

ПРИМЕНЕНИЕ АКУСТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В ПРОЦЕССЕ ВОСПРОИЗВОДСТВА ЖИВОТНЫХ

Кунденко Н. П., Кунденко А. Н.

Харьковский национальный технический университет сельского хозяйства имени Петра Василенка

Предложено использовать ультразвуковые колебания как средства увеличения криорезистивности биологических объектов и поиск способов дополнительной криозащиты их структур.

Постановка проблемы. Решение продовольственной проблемы в Украине в значительной степени связано с методом искусственного осеменения животных. Широкое использование метода искусственного осеменения в животноводстве во много определяется эффективностью криоконсервации спермиев в жидком азоте. Несмотря на то, что вопросу криоконсервации спермиев животных уделено достаточно большое внимание, всё же основной проблемой остаётся снижение биологически полноценных спермиев в процессе криообработки.

Анализ последних исследований и публикаций. Процессы замораживания и последующего отогрева могут оказывать сильное повреждающее действие на биологические объекты (спермии, эмбрионы и т.п.). Основными факторами, влияющими на степень повреждения структуры биологических объектов, являются: величина кристаллов льда, продолжительность пребывания клеток в гипертонических средах, внутриклеточная кристаллизация, обезвоживание клеток, рекристаллизация, агрегация и денатурация клеточных белков. В результате влияния всех этих факторов у клеток возникают первичные криоповреждения, такие как изменение формы, объёма, нарушение целостности мембраны, изменение конформации макромолекул и др. Такие первичные криоповреждения могут стать причиной вторичных повреждений, развивающихся в клетках в различное время после замораживания [1].

Цель статьи - исследовать возможные механизмы воздействия ультразвуковых волн с целью оптимизации условий низкотемпературного консервирования таких биологических объектов как сперма сельскохозяйственных животных.

Основные материалы исследования. В результате исследований было установлено, что добавление в сперму быка желтка куриного яйца способствует повышению устойчивости спермиев к температурному шоку.

Действующим началом яичного желтка являются фосфолипиды и липопроотеиды. Исходя из общего плана строения молекул липидов, можно объяснить механизм адсорбции этих веществ на поверхность мембраны. Водно-солевые растворы липидов имеют ламеллярную или мицеллярную структуру, которая характеризуется минимальной площадью соприкосновения гидрофобных частей молекул с водой и, таким образом, наименьшей свободной энергией системы.

Толщина защитного слоя на плазматической мембране будет возрастать дискретно на величину,

равную толщине одного бислоя, т.е. и с окружающим клетку раствором, и с поверхностью мембраны клетки молекулы липидов соприкасаются полярными "головками". Так как длина таких молекул колеблется в пределах 25...35 А, толщина защитного слоя будет увеличиваться при образовании еще одного адсорбирующего слоя на 40...60 А.

Следует отметить, что упорядоченность адсорбции с увеличением количества слоев будет ухудшаться. Вследствие экранировки заряда клетки предыдущими слоями, упорядочивающее его значение будет снижаться, возрастет разрыхленность последующих слоев и молекулы липидов будут занимать большую площадь, чем в более глубоких слоях; степень свободы их с клеткой возрастет, и они будут легче переходить в раствор.

Наряду с совершенствованием таких традиционных подходов, как определение для каждого биологического объекта криозащитных сред и режимов криоконсервирования, изучаются возможности использования физических факторов, оказывающих обратимо модифицирующее воздействие на криолабильные структуры биологических систем.

Одним из таких физических факторов является ультразвук низкой интенсивности. Если реакции биологических объектов на ультразвуковые колебания изучены хорошо на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, то возможности влияния ультразвуковых волн на биологические объекты, находящиеся в криоконсервирующей среде, изучены недостаточно. Эффект увеличения криорезистивности получен на весьма ограниченном наборе биологических объектов: половых клетках и безъядерных клетках крови. Необходимо повысить эффективность способов замораживания и отогрева биологических объектов (спермии, эмбрионы и т.п.) и выявить подходы к использованию ультразвуковых волн при криоконсервировании биологических объектов. Существенным вопросом при этом является возможность физико-математического описания взаимодействия ультразвуковых волн с криоконсервирующей средой, содержащей биологические объекты. Поскольку, при наличии ультразвуковых волн в криоконсервирующей среде возникают диффузионные процессы, где перенос и собственно молекулярные движения частиц взаимно перекрывают друг друга, и разделение их экспериментальным путём представляет собой чрезвычайно трудную задачу.

Анализ многочисленных экспериментальных результатов показывает, что процесс массопередачи определяется диффузией, возникающей вследствие

наличия разности концентрации частиц между слоем среды, непосредственно примыкающей к поверхности биологического объекта и толщиной среды. Как следует из ряда экспериментов [2], поток частиц среды при наличии ультразвуковых волн возрастает. Согласно закону Фика это возможно в том случае, если ультразвуковые волны могут увеличивать коэффициент молекулярной диффузии (коэффициент пропорциональности в законе Фика) или градиент концентрации на поверхности биологического объекта.

