

# 鸡蛋蛋壳超微结构与呼吸强度的相关关系

王娇娇<sup>1</sup>, 王巧华<sup>1,2,\*</sup>, 马美湖<sup>2,3</sup>, 王彬<sup>1</sup>

(1.华中农业大学工学院, 湖北 武汉 430070; 2.华中农业大学 国家蛋品加工技术研发分中心, 湖北 武汉 430070;  
3.华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:** 鸡蛋品质变化原因众多, 其中一个主要影响因素是其自身的呼吸作用, 而蛋壳超微结构又与呼吸作用息息相关。为了揭示蛋壳各层超微结构与鸡蛋呼吸强度之间的关系, 通过扫描电子显微镜获得蛋壳的超微结构图像, 利用MATLAB软件获取相关参数, 并用SPSS 19.0软件得出蛋壳厚度、有效层厚度、乳突层厚度、平均乳突大小以及孔隙度与鸡蛋呼吸强度的相关关系。结果表明: 鸡蛋的呼吸强度与蛋壳厚度 ( $R=-0.36$ ,  $P<0.05$ )、有效层厚度 ( $R=-0.47$ ,  $P<0.05$ ) 之间存在显著性负相关关系; 鸡蛋的呼吸强度与平均乳突大小 ( $R=0.57$ ,  $P<0.01$ )、孔隙度 ( $R=0.66$ ,  $P<0.01$ ) 之间存在极显著性正相关关系; 与乳突层厚度的相关性较低, 同时得出呼吸强度大的鸡蛋蛋壳表面比呼吸强度小的蛋壳表面粗糙。总之, 蛋壳厚度、有效层厚度、平均乳突大小以及孔隙度对鸡蛋呼吸强度影响较大。

**关键词:** 蛋壳; 超微结构; 呼吸强度; 鸡蛋品质

## Correlation between Eggshell Ultrastructure and Respiration Intensity

WANG Jiaojiao<sup>1</sup>, WANG Qiaohua<sup>1,2,\*</sup>, MA Meihu<sup>2,3</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>

(1. College of Engineering, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;  
2. National Research and Development Center for Egg Processing, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;  
3. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** There are many reasons for the quality changes of egg. One of the major factors is its respiration, which is closely related to eggshell ultrastructure. In order to determine the relationship between the ultrastructure of eggshell layers and respiratory intensity of eggs, scanning electron microscopic (SEM) images of the eggshell were obtained, and the relevant parameters were obtained by MATLAB software. The relationship between eggshell thickness, effective layer thickness, mammillary layer thickness, the average size of mammillary cones and porosity and respiratory intensity of eggs was studied by SPSS 19.0 software. The experimental results showed that respiration intensity of eggs was significantly negatively correlated with eggshell thickness ( $R = -0.36$ ,  $P < 0.05$ ) and effective layer thickness ( $R = -0.47$ ,  $P < 0.05$ ) but was significantly positively correlated with the average size of mammillary cones ( $R = 0.57$ ,  $P < 0.01$ ) and porosity ( $R = 0.66$ ,  $P < 0.01$ ). In addition, there was a low correlation between mammillary layer thickness and respiratory intensity. The higher respiration intensity of eggs, the more rough the surface of eggshell. Therefore, eggshell thickness, effective layer thickness, the average size of mammillary cones and porosity can pronouncedly affect respiratory intensity of eggs.

