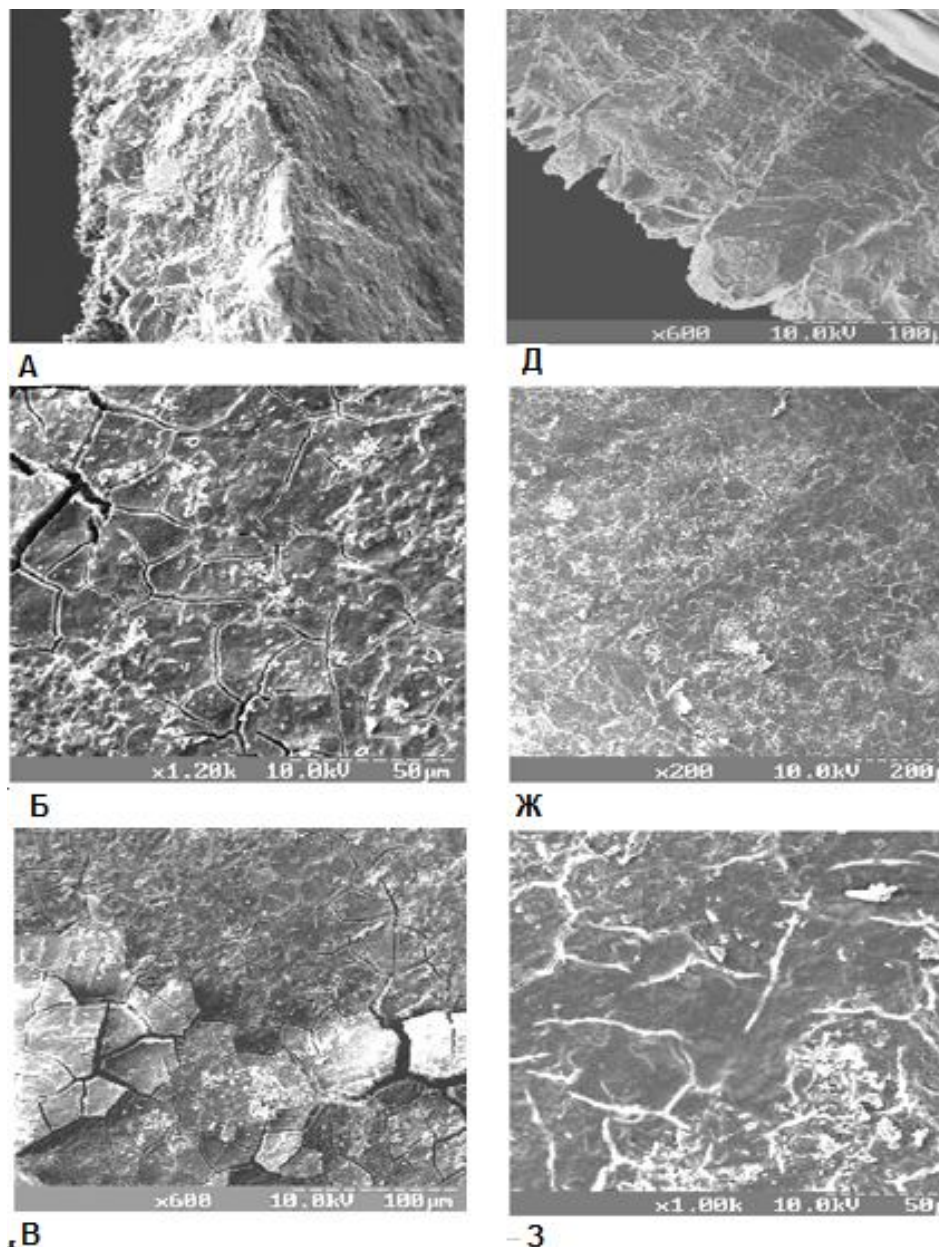


Рис. 3.31. Морфологічні параметри плівок «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію (ЧАС): контроль (поверхня природної шкаралупи яйця куриці) (А); «Virocid» діючі речовини алкілдиметилбензиламоній-хлорид та дидецилдиметилбензиламоній-хлорид) і надоцтова кислота (Б, В); «CID-20» (діюча речовина – алкілдиметилбензиламоній-хлорид) і надоцтова кислота (Д, Ж, З)

Зокрема, за щільністю модельна білкова структура, що імітує природний кутикулярний покрив інкубаційного яйця (див. рис. 3.31, А), подібна до структури, притаманній упорядкованому шару ЧАС (див. рис. 3.31, З). При цьому спостерігаються зміни такого показника, як газопроникність.

Дослідженнями доведено, що плівка, сформована ЧАС, має щільнішу структуру і уповільнює дифузію газів, у порівнянні з природною кутикулою.

Аналізуючи мікрофотографії можна зробити висновок, що плівка «штучної кутикули», котра утворила на поверхні шкаралупи суміш препарату «*Virocid*» з надоцтовою кислотою, хоча і вирізняється більшою товщиною у порівнянні з відповідною сумішшю препарату «*CID-20*» з надоцтовою кислотою, є менш щільною, оскільки характеризується наявністю численних дефектів – шпарин розміром від 3 до 8 мкм (див. рис. 3.31., Б, В).

Вищезначених дефектів значно менше у випадку використання у якості плівкоутворюючої суміші препарату «*CID-20*» з надоцтовою кислотою (див. рис. 3.31., Ж, З).

Отже встановлено, що діюча речовина препарату на основі ЧАС дидецилдиметилбензиламоній-хлорид (ДДМБ) вірогідно зменшує газопроникність шкаралупи яєць курей на 26,8% ($p < 0,05$) (див. рис. 3.34).

Надоцтова кислота незалежно від хімічної природи базової плівкоутворюючої речовини ЧАС, розрихлює кристалічну кальцитну структуру шкаралупи, що полегшує газообмін ембріону протягом розвитку.

Морфологічні зміни мікроструктур плівок індукує модифікація складу вихідних розчинів. Так, додавання до розчину ЧАС надоцтової кислоти, рослинних екстрактів, фосфоліпідів та ін. призводить до утворення полікомпонентних емульсій, що є основою при створенні складних та розрихлених структур (див. рис. 3.31, В-Ж). Вони зберігають бактерицидну активність, а також значно інтенсифікують процеси дифузії газів (ДДМБ + НОК + РЕ – на 7,1% ($p > 0,05$)) (див. рис. 3.34).

Результати дослідження методом просвічувальної електронної мікроскопії морфологічних особливостей захисних покриттів «штучна кутикула»,

Растрова електронна мікроскопія дає змогу також отримувати обґрунтовані результати щодо перспектив використання окремих «класичних» дезінфектантів, а також нових препаратів.

Перспективний «базовий» інгредієнт для «передінкубаційних» дезінфектантів полігексаметиленгуанідингідрохлорид («Метацид») не рекомендовано використовувати в чистому вигляді внаслідок утворення на кутикулі занадто щільної та товстої плівки, яка утруднює газообмін ембріона (рис. 3.32, а).

Формальдегід, який і досі використовується в промисловому птахівництві, та глутаральдегід, що пропонували для передінкубаційної обробки яєць, надзвичайно сильно ущільнюють кутикулу, коагулюючи глікопротеїни та утворюючи між ними міжбілкові «зшивки» (рис. 3.32, б; в).

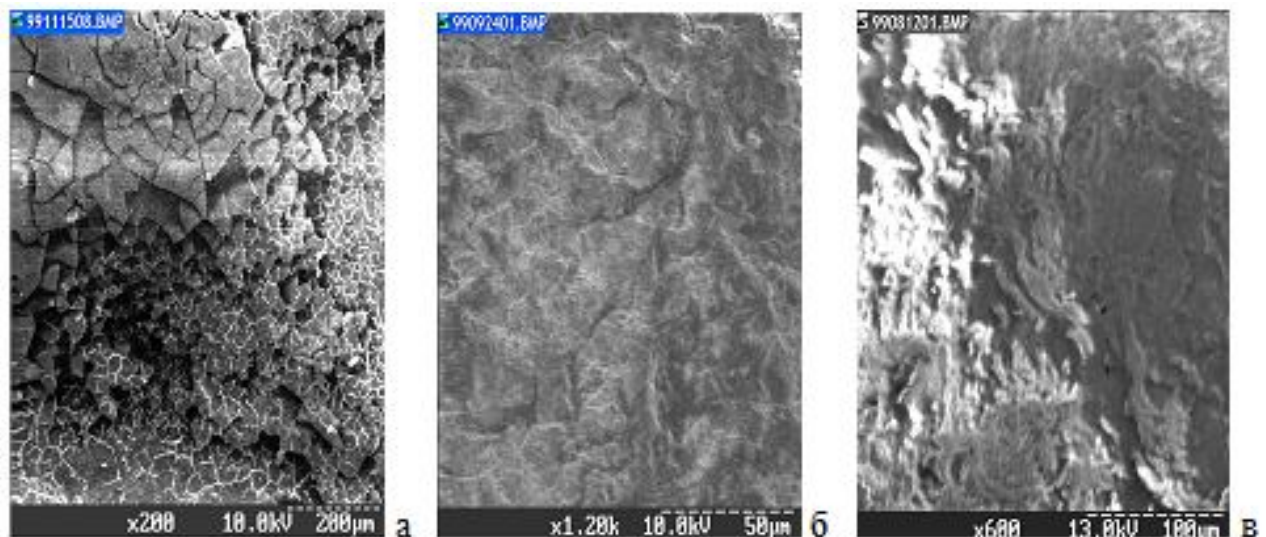


Рис. 3.32. Електронні мікрофотографії зовнішньої поверхні курячого яйця, обробленого метацидом (а), формальдегідом (б), глутаральдегідом (в) (x 200; x1200; 600)

Останнє цілком збігається з сучасними поглядами на формальдегід, який руйнує зовнішню оболонку яйця – кутикулу та інактивує лізоцим, що входить до її складу, оголює пори в біокерамічних шарах шкаралупи [154, 405, 504].

Таким чином він призводить до різкого зниження пропускну здатності захисного бар'єру яйця щодо патогенної мікрофлори з наступним вторинним інфікуванням.

Препарат «*Virkon-S*» містить пероксидні сполуки, котрим притаманна потужна біоцидна дія, яка не поступається формальдегіду, сполукам йоду, хлору, лугам тощо(рис. 3.33).

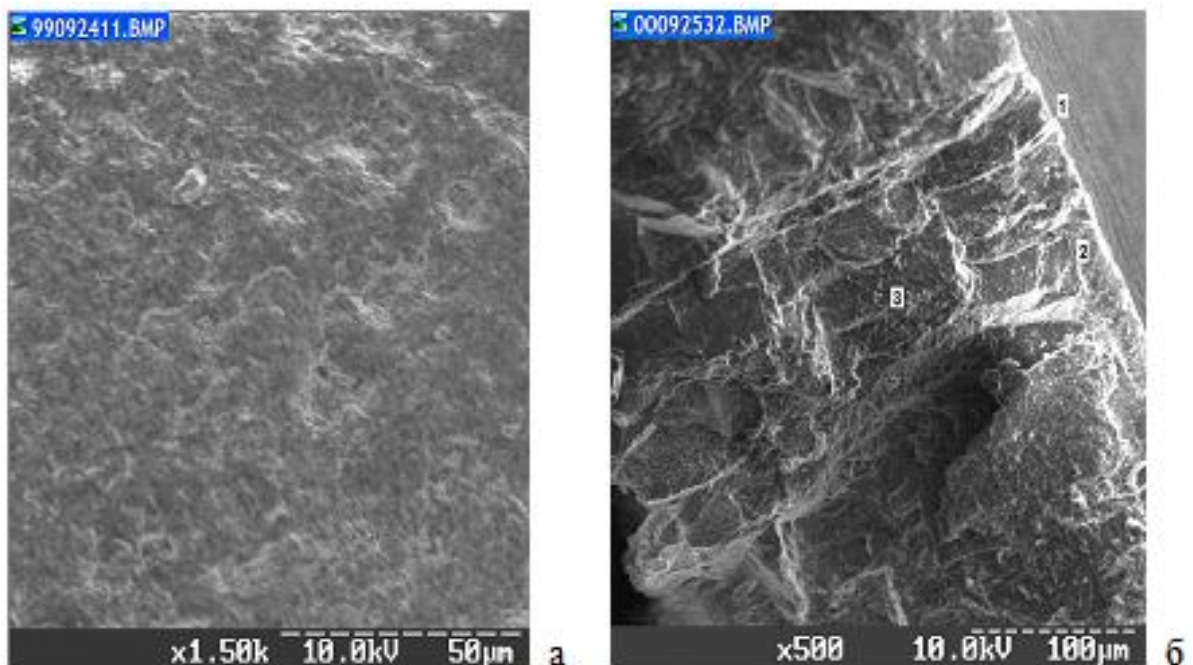


Рис. 3.33. Електронна мікрофотографія курячого яйця, обробленого перед інкубацією препаратом «*Virkon-S*» (*Antex*, Великобританія; *KRKA*, Словенія) (x 1500; x 500)

Примітки: 1. Зовнішня поверхня (а), відкол (б).

*2. Позначки на рис. б: 1 – зовнішня поверхня шкаралупи (кутикула), оброблена препаратом «*Virkon-S*»; 2 – кристалічний вертикальний шар; 3 – палісадний шар*

Біоцидна дія зазначених сполук утворює у процесі обробки надактивні форми кисню, котрі руйнують органічні та неорганічні матеріали, піддаючи їх

швидкому окисленню. Обробка інкубаційних яєць препаратом «*Virkon-S*» руйнує кутикулу повністю, оголяючи неорганічний матрикс шкаралупи.

Отже, дослідями доведено, що препарат «*Virkon-S*» не є оптимальним для передінкубаційної обробки яєць.

Таким чином, на морфологічні параметри захисних плівок, які утворюються на поверхні інкубаційних яєць курей в умовах використання для передінкубаційної обробки технології «штучна кутикула» на основі сполук четвертинного амонію (ЧАС), вирішальний вплив здійснюють домішки біологічно-активних речовин рослинного походження та іонів металів, зокрема срібла.

3.3.2. Газопроникність захисних плівок «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію

Мета частини роботи, поданої в цьому розділі, полягала в дослідженні розробленої «штучної кутикули» для інкубаційних яєць курей зі сполук четвертинного амонію та біоактивних рослинних препаратів, ступеню і напрямків її впливу на газообмін біокерамічного шару шкаралупи в модельних умовах.

В експериментах використовували інкубаційні яйця курей Домінант бурий Д-102. Дослідні групи яєць було оброблено речовинами, що входять до складу «штучної кутикули»: АТМ та іншими похідними сполук четвертинного амонію (АДМБ, ДДМБ), рослинними екстрактами, пероксидами, а також розчином препарату «*Virkon S*» та «*Virkon S*» в поєднанні з рослинними екстрактами. Наносили препарати методом зрошування за допомогою розприскувача типу «Росинка». Діаметр крапель аерозолу 50-200 мкм.

Яйця без обробки слугували контролем. Досліди проводили у восьмиразовій повторності (n=8).

На рис. 3.34 представлені дані газопроникності шкаралупи яєць курей, обробленої дослідними препаратами.

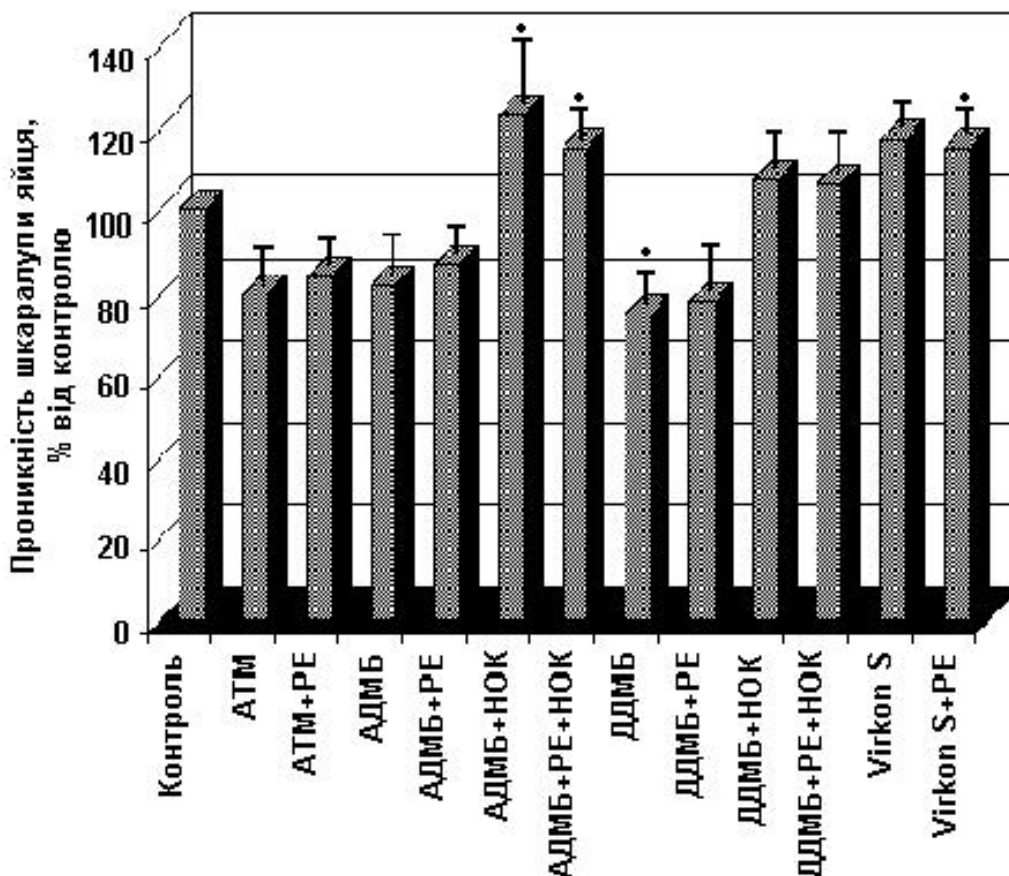


Рис. 3.34. Газопроникність шкаралупи інкубаційних яєць курей (Домінант бурий Д-102; 15 тиждень яйцекладки), оброблених різними складовими для формування «штучної кутикули»

Примітки: 1) контроль (без обробки);

2) яйця обробляли методом розпилення (діаметр крапель аерозолу 50-200 мкм);

3) точками відмічені достовірні розбіжності з контролем ($p < 0,05$)

Як видно з рис. 3.34, суміш АДМБ із НОК підвищує проникність шкаралупи на 23% ($p < 0,05$), ДДМБ із НОК – на 7,2%, а препарат «Virkon S» – на 17% ($p < 0,05$). Введення до складу препаратів біологічно активних екстрактів з рослин недостовірно знижує деструктивну активність НОК щодо біокерамічного шару шкаралупи.

Таким чином, рослинний екстракт знижує деструктивну дію надоцтової кислоти щодо біокерамічного шару шкаралупи.

3.3.3. Методи утворення на поверхні шкаралупи інкубаційних яєць покриття «штучна кутикула» та їх зв'язок з транспортуванням біологічно активних речовин всередину яєць

Для вивчення ефективності використання різних методів нанесення захисної плівки для утворення на поверхні шкаралупи інкубаційних яєць курей «штучної кутикули» проводили дослідження транспортування біологічно активних речовин (БАР) через шкаралупу інкубаційних яєць.

В досліджах використовували інкубаційні яйця курей кросу Домінант бурий Д-102. Кінетичні параметри транспортування БАР через біокерамічні захисні бар'єри яєць вираховували виходячи з визначення концентрації БАР на поверхні і в середині яйця мас-спектрометричним методом.

Досліджували наступний склад модельного водного розчину БАР (MP-БАР) для проведення експериментів з визначення ефективності транспортування БАР в середину яйця: аденозинмонофосфат (АМР) 0,1% + цистеїн (Цис) 0,1% + глютамін (Глу) 0,1% + креатин фосфат динатрієва сіль (0,1%).

В досліджах використовували також речовини – «енхансери», які підсилюють швидкість транспортування біологічно активних речовин через шкаралупу, концентрація котрих становила: диметилсульфоксид (ДМСО) 0,05-1,5%, α -циклодекстрин (α -ЦД) 0,5-3,0%, *L*-ментол 0,5-2,5%, сполуки четвертинного амонію – CID-20 (CID-Line, Бельгія) 0,5-2,0%.

Дослідження ефективності БАР у середину яйця проводили згідно схеми, поданої нижче.

Контроль (інтенсивність швидкості дифузії БАР за умов рівних температур зовні і в середині яйця): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл MP-БАР. Інкубацію проводили в термостаті протягом 12 годин, температура становила $18 \pm 0,2$ °C, вологість – від 95 до 98%.

Група 1. – Вільна дифузія БАР за умов підвищеної температури в середині яйця. Яйця витримували в термостаті протягом двох годин при

рівні вологості 95-98% і температурі $25 \pm 0,2$ °С. Яйця занурювали на 15 хв. у розчин МР-БАР $15 \pm 0,1$ °С. Інкубацію проводили у водяному термостаті.

Група 2. – (Речовина «енхансер» α -ЦД): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл МР-БАР + α -ЦД (0,5%). Інкубацію проводили в термостаті протягом 12 годин, температура становила $18 \pm 0,2$ °С, вологість – від 95 до 98%.

Група 3. – (Речовина «енхансер» групи терпенів (*L*-ментол): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл МР-БАР + *L*-ментол (0,5 %). Інкубацію проводили в термостаті протягом 12 годин, температура становила $18 \pm 0,2$ °С, вологість – 95-98%.

Група 4. – (Речовина «енхансер» ДМСО): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл МР-БАР + ДМСО (0,05%). Інкубацію проводили в термостаті протягом 12 годин, температура становила $18 \pm 0,2$ °С, вологість – 95-98%.

Група 5. – (Речовина «енхансер» з групи ЧАС (*CID-20*): на бокову поверхню яйця наносили 50 мкл МР-БАР + *CID-20* (0,5%). Інкубацію проводили в термостаті протягом 12 годин, температура становила $18 \pm 0,2$ °С, вологість – 95-98%.

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

Група 7. – (Електрофорез): на бокові поверхні яйця зверху і знизу накладали поролонові шайби діаметром 1 мм, насичені розчином МР-БАР (по 1 мл). До шайб приєднували пластинкові електроди (напруга 305 В; постійний струм; 10хв.; термостат $18 \pm 0,2$ °С).

Група 8. – (Електророзпилення; «*electrospray*») (діаметр крапель аерозолу розчину МР-БАР 200 нм – 1 мкм; напруга + 7 кВ, модифікований прилад «УНП», ВАТ «*SELM*», Суми, Україна; 18 °С; 120 с).

Група 9. – (іонофорез; сонофорез, обробка ультразвуком) (удосконалена технологія Акопян В.Б. та ін.; $18 \pm 0,2$ °C; 22 кГц протягом 2-15 с).

Вплив фізико-хімічних чинників на ступінь транспортування біологічно-активних речовин через шкаралупу яйця куриці представлено в табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Порівняння ступеню впливу фізико-хімічних чинників / процесів на інтенсивність транспортування БАР через біокерамічні захисні шари яйця

Фізико-хімічні чинники / процеси, що здійснюють вплив на інтенсивність транспортування БАР через біокерамічний шар	Масовий % БАР, які надійшли всередину яйця (від вихідної концентрації БАР на зовнішній поверхні)
Контроль (інтенсивність дифузії БАР за умов рівних температур зовні і всередині яйця)	0,01-0,05
Вільна дифузія БАР за умов підвищеної температури всередині яйця	1-3
Циклодекстрини	11-14
<i>L</i> -ментол, ментон, карвон, <i>D</i> -лімонен	55-63
Диметилсульфоксид	64-69
ЧАС	7-11
Гідравлічний удар	20-24
Електророзпилення	30-35
Електрофорез	56-62
Фонофорез (сонофорез; ультразвукова обробка)	75-88

Нанесення захисної плівки методом іонофорезу, як виявилось, спричинило різке посилення дифузійних процесів газів через біокерамічний шар, яке може стати в нагоді для конструювання «штучної кутикули» на

поверхню шкаралупи яєць водоплаваючої птиці, яка вирізняються щільними захисними біокерамічними структурами і, відповідно, характеризуються поганою виводимістю.

Проте, технології фонофоретичної обробки належить першість в аспекті ступеня впливу на певний фізіолого-біохімічний процес в тканинах ембріону або курчати і ефективності транспорту БАР в середину інкубаційного яйця, за умов відсутності механічних порушень біокерамічного шару шкаралупи.

Як видно з таблиці, найбільш перспективними чинниками для недеструкуючого перенесення БАР через біокерамічний шар, є рослинні терпени (*L*-ментол, ментон, карвон, *D*-лимонен), які вже використовуються в біотехнології як підсилувачі транспорту БАР через природні захисні структури (шкіра, біокераміка тощо) і диметилсульфоксид.

Певний потенціал в зазначеному напрямку належить також циклодекстринам.

З метою перенесення біологічно активних речовин (БАР) через біокерамічний шар шкаралупи яєць доцільно використовувати технологію фонофоретичного транспортування (ультразвукова обробка яєць у ємкості з водним розчином БАР певного складу і концентрацій).

Отже, дослідженнями щодо розробки оптимального методу передінкубаційної обробки яєць курей встановлено, що найбільш перспективною технологією нанесення «штучної кутикули» на інкубаційні яйця курей є технологічно простий і недорогий метод розпилення рідини робочого розчину з утворенням часток аерозолі діаметром 0,5-3,0 мкм, які осідають на поверхні яєць з наступним утворенням еластичної газопроникної захисної плівки «штучної кутикули».

Водночас доведено, що застосування методу сонофоретичного отримання «штучної кутикули», яким передбачено спрямоване транспортування біологічно активних речовин всередину яйця «*in ovo*», є досить складним і працемістким.

3.3.4. Особливості захисних плівок «штучної кутикули» на основі природної екологічно чистої речовини хітозану

Виходячи з того, що технологія «штучної кутикули» є, за своєю суттю, різновидом біоміметичних технологій, які базуються на імітуванні морфо-фізіологічних параметрів природних структур живих організмів штучними засобами, подальшим її розвитком був добір базової «матриксної» речовини, відмінної від синтетичних сполук четвертинного амонію. Не в останню чергу така постановка задачі була викликана збільшенням кількості фактів набуття представниками патогенної мікрофлори резистентності до розповсюджених дезінфектантів на основі четвертинних амонієвих полук, а також порівняно повільною деструкцією цих сполук у довкіллі.

Пошуки призвели до використання у якості «матриксної» складової «штучної кутикули» добре відомої, широко розповсюдженої, екологічно безпечної і недорогої субстанції – хітозану.

Хітозан (амінополісахарид 2-аміно-2-дезоксид- β -D-глюкан) – гідрофільний поліелектроліт, який виготовляють діацетилюванням із надзвичайно розповсюдженої у природі сировини – хітину (покриви ракоподібних, комах, грибків тощо).

Хімічна будова хітозану представлена на рис. 3.35.

Хітозан, як типовий представник високомолекулярних сполук, має багато хімічних похідних і є складовою низки комерційно доступних препаратів з різними молекулярними масами.

Виходячи з цього, наступним завданням дослідження був добір оптимальних різновидів та похідних хітозану для конструювання «штучної кутикули». Хітозан здатний утворювати на біокерамічній поверхні пташиних яєць еластичну газопроникну плівку завданої товщини та пористості.

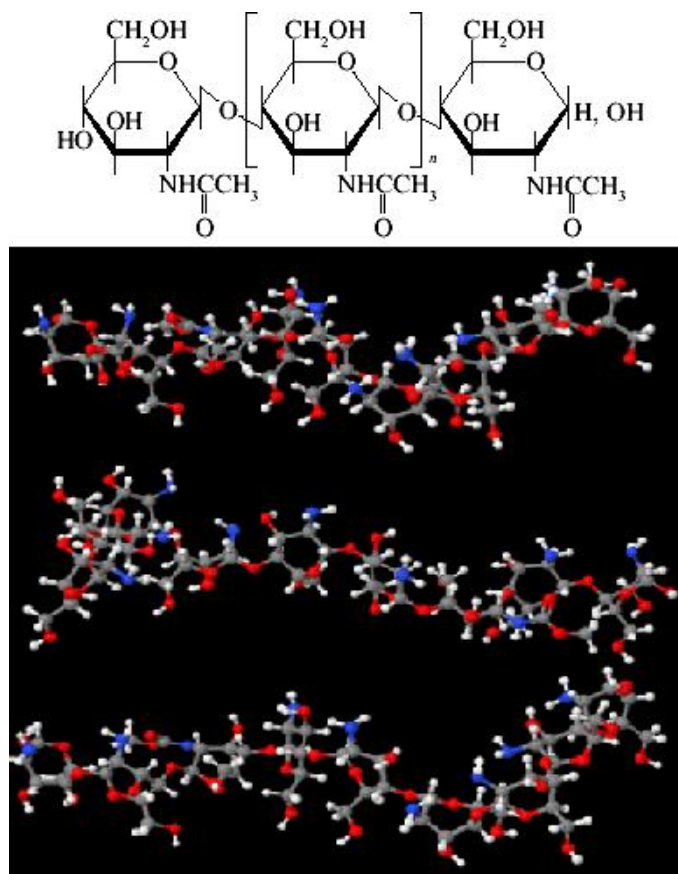


Рис. 3.35. Хімічна структура хітозану (амінополісахарид 2-аміно-2-дезоксi-β-D-глюкану); молекулярна структура хітозану (молекулярне моделювання, програма HyperChem 8.0)

У дослідях використовували: хітозан харчовий (водорозчинний) рН 1% водного розчину 4,65 (Д 1), хітозан харчовий (кислоторозчинний) рН 1% водного розчину у 2% оцтовій кислоті 3,59-3,65 (Д 2); та хітозан водорозчинний (сукцинат) рН 1% водного розчину 7,60 (Д 3) виробництва ЗАТ «Біопрогрес», РФ.

Робочі розчини для обробки яєць з наступним утворенням на їх поверхні «штучної кутикули» готували таким чином: 500 мг хітозану розчиняли у воді або оцтовій кислоті (варіант Д 1) при помішуванні і нагріванні від 35 до 40 °С; після повного розчинення додавали холодну воду до 500 мл і ретельно перемішували міксером, після чого негайно наносили на яйця розпилювачем типу «Росинка».

У дослід брали по 288 яєць курей трьох порід – Род-айленд червоний, Полтавська глиняста, Бірківська барвиста. У якості контролю використовували класичний метод – обробку парою формальдегіду.

Показники інкубації яєць курей, оброблених похідними хітозану, представлені в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

**Показники інкубації яєць, оброблених перед інкубацією
похідними хітозану**

Порода	Варіанти	Обробка	Незапліднені яйця, %	Відходи інкубації, %	Вивід, %	Виводимість, %
Род-айленд червоний	Д1	Контроль	14,8	14,8	72,2	84,8
		Дослід	16,5	0	66,3	79,4
	Д2	Контроль	13,6	13,6	71,6	82,9
		Дослід	10,6	10,6	79,8**	89,3**
	Д3	Контроль	15,6	15,6	64,2	76,1
		Дослід	18	18	68,2	83,2**
Полтавська глиняста	Д1	Контроль	13,3	0	75,6	87,2
		Дослід	11,9	0	76,4	86,8
	Д2	Контроль	10,8	10,8	79,4	89,1
		Дослід	8,6	8,6	83,3	91,1
	Д3	Контроль	12,8	12,8	76,4	87,6
		Дослід	18,6	18,6	73,4	90,1
Бірківська барвиста	Д1	Контроль	19,4	19,4	71,2	88,3
		Дослід	16	16	75,4	89,8
	Д2	Контроль	9,4	9,4	82,2	90,7
		Дослід	10,2	0	84,2	93,8
	Д3	Контроль	9,8	9,8	83,6	92,7
		Дослід	5,8	0	82,8	87,9

Примітка. ** - $p \leq 0,1$ у порівнянні з показником контрольної групи.

Експериментально доведено, що застосування розчинів усіх похідних хітозану (Д 1-Д 3) позитивно вплинуло на вивід молодняку та виводимість яєць. Так, проведення досліджень на яйцях курей породи Род-айленд показало, що

найкращий вплив на результати інкубації здійснює розчин з хітозаном кислоторозчинним (група Д 2): виводимість яєць в даній групі була на 6,4% більшою, ніж в контролі. В дослідній групі Д 3 вивід молодняку даної породи курей був вищим на 4,0% порівняно з контролем. Застосування розчину з хітозаном водорозчинним (контроль – Д 1) призвело до зниження показників виводу та виводимості яєць курей породи Род-айленд.

Застосування вищезазначених розчинів на яйцях курей породи полтавські глинясті показало наступні результати: виводимість яєць в групі Д 1 була на 0,4% нижче, ніж в контролі, даний показник в групі Д 2 був на 2%, в Д 3 на 2,5% вищим за контроль.

Дослідженнями на яйцях курей Бірківська барвіста доведено, що кращі результати інкубації отримано в групі Д 2, де вивід молодняку був на 2,0%, а виводимість на 3,1% відповідно вищими за контроль ($p < 0,01$) (див. табл. 3.6). Аналіз відходів інкубації показав, що в дослідних групах Д 2, де застосовували обробку яєць розчином з кислоторозчинним хітозаном відбувалось значне зниження ранньої ембріональної смертності. Так, кількість такої категорії відходів, як кров'яне кільце, у курей породи Род-айленд червоний була на 3,4%, у курей породи Полтавські глинясті на 0,8% та у курей породи Бірківська барвіста на 3,4% нижчою, ніж в контрольних групах.

Встановлено, що використання вище зазначеного розчину у дослідних групах не здійснювало негативного впливу на перебіг інкубації та розвиток ембріонів. Таким чином, експериментально доведено, що оптимальним «матриксним» матеріалом в технології «штучна кутикула» для захисту інкубаційних яєць курей є кислоторозчинний хітозан.

3.3.5. Розвиток технології «штучна кутикула» – композити типу «хітозан : ультра-, нанодисперсні оксиди металів»

Відкриття останніх років щодо специфічних властивостей оксидів деяких металів в ультрадисперсному стані (частки мікро-, нанометрового розміру)

підсилювати процеси окислення органічних забруднень на твердофазних поверхнях та у рідкій фазі (вода) надало широкі можливості у птахівництві для створення нових ефективних препаратів з високою біологічною активністю.

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. Сполуки заліза, зокрема нано-, ультрадисперсний оксид заліза (III) Fe_2O_3 , спричинюють близький за результатом ефект щодо забруднювачів органічної природи завдяки процесам типу окислення за Фентоном (світловим і темновим).

Надзвичайно важливим, на нашу думку, є те, що зазначені сполуки є не тільки цілком безпечними для птиці та людини, але, у випадку діоксиду титану, використовуються у харчовій промисловості для обробки продуктів харчування, які здатні до швидкого псування під дією патогенної мікрофлори.

Наведене послугувало основою для додавання цих сполук до «матричної» речовини «штучної кутикули» хітозану з кінцевою метою підсилення його досить помірної біоцидної щодо патогенної мікрофлори активності процесами «активного окислення» за участі ультра-, нанодисперсних сполук оксидів титану і заліза.

Результатом подальших досліджень щодо підбору оптимального складу штучної захисної плівки – нанокутикули була розробка принципово нової технології захисту інкубаційних яєць курей, яка набула назви «Штучна кутикула» *ARTIficial cutiCLE (ARTICLE)*.

Маючи на увазі те, що згідно останніх даних (L. D'Alba, 2014), важливе місце у захисній функції природної кутикули належить присутнім у товщі її базової складової – глікопротеїнової матричної речовини інших білків і пептидів, подібних лізоциму, з притаманними їм біоцидними властивостями, було використано здатність оксидів деяких металів, зокрема титану та заліза (TiO_2 та Fe_2O_3) у високодисперсних формах, сприяти очищенню та знезараженню інкубаційних яєць за фото- та темновим механізмами

високоєфективного окиснення органічних речовин протягом перебігу всього періоду інкубації.

В дослідях використовували інкубаційні яйця курей (Домінант бурий Д-102; 15 тиждень яйцекладки), яких утримували і годували у відповідності зі встановленими нормами ВНТП-СГіП-46-4.94 [132] утримання та годівлі. Складові «штучної нанокутікули» для інкубаційних яєць: надощтова кислота (НОК) х.ч., хітозан (з панцирів крабів), ультрадисперсний діоксид титану TiO_2 , сульфат міді $CuSO_4$, сульфат цинку $ZnSO_4$, сульфат заліза $FeSO_4$, біологічно активні речовини (вітаміни, амінокислоти, полісахариди, глікопротеїни).

«Штучну кутикулу» на поверхні інкубаційних яєць одержували шляхом: а) обприскування яєць робочим розчином (діаметр крапель аерозолу 50-200 мкм) з наступним висиханням розчину і утворенням твердофазної плівки; б) фонофоретичним методом; в) обробкою яєць за технологією електророзпилення «*electrospray*» (діаметр крапель аерозолу 200 нм - 1 мкм; напруга + 7 кВ, модифікований прилад УНП, *SEIMI*, Суми, Україна). Шкаралупу оброблених яєць досліджували методом електронної мікроскопії.

З рис. 3.36 видно, що структура хітозанової плівки, нанесеної на шкаралупу, була подібною до необробленої поверхні шкаралупи яйця куриці.

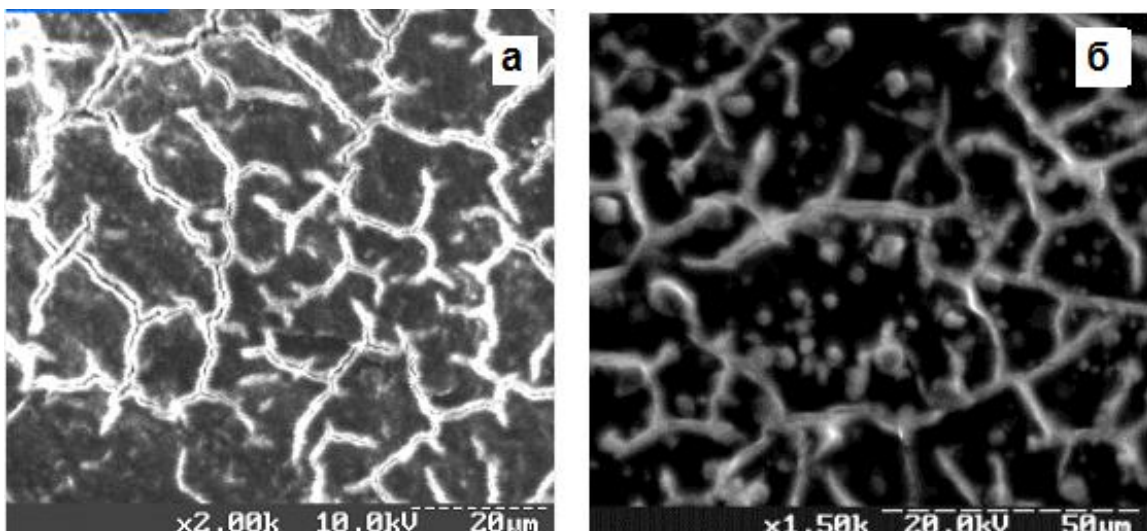


Рис. 3.36. Електронні мікрофотографії зовнішньої поверхні шкаралупи яєць курей

Примітки: 1. Природна кутикула (а).

2. «Штучна кутикула» на основі хітозану (б)

На рис. 3.36, б спостерігаються мікрочастки Fe_2O_3 . (данні мікроелементного аналізу представлені на рис. 3.39).

Результатом розвитку інноваційної технології для інкубаційних яєць, започаткованої автором у межах робіт з конструювання за біоміметичним принципом природної кутикули яєць курей, було отримання більш ефективної технології «штучна кутикула». В її основі лежить утворення самовпорядкованого полікомпонентного захисного покриття для відновлення бар'єрних властивостей біокерамічних структур шкарлупи і поверхневої надшкаралупної мембрани, якому притаманні потужна біоцидна (антибактеріальна та антивірусна) і біостимулююча стосовно ембріону види активності.

Нарешті, на рис. 3.37 і 3.38 наведені результати комп'ютерного моделювання молекулярної структури «штучної кутикули», які свідчать, зокрема, про спорідненість азотвміських груп хітозану до часток діоксиду титану (TiO_2).

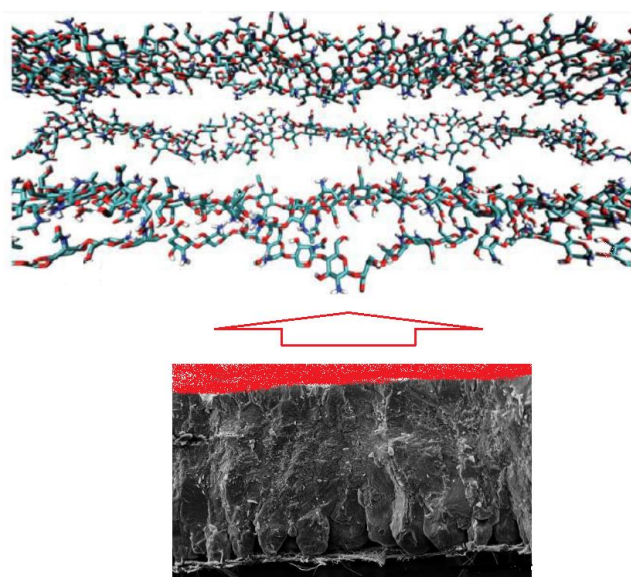
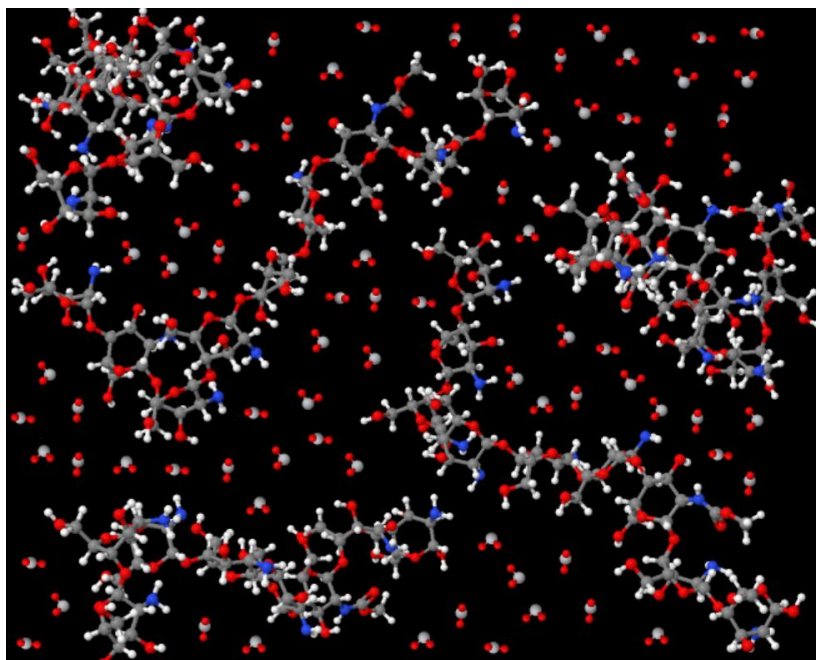


Рис. 3.37. Електронно мікроскопічне зображення сколу шкаралупи інкубаційного яйця курки (Род-айленд червоний), обробленого за технологією «штучна кутикула»

Примітка. Червоним позначений шар «штучної кутикули», докладна будова котрої наведена над стрілкою (молекулярна структура молекул хітозану запозичена з сайту <http://www.3dchem.com/3dmolecule.asp?ID=444>)



**Рис. 3.38. Структура твердофазової плівки «штучна кутикула»
(молекулярне моделювання, програма HyperChem 8.0)**

Захисну плівку «штучна кутикула», до складу якої входили хітозан кислоторозчинний, пероксидні речовини та нанодисперсний TiO_2 в анатазній кристалічній формі, наносили за допомогою ранцевого розпилювача на інкубаційні яйця курей Род-айленд червоний, Бірківська барвиста та Полтавська глиняста. Інкубацію яєць проводили в інкубаторі «Універсал-55» за загальноприйнятою методикою. В період інкубації проводили біологічний контроль методом овоскопіювання та розтину яєць. Після інкубації рахували відсоток виводимості яєць, враховуючи ембріональну патологію.

Результати інкубації курячих яєць, оброблених перед інкубацією «штучною кутикулою», подані в табл. 3.7.

Дані свідчать про те, що показники виводимості яєць (88,4-97,3%) достовірно вищі, аніж у варіантах, де застосовувалась обробка класичним методом – парами формальдегіду. Наведений склад композиції для утворення на інкубаційних яйцях захисного щодо негативних чинників довкілля та патогенної мікрофлори покриття сприяє підвищенню показнику виводимості яєць на 4,6-12,9%.

Таблиця 3.7

Результати інкубації курячих яєць, оброблених перед інкубацією розчином з хітозану кислоторозчинного, надоцтової кислоти (НОК) та діоксиду титану TiO₂ (анатазна кристалічна форма, нанодисперсний)

Методи обробки	Закладено, шт.	Незапліднені яйця		«Кров'яне кільце»		Завмерлі		Задохлики		Слабкі та каліки		Вивід курчат		Виводимість яєць, %
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	
Род-айленд червоний														
Формальдегід	1500	129	8,6	72	4,8	22	1,5	49	3,3	7	0,5	1221	81,4	89,1
Хітозан кислоторозчинний, НОК, TiO ₂	1500	67	4,5	39	2,6	7	0,5	18	1,2	3	0,2	1366	91,1	95,4
Полтавська глиняста														
Формальдегід	1500	189	12,6	126	8,4	42	2,8	33	2,2	12	0,8	1098	73,2	83,8
Хітозан кислоторозчинний, НОК, TiO ₂	1500	211	14,1	92	6,17	16	1,1	36	2,4	7	0,5	1138	75,9	88,4
Бірківська барвіста														
Формальдегід	1500	124	8,3	70	4,7	34	2,3	58	3,9	25	1,7	1189	79,3	84,4
Хітозан кислоторозчинний, НОК, TiO ₂	500	45	9,0	5	1,1	1	0,3	4	0,9	3	0,6	442	88,5	97,3

Таким чином, розроблено екологічно безпечну технологію «штучна кутикула» отримання захисних покриттів для інкубаційних яєць за участі фотокаталітичних часток ультра-, нанодисперсного діоксиду титану TiO_2 , пероксидної органічної сполуки надоцтової кислоти (НОК) і «матричної» речовини природного походження хітозан. Нанесення водних розчинів, які містять зазначені складові «штучної кутикули» на поверхню інкубаційних яєць, призводить до утворення на поверхні біокерамічного захисного шару шкаралупи еластичної захисної бактерицидної, вологоутримуючої та газопроникної плівки завтовшки 0,05-10,0 мкм, внаслідок міжфазових переходів «рідина-золь-гель-тверда фаза». Використання технології «Штучна кутикула» забезпечує підвищення показнику виводимості яєць в залежності від породи курей на 4,6-12,9%.

Слід зазначити, що розчини пероксидних сполук (надоцтова кислота, пероксид водню) і солі заліза мають назву реагента Фентона. У ході процесу деструкції НОК та пероксиду водню виникає ОН-радикал, який являє собою потужний окислювач. ОН-радикал відповідає за окислення органічних сполук у розчині. Під дією світла швидкість процесу окислення збільшується на порядок. Така система має назву «Фото-Фентон». Експериментально доведено, що в системі «Фото-Фентон» практично усі органічні сполуки можуть бути окислені до CO_2 і H_2O .

Як відомо (D. Manivannan [405]), реакція Фентона також відбувається між пероксидом водню H_2O_2 та іонами перехідних металів, зокрема заліза (Fe) та міді (Cu). Вона призводить до утворення високореакційноздатних іонів: ОН, O_2^- , та молекул кисню O_2 , що здатні руйнувати патогенні мікроорганізми шляхом окислення. Використовуючи систему Фото-Фентон, нами було сконструйовано інший варіант «штучної кутикули» для інкубаційних яєць курей з використанням ультра-, наночасток Fe_2O_3 та органічної матричної речовини – хітозану. Особливістю цієї технології є суттєва окислювальна здатність у світлових (в присутності іонів заліза (Fe), а також темнових (в присутності іонів титану (Ti) реакціях Фентона.

У подальшому було проведено поетапне додавання сполук металів до «матричної» речовини «штучної кутикули» хітозану з кінцевою метою підсилення його досить помірної біоцидної щодо патогенної мікрофлори активності процесами «активного окислення» за участі ультра-, нанодисперсних сполук оксидів титану і заліза.

Для приготування 100 мл водного робочого розчину «штучної кутикули» брали 20 мл 40% надоцтової кислоти (НОК), 500 мг оксиду заліза (III) Fe_2O_3 (жовтий залізоокисний пігмент; ВАТ «Сумихімпром»), 500 мг хітозану кислоторозчинного. Наважку хітозану розчиняли у НОК при перемішуванні і слабкому нагріві до 35-40 °С. Після повного розчинення додавали воду, знов ретельно перемішували (використовували високооборотний міксер або ультразвуковий диспергатор).

«Штучну кутикулу» на поверхні інкубаційних яєць одержували шляхом зрошування яєць робочим розчином (діаметр крапель аерозолу 5-40 мкм) з наступним його висиханням (експозиція 40-45 хвилин). Інкубацію яєць проводили за методикою, що описана вище.

Результати інкубації курячих яєць, оброблених перед інкубацією «штучною кутикулою», до складу якої входили хітозан кислоторозчинний, надоцтова кислота, Fe_2O_3 , подані в табл. 3.8.

Передінкубаційна обробка яєць «штучною кутикулою» з наведеним складом композиції позитивно вплинула на розвиток ембріонів курей. При одноразовій обробці інкубаційних яєць антисептиком спостерігали зниження кров'яного кільця на 3,2-6,1%, завмерлих ембріонів – на 0,7-2,8%, задохликів – на 2,6-3,7%, слабких та калік – на 0,2-2,7%. Вивід молодняка в дослідних партіях був на 6,9-12,0% вищим за контроль за рахунок зменшення смертності в останні дні інкубації.

Використання даного варіанту технології «штучна кутикула» із оксидом заліза також забезпечує підвищення показнику виводимості яєць (в залежності від породи курей) на 12,0-16,3%.

Таблиця 3.8

Результати інкубації курячих яєць, оброблених перед інкубацією розчином з хітозану кислоторозчинного, надоцтової кислоти (НОК) та оксиду заліза (III) Fe₂O₃

Методи обробки	Закладе-но, шт.	Незапліднені яйця,		«Кров'яне кільце»,		Завмерлі,		Задохлики,		Слабкі та каліки,		Вивід курчат,		Виводимість яєць, %
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	
Род-айленд червоний														
Формальдегід	1440	155	10,8	97	6,8	14	1,0	80	5,6	7	0,5	1087	75,5	84,6
Хітозан кислото розчинний, НОК, Fe ₂ O ₃	1440	165	11,5	51	3,6	4	0,3	30	2,1	4	0,3	1186	82,4	93,1
Полтавська глиняста														
Формальдегід	1200	206	17,2	122	10,2	45	3,8	61	5,1	18	1,5	748	62,4	75,4
Хітозан кислото розчинний, НОК, Fe ₂ O ₃	1200	226	18,9	49	4,1	12	1,0	16	1,4	5	0,4	892	74,4	91,7
Бірківська барвиста														
Формальдегід	1400	134	9,6	87	6,2	26	1,9	51	3,7	61	4,4	1041	74,4	82,3
Хітозан кислоторозчинний, НОК, Fe ₂ O ₃	1400	130	9,3	30	2,1	5	0,4	15	1,1	23	1,7	1197	85,5	94,3

Після висихання покриття «штучна кутикула» проби шкаралупи яєць готували для досліджень методом растрової електронної мікроскопії та мікроелементного аналізу (рис. 3.39). В експериментах використовували по 8 яєць з кожної партії.

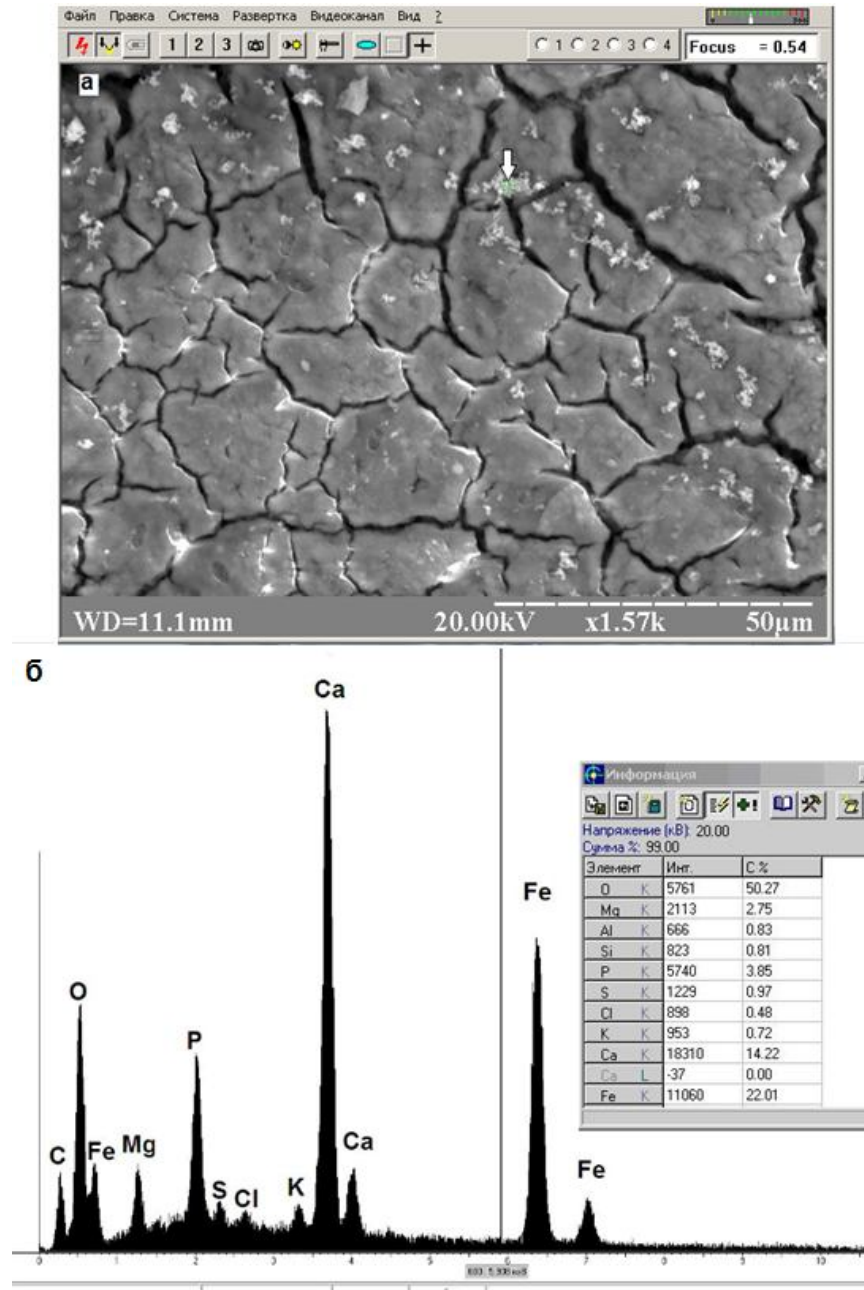


Рис. 3.39. Мікрофотографія «штучної кутикули», нанесеної на поверхню інкубаційного яйця куриці (А) та результати елементного аналізу частинки Fe_2O_3 зі «штучної кутикули» на поверхні інкубаційного яйця куриці (Б)

Примітки: 1) білі плями на шпаринуватій поверхні хітозану відповідають часткам Fe_2O_3 (а); 2) праворуч добре видно інтенсивний пік, який відповідає залізу (Fe), центральний пік – кальцію (Ca) (б); 3) на мікрофотографії стрілочкою вказане місце взяття проби для аналізу

Як видно з рисунку, мікроелементний аналіз шкаралупи після нанесення «штучної кутикули», вказує на наявність Fe_2O_3 у зразку (22% відносно Ca).

На рис. 3.40 представлено молекулярне моделювання структури плівки «штучна кутикула» на основі хітозану, до складу якої введено Fe_2O_3 .

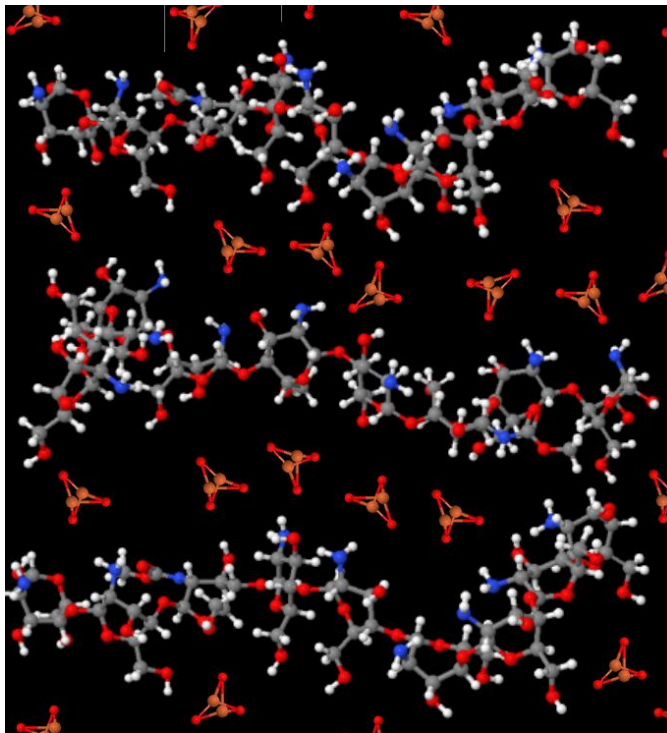


Рис. 3.40. Структура твердофазової плівки «штучна кутикула» на основі оксиду заліза (III) (молекулярне моделювання, програма HyperChem 8.0)

Таким чином, експериментальними дослідженнями характеристик плівок, що утворювались в процесі передінкубаційної обробки, а також їх деструкції в період інкубації встановлено, що нанесення водних розчинів, які містять зазначені складові «штучної кутикули» на поверхню інкубаційних яєць призводить до утворення на поверхні біокерамічного захисного шару шкаралупи еластичної захисної бактерицидної, вологоутримуючої та газопроникної плівки завтовшки 0,05-10 мкм.

Використання варіанту технології «штучна кутикула» із оксидом заліза забезпечує підвищення показнику виводимості яєць в залежності від породи курей на 12,0-16,3% ($p < 0,01$).

3.3.6. Дослідження дії складових речовин «штучної кутикули» на структурні показники та рівень газопроникності шкаралупи інкубаційних яєць курей

Метою даної частини роботи було встановлення показників газопроникності біокерамічних захисних бар'єрів інкубаційних яєць курей різних порід і кросів, зокрема зарубіжної селекції, які поширені на цей час в Україні. Відомо, що на думку багатьох вітчизняних і зарубіжних дослідників [60, 61, 116, 129, 143, 153, 163, 210, 251, 518] саме проникність шкаралупи щодо газів, зокрема кисню та двоокису вуглецю, та пари води є одним з чільних факторів, що впливають на перебіг інкубації та оптимальний рівень метаболізму ембріонів, що розвиваються.

Для визначення рівня показників газопроникності шкаралупи досліджували яйця курей Домінант бурий Д-102 (550 шт.), Ломанн браун (550 шт.), Хайсекс браун (550 шт.), Беларусь-9 (550 шт.), Леггорн білий (450 шт.), Російські білі (350 шт.), Російські помісні (250 шт.), Шейвер 579 (550 шт.), не пізніше однієї доби після знесення, якість яких відповідала вимогам ДСТУ РСТ УССР 1924-82 «Яйця курячі інкубаційні. Технічні умови».

В таблиці 3.9 наведено показники газопроникності інкубаційних яєць курей різних порід та кросів, яких утримували згідно встановлених норм ВНТП-СГіП-46-4.94 [132]. Птиця оримувала комбікорм ПК-1/18. Поживна і енергетична цінність раціонів відповідали рекомендаціям ВНДІТІП (1998) [18, 62].

Данні, наведені в таблиці, вказують на значну розбіжність показника газопроникності шкаралупи яєць курей в залежності від порід та кросів птиці. Така неоднорідність притаманна насамперед високопродуктивній птиці зарубіжної селекції – Ломанн браун і Хайсекс браун. Навпаки, у вибірках яєць, отриманих від несучок Леггорн білий і Російські білі, їх частка зі зниженими і підвищеними показниками газопроникності є значно нижчою.

Таблиця 3.9

Розподіл показнику газопроникності у вибірках інкубаційних яєць курей різних порід та кросів

Домінант бурий Д-102, n=550																			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	11	7	13	16	35	52	59	61	50	52	46	36	19	24	17	15	15	12	10
Ломанн браун, n=550																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	11	7	13	16	35	52	59	61	50	52	46	36	19	24	17	15	15	12	10
Хайсекс браун, n=550																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	0	4	9	12	35	49	62	78	67	52	45	24	20	18	17	15	16	13	14
Беларусь-9, n=550																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	1	3	11	18	28	51	70	85	69	55	44	27	23	20	18	8	7	5	7

Продовж. табл. 3.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Леггорн білий, n=450																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	2	5	10	22	34	45	64	72	55	43	32	19	11	11	11	5	4	3	2
Російські білі, n=350																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	2	2	5	16	43	50	58	48	33	31	18	14	9	6	6	4	2	1	2
Російські помісні, n=250																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	1	1	2	5	40	55	63	27	20	8	6	4	5	5	2	2	4	0	0
Шейвер 579, n=550																			
Газопроникність, см ³ /хв	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Кількість яєць, шт	6	5	11	35	42	66	72	78	60	35	24	24	25	21	19	10	7	5	5

Оптимальний для високопродуктивної промислової птиці яєчних кросів розподіл показнику газопроникності притаманний, за нашими даними, інкубаційним яйцям несучок кросів Шейвер 579 і Беларусь 9.

Отримані нами данні збігаються з даними аспірантки Є. А. Самохіної [135], котра довела, що зниження газопроникності біокерамічного шару шкаралупи яєць курей $<4 \text{ см}^3/\text{хв}$ обумовлено підвищеною щільністю біокристалічного шару шкаралупи, а також зниженою кількістю пор і надто потовщеним шаром надшкаралупної оболонки – кутикули; показник газопроникності, що знаходиться в межах від 5 до 9-10 $\text{см}^3/\text{хв}$ є наслідком оптимального поєднання морфологічних параметрів від мамілярного до вертикального кристалічного шару шкаралупи і суцільного кутикулярного покриву; показник газопроникності від 10 до 60-70 $\text{см}^3/\text{хв}$ обумовлений дефектами кутикулярного шару і вірогідною наявністю підвищеної кількості мікрodefektів в неорганічній складовій біокристалічного шару шкаралупи. Яйця курей з показником газопроникності, що перевищує 70 $\text{см}^3/\text{хв}$, характеризуються наявністю макроdefektів в наслідок глибоких порушень структури біокераміки шкаралупи.

Вивчення показників газопроникності не оброблених жодними препаратами яєць проводили з використанням курей саме тих порід та кросів, які в подальшому планували задіяти в експериментах щодо розробки інноваційної технології інкубації яєць («штучна кутикула» на основі ЧАС, а потім хітозану).

Метою наших подальших досліджень було вивчення впливу окремих складових «штучної кутикули» на морфологічні параметри шкаралупи яєць курей різних порід та кросів, розвиток ембріонів та виводимість.

Сумація притаманних певним кросам птиці вад біокерамічного шару шкаралупи, з недоліками, обумовленими порушенням факторів утримання та годівлі птиці впливає на обмін речовин ембріону, як внаслідок варіювання життєво важливих показників стану газообміну останнього, так і дії патогенної і умовно патогенної мікрофлори.

Оптимізація газообміну і попередження трансшкаралупного надходження мікрофлори з успіхом досягається технологією «штучної кутикули». Одними з базових компонентів «штучної кутикули» є пероксидні сполуки, яким притаманні як біоцидна активність, так і здатність до модифікування кристалічних кальцитних структур біокерамічного шару шкаралупи.

Оскільки комплексних поглиблених досліджень рівней впливу пероксидних сполук, типовим прикладом яких є надощтова кислота (НОК), на біокерамічні структури не проведено, певну цікавість являє визначення зв'язків з одного боку, між морфологічними показниками кальцитного шару і його газопроникністю з іншого – показниками виводимості інкубаційних яєць курей різних порід і кросів. Відомо, що поліпшення ступенів газо-, повітро- та вологопроникності інкубаційних яєць досягається передінкубаційною обробкою останніх сильними кислотами, нашою метою було детальне дослідження впливу НОК на рівень газопроникності біокерамічних структур яєць курей.

В досліджах використовували інкубаційні яйця (15-20 тижні яйцекладки), одержані від курей Ломанн браун, Домінант бурий Д-102, Леггорн білий, яких утримували у відповідності зі встановленими нормами утримання та годівлі, а також яйця хворої птиці на колібактеріоз. Курей Домінант бурий Д-102 (5 гол.) заражали штамом *E. Coli* інтранозально, як описано в Розділі 2. Діагноз на колібактеріоз встановлювали за клінічними ознаками та розтином. Перед закладкою на інкубацію яйця обробляли водним розчином НОК різних концентрацій (1-7%) методом зрошування. Загальний об'єм розчину 36 мл на 144 яйця. Експозиція 20-30 хвилин.

Яйця контрольної групи закладали на інкубацію без обробки. На другу добу інкубації відбирали по 30 яєць з кожної групи для досліджень на газопроникність.

Однією з базових складових «штучної кутикули» є речовина, якій притаманні одночасно як високий рівень біоцидної активності щодо патогенної

мікрофлори так і здатність розрихлювати у малих концентраціях чи великому розведенні біокерамічний кальцитний шар шкаралупи.

В технології «штучна кутикула» такою речовиною є надощтова кислота – безколірна рідина, що характеризується, як типовий представник групи органічних пероксисполук, здатністю ефективно окислювати органічні речовини, зокрема біомолекули з яких складаються поверхневі структури бактерій, вірусів, мікоплазм тощо, з наступною їх руйнацією і загибеллю.

Окрім того, НОК вступає в хімічну реакцію з CaCO_3 , у невеликих концентраціях руйнуючи кристалічну структуру кальциту і призводячи, таким чином, до підвищення показнику газопроникності шкаралупи. Іншими словами, НОК виконує підготовчу роботу зі знешкодження поверхневого шару яйця і підвищення рівню його газопроникності як окремо, так і у складі «штучної кутикули».

З рис. 3.41 видно, що підвищення рівня газопроникності шкаралупи яєць курей призводить до збільшення показнику виводимості, що співпадає з результатами, отриманими В. О. Бреславцем і співр. [61] та Є. А. Самохіною [135].

Характерно, що показник газопроникності з оптимальних значень для інкубаційних яєць курей кросу Ломанн браун (див рис. 3.41, 1) ($1,68$ і $1,87 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3/\text{м}^2 \cdot \text{с}$) і відповідними значеннями виводимості (81,2% і 82,1%), при подальшому підвищенні газопроникності (до значень $3,78$ і $4,42 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3/\text{м}^2 \cdot \text{с}$) призводить до зниження виводимості (80,1% і 73,7% відповідно).

Аналогічна залежність між показниками рівня структурованості біокристалічного шару кальциту (мікродефекти), його газопроникності і виводимістю яєць показана на рис. 3.41, 2 і 3.41, 3 для усіх досліджених кросів та пород: Домінант бурий Д-102, Леггорн білий.

Слід зауважити, що шкаралупа яєць, отриманих від курей Леггорн, не реагує на обробку НОК; висока концентрація (7%) не знижує

показник виводимості яєць відносно контролю, що спостерігали в інших дослідах.

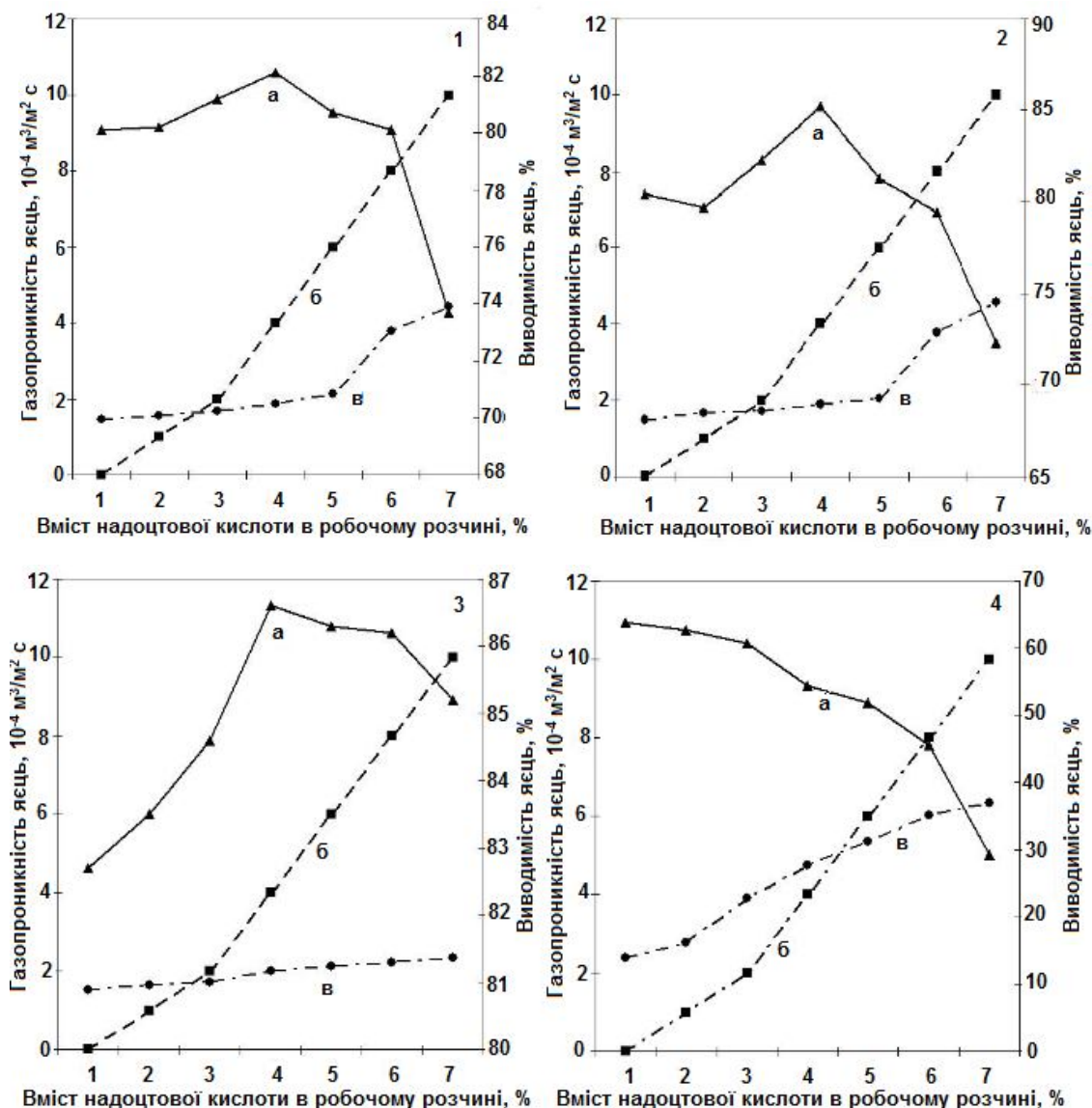


Рис. 3.41. Вплив передінкубаційної обробки яєць курей надоцтовою кислотою на газопроникність біокерамічного шару шкаралупи і виводимість яєць різних порід та кросів

Примітки: 1) виводимість яєць, % (а); вміст НОК у робочому розчині, % (б); газопроникність, $10^{-4} \text{ м}^3/\text{м}^2 \text{ с}$. (в);

2) в досліджах використовували яйця курей: (1) Ломаннн браун ($n = 144$ шт. яєць в групі); (2) Домінант бурий Д-102 ($n = 144$ шт. яєць в групі); (3) Леггорн білий ($n = 144$ шт. яєць в групі); (4) Домінант бурий Д-102 (колібактеріоз ($n = 144$ шт. яєць в групі)

Нашими попередніми дослідженнями щодо мас-спектрометричного аналізу білково-пептидних фракцій, отриманих зі шкаралупи яйць курей Леггорн білий, було встановлено, що біокерамічний захисний шар має добру структурованість, а птицю даної породи можна віднести до резистентної групи за показником r , що відповідає кореляційній залежності між ступенем неструктурованості шкаралупи та кількісним складом структуроутворюючих білково-пептидних її складових (див. рис. 3.18). Отже, результат дії пероксиду в даному досліді можна пояснити підвищеним рівнем упорядкованості захисного біокерамічного шару шкаралупи птиці Леггорн білий і стійкістю ембріонів курей, що розвиваються, до токсичної дії надощтової кислоти.

Обробка НОК яєць, отриманих від курей хворих на колібактеріоз, призвела до надмірного підвищення газопроникності і різкого зниження виводимості (див. рис. 3.41, 4).

Таким чином дослідженнями встановлено:

— а) підвищення рівня газопроникності біокерамічного шару шкаралупи позитивно корелює із кількістю мікродфектів у кальцитних структурах що, у свою чергу, призводить до підвищення показника виводимості яєць;

— б) птиця, якій притаманний підвищений рівень упорядкованості біокерамічного шару шкаралупи, зокрема Леггорн білий, характеризується більшою резистентністю ембріонів щодо токсичної дії високих концентрацій НОК у порівнянні з високопродуктивною птицею кросу Ломанн браун;

— в) оптимальні щодо підвищення показників виводимості інкубаційних яєць значення концентрації робочого розчину НОК дорівнюють 4–6%.

У поперньому матеріалі наведені результати дослідів з вивчення впливу надощтової кислоти як потужного окислювача, здатного руйнувати структуру біокерамічного шару шкаралупи яєць птиці, що призводить до певного підвищення рівня газопроникності і, відповідно, показника виводимості і виходу здорового молодняку. Проте, оскільки «штучна кутикула» складається з

декількох складових, наступним кроком було вивчення паро-, газопроникності інкубаційних яєць курей різних порід у залежності від кількісного складу «штучної кутикули» (хітозан : надоцтова кислота : фотокаталітично-активні частки оксидів металів) в модельних умовах, протягом фіксованих проміжків часу: від однієї до двадцяти хвилин.

В дослід брали яйця, отримані від курей порід Род-айленд червоний, Полтавські глинясті та Бірківська барвиста (на початку продуктивного періоду) у восьми місячному віці птиці (по 30 шт. від кожної породи). Вимірювання газопроникності шкаралупи з попередньо видаленими підшкаралупними мембранами проводили до обробки яєць робочими розчинами (контроль) і після обробки (експеримент). Для приготування «штучної кутикули» використовували хітозан харчовий (кислоторозчинний), рН 1% водного розчину у 2% оцтовій кислоті, рН 3,59-3,65, ЗАТ «Біопрогрес», РФ. Для отримання 100 мл робочого розчину до 80 мл H_2O додавали 20 мл надоцтової кислоти і 500 мг хітозану з іншими компонентами (500 мг речовини TiO_2 в анатазній і рутильній формі, жовтий залізоокисний пігмент (Fe_2O_3). Хітозан попередньо розчиняли при помішуванні і нагріві до 35-40 °С в надоцтовій кислоті. Робочий розчин ретельно перемішували протягом п'яти хвилин за допомогою міксера або ультразвукового диспергатора і відразу наносили на інкубаційні яйця розпилювачем. Після нанесення лотки з яйцями піддавали дії ультрафіолетового освітлення протягом 20 хв, або прямому сонячному чи штучному освітленню.

Результати вимірювання газопроникності шкаралупи яєць курей трьох порід після обробки оцтовою кислотою наведені в табл. 3.10. Як видно з отриманих даних, газопроникність різко підвищується на 60-57-50% (тут і далі відсоткові значення наводяться відповідно до таблиць: Бірківська барвиста – Полтавська глиняста – Род-айленд червоний) від контролю вже на 20-ту хвилину.

Причиною цього зростання, як показала Н. В. Шоміна, є пошкодження кутикули і верхньої частини кальцитного шару шкаралупи [163]. Що стосується

породних відмінностей, то вони можуть бути обумовлені різницею морфологічних параметрів яєць, які властиві птиці різних порід. Відповідно вплинула на газопроникність і надоцтова кислота, однак, завдяки більшій її реакційній здатності, показник газопроникності збільшився до 68-60-79% в залежності від породи-кросу.

Таблиця 3.10

Зміна газопроникності шкаралупи яєць курей різних порід після оброблення складовими «штучна кутикула», ($10^{-3} \text{ м}^3/\text{м}^2 \text{ с}$), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Порода	Експозиція, хв				
	0 (контроль)	1	5	10	20
1	2	3	4	5	6
Оброблення розчином оцтової кислоти					
Бірківська барвиста	3,5±0,21	3,9±0,17	4,2±0,02	4,6±0,24	5,6±0,13
Полтавська глиняста	3,3±0,13	3,8±0,08	4,0±0,09	4,4±0,11	5,2±0,16
Род-айленд червоний	2,4±0,11	2,6±0,14	2,8±0,14	3,1±0,09**	3,6±0,11**
Оброблення розчином надоцтової кислоти					
Бірківська барвиста	3,5±0,21	4,1±0,12	4,4±0,21	5,0±0,18	5,9±0,15
Полтавські глинясті	3,3±0,13	3,9±0,10	4,1±0,15	4,5±0,11	5,3±0,11
Род-айленд червоний	2,4±0,11	2,6±0,13	3,0±0,19	3,4±0,07	4,3±0,10
Оброблення розчином хітозану у надоцтовій кислоті ($10^{-3} \text{ м}^3/\text{м}^2 \text{ с}$)					
Бірківська барвиста	3,5±0,21	3,0±0,17	4,1±0,18	5,1±0,17	6,4±0,14
Полтавські глинясті	3,3±0,13	2,5±0,20	3,7±0,11	4,6±0,09	5,2±0,16
Род-айленд червоний	2,4±0,11	1,8±0,12	2,6±0,14	4,1±0,09	4,6±0,13
Оброблення композицією хітозан : надоцтова кислота : TiO_2 (рутильна кристалічна форма)					
Бірківська барвиста	3,5±0,21	3,5±0,21	4,3±0,22	5,3±0,17	6,0±0,12
Полтавські глинясті	3,3±0,13	3,2±0,18	3,9±0,20	4,8±0,10	5,4±0,22

Продовж. табл. 3.10

1	2	3	4	5	6
Род-айленд червоний	2,4±0,11	2,1±0,14	2,7±0,11	4,3±0,15	4,9±0,11
Оброблення композицією хітозан : надощтова кислота : TiO ₂ (анатазна кристалічна форма)					
Бірківська барвіста	3,5±0,21	3,6±0,13	4,5±0,20	5,5±0,22	8,0±0,12
Полтавські глинясті	3,3±0,13	3,3±0,09	4,0±0,17	4,9±0,11	5,7±0,21
Род-айленд червоний	2,4±0,11	2,4±0,11	3,0±0,08	4,4±0,16	5,0±0,15
Оброблення композицією хітозан : надощтова кислота : Fe ₂ O ₃					
Бірківська барвіста	3,5±0,21	3,5±0,18	4,3±0,22	5,3±0,16	6,6±0,19
Полтавські глинясті	3,3±0,13	3,1±0,12	3,8±0,12	4,8±0,08	5,4±0,13
Род-айленд червоний	2,4±0,11	2,1±0,16	2,8±0,09	4,2±0,06	4,8±0,18

Примітки: 1) * – $p \leq 0,01$;2) ** – $p \leq 0,001$

Дещо інший характер змін газопроникності притаманний дії розчину хітозану в надощтовій кислоті – протягом першої хвилини після обробки яєць курей всіх порід газопроникність дещо знижується (на 15-25% від контролю) з наступним різким підвищенням до 82% (Бірківська барвіста), 57% (Полтавська глиняста), 91%. (Род-айленд червоний). Це явище обумовлене висиханням рідкокофазного водного розчину «штучної кутикули» на поверхні яєць з паралельним частковим руйнуванням природної кутикули і поверхневих шарів кальциту, що відкриває додаткові пори, а також утворенням «штучної кутикули» на основі хітозану, який є легко проникним для газів.

Внесення в робочий розчин хітозану в надощтовій кислоті діоксиду титану TiO₂ в рутильній або анатазній кристалічній формі не змінює загальної тенденції до значного підвищення показника газопроникності протягом 20 хвилин після обробки.

Проте, використання у складі «штучної кутикули» у якості фотокаталітичної домішки рутильної кристалічної форми діоксиду титану

збільшує газопроникність на 71-63-104%, а більш активної анатазної кристалічної форми – на 128-72-108% відповідно до породи курей. Зменшення показника газопроникності на першій хвилині після обробки, як у варіанті з використанням розчину хітозану в надоцтовій кислоті, не зареєстровано.

Додавання в розчин хітозану в надоцтовій кислоті жовтого залізоокисного пігменту Fe_2O_3 принципово не відрізняє отриману композицію за спрямованістю дії на показник газопроникності інкубаційних яєць від діоксиду титану, хоча по інтенсивності впливу Fe_2O_3 , як постачальник іонів заліза Fe (II) і Fe (III) для реакції Фентона, дещо поступається TiO_2 , хоча також підвищує показник газопроникності яєць на 88-63-100%.

На рис. 3.42 представлена динаміка змін газопроникності шкаралупи яєць курей в залежності від хімічних складових «штучної кутикули».

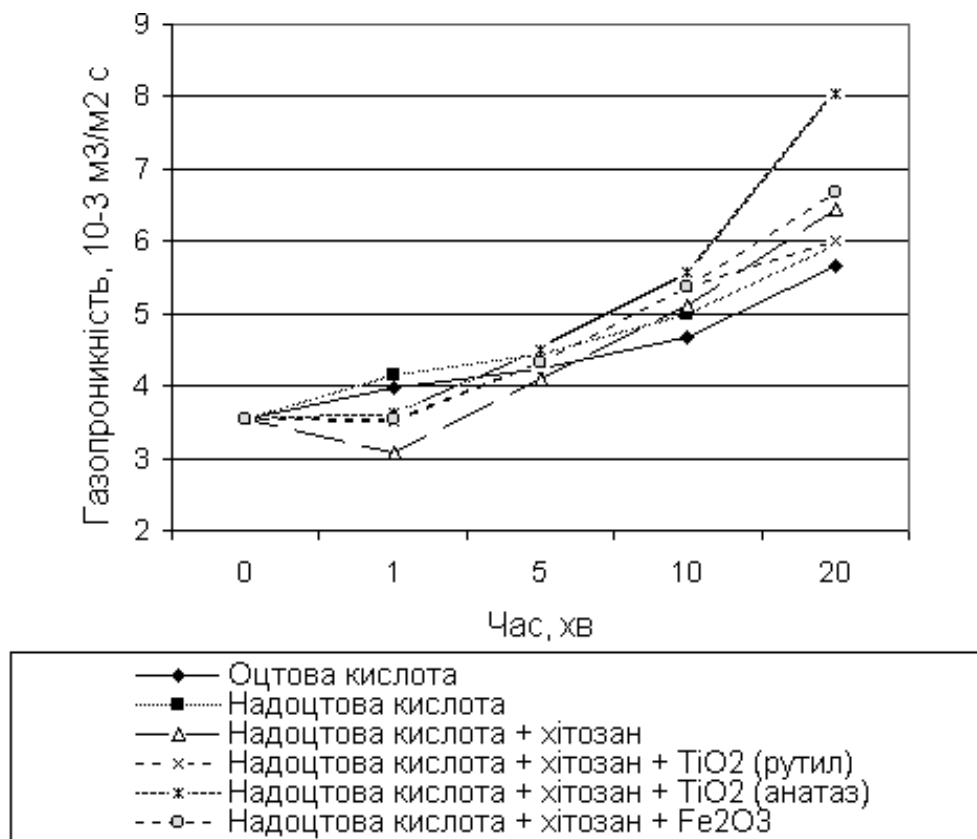


Рис. 3.42. Динаміка змін величини газопроникності шкаралупи яєць курей під впливом передінкубаційної обробки оцтовою і надоцтовою кислотами в присутності інших хімічних складових «штучної кутикули»

Порівнюючи зміни в динаміці показника газопроникності інкубаційних яєць, індуковані впливом потужних біоцидних сполук з групи органічних пероксидів – надоцтової кислоти в поєднанні з хітозаном і оксидами металів (титану і заліза) можна зазначити, що найбільш активним в аспекті підвищення показника газопроникності є варіант «штучної кутикули», до складу якої входить надоцтова кислота, хітозан і діоксид титану в анатазній кристалічній формі (див. рис. 3.42).

Таким чином, встановлено:

1. Обробка інкубаційних яєць курей робочими розчинами, які використовуються в технології передінкубаційної обробки яєць «штучна кутикула» (надоцтова кислота : кислоторозчинний хітозан: оксиди металів (титан, залізо)), призводить до значного підвищення показника газопроникності шкаралупи (68-128% від контролю, $p < 0,01$).

2. Найбільша активність за показником газопроникності біокерамічного захисного шару шкаралупи притаманна «штучній кутикулі», до складу якої входять: надоцтова кислота, хітозан і діоксид титану в анатазній кристалічній формі (у порівнянні з контролем газопроникність підвищується на 108-128%, $p < 0,01$).

3. Найбільшу стійкість біокерамічного шару шкаралупи до складових «штучної кутикули» мають інкубаційні яйця курей породи Полтавська глиняста; показник газопроникності для яєць курей порід Бірківська барвіста і Род-айленд червоний варіює і залежить від виду «штучної кутикули».

3.3.7. Дослідження дифузійних процесів у біокерамічному захисному шарі шкаралупи яєць курей за використання технології «штучної кутикули»

У даному розділі роботи розглянуті особливості дифузійних процесів компонентів захисного покриття для інкубаційних яєць курей в модельних умовах і в ході інкубації.

Показано, що хітозан як базовий елемент технології «штучної кутикули», характеризується підвищеними адсорбтивними властивостями по відношенню до металів і їх сполук (наночасток оксидів титану та заліза). Це дозволяє зберігати високий рівень біоцидної активності «штучної кутикули» по відношенню до патогенної мікрофлори та попереджати небажане надходження окремих компонентів кутикули в середину яйця в зону розвитку ембріона за допомогою природної і посиленої дифузії.

У сучасних технологіях промислової інкубації досить широко застосовуються підходи, пов'язані з транспортом біологічно активних речовин через шкаралупу інкубаційних яєць за допомогою тих чи інших фізико-хімічних факторів [12, 13, 118, 145, 156, 179, 226, 134, 483].

На думку авторів таких робіт надходження зазначених речовин у процесі передінкубаційної обробки в зону розвитку ембріона сприяє підвищенню показників виводимості і якості молодняку.

У той же час, величезна кількість шкаралупи, яка є відходом птахівничої галузі (як промислової інкубації, так і харчової промисловості) зумовила підвищену увагу матеріалознавців до кальциту як дешевої сировини для виробництва всіляких адсорбентів, композитних матеріалів і каталізаторів, що застосовуються в хімічній промисловості.

Оскільки головним параметром, за яким оцінюються адсорбенти, є їх здатність утримувати на поверхні речовини тієї чи іншої хімічної природи і в різних фазових станах (рідко-, газо- і твердофазні) за допомогою не ковалентних зв'язків (електростатичні, водневі, ван-дер-ваальсові) протягом певних проміжків часу і значних температур, набуває деяку дискусійність питання про те, чи здатні речовини, що застосовуються для передінкубаційної обробки (як правило в рідкофазному стані), перетинати біокерамічні захисні структури шкаралупи яєць птиці і надходити в зону розвитку ембріонів, а якщо так, то в яких кількостях.

Останнє набуває особливої значущості в силу використання у розробленій автором технології «штучна кутикула» біологічно активних

речовин, здатних дифундувати в кальцитних (CaCO_3) складових складних композитних структур шкаралупи яєць курей.

Виходячи з наведеного, метою даної частини роботи було вивчення дифузійних процесів (природної дифузії і дифузії, посиленої ультразвуком) в аспекті перенесення з розчину наночастинок оксидів титану і заліза, а також мікроелементів марганцю і цинку через біокерамічний захисний шар шкаралупи яєць птиці до зони розвитку ембріонів.

У роботі використовували інкубаційні яйця курей Хайсекс браун (22 тиждень яйцекладки) по 40 шт в контрольній і дослідних групах.

Складові «штучної кутикули»: кислоторозчинний хітозан (рН 1% розчину в 1% оцтової кислоти 3,0, сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг / г, ВО «Біопрогрес», Щелково, РФ), діоксид титану TiO_2 в анатазній кристалічній формі, ультра-і нанодисперсних (НДІ «МІНДІП», Суми), оксид заліза Fe_2O_3 (жовтий залізоокисний пігмент, ультрадисперсний, ОАТ «Сумихімпром»), сульфат міді CuSO_4 , х.ч, диметилсульфоксид (ДМСО), х.ч.

Джерело ультразвукового опромінення – УЗ-мийка, об'єм 2 л., 22 кГц (Чехія).

Склад композиції для формування на поверхні інкубаційних яєць курей «штучної кутикули» за допомогою дрібнодисперсного розпилення рідкофазного робочого розчину препарату (діаметр крапель до 5 мкм) наступний:

- хітозан – 3,4 мас. %, діоксид титану (TiO_2) в анатазній кристалічній формі (діаметр частинок 2,0-0,2 мкм) – 3,8 мас. %,
- жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) Fe_2O_3 – 2,5 мас. %,
- сульфат міді (CuSO_4) – 1,25 мас. %,
- мікроелементи (марганець, цинк) – 0,1 мас. % (де вказано),
- вода до 100 мас. %.

Схема проведення експериментів з дослідження дифузійних процесів у біокерамічному захисному шарі шкаралупи яєць птиці подана у табл. 3.11.

Таблиця 3.11

Схема проведення експерименту з дослідження дифузійних процесів у біокерамічному захисному шарі шкаралупи яєць курей

Група	Методи обробки (зрошування робочим розчином (О); обробка ультразвуком (УЗ))	Додаткові компоненти	Час висушування – формування «штучної кутикули», хв	Час обробки УЗ
Контроль	Без обробки	–	–	–
Контроль 1	О	–	5	–
Дослід:				
1	О	ДМСО	50	–
2	УЗ	–	5	10 с
3	УЗ	–	5	60 с
4	УЗ	–	5	5 хв
5	О	Mn	5	–
6	О	Zn	5	–

Як видно з рис 3.43, шкаралупа контрольних інкубаційних яєць (не підданих обробці обприскуванням робочим розчином для отримання «штучної кутикули») відрізняється високою щільністю, впорядкованою структурою кристалів кальциту і практично неушкодженим мамілярним шаром, що характерно для таких яєць, які мають високі якісні характеристики.

Що стосується елементного складу, то локальне визначення останніх показало, що по всьому поперечному відколу в рентгенівському спектрі переважають інтенсивні лінії, що належать кальцію (див. вкладку внизу до рис. 3.43). Зліва від ліній кальцію розташовуються малоінтенсивні лінії магнію, фосфору, сірки, вуглецю і кисню.

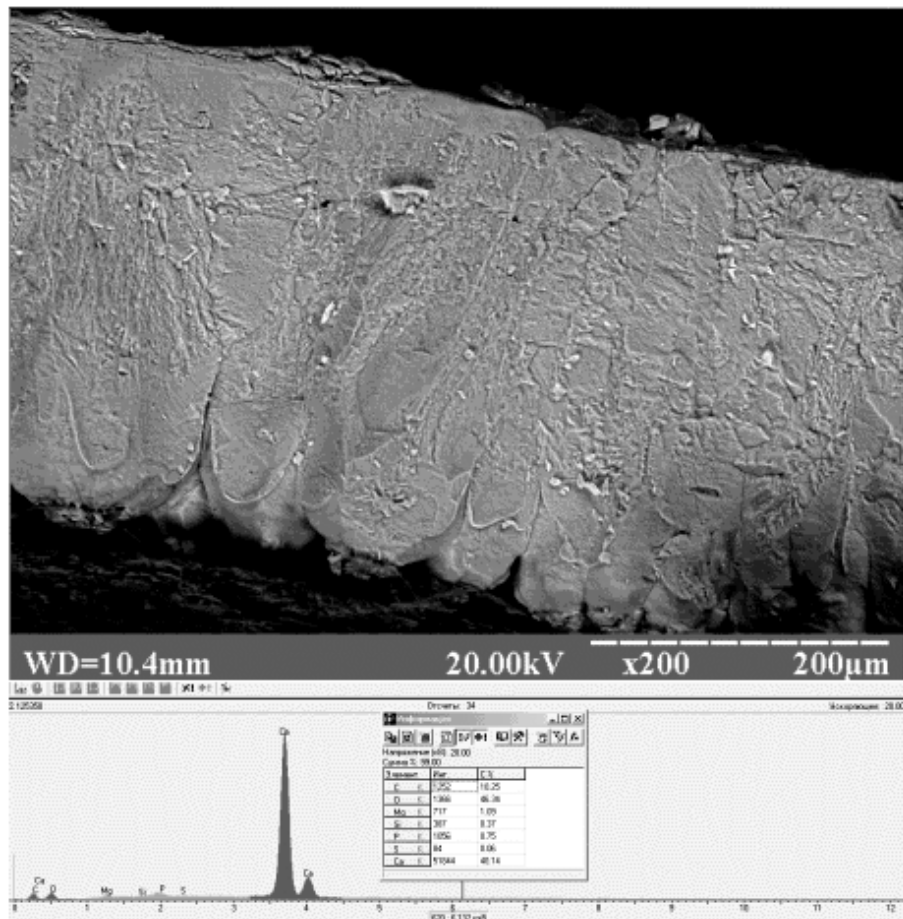


Рис. 3.43. Електронномікроскопічне зображення та мікроелементний аналіз відколу шкаралупи контрольного яйця (без передінкубаційної обробки)

Контроль 1 (див. табл. 3.11) (інкубаційні яйця, піддані обприскуванню робочим розчином для отримання «штучної кутикули» з наступним п'ятихвилинним висиханням) практично не відрізняється від необроблених ні за морфологічним, ні за елементним складом біокерамічного шару шкаралупи.

Те ж саме можна сказати стосовно яєць з групи 2 – внесення до складу робочого розчину діметилсульфоксиду (ДМСО), речовини, відомої як потужний підсилювач трансмембранного переносу речовин різної хімічної природи, не зробило достовірного впливу на морфологічні характеристики шкаралупи і її елементний склад поперечника відколу – від поверхні до мамілярного шару.

Це свідчить на користь того, що досить в'язкий, з високим позитивним зарядом хітозан (основа «штучної кутикули») володіє також високими

адсорбтивними властивостями, що не дозволяє відбуватися перенесенню в середину яйця інших хімічних складових «штучної кутикули» в скільки-небудь значних кількостях за механізмом пасивного дифузійного транспорту, а також транспорту, індукованого переносниками типу ДМСО.

Вплив ультразвуку на шкаралупу інкубаційних яєць, які занурювали на заданий проміжок часу в робочий розчин, що знаходиться в ємності ультразвукової мийки, наведений на рис. 3.44.

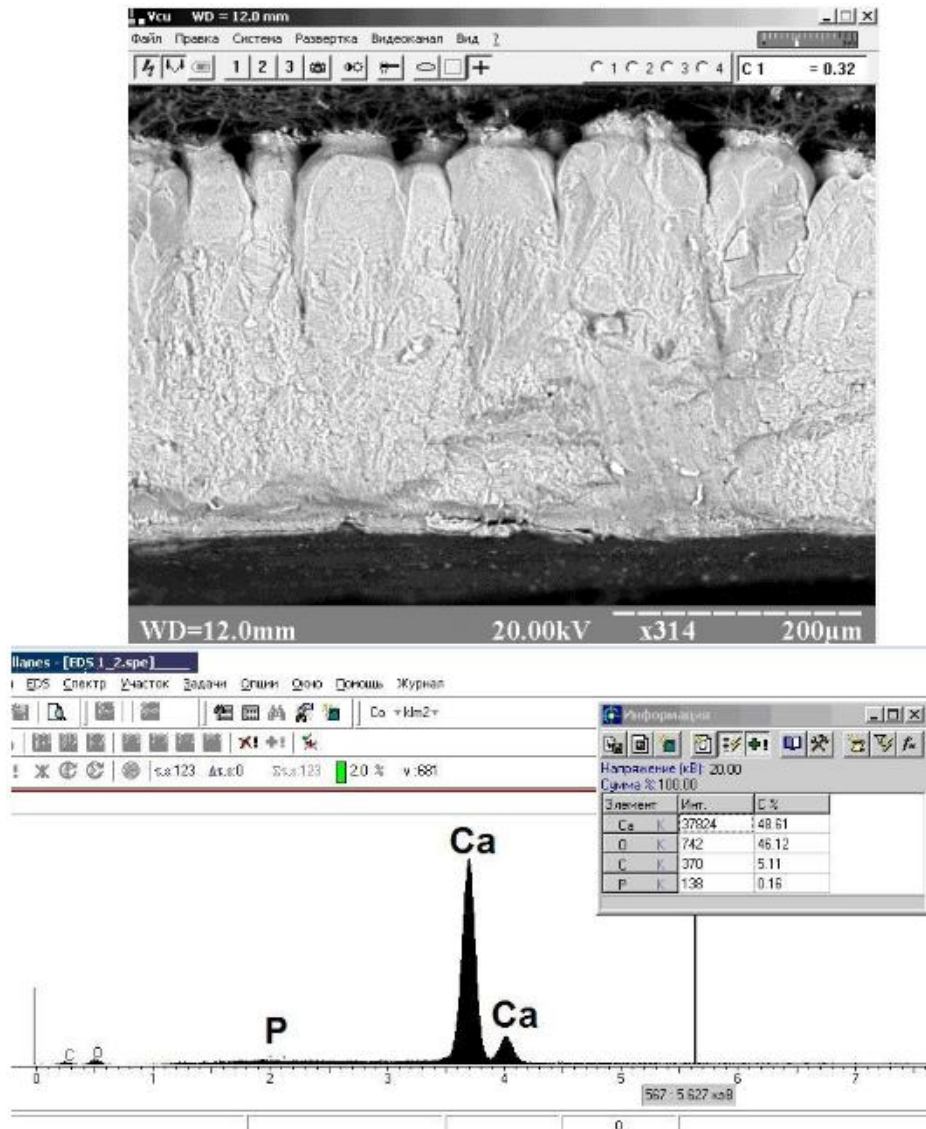


Рис. 3.44. Електронномікроскопічне зображення та мікроелементний аналіз сколу шкаралупи яйця, яке було піддане дії ультразвуку в робочому розчині для отримання «штучної кутикули» протягом 5 хвилин (Група 4)

Як видно з рис. 3.44, морфологія біокристалічних шарів кальциту зазнає деяких змін – вони стають більш пухкими, невпорядкованими, причому

найбільші зміни спостерігаються на внутрішній стороні яйця – у мамілярному шарі. В той же час, хітозановий шар «штучної кутикули» і в таких, досить жорстких умовах, зберігає цілісність та виражені адсорбтивні властивості, оскільки елементний аналіз поверхні відколу шкаралупи показав відсутність будь-яких домішкових елементів – як і в контролі (див. рис. 3.43).

На рис. 3.45 представлені мікрофотографія і мікроелементний аналіз шкаралупи яйця куриці, обробленого методом обприскування робочим розчином «штучної кутикули».

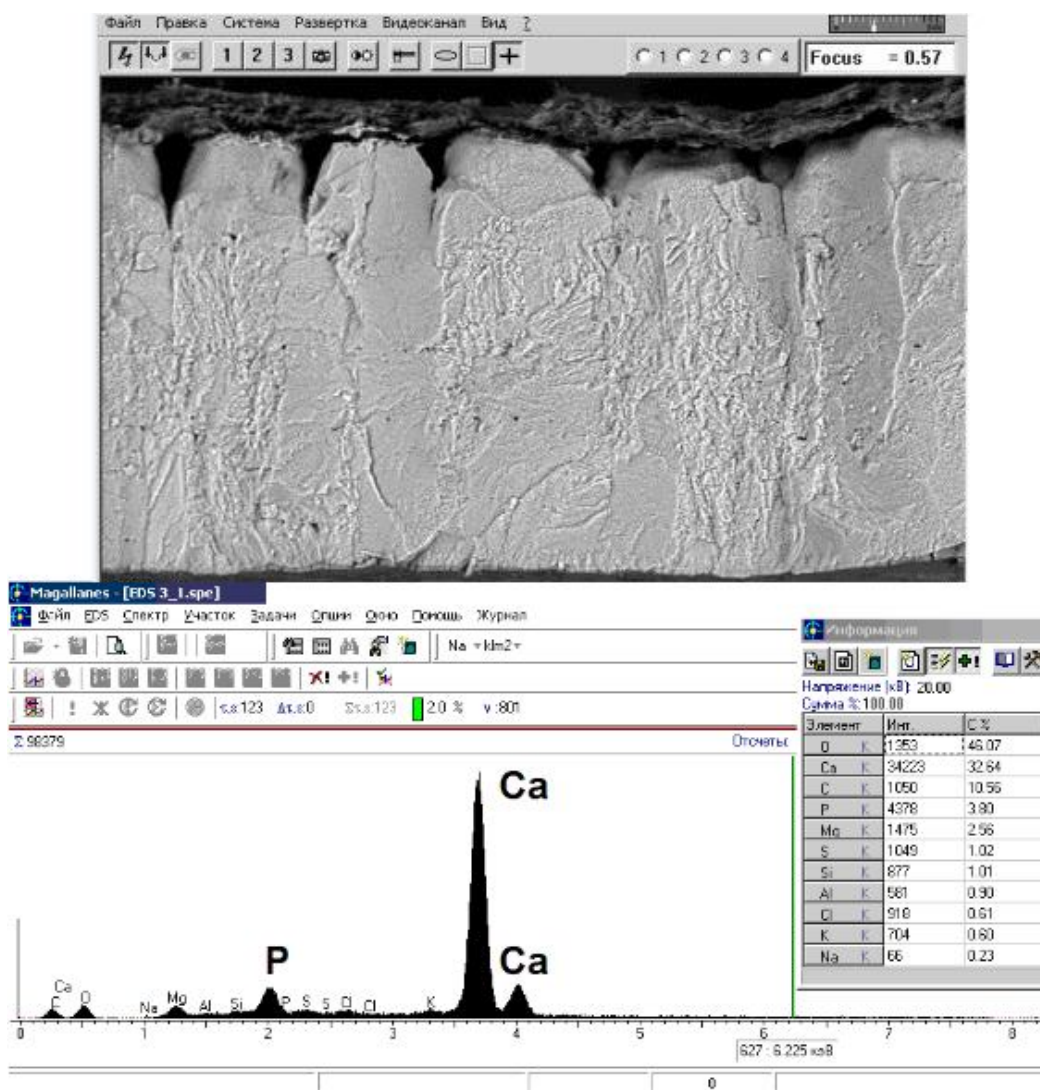


Рис. 3.45. Електронномікроскопічне зображення та мікроелементний аналіз сколу шкаралупи яйця (після вилуплення курча), обробленого перед інкубацією методом обприскування розчином для отримання «штучної кутикули», доповненої марганцем ($MnCl_2$) 0,1 мас. % (група 5)

Введення до складу робочого розчину для отримання на поверхні інкубаційного яйця «штучної кутикули» в якості «маркерного» елемента, який визначається з високою чутливістю рентгенівським методом, сполуки марганцю ($MnCl_2$), достовірно показало ($p < 0,05$), що хітозановий «матричний» шар кутикули має здатність зберігати адсорбтивні властивості по відношенню до іонів металів і їх сполук протягом усього періоду інкубації, в той час як морфологічні параметри біокристалічного шару шкаралупи зазнають певних змін.

В даній групі зазначено розпушення кальциту в районі мамілярного шару внутрішньої поверхні шкаралупи інкубаційного яйця, з якого ембріон отримує кальцій для формування своєї кісткової тканини.

Таким чином, в ході вивчення дифузійних процесів (природної дифузії і дифузії, посиленої ультразвуком) встановлено, що хітозан як базовий компонент газопроникного захисного шару на поверхні інкубаційного яйця має підвищені адсорбтивні властивості по відношенню до металів і їх сполук (наночасток оксидів титану та заліза).

Така особливість хітозану дозволяє конструювати складні композитні системи на основі металів та їх оксидів для забезпечення:

- 1) підвищеної біоцидної активності «штучної кутикули» по відношенню до патогенної мікрофлори;
- 2) гарантії відсутності трансшкаралупного перенесення зазначених компонентів за допомогою природної і посиленої дифузії кутикули в середину яйця в зону розвитку ембріона з можливим подальшим негативним впливом на нього.

3.3.8. Біоцидна активність «штучної кутикули»

На сьогодні є цілком обґрунтованим висновок про комплексність багатокомпонентної системи захисту ембріону курей, причому

біокристалічному захисному бар'єрові яйця – шкаралупі належить в цьому захисті особливе місце.

Поєднання бар'єрних якостей біокристалічного шару кальциту, сформованого на білково-пептидній «матриці» протягом перебування яйця у яйцеводі птаха з відповідними бар'єрними властивостями над- і підшкаралупних мембран, призводить до утворення досить надійної системи захисту яйця від патогенної мікрофлори. Проте, рівень структурованості і, відповідно, газопроникності біокристалічних шарів яйця досить сильно варіюють, що, в свою чергу, чинить негативний вплив на метаболізм ембріонів.

Оскільки першою ланкою регулювання показників газопроникності (вологопроникності) і захисту яйця від зазначеної мікрофлори є поверхнева глікопротеїнова плівка-кутикула, то саме її вади (у крайньому випадку повна відсутність) сприяють контамінації інкубаційного яйця з усіма небажаними наслідками, у першу чергу значним зниженням виводимості.

Окрім того, багатьом інкубаційним яйцям у великих вибірках притаманне підвищення часток яєць зі значно зниженими, або навпаки підвищеними показниками газопроникності шкаралупи (в залежності від кросу або породи; дотримання санітарно-гігієнічних умов утримання і годівлі тощо), що негативно відбивається на обміні речовин ембріона в період інкубації і призводить до виводу слабкого або до завмирання чи патології молодняку.

Виходячи з цього, можна зробити припущення про те, що однією з базових складових «штучної кутикули» повинна бути речовина якій притаманні одночасно і біоцидна активність щодо патогенної та умовно патогенної мікрофлори і здатність розрихлювати у малих концентраціях чи великому розведенні біокристалічний кальцитний шар шкаралупи.

У нашій роботі за таку речовину правила надоцтова кислота – безколірна рідина, що характеризується, як типовий представник групи органічних пероксосполук, здатністю ефективно окислювати органічні речовини, зокрема біомолекули з яких складаються поверхневі структури бактерій, вірусів, мікоплазм тощо, з наступною їх руйнацією і загибеллю.

Протибактеріальну дію препаратів «штучна кутикула» вивчали за допомогою тест-об'єктів, якими слугували інкубаційні яйця курей, відібрані від несучок порід Род-айленд червоний, Полтавська глиняста, Бірківська барвиста, Домінант бурий Д-102, Хайсекс браун, Ломанн браун, Леггорн білий.

Вісім експериментальних груп яєць (по 100 шт. в кожній) перед закладкою на інкубацію піддавали дії таких розчинів: II – 2% надоцтової кислоти (НОК); III – хітозану сукцинату; IV – хітозану водорозчинного; V – хітозану кислоторозчинного з НОК; VI – хітозану кислоторозчинного з НОК і жовтим залізоокисним пігментом Fe_2O_3 ВАТ «Суміхімпром»; VII – хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO_2 (рутильна кристалічна форма); VIII – хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO_2 (анатазна кристалічна форма).

Контрольну партію яєць (I) обробляли формальдегідом

Інкубацію яєць проводили в одному інкубаторі «Універсал-55» одночасно за стандартним температурно-вологісним режимом [87]. Інкубатор дезінфікували згідно з ДСТУ 4655:2006 методом сублімації формальдегідом з розрахунку: на 1 м^3 камери брали 35 мл формаліну 40%-вого і додавали 17,5 мг води, розчин ставили в камеру і висипали в нього 25 г марганцевокислого калію. Експозиція 30-40 хвилин. Після дезінфекції їдкі пари формальдегіду знешкоджували розбризкуванням по камері нашатирного спирту.

У дослідах використовували: хітозан харчовий (водорозчинний) рН 1% водного розчину 4,65, хітозан харчовий (кислоторозчинний) рН 1% водного розчину у 2% надоцтовій кислоті та хітозан водорозчинний (сукцинат) рН 1% водного розчину 7,60 виробництва ЗАТ «Біопрогрес», РФ.

Змиви зі шкаралупи яєць відбирали до обробки препаратами, через дві години після обробки, на п'яту, одинадцяту та дев'ятнадцяту добу інкубації. Досліджували протимікробну дію препаратів щодо санітарно-показової мікрофлори. Дослідження проводили згідно ДСТУ 4769:2007.

Із наведеної таблиці 3.12 результатів оцінки біоцидної активності «штучної кутикули» видно, що найменшу кількість мікрофлори на поверхні інкубаційних яєць виявлено за умов використання «штучної кутикули», яка

Таблиця 3.12

Мікробна контамінація інкубаційних яєць курей протягом інкубації, КУО, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Проведення експерименту	I (контроль)	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Род-айленд червоний								
До обробки	356,42±8,121							
2 години	2,73±0,023	2,43±0,036	2,57±0,096	1,87±0,010*	1,50±0,012*	1,41±0,021*	1,49±0,020*	1,07±0,021*
5 діб	6,89±1,162	5,81±0,012	3,26±0,020*	2,89±0,034*	2,54±0,021*	2,13±0,027*	1,63±0,012*	1,29±0,019*
11 діб	11,01±1,024	9,72±0,021	5,27±0,041*	4,83±0,112*	3,17±0,055*	2,76±0,010*	2,23±0,031*	1,79±0,002*
19 діб	13,35±2,859	12,46±0,133	7,88±0,021*	7,47±0,150*	4,17±0,103*	3,58±0,121*	2,92±0,052*	2,26±0,070*
Потавська глиняста								
До обробки	325,29±12,039							
2 години	2,62±0,012	2,18±0,062	1,76±0,027	1,72±0,024*	1,41±0,011*	1,45±0,020*	1,36±0,010*	1,01±0,014*
5 діб	11,57±0,054	7,96±1,190	3,30±0,010*	2,76±0,011*	2,48±0,016*	2,04±0,024*	1,72±0,011*	1,29±0,011*
11 діб	28,72±3,173	17,13±3,021	5,35±0,083*	4,74±0,102*	3,37±0,181*	2,65±0,073*	2,15±0,031*	1,76±0,050*
19 діб	40,27±3,261	29,92±2,105*	8,32±1,111*	7,17±1,134*	4,23±0,193*	3,52±0,031*	2,94±0,010*	2,35±0,083*
Бірківська барвиста								
До обробки	118,81±4,947							
2 години	2,73±0,012	2,44±0,062	2,04±0,013	1,87±0,027	1,54±0,015	1,40±0,037	1,43±0,083	1,15±0,030*
5 діб	12,90±1,110	9,82±1,173	3,52±0,013*	3,12±0,060*	2,58±0,122*	2,19±0,031*	1,79±0,014*	1,47±0,011*
11 діб	36,91±2,296	29,88±2,030	5,63±0,031*	5,02±0,023*	3,34±0,091*	2,83±0,040*	2,37±0,170*	2,04±0,108*
19 діб	108,10±5,141	65,63±3,414*	8,61±0,120*	8,29±1,101*	4,38±0,144*	3,77±0,061*	3,01±0,021*	2,55±0,002*
Домінант бурий Д-102								
До обробки	340,83±4,178							
2 години	3,15±0,027	2,15±0,022	2,03±0,104	1,64±0,011*	1,27±0,014*	1,37±0,022*	1,34±0,011*	1,10±0,016*

Продовж. табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9
5 діб	9,18±1,160	6,81±0,011	3,76±0,031*	2,19±0,020*	2,60±0,010*	2,26±0,021*	1,80±0,011*	1,27±0,022*
11 діб	32,71±1,043	9,12±0,012	6,18±0,026*	4,46±0,111*	3,22±0,033*	2,08±0,022*	2,08±0,020*	1,83±0,020*
19 діб	102,23±5,504	15,42±0,033	8,52±0,020*	8,28±0,161*	3,95±0,114*	3,31±0,137*	3,01±0,062*	2,31±0,080*
Хайсекс браун								
До обробки	124,44±8,028							
2 години	2,72±0,021	2,35±0,047	1,27±0,017	1,65±0,011*	1,20±0,010*	1,23±0,019*	1,21±0,007*	1,03±0,021*
5 діб	10,13±0,066	6,73±2,143	3,28±0,021*	2,36±0,020*	2,37±0,011*	2,06±0,018*	1,68±0,009*	1,43±0,013*
11 діб	40,02±1,560	8,13±2,054	5,15±0,023*	4,85±0,101*	3,41±0,163*	2,70±0,060*	2,11±0,021*	1,83±0,033*
19 діб	59,16±2,801	26,18±2,110*	8,36±1,100*	7,50±1,110*	4,17±0,170*	3,62±0,040*	2,89±0,020*	2,28±0,060*
Ломанн браун								
До обробки	137,61±7,145							
2 години	3,04±0,009	3,50±0,033	2,32±0,010	1,17±0,019	1,62±0,013	1,38±0,024	1,40±0,040	1,12±0,021*
5 діб	13,80±0,123	7,32±1,242	3,14±0,013*	3,52±0,048*	2,37±0,060*	2,20±0,038*	1,62±0,011*	1,41±0,011*
11 діб	38,06±1,181	19,18±2,250	5,36±0,021*	5,31±0,010*	3,22±0,101*	2,68±0,029*	2,18±0,148*	2,13±0,104*
19 діб	108,52±6,040	67,21±3,351*	9,02±0,111*	8,24±1,110*	4,76±0,121*	3,74±0,071*	3,05±0,020*	2,62±0,003*
Леггорн білий								
До обробки	252,42±9,527							
2 години	2,53±0,057	2,36±0,008	2,84±0,102	1,10±0,011*	1,18±0,012*	1,36±0,019*	1,32±0,010*	1,06±0,001*
5 діб	8,13±0,619	4,05±0,010	3,12±0,011*	2,68±0,011*	2,74±0,010*	2,06±0,009*	1,56±0,011*	1,32±0,019*
11 діб	17,50±2,178	10,18±0,019	6,13±0,019*	4,70±0,100*	3,27±0,033*	2,50±0,017*	2,26±0,020*	1,82±0,021*
19 діб	84,40±4,420	27,02±0,102	8,50±0,027*	8,51±0,143*	4,26±0,091*	3,47±0,110*	2,79±0,053*	2,08±0,082*

Примітка. * – $p < 0,05$

містить хітозан кислоторозчинний, НОК і TiO_2 (анатазна кристалічна форма) (варіант VIII), дещо менш потужна біоцидна дія притаманна хітозану кислоторозчинному з НОК і TiO_2 (рутильна кристалічна форма) (варіант VII) та хітозану кислоторозчинному з НОК і жовтим залізоокисним пігментом Fe_2O_3 (варіант VI).

Встановлено, що найбільш потужна біоцидна активність у технології для захисту інкубаційних яєць курей «штучна кутикула» притаманна варіанту, який містить у якості базових складових кислоторозчинний хітозан у поєднанні з надоцтовою кислотою та ультра-, нанорозмірним діоксидом титану в анатазній кристалічній формі. Кількість мікрофлори на поверхні яєць знижується на 98,2-99,5% від вихідного значення.

3.3.9. Дослідження механізму біоцидної активності складових «штучної кутикули» на прикладі гемолітичної деструкції мембран еритроцитів

З метою подальшого удосконалення перспективної технології «штучна кутикула», розробка потребує більш поглиблених знань щодо механізмів взаємодії її складових як з клітинами патогенної мікрофлори, так і з ембріоном.

Кров теплокровних тварин є чутливою модельною тест-системою, яка реагує на внесення в середовище інкубації мікрोकількостей сполук четвертинного амонію (ЧАС) гемолітичною деструкцією мембран еритроцитів. У зв'язку з цим, було визначено характер взаємодії діючих речовин полікатионних дезінфектантів – складових «штучної кутикули» першого покоління (синтетичного аніоніту з групами четвертинного азоту та полігексаметиленгуанідінгідрохлориду) з біологічно – активними домішками як хімічного (іони металів Fe^{2+} , Cu^{2+} ; диметилсульфоксид (ДМСО), олеїнова кислота, додецилсульфат натрію (ДСН), октадециламін), так і природного походження (екстракти з горобини, чистотілу, звіробою, калини; мелітин, каротин, соланін).

Переліченим речовинам притаманні протибактеріальні, противірусні, фунгіцидні властивості, а деяким з них властива також росторегулююча та біостимулююча активності. Додавання їх у різних співвідношеннях до базових матричних компонентів, за котрі правлять діючі речовини дезінфектантів, є перспективним на предмет одержання нових комбінованих препаратів, складові яких взаємодіють один з одним за синергістичним типом.

Результати серії експериментів наведені в таблиці 3.13.

Таблиця 3.13

Вплив біоактивних та біоцидних домішок на динаміку гемолізу еритроцитів свині, індукованого дезінфектантами «ВВ-1» та «Метацидом»

Домішка	Характер впливу домішок на гемоліз еритроцитів, індукований: діючими речовинами дезінфектантів «ВВ-1» (синтетичний полімерний аніоніт) (А) і «Метацидом» (полігексаметиленгуанідінгідрохлорид) (Б)*
1	2
А. Синтетичний полімерний аніоніт	
Екстракти з:	
чистотілу	++
звіробою	++ (при освітленні)
Каротин з моркви	+
Олеїнова кислота	0
ДСН	+++
Мелітин	+++
Fe ²⁺	++ (02)
H ₂ O ₂	++
H ₂ O ₂ + Fe ²⁺	+++
Надоцтова кислота	+++
TiO ₂ (освітлення)	+++

1	2
Октадециламін	0
Б. Полігексаметиленгуанідінгідрохлорид	
Алкілсульфати	+++
Синтетичний аніоніт	-

Примітка. * – Характер впливу на гемоліз еритроцитів: «0» – немає впливу; «-» – інгібування гемолізу; «+» – незначне стимулювання; «++» – помірне стимулювання; «+++» – сильне стимулювання.

Дослідженнями встановлено, що впродовж 1–1,5 хв. речовина з групи ЧАС алкілтриметиламін (АТМ) спричинює гемоліз такої ж інтенсивності, як і потужний мембраноактивний пептид мелітин ($p < 0,001$).

Внесення до суспензії еритроцитів разом з «ВВ-1» додаткових компонентів підсилює гемоліз за синергістичним типом. До таких домішок зокрема належить негативно заряджена поверхнево-активна речовина – додецилсульфат натрію.

Така ж тенденція притаманна «Метациду»: додавання до інкубаційного середовища разом із дезінфектантом негативно заряджених ПАР (алкілсульфатів) підсилює гемоліз. Навпаки, позитивно заряджений синтетичний аніоніт «ВВ-1» є антагоністом «Метациду».

Таким чином, показано підвищення іонофорної та гемолітичної активності полікатионних молекул ПАР – дезінфектантів з ліпофільними негативно зарядженими сполуками, яке корелює з біоцидними властивостями вказаних дезінфектантів.

Експериментально встановлено, що речовинами, найбільш перспективними щодо доповнення базових матричних ПАР дезінфектантів з метою одержання синергістичних біоцидних ефектів є БАР рослинного походження, іони металів, пероксид водню, надоцтова кислота і алкілсульфати в різних співвідношеннях і концентраціях.

3.3.10. Вивчення дії складових «штучної кутикули» на дихання та окислювальне фосфорилування мітохондрій

Зважаючи на те, що параметри дихання та окислювального фосфорилування тканин ембріонів птиці належать до кола показників, які є високочутливими до дії ксенобіотиків, метою даної частини досліджень було виявлення ступеню впливу в порівняльному аспекті поширених препаратів для деконтамінації інкубаційних яєць на метаболізм ембріонів курей. Вивченню підлягали параметри дихання і окислювального фосфорилування в мітохондріях, оскільки останні є інформативними параметрами, що характеризують поточний стан метаболізму окремої клітки, тканини, органа, і цілого організму, у даному випадку ембріона птиці. В роботі використовували інкубаційні яйця курей кросів: Домінант бурий Д-102, Леггорн білий (віком 36-42 тижні). Утримували та годували птицю за стандартними технологіями. Перед закладенням яйця (по 30 шт. в групі) піддавали обробці: формальдегідом, «ВВ-1», «АТМ-Арома», H_2O_2 , «СІD-20», «VIROCID» (CID Line, Belgium), «СІD-20» та «VIROCID» з додаванням надоцтової кислоти (НОК), Virkon-S (Antec International Ltd, Great Britain). Досліди проводили на 15-добових ембріонах. Яйця контрольної та експериментальних груп інкубували згідно стандартній технології інкубації. Середовище виділення: 0,25 М сахароза (0,25 мМ), ЕДТА (1 мМ) і 0,02 М тріс-НСІ буфер, рН 7,4. Мітохондріальні фракції тканин м'язів та печінки осаджували в центрифугі при 14000 g протягом 15 хв. Визначали швидкості поглинання кисню V_2 , V_3 , V_4 , $V_{днф}$ полярографічним методом на приладі LP-60 (ЧССР), за допомогою закритого кисневого електроду Кларка. Субстрати окислення – янтарна кислота (сукцинат (40 мкМ) і оксоглутарова (2-оксоглутарат (20 мкМ). Розраховували коефіцієнти дихального контролю за Ларді-Велман (V_3/V_2) і за Чансом (V_3/V_4), АДФ/О та інтенсивність окислювального фосфорилування.

Одним з питань сучасного птахівництва, важливим як в фундаментальному, так і прикладному аспектах, є питання про рівні токсичності щодо ембріонів птиці діючих речовин дезінфектантів для передінкубаційної обробки яєць. З одного боку, селекція на яйцenesучість призвела до того, що відповідно до її підвищення різко погіршилися бар'єрні функції захисних систем яєць – шкаралупи та під- і надшкаралупних оболонок, а це, в свою чергу обумовлює необхідність обробки інкубаційних яєць дезінфектантами з метою їх деконтамінування. З іншого боку, більшість дезінфектантів містять діючі речовини, яким притаманний різний рівень ембріотоксичної активності. Одними з надійних та інформативних параметрів, які свідчать про стан метаболізму ембріону, є дихання та окислювальне фосфорилування в мітохондріях.

Експериментально встановлено, що всі досліджувані дезінфектанти впливають певним чином на метаболізм ембріонів, що розвиваються (рис. 3.46).

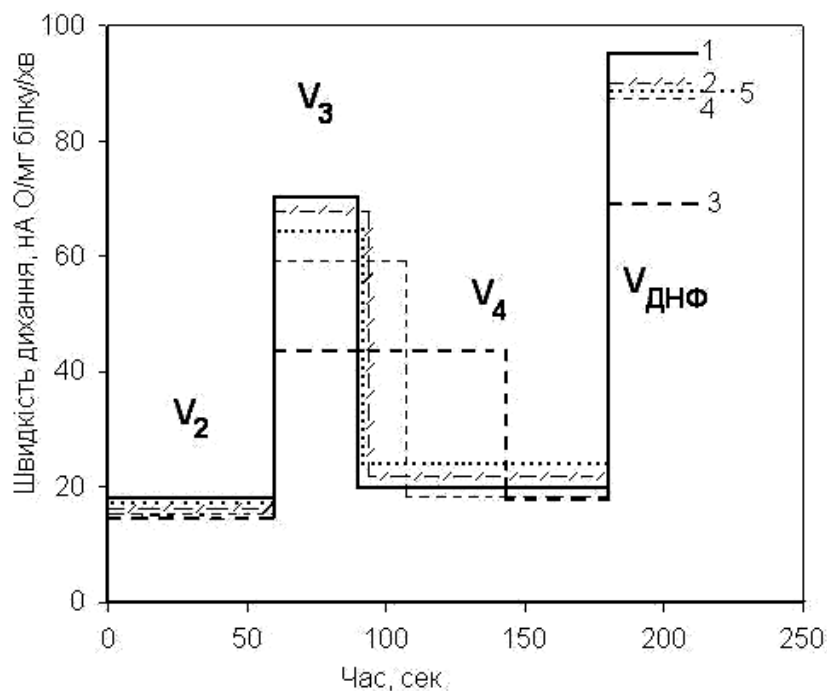


Рис. 3.46. Вплив діючих речовин дезінфектантів на дихання мітохондрій тканин м'язів курячих ембріонів (Леггорн білий, 15 дів інкубації)

Примітка. 1 – контроль (без обробки); 2 – формальдегід; 3 – «BB-1» та «АТМ-Арома»; 4 – «CID-20»; 5 – «Virkon-S»; субстрат – сукцинат

Незважаючи на те, що обробка проводилася 15 діб тому, діючі речовини препаратів призвели до порушень енергетичного обміну. Так, алкілтриметиламін-хлорид (АТМ), як базова діюча речовина відносно малотоксичних препаратів «АТМ-Арома» та «ВВ-1», спричинює найсильніше порушення як дихання, так і окислювального фосфорилування в тканинах ембріонів. Навпаки, токсичний формальдегід, за нашими даними не викликає вірогідних ($p < 0,05$) порушень як швидкості поглинання кисню мітохондріями в усіх станах V_2 , V_3 , V_4 та $V_{\text{ДНФ}}$, так і швидкості фосфорилування АДФ Дихальний контроль (ДК) за Ларді-Велман та за Чансом також в найбільшому ступені знижується під впливом АТМ (табл.3.14).

АТМ також здійснює негативний вплив на АТФ-азу інтактних мітохондрій та інгібує АТФ-азу мітохондрій, яка стимулюється ДНФ (рис. 3.47).

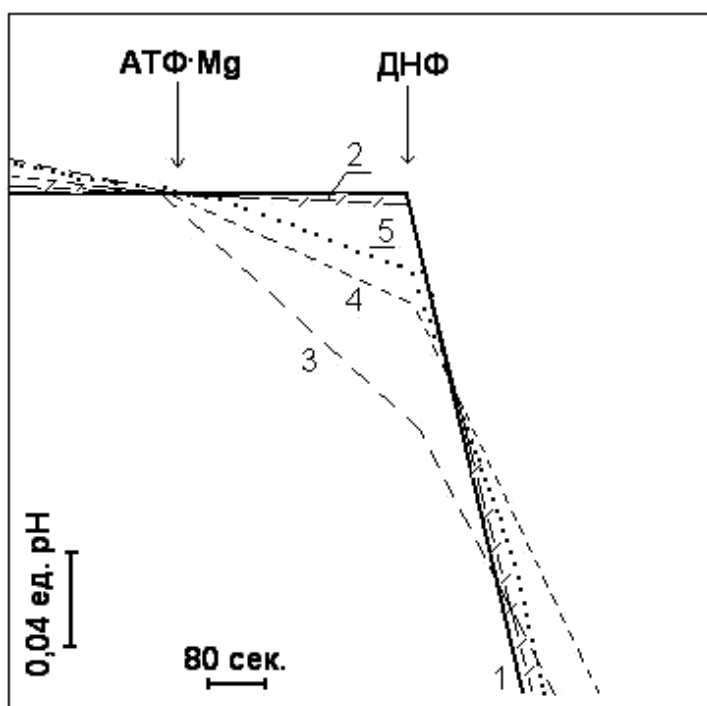


Рис. 3.47. Вплив діючих речовин дезінфектантів на АТФ-азу активність мітохондрій тканин м'язів курячих ембріонів (Домінант бурий Д-102, 15 діб інкубації)

Примітка. 1 – контроль (без обробки); 2 – формальдегід; 3 – «ВВ-1» та «АТМ-Арома»; 4 – «CID-20»; 5 – «Virkon-S»

Таблиця 3.14.

**Вплив діючих речовин дезінфектантів на дихання мітохондрій тканин м'язів ембріонів курей
(Домінант бурий Д-102, 15 діб інкубації), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Дезінфектант	Швидкість окислення, натом О/хв/ мг білка				ДК за Ларді- Велман V_3/V_2	ДК за Чансом V_3/V_4	Швидкість фосфорилю- вання АДФ, нмоль АДФ / сек./мг білка
	V_2	V_3	V_4	$V_{\text{ДФ}}$			
1	2	3	4	5	6	7	8
Сукцинат							
Контроль (без обробки)	19,15±2,132	70,04±8,021	20,27±6,048	95,20±6,610	3,90±0,269	3,45±2,079	13,25±2,466
Формальдегід	17,11±1,831	68,02±6,730	21,04±2,202	91,24±6,892	4,01±1,110	3,23±0,148	12,95±3,052
ББ-1	16,72±2,49,1*	42,36±4,513*	38,74±4,130*	69,05±5,053*	2,65±0,781*	1,10±0,230*	7,46±2,101*
АТМ-Арома	16,75±4,023*	45,38±3,911*	37,83±3,081*	75,12±5,116*	2,71±0,130*	1,21±0,071*	8,27±1,109*
H ₂ O ₂	17,02±2,651	58,34±3,042*	36,03±3,164*	87,33±5,212	3,43±1,103	1,61±0,955*	12,98±2,470
Virkon-S	19,00±1,085	65,13±3,426	23,17±3,073	90,11±7,090	3,42±1,180	2,82±0,233	13,01±2,581
CID-20	17,04±2,332	60,46±6,703*	18,35±3,110	88,27±5,372	3,52±0,985	3,35±1,014	11,23±0,912
CID-20+НОК	18,01±1,073	66,79±7,071	19,45±2,721	90,39±7,986	3,70±1,141	3,52±1,060	12,45±3,22

Продовж. табл. 3.14

1	2	3	4	5	6	7	8
VIROCID	16,34±2,091*	50,36±4,050*	35,24±3,172*	87,25±5,371	3,12±0,951	1,42±0,462*	9,28±1,763*
2-оксоглутарат							
Контроль (без обробки)	12,42±3,050	32,49±2,965	17,19±5,275	49,00±8,733	2,66±0,120	1,88±0,071	8,74±1,250
Формальдегід	10,06±2,092	30,47±2,653	17,89±3,089	48,36±4,130	3,06±0,963	1,70±0,241	7,92±1,114
ББ-1	9,73±1,781*	14,04±2,096*	12,36±2,371*	26,08±2,411*	1,55±0,831*	1,13±0,300*	4,15±1,300*
АТМ-Арома	9,26±1,325*	16,71±4,008*	15,03±3,844	28,33±3,237*	1,83±0,124*	1,11±0,982*	4,90±1,161*
H ₂ O ₂	10,11±2,401	25,92±3,210*	21,08±2,193	36,04±3,154*	2,67±0,972	1,23±0,110*	7,53±2,036
Virkon-S	12,00±2,365	28,34±2,891	18,32±3,230	46,24±4,032	2,35±0,141	1,54±0,031	8,76±1,223
CID-20	10,65±3,034	25,08±3,834	19,64±2,128	43,23±1,193	2,51±0,740	1,27±0,061*	7,95±0,981
CID-20+НОК	11,54±2,320	31,11±2,155	18,27±3,225	48,25±3,880	2,81±0,355	1,70±0,020	8,42±1,380
VIROCID	9,20±1,273*	22,66±1,823*	16,15±2,161	37,41±3,327*	2,45±0,171	1,49±0,110*	6,84±1,050*

Примітка. * – $p < 0,05$

Одним з можливих пояснень невідповідності прояву ембріотоксичного ефекту спричиненого відносно мало- та сильнотоксичною речовиною полягає в тому, що вплив формальдегіду обмежений в часі, тоді як препарати пролонгованої дії обумовлюють поступове надходження інгредієнтів через шкаралупу та оболонки в середину яйця, а це не виключає явища акумуляції зазначених інгредієнтів в зоні розвитку ембріонів і порушення, внаслідок цього, метаболізму ембріону.

На користь останнього свідчить те, що препарат «Virkon-S», до складу якого, на відміну від «АТМ» та «ВВ-1», входять пероксидні сполуки і невелика кількість поверхнево-активних речовин, не спричинює вірогідних порушень метаболізму ембріону. Взагалі, дезінфектанти для інкубаційних яєць, основною діючою речовиною яких є ЧАС, повинні містити додаткові інгредієнти, зокрема пероксиди.

3.3.11. Вплив пероксидних біоцидних сполук на молекулярні мішені живої клітини

В сучасній молекулярній фармакології широко використовуються методи визначення молекулярних «мішеней» біологічно активних речовин, якими передбачається інкубування в рідкому середовищі конкретних сполук з біомолекулами – потенційними «мішенями». Використовуючи метод фізико-хімічного аналізу, а саме м'якоіонізаційну мас-спектрометрію (ПДМС), було встановлено напрямки та кінетичні параметри процесів зв'язування молекул-«мішеней» з біологічно активними речовинами, або деструкцію зазначених біомолекул.

Дослідженнями визначено молекулярні «мішені» дезінфектантів «Virkon» і «Virkon-S». Головними їх компонентами є пероксидні сполуки, котрі генерують надактивні вільні радикали до складу яких входить кисень. Вільні радикали піддають швидкій деструкції органічні сполуки, зокрема нуклеїнові кислоти, розриваючи в останньому випадку ланцюги нуклеотидів. Розриви

ланцюгів нуклеїнових кислот, як правило, безпосередньо пов'язані з фосфатними залишками нуклеотидів.

Для проведення експериментальних досліджень було сконструйовано найпростішу модельну систему, до складу якої входили дезінфектант та гуанозин-5-фосфат (*GMP*) в рідкій фазі (рН 6,5-7,5; $t=30^{\circ}\text{C}$). Відразу після змішування компонентів модельного середовища відбирали зразок для аналізу, що правив за контроль. В мас-спектрі вибирали характерні піки квазімолекулярних іонів (КМІ), притаманних дезінфектанту та *GMP*.

В подальшому відбирали зразки інкубаційного середовища через 10, 20, 30 та 40 хв. Отримані результати визначали в залежності від кількості та інтенсивності піків КМІ в порівнянні з контролем, ступеня деструкції як молекул *GMP*, так і компонентів самого дезінфектанту «*Virkon*».

Так з рис. 3.48 видно, що «*Virkon*» піддає швидкій деструкції *GMP*.

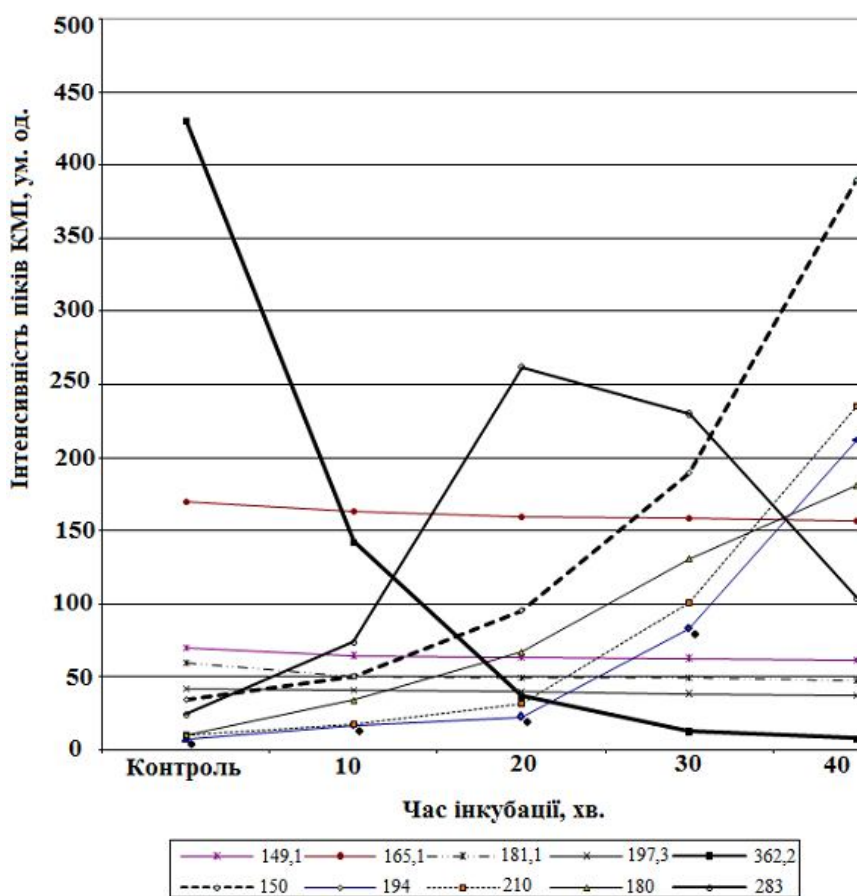


Рис. 3.48. Зміни вмісту компонентів дезінфектанту «*Virkon*» та гуанозин-5-фосфату під час інкубації в модельній системі

Зокрема, протягом 40 хв. різко зменшується інтенсивність піків КМІ нативних молекул нуклеозидфосфату ($[M-H]^-$, мол. маса 362,2 а.о.м.) з одночасним наростанням кількості фрагментів, з котрих складається нативна молекула GMP: нуклеозиду гуанозину (мол. маса 283 а.о.м.), азотистої основи гуаніну (мол. маса 150 а.о.м.) та продуктів деструкції нуклеозиду: ($[Гуанін+30]^-$, мол. маса 180 а.о.м.), ($[Гуанін+44]^+$, мол. маса 194 а.о.м.), ($[Гуанін+60]^+$, мол. маса 210 а.о.м.).

Необхідно зазначити, що кількість гуанозину в зразку, опосередковано подана в умовних одиницях – інтенсивності піків КМІ, зазнає максимального збільшення на двадцятій хвилині інкубації з наступним зниженням. Це свідчить про те, що процес деструкції перебігає досить інтенсивно і не обмежується тільки відщепленням від залишка цукру в нативній молекулі нуклеотидфосфату GMP фосфатної групи – PO_3 . В той же час, піки КМІ компонентів дезінфектанту «*Virkon*» (мол. маса 149,1 165,1 181,1 197,3 а.о.м.) майже не змінили відповідні інтенсивності протягом інкубації.

Аналогічні результати отримані і для дезінфектанту «*Virkon-S*». Отримані результати досліджень свідчать про те, що пероксидним сполукам притаманна потужна деструктивна активність щодо нуклеїнових кислот, зокрема фосфатних груп нуклеотидів. Не виключено, що зниження виводимості курчат та їх збереженості, зареєстровані у непоодиноких випадках обробки препаратами «*Virkon*» і «*Virkon-S*» інкубаційних яєць у господарствах України та Росії [18], обумовлене саме взаємодією дезінфектантів з нуклеїновими кислотами ембріонів птиці. Таким чином доведено, що механізм біоцидної активності препаратів пероксидного ряду, зокрема «*Virkon*» та «*Virkon-S*», заснований на деструкції нуклеїнових кислот – базових інформаційних біомолекул патогенної мікрофлори

Отже встановлено, що механізм біоцидної активності препаратів пероксидного ряду, зокрема «*Virkon*» та «*Virkon-S*», заснований, на деструкції нуклеїнових кислот – базових інформаційних біомолекулах як патогенної мікрофлори ($p < 0,05$), так і тканин ембріону.

3.3.12. Вплив технології «штучна кутикула» на стан обміну речовин та імунний статус молодняку курей

Незважаючи на те, що технологія «штучна кутикула» з успіхом пройшла експериментальну перевірку і набула схвалення як така, що характеризується високою ефективністю щодо патогенів вірусного та бактеріального походження вкупі з повною безпекою щодо об'єктів довілля, деякі аспекти механізмів біоцидної і особливо ембріостимулюючої дії залишаються ще не визначеними. Таким чином, метою даної частини роботи було дослідження напрямків і інтенсивності впливу технології «штучна кутикула» на обмін речовин та імунний статус молодняку курей-несучок Ломанн браун, а саме: 1) показники виводимості, 2) ембріональної життєздатності і 3) природної резистентності.

У досліді використовували інкубаційні яйця по 140 у групі, відібрані від курей несучок порід та кросів Ломанн браун, Бірківська барвіста, Род айленд червоний, Полтавська глиняста. Курей утримували (у відповідності з нормами утримання та годівлі) в дослідних господарствах ТОВ «Буринський інкубатор», ВАТ Птахорадгосп «Мирний» Сумської області. Вік птиці становив від 40 до 45 тижнів. Яйця інкубували в інкубаторі ИУП-Ф-45. Для проведення досліджень формували сім експериментальних груп, а саме: 1) хітозан в оцтовій кислоті;

- 2) надоцтова кислота (НОК);
- 3) хітозан з НОК;
- 4) хітозан+НОК+Fe₂O₃+H₂O₂;
- 5) хітозан+НОК+TiO₂an+Fe₂O₃+CuSO₄;
- 6) хітозан+НОК+TiO₂an+H₂O₂+CuSO₄;
- 7) хітозан+НОК+TiO₂an+Fe₂O₃+H₂O₂+CuSO₄.

Контролем слугував варіант досліді, де використовували класичний метод – обробку паром формальдегіду. На поверхні інкубаційних яєць шляхом зрошування 0,1-3,0% розчином кислото розчинного хітозану у 2% НОК (рН 3,6) утворили захисну газопроникну плівку з вираженими біоцидними властивостями.

До складу розчину композиції «штучна кутикула» окрім хітозану у концентраціях 0,1-3,0% (в залежності від вихідної якості яєць) НОК і води входили діоксид титану у анатазній кристалічній формі (ультра- та нанодисперсний; діаметр часток 2,0-0,2 мкм; 0,01-3,8 масс. %), жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F_2O_3 (ВАТ «Сумихімпром»; 0,1-2,5 масс. %), пероксид водню (H_2O_2), сульфат міді ($CuSO_4$), пом'якшувач води та мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь). Показник кислотності розчину (рН) не перевищував 3,0. Робочі розчини готували як описано у Розділі 2.

Біохімічні показники добових курчат визначали за допомогою класичних методів біохімічних та імунологічних досліджень, а також на клінічному біохімічному аналізаторі *LabLine-0,16* (*LabLine*, Австрія). Результати експериментальних випробувань композиції показали, що технологія «штучної кутикули» сприяє підвищенню показнику виводимості яєць на 10,0-14,5-21,6% відповідно породи чи кросу, представлених у табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Результати інкубації яєць курей після обробки різними дезінфектантами

Методи обробки	Закладено, шт	Незапліднені яйця, %	Брак інкубації	Вивід курчат, %	Виводимість яєць, %
Род-айленд червоний					
Формальдегід (контроль)	1440	10,8	13,7	75,5	84,6
Дослід	1440	11,5	6,1	82,4	93,1
Полтавська глиняста					
Формальдегід	1200	17,2	20,4	62,4	75,4
Дослід	1200	18,9	6,7	74,4	91,7
Бірківська барвиста					
Формальдегід	1400	9,6	16,0	74,4	82,3
Дослід	1400	9,3	5,2	85,5	94,3

Данні таблиці 3.16 вказують на значне у порівнянні з контролем зниження кількості патогенної мікрофлори на поверхні інкубаційних яєць (до 1,83-1,92% від вихідної кількості бактеріальних колоній) (середовище МПА).

Таблиця 3.16

Рівень мікробної контамінації інкубаційних яєць курей протягом інкубації (МПА, КУО), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Експеримент		Методи обробки	
		Пара формальдегіду	Композиція для захисту інкубаційних яєць курей
Род-айленд червоний			
До обробки		267,29±7,085	
Після обробки	2 години	2,18±0,002	0,04±0,002*
	5 діб	6,05±1,006	1,02±0,001*
	11 діб	12,24±1,012	2,25 ±0,002*
	19 діб	28,36±3,008	5,15±0,005*
Полтавська глиняста			
До обробки		248,15±11,024	
Після обробки	2 години	2,62±0,001	0,06±0,001*
	5 діб	11,57±0,005	0,35±0,001*
	11 діб	26,72±3,019	2,92±0,011*
	19 діб	35,27±3,026	4,55±0,001*

Примітка. * – $p < 0,05$

Дані біохімічних досліджень сироватки крові добових курчат Ломанн браун, представлені в таблицях 3.17 і 3.18, підтвердили висновки, що були зроблені на підставі біологічного контролю (див. табл. 3.15)

Таблиця 3.17

Біохімічні показники добових курчат Ломанн браун, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Методи обробки	Виводимість, %	Вміст загального білку в сироватці крові, г/л	Вміст АТФ в печінці курчати, мг%	Активність АТФази в печінці курчати, мкмоль Р/Г/хв	Активність СДГ в печінці курчати, нмоль сукцинату/хв	Активність АлАт в сироватці крові, ум.од.	Активність АсАт в сироватці крові, ум. од.	D-Глюкоза, ммоль/л	Сечова кислота, мкмоль/л
Формальдегід (контроль)	88,8	46,50± 2,372	1,65± 0,064	0,09± 0,001	1,91± 0,001	4,12± 0,024	51,01± 2,091	4,40± 0,030	647,40± 10,983
Хітозан в оцтовій кислоті	90,3	48,04± 1,782	1,87± 0,030*	0,11± 0,001	2,04± 0,001	4,22± 0,017	51,12± 3,007	4,25± 0,014*	635,32± 10,934*
НОК	91,0	49,53± 1,006	1,84± 0,007*	0,13± 0,002	1,98± 0,002	4,15± 0,012	51,15± 2,011	4,13± 0,018*	624,17± 5,531*
Хітозан з НОК	86,5	51,09± 1,250	1,79± 0,002*	0,11± 0,001	2,01± 0,002	4,27± 0,020*	51,10± 2,170	4,26± 0,002*	620,81± 11,342*
Хітозан+НОК+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂	90,6	48,27± 2,006	1,75± 0,002	0,12± 0,001	2,01± 0,003	4,19± 0,027	51,10± 3,141	4,20± 0,026*	628,90± 2,663*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +CuSO ₄	91,1	47,11± 1,953	1,77± 0,002*	0,12± 0,003	2,08± 0,001*	4,26± 0,011*	51,13± 4,001	4,17± 0,010*	633,83± 1,740*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+H ₂ O ₂ +CuSO ₄	87,6	56,43± 2,860*	1,73± 0,004	0,14± 0,001*	2,02± 0,002	4,23± 0,010*	51,11± 1,987	4,26± 0,110*	611,69± 13,003*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂ +CuSO ₄	94,2	56,19± 3,876*	1,84± 0,003*	0,16± 0,001*	2,08± 0,001*	4,27± 0,016*	51,02± 2,083	4,19± 0,115*	620,44± 4,563*

Примітка. * – Тут і далі різниця є статистично значущою у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$, t – критерій Стьюдента)

(продовж. табл. 3.17)

Біохімічні показники добових курчат Ломанн браун, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Методи обробки	Сечовина, ммоль/л	Гемоглобін, г/л	МДА, мкмоль/л	G-SH, мкмоль/л	Токоферол, мкмоль/л	Вміст загальних ліпідів, г/л	Активність ліпази, мкмоль/л хв	Креатинін, мкмоль/л
Формальдегід (контроль)	5,0±0,02	101,01± 6,124	3,01±0,011	0,85±0,021	11,83±0,953	2,90±0,006	30,0±0,02	127,03± 3,115
Хітозан в оцтовій кислоті	4,9±0,01	103,12± 5,843	3,00±0,012	0,83±0,020	11,90±0,341	3,14±0,011*	29,2±0,02	174,32± 2,876*
НОК	5,0±0,01	105,11± 2,006	2,99±0,012	0,84±0,011	11,08±0,249	3,20±0,018*	30,1±0,02	176,03± 15,002*
Хітозан з НОК	5,0±0,01	104,20± 8,052	3,05±0,012*	0,84±0,007	11,56±0,352	3,39±0,040*	28,6±0,10	170,24± 6,254*
Хітозан+НОК+Fe ₂ O ₃ + H ₂ O ₂	4,8±0,04	103,10± 4,281	3,08±0,011*	0,85±0,013	11,91±0,361	3,11±0,021*	29,1±0,07	159,83± 7,830*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an +Fe ₂ O ₃ +CuSO ₄	4,8±0,01	105,15± 1,683	3,08±0,007*	0,88±0,020	11,25±0,116	3,32±0,015*	32,0±0,05	174,92± 4,852*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an +H ₂ O ₂ +CuSO ₄	4,9±0,02	104,29± 3,648	3,12±0,003*	0,86±0,015	11,77±0,205	3,29±0,012*	33,4±0,05*	180,29± 3,005*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an +Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂ +CuSO ₄	4,6±0,02*	106,05± 5,006*	3,17±0,013*	0,93±0,015*	11,96±0,119	3,38±0,012*	30,7±0,03	188,11± 11,002*

Примітка. * – $p < 0,05$

Таблиця 3.18

**Біохімічні показники добових курчат Ломанн браун,
 $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Методи обробки	Ca ²⁺ , ммоль/л	P, ммоль/л	Залізо, мг %	Мідь, мг %	α - амілаза, од.	Холесте- рин, моль/л
Формальдегід (контроль)	3,120± 0,0014	1,031± 0,0003	0,06± 0,010	0,02± 0,006	23,0± 2,14	6,40± 1,101
Хітозан в оцтовій кислоті	3,240± 0,0011	1,023± 0,0003	0,08± 0,011	0,03± 0,007	21,1± 1,06	6,61± 0,053
НОК	3,316± 0,0190*	1,014± 0,0036	0,08± 0,021	0,03± 0,002	22,0± 0,81	6,66± 0,014*
Хітозан з НОК	3,270± 0,0141	1,021± 0,0023	0,07± 0,001	0,03± 0,001	22,0± 1,09	6,59± 0,081
Хітозан+НОК+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂	3,351± 0,0012*	1,011± 0,0008	0,08± 0,012*	0,03± 0,001	20,0± 1,92*	6,66± 0,022*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +CuSO ₄	3,349± 0,0012*	1,026± 0,0004	0,09± 0,011*	0,04± 0,002*	21,1± 1,07	6,77± 0,003*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+H ₂ O ₂ +CuSO ₄	3,361± 0,0017*	1,012± 0,0012*	0,09± 0,007*	0,04± 0,001*	20,0± 1,63*	6,61± 0,016*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂ +Cu SO ₄	3,371± 0,0011*	1,020± 0,0035	0,09± 0,001*	0,04± 0,001*	21,2± 2,13	6,77± 1,011*

Примітка. * – $p < 0,05$

З таблиць (3.17, 3.18) видно, що у добових курчат, які вивелися із яєць, підданих передінкубаційній обробці «штучної кутикули», вірогідно підвищуються такі показники: вміст гемоглобіну (5,0%, $p < 0,05$), заліза (50%, $p < 0,05$), міді (100%, $p < 0,05$), загального білку (20,8%, $p < 0,05$), лізоцимної активності (10,4%, $p < 0,05$), загальних ліпідів (16,5%, $p < 0,05$), холестерину (5,8%, $p < 0,05$), кальцію (8,0%, $p < 0,05$), креатиніну (48,0%, $p < 0,05$).

Окрім того, після обробки інкубаційних яєць курей Ломанн браун в межах технології «штучна кутикула» відмічена тенденція до зниження вмісту глюкози (4,8%, $p < 0,05$), активності α -амілази (7,9%, $p < 0,05$), фосфору (1,1%, $p < 0,05$) до значень, наближених до нормативних, що свідчить на користь

оптимізуючої дії складових робочого розчину «штучної кутикули» на рівень вуглеводного та кальцій-фосфорного метаболізму.

Вірогідне підвищення вмісту у сироватці крові і тканинах добового молодняку курчат гемоглобіну, заліза, міді що свідчить на користь активізації еритропоезу.

Таким чином, приймаючи до уваги наведене, спостерігається підвищення природної резистентності добового молодняку птиці, отриманого з інкубаційних яєць, підданих обробці в межах технології «штучна кутикула» на основі хітозану (табл. 3.19, табл. 3.20).

Таблиця 3.19

Показники природної резистентності добових курчат Ломанн браун,

$$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$$

Методи обробки	Виводимість, %	Бактерицидна активність, %	Лізоцимна активність, С мкг/мл
Формальдегід (контроль)	88,8	16,82±1,011	30,5±1,16
Хітозан в оцтовій кислоті	90,3	16,87±0,087	32,4±0,87
НОК	91,0	16,85±0,033	31,9±0,66
Хітозан з НОК	86,5	16,84±0,011	31,5±0,11
Хітозан+НОК+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂	90,6	16,81±0,010	31,3±0,13
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +CuSO ₄	91,1	16,88±1,083	32,5±0,21*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+H ₂ O ₂ +CuSO ₄	87,6	16,82±1,014	32,1±0,30*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂ +CuSO ₄	94,2	16,89±0,001*	33,7±1,18*

Примітка. * – $p < 0,05$

Виходячи з вищевикладеного, оптимізація метаболізму ембріонів і добового молодняку, а значить і підвищення їх природної резистентності, відбувалися не тільки завдяки антиоксидантним властивостям певних складових «штучної кутикули», але і за рахунок корегування рівня обмінних

процесів. Крім суттєвого поліпшення біохімічних показників використання технології «штучна кутикула» також дозволяє підвищити рівень природної резистентності курчат.

Таблиця 3.20

Морфологічні показники добових курчат Ломанн браун, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Методи обробки	Виводимість, %	Гемоглобін, г/л	Еритроцити $\times 10^{12}$ л	Лейкоцити $\times 10^9$ л
Формальдегід (контроль)	88,8	97,4 \pm 2,12	3,43 \pm 0,143	22,50 \pm 1,151
Хітозан в оцтовій кислоті	90,3	98,1 \pm 3,02	3,65 \pm 0,146	23,44 \pm 1,100
НОК	91,0	98,7 \pm 1,67	3,67 \pm 0,134	23,05 \pm 1,137
Хітозан з НОК	86,5	97,0 \pm 5,33	3,39 \pm 0,140	22,49 \pm 1,202
Хітозан+НОК+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂	90,6	98,2 \pm 3,76	3,54 \pm 0,110	23,73 \pm 1,123
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +CuSO ₄	91,1	98,5 \pm 6,08	3,65 \pm 0,049*	23,80 \pm 1,844*
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+H ₂ O ₂ +CuSO ₄	87,6	97,6 \pm 2,31	3,49 \pm 0,005	23,01 \pm 2,329
Хітозан+НОК+TiO ₂ an+Fe ₂ O ₃ +H ₂ O ₂ +CuSO ₄	94,2	99,5 \pm 6,30*	3,72 \pm 0,004*	23,82 \pm 1,006*

Примітка. * – $p < 0,05$

Таким чином, використання композиції для утворення на інкубаційних яйцях захисного покриття «штучна кутикула» що складається з хітозану, (НОК), TiO₂an, Fe₂O₃, (H₂O₂), (CuSO₄), забезпечує підвищення показнику виводимості яєць на 10,0-14,5-21,6% (Род айленд червоний, Бірківська барвіста, Полтавська глиняста, відповідно), а також обумовлює підвищення ембріональної життєздатності і природної резистентності птиці.

Отже, узагальнюючи матеріал, поданий в підрозділі 3.2. «Розробка теоретичних та прикладних основ технології конструювання «штучної

кутикули» для передінкубаційної обробки яєць курей» можна зробити наступні висновки.

Експериментально доведено, що нанесена на яйце «штучна кутикула» має здатність змінювати параметри природних захисних мембран і біокерамічних компонентів шкаралупи інкубаційного яйця. Так, склад і концентрація окремих складових «штучної кутикули» а також метод її нанесення на яйце призводить до змін як параметрів кутикули самого яйця, так і структури самої плівки.

Плівка, сформована ЧАС, має щільнішу структуру і уповільнює дифузію газів, в порівнянні з природною кутикулою. Доцільне використання препаратів з групи ЧАС з надоцтовою кислотою та рослинними екстрактами. Надоцтова кислота незалежно від хімічної природи базової плівкоутворюючої речовини ЧАС розрихлює кристалічну кальцитну структуру шкаралупи, що полегшує газообмін між ембріоном і навколишнім середовищем. Рослинні екстракти знижують значну деструктивну активність надоцтової кислоти щодо біокерамічного шару шкаралупи.

Оптимальним «матриксним» матеріалом в технології «штучна кутикула» для захисту інкубаційних яєць курей є кислоторозчинний хітозан. Слід зауважити, що на показники виводимості яєць курей та збереженості молодняка впливає склад «штучної кутикули», базовою речовиною якого є хітозан: це можна пояснити тим, що обробка інкубаційних яєць курей робочими розчинами «штучної кутикули» (надоцтова кислота : кислоторозчинний хітозан : оксиди металів (титан, залізо), призводить до значного підвищення (68-128 %) показника газопроникності шкаралупи у порівнянні з контролем.

За матеріалами підрозділу 3.3. опубліковано: дві монографії у співавторстві [79, 164]; дві методичні рекомендації [82, 131]; статті [14, 15, 16, 17, 19, 20, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 37, 38, 40, 43, 44, 46, 49, 50, 54, 55, 56, 67, 75, 78, 80, 92, 106, 113, 134, 136, 137, 141, 199, 200, 201].

3.4. Оптимізація технології «штучна кутикула» до потреб сучасного практичного птахівництва

Останнім часом широкого розповсюдження набули різноманітні варіанти передінкубаційної обробки яєць сільськогосподарської птиці. Передінкубаційна обробка є традиційною і безальтернативною ланкою в усіх без винятку технологіях штучної інкубації в першу чергу через необхідність попередження контамінації яєць і молодняку патогенними агентами вірусного, мікозного та бактеріального походження.

Зазначимо, що вірогідність такої контамінації значно підвищується внаслідок збільшення кількості птиці та щільності посадки гол/м² площі пташнику, складності технологічних процесів в птахогосподарствах різних форм власності, селекційної роботи, спрямованої на підвищення яйцenessності поголів'я, що призводить як завжди до погіршення загального імунного статусу молодняку птиці і захисних властивостей біокерамічного захисного шару яйця птиці (кальцитних шарів шкаралупи та над- і підшкаралупних мембран).

Вітчизняними і зарубіжними дослідниками [60, 71, 129, 135, 142, 163, 214, 224, 483] неодноразово показано вплив стану шкаралупи інкубаційних яєць сільськогосподарської птиці на показники інкубації. Даний фактор змусив приділяти велику увагу детальному розгляду ролі окремих складових шкаралупи в загальному явищі перенесення газів і парів води через вказаний бар'єр в період інкубації яєць.

Безсумнівним є те, що поліпшення умов транспортування газів і парів через біокерамічний бар'єр шкаралупи з одного боку, посилює і оптимізує метаболізм ембріона, що розвивається, зокрема підвищує ефективність окисного фосфорилування тканин. Однак, внаслідок порушення біокерамічного бар'єру так само безсумнівно і значне підвищення ризику вторинної контамінації яйця.

Таким чином, будь-яке вдосконалення технології інкубації пов'язано з порушенням цілісності кутикули яйця і поверхневих шарів кальцитних утворень

самої шкаралупи, яке полегшує дифузію газів і парів води через останню (дія кислот, ультразвукових хвиль, штучних механічних пошкоджень) несе певну небезпеку контамінуванню яєць і, як наслідок, поширенню інфекційних захворювань у птиці.

Оптимальним підходом до вирішення цієї проблеми є розробка такої технології інкубації, в якій поєднувалися б переваги, надані засобами, що оптимізують газообмін ембріона і не порушують протибактеріальні властивості нативної шкаралупи, з одночасним підвищенням бар'єрних (захисних) властивостей інкубаційних яєць по відношенню до патогенної мікрофлори.

Відзначимо, що в світлі сучасних уявлень найкращим препаратом для передінкубаційної обробки яєць птиці вважається такий, якому притаманна пролонгована дія, тобто здатність зберігати біоцидну активність протягом певного часу.

В якості таких біоцидних речовин нами використані сполуки четвертинного амонію (ЧАС) та природна речовина хітозан (амінополісахарід 2-аміно-2-дезоксид- β -D-глюкан) – гідрофільний поліелектроліт, який утворює на поверхні інкубаційних яєць еластичну, газопроникну плівку, яка має також бактерицидну і віруліцидну активність.

Крім того, для знищення забруднень яєць речовинами органічної природи, в тому числі і патогенною мікрофлорою, визнані перспективними: а) один з варіантів сучасних технологій дезінфекції, так званих процесів ефективного окислення (advanced oxidation processes AOP), заснованих на комбінуванні пероксиду водню H_2O_2 та іонів трьох- або двовалентного заліза Fe (III), Fe (II) у поєднанні з біоцидними речовинами з класу органічних пероксидів – надоцтової кислоти.

В результаті протікання реакції Фентона між пероксидом водню H_2O_2 та іонами перехідних металів, зокрема заліза (Fe) і міді (Cu), утворюються високореакційноздатні іони (ОН-, і молекули кисню O_2), які руйнують патогенні мікроорганізми шляхом окислення.

Ще одним перспективним напрямком екологічно безпечної передінкубаційної обробки є застосування фотокаталітичних технологій за участю ультра-, наночастинок діоксиду титану (TiO_2).

Біоцидний механізм пов'язаний з тим, що на поверхні наночастинок TiO_2 (50-500 нм) під дією світла видимого діапазону з фотокаталітичним механізмом піддаються руйнуванню органічні забруднювачі і гине патогенна мікрофлора.

Саме поєднання оксидів металів з надощтовою кислотою в плівці з хітозаном лягло в основу технології «штучна кутикула».

Широкі можливості варювання кількісних і якісних показників окремих складових розробленої технології «штучної кутикули» надають змогу проводити цілеспрямований підбір і модифікацію зазначеної технології для кожного конкретного випадку.

Таким чином, метою останнього етапу прикладної експериментальної частини дослідження є порівняння різних варіантів технології «штучної кутикули», які б відповідали потребам певних груп птиці різних порід та кросів, що мають неординакові якісні параметри шкаралупи яєць, обумовлені генетичними та господарськими чинниками.

Сумарний кінцевий ефект захисної дії залежить від загального стану організму птиці, який залежить від біотичних і абіотичних чинників навколишнього середовища.

Досліди щодо порівняння напрямків і ступеню впливу двох принципово різних конструкцій біозахисної плівки «штучної кутикули», яка базуються на: а) хітозані і б) сполуках четвертинного амонію (ЧАС), як чільних її складових, проводили за схемою, наведеною на рис. 3.49.

З метою поліпшення біоцидного і ембріостимулюючого ефектів до сполук ЧАС і хітозану додавали пероксидні органічні сполуки, ультра-, нанодисперсні оксиди металів з фотокаталітичними властивостями, солі міді та інші мікроелементи.

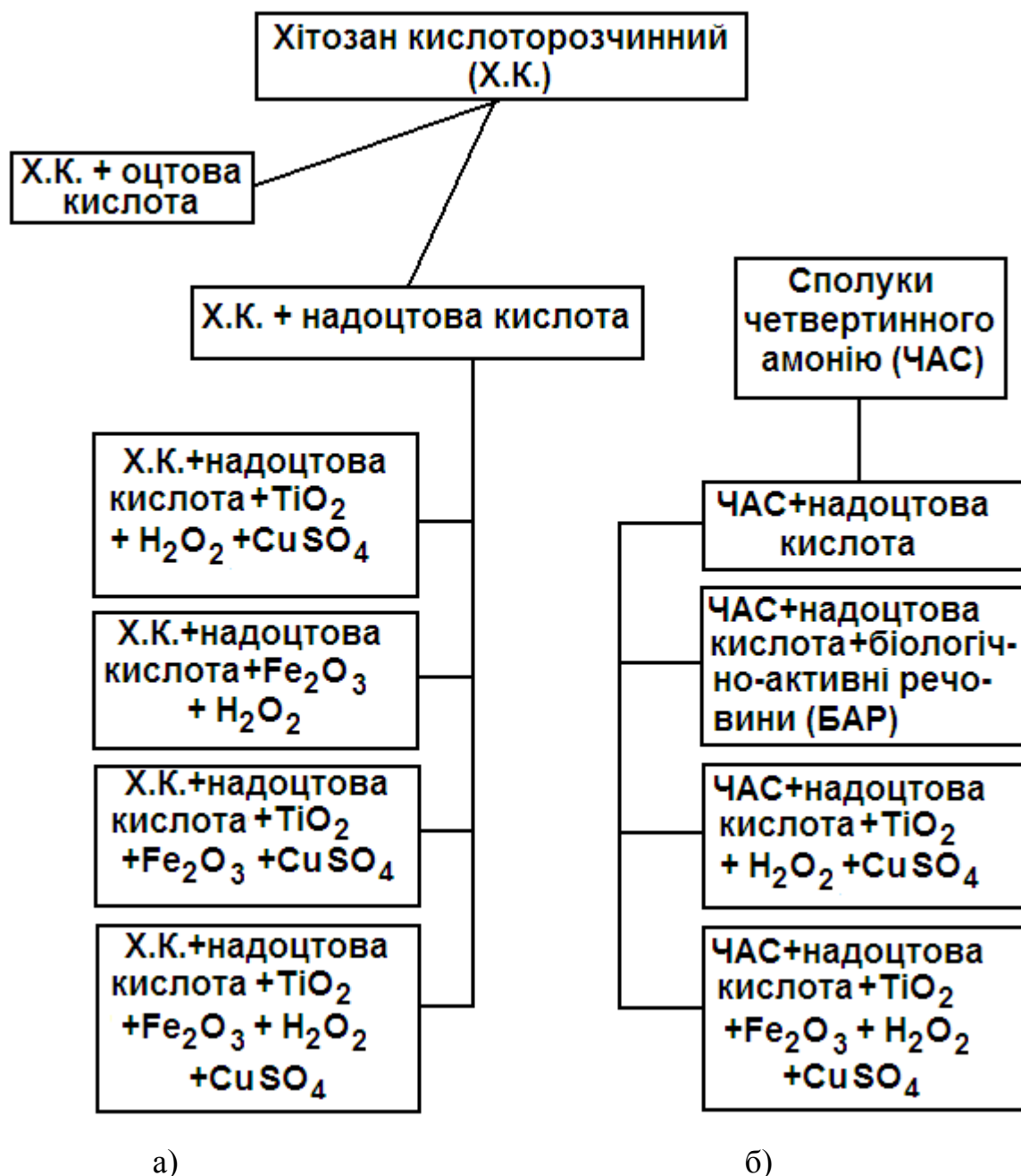


Рис. 3.49. Схема дослідів з оптимізації технології «штучна кутикула» в умовах репродукторних господарств

Примітка. Матрична речовина «штучної кутикули – хітозан» (а); матричні речовини «штучної кутикули» – сполуки четвертинного амонію (б)

Дослідні партії інкубаційних яєць обробляли та інкубували за методикою, яка надана в Розділі 2. «Штучну кутикулу» на основі хітозану і четвертинних амонієвих сполук створювали, покроково додаючи до матричної речовини

НОК, оцтову кислоту, пероксид водню, оксиди металів (TiO_2 та Fe_2O_3), сульфат міді (CuSO_4) та інші речовини.

В період експерименту визначали відсоток виводимості яєць та ембріональну патологію. Збереженість курчат враховували до 140-добового віку. Ефективність застосування «штучної кутикули» визначали рівнем санітарно-показової мікрофлори. Корозійну активність «штучної кутикули» на основі хітозану та наявність залишків препарату на поверхнях обладнання інкубаторію проводили методом змивання. Досліди проводили у виробничих умовах птахогосподарств.

3.4.1. Створення «штучної кутикули» на основі сполук четвертинного амонію

Серію дослідів, в яких використали (по 140 шт. яєць в кожному досліді) інкубаційні яйця курей несучок Леггорн білий, Домінант бурий Д-102, Хайсекс браун, Ломанн браун, Род-айленд червоний, Полтавська глиняста, Бірківська барвіста (15-18 тиждень яйцекладки), проводили з використанням сполук ЧАС або хітозану. Контрольну групу (140 яєць) перед закладкою на інкубацію обробляли формальдегідом. 40 шт. яєць отримали від курей Домінант бурий Д-102 (5 голів), яких штучно заразили збудником *E. Coli* інтранозально. Діагноз на колібактеріоз встановлювали методом клінічного огляду та при розтині.

Перед інкубацією яйця обробляли: 1) розчином ЧАС (алкілдиметилбензиламмонійхлоридом (АДМБ), до складу якого покроково вводили надоцтову кислоту, F_2O_3 , TiO_2 , H_2O_2 та CuSO_4 ; 2) розчином хітозану, поступово доповнюючи його НОК, TiO_2 , F_2O_3 , H_2O_2 та CuSO_4 .

Інкубацію проводили за методикою, описаною в Розділі 2 «Загальна методика й основні методи досліджень». Після виводу курчат рахували виводимість яєць (табл. 3.21). Для становлення ефективності передінкубаційної обробки курячих яєць препаратами на основі хітозану та ЧАС проводили бактеріологічні дослідження (табл. 3.22).

Таблиця 3.21

Вплив складу «штучної кутикули» на виводимість інкубаційних яєць курей різних порід і кросів
(n = 140 гол. в досліді), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Методи обробки	Виводимість яєць, %							
	Групи птиці ^{**}							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Контроль (без обробки)	71,4±0,64	83,4±0,18	86,6±1,25	82,2±1,12	81,7±3,28	88,6±0,13	84,3±1,31	83,6±2,13
Розчин хітозану	72,2±4,01	86,3±0,86	91,1±1,26	82,4±1,36	85,1±1,74	89,3±1,25	91,4±2,17	92,8±2,06
Розчин ЧАС	72,3±2,25	84,0±1,04	87,4±1,02	81,6±0,82	84,3±1,64	85,2±1,87	87,3±0,84	87,8±1,17
Розчин хітозану + НОК	74,6±1,12	87,2±0,34	91,2±1,96	84,3±1,24	88,3±0,73	89,1±1,39	93,2±0,25	93,8±0,18
Розчин ЧАС + НОК	73,8±0,86	84,7±0,14	86,0±0,65	83,2±0,44	84,6±1,35	86,4±2,13	88,2±1,12	90,5±2,21
Розчин хітозану + НОК + TiO ₂	74,7±2,09	88,2±0,21	89,4±2,21	85,4±0,25	87,2±1,26	94,4±2,01	88,9±2,18	95,4±1,41
Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃	73,2±1,06	90,9±0,41*	92,4±0,46*	87,7±1,47	89,3±2,86	93,5±2,31	91,5±1,87	94,8±0,62
Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + CuSO ₄	74,8±2,56	90,9±0,13*	92,7±0,12*	89,2±0,22	91,7±1,28	95,2±0,38	94,6±0,22	96,2±0,18
Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + H ₂ O ₂ + CuSO ₄	74,5±2,51*	94,1±0,66*	93,2±0,73*	91,4±1,20*	93,4±0,83*	96,7±0,15	94,3±0,24	97,2±0,16
Розчин ЧАС + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + H ₂ O ₂ + CuSO ₄	73,1±3,11*	89,7±1,06*	90,4±1,12*	89,9±2,12*	91,5±4,11*	91,8±2,17	92,3±1,06	93,3±1,93

Примітки: 1) * – $p < 0,005$;

2) ** – групи птиці за генетичними ознаками, рівнем яйценоскості і станом здоров'я: I – Домінант бурий Д-102, кури уражені колібактеріозом; II – Леггорн білий; III – Домінант бурий Д-102; IV – Хайсекс браун; V – Ломанн браун; VI – Род-айленд червоний; VII – Полтавська глиняста; VIII – Бірківська барвіста.

Таблиця 3.22

Ефективність передінкубаційної обробки курячих яєць препаратами на основі хітозану та ЧАС,

$$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$$

Методи обробки	Виводи- мість яєць, %	Відходи інкубації, %	Ефективність обробки (11 доба після обробки)	
			Бактерії, КУО	Гриби, колоній
Контроль (формальдегід)	84,3±1,31	21,9±0,12	26,72±3,019	137,0±0,26
Розчин хітозану	91,4±2,17	9,6±0,04	8,61±0,012	11,0±0,02
Розчин ЧАС	87,3±0,84	15,2±0,12	9,18±0,003	15,0±1,32
Розчин хітозану + НОК	93,2±0,25	10,2±0,05	4,38±0,014	8,0±0,22
Розчин ЧАС + НОК	88,2±1,12	11,8±1,02	5,02±0,014	3,0±0,18
Розчин хітозану + НОК + TiO ₂	88,9±2,18	9,6±0,02	2,55±0,001	0,2±0,02
Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃	91,5±1,87	6,4±0,24	3,77±0,006	0,2±0,24
Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + CuSO ₄	94,6±0,22	6,2±0,03	1,34±0,001	-
Розчин хітозану + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + H ₂ O ₂ + CuSO ₄	94,3±0,24	4,7±0,03	0,35±0,001*	-
Розчин ЧАС + НОК + Fe ₂ O ₃ + TiO ₂ + H ₂ O ₂ + CuSO ₄	92,3±1,06	6,6±1,04	2,15±0,022	0,3±0,06

Примітка. * – $p < 0,05$

Згідно даних, наведених у таблицях (див. табл. 3.21, 3.22) можна стверджувати, що використання «штучної кутикули» однакового складу призводить до різних показників виводимості у птиці різних порід або кросів.

Показово, що вплив складу «штучної кутикули» на показник виводимості яєць знаходиться в безпосередній залежності від породи чи кросу, стану здоров'я, рівня яйценоскості курей. Використання для обробки яєць робочого розчину для формування «штучної кутикули» такого складу: «Розчин хітозану + НОК + F_2O_3 + TiO_2 + H_2O_2 + $CuSO_4$ » призводить до підвищення виводимості порівняно з контролем і цей показник знаходиться в залежності від породи або кросу птиці. Так, показник виводимості птиці Леггорн білий підвищився на 10,7 %, Домінант бурий Д-102 – на 6,6 %, Хайсекс браун – на 9,2 %, Ломанн браун – на 11,7 %, Род-айленд червоний – на 8,1 %, Полтавська глиняста – на 10,0 %, Бірківська барвіста – на 13,6 %.

В той же час передінкубаційна обробка яєць розчином ЧАС, до складу якого входять четвертинні амонієві сполуки алкілдиметилбензиламмонійхлорид (АДМБ) + НОК + F_2O_3 + TiO_2 + H_2O_2 + $CuSO_4$, призводить до підвищення показників виводимості на 9,1 – 9,2 % у птиці породи Леггорн білий, Ломанн браун та Бірківська барвіста порівняно з контролем. Показник виводимості зріс у порівнянні з контролем для птиці Домінант бурий Д-102 на 5,5 %, Хайсекс браун – на 8,4 %, Род-айленд – на 3,2 %, Полтавська глиняста – на 8,0 % (див. табл. 3.21).

Синергетична дія складових «штучної нанокутикули», матричною речовиною якої є хітозан, впливає на біологічні показники захисних бір'єрів шкаралупи яєць курей, від чого залежить ефективність їх інкубації (див. табл. 3.22).

Як бачимо із результатів, наведених у даній таблиці, поверхня шкаралупи яєць дослідних груп менше забруднена мікроорганізмами у порівнянні з контрольними групами.

Таку пролонговану дію можна пов'язати з наявністю на поверхні шкаралупи яєць захисної плівки «штучної кутикули», що утворюється після висихання нанесених на неї робочих розчинів.

Отже, використання хітозанової плівки «штучна кутикула» для захисту інкубаційних яєць курей від негативних чинників довкілля та патогенної мікрофлори дозволяє підвищувати показники виводимості з одночасним зниженням рівня мікробного обміненія поверхні яєць.

Найкращий вплив на результати інкубації та рівень мікробного обміненія поверхні шкаралупи яєць здійснює метод передінкубаційної обробки яєць розчином, до складу якого входять наступні інгредієнти: хітозан кислоторозчинний + НОК + Fe_2O_3 + TiO_2 + H_2O_2 + CuSO_4 .

В той же час, використання у технології «штучна кутикула» в якості базової «матричної» речовини сполук четвертинного амонію ЧАС поступається за кінцевими результатами відповідним дослідом із хітозаном.

Щодо доповнення «матричної» речовини «штучної кутикули» на основі ЧАС біологічно-активними речовинами, була проведена серія дослідів з використанням БАР штучного і природного, зокрема рослинного походження.

В дослідях використовували інкубаційні яйця курей кросу Домінант бурий Д-102 (15-18 тиждень яйцекладки). Контрольну групу (144 яєць) перед закладкою на інкубацію обробляли формальдегідом, а вісім дослідних груп (по 144 яєць в кожній) – робочим розчином складових «штучної кутикули». Досліди проводили в чотирьох повторностях. Інкубацію проводили в інкубаторі «Універсал-55» [87].

Робочий розчин «штучної кутикули» складався з наступних інгредієнтів: алкілдиметилбензиламмонійхлорид (АДМБ; 0,1 %); надоцтова кислота (НОК; 50 %); суспензія діоксиду титану (TiO_2 , ВАТ «Суміхімпром», рутильна форма, техн.; 5 %, у суміші води (50 мл); суміш рослинних терпенів та катехоли рослинного походження, отримані з рослин: ехіноцея пурпурова (*Echinacea purpurea Moench.*), золотий корінь (*Rhodiola rosea L.*), нагідки лікарський (календула; *Calendula officinalis L.*), горіх волоський (*Juglans regia*); сульфат

міді (CuSO_4 , 10%, х.ч.); диметилсульфоксид (ДМСО; 0,05%, ч.) та циклодекстрин (ЦД; 0,5%, *Sigma*, США).

Як видно з рис. 3.50, поступове збільшення окремих інгредієнтів у складі «штучної кутикули» призводить до аналогічного підвищення показнику виводимості в умовах лабораторного дослідження.

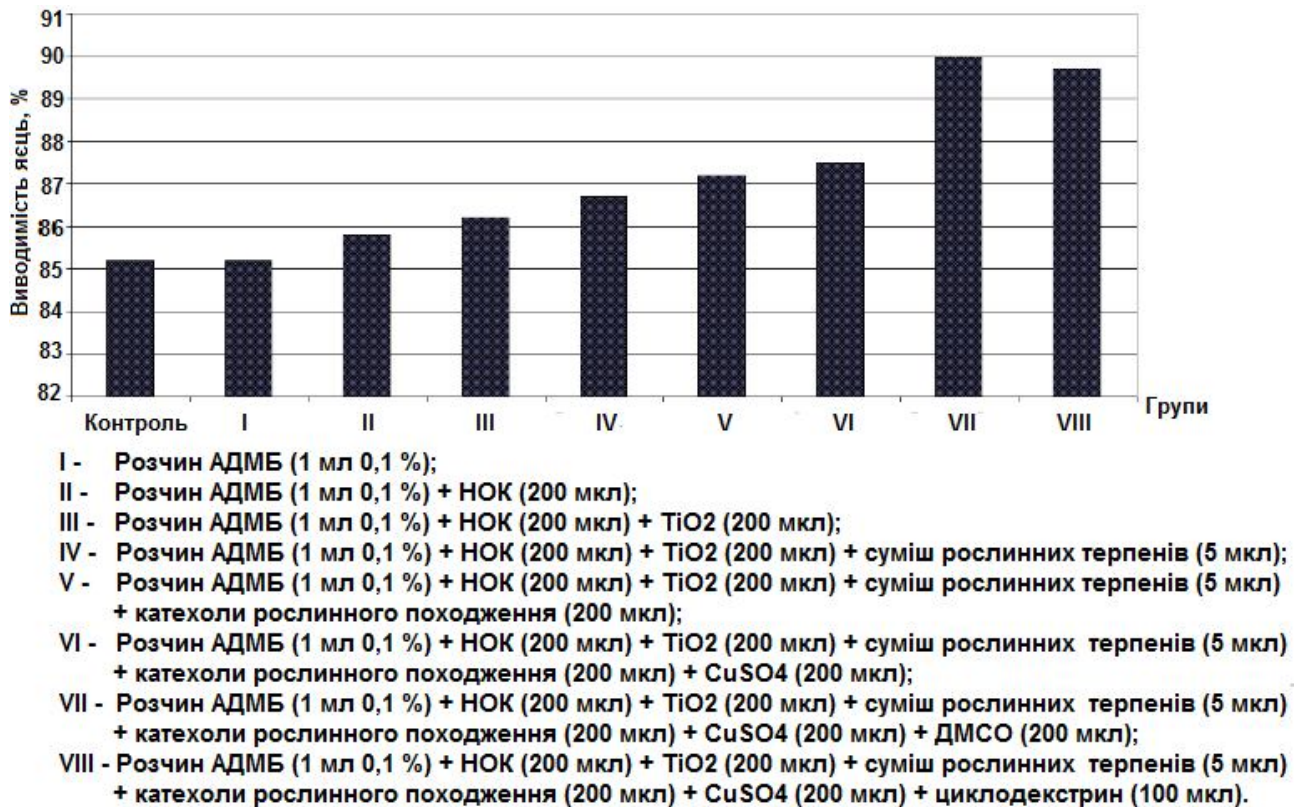


Рис. 3.50. Вплив хімічних складових «штучної кутикули» на основі четвертинних амонієвих сполук на виводимість курчат

Як видно, покрокове ускладнення базової матричної речовини сполук четвертинного амонію призводить до підвищення виводимості як за рахунок стимуляції обміну речовин ембріону БАР (особливо за використання «енхансерів» – стимуляторів їх трансшкаралупного перенесення – ДМСО, терпенів та циклодекстрину), так і внаслідок модифікації біокристалічного шару шкаралупи. Це зумовлено, по-перше, взаємодією НОК з кальцитом, що поліпшує газопроникність, а також полегшує трансшкаралупне перенесення БАР і, по-друге, здатністю ЧАС утворювати на зовнішній поверхні яйця захисне покриття, що містить зазначені БАР. Така конструкція являє собою

типову систему контрольованого постачання БАР ембріонів, що розвивається (*Control Release System*).

Отже (див. рис. 3.50), передінкубаційна обробка композиціями на основі ЧАС дозволяє у порівнянні з контролем підвищити показник виводимості на 4,5 %. Проте, такий склад «штучної кутикули» може бути використаним тільки на малих за обсягом партіях інкубаційних яєць, зокрема при інкубації яєць цінних зразків декоративних або диких птахів, оскільки сумарна вартість складових таких препаратів «штучної кутикули», збагачених біологічно-активними речовинами, є досить високою.

Варіювання якісних і кількісних інгредієнтів «штучної кутикули» базового складу надало можливість проведення оптимізації цієї технології щодо інкубаційних яєць різної якості та походження.

3.4.2. Створення «штучної кутикули» ARTICLE на основі хітозану

У попередніх розділах наведені докази наявності певних недоліків, притаманних сполукам четвертинного амонію (ЧАС), котрі використовували у якості «матричних» базових речовин у складі «штучної кутикули» першого покоління, а також типовому еталонному засобу передінкубаційної обробки – формальдегіду у вигляді пари.

Зазначені речовини вирізняються такими недоліками:

- пара формальдегіду є потенційним канцерогеном та подразнювачем дихальних шляхів; окрім того тривалість біоцидної дії формальдегіду досить обмежена, зважаючи на легку летучість речовини;
- препарати для захисту інкубаційних яєць, до складу яких входять сполуки четвертинного амонію не є екологічно безпечними, оскільки важко піддаються руйнації у довкіллі;
- широке застосування сполук четвертинного амонію у ветеринарній і гуманній медицині призвело до набуття резистенції окремих представників патогенної мікрофлори щодо останніх;

▪ плівки сполук четвертинного амонію на твердофазових поверхнях не є досить газопроникними, через що захисні препарати для інкубаційних яєць на їх основі потребують підвищеного рівня дотримання технологій обробки.

Спираючись на це, нами поставлена задача розробки способу захисту інкубаційних яєць курей щодо негативних чинників довкілля та патогенної мікрофлори, у якому передбачено утворення на поверхні шкаралупи захисної газопроникної плівки завтовшки 0,05-5,0 мкм з екологічно безпечної нетоксичної речовини природного походження з вираженими біоцидними властивостями щодо патогенної мікрофлори.

Поставлена задача вирішена за рахунок використання у якості базового компонента препарату природного біополімеру хітозану – похідного надзвичайно поширеного у природі матеріалу покривів ракоподібних і комах.

На першому етапі у якості розчинника для хітозану була вибрана оцтова кислота. Склад розчину для утворення на інкубаційних яйцях захисного покриття «штучна кутикула» у цьому випадку містив такі компоненти, мас. %:

Хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % водного розчину у 2% оцтовій кислоті 3,6. Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,0
Пом'якшувач води	0,1
Неорганічний барвник (червоний пігмент)	0,01
Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
Вода	до 100 мас. %

У досліді інкубували за встановленою методикою по 1000 яєць курей трьох порід – Род-айленд червоний, Полтавська глиняста, Бірківська барвиста. Дослідження біоцидної активності хітозанових покриттів проводили мікробіологічними методами.

Контроль – варіант досліду, де використовували класичний метод – обробку паром формальдегіду (табл. 3.23 та 3.24).

Продовж. табл. 3.23

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Бірківська барвиста														
Формальдегід	500	47	9,4	28	5,6	4	0,8	10	2,0	1	0,2	411	82,2	90,7
Хітозан кислоторозчинний	500	51	10,2	11	2,2	5	1,0	12	2,4	-	-	421	84,2	93,8
Всього	1000	98	9,8	39	3,9	9	0,9	22	2,2	1	0,1	832	83,2	92,3
Заплідненість %	90,2													
Всього за дослід	2720	289	10,6	157	5,8	22	0,8	81	2,9	10	0,4	2175	79,9	89,5

Наведений склад розчину для утворення на інкубаційних яйцях захисного щодо негативних чинників довкілля та патогенної мікрофлори покриття сприяє підвищенню показнику виводимості курчат і зниженню кількості патогенної мікрофлори на поверхні яєць.

Подані у таблиці (див. табл. 3.23) дані свідчать про те, що показник виводимості складає 89,3-93,8%, що значно вище, ніж у варіантах, де застосовувалась обробка класичним методом – парою формальдегіду.

Дані таблиці 3.24 вказують на зниження кількості патогенної мікрофлори на поверхні оброблених яєць проягом інкубації.

Таблиця 3.24

Змиви із поверхні шкаралупи яєць через дві години після обробки, КУО, у середньому

Порода	Методи обробки			
	Пара формальдегіду		Хітозан кислоторозчинний	
	Рівень мікробної контамінації			
	МПА	ЕНДО	МПА	ЕНДО
Род-айленд червоний	201,2	3,3	2,3	0,1
Полтавська глиняста	86,1	0,9	1,5	0,2
Бірківська барвиста	139,0	0,8	1,8	0

Наступний варіант «штучної кутикули» містив такі компоненти, мас. %:

Хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2%

надоцтовій кислоті 3,6. Сорбційна активність за іонами

міді 80,3 мг/г)

0,1-3,0

Пом'якшувач води

0,1

Неорганічний барвник (червоний пігмент)

0,01

Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)

0,1

Вода

до 100 мас. %

Результати інкубації яєць курей, оброблених перед закладкою названим розчином, представлені в таблиці 3.25.

Таблиця 3.25

Результати інкубації яєць курей, оброблених перед інкубацією композицією хітозану з надоцтовою кислотою

Методи обробки	Закладено, шт	Незаплід- нені яйця, %	«Кров'яне кільце», %	Завмерлі, %	Задохлики, %	Слабкі та каліки, %	Вивід курчат, %	Виводи- мість яєць, %
Род-айленд червоний								
Формальдегід	500	11,3	5,7	1,2	4,8	0,6	76,4	86,1
Хітозан з надоцтовою кислотою	500	9,8	5,1	1,1	3,5	0,2	80,3	89,0
Полтавська глиняста								
Формальдегід	500	14,1	8,4	2,8	2,2	0,8	71,7	83,5
Хітозан з надоцтовою кислотою	500	13,5	7	1,3	2,0	0,5	75,7	87,5
Бірківська барвиста								
Формальдегід	500	10,1	4,1	1,3	3,3	0,4	80,8	89,7
Хітозан з надоцтовою кислотою	500	9,4	1,9	0,9	2,1	2,0	83,7	92,4

Подані у таблиці дані свідчать про те, що показник виводимості яєць, ороблених перед інкубацією розчином хітозану з надоцтовою кислотою, складає 89,0-92,4%, що достовірно перевищує відповідний показник контрольної групи з санацією парою формальдегіду.

Дослідження біоцидної активності композиції з хітозану та надоцтової кислоти подано у табл. 3.26.

Таблиця 3.26

Змиви із поверхні шкаралупи яєць через дві години після обробки композицією з хітозану та надоцтової кислоти, КУО, у середньому

Порода	Методи обробки			
	Фумігація формальдегідом		Хітозан з надоцтовою кислотою	
	Рівень мікробної контамінації			
	МПА	ЕНДО	МПА	ЕНДО
Род-айленд червоний	194,3	2,1	1,9	0,1
Полтавська глиняста	86,9	1,1	1,2	0,1
Бірківська барвиста	120,2	0,9	1,4	0

Отже, композиція для захисту інкубаційних яєць курей шляхом утворення на поверхні шкаралупи «штучної кутикули», до складу якої входить екологічно безпечна речовина природного походження кислоторозчинний хітозан у 2% надоцтовій кислоті, дозволяє у порівнянні з контролем підвищити показник виводимості на 2,7-4,0%, а також знизити кількість патогенної мікрофлори на поверхні шкаралупи яєць протягом інкубації на 98,6-99,03%.

До складу наступного варіанту «штучної кутикули» окрім хітозану і речовини з класу органічних пероксидів – надоцтової кислоти, якій притаманні потужні окислювальні та біоцидні властивості, входить ще одна речовина з того ж класу пероксидів – пероксид водню (H_2O_2), яка також має біоцидну активність за використання її як у вигляді окремої речовини, так і у сумішах до

складу яких входять іони або частки деяких металів та їх оксидів. Таким оксидом металу був вибраний нетоксичний діоксид титану (TiO_2). Ця речовина у нано- та ультрадисперсному вигляді забезпечує руйнацію органічних забруднювачів і загибель патогенної мікрофлори. Реакція окислення перебігає на поверхні часток TiO_2 розміром 50-500 нм під дією світла видимого діапазону за фотокаталітичним механізмом, що створює підґрунття для розробки екологічно чистих і ефективних технологій у птахівництві. Зокрема, відомі композити, яким притаманні біоцидні властивості на основі хітозану та діоксиду титану TiO_2 .

Проте, фотокаталітичні реакції за участі діоксида титану перебігають переважно на світлі і значно втрачають інтенсивність у темряві. Приймаючи до уваги цей факт, ми ввели до складу «штучної кутикули» сульфат міді, який обумовив перебіг реакції Фентона між цією речовиною і пероксидом водню H_2O_2 . Відомо, що пероксид водню і іони перехідних металів, до яких належить мідь (Cu), призводить до утворення високореакційноздатних іонів: $\bullet\text{OH}$, O_2^- , та молекул кисню O_2 , що здатні руйнувати патогенні мікроорганізми шляхом окислення.

Пропонований склад наступної композиції для утворення на інкубаційних яйцях захисного покриття містить такі компоненти, мас. %:

Хітозан (кислоторозчинний) (рН 1% розчину у 2% надоцтовій кислоті 3,0. Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,0
Діоксид титану (TiO_2) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм)	0,1-3,0
Пероксид водню (H_2O_2)	0,5-5,5
Сульфат міді (CuSO_4)	1,0-2,5
Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
Вода	до 100 мас. %

Дослід проводили за методикою, представленою в Розділі 2 «Загальна методика й основні методи досліджень». Результати наведені в таблицях 3.27 та 3.28.

Таблиця 3.27

**Результати інкубації яєць курей, оброблених перед інкубацією «штучною кутикулою» на основі хітозану,
надоцтової кислоти, діоксиду титану, пероксиду водню і міді**

Методи обробки	Закладено, шт	Незапліднені яйця, %	«Кров'яне кільце», %	Завмерлі, %	Задохлики, %	Слабкі та каліки, %	Вивід курчат, %	Виводимість яєць, %
Род-айленд червоний								
Формальдегід	1500	8,6	4,8	1,5	3,3	0,4	81,4	89,1
Композиція «штучна кутикула»	1500	4,5	2,6	0,5	1,2	0,1	91,1	95,4
Полтавська глиняста								
Формальдегід	1500	12,6	8,4	2,8	2,2	0,8	73,2	83,8
Композиція «штучна кутикула»	1500	14,1	6,17	1,1	2,4	0,3	75,9	88,4
Бірківська барвиста								
Формальдегід	1500	8,3	4,7	2,3	3,9	1,5	79,3	84,4
Композиція «штучна кутикула»	500	9	1,1	0,3	0,9	0,2	88,5	97,3

Таблиця 3.28

**Рівень мікробної контамінації інкубаційних яєць курей протягом інкубації
(МПА, КУО), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Дослід		Методи обробки	
		Пара формальдегіду	Композиція: хітозан, НОК, TiO ₂ , H ₂ O ₂ , CuSO ₄
Род-айленд червоний			
До обробки		356,42±8,012	
Після обробки	2 години	2,73±0,002	1,07±0,002*
	5 діб	6,89±1,016	1,29±0,002*
	11 діб	11,01±1,002	1,79±0,003*
	19 діб	13,35±2,009	2,26±0,007*
Полтавська глиняста			
До обробки		325,29±12,004	
Після обробки	2 години	2,62±0,001	1,01±0,001*
	5 діб	11,57±0,005	1,29±0,001*
	11 діб	28,72±3,017	1,76±0,005*
	19 діб	40,27±3,026	2,35±0,008*
Бірківська барвиста			
До обробки		118,81±4,095	
Після обробки	2 години	2,73±0,001	1,15±0,003*
	5 діб	12,90±1,011	1,47±0,001*
	11 діб	36,91±2,029	2,04±0,011*
	19 діб	108,10±5,14	2,55±0,001*

Примітка. * – $p < 0,05$

У досліді інкубували по 1000 яєць курей трьох порід – Род-айленд червоний, Полтавська глиняста та Бірківська барвиста за встановленою методикою. Контроль – варіант, де використовували класичний метод обробки парюю формальдегіду.

Наведений склад композиції для утворення на інкубаційних яйцях захисного покриття «штучна кутикула» щодо негативних чинників довкілля та патогенної мікрофлори сприяє підвищенню показнику виводимості яєць на 4,6-12,9 % і зниженню кількості патогенної мікрофлори на поверхні яєць до 2,35-16,02 % від контролю.

Таким чином, використання композиції захисту інкубаційних яєць курей на основі хітозану, надоцтової кислоти, діоксиду титану, пероксиду водню і міді забезпечує підвищення показнику виводимості яєць на 4,6-12,9 % з одночасним зниженням кількості патогенної мікрофлори на поверхні яєць до 2,35-16,02% від вихідної кількості бактеріальних колоній.

Склад наступного варіанту «штучної кутикули» вирізняється тим, що до нього входить окрім кислоторозчинного хітозану, надоцтової кислоти і пероксиду водню (H_2O_2) жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) Fe_2O_3).

Теоретичною підставою до конструювання такої композиції «штучної кутикули» слугував сучасний напрямок у ветеринарно-санітарному обслуговуванні птахівництва, зокрема поєднання у одному препараті різних активних речовин з метою підсилення за синергетичними залежностями корисних властивостей (біоцидна активність) та інгібування небажаних (корозійна активність). Склад композиції для попередження забруднення інкубаційних яєць курей патогенною мікрофлорою шляхом утворення на поверхні «штучної кутикули» містить такі компоненти, мас. %:

Хітозан (кислоторозчинний) (рН 1% розчину у 2% надоцтовій кислоті 3,0. Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,1
Жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) Fe_2O_3)	0,01-2,5
Пероксид водню (H_2O_2)	0,5-5,5
Пом'якшувач води	0,05-0,1
Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,01-0,1
Вода	до 100 мас. %

Результати даного дослідження представлені в табл. 3.29.

Таблиця 3.29

Результати інкубації яєць курей, оброблених перед інкубацією композицією «штучна кутикула» на основі хітозану, надоцтової кислоти, оксиду заліза (III) Fe₂O₃ і пероксиду водню

Методи обробки	Закладено, шт	Незапліднені яйця, %	«Кров'яне кільце», %	Завмерлі, %	Задохлики, %	Слабкі та каліки, %	Вивід курчат, %	Виводимість яєць, %
Род-айленд червоний								
Формальдегід	1440	10,8	6,8	1,0	5,6	0,3	75,5	84,6
Композиція «штучна кутикула»	1440	11,5	3,6	0,3	2,1	0,1	82,4	93,1
Полтавська глиняста								
Формальдегід	1200	17,2	10,2	3,8	5,1	1,3	62,4	75,4
Композиція «штучна кутикула»	1200	18,9	4,1	1,0	1,4	0,2	74,4	91,7
Бірківська барвиста								
Формальдегід	1400	9,6	6	1,9	3,7	4,4	74,4	82,3
Композиція «штучна кутикула»	1400	9,3	2	0,4	1,1	1,7	85,5	94,3

Наведений склад композиції для попередження забруднення інкубаційних яєць курей патогенною мікрофлорою сприяє підвищенню показнику виводимості яєць на 10,0-21,6 % і зниженню кількості патогенної мікрофлори на поверхні шкаралупи до 0,97-1,38 % від вихідної кількості бактеріальних колоній (середовище МПА) (табл. 3.30).

Таблиця 3.30

Рівень мікробної контамінації інкубаційних яєць курей протягом інкубації (МПА, КУО), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Дослід		Методи обробки	
		Пара формальдегіду	Композиція: хітозан, НОК, Fe ₂ O ₃ , H ₂ O ₂
Род-айленд червоний			
До обробки		356,42±8,012	
Після обробки	2 години	2,73±0,002	1,07±0,002*
	5 діб	6,89±1,016	1,29±0,002*
	11 діб	11,01±1,002	1,79±0,003*
	19 діб	13,35±2,009	2,26±0,007*
Полтавська глиняста			
До обробки		325,29±12,004	
Після обробки	2 години	2,62±0,001	1,01±0,001*
	5 діб	11,57±0,005	1,29±0,001*
	11 діб	28,72±3,017	1,76±0,005*
	19 діб	40,27±3,026	2,35±0,008*
Бірківська барвиста			
До обробки		118,81±4,095	
Після обробки	2 години	2,73±0,001	1,15±0,003*
	5 діб	12,90±1,11	1,47±0,001*
	11 діб	36,91±2,029	2,04±0,011*
	19 діб	108,10±5,14	2,55±0,001*

Примітка. * – $p < 0,05$

Наведений склад «штучної кутикули» дозволяє підвищити показник виводимості яєць на 10,0-21,6 %, а також знизити кількість патогенної мікрофлори на поверхні яєць протягом інкубації на 98,6-99,03% від контролю (див. табл. 3.29, 3.30).

В подальшому провели досліді щодо ефективності технології «Штучна кутикула» на основі хітозану, надощтової кислоти, діоксиду титану, оксиду заліза (III) Fe_2O_3 і міді.

Даний склад композиції для утворення на поверхні шкаралупи яєць «штучної кутикули» для знищення патогенної мікрофлори і поліпшення газообміну ембріонів містить такі компоненти, мас. %:

Хітозан (кислоторозчинний) (рН 1% розчину у 2% надощтовій кислоті 3,0. Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,4
Діоксид титану (TiO_2) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм)	0,01-3,8
Жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) Fe_2O_3)	0,1-2,5
Сульфат міді ($CuSO_4$)	1,0-1,25
Пом'якшувач води	0,1
Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
Вода	до 100 мас. %

У досліді інкубували по 500 яєць курей трьох порід – Род-айленд червоний, Полтавська глиняста та Бірківська барвиста згідно методики, описаної в Розділі 2 «Загальна методика й основні методи досліджень».

Для обробки контрольної партії яєць використовували класичний метод – фумігацію формальдегідом.

Вище наведена і випробувана композиція сприяла підвищенню показнику виводимості яєць на 3,9-15,3% (табл. 3.31) і зниженню кількості патогенної мікрофлори на поверхні шкаралупи до 0,97-1,38% від вихідної кількості бактеріальних колоній (середовище МПА) (табл. 3.32).

Таблиця 3.31

Результати інкубації яєць курей, оброблених перед інкубацією композицією «Штучна кутикула» на основі хітозану, надоцтової кислоти, діоксиду титану, оксиду заліза (III) Fe₂O₃ і міді

Методи обробки	Закладено, шт	Незапліднені яйця, %	«Кров'яне кільце», %	Завмерлі, %	Задохлики, %	Слабкі та каліки, %	Вивід курчат, %	Виводимість яєць, %
Род-айленд червоний								
Формальдегід	500	13,2	3,2	1,6	3,5	0,2	78,3	90,2
Композиція «штучна кутикула»	500	15,8	1,8	0,3	1,8	0,1	80,2	96,0
Полтавська глиняста								
Формальдегід	500	12,7	9,0	2,9	6,4	0,9	68,1	78,8
Композиція «штучна кутикула»	500	14,1	5,2	1,1	1,1	0,5	78,0	90,9
Бірківська барвиста								
Формальдегід	500	12,9	3,5	1,1	3,0	0,5	79,0	90,7
Композиція «штучна кутикула»	500	15,4	2,5	0,4	1,7	0,2	79,8	94,3

Таблиця 3.32

**Рівень мікробної контамінації інкубаційних яєць курей протягом інкубації
(МПА, КУО), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Дослід		Методи обробки	
		Пара формальдегіду	Композиція: хітозан, НОК, TiO ₂ , Fe ₂ O ₃ , CuSO ₄
Род-айленд червоний			
До обробки		356,42±8,012	
Після обробки	2 години	2,73±0,002	1,07±0,002*
	5 діб	6,89±1,016	1,29±0,002*
	11 діб	11,01±1,002	1,79±0,003*
	19 діб	13,35±2,009	2,26±0,007*
Полтавська глиняста			
До обробки		325,29±12,004	
Після обробки	2 години	2,62±0,001	1,01±0,001*
	5 діб	11,57±0,005	1,29±0,001*
	11 діб	28,72±3,017	1,76±0,005*
	19 діб	40,27±3,026	2,35±0,008*
Бірківська барвиста			
До обробки		118,81±4,095	
Після обробки	2 години	2,73±0,001	1,15±0,003*
	5 діб	12,90±1,11	1,47±0,001*
	11 діб	36,91±2,029	2,04±0,011*
	19 діб	108,10±5,14	2,55±0,001*

Примітка. * – $p < 0,05$

В наступних дослідах було використано найбільш багатоскладову композицію для утворення на інкубаційних яйцях захисного покриття «штучна кутикула», яка містила такі компоненти, мас. %:

Хітозан кислото розчинний (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0. Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,0
Діоксид титану (TiO ₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм)	0,1-3,0
Жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F ₂ O ₃)	0,1-3,0
Пероксид водню (H ₂ O ₂)	0,5-5,5
Сульфат міді (CuSO ₄)	1,0-2,5
Пом'якшувач води	0,1
Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
Вода	до 100 мас. %

Дослідження проводили в однакових умовах режиму і технологічного циклу інкубації [87]. У досліді проінкубовано 8800 тис. яєць курей трьох порід – Род-айленд червоний, Полтавська глиняста та Бірківська барвиста.

Контрольні групи яєць кожного досліду обробляли парою формальдегіду перед закладкою в інкубатор, після шести годин прогрівання в інкубаторі, у вивідних шафах відразу після переносу яєць.

Дослідні групи яєць обробляли приготованим розчином «штучної кутикули» (із розрахунку на 1500 мл розчину – 150 мл НОК, 1500 мг хитозану, 1500 мг TiO₂, 1500 мг F₂O₃, 150 мл H₂O₂, 750 мг CuSO₄) одноразово перед закладкою на інкубацію методом обприскування, за технологією, що описана в Розділі 2.

Наведений склад композиції сприяв підвищенню показнику виводимості яєць на 6,3-20,3% (табл. 3.33.) і значному зниженню кількості патогенної мікрофлори на поверхні інкубаційних яєць до 1,83-1,92 % від вихідної кількості бактеріальних колоній (середовище МПА) (табл. 3.34).

Таблиця 3.33

Результати інкубації яєць курей, оброблених перед інкубацією композицією «Штучна кутикула» на основі хітозану, надоцтової кислоти, пероксиду водню, діоксиду титану, оксиду заліза (III) Fe₂O₃ і міді

Методи обробки	Закладено, шт	Незапліднені яйця, %	«Кров'яне кільце», %	Завмерлі, %	Задохлики, %	Слабкі та каліки, %	Вивід курчат, %	Виводимість яєць, %
Род-айленд червоний								
Формальдегід	1500	11,1	6,2	1	4,2	0,9	76,6	86,2
Композиція «штучна кутикула»	1500	12,3	1,1	0,1	0,1	0,2	86,2	98,3
Полтавська глиняста								
Формальдегід	1500	16	12,3	2,5	6,1	1	62,1	74,0
Композиція «штучна кутикула»	1500	17,9	2,3	0,6	1,6	0,2	77,4	94,3
Бірківська барвиста								
Формальдегід	1400	9,9	3,8	1,9	2,3	0,2	81,9	90,9
Композиція «штучна кутикула»	1400	9,1	1,1	0,3	1,3	0,1	88,1	97,2

Таблиця 3.34

**Рівень мікробної контамінації інкубаційних яєць курей протягом інкубації
(МПА, КУО), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Дослід		Методи обробки	
		Пара формальдегіду	Композиція: хітозан, НОК, TiO ₂ , Fe ₂ O ₃ , H ₂ O ₂ , CuSO ₄
Род-айленд червоний			
До обробки		267,29±7,085	
Після обробки	2 години	2,18±0,002	0,04±0,002*
	5 діб	6,05±1,006	1,02±0,001*
	11 діб	12,24±1,012	2,25 ±0,002*
	19 діб	28,36±3,008	5,15±0,005*
Полтавська глиняста			
До обробки		248,15±11,024	
Після обробки	2 години	2,62±0,001	0,06±0,001*
	5 діб	11,57±0,005	0,35±0,001*
	11 діб	26,72±3,019	2,92±0,011*
	19 діб	35,27±3,026	4,55±0,001*

Примітка. * – $p < 0,05$

На підставі проведених досліджень нами встановлено, що оптимальний якісний та кількісний склад композиції для утворення на поверхні шкаралупи інкубаційних яйця курей захисного покриття «штучна кутикула» забезпечує найвищі показники виводимості (в залежності від породи / кросу птиці) повинен бути таким:

Співвідношення компонентів, мас. %:

Хітозан кислоторозчинний (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій

кислоті 3,0. Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)

0,1-3,0

Діоксид титану (TiO ₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм)	0,1-3,0
Жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F ₂ O ₃)	0,1-3,0
Пероксид водню (H ₂ O ₂)	0,5-5,5
Сульфат міді (CuSO ₄)	1,0-2,5
Пом'якшувач води	0,1
Мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
Вода	решта

Таким чином, створено оптимальний склад композиції для утворення «штучної кутикули» «*ARTICLE*» в розробленій автором біоміметичній технології захисту інкубаційних яєць курей з використанням нанокompatитів хітозану, надоцтової кислоти, пероксиду водню, фотокаталітичних часток діоксиду титана, оксиду заліза (III) і міді. Доведено, що використання технології «штучна кутикула» дозволяє суттєво (до 20 %) підвищувати виводимість яєць курей в залежності від породи. Суттєвою перевагою «штучної кутикули» для інкубаційних яєць є екологічна безпечність складових.

Отже, «штучна кутикула», розроблена за біоміметичним принципом, являє собою подібне за структурно-функціональними параметрами до природної кутикули яєць птиці полікомпонентне захисне покриття для відновлення та посилення бар'єрних властивостей біокерамічних структур шкаралупи і шкаралупних мембран.

Як видно з таблиці 3.35 «штучна кутикула» імітує натуральну захисну структуру пташиного яйця – природну надшкаралупну кутикулу, яка проявляє біоцидні властивості та газопроникність. Запропонованому складу препарату притаманні антибактеріальна та антивірусна, біостимулююча стосовно ембріону, що розвивається, види активності, а також оптимізація газообміну ембріона з навколишнім середовищем протягом інкубації, попередження вторинної контамінації, поліпшення процесів обміну речовин у зародка та поліпшення якості молодняка птиці.

Таблиця 3.35

**Порівняння фізіологічних функцій природної кутикули пташиного яйця куриці та «штучної кутикули»,
отриманої біоміметичною технологією «Штучна кутикула»**

Природна кутикула	«Штучна кутикула»
Структурно-морфологічні особливості	
1. Склад – глікопротеїди, мінорні кількості ліпідів, неорганічних речовин, мікроелементи	Склад – хітозан, оксиди титану, заліза, надоцтова кислота, пероксид водню, сульфат міді, мікроелементи
2. Структура – гнучка, газопроникна, пориста плівка завтовшки 3-10 мкм	Структура – гнучка, газопроникна, пориста плівка завтовшки 3-5 мкм
Функціональні особливості	
3. Адсорбція патогенів (бактерій, вірусів) на поверхні глікопротеїдів	Адсорбція патогенів (бактерій, вірусів) на поверхні хітозанової плівки
4. Електростатичне (нековалентне) зв'язування патогенів (переважно вірусів) на межах пор у плівці глікопротеїдів, що несуть заряд	Електростатичне (нековалентне) зв'язування патогенів (переважно вірусів) на межах пор у плівці хітозану, що несуть заряд
5. Руйнація патогенів, які раніше були піддані адсорбції на поверхні глікопротеїдної кутикули за участі лізоциму та ферментів-оксидаз	Руйнація патогенів, які раніше були піддані адсорбції на поверхні хітозанової плівки за участі надоцтової кислоти та хімічного окислення за реакцією Фентона (пероксид водню, діоксид титану, окис заліза)

Продовж. табл. 3.35

<p>6. Механічне руйнування природної кутикули протягом інкубації до 15-16 доби</p>	<p>Механічне та хімічне руйнування хітозанової плівки протягом інкубації до 17-19 доби під дією залишкових кількостей пероксидів та кислот та активних форм кисню (АФК)</p>
<p>7. Сприяння газообміну ембріонів, що розвиваються, та збагачення їх на кисень протягом другої половини інкубації</p>	<p>Сприяння газообміну ембріонів, що розвиваються, та збагачення їх на кисень протягом як першої, так і другої половин інкубації за рахунок часткової руйнації кальцитного шару шкаралупи яйця кислотами</p>
<p>8. Можливість використання постінкубаційних відходів шкаралупи після термічної обробки у агрономії та хімічній і біотехнологічній галузях промисловості внаслідок цілковитої екологічної безпеки</p>	<p>Можливість використання постінкубаційних відходів шкаралупи після термічної обробки у агрономії та хімічній і біотехнологічній галузях промисловості внаслідок цілковитої екологічної безпеки</p>

3.4.3. Вивчення впливу передінкубаційної технології «штучна кутикула» на розвиток ембріонів та збереженість молодняка курей

З метою вивчення впливу передінкубаційної обробки яєць композицією «штучна кутикула» на розвиток ембріонів та збереженість молодняка курей проводили досліди, в яких використовували інкубаційні яйця курей кросу Ломанн браун (1720 шт).

Інкубацію яєць курей проводили в інкубаторі Універсал-55. Маса яєць до закладання на інкубацію складала в середньому 52-56 г.

Контрольну партію яєць обробляли класичним методом – фумігацією формальдегіду, дослідну – нанесенням на поверхню шкаралупи покриття «штучної кутикули», що складалась з наступних інгредієнтів: хітозану кислоторозчинного (500 мг розчинений у суміші 2% надоцтовій кислоті (CH₃COOH конц., х.ч.(20 мл) + H₂O (80 мл), H₂O₂, TiO₂ в анатазній і рутильній формі (500 мг), жовтий залізоокисний пігмент (Fe₂O₃) (500 мг), CuSO₄.

У період дослідів враховували втрату вологи інкубаційними яйцями та живу масу ембріонів. Втрата вологи яйцем відбувається через шкаралупу, і швидкість цього процесу залежить від рівня вологості оточуючого повітря, пористості та наявності дефектів біокерамічного захисного шару.

Показник втрати вологості досліджували методом визначення втрати маси яєць.

Цей показник визначали шляхом контрольного зважування яєць перед закладкою на інкубацію, а також у період інкубації в терміни проведення їх овоскопіювання.

Втрату маси яйця визначали шляхом зважування порожнього контрольного лотка і лотка з яйцями перед закладкою в інкубатор і в контрольні дні (на сьому, одинадцяту та 18 добу).

Розраховували втрату маси за формулою: $ВМ = [(M_0 - M) / M] \times 100 \%$, де: ВМ – втрата маси яєць, %; M₀ – маса яєць до інкубації, г; M – маса яєць на момент зважування, г.

В таблиці 3.36 наведені результати дослідів щодо дії методів передінкубаційної обробки яєць курей на розвиток ембріонів протягом інкубації.

Таблиця 3.36

Динаміка втрати маси яєць протягом інкубації при різних технологіях передінкубаційної обробки, %

Термін інкубації, діб	Методи обробки	
	формальдегід (контроль)	хітозан+НОК+H ₂ O ₂ + TiO ₂ +Fe ₂ O ₃ + CuSO ₄ (дослід)
Перед закладкою на інкубацію	100	100
7	4,7	3,9
11	7,5	6,8
18	13,8	11,6

Передінкубаційна обробка яєць розробленим препаратом призвела до нормалізації показників втрати вологи яйцем в різні періоди інкубації. При використанні технології «штучна кутикула» на поверхні інкубаційного яйця утворюється тонка волого- і газопроникна плівка, яка зберігається до кінця інкубації.

«Штучна кутикула» вкриває наявні дефекти шкаралупи, вільно пропускаючи вологу і повітря в середину яєць і захищаючи їх вміст від проникнення збудників інфекції.

Використання обробки інкубаційних яєць методом фумігації формальдегідом призводить до коагуляції лізоцимної облонки шкаралупи, що, в свою чергу, призводить до оголення порових каналів надшкаралупної оболонки, і тим самим до підвищеної вологопроникності.

До закладання яєць на інкубацію і в перші дні інкубації необхідно максимально зберегти вологу в яйці, а після замкнення алантоїсу сприяти її кращому випаровуванню з яйця. Як велика (більше ніж 14 %), так і недостатня

(менш аніж 10 %) втрата маси яєць негативно впливає на розвиток ембріонів. Дуже небезпечна велика втрата маси на початку інкубації, а також мала втрата в другий період інкубації.

У перші дні інкубації зменшення запасів води в яйці погіршує умови життя зародка. При цьому знижується використання запасних поживних речовин яйця. У середині інкубації малі вологовтрати ускладнюють утилізацію продуктів розпаду з порожнини алантоїса ембріона.

Використання технології «штучна кутикула» сприяла зниженню втрати вологи яйцями в процесі їх інкубації. Дані показують, що втрата вологи дослідними яйцями на 18 добу інкубації була на 2,2 % менше в порівнянні з контрольною групою. Нанесення на інкубаційні яйця хитозанової плівки в складі «штучної кутикули» позитивно вплинуло на розвиток ембріонів курей в процесі інкубації (табл. 3.37).

В період інкубації жива маса зародка дослідної групи істотно зростала і на 17 добу була вищою на 7 % в порівнянні з контролем.

Таблиця 3.37

Динаміка живої маси ембріонів курей в період інкубації (г),

$$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$$

Доба інкубації	Групи	
	контрольна	дослідна
2	0,0072±0,00401	0,0071±0,00711
6	0,31±0,041	0,32±0,036
11	3,19±0,053	3,42±0,050*
17	24,9±0,64	26,8±0,65*

Примітка. * – $p < 0,05$

Метою наступних експериментів було встановлення впливу нового препарату для обробки інкубаційних яєць на постембріональний розвиток курчат до переводу їх в промислове стадо.

Якість добового молодняка (1400 гол.), отриманого в залежності від різних технологічних обробок робочими розчинами «штучної кутикули», оцінювали за їх живою масою, і розвитком внутрішніх органів (табл. 3.38).

Таблиця 3.38

Інтер'єрні показники якості добових курчат, отриманих різними методами передінкубаційної обробки яєць

Показники	Методи обробки	
	формальдегід (контроль)	хітозан+НОК+H ₂ O ₂ + TiO ₂ +Fe ₂ O ₃ + CuSO ₄ (дослід)
Жива маса молодняка	38,5 ± 0,63	40,2 ± 0,81
Відносна маса у % до маси яйця	67	70
Маса тіла без остаточного жовтка, %	60	63
Маса у % від маси тіла:		
остаткового жовтка	16	16
фабрицієвої сумки	0,15	0,15
печінки	2,8	2,9
Вміст у жовточному міхурі,мкг/г:		
вітамін А	110,0±2,6	115,0±2,5
каротиноїдів	16,46±0,441	17,26±0,460
вітамін В ₂	2,71±0,180	2,83±0,201
Вміст в печінці, мкг/г		
вітамін А	320,0±6,3	334,0±6,4
вітамін В ₂	22,41±0,632	23,65±0,643
вітамін Е	340,0±6,6	351,0±6,8

Примітка. p<0,05

Так, середня жива маса добових курчат в дослідній групі, при передінкубаційній обробці котрої була використана технологія «штучної кутикули», склала 40,2 г, що на 4,2 % більше, ніж у контрольній (див. рис. 3.38).

Маса залишкового жовтка з жовтковим мішком у курчат добового віку в дослідній групі відповідно була на 4,5 %; печінка – на 7,6 %; фабрицієва сумка на – 5,0 % більше, в порівнянні з контролем.

Вміст вітамінів А, В₂, каротиноїдів в жовточному міхурі та печінці добових курчат контрольних груп були в межах фізіологічної норми.

Дещо вищим їх вміст було відзначено в дослідній групі, яйця котрої перед інкубацією обробляли розчином хітозану.

Так, вміст вітаміну А в желточному міхурі був на 4,3%; вітаміну В₂ – 4,2 %; і каротиноїдів на 4,6 % більше, порівняно з контрольною групою.

Відзначено тенденцію до підвищення вмісту вітамінів і каротиноїдів у печінці добових курчат.

Спостерігали збільшення вмісту вітаміну А на 4,2 %; В₂ – на 5,2 % і вітаміну Е – на 3,1 % відносно контрольної групи.

Таким чином, використання технології «Штучна кутикула» для передінкубаційної обробки яєць позитивно вплинула на обмінні процеси організму ембріонів.

Достатній вміст вітамінів і каротиноїдів в желточному міхурі і печінці говорить про те, що під час інкубації в організмі ембріонів дещо краще відбувалися окислювально-відновні процеси, що забезпечують нормальний ріст, розвиток і функціонування органів.

Цьому свідчить достовірне збільшення живої маси добових курчат і їх внутрішніх органів.

Для вивчення динаміки росту молодняка курей відбирали життєздатних добових курочок без дефектів розвитку.

Курчат вирощували в однакових умовах на сітчастій підлозі з використанням комплексу обладнання ЦБК-12А. Протягом дослідного періоду молодняк курей щомісяця зважували.

Збереженість молодняка спостерігали протягом 140 діб, враховуючи причини загибелі птиці.

Результати динаміки росту представлені в табл. 3.39.

Таблиця 3.39

Динаміка живої маси молодняка курей, отриманого різними методами передінкубаційної обробки яєць (г), $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Вік, діб	Групи	
	контрольна	дослідна
1	38,5±0,32	40,2±0,36
30	200,9±3,41	215,6±3,90
60	516,6±6,80	537,2±6,51
90	912,6±11,83	936,2±9,60
120	1144,5±14,21	1178,5±14,61
140	1322,8±17,53	1365,8±15,37

Примітка. $p < 0,05$

Жива маса молодняку дослідних груп в 30-денному віці була на 6,8%, в 60 денному – на 3,8 %; в 90 денному – на 2,5 %; і в 140-денному віці на 3,1 % більше, ніж відповідно у контрольній.

Загибель молодняка відбувалася від хвороб неінфекційного походження.

Обробка передінкубаційних яєць розчином хітозану справила позитивний вплив на збереженість і діловий вихід молодняку (табл. 3.40).

В дослідній та контрольній групах постановочне поголів'я складало по 346 голів в кожній.

За час спостереження в контрольній групі збереженість курчат дослідної групи склала – 94,2 %, що на 2,9 % вище, ніж у контрольній ($p < 0,05$).

Таблиця 3.40

**Збереженість і діловий вихід молодняку курей за період вирощування
до 140 денного віку**

Вік, діб	Збереженість поголів'я у групах			
	контрольні		дослідні	
	голів	%	голів	%
1	346	100	346	100
30	331	95,7	338	97,6
60	328	94,8	331	95,6
90	324	93,6	328	94,7
120	319	92,2	326	94,2
140	316	91,3	326	94,2
За період вирощування				+ 2,9

Подальші дослідження показали, що витрати кормів на вирощування курчат з добового до 140-денного віку багато в чому залежить від якості отриманого молодняку.

Данні табл. 3.41 показують, що курчата дослідної групи добового молодняку і до 140-денного віку переважали своїх ровесниць контрольної групи за живою масою і за загальним розвитком.

Це сприяло кращому засвоєнню корму. Витрати корму на одну голову і на 1 кг приросту в дослідній групі були відповідно на 5,2 і 8,1 % нижче, ніж у контрольній.

За період вирощування витрати обмінної енергії і сирого протеїну на 1 голову і на 1 кг приросту знижувалися відповідно до витрат корму.

У порівнянні з контролем використання обмінної енергії на одну голову в дослідній групі зменшилися на 6,0 %, а на 1 кг приросту – на 9,0.

Таблиця 3.41

Витрати на вирощування молодняка за період від 1 - 140 діб

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Витрати корму, кг:		
на 1 голову	9,34	8,86
на 1 кг приросту	7,26	6,67
Витрати обмінної енергії, МДж:		
на 1 голову	105,63	99,30
на 1 кг приросту	82,18	74,75
Витрати сирого протеїну, г:		
на 1 голову	1596	1501
на 1 кг приросту	1241	1130

Витрати сирого протеїна на 1 голову за період вирощування курчат дослідної групи зменшились на 5,9 %, а на 1 кг приросту – на 8,9%.

3.4.4. Визначення корозійної активності «штучної кутикули»

У інкубаторіях широко використовують технологічне устаткування та складові інфраструктури з таких металів, як алюміній та нержавіюча сталь. Зрозуміло, що всі хімічні засоби, що використовуються в інкубаторіях, не повинні призводити до вираженої корозії металевих поверхонь технологічного устаткування господарств.

Корозія металевих поверхонь, обумовлена дією на них дезінфікуючих засобів, діючими речовинами котрих є окислювачі органічної і неорганічної природи.

Внаслідок зазначеної дії поверхня обладнання інкубаторів стає нерівною, шорсткуватою та сприятливою для затримання забруднення. В результаті ефективність дії дезінфекційних засобів значно зменшується.

Проведені дослідження ступеня корозійної активності водних робочих розчинів «штучної кутикули» щодо поверхонь зразків алюмінію технічної чистоти (А6) та нержавіючої сталі марки 12Х18Н10Т.

Аналіз даних, наведених в таблицях 3.42, 3.43 і 3.44 свідчить про те, що всі досліджені концентрації робочого розчину «штучної кутикули» виявляють незначну корозійну активність на зразки алюмінію та нержавіючої сталі, порівняно з еталоном (2 % розчином NaOH).

Таблиця 3.42

Ступінь корозійної дії водного робочого розчину «штучна кутикула» на зразки алюмінію та нержавіючої сталі

Назва речовини	Концентрація речовини, %	Вид металу					
		Алюміній			Нержавіюча сталь		
		Початкова маса зразків, г	Маса зразків через 100 годин, г	Різниця маси зразків до і після дослідів, Δm , г	Початкова маса зразків, г	Маса зразків через 100 годин, г	Різниця маси зразків до і після дослідів, Δm , г
«Штучна кутикула»	0,5	3,85311	3,85289	0,00022	3,45556	3,45551	0,00005
	1,0	3,22946	3,22932	0,00014	3,92231	3,92229	0,00002
	1,5	4,13106	4,13090	0,00016	3,37441	3,37436	0,00005
	2,5	5,84886	5,84853	0,00033	3,44756	3,44750	0,00006
Натрідкий (NaOH)	2,0	5,01806	1,26376	3,7543	3,05106	3,05092	0,00014

Ступінь корозійної активності (Δm) визначали за зовнішнім виглядом проб та втратою їх маси, поділивши різницю маси зразків до та після дії випробовуваних хімічних речовин на загальну площу кожного із зразків.

Таблиця 3.43

**Зменшення маси зразків металів (К) під дією водного робочого розчину
«штучна кутикула» через 100 годин.**

Назва речовини	Концентрація речовини %	Вид металу			
		алюміній		нержавіюча сталь	
		К = $\Delta m/s^*$, г/м ²			
		г/м ²	%	г/м ²	%
«Штучна кутикула»	0,5	0,2750	0,0083	0,0460	0,0020
	1,0	0,1750	0,0059	0,0154	0,0011
	1,5	0,1681	0,0055	0,0527	0,0019
	2,5	0,2292	0,0069	0,0625	0,0023
Натр їдкий (NaOH)	2,0	2437,85	76,53	0,1474	0,0048

Примітка. * – Δm – різниця маси зразків до та після досліджень;
 s – площа зразка, м²

Відносну корозійну активність (А) різних концентрацій робочого розчину «штучної кутикули» визначали у порівнянні з еталонною речовиною – лужним корозійноактивним розчином натру їдкого (2 %).

Доведено, що корозійна активність робочого розчину «штучної кутикули» на метали у відсотковому співвідношенні для алюмінію становить:

при дії 0,5 % розчину – 0,0083 %, що в 956279 разів нижче у порівнні з 2 % розчином NaOH;

при дії 1 % розчину – 0,0059 %, що в 1159437 разів нижче у порівнні з 2 % розчином NaOH;

при дії 1,5 % розчину – 0,0055 %, що в 1443402 разів нижче у порівнні з 2 % розчином NaOH;

при дії 2,5 % розчину «штучної кутикули» – 0,0069 %, що в 1093115 разів нижче, порівняно з 2 % розчином NaOH.

Дослідженнями встановлено, що втрата маси зразків з нержавіючої сталі у відсотковому співвідношенні відповідає:

при дії 0,5% розчину «штучної кутикули» – 0,0020%, що в 237,0 рази нижче у порівнянні з 2 % розчином NaOH;

при дії 1% розчину – 0,0011%, %, що в 496,0 рази нижче у порівнянні з 2 % розчином NaOH;

при дії 1,5% розчину – 0,0019%, що в 253,1 рази нижче у порівнянні з 2 % розчином NaOH;

при дії 2,5% розчину «штучної кутикули» – 0,0023 %, що відповідно в 194,5 рази нижче, у порівнянні з 2 % розчином NaOH.

Таблиця 3.44

Відносна корозійна активність водного робочого розчину «штучна кутикула» у порівнянні з препаратом-еталоном (NaOH)

Назва речовини	Концентрація речовини, %	Вид металу	
		алюміній	нержавіюча сталь
		відносна корозійна активність розчину «штучна кутикула» $A = K_e / K_{np}^*$	
Робочий розчин «штучної кутикули»	0,5	8863,8	3,17
	1,0	13931,4	9,15
	1,5	14500,1	2,70
	2,5	10629,1	2,21

Примітка. * – K_e – показник корозії речовини-еталону;

K_{np} – показник корозії речовини, яка досліджується

Отже, водний робочий розчин «штучної кутикули» при нанесенні на пластинки алюмінію та нержавіючої сталі обумовлює незначні корозійні пошкодження і залишає поверхні металів практично непошкодженими. Зважаючи на те, що органічні пероксидні сполуки і надоцтова кислота зокрема, є корозійноактивними речовинами, хітозан, що входить до складу «штучної кутикули» забезпечує захисну дію шляхом пасивування поверхні металів.

3.4.5. Визначення залишків «штучної кутикули» на поверхнях обладнання інкубаторію у виробничих умовах

Для визначення залишкових кількостей «штучної кутикули» та її окремих хімічних складових на поверхнях інкубаційних та вивідних лотків проведено експерименти з обробки партії інкубаційних яєць курей Ломанн браун.

Для цього 144 яйця розмістили у лотку і обробили водним робочим розчином «штучної кутикули», як зазначено у Розділі 2, з наступним змиванням залишків препарату через 12 годин підігрітою до 60-80 °С водою.

Встановлено, що змивання водою, температура якої становить +60-80 °С при тиску 0,4 МПа та витратах 2 л/м² забезпечує повне видалення складових «штучної кутикули» з поверхонь інкубаційних лотків.

3.4.6. Економічна ефективність застосування технології «штучна кутикула» при інкубації яєць курей

Виробничі випробування, які проведені в птахогосподарствах Сумської, Чернігівської області та в Республіці Білорусь, показали ефективність використання запропонованої інноваційної технології передінкубаційної обробки яєць курей. Контрольну партію яєць обробляли фумігацією формальдегідом, дослідну – методом обприскування композицією «штучна кутикула», що складалась з розчину хітозану, НОК, TiO₂, Fe₂O₃, пероксиду водню, CuSO₄.

Економічну ефективність визначали за методикою, що надана в довіднику «Методика определения эффективности использования в сельском хозяйстве результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ, новой техники, изобретений и рационализаторских предложений» [105].

Розрахунки економічної ефективності застосування передінкубаційної технології «штучна кутикула» представлений в таблиці 3.45.

Таблиця 3.45

Економічна ефективність від застосування технології «штучна кутикула» при інкубації яєць курей

Показники	Методи обробки яєць курей різних порід та кросів						Методи обробки (в загальному по породам і кросам)	
	Род-Айленд червоний		Полтавська глиняста		Бірківська барвиста			
	базовий	пропонований	базовий	пропонований	базовий	пропонований	базовий	пропонований
Закладено на інкубацію яєць, шт.	1500	1500	1500	1500	1400	1400	4400	4400
Вивід курчат, %	76,6	86,2	62,1	77,4	81,9	88,1	73,5	83,9
Отримано курчат, гол.	1149	1293	932	1161	1147	1233	3234	3692
*Ринкова вартість курчат, грн. / гол.	10	10	10	10	10	10	10	10
Загальна вартість, тис. грн	11490	12930	9320	11610	11470	12330	32340	36920
Отримано продукції (ділових курчат) на 1000 яєць, грн	7660,0	8620,0	6213,0	7740,0	8192,8	8807,1	7350,0	8390,9
**Витрати на обробку 1000 шт. яєць, грн	156,8	1,56	157,8	1,56	157,8	1,56	157,8	4,70
Прибуток, грн	750,23	8618,4	6055,2	7738,0	8035,0	8805,5	7192,2	8389,3
Додатковий економічний ефект від іновацій, грн	-	1115,2	-	1683,3	-	770,6	-	1192,1

Примітка. * – середня ринкова вартість курча, без врахування генотипу та статі; ** – з урахуванням вартості препаратів та витрат передінкубаційну обробку

Аналіз економічної ефективності використання розробленої композиції «штучна кутикула» для передінкубаційної обробки яєць курей показав, що в дослідній групі отримано продукції з розрахунку на 1000 яєць в 1,2 рази більше в порівнянні з контролем.

Прибуток в групі, де використовували передінкубаційну обробку яєць хітозаном збільшився в 1,5 разів. Додатковий економічний ефект на 1000 шт. яєць склав 1192,1 грн.

В таблиці 3.46 подані розрахунки економічної ефективності при вирощуванні курочок в залежності від застосування різних технологій передінкубаційної обробки яєць.

Таблиця 3.46

Економічна ефективність при вирощуванні курочок в залежності від застосування технології передінкубаційної обробки яєць

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Поставлено на вирощування курочок, гол.	346	346
Передано в 140 днів у промислове стадо, гол.	316	326
Витрати на обробку, грн*	155,2	1,18
Середня вартість молодки, грн./гол.	55	
Отримано продукції, тис. грн	17380	17930
Економічний ефект на постановочну голову, грн	50,2	51,8
Економічний ефект на 1000 курочок добового віку, грн; +/- дослід до контролю, грн	50200	51800 1600

*Примітка. * – Витрати з урахуванням виводимості інкубаційних яєць, виводу курчат, сортуванням за статтю*

Розрахунки економічної ефективності при вирощуванні курочок у залежності від застосування технології передінкубаційної обробки яєць показав, що розроблена технологія з використанням передінкубаційної обробки яєць курей «штучною кутикулою» позитивно впливає на збереженість та вихід кондеційного молодняка.

Економічний ефект був одержаний за рахунок підвищення виводимості яєць, збереженості молодняка і дорослої птиці, а також зменшення затрат праці, скорочення витрат на зооветеринарні заходи, такі як очищення та дезінфекція, а також на притбання лікувальних препаратів, зниження епідеміологічної напруженості, підвищення виходу і якості ділових молодок.

На підставі проведених досліджень встановлено, що застосування обробки яєць препаратом «штучна кутикула» перед інкубацією є більш ефективним: значно зменшує ембріональну патологію, підвищує вивід здорових курчат із числа запліднених яєць, збереженість молодняка та вихід кондиційних молодок. Проведення комплексних зооветеринарних та санітарних заходів із застосуванням „штучної кутикули” дозволило в значній мірі поліпшити ефективність існуючих зооветеринарних заходів.

Додатковий економічний ефект при застосуванні технології «штучна кутикула» складає 1600 грн у розрахунку на 1000 курочок добового віку.

Підсумовуючи матеріал, поданий в підрозділі 3.4. «Оптимізація технології «штучна кутикула» до потреб сучасного практичного птахівництва» можна зробити наступні висновки:

1. Підібраний оптимальний склад композиції для утворення «штучної кутикули» в розробленій автором біоміметичній технології захисту інкубаційних яєць курей з використанням нанокompatитів хітозану, надоцтової кислоти, пероксиду водню, фотокаталітичних часток діоксиду титана і оксиду заліза (III) і міді. Доведено, що використання технології «штучна кутикула» дозволяє суттєво (до 20%) підвищувати виводимість яєць курей в залежності від породи. Суттєвою перевагою «штучної кутикули» для інкубаційних яєць є екологічна безпечність складових.

2. Експериментально доведено, що застосування технології «штучна кутикула» на основі кислоторозчинного хітозану для передінкубаційної обробки яєць стимулює розвиток ембріонів курей, забезпечує збереженість молодняку (на 14,2 %).

2. Дослідженнями корозійної дії робочого розчину «штучної кутикули» на нержавіючу сталь доведено, що втрата маси зразку сталі при нанесенні 1,0 % розчину у 459,3 рази нижча у порівнянні з 2 % розчином гідроксиду натрію.

3. Експериментально встановлено, що змивання водою (60-80⁰С) при тиску 0,4 МПа та витратах 2 л/м² забезпечує повне видалення складових «штучної кутикули» з поверхонь інкубаційних лотків.

Матеріали підрозділу 3.4. опубліковано в статтях: [45, 48, 51, 53, 57, 78, 424]. За матеріалами даного підрозділу розроблено і видано чотири методичні рекомендації [69, 81, 103, 149], шість патентів [120-125].

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Якість яєць, призначених для інкубації – найважливіший показник для достовірного прогнозування виводимості і життєздатності потомства. На якість яєць впливають різні санітарно-гігієнічні фактори: годівля й умови утримання птиці, мікроклімат пташника, устаткування гнізд тощо.

Підвищення продуктивності сільськогосподарської птиці, в першу чергу яєчних кросів курей, негативно корелює з погіршенням бар'єрних функцій біокерамічних кальцитних шарів яєчної шкаралупи і поверхневої глікопротеїнової плівки кутикули, яка являє собою першу «захисну лінію» яйця птиці. Послаблення бар'єрних функцій, в свою чергу є важливим чинником, який сприяє підвищенню захворюваності курей на небезпечні інфекційні хвороби, спричинені бактеріальними і вірусними агентами. Санітарно-гігієнічним нормами передбачено використання дезінфікуючих препаратів для обробки устаткування, обладнання, приміщень як для утримання птиці, так і інкубаторію. Немаловажним фактором є дезінфекція яєць перед закладкою на інкубацію. Для передінкубаційної обробки яєць запропоновано чимало фізичних (теплова обробка, аероіонізація, ультразвук і лазерне опромінення) і хімічних (формалін, антибіотики, пероксид водню, йодисті сполуки, пероксиди, до яких належить «*Virkon-S*», похідні четвертинних амонійних сполук тощо) методів санації. Ринок України представлений широким асортиментом засобів дезінфекції як вітчизняного так і зарубіжного виробництва. Однак не всі вони, в силу багатьох причин, можуть бути використані на об'єктах птахівництва і безпосередньо для передінкубаційної обробки яєць. Багато робіт присвячено вивченню дії різних дезінфектантів на розвиток курячих ембріонів [10, 11, 72, 85, 118, 139, 156, 354, 485]. Так, формальдегід руйнує зовнішню оболонку яйця і проявляє виражену канцерогенну активність [5, 9, 168]. Обробка яєць у розчинах антибіотиків під

вакуумом не ефективна. Пероксид водню і аерозолі йодистого алюмінію ефективно знищують мікрофлору на поверхні яєць, але інактивують природні захисні механізми захисту ембріонів – лізоцимну оболонку шкаралупи курячого яйця [156].

Claudio Fernández Cardoso (2011) пропонує використувати перекис водню, якому притаманна біоцидна активність, як у вигляді окремої речовини, так і у сумішах, до складу яких входять іони або частки деяких металів та їх оксидів [417].

Надоцтовій кислоті притаманна потужна окислювальна та біоцидна активність, але дана речовина досить летюча і швидко піддається деструкції, що не виключає вторинної контамінації оброблених поверхонь. Крім того, НОК відноситься до кола корозійно-активних речовин [282]. Однак, відомі композиції для проведення дезінфекції на основі надоцтової кислоти, як недорогої, малотоксичної екологічно безпечної біоцидної речовини, ефективною у широкому діапазоні температур навіть щодо спорових форм мікроорганізмів (РЗ-оксоній актив (ЕКОЛАБ), *DIVOSAN AKTIV*, Неосептал – РЕ, КРІОДЕЗ, АКВАдез-НУК).

Аналіз літератури свідчить про те, що оптимальними дезінфектантами для передінкубаційної обробки яєць служать препарати на основі поверхнево активних речовин, а саме полімерних четвертинних амонієвих сполук (ЧАС). Ці препарати використовуються як за рубежом, так і в нашій країні. До них належать: декаметоксин, Катамін АБ, Пербаксан, препарати групи ВВ, Атм-Арома, *CID 20*, *Virocid* тощо. Дані препарати використовують як дезінфектанти та антисептики для санації приміщень. Вони мають виражену бактерицидну, бактеріостатичну, фунгіцидну та віруліцидну активність та проявляють пролонговану дію, що важливо для проведення заходів неспецифічної профілактики хвороб птиці. Ці сполуки менш токсичні і агресивні до металів, але вони не є екологічно безпечними внаслідок великої стійкості щодо деструктивної дії корисної мікрофлори довкілля [65, 88, 142, 168].

Нашими роботами було встановлено механізм біоцидної дії діючої речовини препаратів на основі четвертинних амонієвих сполук – алкілтриметил амонію. АТМ входить до складу багатьох дезінфектантів як вітчизняного так і зарубіжного походження. Було проведено ряд досліджень щодо дії препаратів АТМ-Арома (виробництва РФ), *CID 20* та *Virocid* (виробництва *CID LINES*, Бельгія) на захисні бар'єри курячого яйця (шкаралупу та шкаралупні оболонки). В досліджах використовували скануючи електронну мікроскопію та біологічну мас-спектрометрію.

«ВВ-1» і «АТМ-Арома», як представникам дезінфектантів з групи катіоногенних ЧАС, притаманний потужний протибактеріальний та противірусний, зокрема по відношенню до вірусу хвороби Марека, ефект [2, 18, 24, 75, 99, 110, 145]. Проте, механізм захисної та біоцидної дії дезінфектанту глибоко не вивчений. Так, невідома структура захисної плівки ЧАС, яка утворюється на поверхні кутикули яйця. Виходячи з цього, метою наших дослідження було встановлення морфологічних особливостей захисної плівки, яку утворюють на поверхні інкубаційних яєць дезінфектанти на основі ЧАС («ВВ-1» і «АТМ-Арома»), в порівнянні з дезінфектантами іншої хімічної природи, що використовуються в сучасному промисловому птахівництві: «*Virkon-S*» (*Altec International Ltd, England*), метацид (полігексаметиленгуанідингідрохлорид) $[C_7H_{16}N_3Cl]_n$, формальдегід та глутаральдегід кваліфікації х.ч., а також біоцидні сполуки: алкілтриметиламоній- Ap^+ ; де Ap^+ – галогени, або інші аніони (АТМ)). Оброблену дезінфектантами шкаралупу курячого яйця аналізували растровою електронною мікроскопією («РЕММА-102», ВАТ *SELMI*, Суми, Україна). Проби для аналізу готували за методикою Г. Шиммель [162].

Таким чином, було досліджено морфологічні особливості тонкошарових захисних плівок, сформованих на поверхні інкубаційних яєць курей дезінфектантами пролонгованої дії на основі водорозчинних четвертинних амонієвих сполук.

Доведено здатність ЧАС ущільнювати та зміцнювати поверхневу оболонку яйця – кутикулу, що є вельми важливим в світлі досліджень Sparks [504], який довів можливість перетинання патогенними бактеріями шарів шкаралупи за умов попереднього пошкодження кутикули.

Встановлено, що покриття інкубаційного яйця розчином препарату на основі четвертинних амонієвих сполук («ВВ-1» та «АТМ-Арома»), а також діючою речовиною цих препаратів – АТМ, утворює на поверхні шкаралупи щільний шар плівки завтовшки 0,05-15-20 мкм, вкритий звивистими утвореннями – шпаринами різної форми та глибини, що захищає від проникнення патогенної мікрофлори, але, разом з тим, утруднює надходження газів в середину яйця в зону розвитку ембріона.

Показана наявність залежності тонкої структури плівок дезінфектантів, які формуються під час висихання водного розчину дезінфектанту на поверхні інкубаційного яйця, від хімічної природи домішок: біоцидних сполук (іонів Ag^+ , ароматизаторів) до основного інгредієнту – алкілтриметиламонію (АТМ). Подальший розвиток дезінфектантів на основі четвертинних амонієвих сполук пов'язаний зі створенням комбінованих препаративних форм, що являє собою змішування ЧАС з різними біологічно-активними та біоцидними сполуками як синтетичного, так і природного походження (солями металів, похідними полісахаридів, окислювачами, хелатуючими речовинами, гідролітичними ферментами, біоактивними пептидами, антибіотиками, рослинними екстрактами). Останнє можливе тому, що ЧАС можуть слугувати диспергаторами для зазначених речовин.

Результати наших досліджень збігаються з результатами досліджень таких вчених, як А. Н. Виєвського [66], І. Л. Горелика, [75], І. Сахацького [138], Є. А. Самохіної [135], О. М. Якубчака [168].

Характер впливу на нативну надшкаралупну кутикулу дезінфектантів на основі альдегідів, полігексаметиленгуанідингідрохлориду та пероксидних сполук не дозволяє рекомендувати їх для широкого використання в

промислового птахівництва для обробки інкубаційних яєць без попередньої модифікації хімічного складу зазначених препаратів.

Щодо препарату «*Virkon-S*», який містить пероксидні сполуки, котрим притаманна потужна біоцидна дія, яка не поступається формальдегіду, сполукам йоду і хлору, лугам тощо. Механізм біоцидної дії зазначених сполук зводиться до утворення в процесі обробки надактивних форм кисню, котрі руйнують органічні та неорганічні матеріали, піддаючи їх швидкому окисленню. Дійсно, що обробка інкубаційних яєць препаратом «*Virkon-S*» руйнує кутикулу повністю, оголяючи неорганічний матрикс шкаралупи. Таким чином, за нашими даними «*Virkon-S*» має використовуватись для дезінфекції інкубаційних яєць з певною пересторогою. Але, за умов модифікації хімічного складу препаратів зазначеної групи, яка полягає в зменшенні деструкуючого впливу пероксидів на біокерамічний захисний бар'єр яйця, дезінфектанти, що поєднують пероксиди і ЧАС, наприклад дезінфектанти «*CID-20*» і «*VIROCID*» (*CID Line*, Бельгія), мають блискучі перспективи у птахівництві.

Подальшими роботами модифікували АТМ біоактивними хімічними речовинами, зокрема рослинними екстрактами. Було розроблено біоміметичну технологію «*ARTICLE*» («*ARTificial cutiCLE*»), котра полягає в утворенні на поверхні інкубаційного яйця захисної квазитвердофазової плівки з суміші штучних і природних матеріалів, яка має бактерицидні властивості, а також регулює рівень газопроникності біокристалічних захисних структур яйця. Зазначена технологія надає можливість програмувати ступінь газопроникності біокристалічних шарів шкаралупи яйця протягом періоду інкубації. До складу зазначеної плівки передбачене введення біоцидних субстанцій і біологічно-активних речовин (БАР) для поліпшення параметрів метаболізму ембріонів.

Ключовою ланкою технології «штучна кутикула» 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. Показано, що найбільш оптимальними в аспекті біоміметичного моделювання фізико-хімічних параметрів, притаманних природній захисній кутикулі пташиних яєць, є плівки, утворені з матриксної речовини ЧАС (АТМ) в суміші з рослинним екстрактом (РЕ), надоцтовою кислотою (НОК) і металізованими ліпідами, піддані обробці ультразвуком та нанесені на поверхню яйця методом зрошення.

За допомогою растрової електронної мікроскопії було вивчено механізм дії «штучної кутикули». Встановлено, що модифікований препарат викликає перерозподіл зарядів на поверхні плівки, який обумовлює підвищення величини заряду на крайових поверхнях мікротріщин і надає «штучній кутикулі» здатність затримувати мікроорганізми, розміри яких значно менші за діаметр мікротріщин унаслідок дії електростатичних сил. Базуючись на цьому, було розроблено модифіковані суміші для одержання «штучної кутикули», до складу яких входять водорозчинні ЧАС (алкілтриметиламоній-хлорид, алкілдиметилбензиламоній-хлорид (АДМБ), дидецилдиметилбензиламоній-хлорид (ДДМБ), рослинний екстракт (РЕ) і надоцтова кислота (НОК), яким властива виражена біоцидна активність, що зберігається протягом проміжку часу до 25-30 діб. Надоцтова кислота незалежно від хімічної природи ЧАС розпушує кристалічну кальцитну структуру шкарлупи, що полегшує газообмін ембріона протягом розвитку.

Таким чином, препарати на основі сумішей ЧАС, рослинних екстрактів і пероксидів, зокрема надоцтової кислоти, є досить перспективними, оскільки ЧАС утворюють на поверхні шкарлупи «штучну кутикулу», що попереджає вторинну контамінацію, а пероксидний компонент просочує неорганічний матрикс, забезпечуючи надійну санацію останнього від патогенної мікрофлори, а також значно полегшує процеси дифузії газів (ДДМБ + НОК + РЕ – на 7,1%). Рослинний екстракт знижує деструктивну активність надоцтової кислоти та препарату *Virkon S* щодо біокерамічного шару шкарлупи.

Дослідженнями встановлено, що оптимальний склад плівкоутворювальної суміші для отримання «штучної кутикули» наступний: алкілдиметилбензиламоній-хлорид (АДМБ) + надоцтова кислота + рослинний екстракт).

В подальшому було сконструйовано штучне захисне покриття для інкубаційних яєць з використанням в якості базової матричної речовини природного екологічно безпечного хітозану. Є відомості, що хітозан використовують для тривалого зберігання харчових яєць. Для цього на поверхні яйць шляхом обприскування водним розчином хітозану (1%, рН 5,0) утворюють плівку, яку відразу ж піддають радіаційній обробці (2,0 кГр). Даний метод передбачує нанесення на яйце покриття значної товщини [551].

Cenzig Caner, 2007, для підвищення якості харчових яєць та поліпшення якості шкаралупи пропонує спосіб покриття останніх плівкою, що містить хітозан, розчинений у молочній кислоті.

Нашими дослідженнями було встановлено, що захисна плівка для інкубаційних яєць повинна бути тонкою, волого- та газопроникно і нетоксичною для ембріона. З цією метою доцільно використовувати кислоторозчинний хітозан у концентраціях 0,1-3,0. Показник кислотності розчину (рН) не перевищує 3,0. У нашому випадку використання молочної кислоти є недоцільним, оскільки зазначена речовина погіршує газопроникність яєць.

Наступними роботами ми ускладнювали базову матричну речовину «штучної кутикули» і сконструювали штучне захисне покриття для інкубаційних яєць з використанням наночасток TiO_2 та органічної матричної речовини (хітозан), пероксидних сполук (НОК), БАР рослинного та штучного походження, речовин, що підсилюють процеси транспорту органічних і неорганічних сполук через шкаралупу і шкаралупні мембрани [15-18, 25-58], амінокислот, речовин, багатих на енергію (креатинфосфат), рослинних терпенів (евкаліптове масло) і мікроелементів. Принципово важливим є те, що покрокове ускладнення базової матричної речовини (хітозану і сполук

четвертинного амонію (ЧАС) призводило до підвищення виводимості як за рахунок стимуляції обміну речовин ембріону БАР (в особливості за використання «енхансерів» – стимуляторів їх трансшкаралупного перенесення – ДМСО, терпенів та циклодекстрину) так і внаслідок модифікації біокристалічного шару шкаралупи, обумовленої загалом дією НОК, яка поліпшує газопроникність, і утворенням на зовнішній поверхні яйця шару нанокompозитного захисного покриття (хітозан/ЧАС), що являє собою типову систему контрольованого постачання БАР ембріонові (*Control Release System*) [135]. Є. А. Самохіна запропонувала загальну формулу для спрямованого конструювання біоміметичних захисних покриттів для інкубаційних яєць курей з використанням, зокрема нанокompозитів хітозану і фотокаталітичних часток діоксиду титана TiO_2 . Формула має такий вигляд: матрична речовина (X) + кислоти/пероксидні сполуки (Y_1) + фотокаталітичні ультрадисперсні/наночастки металів (оксидів металів) (Y_2) + БАР рослинного і синтетичного походження (Y_3) + мікроелементи (Y_4) + речовини, багатих на енергію/стимулятори метаболізму (Y_5) + амінокислоти/компоненти нуклеїнових кислот/ліпіди (Y_6) + енхансери (посилювачі швидкості трансшкаралупного переносу органічних і неорганічних сполук) (Y_7).

Варіювання якісних і кількісних інгредієнтів штучної кутикули базового складу надає можливість проведення оптимізації цієї технології щодо інкубаційних яєць різної якості та різного генезису. Через велику вартість зазначеного препарату, нашими роботами було спрощено його склад і сконструйовано штучне захисне покриття для інкубаційних яєць з використанням наночасток Fe_2O_3 та органічної матричної речовини – хітозану. Доведено, що нанесення водних розчинів, які містять зазначені складові «штучної нанокутікули» на поверхню інкубаційних яєць призводить до утворення на поверхні біокерамічного захисного шару захисної бактерицидної, вологоутримуючої та газопроникної плівки завтовшки 10-30 мкм, внаслідок міжфазових переходів «рідина-золь-гель-тверда фаза».

Нами встановлено, що механізм біоцидної дії препарату «штучна кутикула» є комплексним і обумовлений сумісною дією НОК як потужного окислювача, хітозану і діоксиду титану в ультра-, нанодисперсній формі. У якості базового компонента препарату використовується природний біополімер хітозан – похідне хітину надзвичайно поширеного у природі матеріалу покривів ракоподібних і комах. Хітозану притаманна біоцидна властивість щодо патогенної мікрофлори і він є нетоксичною, екологічно безпечною речовиною [47]. Хітозан у якості матричного газопроникного матеріалу забезпечує пролонгований (до 20 діб) ефект. Виробничими дослідженнями було встановлено, що використання даної технології «*Fe_ARTICLE*» дозволяє суттєво (на 3,8-9,3 %) підвищувати виводимість яєць курей.

В подальших роботах було проведено комбінування основної матричної речовини «штучної кутикули» – хітозану різними металами. Крім того, було досліджено характер взаємодії хітозана різної хімічної природи: хітозан сукцинат, хітозан водорозчинний та хітозан кислоторозчинний з надоцтовою (НОК) або оцтовою кислотами та комбінацією різними металами. Розчин хітозану кислоторозчинного з НОК, червоним залізоокисним пігментом Fe_2O_3 , H_2O_2 , $CuSO_4$ та оцтовою кислотою.

На зміну складу «штучної кутикули», де замість матричної речовини – ЧАС стали використовувати хітозан вплинули наші дослідження щодо вивчення токсичної дії дезінфектантів. Експериментально доведено, що передінкубаційна обробка яєць курей препаратами пролонгованої дії на основі четвертинних амонієвих сполук спричинює суттєві порушення дихання та окислювального фосфорилування в тканинах ембріонів, що розвиваються. Одним з перспективних шляхів попередження ембріотоксичної дії ЧАС є конструювання складних препаративних форм, які містять пероксиди. Для встановлення ефективності використання «штучної кутикули» нами були проведені виробничі дослідження, що включали передінкубаційну обробку курячих яєць різними складами дезінфектантів «штучної кутикули», у птахівничих господарствах Сумської, Чернігівської та Харківської області.

Враховували ембріональну патологію, виводимість та збереженість молодняка курей.

Підсумовуючи та приводячи до певної системи результати наших багаторічних досліджень, зазначимо наступне.

По-перше, обробка поверхні інкубаційних яєць сільськогосподарської птиці перед закладенням на інкубацію є невід'ємною, обов'язковою ланкою у технології інкубації не тільки як засіб попередження контамінації яєць патогенною мікрофлорою бактеріальної і вірусної природи, а і як засіб стимуляції розвитку ембріонів протягом інкубації і підвищення якісних показників молодняка птиці, що призводить у кінцевому результаті до підвищення виходу високоякісної продукції птахівництва. Зважаючи на це, особливої значимості набуває розробка нових підходів до удосконалення технологій інкубації яєць сільськогосподарської птиці, зокрема курей, у яких поєднуються засоби дії на інкубаційне яйце, які відносяться у межах класичних парадигм до компетенції технології отримання продукції птахівництва, з одного боку, так і до галузі ветеринарно-санітарних проблем птахівництва – з іншого. Зокрема, загальноприйнята технологія інкубації містить ланку заходів з оптимізації режиму інкубації: підтримання необхідних показників температури, газообміну, рівня вологості тощо протягом терміну інкубації. Саме ці показники вважаються ключовими в отриманні здорового молодняка птиці. Проте, наявність патогенної мікрофлори у довкіллі являє собою вагомий негативний фактор у технології інкубації, повне викорінення котрого є надзвичайно важкою задачею, не вирішеною на цей час повністю, і який зможе звести нанівець позитивну дію наведених вище технологічних чинників на перебіг інкубаційного процесу. Більше того, забезпечення повної відсутності патогенної мікрофлори в умовах загальноприйнятої технології інкубації яєць сільськогосподарської птиці на сьогодні може бути віднесене до кола принципово неможливих завдань, хоча б зважаючи на цінові показники відповідної продукції, отриманої малими партіями в стерильних умовах в межах суто лабораторних експериментів.

Зважаючи на це, нами розвинутий новий підхід до технології інкубації яєць сільськогосподарської птиці на прикладі курей, у котрому поєднані як класична стимуляція сталого розвитку ембріону внаслідок оптимізації його газообміну та стану обміну речовин (особливо на ранніх стадіях ембріогенезу), так і попередження первинної і вторинної контамінації патогенною мікрофлорою протягом усього терміну інкубації. У межах цього підходу нами створений принципово новий інноваційний препарат для передінкубаційної обробки яєць курей на основі: 1) біоцидних пероксидних сполук (надоцтова кислота, перекис водню), які оптимізують стан газообміну ембріонів птиці внаслідок часткової деструкції кальцитних шарів шкаралупи і одночасно знищують патогенну мікрофлору на поверхні яєць; 2) ультра- і наночасток оксидів заліза (Fe_2O_3) та титану (TiO_2), які забезпечують перебіг процесів активного окислення органічних забруднень (у тому числі і патогенної мікрофлори); 3) матриксної речовини хітозану, який містить у собі перекисні сполуки і оксиди металів. Нескладна у технологічному аспекті і недорога технологія обприскування інкубаційних яєць мілкокрапельним аерозолем препарату призводить протягом 10-15 хв. висихання до утворення шляхом самоорганізації на поверхні яєць ажурної, пористої газопроникної гелеподібної плівки, яка має біоцидні властивості завдяки вмісту перекисних сполук і оксидів металів і надійно захищає, таким чином, інкубаційні яйця від контамінування патогенною мікрофлорою з одночасним поліпшенням стану газообміну ембріону внаслідок розрихлення кальцитних шарів шкаралупи, що призводить до полегшення доступу кисню всередину яйця, видалення діоксиду вуглеця вкупі з попередженням випаровування надлишкової кількості водяної пари, тобто зневоднення. Наведена технологія набула назви технологія «штучна кутикула», або ARTICLE (ARTIficial cutCLE), оскільки розроблена в межах сучасного біоміметичного підходу до вирішення нагальних завдань в галузі технологій отримання продукції тваринництва створення за допомогою штучних складових природних утворень на кшталт живих клітин, органелл, органів, тканин. «Штучна кутикула», як показано у нашій роботі, за рядом

структурно-функціональних показників (газопроникність, механічні властивості, структура, біоцидна активність, здатність підтримувати оптимальний стан газообміну ембріону на кожній стадії інкубації) цілком відповідає природній кутикулі пташиних яєць, яка складається з природних речовин і виконує ті ж функції. Технологія «штучна кутикула» має переваги через низку причин. По-перше, підвищення продуктивності сучасних порід та кросів курей призвело до зниження бар'єрних властивостей біокерамічних шарів як шкаралупи, так і над- підшкаралупних мембран, зокрема кутикули. У деяких випадках кутикула на поверхні яєць або сильно деструктована, або взагалі відсутня, що потребує введення до загальноприйнятої технології інкубації ланки заходів, що компенсують відсутність цієї захисної структури природного походження. По друге, численні модифікації технології інкубації, що полягають в обробці інкубаційних яєць аерозолем найрізноманітніших біологічно-активних речовин у переважній більшості хоча і підвищують у деякій мірі показники виводимості яєць та виводу курчат, все ж таки одночасно підвищують і ризик внесення патогенної мікрофлори всередину яйця, що може обумовити такі віддалені наслідки, як зниження якісних показників, продуктивності та стану імунітету поголів'я дорослої птиці. До того ж, підвищення показників виводимості яєць сільськогосподарської птиці внаслідок обробки розчинами біологічно-активних речовин, зокрема бурштиною кислотою, навряд чи обумовлене їх безпосередньою дією на обмін речовин ембріону, оскільки кальциту, з якого переважно і складається шкаралупа, притаманна надзвичайно потужна здатність адсорбувати органічні і неорганічні речовини, що призводить до неможливості перетину біологічно-активними речовинами шкаралупи внаслідок обприскування поверхні шкаралупи розчинами таких речовин. З цією метою доцільно використовувати метод глибинної обробки [151], ультразвукового підсилення транспорту біологічно активних речовин через біокристалічні шари шкаралупи [156] та метод внесення зазначених речовин «in ovo», поширений серед західних птахівників [186, 187, 234, 304].

Ключовою перевагою технології «штучна кутикула» також є можливість змінювати структурно-функціональні показники кутикули відповідно до якісних показників інкубаційних яєць курей шляхом підбору складу розчину для обприскування яєць. Так, інкубаційні яйця, які надійшли з птахогосподарств, розташованих у зоні підвищеного ризику в аспекті забруднення патогенною мікрофлорою потребують підвищення у складі розчину масової частки біоцидних речовин та хітозану з метою прискорення окислення забруднень (пероксидні сполуки, ультра-, наночастки оксидів металів) і механічної затримки бактерій та вірусів з наступним знищенням на поверхні щільної хітозанової плівки. Навпаки, інкубаційні яйця курей м'ясних кросів, які часто вирізняються зниженими показниками виводимості та підвищеною щільністю шкаралупи [90] потребують збільшення у складі розчину частки пероксидних сполук, особливо, надоцтової кислоти, які полегшують надходження кисню до ембріону внаслідок часткового розрихлення шкаралупи зі зниженням її щільності, та зниження з цією ж метою вмісту хітозану.

Таким чином, технологія «штучна кутикула» *ARTICLE (ARTIficial cutCLE)* є інноваційним, найбільш сучасним, нескладним у технологічному аспекті та економним засобом оптимізації усіх варіантів технологій інкубації яєць сільськогосподарської птиці, який забезпечує значне підвищення виходу високоякісної продукції птахівництва.

ВИСНОВКИ

Розроблені теоретичні основи, створена та впроваджена у практику інноваційна технологія інкубації яєць курей, що ґрунтується на біоміметичному принципі, для підвищення виходу та показнику збереженості молодняку курей в умовах промислового птахівництва. Основними науковими і практичними результатами є наступні:

1. Теоретично обґрунтовано та практично доведено ефективність застосування розробленої інноваційної технології передінкубаційної обробки яєць з використанням біоміметичної технології «штучна кутикула» для поліпшення структурних і фізіологічних характеристик шкаралупи як біокерамічного захисного шару інкубаційних яєць, котра полягає в утворенні на поверхні яйця захисної плівки з суміші штучних і природних матеріалів, що регулює рівень газопроникності шкаралупи яєць курей та зменшує рівень мікробіологічного забруднення.

2. Встановлено вплив порушень утримання та годівлі курей-несучок на зміну якісного складу структуроутворюючих білково/пептидних складових біокерамічного шару шкаралупи яєць курей, зокрема овоклеїдину-17 та низки середньомолекулярних пептидів зі значеннями молекулярних мас від 455 до 881 а.о.м. Ступінь «чутливості» морфологічних і біохімічних параметрів біокерамічних структур інкубаційних яєць курей щодо дії негативних чинників довкілля залежить від породи і кросу птиці; при цьому високий рівень зазначених параметрів корелює з показником яєчної продуктивності.

3. Доведено, що дія негативних чинників різного походження на інкубаційне яйце курей супроводжується появою замість карбонату кальцію (кальциту) інших кристалічних форм цієї речовини, а саме арагоніту та ватериту, які, в свою чергу, призводять до загального розрихлення та розупорядкованості шарів карбонату кальцію з наступними негативними

фізіологічними наслідками для розвитку ембріона.

4. Розроблений метод визначення в інкубаційних яйцях курей антибіотиків на основі мас-спектрометрії з плазмовою десорбцією (ПДМС) є найбільш чутливим до триметоприму: пік іонів даного антибіотика достовірно ідентифікований при його концентрації у зразку 0,1-0,2 мкг.; для всіх інших препаратів, що були в досліді, найнижчий рівень прояву 4-5 мкг на зразок.

5. Розроблена недорога і непрацемістка технологія отримання на поверхні інкубаційних яєць захисної «штучної кутикули» передбачає проведення зрошування яєць у лотках (за 5-30 хв. до інкубації) дрібнодисперсним аерозолем (0,5-3,0 мкм) робочого розчину композиції із розрахунку 1500 мл на 1500 яєць курей.

6. Винайдено, що оптимальний хімічний склад композиції для обробки яєць у технології «штучна кутикула» є наступним: хітозан (кислоторозчинний) у надоцтовій кислоті (рН 3,0), 0,1-3,0; ультра-, нанодисперсний діоксид титану (TiO_2) в анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм), 0,1-3,0; жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) Fe_2O_3 , 0,1-3,0; пероксид водню (H_2O_2), 0,5-5,5; сульфат міді ($CuSO_4$), 1,0-2,5; пом'якшувач води (ЕДТА) 0,1; мікроелементи (магній, кобальт, цинк), 0,1 та вода до 100 мас. %.

7. Експериментально доведено, що використання композиції для утворення на інкубаційних яйцях курей захисного покриття «штучна кутикула», що складається з кислоторозчинного хітозану, надоцтової кислоти (НОК), ультра-, нанодисперсного діоксиду титану TiO_2 , жовтого залізоокисного пігменту (оксиду заліза (III) Fe_2O_3 , пероксиду водню (H_2O_2), сульфату міді ($CuSO_4$), забезпечує підвищення показнику виводимості яєць курей на 6,3-20,3%, стимулює розвиток ембріонів, дозволяє знизити кількість патогенної мікрофлори на поверхні яєць протягом інкубації на 98,6-99,03% від контролю, сприяє покращенню збереженості молодняку курей (на 2,9%).

8. Винайдена емпірична залежність – збільшення прояву позитивного ефекту технології «штучна кутикули» на перебіг інкубаційного процесу тісно

корелює зі зниженням якісних показників яєць і зниженням вихідного показнику виводимості, притаманного певним породам та кросам курей.

9. Доведено механізм дії хімічних складових «штучної кутикули» на інкубаційні яйця курей, який складається з наступних стадій: 1) розрихлення пероксидними сполуками кальцитного шару шкаралупи яєць, що поліпшує газообмін та обмін речовин ембріонів протягом інкубації; 2) знищення мікроорганізмів на поверхні яєць пероксидними сполуками, наночастками оксидів титану та заліза і іонами міді; 3) запобігання вторинної контамінації яєць на пізніх стадіях інкубації газопроникною хітозановою плівкою.

10. Використання технології «штучна кутикула» зумовлює поліпшення обміну речовин ембріонів, про що свідчить вірогідне підвищення вмісту у сироватці крові і тканинах добового молодняку курчат (Ломанн браун): гемоглобіну, заліза, міді, загального білку, лізоцимної активності, загальних ліпідів, холестерину, кальцію, креатинину, а також оптимізує вуглеводневий та кальцій-фосфорний обмін (зниження вмісту глюкози, α -амілази та фосфору).

11. Виробничими дослідженнями доведено, що підвищення показників виводимості при використанні технології «штучна кутикула» залежить від генетичних особливостей птиці (породи, кросу) і варіює від 6,3% (Бірківська барвіста) до 20,3% (Полтавська глиняста).

12. Експериментально показано, що використання технології «штучна кутикула» поліпшує стан обміну речовин та імунний статус молодняку курей без застосування синтетичних препаратів, зокрема антибіотиків, синтетичних біоцидних речовин, інших екологічно небезпечних інгредієнтів.

13. Дослідженнями корозійної дії робочого розчину «штучної кутикули» на нержавіючу сталь доведено, що втрата маси зразку сталі при нанесенні 1,0% розчину у 459,3 рази нижча порівняно з 2% розчином гідроксиду натрію. Змивання водою ($t^0=60-80^0$ C) при тиску 0,4 МПа та витратах 2 л/м² забезпечує повне видалення складових «штучної кутикули» з поверхонь інкубаційних лотків.

14. Економічний ефект від застосування технології «штучна кутикула»

на 1000 інкубаційних яєць становить 1192,1 грн.

15. Для зниження ризику негативного впливу на ембріон курей, що розвивається, використовувати екологічно безпечну речовину природного походження хітозан (патент № 59917), що сприяє уникненню використання в технології передінкубаційної обробки яєць небезпечних речовин хімічного походження.

16. Використовувати дезінфікуючий розчин хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO_2 (анатазна кристалічна форма, ступінь дисперсності – нанодисперсна), з жовтим залізоокисним пігментом Fe_2O_3 (ступінь дисперсності – ультрадисперсна), H_2O_2 та 1% $CuSO_4$ (патенти № 72945, 93549, 93550, 93551).

17. Для нанесення біоцидної плівки «штучна кутикула» на інкубаційне яєце в технології передінкубаційної обробки доцільно використовувати простий і недорогий метод – розприскування рідини робочого розчину.

18. Для покращення контролю за якістю сільськогосподарської продукції технології виробництва продуктів тваринництва використовувати метод експрес-визначення антибіотиків в інкубаційних яйцях курей за допомогою м'якоіонізаційної часопрольотної плазмово-десорбційної мас-спектрометрії, що значно здешевлює та прискорює процедуру аналізу в порівнянні з відомими методами (патент № 60485).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества : Свойства и применение / А. А. Абрамзон. – Л. : Химия, 1981. – 304 с.
2. Абу Руммон М. Применение препарата ВВ-1 для дезинфекции инкубационных яиц : автореф. дис. на соискание наук. степени канд. вет. наук : спец. 03.00.07 – мікробіологія / М. Абу Руммон. – М., 2002. – 16 с.
3. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел / Под ред. Г. Парфита, К. М. Рочестера. – М. : Мир, 1986. – 488 с.
4. Айзенман Б. Е. Фитонциды и антибиотики высших растений / Б. Е. Айзенман, В. В. Смирнов, А. С. Бондаренко. – К. : Наук. думка, 1984. – 280 с.
5. Акопян В. Б. Формальдегид упрочняет мембрану / В. Б. Акопян // Химия и жизнь. – 1984. – № 7. – С. 26.
6. Акопян В. Фонофорез антибиотиков в яйцо / В. Акопян, О. Рыхлецкая, Г. Зарубина // Птицеводство. – 1988. – № 3. – С. 34.
7. Акопян В. Б. Использование физических и биологических факторов в ветеринарии и животноводстве / В. Б. Акопян, В. М. Хлюпкин, Н. Т. Коновалов – М. : МВА, 1992. – С. 28-29.
8. Акопян В. Б. Простая модель реакции организма на внешние воздействия [Электронный ресурс] / В. Б. Акопян // akopyan@edunet.ru – Назва з контейнера.
9. 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.
10. Андреева И. В. Влияние биологически-активных веществ на инкубационные качества яиц / И. В. Андреева // Сб. научн. тр. КСХИ

Промышленная технология производства продуктов животноводства в нечерноземной зоне. – 1980. – С. 48-49.

11. Антипов А. А., Никулин В. Н. Некоторые аспекты углеводного питания цыплят в период эмбриогенеза // Тез. докл. IV межд. конф. «Проблемы с.-х. производства на современном этапе и пути их решения», 23-26 мая 2000 г., Белгород. – С. 127-128.

12. Апатенко В. М. Растительные экстракты нужны / В. М. Апатенко, А. В. Дорогобид, Р. И. Червиков // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини // Збірник наукових праць Харківського зооветеринарного інституту. – Х. : РВВ ХЗВІ. – Ветеринарні науки. – 2000. – Вип. 6 (30). – Ч. 2. – С. 107-110.

13. Арсентьева И. П. Реализация физико-химических свойств наночастиц металлов при создании биологически активных препаратов в медицине, биологии и сельском хозяйстве / И. П. Арсентьева // Вторая Всероссийская конференция по наноматериалам «НАНО 2007», 13-16 марта 2007 г., Новосибирск. – С. 323.

14. Астраханцева О. Г. Изменения газопроницаемости скорлупы яиц кур разных пород в технологии «Искусственная кутикула» (ARTICLE) / О. Г. Астраханцева, О. Г. Бордунова // Молодежь и инновации-2013 : материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых, 29-30 мая 2013 г. – Горки, 2013. – Ч. 3. – С. 10-13.

15. Астраханцева О. Г. Захисні покриття для інкубаційних яєць на основі хітозану і ультрадисперсних часток оксиду заліза (III) Fe_2O_3 / О. Г. Астраханцева, О. Г. Бордунова, В. Д. Чіванов // Міжнар. наук.-практ. конф. викладачів, аспірантів та студентів : тези доп., 8-25 квітня 2008 р. – Сумський національний аграрний університет. – Суми : ВТД «Довкілля», 2008. – С. 3.

16. Астраханцева О. Г. Фотокаталітичні захисні покриття для інкубаційних яєць на основі нанодисперсних TiO_2 та Fe_2O_3 / О. Г. Астраханцева, О. Г. Бордунова, В. Д. Чіванов // Nanobiophysice: Fundamental and Applied aspects. NBP-2009 : International Conference : Book of Abstracts, October 5-8 2009.

– B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering National Academy of Sciences of Ukraine. – Kharkov, 2009. – P. 86.

17. Астраханцева О. Г. Биометрические защитные покрытия для инкубационных яиц на основе хитозана и ультрамалодисперсных частиц диоксида титана TiO_2 и оксида железа (III) Fe_2O_3 / О. Г. Астраханцева, О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов // Молодежь и инновации-2009 : материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых, посвященная 170-летию УОБГСХФ, 3-5 июня 2009 г. – Горки, 2009. – Ч. 1 – С. 264-265.

18. Байдевятов А. Б. Система ветеринарно-санитарных мероприятий в промышленном птицеводстве / А. Б. Байдевятов, В. В. Герман, В. В. Кирпич. – Киев : Урожай, 1987. – 152 с.

19. Байдевятова О. М. Фотокаталітично активні наночастки двоокису титану в органічних матрицях як захисні покриття для інкубації / О. М. Байдевятова, О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов // Зоотехнічна наука Поділля : історія, проблеми, перспективи : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 16-18 берез. 2010 р. – Кам'янець–Подільський, 2010. – С. 26-27.

20. Байдевятова О. М. Зміни газопроникності шкаралупи яєць курей різних порід у технології «Штучна кутикула» ARTICLE / О. М. Байдевятова, О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов // «Актуальные проблемы современного птицеводства» : статьи XIV Украинской конференции по птицеводству с международным участием. – Алушта, 16-19 сентября 2013 г. – Птахівництво : міжвід. темат. наук. зб. – ІТ НААН. – Харків, 2013. – Вип. 69. – С. 15-24.

21. Бессарабов Б. Ф. Практикум по инкубации яиц и эмбриологии сельскохозяйственной птицы. / Б. Ф. Бессарабов. – М. : Агропромиздат, 1992. – 144 с.

22. Болотников И. А. Гематология птиц / И. А. Болотников, Ю. П. Соловьев – Л. : Наука, 1980. – 114 с.

23. Биомиметические защитные покрытия для птицеводства на основе нанокмозитов хитозана и TiO_2 (nanoTiARTICLE) / [Е. А. Самохина, О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов, В. И. Еременко] // Нанорозмірні системи:

будова-властивості-технології (НАНСИС-2007) : матеріали міжнар. конф., 21-23 листопада 2007 р. – Київ, 2007. – С. 437.

24. Бордунова О. Г. Метод мягкоионизационной масс-спектрометрии в определении механизмов взаимодействия дезинфицирующих препаратов с оболочками и скорлупой инкубационных яиц кур / О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов, А. Б. Байдевятов // Сельскохозяйственная биология : серия «Биология животных». – 1997. – № 2. – С. 78-82.

25. 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.

26. Бордунова О. Г. Дезінфектанти для ветеринарної медицини на основі поверхнево-активних речовин: перспективні напрямки розробки і використання / О. Г. Бордунова // Ветеринарна медицина України. – 1999. – № 12. – С. 34.

27. 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.

28. 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.

29. Бордунова О. Г. Дослідження гемолітичної деструкції мембран еритроцитів під впливом дезінфектантів на основі поверхнево-активних речовин / О. Г. Бордунова, Н. І. Ізмайлова // Вісник Сумського державного аграрного університету. – Суми, 1998. – Вип. 2. – С. 150-153.

30. Бордунова О. Г. Електронно-мікроскопічне дослідження особливостей структуроутворення плівок дезінфектантів «Viracid» та «CID-20» на поверхні інкубаційних яєць / О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов // Вісник

Сумського державного аграрного університету : серія «Ветеринарна медицина». – Суми, 2001. – Вип. 6. – С. 15-20.

31. Бордунова О. Г. Рентгенівська дифрактометрія та електронна мікроскопія шкаралупи яєць курей за умов харчового токсикозу та домішок цеолітів у кормі / О. Г. Бордунова, І. О. Шкурат // Вісник Сумського державного аграрного університету : серія «Тваринництво». – Суми, 2001. – Вип. 5. – С. 17-21.

32. Бордунова О. Г. Проект «Искусственная кутикула для инкубационных яиц» / О. Г. Бордунова // Научно-прикладные аспекты состояния и перспективы развития животноводства и ветеринарной медицины : материалы междунар. науч.-практ. конф. 24-26 апреля 2001 г. – Курская государственная сельскохозяйственная академия им. И. И. Иванова. – Курск, 2001. – С. 29-30.

33. Бордунова О. Г. М'якоіонізаційна мас-спектрометрія в дослідженні біомолекул / О. Г. Бордунова, В. Д. Чіванов // Вісник Сумського державного аграрного університету : серія «Тваринництво». – Суми, 2002. – С. 116-123.

34. Бордунова О. Г. Про вплив дезінфектантів для передінкубаційної обробки яєць на дихання та окислювальне фосфорилування в тканинах курячих ембріонів / О. Г. Бордунова // Вісник Сумського державного аграрного університету : серія «Тваринництво». – Суми, 2002. – Вип. 6. – С. 59-66.

35. Бордунова О. Г. Математична модель для прогнозування якісних показників захисних структур інкубаційних яєць курей, які зазнали дії негативних чинників довкілля / О. Г. Бордунова // Вісник Сумського національного аграрного університету : науково-методичний журнал : серія «Тваринництво». – Суми, 2003. – Вип. 7. – С. 27-33.

36. Бордунова О. Г. Показники газопроникності інкубаційних яєць курей різних порід та кросів / О. Г. Бордунова, Є. А. Самохіна // Таврійський науковий вісник. – Херсон, 2004. – Вип. 30. – С. 134-140.

37. Бордунова О. Г. Деякі біотехнологічні та біофізичні аспекти «штучної кутикули» для інкубаційних яєць / О. Г. Бордунова // Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва УААН. – Харків, 2004. – № 87. – С. 26-31.
38. 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. – Вінниця, 2005. – Вип. 22. – С. 82-84.
39. Бордунова О. Г. Белково-пептидные составляющие биокерамического матрикса скорлупы инкубационных яиц кур под влиянием различных факторов среды / О. Г. Бордунова, В. И. Еременко, В. Д. Чиванов // Сельскохозяйственная биология : серия «Биология животных». – 2005. – № 6. – С. 51-55.
40. Бордунова О. Г. До питання захисних покриттів для інкубаційних яєць / О. Г. Бордунова, Т. О. Чернявська, В. Д. Чиванов // Вісник аграрної науки. – 2005. – № 9. – С. 40-43.
41. Бордунова О. Г. Білково-пептидні складники біокерамічного шару курячих яєць / О. Г. Бордунова, Т. О. Чернявська, В. Д. Чиванов // Вісник аграрної науки. – 2006. – № 1. – С. 32-35.
42. Бордунова О. Г. Прогнозування якості інкубаційних яєць / О. Г. Бордунова, Т. О. Чернявська, В. Д. Чиванов // Вісник аграрної науки. – 2007. – № 6. – С. 53-58.
43. Бордунова О. Г. Біометрична технологія захисту інкубаційних яєць курей з використанням нанокompозитів хітозану і діоксиду титана / О. Г. Бордунова, Є. А. Самохіна, В. Д. Чиванов // Таврійський науковий вісник. – Херсон : Айлант, 2008. – Вип.56. – С. 104-115.
44. Бордунова О. Г. Stalosan[®]F – нанодезінфектант ХХІ сторіччя: фундаментальні та прикладні аспекти використання у птахівництві / О. Г. Бордунова, В. В. Попсуй, О. Г. Астраханцева [та ін.] // «Птахівництво –

2009» : матеріали V міжнар. конф., 21-24 вересня 2009 р. – Судак, 2009. – С. 6–8.

45. Бордунова О. Г. Наноккомпозит хітозану і діоксину титану у біоміметичній технології захисту інкубаційних яєць сільськогосподарської птиці / О. Г. Бордунова // Міжвідомчий тематичний науковий збірник Птахівництво. – Бірки, 2010. – Вип. 65. – С. 116-127.

46. 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». – Суми, 2010. – № 3. – С. 20-24.

47. Бордунова О. Г. М'якоіонізаційна мас-спектрометрія в дослідженні біомолекул / О. Г. Бордунова, В. Д. Чіванов // Вісник Сумського державного аграрного університету : науково-методичний журнал : серія «Тваринництво» : матеріали міжнар. конф. «Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі», 2-4 жовтня 2002 р. – Суми, 2002. – С. 116-123.

48. Бордунова О. Г. Удосконалення технології інкубації яєць курей з використанням хітозану / О. Г. Бордунова, О. М. Байдевятова, В. Д. Чіванов // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2011. – Т. 13. – № 4 (50). – Ч. 3. – С. 3-6.

49. Бордунова О. Г. Молекулярний механізм дії дезінфектантів на основі четвертинних амонієвих сполук для птахівництва / О. Г. Бордунова // Вісник Сумського національного аграрного університету : серія «Ветеринарна медицина». – Суми, 2011. – Вип. 2 (29). – С. 33-35.

50. Бордунова О. Г. Біоцидна активність препаратів «штучна кутикула» («*ARTICLE*») для передінкубаційної обробки яєць / О. Г. Бордунова // Науковий вісник ветеринарної медицини: : зб. наук. праць. – Біла Церква, 2011. – Вип. 8. – С. 19-22.

51. Бордунова О. Г. Технологія захисту інкубаційних яєць курей з використанням композитів хітозану і жовтого залізоокисного пігменту (Fe_2O_3) / О. Г. Бордунова // Наук.-техн. бюл. ін-ту біології тварин та

Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок. – 2012. – Вип. 13. – № 1/2. – С. 180-184.

52. Бордунова О. Г. Мікроструктура шкаралупи пташиних яєць за норми та при патологіях : монографія – Суми : Університетська книга, 2012. – 168 с.

53. Бордунова О. Г. Екологічно безпечна композиція на основі хітозану та нанодисперсних оксидів заліза та титану для захисту інкубаційних яєць курей щодо патогенної мікрофлори / О. Г. Бордунова, Р. В. Денисов, В. Д. Чіванов // Птахівництво : міжвід. темат. наук. зб. ІТ НААН. – Харків, 2013. – Вип. 69. – С. 55-60.

54. Бордунова О. Г. «Штучна кутикула» (ARTificial cutiCLE - ARTICLE) для захисту інкубаційних яєць курей щодо патогенної мікрофлори: композиція на основі хітозану та нанодисперсного оксиду заліза Fe_2O_3 / О. Г. Бордунова // Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2013. – Т. 15. – № 3 (57). – Ч. 3. – С. 273-277.

55. Бордунова О. Г. Исследование диффузионных процессов в биокерамическом защитном слое скорлупы птичьих яиц / О. Г. Бордунова // Птахівництво : міжвід. темат. науково-виробничий зб. ІТ НААН. – Х., 2013. – Вип. 70. – С. 43-49.

56. Бордунова О. Г. Поліпшення обміну речовин та імунного статусу молодняку курей технологією «Штучна кутикула» (ARTificialcutiCLE ARTICLE) для захисту інкубаційних яєць / О. Г. Бордунова, Р. В. Денисов, В. Д. Чіванов // Вісник Сумського НАУ : серія «Тваринництво». – Суми, 2014. – Вип. 7 (23). – С. 113-118.

57. Бордунова О. Г. Екологічно безпечні технології «ARTICLE» для захисту інкубаційних яєць курей від патогенної мікрофлори / О. Г. Бордунова // Вісник СНАУ : серія «Ветеринарна медицина». – Суми, 2014. – № 1 (34). – С. 61-63.

58. Бордунова О. Г. Вивчення впливу негативних чинників довкілля на фазовий склад біокерамічних шарів шкаралупи курячих яєць /

О. Г. Бордунова // Вісник Сумського НАУ : серія «Тваринництво». – Суми, 2015. – Вип. 2 (27). – С. 96-101.

59. Бородин В. А. Продуктивность бройлеров. Влияние янтарной кислоты на резистентность и продуктивность бройлеров на различных этапах онтогенеза / В. А. Бородин // Практик. – 2001. – № 9. – С. 38-40.

60. Бреславец В. О. Розробка способів підвищення повітряно-паропроникності шкаралупи яєць водоплавної птиці / В. О. Бреславец, Ю. К. Дунаєв, Ю. Р. Князєв // Птахівництво : міжвід. темат. наук. зб. – ІІІ УААН. – 2001. – №50. – С. 188-197.

61. Бреславец В. О. Дослідження газо- та вологопроникності шкаралупи яєць курей різних порід та віку / В. О. Бреславец, Н. В. Шоміна // Птахівництво : міжвід. темат. наук. зб. – ІІІ УААН. – 2006. – № 58. – С. 355-360.

62. Буртов Ю. З. Инкубация яиц : справочник / Ю. З. Буртов, Ю. С. Голдин, И. П. Кривопишин. – М. : Агропромиздат, 1990. – 239 с.

63. Вавилов Ю. Еще раз об овасепте / Ю. Вавилов // Птицеводство. – 2002. – № 1. – С. 32.

64. Васильева Е. А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных / Е. А. Васильева. – М. : Россельхозиздат, 1982. – 254 с.

65. Ветеринарные препараты : справочник // [под ред. А. Д. Третьякова]. – М. : Колос, 1988. – 346 с.

66. Виевский А. Н. Механизмы биологического влияния катионных поверхностно активных веществ / А. Н. Виевский. – М. : Наука, 1991. – 250 с.

67. Вивчення молекулярної дії дезінфектантів на основі четвертинних амонієвих сполук для птахівництва / О. Г. Астраханцева, Т. О. Чернявська, О. Г. Бордунова [та ін.] // Вісник Сумського національного аграрного університету : серія «Тваринництво». – Суми, 2008. – Вип. 10 (15). – С. 4-7.

68. Використання м'якоіонізаційної мас-спектрометрії в аналітичній біохімії сільськогосподарського спрямування / [О. М. Царенко, В. Д. Чіванов, В. І. Єрмоєнко та ін.]. – Суми : «Казацький вал», 2001. – 200 с.

69. Використання дезінфікуючих препаратів у промисловому птахівництві : науково-практичні рекомендації / О. Г. Бордунова, М. В. Чорний, В. Д. Чіванов [та ін.]. – Суми : СДУ, 2013. – 43 с.

70. Використання плазмово-десорбаційної мас-спектрометрії в дослідженнях продуктів птахівництва та тваринництва : методичні рекомендації / О. Г. Бордунова, А. Й. Краєвський, В. Д. Чіванов [та ін.]. – Суми : Козацький вал, 2009. – 35 с.

71. Гальперн И. Новые принципы создания отечественных кроссов кур / И. Гальперн // Птицеводство. – 2002. – № 3. – С. 47-49.

72. Горелык И. Л. Сравнительное испытание препаратов ВВ-1, полисепта, бактерицида и демоса и их влияние на эмбриональное и помтэмбриональное развитие цыплят : автореф. дис. на соискание научн. степени канд. с.-х. наук : спец. 03. 00. 07 / И. Л. Горелык. – М., 2000. – 15 с.

73. Генетика / [Е. К. Меркурьева, З. В. Абрамова, А. В. Бакай и др.]. – М. : Агропромиздат, 1991. – 446 с.

74. Деклараційний патент на винахід № 60485 Україна, А, 7 G O1 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.

75. Деякі аспекти молекулярного механізму біоцидної дії дезінфектанта «ВВ-1» / О. Г. Бордунова, Ю. А. Байдевятов, В.Д. Чіванов // Вісник аграрної науки. – 1999. – № 12. – С. 43-45.

76. Дія екстракту ехінацеї пурпурної на біохімічні показники крові курчат // Розвиток ветеринарної науки в Україні : здобутки і проблеми : матеріали міжн. наук.-практ. конф., 24-26 вересня 1997 р. – Харків, 1997. – С.27.

77. Домашние инкубаторы. – Ростов н/Д : ПрофПресс, 2001. – 192 с.

78. Дослідження дії надоцтової кислоти на структурні показники та рівень газопроникності шкаралупи інкубаційних яєць курей. / О. Г. Бордунова,

О. Г. Астраханцева, Т. О. Чернявська [та ін.] // Вісник Сумського національного аграрного університету : серія «Ветеринарна медицина». – Суми, 2014. – Вип. 6 (35). – С. 70-74.

79. Економіка та екологія виробництва продукції птахівництва на основі прогресивних технологій / [О. М. Царенко, Г. О. Богданов, П. П. Достоевський та ін.] – Суми : «Козацький вал», 1999. – 232 с.

80. Екологічно безпечні дезінфектанти для птахівництва / / О. М. Царенко, О. Г. Бордунова, А. Б. Байдевятов [та ін.] // Вісник аграрної науки. – 2001. – № 7. – С. 30-33.

81. Економіко-екологічні, технологічні і санітарно-гігієнічні основи підвищення ефективності виробництва яєць у птахівничих господарствах України : методичні рекомендації / О. М. Царенко, Г. О. Богданов, П. П. Достоевський [та ін.]. – Суми : Мрія, 1998. – 44 с.

82. Економічні, екологічно чисті та нешкідливі сануючі засоби групи ПАР пролонгованої дії для дезінфекції інкубаційних яєць, технологічного устаткування та прихованих вогнищ інфекції : методичні рекомендації для виробництва / О. М. Царенко, Г. О. Богданов, П. П. Достоевський [та ін.]. – Суми : Мрія, 1998. – 23 с.

83. Журавлев И. В. Биологические особенности домашней птицы, предопределившие возникновение и развитие промышленного птицеводства / И. В. Журавлев, В. И. Фисинин // Сельскохозяйственная биология. – 1998. – № 6. – С. 3-16.

84. Інструкція з проведення санітарної обробки – дезінфекції, дезінсекції та дератизації об'єктів птахівництва (наказ від 20.06.2007 р.) // <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z0813-07> – Назва з контейнера.

85. Іванов В. О. Патент на винахід № 52097 Україна. Спосіб підвищення виводимості гусячих яєць / В. О. Іванов. – Бюлетень промислової власності, 2004. – № 10. – 3 с.

86. Іванов В. О. Деклараційний патент на винахід № 5387 Україна, Спосіб підвищення інкубаційних якостей яєць курей яєчних кросів / В. О. Іванов. – Бюлетень промислової власності, 2005. – № 3. – 4 с.

87. Інкубація яєць сільськогосподарської птиці : методичний посібник / [В. О. Бреславець, М. І. Сахацький, Б. Т. Стегній та ін.]. — Х. : ІЕіКВМ, 2001. – 92 с.

88. Кармолиев Р. Х. Количественная проницаемость Succ-Mn тетрагидрата через биомембраны яиц кур при прединкубационной обработке / Р. Х. Кармолиев, И. И. Кочиш, О. С. Ручий // Птица и птицепродукты. – 2014. – № 2. – С. 32-36.

89. Каталог племінних ресурсів сільськогосподарської птиці України / [Ю. О. Рябокони, Д. М. Микитюк, В. В. Фролов та ін.] ; під ред. Ю. О. Рябокони. – Харків, 2005. – 78 с. – Режим доступу : www.avianua.com.

90. Козій Михайло Степанович. Підвищення продуктивності бройлерного кросу конкурент шляхом удосконалення прийомів передінкубаційної обробки яєць : автореферат дис. на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук : спец. 06.02.04 – технологія виробництва продуктів тваринництва / М. С. Козій. – Херсон, 2003. – 18 с.

91. Колб В. Г. Справочник по клинической химии. / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск. : Беларусь, 1982. – 366 с.

92. Конструювання антибактеріальних покриттів для біокераміки за біоміметичним принципом : мас-спектрометричні та електронно-мікроскопічні дослідження / О. Г. Бордунова, Л. Ф. Суходуб, А. Ю. Волянський [та ін.] // Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Ветеринарна медицина» ННЦ «ІЕіКВМ». – Харків, 2009. – Вип. 92. – С. 476-483.

93. Кондрашова М. Н. Окислительное фосфорилирование митохондрий печени цыплят и кур / М. Н. Кондрашова, И. В. Журавлев // Митохондрии. Механизмы сопряжения и регуляции. – Пушино : НЦБИ АН СССР, 1981. – С. 65-66.

94. Коровин Р. Н. Советы птицеводам / Р. Н. Коровин, А. Б. Байдевятов, Б. Ф. Бессарабов. – К. : Урожай, 1997. – 416 с.
95. Кривопишин И. П. Инкубация. / И. П. Кривопишин, К. В. Злочевская. – М. : Агропромиздат, 1990. – 224 с.
96. Лабораторные исследования в ветеринарии : биохимические и микологические : Справочник / [Под ред. Б. И. Антонова]. – М. : Агропромиздат, 1991. – 240 с.
97. Лисиця А. В. Фізико-хімічна характеристика біологічно активних речовин за даними часопролітної плазмово-десорбційної мас-спектрометрії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.02 – біофізика / А. В. Лисиця. – Київ, 2002. – 24 с.
98. 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.
99. Мартынов Г. Н. Фармако-токсикология дезинфектантов на основе ЧАС и их применение в птицеводстве : автореф. дис. на соискание научн. степени доктора вет. наук : спец. 03.00.07 – мікробіологія / Г. Н. Мартынов. – Казань, 2002. – 36 с.
100. Медведев А. Безопасные средства для дезинфекции / А. Медведев // Птицеводство. – 2001. – № 4. – С. 37-41.
101. Математическое моделирование влияния химических загрязнителей на качество сельскохозяйственных культур / И. В. Мудрый, М. Ю. Антомонов, Е. В. Раецкая [и др.] // Гигиена и санитария. – 2000. – № 4. – С. 8-10.
102. Методическое пособие по изучению процессов пероксидного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма у животных / [В. С. Бузлама, М. И. Рецкий, Н. П. Мещеряков и др.]. – Воронеж, 1997. – 64 с.
103. Методичні рекомендації по удосконаленню і впровадженню у виробництво економіко-екологічних, технологічних і ветеринарно – санітарних

заходів по виробництву м'яса бройлерів на Україні / Г. О. Богданов, П. П. Достоевський, В. Ф. Горжеєв [та ін.]. – Суми : Мрія, 1998. – 38 с.

104. Метод экспресс обнаружения антибиотиков в мясопродуктах с помощью времяпролетной плазменно-десорбционной масс-спектрометрии / В. Чиванов, Л. Гребеник, О. Бордунова [и др.] // Журнал аналитической химии (РАН). – 1997. – № 11. – С.1105-1109.

105. Методика определения экономической эффективности использования в сельском хозяйстве результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ, новой техники, изобретений и рационализаторских предложений / [И. Ф. Баланюк, С. И. Барило, С. Р. Басун и др.]. – К. : Урожай, 1986. – 117 с.

106. Молекулярні аспекти біоцидної дії дезінфектантів на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС). I. Морфологія плівок ЧАС на поверхні інкубаційних яєць / О. Г. Бордунова, А. Б. Байдевлятов, В. Д. Чиванов [та ін.] // Ветеринарна медицина : міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2000. – Т. 78 (II). – С. 23-34.

107. Насонова А. А. Математическое моделирование зависимости изменений реакций метаболизма от воздействия факторов окружающей среды / А. А. Насонова, Л. Х. Мухамбетова // Гигиена и санитария. – 1992. – № 2. – С. 64-66.

108. Немцев С. В. Комплексная технология хитина и хитозана из панциря ракообразных / С. В. Немцов. – М. : Наука, 2006. – 136 с.

109. Нестеров В. В. Дезинфекция инкубационных яиц и стимуляция эмбрионального развития кур путем использования экологически чистых препаратов : Автореф. дис. на соискание научн. степени кандидата вет. наук : спец. 03.00.07 / В. В. Нестеров. – М., 2000. – 16 с.

110. Николаенко В. Дезинфекция утиных яиц препаратом АТМ / В. Николаенко // Птицеводство. – 2001. – № 3. – С. 40-42.

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

112. О птицеводстве на научной сессии РАСХН // Птицеводство. 2001. – № 5. – С. 2-5.

113. Овчаров А. Аминокислотный состав и пищевая ценность яиц / А. Овчаров, С. Буров // Птицеводство. – 2001. – № 6. – С. 35-37.

114. Орлов М. В. Биологический контроль в инкубации / М. В. Орлов. – М. : Россельхозиздат, 1987. – 223 с.

115. Орлов М. В. Инкубация / М. В. Орлов, А. У. Быховец, К. В. Злочевская. – М. : Колос, 1982. – 223 с.

116. Отрыганьев Г. К. Технология инкубации / Г. К.Отрыганьев, А. Ф. Отрыганьева. – М. : Россельхозиздат, 1989. – 362 с.

117. Патент на корисну модель. № 95310 Україна, МПК (51) А611 2/16 (2006.01). Спосіб підвищення інкубаційних якостей яєць перепелів. / Л. С. Патрева, В. І. Гроза: заявник та патентовласник Миколаївський НАУ. – № u 201404278; заявл. 22.04.20014, опубл. 25.12.2014, Бюл. № 24.

118. Патент № 2394052 РФ RU. Способ повышения эмбриональной жизнеспособности и естественной резистентности цыплят бройлеров / М. Б. Агеев, В. А. Лукичёва, Е. С. Елизаров, 2004.

119. Пат. 80939 Україна, МПК А 61 В 5/00, G О1 N 33/49. Мас-спектрометричний спосіб діагностування хвороби Марека у курей / Бордунова О. Г., Чіванов В. Д., Бондарчук Л. В., Семьонов Д. М.; заявник і патентовласник Сумський НАУ. – № 2003076566; заяв. 14.07.2003; опубл. 26.11.2007, Бюл. № 19.

120. Пат. 59917 Україна, МПК А 01 К 43/00, А 01 К 41/00. Спосіб захисту інкубаційних яєць курей покриттям з хітозану / Бордунова О. Г., Астраханцева О. Г., Байдевятова О. М., Чіванов В. Д.; заявник і

патентовласник Сумський НАУ. – № у 2010 11919; заяв. 08.10.2010; опубл. 10.06.2011, Бюл. № 11.

121. Пат. 72945 Україна, МПК А61L 2/18 (2006.01). Композиція для захисту інкубаційних яєць курей / Бордунова О. Г., Астраханцева О. Г., Байдевятова О. М., Чіванов В. Д.; заявник і патентовласник Сумський НАУ. – № у 2011 12186; заяв. 18.10.2011, опубл. 10.09.2012, Бюл. № 17.

122. Пат. 99538 Україна, МПК С09С 1/22 (2006.01) С09С 1/24 (2006.01) С09С 1/62 (2006.01) С09С 3/06 (2006.01). Спосіб одержання чорного залізоокисного пігменту / Василенко А. А., Чіванов В. Д., Бордунова О. Г.; заявник і патентовласник Державний вищий навчальний заклад «Український державний хіміко-технологічний університет», Дніпропетровськ. – № а 2011 01341; заяв. 07.02.2011, опубл. 27.08.2012, Бюл. № 16.

123. Пат. 93549 Україна, МПК А01К 43/00 (2014.01). Композиція для дезінфекції інкубаційних яєць курей / Бордунова О. Г.; заявник і патентовласник Сумський НАУ. – № у 2014 03517; заяв. 07.04.2014, опубл. 10.10.2014, Бюл. № 19.

124. Пат. 93551 Україна, МПК А01К 43/00 (2014.01). Композиція для знищення патогенної мікрофлори на поверхні інкубаційних яєць курей / Бордунова О. Г.; заявник і патентовласник Сумський НАУ. – № у 2014 03519; заяв. 07.04.2014, опубл. 10.10.2014, Бюл. № 19.

125. Пат. 93550 Україна, МПК А01К 43/00 (2014.01). Композиція для захисту інкубаційних яєць курей щодо патогенної мікрофлори / Бордунова О. Г.; заявник і патентовласник Сумський НАУ. – № у 2014 03518; заяв. 07.04.2014, опубл. 10.10.2014, Бюл. № 19.

126. Патрєва Л. С. Забійні якості молодняка перепелів при вирощуванні з використанням наносрібла / Л. С. Патрєва, В. І. Гроза // Птахівництво : міжвід. темат. наук. зб. / ІТ НААН. – Харків, 2014. – Вип. 71. – С. 131-137.

127. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский. – М. : Колос, 1969. – 256 с.

128. Практикум по биохимии сельскохозяйственных животных / Под ред. А. В. Чечеткина, В. И. Воронянского, Г. Г. Покусай [и др.] – М. : Высшая школа, 1980. – 303 с.
129. Прокудина Н. А. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы / Н. А. Прокудина, Ю. А. Рябоконт, В. В. Рябоконт. — Х. : «НТМТ», 2008. – 386 с.
130. Промышленное птицеводство // Ф. Ф. Алексеев, М. А. Асриян, Н. Б. Бельченко [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1991. – 544 с.
131. Профілактика хвороби Марека : методичні рекомендації / П. П. Достоевський, П. А. Романюк, М. В. Косенко [та ін.]. – Київ, 1998. – 16 с.
132. Птахівницькі підприємства : ВНТП-СГІП-46-4.94 / Мінсільгосппрод України. – [чинний від 1994-07-01] – Режим доступу : <http://document.ua/ptahivnicki-pidpriemstva-nor1797.html>.
133. Растрова електронна мікроскопія захисних плівок дезінфектантів на поверхні інкубаційних яєць. / О. Г. Бордунова, Л. В. Бондарчук, І. І. Чемерис [та ін.] // Вісник Сумського державного аграрного університету. Серія «Тваринництво». – Суми, 2001. – Вип. 5. – С. 22-29.
134. Регулювання ступеня газопроникності захисних структур інкубаційних яєць курей у біоміметичній технології «ARTICLE» / О. Г. Бордунова, Г. П. Котенджи, Є. А. Самохіна [та ін.] // Вісник Сумського національного аграрного університету : серія «Тваринництво». – Суми, 2004. – Вип. 5 (8). – С. 13-18.
135. Самохіна Є. А. Удосконалення технологічних прийомів передінкубаційної обробки яєць курей: дис...кандидата с.-г. наук : 06.02.04 / Самохіна Євгенія Анатоліївна. – Херсон, 2008. – 205 с.
136. Самохіна Є. А. Фізичні та хімічні фактори в ембріостимуляції інкубаційних яєць курей / Е. А. Самохіна, О. Г. Бордунова, В. Д. Чіванов // 2-й з'їзд українського товариства клітинної біології, 23-26 жовтня 2007 р. : тези доп. – КНУ ім. Т. Шевченка. – Київ, 2007. – С. 87.

137. Самохина Е. А. Биомиметические защитные покрытия для птицеводства на основе нанокompозитов хитозана и TiO_2 (nanoTiARTICLE) / Е. А. Самохина, О. Г. Бордунова, В. Д. Чиванов, В. И. Еременко // Міжнародна конференція «Нанорозмірні системи. Будова-властивості-технології» НАН України (21-23 листопада 2007). — Київ, 2007. — С. 437.

138. Сахацький І. Дезінфекційні засоби для птахівництва : порівняльна ефективність / І. Сахацький // Ветеринарна медицина України. – 2005 . – № 1. – С. 40-43.

139. Сахер А. И. Рост и развитие куриных эмбрионов яичных кроссов при освещенности яиц во время инкубации : автореф. дис. на соискание наук. степени канд. с.-х. наук : спец. 03.00.04 – біохімія / А. И. Сахер. – М., 2001. – 15 с.

140. Скрыбин К. Г. Хитин и хитозан / К. Г. Скрыбин, Г. А. Вихорева, В. П. Варламов. – М. : Наука, 2002. – 365 с.

141. Сонофоретичний транспорт біологічно-активних речовин через біокерамічні захисні структури пташиних яєць / О. Г. Бордунова, Є. А. Самохіна, В. Д. Чиванов [та ін.] // Вісник Сумського національного аграрного університету : серія «Тваринництво». – Суми, 2005. – Вип. 9-10. – С. 156-161.

142. Справочник по болезням сельскохозяйственной птицы // А. Б. Байдевятов, Б. Ф. Бессарабов, Л. А. Ольховик [и др.] – К. : Урожай, 1992. – 200 с.

143. Справочник по инкубации яиц / Ю. З. Буртов, Ю. Н. Владимирова, Ю. С. Голдин [и др.] – М. : Колос, 1983. – 176 с.

144. 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 [и др.] // Проблемы ветеринарии Сев. Кавказа. – Новочеркасск, 1997. – С. 66-69.

145. Стегній Б. Т. Порівняльна оцінка препаратів для передінкубаційної обробки яєць / Б. Т. Стегній, В. О. Бреславець, П. С. Калин, [та ін.] // Міжнарод. тематичний науковий збірник. – Харків, 2005. – Т. 2. – № 85. – С. 1022-1025.

146. Суздалев И. П. Нанотехнология : физико–химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов / И. П. Суздалев. – М. : КомКнига, 2006. – 592 с.

147. Сундквист Б. У. Р. Плазменно-десорбционная масс-спектрометрия. Изучение механизма десорбции и возможности применения / Б. У. Р. Сундквист // Биоорганическая химия. – 1991. – Т. 17. – № 10. – С. 1313.

148. Тертерян Е. Е. Постэмбриональный рост и развитие цыплят, полученных из инкубационных яиц, обработанных селенитом натрия / Е. Е. Тертерян, А. М. Арутюнян // Актуальные вопросы зоот. науки и практ. как основы улучшения продуктивных качеств и здоровья с-х животных : материалы 1 Междунар. науч. конф. : тезисы докл. – Ставрополь : ССХА, 2001. – С. 284-286.

149. Технології захисту інкубаційних яєць курей з використанням композитів хітозану і оксидів металів (TiO_2 , Fe_2O_3) : науково-практичні рекомендації / О. Г. Бордунова, М. В. Чорний, М. П. Лузан [та ін.]. – Суми : СДУ, 2013. – 10 с.

150. Третьяков Н. П. Инкубация с основами эмбриологии / Н. П. Третьяков, Б. Ф. Бессарабов, Г. С. Крок. – М. : Агропромиздат, 1990. – 192 с.

151. Умняшкин В. Г. Изучение некоторых антибиотиков с целью применения их для глубинной обработки куриных яиц / В. Г. Умняшкин, Г. К. Отрыганьев, А. Г. Бирюков // Эффективные приемы производства яиц и мяса птицы. – 1984. – С. 41-45.

152. Усовершенствованная методика подготовки проб белков и пептидов в масс-спектрометрии с ионизацией осколками деления калифорния-

252 (TOF-PDMS) / В. Чиванов, Р. Зубарев, О. Бордунова [та ін.] // Биоорганическая химия. – 1996. – Т. – 22. – № 8. – С. 585-588.

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

154. Фисинин В. А. Формальдегид – лучшее ли это средство? / В. А. Фисинин // Международное животноводство. – 1995. – № 11. – С. 29-32.

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

156. Христева О. С. Методы стимуляции морфологической дифференцировки эмбрионов кур / О. С. Христева, В. М. Малышев // Резервы повышения эффективности интенсивного птицеводства. – 1987. – С. 43-46.

157. Царенко П. П. Повышение качества продукции птицеводства: пищевые и инкубационные яйца / П. П. Царенко. – Л. : ВО «Агропромиздат», 1998. – 93 с.

158. Цехмістренко С. І. Показники білково-нуклеїнового обміну та пероксидного окислення ліпідів у органах травлення курей у постнатальному періоді онтогенезу і в умовах дії іонізуючої радіації : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора біол. наук : спец. 03.00.04 – біохімія / С. І. Цехмістренко. – К, 1999. – 36 с.

159. Чадова Е. К. Антибактериальные свойства некоторых четвертичных аммониевых соединений: дис. ... канд. мед. наук. / Чадова Е. К. – М., 1965. – 200 с.

160. Чистякова Т. М. Пористость как показатель товарных и инкубационных качеств яиц / Т. М. Чистякова // Пути интенсификации производства продуктов птицеводства. – М., 1988. – С. 63-65.

161. Чумаченко Н. В. Методические рекомендации по определению естественной резистентности организма сельскохозяйственных животных / Н. В. Чумаченко, Д. А. Снегова. – М. : Колос, 1967. – 27 с.

162. Шиммель Г. Методика электронной микроскопии / Г. Шиммель. – М. : Мир, 1972. – 300 с.
163. 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.
164. Шляхи прискорення науково-технічного прогресу у птахівництві / [О. М. Царенко, А. Б. Байдевятов, Г. О. Богданов та ін.]. – Суми : «Козацький вал», 1999. – 282 с.
165. Яйца куриные пищевые. Технические условия. : ГОСТ 27583–88.
166. Якименко І. Л. Дія низькоінтенсивного лазерного випромінення на пероксидне окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментних систем в організмі птиці / І. Л. Якименко, Є. П. Сидорик // Доп. В НАН України. – К., 2000. — №8. – С.175-179.
167. Якименко І. Л. Регуляторна дія монохроматичного видимого світа нетеплової інтенсивності на розвиток птиці (за функціонуванням енергетичної, гідроксилуючої та антиоксидантної систем) : автореф. Дис. На здобуття наук. Ступеня доктора біол. Наук : спец. 03.00.02 – біофізика / І. Л. Якименко. – К., 2003. – 34 с.
168. Якубчак О. М. Чим краще обробити? Порівняльна оцінка сучасних і традиційних дезінфекційних засобів, що використовуються в галузі птахівництва / О. М. Якубчак // Сучасне птахівництво. – 2006. – № 6. – С. 14-15.
169. Ярошенко Ф. Сучасні світові тенденції розвитку птахівництва / Ф. Ярошенко – К. : Новий друк, 2003. – 335 с.
170. 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.
171. 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.

172. AMA recommends evaluation of anti-bacterial products. – Режим доступа : <http://lenta.ru/health/2000/06/16/soap/>.

173. Angela-Guiovana Rincon. Absence of *E. coli* regrowth after Fe^{3+} and TiO_2 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.

174. Anon. Formaldehyde alternative / Anon // *Intern. Hatchery Pract.* – 1990. – V. 4. – № 6. – P. 35-36.

175. 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 et al.] // *Chemosphere*. – 2009. – V. 77, Issue 2. – P. 296-300.

176. Arias J. L. Collagens of the chicken eggshell membranes / J. L. Arias, M. Fernandez, J. E. Dennis // *Connect. Tiss. Res.* – 1991. – V. 26. – P. 37-45.

177. Ar Amos. Roles of water and gas exchange in determining hatchability success / Ar Amos // *Int. Hatchery Pract.* – 2000. – V. 15. – № 2. – P. 21.

178. Antimicrobial properties of a nanostructured eggshell from a compost-nesting bird / [L. D'Alba, D. N. Jones, H. T. Badawy et al.] // *Journal of Experimental Biology*. – 2014. – № 217. – P. 1116-1121.

179. 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.

180. Arias J. L. Role of type X collagen on experimental mineralization of eggshell membranes / J. L. Arias, O. Nakaruma, M. S. Fernandez // *Connect. Tiss. Res.* – 1997. – V. 36. – P. 21-33.

181. Arias J. L. Effect of beta-aminopropionitrile on the eggshell mineralization / J. L. Arias, M. Cataldo, M. S. Fernandez // Br. Poultry Sci. – 1997. – V. 38. – P. 351-356.

182. Ar Amos. Roles of water and gas exchange in determining hatchability success / Ar Amos // Int. Hatchery Pract. – 2000. – V. 15. – № 2. – P. 21.

183. Arunothayanun P. Extrusion of niosomes from capillaries: approaches to a pulsed deliver device / P. Arunothayanun, T. Sooksawate, A.T. Florence // J. Control. Release. – 2000. – V. 60. – P. 391-397.

184. Aydin R. Is oleic acid required for chick embryonic development and survival? / R. Aydin, M. E. Cook // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society, 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases, 41st Annual Meeting January 17–18. – Canada, 2000. – P. 171.

185. Awade A. C. Chromatographic methods for the analysis of egg white proteins / A. C. Awade // Proc. of the VI European Symposium on the Quality of Egg and Eggs Products. – Zaragoza, Spain. – 1995. – P. 33–40.

186. Bailey J. S. Effect of *in ovo* gentamicin on efficacy of mucosal competitive exclusion TM to control Salmonella in broiler chickens / J. S. Bailey, J. E. Line // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases. : 41st Annual Meeting. – January 17–18. – Canada, 2000. – P. 22.

187. Bailey J. S. *In ovo* gentamicin and mucosal starter culture to control *Salmonella* in broiler production / J. S. Bailey, E. Line // J. Appl. Poult. Res. – 2001. – V. 10. – P. 376-379.

188. Baldry M. G. C. The bactericidal, fungicidal and esporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid / M. G. C. Baldry // Journal of Applied Bacteriology. – 1983. – V. 54. № 3. – P. 417-423.

189. Baro M. In vitro-in vivo characterization of gentamicin bone implants / M. Baro, E. Sánchez, A. Delgado, A. Perera // J. Control. Release. – 2002. – V. 83. – P. 353-364.

190. Barofsky D. E. Mass spectrometric analyses in agriculture and natural product research / D. E. Barofsky // *Amenag. et nature.* – 1999. – №134. – P. 432-439.

191. Barreiro-Iglesias R. Incorporation of small quantities of surfactants as a way to improve the rheological and diffusional behavior of carbopol gels / R. Barreiro-Iglesias, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro // *J. Control. Release.* – 2001. – V. 77. – P. 59-75.

192. Bhale S. Chitosan coating improves shell life of eggs / S. Bhale, H. K. No, A. Farr // *Journal of the of Food Science.* – 2003. – № 68. – P. 2378-2383.

193. Biochemical changes in yolk membrane associated with hatchability // *Poultry International.* – 1998. – V. 37. – №14. – P. 73-75.

194. Birrenkott G. Yolk and blood cholesterol levels and organoleptic assessment of eggs from hens fed a garlic supplemented diet / G. Birrenkott, G. E. Brockenfelt, M. Owens [et al.] // *Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 41st Annual Meeting January 17–18. – Canada, 2000. – P. 327.*

195. Blacher S. Image analysis, impedance spectroscopy and mercury porosimetry characterisation of freeze-drying porous materials / S. Blacher, V. Maquet, R. Pirard [et al.] // *Colloids and Surfaces. – Physicochemical and Engineering Aspects.* – 2001. – V. 187-188. – P. 375-383.

196. Blacher S. Image analysis of the in growth into poly (D, L-lactide) porous scaffolds in relation to the 3-D porous structure / S. Blacher, V. Maquet, F. Schils // *Biomaterials.* – 2003. – V. 24. – P. 1033-1040.

197. Blount J. B. Why egg yolk is yellow / J. B. Blount, D. C. Houston, A. P. Moller // *Trends Ecol. Evol.* – 2000. – V. 15. – №. 2. – P. 47-49.

198. 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 Bologna, Italy, 1999. – Vol. II. – P. 595-601.*

199. Bordunova O. Spectrometric Investigation of the Interaction of the new «BB-1» Disinfectant with an egg shell / O. Bordunova, A. Baidevlatov, V. Chivanov

// Proceedings 11-th European Symposium on Water fowl, September 8-10 1997. – NANTES, France, 1997. – P.479-482.

200. Bordunova O. Interaction of multicomponent disinfectant with incubation egg shell / O. Bordunova, V. Chivanov, A. Baidevlatov // 10-th European Poultry Conference «The poultry Industry Towards 21st Century», June 21-26 1998. – Jerusalem, Israel, 1998. – P. 117.

201. Bordunova O. The Use of New Disinfectant Agent “BB-1” of Mass Single Preincubation Egg Treatment / O. Bordunova, A. Baidevlatov, V. Chivanov // Proceedings 11-th European Symposium on Water fowl, September 8-10 1997. – NANTES, France, 1997. – P. 475-477.

202. Borrett V. T. Electrospray Mass Spectrometry of Phospholipids extracted from inactivated Bacteria / V. T. Borrett, A. Duncan, R. J. Mathews, J. C. Traeger // *Advances in Mass Spectrometry*. – 1998. – V. 14. – C05 TUPO062.

203. Bothner B. Monitoring Enzyme Catalysis with Mass Spectrometry / B. Bothner, R. Chavez, J. Wei // *J. Biol. Chem.* – 2000. – V. 275. – № 18. – P. 13455–13459.

204. Brinez W. J. Bactericidal efficacy of peracetic acid in combination with hydrogen peroxide against pathogenic and non pathogenic strains of *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. and *Escherichia coli* / W. J. Brinez, A. X. Roig-Sagues, M. M. Hernandez Herrero // *Food Control*. – 2006. – V. 17. – P. 516-521.

205. Bruco J. The Bacterial Flora of Inhatched Eggs / J. Bruco // *British Poultry Sci.* – 1978. – V. 19. – № 5. – P. 681-689.

206. Bruce J. Bacterial contamination in hatching eggs / J. Bruce, E. M. Drysdale // *Poultry Science*. – 1986. – V. 27. – P. 152.

207. Buhr R. J. Hatchability of sanitized nest clean and dirty broiler hatching eggs / R. J. Buhr, J. M. Mauldin, J. S. Bailey [et al.] // *Poultry Science*. – 1993. – V. 72. – Supp. 1. – P. 157.

208. Bulinski R. Zawartość kadmu, ołowiu, chromu, cynku, miedzi, kobaltu, niklu, manganu i żelaza w jajach kurzych / R. Bulinski, J. Bnoniarz // *Bromat. Chem. Toksykol.* – 1992. – V. 25. – P. 277-282.

209. Bunk M. J. Ultrastructure of the mammillary region of low puncture strength avian eggshells / M. J. Bunk, S. L. Balloun // *Poultry Science*. – 1978. – V. 57. – P. 639-647.

210. Burley R. W. *The Avian Egg: Chemistry and Biology* / R. W. Burley, D. V. Badehra. – N. Y. : Wiley, 1989. – P. 458.

211. Burns J. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables / J. Burns, P. D. Fraser, P. M. Bramley // *Phytochemistry*. – 2003. – V. 62. – P. 939-947.

212. Calabrese E. J. *HORMESIS: The Dose-Response Revolution* / E. J. Calabrese, L. A. Baldwin // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2003. – V. 43. – P.175-97.

213. Campo J. L. The relationship of brown deposits in the eggs with stress, fear and shell quality / J. L. Campo, A. Redondo // *Arch. Geflugelk.* – 1997. – Bd. 61, H. 6. – P. 267-269.

214. Caner C. The effect of edible eggshell coatings on egg quality and consumer perception / C. Caner // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2005. – № 85. – P. 1897-1902.

215. Caner C. Chitosan coating minimises eggshell breakage and improves egg quality / C. Caner, O. Cansiz // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2008. – № 88. – P. 56-61.

216. Capozzi F. Shell egg freshness evaluated by nuclear magnetic resonance spectroscopy of albumen / F. Capozzi, C. Luchinat, A. Bettini [et al.] // *In VII European Symp. On the Quality of Eggs and Egg Products, 21-29 Sept., 1997.* – Poznan, 1997. – P. 198-207.

217. Carrino D. A. The avian eggshell extracellular matrix as a model for biomineralization / D. A. Carrino, J. E. Dennis, T. M. Wu // *Connect. Tissue Res.* – 1996. – V. 35. – P. 325-329.

218. Carrino D. A. Dermatan sulfate proteoglycans from the mineralized matrix of the avian eggshell / D. A. Carrino, J. P. Rodríguez, A. I. Caplan // *Connect. Tissue Res.* – 1997. – V. 36. – P. 175-193.

219. Carter T. C. Why do eggshells crack? / T. C. Carter // *World's Poultry Science Journal*. – 1970. – V. 26. – P. 549-561.
220. Castellani F. La misura della qualita del guscio dell'uovo con la tecnica beta back-scattering modificata / F. Castellani, R. Leotta, M. Tocchini // *Zootecn. Nutr. anim.* – 1986. – V. 12. – № 3. – P. 197-204.
221. Castrillo J. I. An optimized protocol for metabolome analysis in yeast using direct infusion electrospray mass spectrometry / J. I. Castrillo, A. Hayes, S. Mohammed [et al.] // *Phytochemistry*. – 2003. – V. 62. – P. 929-937.
222. Cenzig Caner. Chitosan coating minimises eggshell breakage and improves egg quality / Cenzig Caner, Ozge Cansiz // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2007. – Vol. 88. – Issue 1. – P. 56–61.
223. Čedelik I. Efficacy of polyvinylpolypyrrolidone in reducing the immunotoxicity of aflatoxin in growing broilers / I. Čedelik, H. Oguz, O. Demet [et al.] // *British Poultry Science*. – 2002. – V. 41. – № 4. – P. 430-439.
224. Chemistry and Biochemistry of the Eggs // *Poultry International*. – 2000. – V. 39. – № 2. – P. 28-30.
225. 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.
226. Chunhua Cao. Magnetically separable Cu₂O / chitosan-Fe₃O₄ nanocomposites : Preparation, characterization and visible-light photocatalytic performance / Chunhua Cao, Ling Xiao, Chunhua Chen // *Applied Surface Science*. – 2015. – V. 333. – P. 110-118.
227. Chivanov V. PDMS as a Technique for Characterization of Biomolecules Adhesion on Natural and Artificial Surfaces / V. Chivanov, T. Kalinichenko, O. Bordunova // *Abstracts of 14-th International Mass Spectrometry Conference, 25-29 August 1997. – Tampere, Finland, 1997.* – P. 116.
228. Choksakulnimitr S. *In vitro* cytotoxicity of macromolecules in different cell culture systems / S. Choksakulnimitr, S. Masuda, H. Tokuda [et al.] // *J. Control. Release*. – 1995. – V. 34. – P. 233–241.

229. Chowdhury S. D. Influence of dietary osteolathyrogens on the ultrastructure of shell and membranes of eggs from laying hens / S. D. Chowdhury, R. H. Davis // Br. Poultry Sci. – 1995. – V. 36. – P. 575-583.

230. Christensen V. L. The relationship of egg conductance constants to neonatal poult growth and quality / V. L. Christensen, D. T. Ort, S. Suvarna [et al.] // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 41st Annual Meeting, January 17–18, 2000. – Canada, 2000. – P. 344.

231. Christie W. W. Rapid separation and quantification of lipid classes by high performance liquid chromatography and mass (light-scattering) detection / W. W. Christie // J. Lipid Res. – 1985. – V. 26. – P. 507-512.

232. Cockrem J. F. Variation in Plasma Corticosterone Levels in the Chicken (*Gallus domesticus*), Grey Duck (*Anas Superciliosa*) and Mallard (*Anas platyrhynchos*) / J. F. Cockrem, M. Forman, K. E. Littin [et al.] // Abstracts VI International Symposium on Avian Endocrinology, March 31-April 5 1996. – Chateau Lake Louise, Alberta, 1996. – P. 37-38.

233. Cohen A. Calcium absorption, calcium-binding protein, and eggshell quality in laying hens fed hydroxylated vitamin D derivatives / A. Cohen, A. Bar, V. Esner [et al.] // Poultry Sci. – 1978. – V. 57. – P. 1646-1651.

234. Coles B. A. Effect of Dosage and Turkey Line on Changes in Jejunal Glucose Transport Associated with *In ovo* Peptide YY (PYY) Administration / B. A. Coles, G. Croom, L. Daniel [et al.] // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 22nd Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 42nd Annual Meeting, January 15-16 2001. – Canada. – 2001. – P. 153.

235. Cook F. The nutritive value of eggs / F. Cook, G. M. Briggs // Egg science and technology : 3rd ed. Food products press. – New York, 1990. – P. 141-163.

236. Corrigan O. I. Surfactants in pharmaceutical products and systems / O. I. Corrigan, A. M. Healy // Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. – New York: Marcel Dekker. – 1996. – V. 14. – P. 295-331.

237. Cortes C. R. Effect Of Marigold Product With 60% Of Zeaxantin On Egg Yolk Pigmentation / C. R. Cortes // Proc. VIII European Symp. on the Quality of Egg and Egg Production, 19-23 Sept., 1999. – Bologna, Italy, 1999 – P. 209-212.

238. Coty W. A. A high affinity calcium stimulated ATPase activity in the hen oviduct shell gland / W. A. Coty, C. L. McConkey // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1986. – V. 219. – P.444.

239. Cox N. A. Effect of chemical treatments to eliminate Salmonella on hatching eggs / N. A. Cox, J. S. Bailey // Poultry Science. – 1990. – V. 70. – Supp. 1. – P. 154.

240. Coufal C. D. Effects of Ultraviolet Irradiation on Hatchability of Broiler Eggs / C. D. Coufal, C. Chavez, K. D. Knappe [et al.] // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society, 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases, 41st Annual Meeting, January 17–18 2000. – Canada, 2000. – P. 10.

241. Creger C. R. Formation of an egg shell / C. R. Creger, H. Phillips, J. T. Scott // Poultry Sci. – 1976. – V. 55. – P. 1717-1723.

242. Cutler R. A. Toxicology of cationic surfactants // Cationic Surfactants / R. A. Cutler, H. P. Drobeck // Surfactant Science Series. – N.Y. : Marcel Dekker, 1970. – V. 4. – P. 527-561.

243. Damron B. L. Sodium chloride concentration in drinking water and eggshell quality / B. L. Damron // Poult. Sci. – 1998. – V. 77. – P. 1488-1491.

244. Davis J. M. Nanomaterial Case Studies : Nanoscale Titanium Dioxide in Water Treatment and in Topical Sunscreen / J. M. Davis, A. Wang, J. M. Shatkin // EPA A/600/R-09/057, National Centre for Environmental Assessment Office of Research and Development U. S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, N C. – 2009. – 222 p.

245. D’Alba L. Antimicrobial properties of a nanostructured eggshell from a compost-nesting bird / L. D’Alba, N. Jones, T. Badawy // Journal of Experimental Biology. – 2014. – № 217. – P. 1116-1121.

246. Dalbeck P. Crystallography (Electron Backscatter Diffraction) and Chemistry (Electron Probe Microanalysis) of the Avian Eggshell / P. Dalbeck, M. Cusack // *Crystal growth & Design*. – 2006 – V. 6 – № 11. – P. 2558-2562.
247. Deeming D. C. Storage Of Hatching Eggs / D. C. Deeming // *Poultry International*. – 2000. – V. 39 – № 13. – P. 44-50.
248. Deeming D. C. Is the quality of egg setting driving down your hatchability? / D. C. Deeming // *Poultry International*. – 2001. – V. 40. – № 7. – P. 34-38.
249. Deeming D. C. Taking hatchery management into the 21st century / D. C. Deeming // *Poultry International*. – 2002. – V. 41. – № 3. – P. 8-15.
250. Denis-Mize K. S. Plasmid DNA adsorbed onto cationic microparticles mediates target gene expression and antigen presentation by dendritic cells / K. S. Denis-Mize, M. Dupius, M. L. MacKichan [et al.] // *Gene Ther.* – 2000. – V. 7. – P. 2105-2112.
251. Dennis J. E. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from White Leghorn chickens (*Gallus gallus*) / J. E. Dennis // *Journal of Morphology*. – 1996. – V. 228. – P. 287-306.
252. De-scaling detergent // *Poultry International*. – 2002. – V. 41 – № 10. – P. 74.
253. Devegowda G. Mycotoxin picture worldwide: novel solutions for their counteraction. In : *Biotechnology in the Feed Industry* // / G. Devegowda, M. V. L. N. Raju, Afzali Nazar [et al.] // – Nottingham University Press : Proc. of the Alltech 14th Annual Symposium. Alltech Technological Publications. – Nottingham UK. – 1998. – P. 241-255.
254. Dieckert J. W. Calcium reserve assembly : a basic structural unit of calcium reserve system of the hen eggshell / J. W. Dieckert, M. C. Dieckert, C. R. Creger // *Poultry Sci.* – 1989. – V. 68. – P. 1569-1584.
255. Ding S. T. Changes in fatty acid profiles in different lipid classes during late development of turkey embryos from two genetic lines / S. T. Ding, M. S. Lilburn // *Poultry Sc.* – 1997. – V. 76. – № 6. – P. 828-833.

256. Dixon R. E. Aqueous quaternary ammonium antiseptics and disinfectants – use and misuse / R. E. Dixon, R. A. Kaslow, D. C. Mackel // JAMA. – 1976. – V. 236. – P. 2415-2417.

257. Djedaïni F. New cyclodextrin-based media for vectorization of hydrophilic drug, mixed vesicles composed of phospholipids and lipophilic cyclodextrin / F. Djedaïni, A. W. Coleman, B. Perly // In: D. Duchene (Ed.), Minutes of the 5th Int. Symp. on Cyclodextrins, Editions de Sante. – Paris. – 1990. – P. 328–331.

258. Dobrzanski Z. Concentration Of Macro– And Microelements In The Eggs Of Hens Housed In Three Different Systems / Z. Dobrzanski, H. Górecka, T. Trziszka [et al.] // Proc. VIII European Symp. on the Quality of Egg and Egg Production, 19-23 Sept. 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 283-288.

259. Donaldson W. E. Fatty acid composition of chick embryo and egg yolk at various stages of incubation / W. E. Donaldson // Poult. Sci. – 1964. – V. 43. – P. 784-785.

260. Donaldson W. E. Lipid metabolism in chick embryos / W. E. Donaldson // Poultry Sci. – 1981. – V. 60. – P. 1964-1970.

261. Doornenbal P. Good disinfection is not enough in hatcheries / P. Doornenbal // Poultry. Sci. – 1988/89. – V. 4. – № 7. – P. 16-17.

262. Draper M. H. The fine structure of the fibrous membrane forming region of the isthmus of the oviduct of Gallus domesticus / M. H. Draper, M. F. Davidson, G. M. Wyburn [et al.] // Quart. J. Exper. Physiol. – 1972. – V. 57. – P. 297-309.

263. Duchêne D. Cyclodextrins and carrier systems / D. Duchêne, D. Wouessidjewe, G. Ponchel // J. Control. Release. – 1999. – V. 62. – P. 263–268.

264. Eckert J. Synthesis of a precursor polypeptide of egg shell matrix in the liver of the laying hens / J. Eckert, R. Schade, H. Glock [et al.] // Z. Tierphysiol., Tierern, u. – Futtermittelkde. – 1986. – Bd. 56. – P. 258-265.

265. Eckman M. What lies ahead in commercial broiler production? / M. Eckman // Poultry International. – 2002. – V. 41. – № 4. – P. 10-16.

266. Eid Y. Z. Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens / Y. Z. Eid, A. Ohtsuka, K. Hayashi // *British Poultry Science*. – 2003. – V. 44. – № 1. – P. 127-132.
267. Eecman F. Surfactant induced drug delivery based on the use of thermosensitive polymers / F. Eecman, A. J. Moös, K. Amighi // *J. Control. Release*. – 2003. – V. 88. – P. 105-116.
268. Eggs safe for babies // *Poultry International*. – 1999. – V. 38. – P. 53.
269. El-hefian E. A. Characterisation of chitosan solubilised in aqueous formic and acetic acids / E. A. El-hefian, A. N. Yahaya, M. Misral // *Maejo International Journal of Science and Technology*. – 2009. – № 3. – P. 415-425.
270. Elbert D. L. Protein delivery from materials formed by self-selective conjugate addition reaction / D. L. Elbert, A. B. Pratt, M. P. Lutolf [et al.] // *J. Control. Release*. – 2001. – V. 76. – P. 11-25.
271. El-Zayat A. J. The mode of action and cell destruction of disinfectants. II. Influence of disinfectants on cell respiration and catabolism / A. J. El-Zayat, J. Mayandon // *Chem. microbiol. tech. Lebensm.* – 1985. – V. 43. – №9. – P. 70-75.
272. Ehtezazi T. Hydrogen bonding and electrostatic interaction contributions to the interaction of a cationic drug with polyaspartic acid / T. Ehtezazi, T. Govender, S. Stolnik // *Pharm. Res.* – 2000. – V. 17. – P. 871-878.
273. Erne A. M. Inhibition of bacterial adhesion by an artificial surfactants / A. M. Erne, R. G. Werner, R. Reifenrath // *FEMS microbiol. Lett.* – 1984. – V. 23. – № 2-3. – P. 205-209.
274. Farrell D. J. The problems and practicabilities of producing an omega-(n)-3 fortified egg / D. J. Farrell // *Proc. of the VIth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Sept. 25th-29th 1995. – Spain, Zaragoza, 1995. – P. 351-360.*
275. Fasenko G. Improving hatchability / G. Fasenko // *Poultry International*. – 2003. – V. 42. – № 7. – P. 56.

276. Felgner P. L. Lipofection: A highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure / P. L. Felgner, T. R. Gadek, M. Holm [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. – USA. – 1987. – V. 84. – P. 7413-7414.

277. Fernández M. S. Sequential deposition of particular macromolecules during eggshell formation / M. S. Fernández, E. Kessi, J. L. Arias // Proc. 9th European Poultry Conf. – Glasgow, Scotland, 1994. – P. 381-382.

278. Fernández M. S. Eggshells are shaped by a precise spatio-temporal arrangement of sequentially deposited macromolecules / M. S. Fernández, M. Araya, J. L. Arias // Matrix Biol. – 1997. – V. 16. – P. 13-20.

279. Fernández M. S. Secretion pattern of extracellular matrix molecules in the oviduct during eggshell formation / M. S. Fernández, A. Moya, J. L. Arias // Quality of Eggs & Egg Prod. : Proc. VII Europ. Symp., 21-26 Sept. 1997. – Poznan, Poland, 1997. – P. 182-187.

280. Fernández M. S. Ultrastructural Localization of Molecules Involved In Eggshell Formation In The Avian Oviduct / M. S. Fernández, J. L. Arias // Quality of Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp, 19-23 Sept. 1999. — Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 267-271.

281. Fiehn O. Combining genomics, metabolome analysis and biochemical modelling to understand metabolic networks / O. Fiehn // Comp. Funct. Genomics. – 2001. – V. 2. – P. 155-168.

282. Flemming H.-C. Die Peressigsäure als Desinfektionsmittel. Ein Überblick / H.-C. Flemming // Zbl. Bakt. Hyg. – 1984. – Bd. 179. – № 2. – P. 97-111.

283. Flock D. K. Is shell quality related to egg production? / D. K. Flock // Misset-World Poultry. – 1991. – V. 7. – № 5. – P. 14-15.

284. Flock D. K. Shell quality is an important tool in breeding / D. K. Flock // Misset-World Poultry. – 1991. – V. 7. – № 4. – P. 26-27.

285. 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 // Applied Surface Science. – 2013. – V. 276. – P. 682-690.

286. Franco V. Chick embryo development : Chemical variation of cartilage / V. Franco, M. C. Pugliarello, // *J. Exp. Zool.* – 1972. – V. 172. – № 3. – P. 325-341.
287. Fraser A. C. Genetic Influences On The Ultrastructural Integrity And Protein Chemistry Of Broiler Breeder Eggshells / A. C. Fraser, M. Cusack, S. E. Solomon [et al // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept, 1999. — Bologna, Italy, 1999.* – V. II. – P. 31-36.
288. 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.
289. 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.
290. Friedman S. H. C₆₀ : A highly flexible scaffold for bioorganic design : From HIV protease inhibition to pharmacophore presentation / S. H. Friedman // *201st Meeting of the Electrochemical Society : Abstract, may 12-17 2002.* – Philadelphia, 2002. – P. 985.
291. French N. A. Modeling incubation temperature: the effects of incubation design, embryonic development, and egg size / N. A. French // *Poultry Sc.* – 1997. – V. 76. – № 1. – P. 124-133.
292. Fujii S. Scanning electron microscopy of shell formation in hen's eggs / S. Fujii, T. Tamura // *J. Fac. Fish. Anim. Hush. Hiroshima Univ.* – 1970. – V. 9. – P. 65-81.
293. Fujii S. Further morphological studies on the formation and structure of hen's eggshell by scanning electron microscopy / S. Fujii // *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.* – 1974. – V. 13. – P. 29-56.
294. Fujii S. Scanning electron microscopy on the structure of abnormal hen's eggshell / S. Fujii, T. Watari, T. Tamura // *J. Fac. Applied Biol. Science, Hiroshima Univ.* – 1980. – V. 19. – P. 101-111.
295. Inafuku K. A new mutant of ovalbumin in the chicken / K. Inafuku, Y. Maeda, K. Ishihara [et al.] // *Japan Poultry Sc.* – 1997. – V. 34. – № 2. – P. 87-93.

296. James A. D. Cationic surfactants / A. D. James, P. H. Orden, J. M. Wates // *Ind. Appl. Surfactants: Proc. Symp.* – London, 1987. – P. 250-268.
297. Jimenez-Lopez C. Influence of lysozyme on the precipitation of calcium carbonate : a kinetic and morphologic study / C. Jimenez-Lopez, A. Rodriguez-Navarro, J. M. Dominiguez-Vera [et al.] // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 2003. – V. 67. – № 9. – P. 1667-1676.
298. John C. M. Time-of-flight ion mass spectrometric analysis and imaging of avian egg membranes / C. M. John, R. W. Odom // *Abstracts of 41-th ASMS Conference on Mass Spectrometry.* – USA. – 1993. – P. 224a-224b.
299. Jonson J. H. Removing viruses from water by polyelectrolytes / J. H. Jonson, J. E. Fields, W. A. Darlington // *Nature.* – London, 1967. – V. 213. – P. 665.
300. Gang Xiao. Synthesis of core-shell bioaffinity chitosan-TiO₂ composite and its tnvironmental applications / Gang Xiao, Haijia Su, Tianwei Tan // *Journal of Hazardous Materials.* – 2015. – V. 283. – P. 888-896.
301. Gautron J. Soluble matrix of hen`s eggshell extracts changes in vitro the rate of calcium carbonate precipitation and crystal morphology / J. Gautron, M. M. Bain, S. E. Solomon [et al.] // *Br. Poultry Sci.* – 1996. – V. 37. – P. 853-866.
302. Gautron J. Precursor matrix proteins in the uterine fluid change with stages of eggshell formation in hens / J. Gautron, M. T. Hincke, Y. Nys // *Connective Tissue Research.* – 1997. – V. 36. – P. 195-210.
303. Gautron J. Identification And Characterization Of Matrix Proteins From Hen`s Eggshell / J. Gautron, M. T. Hincke, M. Panheleux [et al.] // *Quality off Egg and Egg Production Proc. : VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999.* – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 25-30.
304. Giambrone J. Efficacy of *In Ovo* Administration of Infectious Bursal Disease Viral Vaccines / J. Giambrone, T. Dormitorio // *Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 22nd Annual Meeting The Southern Conference*

on Avian Diseases : 42nd Annual Meeting, January 15-16 2001. – Canada, 2001. – P. 185.

305. Grizard S. Dynamics of bacterial and fungal communities associated with eggshell during incubation / S. Grizard, F. Dini-Andreote, B. Tieleman [et al.] // Ecology and Evolution. – 2014. – V. 4. – № 7. – P. 1140-1157.

306. Goodson-Williams R. Effects of feeding graded levels of vitamin D₃ on egg shell pitting in aged hens / R. Goodson-Williams, D. A. Roland, J. A. McGuire // Poultry Sc. – 1986. – V. 65. – № 8. – P. 1556-1560.

307. Goto K. Effects of disinfectants and spray washing on Salmonella enteritidis Contamination on the shell surface of eggs / K. Goto, T. Masuda, S. Murayama [et al.] // J. of the Food Hygienic Society of Japan. – 1996. – V. 37. – № 4. – P. 165-172.

308. Govender T. Drug-polyionic block copolymer interactions for micelle formation : physicochemical characterisation / T. Govender, S. Stolnik, Xiong Chengdong [et al.] // J. Control. Release. – 2001. – V. 75. – P. 249-258.

309. Graeme-Cook K. Surface microbial flora of waterfowl eggs during natural incubation / K. Graeme-Cook, G. K. Baggott // International Hatchery Practise. – 1999. – V. 14. – № 2. – P. 19-21.

310. Grashorn M. A. Effect Of Dietary Fat With Different Relations Between Omega-6 And Omega-3 Fatty Acids On Egg Quality / M. A. Grashorn, S. Steinhilber // Quality of Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 95-101.

311. Grashorn M. A. Use Of Apo-Ester And Tagetes Extracts For Yolk Pigmentation In Fresh And Boiled Eggs / M. A. Grashorn, J. Seehawer // Quality of Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 203-211.

312. Gunaratne S. P. Plasma phosphorus and egg-shell deposition in individual hens / S. P. Gunaratne, K. N. Boorman // Proc. Arkansas nutrition conference. – North Little Rock – 1990. – P. 131-141.

313. Guo Z. Y. *In ovo* administration of an experimental reovirus vaccine / Z. Y. Guo, J. J. Giambrone // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 22nd Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 42nd Annual Meeting, January 15 & 16 2001. – Canada. – 2001. – P. 175.

314. Gupta Vinod K. Removal of the hazardous dye-Tartrazine by photodegradation on titanium dioxide surface / K. Gupta Vinod // Materials Science and Engineering. – 2011. – C. 31. – P. 1062-1067.

315. Hall L. M. The relation between yolk cholesterol and total lipid concentration throughout the first year of egg production in the domestic fowl / L. M. Hall, J. C. McKay // Br. Poult. Sci. – 1993. – V. 34. – P. 487-495.

316. Hamilton R. M. G. Relationship between eggshell quality and shell breakage and factors that affect breakage in the field : A review / R. M. G. Hamilton, K. G. Hollands, P. W. Voisey [et al.] // World's Poultry Science Journal. – 1979. – V. 35. – P. 177-190.

317. Hamilton R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality / R. M. G. Hamilton // Poultry Science. – 1982. – V. 61. – P. 2022-2039.

318. Hansson P. Surfactant-polymer interactions / P. Hansson, B. Lindman // Curr. Opin. Colloid. Interf. Sci. – 1996. – V. 1. – P. 604-613.

319. Hanzl J. Cytogenetická analýza u pracovníku profesionální exponovaných formaldehydu / J. Hanzl, P. Rossner, H. Klementová // Cs. Hyg. – 1985. – V. 30. – № 718. – P. 7-8.

320. Harada A. Novel polyion complex micelles entrapping enzyme molecules in the core: preparation of narrowly distributed micelles from lysozyme and poly-(ethylene glycol)-poly-(aspartic acid) block copolymer in aqueous medium / A. Harada, K. Kataoka // Macromolecules. – 1998. – V. 31. P. 288-294.

321. Harris E. D. Localization of lysyloxidase in hen oviduct: implications in egg shell membrane formation and composition / E. D. Harris, J. E. Blount, R. M. Leach // Science. – 1980. – V. 208. – P. 55-56.

322. Hatchery Biosecurity Programme // Antec International Ltd. Windham Road, Chilton Industrial Estate Sudbury, Suffolk, UK. – Режим доступа : www.antecint.com.

323. Hatten L. F. A study of the effects of eggshell cuticle on egg color and specific gravity in broiler breeders / L. F. Hatten, D. R. Ingram, S. T. Pittman // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 41st Annual Meeting, January 17–18 2000. – Canada, 2000. – P. 251.

324. Heller D. N. Mass spectral analysis of complex lipids desorbed directly from lyophilized membranes and cells / D. N. Heller, C. Fenselau, R. J. Cotter [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1987. – V. 142. – № 1. – P. 194-199.

325. Helaly F. M. Natural rubber base matrix containing *Calendula officinalis* plant as a source of molluscicidal saponin / F. M. Helaly, A. A. Ahmed, M. A. Abd El-Ghaffar // J. Control. Release. – 1999. – V. 57. – P. 1–7.

326. Hernández J. M. Latest Research On The Use Of Yellow Xanthophylls For Table And Industrial Egg Yolk Pigmentation / J. M. Hernández, W. Steinberg, A. Blanch // Quality of Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 107-113.

327. Heuer A. H. Innovative materials processing strategies: a biomimetic approach / A. H. Heuer, D. J. Fink // Science. – 1992. – V. 255. – P. 1098-1105.

328. Hiidenhovi J. Characterization of the Egg Albumen Ovomucin Obtained From Different Albumen Layers / J. Hiidenhovi, R. Huopalahti, E. L. Ryhänen // Quality of Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 55-60.

329. Hincke M. T. Ovalbumin is a component of the chicken eggshell matrix / M. T. Hincke // Connect. Tissue Res. – 1995. – V. 31. – P. 227-233.

330. Hincke M. T. Soluble Protein Constituents of the Chicken Eggshell / M. T. Hincke, A. M. Bernard, E. R. Lee [et al.] // British Poultry Science. – 1992. – V. 33. – P. 495-406.

331. Hincke M. T. Purification and immunochemistry of a soluble matrix protein of the chicken eggshell (Ovocleidin 17) / M. T. Hincke, C. P. W. Tsang, M. Courtneet [et al.] // *Calcif. Tissue Int.* – 1995. – V. 56. – P. 578-583.

332. 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. W. Tsang [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – V. 274. – P. 32915-32923.

333. Hincke M. T. Eggshell proteins and shell strength: Molecular biology of eggshell matrix proteins and industry applications / M. T. Hincke, M. Maurice, Y. Nys [et al.] // *Egg Nutrition and Biotechnodgy.* – CAB International 2000. – Wallingford, UK, 2000. – P. 447-461.

334. Hincke M. T. Identification and localization of lysozyme as a component of eggshell membranes and eggshell matrix / M. T. Hincke // *Matrix Biology.* – 2000. – V. 19. – P. 443-453.

335. Hombreiro-Pérez M. Non-degradable microparticles containing a hydrophilic and/or a lipophilic drug: preparation, characterization and drug release modelling / M. Hombreiro-Pérez, J. Siepmann, C. Zinutti [et al.] // *J. Control. Release.* – 2003. – V. 88. – P. 413-428.

336. Huayue Zhu. Effective photocatalytic decolorization of methyl orange utilizing TiO₂ / ZnO / chitosan nanocomposite films under simulated solar irradiation / Huayue Zhu, Ru Jiang. // *Desalination.* – 2012. – V. 286. – P. 41-48.

337. Hrubí M. Increasing breastmeat yield in broilers and turkeys / M. Hrubí // *Poultry International.* – 2002. – V. 41. – № 10. – P. 42-45.

338. Huff W. E. Effects of dietary Aflatoxin on certain egg yolk parameters / W. E. Huff, R. D. Wyatt // *Poultry Sci.* – 1975. – V. 54. – P. 2014-2018.

339. Hughes B. O. Induction of eggshell abnormalities in domestic fowls by administration of adrenaline / B. O. Hughes, A. B. Gilbert // *IRCS Medical Science.* – 1984. – V. 12. – P. 969.

340. Hunton P. Laboratory evaluations of egg quality / P. Hunton, G. G. Wells, G. G. Belyavin // *Egg Quality – Current Problems and Recent Advances*. – London, Butterworths, 1985. – P. 87-102.

341. Hunton P. Egg shell quality : Evaluation criteria for different industry participants / P. Hunton // *3rd European WPSA Symposium on Egg Quality : World's Poultry Science Association*. – Stuttgart, Germany, 1989. – P. 336-344.

342. Hunton P. Understanding the architecture of the egg shell // *World's Poultry Science Journal*. – 1995. – V. 51. – P. 141-147.

343. Hunton P. Cracked eggs / P. Hunton // *Poultry International*. – 1996. – V. 35. – № 5. – P. 72-76.

344. Hurwitz S. Regulation of Plasma Calcium / S. Hurwitz // *VI International Symposium on Avian Endocrinology : Abstracts, March 31-April 5 1996*. – Chateau Lake Louise, Alberta. – 1996. – P. 46-47.

345. Hussein G. A. Factors affecting acoustically triggered release of drugs from polymeric micelles / G. A. Hussein, G. D. Myrup, W. P. Pitt [et al.] // *J. Control. Release*. – 2000. – V. 69. – P. 43

346. Huyghebaert G. The relative biological efficiency of yellow oxy-carotenoids for egg yolk pigmentation / G. Huyghebaert // *Proc. of the IV European Symposium on Quality of Eggs and Egg Products*. – Doorweth, 1991. – P. 269-278.

347. Ieda T. Relationship between Gene Expression of CaBP-D28K and Vitamin D3 Receptor and Calcium Deposition in the Shell Gland of Laying Hens / T. Ieda, N. Saito, T. Ono [et al.] // *VI International Symposium on Avian Endocrinology : Abstracts, March 31- April 5 1996*. – Chateau Lake Louise, Alberta. – 1996. – P. 355.

348. Inoue T. Systematic study of the solubilization of phospholipid vesicles by various surfactants / T. Inoue, T. Yamahata, R. Shimozawa // *J. Colloid Interface Sci*. – 1992. – V. 149. – P. 345-358.

349. Jiang Y. H. Alpha-tocopherol, beta-carotene and retinol enrichment of chicken eggs / Y. H. Jiang, R. B. McGeachin, C. A. Bailey // *Poult Sci.* – 1994. – V. 73. – P. 1137-1143.

350. Jujena L. R. Egg yolk lipids / L. R. Jujena, H. Hatta, M. Kim // *Hen Eggs.* – CRC Press (USA). – 1997. – P. 73-98.

351. Kaduce T. A rapid isocratic method for phospholipid separation by high-performance liquid chromatography / T. Kaduce, K. C. Norton, A. A. Spector // *J. Lipid Res.* – 1983. – V. 24. – P. 1398-1403.

352. Kalinichenko T. G. Investigation of the kinetics of the adsorption (adhesion) of pharmaceutical steroid derived from plants on carrier using time-of-flight plasma desorption mass spectrometry / T. G. Kalinichenko, S. A. Aksyonov, V. D. Chivanov [et al.] // *ICAST'95 : Abstr. I-st Int. Congress on Adhesion Sci. & Techn.* – Amsterdam, 1995. – TU-2-PD-05. – P.122.

353. Kaminska B. Z. Fatty Acid Profiles Of Egg Yolks As Influenced By Diets Containing High Levels Of Maize, Dehulled Oats Or Barley And Fish Meal Supplement / B. Z. Kaminska // *Quality off Egg and Egg Production. : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999.* – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 119-124.

354. Kapembwa M. Fat absorption in human immunodeficiency virus infection / M. Kapembwa, S. Fleming // *Quart. J. Med.* – 1990. – V. 74. – P. 49-56.

355. Kararli T. T. Enhancement of transdermal transport of azidothymidine (AZT) with novel terpene and terpene-like enhancers: in vivo-in vitro correlations / T. T. Kararli, C. F. Kirchhoff, S. C. Penzotti // *J. Control Release.* – 1995. – V. 34. – P. 43-51.

356. Karjalainen E. J. Mass Spectrometric Studies of Proteins in fresh Egg and aged Egg Tempera Paint Films / E. J. Karjalainen, A. E. Hesso, J. E. Jalonen [et al.] // *Advances in Mass Spectrometry.* – 1998. – V. 14. – C02 WEPO051.

357. Katzhendler I. The effect of egg albumin on the crystalline properties of carbamazepine in sustained release hydrophilic matrix tablets and in aqueous

solutions / I. Katzhendler, R. Azoury, M. Friedman // *Journal of Controlled Release*. – 2000. – V. 65. – P. 331–343.

358. Keshavarz K. Factors influencing shell quality / K. Keshavarz // *Poultry Dig.* – 1985. – V. 44. – № 521. – P. 294-298, 300-302.

359. Ketelaere B. Measuring the eggshell strength of 6 different genetic strains of laying hens: techniques and comparisons / B. Ketelaere, T. Govaerts, P. Coucke [et. al.] // *British Poultry Science*. – 2002. – V. 43. – № 1. – P. 238-244.

360. Khan M. A. Stability characterization of controlled release coprecipitates and solid dispersions / M. A. Khan, A. A. Karnachi, V. Agarwal [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2000. – V. 63. – P. 1–6.

361. Kijowski J. Isolation Of Egg White Lysozyme, Enzyme Polymeric Forms And Its Antibacterial Activity / J. Kijowski, G. Lesnierowski, A. Fabisz-Kijowska // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept, 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 361-374.*

362. Kim H. Y. Liquid chromatography-mass spectrometry of lipids / H. Y. Kim, N. Salem // *Prog. Lipid Res.* – 1993. – V. 32. – № 3. – P. 221-245.

363. Kim S. H. Effect of molecular weight, type of chitosan, and chitosan solution pH on the shelf-life and quality of coated aggs / S. H. Kim, H. K. No // *Journal of Food Science*. – 2007. – № 72. – P. 544-548.

364. Kim S. H. Effect of chitosan coating and storage position on quality and shelf life of eggs. / S. H. Kim, H. K. No, S. W. Choi // *International journal of Food Science and Technology*. – 2009. – № 44. – P. 1351-1359.

365. Kirunda D. F. K. Relating Quality Characteristics of Aged Eggs and Fresh Eggs to Vitelline Membrane Strength as Determined by a Texture Analyzer / D. F. K. Kirunda, S. R. McKee // *Poultry Science*. – 2000. – V. 78. – P. 1189-1193.

366. Kivini H. Effects Of Diet Supplements On Hen Egg Yolk Phospholipid / H. Kivini, R. Huopalahti, E. P. Järvenpää [et al.] // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept, 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 137-143.*

367. Kleszczyn'ska H. Antioxidative Activity of Some Quaternary Ammonium Salts Incorporated into Erythrocyte Membranes / H. Kleszczyn'ska, J. Sarapuka, M. Os'wieçimska [et al.] S. Witek // Z. Naturforsch. – 2000. – Bd. 55 c. – P. 976-980.

368. Klunter A. M. Efficiency in egg yolk pigmentation of apo-ester vs. Tagetes xanthophylls with different lutein/zeaxanthin ratio / A. M. Klunter // Proceedings of 10th European Poultry Conference. – Jerusalem, 1998. – P. 243-249.

369. Koidis P. Efficacy Of Ozone Treatment To Eliminate *Salmonella Enteritidis* From The Eggshell Surfaces / P. Koidis, M. Bori, K. Vareltzis // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept, 1999. – Bologna, Italy, 1999. – V. II. – P. 581-584.

370. Kohane D. S. Biocompatibility of lipid-protein-sugar particles containing bupivacaine in the epineurium / D. S. Kohane, M. Lipp, C. Kinney // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – V. 59. – P. 450-459.

371. Kocamis H. Effect of In Ovo Administration of Insulin-Like Growth Factor-I on Composition and Mechanical Properties of Chicken Bone / H. Kocamis, Y. N. Yeni, C. U. Brown [et al.] // Poultry Science. – 2000. – V. 78. – P. 1345-1350.

372. Kopeček J. HPMA copolymer-anticancer drug conjugates: design, activity, and mechanism of action / J. Kopeček, P. Kopečkova, T. Minko [et al.] // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2000. – V. 50. – P. 61-81.

373. Kost J. Ultrasonically controlled polymeric drug delivery / J. Kost, K. W. Leong, R. Langer // Makromol. Chem. Macromolec. Symp. – 1988. – V. 19. – P. 275-285.

374. Krampitz G. Über das Vorkommen von Carboanhydratase in der Eischale des Huhnes / G. Krampitz, J. Engels // Experientia. – 1970. – Bd. 30. – P. 228.

375. Krampitz G. Biochemical Aspects of Biomineralization / G. Krampitz, W. Witt // Topics in Current Chemistry, Biochemistry : Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1979. – V. 28. – P. 57-144.

376. Krampitz G. Structure of the Organic Matrix in Mollusc Shells and Avian Egg Shells / G. Krampitz // Biological Mineralization and Demineralization : Life Science Res. – Dahlem Konferenzen, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1982. – P. 219-232.

377. Krampitz G. Molecular mechanisms of eggshell formation / G. Krampitz // Quality of Egg and Egg Products : Proc. of 5th European Symp. – Tours, France, 1993. – P. 99-109.

378. Kuo F.-L. Peroxidase catalyzed chemical dip, egg shell surface contamination, and hatching / F.-L. Kuo, J. B. Carey, S. C. Ricke [et al.] // J. Applied Poultry Sci. – 1996. – V. 5. – P. 6-13.

379. 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.

380. Kurosaki Y. Studies on drug adsorption from oral cavity : physicochemical factors affecting adsorption from hamster cheek pouch / Y. Kurosaki, N. Aya, // J. Pharmacobio-Dyn. – 1996. – V. 9. – P. 287-296.

381. Kuisis A. Yolk lipids / A. Kuisis // Biochim. Biophys. Acta. – 1992. – V. 1124. – P. 202-222.

382. Kwon G. S. Block copolymers micelles as vehicles for hydrophobic drugs / G. S. Kwon, M. Naito // Colloids Surf. – 1994. – V. 2. – P. 429-434.

383. Kwon G. S. Block copolymer micelles as long circulating drug vehicles / G. S. Kwon // Adv. Drug Deliv. Rev. – 1995. – V. 16. – P. 295-309.

384. Kwon G. S. Physical entrapment of adriamycin in AB block copolymer micelles / G. S. Kwon, M. Naito, M. Yokoyama // Pharm. Res. – 1995. – V. 12. – P. 192-195.

385. Langer R. Drug delivery and targeting / R. Langer // Nature Suppl. – 1998. – V. 392. – P. 5-10.

386. Larick D. K. Effects Of Physiological Stress, Dietary Sulfur And Hen Age On The Fatty Acid Composition Of Egg Yolk Lipids / D. K. Larick, J. D. Parker, A. Costa // Quality of Eggs & Egg Prod. : Proc. VII Europ. Symp., 21-26 Sept. 1997. – Poznan, Poland, 1997. – P. 137-142.

387. Latter G. V. The effect of egg turning and fertility upon the sodium concentration of albumen of the Japanese quail / G. V. Latter, G. K. Baggott // *British Poultry Science*. – 1996. – V. 37. – P. 301-307.

388. Latter G. V. Fluid transport across the blastoderm / G. V. Latter, G. K. Baggott // *Poultry & Avian Biology Reviews*. – 1997. – V. 8. – P. 165.

389. Latter G. V. The effect of egg turning and fertility upon the potassium concentration of albumen and yolk of the Japanese quail / G. V. Latter, G. K. Baggott // *British Poultry Science*. – 2000. – V. 41. – P. 44-45.

390. Lavelin I. Regulation of osteopontin gene expression during egg shell formation in the laying hen by mechanical strain / I. Lavelin, N. Yarden, S. Ben-Bassat [et al.] // *Matrix Biol*. – 1998. – V. 17. – P. 615-623.

391. Lavelin I. New Insight in Eggshell Formation / I. Lavelin, N. Meiri, M. Pines // *Poultry Science*. – 2000. – V. 78. – P. 1014-1017.

392. Lavon I. Mass transport enhancement by ultrasound in non-degradable polymeric controlled release systems / I. Lavon, J. Kost // *J. Control. Release*. – 1998. – V. 54. – P. 1-7.

393. Laurence M. Y. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems / M. Y. Laurence, G. D. Rees // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 2000. – V. 45. – P. 89-121.

394. Leslie G. A. Chicken immunoglobulins: biological half lives and normal adult serum concentration of IgM and IgY / G. A. Leslie, W. L. Glem // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1980. – V. 134. – P. 42-54.

395. Lesnierowski G. Methods of determination of enzymatic activity of lysozyme. / G. Lesnierowski // *Przemysł Spożywczy*. – 1995. – V. 12. – P. 476-479.

396. Linden J. New in the hatchery / J. Linden // *Poultry International*. – 2002. – V. 41. – № 3. – P. 16-19.

397. Lourens Ir. A. CID 2000: Promising Alternative For Disinfecting Hatching Eggs With Formalin / Ir. A. Lourens // *CID Line*. – Belgium. – 2001. – P. 5.

398. Luo D. Controlled DNA delivery system / D. Luo, K. Woodrow-Mumford, N. Belcheva [et al.] // *Pharm. Res.* – 1999. – V. 16. – P. 1300-1309.

399. Lupu I. The Influence Of Some Technological And Genetic Factors On The Quality Of Eggs Used For Food Or Incubation / I. Lupu, V. Stanescu, A. Popescu [et al.] // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Bologna, Italy., 1999. – V. II. – P. 289-294.

400. Mack O. A New Approach to Better Hatchability / O. Mack // Poultry Digest. – 1980. – V. 39. – P. 286-289.

401. Macfarlane R.D. PDMS of Large Non-Volatile Molecules / E. E. Hilf, R. D. Macfarlane, W. Tuszynski // Singapore : World Scientific. – 1990. – P. 10.

402. Manabe E. Analysis of skin permeation-enhancing mechanism of iontophoresis using hydrodynamic pore theory / E. Manabe, S. Numajiri, K. Sugibayashi [et al.] // Journal of Controlled Release. – 2000. – V. 66. – P. 149–158.

403. Mann K. Isolation of a glycosylated form of the chicken eggshell protein ovocleidin and determination of the glycosylation site. Alternative glycosylation/phosphorilation at an N-glycosylation sequon / K. Mann // FEBS Lett. – 1999. – V. 463. – P. 12-14.

404. Mann K. The amino acid sequence of ovocleidin-17, a major protein of the avian eggshell calcified layer / K. Mann, F. Siedler // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1999. – V. 47. – P. 997-1007.

405. Manivannan D. Disinfection and Decontamination : Principles, Applications and Related Issues / D. Manivannan. – Taylor & Francis Ltd, Hoboken, 2007. – 528 p.

406. Maquet V. Characterization of porous polylactide foams by image analysis and impedance spectroscopy / V. Maquet, S. Blacher, R. Pirard [et al.] // Langmuir. – 2000. – V. 16. – P. 10463-10470.

407. 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.

408. Martin D. 40 years on: a progress report on the poultry industry / D. Martin // Poultry International. – 2002. – V. 41. – № 1. – P. 8-14.

409. Masshoff W. Licht – und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Schalenhaut und Kalkschale des Huhnereis / W. Masshoff, H. J. Stolpmann // Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. – 1961. – Bd. 55. – P. 818-832.

410. Másson M. Cyclodextrins as permeation enhancers: some theoretical evaluations and *in vitro* testing / M. Másson, T. Loftsson, G. Másson [et al.] // Journal Control. Release. – 1999. – V. 59. – P. 107-118.

411. Matsubara T. FAB/Mass Spectrometry Of Lipids / T. Matsubara, A. Hayasha // Prog. Lipid. Res. – 1991. – V. 30. – № 4. – P. 301-322.

412. Matulis D. Thermodynamics of Cationic Lipid Binding to DNA and DNA Condensation: Roles of Electrostatics and Hydrophobicity / D. Matulis, I. Rouzina, V. A. Bloomfield // J. Am. Chem. Soc. – 2002. – V. 124. – P. 7331-7342.

413. Mauldin J. M. Effectiveness of Timsen and hydrogen peroxide to kill artificially inoculated Salmonella on hatching eggs / J. M. Mauldin, R. Kumararaj, N. A. Cox [et al.] // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 41st Annual Meeting, January 17–18 2000. – Canada, 2000. – P. 21.

414. Maurice D. Cholesterol and fatty acids in eggs from hens fed high levels of copper / D. Maurice, S. F. Lightsey // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 41st Annual Meeting, January 17–18 2000. – Canada, 2000. – P. 325.

415. Maza de la A. Solubilization of unilamellar liposomes caused by quaternary ammonium surfactants / A. Maza, J. L. Parra // J. Control. Release. – 1995. – V. 37. – P. 33-42.

416. McCartney E. The natural empire strikes back / E. McCartney // Poultry International. – 2002. – V. 41. – № 1. – P. 36-42.

417. Fernández Claudio Cardoso C. F. Modeling of sporicidal effect of hydrogen peroxide in the sterilization of low density polyethylene film inoculated with *Bacillus subtilis* spores / Claudio Fernández Cardoso C. F. [et al.] // Food Control. – 2011. – V. 22. – P. 1559-1564.

418. Moreau E. Interactions between red blood cells and a lethal, partly quaternized tertiary polyamine / E. Moreau, I. Ferrari, A. Drochon // *J. Control. Release.* – 2000. – V. 64. – P. 115–128.
419. 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.
420. Mottaghitalab M. Garlic extract and aromatase interactions on sex differentiation in chicks / M. Mottaghitalab, E. Valizadeh // *British Poultry Science.* – 2002. – V. 43. – P. 62.
421. Mutoh M. Characterization of transdermal solute transport induced by low-frequency ultrasound in the hairless rat skin / M. Mutoh, H. Ueda, Y. Nakamura // *J. Control. Release.* – 2003. – V. 92. – № 1-2. – P. 137-146.
422. Muzzarelli R. A. A. Natural Chelating Polymers : Alginic acid, Chitin and Chitosan / R. A. A. Muzzarelli // Oxford : Pergamon Press. – 1973. – 574 p.
423. Naber E. C. Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen : diet to egg transfer and commercial flock survey / E. C. Naber, M. W. Squires // *Poult. Sci.* – 1993. – V. 72. – P. 1046-1053.
424. Nanochemistry and Nanobiotechnology Composition for protection of hatchable eggs against pathogenic microbial flora / [O. G. Bordunova, R. V. Denysov, T. O. Chernyavska, V. D. Chivanov] // *Nanotechnology and nanomaterials : 2nd International research and practice conference, August 27-30 2014.* – Ivan Franko National University. – Lviv, 2014. – P. 66.
425. Narahari D. Homeopathic treatment of poultry disease / D. Narahari // *Poultry International.* – 2003. – V. 42. – № 7. – P. 48-49.
426. Narbaitz R. Scanning electron microscopy of thin and soft shells induced by feeding calcium-deficient or vitamin D-deficient diets to laying hens / R. Narbaitz, C. P. W. Tsang, A. A. Grunder [et al.] // *Poultry Science.* – 1987. – V. 66. – P. 341-347.

427. Nawi M. A. Immobilized bilayer TiO₂ / chitosan system for the removal under irradiation by a 45 watt compact fluorescent lamp / M. A. Nawi, Ali H. Jawad, S. Sabar // *Desalination*. – 2011. – V. 280. – P. 288-296.
428. Nawi M. A. Photocatalytic decolourisation of Reactive Red 4 dye by an immobilised TiO₂ / chitosan layer by layer system. / M. A. Nawi, S. Sabar // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2012. – V. 372. – P. 80-87.
429. Niedziolka Y. Wpływ dodatkowego pola magnetycznego na przebieg klucia się pisklat kurzych szczepionych in ovo przeciwko chorobie gumbora (IBD) / Y. Niedziolka, M. Lis, B. Szymonowicz // *Folia Univ. agr. Stefin. Zootechn.* – 2001. – № 43. – P. 69-77.
430. No H. K. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights / H. K. No, N. Y. Park, S. H. Lee // *International Journal of Food Microbiology*. – 2002. – № 74. – P. 65-72.
431. No H. K. Comparison of shelf life of eggs coated with chitosans prepared under various deproteinization and demineralization times / H. K. No, W. Prinyawiwatkul, S. P. Meyers // *Journal of Food Science*. – 2005. – № 70. – P. 5377-5382.
432. Noble R. C. Lipid metabolism and the neonatal chicken / R. C. Noble, M. Cocchi // *Prog. Lipid Res.* – 1990. – V. 29. – P. 107-140.
433. Nys Y. Whitening of brown-shelled eggs: mineral composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition / Y. Nys, J. Zawadzki, J. Gautron [et al.] // *Poultry Sci.* – 1991. – V. 70. – P. 1236-1245.
434. 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 [et al.] // *Symp. Quality of Eggs & Egg Prod. : Proc. VII Europ.*, 21-26 Sept. 1997. – Poland, Poznan, 1997. – P. 107-121.
435. Nys Y. Evaluation de l'efficacité relative de xanthophylles végétales et de l'apocarotène ester en présence de canthaxanthine pour colorer le jaune d'oeuf / Y. Nys // *3^e Journées de la Recherche Avicole*. – Saint Malo. – 1999. – P. 34.

436. Nys Y. Avian eggshell mineralization : Review / Y. Nys, M. Hincke, J. L. Arias [et al.] // Poultry and Avian Biology. – 1999. – V. 10. – P. 143-166.

437. Nys Y. Particularities In Eggshell Structure And Formation In Guinea Fowl Compared To Hen / Y. Nys // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 69-73.

438. Ohta Y. Optimum Site for *In ovo* Amino Acid Injections in Broiler Breeder Egg / Y. Ohta, M. T. Kidd // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 22nd Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 42nd Annual Meeting, January 15 & 16 2001. – Canada, 2001. – P. 122.

439. Ohta Y. Impact of *In ovo* Amino Acid Administration on Embryo Growth and Egg Content Amino Acid Profiles / Y. Ohta, M. T. Kidd, T. Ishibashi // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 22nd Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 42nd Annual Meeting, January 15 & 16 2001. – Canada, 2001. – P. 123.

440. Okabe H. Effect of limonene and related compounds on the percutaneous absorption of indomethacin / H. Okabe, K. Takayama, A. Ogura [et al.] // Drug Design. Deliv. – 1989. – V. 4. – P. 313-321.

441. Okamoto H. Development of polymer film dosage forms of lidocaine for buccal administration. I. Penetration rate and release rate / H. Okamoto, H. Taguchi, K. Iida [et al.] // J. Control. Release. – 2001. – V. 77. – P. 253-260.

442. Oliveira D. D. Salmonella em ovos comerciais: Occorrenca, condicoes de armazenamento e desinfeccao da casca / D. D. Oliveira, E. N. Silvo // Arq. Bras. Med.vet. e zootecn. – 2000. – V. 52. – № 6. – P. 655-667.

443. Olver M. D. Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens / M. D. Olver // Brit. Poultry Sc. – 1997. – V. 38. – № 2. – P. 220-222.

444. Orpinar A. A. The variations in blood ionized calcium, sodium and potassium concentrations with age and laying cycle and the relationship of these ions with eggshell quality / A. A. Orpinar // Arch. Geflugelk. – 1997. – Bd. 61. – H. 6. – P. 287-290.

445. Oupicky D. DNA delivery systems based on complexes of DNA with synthetic polycations and their copolymers / D. Oupicky, C. Konak, K. Ulbrich [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2000. – V. 65. – P. 149–171.

446. Ozeki T. Control of medicine release from solid dispersion composed of the poly(ethylene oxide)-carboxyvinylpolymer interpolymer complex by varying molecular weight of poly(ethylene oxide) / T. Ozeki, H. Yuasa, Y. Kanaya // *Journal of Controlled Release*. – 1999. – V. 58. – P. 87–95.

447. Packard M. J. The Effect of Acetazolamide and Benzolamide on Shell Calcium Mobilization in vitro / M. J. Packard // *Avian Endocrinology : VI International Symposium : Abstracts, March 31-April 5 1996*. – Chateau Lake Louise, Alberta, 1996. – P. 241.

448. Packard M. J. The Effect of 1,25(OH)₂D₃ and PTH on the Movement of Calcium Across the Cam of the Chicken Embryo / M. J. Packard, N. B. Clark, J. P. Erikson // *Avian Endocrinology : VI International Symposium : Abstracts, March 31-April 5 1996*. – Chateau Lake Louise, Alberta, 1996. – P. 242-243.

449. Palasz A. T. The effect of macromolecular supplementation on surface tension of TCM-199 and the utilization of growth factors by bovine oocytes and embryos in culture / A. T. Palasz, J. Thundathil, R. E. Verrall [et al.] // *Anim. Reprod. Sci.* – 2000. – V. 58. – № 3-4. – P. 229-240.

450. Panheleux M. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshells: a comparative study / M. Panheleux, M. Bain, M. S. Fernandez // *British Poultry Science*. – 1999. – V. 40. – P. 240-252.

451. Panheleux M. Quantification by ELISA of eggshell matrix proteins laid by young and old hens / M. Panheleux, Y. Nys, J. Williams, J. Gautron, // *Quality of Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999*. – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 37-42.

452. Patrick H. N. Surface Micellization Patterns of Quaternary Ammonium Surfactants on Mica / H. N. Patrick, G. G. Warr, S. Manne [et al.] // *Langmuir*. – 1999. – V. 15. – P. 1685-1692.

453. Patterson P. H. Hatching egg sanitized with chlorine dioxide foam : Egg hatchability and bactericidal properties / P. H. Patterson, R. S. Ricke, M. L. Sunde [et al.] // *Avian Dis.* – 1990. – V. 34. – №1. – P. 1-6.

454. Pines M. Involvement of Osteopontin in Epiphyseal Growth Plate Calcification and Egg Shell Formation / M. Pines, V. Knopov, A. Bar // *Avian Endocrinology : VI International Symposium : Abstracts, March 31-April 5 1996.* – Chateau Lake Louise, Alberta, 1996. – P. 241-242.

455. Pinnaduwege P. Use of a quaternary ammonium detergent in liposome mediated DNA transfection of mouse L-cells / P. Pinnaduwege, L. Schmitt, L. Huang // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1989. – V. 985. – P. 33-37.

456. Piva A. Chromium (Cr^{+++}) In Laying Hens Nutrition And Egg Production / A. Piva, E. Meola, P. P. Gatta [et al.] // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999.* – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 197-203.

457. Pfister W. R. Permeation enhancers compatible with transdermal drug delivery systems. Part I : selection and formulation considerations / W. R. Pfister, D. S. T. Hsieh // *Pharm. Tech.* – 1990. – V. 1. – P. 132-140.

458. Proctor V. A. The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical / V. A. Proctor, F. E. Cunningham // *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 1998. – V. 26. – № 4. – P. 359-395.

459. Proudfoot F. G. Effects of glutaraldehyde surfactant solution in the hatchability of the hen's eggs / F. G. Proudfoot, D. M. Nash, H. W. Hulan // *Poultry Sci.* – 1985. – V. 64. – № 2. – P. 2400-2402.

460. Puchajda H. Porównanie budowy makroskopowej i ultrastruktury skorup jaj indyków różnego pochodzenia / H. Puchajda, K. Cywa-Benko, A. Faruga // *Roczn. Nauk. Zootechn.* – Krakow, 1997. – T. 24. – Z. 1. – S. 33-43.

461. Putney S. D. Improving protein therapeutics with sustained-release formulations [Review] / S. D. Putney, P. A. Burke // *Nat. Biotechnol.* – 1998. – V.16. – P. 153-157.

462. Puvadolpirod S. Influence of yolk on blood metabolites in perinatal and neonatal chickens / S. Puvadolpirod, J. R. Thompson, J. Green // *Growth, Development @ Aging*. – 1997. – V. 61. – P. 39-45.
463. Quality of eggs and egg production // *Poultry International*. – 1998. – V. 37. – № 2. – P. 14-24.
464. Rabia Almas Arain. Antibacterial property and characterization of cotton fabric treated with chitosan – AgCl-TiO₂ colloid / Almas Arain Rabia, Khatri Zeeshan, Kim Ick-Soo // *Carbohydrate Polymers*. – 2013. – V. 96. – P. 326-331.
465. Rai A. K. Effects of maturity and thermal exposure on the oviduct of white cornish and white leghorn birds. 1 Changes in size, water and electrolyte contents / A. K. Rai, B. C. Joshi, B. B. Mahapatro // *Indian Journal of Animal Science*. – 1981. – V. 51. – № 5. – P. 535.
466. Rajagopal G. Biocidal effects of photocatalytic semiconductor TiO₂ / G. Rajagopal, S. Maruthamuthu, S. Mohanan // *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*. – 2006. – V. 51. – P. 107-111.
467. Rama Rao S. V. Shell Quality And Heat Stress / S. V. Rama Rao, D. Nagalakshmi // *Poultry International*. – V. 37. – № 11. – P. 80-81.
468. Ramos A. J. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs : A review / A. J. Ramos, E. Hernandez // *Anim. Feed Sc. Technol.* – 1997. – V. 65. – P. 197-206.
469. Rathbone M. J. Fertility regulation in cattle : Review / M. J. Rathbone, K. L. Macmillan [et al.] // *J. Control. Release*. – 1998. – V. 54. – P. 117-148.
470. Richards M. P. Trace mineral metabolism in the avian embryo / M. P. Richards // *Poultry Sc.* – 1997. – V. 76. – № 1. – P. 152-164.
471. Roberts J. Egg Hygiene, Sanitation and Storage / J. Roberts // *Poultry International*. – 2000. – V. 39. – № 8. – P. 44-46.
472. Roberts J. R. The Use Of Commercial Enzymes And Egg And Egg Shell Quality In Four Strains Of Laying Hen / J. R. Roberts, M. Choct // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 113-118.*

473. Rodriguez-Navarro A. Importance of electrostatic interactions between calcite surfaces and proteins / A. Rodriguez-Navarro, C. Jimenez-Lopez, R. Messier [et al.] // *Math. Res. Soc. Symp. Proc.* – 2000. – V. 599. – P. 353-359.

474. Rodriguez-Navarro A. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages / A. Rodriguez-Navarro, O. Kalin, Y. Nys [et al.] // *British Poultry Science.* – 2002. – V. 43. – № 3. – P. 395-403.

475. Rollinson E. A. Prospects for Antiviral Chemotherapy in Veterinary Medicine: 2. Avian, Piscine, Canine, Porcine, Bovine and Equine Virus Diseases / E. A. Rollinson // *Antiviral&Chemotherapy* – 1992. – V. 3. – № 6. – P. 311-326.

476. Romanoff A. L. The avian egg / A. L. Romanoff, A. J. Romanoff // New York : John Wiley&Sons, 1963. – 917 p.

477. Rouer P. Continuum modelling of contaminant transport in fractured porous media / P. Rouer, J. – L. Auriault, J. Lewandowska [et al.] // *Transport in Porous Media.* – 2002. – V. 49. – P. 333-359.

478. Ruiz J. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders / J. Ruiz, C. A. Lunam // *British Poultry Science.* – 2002. – V. 43. – № 3. – P. 374-383.

479. Russell A. D. Ultraviolet radiation // Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization / A. D. Russell. – Oxford, 1982. – P. 534-547.

480. Russell M. The effect of electrolyzed oxidative water applied using electrostatic spraying on pathogens and indicator bacteria on the surface of eggs / M. Russell // *Poultry Science.* – 2003. – V. 82. – P. 158-162.

481. Russell M. Effect of sanitizers applied by electrostatic spraying on pathogenic and indicator bacteria attached to the surface of eggs / M. Russell // *Journal of Applied Poultry Research.* – 2003. – № 12. – P. 183-189.

482. Russell M. Hugo&Anylyffe's Principles and Pra of Disinfection / M. Russell, A. P. Fraise, P. A. Lambert [et al.] // Uk : Blackwell Science LTD. – 2004. – 688 p.

483. Saa Ibusquiza P. Resistance to benzalkonium chloride, peracetic acid and nisin during formation of mature biofilms by *Listeria monocytogenes* / P. Saa Ibusquiza, J. J. R. Herrera, M. L. Cabo // *Food Microbiology*. – 2011. – V. 28. – P. 418-425.

484. Salazar A. I. Effective incubation for the new millenium / A. I. Salazar // *Poultry International*. – 2000. – V. 39. – № 12. – P. 31-44.

485. Sanders E. J. Roles for growth differentiation factors in avian embryonic development / E. J. Sanders // *Poultry Sc.* – 1997. – V. 76. – P. 111-117.

486. Sano A. Introduction of exogenous DNA into gonads of chick embryos by lipofection and electroporation of stage X blastoderms in vivo / A. Sano, T. Tagami, T. Harumi // *British Poultry Science*. – 2003. – V. 44. – № 1. – P. 33-39.

487. Scanes C. G. Prospects for biological research in poultry / C. G. Scanes // *World's poultry science journal*. – 1997. – V. 53. – P. 49-57.

488. Scholtyssek S. Egg quality-criticism to some conservative and suggestions for new methods to measure egg quality traits / S. Scholtyssek // *Arch. Geflügelk.* – 1995. – V. 59. – P. 274-281.

489. Shafey T. M. Eggshell conductance, embryonic growth, hatchability and embryonic mortality of broiler breeder eggs dipped into ascorbic acid solution / T. M. Shafey // *British Poultry Science*. – 2002. – V. 43. – P. 135-140.

490. Shane S. Enhancing chick quality / S. Shane // *Poultry International*. – 1999. – V. 38. – № 8. – P. 31.

491. Shebl M. K. Role of shell and shell membrane thickness on embryonic development of chicken / M. K. Shebl // *Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 21st Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 41st Annual Meeting, January 17–18 2000. – Canada, 2000. – P. 129.*

492. Scheideler S. E. Strain Effects On Egg Components, Quality And Lipid Composition On Varying Diets / S. E. Scheideler // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 101-107.*

493. Scheideler S. E. Effects Of Mn & Zn Proteinate (Eggshell-49) On Egg Shell Quality In Laying Hens / S. E. Scheideler, N. Ceylan // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. — Italy, Bologna, 1999. — V. II. — P. 187-193.
494. Shibaji T. A mechanism of the high frequency AC iontophoresis / T. Shibaji [et al.] // Journal of Controlled Release. — 2001. — V. 73. — P. 37–47.
495. Schinazi R. F. «Buckyballs» Active Against HIV Viruses (2001) // <http://www.chemistry.wustl.edu/~applications.html/>. [Электронный ресурс].
496. Schneider M. Egg Lipids: Processing And Application / M. Schneider // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. — Italy, Bologna, 1999. — V. II. — P. 381-386.
497. Seeman G. Desinfektion von Bruteiern und Farmen ohne Formalin / G. Seeman // Lohmann Inform. — Cuxhaven, 1998. — № 3. — P. 27-31.
498. Selye H. The story of the adaptation syndrome / H. Selye // Acta. Inc. — Montreal, Canada, 1952. — P. 36.
499. Simons P. C. M. Ultrastructure of the hen eggshell and its physiological interpretation / P. C. M. Simons // Thesis. Comm. — Beekbergen, Nethwerlands, 1971. — № 175. — 48 p.
500. Socaciu C. Different ways to insert carotenoids into liposomes affect structure and dynamics of the bilayer differently / C. Socaciu, P. Bojarski, L. Aberle [et al.] // Biophys. Chem. — 2002. — V. 99. — P. 1-15.
501. Solomon S. E. Egg and Eggshell Quality / S. E. Solomon // London : Wolfe Publications Limited, 1990. — 182 p.
502. Solomon S. E. Reproductive Pathophysiology / S. E. Solomon, S. Cranstoun, K. Crawford // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept, 1999. — Italy, Bologna, 1999. — V. II. — P. 43-46.
503. 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.

504. Sparks N. Bacterial Contamination of Hatching Eggs / N. Sparks // Poultry International. – 1996. – V. 35. – № 4. – P. 40-44.
505. Speake B. K. Differences in egg lipid and antioxidant composition between wild and captive pheasants and geese / B. K. Speake // Comp. Biochem. Physiol. – 1999. – V. B124. – P. 101–107.
506. Stanescu V. New Physico-Chemical Indexes To Estimate Consuming Egg Freshness / V. Stanescu [et al.] // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. — Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 25-30.
507. Stibilj V. Content Of Some Minerals In The Hen's Eggs From Free Range / V. Stibilj // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 295-300.
508. Surai P. F. Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the developing embryo / P. F. Surai, B. K. Speake // J. Nutr. Biochem. – 1998. – V. 9. – P. 645-651.
509. Takayama K. Formula optimization based on artificial neural networks in transdermal drug delivery / K. Takayama, J. Takahara, M. Fujikawa [et al.] // Journal of Controlled Release. – 1999. – V. 62. – P. 161-170.
510. Tielinen L. The effect of transforming growth factor- $\beta 1$, released from a bioabsorbable self-reinforced polylactide pin, on a bone defect / L. Tielinen, P. Puolakkainen, T. Pohjonen // Biomaterials. – 2002. – V. 23. – P. 3817-3823.
511. Toitou E. Etosomes-novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties / E. Toitou, N. Dayan, L. Bergelson [et al.] // J. Control. Release. – 2000. – V. 65. – P. 403-418.
512. Tomer R. Electrically controlled release of macromolecules from cross-linked hyaluronic acid hydrogels / R. Tomer, D. Dimitrijevic, A. T. Florence // J. Control. Release. – 1995. – V. 33. – P. 405-413.
513. Trenholm H. L. Mycotoxin binding agents : an uptake on what we know : Biotechnology in the Feed Industry / H. L. Trenholm, T. P. Lyons, K. A. Jacques // Proc. of Alltech's 12th Annual Symposium-Nottingham University Press, Nottingham, UK. – 1996. – P. 327-349.

514. Tserveni-Gousi A. S. Some interior egg characteristics as influenced by addition of Greek clinoptilolitic rock material in the hen diet / A. S. Tserveni-Gousi, N. K. Katsaounis // Arch. Geflugelk. – 1997. – Bd. 61. – H. 6. – P. 291-296.

515. Tyczkowski J. K. Altered metabolism of carotenoids during aflatoxicosis in young chickens / J. K. Tyczkowski, P. B. Hamilton // Poultry Sci. – 1987. – V. 66. – P. 1184-1188.

516. Tyler C. Shell strength: Its measurement and its relationship to other factors / C. Tyler // British Poultry Science. – 1961. – V. 2. – P. 3-18.

517. Tuan R. S. Calcium Transport Mechanisms during Embryonic Development / R. S. Tuan // Avian Endocrinology : Abstracts VI International Symposium, March 31-April 5 1996. – Chateau Lake Louise. – 1996. – P. 198.

518. Vaara M. Outer Membrane Permeability Barrier Disruption by Polymyxin in Polymyxin-Susceptible and Resistant Salmonella typhimurium / M. Vaara // Antimicrob. Ag. Chemother. – 1981. – V. 19. – №4. – P. 578-583.

519. Van den Brink O. F. Analysis of oxygenated Egg Lipids in Tempera Paint by MALDI FT-ICR-MS(MS) / O. F. Van den Brink, P. B. O'Connor // Advances in Mass Spectrometry. – 1998. – V. 14. – C05 TUPO076.

520. Van Elswyk M. E. Comparison of n-3 fatty acid sources in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality : a review / M. E. Van Elswyk // Br. J. Nutr. – 1997. – V. 78. – Sup. 1. – P. 61-69.

521. Van Toledo B. Role of ultrastructure in determining eggshell strength / B. Van Toledo, A. H. Parsons, G. F. Combs // Poultry Science. – 1982. – V. 61. – P. 569-572.

522. “Virkon” : Эффективность, безопасность и простое применение : Рекламное описание. – KRKA, Словения. – 1994. – 4 с.

523. Voisey P. W. A technique for determining approximate fracture propagation rates of eggshells / P. W. Voisey, J. R. Hunt // Canadian Journal of Animal Science. – 1964. – V. 44. – P. 347-350.

524. Voisey P. W. Physical properties of eggshells : 4. Stress distribution in the shell / P. W. Voisey, J. R. Hunt // *British Poultry Science*. – 1967. – V. 8. – P. 263-271.

525. Voisey P. W. Behaviour of eggshell under compression in relation to deformation measurements / P. W. Voisey, R. M. G. Hamilton // *British Poultry Science*. – 1975. – V. 16. – P. 461-470.

526. Vogelhuber W. Programmable biodegradable implants / W. Vogelhuber, P. Rotunno, E. Magni // *J. Control. Release*. – 2001. – V. 73. – P. 75–88.

527. Um J. S. Effect of microbial phytase supplementation on egg production, eggshell quality and mineral retention of laying hens fed different levels of phosphorus / J. S. Um, I. K. Paik // *Poult. Sci*. – 1999. – V. 78. – P. 75-79.

528. Wada R. Kinetics of diffusion-mediated drug release enhanced by matrix degradation / R. Wada, S. – H. Hyon, Y. Ikada // *J. Control. Release*. – 1995. – V. 37. – P. 151-160.

529. Walter E. Hydrophilic poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres for the delivery of DNA to human-derived macrophages and dendritic cells / E. Walter, D. Dreher, M. Kok // *J. Control. Release*. – 2001. – V. 76. – P. 149-168.

530. Wasserman R. H. Immunohistochemical localization of a calcium pump and calbindin D28K in the oviduct of the laying hen / R. H. Wasserman, [et al.] // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. – 1991. – V. 96. – P. 413.

531. Watt J. M. The effect of stress on the reproductive tract of the domestic fowl / J. M. Watt // *Ph.D. Thesis*. – University of Glasgow, 1989. – 42 p.

532. Weand D. Sanitation of Hatching Eggs / D. Weand // *Zootechn. Internat*. – 1980. – № 8. – P. 5-10.

533. Wellman-Labadie O. Antimicrobial activity of cuticle and outer eggshell protein extracts from three species of domestic birds. / O. Wellman-Labadie, J. Picman // *British Poultry Science*. – 2008. – V. 49. – № 2. – P. 133-143.

534. Williams J. E. A method for sequencing microbial penetration through the outer structures of the avian egg / J. E. Williams, A. D. Whittemore // *Avian Dis.* – 1997. – V. 11. – № 3. – P. 487-490.

535. Williams A. C. The enhancement index concept applied to terpene penetration enhancers for human skin and model lipophilic (oestradiol) and hydrophilic (5-fluorouracil) drugs / A. C. Williams, B. W. Barry // *Int. J. Pharm.* – 1991. – V. 74. – P. 157-168.

536. Williams A. C. Terpenes and the lipid-Protein-partitioning theory of skin penetration enhancement / A. C. Williams, B. W. Barry // *Pharm. Res.* – 1991. – V. 8. – P. 17-24.

537. Wilson S. R. Nanomedicine-fullerene and nanotube biology / S. R. Wilson // 223rd American Chemical Society National Meeting, April 7-11 2002. – Florida, Orlando, 2002. – P. 182.

538. Wineland M. J. Minimizing contamination of hatching eggs a must / M. J. Wineland // *Poultry Dig.* – 1990. – V. 49. – № 9. – P. 36-37.

539. Wineland M. J. Trends in Controlling egg-borne / M. J. Wineland, V. L. Christensen // *Poultry International.* – 1999. – V. 38. – № 13. – P. 54.

540. Wineland M. J. Effect of reduced eggshell conductance and accelerated development upon the broiler embryo / M. J. Wineland, V. L. Christensen, B. D. Fairchild [et al.] // Abstracts Meeting of The Southern Poultry Science Society : 22nd Annual Meeting The Southern Conference on Avian Diseases : 42nd Annual Meeting, January 15 & 16 2001. – Canada, 2001. – P. 158.

541. Winterfield R. W. Trends in Controlling egg-borne infections / R. W. Winterfield // *Poultry Dig.* – 1969. – V. 28. – № 324. – P. 72-75.

542. Whistler P. E. Bactericidal activity, eggshell conductance and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection / P. E. Whistler, B. W. Sheldon // *Poultry Sci.* – 1989. – V. 68. – № 8. – P. 1074-1077.

543. Whitehead C. C. The effects of dietary fat and bird age on the weights of eggs and egg components in the laying hen / C. C. Whitehead, A. S. Bowman, H. D. Griffin // *Br. Poult. Sci.* – 1991. – V. 32. – P. 565-574.

544. Whitehead C. C. Nutrition And Egg Quality / C. C. Whitehead // Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999. – Italy, Bologna, 1999 – V. II. – P. 89-94.

545. WHO Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food. – World Health Organization. – Geneva, Switzerland, 1987. – 400 p.

546. Wong M. Collagen in the egg shell membranes of the hen / M. Wong, M. J. C. Hendrix, K. Mark [et al.] // Develop. Biol. – 1984. – V. 104. – P. 28-36.

547. Woodger G. J. A. Disinfection – The Last Defence / G. J. A. Woodger // Antec International Ltd. Windham Road, Chilton Industrial Estate Sudbury, Suffolk, UK. – (www.antecint.com). – Назва з контейнера.

548. Wu T. M. The molecular control of avian eggshell mineralization / T. M. Wu, D. J. Fink, J. L. Arias [et al.] // In : Chemistry and Biology of Mineralized Tissues [Ed. by H. C. Slavkin, P. Price]. – Elsevier: Amsterdam, 1993. – P. 133-141.

549. Wu T. M. Crystallization studies on avian eggshell membranes. Implications for the molecular factors controlling eggshell formation / T. M. Wu, J. P. Rodriguez, D. J. Fink [et al.] // Matrix Biol. – 1994. – V. 14. – P. 507-513.

550. Wyburn G. M. The ultrastructure of the shell forming region of the oviduct and the development of the shell of *Gallus domesticus* / G. M. Wyburn, H. S. Johnston, M. H. Draper [et al.] // Quart. J. Exper. Physiol. – 1973. – V. 58. – P. 142-151.

551. Xian De li. Effect of combination of chitosan coating and irradiation on physicochemical and functional properties of chicken egg during room-temperature storage / Xian De li // Radiation Physics and Chemistry. – Vol. 78. – Is. 7-8. – 2009. – P. 589-591.

552. Yannalopoulos A. L. Effect of natural zeolite on yolk: albumen ratio in hen eggs / A. L. Yannalopoulos, A. S. Tserveni-Gousi, E. Christaki // Brit. Poultry Sc. – 1998. – V. 39. – №4. – P. 506-510.

553. Ye Qiang. DepoFoam™ technology: a vehicle for controlled delivery of protein and peptide drugs / Ye Qiang, J. Asherman, M. Stevenson // *J. Control. Release.* – 2000. – V. 64. – P. 155–166.

554. Yokoyama M. Novel passive targetable drug delivery with polymeric micelles / M. Yokoyama // *Biorelated Polymers and Gels : Controlled Release and Applications in Biomedical Engineering.* – Boston : Academic Press, 1998. – P. 193-229.

555. Yokoyama M. Characterisation of physical entrapment and chemical conjugation of adriamycin in polymeric micelles and their design for in vivo delivery to a solid tumour / M. Yokoyama, S. Fukushima, R. Uehara [et al.] // *J. Control. Release.* – 1998. – V. 50. – P. 79-92.

556. Yoselewitz I. Responses in egg shell quality to sodium chloride supplementation of the diet and/or drinking water / I. Yoselewitz, D. Balnave // *Br. Poult. Sci.* – 1989. – V. 36. – P. 273-284.

557. Zeman L. Effect Of Proteinated Trace Mineral Elements On The Reproductive Traits Of Hens / L. Zeman, D. Klecker, M. Lichovníková [et al.] // *Quality off Egg and Egg Production : Proc. VIII European Symp., 19-23 Sept. 1999.* – Italy, Bologna, 1999. – V. II. – P. 193-196.

558. Zemb T. Catanionic Microcrystals : Organic Platelets, Gigadalton “Molecules”, or Ionic Solids? / T. Zemb, M. Dubois // *Aust. J. Chem.* – 2003. – V. 56. – P. 971-979.

559. Zhisheng Chen C. Quaternary ammonium functionalized poly (propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials : structure-activity studies / C. Zhisheng Chen, N. Beck-Tan, P. Dhurjati // *Biomacromolecules.* – 2000. – V. 1. – P. 473-480.

560. Zhisheng Chen C. Interactions between dendrimer biocodes and bacterial membranes / C. Zhisheng Chen, S. L. Cooper // *Biomaterials.* – 2002. – V. 23. – P. 3359-3368.

ДОДАТКИ

Додаток А. 1

Акти впровадження результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських та технологічних робіт у вищих навчальних закладах

<p>«Погоджено» Ректор Сумського НАУ д.с.г.н., професор  В.І. Лазника «11» 05 2015р.</p> 	<p>«Затверджую» Директор ТОВ «Авіс-Україна» О.М. Олефір «11» 04 2015р.</p> 
--	--

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських та технологічних робіт у вищих навчальних закладах.

Замовник: ТОВ «Авіс-Україна», с. Косівщина Сумського району Сумської області; керівник організації Олефір О.М.

Цим актом підтверджується, що результати науково-дослідної роботи «Розробка екологічно-безпечної технології «штучна кутікула» для передінкубаційної обробки яєць сільськогосподарської птиці», виконаної к.в.н., доцентом кафедри біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету Бордуною О. Г. протягом 2005-2014р.р., впроваджені в ТОВ «Авіс-Україна» Сумського району Сумської області.

1. Вид впроваджених результатів : нові методи обробки інкубаційних яєць курей препаратами на основі хітозану кислоторозчинного з додаванням оксидів металів (Fe_2O_3 , TiO_2), перекису водню (H_2O_2) та $CuSO_4$ з метою профілактики бактеріальної, вірусної інфекції, а також підвищення виводимості яєць та збереженості молодняку.
2. Характеристика масштабу впровадження: 25 тис. шт. яєць.
3. Новизна результатів науково-дослідної роботи: принципово нова розробка.

Продовж. додатку А. 1

4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: цех інкубації ТОВ «Авіс-Україна» Сумського району Сумської області.
5. Економічна ефективність впроваджених результатів: 368,5 грн./1000 яєць.
6. Об'єм впровадження: 25000 шт. інкубаційних яєць.
7. Соціальний та науково-технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ:

Начальник науково-дослідної частини

 Ю.І. Данько

Керівник теми :

 О.Г. Бордунова

Виконавець :

 О.Г. Бордунова

Від підприємства:

/Економіст



Головний бухгалтер



Відповідальний за

впровадження



Додаток А. 2

СОГЛАСОВАНО

Ректор СНАУ

Профессор Ладика В.В.

„ 25 ” 06 2015г.



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель организации

Бабок В.В.

„ 11 ” 06 2015г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ
результатов научно - исследовательских,
опытно - конструкторских и технологических работ в высших
учебных заведениях

Заказчик: ЧПУП «Якимовичи-Агро», Республика Беларусь, Гомельская обл., Калинковичский р-н, д. Якимовичи, ул. Советская, 43.

Этим актом подтверждается, что результаты работы: "Усовершенствование технологии инкубации яиц кур с использованием биокомпозитов" (Обработка инкубационных яиц препаратами на основе хитозана, с добавлением пероксидных веществ).

Выполнена Сумским национальным аграрным университетом.

Выполнялась с 2013 по 2015 г.

Внедрены в ЧПУП «Якимовичи-Агро», Республика Беларусь, Гомельская обл., Калинковичский р-н.

- Вид внедренных результатов: обработка инкубационных яиц препаратами на основе хитозана и надуксусной кислоты с добавлением нанодисперсных соединений и пероксидных веществ с целью профилактики бактериальной и вирусной инфекции и повышение выводимости яиц.
- Характеристика масштаба внедрения: партии 20000 шт. яиц.
- Новизна научно - исследовательской работы: принципиально новое, не имеет аналогов в Украине и странах СНГ.
- Внедрены в сельскохозяйственное производство: ЧПУП «Якимовичи-Агро», Республика Беларусь, Гомельская обл., Калинковичский р-н.
- Объем внедрения: 20000 шт. инкубационных яиц.
- Экономическая эффективность внедренных результатов: 625,5 грн. / 1000 яиц.
- Социальный и научно-технический эффект: улучшение и оздоровление условий труда, сокращение затрат труда.

От СНАУ:

Заведующий научно-
исследовательской частью

Данько Ю.И.

Руководитель темы:

Бордунова О.Г.

Исполнитель:

Бордунова О.Г.

От предприятия:

Экономист

Ольга Л.И.

Главный бухгалтер

Селиванчик Т.П.

Ответственный за

внедрение

Бабок В.В.

Додаток А. 3

СОГЛАСОВАНО

Ректор СНА
Профессор Дадича В.

" 28 " 05 2015 г.



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель организации

Т. П. Франко С. П.
" 28 " 05 2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научно - исследовательских,
опытно - конструкторских и технологических работ в высших
учебных заведениях

Заказчик: Сельскохозяйственное унитарное предприятие
«Дудичи-Агро», Республика Беларусь, Гомельская обл.,
Калинковичский р-н, д. Дудичи, ул. Советская, 11, отд. д. Буда, птицеферма

Этим актом подтверждается, что результаты работы:
"Усовершенствование технологии инкубации яиц кур с использованием
биокомпозитов" (Обработка инкубационных яиц препаратами на основе
хитозана, с добавлением пероксидных веществ)

Выполнена Сумским национальным аграрным университетом.

Выполнялась с 2013 по 2015 г.

Внедрены в Сельскохозяйственное унитарное предприятие «Дудичи-
Агро», Республика Беларусь, Гомельская обл., Калинковичский р-н.

1. - Вид внедренных результатов: обработка инкубационных яиц
препаратами на основе хитозана, с добавлением растительных экстрактов и
пероксидных веществ с целью улучшения санитарно-гигиенического
состояния хозяйства, профилактики бактериальной и вирусной инфекций и
повышения показателей выводимости яиц.

2. - Характеристика масштаба внедрения: партия 20000 шт. яиц.

3. - Новизна научно - исследовательской работы: принципиально
новое, не имеет аналогов в Украине и странах СНГ.

4. - Внедрены в сельскохозяйственное производство:
Сельскохозяйственное унитарное предприятие «Дудичи-Агро», Республика
Беларусь, Гомельская обл., Калинковичский р-н.

5. - Объем внедрения: 20000 шт. инкубационных яиц.

6. - Социальный и научно-технический эффект: улучшение и
оздоровление условий труда, сокращение затрат труда.

От СНАУ:

Заведующий научно
исследовательской частью

()

Дадича Ю.И.
Руководитель темы

()

Бордюнова О.Г.

Исполнитель:

Бордюнова О.Г.

От предприятия:

Экономист

Г. П. Франко С. П.

Ответственный за

яичное производство

Додаток А. 4

ЗАТВЕРДЖУЮ	ПОГОДЖЕНО
Ректор СНАУ	Директор ДПДГ АФ «Лосинівська»
Акад. НААН, д.с.-Г.Н.,	
проф.  Ладика В.І.	 Окостень М.Д.
„17” <u>листопада</u> 2011 р.	„20” <u>листопада</u> 2011 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів науково – дослідних, дослідно – конструкторських та технологічних робіт у вищих учбових закладах

Замовник: ДПДГ АФ «Лосинівська» Ніжинського району Чернігівської області; керівник організації Окостень М.Д.

Цим актом підтверджується, що результати роботи: „Конструювання та оптимізація хімічного складу „штучної кутикули” для захисту інкубаційних яєць” (Обробка інкубаційних яєць препаратами на основі хітозану, з додаванням рослинних екстрактів та пероксидних речовин).

Виконаної Сумським національним аграрним університетом

Що виконувалася з 2005 по 2010 р.

Впроваджені в ДПДГ АФ «Лосинівська» Ніжинського району Чернігівської області.

1. Вид впроваджених результатів: обробка інкубаційних яєць препаратами на основі хітозану, з додаванням рослинних екстрактів та пероксидних речовин з метою поліпшення санітарно-гігієнічного стану господарства, профілактики бактеріальної та вірусної інфекцій та підвищення показників виводимості яєць.

2. Характеристика масштабу впровадження: партія 20000 шт. яєць.

3. Новизна результатів науково – дослідної роботи: принципово нове, не має аналогів в Україні та країнах СНГ.

4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: ДПДГ АФ «Лосинівська» Ніжинського району Чернігівської області.

Продовж. додатку А. 4

5. Річний економічний ефект: 12460,3 грн.
6. Економічна ефективність впроваджених результатів: 327,5 грн./1000 яєць
7. Об'єм впровадження: 20000 шт. інкубаційних яєць.
8. Соціальний та науковий – технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ

Начальник науково-
Дослідної частини

Власенко В. А.

Керівник теми:

Бордунова О. Г.

Виконавець:

Бордунова О. Г.

Від підприємства

Економіст

Мельничко Д. В.

Головний бухгалтер

Зерченко О. І.

Відповідальний за

впровадження

Грицак С. В.

Додаток А. 5

ПОГОДЖЕНО

Ректор СНАУ

Професор Ладика В.І.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Керівник організації

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів науково – дослідних, дослідно – конструкторських та технологічних робіт у вищих учбових закладах

Замовник: ФОП „Яровой В.І.” Сумського району Сумської області;
керівник організації Яровой В.І.

Цим актом підтверджується, що результати роботи: „Санітарно-гігієнічна характеристика та обґрунтування використання нанотехнології штучна кутикула у птахівництві”.

Виконаної Сумським національним аграрним університетом

Що виконувалася з 2009 по 2014 р.р.

Впроваджені в ФОП «Яровой В.І.» інкубаційна станція Сумського району Сумської області.

1. Вид впроваджених результатів: обробка інкубаційних яєць препаратами на основі хітозану та надощтової кислоти з додаванням нанодисперсних сполук та пероксидних речовин з метою профілактики бактеріальної та вірусної інфекції та підвищення виводимості яєць.

2. Характеристика масштабу впровадження: партія 20000 шт. яєць.

3. Новизна результатів науково – дослідної роботи: принципово нове.

4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: Інкубаційна станція ФОП „ Яровой В.І.” Сумського району Сумської області.

5. Економічна ефективність впроваджених результатів: 602,5 грн./1000 яєць

6. Об'єм впровадження: 2000 шт. інкубаційних яєць.

7. Соціальний та науково – технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Начальник науково-
дослідної частини

Данько Ю.І.

Керівник теми:

Бордунова О.Г.

Виконавець:

Бордунова О.Г.

Економіст

Головний бухгалтер

Відповідальний за

впровадження

Додаток А. 6

ПОГОДЖЕНО

Ректор СНАУ

Професор Далика В.І.

“ 6 ”



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ВАТ

Птахорадгосп “Мирний”

Бесараб С.О.

“ 25 ”



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських та технологічних робіт у вищих навчальних закладах

Замовник: ВАТ Птахорадгосп “Мирний” Сумського району Сумської області; керівник організації Бесараб С.О.

Цим актом підтверджується, що результати роботи “Удосконалення технології інкубації яєць курей сучасних кросів. Розробка екологічно-безпечного препарату для захисту інкубаційних яєць на основі речовин природного походження і наночасток оксидів металів”, виконаної Сумським національним аграрним університетом протягом 2003 - 2006 р.р., впроваджені в ВАТ Птахорадгосп “Мирний” Сумського району Сумської області.

1. Вид впроваджених результатів: обробка інкубаційних яєць екологічно-безпечними препаратами на основі речовин природного походження і наночасток оксидів металів з метою профілактики бактеріальної та вірусної інфекції та підвищення виводимості яєць.
2. Характеристика масштабу впровадження: партія 10 тис. шт. яєць.
3. Новизна результатів науково-дослідної роботи: принципово нова розробка.
4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: цех інкубації ВАТ Птахорадгосп “Мирний” Сумського району Сумської області.
5. Економічна ефективність впроваджених результатів: 346,4 грн./1000 яєць.
6. Об'єм впровадження: 10000 шт. інкубаційних яєць.
7. Соціальний та науково-технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ

Начальник науково-дослідної частини

Касянчук В.В.

Керівник теми:

Бордунова О.Г.

Виконавець:

Бордунова О.Г.

Від підприємства:

Економіст

Головний бухгалтер

Відповідальний за впровадження

Додаток А. 7

ПОГОДЖЕНО

Ректор СНАУ

Професор Данилюк В.І.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ВАТ

Птахорадгосп "Мирний"

Бесараб С.О.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських та технологічних робіт у вищих навчальних закладах

Замовник: ВАТ Птахорадгосп "Мирний" Сумського району Сумської області; керівник організації Бесараб С.О.

Цим актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи "Удосконалення технологічних прийомів передінкубаційної обробки яєць птиці", виконаної аспіранткою кафедри біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету протягом 2004 -2006 р.р., впроваджені в ВАТ Птахорадгосп "Мирний" Сумського району Сумської області.

1. Вид впроваджених результатів: нові методи обробки інкубаційних яєць препаратами на основі високомолекулярних біологічно-активних сполук з додаванням рослинних екстрактів та пероксидних речовин з метою профілактики бактеріальної та вірусної інфекції і підвищення виводимості яєць та збереженості молодняку.
2. Характеристика масштабу впровадження: 16 тис. шт. яєць.
3. Новизна результатів науково-дослідної роботи: принципово нова розробка.
4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: цех інкубації ВАТ Птахорадгосп "Мирний" Сумського району Сумської області.
5. Вартість додаткової основної продукції: виведеного молодняку 855 грн./1000 яєць, збереженого молодняку 1187.грн.- при обприскуванні; 1138 та 2246 грн. при фонофоретичній обробці відповідно.
6. Об'єм впровадження: 16000 шт. інкубаційних яєць.
7. Соціальний та науково-технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ

Начальник науково-дослідної частини

Касянчук В.В.

Керівник теми:

Бордунова О.Г.

Виконавець:

Бордунова О.Г.

Від підприємства:

Економіст

Головний бухгалтер

Відповідальний за

впровадження

Додаток А. 8

ПОГОДЖЕНО

Ректор СНАУ

Професор Далига В.І.



“ 6 ”

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о.директора “ТОВ

“Колос” АгроТрейд”

Кошовець О.І.

“ 18 ” 05 2006 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських та технологічних робіт у вищих навчальних закладах

Замовник: “ТОВ “Колос” АгроТрейд” Конотопського району Сумської області; керівник організації Кошовець О.І.

Цим актом підтверджується, що результати роботи за темою: “Удосконалення технології інкубації яєць курей сучасних кросів. Розробка екологічно-безпечного препарату для захисту інкубаційних яєць на основі речовин природного походження і наночасток оксидів металів”, виконаної Сумським національним аграрним університетом протягом 2001 - 2006 р.р., впроваджені в “ТОВ “Колос” АгроТрейд” Конотопського району Сумської області.

1. Вид впроваджених результатів: обробка інкубаційних яєць екологічно-безпечними препаратами на основі речовин природного походження і наночасток оксидів металів з метою профілактики бактеріальної та вірусної інфекції та підвищення виводимості яєць.
2. Характеристика масштабу впровадження: партія 12 тис. шт. яєць.
3. Новизна результатів науково-дослідної роботи: принципово нова розробка.
4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: Цех інкубації “ТОВ “Колос” АгроТрейд” Конотопського району Сумської області.
5. Економічна ефективність впроваджених результатів: 351,2 грн./1000 яєць.
6. Об'єм впровадження: 12000 шт. інкубаційних яєць.
7. Соціальний та науково-технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ

Начальник науково-дослідної частини

Касянчук В.В.

Керівник теми:

Бордунова О.Г.

Виконавець:

Бордунова О.Г.

Від підприємства:

Економіст

Головний бухгалтер

Відповідальний за

впровадження

Додаток А. 9

ПОГОДЖЕНО

Ректор СНАУ

Професор Яцик В.А.

“ 15 ”

вересня 2006 р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

фермерського господарства

„Князівське”

Худін І. П.

“ 14 ” 09.2006 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських та технологічних робіт у вищих навчальних закладах

Замовник: фермерське господарство „Князівське” Білопільського району Сумської області село Павлівки; керівник господарства Худін І.П.

Цим актом підтверджується, що результати роботи “Удосконалення технології інкубації яєць курей сучасних кросів. Розробка екологічно-безпечного препарату для захисту інкубаційних яєць на основі речовин природного походження і наночасток оксидів металів”, виконаної Сумським національним аграрним університетом протягом 2004 - 2006 р.р., впроваджені в фермерське господарство „Князівське” Білопільського району Сумської області с. Павлівки.

1. Вид впроваджених результатів: обробка інкубаційних яєць екологічно-безпечними препаратами на основі речовин природного походження і наночасток оксидів металів з метою профілактики бактеріальної та вірусної інфекції та підвищення виводимості яєць.

2. Характеристика масштабу впровадження: партія 3000 тис. шт. яєць.

3. Новизна результатів науково-дослідної роботи: принципово нова розробка.

4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: цех інкубації фермерського господарства „Князівське” Білопільського району Сумської області с. Павлівки.

5. Економічна ефективність впроваджених результатів: 352,2 грн./1000 яєць.

6. Об'єм впровадження: 3000 шт. інкубаційних яєць.

7. Соціальний та науково-технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ

Начальник науково-дослідної частини

Касянчук В.В.

Керівник теми:

Бордунова О.Г.

Виконавець:

Бордунова О.Г.

Від підприємства:

Економіст

Головний бухгалтер

Відповідальний за

впровадження

Власна

О.Г.

О.Г.

[Signature]

[Signature]

[Signature]

Додаток А. 10

ПОГОДЖЕНО

Ректор СНАУ

Професор Ладика В.І.

„02” 06 2005р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Керівник організації

Марченко Г.Ф.

05 2005



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів науково – дослідних, дослідно – конструкторських та технологічних робіт у вищих учбових закладах

Замовник: ТОВ „Буринський інкубатор” Буринського району Сумської області; керівник організації Марченко Г.Ф.

Цим актом підтверджується, що результати роботи: „Конструювання та оптимізація хімічного складу „штучної кутикули” для захисту інкубаційних яєць” (Обробка інкубаційних яєць препаратами на основі ЧАС, з додаванням рослинних екстрактів та пероксидних речовин).

Виконаної Сумським національним аграрним університетом

Що виконувалася з 2003 по 2005 р.

Впроваджені в ТОВ „Буринський інкубатор” Буринського району Сумської області.

1. Вид впроваджених результатів: обробка інкубаційних яєць препаратами на основі ЧАС, з додаванням рослинних екстрактів та пероксидних речовин з метою профілактики бактеріальної та вірусної інфекції та підвищення виводимості яєць.
2. Характеристика масштабу впровадження: партія 2000 шт. яєць.
3. Новизна результатів науково – дослідної роботи: принципово нове.
4. Впроваджені у сільськогосподарське виробництво: Цех інкубації ТОВ „Буринський інкубатор” Буринського району Сумської області.
5. Річний економічний ефект: 12460,3 грн.
6. Економічна ефективність впроваджених результатів: 327,5 грн./1000 яєць
7. Об'єм впровадження: 2000 шт. інкубаційних яєць.
8. Соціальний та науково – технічний ефект: покращення та оздоровлення умов праці, скорочення затрат праці.

Від СНАУ

Начальник науково-дослідної частини

Мельник А.В.

Керівник теми:

Бордунова О.Г.

Виконавець:

Бордунова О.Г.

Від підприємства

Економіст

Головний бухгалтер

Відповідальний за

впровадження

A. Melnyk

O. G. Bordonova

O. G. Bordonova

G. F. Marchenko

G. F. Marchenko

G. F. Marchenko

Додаток А. 11



Справка.

Настоящим подтверждаю, что, на протяжении 1995-2001 г.г. в хозяйстве Агрофирма «Горлица» Краснопольского района Сумской области были заложены и проведены производственные исследования с участием канд. вет. наук, доцента каф. биохимии и биотехнологии Бордуновой О.Г. по использованию дезинфектантов для профилактики заразных заболеваний кур.

Результаты этих исследований обработаны и проанализированы, в результате чего сформулированы обоснованные выводы и предложения по использованию дезинфицирующих препаратов для профилактики заболеваний птиц. Последние используются при разработке ветеринарных и зоогигиенических мероприятий для предупреждения заразных заболеваний птиц в птицеводческих хозяйствах.

Председатель *Саша*

Главный ветеринарный врач *Вася*

Главный экономист *Вруф*



Додаток А. 12

Довідка

Цим підтверджую, що протягом 1996-2003 р.р. у ВАТ Племптахорадгоспі "Посульський", с.м.т. Недригайлів Сумської області були закладені та проведені досліді з участю доц. кафедри біохімії та біотехнології Бордунової О.Г. по розробці передової біоміметичної технології отримання штучних захисних мембранних покриттів нового покоління для інкубаційних яєць, які містить біоцидні компоненти вітчизняного виробництва, а також біостимулятори та імуностимулятори природного походження.

Результати цих досліджень піддані статистичній обробці, проаналізовані і на цих засадах були сформульовані висновки та пропозиції щодо використання розроблених препаратів для покращення якості інкубаційних яєць, підвищення виводимості та збереженості молодняку птиці.

Результати досліджень використовувалися при розробках оперативних планів розвитку птахівничої галузі господарства протягом 1997-2002 р.р.

Економічний ефект, що отриманий від впровадження розробок доц. Бордунової О.Г., становить 304,5 грн./ 1 тис. інкубаційних яєць.

Директор ВАТ Племптахорадгоспу

"Посульський"

Головний зоотехнік

Головний бухгалтер

02.10.2003р.

Карпенко І.Г.

Пищик Д.І.

Шелудченко В.П.

Додаток А. 13



4.04.2003р

Довідка

Цим підтверджую, що протягом 1996-2003 р.р. у ВАТ «Птахогосподарство ім. Путивльських партизан», Путивльського району Сумської області були закладені та проведені дослідження під керівництвом доц. кафедри біохімії та біотехнології СНАУ Бордунової О.Г. по розробці вітчизняних препаратів для захисту інкубаційних яєць від патогенної мікрофлори та керування ембріогенезом шляхом введення у яйце біостимуляторів та імуностимуляторів природного походження.

На основі експериментальних досліджень вироблені висновки та пропозиції по використанню у виробництві зазначених препаратів для покращення якості інкубаційних яєць, підвищення показників виводимості та збереженості молодняку птиці.

Результати досліджень використовували при розробці оперативних планів розвитку птахівничої галузі господарства протягом 1997-2003 р.р.

Отриманий від впровадження у господарстві розробок доц. Бордунової О.Г., економічний ефект становить 296,0 грн./ 1 тис. інкубаційних яєць.



Директор ВАТ «Птахогосподарство

Ім. Путивльських Партизан»

Головний зоотехнік

Головний бухгалтер

Шульга С.В.

Лисиця Н.С.

Челядін І.Г.

Додаток А. 14



ДОВІДКА

Ця довідка надана на підтвердження того, що на протязі 1998-2003 років у ТОВ "Буринський інкубатор" Буринського району, Сумської області були закладені та проведені дослідження під керівництвом доцента кафедри біохімії та біотехнології СНАУ Бордунової О.Г. з розробки нових препаратів для обробки інкубаційних яєць на основі БАР біотехнологічного походження.

На основі експериментів були розроблені рекомендації по впровадженню та широкому використанню таких препаратів у птахівництві.

Результати досліджень використовувались при розробці оперативних планів розвитку птахівничої галузі господарства протягом 1999-2004 р.

Економічний ефект, який отриманий від впровадження розробок доцента Бордунової О.Г. становив 315,5 грн./ 1000 яєць.



Директор ТОВ "Буринський інкубатор"

Марченко Григорій Федорович

Головний бухгалтер

Овсієнко Людмила Миколаївна

Додаток Б

Акт впровадження результатів дисертаційної роботи у навчальний процес
СНАУ

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Сумський національний аграрний університет

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Ректор Сумського національного
аграрного університету

доктор с.-р. наук, професор

 В.І. Лашко

25 травня 2015 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи Бордунової О.Г.
у навчальний процес Сумського національного аграрного
університету

В період з 12.05.2015 р. по 22.05. 2015 року комісія в складі:

- проректора з науково-педагогічної та навчальної роботи – к.е.н.,
доцента Жмайлова В. М.
- начальника навчального відділу Колодненко Н.В.
- декана біолого-технологічного факультету Остапенка В.І.
- зав. кафедри біохімії і біотехнології Бондарчук Л.В.

провела аналіз впровадження результатів дисертаційної роботи к.вет.н.,
доцента кафедри біохімії і біотехнології Бордунової О.Г. в навчальний
процес.

За результатами роботи комісії встановлено факт використання
наукових результатів роботи в навчальному процесі:

1. Для студентів 3 курсу біолого-технологічного факультету зі
спеціальності 6.090102 «Технологія виробництва і переробки продуктів

Продовж. дод. Б

тваринництва» з предмету «Біотехнологія» за темою: Біотехнологічні основи отримання і використання регуляторів росту тварин і птиці (6 годин) – використовуються результати дослідження впливу біологічно-активних речовин на ембріогенез птиці, а також на їх виводимість та збереженість молодняку.

2. Для студентів 2 курсу факультету ветеринарної медицини зі спеціальності 6.110101 – Ветеринарна медицина з предмету «Клінічна медицина» за темою: Методи біохімічних досліджень в клінічній біохімії (4 години) – впроваджено використання новітніх методів фізико-хімічного аналізу, а саме м'якоіонізаційної мас-спектрометрії, для визначення білків, ліпідів та інших речовин в тканинах та біологічних рідинах організмів тварин та птиці.

3. Для студентів 5 курсу біолого-технологічного факультету зі спеціальності 09010201 «Технологія виробництва і переробки продуктів тваринництва» з предмету «Ветсанекспертиза м'яса» за темою: Ветеринарно-санітарна експертиза продукції птахівництва (8 годин) – впроваджено використання мас-спектрометричного методу для дослідження антибіотиків у тканинах ембріонів курей та в інкубаційних яйцях.

4. Для студентів 3 курсу біолого-технологічного факультету зі спеціальності 6.090102 «Технологія виробництва і переробки продуктів тваринництва» з предмету «Птахівництво» за темою: Ембріональний розвиток сільськогосподарської птиці (4 години) – використовуються результати вивчення морфологічної та хімічної структури захисних бар'єрів яєць сільськогосподарської птиці, шкаралупи та підшкаралупних оболонок, методом растрової електронної мікроскопії та м'якоіонізаційної мас-спектрометрії.

5. Для студентів 3 курсу біолого-технологічного факультету зі спеціальності 6.090102 «Технологія виробництва і переробки продуктів тваринництва» з предмету «Птахівництво» за темою: Технологія інкубації

Продовж. дод. Б

яєць (6 годин) – впроваджено вивчення впливу передінкубаційної обробки яєць різними дезінфектантами на ембріогенез сільськогосподарської птиці.

6. Для студентів 3 курсу біолого-технологічного факультету зі спеціальності 6.090102 «Технологія виробництва і переробки продуктів тваринництва» з предмету «Гігієна тварин» за темою: Гігієна та ветеринарно-санітарні вимоги у птахівництві – (8 годин) – використовуються результати вивчення впливу негативних чинників довкілля і порушень режиму годування та утримання птиці на продуктивність курей і якість шкаралупи та підшкаралупних оболонок інкубаційних яєць.

Члени комісії:

	Жмайлов В. М.
	Колодненко Н.В.
	Остапенко В.І.
	Бондарчук Л.В.

Підписи:		
засвідчую		
Нач. ВК		
" "	" "	200 " *



Додаток В. 1

Патент

	УКРАЇНА (19) (UA)	(11) 60485 A (51) 7 G01J3/28
---	----------------------	--

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І
НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

Деклараційний патент на винахід

видано відповідно до Закону України
"Про охорону прав на винаходи і корисні моделі"

Голова Державного Департаменту
Інтелектуальної власності





М. Паладій

(21) 2002108080
(22) 11.10.2002
(24) 15.10.2003
(46) 15.10.2003. Бюл.№ 10

(72) Бордунова Ольга Георгіївна, Бондарчук Лариса Володимирівна
(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(54) МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИЙ СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБІОТИКІВ В
М'ЯСОПРОДУКТАХ ТА ХАРЧОВИХ І ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЙЦЯХ



Продовж. дод. В. 1



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60485 (13) A

(51) 7 G01J3/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИЙ СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБІОТИКІВ В М'ЯСОПРОДУКТАХ ТА ХАРЧОВИХ І ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЙЦЯХ

1

(21) 2002108080
(22) 11.10.2002
(24) 15.10.2003
(46) 15.10.2003, Бюл. № 10, 2003 р.
(72) Бордунова Ольга Георгіївна, Бондарчук Лариса Володимирівна
(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

2

(57) Мас-спектрометричний спосіб швидкого одночасного якісного та кількісного визначення широкого спектру низки залишкових кількостей антибіотиків в одному зразку м'ясопродуктів або пташиних харчових і інкубаційних яєць, який відрізняється тим, що для визначення використовується м'якоіонізаційна часо-прольотна плазмово-десорбційна мас-спектрометрія.

Винахід відноситься до області аналітичної хімії, а конкретніше, до аналітичної біохімії продуктів тваринного походження в аспекті використання новітньої м'якоіонізаційної мас-спектрометричної апаратури для експрес-реєстрації і ідентифікації антибіотиків в зазначених продуктах, збагачених на ліпіді, зокрема свинині та пташиних яйцях. Метою винаходу є розробка інструментального способу для швидкого та працевмісткого визначення залишкових кількостей поширених у ветеринарній практиці антибіотичних препаратів (олеандоміцину, стрептоміцину, канаміцину, триметоприму, еритроміцину, окситетрацикліну і левоміцетину) в м'ясопродуктах та пташиних яйцях. Відомі способи для визначення антибіотиків пов'язані з дорогими, довготривалими та працевмісткими експериментальними методиками [Moats W.A. J.Agric.Food Chem. 1983. V.3L-P.880; Huang H.-S., Win J.-R.Chen M.L. J.Chromatogr. 1991. V.564.-P.195; Haagsma N., de Water C.,van J.Chromatogr. 1985. V.333. P.-256; Ashworth R.B. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 1985. V.68.-P.1013; Bailey F., Brittain P.N. J.Chromatogr. 1973. V.83.- P.431; Barends D.M., van der Sandt J.S.F., HulshoffA. J.Chromatogr. 1980. V.182.-P.201; Bossuyt R., Wolff. Fleischwirtschaft. 1980. V.60.-P.672; Rowan M.C. J.Chromatogr. 1985. V.340. P.361; Macrae R. HPLC in Food Analysis. London: Acad.Press, 1988; Immunoassays in Food Analysis // Eds.Morris B.A., Clifford M.N. London: Elsevier Applied Science, 1985; Takatsuki K. J.Chromatogr. 1991. V.538. P.259; Smither R.,Vaughan D.R. J.Appl.Bacteriol. 1978. V.44. P.421; Linton A.H. Antibiotics: Assessment of Antimicrobial Activity and Resis-

Resistance/Eds.Russel A.D.,Quesnel L.B. London: Acad.Press, P.19; Horwitz W. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 1981. V.538. P.259; Чиванов В.Д. и др. Журн. аналит. химии. 1997.Т.52, №10.-С.1105-1109].

Зазначеним способом притаманні такі суттєві недоліки: вони не дозволяють проводити швидке одночасне якісне та кількісне визначення широкого спектру антибіотиків в одному зразкові м'ясопродуктів та пташиних яєць.

При аналізі існуючих технологічних і технічних рішень у даній області техніки не виявлені об'єкти, які володіють сукупністю ознак і рівень технологічності запропонованого способу. Це дозволяє стверджувати, що запропонований спосіб є новим і володіє винахідницьким рівнем.

В основу винаходу поставлено завдання розробити такий спосіб для одночасного визначення декількох антибіотиків у м'ясопродуктах та пташиних яйцях, у якому використання аналітичного приладу для експрес-контролю якісного складу зразка зазначених продуктів, дозволило б проводити достовірні ідентифікацію та визначення вмісту низки антибіотиків, що значно здешевшує процедуру аналізу.

Поставлена мета досягається тим, що у пропонуемому способі використовується м'якоіонізаційна часо-прольотна плазмово-десорбційна мас-спектрометрія (біохімічний мас-спектрометр «МСБХ», BAT SELMI, Суми, Україна), яка дозволяє з великою чутливістю визначати термолабільні не летючі органічні речовини.

Спосіб полягає в мас-спектрометричному дослідженні висушених на металевій підкладці

(19) UA (11) 60485 (13) A

Додаток В. 2

Патент



Продовж. дод. В. 2

(11) **80939**(19) **UA**(51) **МПК (2006)
A61B 5/00
G01N 33/49**

<p>(21) Номер заявки: 2003076566</p> <p>(22) Дата подання заявки: 14.07.2003</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.11.2007</p> <p>(41) Дата публікації відомостей про заявку та номер бюлетеня: 17.01.2005, Бюл. № 1 17.01.2005, Бюл. № 1</p> <p>(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 26.11.2007, Бюл. № 19</p>	<p>(72) Винахідники: Бордунова Ольга Георгіївна (UA), Чіванов Вадим Дмитрович (UA), Бондарчук Лариса Володимирівна (UA), Семьонов Дмитро Михайлович (UA)</p> <p>(73) Власник: СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул.Кірова,160, м.Суми, 40021, UA</p>
--	---

(54) Назва винаходу:

МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИЙ СПОСІБ ДІАГНОСТУВАННЯ ХВОРОБИ МАРЕКА У КУРЕЙ

(57) Формула винаходу:

Спосіб діагностування хвороби Марека у сільськогосподарської птиці, який відрізняється тим, що шляхом м'якоіонізаційної часопротитної плазмово-десорбційної мас-спектрометрії визначають піки квазімолекулярних іонів (КМІ) холестеролу (ХЛС) та фосфатидилхоліну (ФХ) у зразках ліпідної фракції крові птиці, вираховують співвідношення висот зазначених піків і при його значенні менше за 0,95 діагностують хворобу Марека, більше за 1,55 - відсутність хвороби, значення від 0,95 до 1,55 вказує на вірогідність наявності захворювання.

Додаток В. 3

Патент



Продовж. дод. В. 3

(11) **59917**(19) **UA**(51) МПК (2011.01)
A01K 43/00
A01K 41/00

<p>(21) Номер заявки: u 2010 11919</p> <p>(22) Дата подання заявки: 08.10.2010</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.06.2011</p> <p>(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 10.06.2011, Бюл. № 11</p>	<p>(72) Винахідники: Бордунова Ольга Георгіївна, UA, Астраханцева Олена Григорівна, UA, Байдевлєтова Ольга Миколаївна, UA, Чіванов Вадим Дмитрович, UA</p> <p>(73) Власник: СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Кірова, 160, м. Суми, 40021, UA</p>
--	--

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ЗАХИСТУ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ КУРЕЙ ПОКРИТТЯМ З ХІТОЗАНУ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб захисту інкубаційних яєць курей, який відрізняється тим, що для утворення на поверхні яєць захисної щодо негативних чинників довкілля та патогенної мікрофлори газопроникної плівки з вираженими біоцидними властивостями як базовий компонент застосовують екологічно безпечну нетоксичну речовину природного походження - хітозан (0,1-3,0 % водний розчин, рН 3,6).

Додаток В. 4

Патент



Продовж. дод. В. 4

(11) 99538

(19) UA

(51) МПК

C09C 1/22 (2006.01)
 C09C 1/24 (2006.01)
 C09C 1/62 (2006.01)
 C09C 3/06 (2006.01)

(21) Номер заявки: а 2011 01341
 (22) Дата подання заявки: 07.02.2011
 (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 27.08.2012
 (41) Дата публікації відомостей про заявку та номер бюлетеня: 10.01.2012, Бюл. № 1
 (46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 27.08.2012, Бюл. № 16

(72) Винахідники:
 Василенко Інна Анатоліївна,
 UA,
 Чиванов Вадим Дмитрович,
 UA,
 Бордунова Ольга Георгіївна,
 UA

(73) Власники:
 Державний вищий навчальний заклад "Український державний хіміко-технологічний університет",
 пр. Гагаріна, 8, м. Дніпропетровськ, 49005, UA,
 Василенко Інна Анатоліївна,
 пр. Миру, 17, кв. 107, м. Дніпропетровськ, 49130, UA,
 Чиванов Вадим Дмитрович,
 вул. Шишкарєвська, 15, кв. 3, м. Суми, 40030, UA,
 Бордунова Ольга Георгіївна,
 вул. Генерала Чеснова, 36, кв. 6, м. Суми, 40020, UA

(54) Назва винаходу:

СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЧОРНОГО ЗАЛІЗООКИСНОГО ПІГМЕНТУ

(57) Формула винаходу:

1. Спосіб одержання чорного залізоокисного пігменту, який включає осадження магнетиту із залізовмісних відходів розчином лужного агента, нагрівання суспензії і доведення її до кипіння при постійному перемішуванні, який відрізняється тим, що перед осадженням магнетиту в розчин залізовмісних відходів вводять розчини карбаміду та формальдегіду при мольному співвідношенні компонентів 1:(1,1-1,5) в кількості 10-20 % від маси пігменту в перерахунку на суху масу, суміш нагрівають до температури 30-35 °C та інтенсивно перемішують протягом 1,5-2,0 годин, осадження пігменту проводять на частинки полімеру за температури 90-100 °C, рН=8,5-9,5 та продуванні реакційної суміші киснем повітря, протягом 3-4 годин з наступним обезводненням твердої фази фільтрацією, промиванням, сушінням та її диспергуванням.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що як залізовмісні відходи використовують відпрацьовані травильні розчини металургійних заводів з рН=1,0-1,5.

Додаток В. 5

Патент



Продовж. дод. В. 5

(11) **72945**(19) **UA**(51) **МПК****A61L 2/18 (2006.01)**(21) Номер заявки: **u 2011 12186**

(72) Винахідники:

(22) Дата подання заявки: **18.10.2011****Бордунова Ольга Георгіївна,****UA,**(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.09.2012****Астраханцева Олена****Григорівна, UA,****Байдевятова Ольга****Миколаївна, UA,**(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: **10.09.2012, Бюл. № 17****Чіванов Вадим Дмитрович,****UA**

(73) Власник:

СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ**АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,**

вул. Кірова, 160, м. Суми,

40021, UA

(54) Назва корисної моделі:

КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЗАХИСТУ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ КУРЕЙ

(57) Формула корисної моделі:

Композиція для захисту інкубаційних яєць курей, в яку входить екологічно безпечна речовина природного походження хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0; сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г), якому притаманні потужні біоцидні властивості щодо патогенної мікрофлори бактеріальної, вірусної та грибової природи, яка відрізняється тим, що містить додаткові компоненти: пом'якшувач води, неорганічний барвник (неорганічний пігмент), мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь) та воду у такому співвідношенні компонентів, мас. %:

хітозан (кислоторозчинний) (рН 1% розчину у 2% надоцтовій кислоті 3,0; сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,0
пом'якшувач води	0,1
неорганічний барвник (неорганічний пігмент)	0,01
мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
вода	решта.

Додаток В. 6

Патент



Продовж. дод. В. 6

(11) **93549**(19) **UA**(51) МПК (2014.01)
A01K 43/00

(21) Номер заявки:	u 2014 03517	(72) Винахідник: Бордунова Ольга Георгіївна, UA
(22) Дата подання заявки:	07.04.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.10.2014	(73) Власник: СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Кірова, 160, м. Суми, 40021, UA
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня:	10.10.2014, Бюл. № 19	

(54) Назва корисної моделі:

КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ДЕЗІНФЕКЦІЇ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ КУРЕЙ

(57) Формула корисної моделі:

Композиція для дезінфекції інкубаційних яєць курей, що містить екологічно безпечну речовину природного походження хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0, сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г), що має потужні біоцидні властивості щодо патогенної мікрофлори бактеріальної, вірусної та грибкової природи, яка відрізняється тим, що містить додаткові компоненти: діоксид титану (TiO₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм), перекис водню (H₂O₂), сульфат міді (CuSO₄), мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь) та воду у такому співвідношенні компонентів (мас. %):

хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0, сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,0
діоксид титану (TiO ₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0 - 0,2 мкм)	0,1 - 3,0
перекис водню (H ₂ O ₂)	0,5 - 5,5
сульфат міді (CuSO ₄)	1,0 - 2,5
мікроелементи (магній, кобальт, цинк)	0,1
вода	решта.

Додаток В. 7

Патент



Продовж. дод. В. 7

(11) 93550

(19) UA

(51) МПК (2014.01)
A01K 43/00

(21) Номер заявки:	u 2014 03518	(72) Винахідник:	Бордунова Ольга Георгіївна, UA
(22) Дата подання заявки:	07.04.2014	(73) Власник:	СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Кірова, 160, м. Суми, 40021, UA
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.10.2014		
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня:	10.10.2014, Бюл. № 19		

(54) Назва корисної моделі:

КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЗАХИСТУ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ КУРЕЙ ЩОДО ПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ

(57) Формула корисної моделі:

Композиція для захисту інкубаційних яєць курей, що містить екологічно безпечну речовину природного походження хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0; сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г), якому притаманні потужні біоцидні властивості щодо патогенної мікрофлори бактеріальної, вірусної та грибової природи, яка відрізняється тим, що додатково містить компоненти: діоксид титану (TiO₂) у анатазній кристалічній формі, жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F₂O₃, перекис водню (H₂O₂), пом'якшувач води, сульфат міді (CuSO₄), мікроелементи (магній, кобальт, цинк) та воду при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0; сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,0
діоксид титану (TiO ₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм)	0,1-3,0
жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F ₂ O ₃)	0,1-3,0
перекис водню (H ₂ O ₂)	0,5-5,5
сульфат міді (CuSO ₄)	1,0-2,5
пом'якшувач води	0,1
мікроелементи (магній, кобальт, цинк)	0,1
вода	решта.

Додаток В. 8

Патент



Продовж. дод. В. 8

(11) **93551**(19) **UA**(51) МПК (2014.01)
A01K 43/00

(21) Номер заявки:	u 2014 03519	(72) Винахідник:	Бордунова Ольга Георгіївна, UA
(22) Дата подання заявки:	07.04.2014	(73) Власник:	СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Кірова, 160, м. Суми, 40021, UA
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.10.2014		
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня:	10.10.2014, Бюл. № 19		

(54) Назва корисної моделі:

КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЗНИЩЕННЯ ПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ НА ПОВЕРХНІ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ КУРЕЙ

(57) Формула корисної моделі:

Композиція для знищення патогенної мікрофлори на поверхні інкубаційних яєць курей, в яку входить екологічно безпечна речовина природного походження хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0, сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г), якому притаманні потужні біоцидні властивості щодо патогенної мікрофлори бактеріальної, вірусної та грибової природи, яка відрізняється тим, що містить додаткові компоненти: діоксид титану (TiO₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм), жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F₂O₃, сульфат міді (CuSO₄), пом'якшувач води і мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь) та воду при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

хітозан (кислоторозчинний) (рН 1 % розчину у 2 % надоцтовій кислоті 3,0, Сорбційна активність за іонами міді 80,3 мг/г)	0,1-3,4
діоксид титану (TiO ₂) у анатазній кристалічній формі (діаметр часток 2,0-0,2 мкм)	0,01-3,8
жовтий залізоокисний пігмент (оксид заліза (III) F ₂ O ₃)	0,1-2,5
сульфат міді (CuSO ₄)	1,0-1,25
пом'якшувач води	0,1
мікроелементи (магній, кобальт, цинк, мідь)	0,1
вода	решта.

Додаток Д 1

Акт про проведення лабораторних досліджень в проблемній лабораторії СНАУ

Акт про проведення лабораторних досліджень

від 22.07.2000 року

Ми, що нижче підписались, декан факультету ветеринарної медицини СНАУ, к.в.н., доцент Коваленко О.І., зав. віварієм СНАУ Кравець В.В., к.в.н., доцент каф. біохімії та біотехнології Бордунова О.Г., молодший науковий співробітник проблемної лабораторії факультету вет. медицини СНАУ Лаврова В.П. склали цей акт в тому, що з 1.07.2000 по 21.07.2000 року доц. каф. біохімії та біотехнології Бордуновою О.Г. в приміщенні віварію факультету ветеринарної медицини СНАУ в термостат було закладено на інкубацію курячі яйця в кількості 100шт, отримані від курей кросу Домінант – Д 102. для проведення досліджень за темою „Розробка захисної штучної кутикули для інкубаційних яєць: біохімічні та біофізичні аспекти” розділу: „Конструювання та оптимізація хімічного складу „штучної кутикули” для захисту інкубаційних яєць”. Перед закладкою яйця були оброблені: водним розчином горіху; препаратом ЧАС; препаратом ЧАС з додаванням спиртового та водного розчинів горіху (0,25%); спиртовим розчином горіху на срібній воді (1%); срібною водою та препаратом „Метацид”. Виводимість курчат склала: 1 гр. (контроль) – 50%; 2гр.(оброблені водним розчином горіху) – 100%; 3 гр. (обробка препаратом на основі АТМ) – 0%; 4 та 5 гр. (оброблені АТМ + розчином спиртового горіху – 0,25%) – 50% та 100; 6 гр. (АТМ + водний горіх 0,25%)- 75%; 7 гр. (срібна вода + спиртовий розчин горіху) – 75%; 8 гр. – срібною водою -100%; „Метацид” – 100%.

Декан факультету ветеринарної
медицини, к.в.н., доцент
Зав. віварієм
М.н.с. проблемної лабораторії
Доц., каф. біохімії та біотехнології



Коваленко О.І.
Кравець В.В.
Лаврова В.П.
Бордунова О.Г.

Додаток Д 2

Акт про проведення лабораторних досліджень в проблемній лабораторії СНАУ

Акт від 2.12. 2000 року

Ми, що нижче підписались, декан факультету ветеринарної медицини СНАУ, к.в.н., доцент Коваленко О.І., зав. віварієм СНАУ Кравець В.В., к.в.н., доцент каф. біохімії та біотехнології Бордунова О.Г., ст.. лаборант проблемної лабораторії факультету ветеринарної медицини Шкрамада О.І., склали цей акт в тому, що з 15.03.2000 по 2.12.2000 року в приміщенні віварію факультету ветеринарної медицини СНАУ на курях кросу Домінант бурій Д-102 (74 гол.) доц. каф. біохімії та біотехнології Бордуновою О.Г. були проведені досліді щодо вивчення впливу факторів зовнішнього середовища на організм птахів та на біофізичні та біохімічні параметри інкубаційних яєць. Вивчали вплив мікотоксинів, стресових навантажень, інфекційних хвороб та наявності важких металів на продуктивність курей. Яйця, отримані від курей під час проведення експериментів інкубували в лабораторному термостаті та побутовому інкубаторі „Наседка” для проведення досліджень за темою: „Конструювання та оптимізація хімічного складу „штучної кутикули” для захисту інкубаційних яєць”, а також досліджували за допомогою мас-спектрометрії та растрової електронної мікроскопії. Контрольну групу курей утримували в окремому приміщенні від дослідних груп. Після проведення досліджень курям проводили розтин для дослідження внутрішніх органів і утилізували.

Декан факультету ветеринарної

медицини, к.в.н., доцент

Зав. віварієм

М.н.с. проблемної лабораторії

Доц.. каф. біохімії та біотехнології



Коваленко О.І.

Кравець В.В.

Лаврова В.П.

Бордунова О.Г.

Додаток Д 3

Акт про проведення лабораторних досліджень в проблемній лабораторії СНАУ

Акт від 26.10.1999 р.

Ми, що нижче підписались, декан факультету ветеринарної медицини СНАУ, к.в.н., доцент Коваленко О.І., зав. віварієм СНАУ Кравець В.В., к.в.н., доцент каф. біохімії та біотехнології Бордунова О.Г., молодший науковий співробітник проблемної лабораторії факультету ветеринарної медицини Лаврова В.П., склали цей акт в тому, що 25.10.99 року в приміщенні віварію факультету ветеринарної медицини СНАУ були посаджені кури кросу Домінант бурій Д-102 в кількості 63 гол., отримані з ОАО „Мирний” Сумської області для проведенні дослідів к.в.н., доц. каф. біохімії та біотехнології Бордуновою О.Г. за темою: „Розробка захисної штучної кутикули для інкубаційних яєць: біохімічні та біофізичні аспекти” розділів: „Вивчення напрямків впливу зовнішніх факторів на біофізичні та біохімічні параметри інкубаційних яєць”; „Конструювання та оптимізація хімічного складу „штучної кутикули” для захисту інкубаційних яєць”.

Декан факультету ветеринарної
медицини, к.в.н., доцент
Зав. віварієм
М.н.с. проблемної лабораторії
Доц. каф. біохімії та біотехнології



Коваленко О.І.
Кравець В.В.
Лаврова В.П.
Бордунова О.Г.

Додаток Д 4

Акт про проведення лабораторних досліджень в проблемній лабораторії СНАУ

Акт від 15.03.2000 р.

Ми, що нижче підписались, декан факультету ветеринарної медицини СНАУ, к.в.н., доцент Коваленко О.І., зав. віварієм СНАУ Кравець В.В., к.в.н., доцент каф. біохімії та біотехнології Бордунова О.Г., старший лаборант проблемної лабораторії факультету ветеринарної медицини Шкрамада О.І, склали цей акт в тому, що 15.03.2000 року в приміщенні віварію факультету ветеринарної медицини СНАУ були посаджені кури кросу Домінант бурій Д-102 в кількості 74 гол., отримані з ОАО „Мирний” Сумської області для проведенні дослідів к.в.н., доц. каф. біохімії та біотехнології Бордуновою О.Г. за темою: „Розробка захисної штучної кутикули для інкубаційних яєць: біохімічні та біофізичні аспекти” розділів: „Вивчення напрямків впливу зовнішніх факторів на біофізичні та біохімічні параметри інкубаційних яєць”; „Конструювання та оптимізація хімічного складу „штучної кутикули” для захисту інкубаційних яєць”.

Декан факультету ветеринарної
медицини, к.в.н., доцент
Зав. віварієм
Ст.лаборант проблемної лабораторії
Доц. каф. біохімії та біотехнології



Коваленко О.І.
Кравець В.В.
Шкрамада О. І.
Бордунова О.Г.

Додаток Ж. 1

Договір про наукове співробітництво з ІПФ НАНУ

ДОГОВІР

про наукове співробітництво

м.Суми

31 січня 2006 р.

Інститут прикладної фізики Національної академії наук України (ІПФ НАН України) в особі директора, академіка НАН України В.Ю.Сторжжа і Сумський національний аграрний університет (СНАУ) в особі ректора, чл.-кор. УААН В.І.Ладики уклали цей договір про дослідження біомолекул, макро- та мікроелементного складу агробіологічних об'єктів з використанням сучасних фізико-хімічних методів досліджень (мікроронд, ААА, мас-спектрометрія, ультразвукова технологія, скануюча та просвічуюча електронна мікроскопія тощо).

1. Предмет договору.

1.1. Метою договору є дослідження органів, клітин, біомолекул, макро- і мікроелементного складу агробіологічних об'єктів: сперми ВРХ, біоактивних добавок на основі біомаси грибів *Blakesklea trispora*, кормів для ВРХ, мікроелементного складу с.-г. рослин, екологічно чистих печериць, картоплі, харчових та інкубаційних яєць, біохімічного складу шкідливих щодо цукрового буряка полеліць та рослини-господаря-каліми і поширених в Україні шкідників та хвороб рослин (біолого-технологічний, агрономічний та ветеринарний факультети СНАУ). В подальшому, за умов удосконалення в 2006-2011 рр. електростатичного прискорювача (з унікальними для країн СНД методиками - виведенням променя іонів у атмосферу і одноіонної техніки) планується дослідити вплив іонів на біологічні об'єкти, зокрема насінницький матеріал (пшениця, картопля, рапс, соняшник), сперму ВРХ, пташині ембріони, культури бактерій для сироваріння, шкідливі для рослин і тварин нематоди з метою: 1) отримання ефекту гормезису - стимуляції життєдіяльності і розвитку організмів і 2) моделювання ступеню і напрямку пошкодження клітин та цілісних організмів, зокрема бактерій і можливо вірусів (пташиний грип), високоенергетичними іонами з метою боротьби з шкідливими організмами. Теоретичною основою для останньої є встановлений науковий факт про те, що бактерії обмінюються ДНК через шплярини в клітинній оболонці, що утворюється під дією високоенергетичних іонів. Таким чином, зазначені іони теоретично здатні викликати мутації в ДНК хворобочинних бактерій і вірусів які, з одного боку, можуть знищувати останні, а з іншого - призводити до корисних мутацій бактерій і вірусів, що може стати в нагоді у біотехнології ветеринарної медицини і харчової промисловості України.

1.2. Співробітництво здійснюється під керівництвом ректора СНАУ, чл.-кор. УААН В.І.Ладики і провідного н.с. відділу №30 ІПФ, доцента кафедри захисту рослин СНАУ, доктора с.-г.н., В.Д.Чіванова

2. Обов'язки сторін

2.1. ІПФ НАН України зобов'язується здійснювати наукове керівництво і допомогу в проведенні досліджень з використанням фізико-хімічних методів досліджень, наявних в поточних роках в ІПФ, за зазначеними тематиками та приймати участь у підготовці публікацій наукових результатів.

2.2. СНАУ (в особі чл.-кор. УААН В.І.Ладики, доцентів кафедри біохімії та біотехнології Бордунової О.Г., Чернявської Т.О. та аспірантів і пошуковців Є.А.Самохіної, Бердіної І.В., Дудченко В.В., Астраханцевої О.Г., Сарбаш В.М.) зобов'язується провести протягом звітного року дослідження біомолекул, макро- і

Продовж. дод. Ж. 1

мікроелементного складу агробіологічних об'єктів – насінницький матеріал (пшениця, картопля, рапс, соняшник), кормів для ВРХ, екологічно чистих печерниць, мікроелементного стану с.-г. рослин, біохімічного складу шкідливих щодо цукрового буряка попелиць та рослини-господаря-каліни, картоплі, ліпідів м'яса с.-г. птиці, харчових та інкубаційних яєць, біологічно-активних добавок, поширених в Україні шкідників та хвороб рослин і культур бактерій для сироваріння, шкідливих для рослин і тварин нематоди з метою, метою яких є підвищення якості сільськогосподарської продукції, виробленої в Україні та наближення останньої за основними показниками до рівня відповідної продукції країн ЄС (ISO 9001-2001). Також з метою покращення якості питної води в Сумській області планується дослідити адсорбційні та абсорбційні властивості глини області щодо токсичних речовин. СНАУ зобов'язується надати робочі місця – лабораторію електронної мікроскопії кафедри захисту рослин (к.16), лабораторію кафедри біохімії і біотехнології (к.49), лабораторію факультету харчових технологій і лабораторію кафедри фармакології і токсикології СНАУ (к.102). За результатами досліджень планується подати до опублікування 25 статей і матеріали на отримання 10 авторських свідоцтв, а також захистити дисертації на науковий ступінь кандидата наук –3 і докторів біологічних наук (1) і с.-г.н. (1).

3. Термін дії договору

3.1. Термін дії договору з моменту підписання до 31 грудня 2011 р.

4. Адреси сторін

СНАУ
40021, м.Суми, вул.Молодіжна, 160

ІНСТИТУТ НАУКИ УКРАЇНИ
40030 м.Суми,
вул.Петропавлівська, 58



В.Ю.Сторіжко

Додаток Ж. 2

Довідка про проведення досліджень в Інституті прикладної фізики НАН
України

ДОВІДКА

Цим завіряю, що протягом 2000-2013 р.р. у відділі №20 Інституту прикладної фізики були проведені сумісні дослідження у межах дисертаційної роботи доцента кафедри біохімії та біотехнології Сумського НАУ, канд. вет. наук, доцента Бордунової Ольги Георгіївни з використанням приладів для фізико-хімічних та біохімічних аналізів:

1. Мас-спектрометр біохімічний «МСБХ», ВАТ «SELMІ», Суми, Україна;
2. Мас-спектрометр з іонізацією швидкими атомами «МІ-1201», ВАТ «SELMІ», Суми, Україна;
3. Мас-спектрометр газовий «МХ-7304», ВАТ «SELMІ», Суми, Україна;
4. Растровий електронний мікроскоп «РЕММА-102», ВАТ «SELMІ», Суми, Україна;
5. Рентгенівський дифрактометр «ДРОН-3М», «Буревісник», С.-Пб., Росія;
6. Прискорювальний аналітичний комплекс «Сокіл», ІПФ НАНУ.

Заст. зав. відділом №20 Інституту
прикладної фізики НАН України,
пров.н.с., д.с-г.н., к.б.н., доцент



В.Д. Чіванов

Підпис Чіванова В.Д. завіряю:
Учений секретар ІПФ НАН України,
к.ф.-м.н.

10.02.2014р.



О.І.Ворошило

Додаток З. 1

Акт випробувань зразків високодисперсного двоокису титану



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

АКТ

випробувань зразків високодисперсного двоокису титану розробленого у державному хіміко-технологічному університеті для антибактеріального покриття інкубаційних яєць.

Комісія у складі: зав. Кафедри Комп'ютерно-інтегрованих технологій та метрології к.т.н., доцента Мисова О.П., асистента Олейнікова В.Г. – представників ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет» (УДХТУ), і к.б.н та д.с-х.н Чиванова Вадима Дмитрійовича головного научного співробітника відділу біофізики та масс-спектрометрії Інститута прикладної фізики НАН України м. Суми.

Асистентом Олейніковим В.Г. під керівництвом Мисова О.П., розроблена технологія одержання високодисперсного двоокису титану модифікованого карбамідоформальдегідним полімером, за якою на дослідній лабораторній установці виготовлені експериментальні зразки композиційного матеріалу. Зразки були відправлені в Інститут прикладної фізики НАН України м. Суми для подальших випробувань.

Технологія «штучна кутикула» являє собою самовпорядковане полікомпонентне захисне покриття з додаванням двоокису титану для відновлення бар'єрних властивостей біокерамічних структур шкарлупи і шкаралупних мембран, якому притаманні біоцидна (антибактеріальна та антивірусна) і біостимулююча дія стосовно ембріону, що розвивається. На поверхні яєць утворюється захисна газопроникна плівка завтовшки 0,5-5,0 мкм.

У досліді інкубували по 1000 яєць курей трьох порід – род-айленд червоний, полтавська глиняста, бірківська барвіста. У якості контролю використовували класичний метод – обробку паром формальдегіду. В результаті були отримані дані показані в таблиці, з яких чітко видно, що показник виводимості складас, залежно від породи 89,3 - 93,8% і значно перевищує відповідний показник, у варіантах, де застосовувалась обробка класичним методом – паром формальдегіду. Результати мікробіологічних досліджень показали, що використання двоокису титану дозволяє знизити кількість патогенної мікрофлори на поверхні яєць протягом інкубації.

Продовж. дод. 3. 1

Результати випробування «штучної кутикули»

Методи обробки	Закладено яєць	Виводимість, %
Род-айленд червоний		
Формальдегід	500	82,9
Хітозан кислоторозчинний та TiO ₂ (УДХТУ)	500	89,3
Всього	1000	86,1
Полтавська глиняста		
Формальдегід	360	89,1
Хітозан кислоторозчинний та TiO ₂ (УДХТУ)	360	91,1
Всього	720	90,1
Бірківська барвиста		
Формальдегід	500	90,7
Хітозан кислоторозчинний та TiO ₂ (УДХТУ)	500	93,8
Всього	1000	92,3

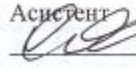
Також слід відзначити, що на відміну від оброблених яєць на поверхні шкаралупи контрольних партій було виявлено бактерії групи кишкової палички. Патологоанатомічний аналіз відходів інкубації контрольних і дослідних груп не виявив змін будови внутрішніх органів.

Від ДВНЗ «УДХТУ»

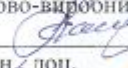
к.т.н., доц

 Мисов О.П.

Асистент

 Олейніков В.Г.

Від Сумського національного
аграрного університету

Проректор з наукової роботи та
фінансово-виробничої діяльності
д.с-г.н.  А.М. Салогуб
к. вет. н., доц.

 Борлунова О.Е.

г.н.с. ПФ НАНУ д.с-г.н.

к.б.н., доц.

 Чивачов В.Д.



Додаток 3. 2

Акт виробничої перевірки НДР

Акт
виробничої перевірки

1. Назва науково-дослідної установи
Інститут тваринництва Національної академії аграрних наук України
2. Назва закінченої ндр, поставленої на виробничу перевірку:
Спосіб застосування покриття «штучна кутикула»
3. Автори закінченої НДР чи ДКР
Байдевятова О.М., Тагіров М.Т., Артеменко О.Б., Богатир В.П., Бордунова О.Г., Чіванов В.Д.
4. Закінчена НДР, яку рекомендовано до виробничої перевірки
Вченою Радою Інституту птахівництва НААН протокол № 5 від "14" березня 2012 р.
5. Виробнича перевірка проводилася в інкубаторії СПДФО Розумний Сергій Вікторович, який діє на підставі Свідоцтва про державну реєстрацію № 00101060 від 20 березня 2002 року.
6. Відповідальні за проведення виробничої перевірки: провідний науковий співробітник лабораторії біології репродукції птиці М.Т. Тагіров
7. Умови проведення виробничої перевірки відповідають нормативним вимогам для інкубації яєць курей
8. Обсяг виробничої перевірки:
Перевірка проводилась на інкубаційних яйцях курей порід род-айленд червоний, бірківська барвіста у кількості 1540 шт.
9. Строки проведення виробничої перевірки:
З 16.05.2012 по 06.06.2012
10. Методика виробничої перевірки.
Інкубація яєць за стандартним температурно-вологісним режимом в одному інкубаторі контрольної групи (770 шт. яєць – стандартна передінкубаційна обробка яєць), та дослідної групи (770 шт. яєць) – передінкубаційна обробка здійснена робочим розчином який утворює на поверхні яєць «штучну кутикулу») яєць.
11. З яким контролем проводилося порівняння НДР.
В якості контролю використано групу інкубаційних яєць з стандартною передінкубаційною обробкою.

Продовж. дод. 3. 2

12. Результати, що характеризують ефективність НДР, яка перевіряється у порівнянні з контролем:

Результати інкубації яєць

Група	Закладено яєць	Конд. молодняк	Вивід молодняку	Виводимість яєць
	шт.	шт.	%	%
Контроль	770	576	74,8±1,56	86,9±1,22
Дослід	770	707	91,8±0,99	95,9±0,71

13. Що рекомендується до впровадження у виробництво.

Для підвищення виводимості курячих яєць рекомендується проводити їх передінкубаційну обробку робочим розчином, що складається з хітозану кислоторозчинного, розчиненого в надцтовій кислоті з додаванням діоксиду титану, пом'якшувача води, неорганічного барвника (червоний пігмент), мікроелементів (магній, кобальт, цинк, мідь), води, та утворює на поверхні яєць «штучну кутикулу».

14. Відповідальні виконавці виробничої перевірки

а) від вищестоячої організації**б) від наукової установи**

Зам. директора ІТ НААН в галузі птахівництва

Провідний науковий співробітник

Провідний науковий співробітник

Старший науковий співробітник

Молодший науковий співробітник

в) від виробництва (господарства)

СПДФО Розумний Сергій Вікторович

Печатка господарства,
в якому проводилася
виробнича перевірка

Акт складено 6 червня 2012 р.



[Handwritten signatures]

О.В. Терещенко

М.Т. Тагіров

О.Б. Артеменко

В.П. Богатир

О.М. Байдевятова



С.В. Розумний

Додаток К. 1

Звіт про результати досліджень патологічного матеріалу



ДЕРЖАВНИЙ КОМІТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УКРАЇНИ
ГОЛОВНЕ УПРАВЛІННЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ В СУМСЬКІЙ ОБЛАСТІ

СУМСЬКА РЕГІОНАЛЬНА ДЕРЖАВНА ЛАБОРАТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
вул. Якіра, 17 м. Суми, 40030, тел./факс: (0542) 61-13-82, код ЄДРПОУ 00720148, e-mail: vetlabsmy@ukr.net

СРДЛВМ атестована у державній метрологічній системі – органом з акредитації
лабораторій ЦДЛВМ. Свідоцтво про атестацію № 05-01131/2007

Звіт про результати дослідження патологічного матеріалу

№ 1090-1110 від 30 травня 2010 року

Кому: доценту каф. біохімії та біотехнології СНАУ Бордуновій О.Г.

Адреса: м. Суми, вул. Кірова 160/5, кафедра біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету

На № супровідної Б/н _____ від(дата) 12.05.10

Дата отримання матеріалу: 12.05.2010р., 16.05.2010р., 22.05.2010р., 30.05.2010р.

Перелік матеріалу, що надсилається: проби змивів з інкубаційних курячих яєць 1, 2, 3, 4 - проби з контрольних яєць (оброблених формальдегідом) через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації; проби 5, 6, 7, 8 – змиви з яєць, оброблених – 2% розчином надцетової кислоти (НОК) через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації; 9,10,11,12 – змиви з яєць, оброблених розчином хітозану сульфату через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації; 13, 14, 15, 16 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану водорозчинного через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації; 17, 18, 19, 20 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації; 21, 22, 23, 24 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і жовтим залізоокисним пігментом Fe₂O₃ ВАР «Сумхімпром» через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації; 25, 26, 27, 28 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (рутильна кристалічна форма); 29, 30, 31, 32 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (анатазна кристалічна форма) через 2 години після обробки, на 5 добу, 11 добу та 19 добу інкубації.

Що надіслано на дослідження (по імпорту, експорту, від хворих, загинувших, вимушено забитих тварин, з метою постановки діагнозу на захворювання тварин, визначення напруги імунітету, тощо), підкреслити необхідне: санітарно – показову мікрофлору (сальмонельоз, колибактеріоз, стафілокок, аспергільоз, тощо)

Належить: доценту Бордуновій О.Г.

Проведено дослідження: згідно ДСТУ 4769:2007 «Методи виявлення сальмонел», та «Методичних вказівок по бактеріологічній діагностиці колибактеріозу (ешеріхіозу тварин)», «М.В. Лабораторна діагностика стафілококових інфекцій», «М.В. Лабораторна діагностика аспергільозу».

Дата проведення дослідження: 12.05.2010 р. – 30.05.2010 р.

Результат дослідження: виявлена біоценова активність у технології для захисту інкубаційних яєць курей притаманна кислоторозчинному хітозану у поєднанні з надцетовою кислотою та діоксидом титану у анатазній кристалічній формі.

Примітки: _____

Директор СРДЛВМ _____ В.С. Ковальчук
Зав. бак. Відділом _____ М.В. Пархоменко

Цей звіт про результати дослідження не може бути відтворений, тиражований та розповсюджений, крім того чи

Додаток К. 2



**ДЕРЖАВНИЙ КОМПІТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УКРАЇНИ
ГОЛОВНЕ УПРАВЛІННЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ В СУМСЬКІЙ ОБЛАСТІ**

СУМСЬКА РЕГІОНАЛЬНА ДЕРЖАВНА ЛАБОРАТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
вул. Якіра, 17 м. Суми, 40030, тел./факс: (0542) 61-13-82, код ЄДРПОУ 00720148, e-mail: vetlabsumy@ukr.net

СРДЛВМ атестована у державній метрологічній системі органом з акредитації
лабораторій ЦДЛВМ. Свідоцтво про атестацію № 05-01131/2007

Звіт про результати дослідження патологічного матеріалу

№ 1098 від 24 травня 2010 року

Кому: доценту каф. біохімії та біотехнології СНАУ Бордуновій О.Г.

Адреса: м. Суми, вул. Кірова 160/5, кафедра біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету

На № супровідної _____ **б/п** _____ **від(дата)** 22.05.10

Дата отримання матеріалу: 22.05.2010р.

Перелік матеріалу, що надсилається: проби змивів з інкубаційних курячих яєць на 11 добу інкубації: 1, 2, 3, 4 - проби з контрольних яєць (оброблених формальдегідом); проби 5, 6, 7, 8 - змиви з яєць, оброблених - 2% розчином надцоткової кислоти (НОК); 9, 10, 11, 12 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану сукцинату; 13, 14, 15, 16 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану водорозчинного; 17, 18, 19, 20 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК; 21, 22, 23, 24 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і жовтим залізоокисним пігментом Fe₂O₃ ВАТ «Суміхіпро»; 25, 26, 27, 28 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (рутильна кристалічна форма); 29, 30, 31, 32 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (анатазна кристалічна форма).

Що надіслано на дослідження (по імпорту, експорту, від хворих, загинувших, вимушено забитих тварин, з метою постановки діагнозу на захворювання тварин, визначення напруги імунітету, тощо), підкреслити необхідне: санітарно - показову мікрофлору (сальмонельоз, колібактеріоз, стафілокок, аспергільоз, тощо)

Належить: доценту Бордуновій О.Г.

Проведено дослідження: згідно ДСТУ 4769:2007 «Методи виявлення сальмонел», та «Методичних вказівок по бактеріологічній діагностиці колібактеріозу (ешеріхіозу тварин)», «М.В. Лабораторна діагностика стафілококових інфекцій», «М.В. Лабораторна діагностика аспергільозу».

Дата проведення дослідження: 22.05.2010 р.

Результат дослідження:

виявлена біоцидна активність у технології для захисту інкубаційних яєць курей притаманна кислоторозчинному хітозану у поєднанні з надцотковою кислотою та діоксидом титану у анатазній кристалічній формі.

Примітки: _____

Директор СРДЛВМ _____ **В.С.Ковальчук**
Зав. бак. Відділом _____ **М.В. Пархоменко**

Цей звіт про результати дослідження не може бути відтворений, тиражований та розповсюджений, повністю чи частково, як офіційний документ без дозволу керівництва СРДЛВ

Додаток К. 3



**ДЕРЖАВНИЙ КОМПІТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УКРАЇНИ
ГОЛОВНЕ УПРАВЛІННЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ В СУМСЬКІЙ ОБЛАСТІ**

СУМСЬКА РЕГІОНАЛЬНА ДЕРЖАВНА ЛАБОРАТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
вул. Якіра, 17 м. Суми, 40030, тел./факс: (0542) 61-13-82, код ЄДРПОУ 00720148, e-mail: vetlabsmy@ukr.net

СРДЛВМ атестована у державній метрологічній системі органом з акредитації
лабораторій ЦДЛВМ. Свідоцтво про атестацію № 05-01131/2007

Звіт про результати дослідження патологічного матеріалу

№ 1110 від 2 червня 2010 року

Кому: доценту каф. біохімії та біотехнології СНАУ Бордуновій О.Г.

Адреса: м. Суми, вул. Кірова 160/5, кафедра біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету

На № супровідної _____ **б/н** _____ **від(дата)** 30.05.10

Дата отримання матеріалу: 30.05.2010р.

Перелік матеріалу, що надсилається: проби змивів з інкубаційних курячих яєць на 19 добу інкубації: 1, 2, 3, 4 - проби з контрольних яєць (оброблених формальдегідом); проби 5, 6, 7, 8 – змиви з яєць, оброблених – 2% розчином надощтової кислоти (НОК); 9, 10, 11, 12 – змиви з яєць, оброблених розчином хітозану сукцинату; 13, 14, 15, 16 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану водорозчинного; 17, 18, 19, 20 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК; 21, 22, 23, 24 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і жовтим залізоокисним пігментом Fe₂O₃ ВАТ «Сумхімпром»; 25, 26, 27, 28 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (рутильна кристалічна форма); 29, 30, 31, 32 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (анатазна кристалічна форма).

Що надіслано на дослідження (по імпорту, експорту, від хворих, загинувших, вимушено забитих тварин, з метою постановки діагнозу на захворювання тварин, визначення напруги імунітету, тощо), підкреслити необхідне: санітарно – показову мікрофлору (сальмонельоз, колібактеріоз, стафілокок, аспергільоз, тощо)

Належить: доценту Бордуновій О.Г.

Проведено дослідження: згідно ДСТУ 4769:2007 «Методи виявлення сальмонел», та «Методичних вказівок по бактеріологічній діагностиці колібактеріозу (ешеріхіозу тварин)», «М.В. Лабораторна діагностика стафілококових інфекцій», «М.В. Лабораторна діагностика аспергільозу».

Дата проведення дослідження: 30.05.2010 р.

Результат дослідження: виявлена біоцидна активність у технології для захисту інкубаційних яєць курей притаманна кислоторозчинному хітозану у поєднанні з надощтовою кислотою та діоксидом титану у анатазній кристалічній формі.

Примітки: _____

Директор СРДЛВМ _____ **В.С.Ковальчук**
Зав. бак. Відділом _____ **М.В. Пархоменко**

Цей звіт про результати дослідження не може бути відтворений, тиражований та розповсюджений, повністю чи частково, як офіційний документ без дозволу керівництва СРДЛВ

Додаток К. 4



**ДЕРЖАВНИЙ КОМІТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УКРАЇНИ
ГОЛОВНЕ УПРАВЛІННЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ В СУМСЬКІЙ ОБЛАСТІ**

СУМСЬКА РЕГІОНАЛЬНА ДЕРЖАВНА ЛАБОРАТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
вул. Якіра, 17 м. Суми, 40030, тел./факс: (0542) 61-13-82, код ЄДРПОУ 00720148, e-mail: vetlabsumy@ukr.net

СРДЛВМ атестована у державній метрологічній системі органом з акредитації
лабораторій ЦДЛВМ. Свідоцтво про атестацію № 05-01131/2007

Звіт про результати дослідження патологічного матеріалу

№ 1090 від 14 травня 2010 року

Кому: доценту каф. біохімії та біотехнології СНАУ Бордуновій О.Г.

Адреса: м. Суми, вул. Кірова 160/5, кафедра біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету

На № супровідної _____ **Б/п** _____ **від(дата)** 12.05.2010

Дата отримання матеріалу: 12.05.2010р.

Перелік матеріалу, що надсилається: 32 проби змивів з інкубаційних курячих яєць (через 2 години після обробки препаратами): 1, 2, 3, 4 - проби з контрольних яєць (оброблених формальдегідом); проби 5, 6, 7, 8 - змиви з яєць, оброблених - 2% розчином надощтової кислоти (НОК); 9, 10, 11, 12 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану сукцинату; 13, 14, 15, 16 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану водорозчинного; 17, 18, 19, 20 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК; 21, 22, 23, 24 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і жовтим залізоокисним пігментом Fe₂O₃ ВАТ «Суміхімпром»; 25, 26, 27, 28 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (рутильна кристалічна форма); 29, 30, 31, 32 - змиви з яєць, оброблених розчином хітозану кислоторозчинного з НОК і TiO₂ (анатазна кристалічна форма).

Що надіслано на дослідження (по імпорту, експорту, від хворих, загинувших, вимушено забитих тварин, з метою постановки діагнозу на захворювання тварин, визначення напруги імунітету, тощо), підкреслити необхідне: санітарно - показову мікрофлору (сальмонельоз, колибактеріоз, стафілокок, аспергільоз, тощо)

Належить: доценту Бордуновій О.Г.

Проведено дослідження: згідно ДСТУ 4769:2007 «Методи виявлення сальмонел», та «Методичних вказівок по бактеріологічній діагностиці колибактеріозу (ешеріхіозу тварин)», «М.В. Лабораторна діагностика стафілококових інфекцій», «М.В. Лабораторна діагностика аспергільозу».

Дата проведення дослідження: 12.05.2010 р.

Результат дослідження:

виявлена біоцидна активність у технології для захисту інкубаційних яєць курей притаманна кислоторозчинному хітозану у поєднанні з надощтовою кислотою та діоксидом титану у анатазній кристалічній формі.

Примітки: _____

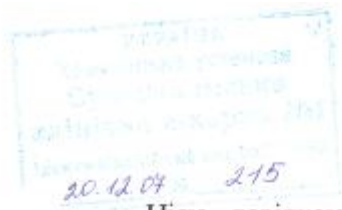
Директор СРДЛВМ  **В.С. Ковальчук**

Зав. бак. Відділом  **М.В. Пархоменко**

Цей звіт про результати дослідження не може бути відтворений, тиражований та розповсюджений, повністю чи частково, як офіційний документ без дозволу керівництва СРДЛВ

Додаток Л

Довідка про проведення біохімічних досліджень крові курчат та тканин ембріонів



Довідка

Цією довідкою засвідчую, що у межах докторської роботи доцентом кафедри біохімії та біотехнології Сумського національного аграрного університету Бордуновою О.Г. протягом 2001 – 2007 р.р. були проведені дослідження:

- 1) імунного статусу молодняка курей;
- 2) активності ферментів сироватки крові і тканин курчат та ембріонів протягом ембріонального та постембріонального розвитку, відповідно;
- 3) динаміки ліпідного обміну;
- 4) кількісних та якісних показників білків і пептидів протягом ембріонального та постембріонального розвитку.

Дослідження проводились класичними методами дослідження ферментів та за допомогою біохімічного аналізатору Lab.Line 016.

Завідувач клініко-діагностичної
лабораторії КУСМКЛ № 1



Т.В.Окунь

Додаток М

Електронні мікрофотографії шкаралупи яєць курей

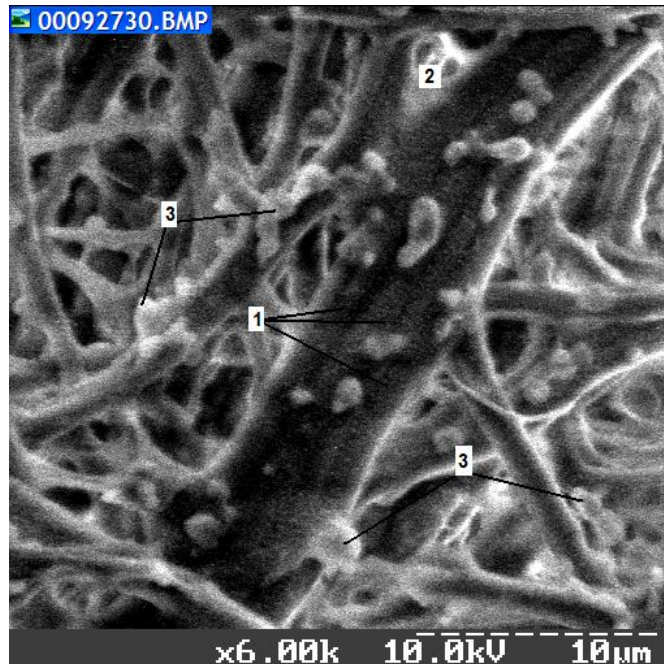


Рис. М. 1. Електронна мікрофотографія зовнішньої підшкаралупної оболонки курячого яйця (з боку шкаралупи). 1 – протофібрили, що формують внутрішню серцевину (ядро) фібрили; 2 – мантия; 3 – білкові утворення на колагенових волокнах (являються початком росту мамілярів). x 6 000

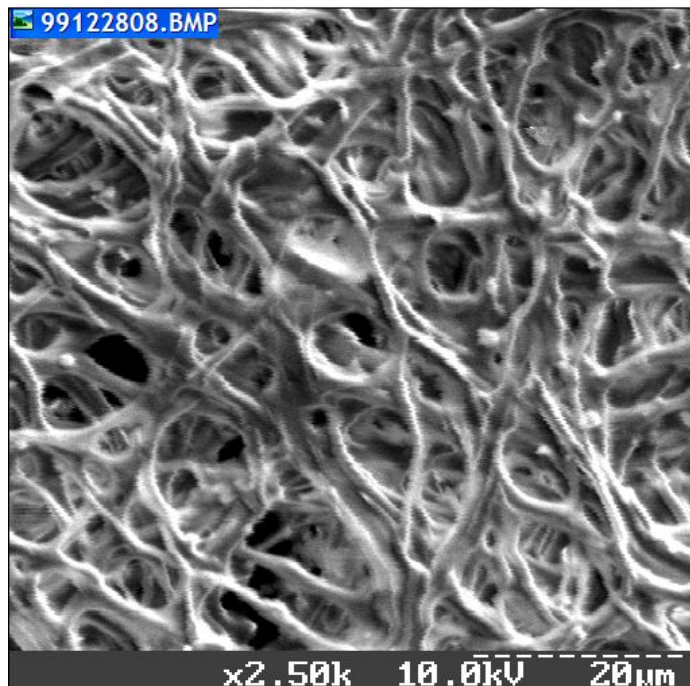


Рис. М. 2. Електронна мікрофотографія внутрішньої підшкаралупної оболонки курячого яйця. x 2 500

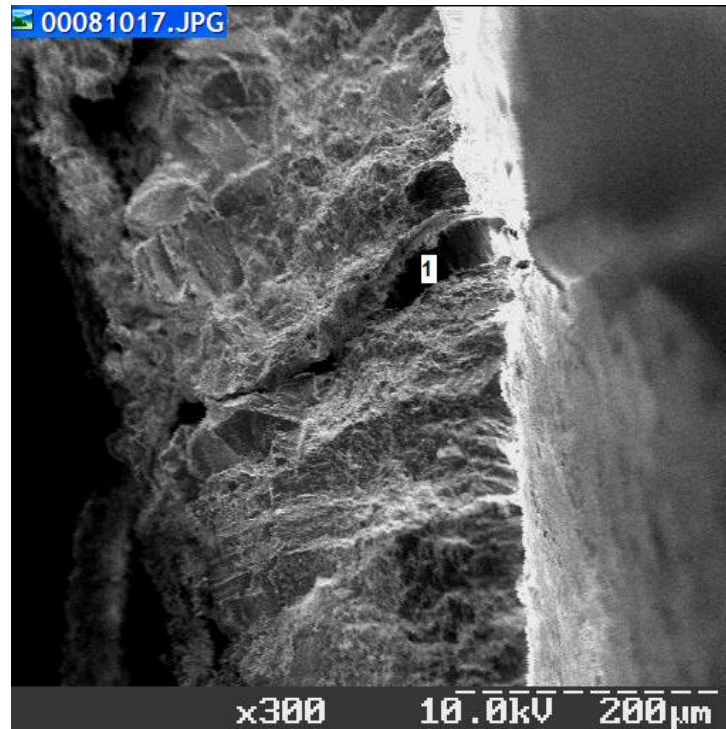


Рис. М. 3. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ХМ. Шкаралупа має мікрошпарини та мікронасічки (1).
x 300

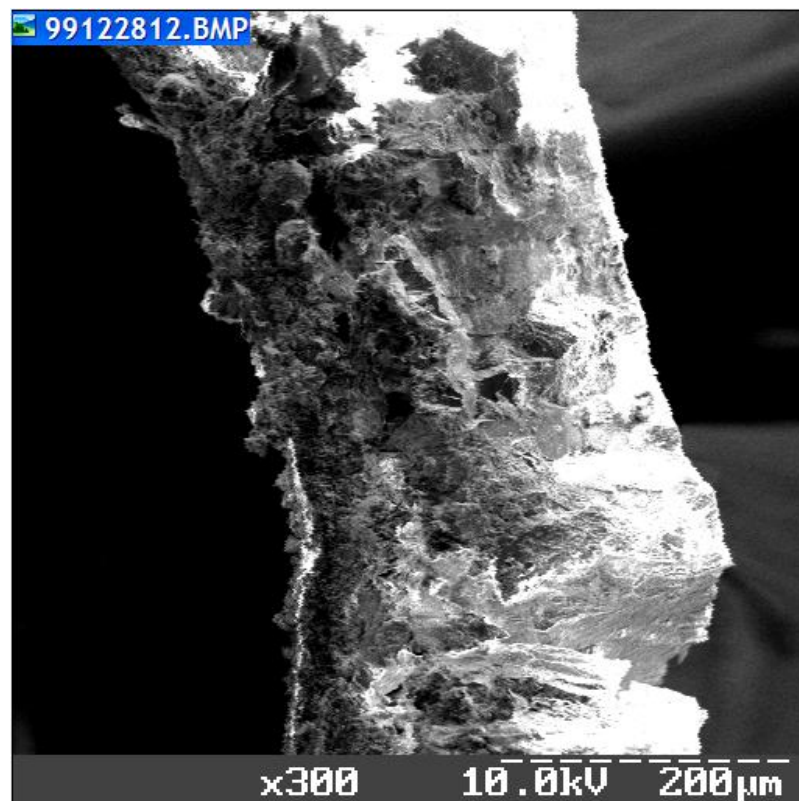


Рис. М. 4. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, отриманого від курки, хворої на ІЛТ. x 300

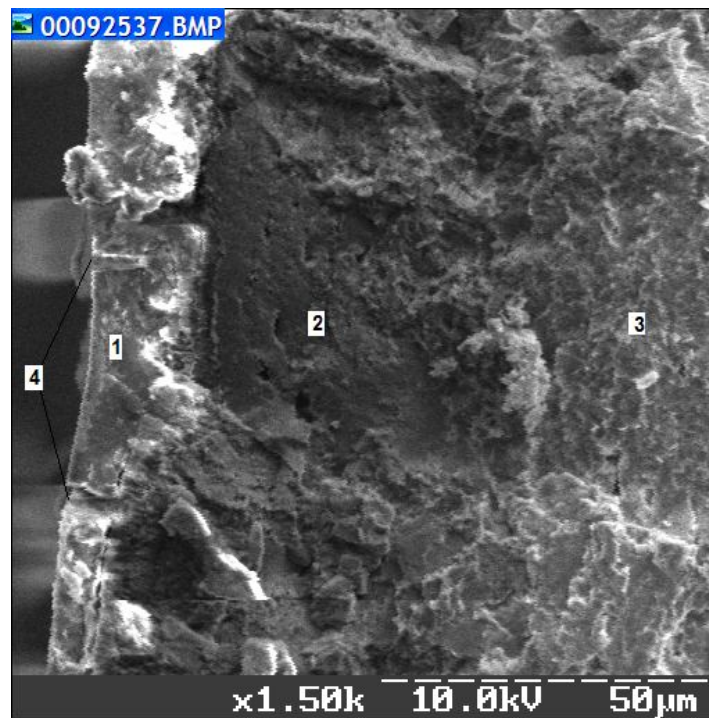


Рис. М. 5. Електронні мікрофотографії шкаралупи курячого яйця після інкубації, обробленого препаратом VIROCID. 1 – шар препарату на зовнішній поверхні шкаралупи; 2 – вертикальний кристалічний шар; 3 – палісадний шар; 4 – пори. x 1 500

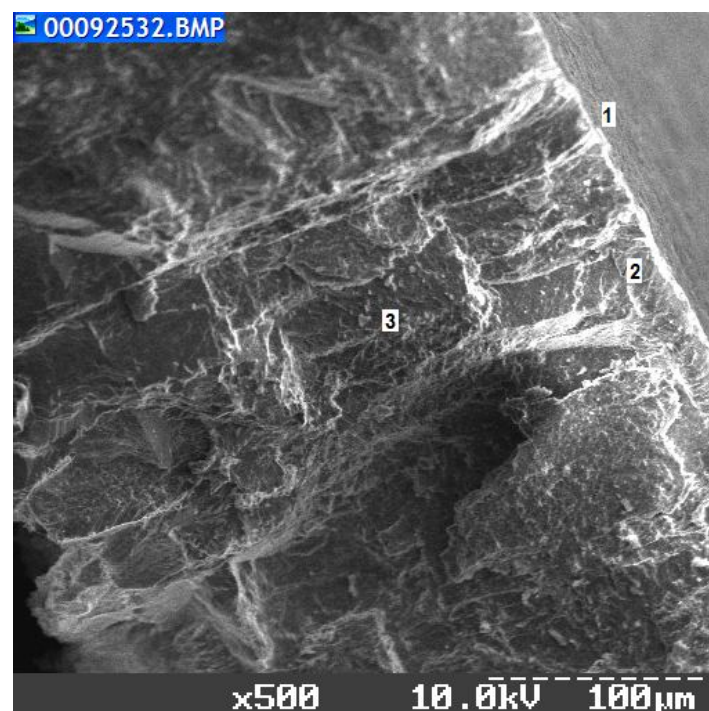


Рис. М. 6. Електронна мікрофотографія шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфікуючим препаратом Virkon – S (Antex, Великобританія; KRKA, Словенія). 1 – зовнішня поверхня шкаралупи (кутикула), оброблена препаратом; 2 – кристалічний вертикальний шар; 3 – палісадний шар. x 500

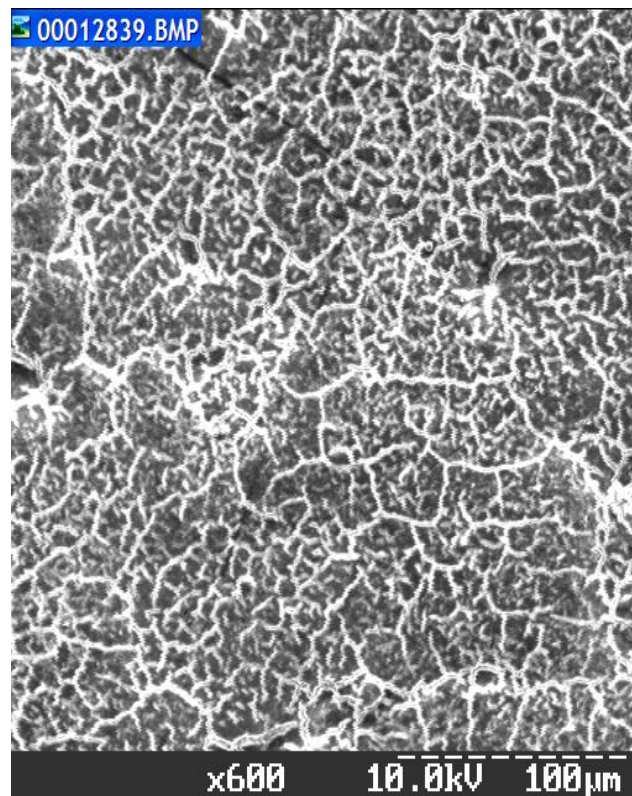


Рис. М. 7. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, вкритого препаратом на основі ЧАС АТМ-Арома, доповненого іонами срібла (x 600)

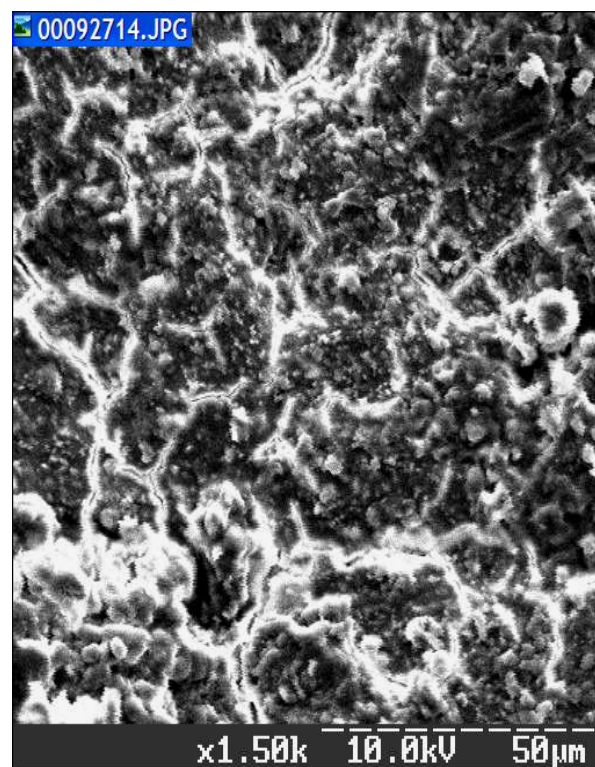


Рис. М. 8. Електронна мікрофотографія зовнішньої поверхні шкаралупи курячого яйця, обробленого дезінфектантом CID-20 (x 1 500)

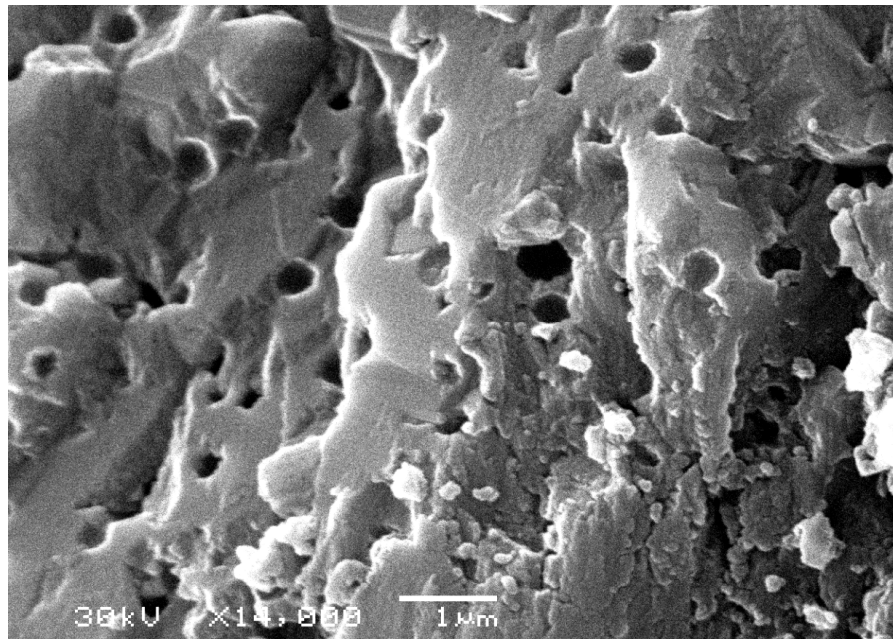


Рис. М. 9. Електронна мікрофотографія частини губчастого шару шкаралупи курячого яйця (Ломан браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 14 000)

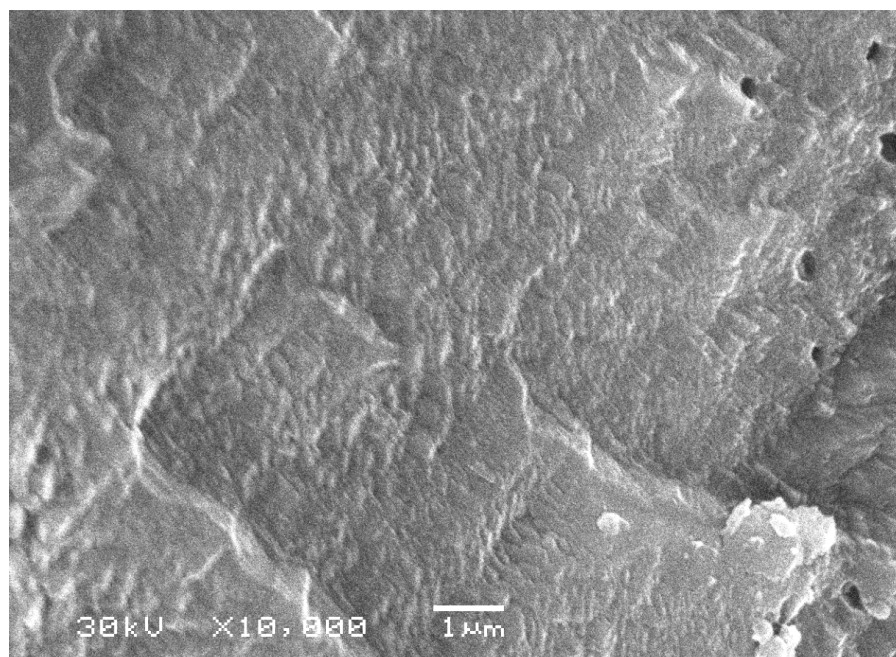


Рис. М. 10. Електронна мікрофотографія частини вертикального кристалічного шару шкаралупи курячого яйця (Ломан браун, 10 тиждень яйцекладки): (x 10 000)

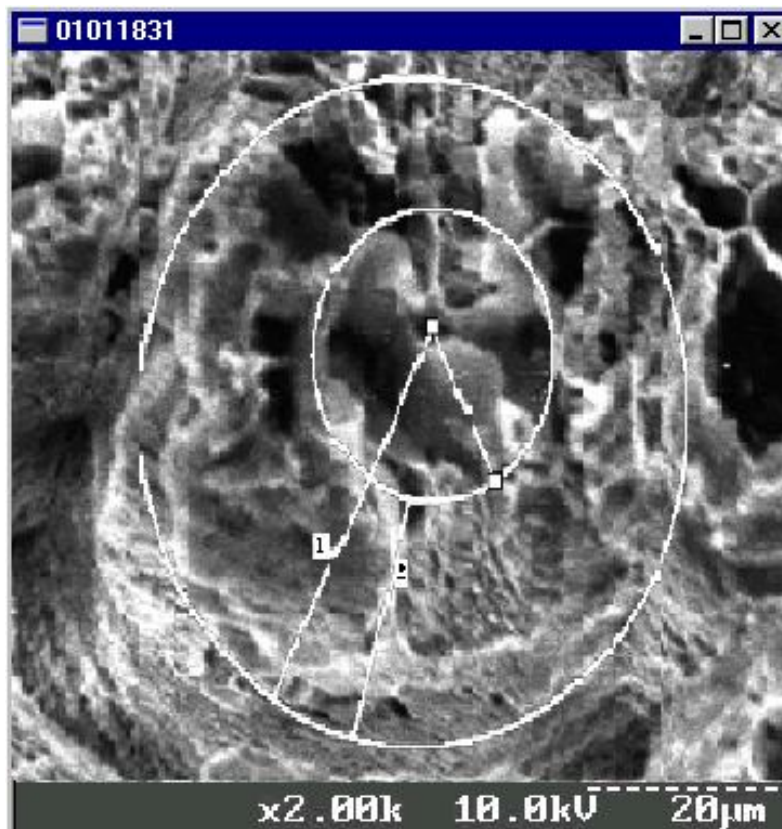


Рис. М. 11. Мікрофотографія маміляру шкаралупи курячого яйця, з якого вилупилося курча. На мікрофотографії представлена центральна частина і гребінець маміляру. X2000

Примітка. Мікрооб'єкти обраховані за допомогою комп'ютерної програми VISILOG 6.11. Данні представлені на рис. М. 12, М 13, М 14

	Image	Width	Height	Area	Unit
1	01011831	295	269	62325	pixel x pixel
2	01011831	295	272	63020	pixel x pixel
3	01011831	295	272	63020	pixel x pixel
Min		295.00	269.00	62325.00	
Max		295.00	272.00	63020.00	
Mean		295.00	271.00	62788.33	
StdDev		0.00	1.41	327.63	
Sum		885.00	813.00	188365.00	

Рис. М. 12. Середній діаметр гребінця маміляру шкаралупи курячого яйця, з якого вилупилося курча. Мікрофотографія 01011831

	Image	Length	Unit	XPt1	YPt1	XPt2	YPt2
1	01011831	158.3	pixel	182	417	263	281
2	01011831	164.8	pixel	143	394	263	281
3	01011831	165.3	pixel	127	375	263	281
4	01011831	164.7	pixel	137	387	263	281
5	01011831	164.1	pixel	144	394	263	281
6	01011831	163.5	pixel	152	401	263	281
Min		158.30		127.00	375.00	263.00	281.00
Max		165.30		182.00	417.00	263.00	281.00
Mean		163.45		147.50	394.67	263.00	281.00
StdDev		2.37		17.19	12.81	0.00	0.00
Sum		980.70		885.00	2368.00	1578.00	1686.00

Рис. М. 13. Середня відстань між центром і краєм гребінця маміляру шкаралупи курячого яйця, з якого вилупилося курча. Мікрофотографія 01011831

	Image	Length	Unit	XPt1	YPt1	XPt2	YPt2
1	01011831	125.2	pixel	149	402	235	311
2	01011831	123.8	pixel	144	395	235	311
3	01011831	125.9	pixel	144	398	235	311
4	01011831	123	pixel	147	397	235	311
5	01011831	123.4	pixel	160	409	235	311
6	01011831	124.30	pixel	156.00	407.00	235.00	311.00
Min		123.00		144.00	395.00	235.00	311.00
Max		125.90		160.00	409.00	235.00	311.00
Mean		124.27		150.00	401.33	235.00	311.00
StdDev		1.01		6.03	5.19	0.00	0.00
Sum		745.60		900.00	2408.00	1410.00	1866.00

Рис. М. 14. Середня відстань між краєм пелюстка до зовнішнього краю гребінця маміли шкаралупи курячого яйця, з якого вилупилося курча. Мікрофотографія 01011831