Анализ результатов приведенных в [2] позволяет сделать вывод о том, что коэффициент диффузии практически не изменяется в звуковом поле. Следовательно, должен увеличиваться градиент концентрации частиц среды на поверхности биологического объекта. Физической причиной такого увеличения являются микропотоки в малой окрестности биологических объектов, возникающие при воздействии ультразвуковых волн на криоконсервирующую среду. Это приводит к тому, что у поверхности биологического объекта образуется пограничный слой частиц среды с плотностью, отличающейся от плотности криоконсервирующей среды до воздействия ультразвуковых волн. Следует ожидать, что такой слой в окрестности поверхности биологического объекта может повысить его криорезистивность [3].

Проведенный анализ показывает, что повышение выживаемости спермиев животных при криоконсервации с помощью стабилизирующих добавок очевидно можно повысить при использовании факторов акустической или электромагнитной природы. Применение данных факторов требует разработки метода и технических средств контроля по их внедрению в технологический процесс криоконсервации спермиев животных.

Из многочисленных методов измерения параметров биологических объектов внимания заслуживают диэлькометрические методы.

Диэлькометрия биологических объектов связана с исследованиями: диэлектрической проницаемости разбавленных гетерогенных систем с учетом влияния формы частиц, неоднородностей включений; концентрированных систем с учетом влияния структуры, взаимной поляризации включений (слоистая модель, модель сферических включений); времен релаксации гетерогенных систем, учитывающих критические частоты, релаксацию свободных и связанных зарядов проводящих релаксирующих частиц. Изучаются также системы релаксирующих проводящих частиц в изолирующей среде, поверхности раздела, пленочные эффекты, капиллярно-пористые системы, рассматривается двойной электрический слой.

В ряде работ отмечены большие возможности диэлектromетрии для анализа молекулярных механизмов взаимодействия биополимеров [4]. Диэлектromетрия позволила зафиксировать изменение диэлектрических характеристик при N-F-переходе в растворе сывороточного альбумина человека [5]. Создание приборов, способных определять, контролировать и по данным наблюдений автоматически принимать решения относительно состояния физического объекта или окружающей среды, является основной тенденцией современного приборостроения. Это связано

и с разработкой новых методов определения диэлектрической проницаемости (ДП) микрообъектов животноводства.

Выводы. Метод диэлектromетрии дает возможность подойти к исследованию проблемы по повышению жизнеспособности спермиев животных при их криообработке с помощью акустического поля. Для контроля за обработкой на микрообъектов КРС перед их криоконсервацией, которые обеспечивали бы устойчивость микрообъектов к низким температурам и повышали их оплодотворяемость после размораживания акустическими колебаниями, необходимо использовать метод измерения сдвига резонансной частоты оптического резонатора.

Список использованных источников

1. Кунденко Н. П. Особенности распространения ультразвука в биологической среде / Н. П. Кунденко // Вісник ТДАТУ. – 2011. – Вип. 11. – Том 4. – С. 181 – 186.
2. Кунденко Н. П. Теоретический анализ микропотоков при наличии акустических колебаний / Н. П. Кунденко // Вісник національного технічного університету "ХПІ". – 2011. – Вип. 58. – С. 158–161.
3. Кунденко Н. П. Застосування акустичних полів у сільському господарстві / Н. П. Кунденко // Вісник Харківського національного технічного університету сільського господарства імені Петра Василенка. – 2010. – Вип. 102. – С. 123 – 124.
4. Grant E. N. The structure of water neighboring proteins, peptides and aminoacids as deduced from dielectric measurements / E. N Grant. – Ann. Nev. York. Acad. Sci., 1965. – P. 418-427.
5. Harvey S. R. The state of surface bound water on lysozyme / S. R. Harvey Doct. diss., Dartmouth college. – Hanover New Hampshire, 1971. – 124 p.

Анотація

ЗАСТОСУВАННЯ АКУСТИЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ПРОЦЕСІ ВІДТВОРЕННЯ ТВАРИН

Кунденко М. П., Кунденко О. М.

Запропоновано використовувати ультразвукові коливання як засіб збільшення криорезистивності біологічних об'єктів та пошук способів додаткового криозахисту їх структур.

Abstract

APPLICATION OF ACOUSTIC TECHNOLOGIES IN THE PROCESS OF REPRODUCTION OF ANIMALS

N. Kundenko, A. Kundenko

It is proposed to use ultrasonic vibrations as a means of increasing cross-sectional biological objects and finding ways for additional cryoprotection of their structures.