**Keywords:** eggshell; ultrastructure; respiration intensity; egg quality

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201817003

中图分类号: TS253.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 17-0014-05

引文格式:

王娇娇, 王巧华, 马美湖, 等. 鸡蛋蛋壳超微结构与呼吸强度的相关关系[J]. 食品科学, 2018, 39(17): 14-18.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201817003. <http://www.spkx.net.cn>

WANG Jiaojiao, WANG Qiaohua, MA Meihu, et al. Correlation between eggshell ultrastructure and respiration intensity[J]. Food Science, 2018, 39(17): 14-18. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201817003. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-03-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31371771); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303084);

“十二五”国家科技支撑计划项目 (2015BAD19B05)

第一作者简介: 王娇娇 (1988—), 女, 博士研究生, 主要从事智能化检测与控制技术研究。E-mail: 1058864657@qq.com

\*通信作者简介: 王巧华 (1970—), 女, 教授, 博士, 主要从事农产品无损智能检测及机电一体化研究。

E-mail: wqh@mail.hzau.edu.cn

鸡蛋呼吸强度是表征鸡蛋品质的因素之一。鸡蛋生产后,通过蛋壳扩散的二氧化碳的量与鸡蛋品质直接相关<sup>[1]</sup>,故研究鸡蛋呼吸作用对鸡蛋品质保鲜具有重要意义。

蛋壳是鸡蛋进行呼吸作用的介质,它的各层超微结构是外界环境与蛋壳内部环境进行物质交流的重要屏障。蛋壳由内向外分为:蛋壳膜、乳突层、栅栏层、垂直晶体层以及表皮层共5个部分。蛋壳的各层结构在呼吸过程中各司其职,层与层之间含有相互连接的孔隙通道<sup>[2]</sup>,鸡蛋主要通过这些孔隙进行气体交换<sup>[3-4]</sup>;同时,这些横穿蛋壳的气孔在胚胎发育过程中有利于气体和水分的交换<sup>[5-6]</sup>。乳突单元个体间相互靠近,限制了栅栏层晶体的横向生长,栅栏层便形成于两个乳突单元的融合点,因此,若乳突单元停止生长,潜在的乳突层厚度也因此而降低<sup>[7-8]</sup>。所以乳突层对于蛋壳抗裂纹扩展具有关键作用,乳突单元的紧密性和排列整齐程度会影响蛋壳裂纹的扩展速度与方向<sup>[9-10]</sup>,因此乳突层厚度越大,对内部破坏越大<sup>[2,11]</sup>,同时平均乳突大小与气孔数量存在较高的相关性<sup>[12]</sup>。此外,蛋壳表层直接与外界接触,直接影响气体交换量,其超微结构起着重要作用<sup>[13-15]</sup>。因此,研究蛋壳各层超微结构对鸡蛋呼吸强度的影响具有重要科学价值。

目前有关鸡蛋呼吸作用的研究大多数集中于胚胎孵化过程中呼吸作用对孵化率的影响。研究表明呼吸作用对胚胎孵化前期<sup>[16]</sup>、中期<sup>[17-18]</sup>、后期<sup>[19]</sup>具有重要影响。余永新等<sup>[20]</sup>在鸡蛋孵化早期、后期输氧,发现氧气体积分数达到24%时,能够提高孵化率30%,该研究表明胚胎呼吸对鸡蛋孵化率具有重要影响,同时也得出蛋壳厚度与呼吸强度有一定的关联;Meir等<sup>[21]</sup>指出蛋壳是禽类胚胎发育过程中气体交换以及水分蒸发的场所。然而有关蛋壳各层超微结构对呼吸强度影响的研究少之又少。本团队前期研究发现呼吸作用较大的蛋壳表面结构较粗糙<sup>[22-23]</sup>,本研究在此基础上继续深入研究。本实验中,主要通过测量鸡蛋与外界交换CO<sub>2</sub>的量计算呼吸强度,利用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察蛋壳外表面、内表面以及断面,并获取相关参数,研究蛋壳厚度、有效层厚度、乳突层厚度、平均乳突大小以及孔隙度对鸡蛋呼吸强度的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

新鲜海兰粉壳鸡蛋由武汉九峰鸡场提供。选择蛋壳洁净的100枚鸡蛋作为实验对象并进行编号(多余备用)。将实验鸡蛋放在培养箱下贮存待测(温度为22℃,相对湿度为70%)。

### 1.2 仪器与设备

SPX智能型生化培养箱 宁波江南仪器厂; JY3002

称质量仪 上海精密科学仪器有限公司; SY-1022呼吸测定仪 石家庄世亚科技有限公司; JFC-1600离子溅射装置、JSM-6390 LV SEM 日本NTC公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 呼吸强度测定方法

呼吸测定仪校准完成后,将样本称质量,记录质量 $m$ ,放入2 L的呼吸室中,将盖子盖好密封,记录此时的CO<sub>2</sub>的质量浓度 $\rho_0$ ,温度 $T_0$ ,测量一段时间后,记录此时的CO<sub>2</sub>质量浓度为 $\rho$ ,温度 $T$ 以及测量时间 $t$ 。根据公式(1)<sup>[24]</sup>计算呼吸强度 $Q$ 。

$$Q/(\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{h})) = \frac{\frac{1.964 \times 273 \times \rho}{273 + T} - \frac{1.964 \times 273 \times \rho_0}{273 + T_0}}{m \times t \times 1000} \times V \quad (1)$$

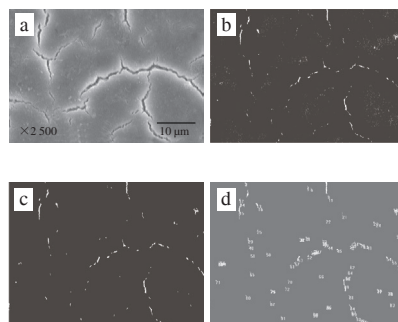
式中: $\rho$ 为CO<sub>2</sub>最终质量浓度/(mg/L);  $\rho_0$ 为CO<sub>2</sub>初始质量浓度/(mg/L);  $T$ 为最终温度/℃;  $T_0$ 为最初温度/℃;  $V$ 为容器体积/L;  $t$ 为测量时间/h;  $m$ 为样本质量/g。

#### 1.3.2 蛋壳SEM图像的获取

将测量完呼吸强度后的鸡蛋打破,去除蛋黄和蛋白,清洗蛋壳并干燥。蛋壳的尖端、赤道以及钝端都存在着孔隙,因为钝端的孔隙相对较多,对鸡蛋的呼吸影响最大,所以选取蛋壳钝端为实验样品,用质量分数2%的氢氧化钠溶液煮沸蛋壳15 min,去除蛋壳膜,室温晾干备用。每个样品取钝端一块大的蛋壳,外表面向上,拇指轻按,使其碎成小块,分别选取外表面、内表面及断面粘于样品台上。采用JFC-1600离子溅射装置进行喷金处理约20 min。用JSM-6390 SEM,依次扫描样品台上的蛋壳外表面、内表面以及断面,分别放大2 500、100、200倍,获取图像并保存。

#### 1.3.3 蛋壳表面SEM图像的处理

由于受到噪声影响,蛋壳表层的超微结构图像会出现图像模糊、边缘阴影以及亮度不均匀等问题,使得孔隙识别困难,必须进行必要的图像处理(图1)。



a.蛋壳表面原图; b.处理后的蛋壳表面图; c.去除最小面积图; d.孔隙标记图。

图1 图像处理

Fig. 1 Image processing

本实验利用MATLAB软件进行图像处理,图像经过中值滤波、闭运算、二值化等处理得到图1b,去除最小面积得到图1c,再经标记孔隙得图1d。图像总像素点为图像的总面积 $S$ ,标记面积为孔隙面积 $S'$ 。蛋壳孔隙度 $H$ 利用公式(2)计算。

$$H = \frac{S'}{S} \quad (2)$$

### 1.3.4 其他参数获取

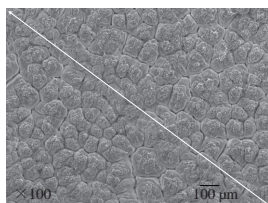


图2 测定平均乳突大小的SEM图

Fig. 2 SEM micrograph for the determination of the average size of mamillary cones

根据蛋壳断面的SEM图像得出蛋壳的厚度、乳突层厚度、有效层厚度(蛋壳厚度-乳突层厚度)。如图2所示,平均乳突大小 $R=L/n$ ( $n$ 为乳突个数; $L$ 为二维图片对角线的长度)<sup>[25-26]</sup>。

### 1.4 数据处理与分析

应用Microsoft Excel 2007和SPSS Statistics 19.0软件对实验结果进行统计分析,根据鸡蛋呼吸强度的数据分析将其分为呼吸强度弱( $\leq 1 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ )、中( $> 1 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h}) \sim < 3 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ )、强( $\geq 3 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ )3个等级,通过SPSS软件中的Duncan氏多重比较法对不同呼吸强度类别(弱、中、强)的蛋壳厚度、有效层厚度、乳突层厚度以及平均乳突大小进行显著性分析,数据形式为 $\bar{x} \pm s$ , $P < 0.05$ 表示差异显著。利用Pearson分析研究确定鸡蛋呼吸强度与蛋壳厚度、有效层厚度、乳突层厚度、乳突平均大小以及孔隙度之间的相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋壳厚度、有效层厚度与呼吸强度的关系

不同呼吸强度的鸡蛋之间蛋壳超微结构参数显著性分析如表1所示。蛋壳超微结构参数与呼吸强度相关性分析结果如表2所示。

蛋壳厚度和有效层厚度均对鸡蛋呼吸强度具有重要影响作用。在本研究中,蛋壳厚度最大( $326.20 \pm 23.96 \mu\text{m}$ )的鸡蛋具有最小的呼吸强度,呼吸强度与蛋壳厚度具有显著的负相关性( $P < 0.05$ ) (表3)。究其原因,由于蛋壳气孔的总面积与气孔长度存在负相关的关系,而气孔的长度大致与蛋壳厚度

相近<sup>[27-28]</sup>,故蛋壳过厚会增加气孔长度,从而影响鸡蛋与外界进行气体交换,阻碍水蒸气减少。本实验结果表明,蛋壳厚的鸡蛋比蛋壳薄的呼吸强度弱,结合图3与呼吸强度测定结果可知,蛋壳厚度为 $284.75 \mu\text{m}$ 的呼吸强度是 $2.86 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ ,蛋壳厚度为 $316.2 \mu\text{m}$ 的呼吸强度却是 $0.84 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 。

表1 不同呼吸强度的鸡蛋之间蛋壳超微结构参数

Table 1 Ultrastructural parameters of eggshells with different respiratory intensities

指标	呼吸强度/ $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$		
	弱( $\leq 1$ ) ( $n=15$ )	中( $> 1 \sim < 3$ ) ( $n=57$ )	强( $\geq 3$ ) ( $n=18$ )
蛋壳厚度/ $\mu\text{m}$	$326.20 \pm 23.96^a$	$296.74 \pm 21.42^b$	$294.91 \pm 25.82^b$
有效层厚度/ $\mu\text{m}$	$270.78 \pm 18.68^a$	$250.19 \pm 21.94^{ab}$	$239.77 \pm 28.75^b$
乳突层厚度/ $\mu\text{m}$	$55.37 \pm 12.29^a$	$46.57 \pm 7.08^a$	$55.15 \pm 12.37^a$
平均乳突大小/ $\mu\text{m}$	$82.28 \pm 4.77^b$	$92.32 \pm 9.67^b$	$105.86 \pm 17.32^a$
孔隙度	$0.029 \pm 0.015^b$	$0.063 \pm 0.011^{ab}$	$0.125 \pm 0.026^a$

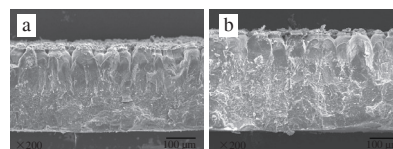
注:同行肩标小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

表2 蛋壳超微结构参数与呼吸强度相关性分析

Table 2 Correlation analysis of eggshell ultrastructural parameters and respiration intensity

指标	蛋壳厚度	有效层厚度	乳突层厚度	平均乳突大小	孔隙度	呼吸强度
蛋壳厚度	1	0.92**	0.25	-0.14	-0.37	-0.37*
有效层厚度		1	-0.15	-0.21	-0.32	-0.39*
乳突层厚度			1	0.16	-0.22	0.02
平均乳突大小				1	0.64*	0.57**
孔隙度					1	0.66**

注:\*.显著相关( $P < 0.05$ ); \*\*.极显著相关( $P < 0.01$ )。



a.呼吸强度为 $2.86 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 的蛋壳厚度;  
b.呼吸强度为 $0.84 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 的蛋壳厚度。

图3 不同呼吸强度的蛋壳厚度比较

Fig. 3 Comparison of eggshell thickness with different respiration intensities

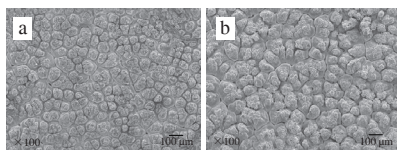
蛋壳厚度与有效层厚度之间存在密切的联系,并且两者间具有极显著正相关关系( $R=0.92$ , $P < 0.01$ ) (表2),这与Liao等<sup>[26]</sup>的研究相似。有效层厚度与呼吸强度存在显著负相关关系( $R=-0.39$ , $P < 0.05$ ) (表2)。导致这种结果的原因可从结构上来分析,蛋壳的有效层与乳突层直接相连,有效层厚度直接影响孔隙的延展速度与方向,所以蛋壳有效层厚度越大,孔隙的延展速度越小,从而减少了鸡蛋与外界进行物质交换的有效通道。

### 2.2 乳突层厚度、平均乳突大小与呼吸强度的关系

在对呼吸强度影响因素的研究中,虽然乳突层厚度影响较小,但平均乳突大小对鸡蛋呼吸强度具有显著的影响(表1)。在本研究中,呼吸强度强和弱的蛋壳平均乳突大



小之间具有显著性差异(表1), 平均乳突大小与呼吸强度存在极显著正相关关系( $R=0.57$ ,  $P<0.01$ ) (表2)。



a.呼吸强度为0.79 mg/(kg·h)的平均乳突大小;  
b.呼吸强度为2.25 mg/(kg·h)的平均乳突大小。

图4 不同呼吸强度的乳突平均大小比较

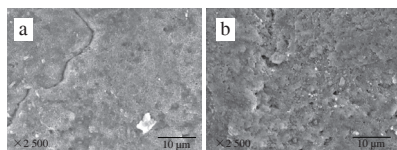
Fig. 4 Comparison of the average size of mamillary cones with different respiratory intensities

结合图4与呼吸强度测定结果可以看出, 平均乳突大小为101.56的呼吸强度是2.25 mg/(kg·h), 平均乳突大小为77.38的呼吸强度是0.79 mg/(kg·h), 由此表明, 平均乳突大小越小的鸡蛋呼吸强度越小, 在蛋壳形成过程中, 乳突单元之间的缝隙向内对应乳突底部与栅栏层的交界处形成气孔通道。因此, 若平均乳突大小值小, 即单位面积内乳突个数少, 也就减少了有效气孔通道条数, 从而降低了与外界气体交换能力。

### 2.3 孔隙度与呼吸强度的关系

蛋壳的表面层是最外面的部分, 主要由钙盐组成, 结构连续, 并且分布着很多微小的裂隙和气孔, 即孔隙。孔隙是鸡蛋与外界进行物质交换的通道。孔隙度是蛋壳单位面积内的孔隙面积大小, 孔隙度在一定程度上可以表征蛋壳内部与外界交换通道的多少。本研究发现, 呼吸强度与蛋壳孔隙度具有极显著正相关关系( $R=0.66$ ,  $P<0.01$ ) (表2)。

结合图5与呼吸强度测定结果可知, 呼吸强度大的蛋壳表面比呼吸强度小的表面粗糙。另外, 孔隙度与蛋壳厚度、有效层厚度以及乳突厚度均存在负相关关系, 与平均乳突大小存在显著正相关关系( $R=0.64$ ,  $P<0.05$ ) (表2)。由于乳突层对蛋壳抗裂纹扩展性起到关键作用, 裂纹的扩展速度与乳突单元大小、紧密性以及排列是否整齐有关, 所以孔隙度的大小与平均乳突大小具有密切关系。



a.呼吸强度为0.79 mg/(kg·h)的蛋壳表面;  
b.呼吸强度为2.37 mg/(kg·h)的蛋壳表面。

图5 不同呼吸强度的蛋壳表面比较

Fig. 5 Comparison of eggshell surface with different respiration intensities

此外, 各层超微结构之间也存在相互关系, 蛋壳厚度与有效层厚度存在极显著正相关关系, 有效层厚度是

影响蛋壳厚度的一个重要因素。孔隙度与平均乳突大小之间存在显著正相关关系。

## 3 结论

在蛋壳超微结构中, 蛋壳厚度、有效层厚度与呼吸强度呈负相关; 平均乳突大小、孔隙度与呼吸强度呈正相关, 即平均乳突大小越大、蛋壳表面的孔隙度越大、蛋壳厚度与有效层厚度越小, 鸡蛋的呼吸强度可能越大。乳突层厚度对鸡蛋呼吸强度影响较小。此外, 有效层厚度与蛋壳厚度存在极显著正相关, 表明有效层厚度与蛋壳厚度存在紧密的联系; 孔隙度与平均乳突大小存在显著正相关, 表明平均乳突大小在一定程度上影响孔隙度的大小。本研究为鸡蛋呼吸作用相关研究提供了参考, 同时对以后蛋壳超微结构等研究具有一定指导意义。

### 参考文献:

- [1] KAROUÏ R, KEMPS B, BAMELIS F, et al. Development of a rapid method based on front-face fluorescence spectroscopy for the monitoring of egg freshness: 2-evolution of egg yolk[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(2): 180-188.
- [2] BAIN M M. Recent advances in the assessment of eggshell quality and their future application[J]. World's Poultry Science Journal, 2005, 161(6): 268-277. DOI:10.1079/WPS200459.
- [3] TULLETT S G, LUTZ P L, BOARD R G. The fine structure of the pores in the shell of the hen's egg[J]. British Poultry Science, 1975, 16(1): 93-95.
- [4] 万秋蓓, 杨海明, 周卫东, 等. 鸡蛋壳的超微结构研究[J]. 中国家禽, 2006, 28(22): 12-14.
- [5] 王瑛, 杨玉峰, 何健, 等. 蛋壳超微结构及有机基质蛋白对蛋壳品质的影响[J]. 中国家禽, 2015, 37(11): 43-47. DOI:10.16372/j.issn.1004-6364.2015.11.010.
- [6] HINCKE M T, CHIEN Y C, GERTENFELD L C, et al. Colloidal-gold immunocytochemistry to chemical localization of osteopontin in avian eggshell gland and eggshell[J]. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2008, 56: 467-476.
- [7] 王佩伦. 不同周龄及不同品质鸡蛋壳的化学组分和物理结构[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2012: 3-4.
- [8] DUNN I C, RODRÍGUEZ-NAVARRO A B, MCDADE K, et al. Genetic variation in eggshell crystal size and orientation is large and these traits are correlated with shell thickness and are associated with eggshell matrix protein markers[J]. Animal Genetics, 2012, 43(4): 410-418. DOI:10.1111/j.1365-2052.2011.02280.x.
- [9] 廖冰. 蛋壳超微结构影响孵化率及相关候选基因的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014: 3-4.
- [10] BUCHAR J, SEVERA L, SIMEONOVÁ J. Determination of hen's eggshell elastic properties under quasistatic compression[M]// BLAHOVEC J, KUTÍLEK M. Physical methods in agriculture. New York: Springer US, 2002: 157-165.
- [11] 李治学, 魏丽娜, 章世元. 鸡蛋壳质量与超微结构关系的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44(1): 35-39.
- [12] TULLETT S G. The porosity of avian eggshells[J]. Comparative Biochemistry and Physiology A, 1984, 78(1): 5-13.

- [13] 张凯. 鸭蛋壳的力学特性及多孔超微结构的渗透特性研究[D]. 湖北: 华中农业大学, 2012: 3-4.
- [14] 张益鹏. 多场环境下蛋壳传质特性研究[D]. 湖北: 华中农业大学, 2013: 17-18.
- [15] 王绍清, 曹红, 曹宝森. 扫描电镜法观察鸡蛋壳超微结构形貌[J]. 食品科学, 2013, 34(13): 110-114.
- [16] TAYLOR L W, KREUTZIGER G O. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 2. effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the fifth through the eighth days of incubation[J]. Poultry Science, 1965, 44: 98-106.
- [17] EVERAERT N, DEBONNE M, WILLEMSSEN H, et al. Interaction between ascites susceptibility and CO<sub>2</sub> during the second half of incubation of two broiler lines the effect on embryonic development and hatching process[J]. British Poultry Science, 2010, 51(3): 335-343. DOI:10.1080/00071668.2012.669467.
- [18] EVERAERT N, WILLEMSSEN H, KAMERS B, et al. Regulatory capacities of a broiler and layer strain exposed to high CO<sub>2</sub> levels during the second half of incubation[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2011, 158(2): 215-220. DOI:10.1016/j.cbpa.2010.10.031.
- [19] QIN T, MCGONNELL I M, ROMANINI C E, et al. Effect of high levels of CO<sub>2</sub> during the final 3 days of incubation on the timing of hatching in chick embryos[C]// International Conference of Agricultural Engineering. Valencia, 2012: 137-142.
- [20] 余永新, 田发益, 赵晓玲, 等. 低氧环境对良种鸡蛋孵化率的影响[J]. 西南农业学报, 2001, 14(3): 71-74. DOI:10.16213/j.cnki.scjas.2001.03.018.
- [21] MEIR M, NIR A, AR A. Increasing hatchability of turkey eggs by matching incubator humidity to shell conductance of individual eggs[J]. Poultry Science, 1984, 63: 1489-1496.
- [22] WANG Q H, ZHANG T, MA M H, et al. Study on the relationship between egg O<sub>2</sub> respiration and eggshell ultra structure[J]. Advance Journal of Food Science and Technology, 2015, 9(3): 159-166. DOI:10.19026/ajfst.9.1984.
- [23] 王巧华, 张涛, 马美湖. 基于非损伤微测技术监测贮期鸡蛋氧呼吸规律[J]. 农业工程学报, 2014, 30(5): 255-261. DOI:10.3969/j.issn.1002-6819.2014.05.032.
- [24] 赵梅霞, 闫师杰, 肖丽霞, 等. 红外CO<sub>2</sub>分析仪测定果实呼吸强度参数初探[J]. 现代仪器与医疗, 2005, 11(2): 30-32.
- [25] DEHOFF R T, RHINES F N, FLORIDA U O. Quantitative microscopy[J]. IEEE Engineering in Medicine & Biology Magazine, 1968, 113(3): 59-66.
- [26] LIAO B, QIAO H G, ZHAO X Y, et al. Influence of eggshell ultrastructural organization on hatchability[J]. Poultry Science, 2013, 92(8): 2236-2239. DOI:10.3382/ps.2012-02728.
- [27] AR A, PAGANELLI C V, REEVES R B, et al. The avian egg: water vapor conductance, shell thickness, and functional pore area[J]. Condor, 1974, 76(2): 153-158.
- [28] RAHN H, AR A, PAGANELLI C V. How bird egg breathe[J]. Scientific American, 1979, 240: 46-55. DOI:10.1038/scientificamerican0279-168.