

В.В. СИВОПЛЯС*

ПУТИ СНИЖЕНИЯ ЭКОНОМИЧЕСКИХ ЗАТРАТ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ СПЕРМЫ БЫКОВ- ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ В ЗАМОРОЖЕННОМ СОСТОЯНИИ

Со времени открытия способности биологических материалов сохранять свои свойства после замораживания-оттаивания (И.В. Смирнов, 1947—1949) в научных кругах не прекращаются споры по поводу того, какая температура хранения биоматериалов является оптимальной. Под термином "оптимальная" следует понимать такую температуру, которая позволяет сохранять биоматериалы без снижения их качества в течение длительного времени. В настоящее время технология глубокого замораживания и длительного хранения спермы производителей базируется на использовании в качестве источника глубокого холода жидкого азота. Разработано и внедрено в широкое производство множество различных методов замораживания и хранения спермопродукции в жидком азоте.

Одной из наиболее перспективных и отвечающих всем биологическим, ветеринарным и технологическим требованиям является харьковская технология асептического взятия, разбавления и длительного хранения спермы быков-производителей (Ф.И. Осташко, М.П. Павленко, 1980—1986). Особой отличительной чертой этой технологии есть возможность исключения микробного загрязнения спермы во время получения, разбавления, глубокого замораживания и длительного хранения ее в условиях племпредприятий и сельскохозяйственных предприятий (Ф.И. Осташко, М.П. Павленко, 1980—1986).

В последнее время уделяется большое внимание изыска-

**Научный руководитель — доктор биологических наук Ф.И. Осташко.*

нию путей снижения экономических затрат, связанных в первую очередь с тем обстоятельством, что в качестве источника холода при использовании этой технологии применяется жидкий азот. Как известно, экономические затраты при использовании жидкого азота складываются из затрат на производство жидкого азота, транспортных расходов при его транспортировке на племпредприятия и в хозяйства и расходов на производство сосудов Дьюара. Значительное снижение затрат возможно при условии получения сверхнизких криогенных температур, достаточных для сохранения биоматериалов непосредственно в хозяйствах. Этого можно добиться, разработав новую безазотную технологию длительного хранения биоматериалов в замороженном состоянии, используя холодильные агрегаты, работающие от сети переменного тока.

В нашей стране первые попытки создать холодильную машину, в рабочей камере которой можно получить температуру, достаточную для замораживания и хранения биоматериалов, были предприняты еще в начале 60-х годов. В то время был сконструирован низкотемпературный генератор холода с программным управлением (НГП-1), имеющий камеру для замораживания емкостью 2,5 л и для хранения биопродуктов емкостью 50 л (Ф.И. Осташко, 1968).

Генератор длительное время успешно эксплуатировался в лабораторных условиях. В нем использовался принцип каскадного сочленения двух герметичных фреоновых машин, работающих на фреоне 22 и фреоне 13. Использование каскадного принципа не давало возможности сделать машину небольшой и простой в обслуживании и эксплуатации, к тому же генератор потреблял большое количество электроэнергии.

В 1996 г. ОАО "Холод" и МНПА "Эмбрион" разработали исходные данные к новому классу криобиологических агрегатов. Основные требования к приборам этого класса такие: прибор должен быть сконструирован на базе стандартного сосуда Дьюара; рабочая камера должна иметь замок и устройство для пломбирования; агрегат обеспечивается показателем температуры; внешний вид агрегата должен отвечать требова-

ниям современного дизайна; холодильник должен иметь аккумулятор холода на случай отключения электроэнергии, при этом температура -160 — -130 °С в агрегате должна поддерживаться не меньше трех-четырех суток, температура -79 °С — не меньше пяти суток; электросеть — одна фаза, 220 В, 50 Гц; режим работы агрегата автоматический; устройство должно быть экологически безвредным.

С учетом этих требований ОАО "Холод" (Киев, Н.Ф. Ивченко) в 1996—1998 гг. были сконструированы низкотемпературные холодильники: КНХ-150—20 с рабочей камерой емкостью 20 л, который предназначен для замораживания и длительного хранения генетических материалов, и КНХ-150—5 для пунктов искусственного осеменения емкостью 5 л (табл. 1, 2).

Оборудование предназначено для эксплуатации в закрытых отапливаемых помещениях при температуре окружающего воздуха от 0° до 35 °С.

Агрегаты снабжены удобной системой управления и контроля, позволяющей задавать в рабочей камере холодильников необходимую температуру до -150 °С. Разработчикам удалось за счет использования одноступенчатой компрессионной машины и многокомпонентной рабочей смеси создать холодильник небольших размеров, отвечающий требованиям современного дизайна и достаточно экономичный и простой в эксплуатации. Данный агрегат, работая в режиме хранения биоматериала, потребляет $0,5$ — $2,5$ кВт электроэнергии в сутки в зависимости от задаваемой температуры (-100 — -130 °С).

