

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДОВБНЯ ЮЛІЯ ЮРІЇВНА

УДК 614.31:636.52/.58.034:636.087-022.532

ДИСЕРТАЦІЯ

**САНІТАРНО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ЗАСТОСУВАННЯ
ПРЕПАРАТУ НАНОСРІБЛА В НОСІЯХ
НА ОСНОВІ ПОЛІМЕР/НЕОРГАНІЧНИХ
ГІБРИДІВ КУРЯМ-НЕСУЧКАМ**

212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»
21 «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття ступеня доктор філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання
на відповідне джерело Ю. Ю. Довбня

Науковий керівник
Шевченко Лариса Василівна,
доктор ветеринарних наук, професор

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Довбня Ю. Ю. Санітарно-гігієнічна оцінка застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктор філософії за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2023.

Безпечність і якість харчових яєць забезпечується належною практикою утримання промислових стад курей з суворим дотриманням санітарно-гігієнічних вимог до технологічного процесу. Значна концентрація поголів'я птиці на обмеженій площі створює ризик виникнення та поширення значної кількості інфекційних та інвазійних захворювань, які завдають значних економічних збитків виробництву, погіршують якість і безпечність харчових яєць. В умовах обмеження використання антибактеріальних препаратів у тваринництві, зокрема антибіотиків, виникає нагальна потреба пошуку альтернативних засобів захисту птиці від патогенної мікрофлори та забезпечення належної якості і безпечності харчових продуктів, зокрема яєць. З цією метою перспективними є технології розробки нанопрепаратів на основі благородних металів, особливо срібла.

Дослідна партія препарату наносрібла у вигляді водної дисперсії була отримана у Відділі фізики полімерів Інституту хімії високомолекулярних сполук НАНУ шляхом *in situ* синтезу наночастинок срібла в розчинах біосумісного та біодеградабельного полімер/неорганічного гібриду на основі золю кремнезему та поліакриламід. Гідрофільний полімер/неорганічний гібрид, використаний як носій наночастинок срібла, був синтезований розробленим методом прямого щеплення поліакриламід “від” немодифікованої поверхні золю кремнезему.

Одержаний гібрид та кінцевий препарат з наночастинками срібла були ретельно охарактеризовані методами елементного аналізу, потенціометричного титрування, диференційного термогравіметричного

аналізу, віскозиметрії, електронної спектроскопії, ширококутового рентгенівського розсіювання та проникної електронної мікроскопії. Розмір частинок срібла у препараті складав <10 нм. Для випробувань препарат очищали від побічних продуктів *in situ* синтезу і готували його водні дисперсії з концентраціями наночастинок срібла 1 і 2 мг/л.

Встановлено, що одно-, дво- чи трикратне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливало на показники їх клінічного стану, зокрема споживання кормів, води та яєчну продуктивність, які відповідали стандарту кросу.

Впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу з інтервалом 10 діб проявляло вплив на окремі показники білкового, вуглеводного, ліпідного та мінерального обміну, інтенсивність вираження яких знижувалось з часом. Доза наносрібла, яка становила 0,2 мг/голову за добу спричиняла більш виражений вплив на метаболічний статус організму курей-несучок протягом одно- та двократного застосування з інтервалом 10 діб, ніж доза 0,4 мг/голову за добу. Зниження метаболічної реакції організму курей-несучок після трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в обох використаних дозах свідчить про адаптацію організму птиці до даного препарату.

Одноразове впоювання курям-несучкам водного розчину наночастинок срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,2 мг/голову на добу не впливало на вміст срібла, міді, цинку, заліза та свинцю у шкаралупі яєць і відповідало контрольним показникам.

Нанопрепарат срібла в дозі 0,4 мг/голову на добу збільшував вміст срібла на 27% та міді в 1,9 рази, але не впливав на вміст цинку, заліза та свинцю в шкаралупі курячих яєць на 10 добу після першого впоювання порівняно з контролем. Двократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,2 мг/голову за добу спричинило збільшення вмісту срібла в шкаралупі яєць у 9 разів порівняно з

контролем, однак не впливало на вміст міді, цинку, заліза та свинцю порівняно з контролем.

Збільшення дози препарату наносрібла до 0,4 мг/голову за добу у питній воді для курей за двократного впоювання збільшувало вміст срібла у шкаралупі яєць в 11 разів порівняно з контролем за стабільного рівня міді, цинку, заліза та свинцю порівняно з контролем.

Мінеральний склад шкаралупи курячих яєць за трикратного впоювання розчину препарату наносрібла курям-несучкам теж зазнавав змін, які стосувалися лише вмісту срібла в шкаралупі, зокрема доза 0,2 мг/голову за добу спричиняла збільшення вмісту срібла в шкаралупі яєць в 6,3 раза, а доза 0,4 мг/голову за добу збільшувала вміст срібла в шкаралупі яєць в 10,1 раза але не впливала на рівень решти мінеральних компонентів.

Однократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,2 мг/голову за добу сприяло підвищенню вмісту срібла в білку яєць на 24%, а доза 0,4 мг/голову не впливала на накопичення срібла, і обидві дози не змінювали вміст міді, цинку, заліза та свинцю порівняно з контролем.

Двократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не змінювало рівень як срібла, так і інших мінеральних компонентів у білках яєць. Трикратне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу сприяло збільшенню накопичення срібла в білку яєць майже в 2 рази порівно з контролем, однак не вплинуло на вміст міді, цинку, заліза та свинцю в цій частині яйця.

Вміст срібла в жовтках курячих яєць, яким однократно впоювали розчин препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не впливав на мінеральний склад жовтка яєць.

Двократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не сприяло накопиченню срібла в жовтках, рівень якого знаходився в межах

контролю. Аналогічні результати отримані і під час аналізу мінерального складу жовтків яєць, а саме концентрація міді, цинку, заліза та свинцю знаходилась у птиці дослідних груп в межах коливань контрольної групи.

Трикратне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів проявляло більш виражений вплив на мінеральний склад жовтків яєць, що проявлялось підвищенням вмісту срібла в жовтках за дози 0,2 мг/голову за добу в 1,8 раза, а за дози 0,4 мг/голову за добу – в 2,2 раза порівняно з контролем. Решта показників мінерального обміну у жовтках курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів перебували на рівні аналогічних показників контрольної групи птиці.

Розподіл наносрібла в окремих компонентах курячих яєць під впливом його препарату залежав від кратності впоювання та концентрації його наночастинок у питній воді для птиці. Найбільший вміст срібла серед компонентів яєць птиці контрольної групи було відзначено у шкаралупі, що становило 52,7 – 57,0%, на другому місці за вмістом срібла був білок, де містилося 26,6 – 31,1% від загального вмісту в яйці.

Жовток курячих яєць контрольної групи містив 16,2 – 16,5% всього срібла у складі яйця. Таким чином їстівна частина курячого яйця: білок + жовток містили 43,0 – 47,3% всього срібла, яке у було у складі яйця, що відповідає 0,035 – 0,079 мкг.

Одноразове впоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу сприяло збільшенню його накопичення в жовтках курячих яєць після 10 діб до 44,5 і 47,5% у шкаралупі. У цьому випадку їстівна частина яєць: білок + жовток на 10 добу після застосування розчину препарату наносрібла курям-несучкам містила 65,0 і 66,0% (відповідно 0,089 і 0,093 мкг), а шкаралупа – 34,0 і 35,0% (0,048 мкг) загального вмісту срібла в яйці.

Після другого впоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4

мг на голову на добу на 10 добу відбувся перерозподіл срібла в компонентах курячих яєць наступним чином: частка срібла в білку зменшилася до 4,9 і 5,6 %, у жовтку – до 4,2 і 11,2 % відповідно за рахунок збільшення його частки в шкаралупі до 90,9 і 83,2 %. Такий перерозподіл вмісту срібла сприяв скороченню його вмісту у їстівній частині яйця: білок + жовток до 9,1 та 16,8%, що відповідно становило 0,039 та 0,099 мкг срібла. У цьому випадку вміст срібла в шкаралупі яєць курей-несучок, які отримували розчин препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу підвищувався до 0,39 та 0,49 мкг відповідно.

Третє вживання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу сприяло перерозподілу частки срібла між білком і жовтком яєць наступним чином: у жовтку вміст збільшився до 7%, а в білку – до 14,3 і 9,4%.

Частка срібла, що надходила у яєчну шкаралупу курей, які отримували препарат наносрібла у дозі 0,2 мг/курку на добу, знизилася, а кури дослідної групи, які отримувала його дозу 0,4 мг у цей період, практично, знаходилася на попередньому рівні. При цьому слід зазначити, що загальний вміст срібла в білку та жовтку яєць курей, які отримували препарат наносрібла в дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу, суттєво не відрізнявся між собою і становив 0,060 – 0,065 мкг, тоді як вміст срібла в шкаралупі яєць підвищився до 0,22 та 0,37 мкг відповідно.

Вживання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу сприяло накопиченню срібла в шкаралупі і не впливало на його вміст у їстівній частині яєць (білок та жовток), що дозволяє вважати цей препарат перспективним щодо профілактики мікробного забруднення харчових яєць.

За застосування курям несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0, 0,2 та 0,4 мг на курку за добу на поверхні шкаралупи свіжознесених яєць протягом всього експерименту не було ідентифіковано колоній мікроорганізмів родів *Citrobacter*, *Klebsiella*, а

також *E. coli* і *P. mirabilis*, які відносяться до умовно патогенної мікрофлори. Серед патогенних мікроорганізмів на поверхні шкаралупи яєць курей піддослідних груп протягом всього експерименту також не виділяли колоній *Salmonella spp.*, *S. aureus* та *S. epidermidis*.

Чисельність МАФАНМ на поверхні шкаралупи та в жовтках яєць за однократного, двократного та трикратного впоювання курям розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів вірогідно не залежала від його дози і терміну використання.

Аналіз кількості симбіотичної мікрофлори в посліді курей показав, що однократне, двократне та трикратне впоювання розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0, 0,2 та 0,4 мг на курку за добу не впливало на чисельність колоній мікроорганізмів роду *Bifidobacterium*. Кількість бактерій роду *Lactobacillus* у посліді курей піддослідних груп не змінювалась після однократного застосування препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу. Це пов'язано з надходженням пробіотику у складі комбікорму, який використовувався для годівлі курей-несучок, а також певною мірою низькою чутливістю мікроорганізмів цього роду до препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів.

Кількість бактерій роду *Lactobacillus* у посліді курей піддослідних груп не змінювалась після застосування препарату наносрібла в дозах 0,2 мг/голову за добу, але в дозі 0,4 мг на курку за добу їх чисельність знижувалась на 0,12 lg КУО/г після двократного та на 0,31 lg КУО/г після трикратного застосування порівняно з контролем.

Таким чином, можна зробити висновок, що препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, який був застосований курям-несучкам в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу трикратно з інтервалом 10 діб, не проявляє негативного впливу на мікробний склад яєць, а також дозволяє максимально зберегти симбіотичну мікрофлору апарату травлення.

Ключові слова: срібло, полімер/неорганічні носії, кури-несучки, яйця харчові, якість, безпечність.

ANNOTATION

Dovbnya Yu.Yu. Sanitary and hygienic assessment of the use of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids for laying hens – Qualification scientific work with manuscript rights.

Dissertation for obtaining the educational and scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 212 "Veterinary hygiene, sanitation and expertise". National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2023.

The safety and quality of egg production depends on the strict implementation of the protocol for keeping animals and strict adherence to sanitary and hygienic requirements. A significant concentration of poultry in a limited area creates the risk of the emergence and spread of a significant number of infectious and invasive diseases that cause significant economic losses to production, and worsen the quality and safety of edible eggs. In the conditions of limiting the use of antibacterial drugs in animal husbandry, in particular antibiotics, there is an urgent need to find alternative means of protecting poultry from pathogenic microflora and ensuring the proper quality and safety of food products, in particular eggs. For this purpose, technologies for the development of nanopreparations based on precious metals, especially silver, are promising.

An experimental batch of the nanosilver preparation in the form of an aqueous dispersion was obtained at the Department of Polymer Physics of the Institute of Chemistry of High Molecular Weight National University of Ukraine by in situ synthesis of silver nanoparticles in solutions of a biocompatible and biodegradable polymer/inorganic hybrid based on silica sol and polyacrylamide. The hydrophilic polymer/inorganic hybrid used as a carrier of silver nanoparticles was synthesized by the developed method of direct grafting of polyacrylamide "from" the unmodified surface of silica sol.

The obtained hybrid and the final preparation with silver nanoparticles were thoroughly characterized by elemental analysis, potentiometric titration, differential thermogravimetric analysis, viscometry, electron spectroscopy, wide-angle X-ray scattering, and transmission electron microscopy. The size of silver particles in the

preparation was <10 nm. For tests, the drug was purified from by-products of in situ synthesis and its aqueous dispersions were prepared with concentrations of silver nanoparticles of 1 and 2 mg/l.

It was established that one-, two- or three-time drinking of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids to laying hens did not affect the parameters of their clinical condition, in particular, feed consumption, water and egg production, which met the cross standard.

The administration of the nanosilver preparation to laying hens in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day with an interval of 10 days showed an effect on individual indicators of protein, carbohydrate, lipid and mineral metabolism, the intensity of expression of which decreased over time. The dose of nanosilver, which was 0.2 mg/head per day, caused a more pronounced effect on the metabolic status of the body of laying hens during one and two applications with an interval of 10 days, than the dose of 0.4 mg/head per day. A decrease in the metabolic response of the body of laying hens after the three-time use of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids in both used doses indicates the adaptation of the bird's body to this drug.

A single drinking of an aqueous solution of silver nanoparticles in carriers based on polymer/inorganic hybrids at a dose of 0.2 mg/head per day to laying hens did not affect the content of silver, copper, zinc, iron and lead in eggshells and corresponded to the control indicators.

The silver nanopreparation at a dose of 0.4 mg/head per day increased the content of silver by 27% and copper by 1.9 times, but did not affect the content of zinc, iron and lead in the shell of chicken eggs 10 days after the first drinking compared to the control. Twice drinking of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids at a dose of 0.2 mg/head per day to laying hens caused a 9-fold increase in the content of silver in the eggshell compared to the control, but did not affect the content of copper, zinc, iron and of lead compared to the control.

Increasing the dose of the nanosilver preparation to 0.4 mg/head per day in drinking water for chickens at two times of drinking increased the silver content in

eggshells by 11 times compared to the control at stable levels of copper, zinc, iron and lead compared to the control.

The mineral composition of the shell of chicken eggs after drinking a solution of the nanosilver preparation three times to laying hens also underwent changes that related only to the content of silver in the shell, in particular, a dose of 0.2 mg/head per day caused a 6.3-fold increase in the content of silver in the eggshell, and a dose of 0.4 mg/head per day increased the silver content in eggshell by 10.1, but did not affect the level of the remaining mineral components.

A single administration of a nanosilver preparation to laying hens in carriers based on polymer/inorganic hybrids at a dose of 0.2 mg/head per day contributed to an increase in the silver content in egg whites by 24%, and up to at 0.4 mg/head had no effect on silver accumulation, and both doses did not alter copper, zinc, iron, and lead contents compared to controls.

Twice drinking of the nanosilver drug in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day to laying hens did not change the level of both silver and other mineral components in egg whites. Three times drinking of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids at doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day to laying hens increased the accumulation of silver in egg white almost 2 times compared to the control, but did not affect the copper content, zinc, iron and lead in this part of the egg.

The content of silver in the yolks of chicken eggs, which were once given a solution of the nanosilver preparation in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day, did not affect the mineral composition of the egg yolk.

Twice drinking of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day to laying hens did not contribute to the accumulation of silver in the yolks, the level of which was within the control range. Similar results were obtained during the analysis of the mineral composition of egg yolks, namely, the concentration of copper, zinc, iron and lead in the birds of the experimental groups was within the range of fluctuations of the control group.

Three times the use of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids to laying hens showed a more pronounced effect on the mineral composition of egg yolks, which was manifested by an increase in the content of silver in the yolks at a dose of 0.2 mg/head per day by 1.8 times, and at doses of 0.4 mg/head per day – 2.2 times compared to the control. The rest of the indicators of mineral exchange in the yolks of chicken eggs after three times the use of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids were at the same level as the indicators of the control group of birds.

The distribution of nanosilver in individual components of chicken eggs under the influence of its preparation depended on the frequency of drinking and the concentration of its nanoparticles in drinking water for poultry. The highest silver content among the components of the eggs of the control group was noted in the shell, which was 52.7 – 57.0%, the second place in terms of silver content was the protein, which contained 26.6 - 31.1% of the total content in the egg.

The yolk of chicken eggs of the control group contained 16.2 – 16.5% of all silver in the egg composition. Thus, the edible part of the chicken egg: white + yolk contained 43.0 – 47.3% of all silver in the egg, which corresponds to 0.035 – 0.079 μg .

A single drinking of a solution of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0.2 and 0.4 mg per hen per day to laying hens increased its accumulation in the yolks of chicken eggs after 10 days to 44.5 and 47.5% in the shell. In this case, the edible part of eggs: white + yolk on the 10th day after the application of the solution of the nanosilver drug to laying hens contained 65.0 and 66.0% (0.089 and 0.093 μg , respectively), and the shell – 34.0 and 35.0% (0.048 μg) of the total silver content in the egg.

After the second drinking of a solution of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0.2 and 0.4 mg per head per day for 10 days, the redistribution of silver in the components of chicken eggs occurred as follows: the proportion of silver in the protein decreased to 4.9 and 5.6%, in the yolk - up to 4.2 and 11.2%, respectively, due to an increase in its share in the shell to 90.9

and 83.2%. This redistribution of silver content contributed to the reduction of its content in the edible part of the egg: white + yolk to 9.1 and 16.8%, which was 0.039 and 0.099 μg of silver, respectively. In this case, the silver content in the eggshells of laying hens that received a solution of the nanosilver drug in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day increased to 0.39 and 0.49 μg , respectively.

The third administration of the nanosilver preparation to laying hens in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0.2 and 0.4 mg per hen per day contributed to the redistribution of the share of silver between the white and yolk of eggs as follows: in the yolk, an addition of 7%. increasing its protein content to 14.3 and 9.4%.

The proportion of silver entering the eggshell of chickens that received the nanosilver preparation at a dose of 0.2 mg/chicken per day decreased, and the chickens of the experimental group that received its dose of 0.4 mg during this period were practically at the previous level. At the same time, it should be noted that the total content of silver in the protein and yolk of the eggs of chickens that received the nanosilver preparation in doses of 0.2 and 0.4 mg per chicken per day did not differ significantly among themselves and amounted to 0.060 – 0.065 μg , while the content of silver in eggshell increased to 0.22 and 0.37 μg , respectively.

Drinking the nanosilver preparation in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day to laying hens contributed to the accumulation of silver in the shell and did not affect its content in the edible part of the eggs (white and yolk), which allows us to consider this drug promising in the prevention of microbial contamination of edible eggs.

For the use of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0, 0.2 and 0.4 mg per hen to laying hens during the day, no colonies of microorganisms of the genera *Citrobacter*, *Klebsiella*, as well as *E. coli* and *P. mirabilis*, which belong to conditionally pathogenic microflora, were identified on the surface of the shell of freshly laid eggs during the entire experiment. Colonies of *Salmonella* spp., *S. aureus*, and *S. epidermidis* were also not identified among the

pathogenic microorganisms on the surface of the eggshells of the chickens of the experimental groups during the entire experiment.

The number of MAFAnM on the surface of the shell and in the yolks of eggs after one, two and three times drinking by chickens of a solution of the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids probably did not depend on its dose and term of use.

The analysis of the number of symbiotic microflora in chicken droppings showed that single, double and triple drinking of a solution of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids in doses of 0, 0.2 and 0.4 mg per chicken per day did not affect the number of colonies of microorganisms of the genus *Bifidobacterium*. The number of bacteria of the genus *Lactobacillus* in the litter of chickens of the experimental groups did not change after a single use of the nanosilver drug in doses of 0.2 and 0.4 mg per chicken per day. This is due to the presence of probiotics in the compound feed that was used for feeding laying hens, as well as to some extent the low sensitivity of microorganisms of this genus to the nanosilver drug in carriers based on polymer/inorganic hybrids.

The number of bacteria of the genus *Lactobacillus* in the droppings of the chickens of the experimental groups did not change after the use of the nanosilver drug in doses of 0.2 mg/head per day, but at a dose of 0.4 mg per hen per day, their number decreased by 0.12 lg CFU/g after two times and by 0.31 lg CFU/g after three times of application compared to the control.

Thus, it can be concluded that the preparation of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids, which was applied to laying hens in doses of 0.2 and 0.4 mg/head per day three times with an interval of 10 days, does not have a negative effect on microbial composition of eggs, and also allows to preserve the symbiotic microflora of the digestive system as much as possible.

Key words: silver, polymer/inorganic carriers, laying hens, food eggs, quality, safety.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у науковому виданні,

включених до міжнародних наукометричних баз даних

Scopus та/або Web of Science Core Collection

1. Shevchenko L. V., **Dovbnia Y. Y.**, Zheltonozhskaya T. B., Permyakova N. M., Vygovska L. M., Ushkalov V. O. The effect of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids on the quality and safety of edible chicken eggs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12 (3). P. 391–395. *(Здобувачем проведено дослідження показників якості та безпечності яєць, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

2. Shevchenko L. V., **Dovbnia Y. Y.**, Zheltonozhskaya T. B., Permyakova N. M., Shulyak S. V. Influence of preparation of silver nanoparticles in carriers based on polymer/inorganic hybrids on the mineral composition of chicken eggs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12 (4). P. 608–613. *(Здобувачем проведено дослід на птиці, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

3. Shevchenko L. V., **Dovbnia Y. Y.**, Permyakova N. M., Zheltonozhskaya T. B., Shulyak S. V., Klymchuk D. O. Influence of nanosilver in hybrid carriers on morphological and biochemical blood parameters of laying hens. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13 (1). P. 15–22. *(Здобувачем проведено дослідження морфологічних та біохімічних показників курей, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

Стаття у науковому фаховому виданні України

4. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В., Желтоножська Т. Б., Шуляк С. В. Вплив препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на мінеральний склад курячого посліду. *Сучасне птахівництво*. 2021. № 7–8. С. 25–29. *(Здобувачем проведено дослід на птиці, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

Тези наукових доповідей

5. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В. Оцінка впливу нанопрепарату срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на хімічний склад курячих яєць. Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин: IV Всеукраїнська науково-практична Інтернет-конференція, м. Полтава, 15–16 жовтня 2020 року: тези доповіді. Полтава, 2020. С. 202–203. *(Здобувачем проведено дослідження хімічного складу курячих яєць, підготовлено тези доповіді до друку).*

6. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В., Желтоножська Т. Б., Шуляк С. В. Оцінка впливу наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на мінеральний склад курячих яєць. Наукові передумови оптимізації органічного бізнесу: V Міжнародний конгрес «Органічна Україна 2021», м. Київ, 17 квітня 2021 року: тези доповіді. Київ, 2021. С. 62–63. *(Здобувачем проведено дослідження, взято участь в узагальненні результатів і підготовці тез доповіді).*

7. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В. Хімічні та мікробіологічні показники харчових курячих яєць за застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам. Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 11 листопада 2021 року: тези доповіді. Київ, 2021. С. 49–50. *(Здобувачем проведено дослідження мікробіологічних показників яєць, взято участь в узагальненні результатів і підготовці тез доповіді).*

8. Zheltonozhskaya T., Shevchenko L., Permyakova N., **Dovbnia Y.**, Klypko V., Klymchuk D. Promising nanobiotechnology to increase the shelf life of chicken eggs based on nanosilver preparation in hybrid carrier. XV Українська конференція з високомолекулярних сполук з міжнародною участю «ВМС-2022», м. Київ, 25–27 жовтня 2022 року: тези доповіді. Київ, 2022. С. 183. *(Здобувачем проведено дослідження, взято участь в узагальненні результатів і підготовці тез доповіді).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	26
1.1. Санітарно-гігієнічні вимоги до виробництва харчових курячих яєць.....	26
1.1.1. Способи утримання промислових стад курей.....	26
1.1.2. Фактори, що впливають на якість та безпечність харчових яєць.....	31
1.2. Характеристика препаратів на основі сполук наносрібла та їх використання у ветеринарній санітарії.....	36
1.3. Способи зниження контамінації харчових яєць мікрофлорою та їх санітарно-гігієнічна оцінка.....	41
1.4. Заключення з огляду літературних джерел.....	49
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ.....	51
2.1. Схема і умови досліджень.....	51
2.2. Методи досліджень.....	54
2.2.1. Умови синтезу препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів.....	54
2.2.2. Визначення показників клінічного стану та гематологічних показників у курей.....	54
2.2.3. Визначення показників обміну речовин у курей.....	55
2.2.4. Дослідження морфологічних показників та хімічного складу яєць.....	57
2.2.5. Визначення мінерального складу яєць та посліду курей.....	58
2.2.6. Визначення бактеріального обсіменіння харчових яєць та посліду курей.....	59
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	61

3.1. Санітарно-гігієнічна характеристика препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів.....	61
3.2. Клінічні та гематологічні показники курей при застосуванні препарату наносрібла.....	66
3.3. Обмін речовин в організмі курей-несучок за дії препарату наносрібла.....	71
3.4. Хімічний склад харчових яєць та посліду за дії препаратів наносрібла.....	77
3.5. Мікробний склад курячих яєць та посліду при вживанні препарату наносрібла.....	94
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	97
ВИСНОВКИ	114
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	117
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	118
ДОДАТКИ.....	145

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

ГГТ – гамма-глутамілтранспептидаза

ДСТУ – Державний стандарт України

AgNPs – препарат наносрібла

ТЕМ-зображення – зображення з використанням трансмісійного електронного мікроскопу

ВСТУП

Актуальність теми. Заборона використання антибіотиків у промисловому тваринництві, особливо у птахівництві, спонукала вчених до пошуку нових засобів, здатних проявляти бактерицидну, віруліцидну та фунгіцидну дію з метою збереження поголів'я та виробництва безпечних і якісних харчових продуктів [35, 142]. Швидкий розвиток нанотехнологій призвів до використання препаратів наносрібла в якості антимікробних засобів як у медичній, текстильній, харчовій, так і ветеринарній практиці [98, 122, 123, 176, 193].

В ряді досліджень доведено, що наночастинки срібла проявляють позитивний вплив на продуктивність тварин, стимулюють імуногенез [8], можуть бути ефективні в профілактиці та лікуванні інфекційних захворювань [53], а також як антиканцерогенні засоби [55, 132]. Особливо актуальним є дослідження ефективності використання препаратів наносрібла у промисловому птахівництві, оскільки виробництво, транспортування, реалізація та зберігання харчових яєць пов'язані з ризиком контамінації поверхні шкаралупи умовно патогенною та патогенною мікрофлорою, яка являє небезпеку для споживачів. Використання препаратів наносрібла для зменшення мікробного обсіменіння яєць обґрунтоване здатністю AgNPs у концентраціях 6,25–100 мг/кг проявляти антибактеріальну активність до широкого спектру збудників, зокрема *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* та *Salmonella typhimurium* [55, 132].

На сьогодні є значна кількість суперечливих даних щодо впливу наночастинок срібла на мікробіом кишечника як різних видів тварин, так і людини, які проявляються дисбактеріозами та іншими порушеннями [82], однак у птахівництві використання препаратів наносрібла ще потребує досліджень щодо впливу на рівень ризику мікробної контамінації харчових яєць та їх хімічний склад. Створення препаратів наносрібла нового покоління, які отримують та стабілізують у водних розчинах синтетичних і природних полімерів [85, 103, 129], а в останні роки також у розчинах біосумісних та

біодеградабельних полімер/неорганічних гібридів [174, 175], дає змогу зменшити їх дози, а також інтервал застосування, що в свою чергу дасть можливість зменшити токсичність і підвищити ефективність використання за рахунок утворення в таких носіях дуже малих наночастинок срібла та збільшення тривалості їх дії в живому організмі.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної теми, яка виконується на кафедрі ветеринарної гігієни імені професора А.К. Скороходька: «Санітарно-гігієнічні заходи забезпечення здоров'я тварин у господарствах України різних форм власності», № держреєстрації 0116U001299 (2016–2024 рр.).

Мета та завдання дослідження. Мета дисертаційного дослідження – зробити санітарно-гігієнічну оцінку застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів з урахуванням їх впливу на клінічні, гематологічні, метаболічні параметри організму курей, якість і безпечність харчових яєць.

Для досягнення поставленої мети було передбачено вирішення таких завдань:

- визначити вплив вживання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на показники клінічного стану та продуктивність курей-несучок і морфологічні параметри яєць;
- дослідити вплив вживання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на морфологічні та біохімічні показники крові курей-несучок;
- з'ясувати вплив вживання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на показники мінерального складу яєць та посліду курей-несучок;
- визначити хімічний склад яєць за вживання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам;

- здійснити контроль мікробіологічних показників харчових яєць та посліду за впоювання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам.

Об'єкт дослідження – препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів.

Предмет дослідження – вплив препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на якість та безпечність харчових яєць.

Методи досліджень – гігієнічні (умови утримання), клінічні (клінічний стан курей), біохімічні (біохімічні показники сироватки крові курей), хімічні (хімічний склад яєць), фізико-хімічні (мінеральний склад яєць та посліду з використанням методу атомної абсорбції), гематологічні (еритроцити, лейкоцити, концентрація гемоглобіну, гематокрит, лейкограма крові), мікробіологічні (мікробний склад яєць та посліду), зоотехнічні (яєчна продуктивність, споживання води і корму) та статистичні (статистична обробка результатів досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше отримано препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів та здійснено його санітарно-гігієнічну оцінку під час виробництва курячих харчових яєць. На основі дослідження динаміки клінічних, гематологічних та біохімічних параметрів доведено безпечність препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів для курей-несучок в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу за трикратного застосування з інтервалом 10 діб.

Доповнено концепцію щодо особливості накопичення наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у компонентах харчових яєць, зокрема здатність кумуляції срібла в шкаралупі як фактора попередження контамінації мікрофлорою яєць, а також його властивість до елімінації з послідом. Одно-, дво- та трикратне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливало на вміст міді, цинку, заліза та свинцю у білку та жовтку курячих яєць. За дози 0,2 мг/голову за добу за дво- та трикратного впоювання курям-несучкам

препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів збільшувався вміст срібла в шкаралупі яєць майже 9 разів, за дози 0,4 мг/голову – майже в 11 разів. Підвищення вмісту срібла в жовтках спричиняє лише трикратне вполювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозі 0,2 мг/голову за добу в 1,8 раза, а в дозі 0,4 мг/голову за добу – в 2,2 раза.

Отримані результати досліджень свідчать про відсутність здатності препарату наносрібла на основі полімер/неорганічних гібридів проявляти суттєву бактерицидну дію на симбіотичну мікрофлору апарату травлення курей, зокрема на бактерії родів *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*. Результати досліджень можуть бути основою розробки технології виробництва і зберігання харчових яєць з урахуванням екологічної рівноваги довкілля в умовах відмови від застосування антибіотиків.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати досліджень дали обґрунтування для використання препарату наносрібла на основі полімер/неорганічних гібридів під час виробництва курячих харчових яєць.

Доведено відсутність негативного впливу препарату наносрібла на показники клінічного стану, продуктивність, морфологічний склад яєць, метаболічний статус організму курей в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу трикратно з інтервалом 10 діб, що свідчить про нетоксичність препарату та здатність його пролонгованої дії в організмі птиці.

Результати досліджень показали, що використання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову трикратно з інтервалом у 10 діб забезпечує накопичення срібла в шкаралупі яєць за відсутності його кумуляції в їстівній частині (жовток+білок), яєць, а також збереження симбіотичної мікрофлори апарату травлення курей.

Препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову трикратно з інтервалом у 10 діб ефективно виділяється з послідом курей і не впливає на його мінеральний склад. Результати досліджень свідчать про нешкідливість препарату наносрібла в

носіях на основі полімер/неорганічних гібридів для організму курей несучок і можуть бути використані як обґрунтування для встановлення ефективного режиму застосування препаратів наносрібла у птахівництві.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем зроблено аналіз фахової літератури, організовано та виконано експериментальні дослідження з визначення впливу препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на клінічний стан, гематологічні, біохімічні показники, продуктивність курей-несучок, хімічний і мікробіологічний склад курячих харчових яєць, статистична обробка. Аналіз і обговорення результатів досліджень, формулювання висновків і пропозицій виробництву, а також підготовка матеріалів до публікації у наукових виданнях зроблені разом з науковим керівником.

Апробація результатів дослідження дисертації. Результати досліджень дисертаційної роботи були представлені на: IV Всеукраїнській науково-практичній Інтернет-конференції «Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин» 15-16 жовтня, 2020 р., Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава; V Міжнародному «Конгресі Органічна Україна 2021» Інтернет-конференції, м. Київ, 17 квітня 2021 р. Органічна Україна. 2021; «Глобальні виклики ветеринарної медицини 21 століття» Міжнародна наукова конференція «Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття», 11 листопада 2021 р. НУБіП України, м. Київ; XV Української конференції з високомолекулярних сполук з міжнародною участю «ВМС-2022». 25-27 жовтня 2022 року м. Київ.

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових праць з яких 4 статті у фахових виданнях України включених до міжнародних наукометричних баз даних та 4 тези доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків і пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків. Загальний

обсяг дисертації викладено на 151 сторінці, робота ілюстрована 32 таблицями і 3 рисунками. Список використаної літератури нараховує 196 джерел, з них 176 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Санітарно-гігієнічні вимоги до виробництва харчових курячих яєць

1.1.1. Способи утримання промислових стад курей. Нині виробництво харчових курячих яєць, окрім підтримки високих виробничих показників, також має забезпечувати належний рівень утримання курей.

Звичайні кліткові системи утримання птиці були розроблені ще в 1930-х роках, а почали використовуватися в традиційному вирощуванні птиці з 1950-х роках. Ці системи існують і до нині, їх застосування мало на меті збільшення прибутку та продуктивності за рахунок можливості утримання більшої кількості курей на невеликій території та вищої кількості виробництва харчових яєць [65].

Актуальність належного санітарно-гігієнічного забезпечення відповідної системи утримання тварин, особливо сільськогосподарської птиці, зростає протягом останніх кількох десятиліть. Як дослідники, так і споживачі визнають, що належне утримання тварин залежить не тільки від відсутності захворювань, травмування та невідповідної годівлі. Тварини повинні відчувати себе комфортно, задовольняти свої поведінкові потреби і мати належну годівлю та системи утримання. Для досягнення цієї мети все частіше використовуються системи безкліткового утримання курей-несучок, такі як багатоярусні вольєри, які найчастіше застосовуються у промисловому виробництві яєць в останнє десятиліття, оскільки ці системи дають більшу можливість вільного руху та реалізації природної поведінки птиці [141].

Однак у Європі у 1960-х роках утримання птиці набуло досить важливого значення, і звичайне кліткове утримання було поставлено під сумнів, пояснюючи це тим, що за такого утримання птиця обмежена в

пересуванні [73, 92], і навіть до нинішнього часу є розбіжності в думках на рахунок утримання курей-несучок в кліткових батареях [171, 172].

У європейських країнах є велике зацікавлення до вирощування птиці на підлоговому (вільному) вигулі. Існує така думка, що яйця курей, які утримувалися за вільного виходу, мають кращу якість, ніж ті, що отримані в умовах кліткового утримання курей [95].

Для ефективного вирощування птиці її утримання має бути облаштовано таким чином, щоб не заважало птиці повністю реалізувати свій генетичний потенціал. На даному етапі розвитку птахівництва в Україні для утримання курей використовують два способи – в кліткових батареях та підлогове утримання, але на даний період найрозвиненішим для вирощування, утримання та виробництва харчових курячих яєць є кліткове утримання. В результаті проведених досліджень [190] зроблено порівняльну оцінку між двох-трьохярусним утриманням курей у кліткових батареях конструкції ВАТ “Ніжинсільмаш” та ТОВ “ВО Техна”, яке дозволяє стверджувати, що як один, так і інший спосіб утримання птиці в кліткових батареях дозволяють безперешкодно контролювати процеси напування, годівлі, регуляції мікроклімату, видалення посліду та збору яєць. Автор зробила висновок, що утримання курей в двох-трьохярусних кліткових батареях має позитивний ефект та не створює негативного впливу на навколишнє середовище і на самих курей-несучок. За кордоном утримання промислових стад курей відбувається в 2-3 ярусних батареях на сітчастій або планчастій підлозі, що за законами тих країн відповідає всім вимогам щодо утримання птиці [191].

Обладнання для утримання птиці має відповідати наступним технологічним процесам, таким як: зберігання сухого корму, подача та роздавання корму, підготовка води, подача води, видалення посліду з місця утримання птиці та виведення його за територію пташника, збір яєць від курей-несучок та батьківського поголів'я. Кури повинні утримуватися та вирощуватися у пташниках з регульованим мікрокліматом.

Відповідно до даних [177], альтернативою до звичайних кліткових батарей мають бути “удосконалені” кліткові батареї, які обладнані гніздом, сідалом та підстилковим матеріалом, і надають кожній курці 600 см² відповідної площі. Такі “удосконалені” клітки повинні бути обладнані годівницями з розрахунку фронту годівлі 10 см на курку, автонапувалками, висота комірки клітки має бути від 45 см у верхній частині до 35 см в нижній її частині.

На птахофабриках і фермах птахівничих господарств залежно від природних та економічних умов застосовують різні способи утримання поголів'я: кліткове, підлогове (на глибокій підстилці або на сітчастій підлозі), вигульне, вольєрне або комбіноване.

Кліткове утримання практикується на птахофабриках і в спеціалізованих господарствах, які виробляють харчові яйця при вирощуванні ремонтного молодняку, бройлерів і відгодівлі молодняку. Поголів'я птиці розміщують в одноярусних чи багатоярусних клітках. З січня 2012 року в Європі вступила в дію директива Ради Європейського Союзу 1999/74/ЕС [20] про заборону утримання курей-несучок у кліткових батареях, однак вони використовуються по нині, оскільки одночасно в них можна розмістити досить велику кількість курей та краще проводити санітарну обробку приміщення [195].

Вольєрне утримання курей-несучок використовують в районах з м'яким кліматом [18]. При цьому способі птиця знаходиться в будівлях легкого типу без фасадної стіни, суміщеної з вольєром – невеликим майданчиком, огороженим сіткою із сітчастою або планчастою підлогою. Це дозволяє птиці переміщатися на більші відстані, даючи цим самим змогу поводитися природньо [6]. Тому вольєрне вирощування має вагомі переваги над вирощуванням курей в клітках.

В дослідженнях [16] було відмічено, що вільне утримання птиці позитивно впливає на вирощування та активацію осі гіпоталамус-гіпофіз-наднирники та птиця стає більш спокійною.

При підлоговому утриманні птиця знаходиться в широкогабаритних пташниках без вигулів або з ними. Цей спосіб застосовують для промислового стада курей на невеликих птахофабриках, в спеціалізованих господарствах і на товарних фермах. Птиця утримується на незмінюваній підстилці або на сітчастій чи планчастій підлозі [196].

Вигульне утримання застосовується переважно в племінних птахівничих господарствах, на птахофабриках, для батьківського поголів'я птахівничих господарств і племінних фермах. Птиця на вигулі знаходиться в постійному русі на свіжому повітрі і під дією сонячних променів, що позитивно впливає на її здоров'я, підвищує інкубаційні якості яєць і збереження курчат при їх вирощуванні [197].

Комбіноване утримання застосовується для молодняку в птахівничих господарствах і на крупних товарних фермах, де курчат до 60 днів утримують в клітках, а пізніше в табірних умовах.

Різні системи утримання курей-несучок продовжують викликати суперечки серед дослідників, виробничників, екологів і споживачів [149]. Пріоритетом є вплив цих систем на здоров'я птиці та їхню свободу виявляти природну поведінку. Однак непросто оцінити, чи забезпечує система утримання птиці здоров'я та основні етологічні та поведінкові потреби. Ці системи впливають прямо чи опосередковано не лише на поведінку, продуктивність і здоров'я птиці, але й на якість її яєць [158].

Останніми роками органічне землеробство стає все більш популярним у Європі, включно з Польщею. Існує повернення до традиційних способів утримання птиці з доступом до відкритого простору, свіжого повітря та сонячного світла, а також годівля на основі натуральних та мінімально оброблених кормів [76]. Однак отримати продукцію (включаючи курячі яйця) сертифікованими методами набагато дорожче, ніж традиційними. Це пов'язано з такими факторами, як довший період вирощування, більше споживання корму, нижча продуктивність і менша плодючість. У економічно розвинених країнах Західної Європи органічне вирощування несучок

становить 10% від загального виробництва харчових яєць. У Польщі воно поки що має граничне значення і не перевищує 1%. Виробництво яєць у Польщі, в основному, базується на клітковому утриманні курей. Багато досліджень показали, що це найекономічніший спосіб виробництва якісних яєць. Однак у Директиві Ради 1999/74/ЕС зазначено, що продаж яєць, знесених курками, які утримуються у звичайних кліткових системах, буде обмежено або навіть заборонено з 1 січня 2012 року. Виробники Polishegg докладають інтенсивних зусиль, щоб розширити використання звичайних кліток на 5 років і не допускати дискримінації харчових продуктів, вироблених за кліткового утримання. Тривають дослідження щодо розробки екологічно чистих технологій виробництва, які відповідають очікуванням споживачів середнього класу, одночасно поєднуючи безпеку та якість продуктів тваринного походження з помірними цінами [148].

Куряче яйце вважається одним із найцінніших і основних продуктів харчування для людини [150]. Споживачі все більше цікавляться якістю яєць, а значить забезпечення належної якості продукції птахівництва набуває все більшого значення. Зважаючи на те, що суспільства багатьох країн стають все більш заможними та піклуються про своє здоров'я, якість харчових продуктів і надалі залишатиметься в центрі уваги споживачів і виробників, а також викликом для науки. З цієї причини в епоху конкуренції докладаються зусилля для створення продуктів преміум-класу, які гарантують якість і безпеку. Цього можна досягти, забезпечивши тварин оптимальними умовами утримання та якісними кормами, що містять усі необхідні поживні речовини, які гарантують високу продуктивність і належну якість яєць [75].

Таким чином, перспективними і актуальними напрямками у промисловому птахівництві будуть запроваджуватися технології, які мінімізують використання препаратів хімічного синтезу (антибіотиків, стимуляторів продуктивності) під час вирощування птиці та виробництва харчових продуктів і одночасно будуть максимально наближатися до природних умов, де тварини можуть повноцінно реалізувати свій генетичний потенціал.

1.1.2. Фактори, що впливають на якість та безпечність харчових яєць. Для загального виробництва яєчної продукції, за різними дослідженнями, більше 75% курей вирощують у клітках, але з'являється все більше нових умов утримання курей-несучок в умовах більш сприятливих для тварин. Вони зосереджені на покращених умовах утримання птиці та їх вільній природній поведінці. Насамперед якість яєць є важливим фактором, який впливає на купівлю та попит яєць у споживачів. За останній час споживачі віддають перевагу купівлі яєць з більшим розміром, з щільним білком та, відповідно, належною якістю [134]. Зокрема, на внутрішню і зовнішню якість яєць, насамперед, впливають фактори навколишнього зовнішнього середовища, а система утримання птиці також відіграє важливу роль.

В дослідженнях [172] було доведено, що яйця з більшою масою та кращою якістю білка отримували при утриманні на вільному вигулі курей порівняно з клітковим. Також за даними інших дослідників [134, 163] було зроблено висновок про збільшення ваги яєць та вищі показники оцінки критеріїв їх якості за одиницями Хау за кліткового утримання, ніж за вигульного. Отже, можемо зробити висновок, що способи утримання птиці впливають не тільки на внутрішній вміст яєць, але й на якість та структуру яєчної шкаралупи [69, 70, 156], що залежить від умов зберігання та безпечності яєчної продукції [158].

Система утримання курей-несучок є важливим фактором, що впливає на якість та безпечність харчових курячих яєць, про що свідчить велика кількість досліджень в останні роки. Вони показали зменшення кількості відкладених в день яєць, а також зниження ваги яєць у системах вільного вигулу та підлогового утримання в порівнянні з яйцями курей, які утримувались у кліткових батареях [33, 109, 118]. З іншого боку, за підлогової системи утримання курей-несучок яйця більше забруднюються і мають меншу масу в порівнянні з яйцями, знесеними курми-несучками, вирощеними в кліткових батареях. Важливим фактором впливу механічних пошкоджень на якість

яєчної шкаралупи курей-несучок є не система утримання чи виробництва, а раціон та генетичний потенціал птиці.

Також не менш важливим є такий фактор, що впливає на якість та безпечність харчових яєць, як оцінка бактеріального ризику. Шляхи інфікування через шкаралупу та зараження вмістимого яйця були досліджені з низкою штамів бактерій: *Staphylococcus warneri*, *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes sp.*, *Serratia marcescens*, *Carnobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.* і *Salmonella enteritidis*, які виділені з вмістимого яйця. Протягом 3 тижнів зберігання за 20°C і відносній вологості 60%, регулярно контролювали проникнення бактерій через яєчну шкаралупу у вмістиме яєць. Доведено, що такі характеристики яєчної шкаралупи, як її площа, товщина та кількість пор не впливають на проникнення бактерій у яєчну шкаралупу. Для кожного окремого бактеріального штаму середнє проникнення в кутикулу було нижчим для проникнутої яєчної шкаралупи порівняно з непрониклою. Для окремого штаму *Carnobacterium sp.* і для загальних результатів усіх штамів ця різниця була статистично значущою. На загальне мікробне забруднення яєць не впливала ні площа яєчної шкаралупи, ні пористість яєчної шкаралупи. Результати досліджень свідчать про те, що грамнегативні, рухливі та некупчувальні бактерії найчастіше проникали в яєчну шкаралупу: *Pseudomonas sp.* (60%) і *Alcaligenes sp.* (58%) були первинними контамінантами, потім *S. enteritidis* (43 %). Усі вибрані штами мікроорганізмів змогли проникнути в яйця. Проникнення спостерігалось найчастіше після 4-5 днів зберігання яєць. Зокрема *S. enteritidis* був основним забруднювачем цілих яєць: оболонки та/або вмістимого 32% цілих яєць. Проникла яєчна шкаралупа та заражені цілі яйця продемонстрували значно вищу бактеріальну контамінацію яєчної шкаралупи порівняно з непроникною яєчною шкаралупою та незараженими цілими яйцями відповідно. Вплив віку курей на проникнення бактерій у яєчну шкаралупу та контамінацію вмісту яєць не був значним [32].

Було проаналізовано також яйця з двох різних систем виробництва, тобто системи вільного виходу та системи кліткового утримання курей. Двадцять один і двадцять два типи мікроорганізмів були ідентифіковані на поверхні яєць курей за кліткової системи та вільного виходу відповідно. В обох випадках *Firmicutes* був домінуючим типом (представляючи близько 50% від загального числа типів), причому в кишковій мікробіоті курей часто були виявлені родини такі як *Clostridiaceae*, *Ruminococcaceae* і *Lachnospiraceae*. Крім того, у цій роботі також ідентифіковані інші типи та родини мікроорганізмів, раніше не описані під час дослідження яєчної шкаралупи [104].

У 1998 році мікробіолог Вільям Вайтман припустив, що поверхня землі є домом для понад п'яти трильйонів окремих бактерій. Більшість з цих бактерій – це флора навколишнього середовища або нормальна флора, яка не викликає захворювання людини і тварин. Однак при бактеріальній оцінці видів їх чисельність досягла 1030 у всьому світі (*Schloss, Handselman*), це важливо, особливо з точки зору медицини та охорони здоров'я, щоб диференціювати та ідентифікувати ті види, які є патогенними. Диференціація патогенних від непатогенних бактерій особливо важлива в галузі виробництва харчових продуктів, оскільки певний рівень наявності бактерій у продуктах харчування є нормальним і в багатьох шляхи контамінації непередбачувані. Однак зараження харчових продуктів патогенними бактеріями, такими як *E. coli* або *Salmonella* можуть викликати у людей серйозні харчові захворювання. Важливість виявлення штамів бактерій у яєчній промисловості найбільш помітно під час спалахів захворювань людей, викликаних харчовими продуктами, особливо якщо це пов'язано з бактеріальним зараженням курячих яєць такими збудниками, як *Salmonella* та інші. Насправді споживання яєць і яєчних продуктів часто пов'язували зі спалахами харчових отруєнь людини через їх зараження патогенними бактеріями [99].

Яйця в шкаралупі можуть бути заражені багатьма типами мікроорганізмів [104], включаючи патогени, і, таким чином, вони становлять ризик передачі харчових захворювань споживачам [5].

Найвідомішим бактеріальним забруднювачем курячих яєць є *Salmonella*. Це паличкоподібні грамнегативні бактерії родини *Enterobacteriaceae*. До того ж *S. enterica* є повсюдно поширений вид у всьому світі як у навколишньому середовищі, так і серед теплокровних тварин, тоді як *S. bongori* поширена у холонокровних тварин. Будь-який вид цих мікроорганізмів може викликати серйозні харчові захворювання людини через забруднення курячих харчових яєць. Хоча сальмонела часто існує як нормальна флора для курей, вона може бути патогенним видом для людини. Хоча інші бактеріальні збудники можуть заражати курячі яйця, сальмонела є причиною більшості задокументованих випадків захворювань людини.

Крім того, були виділені бактерії курячих яєць, які зазвичай не є патогенними для людини. До них відноситься *Aeromonas hydrophilia* (зазвичай трапляється у воді, вважається забруднюючим яйця під час миття), *Bacillus cereus* (зазвичай виявляється в ґрунті, потенційний пробіотик для домашньої птиці), *Campylobacter* (зазвичай виділяється як нормальна флора в репродуктивному тракті тварин), *Listeria monocytogenes* (поширений збудник харчових захворювань, знайдений у ґрунті) та *Staphylococcus aureus* (природна флора багатьох тварин, часто є умовно патогенними мікроорганізмами). Хоча ці бактерії були зареєстровані як часті контамінанти курячих яєць, однак недостатньо досліджено різноманіття забруднюючих мікроорганізмів, особливо враховуючи різні способи їх виробництва [151].

Переважні шляхи забруднення харчових яєць мікрофлорою можна класифікувати як вертикальні та горизонтальні. Вертикальна контамінація – зараження яйця відбувається під час його формування в яйцепроводі курей. Це відбувається, коли кури-несучки є носіями патогенів і передають їх через яйця. У той час як горизонтальне забруднення, яке є більш поширеним, стосується забруднення поверхні яєчної шкаралупи після знесення яєць. Воно виникає

при контакті яєчної шкаралупи із забрудненою поверхнею. Насправді послід, вода, клітки та матеріали для гніздування, комахи, руки персоналу, розбиті яйця, пил на яєчних стрічках, кров і ґрунт є найпоширенішими джерелами забруднення яєчної шкаралупи [128]. Зміни, які відбуваються під час пакування та зберігання яєць, також можуть сприяти зараженню яєць, впливаючи на їх захисну систему. Ці зміни можуть спричинити розрідження білка та руйнування жовткової мембрани і халаз. Незважаючи на всі зусилля, докладені протягом усього процесу виробництва яєць, від ферми до столу, ризик зараження споживачів патогенними чи умовно патогенними мікроорганізмами є надзвичайно поширеним.

Гігієна та санітарія відіграють важливу роль у контролі захворювань за утриманням птиці в птахівничих приміщеннях. Однією з важливих вимог для сприяння дотриманню гігієни та санітарії, тобто всі птахи в одному приміщенні мають належати до однієї вікової групи, разом із обмеженням кожного підприємства за одним типом утримання чи видом птиці. Приміщення та будівлі для птахівництва повинні відповідати вимогам щодо ізоляції від навколишнього середовища та суворого дотримання принципів гігієни та профілактики захворювань (наприклад, обмеження пересування персоналу, обладнання та транспортних засобів). Пташник повинен бути відповідно підготовлений до надходження кожної нової партії (утилізація птиці, підстилки та гною; боротьба з переносниками захворювань та гризунами; сухе та вологе прибирання; дезінфекція; фумігація). Слід звернути увагу на термінальну санітарну обробку будинків та обладнання після депопуляції (фізичне та хімічне очищення, промивання під тиском, дезінфекція, фумігація). Особливу обережність слід проявляти до виконання санітарних процедур після спалаху інфекційного чи інвазійного захворювання птиці. Негайна утилізація загиблої і хворої птиці є важливим і ефективним засобом запобігання поширенню будь-якої інфекційної чи інвазійної хвороби. Методи утилізації включають використання могильників, резервуарів, захоронення в траншеях, спалювання та компостування відходів. Регулярний

візуальний огляд поголів'я та пташників разом із звичайним тестуванням методами мікробіологічного моніторингу дуже дієвий у перевірці ефективності очищення та дезінфекції. Особливу обережність слід проявляти до виконання санітарних процедур після спалаху захворювання на птахофабриках [93].

Таким чином, виробництво харчових курячих яєць залежить від багатьох факторів, які часто мають певну невизначеність і непередбачуваність, що потребує розробки надійного контролю та запровадження системи профілактики захворювань птиці і безпечності харчових яєць на всіх етапах їх виробництва.

Одними з ефективних засобів профілактики інфекційних та інвазійних захворювань птиці є застосування нових препаратів, розроблених на основі нанотехнологій, які потребують дослідження ефективності та безпечності як для продуктивної птиці, так і для харчових курячих яєць.

1.2. Характеристика препаратів на основі сполук наносрібла та їх використання у ветеринарній санітарії

Нині наночастинки срібла знайшли широке застосування в багатьох сферах діяльності людини завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям, таким як малий розмір, висока питома поверхня (відношення площі вільної поверхні до маси), висока реакційна здатність тощо [22, 120]. За рахунок невеликих розмірів і, як наслідок, високої питомої поверхні вони володіють підвищеною антибактеріальною та противірусною активністю [46]. Невеликі розміри наночастинок металів призводять до підвищення їх антибактеріальної активності. Крім того, ефективність застосування препарату срібла значною мірою залежить від форми та концентрації його наночастинок [58].

Форма і розмір наночастинок срібла можуть бути змінені за рахунок умов синтезу. Це сприяє розробці новітніх підходів до виробництва нанопрепаратів

срібла, що має досить перспективний напрям. Ще однією причиною високого інтересу до нанопрепарату срібла є зростання кількості патогенних антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів.

В даний час сполуки срібла регулярно застосовуються в широкому спектрі промисловості і санітарній галузі, такі як покриття катетерів і хірургічних матеріалів, виробництво синтетичних сполук для стоматології, лікування опіків, гомеопатичних ліків або очищення води [10, 165].

Традиційно срібло використовувалося у вигляді солей (іонна форма), переважно нітратів, сульфатів або хлоридів. Однак катіон срібла перетворюється на менш ефективний хлорид срібла в шлунку або кров'яному руслі тварин, і може утворювати комплекси з різними лігандами. Нітрат срібла нестійкий і може бути токсичним для тканин [10]. Навпаки, металеве срібло у вигляді колоїдного розчину або, оскільки наночастинки розміром від 5 до 100 нм є більш стійкими до соляної кислоти, поглинаються при значно нижчому рН певною мірою евхаріотичними клітинами і, отже, є мінімально токсичним, і в той же час виявляє вищий антимікробний ефект, що пояснює, чому його використання просувається в останні десятиліття [10]. Показано, що, хоча наночастинки та іони срібла у формі нітрату мають подібний механізм дії, їх ефективні концентрації знаходяться на наномолярному та мікромольному рівнях відповідно.

Концепція нанотехнології залежить від зменшення розміру частинок для зміни фізичних і хімічних властивостей елемента. Технологія наночастинок широко використовується в різних сферах застосування харчової промисловості, терапії та профілактики низки захворювань. Нині наночастинкам благородних металів приділяють значну увагу у тваринництві і виробництві харчових продуктів через їх хімічні та фізичні властивості. Наночастинки срібла (AgNP) визначаються як частинки розміром менше 100 нанометрів. Кілька досліджень показали, що згодовування наночастинок покращили ефективність травлення, імунітет і продуктивність худоби та птиці. Використання наночастинок срібла як потужного дезінфікуючого

засобу завдяки антибактеріальним і протигрибковим властивостям призвели до його ефективного застосування в секторі тваринництва. Внутрішньоочеревинна ін'єкція AgNP має здатність підвищення імунної відповіді мишей *in vivo* та *in vitro*. У кролів за внутрішньовенного введення AgNPs (0,6 мг/кг маси тіла) виявлено, що в спермі були вищі рівні активних форм кисню, менш рухливі сперматозоїди та менша криволінійність, швидкість і споживання кисню, ніж у контрольних тварин [19].

Нині ведеться активний пошук способів зниження токсичності препаратів наносрібла в організмі тварин і людини. Було виявлено, що токсичність AgNPs по відношенню до клітин людини значною мірою залежить від природи (і розміру) агентів покриття [68, 86]. Тому створення ефективних безпечних носіїв AgNPs є актуальним завданням для їх успішного використання в живих організмах.

Показано, що кремнезем/поліакриламідні гібриди (SPH) на основі біосумісних та біодеградабельних силіконових наночастинок і щеплених поліакриламідних (PAAm) ланцюгів є ефективними матрицями для синтезу та стабілізації дрібних AgNPs (< 10 нм) у водному середовищі [174, 175].

Отримана композиція AgNPs/SPH складалася з окремих набряклих гібридних частинок, наповнених однією або кількома наночастинами срібла, які мали малий розмір (10–40 нм) і високу антибактеріальну та протигрибкову активність. У зв'язку з цим ці гібридні частинки можна розглядати як перспективні носії для доставки AgNPs живим організмам, включаючи курей. Водночас необхідні детальні дослідження, щоб виявити їхні можливі ризики для здоров'я тварин, зокрема курей, які вирощуються для виробництва харчових яєць [133].

Наночастинки срібла мають широкий спектр антибактеріальних, протигрибкових і противірусних властивостей. Вони мають здатність проникати через клітинні стінки бактерій, змінюючи структуру клітинних мембран і навіть призводячи до загибелі клітин. Їхня ефективність пояснюється не лише нанорозміром, але й великим відношенням площі

поверхні до об'єму. Нанотехнологія визначається як проектування, характеристика та застосування структур, пристроїв і систем шляхом контролю форми та розміру в нанометровому масштабі (від 1 нм до 100 нм). Розроблено наночастинки з унікальними властивостями, які роблять їх бажаними в матеріалознавстві та біології. Серед різноманітних наночастинок наночастинки срібла були одним із найпопулярніших об'єктів дослідження в останні десятиліття. Наночастинки срібла містять від 20 до 15000 атомів срібла, а їх діаметр зазвичай менше 100 нм [136]. Завдяки великому відношенню поверхні до об'єму наночастинки срібла виявляють чудову антимікробну активність навіть при низькій концентрації, що і призводить до знищення мікробів. Завдяки електростатичному притягання та спорідненості з білками сірки іони срібла можуть прилипати до клітинної стінки та цитоплазматичної мембрани. Прилиплі іони можуть підвищити проникність цитоплазматичної мембрани та призвести до руйнування оболонки бактерії. Окрім здатності вивільняти іони срібла, наночастинки срібла можуть самі вбивати бактерії, а також мають здатність проникати через клітинні стінки бактерій і згодом змінювати структуру клітинної мембрани через їхній нанорозмір.

Грамнегативні бактерії більш сприйнятливі до наночастинок срібла. Клітинна стінка грамнегативних бактерій вужча, ніж у грампозитивних штамів. Товста клітинна стінка може зменшити проникнення наночастинок у клітини. Різні антибактеріальні ефекти наночастинок срібла на грамнегативні та грампозитивні бактерії пояснюються тим, що поглинання наночастинок срібла є важливим для антибактеріального ефекту.

Завдяки своїй високій реактивності наночастинки срібла мають біоцидну дію проти широкого спектру бактерій, таких як *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella mobilis*, *Klebsiella pneumonia*, грибів: *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisia*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Penicillium citrinum*.

Тому біоцидні препарати нового покоління, зокрема наночастинки металів з широкою антибактеріальною дією, противірусною та протигрибковою дією викликають інтерес як науковців, так і практиків [37]. Це дуже важливо, оскільки мікробні клітини, як правило, менш здатні проявляти стійкість до цих «нанобіоцидів» або «наноантибіотиків» [100]. Крім того, такі біоцидні препарати більш толерантні до клітин людини [126].

Останнім часом наночастинки активніше використовуються замість металів або їх оксидів в практиці вирощування сільськогосподарських культур замість відповідних солей металів або хелатів [124, 125].

Відомі наночастинки срібла (AgNPs) можуть бути одним із найактивніших серед біоцидів різних нанометалів [122]. Завдяки їх розмірам вони мають відмінний антимікробний потенціал серед найбільш комерціалізованих наночастинок, які широко використовуються як терапевтичні засоби, господарські товари, а також комплектуючі до текстилю і косметики [127]. В той же самий час, цито- та генотоксичність цих наночастинок *in vitro* та *in vivo*, а також їх поширення в живих організмах після введення, інтенсивно досліджуються. Токсичність AgNP є результатом комбінованої дії наночастинок та іонів срібла, що вивільняються від окисленої поверхні частинок.

Інтерналізація AgNPs клітин ссавців відбувається в основному за механізмом ендоцитозу. Наночастинки срібла та Ag⁺ іони, які вони вивільняють, можуть взаємодіяти із сірко- і фосфоровмісними біополімерами, такими як білки і ДНК, таким чином потенційно спричиняючи пошкодження клітин [97].

Спостерігається також цитотоксичність AgNPs, яка виражається через генерацію реактивних форм кисню (АФК). Підвищений окислювальний стрес може пригнічувати проліферативну активність клітин і викликати генетично запрограмовану смерть клітин (апоптоз) або некроз. Було показано, що рівень цитотоксичності AgNPs істотно залежить від багатьох факторів, таких як типи клітин, розмір і доза наночастинок, природа (і розмір) «корони» з

наночастинок і температури середовища [117]. Але особливий інтерес представляє ефект поступового повного функціонального відновлення клітин (наприклад, нормальних фібробластів легенів людини) від AgNPs-індукованих стрес.

Раніше показано, що щеплені полімер/неорганічні гібриди, зокрема наночастинок кремнезему (SiO_2) і щеплені поліакриламідні ланцюги (PAAm), є ефективними нанореакторами для *in situ* синтезу наночастинок срібла у водному середовищі [44]. Вони забезпечують високу швидкість утворення AgNPs, високий вихід наночастинок та їх довгострокову стабілізацію в розчині.

Таким чином, технології виробництва наночастинок срібла в різних носіях, направлені на досягнення їх низької цитотоксичності, біодеградабельності і високої ефективності в організмі людини і тварин, що дає можливість передбачати її ефективне впровадження в практику ветеринарної медицини та тваринництва, зокрема птахівництва.

1.3. Способи зниження контамінації харчових яєць мікрофлорою та їх санітарно-гігієнічна оцінка

Сучасне тваринництво стикається зі значними проблемами, пов'язаними зі здоров'ям всіх видів тварин. Для цього розробляються протимікробні кормові добавки або препарати як в лікувальних, так і в профілактичних цілях. Стійкість до протимікробних препаратів, повторні захворювання та спалахи інфекційних захворювань вимагають постійної розробки нових препаратів або методів для підвищення ефективності вирішення проблеми ліквідації ряду захворювань.

Проблема зменшення використання антибіотиків у тваринництві викликала пошук альтернативних засобів, що здатні проявляти бактерицидну, віруліцидну та фунгіцидну дію в організмі тварин [8, 142]. До таких препаратів належать наночастинок срібла (AgNPs) та інших благородних металів

розміром 0,1–100 нм, які широко використовуються в харчовій промисловості, медицині та тваринництві [17, 108].

Яйце є цінною їжею не тільки завдяки своїм поживним речовинам, необхідним для розвитку живого організму, але й завдяки своїй захисній системі для захисту ембріона від інфекцій мікроорганізмів. Цей захисний механізм утворений механічними бар'єрами (яєчна шкаралупа і мембрани шкаралупи) та біологічним бар'єром, головним чином, різними білками, що складають основу білка яйця з антимікробними властивостями, зокрема лізоцимами [56]. Подібним чином рівень рН і в'язкість білка пригнічують проліферацію бактерій.

Однак ці різноманітні поживні речовини одночасно створюють сприятливе середовище для розмноження мікроорганізмів, зокрема, патогенних бактерій, таких як *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, і особливо ентеробактерій [128]. Ці мікроби викликають у людини серйозні захворювання харчового походження. Тяжкість перебігу цих захворювань може варіюватися від легких симптомів до небезпечних для життя ситуацій. Крім того, мікробне забруднення яєць має важливий фактор впливу на виробництво харчових продуктів в галузі птахівництва.

Нанопрепарати срібла мають значний потенціал бути корисними для різних ветеринарних застосувань. Вони мають антигельмінтні і акарицидні властивості. Також вони використовуються з метою профілактики і лікування ряду інфекційних захворювань. Наночастинки срібла можуть покращити адаптивну імунну систему, виводимість яєць та стимулювати утворення гідроксилапатиту. Також відмічається здатність підвищувати ефективність нанопрепаратів срібла навіть при зменшених дозах.

Велика кількість дослідників виявили, що випоювання нанопрепарату срібла не впливало на кишковий мікробний профіль курчат-бройлерів. Разом з тим у курчат-бройлерів відзначено погіршення показників росту та господарських ознак, яким випоювали AgNPs з питною водою (до 12 ppm). Застосування AgNPs шляхом випоювання в концентрації 50 ppm знижувало

ріст курчат-бройлерів, порушувало імунні функції, не проявляло антибактеріальну дію на різні групи кишкових бактерій. Крім того, дослідження *in vivo* з курчачими і перепелиними ембріонами показали, що додавання AgNP з питною водою не впливає на ріст і ембріональний розвиток. Наночастинки срібла впливають на утилізацію азоту і концентрацію IgG у плазмі, однак вони не впливають на мікробні популяції в травному тракті, енергетичний обмін, ріст і продуктивність курей [161].

Людська, а також ветеринарна медицина в даний час бореться з інфекціями, що ускладнюють незначні рани і хірургічні рубці, а також численними вторинними інфекціями, індукованими хворобами різної етіології. Частою проблемою лікування інфекційних захворювань є підвищення антибіотикорезистентності мікрофлори, що викликано невідповідними показаннями та надмірним використанням антибіотиків. Завдяки цьому багато сучасних зусиль зосереджено на розробці альтернативи антибіотикам. Вивчення історії може виявитися корисним в цьому випадку. Антибактеріальні властивості срібла відомі давно. Максимально використовувати його антибактеріальну активність можна здійснювати за допомогою нанотехнологій.

Сучасна інтенсивна система ведення тваринництва стикається зі зростаючим тиском для боротьби з різними проблемами, пов'язаними зі здоров'ям тварин. Для цього будуть потрібні протимікробні кормові добавки або препарати або в лікувальних, або в профілактичних цілях [89, 91]. Тим не менш, стійкість до протимікробних препаратів, повторні захворювання та спалахи нових захворювань вимагають необхідності розробки нових препаратів або методів управління для підвищення ефективності встановлених препаратів. Наночастинки срібла мають потенціал бути корисними для різних ветеринарних застосувань, оскільки вони мають антигельмінтні і акарицидні властивості. Наносрібло також має потенціал для застосування в якості профілактичного і лікувального препарату проти вірусу бурсальної інфекційної хвороби птиці. Наночастинки срібла можуть покращити

адаптивну імунну систему, виводимість яєць та стимулювати утворення гідроксилапатиту. Срібні наночастинки можуть допомогти швидкому загоєнню ран, зокрема хірургічних ран у багатьох випадках втручання в організм. Крім того, вони мають здатність підвищувати ефективність традиційних препаратів навіть при менших дозах застосування. Наночастинки срібла можуть застосовуватися в заходах біобезпеки в господарствах в скотомогильниках, для обкурювання інкубаторів, стерилізації будиночків і брудерів.

У дослідженні [153] показано, що серед бактерій родин, які найчастіше виділялися у птахівництві, були ідентифіковані *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter freundii*. На поверхні яєчної шкаралупи спостерігали наявність паличок *Salmonella*, тобто *S. enteritidis* і *S. arizonae*. Якісний аналіз бактеріальної мікрофлори яєць виявив також наявність інших грамнегативних бактерій: *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Tatumella ptyseos*, *Providencia stuartii*, *Serratia liquefaciens*, *Flavimonas oryzihabitans*, *Vibrio metschnikovii*, *Leclercia adecarboxylata*, *Kluuvera* spp., *Rahnella aquatilis*, *Proteus mirabilis* і *Achromobacter* spp. Крім того, було показано, що велика частка досліджуваної яєчної шкаралупи була контамінована бактеріями роду *Staphylococcus* spp. Крім стафілококів, *Enterococcus* spp. часто ізольовані на поверхні яєчної шкаралупи і палички роду *Bacillus*. Мікробіологічне забруднення яєчної шкаралупи може бути причиною забруднення яєчних продуктів або продуктів, що містять яйця, і, як наслідок, може призвести до інтоксикації або харчових інфекцій у людей. В основному, це відбувається через недотримання гігієнічних норм. Отже, мікробіологічна чистота яєчної шкаралупи є одним із основних критеріїв оцінки цінності цього продукту в маркетингу та переробці [152, 153].

Згідно з діючими стандартами виробництва, на більшості підприємств харчової промисловості, включаючи виробництво яєць і птахівництва, запроваджено обов'язковий контроль мікробіологічної та хімічної якості повітря та виробничих приміщень, а також зобов'язання забезпечити належну

чистоту. Система оцінки критичних контрольних точок у виробництві на основі аналізу ризиків (Hazard Analysis Critical Control Points, HACCP), яка впроваджена в харчовій промисловості, забезпечує мікробіологічну безпеку продукту та забезпечує ефективний захист від повторного зараження. Цей метод дозволяє локалізувати місця та джерела ризику біологічної, фізичної та хімічної небезпеки на певних стадіях виробництва, а також дає змогу установам установлювати критичні контрольні точки, де ці небезпеки можна контролювати і ліквідувати (або мінімізувати).

Кількість хімічних засобів, що використовуються для дезінфекції в харчовій промисловості, обмежена через негативний вплив цих сполук на організм людини, а також через труднощі з розчинністю та можливістю прямого застосування. Крім того, екологічно чистий спосіб життя багатьох споживачів змушує харчові технології використовувати тільки хімічні сполуки, які зустрічаються в природі. Серед переважних добавок, що знешкоджують бактеріальну флору, велика група органічних кислот та їх солей, які зазвичай вважаються безпечними. Лимонна кислота відноситься до цієї групи і дозволена до використання в харчовій промисловості. Дослідження щодо знищення мікроорганізмів проводилися різними методами, з використанням різноманітних хімічних сполук, включаючи органічні кислоти, гексадецилпіридиній хлорид, ортофосфат натрію, перекис водню, і бікарбонат натрію. Не всі ці методи виявилися ефективними, тому ведеться постійний пошук ефективних способів знищення бактерій і грибів. Формальдегід зазвичай використовується в інкубаційних заводах через його низьку вартість і ефективну біоцидну дію, при цьому мало уваги приділяється токсичним і канцерогенним ефектам його використання [153]. Ця сполука має здатність пошкоджувати більшість мікроорганізмів, що знаходяться на зовнішньому шарі яєчної шкаралупи. Його використовують у газоподібному вигляді або у вигляді 40% водного розчину, відомого як формалін. Формальдегід є простим у застосуванні та ефективним дезінфікуючим засобом, але викликає подразнення очей та слизових оболонок дихальної

системи. Це сильна протоплазматична отрута, що викликає дегенеративні зміни клітин паренхіми печінки, нирок і серця тварин і людини. Всі ці дегенеративні зміни зачіпають не тільки сітківку, а й зоровий нерв і епітелій рогівки тварин і людини.

Контроль мікроорганізмів у промисловому процесі важливий для виробництва та реалізації інкубаційних та столових яєць. У попередньому дослідженні виявлено, що діоксид хлору (ClO_2) за належної концентрації та вологості може значно зменшити навантаження *Salmonella spp.* на яєчній шкаралупі. У цьому дослідженні порівняно зниження ефективності мікробного забруднення поверхні інкубаційних і столових яєць, внутрішньої якості столових яєць та виводимість після обох традиційних методів (миття та УФ-випромінювання, фумігація формаліном) і дезінфекція газом ClO_2 . Застосування дезінфекції газом ClO_2 у дозі 40 ppm для столових та інкубаційних яєць відповідно, зменшило кількість аеробних мікроорганізмів. Крім того спостерігали, що доза 40 ppm ClO_2 не вплинула на внутрішню якість столових яєць у порівнянні з методом УФ-обробки. Завдяки цим результатам рекомендовано використовувати газ ClO_2 як безпечний дезінфікуючий засіб, який ефективно контролює поверхневі мікроорганізми яєць, не впливаючи на якість яєць [30].

Було показано, що мікрохвилі викликають термічне, а також нетеплове знищення патогенів, таких як *Salmonella enteritidis*, яка зазвичай виявляється в яйцях. Метою цього дослідження було вивчити використання нової спрямованої мікрохвильової технології для зменшення чисельності *Salmonella enteritidis* без будь-яких шкідливих впливів на якість білих і коричневих курячих яєць. Застосування спрямованої мікрохвильової технології призвело до 2-логарифмічного зменшення чисельності *Salmonella enteritidis* як у високому (10^5 КУО/г), так і в низькому (10^2 КУО/г) інокуляті. У сукупності ці результати вказують на те, що застосування спрямованої мікрохвильової технології може зменшити кількість *Salmonella enteritidis* в яйцях, не завдаючи шкоди якості [81].

Альтернативою можуть бути наночастинки срібла, які, згідно з літературними даними, демонструють добрі біоцидні властивості. Запропоновані препарати також можуть бути ефективним засобом нейтралізації газоподібних контамінантів, що утворюються в процесі інкубації яєць [74].

Завдяки своїм біоцидним властивостям наносрібло стало важливим і цінним комерційним продуктом у харчовій промисловості (наприклад, упаковка та контейнери для зберігання їжі), швейній промисловості (наприклад, антибактеріальний одяг), медичній промисловості (наприклад, марлеві пов'язки) та інші [94].

Наночастинки срібла є ефективними факторами ураження широкого спектру грамнегативних і грампозитивних бактерій, не виключаючи штамів, стійких до антибіотиків [106]. Грамнегативні бактерії включають роди *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella* та *Vibrio*, тоді як грампозитивні бактерії включають такі роди, як *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* і *Streptococcus*. Бактерії, стійкі до антибіотиків, найчастіше стійкі до метацикліну та ванкоміцину, включаючи деякі штами *Staphylococcus aureus* і *Enterococcus faecium*. Останні дослідження показали, що наночастинки срібла діаметром 22,5 нм підвищують антибактеріальну активність деяких антибіотиків, таких як пеніцилін G, амоксицилін, еритроміцин, кліндаміцин і ванкоміцин. Останні дослідження виявили перспективні властивості наносрібла проти вірусів, навіть проти вірусу ВІЛ-1. Наночастинки срібла пригнічують реплікацію цього вірусу [цит. за 102].

Застосування наносрібла для знищення мікофлори також дає задовільні результати. Дослідження підтвердили, що наночастинки срібла є ефективним і швидкодіючим фактором проти широкого спектру поширених грибів, включаючи такі роди, як *Aspergillus*, *Candida* і *Saccharomyces*. Крім того, було показано, що наночастинки срібла виявляють помітну активність проти дріжджів, виділених із зараженого коров'ячого вимені [140].

Наносрібло використовується у тваринництві як засіб для дезінфекції транспортних камер або приміщень для утримання тварин. Проведено дослідження щодо визначення рівня виділення аміаку з овечого гною після застосування препарату на основі наночастинок срібла з додаванням мінерального сорбенту. Зроблено висновок, що застосування даного препарату призвело до зменшення викидів аміаку з землі.

В ряді досліджень доведено позитивний ефект при застосуванні наночастинок срібла як дезінфектантів [34], стимуляторів імунної відповіді організму [77-79], антиканцерогенних [52], профілактичних і терапевтичних засобів проти вірусних і бактеріальних інфекцій [72, 114, 135], а також проти паразитарних збудників [130].

Поряд з цим, є роботи, де автори відзначають, що наночастинок срібла проявляють негативний вплив на організм птахів, який характеризується зниженням продуктивності та відсутністю бактерицидного ефекту відносно окремих збудників інфекційних захворювань [161]. Зокрема, було показано, що AgNPs викликали залежну від дози токсичність, а багаторазове введення їх щурам викликало важку (гостру) токсичність, яка виражалась у застійних явищах, крововиливах, клітинній дегенерації, апоптозі та некрозі печінкової і ниркової тканин. У сироватці крові цих тварин препарат наносрібла викликав підвищення рівнів малонового діальдегіду, активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та зниження рівня глутатіону, імуноглобулінів G, M і загального білка [60].

Дія препаратів наносрібла на морфологічні та біохімічні параметри крові тварин залежить від багатьох факторів, у тому числі від виду і породи тварин [1, 63], їх фізіологічного стану, статі [62], дози препарату [154], властивостей стабілізатора AgNPs [14], розміру частинок [24] і методу синтезу наночастинок [105, 116, 170].

Таким чином, можна заключити, що впровадження в практику виробництва харчових яєць препаратів наносрібла залежить не лише від їх

дози, тривалості і режиму у використання, але й від носіїв, виду тварин, їх фізіологічного стану, виду, віку і господарського призначення.

1.4. Заключення з огляду літературних джерел

Відомий факт, що курячі яйця відносяться до дієтичних продуктів харчування людини і широко використовуються не лише в харчовій, але й у фармацевтичній промисловості для виготовлення низки біопрепаратів. Тому якість та безпечність курячих яєць виходить на перший план як для виробників, так і для споживачів цього продукту.

Враховуючи гармонізацію ветеринарного законодавства України до законодавчої бази Європейського союзу, в Україні запроваджено контроль і обмеження використання антибіотиків не лише як стимуляторів продуктивності, але й з лікувальною та профілактичною метою.

Значна концентрація поголів'я курей на обмежених виробничих майданчиках сприяє надзвичайно швидкому поширенню інфекційних та інвазійних захворювань, які призводять до значної загибелі птиці, зниження продуктивності та якості і безпечності продукції. Це у свою чергу спричиняє значні економічні збитки, що ведуть до зниження рентабельності виробництва харчових продуктів, зокрема яєць.

В таких умовах виникає проблема збереження чисельності поголів'я курей на великих підприємствах з виробництва харчових яєць. Одним зі способів вирішення проблеми є розробка значної кількості біологічних засобів захисту, до яких відносяться вакцини, однак вони не завжди дають гарантований захист і мають низку побічних ефектів, що потребує постійного вдосконалення і пошуку нових засобів захисту тварин. Ще одним засобом, який використовувався у тваринництві декілька десятиліть поспіль, були антибіотики, однак у патогенної та умовно патогенної мікрофлори виникла стійка резистентність до цілих груп антибактеріальних препаратів, що знизило

ефективність лікування інфекційних захворювань не лише у тваринництві, а й в гуманній медицині.

Пошук альтернативи антибіотикам сприяв розвитку нанотехнологій, які пов'язані з розробкою препаратів на основі благородних металів, зокрема срібла в різних носіях.

Розробка таких препаратів потребує детального і всебічного дослідження їх властивостей, впливу на клінічний стан, метаболічний статус, продуктивність, якість та безпечність продукції курей, а також розробки та обґрунтування оптимальних доз і режимів використання цих препаратів під час виробництва харчових яєць.

Основною проблемою, з якою стикаються вчені і практики в даному відношенні є токсичність препаратів срібла, яке відносяться до важких металів і здатне кумулюватися у тканинах не лише продуктивних тварин, але й людини.

Тому пошук надійних носіїв наносрібла, які були б здатні безперешкодно досягати органів-мішеней, володіти високою ефективністю в низьких дозах, а також були б здатні до біодеградації в організмі та навколишньому середовищі, є першочергове завдання науковців і практиків.

Дослідження, які виконані в даній дисертаційній роботі, призначені для розширення і поглиблення розуміння впливу препаратів наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на показники клініко-гематологічного стану курей, їх метаболічний статус, якість і безпечність харчових яєць.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Схема і умови досліджень

Для досягнення мети було проведено два наукових досліді.

Метою **першого досліді** було синтезувати препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних носіїв. Дослід було проведено в умовах лабораторії Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України (Додаток Б).

Метою **другого досліді** було зробити санітарно-гігієнічну оцінку препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів при застосуванні курям-несучкам (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Схема досліді по впоюванню препарату наносрібла куркам-несучкам, n=15

Групи курей	Концентрація срібла у воді, мг/л	Умови досліді
Контрольна (n=15)	0	ОР
Дослідна 1 (n=15)	1,0 (0,2 мг/курку/добу)	1; 10; 20 доба – ОР+препарат наносрібла один раз на добу з водою
Дослідна 2 (n=15)	2,0 (0,4 мг/курку/добу)	1; 10; 20 доба – ОР+препарат наносрібла один раз на добу з водою

Примітка ОР – основний раціон

Всі експерименти проведено з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях від 1986 р., а також Закону України

«Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р. № 3447-IV
в редакції від 04.08.2017 р.

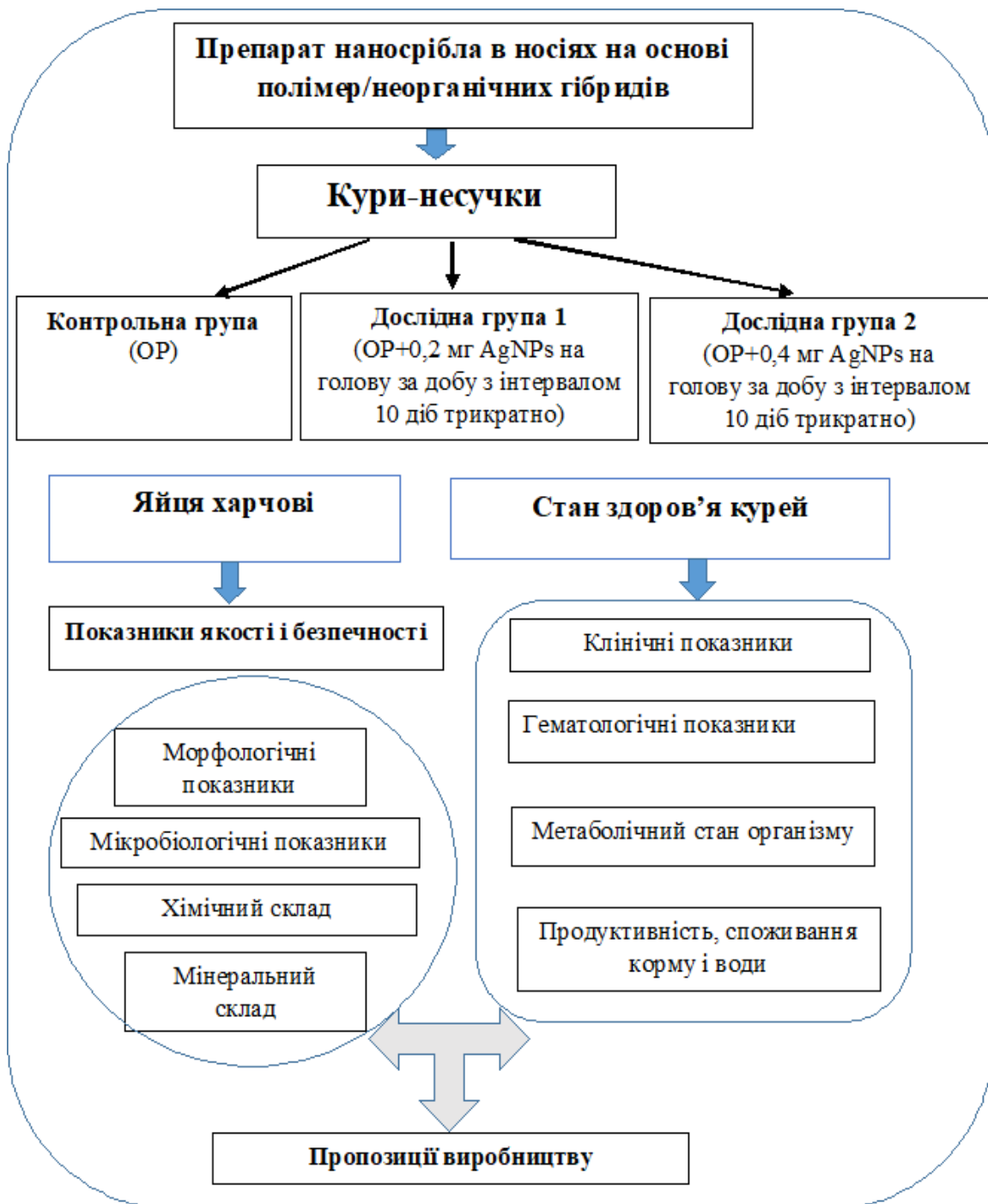


Рис. 2.1. Загальна схема досліджень

Дослідження схвалено комісією з біоетики Національного університету біоресурсів і природокористування України від 11.2018 р. Дисертаційна робота виконана на базі кафедри ветеринарної гігієни імені професора

А.К. Скороходька Національного університету біоресурсів і природокористування України та Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК в період з 2018 по 2023 роки. Загальна схема досліджень наведена на рис. 2.1.

Для досліду використовували 45 курей-несучок кросу Хай Лайн W36 у віці 38 тижнів. Курей за принципом аналогів розділили на 3 групи ($n = 15$) і після адаптації випоювали розчин препарату наносрібла в гібридних носіях з концентрацією $C_{AgNPs} = 0, 1,0$ і $2,0$ мг/л, що відповідало дозі $0, 0,2$ та $0,4$ мг наносрібла на курку за добу 3 рази в місяць з інтервалом 10 діб. Всіх курей годували комерційним комбікормом, склад якого відповідав потребі птиці в поживних і біологічно активних речовинах.

Напування курей здійснювали вволю за допомогою чашкових поїлок, які були обладнані градуйованим циліндром для обліку споживання розчину препарату наносрібла, а також кількості води. Курей утримували в приміщенні з регульованою вентиляцією в клітках по 5 голів. Світловий день становив 16 годин (інтенсивність освітлення – 30 люкс), період темряви – 8 годин. Температура повітря в приміщенні підтримували на рівні $21-22$ °С, відносну вологість – $60-62\%$.

Всю птицю годували повнораціонним комбікормом, який відповідав потребам птиці в поживних та біологічно активних речовинах: (г/кг): кукурудза – 500,85, пшениця – 90,00, макуха соєва – 179,00, макуха соняшникова – 96,00, вапняк – 114,00, монокальцій фосфат – 10,00, сіль кухонна – 2,30, Інтокс (сорбент) – 1,00, метіонін – 1,30, Проактіво (пробіотик) – 1,00, мінеральний комплекс Rovimix – 1,00, лізин – 1,60, Міллерзайм III 150 (мультиензимна добавка) – 0,15, сульфат натрію – 1,30, холін хлорид – 0,30, вітамінний комплекс – 0,20. У 100 г комбікорму міститься: волога – 10,40 г, сирий протеїн – 16,22 г, кальцій – 4,76 г, фосфор – 0,77 г, натрій – 0,20 г, обмінна енергія – 291,2 ккал.

2.2. Методи досліджень

2.2.1. Умови синтезу препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів. Препарат наносрібла, що містить біосумісні та здатні до біологічного розкладання носії, наповнені малими наночастинками срібла, був отриманий шляхом синтезу щепленого гібриду діоксиду кремнію/поліакриламід у та використання його як гідрофільної матриці для формування на місці AgNPs. Чистий гібрид утворював компактні майже сферичні частинки з $d = 2\text{--}45$ нм та їх фрактальні агрегати, подібні до винограду у водному середовищі. Реакція борогідридного відновлення іонів срібла в гібридних розчинах протікала з високою швидкістю та виходом і завершувалася протягом 20 хв. Це призвело до появи в «короні» гібридного полімеру невеликих сферичних AgNPs розміром 1,2–9,6 нм. Утворення наночастинок срібла супроводжувалося набуханням гібридних частинок (до 31–47 нм) і «відривом» полімерних графтів від поверхні кремнезему. В отриманому препараті наночастинок срібла залишалися стійкими до агрегації і не вивільнялися з гібридних носіїв за нормальних фізіологічних умов.

2.2.2. Визначення показників клінічного стану та гематологічних показників у курей. Дослідження клінічного стану птиці проводили за допомогою загальноприйнятих методик [193]. Температуру тіла курей визначали у клоаці використовуючи електронний термометр. Дихальні рухи у курей-несучок рахували за допомогою фонендоскопа за 1 хвилину.

Зважування курей проводили на електронних вагах марки Vitek модель VT- 2415 з точністю до 1 г за принципом груп аналогів попередньо розділивши їх на 3 групи: по 15 голів у кожній.

На 10 добу після кожного випоювання розчину препарату наносрібла зранку до годівлі відбирали кров з підкрильцевої вени від курей кожної групи у пробірці з антикоагулянтом ЕДТА для визначення формених елементів, гематокриту і гемоглобіну в крові. В крові визначали гематокрит шляхом

центрифугування цільної крові в капілярах з використанням центрифуги CM-3 MICROmed (Україна) та визначення співвідношення плазми крові до формених елементів у %. Всі клітини крові підраховували у мазках мануальним методом. Суму еритроцитів виражали у $10^{12}/л$.

Для визначення кількості лейкоцитів проби цільної крові фарбували з використанням наборів реактивів Лейкодиф 200 (LDF 200) (Erba Lachema, Чехія). Суму лейкоцитів виражали в $10^9/л$. Диференціальний підрахунок лейкоцитів проводили у мазках цільної крові пофарбованих за Pappenheim. Для цього підраховували 100 клітин і визначали їх відсоткове співвідношення до загальної кількості лейкоцитів.

2.2.3. Визначення показників обміну речовин у курей. У крові курей визначали вміст гемоглобіну, а в сироватці крові – вміст загального білку, альбуміну, креатиніну, глюкози, холестеролу, кальцію загального, фосфору неорганічного, калію, магнію, а також активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази, гама-глутамілтранспептидази (ГГТ) з використанням наборів реактивів фірми Pointe Scientific Inc. (США), методик, що додаються до наборів реактивів та напівавтоматичного аналізатора Pointe 180 (Польща).

Вміст гемоглобіну у крові курей визначали гемоглобінціангідриновим методом з використанням реактивів фірми Pointe Scientific Inc. (США)

Активність аспартатамінотрансферази в сироватці крові курей визначали методом, в основі якого лежить здатність аспартатамінотрансферази каталізувати перенесення аміногрупи від L-аспарагінової кислоти на α -кетоглутарат з подальшим утворенням оксалоацетату та L-глутамату. Оксалоацетат піддається редукції з одночасним окисленням NADH до NAD⁺ в присутності каталізатора малатдегідрогенази, рівень зменшення абсорбції забарвленого розчину визначається фотометрично.

В основі методу визначення активності аланінамінотрансферази в сироватці крові курей полягає здатність аланінамінотрансферази каталізувати

перенесення аміногрупи від L-аланіну до α -кетоглутарату з утворенням пірувату і L-глутамату. В подальшому лактатдегідрогеназа каталізує редукцію пірувату і окислення NADH до NAD^+ в процесі цього відбувається зменшення абсорбції забарвленого розчину, що реєструється фотометрично.

Активність лужної фосфатази в сироватці крові визначали на основі здатності даного фермента гідролізувати 3-нітрофеніл фосфат до паранітрофенолу і фосфату. Кількість гідролізованого p-нітрофенілфосфату вимірюється фотометрично.

Активність гама-глутамілтранспептидази в сироватці крові курей визначали за методикою, яка ґрунтується на здатності гама-глутамілтранспептидази каталізувати перехід глутамільної групи L- γ -глутамілкарбоксі-4-нітроаналід з утворенням забарвленої сполуки, яка визначається фотометрично.

Вміст калію визначали з використанням тетрафенілборату, які в лужному середовищі формують мутну емульсію, яка визначається колориметрично.

Вміст магнію визначали за методом, який ґрунтується на здатності забарвлюючого ксилідилу блакитного формувати з іонами магнію комплекс блакитно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

Концентрацію креатиніну в сироватці крові визначали за принципом його реакції з пікриновою кислотою в лужному середовищі та утворенні кольорової сполуки, інтенсивність забарвлення якої реєстрували фотометрично.

Вміст загального білку в сироватці крові курей визначали з використанням Біуретового реактиву. В основі методу лежить здатність утворення білків з іонами міді сполуки фіолетового кольору, інтенсивність якої прямо пропорційна вмісту білку в пробі і визначається фотометрично.

Вміст альбумін визначали за реакцією з бромкрезолом зеленим, який здатний зв'язуватись з альбуміном з утворенням блакитно-зеленого кольору, який визначається фотометрично.

Вміст глюкози в сироватці крові курей визначали глюкозидазним методом. В основі методу лежить здатність глюкози у присутності

глюкозооксидази окислюватись киснем до глюконової кислоти та перекису водню, який здатний вступати у реакцію з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміну червоно-фіолетового кольору, кількість якого визначається фотометрично.

Концентрацію холестеролу у сироватці крові курей визначали за принципом, який полягає в його здатності під дією холестериноксидази окислюватися киснем до холестен-3-ону та перекису водню, який під дією пероксидази в реакції з фенолом та 4-аміноантипірином утворює хінонімін рожево-червоного кольору, який реєструється фотометрично.

Вміст кальцію загального в сироватці крові визначали за принципом, який полягає в здатності кальцію вступати в реакцію з Арсеназо III в слаболужному середовищі з утворенням сполуки пурпурного кольору, здатної визначатися фотометрично.

Вміст фосфору неорганічного в сироватці крові курей визначали за методом, який ґрунтується на здатності неорганічних фосфатів реагувати з молібдатом амонію в кислому середовищі з утворенням фосфомолібдату амонію з подальшим вимірюванням оптичної щільності.

2.2.4. Дослідження морфологічних показників та хімічного складу яєць. В дослідженнях визначали масу яєць, після цього відділяли шкаралупу, жовток і білок [182]. Після зважування жовтка і висушування шкаралупи розрахунковим методом визначали масу білка. В яйцях визначали вміст води, сухої речовини, сирої золи, сирого протеїну, сирого жиру, кальцію та фосфору [192].

Масову частку вологи визначали шляхом послідовних зважувань та висушувань проб яєць у сушильній шафі. Суху речовину в пробах яєць розраховували на основі даних визначення масової частки вологи.

Масову частку азоту в яйцях визначали методом К'ельдаля, мінералізацію проб проводили з використанням дигестора для вологої мінералізації DK 6 (Velp Scientifica, Італія), відгонку аміаку здійснювали на напівавтоматичному

апараті для перегонки з парою за К'єльдалем UDK 129 (Velp Scientifica, Італія). Після визначення азоту в пробах яєць розраховували масову частку протеїну.

Масову частку золи в яйцях визначали методом спалювання зразків у муфельній печі Nabertherm L15 (Germany).

Масову частку жиру визначали шляхом знежирювання проб яєць за допомогою діетилового ефіру методом Сокслета з використанням автоматичного екстракційного приладу SER 148 (Velp Scientifica, Італія). Вміст кальцію і фосфору визначали в сирій золі після мінералізації яєць колориметричним методом.

2.2.5. Визначення мінерального складу яєць та посліду курей. Цією процедурою передбачається визначення частки срібла, міді, заліза, цинку та свинцю за допомогою атомної емісії, яка вимірюється методом оптичної спектроскопії.

Підготовлена проба під час розпилення утворює аерозоль, що транспортується у плазмовий пальник, де відбувається збудження. Характеристичні атомно-емісійні лінії генерує радіочастотна індуктивно зв'язана плазма. Спектр випромінення розкладається на дифракційні ґратці спектрометра, при цьому інтенсивність ліній реєструють детектори. Сигнали, що надходять від детекторів контролюються та обробляються комп'ютерною системою. Для компенсації змінного внеску фону, використовується відповідний метод коригування.

Для визначення вмісту мінеральних елементів яйця зважували, механічно відокремлювали шкаралупу, білок і жовток і зважували. Шкаралупу гомогенізували на приладі Retech GM 200 (Germany) і відбирали по 0,6 г від кожної проби для аналізу. Проби білка та жовтка яєць відбирали по 0,6 г без попередньої гомогенізації.

Мінералізацію проб проводили за допомогою системи мікрохвильового розкладання проб закритого типу Milestone Ethnos Easy (Італія). Після мінералізації та фільтрації проби аналізували за допомогою Plasma Quant PQ

9000 ICP OES (Analytik Jena, Germany). Робоча конфігурація та параметри плазми: розпилюючий потік – 0,68 л/хв; потужність, що підводиться до плазми – 1200-1700 Вт; швидкість подачі розчинів – 19 об/хв (швидкий режим 78 об/хв); газ розпилювача – 0,5 л/хв; допоміжний потік – 0.5 л/хв; газ плазми – 12 л/хв. Для калібрування спектрометра використовували стандартні багатокомпонентні розчини для атомно-емісійної спектрометрії (Merck, Germany). Аналітичні сигнали оброблялися автоматично за допомогою програмного забезпечення спектрометра, використовуючи калібрувальні залежності з урахуванням корекції фону, а при необхідності – взаємного впливу елементів, що досліджуються. Результат вимірювання відповідав середньому арифметичному значенню кількох паралельних вимірювань кожної проби.

2.2.6. Визначення бактеріального обсіменіння харчових яєць та посліду курей. Для визначення чисельності мезофільних аеробних та мезофільних анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ), бактерій родів *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella spp.*, а також *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. aureus* та *S. epidermidis* робили змиви з поверхні шкаралупи яєць. В жовтках свіжознесених курячих яєць визначали чисельність МАФАНМ за ДСТУ ISO 4833:2006 [188] та ДСТУ ISO 18593:2006 [187].

Для визначення кількості МАФАНМ на поверхні шкаралупи та в жовтках яєць використовували середовище Plate count agar M091. Для виділення та кількісного підрахунку бактерій родів *Citrobacter*, *Klebsiella* використовували середовища MacConkey Broth M007 та Endo Agar M029 за ДСТУ 8104:2015 [181], визначення бактерій *Staphylococcus aureus* в яйцях проводили за ДСТУ 8104:2015 [184], ДСТУ ISO 6888-1:2003 [189].

Для виділення патогенних і непатогенних стафілококів використовували Baird Parker Agar M043, для *P. mirabilis* – Xylose Lysine Deoxycholate Agar M031, для *Salmonella* – Bismuth Sulphite Agar M027 та Xylose Lysine Deoxycholate Agar M031 ДСТУ 8104:2015 [184], ДСТУ EN 12824:2004 [185].

В посліді курей визначали кількість бактерій родів *Bifidobacterium* ДСТУ 7355:2013 [183] та *Lactobacillus* ДСТУ IDF 149A:2003 [186]. Для *Bifidobacterium* використовували Bifidobacterium Agar M 1396, для *Lactobacillus* – Lactobacillus MRS Agar M641. Для цього готували послідовні дев'ятиразові розведення в стерильному фізіологічному розчині. Аналіз мікрофлори в посліді, на шкаралупі і в жовтках яєць проводили одночасно. У бактеріологічних дослідженнях використовували середовища та діагностичні тести виробництва компанії HiMedia (India).

Кількість мікроорганізмів визначали в колонієутворюючих одиницях (КУО), результати виражали в lg КУО/см² поверхні шкаралупи яєць та lg КУО/г жовтка чи посліду. Родову і видову ідентифікацію виділених мікроорганізмів проводили відповідно до чинних методик.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми ANOVA, дані в таблицях подано у вигляді $x \pm SD$. Різницю між групами вважали вірогідною з використанням тесту Tukey при $p \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Санітарно-гігієнічна характеристика препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів

Для досліджень на кафедрі полімерної фізики Інституту високомолекулярної хімії НАН була синтезована дослідна партія препарату наносрібла в носіях на основі полімерних неорганічних гібридів шляхом синтезу наночастинок срібла *in situ* в розчинах біосумісного і біодеградабельного полімер/неорганічного гібрида на основі золю кремнезему і поліакриламідру. Гідрофільний полімер/неорганічний гібрид використовувався як носій наночастинок срібла і синтезувався шляхом безпосереднього щеплення поліакриламідру «від» немодифікованої поверхні золю кремнезему. Отриманий гібридний і кінцевий препарат з наночастинками срібла ретельно охарактеризовані методами елементного аналізу, потенціометричного титрування, диференціального термогравіметричного аналізу, віскозиметрії, електронної спектроскопії, ширококутного рентгенівського розсіювання і проникної електронної мікроскопії. Розмір частинок срібла при приготуванні становив < 10 нм. Для тестування препарат очищали від сторонніх підпродуктів синтезу *in situ* і готували його водні дисперсії з двома концентраціями наночастинок срібла – 1,0 і 2,0 мг/л.

Зразок SPH був синтезований методом радикальної щепленої полімеризації акриламідру (AAm) з поверхні золю кремнезему.

Aerosil A-175 фірми «Orisil» (Україна) з питомою поверхнею $1,82 \cdot 10^5$ м²/кг, церію (IV) аміачної селітри (CAN) фірми «Aldrich» (США) та AAm фірми «Merck» (Німеччина). використаний у цьому синтезі. Були обрані вагові співвідношення: $[Ce^{IV}]/[SiO_2] = 0,2$ і $[Ce^{IV}]/[AAm] = 7,72 \cdot 10^{-3}$ і концентрація $C_{SiO_2} = 1,35$ г/л. Синтез проводили при 23°C в інертній (аргоновій) атмосфері при перемішуванні протягом 24 годин шляхом додавання CAN до 100 см³

водної дисперсії золю кремнезему, а потім необхідної маси ААм. Гелеподібний продукт розбавляли деіонізованою водою, повторно осаджували ацетоном, повторно розчиняли у воді та ліофілізували.

Основні молекулярні параметри зразка SPH визначено за загальною методикою, розробленою раніше [174]. Так, середній розмір наночастинок кремнезему (R_{SiO_2}) був знайдений методом статичного світлорозсіювання. Визначення кількості (N) і молекулярної маси щеплених ланцюгів PAAm (M_{vPAAm}) проводили за допомогою елементного аналізу, динамічного термогравіметричного аналізу та віскозиметрії. Отримані молекулярні характеристики SPH наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Основні параметри синтезованого гібриду діоксид кремнію/поліакриламід

Зразок	R_{SiO_2} , nm	M_{vPAAm} , kDa	N
SPH	7,7	1513	8

Для отримання препарату AgNPs/SPH проведено *in situ* відновлення Ag^+ -іонів борогідридом натрію у водному розчині гібриду за розробленою раніше методикою [174]. Для повної конверсії Ag^+ -іонів у НЧ Ag використовували восьмикратний молярний надлишок $NaBH_4$ при обраній концентрації нітрату срібла ($C_{AgNO_3} = 36,4$ мг/л). Розчин гібриду з концентрацією $C_{SPH} = 1,0$ г/л змішували з $AgNO_3$ і зберігали 30 хв у темному боксі; потім додавали відновник. Через три хвилини після додавання відновника з'явилося жовте забарвлення, що відповідає кольору розведеної дисперсії AgNPs у воді. Утворення наночастинок контролювали за змінами інтегральної інтенсивності смуги поверхневого плазмонного резонансу (SPRB) приблизно при 400 нм в УФ-видимому спектрі. Спектри екстинкції записували кожні 3 хвилини протягом 90 хвилин в діапазоні 200-1000 нм за допомогою Cary 50 Scan UV-Vis спектрометр фірми “Varian” (США). Отриманий препарат наносрібла

повторно осадили етанолом, центрифугували при 6000 об/хв і повторно розчинили в деіонізованій воді для видалення побічних продуктів реакції відновлення. Для біологічних дослідів цей базовий препарат із $C_{AgNPs} = 24$ мг/л розводили до необхідної концентрації.

Морфологію та розмір чистого гібриду, а також його приготування з AgNPs у водних розчинах визначали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ). Мікрофотографії отримані на приладі JEM-1230 («JEOL», Японія), що працює при прискорювальній напрузі 80 kV. Невеликі краплі ($\sim 1 \cdot 10^{-4}$ мл) дисперсій гібриду та препарату наносрібла в деіонізованій воді ($C_{SPH} = 1$ г/л) наносили на мідні сітки, вкриті плівками Formvar і вуглецем. Потім їх сушили на повітрі протягом $\sim 1-2$ хв і у вакуумному ексікаторі протягом 24 годин. Розміри окремих структурних елементів на ТЕМ - зображеннях визначали при великому збільшенні за допомогою засобу перегляду зображень і факсів.

Стабільність препарату AgNPs/SPH щодо вивільнення наночастинок срібла за різних значень рН та додавання солі до $C_{NaCl} = 9$ г/л (у «фізрозчині») перевіряли за допомогою діалізу. Препарат наносрібла або дисперсію чистого SPH об'ємом 20 мл наливали в стандартну діалізну посудину, плоске дно якої замінювали напівпроникною целюлозною мембраною діаметром $\sim 3,5$ см і проникністю 20 кДа. Цю посудину занурювали на певну глибину в склянку, встановлювали на магнітну мішалку і заповнювали 100 мл різних зовнішніх середовищ, таких як деіонізована вода з рН = 5,6 і 9,0, а також розчин NaCl. Зразки зовнішнього середовища (діалізат) об'ємом 5 мл відбирали зі склянки через певний час протягом кількох діб. Їх досліджували за допомогою УФ-видимої спектроскопії, як описано вище.

Слід відмітити наявність як окремих дифузно-гібридних частинок з формою, близькою до сферичної, з переважно гладкою поверхнею, так і їх фрактальних агрегатів різного розміру та виноградоподібної форми (рис. 3.1). За допомогою ТЕМ-зображень на рисунку 1 визначено розміри окремих частинок SPH та їх фрактальних агрегатів (табл. 3.2).

Малі розміри та гладка поверхня окремих частинок SPH (рис. 3.1, табл. 3.2) підтвердили зроблений раніше висновок про сильну взаємодію ланцюгів PAAm з поверхнею кремнезему у водному середовищі.

Таблиця 3.2

Розміри структурних елементів SPH у водних розчинах

Зразок	d^a , nm	l^b , nm
SPH	20 – 45	61 – 590

Примітка: a – діаметр сферичних частинок; b – розмір (довжина) фрактальних агрегатів.

Відновлення нітрату срібла борогідридом проводили у водному розчині носіїв SPH у дві окремі стадії для досягнення максимального виходу AgNPs. На першому етапі іони срібла зв'язувалися з амідними групами ланцюгів PAAm і зі слабо негативно зарядженою поверхнею кремнезему за рахунок координаційної та електростатичної взаємодії відповідно.

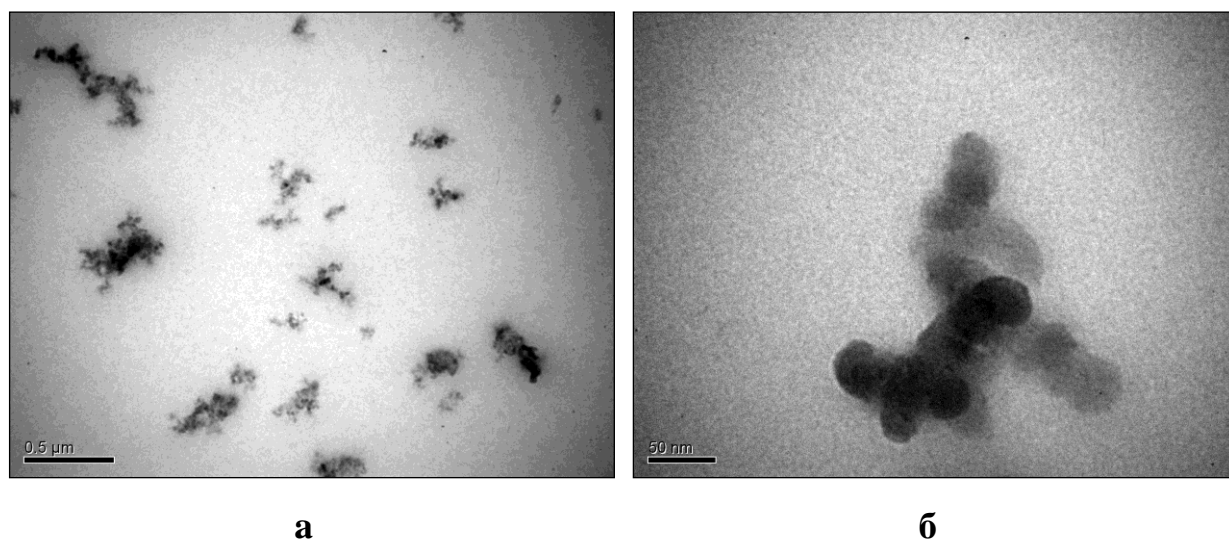


Рис. 3.1. TEM-зображення агрегатів SPH, які існують у водних розчинах, з меншим (а) та більшим (б) збільшенням. $C_{SPH} = 1$ г/л; $T = 20^\circ\text{C}$.

Це призвело до накопичення Ag^+ -іонів у полімерному шарі навколо центральних неорганічних частинок. На другому етапі доданий відновник

проникав у щеплений шар, насичений іонами срібла, і ініціював там процес відновлення з високою швидкістю та виходом AgNPs. Вирощені таким чином наночастинки срібла стабілізувалися безпосередньо в прищепленому шарі PAAm.

Результати цих досліджень дозволили передбачити достатню стійкість препарату наносрібла в організмі курей-несучок.

Останнім кроком була характеристика морфології та розміру носіїв SPH і AgNPs, що входять до них. У цих TEM -дослідженнях використовувалася базова дисперсія препарату, отримана після синтезу та очищення від небажаних побічних продуктів (рис. 3.2 а, б). На обох TEM-зображеннях можна спостерігати численні сферичні наночастинки срібла, вбудовані в набряклі окремі або агреговані носії SPH. Через сильне набухання вихідних гібридних частинок під час утворення наночастинок срібла (цей ефект добре видно з порівняння рис. 3.1 та 3.2) було складно визначити чіткі межі та точні розміри носіїв SPH разом із зв'язаними металевими наночастинками. Їхні приблизні розміри можна оцінити як ~31–47 нм. Але точні розміри наночастинок срібла легко розрахувати за допомогою рис. 3.2 (б).

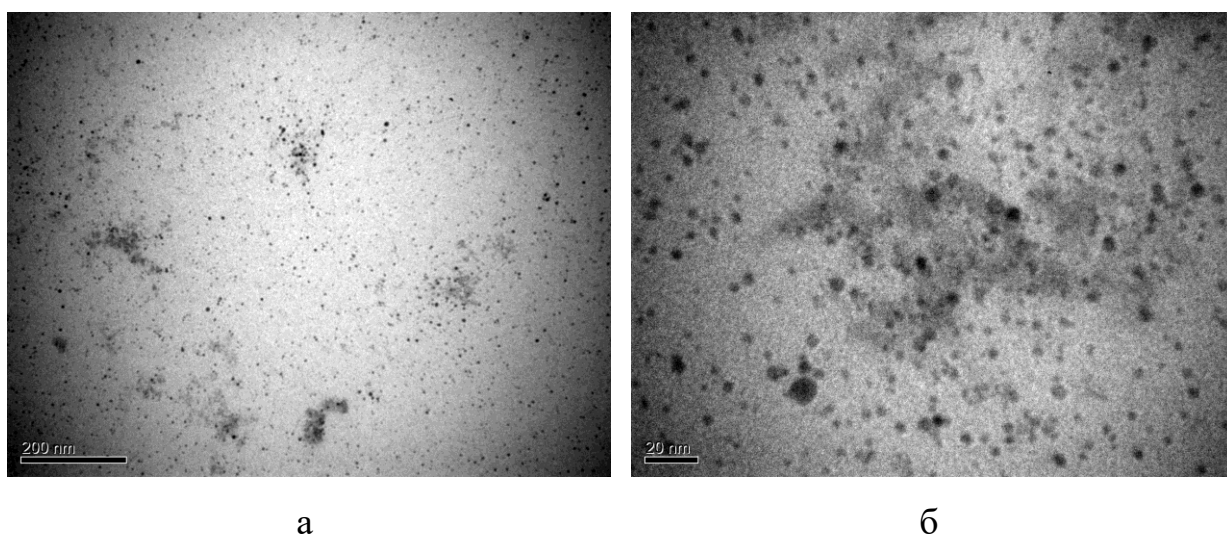


Рис. 3.2. TEM-зображення складу AgNPs/SPH з (а) меншим та (б) більшим збільшенням. $C_{SPH} = 1$ г/л; $C_{AgNPs} = 24$ мг/л; $T = 20$ °С.

Таким чином, діаметр сферичних наночастинок срібла у базовому препараті становив 1,2–9,6 нм. Слід також зазначити, що сильне набухання частинок SPH та зникнення їх меж після утворення AgNPs свідчило про «відрив» ланцюгів PAAm від поверхні кремнезему.

Для приготування питної води для курей-несучок базовий препарат розбавляли у 12 та 24 рази до досягнення $C_{\text{AgNPs}} = 1$ та 2 мг/л. Очевидно, що за цих умов відбувався процес дезагрегації, і кінцева питна вода містила переважно окремі набряклі частинки носія SPH, заповнені одним або кількома AgNP.

Результати цього підрозділу опубліковано [145, 173].

3.2. Клінічні та гематологічні показники курей при застосуванні препарату наносрібла

Однократне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливало на споживання корму, води та їх поведінку. Протягом досліджу також не відмічали загибелі чи ознак захворювань у курей піддослідних груп (табл. 3.3).

Повторне випоювання курям несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу з інтервалом 10 діб суттєво не впливало на споживання води та комбікорму порівняно з контролем протягом всього періоду експерименту (табл. 3.4).

Як видно з результатів досліджень, одержаних під час випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, споживання комбікорму, а також води птицею знаходилося в межах їх фізіологічної потреби протягом всього періоду досліджень.

Це узгоджується також з їх яєчною продуктивністю, яка відповідала стандарту кросу і вірогідно не змінювалась між групами курей.

Застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів третій раз не впливало на споживання корму, води та їх поведінку.

Таблиця 3.3

Споживання корму, води та яєчна продуктивність курей-несучок за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 15$

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Спожито комбікорму, г/курку за добу	97,0 ± 0,0	97,0 ± 0,0	97,0 ± 0,0
Спожито води, мл/курку за добу	205,2 ± 2,0	202,8 ± 2,0	203,6 ± 1,9
Середньодобова несучість, штук	14,5 ± 0,2	14,8 ± 0,1	14,6 ± 0,2

Таблиця 3.4

Споживання корму, води та яєчна продуктивність курей-несучок за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 15$

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Спожито комбікорму, г/курку за добу	97,0 ± 0,0	97,0 ± 0,0	97,0 ± 0,0
Спожито води, мл/курку за добу	202,1 ± 1,9	202,6 ± 1,8	201,8 ± 2,1
Середньодобова несучість, штук	14,6 ± 0,2	14,8 ± 0,1	14,9 ± 0,1

Це свідчить про відсутність токсичної дії препарату наносрібла в організмі курей-несучок за використання у вказаних дозах і режиму застосування (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Споживання корму, води та яєчна продуктивність курей-несучок за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 15$

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Спожито комбікорму, г/курку за добу	97,0 ± 0,0	97,0 ± 0,0	97,0 ± 0,0
Спожито води, мл/курку за добу	202,9 ± 2,3	203,9 ± 2,2	205,2 ± 2,0
Середньодобова несучість, штук	14,7 ± 0,2	14,8 ± 0,1	14,9 ± 0,1

Примітка: не виявлено жодних відмінностей між споживанням комбікорму курми, оскільки його добова норма була спожита повністю без залишків.

Протягом дослідження також не відмічали загибелі чи ознак захворювань у курей піддослідних груп. Однократне, двократне та трикратне впоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг на голову за добу не змінювало чисельність еритроцитів, лейкоцитів та їх субпопуляцій у крові курей, але знижувало гематокрит лише за однократного застосування цього препарату на 4% порівняно з контролем (табл. 3.6).

Що стосується лейкограми крові курей, то впоювання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не призводило до патологічного зсуву чисельності субпопуляцій лейкоцитів, а також до появи незрілих чи патологічних форми лейкоцитів у периферичній крові птиці (табл. 3.6-3.8).

Таблиця 3.6

Морфологічні параметри крові курей несучок після однократного застосування препарату наносрібла, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Еритроцити, $10^{12}/л$	$2,85 \pm 0,14$	$2,77 \pm 0,15$	$2,67 \pm 0,07$
Гемоглобін, г/л	$102,24 \pm 4,17$	$94,38 \pm 2,39$	$103,02 \pm 2,68$
Гематокрит, %	$28,14 \pm 0,95$	$24,14 \pm 0,71^*$	$27,00 \pm 1,04$
Лейкоцити, $10^9/л$	$24,96 \pm 1,45$	$23,78 \pm 0,47$	$24,02 \pm 0,7$
Гетерофіли, %	$41,00 \pm 2,67$	$47,80 \pm 3,40$	$45,20 \pm 3,38$
Еозинофіли, %	$4,80 \pm 1,08$	$4,00 \pm 0,79$	$4,80 \pm 0,42$
Базофіли, %	$2,00 \pm 0,79$	$1,80 \pm 0,82$	$2,60 \pm 0,84$
Моноцити, %	$5,80 \pm 1,08$	$6,20 \pm 0,74$	$4,40 \pm 0,57$
Лімфоцити, %	$46,40 \pm 3,58$	$40,20 \pm 2,04$	$43,00 \pm 3,92$

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Таблиця 3.7

Морфологічні параметри крові курей несучок після двократного застосування препарату наносрібла, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Еритроцити, $10^{12}/л$	$3,12 \pm 0,11$	$3,09 \pm 0,13$	$3,31 \pm 0,11$
Гемоглобін, г/л	$95,93 \pm 2,13$	$104,87 \pm 4,22$	$100,18 \pm 5,49$
Гематокрит, %	$27,14 \pm 0,62$	$25,93 \pm 0,75$	$27,56 \pm 0,85$
Лейкоцити, $10^9/л$	$25,86 \pm 1,45$	$26,42 \pm 1,79$	$25,64 \pm 1,96$
Гетерофіли, %	$39,40 \pm 2,71$	$40,60 \pm 2,20$	$39,40 \pm 3,03$
Еозинофіли, %	$5,60 \pm 1,04$	$5,20 \pm 1,85$	$2,00 \pm 0,22$
Базофіли, %	$1,80 \pm 0,82$	$3,20 \pm 1,08$	$1,60 \pm 0,57$
Моноцити, %	$4,80 \pm 1,56$	$7,80 \pm 1,08$	$7,80 \pm 0,89$
Лімфоцити, %	$48,40 \pm 1,68$	$43,20 \pm 2,95$	$49,20 \pm 3,27$

Це у свою чергу узгоджується з показниками клінічного стану курей-несучок, їх продуктивністю протягом всього періоду досліджень, споживанням води та кормів.

Таблиця 3.8

Морфологічні параметри крові курей несучок після двократного застосування препарату наносрібла, $x \pm SD$, $n = 5$

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Еритроцити, $10^{12}/л$	$2,89 \pm 0,09$	$3,00 \pm 0,15$	$3,00 \pm 0,15$
Гемоглобін, г/л	$102,06 \pm 5,65$	$109,33 \pm 5,29$	$109,33 \pm 5,29$
Гематокрит, %	$25,42 \pm 0,67$	$25,57 \pm 0,89$	$25,57 \pm 0,89$
Лейкоцити, $10^9/л$	$25,77 \pm 0,92$	$23,45 \pm 1,30$	$23,45 \pm 1,30$
Гетерофіли, %	$42,00 \pm 3,45$	$43,00 \pm 4,51$	$43,00 \pm 4,51$
Еозинофіли, %	$3,80 \pm 1,64$	$5,40 \pm 2,04$	$5,40 \pm 2,04$
Базофіли, %	$1,20 \pm 0,42$	$3,00 \pm 0,94$	$3,00 \pm 0,94$
Моноцити, %	$11,40 \pm 1,75$	$8,20 \pm 2,61$	$8,20 \pm 2,61$
Лімфоцити, %	$41,60 \pm 2,36$	$40,40 \pm 4,51$	$40,40 \pm 4,51$

Таким чином, одно-, дво- чи трикратне вполювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не проявляло впливу на показники клінічного стану курей, зокрема споживання кормів, води та ячну продуктивність, що узгоджується в свою чергу з показниками морфологічного складу крові, які відповідали фізіологічному рівню для птиці.

Результати цього підрозділу опубліковано [1].

3.3. Обмін речовин в організмі курей-несучок за дії препарату наносрібла

Однократне впоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в дозі 0,2 мг на курку за добу сприяло підвищенню вмісту загального білка на 40% на тлі зменшення рівня альбуміну в 3,2 раза в сироватці крові порівняно з контролем (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Біохімічні показники сироватки крові курей несучок після однократного застосування препарату наносрібла, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Загальний білок, г/л	42,30 ± 0,97	59,14 ± 1,73*	44,48 ± 1,30**
Альбумін, г/л	6,98 ± 0,16	2,20 ± 0,11*	6,96 ± 0,36**
Креатинін, μ моль/л	91,12 ± 1,47	45,09 ± 2,70*	56,56 ± 8,26*
Глюкоза, ммоль/л	4,32 ± 0,11	10,57 ± 0,38*	7,05 ± 1,33
Холестерол, мг/дкл	143,16 ± 7,06	591,91 ± 8,57*	189,98 ± 20,63**
АлАТ, Од/л	11,36 ± 0,73	19,18 ± 1,40*	12,28 ± 0,41**
АсАТ, Од/л	92,44 ± 2,18	89,44 ± 3,06	64,80 ± 6,21*,**
Лужна фосфатаза, Од/л	330,70 ± 5,40	607,50 ± 29,46*	302,92 ± 7,43*,**
ГГТ, Од/л	7,08 ± 0,30	1,12 ± 0,09*	8,85 ± 0,68**
Са, ммоль/л	4,29 ± 0,15	3,96 ± 0,3	4,38 ± 0,39
Р, ммоль/л	1,53 ± 0,21	2,34 ± 0,095*	1,74 ± 0,11**
К, ммоль/л	5,00 ± 0,13	6,30 ± 0,17*	7,48 ± 1,11
Мg, ммоль/л	0,95 ± 0,06	0,90 ± 0,08	1,22 ± 0,09*,**

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

При цьому відмічалось зниження концентрації креатиніну в сироватці крові курей майже в 2 рази порівняно з контролем.

Що стосується обміну холестеролу, то його значення у сироватці курей, яким випоювали розчин препарату наносрібла в дозі 0,2 мг/голову за добу збільшувався в 4,1 раза порівняно з контролем. Аналогічна закономірність спостерігалась і в концентрації глюкози в сироватці крові, яка зростала в 2,4 раза порівняно з контролем.

Активність ферментів, що характеризують функціональний стан печінки курей, то вона коливалась по-різному, зокрема активність АсАТ знаходилась на рівні контролю, тоді як активність АлАТ підвищувалась майже на 68%, а активність ГГТ знижувалась в 6,3 раза порівняно з контролем.

Що стосується показників мінерального обміну у тканинах курей-несучок, то за однократної дози препарату наносрібла 0,2 мг/голову вміст кальцію і магнію в сироватці крові не змінювався, але вміст фосфору неорганічного та калію зростали в 1,5 раза та на 26% відповідно порівняно з контролем.

Однократне випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозі 0,4 мг/голову за добу проявляло дещо відмінний ефект, який характеризувався відсутністю впливу на показники білкового обміну в тканинах, зокрема вміст загального білку, альбуміну порівняно з контролем, хоча за рівнем креатиніну зберігалась аналогічна закономірність, що у випадку однократного застосування курям-несучкам дози препарату наносрібла 0,2 мг/голову за добу.

Однократне випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозі 0,4 мг/голову за добу не впливало на вміст глюкози і холестеролу порівняно з контролем.

Разом з тим активність АлАТ та ГГТ не змінювалась, а активність АсАТ знижувалась в 1,4 раза, а активність лужної фосфатази – на 8% порівняно з контролем. На цьому фоні вміст кальцію, фосфору неорганічного і калію в сироватці крові курей, яким випоювали однократно препарат наносрібла в дозі

0,4 мг/голову за добу, знаходились на рівні контролю, але вміст магнію зростав на 28% (див. табл. 3.9).

В даному випадку однократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,4 мг/голову за добу проявляло значно менший вплив на показники метаболічного стану організму курей-несучок ніж доза 0,2 мг/голову за добу, тому більшість показників обміну речовин, які вірогідно відрізнялися від контролю за меншої дози, майже в тій же мірі відрізнялися і від показників метаболізму у курей, яким застосовували препарат наносрібла в дозі 0,4 мг/голову за добу.

Двократне впоювання препарату наносрібла курям-несучкам в дозі 0,2 мг/голову за добу спричиняло менші зміни метаболічного профілю у тканинах курей. Про це свідчить відсутність змін вмісту загального білку, альбумін, креатиніну і глюкози в сироватці крові, тобто білковий і вуглеводний обмін стабілізувалися у тканинах курей через інтервал в 10 діб (табл. 3.10).

Вміст холестеролу в сироватці крові курей-несучок за впоювання препарату наносрібла в дозі 0,2 мг/голову за добу перебував у межах контролю. Однак за таких умов відмічали зниження активності лужної фосфатази в 4,1 раза на противагу активності ГГТ, яка зросла в 4,2 раза порівняно з контролем.

За таких умова виявлено підвищення вмісту кальцію в сироватці крові курей в 1,5 раза на тлі зниження вмісту фосфору неорганічного в 2,1 раза порівняно з контролем, тоді як вміст калію та магнію залишались в межах контрольних величин.

Двократне впоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в дозі 0,4 мг/голову за добу проявляло значно менший ефект на метаболічний статус організму курей, ніж доза 0,2 мг/голову за добу. Це проявлялось фактично відсутністю суттєвого впливу на показники білкового обміну за винятком альбуміну, рівень якого збільшився на 24% порівняно з контролем за сталих показників вуглеводного обміну, зокрема рівня глюкози, що

узгоджується з активністю ферментів, які характеризують функціональний стан печінки АлАТ та АсАТ, а також ГГТ. В даному випадку слід відмітили лише підвищення активності лужної фосфатази в сироватці крові курей на 43% порівняно з контролем.

Таблиця 3.10

Біохімічні показники сироватки крові курей несучок після двократного застосування препарату наносрібла, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Загальний білок, г/л	66,04 ± 2,31	43,15 ± 1,42	64,58 ± 1,74**
Альбумін, г/л	6,59 ± 0,28	3,22 ± 0,16	8,19 ± 0,32*,**
Креатинін, μ моль/л	69,80 ± 2,24	73,92 ± 2,17	66,82 ± 2,35
Глюкоза, ммоль/л	10,64 ± 0,67	10,04 ± 0,29	10,33 ± 0,43
Холестерол, мг/дкл	171,18 ± 36,26	139,40 ± 5,74	211,63 ± 4,62**
АлАТ, Од/л	11,21 ± 0,59	12,65 ± 0,56	13,35 ± 0,81
АсАТ, Од/л	105,32 ± 4,24	102,64 ± 2,64	113,60 ± 2,40**
Лужна фосфатаза, Од/л	724,42 ± 75,10	175,77 ± 3,01*	1033,66 ± 24,26*,**
ГГТ, Од/л	1,72 ± 0,07	7,25 ± 0,16*	2,08 ± 0,12**
Са, ммоль/л	2,36 ± 0,24	3,63 ± 0,22*	2,65 ± 0,11**
Р, ммоль/л	2,51 ± 0,24	1,18 ± 0,06*	2,53 ± 0,14**
К, ммоль/л	4,50 ± 0,19	4,41 ± 0,19	4,72 ± 0,12
Mg, ммоль/л	1,10 ± 0,16	1,09 ± 0,09	0,95 ± 0,07

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Двократне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в дозі 0,4 мг/голову за добу не змінювало також низку показників мінерального обміну

у тканинах курей, зокрема, вмісту кальцію, фосфору, калію та магнію порівняно з контролем (див. табл. 3.10).

Як видно з одержаних результатів досліджень, трикратне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,2 мг/голову за добу сприяло певній адаптації організму птиці, що проявилось стабілізацією значної кількості показників обміну речовин у тканинах (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Біохімічні показники сироватки крові курей несучок після трикратного застосування препарату наносрібла, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Загальний білок, г/л	44,16 ± 1,39	45,96 ± 1,91	59,10 ± 1,69*,**
Альбумін, г/л	7,24 ± 0,44	7,11 ± 0,22	6,80 ± 0,28
Креатинін, μ моль/л	69,84 ± 2,99	76,00 ± 1,69	64,40 ± 2,49**
Глюкоза, ммоль/л	9,92 ± 0,59	11,88 ± 0,25	8,74 ± 0,36**
Холестерол, мг/дкл	186,04±15,71	218,24 ± 4,51	125,46 ±2,94*,**
АлАТ, Од/л	11,70 ± 0,83	13,64 ± 0,44	11,10 ± 0,57**
АсАТ, Од/л	126,40 ± 8,26	109,00 ± 4,24	137,86 ± 5,34**
Лужна фосфатаза, Од/л	186,36±11,67	204,88 ± 2,50	184,74 ± 11,60
ГГТ, Од/л	5,76 ± 0,43	6,52 ± 0,23	3,72 ± 0,28*,**
Са, ммоль/л	2,80 ± 0,23	3,17 ± 0,19*	3,00 ± 0,08
Р, ммоль/л	1,78 ± 0,25	1,15 ± 0,06	2,29 ± 0,16**
К, ммоль/л	4,38 ± 0,06	5,25 ± 0,08*	4,32 ± 0,21**
Мg, ммоль/л	1,06 ± 0,13	0,99 ± 0,05	1,12 ± 0,12

Примітка:* – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Так, вище вказана доза за трикратного застосування курям-несучкам не впливала на показники білкового обміну у тканинах, зокрема вміст загального білку, альбуміну, що узгоджується з активністю ферментів, що характеризують функціональний стан печінки – АлАТ, АсАТ, ГГТ та лужної фосфатази.

Рівень холестеролу як один з важливих показників обміну ліпідів та гормонального статусу організму також перебував у межах контрольних значень у сироватці крові птиці.

Що стосується обміну мінеральних речовин, то в даному випадку відмічали збільшення вмісту кальцію на 13% та на 20% рівня калію за сталих значень фосфору неорганічного та магнію у сироватці крові курей.

Трикратне впоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,4 мг на голову за добу не впливало на більшість біохімічних показників за винятком вмісту загального білку, як підвищувався на 34% на фоні зниження вмісту холестеролу в 1,5 раза та активності ГГТ в 1,5 раза порівняно з контролем.

В цей період в сироватці крові курей, що отримували 0,2 мг AgNPs на голову за добу, рівень таких метаболітів як загальний білок та активність АсАТ та був нижчим ($p < 0,05$), а креатиніну, глюкози, холестеролу, калію, активність АлАТ та ГГТ був вищим ($p < 0,05$) ніж курей, які отримували AgNPs в дозі 0,4 мг на курку за добу (табл. 3.11).

Таким чином, впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу з інтервалом 10 діб проявляє вплив на окремі показники білкового, вуглеводного, ліпідного та мінерального обміну, інтенсивність вираження яких знижується з часом. Доведено також, що доза наносрібла, яка становить 0,2 мг/голову за добу спричиняє більш виражений вплив на метаболічний статус організму курей-несучок протягом одно- та двократного застосування з інтервалом 10 діб, ніж доза 0,4 мг/голову за добу. Зниження метаболічної реакції організму курей-несучок після трикратного застосування препарату

наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в обох використаних дозах свідчить про адаптацію організму птиці до даного препарату.

Результати цього підрозділу опубліковано [143].

3.4. Хімічний склад харчових яєць за дії препаратів наносрібла

Аналіз хімічного складу яєць, отриманих від курей піддослідних груп, показав відсутність впливу однократного застосування препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу на вміст вологи, сухої речовини, сирого протеїну, сирого жиру, сирого золи, а також кальцію та фосфору порівняно з контролем (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Хімічний склад курячих яєць за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, %, $x \pm SD$, $n = 5$

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Волога	76,12 ± 0,12	76,07 ± 0,15	74,65 ± 0,62
Суша речовина	23,88 ± 0,11	23,93 ± 0,15	23,35 ± 0,62
Сирий протеїн	13,61 ± 0,31	13,78 ± 0,24	12,87 ± 0,48
Сирий жир	9,52 ± 0,29	11,74 ± 0,92	9,58 ± 0,58
Сира зола	0,99 ± 0,10	0,99 ± 0,03	1,06 ± 0,05
Ca	0,055 ± 0,004	0,061 ± 0,001	0,059 ± 0,001
P	0,141 ± 0,007	0,190 ± 0,012	0,170 ± 0,010

Двократне вживання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів як у дозі 0,2 мг/голову, так і в дозі 0,4

мг/голову за добу не змінювало показники хімічного складу курячих харчових яєць (табл. 3.13).

Так, вміст вологи, сухої речовини, сирого протеїну, сирого жиру, сирого золи, кальцію та фосфору в яйцях курей дослідних груп не відрізнявся між собою і від контролю.

Таблиця 3.13

Хімічний склад курячих яєць за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, %, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Волога	75,68 ± 0,39	75,42 ± 1,96	75,39 ± 0,57
Суша речовина	24,32 ± 0,39	24,58 ± 1,96	24,61 ± 0,57
Сирий протеїн	13,90 ± 0,41	13,83 ± 0,17	13,04 ± 0,31
Сирий жир	9,55 ± 0,48	10,04 ± 0,55	9,80 ± 0,22
Сира зола	1,03 ± 0,04	1,05 ± 0,04	0,93 ± 0,05
Ca	0,051 ± 0,006	0,054 ± 0,006	0,057 ± 0,004
P	0,166 ± 0,022	0,160 ± 0,022	0,170 ± 0,014

Двократне вживання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер-неорганічних гібридів забезпечувало стабільні показники хімічного складу свіжознесених харчових курячих яєць (табл. 3.14).

Про це свідчить вміст вологи, сухої речовини, сирого протеїну, сирого жиру, сирого золи, кальцію та фосфору у їстівній частині яєць.

Важливо також відмітити, що показники хімічного складу курячих харчових яєць не відрізнялися за хімічним складом між дослідними групами птиці, яка одержувала різні дози препарату наносрібла, зокрема 0,2 та 0,4

мг/голову за добу, а також від контролю. При цьому показники хімічного складу яєць характеризували її як столові яйця належної якості.

Такі показники хімічного складу харчових яєць свідчать, що препарат наносрібла, який був застосований для випоювання курям-несучкам не проявляв токсичної дії на організм курей, а також якість харчових яєць.

При цьому також слід врахувати, що показники хімічного складу курячих харчових яєць, одержаних при застосуванні препарату наносрібла узгоджуються з показниками клінічного стану, гематологічними даними та показниками обміну речовин піддослідних курей, що дозволяє вважати, що птиця була здоровою, що гарантує отримання харчових яєць належної якості.

Таблиця 3.14

Хімічний склад курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, %, $x \pm SD$, $n = 5$

Показник	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Волога	75,56 ± 0,73	75,93 ± 1,10	75,44 ± 0,75
Суша речовина	24,44 ± 0,73	24,07 ± 1,10	24,56 ± 0,75
Сирий протеїн	14,49 ± 0,53	13,99 ± 0,96	14,39 ± 0,31
Сирий жир	10,16 ± 0,76	10,21 ± 0,41	10,61 ± 0,55
Сира зола	1,03 ± 0,03	1,11 ± 0,08	1,06 ± 0,06
Ca	0,058 ± 0,003	0,052 ± 0,002	0,060 ± 0,001
P	0,181 ± 0,013	0,184 ± 0,019	0,203 ± 0,004

Трикратне випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу з інтервалом 10 діб забезпечувало показники хімічного складу харчових яєць на належному рівні (табл. 3.14).

Як і попередні дані, що стосуються споживання кормів, води та яєчної продуктивності, так і хімічний склад харчових яєць, отриманих від курей за застосування препарату наносрібла, підтверджують, що цей препарат в зазначених дозах не проявляв впливу на стан здоров'я птиці, також на показники, що характеризують якість яєць: вміст вологи, сирого протеїну, сирого жиру, сирого золи, кальцію та фосфору в їстівній частині яєць, а отже яйця були належної якості.

Одними з ключових показників, які характеризують безпечність харчових яєць, є вміст мінеральних речовин у їстівній та неїстівній частині яєць. Залежно від їх вмісту в яйцях окремі мінеральні компоненти можуть проявляти вплив характерний для мікро-, макроелементів чи важких металів.

Таблиця 3.15

Мінеральний склад шкаралупи курячих яєць за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,0060 ± 0,0002	0,0077 ± 0,0008	0,0076 ± 0,0004*
Cu	0,47 ± 0,07	0,54 ± 0,06	0,89 ± 0,10*
Zn	2,01 ± 0,20	1,50 ± 0,64	2,82 ± 0,93
Fe	0,57 ± 0,29	0,49 ± 0,22	0,55 ± 0,19
Pb	0,009 ± 0,004	0,004 ± 0,001	0,008 ± 0,004

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Одноразове вполювання курям-несучкам водного розчину наночастинок срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,2 мг/голову на добу не впливало на вміст срібла, міді, цинку, заліза та свинцю у шкаралупі яєць. Фактично вміст перелічених мінеральних компонентів у шкаралупі

курячих яєць за вище вказаної дози знаходився на фоновому рівні і відповідав контрольним показникам (табл. 3.15).

Нанопрепарат срібла в дозі 0,4 мг/голову на добу збільшував вміст срібла на 27% та міді в 1,9 раза, але не впливав на вміст цинку, заліза та свинцю в шкаралупі курячих яєць на 10 добу після першого випоювання порівняно з контролем.

Таблиця 3.16

Мінеральний склад шкаралупи курячих яєць за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,0070 ± 0,0004	0,0630 ± 0,0170*	0,0801±0,0060*
Cu	2,70 ± 0,97	0,80 ± 0,15	1,12±0,42
Zn	2,64 ± 1,14	1,95 ± 0,23	2,56 ± 1,72
Fe	0,54 ± 0,16	0,65 ± 0,21	0,86 ± 0,18
Pb	0,024 ± 0,009	0,007 ± 0,001	0,010 ± 0,002

Примітка:* – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Двократне випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,2 мг/голову за добу спричинило збільшення вмісту срібла в шкаралупі яєць у 9 разів порівняно з контролем, однак не впливало на вміст міді, цинку, заліза та свинцю порівняно з контролем (табл. 3.16).

Збільшення дози препарату наносрібла до 0,4 мг/голову за добу у питній воді для курей за двократного випоювання збільшувало вміст срібла у шкаралупі яєць в 11 разів порівняно з контролем за стабільного рівня міді, цинку, заліза та свинцю порівняно з контролем.

Мінеральний склад шкаралупи курячих яєць за трикратного впоювання розчину препарату наносрібла курям-несучкам теж зазнавав змін, які стосувалися лише вмісту срібла в шкаралупі (табл. 3.17).

Так, трикратне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозі 0,2 мг/голову за добу спричинило збільшення вмісту срібла в шкаралупі яєць в 6,3 раза, але як і в попередні випойки не впливало на рівень решти мінеральних компонентів, зокрема міді, цинку, заліза і свинцю.

Таблиця 3.17

Мінеральний склад шкаралупи курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,0064 ± 0,0006	0,0380 ± 0,0074*	0,0610 ± 0,0170*
Cu	0,73 ± 0,19	0,58±0,16	0,57±0,17
Zn	2,31 ± 0,54	1,14 ± 0,27	2,53 ± 0,94
Fe	0,21 ± 0,09	0,30 ± 0,01	0,11 ± 0,08
Pb	0,006 ± 0,002	0,005 ± 0,001	0,006 ± 0,001

Примітка:* – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Третя випойка курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,4 мг/голову за добу спричиняла збільшення вмісту срібла в шкаралупі яєць в 10,1 раза на фоні стабільних значень рівня міді, цинку, заліза і свинцю порівно з контролем.

Особливе значення має вміст мінеральних компонентів у їстівній частині харчових курячих яєць, зокрема в білку. Так, однократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,2 мг/голову за добу сприяло підвищенню вмісту срібла в білку

яєць на 24% порівняно з контролем, однак не вплинуло на вміст міді, цинку, заліза та свинцю (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Мінеральний склад білка курячих яєць за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 5$

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,00063 ± 0,00002	0,00078 ± 0,00006*	0,00073 ± 0,00005
Cu	0,25 ± 0,13	0,28 ± 0,08	0,30 ± 0,05
Zn	0,0020 ± 0,0001	0,0018 ± 0,0004	0,0021 ± 0,000
Fe	0,027 ± 0,004	0,030 ± 0,007	0,030 ± 0,008
Pb	0,033 ± 0,003	0,049 ± 0,004	0,061 ± 0,005

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Слід відмітити, що однократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,4 мг/голову за добу вірогідно не вплинуло на накопичення срібла в білку яєць, а також на вміст інших мінеральних компонентів, зокрема вміст міді, цинку, заліза та свинцю.

Двократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не змінювало рівень як срібла, так і інших мінеральних компонентів у білках яєць (табл. 3.19).

Трикратне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу сприяло збільшенню накопичення срібла в білку яєць майже в 2 рази порівно з контролем, однак не вплинуло на вміст міді, цинку, заліза та свинцю в цій частині яйця (табл. 3.20).

Таблиця 3.19

Мінеральний склад білка курячих яєць за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,00058 \pm 0,00012	0,00057 \pm 0,00029	0,00090 \pm 0,00021
Cu	0,15 \pm 0,01	0,21 \pm 0,07	0,19 \pm 0,02
Zn	0,002 \pm 0,0003	0,002 \pm 0,0004	0,002 \pm 0,0001
Fe	0,011 \pm 0,010	0,014 \pm 0,009	0,010 \pm 0,002
Pb	0,040 \pm 0,014	0,039 \pm 0,008	0,036 \pm 0,003

Таблиця 3.20

Мінеральний склад білка курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,00052 \pm 0,00014	0,00107 \pm 0,00012*	0,00110 \pm 0,00007*
Cu	0,26 \pm 0,10	0,34 \pm 0,10	0,20 \pm 0,07
Zn	0,002 \pm 0,0001	0,002 \pm 0,0004	0,002 \pm 0,0002
Fe	0,025 \pm 0,002	0,030 \pm 0,003	0,030 \pm 0,010
Pb	0,088 \pm 0,008	0,083 \pm 0,004	0,093 \pm 0,003

Примітка:* – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

В процесі проведених досліджень не було виявлено вірогідної різниці між вмістом мінеральних елементів у білку курячих яєць як за використання наносрібла в дозі 0,2 мг/голову, так і за дози 0,4 мг/голову за добу.

Таблиця 3.21

Мінеральний склад жовтка курячих яєць за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,0007 \pm 0,0001	0,0035 \pm 0,0021	0,0038 \pm 0,0037
Cu	1,35 \pm 0,08	0,92 \pm 0,44	1,03 \pm 0,27
Zn	22,33 \pm 7,76	20,14 \pm 8,19	18,97 \pm 5,49
Fe	26,63 \pm 7,50	34,90 \pm 10,73	22,23 \pm 10,62
Pb	0,035 \pm 0,015	0,053 \pm 0,028	0,025 \pm 0,010

Не менш важливим компонентом їстівної частини курячих яєць є жовток.

Таблиця 3.22

Мінеральний склад жовтка курячих яєць за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,0007 \pm 0,0001	0,0010 \pm 0,0001	0,0036 \pm 0,0013
Cu	1,55 \pm 0,08	1,35 \pm 0,47	1,24 \pm 0,45
Zn	29,23 \pm 2,90	26,46 \pm 12,55	26,07 \pm 10,47
Fe	44,78 \pm 4,23	38,56 \pm 18,93	39,78 \pm 16,40
Pb	0,013 \pm 0,004	0,020 \pm 0,016	0,017 \pm 0,003

Як показали результати проведених досліджень вміст срібла в жовтках курячих яєць, яким однократно випоювали розчин препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу хоча і мав тенденцію до накопичення, однак

велика варіабельність даних показників вказує на невірогідність цього факту (табл. 3.21).

Як і в попередніх випадках, препарат наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу за однократного впоювання курям-несучкам не впливав на мінеральний склад жовтка яєць, зокрема на вміст міді, цинку, заліза та свинцю.

Двократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не сприяло накопиченню срібла в жовтках, рівень якого знаходився в межах контролю. Аналогічні результати отримані і під час аналізу мінерального складу жовтків яєць, а саме концентрація міді, цинку, заліза та свинцю знаходилась у птиці дослідних груп в межах коливань контрольної групи (табл. 3.22).

Таблиця 3.23

Мінеральний склад жовтка курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5

Метал, мг/кг	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag	0,0006 \pm 0,0001	0,0011 \pm 0,0002*	0,0013 \pm 0,0001*
Cu	1,42 \pm 0,39	1,63 \pm 0,29	1,16 \pm 0,45
Zn	26,42 \pm 9,99	27,55 \pm 5,14	17,40 \pm 5,95
Fe	38,38 \pm 15,10	41,03 \pm 10,27	29,49 \pm 11,50
Pb	0,029 \pm 0,012	0,047 \pm 0,009	0,030 \pm 0,002

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Трикратне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів проявляло більш виражений вплив на мінеральний склад жовтків яєць, що виражалось підвищенням вмісту срібла в

жовтках за дози 0,2 мг/голову за добу в 1,8 раза, а за дози 0,4 мг/голову за добу – в 2,2 раза порівняно з контролем (табл. 3.23).

Таблиця 3.24

Морфологічні параметри курячих яєць за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5, г

Маса	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Яйце	60,47 \pm 0,11	60,37 \pm 0,04	60,39 \pm 0,03
Білок	36,37 \pm 0,04	36,60 \pm 0,19	36,35 \pm 0,16
Жовток	17,67 \pm 0,04	17,57 \pm 0,11	17,77 \pm 0,11
Шкаралупа	6,43 \pm 0,08	6,20 \pm 0,12	6,27 \pm 0,25

Таблиця 3.25

Морфологічні параметри курячих яєць за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5, г

Маса	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Яйце	61,73 \pm 0,23	61,57 \pm 0,08	61,63 \pm 0,08
Білок	37,07 \pm 0,39	37,43 \pm 0,15	37,17 \pm 0,22
Жовток	18,30 \pm 0,19	18,00 \pm 0,07	18,30 \pm 0,12
Шкаралупа	6,37 \pm 0,16	6,13 \pm 0,08	6,17 \pm 0,11

Решта показників мінерального обміну у жовтках курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, зокрема вміст міді, цинку, заліза та свинцю перебували на рівні аналогічних показників контрольної групи птиці.

Як видно з отриманих результатів досліджень, морфологічні показники курячих яєць під впливом одно-, дво- чи трикратного впоювання розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не впливала на морфологічні показники яєць (табл. 3.24-3.26).

Так, маса яєць, маса білка, жовтка та шкаралупи у курей дослідних груп відповідала стандарту кросу і не відрізнялась від контролю.

Таблиця 3.26

Морфологічні параметри курячих яєць за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5, г

Маса	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Яйце	61,50 \pm 0,07	61,60 \pm 0,49	61,60 \pm 0,14
Білок	37,23 \pm 0,15	37,40 \pm 0,56	37,23 \pm 0,11
Жовток	18,27 \pm 0,08	18,33 \pm 0,08	18,27 \pm 0,16
Шкаралупа	6,00 \pm 0,21	5,87 \pm 0,11	6,10 \pm 0,22

Розподіл срібла в окремих компонентах курячих яєць під впливом його нанопрепарату залежав від кратності впоювання та концентрації його наночастинок у питній воді для птиці.

Найбільший вміст срібла серед компонентів яєць птиці контрольної групи (AgNPs/SPH 0 мг/голову) було відзначено у шкаралупі та становило 52,7 – 57,0% від загального вмісту в яйці. На другому місці за вмістом срібла був білок (26,6 – 31,1% від загального вмісту в яйці).

Жовток курячих яєць контрольної групи містив 16,2 – 16,5% всього срібла у складі яйця. Отже, їстівна частина курячого яйця: білок + жовток містили 43,0 – 47,3% всього срібла, що у складі яйця (рис. 3.3 – 3.5), що він відповідає 0,035 – 0,079 мкг.

Одноразове вполювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу сприяло збільшенню його накопичення в жовтках курячих яєць після 10 діб до 44,5 і 47,5% у шкаралупі (рис. 3.3). У цьому випадку їстівна частина яєць: білок + жовток на 10 добу після застосування розчину препарату наносрібла курям-несучкам містила 65,0 і 66,0% (відповідно 0,089 і 0,093 мкг), а шкаралупа – 34,0 і 35,0% (0,048 мкг) загального вмісту срібла в яйці.

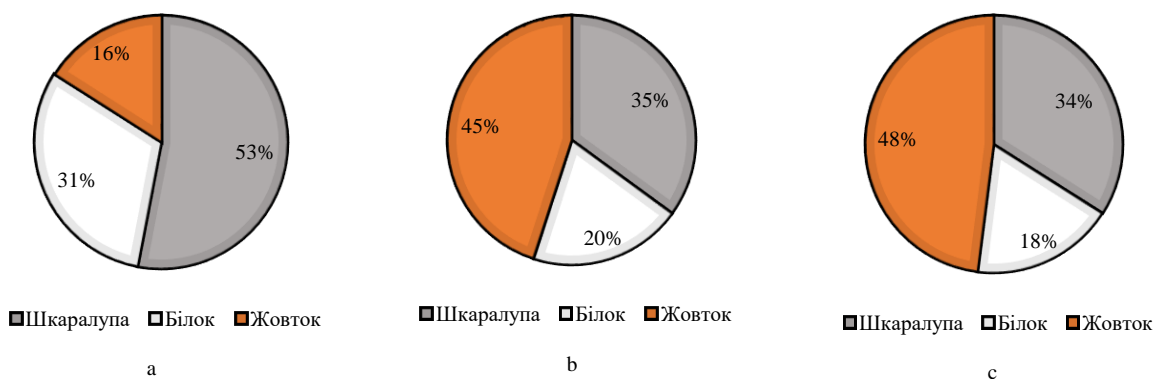


Рис. 3.3. Розподіл срібла в компонентах курячих яєць після однократного вполювання препарату наносрібла: а (AgNPs 0 мг/курку), б (AgNPs 0,2 мг/курку), в (AgNPs 0,4 мг/курку), n = 5

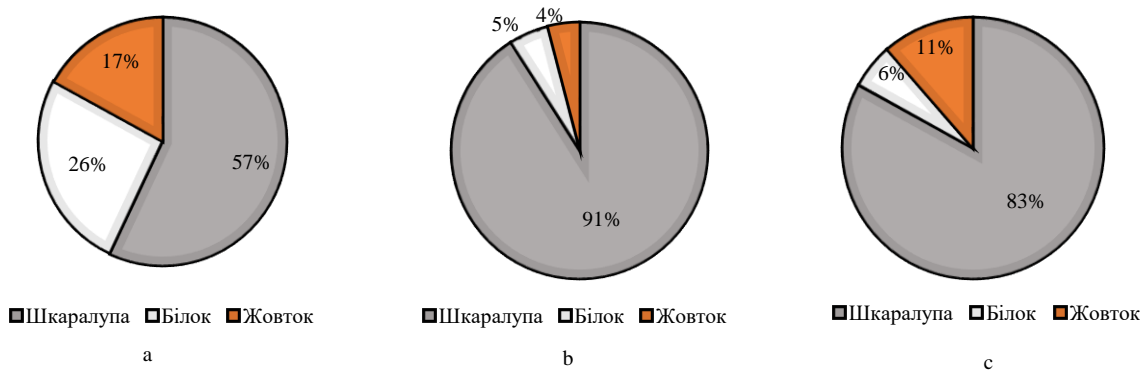


Рис. 3.4. Розподіл срібла в компонентах курячих яєць після двократного вполювання препарату наносрібла: а (AgNPs 0 мг/курку), б (AgNPs 0,2 мг/курку), в (AgNPs 0,4 мг/курку), n = 5

Після другого вполювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4

мг на голову на добу на 10 добу відбувся перерозподіл срібла в компонентах курячих яєць наступним чином: частка срібла в білку зменшилася до 4,9 і 5,6 %, у жовтку – до 4,2 і 11,2 % відповідно за рахунок збільшення його частки в шкаралупі до 90,9 і 83,2 % (рис. 3.4).

Такий перерозподіл вмісту срібла сприяв скороченню його вмісту у їстівній частині яйця: білок + жовток до 9,1 та 16,8%, що відповідно становило 0,039 та 0,099 мкг срібла. У цьому випадку вміст срібла в шкаралупі яєць курей-несучок, які отримували розчин AgNPs в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу підвищувався до 0,39 та 0,49 мкг відповідно.

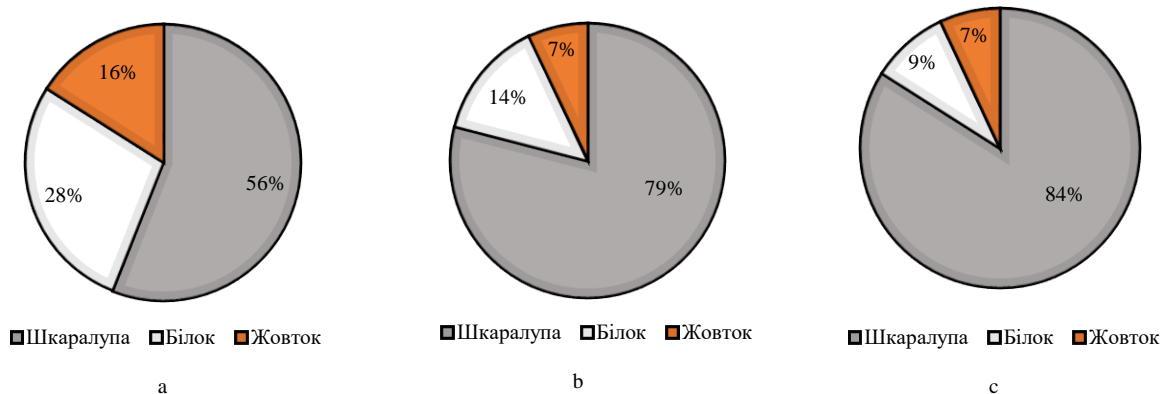


Рис. 3.5. Розподіл срібла в компонентах курячих яєць після трикратного впоювання препарату наносрібла: а (AgNPs 0 мг/курку), б (AgNPs 0,2 мг/курку), с (AgNPs 0,4 мг/курку), n = 5

Наступна (третья) впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу сприяла перерозподілу частки срібла між білком і жовтком яєць наступним чином: у жовтку додаток 7%. збільшення його вмісту в білку до 14,3 і 9,4% (рис. 3.5).

Частка срібла, що надходить у яєчну шкаралупу курей, які отримували AgNPs у дозі 0,2 мг/курку на добу, знизилася, а кури дослідної групи, які отримувала AgNPs в дозі 0,4 мг у цей період, практично, знаходилася на попередньому рівні (рис. 3.4-3.5).

При цьому слід зазначити, що загальний вміст срібла в білку та жовтку яєць курей, які отримували препарат наносрібла в дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу, суттєво не відрізнявся між собою і становив 0,060 – 0,065 мкг, тоді як вміст срібла в шкаралупі яєць підвищився. до 0,22 та 0,37 мкг відповідно.

Таким чином можна зробити висновок, що випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 чи 0,4 мг/голову за добу з інтервалом 10 діб не впливає на яєчну продуктивність курей, морфологічні та хімічні показники курячих яєць.

Однократне випоювання курям-несучкам розчину наночастинок срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в концентрації 0,2 мг на голову на добу збільшувало вміст срібла у посліді на 10-ту добу на 20 % порівняно з контрольною групою, але не впливало на вміст міді, цинку, заліза і свинцю в посліді (табл. 3.27).

Таблиця 3.27

Мінеральний склад посліду курей за однократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $\bar{x} \pm SD$, n = 5, мг/кг

Елемент	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag, мкг/кг	0,64 ± 0,02	0,77 ± 0,04*	0,92 ± 0,11*
Cu	35 ± 12	24 ± 9	16 ± 2
Zn	102 ± 65	163 ± 11	133 ± 39
Fe	80 ± 17	102 ± 30	73 ± 22
Pb	0,57 ± 0,05	0,72 ± 0,33	0,71 ± 0,32

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Препарат наносрібла в концентрації 0,4 мг на голову на добу збільшував вміст срібла на 44 % в посліді курей на 10-ту добу уже після першого

випоювання препарату і не впливав на вміст міді, цинку, заліза та свинцю порівняно з контролем і з аналогічними даними курей, яким випоювали цей же препарат в концентрації 0,2 мг/голову за добу.

Після двократного випоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в концентрації 0,2 мг/голову за добу вміст срібла в порівнянні з аналогічними даними за однократного випоювання не збільшився (табл. 3.28), а навіть дещо зменшився.

Двократне випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в концентраціях 0,2 та 0,4 мг/голову за добу не впливало на вміст міді, цинку, заліза та свинцю в посліді курей.

Таблиця 3.28

Мінеральний склад посліду курей за двократного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 5$, мг/кг

Елемент	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag, мкг/кг	0,82 ± 0,03	0,58 ± 0,17	0,73 ± 0,08
Cu	15 ± 5	43 ± 11	36 ± 22
Zn	42 ± 6	49 ± 9	53 ± 18
Fe	141 ± 24	187 ± 51	219 ± 57
Pb	0,79 ± 0,09	1,02 ± 0,14	0,91 ± 0,28

Трикрратне випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в концентраціях 0,2 та 0,4 мг/голову за добу в нашому досліді не впливало на вміст срібла, міді, цинку, заліза та свинцю в посліді курей (табл. 3.29).

Таблиця 3.29

Мінеральний склад посліду курей за трикратного застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 5$, мг/кг

Елемент	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Ag, мкг/кг	0,62 \pm 0,06	0,63 \pm 0,05	0,52 \pm 0,07
Cu	21 \pm 12	20 \pm 7	26 \pm 12
Zn	94 \pm 8	94 \pm 27	96 \pm 27
Fe	195 \pm 19	160 \pm 49	190 \pm 96
Pb	0,62 \pm 0,05	0,53 \pm 0,08	1,16 \pm 0,73

Низька концентрація срібла в посліді курей-несучок на 10-ту добу після кожного його застосування шляхом випоювання з водою свідчить про можливе виведення його з послідом в більш ранні терміни, а також включення до складу яєць.

Таким чином випоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу сприяє накопиченню срібла в шкаралупі і не впливає на його вміст у їстівній частині яєць (білок та жовток), що дозволяє вважати цей препарат перспективним щодо профілактики мікробного забруднення харчових яєць.

Встановлено, що випоювання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам збільшувало вміст срібла у посліді курей на 10-ту добу лише після однократного випоювання, після двократного і трикратного застосування цього препарату накопичення срібла, а також міді, цинку, заліза і свинцю в посліді курей не відмічали в посліді.

Результати цього підрозділу опубліковано [144, 180, 181].

3.5. Мікробний склад курячих яєць та посліду при вживанні препарату наносрібла

Одним з факторів, що визначає придатність та тривалість зберігання харчових яєць є контамінація шкаралупи та внутрішнього вмісту яйця мікрофлорою, яка потрапляє з організму як самих курей, так і зовнішнього середовища, зокрема, кліткового обладнання, яйцезбірників, повітряного середовища, а також підстилки, яка використовується у пташниках.

Для зниження мікробної контамінації харчових курячих яєць використовується низка препаратів, які володіють різною ефективністю і не завжди задовольняють санітарно-гігієнічні вимоги до яєць, а також вимоги до безпеки яєць.

Таблиця 3.30

Контамінація курячих яєць МАФАНМ за застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, $x \pm SD$, $n = 5$

Кратність застосування AgNPs курям	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Поверхня шкаралупи яєць, lg КУО/см²			
Однократне	3,2 ± 0,1	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,1
Двократне	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,1	3,0 ± 0,1
Трикратне	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,1	2,9 ± 0,03
Жовток, lg КУО/g			
Однократне	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,05	2,8 ± 0,1
Двократне	2,4 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Трикратне	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,2

За застосування курям несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0, 0,2 та 0,4 мг на курку за добу на

поверхні шкаралупи свіжознесених яєць протягом всього експерименту не було ідентифіковано колоній мікроорганізмів родів *Citrobacter*, *Klebsiella*, а також *E. coli* і *P. mirabilis*, які відносяться до умовно патогенної мікрофлори. Серед патогенних мікроорганізмів на поверхні шкаралупи яєць курей піддослідних груп протягом всього експерименту також не виділяли колоній *Salmonella spp.*, *S. aureus* та *S. epidermidis*.

Чисельність МАФАНМ на поверхні шкаралупи та в жовтках яєць за однократного, двократного та трикратного впоювання курям розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів вірогідно не залежала від його дози і терміну використання (табл. 3.30).

Аналіз кількості симбіотичної мікрофлори в посліді курей показав, що однократне, двократне та трикратне впоювання розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0, 0,2 та 0,4 мг на курку за добу не впливало на чисельність колоній мікроорганізмів роду *Bifidobacterium*.

Кількість бактерій роду *Lactobacillus* у посліді курей піддослідних груп не змінювалась після однократного застосування препарату наносрібла в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу (табл. 3.31). Це пов'язано з надходженням пробіотика у складі комбікорму, який використовувався для годівлі курей-несучок, а також певною мірою низькою чутливістю мікроорганізмів цього роду до препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів.

Кількість бактерій роду *Lactobacillus* у посліді курей піддослідних груп не змінювалась після застосування препарату наносрібла в дозах 0,2 мг/голову за добу, але в дозі 0,4 мг на курку за добу їх чисельність знижувалась на $0,12 \lg$ КУО/г після двократного та на $0,31 \lg$ КУО/г після трикратного застосування порівняно з контролем (табл. 3.31).

В даному випадку необхідно зазначити, що використання препарату наносрібла курям-несучкам відбувалося на фоні згодовування пробіотика протягом всього періоду досліджень.

Таблиця 3.31

Чисельність бактерій родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* у посліді курей несучок за застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, Іг КУО/г, $x \pm SD$, $n = 5$

Рід бактерій	Доза AgNPs, мг/курку		
	Контрольна	0,2	0,4
Однократне застосування AgNPs			
<i>Bifidobacterium</i>	7,82 ± 0,01	7,89 ± 0,03	7,82 ± 0,02
<i>Lactobacillus</i>	7,86 ± 0,05	7,77 ± 0,01	7,72 ± 0,02
Двократне застосування AgNPs			
<i>Bifidobacterium</i>	7,80 ± 0,01	7,88 ± 0,02	7,80 ± 0,03
<i>Lactobacillus</i>	7,81 ± 0,01	7,76 ± 0,02	7,69 ± 0,01*,**
Трикратне застосування AgNPs			
<i>Bifidobacterium</i>	7,91 ± 0,17	7,78 ± 0,02	7,74 ± 0,03
<i>Lactobacillus</i>	7,81 ± 0,01	7,65 ± 0,07	7,50 ± 0,03*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** – $p \leq 0,05$ порівняно з дозою 0,2 мг/курку

Таким чином, можна зробити висновок, що препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів, який був застосований курям-несучкам в дозах 0,2 та 0,4 мг/голову за добу трикратно з інтервалом 10 діб не проявляє негативного впливу на мікробний склад яєць, а також дозволяє максимально зберегти симбіотичну мікрофлору апарату травлення.

Результати цього підрозділу опубліковано [145, 173, 179].

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Виробництво харчових курячих яєць – одна з галузей тваринництва, де використовуються значна кількість антибактеріальних ветеринарних препаратів з метою збереження чисельності поголів'я та забезпечення високої продуктивності птиці. Застосування різних антибіотиків як стимуляторів росту і продуктивності птиці заборонено в Європейському Союзі з 2006 року [57]. Враховуючи заборону використання кормових антибіотиків та посилення контролю їх залишків у харчових продуктах, у тому числі яйцях харчових, виникла проблема пошуку альтернативних засобів, до яких у патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів не виникає резистентності [9, 71]. До таких препаратів відноситься наносрібло [7, 21, 26, 36, 59].

На даний час нанотехнологію можна вважати інноваційною наукою, яка використовується для зміни структури або створення матеріалів високої якості на молекулярному рівні [45, 48]. Вона має важливий вплив на транспортування, збереження, виробництво та безпеку харчових продуктів [147]. Препарати наносрібла є новою альтернативною добавкою для ветеринарного та медичного застосування за рахунок їх прямого надходження до органів та систем, які, на відміну від антибіотиків, не володіють здатністю до швидкого руйнування в організмі [54, 61].

Антимікробні засоби на основі сполук наносрібла мають вплив на кишкову мікрофлору господаря, зменшуючи колонізацію бактерій, цим самим пригнічуючи ріст патогенних мікроорганізмів, отже, запобігати захворюванням та покращуючи продуктивність тварин [57, 96, 107].

Вплив препаратів наносрібла на організм тварин залежить від значної кількості факторів, зокрема від способу їх введення в організм [137]. Одним з найбільш ефективних і прийнятних способів застосування препаратів наносрібла курям є пероральний, що передбачає проходження їх через слизову оболонку апарату травлення, кров та печінку і забезпечує загальну дію на

організм. Випоювання курам несучкам розчину препарату наносрібла з розміром частинок 1,2–9,6 нм в носіях на основі SPH зменшувало вміст гематокриту в крові лише у дозі 0,2 мг на курку за добу (~0,11 мг/кг маси тіла) після однократного застосування. Таку цитотоксичність, індуковану AgNPs [24] пояснювали безпосередньою взаємодією наночастинок з еритроцитами, що призводило до виникнення окиснювального стресу, пошкодження мембрани та згодом гемолізу. Причому цитотоксичність AgNPs для клітин крові залежала від їх розміру. На прикладі еритроцитів риби, ядро яких подібне до ядра еритроцитів птахів, було доведено, що за використання AgNPs різного діаметру (15, 50 та 100 нм) і стабілізованих цитрат-аніонами частинки розміром 50 нм показували найвищий рівень адсорбції та поглинання еритроцитами, тоді як частинки розміром 15 нм демонстрували більшу здатність викликати пошкодження мембран клітин та гемоліз.

Ми не виявили суттєвого впливу дослідженого препарату наносрібла в носіях на основі SPH на вміст гемоглобіну та чисельність еритроцитів, лейкоцитів і їх субпопуляцій у крові курей, що дозволяє вважати цей препарат біосумісним та безпечним для клітин крові. Це обумовлено, очевидно, гарними транспортними властивостями гідрофільних гібридних носіїв, які використовували для одержання і доставки AgNPs.

Дані, представлені в роботі [110, 111], підтверджують, що вплив наносрібла на гематологічні параметри курей залежить від розмірів і стабілізатора AgNPs. Зокрема в цьому дослідженні показано, що випоювання курчатам-бройлерам гідроколоїду наночастинок срібла розміром 22 нм в дозі 5 мг/кг маси тіла не впливало на вміст гемоглобіну, рівень гематокриту, кількість лейкоцитів та еритроцитів у крові, тоді як застосування наночастинок срібла розміром 5 нм з ліпідним покриттям спричиняло значне зниження вмісту гемоглобіну в крові. В дослідженні [38] наночастинок діоксиду кремнію, доповані наносріблом ($\text{SiO}_2@AgNP$) і вкриті крохмалем, розміром 20 нм за застосування в годівлі птиці у дозах 2, 4 та 8 ppm корму не проявляло негативних наслідків щодо показників росту, гематологічних і

біохімічних параметрів. Використання [4] комерційного препарату колоїдного наносрібла навіть у значно вищих дозах: 300, 600 і 900 ppm також не проявляло негативного впливу на гематологічні параметри курчат-бройлерів.

Припускають [50], що колоїдне наносрібло (Nanocid) у дозі 2500 ppm стимулювало еритропоез у курчат-бройлерів у випадку надходження з кормами афлатоксину і таким чином знижувало його негативний вплив на організм. В іншому дослідженні [77-79] пероральне застосування колоїдної дисперсії чистого наносрібла розміром 5 нм курчатам-бройлерам у діапазоні доз 2,87–12,25 мг/птицю призводило до позитивного імуностимулюючого ефекту, який виражався у збільшенні гетерофільного дихального сплеску і підвищенні концентрації лізоциму у крові. Більш високі дози AgNPs викликали в організмі курчат-бройлерів протизапальний ефект, пов'язаний з підвищенням рівня інтерлейкіну-6 та церулоплазмину, а також високою швидкістю осідання еритроцитів та стимуляцією синтезу В-лімфоцитами імуноглобулінів IgA та IgY.

Як свідчать викладені вище факти, сьогодні немає однозначної картини впливу розміру частинок наносрібла, природи їх покриття та дози на гематологічні показники різних видів тварин. Разом з тим вважають, що одним із механізмів реагування лейкоцитів на чужорідні подразники, у тому числі частинки наносрібла, є дегрануляція та подальше вивільнення ферментів (тобто протеїназ, таких як еластаза) та інших біологічно активних речовин (тобто цитокінів, таких як інтерлейкіни та хемотаксичні білки моноцитів) [31]. У поєднанні з цим окиснювальний сплеск – це ще один механізм, що застосовується лейкоцитами для усунення небажаних або екзогенних речовин, таких як мікроби та наночастинки [87]. Надмірне вироблення активних форм кисню та інших вільних радикалів може бути токсичним як для фагоцитів, так і для оточуючих клітин, може індукувати апоптоз та запалення [83] і впливати на метаболічний статус організму та функціональний стан життєво важливих органів, у тому числі печінки.

Одними з показників, що відображають білоксинтезуючу функцію печінки, є вміст загального білку і альбуміну у сироватці крові курей. Випоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі SPH суперечливо впливало на вміст загального білку і альбуміну в сироватці крові курей залежно від дози і кратності його застосування. При цьому доза AgNPs 0,2 мг викликала більш динамічні коливання цих показників ніж доза 0,4 мг AgNPs на курку за добу. Дія наносрібла в обох концентраціях на вміст альбуміну в сироватці крові курей у нашому експерименті знижувалась зі збільшенням кратності випоювання. В експериментах [3] на курчатах-бройлерах добавки комерційного препарату AgNPs ($14 \pm 0,8$ нм) протягом всього періоду вирощування (1–42 дні) в дозах 20, 40 та 60 ppm AgNPs на 1 кг корму також демонстрували значні зміни щодо вмісту загального білку, альбумінів та гамма-глобулінів у сироватці крові.

Враховуючи, що основна функція альбуміну в крові полягає в забезпеченні онкотичного тиску та транспорту іонів, можна припустити, що наночастинки срібла могли зв'язуватись з сироватковим альбуміном курей, що доведено на прикладі бичого сироваткового альбуміну [49, 51]. В результаті цього могли виникати конформаційні зміни або навіть пошкодження білка [25], з чим, ймовірно, і пов'язані значні коливання його вмісту в сироватці крові курей в нашому експерименті. Як наслідок, в організмі курей розвиваються адаптаційні механізми до дії препаратів наносрібла, направленість яких залежить від дози, терміну застосування та виду стабілізатора AgNPs.

До показників, які характеризують функціональний стан нирок, відноситься рівень креатиніну в сироватці крові. Креатинін як метаболіт обміну білків утворюється в м'язах, потрапляє в кров і виділяється нирками. В нашому експерименті вміст креатиніну в сироватці крові курей, які отримували AgNPs з питною водою в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу ($\sim 0,11$ та $\sim 0,22$ мг/кг маси тіла птиці) знижувався лише після однократного випоювання, в подальшому цей показник утримувався на рівні контролю.

Зниження вмісту креатиніну у сироватці крові курчат-бройлерів спостерігали і інші дослідники [111] під час застосування курчатам-бройлерам препарату наносрібла з ліпідним покриттям, тоді як гідроколоїд наносрібла без покриття такого ефекту не викликав. Автори підкреслюють, що поряд зі зниженням активності ферментів АсАТ і АлАТ, які відповідають за катаболічний шлях амінокислот, зниження плазмової концентрації головних продуктів білкового обміну (креатиніну і сечовини), може свідчити про порушення білкового катаболізму у випадку курей, які отримували препарат наносрібла розміром 5 нм з ліпідним покриттям.

Одним з основних внутрішньоклітинних елементів в організмі тварин є калій. Його вміст в сироватці крові курей в нашому експерименті підвищувався за одно- і трикратного застосування AgNPs в дозі 0,4 мг/голову за добу. За дози 0,4 мг на курку за добу ми відмічали таку тенденцію лише за однократного використання препарату наносрібла. Однак інші дослідники [112] отримали протилежні результати, які свідчать про блокування колоїдним наносріблом розміром 5 нм процесу всмоктування калію в кров курчат-бройлерів. Автори допускають конкуренцію між К та Ag за іонні канали, які використовуються при кишковому всмоктуванні обох елементів, оскільки вони мають подібні атомні радіуси та однакову ступінь окислення. В даному випадку різниця в отриманих результатах може бути пов'язана з різною реакцією метаболічної системи курей несучок та курчат-бройлерів на різні препарати наносрібла, а також наявністю стабілізатора на основі полімер/неорганічних гібридів, який в нашому випадку міг значно знизити швидкість вивільнення іонів срібла та їх окислення.

Одночасно з підвищенням вмісту калію препарат наносрібла в носіях на основі SPH в нашому досліді спричиняв збільшення вмісту глюкози в сироватці крові курей за однократного вживання його в дозі 0,2 мг на курку за добу. Доза препарату наносрібла 0,4 мг на курку викликала менш виражений ефект, який був на рівні тенденції до збільшення вмісту глюкози в сироватці крові. Такий ефект може бути пов'язаний з тимчасовим

блокуванням наносріблом дрібного розміру (5 нм) споживання глюкози клітинами внаслідок окисного стресу, яке спостерігали [84] на культурі клітин гепатоми HepG2.

Виявлене нами під впливом препарату наносрібла підвищення вмісту холестеролу в сироватці крові курей за однократного впоювання його в дозі 0,2 мг на курку за добу може бути пов'язано з впливом наносрібла на гормональний фон організму. Так, в роботі [67] довели вплив гідроколоїду наносрібла на стероїдогенез яєчників та метаболізм гормонів щитоподібної залози домашніх курей. За дози гідроколоїду наносрібла розміром 50 нм 100 ppm в кормі відбувалось підвищення рівня в крові трийодтироніну, який володіє здатністю стимулювати синтез холестеролу у печінці курей [88].

Вища доза препарату наносрібла в нашому експерименті (0,4 мг на курку за добу) лише після трикратного застосування знижувала рівень холестеролу в сироватці крові курей. Це узгоджується з результатами досліджень, які проведені на курчатах-бройлерах за згодовування їм AgNPs в дозах 2, 4, 6, 8 і 10 ppm корму [40]. В дослідженні [131] використання препарату наносрібла в дозі 50 ppm корму протягом 12 днів спричинило зниження не лише рівня холестеролу, але й тригліцеридів та глюкози в сироватці крові курчат-бройлерів.

В нашому експерименті препарат наносрібла в носіях на основі SPH в дозі 0,2 мг на курку за добу викликав дещо суперечливі зміни вмісту кальцію та фосфору в сироватці крові, але цього не відмічали за дози 0,4 мг на курку за добу. Ці результати узгоджуються з даними, отриманими [110, 111], які встановили, що пероральне застосування курчатам-бройлерам гідроколоїдів наночастинок срібла (22 нм) і наночастинок срібла з ліпідним покриттям (5 нм) у дозі 5 мг/кг маси тіла на день суттєво не впливало на вміст більшості макро- та мікроелементів в крові, за винятком заліза.

До важливих ферментів, які відображають функціональний стан печінки та інших життєво важливих органів, належать АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази та ГГТ. Їх активність у сироватці крові курей несучок за використання

препарату наносрібла суттєво залежала в нашому експерименті як від дози, так і кратності його застосування, однак закономірність таких змін встановити не вдалось. Зміни активності АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази також були виявлені [3] у сироватці крові курчат-бройлерів, яких годували добавками комерційного препарату AgNPs протягом всього періоду вирощування. Однак згодовування курчатам-бройлерам комерційного препарату наносрібла в дозах 300, 600 і 900 ppm такого ефекту не викликало [4]. Інші дослідники [40] відмічали зниження активності АсАТ у сироватці курчат-бройлерів, яким згодовували AgNPs в дозах 2, 4, 8 та 10 ppm корму, за винятком дози 6 ppm AgNPs.

Активність ферментів печінки зазвичай підвищується, коли вони вивільняються з гепатоцитів у кров через пошкодження клітин. До таких пошкоджень печінки можуть відноситися і пошкодження, спричинені препаратами наносрібла [39, 115]. Зниження активності АлАТ і лужної фосфатази може бути зумовлене інактивацією, що виникає внаслідок спорідненості AgNPs до тіолових ($-SH$) груп, викликаючи тим самим зміну функціонального стану білків, а також інактивацію амінотрансфераз [154]. Однак ми вважаємо, що такі зміни могли відбуватися і в процесі розвитку адаптаційних реакцій в організмі курей несучок, що узгоджується з даними ферментативної активності сироватки їх крові в кінці експерименту після трикратного вполювання нанопрепарату.

Вважають [166], що за високих концентрацій наносрібло може викликати явну цитотоксичність через вироблення активних форм кисню. Наслідком цього може бути виникнення окиснювального стресу в організмі птиці [3]. На відміну від цього, низькі рівні наносрібла, як правило, переривають біологічну обробку та передачу сигналів та порушують нормальні функції органел на клітинному рівні, що не пов'язано зі зниженням життєздатності або загибеллю клітин [166]. Тому пероральне введення AgNPs є менш небезпечним порівняно з парентеральним, оскільки в цьому випадку всмоктується в кров тварин лише 4 – 18% наночастинок срібла [154].

Важливими факторами, що визначають біодоступність наночастинок срібла для організму тварин є їх розмір та здатність до агрегації [137]. Великий розмір та агрегація наночастинок суттєво обмежують їх біодоступність за перорального введення в організм. У разі використання цього методу наносрібло піддається спочатку впливу різного рН середовища у травній системі курей, а саме: рН~4,8 у вмістимому зобу, рН~3,5 у м'язовому шлунку і рН>6 у кишечнику [155], а також електrolітів, які наявні в шлунковому та кишковому соках. Дослідження агрегативної здатності наносрібла з розміром частинок близько 10 нм і стабілізованих цитратом чи екстрактом чаю в умовах збереження фізіологічних значень рН та концентрацій хлориду натрію, глюкози і глютаміну показало, що агрегація розвивається за кислого значення рН та $C_{\text{NaCl}} = 10$ мМ. Це значною мірою визначає токсичність цих наночастинок, яка знижується зі збільшенням агрегації [14, 28]. У той же час великі наночастинки срібла або розвинені агрегати наночастинок не можуть проникнути в кровоносну систему організму через епітелій кишечника. Через це знижується біодоступність багатьох препаратів срібла. Окремі частинки нашого препарату мають відносно невеликий розмір (~31-47 нм), що є запорукою їх проникнення через епітелій кишечника в кровоносну систему курей і забезпечення високої біодоступності препарату.

Нарешті, біосумісні та біорозкладані носії SPH сприяють більш ефективній та пролонгованій дії препарату наносрібла та значною мірою захищають організм курей від токсичної дії наночастинок металів. Проведені дослідження показали значно нижчий вплив препарату AgNPs/SPH у більшій дозі (0,4 мг порівняно з 0,2 мг на курку за добу) на метаболічний статус птиці. Такий результат поки що немає чіткого пояснення, але добре узгоджується з даними [2], отриманими з використанням лабораторних щурів, які свідчать, що пероральне введення препарату наносрібла у дозі 100 мг/кг маси тіла призводило до більш суттєвих змін біохімічних показників крові, ніж дози 1000 та 5000 мг/кг відповідно.

Як видно з отриманих нами результатів досліджень, препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливав на середньодобове споживання комбікорму, води та несучість курей. Це узгоджується з даними, отриманими на курчатах-бройлерах [161] за дози AgNPs 8,26 мг/добу та [77-79] за доз 2,87 та 12,25 мг на птицю. Поряд з цим в іншому дослідженні використання наносрібла розміром 15 нм у концентрації 50 мг/л води збільшувало споживання корму та масу тіла домашніх курей [80]. На відміну від цих досліджень [43] виявили негативний вплив наносрібла в дозах 0, 4, 8 та 12 ppm в кормі, який проявлявся зниженням маси жовтка яєць та несучості японських перепелів.

Як показали наші дослідження препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу не впливав на хімічний склад курячих яєць, що узгоджується з рівнем споживання комбікорму та води птицею протягом всього експерименту. Отримані нами результати важко співставити з іншими даними у зв'язку з їх відсутністю в доступній літературі.

Результати наших досліджень показали, що випоювання розчину препарату наносрібла курям-несучкам не впливало на збереження поголів'я в дозах 0,2 та 0,4 мг/курку на добу при триразовому застосуванні з інтервалом 10 діб. Це зумовлено як низькою дозою самого срібла, що надходило до організму птиці, так і достатнім інтервалом його використання, що дозволяє виводитися з організму надлишкам діючої речовини.

Як показали наші результати досліджень, одноразове випоювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в дозі 0,2 мг/голову на добу практично не впливало на показники мінерального складу шкаралупи яєць. При цьому підвищення дози препарату наносрібла до 0,4 мг/курку на добу викликало збільшення вмісту срібла та міді у шкаралупі яєць порівняно з контролем. Збільшення концентрації міді в шкаралупі яєць, можливо, пов'язане з впливом наносрібла на обмін церулоплазміну і таким чином транспортування міді в тканинах організму курей [121]. У нашому досліді

повторні вполювання курям-несучкам розчину нанопрепарату срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів дозозалежним чином сприяли збільшенню вмісту срібла, але не впливали на вміст інших мінеральних елементів у шкаралупі курячих яєць.

Таке вибіркоче ендогенне накопичення срібла в шкаралупі курячих яєць має важливе санітарно-гігієнічне значення, зумовлене його бактерицидною дією. Наше припущення узгоджується з результатами досліджень ряду авторів, які використовували екзогенну обробку шкаралупи пташиних яєць наносріблом. Так, за рахунок використання колоїдного спрею та композитної плівки, що містять наночастинки срібла в концентраціях 500, 1000 та 2000 ppm, протягом 28 днів [42] вдалося покращити санітарні показники шкаралупи харчових яєць. Обробка інкубаційних яєць дезінфектантами на основі наночастинок срібла показала значні зміни провідності яєчної шкаралупи запліднених яєць і, таким чином, зменшення втрати ними вологи, що сприяло зниженню смертності та підвищенню маси тіла перепелів [11, 29]. На підставі цих результатів автори зробили висновок про придатність колоїдного срібла як альтернативу традиційним методам дезінфекції, що застосовуються в інкубаторіях.

Важливим фактом з точки зору безпеки харчових яєць є здатність їх їстівної частини (білок+жовток) накопичувати мінеральні елементи, які можуть проявляти токсичний ефект в організмі споживачів. Як видно з результатів нашого дослідження одно- і дворазове вполювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу з інтервалом 10 діб не впливало на вміст срібла, міді, цинку, заліза та свинцю в білку та жовтку курячих яєць.

Третє вполювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в обох дозах сприяло збільшенню вмісту срібла в білку та жовтку яєць, але не впливало на вміст інших мінеральних елементів. Незначне надходження срібла в білок яєць при пероральному застосуванні розчину нанопрепарату срібла птиці дозволяє припустити відсутність токсичної загрози курям і

споживачам курячих харчових яєць. Про відсутність негативного впливу препарату на срібла на птицю свідчать також результати досліджень [138, 139], які довели, що введення наночастинок срібла в курячі інкубаційні яйця підвищувало експресію факторів зростання фібробластів та ендотелію судин, а також розвиток м'язів ембріонів на 20 добу інкубації. Більш того, в технології виробництва біонанопрепаратів срібла використовуються білки курячого яйця як стабілізатор, що забезпечує їх антибактеріальну активність проти *Salmonella typhimurium* і *Escherichia coli* на тлі високої біосумісності, що характеризується відсутністю гемолітичного та структурного пошкодження клітинних мембран еритроцитів курчати [159].

Оцінка ризику споживання курятини в дослідженнях з вивчення впливу наносрібла в концентрації 50 мг/л питної води на домашніх курах показала, що 1,2 мкг/г срібла, що міститься в курятині, не становить небезпеки для людини [80].

При триразовому випоюванні курям-несучкам розчинів препарату наносрібла в полімер/неорганічних носіях у дозах 2,0 і 4,0 мг на курку на добу яєчна продуктивність курей у нашому досліді не відрізнялася між групами і відповідала піку несучості. Отримані нами результати досліджень узгоджуються з даними [119], які довели, що випоювання розчинів наночастинок срібла курчатам-бройлерам у дозах 0, 10 та 20 мг/кг маси тіла з 7 по 36 добу не впливало на їх масу, споживання корму, постнатальні показники росту та енергетичний метаболізм. Це узгоджується з відсутністю негативного впливу наночастинок срібла на мікроструктуру кишечника, а також на популяцію кишкової мікрофлори [119, 110-112, 157]. Однак результати досліджень [43] свідчать про протилежний ефект, зокрема про те, що під впливом випоювання перепелам-несучкам розчину комерційного препарату наночастинок срібла в концентраціях 4, 8 та 12 ppm протягом 5 тижнів відбувалося зниження ваги перепелиних яєць. Автори припускають, що це обумовлено хронічною токсичністю препарату наносрібла. На наш

погляд, це може бути пов'язане з тривалістю безперервного застосування наночастинок срібла перепелам та його кумулятивними властивостями.

Незважаючи на те, що наночастинок срібла становлять інтерес через їхню антимікробну активність і розглядаються як альтернатива антибіотикам у птахівництві, досліджень щодо накопичення срібла в тканинах тварин, а також продукції, зокрема в яйцях, незначна кількість. Розподіл срібла в окремих компонентах яєць курей контрольної групи (AgNPs 0 мг/л) у нашому досліді свідчить про те, що фонові кількість срібла, яке надходило до організму птиці у складі кормів основного раціону, накопичувалася за ступенем зменшення в наступному порядку: шкаралупа (52,7 – 57,1%), білок (26,6 – 31,1%) та жовток (16,2 – 16,5%). Одноразове вполювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу сприяло його накопиченню в жовтках курячих яєць порівняно з білком і шкаралупою. Після закінчення 10 діб після дворазового вполювання курям-несучкам розчину препарату наносрібла в цих же дозах: частка срібла, що знаходиться в складі шкаралупи яєць, стала переважати за рахунок скорочення його частки у складі білка і жовтка, що свідчить про вибіркового і дозозалежний компонент яєць.

Триразове вполювання курям-несучкам розчину наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,2 мг/курку на добу сприяло перерозподілу частки срібла між їстівною та неїстівною частинами яєць, на користь першої (див. рис. 3.4-3.6). При цьому слід зазначити, що частка срібла в компонентах яєць курей, які отримували препарат наносрібла в дозі 0,4 мг/курку на добу, залишалася на попередньому рівні. Встановлене в роботі накопичення срібла в шкаралупі яєць свідчить про проникнення його наночастинок у кров і подальше його транспортування до тканин курей, у тому числі до яйцепроводу, де утворюються білок та шкаралупа яєць. Це припущення узгоджується з даними [110-112], які довели, що використання курчатам хімічно синтезованого наносрібла, зокрема наночастинок розміром 5 нм з ліпідним покриттям, сприяє його проникненню в клітини організму

через клітинну мембрану. Цей факт також підтверджено у клінічних випробуваннях препаратів наносрібла на бройлерних фермах при використанні його перорально та інгаляційно у дозах 2–4 ppm та 40 ppm. Вони показали здатність залишків срібла накопичуватися в концентрації, що перевищує 131 ppm у селезінці, шлунку, серці, нирках, легенях, грудних та стегнових м'язах, печінці, шкірі та клоакальному посліді курчат бройлерів [101].

В одному з досліджень [47] було встановлено, що 22-денне пероральне введення курей 20 нм сферичних покритих ПВП AgNP у шестиразовій дозі по 1 мг/кг кожна сприяло накопиченню срібла в печінці (концентрація від 141 мкг до 269 мкг/кг) та жовтках (концентрація в діапазоні від 20 мкг/кг до 49 мкг/кг), але не в м'язах, нирках та білках яєць. Доведено, що частина залишкового Ag, виявленого в печінці (близько 5 – 20%), була у формі наночастинок із середнім розміром близько 20 нм. Дослідження [77-79] показали, що введення препарату наносрібла в дозі, що не перевищує 54 мг/птаха, не впливало на показники росту курчат. У кількості від 2,87 до 63,74 мг/птаха цей препарат не викликав накопичення срібла в грудному м'язі, хоча в дозі 2,87 мг/птаха приводив до накопичення цього елемента в стінці тонкої кишки і в печінці. У дослідженні [131] доведено, що додавання наночастинок срібла в кількості 50 ppm корму для курчат-бройлерів сприяло збільшенню маси тіла та м'язової маси на тлі підвищення вмісту Ag та азоту у м'язах.

За даними World Health Organization [169] середнє споживання срібла сучасною людиною становить приблизно 5–8 мкг на день, тоді як добова норма споживання срібла (есенціальна, або життєво необхідна доза), що рекомендується, становить 50 – 100 мкг, тобто, на порядок більше. Таким чином, щоденне споживання навіть 10 яєць забезпечить надходження в організм людини не більше 1/10 добової дози срібла при використанні його препарату в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам у дозах 0,2 і 0,4 мг на курку на добу.

Низька концентрація срібла, виявлена нами в компонентах курячих яєць, на 10 добу після введення препарату в організм курей несучок свідчить про можливе виведення срібла з послідом у більш ранні терміни. Це доведено у дослідженні [15], які встановили, що при пероральному введенні мишам нанопрепарату срібла в дозах 0,1, 1,0 та 10 мг/кг маси тіла на добу три дні поспіль від 70,5% до 98,6% введеної дози срібла виділялося з фекаліями між 6 та 9 год., а < 0,5% введеної дози кумулювалось у печінці, селезінці, кишечнику або сечі через 48 годин. Пероральне та інгаляційне використання наносрібла курчатам-бройлерам у дозах 2–4 ppm та 40 ppm також показало, що клоакальний послід є важливим фактором виділення залишків срібла з організму птиці [101].

Одним з показників безпечності яєць є контамінація їх шкаралупи небезпечною мікрофлорою [152]. Мікрофлора поверхні шкаралупи яєць у птахів значною мірою визначається видовим складом і співвідношенням її у вмістимому кишечнику, особливо товстої кишки [90]. На відміну від впливу антибіотиків на кишкову мікрофлору, механізм дії препаратів наносрібла на мікробіом різних відділів кишечника курей достеменно не вивчено. У птахів особливістю яйцекладки є наявність контакту слизової оболонки клоаки з поверхнею шкаралупи яєць, що передбачає вертикальний шлях передачі мікрофлори. Ми не виявили контамінації поверхні шкаралупи свіжознесених яєць умовно патогенними та патогенними мікроорганізмами родів *Citrobacter*, *Klebsiella*, а також *E. coli*, *P. mirabilis*, *Salmonella spp.*, *S. aureus* та *S. epidermidis* як за впливу різних доз препарату наносрібла, так і в курей контрольної групи. Це обумовлено бактерицидними властивостями кутикули ячної шкаралупи [27, 113].

Чисельність мезофільних аеробних та мезофільних анаеробних мікроорганізмів на поверхні шкаралупи яєць за застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у нашому експерименті не відрізнялась між групами піддослідних курей. Це дозволяє вважати, що основними мікроорганізмами, які належали до МАФАНМ, на

поверхні шкаралупи яєць курей в нашому випадку були бактерії, які представляли основу пробіотика Proactivo, що використовувався в складі комбікорму, а також бактерії родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*, розвитку яких у кишечнику курей, ймовірно, сприяв цей пробіотик [41]. Це узгоджується з чисельністю бактерій родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* у посліді курей, які отримували з водою препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0, 0,2 та 0,4 мг на курку за добу. Причому ми в своїх дослідженнях не відмічали впливу вказаного препарату на чисельність бактерій роду *Bifidobacterium*, тоді як кількість бактерій роду *Lactobacillus* у посліді курей незначно знижувалась за дози 0,4 мг на голову за добу зі збільшенням кратності застосування препарату. В іншому експерименті виявлено відсутність впливу AgNPs на мікрофлору кишечника у птахів на фоні збільшення маси тіла за зменшення відносної ваги бурси і селезінки, що супроводжувалось зниженням плазмової концентрації IgG та IgM [161].

Вплив препаратів наносрібла на мікробіом кишечника курей вивчено недостатньо, тоді як на лабораторних тваринах проведено значну кількість досліджень, які свідчать, що за перорального застосування наночастинок срібла (10, 75 та 110 нм) та ацетату наносрібла щурам Sprague-Dawley в дозах AgNPs 9, 18 та 36 мг/кг маси тіла за добу відбувався зсув мікробіоти кишечника у бік збільшення частки грамнегативних бактерій і зменшення чисельності популяцій *Firmicutes phyla* та роду *Lactobacillus* [168]. На відміну від цього дані, отримані за перорального багаторазового використання мишам AgNPs (20 та 110 нм) у дозі 10 мг/кг маси тіла за добу, свідчать про відсутність змін складу, структури і різноманітності мікробіому кишечника. Роблять висновок [167] про те, що на відміну від ефектів антибіотиків широкого спектру дії, повторне дозування AgNPs не впливає на мікробіом кишечника мишей і може розглядатися як альтернатива антибіотикам широкого спектру дії. І навпаки, у дослідженні [162] підкреслюється, що AgNPs можуть спричинити зміни мікробного складу вмістимого кишечника мишей,

характерні для ожиріння та запальних захворювань, а також за призначення антибіотиків. Порушення мікробіому кишечника під впливом AgNPs у мишей у дослідженні [23] асоціювалось з порушенням структури мікроросинок та щільних з'єднань в епітелії кишечника, а також регуляції синтезу прозапальних цитокінів. Аналіз генів за допомогою секвенування 16S рРНК показав, що пероральне застосування мишам AgNPs спричиняло зміни у кількості та співвідношенні внутрішньо- та міжфілозних бактерій та фірмікутетів, зменшувало співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, збільшувало чисельність рідкісних бактерій та зменшувало кількість пробіотичних бактерій роду *Lactobacillus*. В дослідженні [64] доведено, що вплив наночастинок наносрібла на мікробіом кишечника залежить від їх форми і викликає гістопатологічні зміни в шлунково-кишковій системі та мозку. У самців щурів Спраг-Доулі застосування AgNPs кубічної форми протягом двох тижнів зменшувало чисельність *Clostridium spp.*, *Bacteroides uniformis*, *Christensenellaceae* та *Coprococcus eutactus*, тоді як сферична форма наночастинок наносрібла знижувала кількість *Oscillospira spp.*, *Dehalobacterium spp.*, *Peptococcaeae*, *Corynebacterium spp.*, *Aggregatibacter pneumotropica*.

Хоча антибактеріальні властивості наночастинок наносрібла були продемонстровані у цілому спектрі бактеріальних збудників [146], вплив AgNPs на корисні бактерії є маловивченим. Порівняння антибактеріальної активності AgNPs щодо двох корисних лактобактерій (*Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* та *Lactobacillus casei*) та двох поширених умовно-патогенних мікроорганізмів (*Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*) показало, що лактобактерії більш чутливі до AgNPs на відміну від умовно патогенних мікроорганізмів, що узгоджується з нашими даними (див. табл. 3.28). Кисле середовище, яке утворюють лактобактерії, посилює бактерицидну дію AgNPs за рахунок підвищення їх розчинення та утворення гідроксильних радикалів ($\cdot\text{OH}$). Крім того, збільшення концентрації іонів наносрібла (Ag^+) та $\cdot\text{OH}$ виснажує пул глутатіону всередині клітини мікроорганізму, що пов'язано

зі збільшенням вмісту внутрішньоклітинних активних форм кисню. Високий рівень активних форм кисню в середовищі може додатково спричинити пошкодження ДНК та призвести до загибелі клітин [160]. Ці результати також вказують на те, що пероральне застосування AgNPs змінює асоційовану зі слизовою оболонкою мікробіоту та модулює кишкову імунну відповідь і загальний гомеостаз кишкового тракту у тварин.

Наносрібло є ефективним бактерицидним засобом проти грамнегативних та грампозитивних штамів, а його активність залежить від товщини пептидогліканового шару стінки бактерії. Іони наносрібла можуть зв'язуватися з негативно зарядженою поверхнею бактерій і порушувати її цілісність. AgNPs та іони також здатні потрапляти в бактеріальні клітини та перешкоджати функціонуванню дихального ланцюга і засвоєнню фосфатів. Порушення реплікації ДНК або модифікація білка, а також сильна взаємодія з цитоплазматичними та мембранними білками, що містять тіол, також можуть посилювати бактерицидні ефекти AgNPs [66, 164].

Використання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів можна розглядати як спосіб зниження накопичення залишків антибіотиків та інших антибактеріальних препаратів у харчових продуктах, у тому числі яйцях та м'ясі птиці [12, 13], що може певною мірою вирішити не лише медичну, а й екологічну проблеми.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі зроблено санітарно-гігієнічну оцінку використання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам для виробництва безпечних харчових яєць. В результаті проведених досліджень доведено, що препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 та 0,4 мг/курку за добу за трикратного впоювання з водою з інтервалом 10 діб суттєвим чином не впливає на показники клінічного стану, гематологічні параметри, а окремі зміни метаболічного статусу носять адаптаційний характер в організмі курей. Доведено, що препарат наносрібла здатний дозозалежним чином накопичуватися у шкаралупі харчових яєць і не впливає на мінеральний склад їстівної частини яйця (білок і жовток).

Доведено безпечність препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг/курку за добу за трикратного застосування у вигляді впоювання для симбіотичної мікрофлори апарату травлення.

1. Препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів суттєво не впливав на морфологічні показники крові курей-несучок в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу за трикратного застосування з інтервалом 10 діб.
2. Впоювання розчину препарату наносрібла курям-несучкам в дозі 0,2 мг на голову за добу з інтервалом 10 діб проявляв більш виражений вплив на біохімічний профіль крові, ніж в дозі 0,4 мг. Зі збільшенням кратності впоювання курям-несучкам розчинів препарату наносрібла рівень вираженості їх впливу на показники метаболічного профілю сироватки крові зменшувалися і носили адаптаційний характер.
3. Одно-, дво- та трикратне застосування курям несучкам з питною водою препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних

гібридів в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу не впливало на споживання води, корму, яєчну продуктивність курей та хімічний склад яєць, що характеризує їх якість.

4. Одноразове впоювання курям-несучкам водного розчину наночастинок срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозі 0,2 мг/голову на добу не впливало на вміст срібла, міді, цинку, заліза та свинцю у шкаралупі яєць і відповідало контрольним показникам. Нанопрепарат срібла в дозі 0,4 мг/голову на добу збільшував вміст срібла на 27% та міді в 1,9 раза, але не впливав на вміст цинку, заліза та свинцю в шкаралупі курячих яєць на 10 добу після першого впоювання порівняно з контролем.
5. Двократне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів в дозі 0,2 мг/голову за добу спричинило збільшення вмісту срібла в шкаралупі яєць у 9 разів, у дозі 0,4 мг/голову за добу – збільшувало вміст срібла у шкаралупі яєць в 11 разів порівняно з контролем, але обидві дози не впливали на рівень міді, цинку, заліза та свинцю. Трикратне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в указаних дозах призводило до аналогічного ефекту.
6. Одно-, дво- та трикратне застосування курям-несучкам препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливало на вміст міді, цинку, заліза та свинцю у білку та жовтку курячих яєць, а також посліду.
7. Підвищення вмісту срібла в жовтках спричиняє лише трикратне впоювання курям-несучкам препарату наносрібла в дозі 0,2 мг/голову за добу в 1,8 раза, а в дозі 0,4 мг/голову за добу – в 2,2 раза.
8. Препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливав на контамінацію поверхні шкаралупи та жовтків свіжознесених курячих яєць МаФАНМ.

9. Застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям несучкам в дозах 0,2 та 0,4 мг на курку за добу не викликало накопичення на поверхні шкаралупи яєць умовно патогенних та патогенних мікроорганізмів родів *Citrobacter*, *Klebsiella*, а також *E. coli*, *P. mirabilis*, *Salmonella spp.*, *S. aureus* та *S. epidermidis*.
10. У дозі 0,4 мг на курку за добу препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливав на чисельність мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* та спричиняв не суттєве зменшення кількості бактерій роду *Lactobacillus* у посліді курей.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для профілактики контамінації курячих харчових яєць умовно патогенною чи патогенною мікрофлорою пропонується використання препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів у дозах 0,2 чи 0,4 мг/голову за добу з питною водою трикратно з інтервалом 10 діб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abdelsalam, M., Al-Homidan, I., Ebeid, T., Abou-Emera, O., Mostafa, M., Abd El-Razik, M., Shehab-El-Deen, M., Abdel Ghani, S., & Fathi, M. (2019). Effect of silver nanoparticle administration on productive performance, blood parameters, antioxidative status, and silver residues in growing rabbits under hot climate. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 9(10), 845. doi:10.3390/ani9100845
2. Adeyemi, O. S., & Adewumi, I. (2014). Biochemical evaluation of silver nanoparticles in Wistar rats. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 196091. doi:10.1155/2014/196091
3. Ahmadi, F. (2012). Impact of different levels of silver nanoparticles (Ag-nps) on performance, oxidative enzymes and blood parameters in broiler chicks. *Pakistan Veterinary Journal*, 32(3), 325-328.
4. Ahmadi, J. (2009). Application of different levels of silver nanoparticles in food on the performance and some blood parameters of broiler chickens. *World Applied Sciences Journal*, 1(7), 24-27.
5. Al-Ajeeli, M. N., Taylor, T. M., Alvarado, C. Z., & Coufal, C. D. (2016). Comparison of eggshell surface sanitization technologies and impacts on consumer acceptability. *Poultry Science*, 95(5), 1191–1197. doi:10.3382/ps/pew014
6. Ali, A. B., Campbell, D. L., Karcher, D. M., & Siegford, J. M. (2016). Influence of genetic strain and access to litter on spatial distribution of 4 strains of laying hens in an aviary system. *Poultry Science*, 95(11), 2489–2502. doi:10.3382/ps/pew236
7. Alt, V., Bechert, T., Steinrücke, 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(18), 4383–4391. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.10.078

8. Anwar, M., Awais, M., Akhtar, M., Navid, M., & Muhammad, F. (2019). Nutritional and immunological effects of nano-particles in commercial poultry birds. *World's Poultry Science Journal*, 75(2), 261-272. doi:10.1017/S0043933919000199
9. Asai, T., Kojima, A., Harada, K., Ishihara, K., Takahashi, T., & Tamura, Y. (2005). Correlation between the usage volume of veterinary therapeutic antimicrobials and resistance in *Escherichia coli* isolated from the feces of food-producing animals in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 58(6), 369–372.
10. Atiyeh, B. S., Costagliola, M., Hayek, S. N., & Dibo, S. A. (2007). Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 33(2), 139–148. doi:10.1016/j.burns.2006.06.010
11. Batkowska, J., Al-Shammari, K. I. A., Gryzinska, M. M., Brodacki, A., Wlazlo, L., & Nowakowicz-Debek, B. (2017). Effect of using colloidal silver in the disinfection of hatching eggs on some microbial, hatchability and performance traits in Japanese quail (*Coturnix cot. japonica*). *European Poultry Science*, 81, 211. (in German). doi:10.1399/eps.2017.211
12. Bayer, E.V., Novozhitskaya, Yu. N., Shevchenko, L.V., & Mykhalska, V.M. (2017). Monitoring of residues of veterinary preparations in food products. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(3), 251–257. doi:10.15421/2017_76
13. Bayer, O. V., Yaremchuk, O. S., Shevchenko, L. V., & Mykhalska, V. M. (2017). The development and validation of a rapid method for the determination of antibiotics in milk by high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 569–575. doi:10.15421/2017_162
14. Bélteky, P., Rónavári, A., Igaz, N., Szerencsés, B., Tóth, I.Y., Pfeiffer, I., Kiricsi, M., & Kónya, Z. (2019). Silver nanoparticles: aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 667-687. doi:10.2147/IJN.S185965

15. Bergin, I. L., Wilding, L. A., Morishita, M., Walacavage, K., Ault, A. P., Axson, J. L., Stark, D. I., Hashway, S. A., Capracotta, S. S., Leroueil, P. R., Maynard, A. D., & Philbert, M. A. (2016). Effects of particle size and coating on toxicologic parameters, fecal elimination kinetics and tissue distribution of acutely ingested silver nanoparticles in a mouse model. *Nanotoxicology*, 10(3), 352–360. doi:10.3109/17435390.2015.1072588
16. Brantsæter, M., Tahamtani, F. M., Moe, R. O., Hansen, T. B., Orritt, R., Nicol, C., & Janczak, A. M. (2016). Rearing laying hens in aviaries reduces fearfulness following transfer to furnished cages. *Frontiers in Veterinary Science*, 3, 13. doi:10.3389/fvets.2016.00013
17. Cameron, S. J., Hosseinian, F., & Willmore, W. G. (2018). A current overview of the biological and cellular effects of nanosilver. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 2030. doi:10.3390/ijms19072030
18. Campbell, D. L., Makagon, M. M., Swanson, J. C., & Siegford, J. M. (2016). Laying hen movement in a commercial aviary: Enclosure to floor and back again. *Poultry Science*, 95(1), 176–187. doi:10.3382/ps/pev186
19. Castellini, C., Ruggeri, S., Mattioli, S., Bernardini, G., Macchioni, L., Moretti, E. & Collodel, G. (2014). Long-term effects of silver nanoparticles on reproductive activity of rabbit buck. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(3), 143-150. doi:10.3109/19396368.2014.891163
20. Council directive 1999/74/EC of 19 July 1999 laying down minimum standards for the protection of laying hens Official Journal of the European Union, L203 (1999), pp. 53-57
21. Chauke, N., & Siebrits, F. (2011). Evaluation of silver nanoparticles as a possible coccidiostat in broiler production. *South African Journal of Animal Science*, 42, 493-497. doi:10.4314/sajas.v42i5.10
22. Chen D., Qiao X., Qiu X., & Chen J. (2009). Synthesis and electrical properties of uniform silver nanoparticles for electronic applications. *Journal of Materials Science*, 44, 1076–1081. doi.org/10.1007/s10853-008-3204-y

23. Chen, H., Zhao, R., Wang, B., Cai, C., Zheng, L., Wang, H., Wang, M., Ouyang, H., Zhou, X., Chai, Z., Zhao, Y., & Feng, W. (2017). The effects of orally administered Ag, TiO₂ and SiO₂ nanoparticles on gut microbiota composition and colitis induction in mice. *NanoImpact*, 8, 80–88. doi:10.1016/j.impact.2017.07.005
24. Chen, L. Q., Fang, L., Ling, J., Ding, C. Z., Kang, B., & Huang, C. Z. (2015). Nanotoxicity of silver nanoparticles to red blood cells: size dependent adsorption, uptake, and hemolytic activity. *Chemical Research in Toxicology*, 28(3), 501–509. doi:10.1021/tx500479m
25. Chen, R., Choudhary, P., Schurr, R. N., Bhattacharya, P., Brown, J. M., & Chun Ke, P. (2012). Interaction of lipid vesicle with silver nanoparticle-serum albumin protein corona. *Applied Physics Letters*, 100(1), 137030-137034. doi:10.1063/1.3672035
26. Chen, X., & Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*, 176(1), 1–12. doi:10.1016/j.toxlet.2007.10.004
27. Chen, X., Li, X., He, Z., Hou, Z., Xu, G., Yang, N., & Zheng, J. (2019). Comparative study of eggshell antibacterial effectivity in precocial and altricial birds using *Escherichia coli*. *PLoS ONE*, 14(7), e0220054. doi:10.1371/journal.pone.0220054
28. Chen, Z. Y., Li, N. J., Cheng, F. Y., Hsueh, J. F., Huang, C. C., Lu, F. I., Fu, T. F., Yan, S. J., Lee, Y. H., & Wang, Y. J. (2020). The effect of the chorion on size-dependent acute toxicity and underlying mechanisms of amine-modified silver nanoparticles in zebrafish embryos. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8), 2864. doi:10.3390/ijms21082864
29. Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyzna, L., Dobrowolska, M., Banach, M., Nowakowicz-Dębek, B., Bryl, M., Drabik, A., Tymczyzna-Sobotka, M., & Kolejko, M. (2015). Silver (Ag) in tissues and eggshells, biochemical parameters and oxidative stress in chickens. *Open Chemistry*, 13, 1269–1274. doi:10.1515/chem-2015-0140

30. Chung, H., Kim, H., Myeong, D., Kim, S., & Choe, N. H. (2018). Effect of chlorine dioxide gas application to egg surface: microbial reduction effect, quality of eggs, and hatchability. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(3), 487–497. doi:10.5851/kosfa.2018.38.3.487
31. de la Harpe, K. M., Kondiah, P., Choonara, Y. E., Marimuthu, T., du Toit, L. C., & Pillay, V. (2019). The hemocompatibility of nanoparticles: a review of cell-nanoparticle interactions and hemostasis. *Cells*, 8(10), 1209. doi:10.3390/cells8101209
32. De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology*, 112(3), 253–260. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.011
33. Dedousi, A., Đukić Stojčić, M., & Sossidou, E. (2020). Effects of housing systems on keel bone damage and egg quality of laying hens. *Veterinary research forum: an International Quarterly Journal*, 11(4), 299–304. doi:10.30466/vrf.2019.99568.2375
34. Deshmukh, S. P., Patil, S. M., Mullani, S. B., & Delekar, S. D. (2019). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 97, 954-965. doi:10.1016/j.msec.2018.12.102
35. Długosz, O., Sochocka, M., Ochnik, M., & Banach, M. (2021). Metal and bimetallic nanoparticles: Flow synthesis, bioactivity and toxicity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 586, 807–818. doi:10.1016/j.jcis.2020.11.005
36. Dobrzanski, Z., Zygadlik, K., Patkowska-Sokola, B., Nowakowski, P., Janczak, M., Sobczak, A., Bodkowski, R. (2010). The effectiveness of nanosilver and mineral sorbents in the reduction of ammonia emissions from livestock manure. *Przemysł Chemiczny*, 4, 348–351. [in Polish]
37. Domènech, B., Muñoz, M., Muraviev, D.N., Macanás, J. (2013). Polymer-silver nanocomposites as antibacterial materials. In: Méndez-Vilas A, editor.

- Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Badajoz: Formatex, p. 630-640.
38. Dosoky, W. M., Fouda, M. M. G., Alwan, A. B., Abdelsalam, N. R., Taha, A. E., Ghareeb, R. Y., El-Aassar, M. R., & Khafaga, A. F. (2021). Dietary supplementation of silver-silica nanoparticles promotes histological, immunological, ultrastructural, and performance parameters of broiler chickens. *Scientific Reports*, 11, 4166. doi:10.1038/s41598-021-83753-5
39. Elalfy, M. E., Abouelmagd, M., Abdelraheem, E. A., & El-Hadidy, M. G. (2020). Hepatorenal effects of silver nanoparticles in in-vivo postnatal model of toxicity and in HepG2 cell line. *Material Science Research India*, 17(1), 54-61. doi:10.13005/msri/170108
40. Elkloub, K., Moustafa, M. El., Ghazalah, A. A., & Rehan, A. A. A. (2015). Effect of dietary nanosilver on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 14(3), 177-182. doi.org/10.3923/ijps.2015.177.182
41. Elshaghabee, F., Rokana, N., Gulhane, R. D., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1490. doi:10.3389/fmicb.2017.01490
42. Farrokhi, S., Ahari, H., & Abedini, M. R. (2017). Comparative effects of colloidal silver nanoparticles used in packaging film and spray in inactivating bacteria experimentally added to chicken eggshells. *International Journal of Food Properties*, 20(10), 2314–2322. doi:10.1080/10942912.2016.1236274
43. Farzinpour, A., & Karashi, N. (2013). The effects of nanosilver on egg quality traits in laying Japanese quail. *Applied Nanoscience*, 3, 95–99. doi:10.1007/s13204-012-0097-5
44. Fedorchuk, S., Zheltonozhskaya, T., Gomza, Yu., Kunitskaya, L., & Demchenko, O. (2012). Synthesis of silver nanoparticles in the matrices of block and graft copolymers and polymer/inorganic hybrid in water solutions. *Macromol. Symp.* 317-318(1), 103-116

45. Fesseha, H., Degu, T., & Getachew, Y. (2020). Nanotechnology and its application in animal production: A Review. *Veterinary Medicine Open Journal*, 5(2), 43–50. doi:10.17140/VMOJ-5-148
46. Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., & Galdiero, M. (2015). Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules* (Basel, Switzerland), 20(5), 8856–8874. doi:10.3390/molecules20058856
47. Gallocchio, F., Biancotto, G., Cibin, V., Losasso, C., Belluco, S., Peters, R., van Bommel, G., Cascio, C., Weigel, S., Tromp, P., Gobbo, F., Catania, S., & Ricci, A. (2017). Transfer study of silver nanoparticles in poultry production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18), 3767–3774. doi:10.1021/acs.jafc.7b00670
48. Gangadoo, S., Stanley, D., Hughes, R. J., Moore, R., & Chapman, J. (2016). Nanoparticles in feed: Progress and prospects in poultry research. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 115–126. doi:10.1016/j.tifs.2016.10.013
49. Gessmann, J., Seybold, D., Ayami, F., Peter, E., Baecker, H., Schildhauer, T. A., & Köller, M., (2018). Peripheral blood plasma clot as a local antimicrobial drug delivery matrix. *Tissue Engineering Part A*, 24(9-10), 809-818. doi:10.1089/ten.tea.2017.0319
50. Gholami-Ahangaran, M., & Zia-Jahromi, N. (2014). Effect of nanosilver on blood parameters in chickens having aflatoxicosis. *Toxicology and Industrial Health*, 30(2), 192–196. doi:10.1177/0748233712452611
51. Gnanadhas, D. P., Ben Thomas, M., Thomas, R., Raichur, A. M., & Chakravorty, D. (2013). Interaction of silver nanoparticles with serum proteins affects their antimicrobial activity in vivo. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(10), 4945-4955. doi:10.1128/AAC.00152-13
52. Gomathi, A. C., Xavier Rajarathinam, S. R., Mohammed Sadiq, A., & Rajeshkumar S. (2020). Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-

- 7 human breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101376. doi:10.1016/j.jddst.2019.101376
53. Gopinath, P., Ranjani, A., Dhanasekaran, D., Thajuddin, N., Archunan, G., Akbarsha, M. A., Gulyás, B., & Padmanabhan, P. (2016). Multi-functional nano silver: A novel disruptive and theranostic agent for pathogenic organisms in real-time. *Scientific Reports*, 6, 34058. doi:10.1038/srep34058
54. Greulich, C., Kittler, S., Epple, M., Muhr, G., & Köller, M. (2009). Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs). *Langenbeck's Archives of Surgery*, 394(3), 495–502. doi:10.1007/s00423-009-0472-1
55. Hamed, S., Emara, M., Shawky, R. M., El-Domany, R. A., & Youssef, T. (2017). Silver nanoparticles: Antimicrobial activity, cytotoxicity, and synergism with N-acetyl cysteine. *Journal of Basic Microbiology*, 57(8), 659–668. doi:10.1002/jobm.201700087
56. Hamood, M. F., Jasim, H. N., & AL-Hassani A. S. A. (2018). Evaluation of contamination status in imported and local table eggs. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 49(3), 388–393, 2018.
57. Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., Dai, M., Wang, Y., Liu, Z., & Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in Microbiology*, 5, 288. doi:10.3389/fmicb.2014.00288
58. Hashimoto, M. C., Prates, R. A., Kato, I. T., Núñez, S. C., Courrol, L. C., & Ribeiro, M. S. (2012). Antimicrobial photodynamic therapy on drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*-induced infection. An in vivo study. *Photochemistry and Photobiology*, 88(3), 590–595. doi:10.1111/j.1751-1097.2012.01137.x
59. Hassan, A. A., Mansour, M. K., El Hamaky, A. M., Sayed El Ahl, R. M., & Oraby, N. H. (2020). hybrid nanomaterials for sustainable agri-food and

- ecosystems. *Micro and Nano Technologies*, 583–638. doi:10.1016/B978-0-12-821354-4.00024-8
60. Hassanen, E. I., Khalaf, A. A., Tohamy, A. F., Mohammed, E. R., & Farroh, K. Y. (2019). Toxicopathological and immunological studies on different concentrations of chitosan-coated silver nanoparticles in rats. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 4723–4739. doi:10.2147/IJN.S207644
61. He, X., Deng, H., & Hwang, H. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27, 1–21. doi:10.1016/J.JFDA.2018.12.002
62. Heydrnejad, M. S., Samani, R. J., & Aghaeivanda, S. (2015). Toxic effects of silver nanoparticles on liver and some hematological parameters in male and female mice (*Mus musculus*). *Biological Trace Element Research*, 165, 153–158. doi:10.1007/s12011-015-0247-1
63. Jafarzadeh, R., Heydarnejad, M. S., & Aghayeevanda, S. (2015). The effects of silver nanoparticles on Creatinine, BUN and blood electrolytes in laboratory male mice (*Mus musculus*). *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 17(5), 64–73.
64. Javurek, A. B., Suresh, D., Spollen, W. G., Hart, M. L., Hansen, S. A., Ellersieck, M. R., Bivens, N. J., Givan, S. A., Upendran, A., Kannan, R., & Rosenfeld, C. S. (2017). Gut dysbiosis and neurobehavioral alterations in rats exposed to silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 7(1), 2822. doi:10.1038/s41598-017-02880-0
65. Jones, D. R., Karcher, D. M., & Abdo, Z. (2014). Effect of a commercial housing system on egg quality during extended storage. *Poultry Science*, 93(5), 1282–1288. doi:10.3382/ps.2013-03631
66. Jung, W. K., Koo, H. C., Kim, K. W., Shin, S., Kim, S. H., & Park, Y. H. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 74, 2171–2178. doi:10.1128/AEM.02001-07

67. Katarzyńska-Banasik, D., Grzesiak, M., Kowalik, K., & Sechman, A. (2021). Administration of silver nanoparticles affects ovarian steroidogenesis and may influence thyroid hormone metabolism in hens (*Gallus domesticus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111427. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111427
68. Kennedy, D. C., Orts-Gil, G., Lai, C.-H., Miller, S., Haase, A., Luch, A., & Seeberger, P. H. (2014). Carbohydrate functionalization of silver nanoparticles modulates cytotoxicity and cellular uptake. *Journal of Nanobiotechnology*, 12, 59. doi:10.1186/s12951-014-0059-z
69. Ketta, M., & Tůmová, E. (2018) Eggshell characteristics and cuticle deposition in three laying hen genotypes housed in enriched cages and on litter. *Czech Journal of Animal Science*, 63, 11-16. doi: 10.17221/75/2017-CJAS
70. Ketta, M., & Tůmová, E. (2016). Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review *Czech Journal of Animal Science*, 61(7), 299-309. doi: 10.17221/46/2015-CJAS
71. King, T., Osmond-McLeod, M. J., & Duffy, L. L. (2018). Nanotechnology in the food sector and potential applications for the poultry industry. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 62–73. doi:10.1016/j.tifs.2017.11.015
72. Kiseleva, I. V., Farroukh, M. A., Skomorokhova, E. A., Reksin, A. R., Bazhenova, E. A., Magazenkova, D. N., Orlov, I. A., Rudenko, L. G., Brogini, M., & Puchkova, L. V. (2020). Anti-influenza effect of nanosilver in a mouse model. *Vaccines*, 8(4), 679. doi:10.3390/vaccines8040679
73. Konkol, D., Popiela, E., & Korczyński, M. (2020). The effect of an enriched laying environment on welfare, performance, and egg quality parameters of laying hens kept in a cage system. *Poultry Science*, 99(8), 3771–3776. doi:10.1016/j.psj.2020.04.017
74. Kowalski, Z., Banach, M., & Powalka, E. (2009). Zastosowanie płynów dezynfekcyjnych z dodatkami nanosrebra w przemyśle mięsnym celem ograniczenia odorów. *Przemysł Chemiczny*, 88(5), 478–482.

75. Krawczyk, J., & Calik, J. (2006). Egg quality in free-range hens. *Polish Journal of Natural Sciences*, 3 (1), 433–438.
76. Krawczyk, J., & Gornowicz, E. (2010). Quality of eggs from hens kept in two different free-range systems in comparison with a barn system *Qualität von Eiern aus zwei verschiedenen Freiland- und einem Bodenhaltungssystem*. 55804067
77. Kulak, E., Ognik, K., Stepniowska, A., & Drażbo, A. (2018). Effect of nanoparticles silver on redox status and accumulation Ag in tissues chicken. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(11). 4085–4096. doi:10.1002/jsfa.8925
78. Kulak, E., Ognik, K., Stepniowska, A., & Sembratowicz, I. (2018). The effect of administration of silver nanoparticles on silver accumulation in tissues and the immune and antioxidant status of chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27(1), 44–54. doi:10.22358/jafs/84978/2018
79. Kulak, E., Sembratowicz, I., Stepniowska, A., & Ognik, K. (2018). The effect of administration of silver nanoparticles on the immune status of chickens. *Annals of Animal Science*, 18(2), 2018, 401-416. doi:10.1515/aoas-2017-0043
80. Kumar, I., & Bhattacharya, J. (2019). Assessment of the role of silver nanoparticles in reducing poultry mortality, risk and economic benefits. *Applied Nanoscience*, 9, 1293–1307. doi:10.1007/s13204-018-00942-x
81. Lakins, D. G., Alvarado, C. Z., Thompson, L. D., Brashears, M. T., Brooks, J. C., & Brashears, M. M. (2008). Reduction of *Salmonella enteritidis* in shell eggs using directional microwave technology. *Poultry Science*, 87(5), 985–991. doi:10.3382/ps.2007-00393
82. Lamas, B., Breyner, N. M., & Houdeau, E. (2020). Impacts of foodborne inorganic nanoparticles on the gut microbiota-immune axis: potential consequences for host health. *Particle and Fibre Toxicology*, 17(1), 19. doi:10.1186/s12989-020-00349-z

83. Laridan, E., Martinod, K., & De Meyer, S. F. (2019). Neutrophil extracellular traps in arterial and venous thrombosis. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 45(1), 86–93. doi:10.1055/s-0038-1677040
84. Lee, M. J., Lee, S. J., Yun, S. J., Jang, J. Y., Kang, H., Kim, K., Choi, I. H., & Park, S. (2015). Silver nanoparticles affect glucose metabolism in hepatoma cells through production of reactive oxygen species. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 55-68. doi:10.2147/IJN.S94907
85. Lee, S. H., & Jun, B.-H. (2019). Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 865. doi:10.3390/ijms20040865
86. Li, Y., Bhalli, J. A., Ding, W., Yan, J., Pearce, M. G., Sadiq, R., Cunningham, C. K., Jones, M. Y., Monroe, W. A., Howard, P. C., Zhou, T., & Chen, T. (2014). Cytotoxicity and genotoxicity assessment of silver nanoparticles in mouse. *Nanotoxicology*, 8(1), 36-45. doi:10.3109/17435390.2013.855827
87. Lin, M.-H., Lin, C.-F., Yang, S.-C., Hung, C.-F., & Fang, J.-Y. (2018). The interplay between nanoparticles and neutrophils. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 14(1), 66-85. doi:10.1166/jbn.2018.2459
88. Lopez, J. P., Sancho, M. J., Marino, A., & Macarulla, J. M. (1984). Cholesterol biosynthesis in chicken liver: effect of triiodothyronine. *Experimental and Clinical Endocrinology*, 84(1), 45-51. doi:10.1055/s-0029-1210365
89. Mahmoud, U. T. (2012). Silver nanoparticles in poultry production. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 2(4), 303-306.
90. Maki, J. J., Bobeck, E. A., Sylte, M. J., & Looft, T. (2020). Eggshell and environmental bacteria contribute to the intestinal microbiota of growing chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11, 60. doi:10.1186/s40104-020-00459-w
91. Meena, N. S., Sahni, Y. P., Thakur, D., & Singh, R. P. (2018). Applications of nanotechnology in veterinary therapeutics. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2), 167–175.

92. Mench, J. A., Sumner, D. A., & Rosen-Molina, J. T. (2011). Sustainability of egg production in the United States--the policy and market context. *Poultry Science*, 90(1), 229–240. doi:10.3382/ps.2010-00844
93. Meroz, M., & Samberg, Y. (1995). Disinfecting poultry production premises. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 14(2), 273–291. doi:10.20506/rst.14.2.839
94. Metak, A., & Ajaal, T. (2013). 'Investigation on Polymer Based Nano-Silver as Food Packaging Materials'. *World Academy of Science, Engineering and Technology, Open Science Index* 84, *International Journal of Chemical and Molecular Engineering*, 7(12), 1103 - 1109.
95. Miao, Z. H., Glatz, P. C., & Ru, Y. J. (2005). Free-range Poultry Production - A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Asian Australasian Association of Animal Production Societies. doi:10.5713/ajas.2005.113
96. Modi, C.M., Mody, S.K., Patel, H.B., Dudhatra, G.B., Kumar, A., & Sheikh, T.J. (2011). Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(8), 33–36.
97. Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346–2353. doi:10.1088/0957-4484/16/10/059
98. Motelica, L., Fikai, D., Fikai, A., Truşcă, R. D., Ilie, C. I., Oprea, O. C., & Andronescu, E. (2020). Innovative antimicrobial chitosan/ZnO/Ag NPs/citronella essential oil nanocomposite-potential coating for grapes. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(12), 1801. doi:10.3390/foods9121801
99. Moyle, T., Drake, K., Gole, V., Chousalkar, K., & Hazel, S. (2016). Bacterial contamination of eggs and behaviour of poultry flocks in the free range environment. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 49, 88–94. doi:10.1016/j.cimid.2016.10.005

100. Murphy, M., Ting, K., Zhang, X., Soo, C., & Zheng, Z. (2015). Current development of silver nanoparticle preparation, investigation, and application in the field of medicine. *Journal of Nanomaterials*, 2015, 696918. doi:10.1155/2015/696918
101. Nabinejad, A., Noaman, V., & Khayyam Nekouiee, M. (2016). Evaluation of silver residues accumulation in tissues of Broilers treated with nanosilver using MNSR (A Clinical Trial). *Archives of Razi Institute*, 71(1), 51–55. doi:10.22034/ari.2016.105998
102. Naghsh, N., Safari, M., & Hajmehrabi, P. (2012). Comparison of nanosilver inhibitory effects growth between *Aspergillus niger* and *E. coli*. *Indian Journal of Science and Technology*, 5(3), 2448–2450.
103. Natsuki, J., Natsuki, T., & Hashimoto, Y. A. (2015). Review of silver nanoparticles: synthesis methods, properties and applications. *International Journal of Materials Science and Applications*, 4, 325–332. doi: 10.11648/j.ijmsa.20150405.17
104. Neira, C., Laca, A., Laca, A., & Díaz, M. (2017). Microbial diversity on commercial eggs as affected by the production system. A first approach using PGM. *International Journal of Food Microbiology*, 262, 3–7. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.008
105. Nel, A., Xia, T., Mädler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science (New York, N.Y.)*, 311(5761), 622–627. doi:10.1126/science.1114397
106. Niakan, S., Niakan, M., Hesaraki, S., Nejadmoghaddam, M. R., Moradi M. (2013). Comparison of the antibacterial effects of nanosilver with 18 antibiotics on multidrug resistance clinical isolates of acinetobacter baumannii. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(5), e8341. doi: 10.5812/jjm.8341
107. Niewold T. A. (2007). The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poultry Science*, 86(4), 605–609. doi:10.1093/ps/86.4.605

108. Nikalje, A. P. (2015). Nanotechnology and its applications in medicine. *Medicinal Chemistry*, 5(2), 081–089. doi:10.4172/2161-0444.1000247
109. Nys, Y., Jondreville, C., Chemaly, M., Roudaut, B., & Berthelot, V. (2018). Qualité des oeufs de consommation Alimentation des animaux et qualité de leurs produits. Partie 2 - Déterminants alimentaires et non alimentaires en élevage de la qualité des produits (Chapitre 9), Tec & Doc Lavoisier, Paris, France, pp. 316-333
110. Ognik, K., Cholewińska, E., Czech, A., Kozłowski, K., Wlazło, Ł., Nowakowicz-Dębek, B., Szlęzak, R., & Tutaj, K. (2016). Effect of silver nanoparticles on the immune, redox, and lipid status of chicken blood. *Czech Journal of Animal Science*, 61, 450-461. doi:10.17221/80/2015-CJAS
111. Ognik, K., Sembratowicz, I., Cholewinska, E., Wlazło, L., Nowakowicz-Debek, B., Szlęzak, R., & Tutaj, K. (2016). The effect of chemically-synthesized silver nanoparticles on performance and the histology and microbiological profile of the jejunum in chickens. *Annals of Animal Science*, 16(2), 439–1450. doi:10.1515/aoas-2015-0067
112. Ognik, K., Stępniewska, A., & Kozłowski, K. (2017). The effect of administration of silver nanoparticles to broiler chickens on estimated intestinal absorption of iron, calcium, and potassium. *Livestock Science*, 200, 40-45. doi:10.1016/j.livsci.2017.04.002
113. Ohshima, Y., Takada, D., Namai, S., Sawai, J., Kikuchi, M., & Hotta, M. (2015). Antimicrobial Characteristics of Heated Eggshell Powder. *Biocontrol Science*, 20(4), 239–246. doi:10.4265/bio.20.239
114. Pangestika, R., & Ernawati, R. (2017). Antiviral activity effect of silver nanoparticles (AgNPs) solution against the growth of Infectious Bursal Disease virus on embryonated chicken eggs with Elisa Test. *KnE Life Sciences*, 3(6), 536-548. doi:10.18502/cls.v3i6.1181
115. Parang, Z., & Moghadamnia, D. (2018). Effects of silver nanoparticles on the functional tests of liver and its histological changes in adult male rats.

- Nanomedicine Research Journal, 3(3), 146-153.
doi:10.22034/nmrj.2018.03.005
116. Park, E. J., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., & Park, K. (2010). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in Vitro: an International Journal Published in Association with BIBRA*, 24(3), 872–878. doi:10.1016/j.tiv.2009.12.001
117. Park, M. V., Neigh, A. M., Vermeulen, J. P., de la Fonteyne, L. J., Verharen, H. W., Briedé, J. J., van Loveren, H., & de Jong, W. H. (2011). The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *Biomaterials*, 32(36), 9810–9817. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.08.085
118. Philippe, F.X., Mahmoudi, Y., Cinq-Mars, D., Lefrancois, M., Moula, N., Palacios, J., Pelletier, F., & Godbout, S. (2020). Comparison of egg production, quality and composition in three production systems for laying hens. *Livestock Science*, 232, 103917. doi:10.1016/j.livsci.2020.103917
119. Pineda, L., Chwalibog, A., Sawosz, E., Lauridsen, C., