



Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt

KATARZYNA CZYŻ

**WPŁYW NANOSREBRA NA KSZTAŁTOWANIE SIĘ WARUNKÓW
ZOOHIGIENICZNYCH W BROJLERNI ORAZ TRANSFER SREBRA
I PIERWIASTKÓW ANTAGONISTYCZNYCH (Se, Cu, Zn) DO ORGANIZMU
KURCZĄT**

Praca doktorska

wykonana

**w Katedrze Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt
pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Dobrzańskiego**

Wrocław 2011

*Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr N N205 018634 finansowanego
przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*

Pragnę serdecznie podziękować
Panu prof. dr hab. Zbigniewowi Dobrzańskiemu
za okazaną życzliwość, nadzór merytoryczny
i cenne wskazówki udzielone mi w trakcie pisania pracy.

SPIS TREŚCI

1.	WSTĘP I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA	5
2.	CEL BADAŃ	38
3.	MATERIAŁ I METODY	39
3.1.	Badania laboratoryjne	39
3.1.1.	Ocena właściwości fizycznych preparatów zastosowanych w badaniach	39
3.1.2.	Ocena właściwości sorpcyjnych i biobójczych preparatów zastosowanych w badaniach	42
3.2.	Badania biologiczne i chemiczne	45
3.2.1.	Zwierzęta doświadczalne	45
3.2.2.	Określenie stężenia amoniaku oraz wybranych parametrów fizycznych ściółki i powietrza	49
3.2.3.	Określenie profilu mikrobiologicznego ściółki	50
3.2.4.	Określenie stężenia Ag, Se, Cu i Zn w wybranych tkankach i narządach kurcząt	53
3.2.5.	Analiza histopatologiczna wątroby kurcząt	54
3.3.	Analiza statystyczna wyników	54
4.	WYNIKI	55
4.1.	Badania laboratoryjne	55
4.1.1.	Ocena właściwości fizycznych preparatów zastosowanych w badaniach	55
4.1.2.	Ocena właściwości sorpcyjnych i biobójczych preparatów zastosowanych w badaniach	66
4.2.	Badania biologiczne i chemiczne	81
4.2.1.	Zwierzęta doświadczalne	81
4.2.2.	Określenie stężenia amoniaku oraz wybranych parametrów fizycznych ściółki i powietrza	82
4.2.3.	Określenie profilu mikrobiologicznego ściółki	87
4.2.4.	Określenie stężenia Ag, Se, Cu i Zn w wybranych tkankach i narządach kurcząt	107
4.2.5.	Analiza histopatologiczna wątroby kurcząt	113
5.	OMÓWIENIE WYNIKÓW	117
6.	WNIOSKI I UOGÓLNIENIA	135
7.	SPIS LITERATURY	136

1. WSTĘP I PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

Od dziesięcioleci naukowcy głosili pogląd, że gdyby mogliby manipulować pojedynczymi molekułami, mogliby projektować materiały o właściwościach innych niż te, które posiadają one w skali makro – wytyczając tym samym nowe granice m.in. w elektronice, medycynie, chemii, biologii, przemyśle oraz wielu innych dziedzinach. Podobnie jak komórki wykorzystują kilkanaście aminokwasów aby syntetyzować białka o różnych cechach i funkcjach, tak nanotechnologia może umożliwić projektowanie i wytwarzanie materiałów na poziomie molekularnym, które będą charakteryzować się szczególnymi właściwościami. „Dużo zmieści się u podstaw” („There’s plenty room at the bottom”) – jest to często cytowane prorocze stwierdzenie Richarda A. Feynmana będące tytułem wykładu wygłoszonego przez niego w 1959 roku na spotkaniu Amerykańskiego Towarzystwa Fizycznego (Feynman 1992). Z Feynmanem właśnie wiązana jest idea nanotechnologii, aczkolwiek jej pojęcie wprowadził jedno pokolenie później Drexler, natomiast pierwsza definicja była dziełem Japończyka – Taniguchiego, który zaprezentował ją w roku 1992 (Bell 2008).

Według „National Nanotechnology Initiative” nanotechnologia obejmuje “badania i rozwój mające na celu zrozumienie i operowanie - postrzeganie, mierzenie i manipulowanie – materią na poziomie atomowym, molekularnym i supramolekularnym. Odpowiada to skali długości na poziomie 1 do 100 nm. W tej skali, właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne materiałów różnią się w sposób fundamentalny i często niespodziewany od odpowiadających im materiałów w skali makro” (Scott 2005). Nanotechnologia to zatem zdolność rozumienia, wytwarzania i wykorzystywania materiałów, urządzeń i systemów o nowych własnościach i funkcjach wynikających z ich małej struktury (Roco 2003).

Pół wieku po wspomnianym stwierdzeniu Feynmana, obietnica nanotechnologii stała się rzeczywistością – nie tylko w laboratoriach, ale także w życiu codziennym. Opracowane nanomateriały zaczyna się traktować jako zupełnie nową klasę materiałów, zaś nanotechnologia staje się nową rewolucją przemysłową (Bell 2008).

Jak już wspomniano, nanotechnologia dotyczy wytwarzania struktur, urządzeń i systemów o jednym z wymiarów w zakresie 1 – 100 nm. Właściwości substancji zmieniają się zasadniczo, kiedy zostają one zmniejszone do skali nano. Poniżej wartości

progowej 100 nm, zarówno stosunek powierzchni do masy, jak i proporcja całkowitej liczby atomów na powierzchni struktury są wystarczająco duże aby własności powierzchni stały się istotne: może ulec zmianie reaktywność chemiczna, przewodność termiczna i elektryczna oraz wytrzymałość na rozciąganie. Zaczynają dominować prawa fizyki kwantowej zmieniając zachowanie optyczne, magnetyczne i elektryczne. Owe związane z rozmiarem zmiany właściwości sprawiają, iż nanomateriały są bardzo atrakcyjne z komercyjnego punktu widzenia. Nanorurki węglowe, ze względu na unikalne właściwości związane z przewodnictwem elektrycznym oraz swą lekkość, giętkość a jednocześnie ogromnie dużą wytrzymałość na rozciąganie, znajdują zastosowanie w elektronice, przemyśle komputerowym oraz lotniczym. Nanomateriały coraz częściej znajdują zastosowanie m.in. w medycynie np. w onkologii stanowiąc metodę mniej inwazyjną niż chemio- czy radioterapia, w wykrywaniu i leczeniu niektórych chorób, w medycynie molekularnej i regeneracyjnej, chirurgii a także w ukierunkowanym podawaniu leków (Bogunia-Kubik i Susisaga 2002; Schmidt i Montemagno 2002). Polimery dendrytyczne stosowane są do wytwarzania narzędzi diagnostycznych do wczesnego wykrywania raka, a także służą do opracowania nowych metod podawania leków (Frechet 2002; Gillies i in. 2002; Patri in. 2002).

Nanotechnologia oferuje także nowe rozwiązania dla transformacji biosystemów i zapewnia szeroką platformę biotechnologiczną do zastosowań w różnych dziedzinach przemysłu (Bogunia-Kubik i Susisaga 2002; Schmidt i Montemagno 2002). Nanotechnologia stosowana jest przy badaniu środowiska (Keane i in. 2002) oraz ekotoksykologii (Borm 2002; Moore 2002); przy doskonaleniu systemów żywnościowych i rolniczych, np. zwiększaniu produkcji rolniczej, obróbce i konserwacji żywności, wytwarzaniu nowych produktów żywnościowych (Chen 2002). Zastosowania nanotechnologii w biotechnologii, biomedycynie i rolnictwie obejmują także: powierzchniowo-ukierunkowane techniki nanobiotechnologiczne mające na celu manipulację cząsteczkami w obrębie komórki, zastosowanie powierzchni bioselektywnych, kontrolę biozanieczyszczeń i kultur komórkowych (Curtis i Wilkinson 2001). Nanocząsteczki znajdują także zastosowanie przy dostarczaniu DNA do komórek (Quintana i in. 2002; Zhu i in. 2002), przy wytwarzaniu biokompatybilnych implantów do zastępowania uszkodzonych części ciała oraz w inżynierii tkankowej do wytwarzania

sztucznych organów (McIntire 2002). Nanotechnologia pozwala także na wytwarzanie precyzyjnie zaprojektowanych narzędzi nanobiologicznych (Prokop 2001; Galvin 2002).

Z kolei w rolnictwie i przemyśle spożywczym zastosowania nanotechnologii obejmują „inteligentne” dostarczanie składników odżywczych, ochronę przeszczepionych komórek za pomocą błon, bioseparację, przetwarzanie sygnałów, szybkie próbkowanie i ochronę zdrowia zwierząt (Chen 2002). Nanotechnologia ma wkrótce szansę zrewolucjonizować rolnictwo oraz przemysł spożywczy właśnie dzięki dostarczeniu nowych narzędzi dla biologii molekularnej i komórkowej, które służyłyby do separacji, identyfikacji oraz ilościowego określania pojedynczych molekuł oraz nowych środków do wykrywania i leczenia patogenów (Scott 2005). Ponieważ nanotechnologia działa w tej samej skali co wirusy bądź inne cząstki chorobotwórcze może pozwolić na wcześniejsze ich wykrycie i zniszczenie. Stwarza także możliwości zastosowania miniaturowych „inteligentnych” urządzeń, które mogłyby być wszczepiane zwierzętom np. w celu regularnego analizowania próbek śliny co pozwoliłoby na wczesne wykrycia choroby i wprowadzenie środków zaradczych.

Dzięki nanotechnologii medycyna weterynaryjna ma szansę wkroczyć w fazę nowych, niewiarygodnych przemian. Główny udział w owych zmianach ma nowa zdolność mierzenia, manipulowania i organizacji materii na poziomie nano. Nanotechnologia może także wpłynąć na sposób praktykowania medycyny weterynaryjnej. Opieka weterynaryjna staje się także obiektem zainteresowania nanotechnologii, pilną rzeczą staje się bowiem potrzeba nowych rozwiązań w zakresie profilaktyki i terapii. Zasadniczymi wyzwaniami jakie stoją obecnie przed medycyną weterynaryjną jest rozwijanie, w zgodzie z akceptowanymi normami, doskonałości naukowej, nowej wiedzy i jej przekładanie na udoskonaloną opiekę zdrowotną wobec innych gatunków z którymi dzielimy ziemię, tworzenie bardziej skutecznych usług i produktów oraz umacnianie systemu edukacji weterynaryjnej (Feneque 2003). Duże możliwości nanotechnologii, dostrzegane są również w doskonaleniu technik rozrodu oraz przy przetwarzaniu odpadów rolniczych i żywnościowych na energię (poprzez enzymatyczne nanobioprzetwarzanie).

Nowymi możliwościami nanomateriałów od wielu lat zainteresowani są również naukowcy zajmujący się środowiskiem, wykorzystując je do oczyszczania wód gruntowych (nanocząsteczki zawierające zerwartościowe żelazo (nZVI), odsalania

wody, oczyszczania niebezpiecznych odpadów a także zwiększania efektywności energetycznej. W przypadku nanomateriałów wykorzystywanych w ochronie środowiska możemy wyróżnić trzy główne ich kategorie: produkty przyjazne dla środowiska (np. chemia ekologiczna czy zapobiegająca zanieczyszczeniom); służące do oczyszczania materiałów zanieczyszczonych substancjami niebezpiecznymi oraz czujniki czynników środowiskowych. Produkty te zwykle postrzegane są w kategoriach substancji chemicznych, należy jednak zauważyć, że dotyczą one także środków biobójczych i materiałów biologicznych. Szczególnie ważną rolę nanotechnologia odgrywa w doskonaleniu metod wykrywania i unieszkodliwiania szkodliwych czynników biologicznych, które stanowią bardzo często istotny problem środowiskowy (Depledge i Owen 2005; Tratnyek i Johnson 2006). Nanomateriały stosowane są także przy produkcji środków smarnych o niskim tarciu, jako katalizatory chemiczne, zespoły obwodów elektrycznych oraz nanoczujniki (Depledge i Owen 2005; Kowalska-Górska i in. 2010).

Nanomateriały konstruowane są po to aby wykorzystywać ich unikalne własności. Owe nowe własności mogą być pożądane, jednak modyfikacja materiałów w tej skali może także powodować nowe zagrożenia toksykologiczne. Nanocząsteczki posiadają bowiem bardzo dużą powierzchnię, co pociąga za sobą większą reaktywność chemiczną, aktywność biologiczną i katalityczną w porównaniu do większych cząstek o tym samym składzie chemicznym (Garnett i Kallinteri 2006; Nel i in. 2006; Limbach i in. 2007). Nanomateriały mogą charakteryzować się także wyższą bioprzyswajalnością w porównaniu do większych cząsteczek, co może prowadzi do ich podwyższonej absorpcji w określonych komórkach, tkankach i narządach. Mogą także łatwiej przenikać przez błony biologiczne i docierać do komórek, tkanek i narządów. Nanomateriały o rozmiarach mniejszych niż 300 nm mogą być absorbowane przez pojedyncze komórki (Garnett i Kallinteri 2006), podczas gdy nanomateriały mniejsze niż 70 nm mogą być absorbowane nawet przez jądra komórkowe, gdzie mogą powodować istotne uszkodzenia (Li i in. 2003; Chen i Mikecz 2005; Geiser i in. 2005). Ta zwiększona reaktywność chemiczna oraz bioprzyswajalność nanomateriałów może niestety prowadzić do większej ich toksyczności w porównaniu z większymi cząstkami (Hoet i in. 2004; Oberdörster i in. 2005a; Oberdörster i in. 2005b). Inne właściwości nanomateriałów, które mogą wpływać na ich większą toksyczność to m.in. skład

chemiczny, kształt, struktura powierzchni, działanie katalityczne, zakres agregacji bądź rozpadu cząstek, obecność lub brak przyłączonych grup chemicznych (Sayes i in. 2004; Brunner i in. 2006; Magrez i in. 2006; Sayes i in. 2006).

Tak więc, wraz z nową technologią, pojawiły się pytania dotyczące jej bezpieczeństwa. Jeżeli bowiem opracowane nanomateriały posiadają właściwości fizyczne różniące się od ich masowych odpowiedników, czy nie mogą one zatem stanowić zagrożenia dla człowieka, zarówno podczas ich stosowania jak również przy wytwarzaniu i utylizacji. Aktualnie nie ma na to pytanie jednoznacznej odpowiedzi. Dostępne dane sugerują, że „to zależy”, zaś naukowcy intensywnie poszukują odpowiedzi.

Po pierwsze, toksyczność sama w sobie może być pożyteczna np. w terapii przeciwnowotworowej. Należy także pamiętać, iż toksyczność często zależy od dawki oraz sposobu podania środka. Po drugie, jeśli toksyczność jest znana, wszelkie procedury postępowania i pakowania mogą być tak dopracowane, aby zminimalizować ryzyko niepożądanego działania podobnie jak to się robi rutynowo w przypadku materiałów niebezpiecznych. Procedury bezpiecznego postępowania z wytworzonymi nanomateriałami mogą jednak różnić się od stosowanych obecnie. Szczególnie istotne wydają się pytania o bezpieczeństwo nanomateriałów stosowanych w produktach komercyjnych oraz wszczepianych ludziom (Bell 2008).

W prezentowanej pracy podjęto próbę wykorzystania możliwości jakie oferuje nanotechnologia w produkcji zwierzęcej. Konieczność optymalizacji warunków utrzymania zwierząt gospodarskich w Polsce, szczególnie po wstąpieniu Polski do Unii Europejskiej jest problemem ważnym i aktualnym, a zobligowani są do tego zarówno hodowcy jak i producenci (Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 2 września 2003 w sprawie minimalnych warunków utrzymania poszczególnych zwierząt gospodarskich (Dz. U. 2003, nr. 167, poz.1629 z późn. zm.)). Ponadto Polska jest sygnatariuszem Konwencji Helsińskiej (1992) oraz jest zobowiązana do przestrzegania tzw. Dyrektywy Azotanowej (91/676/EWG) nakazującej ograniczenie emisji do środowiska związków azotu, które pochodzą głównie właśnie z produkcji zwierzęcej. Konieczność redukcji zagrożeń środowiskowych, w tym emisji gazowych, zawierają także porozumienia międzynarodowe zawarte pod auspicjami ONZ jak

i wewnątrz UE. Dotyczy to w szczególności takich aktów jak Protokół z Kioto (2005) czy Dyrektywa IPPC (96/61/WE).

Pod pojęciem optymalizacji warunków utrzymania kryje się zarówno ograniczenie emisji gazów odorotwórczych, w tym amoniaku, jak i kwestie związane z zanieczyszczeniami mikrobiologicznymi pochodzącymi z rolnictwa, głównie zaś z produkcji zwierzęcej.

Mianem odory określa się lotne związki chemiczne, organiczne jak i nieorganiczne, które nawet w bardzo niewielkich stężeniach wyczuwane są przez ludzki organ węchu i rejestrowane przez mózg jako nieprzyjemne. W ostatnim czasie coraz większą uwagę zwraca się na fermy zwierzęce jako potencjalne źródła powstawania związków odorotwórczych (Mackie i in. 1998; Schaubberger i in. 2000; Filipy i in. 2006). Ich źródłem są głównie same zwierzęta, ich odchody, zarówno świeżo wydalone jak i składowane w formie ciekłej i stałej, a także pasza oraz urządzenia technologiczne.

Chów i hodowla zwierząt konfrontowane jest nieustannie z problemami dotyczącymi ochrony środowiska, a także potrzebą akceptacji ze strony ludności, tym bardziej, że tereny podmiejskie, gdzie pierwotnie usytuowane już były obiekty związane z produkcją zwierzęcą, są coraz częściej miejscem, w którym decyduje się osiedlać ludność szukająca ucieczki z dużych miast (Schaubberger i in. 2000; Rappert i Müller 2005). Dążenie do powiększania pogłowia zwierząt i polepszania wyników produkcyjnych prowadzi w efekcie do wzrostu koncentracji gazów emitowanych z ferm i obiektów inwentarskich, co staje się przedmiotem publicznej debaty (Filipy i in. 2006).

Obserwuje się rosnącą wciąż liczbę zażaleń ze strony osób narażonych na skutki emisji związków odorotwórczych pochodzących z produkcji zwierzęcej. Odory mają istotny wpływ na życie mieszkańców obszarów sąsiadujących z fermami produkcji zwierzęcej, mogą powodować mdłości, stres i rozdrażnienie i alergie (Mills 1995; Hórnig i in. 1999; Schiffman 1998; Nimmermark 2004; Blunden i in. 2005; Schiffman i Williams 2005; Filipy i in. 2006; Hayes i in. 2006). Lotne związki organiczne mogą bowiem mieć działanie trujące, stymulować nerwy czuciowe wywołując zmiany neurochemiczne a także powodować podrażnienia sensoryczne oczu, gardła i nosa. Ponadto niekorzystny wpływ odorów pochodzenia rolniczego na zdrowie ludzi może

być spowodowany czynnikami poznawczymi i emocjonalnymi (Schiffman 1998; Radon i in. 2004).

Związki odorotwórcze podzielić możemy na kilka najważniejszych grup. Należą do nich lotne kwasy organiczne (o łańcuchach prostych i rozgałęzionych), związki aromatyczne (indole, fenole), związki zawierające azot (amoniak, lotne aminy) oraz związki zawierające siarkę (siarkowodór oraz merkaptany) (Blunden i in. 2005; Cai i in. 2006). Według danych literaturowych liczba związków budujących odory sięgać może ponad 150 (Mackie i in. 1998; Rappert i Müller 2005). Zwykle emitowane są one w niewielkich ilościach, lecz doskonale wyczuwalne. W przypadku ferm bydła określono, że największa ilość tych związków pochodzi z odchodów i uwalniana jest w miesiącach letnich (Filipy i in. 2006). Pomimo, iż koncentracja większości z nich jest zwykle poniżej wartości progowych podawanych w literaturze, należy pamiętać, że jako mieszanina różnych grup związków chemicznych mogą one stanowić znaczne obciążenie dla środowiska (Mackie i in. 1998). Należy pamiętać także, iż za powstawanie i intensywność zapachów odpowiadać mogą właśnie te związki, które występują w najmniejszych stężeniach, a tym samym są najtrudniejsze do wyeliminowania.

Zapach a tym samym uciążliwość związków odorotwórczych zależy od różnego rodzaju czynników, jak budowa łańcucha lub pierścienia węglowego, obecności wiązań nienasyconych, a także od obecności oraz rodzaju grup funkcyjnych i ich rozmieszczenia w cząsteczce. Tak więc, związki o różnej budowie mogą charakteryzować się bardzo podobnym zapachem, bądź odwrotnie- związki o podobnej budowie mogą mieć zupełnie innych zapach. Określone zostało pojęcie progu węchowej wyczuwalności odorów. Zakres owej wyczuwalności jest bardzo szeroki i wynosi od 0,000003 ppm dla merkaptanów do 1,5 ppm dla amoniaku (Mills 1995; Schiffman 1998; Nimmermark 2004; Blunden i in. 2005; Hayes i in. 2006; Kołacz i Dobrzański 2006). Ilościowa identyfikacja stopnia narażenia środowiska na odory jest ograniczona zarówno przez złożoność związków chemicznych jak i czułość ludzkiego organu węchu (Rappert i Müller 2005; Cai i in. 2006).

Rozprzestrzenianie się odorów w powietrzu jest bardzo szybkie, gdyż łatwo przemieszczają się z wiatrem. Mogą być emitowane z powietrzem w formie gazowej lub być absorbowane i przenoszone wraz z cząsteczkami stałymi. Jako mieszanina

różnych gazów mają słabą zdolność do mieszania się z powietrzem atmosferycznym, więc ich strumień wyrzucony przez urządzenia kanalizacyjne dochodzi w dużym stężeniu do strefy przyziemnej na znaczne odległości, przy czym utrzymują się dłużej w wilgotne, bezwietrzne dni (Toombs 2003; Kołacz i Dobrzański 2006; Szyrkowska i Zwoździak 2010)

Wszystkie niemal odory wytwarzane w produkcji zwierzęcej, które są intensywne i wykrywalne w znacznych nawet odległościach, występują w postaci aerozoli. Uważa się, że pyły odgrywają zasadniczą rolę w transporcie a nawet powiększaniu stopnia uciążliwości odorów pochodzących z produkcji zwierzęcej. Potwierdzone zostało to w badaniach przeprowadzonych przez Cai i in. (2006), którzy podjęli próbę analizy interakcji odorant-lotne substancje organiczne-pył. Donoszą oni, iż wszystkie analizowane w pracy lotne substancje organiczne i odoranty charakterystyczne dla produkcji trzody obecne były w pyłe i ich ilość była proporcjonalna do rozmiaru pyłu.

Jak już wspomniano, źródłem odorów są odchody zwierząt oraz zachodzące procesy enzymatyczno-mikrobiologicznej mineralizacji związków organicznych (Mackie i in. 1998). Odory pochodzące z odchodów zwierzęcych są głównie wynikiem niekompletnego rozkładu materii organicznej, zwłaszcza białek i węglowodanów, w warunkach beztlenowych. Powstawanie odorów jest procesem złożonym, w którym biorą udział liczne gatunki bakterii (Tymczyna i in. 2002; Muchtar i in. 2004; Rappert i Müller 2005; Cai i in. 2006).

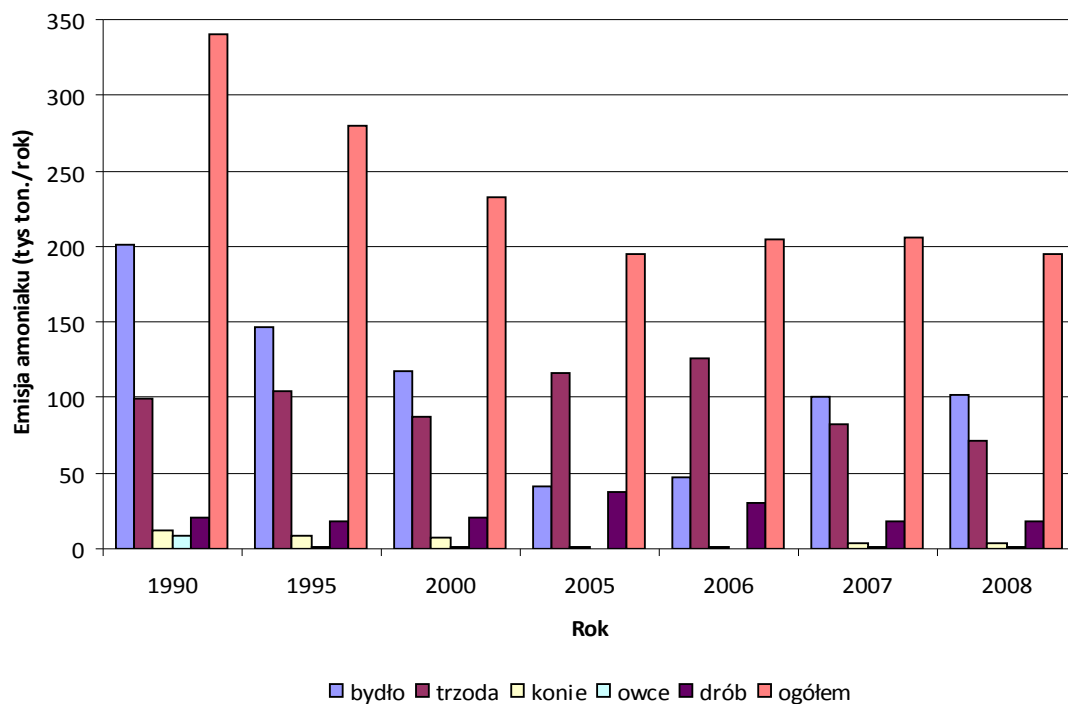
Wykazano, że w przypadku drobiu największa emisja odorów pochodzi z hodowli indyków, w następnej kolejności od kur nieśnych, a następnie od brojlerów (Schiffman i Williams 2005). Duże fermi drobiu emitują do środowiska znaczne ilości gazów pochodzenia zarówno organicznego jak i nieorganicznego. Tempo przemian metabolicznych u drobiu grzebiącego jest wysokie, co powoduje wydalanie dużej ilości odchodów i metabolitów, które ulegają szybkim procesom biochemicznym. Gazy odorotwórcze uwalniane w procesach mikrobiologicznych obecne są w pomieszczeniach inwentarskich i otoczeniu fermy, co stanowi znaczne obciążenie dla środowiska oraz dyskomfort dla mieszkańców (Dohler 2003; Radon i in. 2004).

Jednym z gazów odorotwórczych, któremu z uwagi na wysoką szkodliwość i powszechne występowanie poświęca się wiele uwagi jest amoniak. Jest to gaz

toksyczny dla zwierząt i ludzi, negatywnie oddziałuje na ekosystemy glebowo-wodne, przyczynia się do zakwaszania gleb, bierze udział w procesach eutrofizacji ekosystemów lądowych i wód powierzchniowych, a także powoduje obniżenie tolerancji ekosystemów leśnych na stres (Hyde i in. 2003; Nicholson i in. 2004; Kołacz i Dobrzański 2006; Zhang i in. 2010). Amoniak jest jednym ze związków, oprócz dwutlenku siarki i tlenków azotu, odpowiedzialnych za powstawanie kwaśnych deszczów (Aneja i in. 2003; Hyde i in. 2003; Sotiropoulou i in. 2004), ma też znaczący udział w powstawaniu wtórnych zanieczyszczeń pyłowych atmosfery (Reidy i in. 2008).

Emisja amoniaku wzrosła gwałtownie w XX wieku w związku z intensyfikacją produkcji rolniczej, w niektórych rejonach świata wzrost ten był nawet dwu lub trzykrotny (Zhang i in. 2010). Szacuje się, że główny udział w rozpowszechnianiu się amoniaku w atmosferze ma rolnictwo, a w szczególności produkcja zwierzęca. Wielu autorów określa, iż niemal 90% całkowitej emisji amoniaku pochodzi z tego źródła (Battye i in. 1994; Bouwman i in. 1997; Skinner i in. 1997; Asman i in. 1998; Marcinkowski 1998; Van Der Hoek 1998; Pain i in. 1998; Marcinkowski 2000; Misselbrook i in. 2000; Battye i in. 2003; Sotiropoulou i in. 2004; Gay i Knowlton 2005; Guz i Guz 2005; Mroczek 2006; Reidy i in. 2008; Korczyński i in. 2008).

W latach 1990 - 2008 emisja amoniaku z produkcji zwierząt gospodarskich w Polsce kształtowała się w granicach 195 – 340 tys. ton rocznie. Największy udział w tej emisji mają bydło, trzoda i drób a następnie owce i konie (rysunek 1) Obserwujemy dość znaczne zróżnicowanie emisji od poszczególnych gatunków zwierząt związane ze zmianami liczebności ich pogłowia zachodzącymi na przestrzeni lat (Roczniki Statystyczne GUS 1990 - 2008; Hutchings i in. 2001; Mroczek i Kostecka 2008).



Rys. 1. Emisja amoniaku z produkcji zwierząt gospodarskich w Polsce w latach 1990 – 2008 (Roczniki Statystyczne GUS)

Szacuje się, że emisja amoniaku z budynków inwentarskich stanowi ok. 18 – 37% całkowitej emisji tego gazu z produkcji zwierzęcej (Kavolelis 2006). Głównym źródłem amoniaku w pomieszczeniach inwentarskich są odchody zwierząt a także resztki paszy. Znaczny wpływ na emisję amoniaku w produkcji zwierzęcej ma także materiał zastosowany jako ściółka (Marcinkowski 2000; Misselbrook i Powell 2005; Atapattu i in. 2008), wilgotność, odczyn oraz temperatura ściółki i odchodów oraz otoczenia (Groot Koerkamp i in. 1999) a ponadto kompozycja paszy oraz dodatków stosowanych do paszy i ściółki (Büscher i in. 1994; Pfeiffer i in. 1994; Myczko 2003; Kavolelis 2003; Kavolelis 2006), system utrzymania zwierząt (ściółkowy, bezściółkowy), system wentylacji, obsada zwierząt (Nicholson i in. 2004; Misselbrook i Powell 2005; Kołacz i Dobrzański 2006; Vaićionis i in. 2006; Atapattu i in. 2008). Według różnych autorów stężenie amoniaku w pomieszczeniach inwentarskich wynosi od 5-10 do 30-40 ppm, nierzadko osiągając nawet 100 i więcej ppm w strefie nadściółkowej, np. w kurnikach, czy w trakcie usuwania gnojowicy z kanałów (obory, chlewnie) (Brinson i in. 1994).

Jednym z głównych źródeł emisji amoniaku w produkcji zwierzęcej jest produkcja brojlery. Brojlery utrzymywane są w zamknięciu, gdzie jakość powietrza w pomieszczeniu ma istotny wpływ na produktywność i zdrowotność zwierząt (Liu i in. 2006). Emisja amoniaku ze ściółki w brojlerniach stwarza nie tylko problemy związane z zanieczyszczeniem środowiska, ale może mieć także szkodliwy wpływ na zdrowie, dobrostan i produktywność ptaków. Wysokie stężenia tego gazu w pomieszczeniach mogą prowadzić do zmniejszenia przyrostów czy pobierania paszy. Problemy zdrowotne obejmować mogą m.in. uszkodzenia przewodu oddechowego czy zwiększoną zachorowalność na różnego rodzaju choroby jak np. zapalenie spojówek, a także upośledzać wymianę gazową (Atapattu i in. 2008). Wg Miles i in. (2004) dopuszczalne stężenie amoniaku w brojlerniach wynosi 25 – 50 ppm, zaś według dyrektywy UE (Dyrektywa UE 2007/43/EW) obowiązującej w Polsce od 30 czerwca 2010 roku stężenie to, mierzone na poziomie głów kurcząt, nie powinno przekraczać 20 ppm. Brojlery utrzymywane są na ściółce, zaś mieszanina ściółki i odchodów jest swoistym magazynem azotu i tym samym głównym źródłem amoniaku z brojlerni (Liu i in. 2006).

Cykl produkcyjny ptaków w brojlerniach wynosi zwykle 46 do 54 dni – od pierwszego dnia życia do uboju (Lacey i in. 2003). Warunki wewnątrz pomieszczeń powinny zapewniać optymalną zdrowotność ptaków i produktywność. Temperatura w brojlerniach wynosi zwykle początkowo 32 - 35°C, jest stopniowo obniżana, a po upływie ok. 3 tygodni wynosi ok. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Elwinger i Svensson 1996; Nicholson i in. 2004). Wentylacja regulowana jest zgodnie z wilgotnością i temperaturą. Według Elwinger i Svenssona (1996) wilgotność względna powinna wynosić 35 – 60%.

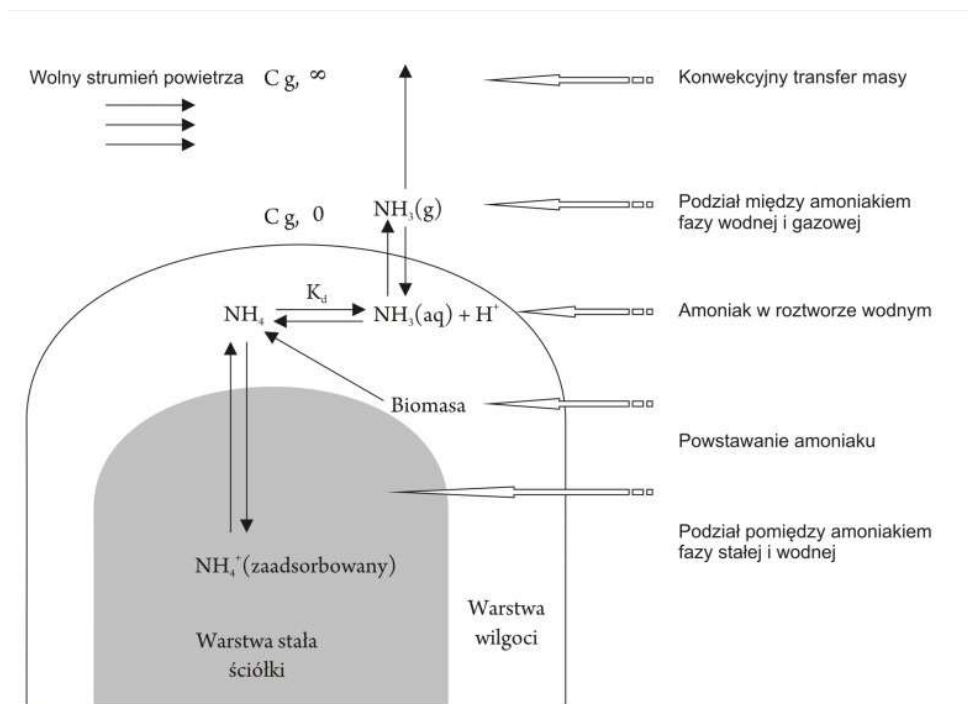
Przeprowadzono wiele badań dotyczących emisji amoniaku z brojlerni i zaobserwowano ogromne zróżnicowanie wyników, co wskazuje, że określenie stopnia emisji amoniaku z brojlerni jest procesem złożonym. Wykazano, że dane dotyczące emisji amoniaku mogą różnić się nawet 50-krotnie, od 0,24 do 12,5 g $\text{NH}_3/\text{DJP}/\text{godz.}$ (Bicudo i in. 2002).

Produkcja i emisja amoniaku obejmuje wiele dynamicznych procesów biologicznych, fizycznych i chemicznych takich jak wytwarzanie amoniaku, rozdział jonów amonowych pomiędzy fazę zaadsorbowaną a fazę stałą, równowaga pomiędzy jonami amonowymi a wolnym amoniakiem w roztworze wodnym, rozdział amoniaku

pomiędzy fazę stałą/wodną a gazową, a także proces konwekcji gazowego amoniaku do wolnego strumienia gazów (Liu i in. 2006; Liu i in. 2007).

U bydła, owiec i trzody chlewnej azot wydalany w moczu występuje w formie mocznika, który w szybki sposób hydrolizowany jest do amoniaku i dwutlenku węgla przy udziale mikroorganizmów i w zależności od odczynu gleby przechodzi jako gazowy amoniak do atmosfery lub podlega przemianie w bardzo mobilne azotany. Jest to proces enzymatyczny katalizowany przez ureazę obecną w odchodach i glebie (Parker i in 2005; Mason 2004; Kołacz i Dobrzański 2006). Azot kału jest natomiast związany w około 80-90% w połączeniach organicznych, które podlegają powolnej mineralizacji z udziałem bakterii beztlenowych, co powoduje wolniejsze uwalnianie amoniaku do atmosfery (Parker i in. 2005; Kołacz i Dobrzański 2006). U drobiu (grzebiącego i wodnego) azot w pomocie występuje w formie kwasu moczowego, którego rozkład następuje w wyniku działania drobnoustrojów i licznych enzymów.

Amoniak w ściółce powstaje w wyniku chemicznego i mikrobiologicznego rozkładu kwasu moczowego pochodzącego z odchodów ptaków. Jony amonowe (NH_4^+) w ściółce rozdzielane są na fazę zaadsorbowaną i rozpuszczoną. Rozpuszczony amoniak w warstwie płynnej na powierzchni ściółki może istnieć w formie jonów amonowych (NH_4^+) i wolnego amoniaku (NH_3). Zależność tę można wyrazić stałą dysocjacji K_d . Stała Henry'ego K_h opisuje natomiast równowagę wolnego amoniaku w fazie wodnej i gazowej. W procesie konwekcji gazowy amoniak z powierzchni ściółki emitowany jest do wolnego strumienia gazów (rysunek 2).



Rys. 2. Procesy związane z emisją amoniaku z odchodów zwierzęcych (wg. Liu i in. 2006, Liu i in. 2007)

Amoniak gazowy w atmosferze ma stosunkowo krótki czas istnienia, zwykle od kilku godzin do kilku dni (Warneck 1988; Dentener i Krutzen 1994). Jony amonowe z kolei, w formie aerozolu mogą przetrwać do 15 dni (Aneja i in. 1998). Gazowy amoniak reaguje zwykle z tlenkami azotu i siarki tworząc cząsteczki azotanu amonu ($\text{NH}_3 [\text{g}] + \text{HNO}_3 [\text{g}] \Leftrightarrow \text{NH}_4\text{NO}_3 [\text{s}]$) i siarczanu amonu ($2\text{NH}_3 [\text{g}] + \text{H}_2\text{SO}_4 [\text{g}] \Leftrightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 [\text{s}]$) (Anderson 2008).

Jak już wspomniano powyżej, jednym z czynników mających wpływ na emisję amoniaku ze ściółki jest temperatura. Temperatura powietrza ma wpływ na współczynnik wnikania masy, temperatura ściółki może mieć wpływ na stałą Henry'ego, stałą dysocjacji a także na rozproszenie i tworzenie się amoniaku w ściółce. Tak więc zmiany temperatury mogą mieć znaczny wpływ na przepływ amoniaku. W produkcji brojlerów temperatura jest jednakże często regulowana w taki sposób, aby zoptymalizować zdrowotność ptaków i produktywność. Tym samym wpływ różnic klimatycznych na przepływ amoniaku ze ściółki w brojlerni nie jest bezpośredni.

Odczyn odchodów jest jednym z najważniejszych czynników determinujących stężenie amoniaku w fazie wodnej i tym samym ma wpływ na uwalnianie tego gazu. Badania wykazały, że uwalnianie amoniaku ze ściółki jest marginalne przy pH ściółki

poniżej 7 (Reece i in. 1985). Uwalnianie amoniaku rozpoczyna się przy pH na poziomie ok. 7 i osiąga wartość maksymalną przy pH 8 i wyższym. Przeprowadzono testy laboratoryjne nad dodatkiem środków chemicznych do ściółki w celu zahamowania ulatniania się amoniaku poprzez chemiczne obniżenie wartości pH, tak aby większość azotu amonowego pozostało w formie zjonizowanej i nietlotnej. Witter i Kirchmann (1989) zbadali zastosowanie chlorku wapnia i chlorku magnezu w ciekłych odchodach kurcząt i zaobserwowali spadek całkowitej straty amoniaku odpowiednio o 30 i 50%. Moore i in. (1996) przetestowali kilka różnych środków chemicznych i zaobserwowali, że siarczan glinu, kwas fosforowy i siarczan żelaza miały dobre działanie w redukowaniu strat amoniaku. Jednakże kontrola wartości pH ściółki w warunkach hodowlanych na skalę praktyczną jest zadaniem trudnym (Carr i in. 1990; Lacey i in. 2004). Proces uwalniania gazu ma także wpływ na odczyn odchodów. Uwalnianie CO₂ zwiększa wartość pH, a ponieważ gaz ten obecny jest w odchodach w dużych ilościach, jego uwalnianie działa jako czynnik przyspieszający uwalnianie amoniaku (Ni 1998).

Średnia wilgotność ściółki wg Lacey i in. (2003) wynosi 25,3%. W badaniach przeprowadzonych przez Elwingera i Svenssona (1996) zaobserwowano, że zawartość suchej masy w świeżej ściółce wynosi 91,6 – 92,2%, zaś ok. 64% po 35 dniach. Wilgotność ściółki może mieć wpływ na prędkość konwersji kwasu moczowego do azotu amonowego (Sims i Wolf 1994). Konwersja mocznika do amoniaku może zostać zredukowana w bardzo suchych warunkach. Z drugiej zaś strony, bardzo wilgotne warunki mogą spowodować spowolnienie lub zahamowanie aktywności mikrobiologicznej i enzymatycznej dzięki małej zawartości tlenu. Parowanie wody sprzyja ulatnianiu się amoniaku, gdyż stężenie amoniaku szczątkowego w pozostałej wilgoci ulega zwiększeniu. Określono jakościowo, że wilgotna ściółka może prowadzić do dużego poziomu amoniaku w brojlerni (Elliot i Collins 1982) i może powodować problemy zdrowotne ptaków (Tucker i Walker 1992). W praktyce, na wilgotność ściółki zasadniczy wpływ ma wentylacja i system pojenia ptaków. Wycieki wody z poideł powodują nadmierną wilgotność ściółki. Odnotowano, że wyższą zawartość suchej masy i niższą emisję amoniaku obserwuje się w brojlerniach z poidłami smoczkowymi w porównaniu do tradycyjnych dzwonowych (Elwinger i Svensson 1996; Nicholson i in. 2004). Podobne wyniki uzyskali Da Borso i Chiumenti (1999), którzy zaobserwowali, że budynki wyposażone w urządzenia zapobiegające wylewaniu się wody z poideł

na ściółkę emitują mniejszą ilość amoniaku w porównaniu z tradycyjnymi. Carr i in. (1990) sugerują, że w celu kontroli emisji amoniaku pożądane jest utrzymywanie wilgotności ściółki na poziomie poniżej 30%. Niemniej jednak, zbyt sucha ściółka może powodować tworzenie się większej ilości cząstek pyłu, które służą jako środek transportujący dla amoniaku. Procesy zachodzące w ściółce są złożone i nadal nie do końca rozpoznane.

Istnieją dwie podstawowe zasady kontroli odorów: ich redukcja u źródła powstawania oraz usunięcie odorów ze strumienia gazów, zanim ulegną rozproszeniu w atmosferze (Rappert i Müller 2005). Pierwszy cel można uzyskać stosując np. dodatki żywieniowe, dzięki którym zmniejszana jest ilość odorów uwalnianych z odchodów (Galyean i Gleghorn 2000; Eriksson i in. 2001, Eriksson i in. 2003, Gleghorn i in. 2004; Cole i in. 2005), zaś odory już wyemitowane usunąć można na drodze różnego rodzaju zabiegów jak np. zmiana właściwości fizykochemicznych odchodów czy zastosowanie różnego rodzaju dodatków higienizacyjnych (Parker i in. 2005; Kołacz i Dobrzański 2006; Moore i in. 2008). Generalnie metody pozwalające na ograniczenie emisji amoniaku z produkcji zwierzęcej możemy podzielić na żywieniowe, techniczne, zoohigieniczne i technologiczne (Albihn i Vinneras 2007; Opaliński i in. 2008). Metody żywieniowe polegają na optymalizacji składu pasz oraz sposobu żywienia zwierząt gospodarskich, pod kątem zmniejszania wydalania azotu w odchodach. Cel ten uzyskać można przez obniżenie poziomu białka ogólnego w mieszankach dla zwierząt, optymalizację stosunku białka i aminokwasów do energii, stosowanie wyższej jakości białka a także dodatków czystych aminokwasów (uzupełnienie niedoborów), dążenie do poprawy strawności i higieny pasz a także stosowanie dodatków paszowych (substancje antybakteryjne, enzymy paszowe).

Metody techniczne i zoohigieniczne są to metody mające za zadanie optymalizację mikroklimatu w pomieszczeniach inwentarskich oraz poprawę jakości ściółki. W metodach technicznych uzyskuje się to między innymi poprzez zastosowanie promieniowania ultrafioletowego, ozonowania powietrza, ujemnej jonizacji powietrza, wentylacji mechanicznej z recyrkulacją umożliwiającą zamknięty obieg powietrza i zmniejszającą wyprowadzanie zanieczyszczeń powietrza na zewnątrz budynków. Ponadto prowadzone są intensywne badania nad zastosowaniem biofiltrów (Tymczyna i in. 2004; Tymczyna i in. 2007). Najważniejszą częścią urządzenia jest komora

biofiltracyjna, której podłoże stanowią naturalne składniki takie jak: trociny, torf, kompost lub słoma pszenna oraz bakterie występujące naturalnie lub specjalnie wprowadzone do złoża biofiltracyjnego.

Metody zoohigieniczne są grupą metod stosowanych obecnie najczęściej i polegają zasadniczo na zabiegach mających utrzymać ściółkę w stanie względnie suchym, co uzyskuje się dzięki zastosowaniu odpowiedniej ilości i jakości materiałów ściółkowych (słoma, wióry, trociny), zapewnienie optymalnych warunków termiczno-wilgotnościowych dzięki prawidłowo funkcjonującej wentylacji i ogrzewaniu budynków. Pomocna w ograniczaniu emisji amoniaku jest systematyczna kontrola zużycia wody, której nadmierne pobieranie świadczy o błędach żywieniowych lub wyciekach z instalacji oraz z poideł.

Najbardziej widoczne efekty w zmniejszaniu emisji amoniaku uzyskuje się jednakże poprzez dodawanie do ściółki preparatów chemicznych, mineralnych lub mikrobiologicznych neutralizujących wydzielanie amoniaku i innych gazów a także wykazujących działanie bakteriobójcze i dezodoryzujące. Działanie stosowanych preparatów polega na wiązaniu amoniaku w trwałe połączenia chemiczne, oddziaływaniu na rozwój mikroflory lub właściwości fizykochemiczne ściółki (osuszenie oraz obniżenie odczynu ściółki), co w konsekwencji powoduje ograniczenie przemian urykolitycznych a tym samym zmniejszenie ilości amoniaku w pomieszczeniach (Meisinger i Jokela 2000; McCrory i Hobbs 2001).

Chemiczne kontrolowanie emisji amoniaku ze ściółki wydają się dość proste, gdyż amoniak łatwo reaguje z innymi związkami chemicznymi. Zaletą takiego środka chemicznego powinien być brak toksycznego działania, niski koszt oraz łatwość stosowania. Do neutralizacji amoniaku w pomieszczeniach inwentarskich używa się m.in. formaldehydu, wapna palonego, superfosfatu, kwasów organicznych (octowego, propionowego), różnorodnych preparatów fungistycznych. Jako alternatywę dla związków chemicznych stosuje się także coraz częściej preparaty naturalne w postaci zeolitów, glinokrzemianów, dolomitów, pewnych odmian węgla brunatnego, preparatów torfowych, czy też w ostatnim czasie preparatów zawierających saponiny (Duggan i in. 2001; Słobodzian-Ksenicz i in. 2008; Grela i in. 2009; Gutarowska i in. 2009).

Dotychczasowe sposoby optymalizacji warunków utrzymania zwierząt w budynkach inwentarskich, np. poprzez zabiegi dezynfekcyjne, dodatki do ściółki (gnojowicy) preparatów mineralnych, mikrobiologicznych i chemicznych, nie rozwiązują problemów, tym bardziej, że wiele z nich nie może być stosowanych w obecności zwierząt (Stringfellow i in. 2009). Wciąż poszukuje się uniwersalnych preparatów, które mogłyby w ściółce (z odchodami zwierząt) ograniczyć jednocześnie rozwój mikroflory i emisję gazów, głównie amoniaku, a jednocześnie byłyby nieszkodliwe dla zwierząt i środowiska. Ważne jest też, aby poprawiały wartość nawozową obornika, pomiotu itd., który jest ważnym źródłem nawożenia organicznego, odgrywającego coraz większą rolę w gospodarce nawozowej (szczególnie w gospodarstwach ekologicznych i ogrodnictwie), zgodnie z zasadą rolnictwa zrównoważonego.

Być może takim środkiem może okazać się nanosrebro bardzo często stosowane w ostatnim czasie w nanotechnologii.

Srebro jest metalem szlachetnym występującym naturalnie najczęściej w postaci rudy mineralnej w połączeniu z innymi pierwiastkami. W układzie okresowym pierwiastków zajmuje ono 47 pozycję, a jego masa atomowa wynosi 107,8. Pierwiastek ten posiada dwa naturalne izotopy o masach 106,9 oraz 108,9 w ilości 52 i 48%. W związku ze swymi szczególnymi właściwościami - bardzo wysoką przewodnością elektryczną i cieplną - srebro znajduje bardzo szerokie zastosowanie. Już w starożytności wykorzystywano je w medycynie, jubilerstwie, do wyrobu zastaw stołowych, pojemników na żywność, monet, ubrań, materiałów budowlanych oraz jako środek dezynfekcyjny (Silver 2003; Panyala i in. 2008). Na przestrzeni ostatnich lat jesteśmy świadkami gwałtownego powrotu do stosowania srebra jako środka biobójczego, bądź to w formie roztworów, zawiesin i/lub form nanocząsteczkowych.

W środowisku i w organizmach żywych srebro może być obecne w różnych formach. Najbardziej powszechne jest srebro metaliczne, sole srebra (srebro jonowe), kompleksy srebra i srebro koloidalne. Srebro metaliczne reaguje z niektórymi kwasami i solami w wyniku czego powstaje np. azotan srebra. Wodne roztwory rozpuszczalnego azotanu srebra zawierają srebro w postaci uwodnionych kationów srebra $Ag(H_2O)_n^+$, które są typowym przykładem srebra jonowego. Kationy srebra mogą jednakże tworzyć kompleksy z różnego rodzaju ligandami organicznymi i nawet jeśli

w cząsteczce takiego kompleksu jest obecny kation srebra, całkowity jej ładunek może być obojętny. Co więcej, wysoce stabilne kompleksy są to te, które nie dysocjują w roztworach czy płynach biologicznych.

Srebro stosowane w rozsądnej ilości nie ma prawdopodobnie negatywnego wpływu na organizm i charakteryzuje się naturalną aktywnością biobójczą wobec licznych patogenów takich jak bakterie, wirusy, grzyby czy drożdże (Morones i in. 2005; Margaret i in. 2006; Sarkar i in. 2007; Zhang i Sun 2007). Sole srebra znajdują zastosowanie w leczeniu chorób psychicznych, uzależnienia od nikotyny, chorób przewodu pokarmowego oraz chorób zakaźnych (Gulbranson i in. 2000; Drake i Hazelwood 2005). W medycynie stosowane są nowego rodzaju cewniki pokryte srebrem zapobiegające infekcjom (Samuel i Guggenbichler 2004).

Nanosrebro znajduje szereg zastosowań m.in. w medycynie, lecznictwie, farmacji, kosmetologii, rolnictwie, produkcji zwierzęcej, przemyśle chemicznym i do dezynfekcji. Zastosowanie srebra koloidalnego w farmakologii ogranicza się głównie do wytwarzania, przy jego obecności, opakowań na leki, pełniąc przy tym funkcję bakteriobójczą. Oprócz tego nanosrebro stosowane jest z powodzeniem jako komponent kremów, maści i żeli spełniając rolę składnika bakteriobójczego. Używane jest także jako składnik bakteriobójczych mydeł i past do zębów, jest stosowane w szczoteczkach do zębów, płynach do płukania jamy ustnej czy płynach do płukania protez zębowych. Nanocząstki srebra obecne są w opatrunkach dentystycznych i plombach. Istnieje wiele produktów, w skład których wchodzi srebro koloidalne. Szczególnie zyskała na tym służba zdrowia, ponieważ nanosrebro zapewnia trwałą sterylizację powietrza. Nanocząstki srebra używane są jako dodatek do farb, którymi pokrywane są ściany, sufity sal szpitalnych, operacyjnych i pokoi zabiegowych oraz aparatura medyczna. Nanosrebro służy do impregnacji tych elementów, które mają posiadać właściwości bakteriobójcze. Powstało wiele produktów z jego dodatkiem między innymi: odzież ochronna, materace, pościel, opatrunki, rękawiczki, strzykawki, maski, respiratory. Nanosrebro służy do uzdatniania wody pitnej i uzdatniania wody w basenach kąpielowych. Znajduje szczególne i bardzo istotne zastosowanie w produkcji zwierzęcej i rolnictwie. Rozwój nanotechnologii w rolnictwie i produkcji zwierzęcej przyczynił się do zapobiegania epidemiom i chorobom w hodowli zwierząt. Głównym zadaniem płynów na bazie nanosrebra jest sterylizacja narzędzi, sprzętów

i wyposażenia pomieszczeń inwentarskich oraz opakowań i miejsc składowania zarówno żywności jak i odchodów zwierzęcych. W produkcji zwierzęcej stosuje się nanosrebro do odkażania zwierząt, w tym racic, kopyt oraz wymion. Dzięki tak silnemu działaniu bakterio i grzybobójczemu oraz dezodorującemu nanocząsteczek znalazły one zastosowanie przy odkażaniu i ochronie powierzchni podłoga, ścian, przegród budynków stajni i obiektów hodowlanych. Służy do odkażania i ochrony szklarni, a także pojemników do przechowywania pasz i ściółki. Wykorzystywane jest także w produkcji tworzyw polimerowych. Srebro koloidalne znalazło zastosowanie przy impregnacji ubrań roboczych, materiałów i opakowań. Istotną informacją jest to, że preparaty zawierające nanosrebro uważane są za bezpieczne dla człowieka i zwierząt, a ich skuteczność w likwidacji bakterii i grzybów (jak podaje literatura) sięga ponad 99 %. (Banach i in. 2007).

Działanie nanosrebra prowadzi do degradacji komórek bakteryjnych, grzybów a nawet wirusów. Działanie to zbliżone jest do tego, które wykazują antybiotyki. Problemem w zastosowaniu antybiotyków polega na tym, że nieustannie powstają nowe szczepy bakterii uodparniające się na ich działanie. Nanosrebro wpływa na wzrost, ruch oraz rozmnażanie komórek bakteryjnych, a także blokuje proces oddychania i reakcje metaboliczne zachodzące w komórce. Działanie nanosrebra polega na otoczeniu komórki bakteryjnej szczelną warstwą, co powoduje utrudnienie w poruszaniu się komórki. Dzięki otoczce z nanosrebra wici nie są w stanie wprowadzić komórki w ruch i uniemożliwione jest przeprowadzenie wymiany materiału genetycznego (koniugacji). Wymiana materiału genetycznego między komórkami odgrywa tu tak ważną rolę, ponieważ jest nośnikiem informacji odpornościowej na działanie elementów środowiska zewnętrznego. Komórka bakteryjna otoczona warstwą nanosrebra traci również zdolność do rozmnażania się przez podział komórki. Dzieje się tak, gdyż nanocząsteczki srebra blokują proces budowy nowych ścian komórkowych bakterii, które zbudowane są głównie z mureiny, o strukturze cukrowo – peptydowej, oraz aminokwasu cysteiny. Schemat dezaktywacji komórek bakteryjnych przez srebro koloidalne polega na tym, że katalizuje proces konwersji jonów tlenu i tlenu cząsteczkowego do tlenu atomowego posiadającego zdolność sterylizacji. Uniemożliwienie powstania nowych ścian komórkowych i obumieranie komórek poprzez degradację istniejącej już ściany komórkowej odbywa się poprzez reakcję tlenu

atomowego z grupami tiolowymi cysteiny. Reakcja ta prowadzi do powstania wiązań siarczkowych między aminokwasami. Otoczka nanosrebra niszczy również błonę komórkową, oddziałując na jej potencjał w taki sposób, że zakłóca działanie pomp sodowo – potasowych, co z kolei prowadzi do zmiany objętości komórki (pęcznienia) i zaburza transport cukrów i aminokwasów do jej wnętrza. Właściwości katalityczne nanosrebra prowadzą do denaturacji białka poprzez powstanie w komórkach bakterii wolnych protonów. Protony powodują rozerwanie wiązań disiarczkowych. Zaburzenia w procesie oddychania komórki bakteryjnej polegają na zakłóceniu przepływu elektronów w komórce, a to doprowadza do całkowitego uniemożliwienia oddychania. Srebro blokuje reakcje metaboliczne zachodzące w komórkach. Dezaktywuje katalityczne działanie enzymów reagując z grupami –SH enzymów (Cho i in. 2005; Morones i in. 2005; Pal i in. 2007; Shrivatsava i in. 2007; Rai i in. 2009; Sharma i in. 2009; Li i in. 2010). Mechanizm oddziaływania nanosrebra na grzyby i wirusy jest analogiczny z wyżej opisanym na przykładzie komórek bakteryjnych. Nanosrebro zaburza gospodarkę wodną grzybów oraz wpływa na katalityczny rozkład podłoża lipidowo – białkowego wirusów (Banach i in. 2007; Bielecki i Kalinowska 2008). Uważa się ponadto, że nanocząstki srebra wykazują właściwości przeciwzapalne (Sawosz i in. 2010). Sawosz i in. (2009) przeprowadzili badania mające na celu określenie potencjalnej toksyczności m.in. cząstek nanosrebra wobec zarodków kurzych. Nie zaobserwowano negatywnego wpływu nanocząstek srebra na przeżywalność, wzrost, rozwój i budowę morfologiczną zarodków, jak również na aktywność enzymów oraz stężenie glukozy, trójglicerydów i cholesterolu w surowicy krwi. W badaniach Sikorskiej i in. (2009) zaobserwowano z kolei, że nanosrebro nie ma negatywnego wpływu na skład mineralny kości zarodków kurzych, ich strukturę i właściwości mechaniczne, natomiast srebro w postaci cząsteczkowej kumuluje się w kościach.

Opracowanych zostało wiele metod wytwarzania nanocząstek srebra, należą do nich między innymi: redukcję fotochemiczną, redukcję chemiczną, redukcję elektrochemiczną, nakładanie termiczne, ablację laserową, napromieniowanie mikrofalami, metodę sonochemiczną oraz próżniowe napylenie jonowe. Najbardziej rozpowszechnioną metodą otrzymywania nanosrebra jest redukcja chemiczna (Banach i in. 2007; Chen i Schluesener 2007; Winjhoven i in. 2009; Kowalska-Górska i in. 2010, Szyrkowska i Zwoździak 2010).

Nanosrebro dzięki swojej budowie, stanowiącej struktury rzędu milionowych części milimetra, jest bardzo silnie reaktywną substancją. Nasuwa się pytanie czy jest ono szkodliwe dla organizmów żywych i środowiska. Jeżeli tak, to przy jakich dawkach srebra dochodzi do negatywnego oddziaływania tego pierwiastka na organizm. Do tej pory nie zostało to ustalone. Pojawiły się natomiast informacje mówiące o nietoksyczności srebra koloidalnego. Wiadomo jest również, że sole srebra i związki białkowe srebra wykazują toksyczność. Absorpcja srebra do organizmu zachodzi przez płuca i przewód pokarmowy, może też dojść do wchłaniania tego pierwiastka przez skórę (Boosalis i in. 1987; Panyala i in. 2008). Kiedy dostanie się do układu krwionośnego i połączy z albuminami osocza krwi, wędruje do wątroby gdzie srebro jest wiązane w organizmie. Dzienna dawka srebra, pobierana przez człowieka, wynosi około 1,8–80 µg, z czego wydalane jest około 1 µg dziennie (Chojnacka i in. 2008).

Ekolodzy jednakże ostrzegają, iż powszechne stosowanie tak silnego środka bakteriobójczego może mieć poważne negatywne konsekwencje dla bakterii w naturalnych systemach, jeśli bakteriobójcze nano-preparaty uwolnione zostaną do środowiska naturalnego, wód itp. Jest coraz więcej dowodów na to, że nanocząstki srebra są wysoce toksyczne nie tylko dla bakterii ale także dla komórek ssaków (Braydich-Stolle i in. 2005; Wen i in. 2007; Gopinath i in. 2008). Wykazano, że nanocząstki srebra powodują uszkodzenie komórek mózgu (Hussain i in. 2006), wątroby (Hussain i in. 2005) czy hemocytoblastów (Braydich-Stolle i in. 2005). Długotrwały kontakt ze srebrem koloidalnym bądź solami srebra może powodować choroby takie jak srebrzyca (Chen i Schlusener 2007). Westhofen i Schafer (1986) zaobserwowali, że powinowactwo srebra do błon komórkowych i struktur neuronowych oraz depozycja srebra jako związku nierozpuszczalnego (Ag_2S) powoduje postęp tej choroby określanej ogólnie mianem argyria. Jej objawem jest niebieskawoszare zabarwienie skóry wynikające z depozycji nierozpuszczalnych albuminianów srebra.

Srebro, nawet w skali makro, jest bardzo toksyczne dla ryb, alg, niektórych roślin, grzybów, skorupiaków i bakterii (np. heterofilnych bakterii wiążących azot czy chemolitotroficznych bakterii tworzących glebę). Na toksyczność tego metalu wpływa kilka czynników jak rozpuszczalność, swoistość wiązania do miejsc biologicznych itp. (Eisler 1996; Hogstrand i Wood 1996). Nanosrebro podawane zwierzętom dożylnie,

w wysokich dawkach, prowadzi do śmierci na skutek obrzmienia i przekrwienia płuc. Zaobserwowano szkodliwe działanie srebra u ryb słodkowodnych, gdzie objawami były zaburzenia transportu sodu i chloru przez błony komórek skrzelii (Żelazowska i Pasternak 2007; Hill 2009).

Jak wynika z prezentowanego przeglądu literatury, zastosowanie nanosrebra może być bardzo różnorodne i niesie za sobą niewątpliwe korzyści ale również i zagrożenia. Biorąc pod uwagę cechy fizyko-chemiczne i biologiczne nanocząstek srebra wydaje się, że może mieć ono zastosowanie jako składnik kompleksów stosowanych do dezynfekcji m.in. w chowie zwierząt, różnych gałęziach przemysłu, czy też w transporcie. W niniejszych badaniach w charakterze nośników dla zawiesiny nanosrebra, które miały za zadanie ułatwienie aplikacji preparatu w warunkach brojlerni zastosowano wermikulit, haloizyt i bentonit, natomiast w celu zwiększenia pojemności sorpcyjnej uzyskanych preparatów dodano humodetrynit.

Wermikulit jest minerałem ilastym należącym do grupy glinokrzemianów. Powstaje podczas naturalnego procesu wietrzenia biotyту, flogopitu, niektórych chlorytów oraz innych krzemionów zasobnych w magnez. Jego wzór chemiczny przedstawia się następująco: $(Mg, Fe, Al)_3(Al, Si)_4O_{10}(OH)_2 \cdot 4H_2O$. Najistotniejszą cechą wermikulitu jest fakt, że w czasie obróbki wysokotemperaturowej oddaje on zgromadzoną wodę międzypakietową i zwiększa swoją objętość 10-25 razy przyjmując formę spęczniałych, mineralnych harmonijek. Materiał otrzymany w wyniku takiego procesu nazywany jest wermikulitem ekspandowanym i cechuje się wyjątkową odpornością na wysokie temperatury (do 1200°C). Minerał ten znajduje wiele zastosowań, między innymi ze względu na swe właściwości sorpcyjne, zdolność do przyjmowania i oddawania wody, wyjątkową lekkość, ognioodporność, zdolność do wymiany kationów (Addison 1995; Patkowska-Sokoła i in. 2008; Opaliński i in. 2009). Stosowany jest w przemyśle, rolnictwie czy budownictwie (Perez-Maqueda i in. 2003; Patkowska-Sokoła i in. 2008). Malandrino i in. (2006) zaprezentowali badania dotyczące możliwości zastosowania wermikulitu jako środka do oczyszczania wód z metali toksycznych, zaś Da Fonseca i in. (2005) zastosowali ten minerał jako adsorbent metali ciężkich z roztworów wodnych, podczas gdy Abollino i in. (2007) z zanieczyszczonych gleb. Seo i in. (2004) zaproponowali natomiast zastosowanie wermikulitu jako dodatku do kompostu powstającego z resztek żywności.

Haloizyt jest to minerał z gromady krzemianów, zaliczany do grupy minerałów ilastych (grupa kaolinitu), powstaje w wyniku procesów wietrzenia. Należy do grupy minerałów pospolitych i szeroko rozpowszechnionych. Zazwyczaj tworzy bardzo małe, widoczne pod bardzo dużym powiększeniem, kryształy o pokroju rurkowym. Występuje w skupieniach zbitych, masywnych (przypominających porcelanę), ziemistych i proszkowych. Jest podobny do montmorillonitu i kaolinitu. Jest przeświecający. Bardzo często zawiera domieszki chromu, żelaza, magnezu, niklu, miedzi. Suchy rozpada się na nieforemne okruchy. W wodzie kruszy się, lecz nie pęcznieje. W temperaturze ok. 60 °C i przy długotrwałym suszeniu traci wodę i przechodzi w metahaloizyt – o składzie chemicznym identycznym z kaolinitem lecz o różnej, zaburzonej strukturze. Wzór chemiczny haloizytu jest następujący: $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$. Haloizyt odznacza się dużą powierzchnią właściwą (60-500 m²/g w zależności od sposobu przetwarzania), dużą jonowymiennością, wysoką odpornością chemiczną w szerokim zakresie pH a także wysoką sorpcyjnością, odpornością chemiczną, wytrzymałością mechaniczną i właściwościami antypoślizgowymi (Korniewicz i in. 2006). Z haloizytu produkuje się szeroką gamę sorbentów mineralnych w postaci granulatu luzem, rękawów, poduszek i mat sorpcyjnych. Przeznaczone są do pochłaniania substancji kwaśnych, zasadowych, ropopochodnych oraz różnych mieszanek emulsyjnych. Stosowane są z powodzeniem do likwidacji rozlewisk w zakładach chemicznych przez służby ratownicze, straż pożarną, stacje paliw, pogotowie techniczne, zakłady remontowe itp. (Wilson 2003; Szeja i in. 2007).

Bentonit z kolei jest skałą barwy białej, szarej, żółtawej lub brunatnej, powstającą z przeobrażenia tufów i tufitów, składającą się głównie z montmorillonitu. Powstaje na skutek halmyrolizy w środowisku o odczynie w granicach 9-8. W obrazie mikroskopowym: podstawowe tło skały to bardzo drobna substancja ilasta (smektyt), z widocznymi przy większym powiększeniu zarysami ostrokrawędzistych okruchów szkliska wulkanicznego. W skale znajdują się ponadto rozsiane ostrokrawędziste ziarna kwarcu. Wzór chemiczny bentonitu przedstawia się następująco: $\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 4\text{SiO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$ (Barbanti i in. 1997; Kawatra i Ripke 2001; Wyszomirski i Lewicka 2005; Korczyński i in. 2008; Opaliński i in. 2008; Opaliński i in. 2009). Minerał ten posiada wiele korzystnych cech jak zdolność wymiany jonowej, podatność na dyspergowanie wodą, bardzo dobre właściwości sorpcyjne, zdolność pęcznienia czy tworzenia zawiesin tiksotropowych

(Wyszomirski i Lewicka 2005). Bentonit znajduje szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu, m.in. w odlewnictwie, wiertnictwie, budownictwie do produkcji tzw. zawiesziny bentonitowej, służącej m.in. do zabezpieczania ścian wąskich otworów przy wszelkiego rodzaju wierceniach, oraz jako składnik przy tworzeniu mas formierskich, czy w ceramice a także w ochronie środowiska i rolnictwie (Barbanti i in. 1997; Ito 2006; Mikła i in. 2008). Używany jest także przy wyrobie win - ponieważ posiada unikalną zdolność wchłaniania białka, używany jest do klarowania wina. Magnoli i in. (2008) zaprezentowali badania dotyczące zastosowania bentonitu jako środka do oczyszczania paszy dla brojlerów zanieczyszczonej aflatoksynami, podobne badania przeprowadzili też Shi i in. (2009) oraz Pasha i in. (2007), zaś Fomina i Gadd (2002) zaobserwowali korzystny wpływ bentonitu na immobilizację biomasy grzybów w celu usuwania metali toksycznych ze środowiska wodnego. Dodatek bentonitu do paszy dla zwierząt pozwala na uzyskanie zwiększonych przyrostów, poprawę wykorzystania paszy oraz ogólnego stanu zdrowia zwierząt (Eya i in. 2008). Brak jest natomiast badań dotyczących zastosowania kompleksów nanosrebra i materiałów sorpcyjnych np. jako środków biobójczych czy dezynfekcyjnych.

Potencjalne zastosowanie preparatów skomponowanych z nanosrebra w połączeniu z sorbentami mineralnymi może być czynnikiem zakłócającym homeostazę innych pierwiastków w organizmie i otaczającym środowisku. W pracy przeanalizowano zatem także transfer pierwiastków antagonistycznych wobec srebra, tj. cynku, miedzi i selenu, do organizmu kurcząt brojlerów. Antagonizm pierwiastków polega na zahamowywaniu absorpcji innych pierwiastków w przewodzie pokarmowych i niekorzystnym oddziaływaniu na biochemiczne procesy zachodzące w organizmie. Mechanizm antagonistycznego oddziaływania może opierać się na prostych reakcjach chemicznych pomiędzy pierwiastkami bądź też na adsorbowaniu na powierzchni koloidalnych cząstek innych jonów. Do działań antagonistycznych zaliczana jest także konkurencja aktywnych jonów podczas transportu przez ścianę jelita, rywalizacja pomiędzy jonami zajmującymi to samo miejsce w aktywnym centrum enzymu, czy też konkurencja we wchodzeniu w wiązania z substancjami transportującymi pierwiastki we krwi. Szczególne oddziaływanie pierwiastków polega na łagodzeniu toksycznego wpływu niektórych metali obecnych w paszy i organizmie (Underwood 1971; Kornegay i in. 1995; Jamroz 2001).

Cynk, nazywany często „pierwiastkiem życia”, zaliczany jest do metali przejściowych z grupy cynkowców. Odkryty został około 1500 lat p.n.e. w Chinach lub Indiach, zaś do Europy trafił dopiero w XVII wieku. Cynk należy do metali ciężkich, ale w odpowiednich ilościach jest niezbędny dla życia roślin, zwierząt i człowieka (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Seńczuk 2005; Jamroz 2009). Pierwiastek ten obecny jest w skorupie ziemskiej pod postacią minerałów takich jak blenda cynkowa i smitsonit w stężeniu 75 ppm. Jest to pierwiastek bardzo reaktywny w środowisku alkalicznym jak i kwasowym, ale nie reaguje z wodą w warunkach obojętnych. Metal ten ma barwę błękitno białą i charakteryzuje się kruchością.

Cynk jest pierwiastkiem bardzo rozpowszechnionym w organizmie jako składnik metaloenzymów i metaloprotein (Vallee i Falchuk 1993; Nourmohammadi i in. 2000). Białka palca cynkowego, będącego rodzajem domeny białkowej, odgrywają integralną rolę w regulacji ekspresji genów, w konsekwencji wpływając na liczne funkcje organizmu jak podział komórki, wzrost, produkcję hormonów, metabolizm, kontrolę apetytu i funkcje odpornościowe (Vallee i Falchuk 1993; Predieri i in. 2003). Cynk występuje w białkach wiążących DNA i bierze bezpośredni udział w wiązaniu cząsteczki kwasu nukleinowego przez białko (Prasad 2009). W licznych enzymach cynk odgrywa rolę katalityczną, współdziałającą bądź strukturalną, regulując wiele procesów fizjologicznych takich jak metabolizm, wzrost i odporność (Vallee i Falchuk 1993; Ibs i Rink 2003). Wiele czynników transkrypcyjnych i białek regulatorowych, a także innych typów białek wiążących DNA, zawiera motyw palca cynkowego (Klotz i in. 2003). Cynk potrzebny jest do wywarzania ochronnej keratyny na racicach i strzykach a także do utrzymania strukturalnej integralności i zdrowia racic i wymienia (Tomlinson i in. 2004; Tomlinson i in. 2008). Cynk bierze czynny udział w mineralizacji kośćca, jest również istotny przy procesie gojenia się ran. Pomaga zwalczać infekcje, gdyż dzięki niemu prawidłowo działa układ odpornościowy. Cynk niezbędny jest do prawidłowego rozwoju limfocytów T, białych krwinek odpowiedzialnych za niszczenie wirusów i bakterii (Prasad 2009). Mikroelement ten umożliwia także prawidłowe wydzielanie witaminy A i cholesterolu, a także insuliny przez trzustkę, reguluje ciśnienie krwi i rytm serca, zwiększa produkcję plemników. W świecie roślin odpowiedzialny jest za ich prawidłowy wzrost i rozwój.

Dzienne spożycie cynku przez dorosłego człowieka powinno mieścić się w granicach 15–20 mg, zaś minimalna dzienna dawka powinna wynosić 5 mg. Wchłanianie cynku regulowane jest hormonalnie, zależy od zapotrzebowania organizmu w ten składnik. Jego wchłanianie zachodzi przez przewód pokarmowy w jelicie cienkim i kształtuje się na poziomie 10% – 40%. Absorpcja cynku uzależniona jest od pewnych pierwiastków takich jak żelazo i miedź, utrudniających absorpcję, ułatwiają ją natomiast kwas cytrynowy i białka zwierzęce. Aby zapobiec niedoborom cynku należy stosować odpowiednie żywienie. Jednym z najlepszych źródeł tego mikroelementu jest czerwone mięso. Wegetarianie powinni zwracać szczególną uwagę na zawartość cynku w spożywanym pokarmie, ponieważ fityniany obecne w produktach roślinnych zmniejszają jego wchłanianie (King i Turnlund 1989; Kabata-Pendias i Pendias 1999; Elmadfa i Muskat 2003).

Do źródeł cynku zaliczyć można świeże ostrygi zawierające 45 – 75 mg Zn/100 g, małże zawierają 21 mg Zn/100 g, kielki pszenne i otręby 13 – 16 mg Zn/100 g, żółtko jaja kurzego 3,5 mg Zn/100 g, całe jaja 1,1 mg/100 g. Bardzo dobrym źródłem cynku jest ciemne pieczywo i kasze czy też produkty mleczne (Kabata-Pendias i Pendias 1999).

Niedobór cynku jest trudny do rozpoznania ze względu na brak jednoznacznych objawów. Niewielkie niedobory tego mikroelementu powoduje wycieńczenie i wyniszczenie organizmu (Shankar i Prasad 1998; Black 2003; Ibs i Rink 2003). Objawami jest degradacja błon śluzowych i skóry. Niedobór cynku potrafi wywołać nerwicę lękową oraz depresję. Następstwami braku cynku w organizmie jest wypadanie włosów. Cynk niezbędny jest do prawidłowego rozwoju skóry i mieszków włosowych. Niedobór prowadzi również do osłabienia paznokci, infekcji błon śluzowych w tym infekcji gardła, oczu i zespołu suchego oka. Cynk reguluje gospodarkę witaminą A, co oznacza, że przy jego niedoborze wystąpi również szereg nieprawidłowości związanych z działaniem tej witaminy w organizmie. Zaburzenia w gospodarce witaminą A prowadzą do tak zwanej kurzej ślepoty, a to z kolei prowadzi do dalszej degeneracji błony śluzowej oka. Po za tym niedobór tego pierwiastka prowadzi do niedokrwistości, złego gojenia się ran, opóźnienia wzrostu, zmian skórnych, łysienia, złej tolerancji glukozy, biegunki, utraty apetytu, osłabienia odporności, zaburzenia smaku i węchu (Hambridge i in. 1987; Sandström 1997;

Shankar i Prasad 1998; Virden i in. 2004; Farasati i Tohidi 2007). Stwierdzone zostało lecznicze działanie cynku przy takich schorzeniach jak wrzody żołądka, żylaki, owrzodzenia, trądzik, choroby skórne i reumatyzm (Agett i Favier 1993). Cynk nie jest magazynowany w organizmie (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Seńczuk 2005). Także nadmiar cynku jest toksyczny dla organizmu i powoduje wtórny niedobór miedzi. Objawami nadmiaru cynku są wymioty i niedokrwistość.

Cynk odgrywa istotną rolę u drobiu jak składnik licznych metaloenzymów jak np. anhidraza węglanowa która niezbędna jest do formowania skorupy jaja w gruczole skorupowym kury. Inne ważne metaloenzymy cynkowe u drobiu to karboksypeptydazy i polimerazy DNA. Enzymy te odgrywają ważną rolę w kształtowaniu oporności, w gojeniu się ran i utrzymywaniu dobrej kondycji skóry oraz w produkcji hormonów (testosteronu i kortykosteroidów). Typowe objawy niedoboru cynku u drobiu obejmują osłabienie układu odpornościowego, słabe pierzenie się i zapalenie skóry, niepłodność i niską jakość skorupy (Scheideler 2008).

Selen jest pierwiastkiem chemicznym należącym do grupy niemetalu. Odkryty został w 1817 roku przez J.J. Berzeliusa (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Seńczuk 2005; Boruta i in. 2007; Upton i in. 2008; Jamroz 2009). Selen występuje w skorupie ziemskiej jako zanieczyszczenie rud siarczkowych w ilości 0,005 ppm. W warunkach laboratoryjnych otrzymywany jest przez redukcję hydrazyną kwasu selenowego (II) H_2SeO_4 .

Selen znalazł zastosowanie w kserokopiarkach i fotokomórkach ze względu na zależność przewodnictwa elektrycznego od naświetlania. Związki selenu używane są jako półprzewodniki w ogniwach fotowoltanicznych. Selen służy jako dodatek do stali i szkła SeS_2 siarczek selenu stosowany jest jako dodatek do szamponów przeciwłupieżowych i leków o podobnym działaniu. Selenian sodu Na_2SeO_3 służy jako silny środek owadobójczy. Selen charakteryzuje się szeregiem właściwości chemicznych, które zbliżone są do właściwości chemicznych jakie wykazuje siarka. Kwas selenowy (VI) H_2SeO_4 charakteryzuje się bardzo silnymi właściwościami utleniającymi. Cechą charakterystyczną jest również to, że ani spalanie ani odwadnianie tego kwasu, nie prowadzą do powstania trójtlenku selenu SeO_3 . W środowisku zasadowym selenki (Se^{2-}) z łatwością przechodzą na wyższe stopnie utlenienia.

Selen występuje w trzech odmianach alotropowych. Pierwsza z nich zwana odmianą α jest kruchym, srebrzystoszarym metalem. Wchodzi w reakcję z zasadami i kwasami, ale nie reaguje z wodą. W powietrzu utlenia się powoli. Odmiana β jest czerwonym ciałem amorficznym. Jest to niezwykle reaktywna odmiana alotropowa selenu. Gwałtownie reaguje w zetknięciu z wodą a na powietrzu ulega spalaniu. Trzecia odmiana γ jest szklistym ciałem stałym charakteryzującym się szaroróżową barwą. Jest pośrednią formą między odmianą α i β . Odmianę γ uzyskujemy przez gwałtowne schłodzenie ciekłego selenu. Związki jakie tworzy selen to przede wszystkim selenowodór, dwutlenek selenu, tlenochlorek selenu, selenek dimetylowy. Są to związki analogiczne dla tych, które tworzy siarka (S).

Selen zaliczany jest do jednego z niezbędnych ultraelementów dostarczanych do ustroju wraz z pożywieniem. Zawartość selenu w glebie i wodzie różni się między sobą w różnych częściach świata, z czego wynika zróżnicowanie w zawartości tego pierwiastka w pożywieniu.

Selen ma bardzo pozytywny wpływ na organizm ludzki, jego synergistyczne działanie z witaminą E doprowadza do opóźnienia procesów starzenia się, a także przyspiesza regenerację komórek. Selen niezbędny jest do prawidłowego funkcjonowanie wielu układów w ustroju w tym enzymatycznego, odpornościowego a także rozrodczego co wiąże się z produkcją nasienia. Tworzy silne antyutleniacze enzymu peroksydazy glutationowej, który chroni czerwone krwinki przed negatywnym wpływem wolnych rodników, a także chroni serce przed ich wpływem. Zapobiega zapadaniu na depresję i stany nerwicowe. Łagodzi reumatoidalne zapalenia stawów. Selen wykazuje działanie przeciwnowotworowe. Zmniejsza ryzyko występowania nowotworów a zwłaszcza raka prostaty, jelita grubego, raka płuc i wątroby. Inne selenoproteiny u drobiu pełnią istotną rolę w zapobieganiu skazie wysiękowej, zapewniają poprawne funkcjonowanie trzustki oraz płodność. Poziom suplementacji selenem jest limitowany przez FDA (Food Drugs Administration) do jedynie 0,30 ppm. Poziom selenu w diecie drobiu może jednak być bardzo zmienny zależnie od zawartości tego pierwiastka w glebie a tym samym w roślinach. Zawartość selenu w diecie na poziomie 0,40-0,50 ppm może być korzystna dla odporności i wydajności ptaków. Selen w diecie w połączeniu z witaminą E zwiększa poziom odporności u drobiu (Hussain i in. 2004; Scheideler 2008).

Selen jest składnikiem co najmniej 25 różnych selenoprotein (Andrieu 2008; Jokić i in. 2009). W białkach tych siarka jest zastąpiona przez selen co pozwala proteinom na przekazywanie wodoru i uczestniczenie w reakcjach redukcji. Jedną z selenoprotein jest enzym dejodynaza jodotyroninowa która odgrywa ważną rolę w regulowaniu metabolizmu, ponadto peroksydaza glutationowa i reduktaza tioredoksynowa, które są ważnymi składnikami systemu antyoksydacyjnego i odpornościowego (NRC 2001; Klotz i in. 2003; Arshad i in. 2005; Andrieu 2008; Upton i in. 2008)

Do naturalnych źródeł selenu zalicza się ryż, owies, pestki dyni, pszenicę, mięso drobiowe, jaja, zboża, skorupiaki, nabiał czy ryby. Za najbardziej przyswajalną formę tego pierwiastka uważa się selen pozyskiwany z drożdży. Wchłanianie selenu uzależnione jest od białek małowielkularnych oraz witamin A, C i E, które wzmacniają ten proces w organizmie (Boruta i in. 2007).

Dzienna dawka selenu na osobę dorosłą wynosi około 55 µg, a dla dzieci 20-30 µg na dobę. Przy stosowaniu normalnej diety nie można doprowadzić do wystąpienia niedoboru selenu w organizmie. Jeżeli dojdzie do takiej sytuacji, to tylko w przypadku ciężkich schorzeń dotyczących zaburzeń wchłaniania składników pokarmowych na przykład przy chorobie Leśniowskiego–Crohna – po usunięciu znacznej części jelita cienkiego.

Skutkiem niedoboru selenu w ustroju jest obniżenie odporności, co prowadzi do pogłębienia się chorób i dalszego postępowania infekcji. Niedobór tego pierwiastka charakterystyczny jest przy reumatoidalnym zapaleniu stawów. Objawami przy niedoborze selenu jest niewydolność serca oraz jego powiększenie, a także pojawienie się wola i niedoczynności tarczycy. Zauważono także podatność na działanie czynników rakotwórczych.

Nadmiar selenu jest szkodliwy dla organizmu człowieka w dawce powyżej 400 µg na dobę. Dostarczenie takiej dawki do ustroju prowadzi do wywołania objawów zatrucia. Dla drobiu toksyczny jest w stężeniu 5-20 ppm. W paszach dla drobiu waha się w granicach od 0,06 ppm do 0,2 ppm (Papazyan i in. 2006).

Miedź jest pierwiastkiem chemicznym z grupy metali przejściowych w układzie okresowym, o symbolu Cu. W starożytności metal ten wydobywano na Cyprze skąd też pochodzi jego łacińska nazwa *cyprum* aes. Miedź nazywano metalem cypryjskim.

Należy do metali ciężkich, ale w odpowiednich ilościach jest niezbędny dla życia roślin, zwierząt i człowieka (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Dobrzański i in. 2008; Jamroz 2009).

W środowisku naturalnym miedź występuje pod postacią rud i jako minerał w postaci czystej. Występuje w skorupie ziemskiej w ilości około 55 ppm. Miedź znana jest już od starożytności, jest składnikiem brązu i odegrała istotną wręcz kluczową rolę w rozwoju kultury i cywilizacji. Metal ten jest surowcem do wytwarzania przewodów elektrycznych oraz jest wykorzystywany w takich dziedzinach jak budownictwo i elektronika. Miedź znalazła zastosowanie jako barwnik szkła i katalizator. Używana jest do tworzenia stopów z aluminium i stali, a także srebra i złota. To właśnie miedź tworzy tak zwane brązy powstające po złączeniu jej z metalami przejściowymi takimi jak np. molibden, cynk czy cyna.

Do głównych źródeł tego minerału zalicza się dwie grupy związków. Pierwsza to węglany, do których zaliczamy azuryt $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$, malachit $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$. Kolejną grupą są siarczki, do których należą chalkopiryt CuFeS_2 , chalkozyn Cu_2S i bornit Cu_5FeS_4 . Miedź najczęściej wydobywana jest w kopalniach odkrywkowych pod postacią siarczków. Do bardzo ważnych związków miedzi zaliczyć można pięciowodny siarczan miedzi (II) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Związek ten charakteryzuje się właściwościami odkażającymi. W postaci bezwodnej jest związkiem silnie higroskopijnym. Stosowany do osuszania rozpuszczalników. Głównym sposobem otrzymywania miedzi jest flotacja. Polega ona na oddzieleniu siarczków miedzi od skały płonej. W taki sposób uzyskuje się koncentraty miedzi, które następnie przerabiane są w piecach hutniczych aby ostatecznie dać anody miedziane. Otrzymane w ten sposób anody poddawane są elektrorafinacji i produktem huty są katody, z których tworzone są różnego rodzaju wlewki o rozmaitych rozmiarach i kształtach.

Miedź jest nieodzownym składnikiem wszystkich tkanek. Jest jednym spośród wielu pierwiastków wchodzących w skład komórek roślin i zwierząt, który w ilościach śladowych jest niezbędny do ich prawidłowego rozwoju i funkcjonowania (Rogowska i in. 2009). U zwierząt odgrywa ważną rolę w wykorzystywaniu żelaza do tworzenia hemoglobiny. Jako mikroelement bierze też udział w przekazywaniu impulsów nerwowych. Miedź wchodzi w skład enzymu dysmutazy ponadtlenkowej, który chroni błony komórkowe przed wolnymi rodnikami (Klotz i in. 2003; Koniecznyński

i Wesołowski 2008). Bierze również udział w tworzeniu tkanki łącznej oraz syntezie prostaglandyn, które wpływają na pracę serca i ciśnienie tętnicze krwi. Miedź jest składnikiem metaloenzymów biorących udział w reakcjach redukcji. Metaloenzymy te biorą udział w licznych procesach fizjologicznych jak oddychanie, metabolizm węglowodanów i tłuszczów, działanie aktyoksydacyjne oraz tworzenie kolagenu (NRC 2001; Tomlinson i in. 2004; Andrieu 2008). Jeden z enzymów zawierających Cu – ceruloplazmina, wiąże ponad 95% z całkowitej ilości miedzi krążącej w organizmie, reguluje dostępność żelaza, bierze udział w oksydoredukcyjnych i może regulować funkcje odpornościowe (Helay i Tipton 2007). Podobnie jak cynk, miedź pełni ważną rolę w tworzeniu keratyny i jest składnikiem SOD (Skřivan i in. 2002; Tomlinson i in. 2004).

Dorosły człowiek w ciągu doby powinien spożyć 1-2 mg tego pierwiastka, a prawidłowe stężenie miedzi w surowicy krwi wynosi 80–160 $\mu\text{g}\%$ (12,6-25,2 $\mu\text{mol/l}$) w moczu zaś 0–100 $\mu\text{g}\%/24\text{h}$ (0–1,6 $\mu\text{mol/d}$). Zawartość miedzi w ustroju osoby dorosłej sięga 100 – 150 mg. Jest pierwiastkiem gromadzonym w organizmie i rozlokowanym w poszczególnych tkankach, np. zawartość miedzi w mięśniach sięga 5 mg, kościach 25 mg, a wątrobie 20 mg (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Seńczuk 2005; Koniecznyński i Wesołowski 2008).

Do naturalnych źródeł miedzi, o zawartości tego składnika powyżej 0,3 mg/100 g, zaliczamy drób, rośliny strączkowe, grzyby, kakao, czekoladę, mocną kawę, czerwone wino, rodzynki. Istnieją jeszcze produkty o znacznej zawartości miedzi mieszczącej się w przedziale od 0,15 – 0,3 mg/100 g i należą do nich szpinak, banany, maliny, sałata, wołowina, cielęcina i makrela (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Elmadfa i Muskat 2003).

U ludzi niedobór tego pierwiastka spowodowany może być dietą mleczną. Jest także spotykany w przypadku osób chorych na nerczycę. Niedobór tego składnika prowadzi do niedokrwistości, granulocytopenii, osteoporozy, obniżenia odporności organizmu, wypadania włosów, wyprysków, zapalenia błon śluzowych, wysięków, podwyższonego poziomu cholesterolu we krwi, wzrostu stężenia LDL i obniżenia HDL.

Miedź także odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu enzymów u ptaków. Miedź jest blisko powiązana z metabolizmem żelaza, gdyż jest częścią ceruloplazminy – enzymu odgrywającego ważną rolę w utlenianiu związków żelaza, kontrolowaniu

przechodzenia żelaza z układu siateczkowo-śródbłonkowego do wątroby a następnie osocza a tym samym wpływając na tworzenie się czerwonych krwinek. Niedobór miedzi może spowodować niedobarwliwą niedokrwistość mikrocytową. Innym ważnym enzymem zależnym od miedzi jest oksydaza lizolowa, która jest integralnym enzymem w tworzeniu elastyny i kolagenu u ptaków. Niedobór miedzi może spowodować nieprawidłowości w układzie kostnym spowodowane nieprawidłową syntezą kolagenu. Przykładem schorzenia kończyn u drobiu mogącego być wynikiem niedoboru miedzi jest dyschondroplazja piszczelowa. Nieprawidłowa formacja kolagenu i/lub elastyny może także prowadzić do zmian układu krążenia i pęknięcia aorty. Miedź jest także ważna w rozwoju upierzenia a także w kształtowaniu się ubarwienia dzięki jej roli w tworzeniu wiązań dwusiarczkowych (Popko i in. 2003; Ahmad i in. 2004; Scheideler 2008).

Nadmiar miedzi w organizmie również jest szkodliwy dla zdrowia. Gromadzenie się miedzi w tkankach charakterystyczne jest przy chorobach dziedzicznych takich jak choroba Wilsona czy też choroba Menkesa. Choroba Wilsona jest dziedziczna, warunkowana cechą recesywną. Polega na zaburzeniach przemiany miedzi, co wynika z niedoboru ceruloplazminy w surowicy krwi. Taki stan powoduje nadmierne wchłanianie miedzi i odkładanie jej w wątrobie, mózgu i nerkach.

Nadmierne magazynowanie miedzi w organach prowadzi do ich uszkodzeń takich jak marskość wątroby, zanikanie neuronów i wypełnianie ich miejsca tkanką glijową (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Seńczuk 2005).

Na podstawie danych dostępnych w literaturze wiadomo, że preparaty biotechnologiczne, a w szczególności wyprodukowane na bazie nanosrebra, wykazują działanie biobójcze i sanityzujące, znajdując zastosowanie w różnych dziedzinach, głównie w chemii gospodarczej i medycynie. Brakuje natomiast badań nad oddziaływaniem preparatów zawierających nanosrebro na środowisko, w tym transfer srebra ze środowiska do organizmów zwierzęcych wskutek stosowania preparatów zawierających ten metal do dezynfekcji pomieszczeń inwentarskich, w tym ściółki, sprzętu i innych urządzeń technologicznych.

W związku z powyższym przyjęto **hipotezę badawczą**, iż nanocząstki srebra zastosowane w połączeniu z sorbentami mineralnymi, tj. wermikulitem, bentonitem

czy haloizytem, mogą wpłynąć na zwiększenie aktywności biobójczej uzyskanych w ten sposób preparatów nanotechnologiczno-mineralnych. Jednocześnie, preparaty te aplikowane w optymalnej ilości nie powinny wpływać na zwiększenie akumulacji srebra w tkankach i narządach zwierząt, a także nie powinny przyczyniać się do zakłócenia homeostazy pierwiastków antagonistycznych wobec srebra (Cu, Se, Zn) w organizmie kurcząt brojlerów.

Dodatkowo przyjęto założenie, iż mieszanina wodnych bądź alkoholowych roztworów nanosrebra z sorbentami mineralnymi nie ograniczy biobójczego i sanizującego działania tego pierwiastka, co umożliwi jego zastosowanie w praktyce drobiarskiej.

2. CEL BADAŃ

Celem przeprowadzonych badań było opracowanie preparatu nanotechnologiczno – mineralnego na bazie nanosrebra i sorbentów mineralnych oraz przetestowanie w warunkach laboratoryjnych jego właściwości biobójczych oraz wpływu na stężenie amoniaku w górnej warstwie ściółki i ponad jej powierzchnią. Drugi etap badań miał na celu zastosowanie w brojlerni preparatu wybranego na podstawie wcześniejszych testów laboratoryjnych oraz przeanalizowanie jego wpływu na kształtowanie się warunków zoohigienicznych oraz transfer srebra i pierwiastków antagonistycznych (selenu, miedzi i cynku) do organizmu kurcząt (tkanki i narządy).

3. MATERIAŁ I METODY

Badania będące przedmiotem prezentowanej pracy przeprowadzone zostały w dwóch częściach. Pierwsza część obejmowała badania laboratoryjne zaś w drugiej części przeprowadzono badania biologiczne na zwierzętach (*Gallus gallus domesticus*). W pierwszej części określone zostały właściwości opracowanych nanopreparatów, przetestowano ich właściwości biobójcze oraz zdolność ograniczania emisji amoniaku. Na podstawie wyników uzyskanych w tej części badań wybrano preparat, który zastosowano następnie w badaniach na kurczętach. W drugiej części badań przeanalizowano wpływ stosowanego nanopreparatu na emisję amoniaku, liczbę bakterii mezofilnych, cechy fizyczne powietrza w brojlerni oraz cechy ściółki. Zbadano ponadto stopień akumulacji srebra i pierwiastków antagonistycznych, tj. selenu, miedzi i cynku, w wybranych tkankach i narządach kurcząt brojlerów oraz wpływ zastosowanego preparatu na obraz histologiczny wątroby kurcząt.

3.1 Badania laboratoryjne

3.1.1 Ocena właściwości fizycznych preparatów zastosowanych w badaniach

Nanopreparaty użyte do badań uzyskano nanosząc wodną (W) i alkoholową (A) zawiesinę nanosrebra (firmy AMEPOX, Polska) metodą natryskową na sorbent w temperaturze pokojowej. Charakterystykę roztworów wg danych producenta przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka wodnej i alkoholowej zawiesiny nanosrebra (AMEPOX, Polska)

WODNA ZAWIESINA NANOSREBRA
Kompozycja koloidalnego roztworu cząstek srebra w środowisku wodnym. Srebro w roztworze charakteryzuje się rozmiarami w zakresie kilku nanometrów. Dzięki tak niezwykle dużemu rozdrobnieniu uzyskano maksymalne z możliwych rozwinięcie powierzchni aktywnej srebra, gdyż w jednostce objętości przy tych samych stężeniach – powierzchnia sumaryczna cząstek jest największa z możliwych. Roztwór jest

<p>wyroblem o najwyższych parametrach technicznych i o najwyższej czystości kontrolowanej w całym cyklu procesu produkcyjnego.</p>	
<p>Liczba składników</p> <p>Konsystencja</p> <p>Postać</p> <p>Kolor</p> <p>Zapach</p> <p>Stężenie nanosrebra w cieczy</p> <p>Wartość pH</p> <p>Lepkość (100 rpm; 25°C)</p> <p>Lepkość po zmieszaniu</p> <p>Współczynnik tiksotropowości (1/10; 25°C)</p> <p>Ciężar właściwy</p> <p>Gęstość</p>	<p>jeden</p> <p>ciecz o małej lepkości</p> <p>ciecz o konsystencji zbliżonej do wody</p> <p>przezroczysty o opalizującym odcieniu</p> <p>lekko słodki</p> <p>1000 ppm</p> <p>8,5 – 9,5</p> <p>0,95 – 1,0 mPas</p> <p>1,1 – 1,25 mPas</p> <p>ok. 1,0</p> <p>0,99 – 1,1 g/cm³</p> <p>1,0 – 1,1 g/cm³</p>
<p>ALKOHOLOWA ZAWIESINA NANOSREBRA</p>	
<p>Unikalna kompozycja koloidalnego roztworu cząstek srebra metalicznego z polimerową otoczką ochronną w alkoholowym środowisku z krzemionką koloidalną i dodatkami modyfikatorów. W celu najbardziej aktywnego oddziaływania adsorpcyjnego wszystkie aktywne cząstki nano mają rozdrobnienie o wymiarach 3 – 8 nm. Dzięki maksymalnemu rozdrobnieniu cząstek aktywnych osiągnięto aktualnie największe z możliwych rozwinięcie ich powierzchni, gdyż w jednostce objętości przy tych samych stężeniach powierzchnia sumaryczna nanocząstek przekracza 230 m²/g. Zawiesina jest wyrobem o najwyższych parametrach technicznych i o najwyższej czystości kontrolowanej w całym cyklu produkcyjnym.</p>	
<p>Liczba składników</p> <p>Postać</p> <p>Kolor</p> <p>Zapach</p> <p>Stężenie metalicznego nanosrebra w cieczy</p> <p>Powierzchnia aktywna nano cząstek</p> <p>Zawartość suchej masy</p> <p>Wartość pH</p> <p>Lepkość (100 rpm; 25°C)</p> <p>Lepkość po zmieszaniu</p> <p>Współczynnik tiksotropowości (1/10; 25°C)</p> <p>Ciężar właściwy</p> <p>Gęstość</p>	<p>jeden</p> <p>ciecz o konsystencji zbliżonej do wody</p> <p>ciemno – brunatny do czarnego</p> <p>lekko słodki</p> <p>1000 ppm</p> <p>> 230 m²/gram</p> <p>0,5 ± 0,02 % (wagowo)</p> <p>6 – 7</p> <p>1,1 – 1,3 mPas</p> <p>1,1 – 1,25 mPas</p> <p>ok. 1,0</p> <p>0,85 – 0,90 g/cm³</p> <p>1,0 – 1,1 g/cm³</p>

W charakterze sorbentów zastosowano ekspandowany wermikulit (V) firmy ROMINCO POLSKA, bentonit (B) firmy BDC Poland sp. z o.o. oraz haloizyt (H) firmy PTH INTERMARK z 5% dodatkiem humodetrynit w celu zwiększenia pojemności sorpcyjnej. Zawiesiny nanosrebra o stężeniu 1000 ppm naniesiono w ilości 100 ml/l sorbentu w przypadku wermikulitu, oraz 200 ml/l sorbentu w przypadku bentonitu i haloizytu. Uzyskano w ten sposób sześć preparatów: wermikulit z wodną zawiesiną nanosrebra (WV), bentonit z wodną zawiesiną nanosrebra (WB), haloizyt z wodną zawiesiną nanosrebra (WH), wermikulit z alkoholową zawiesiną nanosrebra (AV), bentonit z alkoholową zawiesiną nanosrebra (AB) oraz haloizyt z alkoholową zawiesiną nanosrebra (AH).

W pracowni Mikroskopii Elektronowej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wykonano zdjęcia preparatów użytych do testu za pomocą elektronowego mikroskopu skaningowego (SEM), a także określono rozkład pierwiastków na powierzchni preparatów. W tym celu materiał naklejono na stoliki a następnie poddano mikroanalizie pierwiastkowej używając analizatora rentgenowskiego model BRUKER AXS QUANTAX (Niemcy). Oznaczono procentową zawartość wybranych pierwiastków na powierzchni badanych preparatów. Następnie przygotowane próby napyłano złotem przy użyciu napyłarki Scancoat 6 (Edwards, Londyn, Anglia). Ultrastrukturę badanego materiału analizowano przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego EVO LS15 ZEISS (Niemcy).

Ponadto w Laboratorium Chemicznym Analiz Wielopierwiastkowych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej wykonano analizy ogólnej zawartości srebra w badanych preparatach. W tym celu badane próby zostały zmineralizowane na mokro z kwasem azotowym (spektralnie czysty, firmy MERCK) w wysokociśnieniowym piecu mikrofalowym CEM 2000 (USA), a następnie oznaczono w nich zawartość srebra metodą spektrometrii masowej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS, Varian UltraMass 700, Australia).

3.1.2 Ocena właściwości sorpcyjnych i biobójczych preparatów zastosowanych w badaniach

Materiał badawczy stanowił pomiot kurzy zmieszany ze ściółką słomiasto-trocinową w stosunku 1:1 (objętościowo) o łącznej objętości 4 l. Materiał umieszczano w szczelnie zamkniętych szklanych butlach o pojemności 15 l, zaś preparat podawano na powierzchnię odchodów. Badania przeprowadzono w dwóch etapach. W pierwszym przeanalizowano preparaty z wodną, w drugim zaś z alkoholową zawiesiną nanosrebra. Utworzono łącznie 14 grup (n=8). W etapie pierwszym:

WK – kontrolna (bez dodatków),
 WV-5 – 5% dodatek preparatu WV,
 WV-10 – 10% dodatek preparatu WV,
 WB-5 – 5% dodatek preparatu WB,
 WB-10 – 10% dodatek preparatu WB,
 WH-5 – 5% dodatek preparatu WH,
 WH-10 – 10% dodatek preparatu WH,
 natomiast w etapie drugim:

AK – kontrolna (bez dodatków),
 AV-5 - 5% dodatek preparatu AV,
 AV-10 – 10% dodatek preparatu AV,
 AB-5 - 5% dodatek preparatu AB,
 AB-10 – 10% dodatek preparatu AB,
 AH-5 - 5% dodatek preparatu AH,
 AH-10 – 10% dodatek preparatu AH

Schemat doświadczenia przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Schemat doświadczenia – badania laboratoryjne

etap pierwszy		
dodatek	kontrolna	wodna zawiesina nanosrebra

sorbent	-	wermikulit		bentonit		haloizyt	
% dodatku	-	5%	10%	5%	10%	5%	10%
nazwa grupy	WK	WV-5	WV-10	WB-5	WB-10	WH-5	WH-10
etap drugi							
dodatek	kontrolna	alkoholowa zawiesina nanosrebra					
sorbent	-	wermikulit		bentonit		haloizyt	
% dodatku	-	5%	10%	5%	10%	5%	10%
nazwa grupy	AK	AV-5	AV-10	AB-5	AB-10	AH-5	AH-10

Przeprowadzono pomiary stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki (pobór prób powietrza ze ściółki na głębokości ok. 2 cm) oraz określono jego zawartość na wysokości ok. 30 cm nad ściółką. Powietrze do analizy pobierano za pomocą aspiratorów AMZ-1 (Rotametr, Polska) z prędkością przepływu na poziomie 60 l/godz. Każdorazowo pobrano 6 l powietrza do analizy.

Zawartość amoniaku oznaczano metodą kolorymetryczną zgodnie z normą PN-71Z-04041 przy użyciu spektrofotometru SEMCO UV-VIS (EMCO, Polska). Za pomocą pHmetru (Dramiński, Polska) oznaczono także odczyn oraz temperaturę badanych prób. Temperaturę i wilgotność powietrza określono za pomocą termohigrometru firmy Elmetron. Pomiary wykonywano w 2 (pobranie I) i 7 dniu testu (pobranie II). Powyższe pomiary wykonano w Laboratorium Ekotoksykologicznym Katedry Dobrostanu Zwierząt i Higieny Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Ponadto wykonano oznaczenia ogólnej liczby bakterii mezofilnych w próbach z górnej warstwy ściółki. Próby do analiz mikrobiologicznych pobierano w 2 i 7 dniu testu (odpowiednio pobranie I i II) do sterylnych woreczków plastikowych. Ogólną liczbę bakterii mezofilnych określono zgodnie z normą PN-R-64791 w Laboratorium Weterynaryjnym VetLab we Wrocławiu.

Fot. 1. Aspirator do pobierania prób powietrza na oznaczenie zawartości amoniaku oraz butle z materiałem doświadczalnym w pomieszczeniu laboratoryjnym



Fot. 2. Kolby z roztworem badawczym do oznaczania stężenia amoniaku



3.2. Badania biologiczne i chemiczne

3.2.1. Zwierzęta doświadczalne

Preparat wykorzystany w tym etapie badań wybrano na podstawie wyników przeprowadzonego wcześniej testu laboratoryjnego: wermikulit + humodetrynit (5% (v/v) + wodny roztwór nanosrebra (10%; 100 ml/l).

Materiał doświadczalny w drugim etapie badań stanowiły kurczęta brojlerów linii Ross 308 w wieku 2 tygodni. Utworzono trzy grupy badawcze, losowo przydzielając po 84 brojlery do każdej grupy. Kurczęta utrzymywano na ściółce słomiasto – trocinowej o udziale poszczególnych składników 1:1, zaś w poszczególnych grupach różnicowano sposób podawania preparatu nanotechnologiczno-mineralnego (wermikulit z wodną zawiesiną nanosrebra):

Grupa kontrolna (K) – bez dodatku preparatu;

Grupa I - dodatek preparatu w ilości 3,7 kg (15 l) pod powierzchnię ściółki – jednorazowo na początku doświadczenia;

Grupa II - dodatek preparatu w ilości 3,7 kg (15 l) – zmieszany ze ściółką a następnie dodawany przy każdym dościelaniu słomy i trocin, tj. 3, 10, 17 i 24 dnia doświadczenia. Słomę i trocinę dościelano w tych samych terminach także w grupie kontrolnej i I - bez dodatku preparatu.

Na początku i końcu doświadczenia określono masy ciała brojlerów, natomiast w trakcie całego doświadczenia badano zużycie paszy i określano liczbę upadków ptaków. Na podstawie zebranych danych obliczono podstawowe wskaźniki produkcyjne, tj. przyrost masy ciała, wykorzystanie paszy oraz procentowy udział zwierząt padłych. Ponadto za cały okres odchowu wyliczono Europejski Wskaźnik Wydajności (EWW) według następującego wzoru:

EWW = [(przeżywalność (%) x masa ciała (kg)) / (długość odchowu (dni) x wykorzystanie paszy na 1 kg masy ciała (kg))] x 100

Brojlery żywione były zgodnie z zaleceniami zawartymi w Normach Żywienia Drobii (Smulikowska i Rutkowski 2005) mieszankami pełnoporcjowymi typu GROWER a następnie FINISHER firmy PROVIMI POLSKA Sp. z o.o. Skład mieszanek wg danych producenta przedstawiono w tabelach 3 i 4.

Tabela 3. Mieszanka paszowa pełnoporcjowa GROWER (PROVIMI POLSKA Sp. z o.o. PD411A)

ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW POKARMOWYCH:			
Energia metaboliczna	min.	3000,00	kcal
Białko ogólne kalkulowane	min.	19,00	%
Białko ogólne gwarantowane	min.	18,00	%
Włókno surowe	max.	5,00	%
Popiół surowy	min. – max.	3,9 – 5,9	%
Tłuszcz surowy	min. – max.	3,5 – 5,5	%
Ca	min.	0,76	%
P – strawny	min.	0,37	%
Na	min.	0,14	%
Lizyna	min.	1,12	%
Metionina	min.	0,48	%
Met. + Cyst.	min.	0,82	%
Tryptofan	min.	0,19	%
Wilgotność	max.	14,00	%
SKŁAD SUROWCOWY			
1) materiały paszowe pochodzenia roślinnego (produkty zbożowe frakcyjne i uboczne, produkty frakcyjne i uboczne z nasion roślin oleistych) 2) Materiały paszowe pochodzenia mineralnego 3) Materiały paszowe pochodzenia mieszanego (oleje i tłuszcze)			
Produkt zawiera śrutę sojową genetycznie zmodyfikowaną (zdarzenie transformacji MON 40-3-2)			
Dodatki paszowe – zawartość substancji czynnej w 1 kg mieszanki			
Siarczan miedzi pięciowodny; Cu		5,00	mg
Kokcydiostatyk: SACOX; SÓL SODOWA SALINOMYCYN		60,00 25,00	mg mg
Witamina E; alfa-tokoferol		10 000	j.m.
Witamina A		2 500	j.m.
Witamina D3			
3-fitaza; EC.3.1.3.8., ENZYMY (1), 5 000 FTU/g			
Endo-1,4-beta-ksylanaza EC 3.2.1.8., UE-5, 1000 FXU/g		+	
Etokstquin		+	
Kwasy organiczne		+	

Tabela 4. Mieszanka paszowa pełnoporcjowa FINISHER (PROVIMI POLSKA Sp. z o.o. PD412X)

ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW POKARMOWYCH:			
Energia metaboliczna	min.	3000,00	kcal
Białko ogólne kalkulowane	min.	18,50	%
Białko ogólne gwarantowane	min.	17,50	%
Włókno surowe	max.	5,30	%
Popiół surowy	min. – max.	3,4 – 5,4	%
Tłuszcz surowy	min. – max.	3,7 – 5,7	%
Ca	min.	0,66	%
P – przysw.	min.	0,31	%
Na	min.	0,14	%
Lizyna	min.	1,09	%
Metionina	min.	0,45	%
Met. + Cyst.	min.	0,80	%
Tryptofan	min.	0,18	%
Wilgotność	max.	14,00	%
SKŁAD SUROWCOWY			
1) materiały paszowe pochodzenia roślinnego (ziarno zbóż, produkty frakcyjne i uboczne, produkty frakcyjne i uboczne z nasion roślin oleistych)			
2) Materiały paszowe pochodzenia mineralnego			
3) Materiały paszowe pochodzenia mieszanego (oleje i tłuszcze)			
4) Premiks mineralno-witaminowy			
Produkt zawiera śrutę sojową genetycznie zmodyfikowaną (zdarzenie transformacji MON 40-3-2)			
Dodatki paszowe – zawartość substancji czynnej w 1 kg mieszanki			
Siarczan miedzi pięciowodny; Cu		5,00	mg
Witamina E; alfa-tokoferol		25,00	mg
Witamina A		10 000	j.m.
Witamina D3		2 500	j.m.
3-fitaza; EC.3.1.3.8., ENZYMY (1), 5 000 FTU/g			
Endo-1,4-beta-ksylanaza EC 3.2.1.8., UE-5, 1000 FXU/g			
Kwasy organiczne			

Badania przeprowadzono za zgodą II Lokalnej Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach we Wrocławiu (Uchwała nr 115/2007, z dnia 22.10.2007).

Fot. 3. Kurczęta w wieku 5 tygodni w wiwarium doświadczalnym



Fot. 4. Kurczę linii Ross 308 w wieku 5 tygodni



3.2.2. **Określenie stężenia amoniaku oraz wybranych parametrów fizycznych ściółki i powietrza**

Przeprowadzone zostały pomiary stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki (pobór prób powietrza ze ściółki na głębokości ok. 2 - 3 cm) oraz określono jego zawartość na wysokości ok. 30 cm nad ściółką. Powietrze do analizy pobierano za pomocą aspiratorów AMZ-1 (Rotametr, Polska) z prędkością przepływu na poziomie 60 l/godz. W przypadku emisji amoniaku z górnej warstwy ściółki każdorazowo pobrano 15 l powietrza, zaś przy analizie zawartości amoniaku ponad ściółką 30 l powietrza do analizy. W każdej pobranej próbie powietrza zawartość amoniaku oznaczono w trzech powtórzeniach.

Zawartość amoniaku oznaczano metodą kolorymetryczną zgodnie z normą PN-71Z-04041 przy użyciu spektrofotometru SEMCO UV-VIS (EMCO, Polska). Analizy te wykonano w Laboratorium Ekotoksykologicznym Katedry Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Temperaturę oraz odczyn ściółki oznaczono za pomocą pHmetru (Dramiński, Polska), natomiast wilgotność ściółki oznaczona za pomocą wilgotnościomierza tej samej firmy. Wilgotność i temperatura powietrza monitorowane były za pomocą termohigrometru firmy Elmetron. Pomiary cech fizycznych powietrza i ściółki przeprowadzano trzykrotnie, a wyniki przedstawiono jako średnią z trzech pomiarów. Pomiary stężenia amoniaku oraz właściwości fizycznych ściółki wykonywano w 5, 10, 15, 20 i 25 dniu badań (pobranie 1, 2, 3, 4, 5 i 6).

Fot. 5. Aspirator do pobierania prób powietrza na oznaczenie zawartości amoniaku w pomieszczeniu wiwarium



3.2.3. Określenie profilu mikrobiologicznego ściółki

W tych samych dniach, t.j. w dniu 5, 10, 15, 20 i 25 dniu badań (pobranie 1, 2, 3, 4 i 5) pobierano także zbiorcze próby z górnej warstwy ściółki w celu określenia w niej ogólnej liczby bakterii mezofilnych. Ogólna liczbę bakterii mezofilnych określono zgodnie z normą PN-R-64791 w Laboratorium Weterynaryjnym VetLab we Wrocławiu.

W ostatnim dniu badań pobrano dodatkowo próby ściółki z trzech punktów (przy poidle, przy karmidle i w narożniku boksu) w których wykonano ilościowe i jakościowe oznaczenia zawartości bakterii i grzybów. Analizy te wykonano z wykorzystaniem odczynników i podłoży firmy MERCK w Laboratorium

Weterynaryjnym VetLab we Wrocławiu według następującej metodyki:

Określanie liczby pałeczek z rodzaju *Salmonella* spp.

W celu ustalenia liczby pałeczek *Salmonella* spp. w badanych próbach wykorzystano metodę NPL w układzie 3-probówkowym. Do namnażania wstępnego wykorzystano 1% zbuforowaną wodę peptonową. Każdorazowo używano szeregu rozcieńczeń o rozcieńczeniu końcowym 10^{-10} . Gotowe rozcieńczenia inkubowano w temperaturze 37°C przez okres 24 godzin. Namnażanie selektywne przeprowadzano z wykorzystaniem płynnej pożywki wybiórczej wg. Rappaporta z dodatkiem tetracionianu i zieleni malachitowej. Ilość probówek w szeregu odpowiadała ilości probówek z wodą peptonową. Zaszczepione podłoże wg. Rappaporta inkubowano w temperaturze 43°C przez 24 godziny. W obliczeniach wykorzystano agar BPLs z zielenią brylantową, czerwienią fenolową i laktozą oraz agar XLD z ksylozą, lizyną i dezoksycholanem jako podłoże stałe. Podłoża stałe po wykonaniu posiewu inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Identyfikację pałeczek *Salmonella* przeprowadzono na bazie testu na aglutynację z wykorzystaniem poliwalentnej surowicy HM. Liczbę pałeczek *Salmonella* określono poprzez ustalenie liczby charakterystycznej i odniesienie jej do tablic Mc Crady'ego dla 3 powtórzeń oraz odczytanie z nich NPL.

Ustalanie liczby pałeczek *Escherichia coli*

W celu ustalenia liczby pałeczek *Escherichia coli* w badanych próbach wykorzystano metodę NPL w układzie 3-probówkowym. W pierwszym etapie izolacji wykorzystano bulion MacConkey'a. Każdorazowo używano szeregu rozcieńczeń o rozcieńczeniu końcowym 10^{-10} . Gotowe rozcieńczenia inkubowano w temperaturze 43°C przez okres 24 godzin. Po okresie inkubacji wykonywano posiew na podłoże stałe - Tergitol-7-Agar z dodatkiem TTC oraz agar ENDO. Zaszczepione podłoże inkubowano w temperaturze 43°C przez okres 24 godzin. Liczbę pałeczek *E. coli* określono poprzez ustalenie liczby charakterystycznej i odniesienie jej do tablic Mc Crady'ego dla 3 powtórzeń oraz odczytanie z nich NPL. Identyfikację końcową przeprowadzono w oparciu o zestaw mikrotestów biochemicznych API 20E.

Obliczanie liczby paciorkowców kałowych z grupy D

W celu ustalenia liczby paciorkowców kałowych z grupy D w badanych próbach wykorzystano metodę NPL w układzie 3-probówkowym. W pierwszym etapie izolacji wykorzystano bulion z azydkiem i glukozą. Każdorazowo używano szeregu rozcieńczeń o rozcieńczeniu końcowym 10^{-10} . Gotowe rozcieńczenia inkubowano w temperaturze 37°C przez okres 24 godzin. Po okresie inkubacji wykonywano posiew na podłoże stałe - agar z kanamycyną, eskuliną i azydkiem. Zaszczepione podłoże inkubowano w temperaturze 37°C przez okres 24 godzin. Liczbę paciorkowców określono poprzez ustalenie liczby charakterystycznej i odniesienie jej do tablic Mc Crady'ego dla 3 powtórzeń oraz odczytanie z nich NPL. Identyfikację końcową paciorkowców kałowych przeprowadzono z wykorzystaniem testu Phadabact D-Strep Test.

Obliczanie ogólnej liczby drobnoustrojów z zastosowaniem metody płytkowej

W celu obliczenia liczby drobnoustrojów w badanych próbach przygotowywano rząd dziesiętnych rozcieńczeń w płynie Ringera. Następnie przesiewano kolejne rozcieńczenia na podłoża stałe, odpowiednie dla badanej grupy drobnoustrojów:

- do hodowli bakterii w celu ustalenia ich ogólnej liczby wykorzystano agar odżywczy;
- do hodowli grzybów w celu ustalenia ich ogólnej liczby użyto agaru ziemniaczanego (PDA).

Z każdego rozcieńczenia wykonywano 3 równoległe posiewy powierzchniowe na odpowiednie podłoże stałe. Posiewy dla ustalenia ogólnej liczby bakterii inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny, a posiewy na ogólną liczbę grzybów inkubowano w 25°C przez 72 godziny.

Do liczenia drobnoustrojów wybierano po 2 płytki odpowiadające każdemu z 2 kolejnych rozcieńczeń, na których liczba kolonii nie przekraczała 300. Po policzeniu określano ogólną liczbę bakterii według wzoru:

$$L = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1n_2) \times d}$$

gdzie: $\sum c$ - liczba kolonii bakteryjnych na wszystkich płytkach;

n_1 - liczba płytek, na której liczono kolonie z pierwszego rozcieńczenia;

n_2 - liczba płytek, na której liczono kolonie z drugiego rozcieńczenia;

d – wskaźnik rozcieńczenia niższego niż to, od którego zaczynano liczenie.

Do określania ogólnej liczby grzybów używano natomiast wzoru:

$$L = \frac{\sum c}{(n \times d)}$$

gdzie: $\sum c$ - liczba kolonii grzybów na wszystkich płytkach;

n - liczba płytek, na której liczono kolonie;

d - wskaźnik rozcieńczenia niższego niż to, od którego zaczynano liczenie.

3.2.4. Określenie stężenia Ag, Se, Cu i Zn w wybranych tkankach i narządach kurcząt

W ostatnim dniu doświadczenia od ośmiu ptaków z każdej grupy pobrano krew z żyły skrzydłowej. Po odwirowaniu surowicy oznaczono w niej zawartość srebra, selenu, miedzi i cynku. Po dekapitacji ptaków do analiz chemicznych na zawartość tych samych pierwiastków pobrano mięśnie piersiowe, mięśnie udowe, płuca, skórę z części brzusznej oraz wątrobę. Te same części tkanek i narządów od każdego ptaka pobierano do sterylnych plastikowych woreczków i zamrożono do czasu wykonania analiz.

Próbki pobranych narządów oraz surowica krwi zostały zmineralizowane na mokro z kwasem azotowym (spektralnie czysty, firmy MERCK) w wysokociśnieniowym, zamkniętym piecu mikrofalowym MARS-5 firmy CEM (USA) (Korczyński i in. 1995). Zawartość srebra, cynku i miedzi oznaczono metodą spektroskopii absorpcji atomowej na aparacie AAS-1N firmy Carl-Zeiss Jena.

Stężenie selenu oznaczono metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej z generacją wodorków (HG AAS) na aparacie VARIAN SpectrAA 220 FS, według metodyki opisanej przez Diaz-Alarcon i in. (1994) w układzie zamkniętym.

Powyższe analizy wykonano w laboratorium Zakładu Hydrobiologii i Akwakultury Instytutu Biologii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

3.2.4. Analiza histopatologiczna wątroby kurcząt

W Pracowni Mikroskopii Elektronowej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wykonano analizę histopatologiczną wątroby. Pobrany materiał utrwalano w buforowanej fosforanami formalinie, a następnie zatopiono w parafinie. Bloczki parafinowe pocięto na skrawki 5 μm na mikrotomie Zeiss Microm HM 340E i przygotowano preparaty. Odparafinowane i uwodnione skrawki umieszczono w hematoksylinie (Shandon) na 5 min., po czym płukano w wodzie bieżącej i barwiono w eozynie (Shandon) przez 10 min. Po optukaniu w wodzie destylowanej skrawki odwodniono w szeregu alkoholowym (70 – 100%), umieszczono w ksylenie i zamknięto w DPX-ie. Przygotowane preparaty oglądano pod mikroskopem świetlnym firmy Zeiss Axio Imager A1.

3.3. Analiza statystyczna wyników

Wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą pakietu Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Obliczono wartości średnie oraz odchylenia standardowe. Istotności różnic pomiędzy grupami określono za pomocą testu Duncana przy poziomie istotności $p < 0,05$ oraz $p < 0,01$. Współzależność pomiędzy poziomem analizowanych pierwiastków, tj. srebra, miedzi, cynku i selenu w wybranych tkankach i narządach kurcząt określono za pomocą korelacji prostej Pearsona.

Z kolei wyniki dotyczące ilościowego i jakościowego oznaczenia liczby bakterii i grzybów poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu SAS 9.2 PL. Ze względu na nieciągły charakter zmiennej i brak rozkładu normalnego jej wartości wykorzystano test Kruskal-Wallis'a oraz nieparametryczny test post-hoc Dunn'a. Analizę wykonano przyjmując poziom istotności $p < 0,05$ i $p < 0,01$. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników nie pozwoliła wykazać istotnych różnic w przypadku uwzględnienia jako czynników doświadczalnych: sposobu dodania nanosrebra oraz miejsca poboru próbki. Dopiero dołączenie do grupy czynników doświadczalnych numeru powtórzenia pozwoliło ustalić istotność różnic pomiędzy poszczególnymi wynikami.

4. WYNIKI

4.1 Badania laboratoryjne

W pierwszym etapie pracy przeprowadzone zostały testy laboratoryjne z zastosowaniem wodnej i alkoholowej zawiesiny nanosrebra naniesionej na sorbenty mineralne – wermikulit, haloizyt i bentonit. Celem tego etapu był wybór preparatu o najkorzystniejszym działaniu do zastosowania w późniejszych testach na brojlerach.

4.1.1 Ocena właściwości fizycznych preparatów zastosowanych w badaniach

W tej części pracy przeanalizowano łącznie sześć preparatów uzyskanych z połączenia wodnej i alkoholowej zawiesiny nanosrebra z analizowanymi nośnikami mineralnymi. W tabeli 5 przedstawiono wyniki dotyczące zawartości srebra w glinokrzemianach wykorzystanych w badaniach oraz w gotowych preparatach nanotechnologiczno-mineralnych.

Tabela 5. Zawartość srebra w glinokrzemianach oraz w preparatach zastosowanych w badaniach (ppm)

	glinokrzemiany		
	wermikulit*	haloizyt*	bentonit*
Ag	1,646	0,165	0,846
preparaty z wodnym roztworem nanosrebra			
	WV	WH	WB
Ag	253,15	99,01	138,41
preparaty z alkoholowym roztworem nanosrebra			
	AV	AH	AB
Ag	100,84	72,84	32,44

*z 5% domieszką humodetrynitu

W przypadku samych glinokrzemianów wartości te układały się w następującej kolejności: wermikulit > bentonit > haloizyt. Podobne zależności wystąpiły w preparatach z wodną zawiesiną nanosrebra, w których podobnie, największą zawartością Ag charakteryzował się preparat na bazie wermikulitu (253,15 ppm), zaś najmniejszą preparat na bazie haloizytu (99,01 ppm). Kolejność ta uległa zmianie w preparatach z alkoholową zawiesiną nanosrebra, gdzie podobnie, najwyższą zawartość Ag odnotowano dla preparatu AV (100,84 ppm), jednak najniższą dla preparatu AB (32,44 ppm).

Uzyskane wyniki świadczą o zróżnicowanym poziomie sorpcji zawiesiny nanosrebra przez poszczególne glinokrzemiany. Najlepiej zatrzymywały srebro preparaty na bazie wermikulitu, w których zaobserwowano najwyższe stężenia Ag, mimo iż ilość naniesionej zawiesiny była najniższa (100 ml/l sorbentu; 200 ml/l sorbentu dla haloizytu i bentonitu).

Porównując natomiast wodną i alkoholową zawiesinę nanosrebra stwierdzono, iż zawiesina wodna była w większym stopniu absorbowana przez glinokrzemiany w porównaniu do alkoholowej. W przypadku wermikulitu była to różnica ok. 2,5-krotna – 253,15 ppm dla zawiesiny wodnej i jedynie 100,84 ppm dla zawiesiny alkoholowej.

Wyniki przedstawione w tabeli 4 stanowiły podstawę do wyboru preparatu z wermikulitem i wodną zawiesiną nanosrebra do dalszych badań.

Tabela 6. Zawartość pierwiastków na powierzchni glinokrzemianów zastosowanych w badaniach (%) określona metodą analizy rentgenowskiej (SEM)

Pierwiastek	wermikulit*		haloizyt*		bentonit*	
	\bar{X}	ME	\bar{X}	ME	\bar{X}	ME
O	58,32	7,93	55,63	8,76	32,98	6,91
Mg	7,43	0,40	0,11	0,11	0,43	0,07
Al	3,07	0,17	10,78	0,66	4,70	0,24
Si	9,88	0,43	11,63	0,60	9,15	0,42
S	0,09	0,05	0,72	0,08	1,69	0,11
K	1,47	0,15	nw	-	0,24	0,09
Ca	0,57	0,11	0,30	0,09	0,9	0,13
Fe	2,89	0,29	3,57	0,36	0,88	0,14
N	9,55	2,39	8,62	2,89	11,61	3,83
C	6,48	1,83	8,68	2,76	36,64	7,43
As	0,03	0,11	0,02	0,09	0,07	0,08
Mn	0,02	0,05	0,00	0,03	0,02	0,03
Ni	0,02	0,06	0,01	0,04	0,04	0,04
Cr	0,07	0,08	0,01	0,04	0,02	0,04
Zn	0,02	0,08	0,01	0,05	0,05	0,05
Cu	0,01	0,04	0,01	0,04	0,03	0,04
Se	0,02	0,12	0,01	0,08	0,11	0,11
Ag	0,01	0,02	0,05	0,07	0,66	0,23
Na	nw	-	nw	-	0,32	0,07

*z 5% domieszką humodetrynytu;

ME – measurement error (błąd pomiaru)

nw – nie wykryto

Tabela 7. Zawartość pierwiastków na powierzchni preparatów z wodnym roztworem nanosrebra (%) określona metodą analizy rentgenowskiej (SEM)

Pierwiastek	WV		WH		WB	
	\bar{X}	ME	\bar{X}	ME	\bar{X}	ME
O	60,81	10,95	55,49	8,26	43,85	9,93
Mg	7,38	0,41	0,06	0,07	0,83	0,13
Al	3,36	0,20	8,19	0,40	5,36	0,41
Si	8,76	0,42	8,62	0,38	13,45	0,79
S	0,14	0,05	0,40	0,06	0,64	0,08
K	0,22	0,06	0,06	0,06	0,46	0,09
Ca	0,15	0,06	0,35	0,09	1,21	0,05
Fe	1,65	0,19	3,51	0,31	1,43	0,18
N	10,76	3,54	10,38	2,80	9,62	4,92
C	6,75	2,80	12,73	2,95	18,66	6,06
As	0,01	0,04	0,08	0,14	0,62	0,23
Mn	0,01	0,05	0,01	0,04	0,11	0,08
Ni	0,01	0,02	0,01	0,04	0,19	0,10
Cr	0,06	0,07	0,01	0,04	0,12	0,08
Zn	0,02	0,03	0,02	0,07	0,20	0,10
Cu	0,03	0,04	0,01	0,04	0,22	0,09
Se	0,02	0,05	0,06	0,11	0,53	0,31
Ag	0,13	0,10	0,01	0,02	2,29	0,09
Na	nw	-	nw	-	2,29	0,28

ME – measurement error (błąd pomiaru)

nw – nie wykryto

Tabela 8. Zawartość pierwiastków na powierzchni preparatów z alkoholowym roztworem nanosrebra (%) określona metodą analizy rentgenowskiej (SEM)

Pierwiastek	AV		AH		AB	
	\bar{X}	ME	\bar{X}	ME	\bar{X}	ME
O	58,11	10,58	56,77	4,84	40,50	8,24
Mg	6,26	0,33	0,05	0,07	0,66	0,08
Al	3,23	0,18	12,64	0,74	4,40	0,24
Si	9,27	0,40	13,15	0,65	10,80	0,50
S	0,24	0,06	nw	-	1,42	0,10
K	2,34	0,18	nw	-	0,30	0,09
Ca	0,44	0,08	0,10	0,08	1,07	0,14
Fe	2,33	0,25	4,37	0,41	1,02	0,19
N	9,93	3,47	8,33	1,18	11,11	3,93
C	8,80	3,15	3,86	0,47	27,71	6,27
As	0,02	0,07	0,12	0,17	0,11	0,11
Mn	0,01	0,02	0,02	0,06	0,02	0,06
Ni	0,01	0,02	0,02	0,04	0,02	0,04
Cr	0,02	0,03	0,01	0,03	0,04	0,06
Zn	0,02	0,04	0,02	0,08	0,06	0,08
Cu	0,02	0,04	0,02	0,05	0,04	0,05
Se	0,01	0,03	0,16	0,23	0,08	0,10
Ag	0,01	0,03	0,07	0,09	0,68	0,18
Na	nw	-	nw	-	0,52	0,09
Ba	nw	-	0,96	0,24	nw	-

ME – measurement error (błąd pomiaru)

nw – nie wykryto

Procentowy skład pierwiastkowy określony za pomocą mikroanalizy rentgenowskiej na powierzchni glinokrzemianów użytych w badaniach oraz

w testowanych preparatach mineralno-technologicznych przedstawiono w tabelach 6 – 8.

We wszystkich przypadkach zaobserwowano najwyższą zawartość tlenu, azotu, krzemu, węgla oraz glinu. Analizując zawartość srebra na powierzchni glinokrzemianów i preparatów uwagę zwraca fakt, iż największy udział tego pierwiastka odnotowano w przypadku bentonitu oraz w preparatach wykonanych na jego bazie, w przeciwieństwie do wyników analiz zawartości srebra przedstawionych w tabeli 5. Może to świadczyć o tym, że bentonit w najmniejszym stopniu był zdolny do absorbowania srebra z zastosowanej wodnej i alkoholowej zawiesiny nanosrebra i duża część tego pierwiastka pozostawała na powierzchni preparatów.

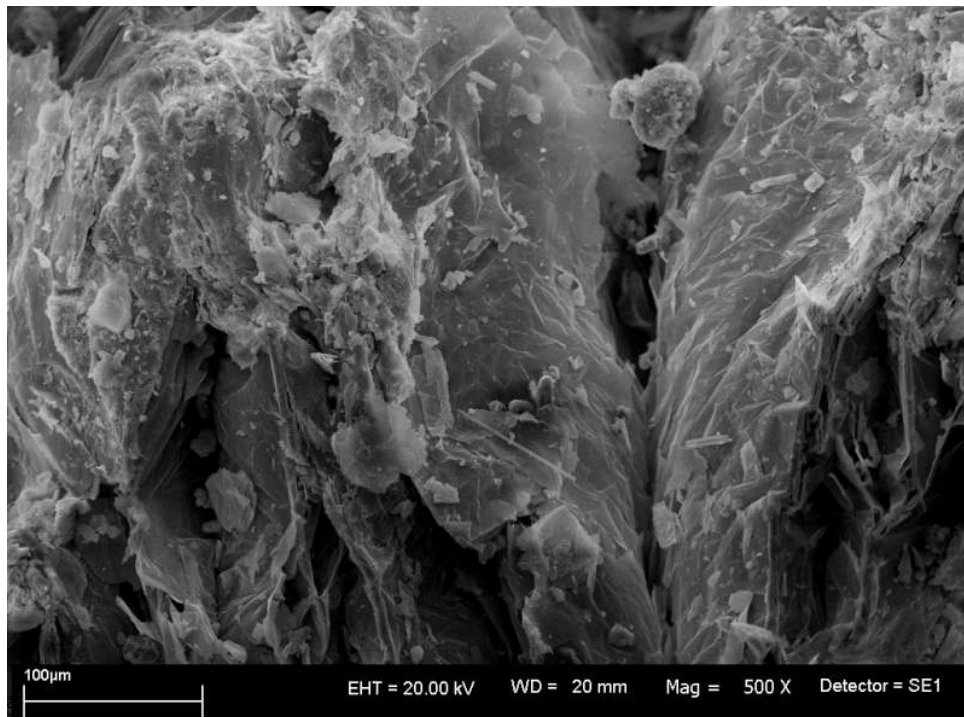
Obraz powierzchni glinokrzemianów oraz preparatów zastosowanych do badań obserwowany z zastosowaniem SEM przedstawiono na fotografiach 6 – 14.

Wermikulit (fot. 6) oraz preparaty wykonane na jego bazie, t.j. WV (fot. 7) oraz AV (fot. 8) charakteryzują się rozbudowaną strukturą w formie równolegle ułożonych płatów z wieloma nieregularnościami. Z analizowanych zdjęć wnioskować można, iż dodatek zawiesiny nanosrebra, czy to wodnej czy też alkoholowej, nie wpłynął na strukturę uzyskanych preparatów.

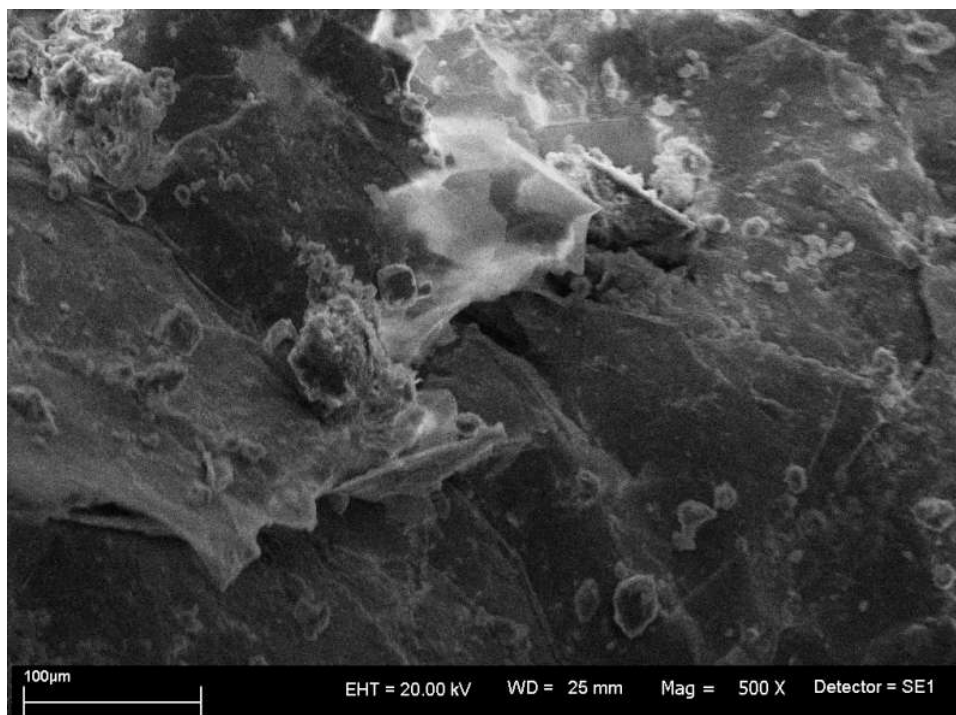
Analizując z kolei strukturę haloizytu (fot. 9) oraz preparatów na bazie haloizytu, tj. WH (fot. 10) i AH (fot. 11) zauważyć można zdecydowanie bardziej rozdrobnioną strukturę powierzchni. Podobnie w tym przypadku nie obserwuje się wpływu dodatku nanosrebra na strukturę preparatów.

W przypadku bentonitu natomiast (fot. 12) oraz preparatów WB (fot. 13) i AB (fot. 14) zauważyć można pewien wpływ dodatków nanosrebra na strukturę otrzymanych preparatów. Sam bentonit charakteryzuje się strukturą zbliżoną do haloizytu, jednak w przypadku preparatu WB kryształły są zdecydowanie większe i bardziej nieregularne. Preparat AB natomiast wykazuje strukturę bardziej zbliżoną do bentonitu, o nieco większej nieregularności.

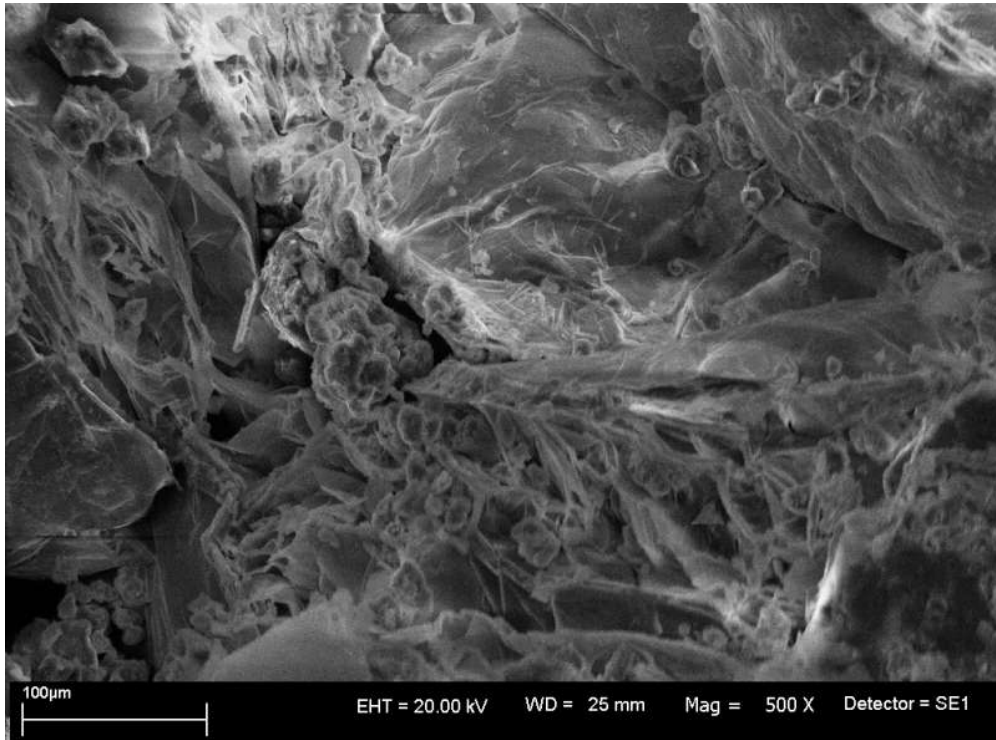
Fot. 6. Obraz powierzchni wermikulitu z 5% domieszką humodetrynitru, SEM x 500



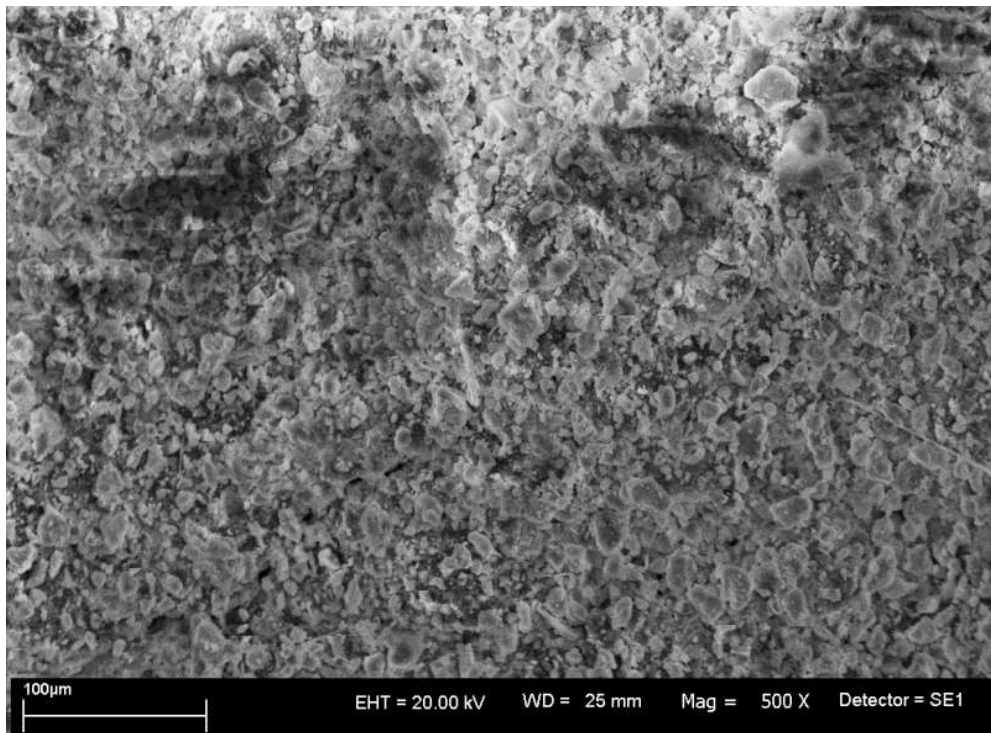
Fot. 7. Obraz skaningowy preparatu na bazie wermikulitu i wodnej zawiesiny nanosrebra – WV, SEM x 500



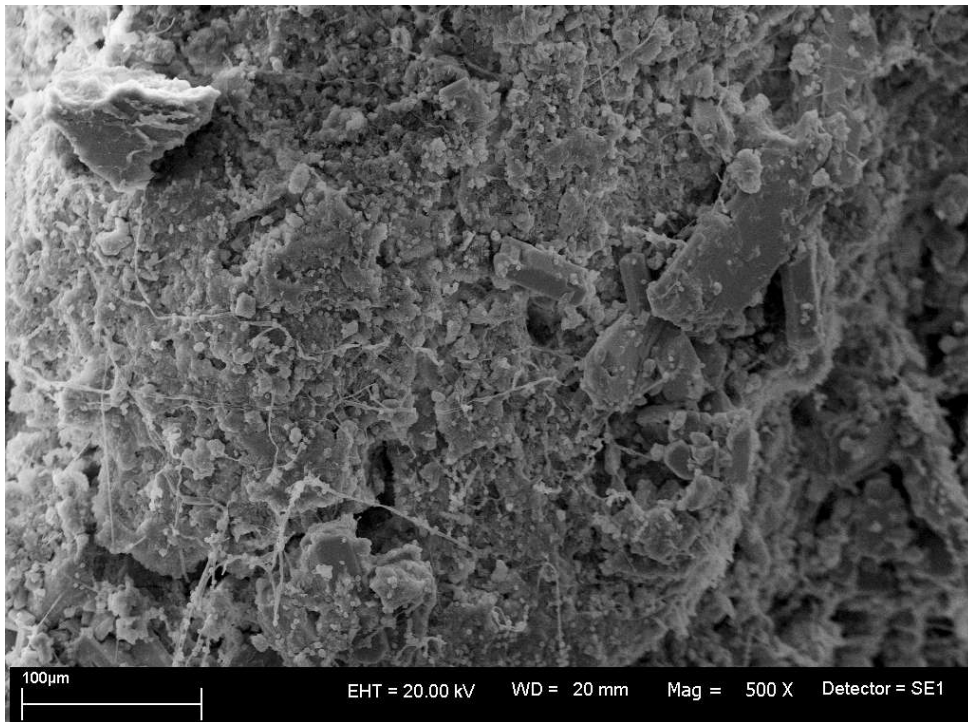
Fot. 8. Obraz powierzchni preparatu na bazie wermikulitu i alkoholowej zawiesiny nanosrebra – AV, SEM x 500



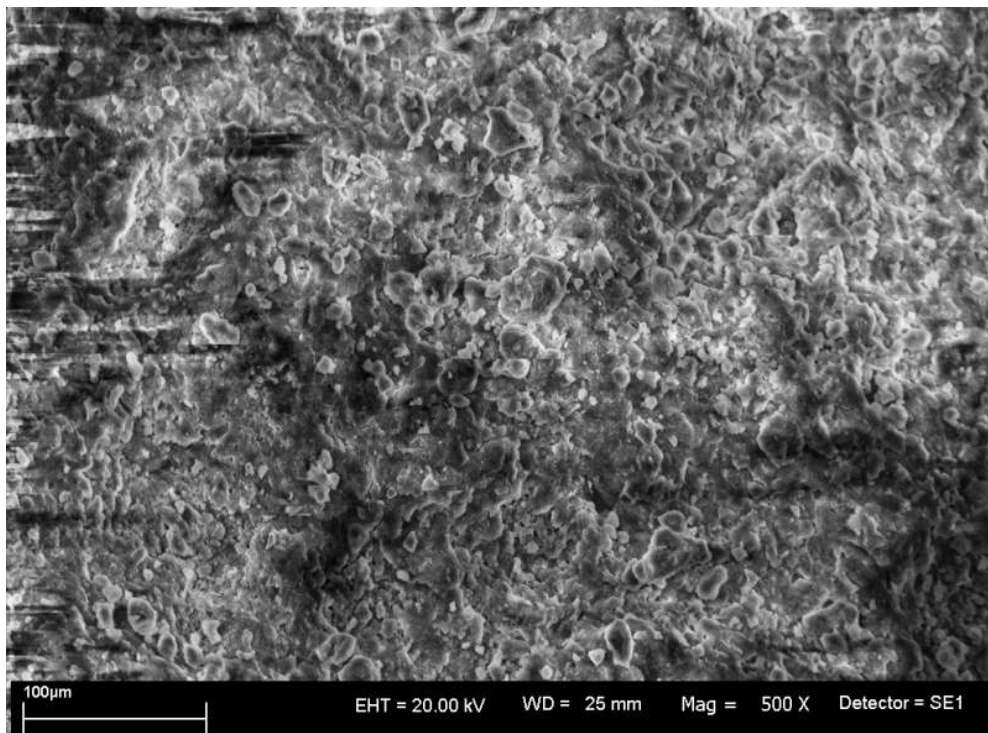
Fot. 9. Obraz powierzchni haloizytu z 5% domieszką humodetrynitru, SEM x 500



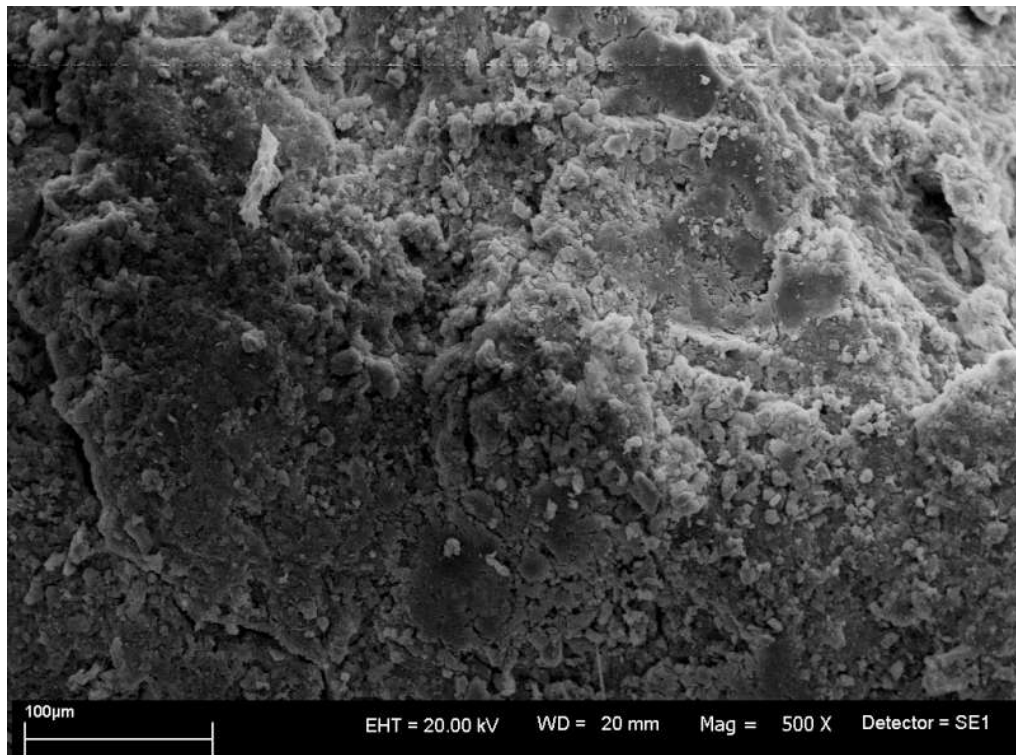
Fot. 10. Obraz powierzchni preparatu na bazie haloizytu i wodnej zawiesiny nanosrebra – WH, SEM x 500



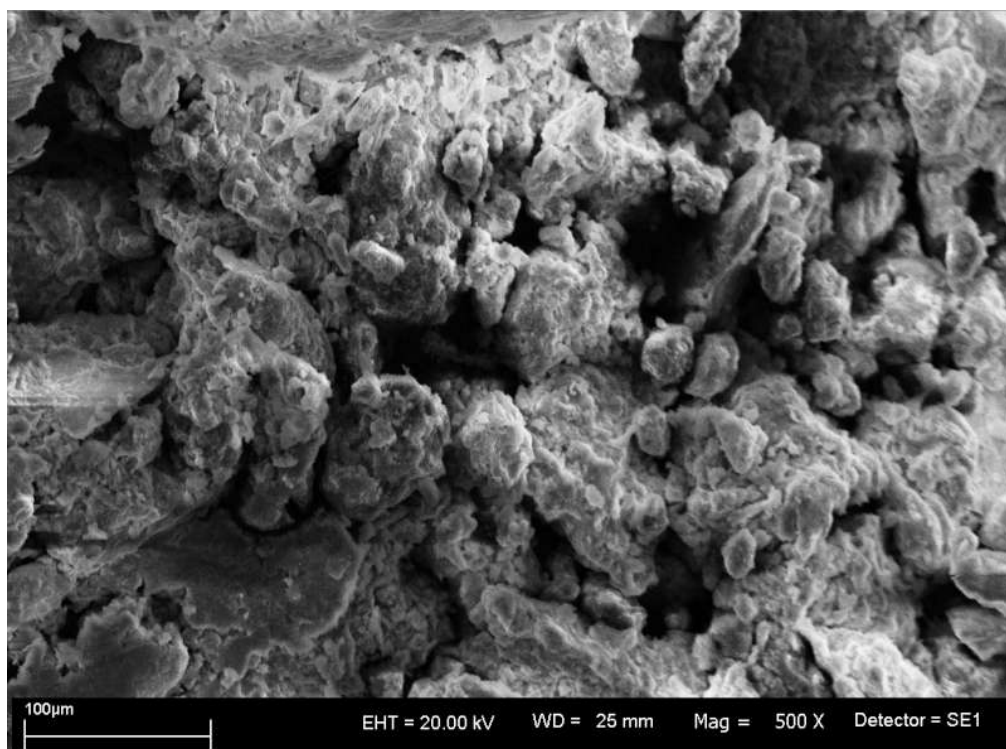
Fot. 11. Obraz powierzchni preparatu na bazie haloizytu i alkoholowej zawiesiny nanosrebra – AH, SEM x 500



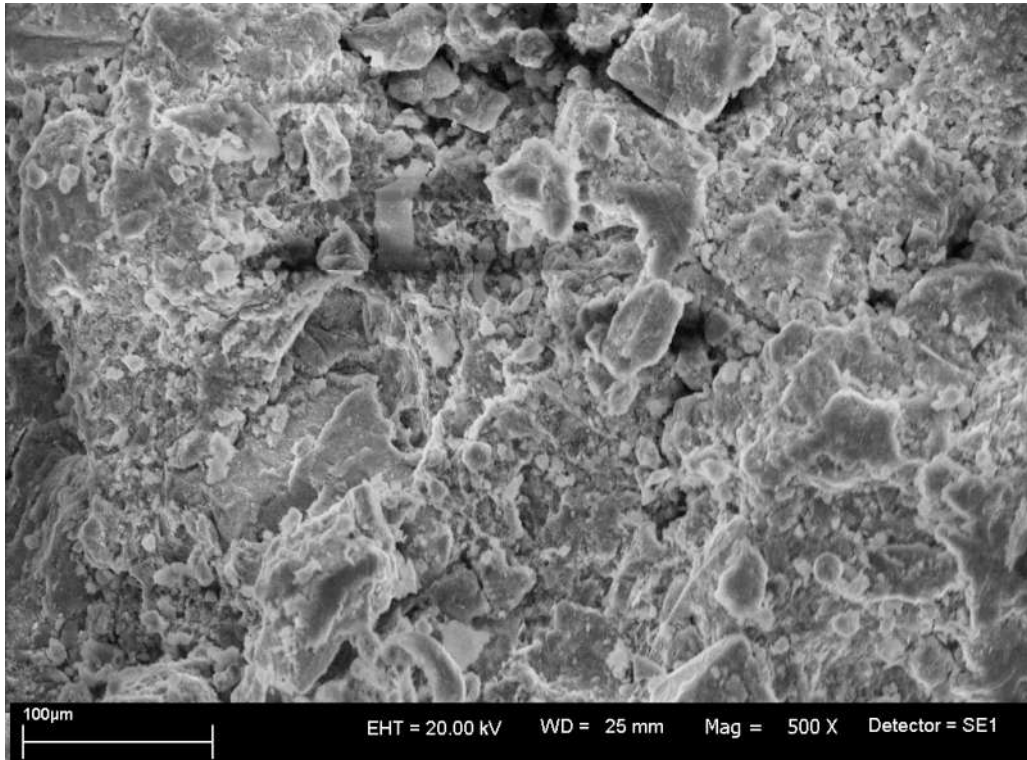
Fot. 12. Obraz powierzchni bentonitu z 5% domieszką humodetrynytu, SEM x 500



Fot. 13. Obraz powierzchni preparatu na bazie bentonitu i wodnej zawiesiny nanosrebra – WB, SEM x 500



Fot. 14. Obraz powierzchni preparatu na bazie bentonitu i alkoholowej zawiesiny nanosrebra – AB, SEM x 500



4.1.2 Ocena właściwości sorpcyjnych i biobójczych preparatów zastosowanych w badaniach

Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie testów laboratoryjnych z wykorzystaniem opisanych powyżej preparatów.

Wyniki testów z wykorzystaniem wodnej zawiesiny nanosrebra przedstawione zostały w tabelach 9 – 12.

Wszystkie zastosowane preparaty spowodowały redukcję stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki i ponad jej powierzchnią. Stężenie amoniaku nad ściółką było najwyższe w grupie kontrolnej w pierwszym pobraniu ($25,47 \pm 0,39$ ppm), zaś najniższe w grupie WV-10 także w pobraniu pierwszym ($5,36 \pm 0,18$ ppm). Znaczące obniżenie stężenia amoniaku nad ściółką zaobserwowano głównie w przypadku preparatów na bazie wermikulitu, gdzie stężenie to kształtowało się w granicach od $10,92 \pm 0,26$ ppm (WV-5, pobranie II) do $5,36 \pm 0,18$ ppm (WV-10, pobranie I). Podobną redukcję zaobserwowano także w przypadku preparatu na bazie bentonitu, jednakże jedynie w grupie WB-10 w pobraniu I ($5,48 \pm 0,33$ ppm). Zmniejszenie stężenia amoniaku było wyższe w pobraniu I w porównaniu do II we wszystkich grupach. W przypadku wszystkich grup, poza WV-10 i WB-10, zaobserwowane różnice były istotne statystycznie.

Stężenie amoniaku mierzone w górnej warstwie ściółki zostało zredukowane w najwyższym stopniu w grupie WB-10 w pierwszym pobraniu ($4,96 \pm 0,18$ ppm), podczas gdy najmniej korzystnym działaniem wykazał się preparat WB-10 w pobraniu II ($67,75 \pm 0,61$ ppm). Biorąc pod uwagę oba pobrania jednakże, najkorzystniej wypadł preparat WV-10, w przypadku którego stężenie amoniaku było na poziomie $5,22 \pm 0,46$ w pobraniu I i $35,28 \pm 0,51$ ppm w porównaniu do grupy kontrolnej, gdzie wartości te kształtowały się odpowiednio na poziomie $25,22 \pm 0,42$ i $78,30 \pm 0,91$ ppm. Zaobserwowane różnice pomiędzy grupami były istotne statystycznie.

Tabela 9. Stężenie amoniaku nad ściółką oraz w górnej warstwie ściółki (ppm) – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra

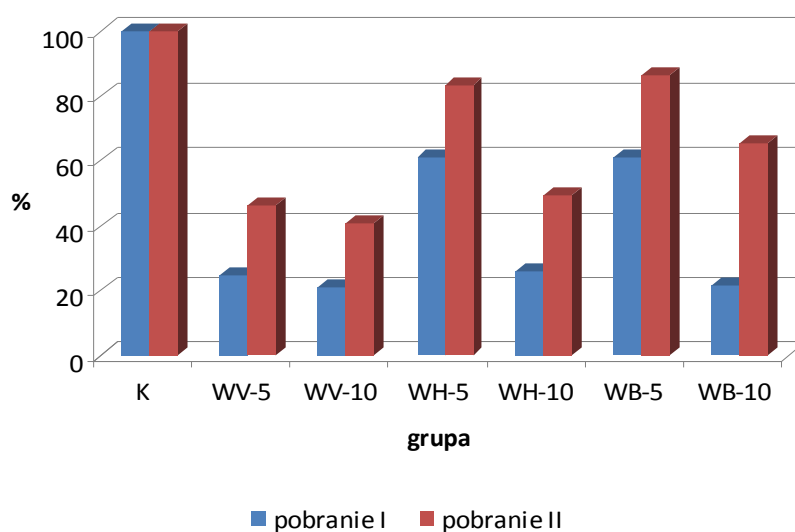
Pobranie		K	WV-5	WV-10	WH-5	WH-10	WB-5	WB-10
		Zawartość amoniaku w powietrzu						
I	\bar{X}	25,47 ^{A,a}	6,32 ^{B,b}	5,36 ^{C,c}	15,55 ^{D,d}	6,60 ^{B,b}	15,58 ^{D,d}	5,48 ^{C,c}
	SD	0,39	0,26	0,18	0,39	0,20	0,47	0,33
II	\bar{X}	23,62 ^{A,a}	10,92 ^{B,b}	9,65 ^{C,c}	19,73 ^{D,d}	11,66 ^{E,e}	20,42 ^{F,f}	15,47 ^{G,g}
	SD	0,32	0,26	0,30	0,40	0,21	0,49	0,40
		Zawartość amoniaku w ściółce						
I	\bar{X}	25,44 ^{A,a}	17,81 ^{B,b}	5,22 ^{C,c}	19,71 ^{D,d}	8,17 ^{E,e}	12,94 ^{F,f}	4,96 ^{C,c}
	SD	0,42	0,34	0,46	0,29	0,33	0,28	0,18
II	\bar{X}	78,30 ^{A,a}	45,49 ^{B,b}	35,28 ^{C,c}	64,30 ^{D,d}	38,18 ^{E,e}	67,75 ^{F,f}	42,90 ^{G,g}
	SD	0,91	0,43	0,51	0,54	0,33	0,61	0,40

A,B... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;
a,b... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$
Oznaczenia skrótów – tabela 1

Na rysunkach 3 i 4 przedstawione zostały wartości procentowe dotyczące redukcji stężenia amoniaku ponad ściółką (rysunek 3) i w górnej jej warstwie (rysunek 4).

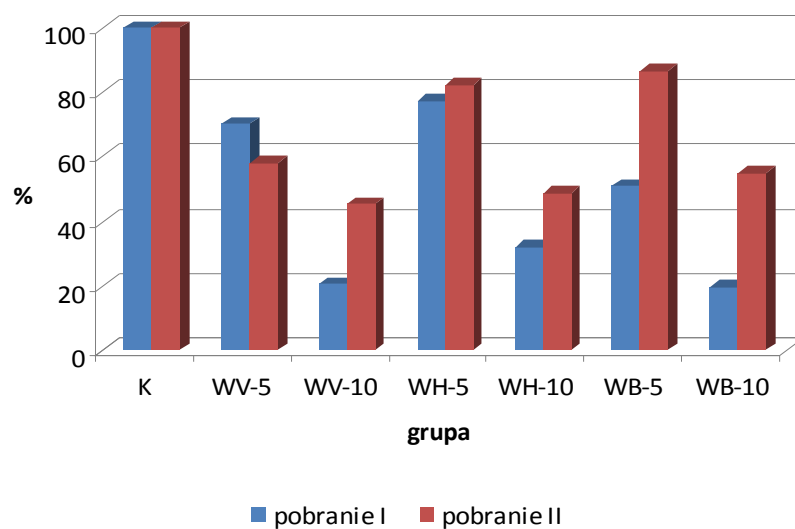
W przypadku redukcji stężenia amoniaku ponad ściółką, kształtowała się ona na poziomie od 79,0% (WV-10) do 38,8% (WB-5) w pierwszym pobraniu, oraz od 59,1% (WV-10) do 13,6% (WB-5) w pobraniu drugim. Skuteczność zastosowanych preparatów układała się w następującym ciągu: WV-10 > WB-10 > WV-5 > WH-10 > WH-5 > WB-5 (pobranie I), oraz WV-10 > WV-5 > WH-10 > WB-10 > WH-5 > WB-5 (pobranie II) (rysunek 3).

Rys. 3. Procentowa zawartość amoniaku nad ściółką – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra



Jeśli chodzi natomiast o redukcję stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki, najskuteczniejszy w pobraniu I okazał się preparat WB-10 (redukcja o 80,5%), zaś najmniej skuteczny był preparat WH-10 (22,5%). W pobraniu II redukcja stężenia amoniaku wyniosła od 54,7% (WV-10) do 13,5% (WB-5). Skuteczność zastosowanych preparatów układała się w następującym ciągu: WB-10 > WV-10 > WH-10 > WB-5 > WV-10 > WH-5 (pobranie I), oraz WV-10 > WH-10 > WB-5 > WV-5 > WH-5 > WB-5 (pobranie II) (rysunek 4).

Rys. 4. Procentowa zawartość amoniaku w górnej warstwie ściółki – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra



Podsumowując wyniki dotyczące stężenia amoniaku mierzonego ponad ściółką oraz w górnej jej warstwie można stwierdzić, że najskuteczniejszy okazał się preparat na bazie wermikulitu, zaś najmniejszą skutecznością charakteryzował się preparat na bazie bentonitu. Skuteczność redukcji stężenia amoniaku w czasie (pobranie I vs. pobranie II) była dość zróżnicowana. Wyższe dawki preparatu (10% vs. 5%) były niewiele bardziej skuteczne w ograniczaniu stężenia amoniaku w przypadku pomiarów nad ściółką dla wermikulitu, natomiast znacznie bardziej efektywne były w przypadku pozostałych glinokrzemianów, tj. haloizytu i bentonitu. Jeśli chodzi o stężenie amoniaku mierzone w górnej warstwie ściółki, we wszystkich przypadkach wyższe dawki preparatów skuteczniej zmniejszały jego wartość, zaś wartości dotyczące różnic pomiędzy pobraniami były także dość zróżnicowane.

W tabeli 10 przedstawiono wyniki dotyczące zawartości ogólnej liczby bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki uzyskane w testach z preparatami z wodną zawiesiną nanosrebra.

Najwyższą skutecznością w redukcji liczby bakterii charakteryzował się preparat WV-10 zarówno w pobraniu I jak i w pobraniu II (odpowiednio $23,8 \pm 0,9$ i $30,2 \pm 0,8$ jtk $\times 10^6$). Także preparat WV-5 okazał się być bardzo skuteczny, gdyż w pobraniu I spowodował niemal dwukrotną redukcję liczby bakterii i ponad trzykrotną w pobraniu II (odpowiednio $68,2 \pm 2,8$ i $62,1 \pm 1,1$ jtk $\times 10^6$). Najmniej skuteczny był preparat na bazie haloizytu w pobraniu I ($115,6 \pm 2,2$ jtk $\times 10^6$), oraz w pobraniu II ($80,7 \pm 1,1$ jtk $\times 10^6$). W przypadku wermikulitu i haloizytu dawki preparatu miały dość istotne znaczenie, natomiast w przypadku bentonitu różnice w redukcji ilości bakterii nie były duże w zależności od dawek. Skuteczność redukcji liczby bakterii w czasie (pobranie I vs. pobranie II) była dość zróżnicowana w pobraniu I i zdecydowanie bardziej wyrównana w pobraniu II. Wszystkie zaobserwowane różnice były istotne statystycznie.

Tabela 10. Zawartość bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki (jtk x 10⁶) – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra

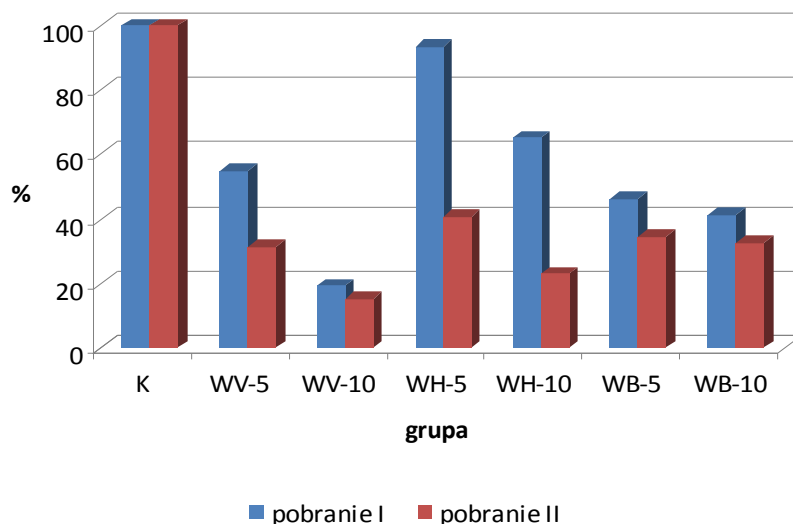
Pobranie		K	WV-5	WV-10	WH-5	WH-10	WB-5	WB-10
		Zawartość bakterii w ściółce						
I	\bar{X}	123,7 ^{A,a}	68,2 ^{B,b}	23,8 ^{C,c}	115,6 ^{D,d}	80,6 ^{E,e}	57,1 ^{F,f}	51,2 ^{G,g}
	SD	5,3	2,8	0,9	2,2	1,1	0,8	0,8
II	\bar{X}	199,0 ^{A,a}	62,1 ^{B,b}	30,2 ^{C,c}	80,7 ^{D,d}	59,5 ^{E,e}	68,5 ^{F,f}	65,1 ^{G,g}
	SD	3,0	1,1	0,8	1,0	1,6	1,2	1,0

A,B ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,01;
a,b ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05
Oznaczenia skrótów – tabela 1

Na rysunku 5 przedstawione zostały wartości procentowe dotyczące redukcji ogólnej liczby bakterii mezofilnych w testach z wodną zawiesiną nanosrebra.

Redukcja ta kształtowała się na poziomie od 80,8% (WV-10) do 6,6% (WH-5) w pierwszym pobraniu, oraz od 84,8% (WV-10) do 59,5% (WB-5) w pobraniu drugim. Skuteczność zastosowanych preparatów układała się w następującym ciągu: WV-10 > WB-10 > WB-5 > WV-5 > WH-10 > WH-5 (pobranie I), oraz WV-10 > WH-10 > WV-5 > WB-10 > WB-5 > WH-5 (pobranie II) (rysunek 5).

Rys. 5. Procentowa zawartość bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra



W tabeli 11 przedstawiono parametry fizyczne, tj. temperaturę i odczyn ściółki uzyskane w testach z wodną zawiesiną nanosrebra.

Temperatura ściółki wykazywała tendencję malejącą wraz ze zmniejszaniem się zawartości amoniaku w badanych próbach. Najwyższą temperaturą charakteryzowała się ściółka w grupie K w pobraniu II ($24,2 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$), zaś najniższą ściółka w grupie WV-10 w pobraniu I ($20,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$). Generalnie we wszystkich próbach w pobraniu II wykazano temperaturę o ok. 2°C wyższą w porównaniu z pobraniem I. Różnice pomiędzy grupami były istotne statystycznie.

Zaobserwowane wartości pH kształtowały się na poziomie od $7,78 \pm 0,34$ w grupie K przy pobraniu II, do $7,51 \pm 0,34$ w grupie WV-10 przy pobraniu II. Podobnie jak w przypadku temperatury wykazano tendencję malejącą równoległą ze zmniejszaniem się stężenia amoniaku. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

Tabela 11. Parametry fizyczne ściółki – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra

Pobranie		K	WV-5	WV-10	WH-5	WH-10	WB-5	WB-10
		Temperatura ściółki (°C)						
I	\bar{X}	22,3 ^{A,a}	20,7 ^{B,C,b}	20,6 ^{B,b}	22,1 ^{A,a}	22,0 ^{A,a}	21,9 ^{A,a}	21,7 ^{A,C,a}
	SD	0,6	0,7	0,4	0,7	0,5	0,7	0,8
II	\bar{X}	24,2 ^a	23,9 ^{a,c}	23,4 ^{a,d}	24,1 ^a	23,0 ^{a,f}	23,2 ^{a,e}	22,6 ^{b,c,d,e,f}
	SD	1,0	1,0	0,6	0,7	1,1	1,1	1,3
		odczyn ściółki						
I	\bar{X}	7,78	7,63	7,59	7,76	7,75	7,73	7,72
	SD	0,34	0,38	0,29	0,31	0,22	0,37	0,35
II	\bar{X}	7,72	7,61	7,51	7,68	7,62	7,64	7,55
	SD	0,28	0,25	0,34	0,29	0,35	0,39	0,28

A,B ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

a,b ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Oznaczenia skrótów – tabela 1

W tabeli 12 zestawione zostały parametry fizyczne, tj. temperatura i wilgotność powietrza, zaobserwowane w testach z wodną zawiesiną nanosrebra.

Temperatura powietrza kształtowała się generalnie na poziomie ok. 1°C niższym niż w przypadku temperatury ściółki, najwyższa była w przypadku grupy K w pobraniu II ($23,3 \pm 0,8^\circ\text{C}$) zaś najniższa w grupie WB-10 w pobraniu I ($20,3 \pm 0,8^\circ\text{C}$). Nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

Wilgotność powietrza we wszystkich przypadkach była na poziomie wysokim, tj. powyżej 90%. Najwyższą wilgotność zaobserwowano w grupie K w pobraniu I ($93,9 \pm 5,2\%$) podczas gdy najniższą w grupie WV-10 w pobraniu II ($90,8 \pm 5,0\%$). Nieco wyższa wilgotność odnotowana została w pobraniu I w porównaniu do II. Różnic statystycznie istotnych nie odnotowano.

Tabela 12. Parametry fizyczne powietrza – preparaty z wodną zawiesiną nanosrebra

Pobranie		K	WV-5	WV-10	WH-5	WH-10	WB-5	WB-10
		Temperatura powietrza (°C)						
I	\bar{X}	21,3	20,6	20,4	20,9	20,8	20,7	20,3
	SD	0,6	0,4	1,1	1,2	1,0	1,1	0,8
II	\bar{X}	23,3	23,1	23,0	22,4	22,2	22,9	22,6
	SD	0,8	0,9	0,4	1,3	1,3	0,8	0,4
		Wilgotność powietrza (%)						
I	\bar{X}	93,9	91,5	91,3	91,4	91,7	93,0	92,7
	SD	5,2	9,2	5,8	7,6	6,6	5,3	7,8
II	\bar{X}	92,3	90,9	90,8	92,2	91,9	92,1	92,5
	SD	5,8	4,3	5,0	6,3	6,9	6,6	5,5

Oznaczenia skrótów – tabela 1

W tabelach 13 – 16 zestawione zostały wyniki testów z wykorzystaniem alkoholowej zawiesiny nanosrebra.

Także w tym wypadku wszystkie preparaty spowodowały redukcję stężenia amoniaku mierzonego w górnej warstwie ściółki oraz ponad jej powierzchnią. Wyniki pomiarów podano w tabeli 12. Zawartość amoniaku nad ściółką była najwyższa w grupie kontrolnej w pobraniu I ($22,78 \pm 0,48$ ppm), zaś najniższa w grupie AV-10 w tym samym pobraniu ($6,31 \pm 0,39$ pm). Wyższą redukcję stężenia amoniaku nad ściółką zaobserwowano w przypadku wszystkich preparatów w pobraniu I, natomiast w pobraniu II stężenie amoniaku nad ściółką kształtowało się w granicach od $21,76 \pm 0,41$ ppm (K) do $8,81 \pm 0,51$ ppm (WV-10). Najwyższą skutecznością w obu pobraniach charakteryzował się preparat na bazie wermikulitu w wyższym stężeniu. Zaobserwowane różnice były istotne statystycznie.

Stężenie amoniaku mierzone w górnej warstwie ściółki zostało w najwyższym stopniu ograniczone w grupie AV-10 w pobraniu I ($11,37 \pm 0,52$ ppm), podczas gdy najmniej korzystnym działaniem wykazał się preparat AB-5 w pobraniu II ($49,09 \pm 0,62$ ppm). Biorąc pod uwagę oba pobrania, najkorzystniejszym działaniem redukującym charakteryzował się preparat AV-10, w przypadku którego emisja amoniaku była na

poziomie $11,37 \pm 0,52$ w pobraniu I i $13,55 \pm 0,82$ ppm w pobraniu II w porównaniu do grupy kontrolnej, gdzie wartości te kształtowały się odpowiednio na poziomie $17,35 \pm 0,54$ i $52,66 \pm 1,10$ ppm. Zaobserwowane różnice pomiędzy grupami były istotne statystycznie.

Tabela 13. Stężenie amoniaku nad ściółką w górnej warstwie ściółki (ppm) – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra

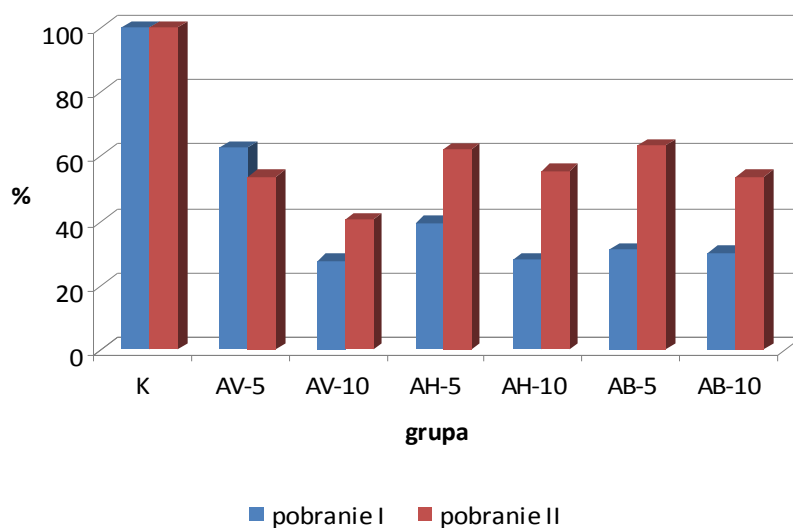
Pobranie		K	AV-5	AV-10	AH-5	AH-10	AB-5	AB-10
		Zawartość amoniaku w powietrzu (ppm)						
I	\bar{X}	22,78 ^{A,a}	14,31 ^{B,b}	6,31 ^{D,e}	8,99 ^{C,c}	6,34 ^{D,e}	7,05 ^{D,d}	6,88 ^{D,d,e}
	SD	0,48	0,65	0,39	0,57	0,46	0,53	0,40
II	\bar{X}	21,76 ^{A,a}	11,72 ^{B,b}	8,81 ^{C,c}	13,50 ^{D,d}	12,07 ^{B,b}	14,01 ^{D,d}	11,66 ^{B,b}
	SD	0,41	0,30	0,51	0,68	0,56	0,65	0,41
		Zawartość amoniaku w ściółce (ppm)						
I	\bar{X}	17,35 ^{A,a}	12,26 ^{B,b}	11,37 ^{B,d}	16,09 ^{C,c}	12,36 ^{B,b}	12,30 ^{B,b}	11,43 ^{B,d}
	SD	0,54	0,56	0,52	0,74	0,82	0,91	0,44
II	\bar{X}	52,66 ^{A,a}	16,87 ^{B,b}	13,55 ^{C,c}	36,73 ^{D,d}	32,90 ^{E,e}	49,09 ^{F,f}	43,76 ^{G,g}
	SD	1,10	0,83	0,82	0,95	0,61	0,62	0,53

A,B ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;
a,b ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$
Oznaczenia skrótów – tabela 1

Na rysunkach 6 i 7 zestawiono wartości procentowe dotyczące redukcji stężenia amoniaku ponad ściółką (rysunek 6) i w górnej warstwie ściółki (wykres 5) w testach z alkoholową zawiesiną nanosrebra.

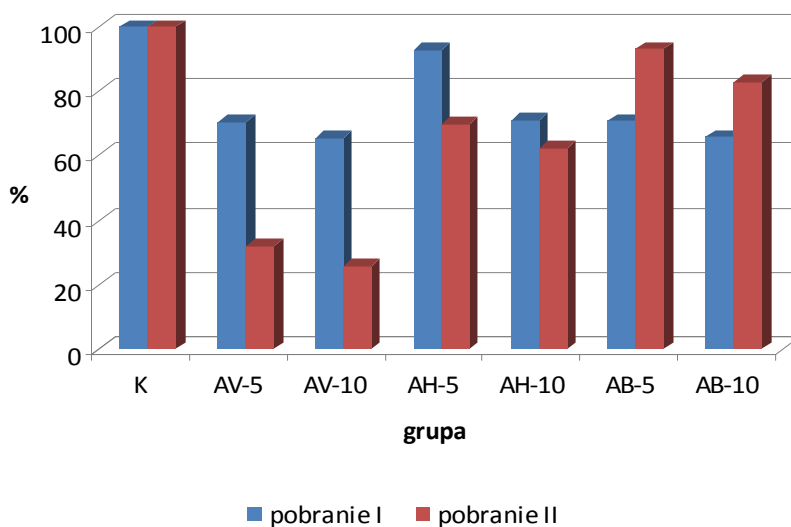
Stężenie amoniaku ponad ściółką kształtowało się na poziomie od 72,3% (AV-10) do 37,2% (AV-5) w pierwszym pobraniu, oraz od 59,5% (AV-10) do 36,6% (AB-5) w pobraniu drugim. Skuteczność zastosowanych preparatów układała się w następującym ciągu: AV-10 > AHB-10 > AB-10 > AB-5 > AH-5 > AV-5 (pobranie I), oraz AV-10 > AB-10 > AV-5 > AH-10 > AH-5 > AB-5 (pobranie II) (rysunek 6).

Rys. 6. Procentowa zawartość amoniaku nad ściółką – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra



W przypadku redukcji stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki, najskuteczniejszy w pobraniu I okazał się preparat AV-10 (redukcja o 34,5%), zaś najmniej skuteczny był preparat AH-5 (7,2%). W pobraniu II redukcja stężenia amoniaku wyniosła od 74,3% (AV-10) do 6,8% (AB-5). Skuteczność zastosowanych preparatów układała się w następującym ciągu: AV-10 > AB-10 > AV-5 > AB-5 > AH-10 > AH-5 (pobranie I), oraz AV-10 > AV-5 > AH-10 > AH-5 > AB-10 > AB-5 (pobranie II) (rysunek 7).

Rys. 7. Procentowa zawartość amoniaku w górnej warstwie ściółki – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra



Najsukuteczniejszy w redukcji stężenia amoniaku wśród preparatów z alkoholową zawiesiną nanosrebra okazał się preparat na bazie wermikulitu, różnice widoczne były zwłaszcza w przypadku pomiarów stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki, gdzie preparat AV-5 i AV-10 zdecydowanie przewyższał działaniem pozostałe preparaty, szczególnie w pobraniu II. Preparaty na bazie haloizytu i bentonitu można natomiast uznać za porównywalne. Skuteczność redukcji stężenia amoniaku w czasie (pobranie 1 vs. pobranie 2) była zróżnicowana w przypadku stężenia mierzonego ponad ściółką na korzyść dla pobrania I, gdzie wyniki były lepsze. Przy pomiarach zawartości amoniaku w górnej warstwie ściółki różnice te były mniejsze dla haloizytu i bentonitu, natomiast dość znaczące dla wermikulitu. Wyższe dawki preparatu (10% vs. 5%) były niewiele bardziej skuteczne w ograniczaniu stężenia amoniaku, co poddaje w wątpliwość ich zastosowanie.

W tabeli 14 przedstawiono wyniki dotyczące redukcji ogólnej liczby bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki uzyskane w testach z preparatami z alkoholową zawiesiną nanosrebra.

Najwyższą skutecznością w redukcji bakterii charakteryzował się preparat AB-10 zarówno w pobraniu I jak i w pobraniu II (odpowiednio $10,7 \pm 0,8$ i $9,7 \pm 1,1$ jtk $\times 10^6$). Generalnie redukcja liczby bakterii mezofilnych w przypadku preparatów z alkoholową

zawiesiną nanosrebra była bardzo wysoka, wszystkie badane preparaty wykazały się dużą skutecznością. Dawki preparatu nie miały większego znaczenia, podobnie jak czas, tj. pobranie I vs. pobranie II. Zaobserwowane różnice były istotne statystycznie.

Tabela 14. Zawartość bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki (jtk x 10⁶) – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra

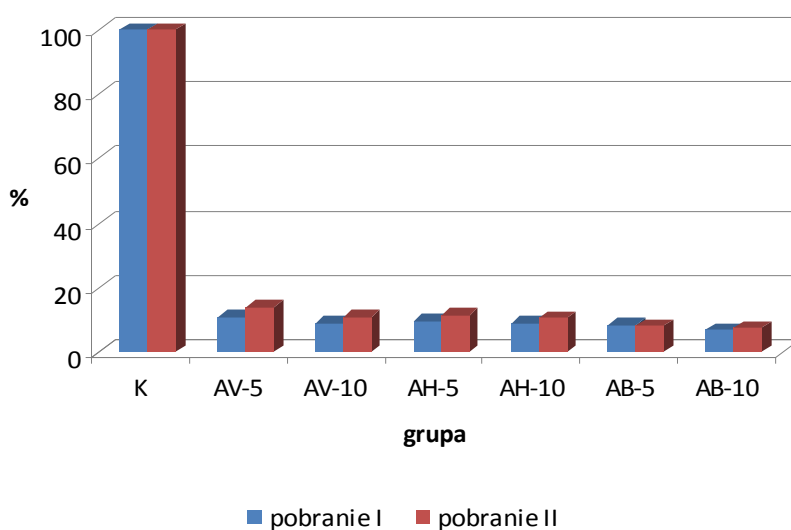
Pobranie		K	AV-5	AV-10	AH-5	AH-10	AB-5	AB-10
		Zawartość bakterii w ściółce						
I	\bar{X}	155,7 ^{A,a}	17,2 ^{B,b}	14,3 ^{C,c}	15,2 ^{B,C,c}	13,8 ^{C,c}	13,3 ^{C,c}	10,7 ^{D,d}
	SD	3,1	1,2	1,2	0,9	1,4	0,8	0,8
II	\bar{X}	129,3 ^{A,a}	18,2 ^{B,b}	14,0 ^{C,c}	14,6 ^{C,c}	13,6 ^{C,c}	10,3 ^{D,d}	9,7 ^{D,d}
	SD	4,3	0,9	1,0	0,7	0,9	1,1	1,1

A,B ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,01;
a,b ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05
Oznaczenia skrótów – tabela 1

Na rysunku 8 przedstawione zostały wartości procentowe dotyczące redukcji ogólnej liczby bakterii mezofilnych w testach z alkoholową zawiesiną nanosrebra.

Redukcja ta kształtowała się na poziomie od 93,1% (AB-10) do 88,9% (AV-5) w pierwszym pobraniu, oraz od 92,5% (AB-10) do 85,9% (AV-5) w pobraniu drugim. Skuteczność zastosowanych preparatów układała się w następującym ciągu: AB-10 > AB-5 > AH-10 > AV-10 > AH-5 > AV-5 (pobranie I), oraz AB-10 > AB-5 > AH-10 > AV-10 > AH-5 > AV-5 (pobranie II) (rysunek 8).

Rys. 8. Procentowa zawartość bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra



W tabeli 15 przedstawiono parametry fizyczne, tj. temperaturę i odczyn ściółki uzyskane w testach z alkoholową zawiesiną nanosrebra.

Temperatura ściółki w pobraniu I była niemal stała (od $23,9 \pm 0,7$ do $22,7 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, odpowiednio w grupie K i AH-5), natomiast w pobraniu II wykazywała większą zmienność (od $21,6 \pm 0,8$ do $19,5 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, w grupie K i AH-10). Różnice zaobserwowane w pobraniu II były istotne statystycznie.

Zaobserwowane wartości pH kształtowały się na poziomie od $7,62 \pm 0,58$ w grupie K przy pobraniu I, do $7,05 \pm 0,28$ w grupie AH-10 przy pobraniu I. Wykazano tendencję malejącą równoległą ze zmniejszaniem się stężenia amoniaku. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

Tabela 15. Parametry fizyczne ściółki – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra

Pobranie		K	AV-5	AV-10	AH-5	AH-10	AB-5	AB-10
		Temperatura ściółki (°C)						
I	\bar{X}	23,9	23,4	23,3	22,7	23,2	23,6	23,4
	SD	0,7	0,9	0,9	1,0	1,0	1,1	1,2
II	\bar{X}	21,6 ^{A,a}	21,5 ^{A,a}	20,8 ^{A,D,a,d}	20,1 ^{B,C,D, b,c,d}	19,5 ^{B,D,b}	20,9 ^{A,C,a,c}	19,9 ^{B,D,b,d}
	SD	0,8	0,9	0,7	0,5	1,0	0,6	1,0
odczyn ściółki								
I	\bar{X}	7,62	7,59	7,18	7,09	7,05	7,15	7,08
	SD	0,58	0,41	0,41	0,51	0,28	0,62	0,38
II	\bar{X}	7,56	7,46	7,24	7,22	7,15	7,17	7,14
	SD	0,42	0,32	0,48	0,42	0,33	0,32	0,38

A,B ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

a,b ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Oznaczenia skrótów – tabela 1

W tabeli 16 przedstawione zostały parametry fizyczne, tj. temperatura i wilgotność powietrza, zaobserwowane w testach z alkoholową zawiesiną nanosrebra.

Temperatura powietrza kształtowała się generalnie na poziomie ok. 2 - 4°C niższym w pobraniu II w porównaniu do pobrania I. Najwyższą temperaturę odnotowano w przypadku grupy AV-10 w pobraniu I ($23,2 \pm 0,9^\circ\text{C}$) zaś najniższą w grupie AB-10 w pobraniu II ($19,5 \pm 1,1^\circ\text{C}$). Różnice istotne statystycznie odnotowano w przypadku pobrania I.

Wilgotność powietrza wyższa była w pobraniu II w porównaniu do I. Najwyższą wilgotność zaobserwowano w grupie AH-5 w pobraniu II ($95,8 \pm 5,0\%$) podczas gdy najniższą w grupie AB-10 w pobraniu I ($85,8 \pm 7,5\%$). Różnic statystycznie istotnych nie zaobserwowano.

Tabela 16. Parametry fizyczne powietrza – preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra

Pobranie		K	AV-5	AV-10	AH-5	AH-10	AB-5	AB-10
		Temperatura powietrza (°C)						
I	\bar{X}	22,9 ^{a,d}	22,8 ^{a,e}	23,2 ^{a,c}	22,4 ^{b,c,d,e}	22,2 ^{b,d,e}	23,4 ^a	23,3 ^a
	SD	0,7	0,6	0,9	0,6	0,6	0,7	0,7
II	\bar{X}	20,2	19,9	19,8	19,8	19,6	19,7	19,5
	SD	0,7	0,6	1,0	1,4	0,7	0,9	1,1
		Wilgotność powietrza (%)						
I	\bar{X}	89,0	87,9	88,4	91,8	92,7	87,1	85,8
	SD	3,3	4,6	2,8	5,3	5,9	7,4	7,5
II	\bar{X}	93,8	93,6	92,6	95,8	95,2	92,5	93,2
	SD	4,1	7,1	5,7	5,0	6,5	6,7	4,0

a,b ... wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05
Oznaczenia skrótów – tabela 1

4.2. Badania biologiczne i chemiczne

Następnym etapem badań prezentowanych w niniejszej pracy były testy przeprowadzone w pomieszczeniach gdzie utrzymywano kurczęta brojlery.. Miały one na celu określenie efektywności preparatu wybranego w testach laboratoryjnych (wermikulit z wodną zawiesiną nanosrebra) w obecności zwierząt a także przeanalizowanie transferu srebra i pierwiastków antagonistycznych do organizmu kurcząt.

4.2.1. Zwierzęta doświadczalne

Wskaźniki dotyczące odchowu kurcząt brojlerów, tj. początkową i końcową masę ciała, śmiertelność, średnie zużycie paszy oraz wskaźnik EWW, przedstawiono w tabeli 17. Początkowa masa ciała była nieznacznie wyższa u kurcząt z grupy II w porównaniu do pozostałych grup. Przyrost masy ciała w okresie całego doświadczenia był największy w grupie I, zaś najmniejszy w grupie kontrolnej. Śmiertelność natomiast była na takim samym poziomie, tj. 4,8%, w grupie kontrolnej i II, zaś najmniejsza – na poziomie 3,6% - w grupie I. Średnie zużycie paszy było zbliżone we wszystkich grupach i wynosiło odpowiednio 119, 121 i 120 g/szt./dzień, natomiast wskaźnik EWW w grupie kontrolnej wynosił 319,2, zaś w grupach I i II był odpowiednio na poziomie 362,1 i 361,7. Wykazano tendencje do lepszego wykorzystania paszy przez kurczęta z grup doświadczalnych, co objawiło się wyższym wskaźnikiem EWW w tych grupach.

Tabela 17. Wskaźniki odchowu kurcząt brojlerów (wartości średnie)

Wskaźnik	Grupa		
	K	I	II
Liczba kurcząt początkowa	84	84	84
Liczba kurcząt końcowa	80	81	80
Wskaźnik śmiertelności (%)	4,8	3,6	4,8
Masa początkowa (g)	400,0	399,0	420,0
Masa końcowa (g)	1730,0	1830,0	1842,0
Przyrost masy ciała (g)	1330,0	1431,0	1422,0
Spożycie paszy (g/szt/dzień)	119	121	120
Wykorzystanie paszy (kg/kg przyrostu m.c.)	2,15	2,03	2,02
EWV* (pkt.)	319,2	362,1	361,7

* EWW – Europejski Wskaźnik Wydajności

4.2.2. Określenie stężenia amoniaku oraz wybranych parametrów fizycznych ściółki i powietrza

W tabeli 18 oraz na rysunkach 9 i 10 przedstawiono wartości dotyczące zawartości amoniaku nad ściółką oraz stężenie tego gazu w górnej warstwie ściółki dla grupy kontrolnej oraz grup doświadczalnych, w których do ściółki dodawano preparat nanotechnologiczno – mineralny.

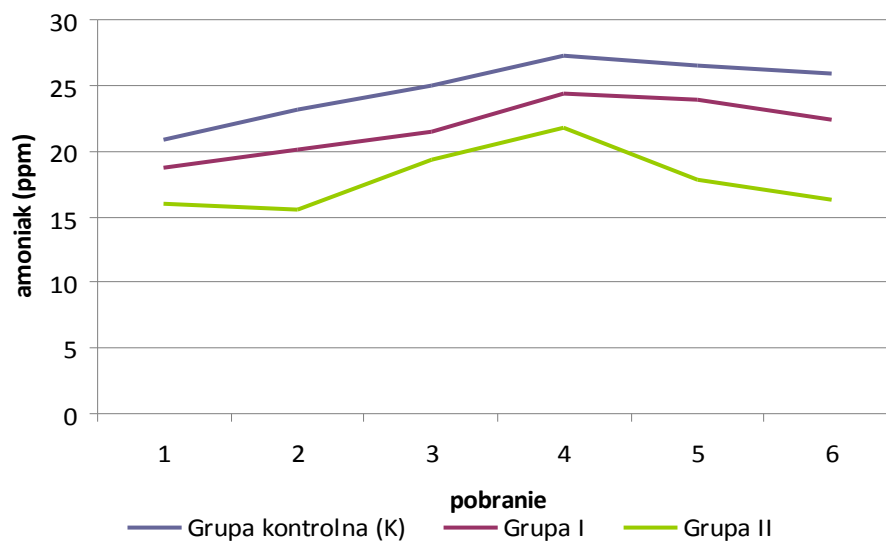
Tabela 18. Stężenie amoniaku nad ściółką oraz w górnej warstwie ściółki (średnia ± SD)

pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Zawartość amoniaku nad ściółką (ppm)			
1	20,84 ^a ± 2,09	18,72 ± 1,84	16,03 ^b ± 1,58
2	23,16 ^{A,a} ± 2,85	20,12 ^a ± 1,67	15,47 ^{B,b} ± 2,07
3	24,93 ^a ± 3,01	21,54 ± 1,28	19,39 ^b ± 1,50
4	27,26 ^a ± 2,05	24,38 ± 2,21	21,72 ^b ± 2,02
5	26,51 ^{A,a} ± 2,44	23,87 ^A ± 3,35	17,77 ^{B,b} ± 1,75
6	25,88 ^{A,a} ± 2,40	22,35 ^a ± 1,71	16,23 ^{B,b} ± 1,96
Zawartość amoniaku w górnej warstwie ściółki (ppm)			
1	35,35 ^{A,a} ± 4,21	23,77 ^{B,b} ± 2,68	22,18 ^{B,b} ± 1,82
2	36,90 ^{A,a} ± 3,33	21,17 ^{B,b} ± 2,11	18,87 ^{B,b} ± 1,81
3	38,68 ^{A,a} ± 2,75	26,94 ^{B,b} ± 3,02	22,62 ^{B,b} ± 2,50
4	36,84 ^{A,a} ± 2,97	21,13 ^{B,b} ± 2,72	18,23 ^{B,b} ± 1,89
5	31,66 ^{A,a} ± 3,18	18,92 ^{B,b} ± 1,91	17,46 ^{B,b} ± 2,31
6	29,17 ^{A,a} ± 2,68	16,71 ^{B,b} ± 2,02	14,18 ^{B,b} ± 2,22

A,B - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,01;
a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05

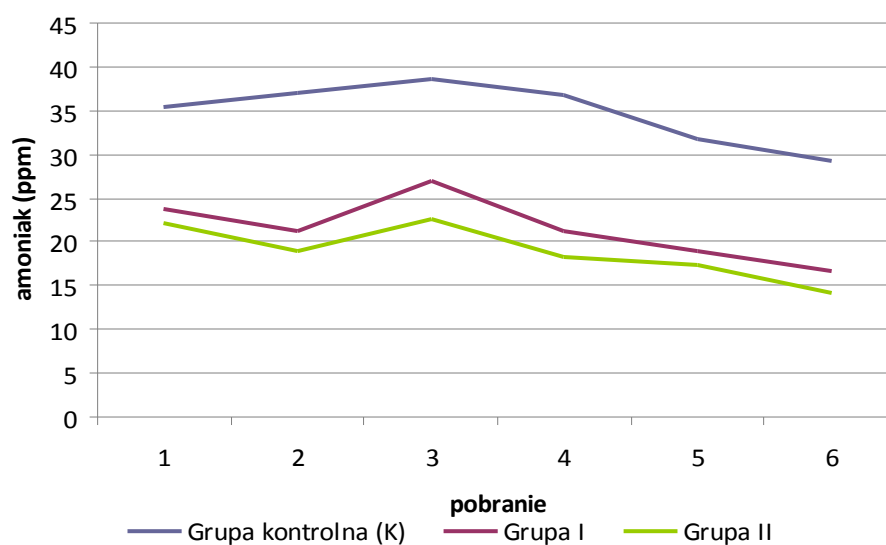
Zawartość amoniaku nad ściółką uległa redukcji zarówno w grupie I jak i w II w porównaniu do grupy kontrolnej. Najwyższe stężenie amoniaku zaobserwowane zostało w grupie kontrolnej przy pobraniu 4 (27,26 ppm), zaś najniższe wystąpiło w grupie II przy pobraniu 2 (15,47 ppm). Zaobserwowano, że w grupie II, tj. w grupie w której preparat był zmieszany ze ściółką i dodawany przy każdym dościelaniu, redukcja stężenia amoniaku nad ściółką była większa w porównaniu do grupy I, gdzie preparat zaaplikowany został tylko raz – pod ściółkę na początku doświadczenia. W obu grupach zaobserwowano redukcję stężenia amoniaku pod wpływem zastosowanego do ściółki dodatku nanotechnologiczno – mineralnego w porównaniu do grupy kontrolnej. We wszystkich grupach, również w grupie kontrolnej, widoczny był także wpływ dościelania na zawartość amoniaku nad ściółką. Najwyraźniej zaznaczył się on we wszystkich grupach po dościeleniu 3, gdzie spadek stężenia amoniaku w stosunku do wcześniejszego pobrania wyniósł 0,75; 0,51 i aż 3,95 ppm odpowiednio w grupie kontrolnej, I i II.

Rys. 9. Zawartość amoniaku nad ściółką (ppm) w zależności od pobrania



Stężenie amoniaku w górnej warstwie ściółki również malało w grupach w których zastosowano dodatek preparatu z nanosrebrem do ściółki. Kształtowało się ono w zakresie od 14,18 ppm (grupa II, pobranie 6) do 38,68 ppm (grupa kontrolna, pobranie 3). Zmniejszenie stężenia amoniaku w grupach doświadczalnych (I i II) w porównaniu do grupy kontrolnej było bardziej wyraźne niż w przypadku zawartości amoniaku nad ściółką. Także tutaj zaobserwowano wpływ dościelania na emisję amoniaku, również w grupie kontrolnej, gdzie nie stosowano preparatu nanotechnologiczno – mineralnego. Wpływ ten zaznaczył się najwyraźniej przy dościelaniu 2 i tendencja malejąca utrzymywała się do końca okresu doświadczalnego.

Rys. 10. Zawartość amoniaku w górnej warstwie ściółki (ppm) w zależności od pobrania



Parametry fizyczne ściółki, tj. jej temperaturę, wilgotność oraz pH, przedstawiono w tabeli 19.

Temperatura ściółki zaobserwowana w czasie trwania doświadczenia kształtowała się na poziomie od 25,1°C (grupa I, pobranie 1) do 33,3°C (grupa K, pobranie 6). Na podstawie uzyskanych wyników trudno jest jednoznacznie określić wpływ podawanego preparatu nanotechnologiczno – mineralnego na temperaturę ściółki.

Wilgotność ściółki z kolei kształtowała się na poziomie od 31 (grupa II, pobranie 1) do 38° (grupa K, pobranie 6). Podobnie jak w przypadku temperatury nie jest jasna zależność pomiędzy stosowanym preparatem a wilgotnością ściółki.

Także wartości pH, kształtujące się w zakresie od 5,56 (grupa II, pobranie 5) do 7,60 (grupa K, pobranie 1 i 6), nie wykazują wyraźnych zależności od stosowanego do ściółki dodatku.

Tabela 19. Parametry fizyczne ściółki (średnia \pm SD)

pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Temperatura (°C)			
1	26,3 \pm 0,9	25,1 \pm 1,2	28,5 \pm 0,8
2	29,8 \pm 1,3	28,5 \pm 1,1	33,1 \pm 1,5
3	29,3 \pm 1,1	26,3 \pm 0,9	29,2 \pm 1,2
4	28,1 \pm 0,7	27,2 \pm 0,8	30,3 \pm 1,1
5	32,7 \pm 1,4	29,4 \pm 1,2	32,8 \pm 1,5
6	35,3 \pm 1,1	34,2 \pm 0,9	33,9 \pm 1,3
Wilgotność (%)			
1	40,2 \pm 3,6	37,9 \pm 1,9	31,5 \pm 5,0
2	54,1 \pm 4,9	42,1 \pm 4,6	46,3 \pm 3,9
3	60,8 ^a \pm 3,2	48,7 ^a \pm 6,2	38,7 ^b \pm 2,5
4	56,1 \pm 1,7	52,6 \pm 5,8	56,1 \pm 4,9
5	58,5 \pm 5,1	62,1 \pm 3,8	66,3 \pm 5,3
6	68,2 \pm 4,3	56,2 \pm 4,2	52,8 \pm 3,1
pH			
1	7,60 \pm 0,38	7,44 \pm 0,41	7,16 \pm 0,51
2	7,30 ^a \pm 0,53	6,08 ^b \pm 0,52	5,98 ^b \pm 0,38
3	6,75 ^a \pm 0,29	6,21 \pm 0,39	5,59 ^b \pm 0,31
4	6,55 \pm 0,61	5,64 \pm 0,42	6,27 \pm 0,29
5	5,91 \pm 0,35	5,74 \pm 0,31	5,56 \pm 0,42
6	7,60 \pm 0,38	7,44 \pm 0,40	7,16 \pm 0,51

a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

W tabeli 20 zestawiono fizyczne parametry powietrza, czyli temperaturę i wilgotność określane przy każdym pobieraniu prób przez cały okres badawczy.

Temperatura powietrza w boksach doświadczalnych podczas trwania eksperymentu kształtowała się na poziomie od 19,7°C (grupa I, pobranie 4) do 28,3°C (grupa II, pobranie 6), natomiast wilgotność powietrza wahała się od 60,3° (grupa K, pobranie 3) do 71,0° (grupa I, pobranie 2). Podobnie jak w przypadku parametrów fizycznych ściółki trudno jest doszukać się tutaj jasnej zależności pomiędzy temperaturą

i wilgotnością powietrza a stosowanym do ściółki preparatem nanotechnologiczno – mineralnym.

Tabela 20. Parametry fizyczne powietrza (średnia \pm SD)

pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Temperatura (°C)			
1	25,8 \pm 1,2	26,0 \pm 1,2	26,5 \pm 0,9
2	26,1 \pm 0,9	24,6 \pm 0,7	26,6 \pm 1,1
3	25,5 \pm 1,1	23,7 \pm 1,1	25,8 \pm 0,7
4	21,4 \pm 0,7	19,7 \pm 0,7	23,3 \pm 1,0
5	26,3 \pm 1,3	24,5 \pm 1,3	27,9 \pm 0,9
6	27,5 \pm 0,8	26,8 \pm 1,2	28,3 \pm 1,2
Wilgotność (%)			
1	67,2 \pm 5,8	62,8 \pm 4,9	63,2 \pm 7,1
2	67,7 \pm 4,6	71,0 \pm 6,3	66,4 \pm 5,9
3	60,3 \pm 3,9	63,5 \pm 3,9	60,7 \pm 4,8
4	70,1 \pm 6,2	70,4 \pm 4,7	61,4 \pm 5,2
5	61,7 \pm 5,3	63,6 \pm 5,3	61,2 \pm 3,9
6	64,3 \pm 4,2	65,1 \pm 3,5	65,7 \pm 4,5

Wszystkie parametry fizyczne, zarówno ściółki jak i powietrza, pozostawały niewątpliwie pod wpływem panujących w czasie badań warunków atmosferycznych, tj. temperatury i wilgotności panujących na zewnątrz boksów doświadczalnych. Mogły mieć też na nie wpływ same zwierzęta, a także zabiegi związane ich karmieniem, pojeniem czy dościelaniem ściółki, jak również nierównomierna wentylacja pomieszczeń, co uniemożliwiło uzyskanie w pełni kontrolowanych warunków odchowu.

4.2.3. Określenie profilu mikrobiologicznego ściółki

Zawartość bakterii mezoflnych w zbiorczych próbach górnej warstwy ściółki przedstawiono w tabeli 21 i na rysunku 11.

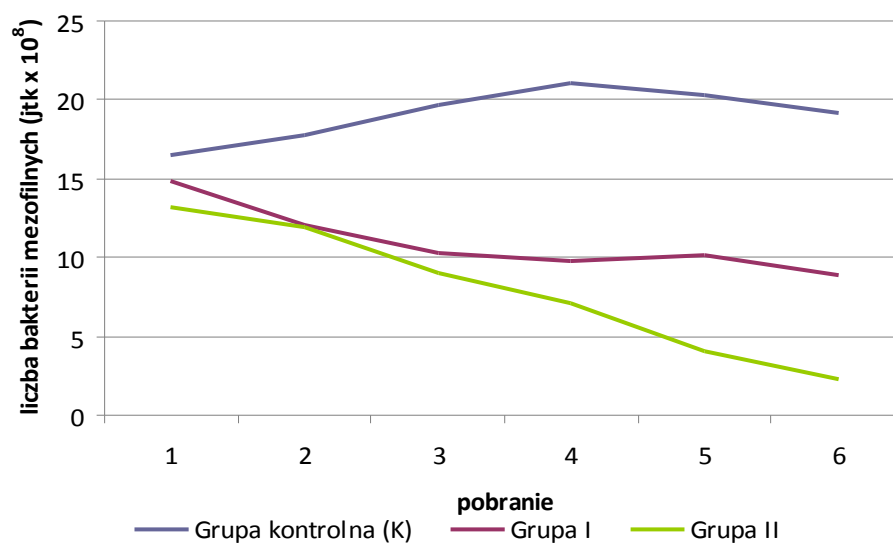
Tabela 21. Ogólna zawartość bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki (jtk x 10⁸) – próby zbiorcze (średnia ± SD)

pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
1	16,53 ± 1,68	14,79 ± 2,00	13,25 ± 1,95
2	17,76 ^{A,a} ± 1,74	12,04 ^{B,b} ± 1,99	11,91 ^{B,b} ± 1,82
3	19,62 ^{A,a} ± 1,93	10,24 ^{B,b} ± 1,97	9,03 ^{B,b} ± 2,00
4	21,02 ^{A,a} ± 2,54	9,78 ^{B,b} ± 2,00	7,12 ^{B,b} ± 1,93
5	20,35 ^{A,a} ± 2,26	10,12 ^{B,b} ± 1,95	4,06 ^{C,c} ± 1,21
6	19,12 ^{A,a} ± 2,06	8,91 ^{B,b} ± 1,68	2,34 ^{C,c} ± 0,57

A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,01;
a,b,c - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05

Największy spadek liczby bakterii odnotowano w przypadku grupy II, gdzie preparat nanotechnologiczno – mineralny był zmieszany ze ściółką i dodawany przy każdym dościelaniu. Nieco mniejszą redukcję zaobserwowano w grupie I w której preparat zaaplikowano jedynie raz pod ściółkę w dniu rozpoczęcia doświadczenia. Liczba bakterii mezofilnych w całym okresie badawczym mieściła się w granicach od 2,34 x 10⁸ jtk (grupa II, pobranie 6) do 21,02 x 10⁸ jtk (grupa kontrolna, pobranie 4). W przypadku liczby bakterii mezofilnych w próbach górnej warstwy ściółki nie widać było tak wyraźnego wpływu dościelania jak obserwowano to dla stężenia amoniaku nad ściółką i jego emisji z górnej warstwy ściółki. Odnotowano tendencję malejącą w całym okresie badawczym.

Rys. 11. Ogólna liczba bakterii mezofilnych w górnej warstwie ściółki (jtk x 10⁸) w zależności od pobrania



W tabelach 22 – 27 oraz na rysunkach 12 – 17 zestawione zostały wyniki dotyczące ilościowej i jakościowej analizy bakterii i grzybów w próbach ściółki pobranych w ostatnim dniu badań w trzech punktach boksów doświadczalnych, tj. przy poidle, przy karmidle i w narożnikach boksów.

W tabeli 22 przedstawiono wyniki dotyczące liczby pałeczek *Salmonella spp.* w zależności od rodzaju próby (pobrana przy karmidłach, przy poidłach i w narożniku boks) oraz powtórzenia.

Tabela 22. Liczba pałeczek *Salmonella spp.* w zależności od rodzaju próbki i powtórzenia (jtk/ml)

<i>Salmonella spp.</i> – powtórzenie 1				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
	Karmidła	$9,5 \times 10^8^A$	$0,9 \times 10^{1B}$	$4,5 \times 10^{3C}$
	Poidła	$4,5 \times 10^{5A}$	$2,5 \times 10^{7B}$	$2,5 \times 10^{3C}$
	Narożniki	$4,5 \times 10^{6A}$	$4,5 \times 10^{6A}$	$4,5 \times 10^{7B}$
<i>Salmonella spp.</i> – powtórzenie 2				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
	Karmidła	$2,5 \times 10^{1A, a}$	$4,5 \times 10^{2B}$	$2,0 \times 10^{1A, C, b}$
	Poidła	$30,0 \times 10^{5A}$	$30,0 \times 10^{2B}$	n.w.
	Narożniki	$15,0 \times 10^{2A, a}$	$4,5 \times 10^{3B}$	$9,5 \times 10^{2A, C, b}$
<i>Salmonella spp.</i> – powtórzenie 3				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
	Karmidła	$9,5 \times 10^{6A}$	n.w.	$4,5 \times 10^{3B}$
	Poidła	$9,5 \times 10^{8A}$	$15,0 \times 10^{7B}$	n.w.
	Narożniki	$2,5 \times 10^{4a}$	$9,5 \times 10^{4b}$	n.w.

n.w. – nie wykryto

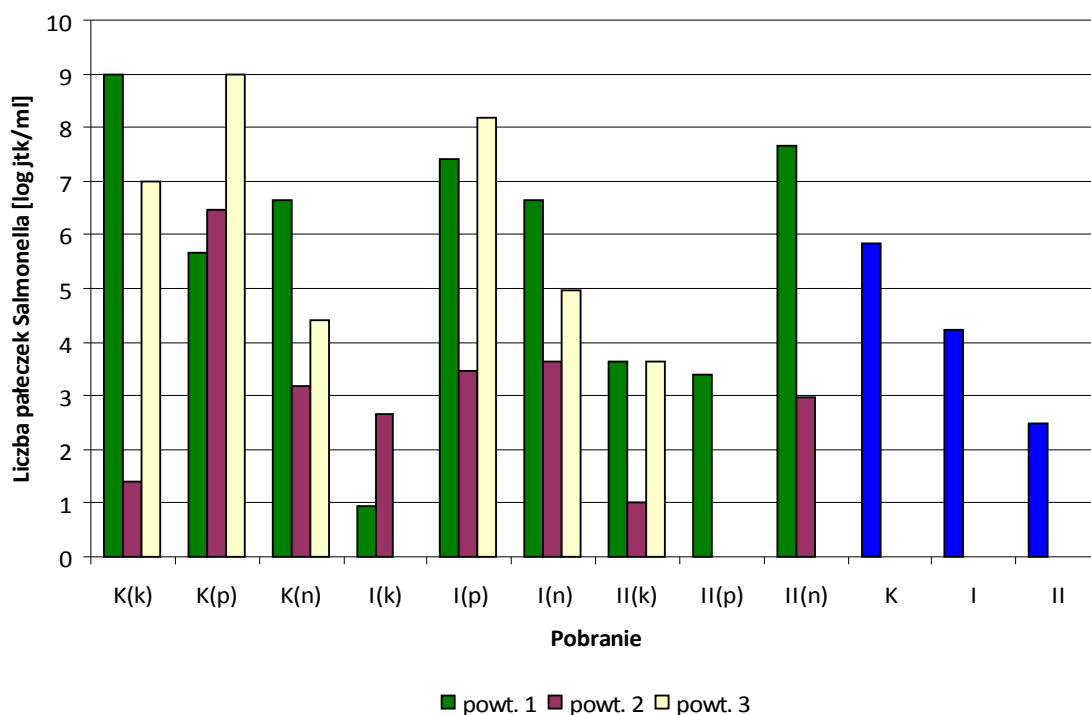
A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Liczba pałeczek *Salmonella spp.* w badanych próbach kształtowała się na poziomie od $0,9 \times 10^1$ (grupa I, karmidła, powtórzenie 1) do $9,5 \times 10^8$ (grupa kontrolna, karmidła, powtórzenie 1 oraz grupa kontrolna, poidła, powtórzenie 3). W większości przypadków dodatek preparatu nanotechnologiczno – mineralnego do ściółki spowodował spadek liczby pałeczek *Salmonella*. Najbardziej wyraźny był on w przypadku prób pobranych przy karmidłach, gdzie sięgał nawet rzędu 10^8 w przypadku powtórzenia 1 pomiędzy grupą

kontrolną a grupą I, czy rzędu 10^3 w przypadku powtórzenia 3 pomiędzy grupą kontrolną a II. Najmniejsze różnice zaobserwowano we wszystkich powtórzeniach dla prób pobranych w narożnikach, gdzie odnotowane zmiany były niewielkie, a w niektórych przypadkach nastąpił wręcz wzrost liczby pałeczek jak np. $4,5 \times 10^6$ w grupach K i I oraz $4,5 \times 10^7$ w grupie II powtórzeniu 1. Próby pobrane przy podłach charakteryzowały się zasadniczo spadkiem liczby pałeczek *Salmonella* w grupach doświadczalnych w porównaniu do kontrolnej, za wyjątkiem grupy I w powtórzeniu I, gdzie nastąpił wzrost w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio $2,5 \times 10^7$ i $4,5 \times 10^5$).

Rys. 12. Liczba pałeczek *Salmonella spp.* w zależności od miejsca pobrania próby i powtórzenia



Na rysunku 12 widać z kolei wyraźnie, iż biorąc pod uwagę wartości uśrednione dla poszczególnych miejsc pobierania próbek oraz powtórzeń, można zdecydowanie uznać, że stosowany preparat wpłynął na zmniejszenie liczby pałeczek *Salmonella* w grupach, w których był aplikowany.

W kolejnej tabeli zestawione zostały wyniki dotyczące zawartości liczby pałeczek *Escherichia Coli* w zależności od rodzaju próby (pobrana przy karmidłach, przy poidłach i w narożniku boksu) oraz powtórzenia (tabela 23).

Tabela 23. Liczba pałeczek *Escherichia coli* w zależności od rodzaju próbki i powtórzenia (jtk/ml)

<i>Escherichia coli</i> - powtórzenie 1				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
	Karmidła	$2,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$
	Poidła	$2,5 \times 10^5$ ^A	$30,0 \times 10^6$ ^B	$9,5 \times 10^3$ ^C
	Narożniki	$4,5 \times 10^3$ ^A	$7,5 \times 10^5$ ^B	$4,5 \times 10^2$ ^C
<i>Escherichia coli</i> - powtórzenie 2				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
	Karmidła	$4,5 \times 10^7$ ^{A,a}	$2,0 \times 10^7$ ^{A,b}	$2,5 \times 10^6$ ^B
	Poidła	$2,5 \times 10^6$ ^a	$9,5 \times 10^6$ ^b	n.w.
	Narożniki	$7,5 \times 10^6$ ^{A,a}	$4,5 \times 10^6$ ^{A,b}	$2,5 \times 10^3$ ^B
<i>Escherichia coli</i> - powtórzenie 3				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
	Karmidła	$20,0 \times 10^6$ ^A	$7,5 \times 10^2$ ^B	$2,5 \times 10^7$ ^C
	Poidła	$2,5 \times 10^5$ ^{A,a}	$15,0 \times 10^5$ ^{A,b}	$9,5 \times 10^3$ ^B
	Narożniki	$2,5 \times 10^8$ ^A	$20,0 \times 10^5$ ^B	$15,0 \times 10^2$ ^C

n.w. – nie wykryto

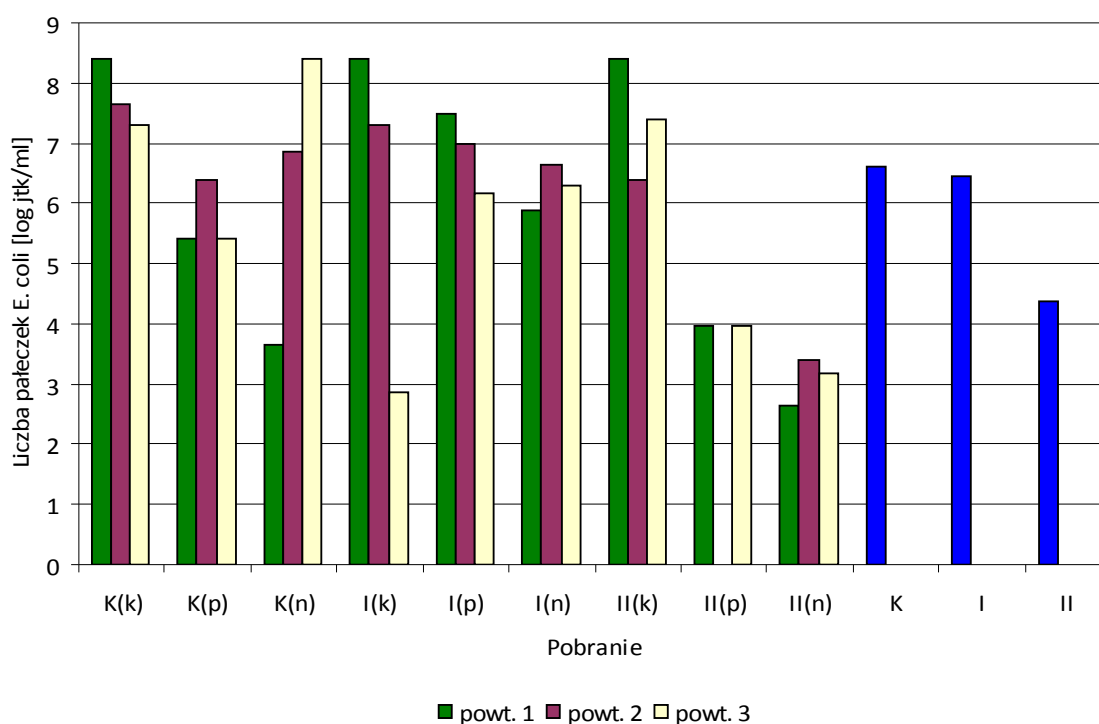
A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowany preparat nanotechnologiczno – mineralny nie spowodował znaczącego spadku liczby pałeczek *Escherichia coli*. Spadek zaobserwowano pomiędzy grupą K ($2,5 \times 10^5$) a grupą II ($9,5 \times 10^3$) w powtórzeniu 1 dla prób pobranych przy poidłach, pomiędzy grupą K ($4,5 \times 10^3$) a grupą II ($4,5 \times 10^2$) w tym samym powtórzeniu dla prób pobranych w narożnikach, pomiędzy grupą K ($4,5 \times 10^7$)

a grupą II ($2,5 \times 10^6$) w powtórzeniu 2 dla prób pobranych przy karmidłach oraz pomiędzy grupą K ($7,5 \times 10^6$) a grupą II ($2,5 \times 10^3$) dla prób pobranych w narożnikach. Najwyraźniejsze różnice odnotowano w powtórzeniu 3 pomiędzy grupą kontrolną a grupą I dla prób pobranych przy karmidłach, pomiędzy grupą K a grupą II dla prób pobranych przy poidłach i pomiędzy grupą K a grupą II dla prób pobranych w narożnikach boksów.

Rys. 13. Liczba pałeczek *Escherichia coli* w zależności od miejsca pobrania próby i powtórzenia



Rysunek 13 przedstawia przekształcone logarymicznie wartości dotyczące liczby pałeczek *E. coli* w badanych próbach, a także wartości uśrednione. Mimo dość znacznej zmienności w obrębie poszczególnych pobrań i powtórzeń widać wyraźnie wpływ preparatu z nanosrebrem na obniżenie liczby pałeczek *E. coli* w porównaniu do grupy kontrolnej, zwłaszcza w grupie II gdzie podawano sumarycznie większą dawkę preparatu.

W tabeli 24 przedstawiono wyniki ukazujące liczbę paciorkowców kałowych z grupy D w badanych próbach w zależności od rodzaju próby (pobrana przy karmidłach, przy poidłach i w narożniku boksu) oraz powtórzenia.

Tabela 24. Liczba paciorkowców kałowych z grupy D w zależności od rodzaju próbki i powtórzenia (jtk/ml)

Paciorkowce - powtórzenie 1				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$9,5 \times 10^7$ ^A	$2,5 \times 10^8$ ^B	$2,5 \times 10^3$ ^C
Poidła		$9,5 \times 10^7$ ^A	$7,5 \times 10^6$ ^B	$9,5 \times 10^4$ ^C
Narożniki		$2,5 \times 10^5$ ^A	$2,5 \times 10^8$ ^B	$7,5 \times 10^4$ ^C
Paciorkowce - powtórzenie 2				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$2,5 \times 10^8$ ^{A,a}	$4,5 \times 10^8$ ^{A,b}	$7,5 \times 10^7$ ^B
Poidła		$4,5 \times 10^7$ ^{A,a}	$2,5 \times 10^7$ ^{A,b}	$15,0 \times 10^6$ ^B
Narożniki		$15,0 \times 10^8$ ^A	$9,5 \times 10^6$ ^B	$9,5 \times 10^4$ ^C
Paciorkowce - powtórzenie 3				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$4,5 \times 10^8$ ^{A,a}	$9,5 \times 10^3$ ^B	$2,5 \times 10^8$ ^{A,b}
Poidła		$7,5 \times 10^6$ ^{A,a}	$4,5 \times 10^6$ ^{A,a}	$7,5 \times 10^5$ ^B
Narożniki		$30,0 \times 10^3$ ^A	$9,5 \times 10^7$ ^B	$4,5 \times 10^6$ ^C

n.w. – nie wykryto

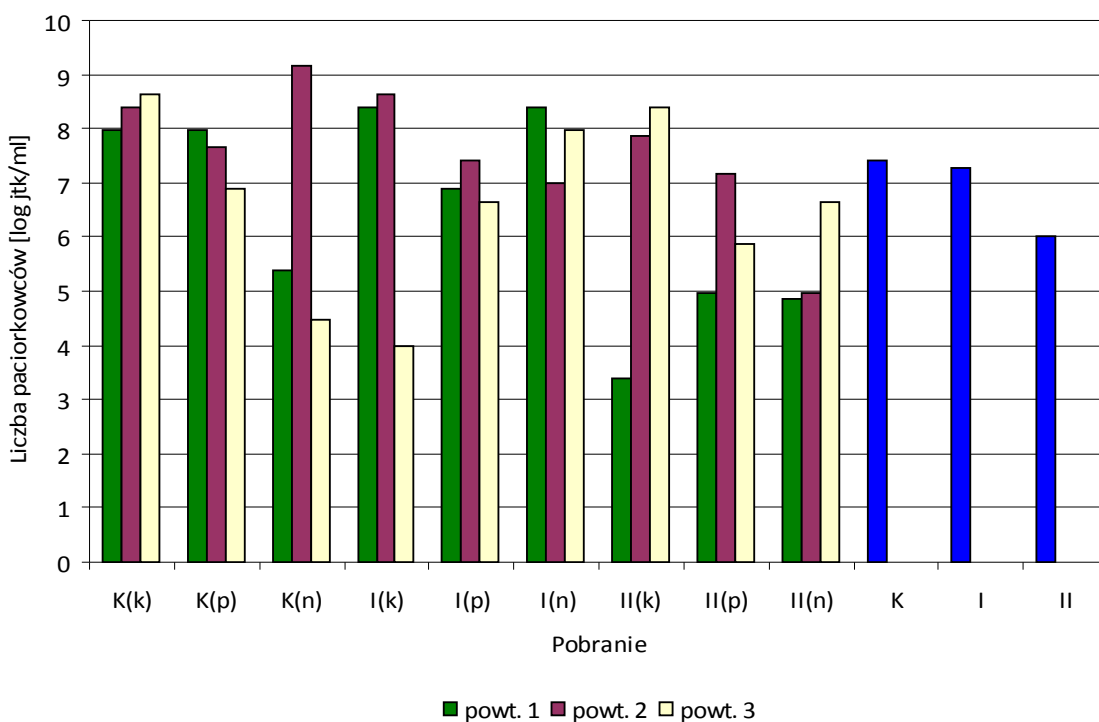
A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Liczba paciorkowców kałowych w badanych próbach wahała się w zakresie od $9,5 \times 10^3$ (grupa K, narożniki, powtórzenie 3) do $15,0 \times 10^8$ (grupa kontrolna, narożniki, powtórzenie 3). Dodatek preparatu nanotechnologiczno – mineralnego do ściółki spowodował w większości przypadków spadek liczby paciorkowców. Najbardziej wyraźny był on pomiędzy grupą kontrolną a grupą I w przypadku prób pobranych przy karmidłach przy pobraniu 1 (odpowiednio $9,5 \times 10^7$ i $2,5 \times 10^3$), oraz w pobraniu 3 również dla prób pobranych przy karmidłach pomiędzy grupą K a grupą I (odpowiednio $4,5 \times 10^8$ i $9,5 \times 10^3$). W przypadku prób pobranych przy poidłach spadek liczby paciorkowców zaobserwowano pomiędzy grupą kontrolną a grupami I i II w powtórzeniu 1 (odpowiednio $9,5 \times 10^7$, $7,5 \times$

10^6 oraz $9,5 \times 10^4$), w powtórzeniu 2 pomiędzy grupami K a grupą II ($4,5 \times 10^7$ oraz $15,0 \times 10^6$) oraz w powtórzeniu 3 pomiędzy grupą kontrolną a grupą II (odpowiednio $7,5 \times 10^6$ i $7,5 \times 10^5$). Najmniejsze różnice, a nawet wzrost, zaobserwowano we wszystkich powtórzeniach dla prób pobranych w narożnikach.

Rys. 14. Liczba paciorkowców kałowych z grupy D w zależności od miejsca pobrania próby i powtórzenia



Podobnie jak w przypadku pałeczek *Salmonella spp.* i *Escherichia coli*, na powyższym wykresie zaznacza się wyraźnie wpływ zastosowanego preparatu nanotechnologiczno – mineralnego na redukcję liczby paciorkowców w przypadku grupy II w porównaniu do grupy kontrolnej (rysunek 14).

W tabeli 25 przedstawiono wyniki dotyczące analiz ogólnej liczby bakterii w ściółce pobieranej z różnych miejsc (karmidła, poidła, narożniki) w zależności od grupy i powtórzenia.

Tabela 25. Ogólna liczba bakterii w zależności od rodzaju próbki i powtórzenia (jtk/ml)

Ogólna liczba bakterii - powtórzenie 1				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$1,95 \times 10^{8A}$	$4,97 \times 10^{9A}$	$2,27 \times 10^{8C}$
Poidła		$2,32 \times 10^{8A}$	$1,48 \times 10^{7B}$	$1,95 \times 10^{6C}$
Narożniki		$8,36 \times 10^{7A}$	$2,81 \times 10^{9B}$	$2,60 \times 10^{7C}$
Ogólna liczba bakterii - powtórzenie 2				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$3,09 \times 10^{8A}$	$8,72 \times 10^{7B}$	$1,36 \times 10^{6C}$
Poidła		$1,19 \times 10^{9A}$	$1,12 \times 10^{7B}$	$2,27 \times 10^{8C}$
Narożniki		$1,10 \times 10^{10A}$	$2,10 \times 10^{7B}$	$8,45 \times 10^{5C}$
Ogólna liczba bakterii - powtórzenie 3				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$2,24 \times 10^{6A}$	$1,85 \times 10^{6B}$	$6,73 \times 10^{7C}$
Poidła		$2,47 \times 10^{8A}$	$1,68 \times 10^{7B}$	$6,09 \times 10^{6C}$
Narożniki		$2,76 \times 10^{9A}$	$8,00 \times 10^{7B}$	$1,53 \times 10^{7C}$

A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

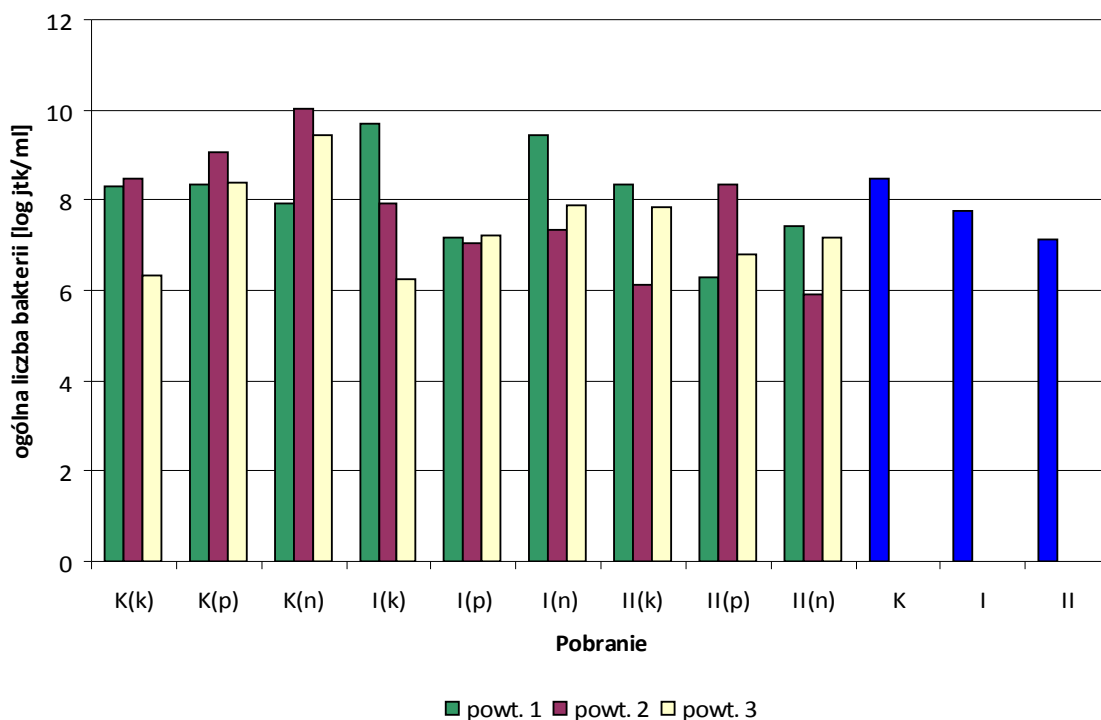
Zawartość ogólnej liczby bakterii kształtowała się na poziomie od $8,45 \times 10^5$ w próbach pobranych w narożnikach w grupie II przy powtórzeniu 2 do $1,10 \times 10^{10}$ w próbach pobranych w narożnikach w grupie kontrolnej przy powtórzeniu 2.

Analizując wyniki dla poszczególnych powtórzeń oraz miejsc pobierania prób trudno jest znaleźć jasną zależność. Widać wyraźnie redukcję ogólnej liczby bakterii w próbach pobranych przy poidłach, w przypadku powtórzenia 1 wartości te kształtowały się odpowiednio na poziomie $2,32 \times 10^8$, $1,48 \times 10^7$ i $1,95 \times 10^6$, dla grupy kontrolnej, I i II; przy powtórzeniu 2 na poziomie $1,19 \times 10^9$, $1,12 \times 10^7$ i $2,27 \times 10^8$, zaś dla powtórzenia 3 wartości te wynosiły $2,47 \times 10^8$, $1,68 \times 10^7$ i $6,09 \times 10^6$.

Dla prób pobieranych przy karmidłach w trzech przypadkach zaobserwowano jednakże nawet wzrost ogólnej liczby bakterii w porównaniu do grupy kontrolnej (grupa I i II w powtórzeniu 1; grupa II w powtórzeniu 3), w przypadku narożników natomiast wzrost

nastąpił jedynie w przypadku grupy I w porównaniu do grupy kontrolnej przy powtórzeniu 1.

Rys. 15. Ogólna liczba bakterii w zależności od miejsca pobrania próby i powtórzenia



Rysunek 15 prezentuje przekształcone logarytmicznie wartości dotyczące ogólnej liczby bakterii w analizowanych próbach oraz wartości uśrednione dla miejsc pobierania prób i powtórzeń. Widać wyraźnie tendencję malejącą w zakresie ogólnej liczby bakterii w grupach, gdzie zastosowano dodatek preparatu nanotechnologiczno – mineralnego.

Ogólna liczba drożdży w badanych próbach w zależności od rodzaju próby (miejsca pobrania) oraz powtórzenia zestawiona została w tabeli 26.

Tabela 26. Ogólna liczba drożdży w zależności od rodzaju próbki i powtórzenia (jtk/ml)

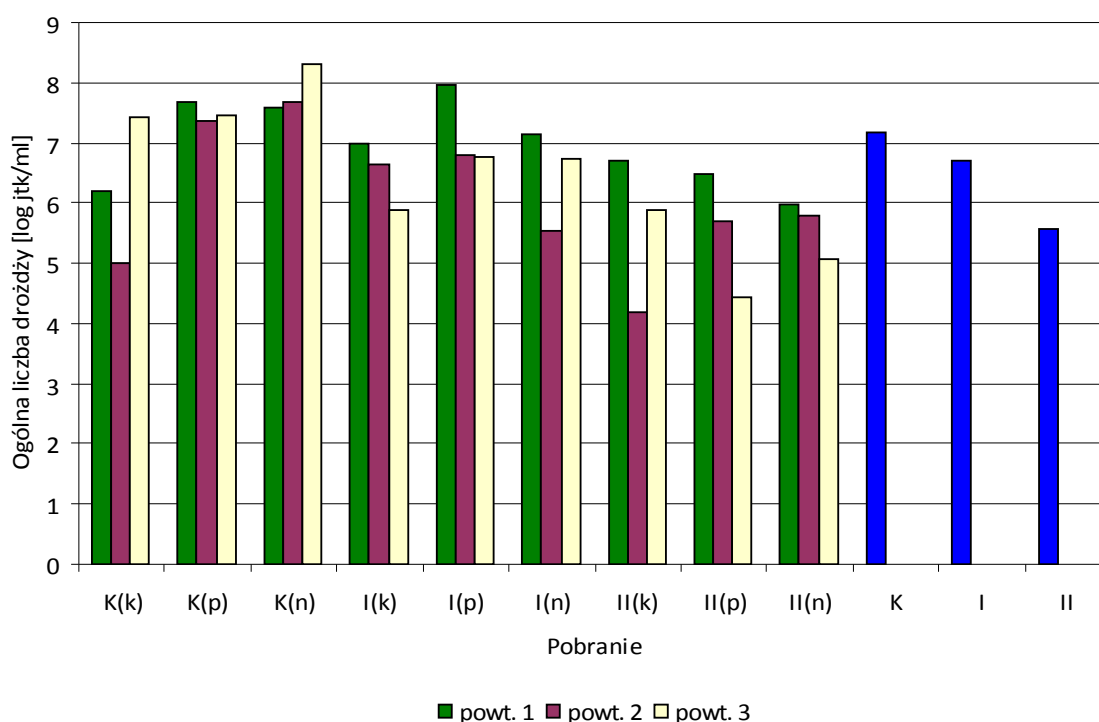
Ogólna liczba drożdży - powtórzenie 1				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$1,60 \times 10^6$ ^A	$1,00 \times 10^7$ ^B	$4,95 \times 10^6$ ^C
Poidła		$4,80 \times 10^7$ ^A	$8,85 \times 10^7$ ^B	$3,00 \times 10^6$ ^C
Narożniki		$3,80 \times 10^7$ ^A	$1,35 \times 10^7$ ^B	$9,50 \times 10^5$ ^C
Ogólna liczba drożdży - powtórzenie 2				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$1,00 \times 10^5$ ^A	$4,25 \times 10^6$ ^B	$1,50 \times 10^4$ ^C
Poidła		$2,35 \times 10^7$ ^A	$6,15 \times 10^6$ ^B	$5,00 \times 10^5$ ^C
Narożniki		$4,65 \times 10^7$ ^A	$3,50 \times 10^5$ ^B	$6,00 \times 10^5$ ^C
Ogólna liczba drożdży - powtórzenie 3				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$2,75 \times 10^7$ ^A	$7,50 \times 10^5$ ^B	$7,55 \times 10^5$ ^C
Poidła		$2,85 \times 10^7$ ^A	$5,85 \times 10^6$ ^B	$2,70 \times 10^4$ ^C
Narożniki		$2,00 \times 10^8$ ^A	$5,35 \times 10^6$ ^B	$1,20 \times 10^5$ ^C

A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

W niemal wszystkich przypadkach (poza grupą I w powtórzeniu 1 i 2 – próby pobrane przy karmidłach, oraz grupą I w powtórzeniu 1 – próby pobrane przy poidłach) odnotowany został spadek ogólnej liczby drożdży pod wpływem aplikacji preparatu z nanosrebrem.

Zaobserwowane wartości dotyczące ogólnej liczby drożdży kształtowały się w zakresie od $1,5 \times 10^4$ (grupa II, powtórzenie 2, próby pobrane przy karmidłach) do $2,00 \times 10^8$ (grupa kontrolna, powtórzenie 3, próby pobrane w narożnikach). Największą redukcję ogólnej liczby drożdży zaobserwowano w przypadku prób pobranych w narożnikach w powtórzeniu 1 ($3,80 \times 10^7$ w grupie kontrolnej i $9,5 \times 10^5$ w grupie II), dla prób pobranych przy poidłach ($2,35 \times 10^7$ w grupie kontrolnej i $5,00 \times 10^5$ w grupie II) oraz w narożnikach ($4,65 \times 10^7$ w grupie kontrolnej i $6,00 \times 10^5$ w grupie II) w powtórzeniu 2 a także dla prób pobranych we wszystkich punktach (karmidła, poidła, narożniki) w powtórzeniu 3.

Rys. 16. Ogólna liczba drożdży w zależności od miejsca pobrania próby i powtórzenia



Na rysunku 16 zobrazowano zależność pomiędzy logarytmicznie przekształconą liczbą drożdży a pobraniami i grupami. Podobnie jak w przypadku wcześniejszych oznaczeń mikrobiologicznych wartości uśrednione wykazują wpływ zastosowania preparatu na bazie nanosrebra na redukcję ogólnej liczby drożdży w badanych próbach.

W tabeli 27 zestawiono wyniki dotyczące ogólnej liczby grzybów pleśniowych w analizowanych próbach zależnie od miejsca pobrania prób oraz powtórzenia.

Tabela 27. Ogólna liczba grzybów pleśniowych w zależności od rodzaju próbki i powtórzenia (jtk/ml)

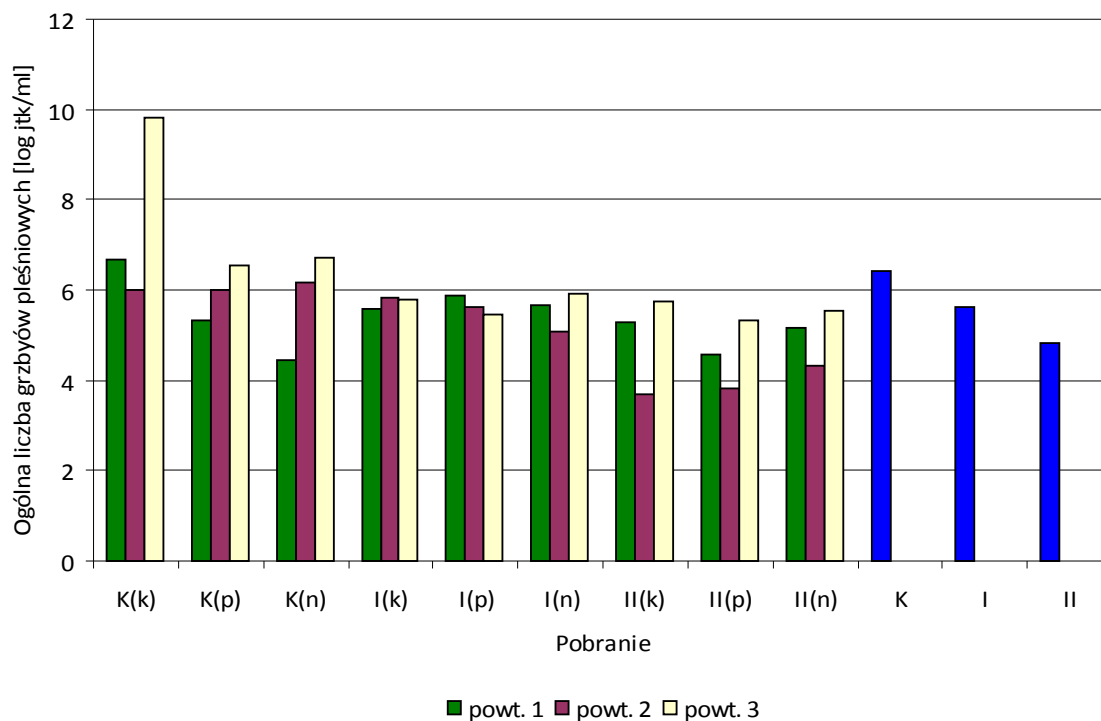
Ogólna liczba pleśni - powtórzenie 1				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$4,50 \times 10^{6A}$	$3,65 \times 10^{5B}$	$2,00 \times 10^{5C}$
Poidła		$2,10 \times 10^{5A}$	$7,35 \times 10^{5B}$	$3,90 \times 10^{4C}$
Narożniki		$2,75 \times 10^{4A}$	$4,50 \times 10^{5B}$	$1,50 \times 10^{5C}$
Ogólna liczba pleśni - powtórzenie 2				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$1,00 \times 10^{6A}$	$6,50 \times 10^{5B}$	$5,00 \times 10^{3C}$
Poidła		$1,00 \times 10^{6A}$	$4,00 \times 10^{5B}$	$6,50 \times 10^{3C}$
Narożniki		$1,50 \times 10^{6A}$	$1,20 \times 10^{5B}$	$2,00 \times 10^{4C}$
Ogólna liczba pleśni - powtórzenie 3				
Próba	Pobranie	Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
Karmidła		$6,65 \times 10^{9A}$	$6,30 \times 10^{5B}$	$5,35 \times 10^{5C}$
Poidła		$3,50 \times 10^{6A}$	$2,85 \times 10^{5B}$	$2,05 \times 10^{5C}$
Narożniki		$5,00 \times 10^{6A}$	$8,05 \times 10^{5B}$	$3,50 \times 10^{5C}$

A,B,C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;

Poza powtórzeniem 1, gdzie w przypadku prób pobranych w narożnikach zaobserwowano nieznaczny wzrost ogólnej liczby pleśni ($2,75 \times 10^4$ w grupie kontrolnej, $4,50 \times 10^5$ w grupie I i $1,50 \times 10^5$ w grupie II) widać wyraźnie pozytywny wpływ zaaplikowanego preparatu nanotechnologiczno – mineralnego na redukcję ogólnej liczby grzybów pleśniowych w badanych próbach.

Dla wszystkich analizowanych prób wartości te kształtowały się w zakresie od $5,00 \times 10^3$ (grupa II, powtórzenie 2, próby pobrane przy karmidłach) do $6,65 \times 10^9$ (grupa kontrolna, powtórzenie 3, próby pobrane przy karmidłach). Redukcja w grupie II, czyli w grupie, w której sumarycznie zastosowano większą dawkę nanosrebra była generalnie większa w porównaniu do grupy I, gdzie preparat aplikowano jednorazowo na początku doświadczenia.

Rys. 17. Ogólna liczba grzybów pleśniowych w zależności od miejsca pobrania próby i powtórzenia



Rysunek 17 przedstawia ogólną liczbę grzybów pleśniowych (wartości przekształcone logarytmicznie) w zależności od pobrania oraz powtórzenia. Z zestawienia zbiorczego (K, I, II) widać wyraźnie korzystne działanie preparatu na bazie nanosrebra pod kątem obniżenia ogólnej liczby grzybów pleśniowych w ściółce.

Na fotografiach 15 – 23 przedstawiono wybrane fotografie płytek z koloniami uzyskanymi podczas hodowli. Zaobserwowano występowanie następujących gatunków: *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Arthrinium phaeospermum*, *Aspergillus glaucus*, *Cladosporium herbarium*, *Epicoccum nigrum*, *Paecilomyces variarii* oraz *Penicillium sp.*



Fot. 15. *Acremonium strictum*



Fot. 16. *Alternaria alternata*



Fot. 17. *Arthriniium phaeospermum*



Fot. 18. *Aspergillus glaucus*



Fot. 19. *Cladosporium herbarium*



Fot. 20. *Epicoccum nigrum*



Fot. 21. *Paecilomyces variami*



Fot. 22. *Penicillium sp.*



Fot. 23. *Penicillium sp.*

4.2.4. Określenie stężenia Ag, Se, Cu i Zn w wybranych tkankach i narządach kurcząt

W tabelach 28 – 31 zestawione zostały wyniki przedstawiające zawartość srebra oraz pierwiastków antagonistycznych, tj. miedzi, cynku i selenu, w mięśniach udowych, piersiowych, płucach, wątrobie, skórze z części brzusznej oraz surowicy krwi

Tabela 28. Zawartość srebra w tkankach i narządach kurcząt brojlerów (ppm)

Wyszczególnienie		Ag		
		Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
mięśnie piersiowe	\bar{X}	0,178	0,180	0,183
	SD	0,010	0,021	0,018
mięśnie udowe	\bar{X}	0,198	0,173	0,181
	SD	0,023	0,009	0,045
płuca	\bar{X}	0,198 ^a	0,201 ^a	0,225 ^b
	SD	0,007	0,013	0,034
skóra z części brzusznej	\bar{X}	0,201 ^a	0,213	0,234 ^b
	SD	0,035	0,025	0,010
wątroba	\bar{X}	0,034 ^{A,a}	0,112 ^a	0,209 ^{B,b}
	SD	0,011	0,137	0,085
surowica krwi	\bar{X}	0,021	0,023	0,025
	SD	0,007	0,011	0,011

A,B - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,01;
a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05

Zawartość srebra w tkankach i narządach kurcząt brojlerów przedstawiono w tabeli 28. Generalnie we wszystkich przypadkach, za wyjątkiem mięśni udowych, zaobserwowano wzrost stężenia srebra wraz ze wzrastającą ilością dodatku preparatu z nanosrebrem do ściółki.

Najwyższą zawartością tego pierwiastka charakteryzowała się skóra pobrana z okolic brzusznych, gdzie wartości wynosiły od $0,201 \pm 0,035$ ppm w grupie kontrolnej do $0,234 \pm 0,010$ ppm w grupie II. Różnice pomiędzy tymi grupami były istotne statystycznie ($p < 0,05$). Również wartości zaobserwowane w płucach były na podobnym poziomie, tj. od $0,198 \pm 0,007$ ppm w grupie K do $0,225 \pm 0,034$ ppm w grupie II. Różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) zaobserwowano między grupą K i I a grupą II. Największy wzrost stężenia srebra wraz z ilością dodatku preparatu nanotechnologiczno - mineralnego do ściółki odnotowano w przypadku wątroby, gdzie wartość ta wzrosła z $0,034 \pm 0,011$ ppm w grupie kontrolnej do $0,209 \pm 0,085$ ppm w grupie II. Różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) zaobserwowano między grupą K i I a grupą II, oraz pomiędzy grupą K a grupą II ($p < 0,01$). Najniższą zawartością srebra charakteryzowała się z kolei surowica krwi kurcząt – od $0,021 \pm 0,007$ ppm w grupie K do $0,025 \pm 0,011$ ppm w grupie II. Wartości zaobserwowane w mięśniach piersiowych były w zakresie $0,178 \pm 0,010$ do $0,183 \pm 0,018$ ppm odpowiednio w grupie kontrolnej i II, natomiast w mięśniach udowych zawartość srebra wykazała tendencję malejącą w grupach z dodatkiem nanosrebra, tj. od wartości $0,198 \pm 0,023$ ppm w grupie K do $0,173 \pm 0,009$ ppm w grupie I.

Poziom miedzi w tkankach i narządach brojlerów przedstawiono w tabeli 29.

Tabela 29. Zawartość miedzi w tkankach i narządach kurcząt brojlerów (ppm)

Wyszczególnienie		Cu		
		Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
mięśnie piersiowe	\bar{X}	0,875	0,934 ^a	0,780 ^b
	SD	0,088	0,064	0,163
mięśnie udowe	\bar{X}	1,236	1,103	1,060
	SD	0,286	0,059	0,243
płuca	\bar{X}	1,308 ^a	1,135 ^b	1,298 ^a
	SD	0,084	0,173	0,078
skóra z części brzusznej	\bar{X}	0,452 ^{A,a}	1,321 ^{B,b}	1,338 ^{B,b}
	SD	0,055	0,103	0,103
wątroba	\bar{X}	2,640 ^{A,a}	1,980 ^{B,b}	2,348 ^{A,a}
	SD	0,263	0,452	0,422
surowica krwi	\bar{X}	0,347 ^{A,a}	0,303 ^{A,a}	0,252 ^{B,b}
	SD	0,080	0,050	0,052

A,B - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,01$;
a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Kształtował się on w zakresie od $0,303 \pm 0,050$ ppm w surowicy krwi w grupie I do $2,640 \pm 0,263$ ppm w wątrobie ptaków z grupy kontrolnej. W większości przypadków zaobserwowano spadek stężenia miedzi w grupach doświadczalnych w porównaniu do kontrolnej. Wyjątek stanowiła skóra brzuszna, gdzie poziom miedzi w grupie I i II był ponad 3-krotnie wyższy w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio 0,452, 1,321 i 1,338 ppm). Różnice pomiędzy tymi grupami były istotne statystycznie.

W przypadku mięśni piersiowych, zawartość miedzi w grupie kontrolnej była niższa w porównaniu do grupy I, jednakże wyższa niż w grupie II. Różnica pomiędzy grupą I i II była istotna statystycznie na poziomie $p < 0,05$. Różnice istotne statystycznie zaobserwowano w przypadku wszystkich narządów, za wyjątkiem mięśni udowych.

W tabeli 30 zestawiono wyniki dotyczące zawartości selenu w badanych próbach.

Tabela 30. Zawartość selenu w tkankach i narządach kurcząt brojlerów (ppb)

Wyszczególnienie		Se		
		Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
mięśnie piersiowe	\bar{X}	34,77 ^{A,a}	73,97 ^{B,b}	68,31 ^{B,b}
	SD	21,93	3,29	9,28
mięśnie udowe	\bar{X}	84,54 ^{A,a}	88,98 ^{A,a}	54,30 ^{B,b}
	SD	9,94	6,77	13,79
płuca	\bar{X}	238,22	188,84	222,67
	SD	63,84	28,71	56,15
skóra z części brzusznej	\bar{X}	120,85 ^{A,a}	159,68 ^{B,b}	147,08
	SD	33,76	21,43	20,31
wątroba	\bar{X}	392,36 ^{A,a}	266,27 ^{B,b}	249,84 ^{B,b}
	SD	57,38	71,58	54,86
surowica krwi	\bar{X}	178,01	194,33	193,57
	SD	44,05	49,10	53,43

A,B - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,01;
a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności P<0,05

Najwyższe stężenie tego pierwiastka zaobserwowano w wątrobie kurcząt z grupy kontrolnej (392,36 ± 57,38 ppb), zaś najniższe w mięśniach piersiowych grupy kontrolnej (34,77 ± 21,93 ppb). Rząd niższą zawartością selenu charakteryzowały się próby mięśni piersiowych i udowych w porównaniu z pozostałymi próbkami. Najwyraźniejsze zmiany w obrębie grup odnotowano w przypadku mięśni piersiowych (w zakresie 34,77 – 73,97 ppb), zaś najmniejszym zróżnicowaniem zawartości selenu charakteryzowała się surowica krwi (178,01 – 194,33 ppb). Różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami zaobserwowano we wszystkich próbach poza płucami i surowicą krwi.

W przypadku mięśni piersiowych, skóry brzusznej oraz surowicy krwi stężenie selenu było wyższe w grupie doświadczalnej w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 29). W próbach pobranych z płuc stężenie selenu zmalało w grupach doświadczalnych

w porównaniu do kontrolnej, jednakże najmniejsze było w grupie I, gdzie zaaplikowana została mniejsza ilość preparatu z nanosrebrem.

Zawartość cynku w tkankach i narządach brojlerów przedstawiono w tabeli 31.

Tabela 31. Zawartość cynku w tkankach i narządach kurcząt brojlerów (ppm)

Wyszczególnienie		Zn		
		Grupa kontrolna (K)	Grupa I	Grupa II
mięśnie piersiowe	\bar{X}	4,52 ^a	4,32 ^a	5,27 ^b
	SD	0,62	0,44	0,97
mięśnie udowe	\bar{X}	7,89	7,46	9,37
	SD	2,94	0,89	2,07
płuca	\bar{X}	7,94	8,02	8,57
	SD	0,82	2,81	0,86
skóra z części brzusznej	\bar{X}	7,20	7,60	7,72
	SD	1,17	1,09	1,00
wątroba	\bar{X}	23,48	22,68 ^a	28,42 ^b
	SD	4,91	7,60	4,90
surowica krwi	\bar{X}	1,17	1,40	1,49
	SD	0,33	0,40	0,20

a,b - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą przy poziomie istotności $P < 0,05$

Stężenie Zn wahało się w granicach od $1,17 \pm 0,33$ ppm w surowicy krwi w grupie kontrolnej do $28,42 \pm 4,90$ ppm w wątrobie ptaków z grupy II. W większości przypadków zaobserwowano wzrost stężenia cynku w grupach doświadczalnych w porównaniu do kontrolnej. Wyjątkiem były próby mięśni piersiowych, udowych oraz wątroba w grupie I, gdzie stężenie cynku było niższe niż w grupie kontrolnej, natomiast najwyższe było w grupie II.

W kolejnej tabeli przedstawiono korelacje pomiędzy zawartością analizowanych pierwiastków, tj. srebra, miedzi, selenu i cynku, w wybranych tkankach i narządach kurcząt brojlerów (tabela 32).

Tabela 32. Korelacje proste Pearsona pomiędzy zawartością poszczególnych pierwiastków w wybranych tkankach i narządach kurcząt

		mięśnie piersiowe			
		Ag	Cu	Se	Zn
mięśnie piersiowe	Ag	1,0000	0,3833	0,2574	0,0482
	Cu		1,0000	0,1403	-0,3668
	Se			1,0000	0,0332
	Zn				1,0000
		mięśnie udowe			
		Ag	Cu	Se	Zn
mięśnie udowe	Ag	1,0000	0,3782	0,0291	-0,0636
	Cu		1,0000	0,3797	0,2991
	Se			1,0000	-0,0546
	Zn				1,0000
		płuca			
		Ag	Cu	Se	Zn
płuca	Ag	1,0000	0,3709	0,0953	0,1217
	Cu		1,0000	0,3441	0,5754*
	Se			1,0000	0,1852
	Zn				1,0000
		skóra z części brzusznej			
		Ag	Cu	Se	Zn
skóra z części brzusznej	Ag	1,0000	0,4401*	0,4248*	0,0548
	Cu		1,0000	0,5736*	0,3280
	Se			1,0000	0,4719*
	Zn				1,0000
		wątroba			
		Ag	Cu	Se	Zn
wątroba	Ag	1,0000	-0,2942	-0,6227*	0,2102
	Cu		1,0000	0,6836*	0,1969

	Se			1,0000	0,0047
	Zn				1,0000
		surowica krwi			
		Ag	Cu	Se	Zn
surowica krwi	Ag	1,0000	0,0219	0,0306	0,1738
	Cu		1,0000	0,0087	-0,5342*
	Se			1,0000	0,3509
	Zn				1,0000

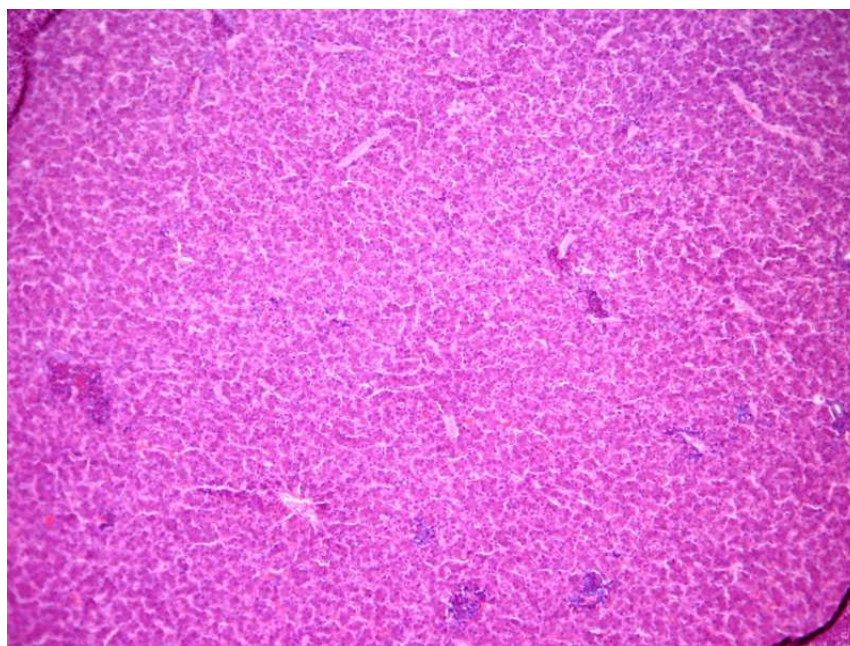
* współczynniki korelacji są istotne na poziomie $p < 0,05$

Działanie antagonistyczne wobec srebra zaobserwowano jedynie w przypadku selenu w wątrobie, gdzie współczynnik korelacji wyniósł $-0,6227$ ($p < 0,05$).

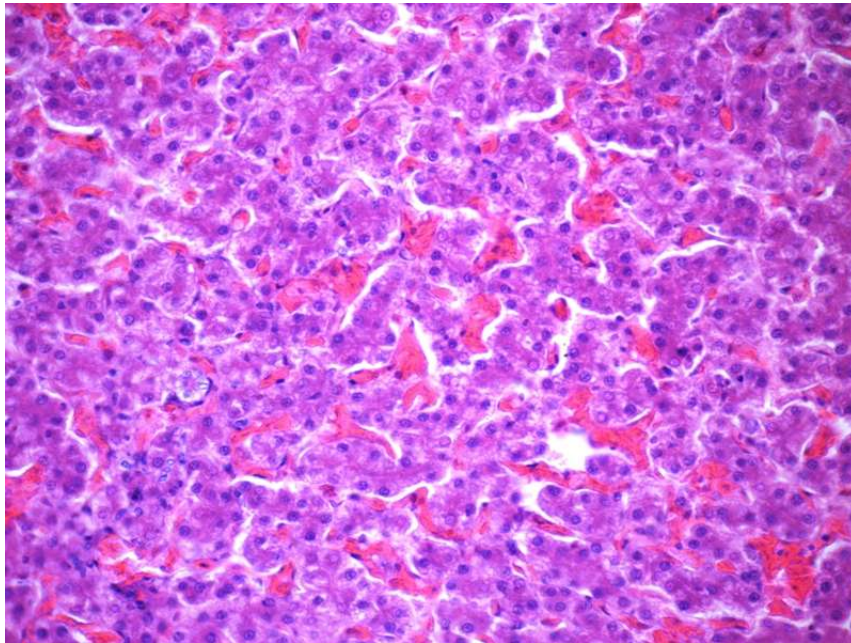
4.2.5. Analiza histopatologiczna wątroby kurcząt

Wyniki dotyczące analizy histopatologicznej wątroby kurcząt przedstawiono na fotografiach 24 – 29.

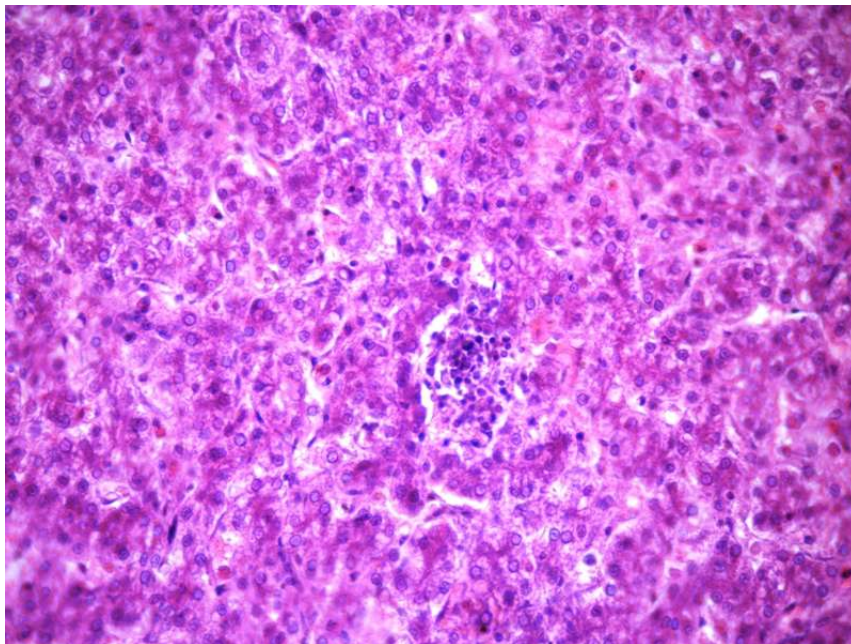
Fot. 24. Zdjęcie histopatologiczne wątroby – grupa kontrolna (barwienie HE)



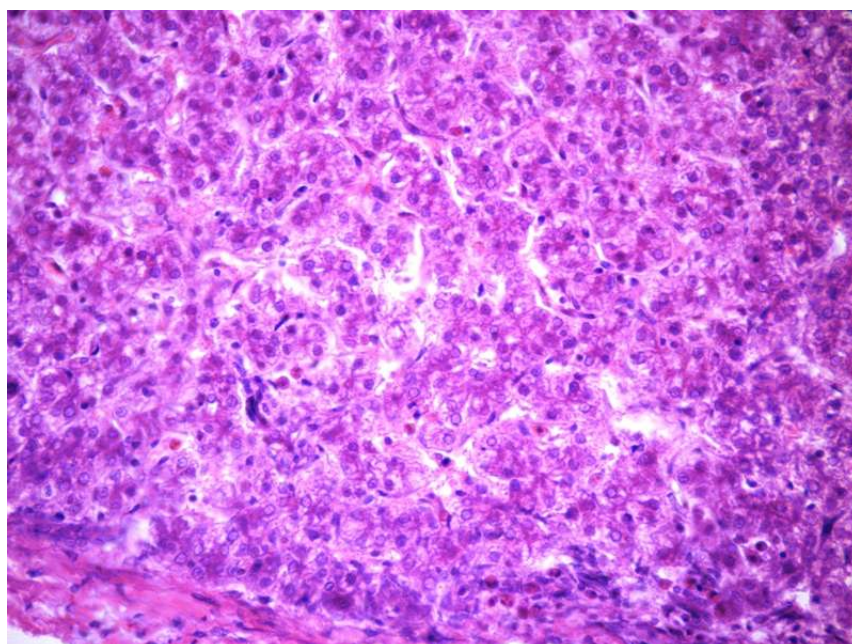
Fot. 25. Zdjęcie histopatologiczne wątroby – grupa kontrolna (barwienie HE)



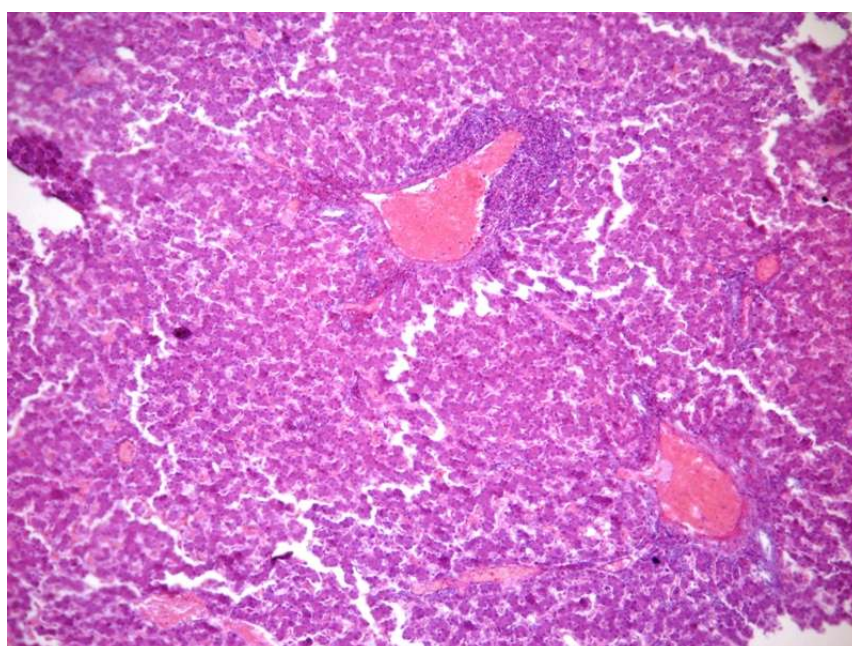
Fot. 26. Zdjęcie histopatologiczne wątroby – grupa I (barwienie HE)



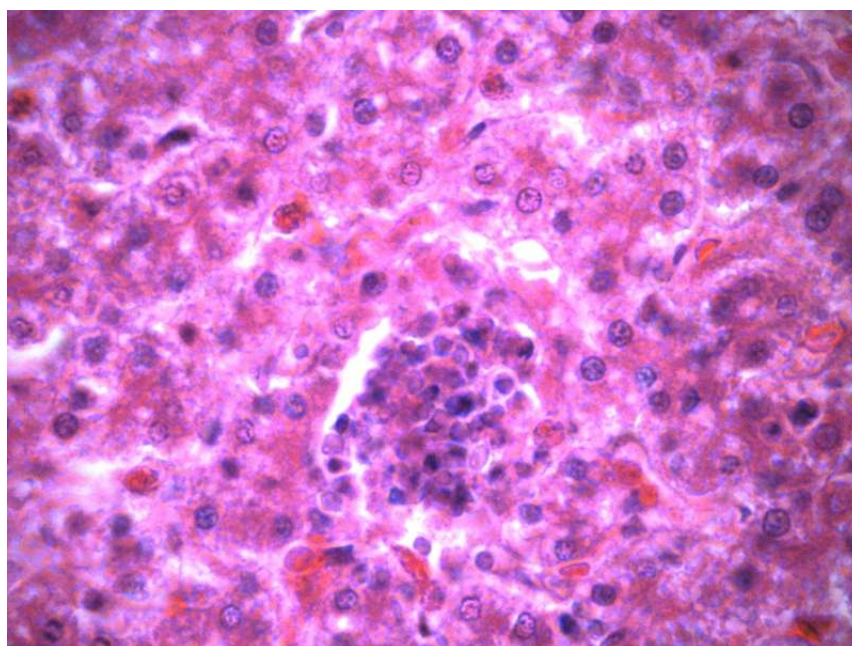
Fot. 27. Zdjęcie histopatologiczne wątroby – grupa I (barwienie HE)



Fot. 28. Zdjęcie histopatologiczne wątroby – grupa II (barwienie HE)



Fot. 29. Zdjęcie histopatologiczne wątroby – grupa II (barwienie HE)



Na zdjęciach przedstawiających wątroby kurcząt z grupy kontrolnej widoczne są niewielkie cechy martwicy i stłuszczenia hepatocytów. Wątroby kurcząt z grupy I charakteryzowały się natomiast cechami ogniskowego stłuszczenia wielkokropelkowego hepatocytów, zaś w grupie II widoczna była ponadto początkowa faza martwicy hepatocytów. Biorąc pod uwagę, iż analiza zawartości srebra w tkankach i narządach kurcząt wykazała znaczne podwyższenie srebra w wątrobie w wyniku zastosowanego preparatu z nanosrebrem, przypuszczać można, że także zmiany obserwowane w histologicznym obrazie wątroby, spowodowane były m.in. podwyższonym stężeniem srebra w tym narządzie.

5. OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania laboratoryjne

Wyniki uzyskane w przeprowadzonych testach nie są łatwe do interpretacji, gdyż niewiele jest doniesień dotyczących wpływu glinokrzemianów w połączeniu z nanosrebrem na stężenie amoniaku, liczbę bakterii oraz parametry fizyczne ściółki i powietrza w pomieszczeniach inwentarskich. Dobrzański i in. (2010b) oraz Nowakowski i in. (2009a,b) przeprowadzili analogiczne testy laboratoryjne na oborniku owczym stosując takie same jak w niniejszych badaniach preparaty na bazie wermikulitu, haloizytu i bentonitu z wodną i alkoholową zawiesiną nanosrebra oraz analogiczny układ doświadczenia. W przypadku emisji amoniaku ponad ściółką z zastosowaniem wodnej zawiesiny nanosrebra odnotowali, podobnie jak w niniejszych badaniach, najwyższą skuteczność preparatu na bazie wermikulitu, gdzie redukcja stężenia amoniaku wynosiła zależnie od pobrania od 66 do 86% dla preparatu WV-5, oraz od 68 do 92% dla preparatu WV-10. Najmniejszą skutecznością charakteryzował się preparat na bazie bentonitu (Nowakowski i in. 2009a, Nowakowski i in. 2009b).

Analizując preparaty z alkoholową zawiesiną nanosrebra i ich skuteczność w redukcji emisji amoniaku nad ściółką, Dobrzański i in. (2010b) zaobserwowali podobną zależność – największą skutecznością charakteryzował się preparat na bazie wermikulitu, zaś najmniejszą na bazie bentonitu. Porównując natomiast preparaty na bazie wermikulitu z wodną i alkoholową zawiesiną nanosrebra okazało się, że zdecydowanie bardziej skuteczny w redukcji stężenia amoniaku z odchodów owczych mierzonego zarówno ponad ściółką jak i w jej górnej warstwie jest preparat na bazie wodnej zawiesiny nanosrebra.

Poza przytoczonymi powyżej pracami w dostępnej literaturze niewiele jest danych dotyczących zastosowania nanosrebra bądź kompozytów zawierających nanosrebro w celu redukcji emisji amoniaku z odchodów zwierzęcych. Myczko i Kołodziejczak (2008) przeprowadzili badania nad wykorzystaniem nanosrebra naniesionego na nośnik polipropylenowy, służący jako wypełnienie filtrów do oczyszczania powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt. Zaobserwowali oni redukcję stężenia amoniaku na poziomie 45,1 – 58,9%, zależnie od prędkości przepływu powietrza oraz objętości wypełnienia filtra.

Badania mające na celu określenie absorpcji amoniaku z zastosowaniem sorbentów zastosowanych także w niniejszej pracy przeprowadzone zostały przez Opalińskiego i in. (2008). Autorzy zaobserwowali, że największą skutecznością charakteryzował się surowy haloizyt (redukcja na poziomie 88,9%), najmniejszą zaś ekspandowany wermikulit (16,8%), niemniej jednak w przeliczeniu na 1 g sorbentu zależność ta zmieniła się istotnie na korzyść wermikulitu (106,5% redukcji amoniaku/1 g sorbentu). Najgorszy wynik uzyskano w przypadku bentonitu (46,2%), podobnie jak w przypadku niniejszych badań. Korczyński i in. (2008) przeprowadzili z kolei badania nad możliwością zastosowania bentonitu i wermikulitu do redukcji emisji amoniaku z odchodów bydłowych. Wykazali oni, iż zastosowanie wermikulitu zmniejszało emisję amoniaku o ok. 70% w pierwszym dniu i 48% w czwartym dniu testu, podczas gdy wartości te dla bentonitu kształtowały się odpowiednio na poziomie 33 i 29%.

W przytoczonych wcześniej badaniach przeprowadzonych przez Dobrzańskiego i in. (2010a,b) na oborniku owczym wykazano, że w przypadku preparatów z wodną zawiesiną nanosrebra najbardziej skuteczny był WV-10. Redukcja całkowitej liczby bakterii wyniosła 83,9% w pobraniu I i 84,3% w pobraniu II. W przypadku preparatu WV-5 zaobserwowano niemal trzykrotną różnicę w redukcji liczby bakterii pomiędzy pobraniami. Redukcja liczby bakterii dla preparatu na bazie haloizytu była wysoka w obu dawkach (5 vs. 10%) i obu pobraniach (80 – 72,9%). Podobna była efektywność preparatu na bazie bentonitu dla wyższej dawki (WB-10), natomiast w grupie WB-5 wynosiła jedynie 32 - 37,8%. W przypadku preparatów z alkoholową zawiesiną nanosrebra redukcja liczby bakterii mezofilnych była na poziomie od 95,6% (AB-10, pobranie I) do 30,6% (AV-5, pobranie I). Najskuteczniejszy był preparat AB-10 (spadek liczby bakterii o 95,6% w pobraniu I i 89,1% w pobraniu II). Najmniej skuteczny okazał się preparat AV-5. Zaobserwowano także większe zróżnicowanie pomiędzy skutecznością w pobraniu I i II w przypadku preparatów na bazie alkoholowej zawiesiny nanosrebra.

W dostępnej literaturze znaleźć można całkiem dużo doniesień dotyczących zanieczyszczeń mikrobiologicznych ściółki u drobiu. Mituniewicz i in. (2008) przykładowo przeprowadzili badania mające na celu ocenę wpływu wybranych dodatków na zmniejszenie zanieczyszczenia mikrobiologicznego w pomieszczeniach dla drobiu. Autorzy uzyskali redukcję ogólnej liczby bakterii na poziomie 58,2% stosując produkty zawierające naturalne fosforany, miedź w formie nieorganicznej, żelazo i białą glinę.

Jeśli chodzi natomiast o antybakteryjne działanie nanosrebra, literatura jest obszerna, jednakże brak jest badań dotyczących jego zastosowania do dezynfekcji pomieszczeń inwentarskich. Shrivastava i in. (2007) wykazali inhibicję wzrostu różnych szczepów bakterii w warunkach laboratoryjnych stosując w tym celu nanocząstki srebra. W przypadku *E. coli* przykładowo, redukcja wynosiła od 60% zależnie od stężenia nanosrebra. Podobnie Yoon i in. (2007) zaobserwowali zależne od dawki zahamowanie wzrostu bakterii przy zastosowaniu nanocząstek srebra, doszli jednak do wniosku, że rozmiar nanocząstek także może mieć wpływ na aktywność antybakteryjną.

Temperatura zarówno powietrza jak i ściółki jest bardzo istotną zmienną w procesie emisji amoniaku z odchodów zwierzęcych, jej zmiany mogą w znacznym stopniu wpływać na stężenie tego gazu. Temperatura powietrza może mieć wpływ na współczynnik wnikania masy, natomiast temperatura ściółki na stałą Henry'ego, stałą dysocjacji a także na dyfuzję i powstawanie amoniaku w ściółce (Liu i in. 2007). Gustafsson i Jeppsson (2005) podają, iż wraz ze wzrostem temperatury odchodów a także powietrza znacząco wzrasta emisja amoniaku. Zaobserwowana w niniejszych badaniach zmienność temperatury w powietrzu w trakcie poszczególnych pomiarów dla preparatów z wodną i alkoholową zawiesiną nanosrebra zgodna jest z badaniami m.in. Groota Koerkampa i in. (1998), którzy podobną zależność zaobserwowali badając relacje pomiędzy temperaturą a emisją amoniaku w kurniku dla niosek. Według Korczyńskiego i in. (2008), którzy przeprowadzili podobne do niniejszych testy laboratoryjne stosując bentonit i wermikulit do ograniczenia emisji amoniaku z odchodów bydłowych, temperatura powietrza wewnątrz butli z materiałem badawczym zmieniała się w wyniku zmian warunków na zewnątrz. Temperatura uzyskana przez autorów w butlach doświadczalnych wynosiła od 23,3 do 29,9°C dla bentonitu i od 23,6 do 29,0°C dla wermikulitu. Nie zaobserwowali oni wyraźnej zależności pomiędzy emisją amoniaku a temperaturą powietrza.

W badaniach Dobrzańskiego i in. (2010b) zaobserwowano, iż temperatura ściółki była generalnie niższa niż temperatura powietrza, w przypadku preparatów z wodną i alkoholową zawiesiną nanosrebra i mieściła się odpowiednio w granicach odpowiednio od 27,7 – 22,7 i 28,7 – 24,1°C. W niniejszych badaniach zaobserwowano odwrotną zależność.

Wartość pH ściółki jest kolejnym czynnikiem, który ma znaczący wpływ na stężenie amoniaku. Stężenie amoniaku w odchodach zależne jest od tempa hydrolizy mocznika,

który przekształcany jest najpierw do węglanu amonu, następnie do jonów amonowych, gazowego dwutlenku węgla i wody. Reakcja hydrolizy powoduje zużycie jonów H^+ , zwiększając tym samym wartość pH. Przy niższych wartościach pH dominują kationy amoniowe, zaś gazowy amoniak przy wartościach wyższych. Tak więc spadek wartości pH wiąże się z redukcją emisji amoniaku (Parker i in. 2005). Wykazano, że przy $pH < 7$ uwalnianie amoniaku ze ściółki jest bardzo nieznaczne, jednakże kontrolowane sterowanie wartością pH ściółki nie jest zadaniem prostym (Liu i in. 2007).

Wartość pH ściółki w badaniach Dobrzańskiego i in. (2010b) wahała się w granicach 7,29 do 6,18 w przypadku preparatów z wodną zawiesiną nanosrebra, oraz od 7,75 do 5,95 dla preparatów z alkoholową zawiesiną nanosrebra. Autorzy wykazali tendencję malejącą wraz ze spadkiem emisji amoniaku, co zgodne jest z obserwacjami Parkera i in. (2005) w badaniach z wykorzystaniem odchodów bydłowych. Opaliński i in. (2009) z kolei, w badaniach z zastosowaniem wermikulitu, haloizytu i bentonitu jako wypełniaczy biofiltrów do ograniczania stężenia amoniaku w powietrzu, uzyskali następujące wartości pH: 8,70 dla wermikulitu, 8,20 dla haloizytu i 10,20 dla bentonitu. W badaniach Mituniewicz i in. (2008) zaobserwowano obniżenie wartości pH wraz z redukcją ogólnej liczby bakterii przy zastosowaniu trzech komercyjnie dostępnych środków dezynfekcyjnych jako dodatków do ściółki w pomieszczeniach dla drobiu.

Wilgotność odgrywa także istotną rolę w emisji amoniaku, a w szczególności w rozkładzie mikrobiologicznym związków azotowych w pomieszczeniach inwentarskich. Im wyższa jest wilgotność, tym prędkość degradacji jest większa. Groot Koerkamp i in. (1998) w swoich badaniach dotyczących pomieszczeń dla drobiu zaobserwowali zależność stężenia amoniaku i wilgotności wewnątrz pomieszczenia.

W badaniach Korczyńskiego i in. (2008) zaobserwowana wilgotność względna powietrza w butlach doświadczalnych wynosiła od 71,07 do 85,6% dla bentonitu, oraz od 68,8 do 80,83% dla wermikulitu. Wartości te były jednakże raczej wynikiem zmian warunków zewnętrznych, niż zmian dotyczących emisji amoniaku z odchodów.

Biorąc pod uwagę analizę preparatów zastosowanych w badaniach oraz wyniki uzyskane w przeprowadzonym teście laboratoryjnym, do dalszych badań na brojlerach zdecydowano się wybrać preparat na bazie wermikulitu i wodnej zawiesiny nanosrebra. Charakteryzował się on bardzo wysoką skutecznością zarówno jeśli chodzi o redukcję stężenia amoniaku w górnej warstwie ściółki i ponad jej powierzchnią, a także redukcję

ogólnej liczby bakterii mezofilnych w ściółce. Warto również podkreślić, że zawierał on najmniejszą ilość zawiesiny nanosrebra przy zachowaniu doskonałej efektywności, co może mieć znaczenie także z ekonomicznego punktu widzenia.

Badania biologiczne i chemiczne

Nie zaobserwowano wyraźnego wpływu zastosowanego preparatu wytworzonego na bazie wermikulitu i wodnej zawiesiny nanosrebra na przedstawione wskaźniki odchowu. Wynika to prawdopodobnie z faktu, iż na produktywność ptaków składa się szereg czynników, a zbyt mała liczba obserwacji nie pozwala na wyciągnięcie wniosków w tym zakresie (Hafez i Hauck 2005; Grashorn i Serini 2006; Herbut 2009)

W dostępnej literaturze znaleźć można wiele prac dotyczących problemu emisji amoniaku oraz parametrów fizycznych ściółki i powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt. Ogromne zróżnicowanie warunków, założeń i wyników w badaniach innych autorów sprawiają jednak, że bezpośrednia konfrontacja wyników uzyskanych w niniejszej pracy z wynikami uzyskanymi przez innych autorów nie jest kwestią łatwą i jednoznaczną.

Nicholson i in. (2004) przeprowadzili badania dotyczące emisji amoniaku ze ściółki w brojlerni w zależności od rodzaju i ilości ściółki, a także rodzaju poidel i wilgotności ściółki. Zaobserwowali oni, iż straty amoniaku w okresie zimowym były większe w przypadku ściółki słomianej w porównaniu z trocinową (odpowiednio 2,0 g [NH₃-N]/godz./500 kg masy ptaków i 1,0 g [NH₃-N]/godz./500 kg masy ptaków). Spowodowane było to prawdopodobnie m.in. większą masą ściółki trocinowej (średnio 480 kg trocin na boks) w porównaniu do słomianej (275 kg słomy). W okresie letnim natomiast, straty amoniaku były niemal dwukrotnie większe w porównaniu do okresu zimowego (średnio 2,8 g [NH₃-N]/godz./500 kg masy ptaków), niezależnie od rodzaju ściółki co spowodowane było m.in. większym stopniem wentylacji. Nie zaobserwowano różnic w emisji amoniaku w zależności od ilości ściółki (warstwa o grubości 5 i 7,5 cm) zarówno w zimie jak i w lecie.

Podobne wyniki uzyskali Elwinger i Svensson (1996), którzy analizowali zależność emisji amoniaku od rodzaju i ilości ściółki w brojlerni a także rodzaju stosowanych poidel (dzwonowe i smoczkowe). Zawartość amoniaku w boksie wynosiła od 19 - 20 ppm w 28 dniu życia ptaków do 108 – 118 ppm w 35 dniu (emisja amoniaku odpowiednio 0,046 – 0,049 mg/m² i 0,32 – 0,37 mg/m²). Nie zaobserwowano istotnych różnic spowodowanych rodzajem czy też ilością ściółki.

W licznych badaniach zaobserwowano, że rodzaj poidel ma zasadniczy wpływ na wilgotność ściółki a tym samym emisję amoniaku (Tucker i Walker 1992). W badaniach Nicholsona i in. (2004) emisja amoniaku była wyższa w przypadku ściółki bardziej wilgotnej (3,3 g [NH₃-N]/godz./500 kg masy ptaków) w porównaniu do ściółki o mniejszej wilgotności (1,1 g [NH₃-N]/godz./500 kg masy ptaków). Miało to związek z rodzajem użytych poidel (dzwonowe i smoczkowe). Podobne wyniki uzyskali Elwinger i Svensson (1996), którzy w przypadku poidel dzwonowych odnotowali zawartość amoniaku na poziomie od 22 ppm w 28 dniu życia ptaków do 128 ppm w dniu 35 (emisja na poziomie 0,061 i 0,42 mg/m²), zaś przy poidłach smoczkowych wartości te wynosiły odpowiednio 17 i 95 ppm (0,033 i 0,26 mg/m²).

Vučemilo i in. (2007) przeprowadzili badania dotyczące wpływu wieku brojlerów na stopień zanieczyszczenia powietrza w brojlerni. Emisja amoniaku zaobserwowana przez autorów kształtowała się w zakresie od 4,00 do 27,47 ppm (średnio 14,5 ppm) w zależności od wieku ptaków. Wartość najniższą odnotowano w 1 tygodniu, co wiązało się z tym, że brojlery umieszczono na świeżej ściółce (słomiasto – trocinowej), zaś najwyższe wartości wystąpiły w tygodniu 3 (26,22 ppm) i 5 (27,47 ppm), co wiązało się z wiekiem ptaków a także wilgotnością powietrza. Parametr ten kształtował się w zakresie od 44,78% do 63,74%. Temperatura powietrza natomiast wahała się w granicach od 20,57 do 30,14°C, przy czym nie zaobserwowano jej związku z emisją amoniaku ani też z wilgotnością powietrza (najwyższa była na początku doświadczenia, zaś najniższa po 6 tygodniach).

Hayes i in. (2006) przeprowadzili badania nad emisją amoniaku z ferm intensywnego chowu drobiu w Irlandii. W przypadku brojlerów stężenie amoniaku wynosiło 8,8 – 9,8 ppm zależnie od pory roku, co odpowiadało emisji na poziomie 0,2 – 0,5 g/dzień/ptaka. Dla porównania, w przypadku niosek stężenie amoniaku wynosiło 2,3 – 7,6 ppm, zaś dla indyków 1,8 – 2,3 ppm. Autorzy zaobserwowali także wpływ wilgotności ściółki na stopień emisji amoniaku. Parametr ten kształtował się na poziomie 35 – 50%.

Kim i Patterson (2003) przeprowadzili badania nad wpływem wybranych minerałów (CuSO₄, ZnSO₄, MgSO₄ i MnCl₂) na aktywność urykazy mikrobiologicznej, enzymu mającego wpływ na uwalnianie się amoniaku z kwasu moczowego, w celu redukcji emisji amoniaku z odchodów u drobiu. Uzyskali oni zahamowanie aktywności enzymu na poziomie 66-98%, zależnie od zastosowanego dodatku. Zaobserwowano także spadek liczby

mikroorganizmów wykorzystujących kwas moczowy z 9,00 log jtk do <3,00 log jtk, przy jednoczesnym spadku wartości pH od 8,40 do 3,70. Redukcja emisji amoniaku zaobserwowana w powyższych badaniach kształtowała się na poziomie 15 – 26% w grupach doświadczalnych w porównaniu do grupy kontrolnej.

Groot Koerkamp i in. (1998) przeprowadzili badania mające na celu zwiększenie stopnia parowania wody ze ściółki u kur nieśnych, co w rezultacie pozwoliłoby na zmniejszenie emisji amoniaku. Zmniejszenie stopnia wilgotności ściółki starano się uzyskać stosując różnego rodzaju instalacje nawiewające ciepłe powietrze. Stężenie amoniaku zaobserwowane w niniejszych badaniach kształtowało się na poziomie 0,7 – 3,3 ppm (emisja 0,87 – 4,19 g/h), zaś wartości pH kształtowały się w zakresie od 6,4 do 7,6.

Seedorf i Hartung (1999) przeprowadzili badania nas stężeniem amoniaku z budynkach inwentarskich dla zwierząt. W przypadku brojlerów średnie stężenie amoniaku wynosiło 21,2 ppm i było najwyższe wśród wszystkich analizowanych gatunków. Zaobserwowano także wpływ temperatury i wilgotności na produkcję i uwalnianie amoniaku w przypadku drobiu.

Liu i in. (2007) przeprowadzili kontrolowane testy laboratoryjne mające na celu określenie wpływu wilgotności ściółki brojlerów na emisję amoniaku. Zaobserwowali oni wyraźną zależność pomiędzy tymi parametrami, najniższe stężenie amoniaku w komorze testowej wynosiło 95,8 ppm przy wilgotności na poziomie 19,8% i pH 8,48, zaś koncentracja najwyższa była na poziomie 449,9 ppm przy wilgotności 23,2 i pH 8,00.

Herbut i in. (2010) przeprowadzili badania mające na celu określenie emisji odorów, w tym amoniaku, pochodzące z produkcji drobiu. Autorzy zaobserwowali znaczne zróżnicowanie emisji gazów w produkcji brojlerów zależne od zastosowanego systemu utrzymania ptaków. Niższą emisję amoniaku zaobserwowano w przypadku chowu klatkowego ($1,52 \times 10^2$ kg/szt./rok) w porównaniu do utrzymania na płytce ściółce ($1,86 \times 10^2$ kg/szt./rok). Wartości temperatury i wilgotność względna wewnątrz pomieszczeń kształtowały się na poziomie 24,4°C i 67,4% dla chowu klatkowego i 21,4°C oraz 69,2% dla ściółkowego.

W badaniach mających na celu zastosowanie czynników biotechnologicznych w celu ograniczenia emisji gazów z produkcji zwierzęcej (Jelínek i in. 2007) przeanalizowano substancje mające właściwości adsorpcyjne, wiążące gazy czy też wpływające na aktywność enzymatyczną. Zaobserwowana w tych badaniach emisja

amoniaku wahała się na poziomie 0,03 – 0,25 kg/szt./rok w grupach kontrolnych i 0,02 – 0,24 g/szt./rok w grupach doświadczalnych zależnie od zastosowanego środka.

Tasistro i in. (2006) przeanalizowali wpływ dodatku mającego na celu zatrzymanie procesu nityfikacji na redukcję emisji amoniaku ze ściółki dla brojlerów. Zastosowali oni dodatek gleby gliniastej do ściółki i uzyskali redukcję emisji amoniaku o ok. 3% na początku doświadczenia do ok. 21% po 48 godzinach.

Lau i in. (2006) z kolei przeprowadzili eksperyment mający na celu określenie czynników wpływających na emisję amoniaku z różnego rodzaju odchodów stosowanych jako nawozy. W przypadku odchodów pochodzących od brojlerów emisja ta wynosiła 0,52 d.b. w okresie jesiennym do 0,57% wiosną.

Atapattu i in. (2008) badali emisję amoniaku z trzech różnych rodzajów ściółki dla brojlerów. Jako ściółkę zastosowali odpady z produkcji herbaty, trociny oraz odpady z łuskania ryżu. Emisja amoniaku kształtowała się na poziomie od 13,0 mg/kg ściółki/godz. (odpady z herbaty) do 54,0 mg/kg ściółki/godz. (trociny). Wartość pH wynosiła od 8,6 – 8,7 i nie wykazywała zróżnicowania w zależności od rodzaju ściółki, natomiast wilgotność była w zakresie od 53,3 (odpady z herbaty) do 58,6% (odpady z ryżu). Misselbrok i Powell (2005) przeprowadzili z kolei badania nad wpływem rodzaju ściółki na emisję amoniaku u bydła. Zastosowali oni posiekaną słomę, piasek, trociny, posiekane gazety, posiekane kolby kukurydzy oraz przetworzone odchody bydłęce. Emisja amoniaku uzyskana w tych badaniach wynosiła od 4,7 g/m² (posiekana słoma) do 18,3 g/m² (przetworzone odchody bydłęce).

Moore i in. (1996) zastosowali dodatek ałunu do ściółki w celu redukcji emisji amoniaku z odchodów drobiowych. Stężenie amoniaku w grupach doświadczalnych kształtowało się w zakresie 8,5 – 27,8 ppm (średnio 19,7 ppm) w przypadku grupy, gdzie zastosowana większą dawkę ałunu w formie suchej, 18,4 – 34,2 ppm (średnio 28,3 ppm) w grupie z mniejszą dawką ałunu w formie suchej oraz 14,0 – 33,6 ppm (średnio 25,0 ppm) w grupie, gdzie zastosowano niską dawkę ałunu w formie płynnej. W grupie kontrolnej wartości te były w zakresie od 25,0 do 41,0 ppm (średnio 35,7 ppm).

Johnson i Murphy (2008) z kolei zastosowali wodorosiarczan sodu w celu emisji redukcji amoniaku. Uzyskali oni redukcję stężenia amoniaku na poziomie ok. 90% (6,2 ppm w grupie doświadczalnej i 62,3 ppm w grupie kontrolnej). Wartość pH zmalała z 8,9 do 1,7.

W świetle danych podawanych w literaturze, wyniki uzyskane w niniejszych badaniach mogą być określone jako zadowalające, a biorąc pod uwagę wielkość redukcji emisji amoniaku oraz liczby bakterii i grzybów, mogą stanowić przesłankę do dalszych badań w zakresie zastosowania nanosrebra w higienizacji pomieszczeń inwentarskich.

Zanieczyszczenie mikrobiologiczne, zarówno ściółki jak i powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt jest istotnym problemem zarówno ze zdrowotnego jak i środowiskowego punktu widzenia. Obecność drobnoustrojów patogennych bądź względnie patogennych stwarza ryzyko zwiększonej zachorowalności zwierząt, a także rozprzestrzeniania się drobnoustrojów oraz jaj pasożytów w wodach i glebie (Paluszak 1998; Olszewska i Paluszak 2004). Prowadzić to może do włączenia organizmów patogennych do łańcucha pokarmowego, a w rezultacie do zakażenia ludzi (Szela i Paluszak 2010). Dlatego też istotne jest poszukiwanie skutecznych metod dezynfekcji, pozwalających na obniżenie liczby szkodliwych mikroorganizmów w produkcji zwierzęcej.

Wszystkie przeprowadzone w prezentowanych badaniach analizy mikrobiologiczne (pałeczki *Salmonella*, pałeczki *Escherichia coli*, paciorkowce, ogólna liczba bakterii, ogólna liczba drożdży, ogólna liczba grzybów pleśniowych), pomimo zróżnicowania wyników pomiędzy poszczególnymi miejscami pobierania prób (karmidła, poidła, narożniki) oraz powtórzeniami, zademonstrowały wyraźny wpływ dodawanego do ściółki preparatu nanotechnologiczno – mineralnego na bazie nanosrebra na redukcję mikroorganizmów. Redukcja ta była większa w grupie II, w której dodawano preparat w formie zmieszanej ze ściółką przy każdym dościelaniu, jednakże również jednorazowe zastosowanie preparatu pod ściółkę na początku doświadczenia spowodowało obniżenie wartości analizowanych wskaźników mikrobiologicznych.

W dostępnej literaturze znaleźć można wiele prac dotyczących stosowania nanosrebra w celu zmniejszania liczby mikroorganizmów w środowisku wodnym, glebowym, czy w przemyśle spożywczym, lecz dotyczą one głównie badań eksperymentalnych (Kopeikin 2001; Alt i in. 2004; Cho i in. 2005; Hurst 2006; Damm i in. 2007; Kim 2007; Pal i in. 2007; Abdi i in. 2008; Chai 2008; Chau i in. 2008; Dabbagh i in. 2008; Kowalski i in. 2009). Nie znaleziono natomiast prac dotyczących biobójczego działania preparatów będących połączeniem nanosrebra z sorbentem mineralnym w środowisku pomieszczeń dla zwierząt, co zostało wykazane w niniejszej pracy.

W dostępnej literaturze jest niewiele danych dotyczących zawartości srebra w analizowanych w niniejszej pracy tkankach i narządach kurcząt brojlerów czy też innych zwierząt, stąd też interpretacja uzyskanych wyników nie jest łatwa.

Zawartość srebra analizowana była przez Yilmaz i Yilmaz (2007) w tkankach krewetek w zależności od płci oraz pory roku. Zaobserwowana zawartość srebra w mięśniach krewetek wyniosła 1,5 – 2,8 $\mu\text{g/g}$ św. m., podczas gdy dla porównania a skrzelach była na poziomie 7,6 – 12,5 $\mu\text{g/g}$ św. m., a w wątrobo-trzustce 3,2 – 9,8 $\mu\text{g/g}$ św. m.

Sharma i in. (2009) z kolei analizowali wpływ przyjmowania różnych form srebra z pokarmem na zawartość wybranych pierwiastków chemicznych w tkankach kurcząt. Zawartość srebra we krwi wynosiła 0,05 – 1,2 $\mu\text{g/g}$ św. m., zaś w wątrobie była w granicach od 0,19 do 1,9 $\mu\text{g/g}$ św. m., zależnie od formy przyjętego srebra.

Zawartość srebra w krwi ludzkiej kształtowała się natomiast na poziomie 0,1 – 23 $\mu\text{g/l}$ zależnie od stopnia narażenia (Armitage i in. 1996), zaś w badaniach przeprowadzonych przez Işikli i in. (1998) uzyskane wartości stężenia srebra we krwi u ludzi mieściły się w przedziale od 6,06 do 11,35 $\mu\text{g/L}$. Stężenie srebra zaobserwowane w surowicy krwi ludzkiej przez Hachem i in. (2003) wynosiło z kolei 0,04 – 3,73 $\mu\text{g/l}$.

Stężenie srebra w surowicy krwi pstrąga tęczowego wynosiło od 2,01 do 3,91 nmol/l (Webb i Wood 2000). Pelkonen i in. (2003) przeprowadzili badania nad akumulacją srebra pochodzącego w wody pitnej w tkankach i organach myszy. Odnotowane przez nich stężenie tego pierwiastka we krwi myszy było na poziomie 0,95 – 0,97 ng/g , w płucach 2,32 – 3,27 ng/g , w wątrobie od 1,08 – 1,17 ng/g , natomiast w mięśniu płaszczkowatym aż 23,63 – 28,57 ng/g .

Lankveld i in. (2010) przeanalizowali kinetykę dystrybucji nanocząstek srebra w tkankach szczurów zależnie od rozmiaru nanocząstek (20, 80 i 110 nm) i czasu ekspozycji. Zaobserwowane przez autorów stężenie srebra we krwi kształtowało się na poziomie od 0 do 1781 ng, w wątrobie od 1855 do 24 480 ng, zaś w płucach od 3 do 3 021 ng. Dystrybucja nanocząstek srebra była w dużym stopniu zależna od ich rozmiaru, w największym stopniu kumulowane były cząstki o średnim rozmiarze (80 nm), zwłaszcza wyraźnie widać było to w przypadku płuc.

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki dotyczące zawartości srebra w mięśniach piersiowych, udowych, płucach, skórze brzusznej, wątrobie oraz surowicy krwi kurcząt brojlerów dowiodły, że zastosowanie dodatku preparatu nanotechnologiczno-mineralnego na bazie wodnej zawiesiny nanosrebra spowodowało wzrost stężenia srebra z badanych tkankach i narządach kurcząt. Nie jest to wzrost duży, jedynie w przypadku wątroby różnica była znacząca, może zatem być przesłanką mówiącą o konieczności dalszych badań w tym zakresie, tak aby można było określić bezpieczne granice w których możliwe byłoby stosowanie nanosrebra, które niewątpliwie charakteryzuje się cennymi właściwościami, jako skutecznego i bezpiecznego środka dezynfekcyjnego w chowie zwierząt, bez narażania ich zdrowia.

W dostępnej literaturze znaleźć można zdecydowanie więcej prac dotyczących zawartości miedzi w tkankach i narządach zwierząt, niż było to możliwe w przypadku srebra. W badaniach przeprowadzonych przez Kalisińską i in. (2004) na dzikich kaczkach bytujących w północno - zachodniej części Polski zaobserwowano zawartość miedzi w wątrobie na poziomie od 20,04 do 34,14 $\mu\text{g/g}$ św. m., w zależności od wieku kaczek oraz ich siedliska. Stężenie tego pierwiastka w mięśniach piersiowych wahało się natomiast w granicach od 4,04 do 6,23 $\mu\text{g/g}$ św. m. Szymczyk i Zalewski (2003) z kolei zaobserwowali stężenie miedzi w wątrobie i mięśniach piersiowych dzikich ptaków z rejonu Warmii i Mazur na poziomie odpowiednio 5,937-9,899 mg/kg św. m. i 4,128 – 7,327 mg/kg św. m.

Stężenie miedzi analizowano u krew w mięśniach, skrzelach i wątrobotrzustce krewetek, gdzie wynosiło ono odpowiednio 14,9 – 42,4; 30,8 – 48,8 i 24,2 – 101,0 $\mu\text{g/g}$ św. m. (Yilmaz i Yilmaz, 2007).

Zawartość miedzi w surowicy krwi kurcząt, którym podawano różnego rodzaju sole miedzi wynosiła 0,27 - 0,52 $\mu\text{g/mL}$ (Mondal i in. 2007).

Stężenie miedzi odnotowane przez Benito i in. (1999) we krwi dzikich ptaków z okolic Parku Narodowego Doñana w Hiszpanii znajdującego się w rejonie wpływu kopalni rud metali kształtowało się na poziomie 0,133 – 0,586 mg/L ; najniższe było u ibisa kasztanowatego (*Plegadis falcinellus*), zaś najwyższe u bociana białego (*Ciconia ciconia*).

Zawartość miedzi we krwi kurcząt zaobserwowana przez Sharmę i in. (2009) wynosiło 0,2 – 1,1 $\mu\text{g/g}$ św. m. zaś w wątrobie 1,8 - 3,0 $\mu\text{g/g}$ św. m. i wyraźnie malało wraz ze wzrostem stężenia srebra, potwierdzając antagonistyczne działanie obu pierwiastków.

Koncentracja miedzi w surowicy krwi kur nieśnych wahała się w granicach 3,4 – 5,3 $\mu\text{mol/l}$, zależnie od systemu utrzymania (Pavlik i in. 2009). Dmoch i Polonis (2007) badali natomiast wpływ biokompleksu miedziowego na zawartość wybranych składników mineralnych w krwi kurcząt brojlerów i zaobserwowali oni stężenie miedzi na poziomie 0,0053 – 0,005 $\mu\text{mol/l}$.

Z badań Kołacza i in. (2003) wynika, że stężenie miedzi w mięśniach kur w rejonie Zagłębia Miedziowego wynosiło średnio 0,90 mg/kg, zaś w wątrobie 5,62 mg/kg św. m.

Kinal i in. (2007) zaobserwowali z kolei zawartość miedzi w surowicy krwi krów na poziomie 11,22 – 13,40 $\mu\text{mol/l}$, natomiast stężenie tego pierwiastka w wątrobie krów było średnio na poziomie 63,9 $\mu\text{g/g}$ św. m. (Nriagu i in. 2009). Zawartość miedzi w wątrobie szczurów wynosiła 11,90 – 13,50 ppm (Ajayi 2008).

Zawartość miedzi w mięśniach kielbi (*Liza abu*) kształtowała się średnio na poziomie 1,36 $\mu\text{g/g}$ św. m., natomiast w wątrobie 267,45 $\mu\text{g/g}$ św. m., zaś w przypadku suma (*Silurus triostegus*) wartości te wynosiły odpowiednio 4,27 i 6,45 $\mu\text{g/g}$ św. m. (Karadede i in. 2004). U różnych gatunków ryb śródziemnomorskich z kolei stężenie miedzi w mięśniach wynosiło od 2,19 do 4,41 $\mu\text{g/g}$ s.m., zaś w wątrobie wartości te kształtowały się w szerokim zakresie od 18,18 do 201,80 $\mu\text{g/g}$ s.m. (Canli i Atli 2003). W przypadku leszcza (*Lethrinus lentjan*) stężenie tego pierwiastka w wątrobie było w granicach 3,52 – 5,61 ppm, w skórze 0,28 – 0,4 ppm, a w mięśniach 0,16 – 0,17 ppm, zależnie od płci i wymiarów ryby (Al-Yousuf i in. 2000). Dobicki i in. (2004) przeprowadzili z kolei badania dotyczące bioakumulacji metali śladowych w organach karpia. Zaobserwowane przez nich stężenie miedzi w mięśniach było w zakresie 0,324 – 0,696 mg/kg m.m., natomiast w wątrobie w zakresie 1,205 – 1,621 mg/kg m.m.

Stężenie miedzi w tkance mięśniowej koźląt wynosiło średnio 0,97 mg/kg, zaś u jagniąt 1,14 mg/kg, podczas gdy dla wątroby wartości te przedstawiały się następująco: 109,58 mg/kg u koźląt i 123,95 mg/kg u jagniąt (Niedziółka i in. 2010). Kucharczyk i in. (2006) przeprowadzili badania dotyczące zawartości metali w tkankach saren z regionu zgorzelecko – bogatyńskiego. Zaobserwowana przez autorów koncentracja miedzi była w zakresie 21,139 – 21,854 mg/kg dla wątroby, 1,812 – 2,179 mg/kg dla mięśni i 1,700 – 2,302 mg/kg dla płuc. Autorzy ci podają także zestawione z danych wartości dotyczące zawartości miedzi w tkankach saren, bydła i żubroni na terenie Polski. wartości te kształtują się następująco: 2,17 mg/kg w wątrobie żubronia, 1,14 mg/kg w mięśniach i 1,35

mg/kg w płucach; dla bydła 5,32 mg/kg w wątrobie, 1,00 mg/kg w mięśniach i 1,08 mg/kg w płucach, zaś dla saren z różnych rejonów kraju w zakresie od 9,73 do 52,29 mg/kg w wątrobie i 1,76 – 2,51 mg/kg w mięśniach.

Stężenie miedzi w surowicy krwi ludzkiej kształtowało się w zakresie 0,73 – 1,99 µg/l (Versieck i in. 1974). Popko i in. (2003) natomiast odnotowali zawartość tego pierwiastka w surowicy krwi u ludzi na poziomie 1,11 – 1,18 mg/L.

Zawartość miedzi zaobserwowane w niniejszych badaniach mieściło się w zakresach podawanych przez innych autorów. Nie dowiedziono jednoznacznie antagonizmu srebra wobec tego pierwiastka.

Selen jest pierwiastkiem, któremu w nauce poświęca się dużo uwagi, m.in. ze względu na jego rolę w żywieniu. Liczni autorzy analizowali wpływ różnorodnych czynników na poziom selenu w tkankach i narządach zwierząt.

Payne i Southern (2005) przeprowadzili badania mające na celu określenie stężenia selenu w tkankach brojlerów, którym podawano różnego rodzaju dodatki selenowe. Zaobserwowali oni zawartość selenu w osoczu krwi w zakresie od 0,019 do 0,129 ppm, w mięśniach piersiowych w granicach 0,25 - 1,2 ppm, zaś stężenie tego pierwiastka w wątrobie wahało się od 0,4 do 2,3 ppm.

Z kolei Zoidis i in. (2010) podając brojlerom selen w formie organicznej odnotowali zawartość tego pierwiastka w wątrobach ptaków na poziomie 491 – 3271 ng/g, zaś we krwi stężenie to mieściło się w granicach od 88 – 1249 ng/g. Wang i Xu (2008) analizowali z kolei wpływ różnych źródeł selenu (selenin sodu i drożdże selenowe) na kurczęta brojlery. Autorzy zaobserwowali zawartość selenu w mięśniach na poziomie 0,19 – 0,30 µg/g, zaś w wątrobie stężenie to kształtowało się w granicach od 0,34 do 0,68 µg/g, zależnie od źródła selenu w diecie. Badania dotyczące wpływu różnych poziomów selenu w diecie kurcząt brojlerów na zawartość tego pierwiastka w narządach przeprowadzone zostały przez Mihaljeva i in. (2007). Stężenie selenu w wątrobie kształtowało się w szerokim zakresie od 9,0 do nawet 570,8 µg/kg, we krwi od 8,5 do 430,3 µg/kg, podczas gdy w mięsie zawartość selenu była najniższa ni nie przekraczała 160,0 µg/kg.

U lisów pospolitych natomiast, zawartość selenu w wątrobie wynosiła średnio 0,247 µg/g św. m., zaś w mięśniach 0,070 µg/g św. m. (Balicka-Ramisz i in. 2010).

Badając zależność stężenia wybranych pierwiastków w surowicy krwi kur nieśnych od systemu utrzymania, Pavlik i in. (2009) odnotowali poziom selenu w granicach 1,65 – 3,25 $\mu\text{mol/l}$.

Z kolei Leeson i in. (2006) analizowali wpływ organicznego dodatku selenu do diety brojlerów na zawartość tego pierwiastka w tkankach zwierząt. zaobserwowane przez nich stężenie selenu wynosiło 0,156 – 0,173 $\mu\text{g/MI}$ dla surowicy krwi, 0,44 – 0,48 $\mu\text{g/g}$ dla wątroby i 0,162 – 0,174 $\mu\text{g/g}$ dla mięśni piersiowych.

Travnicek i in. (2007) podając dorosłym owcom glony wzbogacone w selen zaobserwowali stężenie tego pierwiastka we krwi na poziomie 68,6 – 114,2 $\mu\text{g/l}$, zaś u jagniąt w zakresie od 33,9 – 50,1 $\mu\text{g/l}$. Zawartość selenu w mięśniach karpi natomiast wynosiła średnio 200,71 $\mu\text{g/kg}$ (Kowalska-Górska i Senze 2009).

Stężenie selenu w wątrobie brojlerów zaobserwowane przez Kühn i in. (1991) wynosiło natomiast od 710 do 902 ng/g św. m.

W przypadku krów natomiast zawartość selenu w surowicy krwi była na poziomie 53,40 – 70,25 $\mu\text{g/l}$, w wątrobie w granicach 206,26 – 424,66 $\mu\text{g/kg}$, zaś w tkance mięśniowej od 81,42 do 263,42 $\mu\text{g/kg}$ (Pechowa i in. 2005). Nriagu i in. (2009) zaobserwowali z kolei zawartość selenu w wątrobie krów na średnim poziomie 1,35 $\mu\text{g/g}$ św. m.

W oparciu o dane literaturowe można zatem uznać, że uzyskane w prezentowanej pracy wyniki dotyczące zawartości selenu w tkankach i narządach kurcząt brojlerów mieszczą się w zakresach podawanych przez innych autorów. Ponadto podkreślić należy, iż nie stwierdzono antagonistycznego wpływu srebra na stężenie selenu.

Dane literaturowe prezentują szeroki zakres stężenia cynku w tkankach i narządach różnych gatunków zwierząt. U kaczek z rejonu Polski północno – zachodniej, stężenie cynku w wątrobie mieściło się w granicach 34,88 – 49,78 $\mu\text{g/g}$ św. m., natomiast zawartość tego pierwiastka w mięśniach piersiowych wynosiła od 11,99 do 12,97 $\mu\text{g/g}$ św. m. (Kalisińska i in. 2004). Szymczyk i Zalewski (2003) zaobserwowali natomiast stężenie cynku w wątrobie dzikich ptaków na poziomie 15,393 – 27,426 mg/kg św. m., zaś w mięśniach piersiowych w granicach od 8,739 do 20,093 mg/kg św. m.

Zawartość cynku w surowicy krwi kurcząt brojlerów, których dieta suplementowana była fitynianami wynosiła od 1,09 do 2,06 mg/l, zależnie od rodzaju i dawki suplementu (Mohanna i Nys 1999).

W przypadku krewetek, zawartość cynku w mięśniach była w zakresie 4,2 – 10,3 µg/g św. m., w skrzelach 142 – 241 µg/g św. m., zaś w wątrobotrzustce 185 – 284 µg/g św. m., zależnie od płci i pory roku (Yilmaz i Yilmaz 2007).

Kaya i in. (2002) przeprowadzili badania na kurach nieśnych, których dieta suplementowana była dodatkiem cynku i witaminy A. Zaobserwowali on stężenie cynku w wątrobie na poziomie od 49,55 do 69,04 µg/g św.m., zależnie od rodzaju i dawki suplementu.

Mondal i in. (2007) zaobserwowali stężenie cynku w surowicy krwi kurcząt żywionych dietą z dodatkiem soli miedzi na poziomie 2,00 do 2,40 µg/mL. W mięśniach kur pochodzących z Zagłębia Miedziowego średnia koncentracja cynku wynosiła 10,45 mg/kg, zaś w wątrobie wartość ta była na poziomie 41,97 mg/kg (Kończak i in. 2003).

Cao i in. (2002) natomiast, odnotowali stężenie cynku w wątrobie kurcząt, którym podawano suplementy cynkowe na poziomie 5,1 – 14,4 µg/g, zależnie od rodzaju suplementu.

Stężenie cynku w surowicy krwi dzikich ptaków z rejonu narażonego na wpływ kopalni rud metali kształtowało się na poziomie od 0,9 mg/L (ibis kasztanowaty, *Plegadis facinellus*) do 4,4 mg/L (mewa białogłowa, *Larus cachinnans*) (Benito i in. 1999).

Stężenie cynku we krwi kurcząt zaobserwowane przez Sharmę i in. (2009) kształtowało się w zakresie 1,5 – 7,2 µg/g św. m., zaś w wątrobie 9,0 – 18,6 µg/g św. m.

Koncentracja cynku w surowicy kur nieśnych określona została na poziomie ok. 50 – 83 µmol/l. zawartość cynku we krwi kurcząt brojlerów zaobserwowana przez Dmoch i Polonisa (2007) była w zakresie od 0,036 do 0,04 µmol/l.

Herzig i in. (2009) analizowali stopień akumulacji cynku w tkankach kurcząt brojlerów w wyniku podawania im dodatków z kwasem humusowym. Uzyskane przez nich wyniki wskazują na zawartość Zn w mięśniach udowych na poziomie 40,1 – 62,1 mg/kg, w wątrobie w zakresie od 72,2 aż do 430,5 mg/kg natomiast w surowicy krwi w zakresie 1,04 – 4,37%.

Bartlett i Smith (2003) podając kurczętom brojlerów różny poziom suplementu cynkowego zaobserwowali zawartość tego pierwiastka w surowicy krwi w zakresie 177,33 – 220,49 $\mu\text{d/dL}$.

Zawartość cynku w surowicy krwi krów wynosiła natomiast 16,54 – 18,83 $\mu\text{mol/l}$ (Kinal i in. 2007), natomiast średnia zawartość tego pierwiastka w wątrobie krów kształtowała się na poziomie 92,2 $\mu\text{g/g}$ św. m. (Nriagu i in. 2009). W badaniach na szczurach natomiast zawartość cynku w wątrobie wynosiła 90,07 – 90,96 ppm (Ajayi 2008).

Zawartość cynku w mięśniach kielbi (*Liza abu*) wynosiła średnio 7,74 $\mu\text{g/g}$ św. m., natomiast w wątrobie 36,92 $\mu\text{g/g}$ św. m., zaś w przypadku suma (*Silurus triostegus*) wartości te wynosiły odpowiednio 10,94 i 20,36 $\mu\text{g/g}$ św. m. (Karadede i in. 2004). Koncentracja cynku w mięśniach różnych gatunków ryb śródziemnomorskich była w zakresie 16,48 – 37,39 $\mu\text{g/g}$ s.m., natomiast w wątrobie zakres ten wynosił od 70,18 do 110,03 $\mu\text{g/g}$ s.m. (Canli i Atli 2003). Al-Yousuf i in. (2000) analizowali zawartość wybranych pierwiastków, w tym cynku, w wątrobie, skórze i mięśniach leszcza (*Lethrinus lentjan*) zależnie od płci i wymiarów ryby. Zawartość Zn w wątrobie leszcza kształtowała się na poziomie 34,1 – 70,8 ppm, w skórze od 31,42 do 42,28 ppm, natomiast w mięśniach w zakresie 2,82 – 3,3 ppm. W badaniach Dobickiego i in. (2004) stężenie cynku w mięśniach karpia kształtowało się w zakresie 3,208 – 6,211 mg/kg m.m., zaś w wątrobie od 10,385 do 29,243 mg/kg m.m.

Niedziółka i in. (2010) przeprowadzili badania nad zawartością wybranych pierwiastków chemicznych w tkance mięśniowej i wątrobie koźląt i jagniąt. Zaobserwowali oni stężenie cynku w mięsie na poziomie 59,90 mg/kg u koźląt i 52,99 mg/kg u jagniąt, podczas gdy dla wątroby wartości te wynosiły odpowiednio 69,42 i 69,04 mg/kg.

Stężenie cynku zaobserwowane przez Kucharczyk i in. (2006) w tkankach saren z regionu zgorzelecko – bogatyńskiego mieściło się w zakresie 24,391 – 24,437 mg/kg dla wątroby, 36,895 – 40,427 mg/kg dla mięśni i 15,011 – 17,244 mg/kg dla płuc. Autorzy ci podają także zestawienie wartości dotyczących zawartości cynku w tkankach saren, bydła i żubroni na terenie Polski. Stężenia te kształtują się następująco: 43,1 mg/kg w wątrobie żubronia, 41,5 mg/kg w mięśniach i 21,9 mg/kg w płucach; dla bydła 30,10 mg/kg w wątrobie, 30,66 mg/kg w mięśniach i 19,52 mg/kg w płucach, zaś dla saren z różnych rejonów kraju w zakresie od 30,99 do 38,10 mg/kg w wątrobie i 24,2 – 38,66 mg/kg w mięśniach.

Zawartość cynku w wątrobie nornicy i ryjówki kształtowała się natomiast w zakresie odpowiednio 85 – 117 i 74 – 89 $\mu\text{g/g}$, zależnie od stopnia zanieczyszczenia środowiska (Bezel i in. 2007).

Dla porównania, średnia koncentracja cynku w surowicy krwi ludzkiej wynosiła 115,83 – 145,21 mg/dl (Nourmohammadi i in. 2000), lub 0,69 – 1,21 $\mu\text{g/ml}$ (Versieck i in. 1974). W badaniach przeprowadzonych przez Popko i in. (2003) zaobserwowane stężenie cynku w surowicy krwi wynosiło 0,66 – 0,73 mg/L.

Wartości dotyczące zawartości cynku w tkankach i narządach brojlerów uzyskane w niniejszych badaniach mieszczą się w granicach podawanych przez innych autorów. Podobnie jak w przypadku selenu i miedzi nie wykazano antagonizmu srebra wobec tego pierwiastka.

Badania dotyczące wpływu zastosowania różnego stężenia nanocząstek srebra w paszy na zmiany wątrobowe u kurcząt brojlerów przeprowadzone zostały przez Ahmadi i in. (2009). Autorzy pracy nie zaobserwowali istotnych różnic pomiędzy grupą kontrolną a grupami doświadczalnymi w zakresie struktury tkanki wątroby, zwłóknienia mięszu, infiltracji komórek nacieku zapalnego czy też zatorów zatokowych, jednakże zaobserwowali niewielkie zmiany martwicze w grupie, której podawano najwyższe stężenie nanosrebra.

Witkowska i in. (2006) przeprowadzili badania wpływu zastosowania komercyjnego środka dezynfekcyjnego na paromofrologiczny obraz wątroby kurcząt brojlerów. Autorzy ci zaobserwowali, iż obraz histopatologiczny wątroby kurcząt mieścił się przyjętej normie, aczkolwiek zaobserwowano znaczne stłuszczenie hepatocytów, co ciekawe w grupie kontrolnej, nie doświadczalnej. W grupie doświadczalnej zaobserwowano z kolei zmiany w obrębie mięszu wątroby, zaś w obu grupach zmiany w obrębie wakuoli.

Według Szarka i in. (2000), wątroby szybko rosnących młodych kurcząt są szczególnie podatne na zmiany morfologiczne. Uważa się, że mimo, iż akumulacja tłuszczu w komórkach wątrobowych jest zwykle procesem odwracalnym, kiedy stopień zniszczenia struktury komórki jest znaczny, może być to powodem jej obumarcia (Żuliński i in. 1981; Szarek i in. 1997).

W podsumowaniu należy stwierdzić, iż celowe jest zastosowanie sorbentów mineralnych do wytwarzania preparatów w stałej postaci na bazie wodnej zawiesiny nanosrebra. Udowodniono korzystny wpływ takich preparatów na cechy fizyko-chemiczne i mikrobiologiczne ściółki słomiano-trocinowej w odchowie brojlerów (spadek emisji amoniaku oraz zawartości bakterii i grzybów), natomiast pozostaje ograniczenie kumulacji jonów srebra w tkankach i narządach tych ptaków. Brak jest jednocześnie najwyższych dopuszczalnych stężeń (NDS) srebra w materiałach paszowych i ściółkowych oraz organizmach zwierząt, a także tolerowanej dawki tego pierwiastka pobranej przez człowieka z codzienną dietą.

Dlatego też badania nad zastosowaniem preparatów nanotechnologicznych zawierających nanosrebro w chowie zwierząt powinny być nadal kontynuowane.

6. WNIOSKI I UOGÓLNIENIA

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułować należy następujące wnioski:

1. Spośród dwóch rodzajów roztworu nanosrebra (wodny i alkoholowy) oraz trzech rodzajów glinokrzemianów (wermikulit, haloizyt, bentonit) najefektywniejsze okazało się połączenie wermikulitu z wodną zawiesiną nanosrebra (WV) z niewielką domieszką humodetrynitu (surowiec huminowy).
2. Preparat glinokrzemianowo – nanotechnologiczny będący połączeniem wermikulitu i wodnej zawiesiny nanosrebra dodany w ilości 10% (WV-10) redukował najefektywniej zawartość amoniaku w strefie nadściółkowej (maksymalnie o ok. 80%) oraz w samej ściółce (górną warstwę, maksymalnie o ok. 80%) w porównaniu do grupy kontrolnej.
3. Ten sam preparat (WV-10) najkorzystniej redukował ogólną liczbę bakterii (maksymalnie o ok. 85%) w porównaniu do grupy kontrolnej.
4. Zastosowanie preparatu WV-10 do ściółki w odchowie kurcząt brojlerów spowodowało wzrost zawartości Ag w wątrobie (max 0,209 ppm), płucach (max 0,225 ppm) i skórze brzusznej (max 0,234 ppm) w stosunku do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono wpływu preparatu na zawartość Ag w mięśniach piersiowych i udowych oraz w surowicy krwi.
5. Nanosrebro w połączeniu z glinokrzemianami (z dodatkiem humodetrynitu) nie wpłynęło antagonistycznie na kształtowanie się zawartości Cu, Se i Zn w tkankach i narządach kurcząt brojlerów.

7. SPIS LITERATURY

- Abdi G., Salehi H., Khosh-Khui M. (2008). Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 709 – 714.
- Abollino O., Giacomino A., Malandrino M., Mentasti E. (2007). The efficiency of vermiculite as natural sorbent for heavy metals. Application to a contaminated soil. *Water Air and Soil Pollution*, 181, 149-160.
- Addison J. (1995). Vermiculite: a review of the mineralogy and health effects of vermiculite exploitation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 21, 397 – 405
- Agett PJ, Favier A. (1993). Zinc. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 63, 247–316.
- Ahmad F., Javed M.T., Sandhu M.A., Kausar R. (2004). Effects of higher levels of chromium and copper on broiler health and performance during the peak tropical summer season. *Veterinarski Archiv*, 74 (5), 395-408.
- Ahmadi J., Irani M., Choobchian M. (2009). Pathological study of intestine and liver in broiler chicks after treatment with different levels of silver nanoparticles. *World Applied Sciences Journal*, 7 (suppl. 1), 28-32.
- Ajayi O.B. (2008). Effect of zinc deficiency on haematological parameters and mineral contents of selected tissues in albino rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (4), 543-545.
- Albihn A., Vinneras B. (2007) Biosecurity and arable use of manure and biowaste – treatment alternatives. *Livestock Science*, 112, 232 – 239.
- Alt V., Bechert T., Steinrucke P., Wagener M., Seidel P., Dingeldein E., Domann E., Schnettler R. (2004). An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*, 25, 4383-4391.
- Al-Yousuf M.H., El-Shahawi M.S., Al-Ghais S.M. (2000). Trace elements in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Science of the Total Environment*, 256, 87-94.
- AMEPOX Sp z o.o. www.amepox.com.pl
- Andrieu S. (2008). Is there a role for organic trace elements supplements in transition cow health? *Veterinary Journal*, 176, 77-83.

- Aneja V.P., Murray G.C., Southerland J. (1998). Atmospheric nitrogen compounds: emissions, transport, transformation, deposition and assessment. *Environmental Manager*, 4, 22-25.
- Aneja V.P., Nelson D.R., Roelle P.A., Walker J.T. (2003). Agricultural ammonia emissions and ammonium concentrations associated with aerosols and precipitation in the southeast United States. *Journal of Geophysical Research*, 108 (D4), 4152 – 4163.
- Armitage S.A., White M.A., Wilson H.K. (1996). The determination of silver in whole blood and its application to biological monitoring of occupationally exposed groups. *Annals of Occupational Hygiene*, 40 (3), 331-338.
- Arshad M., Siddique M., Ashraf M., Khan H.A. (2005). Effect of selenium supplementation on antibody titrem against infectious bursal disease vaccine in broiler chicks. *Pakistan Veterinary Journal*, 25 (4), 203-204.
- Asman W.A.H., Sutton M.A., Schjoerring J.K. (1998). Ammonia emission, atmospheric transport and deposition. *New Phytologist*, 139, 27 – 48.
- Atapattu N.S.B.M., Senaratna D., Belpagodagamage U.D. (2008). Comparison of ammonia emission rates from three types of broiler litters. *Poultry Science*, 87, 2436 – 2440.
- Balicka-Ramisz A., Pilarczyk B., Ramisz A., Polarczyk R., Nader K. (2010). Selenium concentration in the liver, kidneys, and muscles in silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 54, 265-267.
- Banach M., Kowalski Z., Wzorek Z. (2007). Nanosrebro – wytwarzanie, właściwości bakteriobójcze, zastosowanie. *Chemik*, 9, 435 – 438.
- Barbanti D., D’Orazio M., Versari A. (1997). The use of bentonite as a moisture regulating system 1. Study on some sorption properties of bentonites for their potential use in food technology. *Journal of Food Engineering*, 33, 193-206.
- Bartlett J.R., Smith M.O. (2003). Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. *Poultry Science*, 82, 1580-1588.
- Battye W., Aneja V.P., Roelle P.A. (2003). Evaluation and improvement of ammonia emissions inventories. *Atmospheric Environment*, 37, 3873 – 3883.
- Battye, R., Battye, W., Overcash, C., Fudge, S. (1994). Development and Selection of Ammonia Emission Factors. 68-D3-0034. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.

- Bell T.E. (2008) Reporting risk assessment of nanotechnology: a reporter's guide to sources and research issues. <http://umassk12.net/nano/2008summer/Gibson/Risks.pdf>
- Benito V., Devesa V., Muñoz O., Suñer M.A., Montoro R., Baos R., Hiraldo F., Ferrer M., Fernández M., González M.J. (1999). Trace elements in blood collected from birds feeding in the area around Doñana National Park affected by the toxic spill from the Aznalcólar mine. *Science of the Total Environment*, 242, 309-323.
- Bezel V.S., Kjoutsenogii K.P., Mukhacheva S.V., Savchenko T.I., Chankina O.V. (2007). Element composition of diet and tissues of small mammals of different trophic levels as a bioindicator of the chemical pollution of environment. *Chemistry for Sustainable Development*, 15, 33-42.
- Bicudo, J.R., Schmidt, D.R., Powers, W., Zahn, J.A., Tengman, C.L., Clanton, C.J., and Jacobson, L.D. (2002). Odor and VOC emissions from swine manure storages. Procs. Of Odor and Toxic Air Emissions 2002, Albuquerque, NM, April 28 to May 1, WEF, Alexandria, VA.
- Bielecki S., Kalinowska H. (2008). Biologiczne nanomateriały. *Postępy Mikrobiologii*, 47, 3, 163 – 169.
- Black R.E. (2003). Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. *Journal of Nutrition*, 133, 1485S-1489S.
- Blunden J., Aneja V.P., Lonneman W.A. (2005). Characterization of non-methane volatile organic compounds at swine facilities in eastern North Carolina. *Atmospheric Environment*, 39, 6707-6718
- Bogunia-Kubik K, Susisaga M. (2002). From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems*, 65, 123-138.
- Boosalis M.G., McCall J.T., Ahrenhalz D.H., Solem L.H., McClain C.J. (1987). Serum and urinary silver levels in thermal injury patients. *Surgery*, 101, 40-43.
- Borm P. (2002). Particle toxicology: from coal mining to nanotechnology. *Inhalation Toxicology*, 14, 311-324.
- Boruta A., Świerczewska E., Roszkowski T. (2007). Wpływ organicznej i nieorganicznej formy selenu na skład morfologiczny jaj i zawartość selenu w masie jajecznej. *Medycyna Weterynaryjna*, 63 (2), 238-241.

- Bouwman A.F., Lee D.S., Asman W.A.H., Dentener F.J., Van Der Hoek K.W., Olivier J.G.J. (1997). A global high-resolution emission inventory for ammonia. *Global Biogeochemical Cycles*, 11 (4), 561 – 587.
- Braydich-Stolle L., Hussain S., Schlager J.J., Hofmann M.C. (2005). *In vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicological Sciences*, 88, 412-419.
- Brinson S.E. Jr., Cabrera M.L., Tyson S.C. (1994). Ammonia volatilization from surface-applied, fresh and composted poultry litter. *Plant and Soil*, 167, 213 – 218.
- Brunner T., Piusmanser P., Spohn P., Grass R., Limbach L., Bruinink A., Stark W. (2006). *In vivo* cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environmental Science Technology*, 40, 4374-4381.
- Büscher W., Hartunge., Keck M. (1994). Ammonia emission by different ventilation systems. Animal waste management. *Proceedings of the Seventh Technical Consultation on the ESCORENA on Animal Waste Management*. Bad Zwischenahn, Germany 17-20 May 1994, 45-49.
- Cai L., Koziel J.A., Lo Y.C., Hoff S.J. (2006). Characterization of volatile organic compounds and odorants associated with swine barn particulate matter using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry-oflactometry. *Journal of Chromatography A*, 1120, 60-72.
- Canli M., Atli G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121, 129-136.
- Cao J., Henry P.R., Davis S.R., Cousins R.J., Miles R.D., Littell R.C., Ammerman C.B. (2002). Relative bioavailability of organic zinc sources based on tissue zinc and metallothionein in chicks fed conventional dietary zinc concentrations. *Animal Feed Science and Technology*, 101, 161-170.
- Carr L.E., Wheaton F.W., Douglas L.W. (1990). Empirical models to determine ammonia concentrations from broiler chicken litter. *Trans Of the ASAE*, 33(4), 1337-1342.
- Chai J.S. (2008). Modeling the toxic effects of silver nanoparticles under varying environmental conditions. *Journal of the U.S. SJWP*

- Chau N.H., Bang L.A., Buu N.Q., Dung T.T.N., Ha H.T., Quang D.V. (2008). Some results in manufacturing of nanosilver and investigation of its application for disinfection. *Advances in Natural Science*, 9 (2), 241 – 248.
- Chen H (Ed). (2002). Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *Prof USDA Conference*, Nov 18–19, Washington DC.
- Chen M., von Mikecz A. (2005). Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in response to SiO₂-nanoparticles. *Experimentall Cell Research*, 305, 51-62.
- Chen X., Schluesener H.J. (2008). Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*, 176, 1 – 12.
- Cho K.H., Park J.E., Osaka T., Park S.G. (2005). The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta*, 51, 956 – 960.
- Chojnacka K., Zalewska – Dorobisz U., Górecka H., Dobrzański Z., Górecki Z., Zygadlik K. (2008). Study of silver accumulation in enviromental and biological materials. *Chemistry for Agriculture*, 9 ,288-294.
- Cole N.A., Clark R. N., Todd R. W., Richardson C. R., Gueye A., Greene L. W., McBride K. (2005). Influence of Dietary Crude Protein Concentration and Source on Potential Ammonia Emissions from Beef Cattle Manure. *Journal of Animal Science*. 83, 722-731.
- Curtis A., Wilkinson C. (2001). Nanotechniques and approaches in biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 19, 97-101.
- Da Borso F., Chiumenti R. (1999). Poultry housing and manure management systems: recent development in Italy as regards ammonia emissions. *Proceedings of the 8th International Conference of the FAO ESCORENA Network on Recycling of Agricultural, Municipal and Industrial Residues in Agriculture*, RAMIRAN 98, Vol. 2, Posters Presentation, 15-21.
- Da Fonseca M.G., de Oliveira M.M., Arakaki L.N.H., Espinola J.G.P., Airoidi C. (2005). Natural vermiculite as an exchanger support for heavy cations in aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 285, 50-55.
- Dabbagh M.A., Moghimipour E., Ameri A., Sayfoddin N. (2008). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of nanosilver containing hydrogels. *Iranian Journal od Pharmaceutical Research*, 7 (1), 21 -28.

- Damm C., Munstedt H., Rosch A. (2007). Long-term antimicrobial polyamide 6/silver-nanocomposites. *Journal of Material Science*, 42, 6067 – 6073.
- Dentener F.J., Crutzen P.J. (1994). A three-dimensional model of the global ammonia cycle. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 19, 331-369.
- Depledge M., Owen R. (2005). Nanotechnology and the environment: risks and rewards. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 609-612.
- Diaz-Alaron J.P., Nawarro-Alarcon M., de la Serrana L.G., Lopez-Martinez M.C. (1994). Determination of selenium levels in vegetables and fruits by hybrid generation atomic absorption spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2848-285
- Dmoch M., Polonis A. (2007). Wpływ biokompleksu miedziowego na wybrane wskaźniki hematologiczne, biochemiczne i zawartość składników mineralnych w krwi kurcząt brojlerów. *Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica*, 6 (3), 11-18.
- Dobicki W., Polechoński R., Kowalska-Górska M., Pokorny P. (2004). Bioakumulacja metali śladowych w organach karpia. *Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu, Zootechnika*, LI, 501, 57-61.
- Dobrzański Z., Czyż K., Patkowska-Sokoła B., Bodkowski R. (2010a). Effect of different nanotechnological preparations on the microbiological composition of sheep manure. Monograph, National Research Institute of Animal Production. Cracow. *Pollution and Organic Aspects of Animal Production*, 71-81.
- Dobrzański Z., Opaliński S., Górska H., Korczyński M., Kołacz R., Trziszka T. (2008). Bioavailability of Fe, Cu and Mn from yeast enriched in bioelements used in laying hens feeding, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 11(2), #12.
- Dobrzański Z., Zygadlik K., Patkowska-Sokoła B., Nowakowski P., Janczak M., Sobczak A., Bodkowski R. (2010b). Efektywność nanosrebra i sorbentów mineralnych w redukcji emisji amoniaku z odchodów zwierzęcych. *Przemysł Chemiczny*, 89 (4), 348-351.
- Dohler H. (2003). Organic fertilizing. Yearbook Agricultural Engineering. Editors Matthies H. J., Meier F. *VDMA Landtechnik*, 15, 115-122.
- Drake P.L., Hazelwood K.J. (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: A Review. *Annales of Occupational Hygiene*, 49, 575-585.

- Duggan J., Bates M.P., Phillips C.A. (2001) The efficacy of subsurface flow reed bed treatment in the removal of *Campylobacter* spp., faecal coliforms and *Escherichia coli* from poultry litter. *International Journal of Environmental Health Research*, 11, 168 – 180.
- Dyrektywa Azotanowa. (1991). Dyrektywa Rady 91/676/EWG z dnia 12 grudnia 1991 r. dotycząca ochrony wód przed zanieczyszczeniami powodowanymi przez azotany pochodzenia rolniczego.
- Dyrektywa IPPC. (1996). Dyrektywa Rady 96/61/WE z dnia 24 września 1996 r. dotycząca zintegrowanego zapobiegania zanieczyszczeniom i ich kontroli.
- Dyrektywa Rady 2007/43/WE z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie ustanowienia minimalnych zasad dotyczących ochrony kurcząt utrzymywanych z przeznaczeniem na produkcję mięsa.
- Dz. U. 1994, nr. 73. Konwencja o ochronie środowiska morskiego obszaru Morza Bałtyckiego (Konwencja helsińska).
- Dz. U. 2003, nr. 167, poz. 1629 z późn. zm. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 2 września 2003 r. w sprawie minimalnych warunków utrzymywania poszczególnych gatunków zwierząt gospodarskich.
- Eisler R. (1996). A review of silver hazards to plants and animals. In Andren AW, Bober TW. (eds.): *Proceedings 4th Int. Conf. Transport, Fate and Effects of Silver in the Environment*, Madison, Wisconsin, 143-144.
- Elliott H.A., Collins N.E. (1982). Factors affecting ammonia release in broiler houses. *Trans of ASAE*, 25(2), 413–424.
- Elmadfa I., Muskat E. (2003). *Wielkie tabele kalorii i wartości odżywczych*. Wyd. Muza SA, Warszawa
- Elwinger K., Svensson L. (1996). Effect of dietary protein content, litter and drinker type on ammonia emission from broiler houses. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 64, 197-208.
- Erickson G. E., Adams J. R., Farran T. B., Wilson C. B., Macken C. N., Klopfenstein T.J. (2003). Impact of cleaning frequency of pens and carbon to nitrogen (C:N) ratio as influenced by the diet or pen management on N losses from outdoor beef feedlots. In *Proc. 9 Inter. Symp. on Animal, Agricultural and Food Processing Wastes*, Raleigh, NC, Oct. 12-15, 2003. ASAE, St. Joseph, MI. p 397-404.

- Eriksson de Rezende C.L., Mallinson E.T., Gupte A., Joseph S.W. (2001). *Salmonella* spp. are affected by different levels of water activity in closed microcosms. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 26, 222 – 225.
- Eya J.C., Parsons A., Haile I., Jagidi P. (2008). Effects of dietary zeolites (bentonite and mordenite) on the performance juvenile Rainbow trout *Onchorhynchus myskis*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2 (4), 961-967.
- Farasati C., Tohidi R. (2007). Physiological response of broiler chicks fed various level of dopamine and zinc. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (17), 2925-2929.
- Feneque J. (2003). Brief introduction to the veterinary applications of nanotechnology. <http://www.nanotech-now.com/Jose-Feneque/Veterinary-Applications-Nanotechnology.htm>
- Feynman R.P. (1992). There's plenty of room at the bottom. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 1 (1), 60-66.
- Filipy J., Rumburg B., Mount G., Westberg H., Lamb B. (2006). Identification and quantification of volatile organic compounds from a dairy. *Atmospheric Environment*, 40, 1480-1494.
- Fomina M., Gadd G.M. (2002). Influence of clay minerals on the morphology of fungal pellets. *Mycological Research*, 106 (1), 107-117.
- Frechet J.M. (2002). Dendrimers and supramolecular chemistry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99, 4782-4787.
- Galvin P. (2002). A nanobiotechnology roadmap for high-throughput nucleotide polymorphism analysis. *The Journal of Genetic Psychology*, 12, 75-82.
- Galyean M. L., Gleghorn J. F. (2000). Summary of the 2000 Texas Tech university consulting nutritionist survey. <http://www.asft.ttu.edu/>
- Garnett M., Kallinteri P. (2006). Nanomedicines and nonotoxicology; some physiological principles. *Occupational Medicine*, 56, 307-311.
- Gay S.W., Knowlton K.F. (2005). Ammonia emissions and animal agriculture. *Biological Systems Engineering*, Publication 442 – 110
- Geiser M., Rothen-Rutishauser B., Kapp N., Schürch S., Kreyling W., Schulz H. (2005). Ultrafine particles cross cellular membranes by non-phagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells *Environmental Health Perspectives*, 113, 1555–1560.

- Gillies G.T., Wilhelm T.D., Humphrey J.A.C., Fillmore H.L., Holloway K.L., Broaddus W.C. (2002). A spinal cord surrogate with nanoscale porosity for in vitro simulations of restorative neurosurgical techniques. *Nanotechnology*, 13, 587-591.
- Gleghorn J. F., Elam N. A., Galyean M. L., Duff G. C., Cole N. A., Rivera J. D. (2004). Effects of crude protein concentration and degradability on performance, carcass characteristics, and serum urea nitrogen concentration in growing and finishing beef steers. *Journal of Animal Science*, 82:2705-2717.
- Gopinath P., Gogoi S.K., Chattopadhyay A., Gosh S.S. (2008). Implications of silver nanoparticle induced cell apoptosis for *in vitro* gene therapy. *Journal of Nanotechnology*, 19 art. No. 075104, 10pp
- Grashorn M.A., Serini C. (2006). Quality of chicken meat from conventional and organic production. *Proceedings 12th European Poultry Conference*, Verona, Italy. Abstracts and procedures CD, ID 10237.
- Grela E.R., Kowalczyk E., Rudnicki K. (2009). Zmiany w żywieniu trzody chlewnej zapewniające ograniczenie emisji związków azotowych do środowiska. *Przemysł Chemiczny*, 88 (5), 436 – 439.
- Groot Koerkamp P.W.G., Raaben J.H.W., Speelman L., Metz J.H.M. (1999). Litter composition and ammonia emission in aviary houses for laying hens. Part III: water flow to the litter through fresh droppings. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 73, 363 – 371.
- Groot Koerkamp P.W.G., Speelman L., Metz J.H.M. (1998). Litter composition and ammonia emission in aviary houses for laying hens. Part 1: performance of a litter drying system. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 70, 375 – 382.
- Gulbranson S.H., Hud J.A., Hansen R.C. (2000). Argyria following the use of dietary supplements containing colloidal silver protein. *Cutis*, 66:373-376.
- Gustafsson G., Jeppsson K.H. (2005). Measures against ammonia emissions from dairy houses. *NJF-Seminar 372*. Manure – an agronomic and environmental challenge. 101-104
- Gutarowska B., Borowski S., Durka K., Korczyński M., Kołacz R. (2009) Selekcja drobnoustrojów zdolnych do usuwania związków odorowych z pomiotu kurzego. *Przemysł Chemiczny*, 88 (5), 440 – 445.

- Guz M., Guz L. (2005). Emisja amoniaku do powietrza z fermy indyków. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin, LX*, 21, 158-165.
- Hachem R.Y., Wright K.C., Zermeno A., Bodey G.P., Raad I.I. (2003). Evaluation of the silver ionophoretic catheter in an animal mode. *Biomaterials*, 24, 3619-3622.
- Hafez H.M., Hauck R. (2005). Genetic selection in turkeys and broilers and their impact on health conditions. *Proceedings 4th European Poultry Genetic Symposium WPSA*. Dubrovnik, Croatia, 4.
- Hambridge K.M., Casey C.E., Krebs N.F. (1987). Zinc. In: Mertz W, ed. Trace elements in human and animal nutrition, 5th ed. Volume 2. Orlando, FL, Academic Press, 1–137.
- Hayes E.T., Curran T.P., Dodd V.A. (2006). Odour and ammonia emissions from intensive poultry units in Ireland. *Bioresource Technology*, 97, 933-939.
- Healy J., Tipton K. (2007). Ceruloplasmin and what it might do. *Journal of Neural Transmission*, 114, 777-781.
- Herbut E. (2009). Dobrostan zwierząt i jego wpływ na efekty produkcyjne. *I Kongres Nauk Rolniczych Nauka – Praktyce*. Puławy.
- Herbut E., Walczak J., Krawczyk W., Szewczyk A., Pająk T. (2010). Odour emissions from poultry production. Monograph, National Research Institute of Animal Production. Cracow. *Pollution and Organic Aspects of Animal Production*, 58 - 70
- Herzig I., Navrátilová M., Totušek J., Suchy P., Večerek V., Blahová J., Zralý Z. (2009). The effect of humic acid on zinc accumulation in chicken broiler tissues. *Czech Journal of Animal Science*, 54 (3), 121-127.
- Hill J.W. (2009). Colloidal Silver Medical Uses, Toxicology and Manufacture. Clear Springs Press, USA
- Hoet P., Bruske-Holfeld I., Salata O. (2004). Nanoparticles- known and unknown health risks. *Journal of Nanobiotechnology*, 2, 12
- Hogstrand C., Wood C.M. (1996). In: The toxicity of silver to marine fish. In Andren AW, Bober TW (eds.): *Proceedings 4th Int. Conf. Transport, Fate and Effects of Silver in the Environment*, Madison, Wisconsin, 109-112.
- Hörnig G., Türk M., Wanka U. (1999). Slurry covers to reduce ammonia emission and odour nuisance. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 73, 151-157.
- Hurst K.M. (2006). Characteristics and applications of antibacterial nano-silver.

- Hussain M.I., Khan S.A., Chaudhary Z.I., Aslam A., Ashraf K., Rai M.F. (2004). Effect of organic and inorganic selenium with and without vitamin E on immune system of broilers. *Pakistan Veterinary Journal*, 24 (1), 1-4.
- Hussain S.M., Hess K.L., Gearhart J.M., Geiss K.T., Schlager J.J. (2005). *In vitro* toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicology in Vitro*, 19, 975-983.
- Hutchings N.J., Sommer S.G., Andersen J.M., Asman W.A.H. (2001). A detailed ammonia emission inventory for Denmark. *Atmospheric Environment*, 35, 1959–1968.
- Hyde B.P., Carton O.T., O’Toole P., Misselbrook T.H. (2003). A new inventory of ammonia emissions from Irish agriculture. *Atmospheric Environment*, 37, 55 – 62.
- Ibs K.H., Rink L. (2003). Zinc-altered immune function. *Journal of Nutrition*, 133, 1452S-1456S.
- İşikli B., Ali Demir T., Özelmas U., Berber A. (1998). Effects of silver on humans living near a silver mine. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 28, 655-659.
- Ito H. (2006). Compaction properties of granular bentonites. *Applied Clay Science*, 31, 47-55.
- Jamroz D. (2001). Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo. Fizjologiczne i biochemiczne podstawy żywienia zwierząt (tom 1). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Jamroz D. (2009) Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo tom 2, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa
- Jelínek A., Dědina M., Kraus R. (2007). Research of the utilisation of biotechnological agents for the reduction of ammonia and greenhouse gases emission in livestock breeding in Czech Republic. *Research in Agricultural Engineering*, 53 (4), 126-133.
- Johnson T.M., Murphy B. (2008). Use of sodium bisulfate to reduce ammonia emissions from poultry and livestock housing. *Conference Proceedings: Migrating Air Emission from Animal Feeding Operations. Iowa State University College of Agriculture and Life Sciences, USA.*
- Kabata-Pendias A., Pandias H. (1999). Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa
- Kalisińska E., Salicki W., Mysłek P., Kavetska K. M., Jackowski A. (2004). Using the mallard to biomonitor heavy metal contamination of wetlands in north-western Poland. *Science of the Total Environment*, 320, 145-161.

- Karadede H., Oymak S.A., Ünü E. (2004). Heavy metals in mullet, *Liza abu*, and catfish, *Silurus triostegus*, from the Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Environment International*, 30, 183-188.
- Kavolelis B. (2003). Influence ventilation rate on ammonia concentration and emission in animal house. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(6), 709
- Kavolelis B. (2006). Impact of Animal Housing Systems on Ammonia Emission Rates. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15 (5), 739-745.
- Kawatra S.K., Ripke S.J. (2001). Developing and understanding the bentonite fiber bonding mechanism. *Minerals Engineering*, 14 (6), 647-659.
- Kaya S., Ortatagli M., Haliloglu S. (2002). Feeding diets supplemented with zinc and vitamin A in laying hens: effects on histopathological findings and tissue mineral content. *Research in Veterinary Science*, 73, 251-257.
- Keanea A., Phoenix P., Ghoshal S., Lau P.C.K. (2002). Exposing culprit organic pollutants: a review. *Journal of Microbiological Methods*, 49, 103-119.
- Kim J.S. (2007). Antibacterial activity of Ag⁺ ion-containing silver nanoparticles prepared using the alcohol reduction model. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 13 (4), 718 – 722.
- Kim W.K., Patterson P.H. (2003). Effect of minerals on activity of microbial uricase to reduce ammonia volatilization in poultry manure. *Poultry Science*, 82, 223 – 231.
- Kinal S., Korniewicz A., Słupczyńska M., Bodarski R., Korniewicz D., Čermák B. (2007). Effect of the application of bioplexes of zinc, copper and manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indices of the blood metabolic profile of cows. *Czech Journal of Animal Science*, 52 (12), 423-429.
- King J.C., Turnlund J.R. (1989). Human zinc requirements. In: Mills C.F., ed. Zinc in human biology. New York, NY, Springer-Verlag, 335–350.
- Klotz L.O., Kröhncke K.D., Buchczyk D.P., Sies H. (2003). Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *Journal of Nutrition*, 133, 1448S-1451S.
- Kończ R., Dobrzański Z. (2006) Higiena i dobrostan zwierząt gospodarskich. Wyd. Akademii Rolniczej, Wrocław.

- Kończak R., Dobrzański Z., Górecka H., Moryl A., Grudnik T. (2003). Zawartość metali ciężkich w tkankach kur utrzymywanych w rejonie Zagłębia Miedziowego. *Acta Agrophysica*, 1 (2), 263-269.
- Koniecznyński P., Wesołowski M. (2008). Ocena zawartości manganu i miedzi w liściach wybranych roślin leczniczych i otrzymanych z nich ekstraktów wodnych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLI, 3, 338-342.
- Kopeikin V.V. (2001). Water soluble nanocomposites of zerovalent metallic silver with enhanced antimicrobial activity. *Chemistry*, 380 (4): 497-500.
- Korczyński F., Pliszka B., Borkowski A. (1995). Instrumentalna chemia analityczna z ćwiczeniami. Wyd. ART.
- Korczyński M., Opaliński S., Gbiorczyk W., Dobrzański Z., Kończak R. (2008). Application of bentonite and vermiculite to limit the emission of ammonia from cattle manure. *Chemistry for Agriculture*, 9, 543 – 548.
- Kornegay E.T., Zhou W., Swinkels J.W.G.M., Risley C.R. (1995). Characterization of cobalt-copper antagonism in the study of copper-stimulated growth in weaning pigs. *Journal of Animal and Feed Science*, 4, 21-33.
- Korniewicz D., Kończak R., Dobrzański Z., Korniewicz A., Kulok M. (2006). Effect of dietary halloysite on the quality of feed and utilization of nutrients by fatteners. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry*, 9 (4).
- Kowalska-Górska M., Senze M. (2009). Selenium concentration in various carp (*Cyprinus Carpio* L.) organs. *Ecological Chemistry and Engineering*.
- Kowalska-Górska M., Zygałlik K., Dobrzański Z., Patkowska-Sokoła B., Kowalski Z. (2010). Metody otrzymywania nanozwiązków i ich praktyczne zastosowania. *Przemysł Chemiczny*, 89 (4), 430-433.
- Kowalski Z., Banach M., Powalka E. (2009). Zastosowanie płynów dezynfekcyjnych z dodatkami nanosrebra w przemyśle mięsnym w celu ograniczenia odorów. *Przemysł Chemiczny*, 88 (5), 478 – 482.
- Kucharczak E., Moryl A., Szyposzyński K. (2006). Zawartość metali (Pb, Cd, Cu, Zn) w tkankach saren z regionu zgorzelecko-bogatyńskiego. *Acta Scientiarum Polonorum, Medicina Veterinaria*, 5 (2), 27-38.

- Kúhn E., Van Cauwenbergh R., Huybrechts L., Deelstra H. (1992). Selenium content of livers from sex-linked dwarf and normal broiler breeders. *Biological Trace Elements Research*, 32, 289-292.
- Lacey R.E., Mukhtar S., Carey J.B., Ullman J.L. (2004). A review of literature concerning odors, ammonia, and dust from broiler production facilities: 2. Flock and house management factors. *Journal of Applied Poultry Research*, 13 (3), 509-513.
- Lacey R.E., Redwine J.S., Parnell C.B. Jr. (2003). Particulate matter and ammonia emission factors for tunnel-ventilated broiler production houses in the Southern U.S. *Transactions of ASAE*, 46(4), 1203-1214.
- Lankveld D.P.K., Oomen A.G., Krystek P., Neigh A., Troost-de Jong A., Noorlander C.W., Van Eijkeren J.C.H., Geertsma R.E., De Jong W.H. (2010). The kinetics of the tissue distribution of silver nanoparticles of different sizes. *Biomaterials*, 31, 8350-8361.
- Leeson S., Namkung H., Durosoy S. (2006). Effect of dietary organic selenium on egg and tissue selenium and glutathione peroxidase in broiler breeders. *16th European Symposium on Poultry Nutrition*.
- Li N., Sioutas C., Cho A., Schmitz D., Misra C., Sempf J., Wang M., Oberley T., Froines J., Nel A. (2003). Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environmental Health Perspectives*, 111 (4), 455 -460.
- Li W.R., Xie X.B., Shi Q.S., Zeng H.Y., Ou-Yang Y.S., Chen Y.B. (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1115-1122.
- Limbach L., Wick P., Manser P., Grass R., Bruinink A., Stark W. (2007). Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. *Environmental Science and Technology*, 41, 4158 – 4163.
- Liu Z., Wang L., Beasley D. (2006) A review of emission models of ammonia released from broiler houses. *ASABE Annual International Meeting*, Portland Convention Center, Oregon, 9 – 12 July 2006.
- Liu Z., Wang L., Beasley D., Oviedo E. (2007). Effect of moisture content on ammonia emissions from broiler litter: a laboratory study. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 58, 41 – 53.

- Mackie R.I., Stroot P.G., Varel V.H. (1998). Biochemical identification and biological origin of key odour components in livestock waste. *Journal of Animal Science*, 76, 1331-1342.
- Magnoli A.P., Tallone L., Rosa C.A.R., Dalcero A.M., Chiacchiera S.M., Torres Sanchez R.M. (2008). Commercial bentonites as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin. *Applied Clay Science*, 40, 63-71.
- Magrez A., Kasa S., Salicio V., Pasquier N., Won Seo J., Celio M., Catsicas S., Schwaller B., Forro L. (2006). Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials. *Nano Letters*, 6 (6), 1121 – 1125.
- Malandrino M., Abollino O., Giacomino A., Aceto M., Mentasti E. (2006). Adsorption of heavy metals on vermiculite: influence of pH and organic ligands. *Journal of Colloid and Interface Science*, 299, 537-546.
- Marcinkowski T. (1998). Emisja amoniaku z produkcji rolniczej. *Zeszyty Edukacyjne Instytutu Melioracji i Użytków Zielonych*, 5, 27 – 40.
- Marcinkowski T. (2000). Emisja amoniaku z gospodarskich składowisk obornika w świetle pomiarów ilościowych. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis*, 211 (84), 269 – 274.
- Margaret I.P., Lui S.L., Poon V.K.M., Lung I., Burd A. (2006). Antimicrobial activities of silver dressings: an *in vitro* comparison. *Journal of Medical Microbiology*, 55, 59-63.
- Mason A. (2004). Nitrogen distribution in open surface layers of beef cattle feedyards. M.S. Thesis. West Texas A&M University, Canyon, TX.
- McCrary D.F., Hobbs P.J. (2001). Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock wastes: a review. *Journal of Environmental Quality*, 30, 345 – 355.
- McIntire L.V. (2002). Tissue Engineering Research. London: Academic Press.
- Meisinger J.J., Jokela W.E. (2000). Ammonia volatilization from dairy and poultry manure. www.nraes.org
- Mihaljev Ž.A., Orlić D.B., Štajner D.I., Živkov-Baloš M.M., Pavkov S.T. (2007). The influence of different levels of dietary selenium on its distribution in the organs of broiler chickens. *Proc. Nat. Sci. Matica Srpska Novi Sad*, 112, 95-105.
- Mikła D., Hoffmann K., Hoffmann J. (2008). Nawozy zawieszinowe jako proekologiczna forma nawożenia. *Proceedings of ECOpole*, 2 (1).

- Miles D.M, Branton S.L., Lott B.D. (2004). Atmospheric ammonia is detrimental to the performance of modern commercial broilers. *Poultry Science*, 83, 1650-1654.
- Mills B. (1995). Review of methods of odour control. *Filtration and Separation*, 147-152.
- Misselbroek T.H., Powell J.M. (2005). Influence of bedding material on ammonia emissions from cattle excreta. *Journal of Dairy Science*, 88, 4304 – 4312.
- Misselbroek T.H., Van Der Weerden T.J., Pain B.F., Jarvis S.C., Chambers B.J., Smith K.A., Philips V.R., Demers T.G.M. (2000). Ammonia emission factors for UK agriculture. *Atmospheric Environment*, 43, 871 – 880.
- Mituniewicz T., Swoińska J., Wójcik A., Iwańczuk-Czernik K., Witkowska D., Banaś J. (2008). Effect of disinfectants on physicochemical parameters of litter, microbiological quality of poultry house air, health status and performance of broiler chickens. *Polish Journal of Environmental Studies*, 17 (5), 745 – 750.
- Mohanna C., Nys Y. (1999). Changes in zinc and manganese availability in broiler chicks induced by vegetal and microbial phytases. *Animal Feed Science and Technology*, 77, 241-253.
- Mondal M.K., Das T.K., Biswas P., Samanta C.C., Bairagi B. (2007). Influence of dietary inorganic and organic copper salt and level of soybean oil on plasma lipids, metabolites and mineral balance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 139, 212-233.
- Moore Jr. P. A.; Daniel T. C., Edwards D. R., Miller. D. M. (1996). Evaluation of chemical amendments to reduce ammonia volatilization from poultry litter. *Poultry Science*, 75 (3), 315-320.
- Moore M. (2002). Biocomplexity: the post-genome challenge in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 59, 1-15.
- Moore P., Miles D., Burns R. (2008). Reducing ammonia emission from poultry litter with alum. Conference *Proceedings: Migrating Air Emission from Animal Feeding Operations*. Iowa State University College of Agriculture and Life Sciences, USA
- Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramirez J.T., Yacaman M.J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Journal of Nanotechnology*, 16, 2346-2353.

- Mroczek J.R. (2006). Redukcja emisji amoniaku pochodzącego z produkcji zwierzęcej jako element ekorozwoju rolnictwa. *Zeszyty Naukowe Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego*, 7, 63-68.
- Mroczek J.R., Kostecka J. (2008). Zagrożenia zrównoważonego rozwoju środowiska obszarów wiejskich spowodowane intensyfikacją produkcji zwierzęcej. *Zeszyty Naukowe Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego*, 10, 93 – 100.
- Muchtar S., Ullman J.L., Carem J.B., Lacey R.E. (2004). A review of literature concerning odors, ammonia and dust from broiler production facilities: 3. Land application, processing, and storage of broiler litter. *The Journal of Applied Poultry Research*, 13, 514-520.
- Myczko A. (2003). The influence of the mode of pig raising on the level of ammonia emission from buildings. Elimination of agricultural risks to health and environment. Institute for Building, *Mechanization and Electrification of Agriculture*. Edited by A. Myczko, 87-126.
- Myczko R., Kołodziejczak T. (2008). Air cleaning in livestock building by applying the granular filtration layer. *International Agrophysics*, 22, 245 – 248.
- Nel A., Xia T., Li N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311, 622 – 627.
- Ni J. (1998). Emission of carbon dioxide and ammonia from mechanically ventilated pig house. PhD Thesis. Catholic University of Leuven, February, 1 – 227.
- Nicholson F.A., Chambers B.J., Walker A.W. (2004). Ammonia emissions from broiler litter and laying hen manure management systems. *Biosystems Engineering*, 89 (2), 175-185.
- Niedziółka R., Pieniak-Lendzion K., Horoszewicz E. (2010). Content of chemical elements in muscular tissue and liver of male kids and ram lambs in central-eastern Poland. *Journal of Elementology*, 15 (3), 573-579.
- Nimmermark S. (2004). Odour influence on well-being and health with specific focus on animal production emissions. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 11, 163-173.
- Nourmohammadi I., Jocheiki-Shalmani I., Shaabani M., Gohari L., Nazari H. (2000). Zinc, Copper, Chromium, Manganese and Magnesium Levels in Serum and Hair of Insulin-dependent Diabetics. *Archives of Iranian Medicine*, 3 (3), 37-41.

- Nowakowski P., Zygodlik K., Dobrzański Z., Patkowska-Sokoła B. (2009a). Ograniczenie emisji amoniaku z odchodów owczych przy zastosowaniu nanosrebra w połączeniu z sorbentami mineralnymi. *LXXIV Zjazd Naukowy PTZ – Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie*, Materiały konferencyjne: 93.
- Nowakowski P., Zygodlik K., Sobczak A., Patkowska-Sokoła B., Dobrzański Z. (2009b). Limiting ammonia emissions from sheep manure using water suspended nanosilver with different mineral sorbents. P36, *Nanoparticles 2009*, 2-4. 09.2009, University of Liverpool, UK.
- NRC (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sco. Washington, DC.
- Nriagu J., Boughanen M., Linder A., Howe A., Grant C., Rattray R., Vutchkov M., Lalor G. (2009). Levels of As, Cd, Pb, Cu, Se and Zn in bovine kidneys and livers in Jamaica. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 564-571.
- Oberdörster G., Maynard A., Donaldson K., Castranova V., Fitzpatrick J., Ausman K., Carter J., Karn B., Kreyling W., Lai D., Olin S., Monteiro-Riviere N., Warheit D., Yang H. (2005a). Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle Fibre Toxicology*, 2, 8.
- Oberdörster G., Oberdörster E., Oberdörster J. (2005b). Nanotoxicology: an emerging discipline from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113 (7), 823 – 839.
- Olszewska H., Paluszak Z. (2004). Ocena mikrobiologiczna skuteczności oczyszczania ścieków w wybranym zakładzie mięsnym. *Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu, Zootechnika*, LI, 501, 217-223.
- Opaliński S., Korczyński M., Kołacz R., Dobrzański Z. (2008). Application of selected mineral sorbents for ammonia adsorption – laboratory test. *Chemistry for Agriculture*, 9, 570 – 576.
- Opaliński S., Korczyński M., Kołacz R., Dobrzański Z., Żmuda K. (2009). Zastosowanie wybranych glinokrzemianów jako adsorbentów amoniaku. *Przemysł Chemiczny*, 88(5), 540 – 543.

- Pain B.F., Van der Weerden T.J., Chambers B.J., Phillips V.R., Jarvis S.C. (1998). A new inventory for ammonia emissions from UK agriculture. *Atmospheric Environment*, 32 (3), 309–313.
- Pal S., Tak Y.K., Song J.M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (6), 1712-1720.
- Paluszak Z. (1998). Microbiological and parasitological investigations of cattle slurry fermentem aerobically in thermophilic conditions. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*
- Panyala N.R., Pena-Méndez E.M., Havel J. (2008). Silver or silver nanoparticles: A hazardous threat to the environment and human health? *Journal of Applied Biomedicine*, 6, 117-129.
- Papazyan T.T., Denev S.A., Surai P.F. (2006). Selenium in poultry nutrition: lessons from research and wild nature. *Krimva*, 48, 275-283.
- Parker D.B., Cole N. A., Baek B. H., Koziel J. A., Rhoades M. B., Perschbacher-Buser Z., Greene L. W., Sambana P., Sweeten J. M. (2005). Abatement measures to reduce ammonia emissions from open-lot feedyards and dairies. *In Symposium of the State of the Science on Animal Manure and Waste Management*, San Antonio, TX, January 5-7, 2005.
- Pasha T.N., Farooq M.U., Khattak F.M., Jabbar M.A., Khan A.D. (2007). Effectiveness of sodium bentonite and two commercial products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 132, 103-110.
- Patkowska-Sokoła B., Zieliński S., Bodkowski R., Janczak M. (2008). Vermiculite – a carrier for feed additives. *Zeszyty Naukowe UP we Wrocławiu. Biologia i Hodowla Zwierząt*, LVI. 566, 135 – 142.
- Patri A.K., Majoros I.J., Baker J.R. (2002). Dendritic polymer macromolecular carriers for drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6, 466-471.
- Pavlik A., Lichovniková M., Jelinek P. (2009). Blood plasma mineral profile and qualitative indicators of the eggshell in laying hens in different housing systems. *Acta Veterinaria Brno*, 78, 419-429.

- Payne R. L., Southern L. L. (2005). Changes in glutathione peroxidase and tissue selenium concentrations of broilers after consuming a diet adequate in selenium. *Poultry Science*, 84, 1268-1276.
- Pechová A., Pavlata L., Illek J. (2005). Blood and tissue selenium determination by hydride generation atomic absorption spectrophotometry. *Acta Veterinaria Brno*, 74, 483-490.
- Pelkonen K.H.O., Heinonen-Tanski H., Hänninen O.O.P. (2003). Accumulation of silver from drinking water into cerebellum and musculus soleus in mice. *Toxicology*, 186, 151-157.
- Perez-Maqueda L.A., Jimenez de Haro M.C., Poyato J., Perez-Rodriguez J.L. (2003). Ammonia release on heating of mechanically treated vermiculite saturated subsequently with ammonium. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 71, 809 – 820.
- Pfeiffer A., Arendsf B., Steffensg K., Langholz H.J. (1994). Ammonia emissions originating from naturally ventilated dairy cow housing systems with different dung systems. Animal waste management. *Proceedings of the Seventh Technical Consultation on the ESCORENA on Animal Waste Management*. Bad Zwischenahn, Germany 17-20 May 1994, 39-44.
- Polska Norma PN-71/Z-04041, Oznaczenie zawartości amoniaku w powietrzu.
- Polska Norma PN-R-64791, Pasze. Wymagania i badania mikrobiologiczne.
- Popko J., Olszewski S., Hukałowicz K., Markiewicz R., Borawska M.H., Szeparowicz P. (2003). Lead, cadmium, copper and zinc concentrations in blond and hair of mothers of children with loco motor system malformations. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12 (3), 375-379.
- Prasad A.S. (2009). Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 12, 646-652.
- Predieri G., Tegoni M., Cinti E., Leonardi G., Ferruzza S. (2003). Metal chelates of 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in animal feeding: preliminary investigations on stability and bioavailability. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 95, 221-224.
- Prokop A. (2001). Bioartificial organs. Book series, Part III. Ann NY Acad Sci 944, 472-490.
- Protokół z Kioto (2005) do Ramowej konwencji Narodów Zjednoczonych w sprawie zmian klimatu, Dz. U. z dnia 17 października 2005 r.

- Quintana A., Raczka E., Piehler L. (2002). Design and function of a dendrimer-based therapeutic nanodevice targeted to tumor cells through the folate receptor. *Pharmaceutical Research*, 19, 1310-1316.
- Radon K., Peters A., Praml G., Ehrenstein V., Schulze A., Hehl O., Nowak D. (2004). Livestock odours and quality of life of neighbouring residents. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 11, 59-62.
- Rai M., Yadav A., Gade A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27, 76-83.
- Rappert S., Müller R. (2005). Odour compounds in waste gas emissions from agricultural operations and food industries. *Waste Management*, 25, 887-907.
- Reece F.N., Lott B.D., Bates B.J. (1985). The performance of a computerized system for control of broiler-house environment. *Poultry Science*, 64, 261-265.
- Reidy B., Rhim B., Menzi H. (2008). A new Swiss inventory of ammonia emissions from agriculture based on a survey on farm an manure management and farm-specific model calculations. *Atmospheric Environment*, 42, 3266 – 3276.
- Roco M.C. (2003). Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 337-346.
- Roczniki Statystyczne GUS. Warszawa 1995 – 2009
- Samuel U., Guggenbichler J.P. (2004). Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23S1:S75-S78.
- Sandström B. (1997). Bioavailability of zinc. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51 (Suppl. 1), S17–S19.
- Sarkar S., Jana A.D., Samanta S.K., Mostafa G. (2007). Facile synthesis of silver nano particles with highly efficient anti-microbial property. *Polyhedron*, 26, 4419-4426.
- Sawosz E., Grodzik M., Lisowski P., Zwierzchowski L., Niemiec T., Zielińska M., Szmidt M., Chwalibog A. (2010). Influence of hydrocolloids of Ag, Au and Ag/Cu Allom nanoparticles on the inflammatory state at transcriptional level. *Bulletin of the Veterinary Institute in Puławy*, 54, 81-85.
- Sawosz E., Grodzik M., Zielińska M., Niemiec T., Olszańska B., Chwalibog A. (2009). Nanoparticles of silver do not affect growth, development and DNA oxidative damage in chicken embryos. *Archiv fur Geflugelkunde*, 73 (3), 208-213.

- Sayes C., Fortner J., Guo W., Lyon D., Boyd A., Ausman K., Tao Y., Sitharaman B., Wilson L., Hughes J., West J., Colvin V. (2004). The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. *Nanoletters*, 4, 1881 – 1887.
- Sayes C., Wahi R., Kurian P., Liu Y., West J., Ausman K., Warheit D., Colvin V. (2006). Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicological Science*, 92 (1), 174 – 185.
- Schauberger G., Piringer M., Petz E. (2000). Diurnal and annual variation of the sensation distance of odour emitted by livestock buildings calculated by the Austrian odour dispersion model (AODM). *Atmospheric Environment*, 34, 4839 – 4851.
- Schiffman S. S., Williams C.M. (2005). Science of odor as a potential health issue. *Journal of Environmental Quality*, 34, 129-138.
- Schiffman S.S. (1998). Livestock odours: implications for human health and well-being. *Journal of Animal Science*, 76, 1343-1355.
- Schmidt J., Montemagno C. (2002). Using machines in cells. *Drug Discovery Today*, 7, 500-503.
- Scott N.R. (2005). Nanotechnology and animal health. *Review of Science and Technology off International Epiz.*, 24(1), 425-432.
- Seedorf J., Hartung J. (1999). Survey of ammonia concentrations in livestock buildings. *Journal of Agricultural Science*, 133, 433 – 437.
- Seńczuk W.(red.) (2005). Toksykologia. Wyd. PZWL W-wa
- Seo J.Y., Heo J.S., Kim T.H., Joo W.H., Crohn D.M. (2004). Effect of vermiculite addition on compost produced from Korean food wastes. *Waste Management*, 24, 981-987.
- Shankar A.H., Prasad A.S. (1998). Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68 (Suppl.), S447–S463.
- Sharma D.C., Dadheech G., Fiza B., Mathur M., Riyat M., Sharma P. (2009). Effect of oral ingestion of different forms of silver on tissue content of some essential elements in chicks. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 24 (2), 202-204.
- Shi Y., Xu Z., Sun Y., Wang C., Feng J. (2009). Effects of two different types of montmorillonite on growth performance and serum profiles of broiler chicks during aflatoxicosis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 33 (1), 15-20.

- Shrivastava S., Bera T., Roy A., Singh G., Ramachandrarao P., Dash D. (2007). Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 18, 225103 -225111.
- Silver S. (2003). Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiology Reviews*, 27, 341 – 353.
- Sims J.T.; Wolf D.C. (1994). Poultry waste management: agricultural and environmental issues. *Advances in Agronomy*, 52, 1–83.
- Skinner J.A., Lewis K.A., Bardon K.S., Tucker P., Catt J.A., Chambers B.J. (1997). An overview of the environmental impact of agriculture in the U.K. *Journal of Environmental Management*, 50, 111-128.
- Skřivan M., Ševčíková S., Tůmová E., Skřivanová V., Marounek M. (2002). Effect of copper sulphate supplementation on performance of broiler chickens, cholesterol content and fatty acids profile of meat. *Czech Journal of Animal Science*, 7, 275-280.
- Słobodzian-Ksenicz O., Houszka H., Michalski A. (2008). Effect of addition of brown coal and microbe vaccine to litter on bedding quality and production results in turkey farming. *Animal Science Papers and Reports*, 26 (4), 317 – 329.
- Smulikowska S., A. Rutkowski (red.) (2005). Normy żywienia drobiu. Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, 1- 135.
- Sotiropoulou R.E.P., Tagaris E., Pilinis C. (2004). An estimation of the spatial distribution of agricultural ammonia emissions in the Greater Athens Area. *Science of The Total Environment*, 318, 159-169.
- Stringfellow K., Anderson P., Caldwell D., Lee J., Byrd J., McReynolds J., Carey J., Nisbet D., Farnell M. (2009). Evaluation of disinfectants commonly used by the commercial poultry industry under simulated field conditions. *Poultry Science*. 88, 1151 – 1155.
- Szarek J. Fabczak J. Zimnoch L., Koncicki A. (2000). Wpływ dodatków paszowych na obraz morfologiczny narządów wewnętrznych kurcząt brojlerów. *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego*, 49, 65-76.
- Szarek J., Fabczak J. Winnicki S., Antosik P., Janiszewska A. (1997). Zmiany morfologiczne wątroby kaczek podczas tuczu na wątroby stłuszczone. *Medycyna Weterynaryjna*, 53, 661-664.
- Szeja W., Sołtys J., Józwiak K. (2007). Halozyt – unikalny minerał w służbie ekologii www.ekologia-info.eu

- Szela B., Paluszak Z. (2010). Wykorzystanie paciorkowców kałowych w mikrobiologicznej ocenie procesu higienizacji kompostowanych osadów ściekowych. *Woda – Środowisko – Obszary Wiejskie*, 10 (2), 179-188.
- Szymczyk K., Zalewski K. (2003). Copper, zinc, lead and cadmium content in liver and muscles of mallards (*Anas Platyrhynchos*) and other hunting fowl species in Warmia and Mazury in 1999-2000. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12 (3), 381-386.
- Szynkowska M., Zwoździak J. (2010). Współczesna problematyka odorów. Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa
- Tasistro A.S., Cabrera M.L., Kissel D.E., Ritz C.W. (2007). Study on the reduction of NH₃ volatilization from broiler litter through the promotion of nitrification.. *Journal of Environmental Science and Health. Part A*, 42, 549 – 556.
- Tomlinson D.J., Mulling C.H., Fakler T.M. (2004). Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. *Journal of Dairy Science*, 87, 797-809.
- Tomlinson D.J., Socha M.T., DeFrain J.M. (2008). Role of trace minerals in the immune system. page 39-52. In: *Proc. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop*. Grantville, PA.
- Toombs M. (2003). Odour control on livestock and poultry farms. <http://www.omafra.gov.on.ca/english/engineer/facts/03-111.htm>
- Tratnyek P.G., Johnson R.L. (2006). Nanotechnologies for environmental cleanup. *Nanotoday*, 1 (2), 44-48.
- Travnicek J., Pisek L., Herzig I., Doucha J., Kvicala J., Kroupova V., Rodinova H. (2007). Selenium content in the blood serum and urine of ewes receiving selenium-enriched unicellular alga *Chlorella*. *Veterinarni Medicina*, 52 (1), 42-48.
- Tucker, S. Walker, A.W. (1992). Hock burn in broilers. In: Garnsworthy, P.C., Haresign, W., Cole, D.J.A. (Eds.), *Recent Advances in Animal Nutrition*. Butterworth-Heinemann Ltd. Oxford, Oxford, 33–49.
- Tymczyna L., Chmielowiec-Korzeniowska A., Drabik A., Skórska Cz., Sitkowska J., Cholewa G., Dutkiewicz J. (2007). Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: II. Removal of odorous pollutants. *Annales of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 151-157.

- Tymczyna L., Chmielowiec-Korzeniowska A., Saba L. (2004). Biological treatment of laying house air with open biofilter use. *Polish Journal of Environmental Study*, 13(4), 425-428.
- Tymczyna L., Malec H., Odój J. (2002). Badania emisji chemicznych zanieczyszczeń powietrza w fermie niosek reprodukcyjnych. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 29 (1), 241-247.
- Underwood E.J. (1971). Żywnienie mineralne zwierząt. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- Upton J.R., Edens F.W., Ferket P.R. (2008). Selenium yeast effect on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 7 (8), 798-805.
- Vaičionis G., Ribikauskas V., Benediktavičiute-Kiškiene A., Skurdeniene I. (2006). Emission of materials of biological origin in laying hens houses with different technologies of rearing. *Czech Journal of Animal Science*, 51, 458-465.
- Vallee B.L., Falchuk K.H. (1993). The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*, 73, 79-118.
- Van Der Hoek K.W. (1998). Estimating ammonia emission factors in Europe: summary of the work of the UNECE ammonia expert panel. *Atmospheric Environment*, 32, 315 – 316.
- Versieck J., Barbier F., Speecke A., Hoste J. (1974). Manganese, copper, and zinc concentrations in serum and packed blood cells during acute hepatitis, chronic hepatitis and posthepatic cirrhosis. *Clinical Chemistry*, 20 (9), 1141-1145.
- Virden W.S., Yeatman J.B., Barber S.J., Willeford K.O., Ward T.L., Fakler T.M., Wideman R.F., Kidd M.T. (2004). Immune system and cardiac functions of progeny chicks from dams fed diets differing in zinc and manganese level and source. *Poultry Science*, 83, 344-351.
- Vucemilo M., Matkovic K., Vinkovic B., Jaksic S., Granic K., Mas N. (2007). The effect of animal age on air pollutant concentration in a broiler house. *Czech Journal of Animal Science*, 52 (6), 170 – 174.
- Wang Y.B., Xu B.H. (2008). Effect of different selenium source (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 144, 306-314.

- Warneck P. (1988) Chemistry of the natural atmosphere. New York, Academic Press, 429-515.
- Webb N.A., Wood C.M. (2000). Bioaccumulation and distribution of silver in four marine teleosts and two marine elasmobranchs: influence of exposure duration, concentration, and salinity. *Aquatic Toxicology*, 49, 111-129.
- Wen H.C., Lin Y.N., Jian S.R., Tseng S.C., Weng M.X., Liu Y.P., Lee P.T., Chen P.Y., Hsu R.Q., Wu W.F., Chou C.P. (2007). Observation of Growth of Human Fibroblasts on Silver Nanoparticles. *Journal of Physics, Conference Series*, 61, 445-449.
- Westhofen M., Schafer H. (1986). Generalized argyrosis in man: neurotological, ultrastructural and X-ray microanalytical findings. *Arch Otorhinolaryngol*, 243, 260-264.
- Wijnhoven S.W.P., Peijnenburg W.J.G.M., Herberts C.A., Hagens W.I., Oomen A.G., Heugens E. H.W., Roszek B., Bisschops J., Gosens I., Van De Meent D., Dekkers S., De Jong W.H., van Zijverden M., Sips A.J.A.M., Geertsma R.E. (2009). Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3, 109 – 138.
- Wilson M.J. (2003). Clay mineralogical and related characteristics of geophagic materials. *Journal of Chemical Ecology*, 29 (7), 1525- 1547.
- Witkowska D., Sowińska J., Iwańczuk-Czernik K., Mituniewicz T., Wójcik A., Szarek J. (2006). The effect of a disinfectant on the ammonia concentration on the surface of litter, air and the pathomorphological picture of kidneys and livers in broiler chickens. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 49 (2006) Special Issue, 249-256.
- Witter E., Kirchmann H. (1989). Effects of addition of calcium and magnesium salts on ammonia volatilization during manure decomposition. *Plant and Soil*, 115 (1), 53-58.
- Wyszomirski P., Lewicka E. (2005). Bentonity jako uniwersalny surowiec wielu dziedzin przemysłu. *Gospodarka Surowcami Mineralnymi*, 21 (3), 5 – 19.
- Yilmaz A.B., Yilmaz L. (2007). Influences of sex and season on levels of heavy metals in tissues of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). *Food Chemistry*, 101, 1664-1669.

- Yoon K.Y., Byeon J.H., Park J.H., Hwang J. (2007). Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 373, 572 – 575.
- Żelazowska R., Pasternak K. (2007). Metale szlachetne: srebro (Ag), złoto (Au), platyna (Pt) w biologii i medycynie. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2, 205 – 209.
- Zhang Y., Dore A.J., Ma L., Liu X.J., Ma W.Q., Cape J.N., Znaheg F.S. (2010). Agricultural ammonia emissions inventory and spatial distribution in the North China Plain. *Environmental Pollution*, 158, 490 – 501.
- Zhang Y., Sun J. (2007). A Study on the bio-safety for nano-silver as anti-bacterial materials. *Chinese Journal of Medical Instrumentation*, 31, 35-38.
- Zhu S.G., Lu H.B., Xiang J.J., Tang K., Zhang B.C., Zhou M., Tan C., Li G.Y. (2002). A novel nonviral nanoparticles gene vector: poly-L-lysine-silica nanoparticles. *Chinese Science Bulletin*, 47, 654 - 658.
- Zoidis E., Pappas A.C., Georgiou C.A., Komaitis E., Feggeros K. (2010). Selenium affects the expression of GPx4 and catalase in the liver of chicken. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 155, 294-300.
- Żuliński T., Rubaj B., Ziolo T. (1981). *Ogólna anatomia patologiczna zwierząt*. PWRiL, Warszawa