Эксплуатационные расходы при использовании холодильного агрегата составляют $0,07$ — $0,30$ грн. в сутки (50 — 180 грн. в год), тогда как использование жидкого азота обходится в два—пять раз дороже, и этот показатель будет со временем увеличиваться, так как с открытием новых источников получения электроэнергии стоимость ее будет снижаться. В то же время стоимость автотранспорта, рабочей силы, дорог и горюче-смазочных материалов, необходимых для доставки жидкого азота на пункты искусственного осеменения, будет неуклонно расти.

1. Технические данные КНХ-150—20

| Параметры | Величина параметра |
|---|--------------------|
| Внутренний объем холодильника, дм ³ | 18 |
| Диапазон регулирования температуры при температуре окружающего воздуха не выше 25°C, °C | От -150 до -130 |
| Допустимая погрешность поддержания температуры, °C | ±2 |
| Питание холодильника от однофазной сети переменного тока: | |
| напряжение, В | (220±22) |
| номинальная частота, Гц | (50±1) |
| Габаритные размеры, мм (ширина × глубина × высота) | 109 × 801 × 060 |
| Масса, кг, не более | 150 |
| Потребляемая мощность, кВт, не более | 0,55 |

2. Технические данные КНХ-150—5

| Параметры | Величина параметра |
|---|--------------------|
| Внутренний объем холодильника, дм ³ | 5 |
| Диапазон регулирования температуры при температуре окружающего воздуха не выше 25°C, °C | От -150 до -130 |
| Допустимая погрешность поддержания температуры, °C | ±2 |
| Питание холодильника от однофазной сети переменного тока: | |
| напряжение, В | (220±22) |
| номинальная частота, Гц | (50±1) |
| Габаритные размеры, мм (ширина × глубина × высота) | 630 × 300 × 650 |
| Масса, кг, не более | 50 |
| Потребляемая мощность, кВт, не более | 0,4 |

Корпус и рабочая камера агрегата выполнены из материалов, позволяющих поддерживать агрегат в чистоте и проводить его дезинфекцию слабыми растворами обычных дезинфицирующих средств.

Холодильники потребляют тем меньше энергии, чем менее низкая температура задана в их рабочих камерах, поэтому можно значительно снизить затраты, если повысить температуру хранения до -80 — -90 °С.

Многие авторы [1, 3] сообщают, что повышение температуры замороженной в жидком азоте спермы уже до -120 °С вызывает рекристаллизацию твердой фазы льда, что может повреждать спермии. Изучая этот вопрос, мы не установили изменения активности, выживаемости, коэффициента абсолютной выживаемости и оплодотворяющей способности спермы быков в результате повышения ее температуры в процессе хранения до -130 — -180 °С (табл. 3).

Объяснить этот факт мы можем следующим образом: в жидкой фазе подготовленная для замораживания сперма представляет собой суспензию спермиев, взвешенных в желточно-лактозо-глицериновой водной среде, в которой объем спермиев составляет не более 1%. Режим замораживания подобран так, что в процессе охлаждения суспензии до -196 °С вся способная кристаллизоваться вода успевает выйти из протоплаз-

3. Выживаемость спермиев после размораживания, сохраняемых при разных минусовых температурах

| Группы быков, n | Режим хранения спермы | Количество эякулятов | Активность и выживаемость спермиев при 38°С по часам | | | | | | | Sa | |
|---------------------|-----------------------|----------------------|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | 7 |
| Эксперимент, n=9 | -130 — -180 °С | 27 | 4 | 3,4 | 2,9 | 2,4 | 2,1 | 1,5 | 0,8 | 0,3 | 14 |
| Контроль, n=9 | -196 °С | 27 | 4 | 3,3 | 2,9 | 2,3 | 2,0 | 1,5 | 0,8 | 0,2 | 14 |

мы спермиев и кристаллизуется в межклеточном пространстве. Структура межклеточного льда при этом мелкокристаллическая и имеет скрытую теплоту, которая при повышении температуры может иницировать процесс рекристаллизации.

Однако, как сообщают [2, 4, 5], этот процесс возникает в диапазоне температур -30 — -50 °С, тогда как в нашем случае температура не подымалась выше -80 °С. Кроме того, процесс разыгрывается в межклеточном пространстве, а не в протоплазме спермиев, которые остаются интактными. Оплодотворяемость после 1-го осеменения 107 коров спермой, которая сохранялась два—четыре месяца при температуре -130 °С, достоверно не отличалась от контроля и составляла 62,4% (опыт проводился в КСП "Родина" Лозовского района Харьковской области).

Эти результаты дают основания выразить мнение о возможности использования безазотной технологии длительного хранения спермы быков.

1. Курбатов А. и др. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных. — Л.: Агропромиздат, 1988.

2. Осташко Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. — К.: Урожай, 1978.

3. Пушкарь Н., Белоус А. и др. Низкотемпературная кристаллизация в биологических системах. — К.: Наук. думка, 1977.

4. Смирнов И.В. Сохранение семени быков-производителей при температуре -79 °С // Научные труды ИЖ. — К., 1954. — Вып. XXV.

5. J. Omar Bustamante and Danuta Jachimowicz. Cryopreservation of Heart Cells, Cryobiology 25, 394—408, 1988.

Харьковский биотехнологический центр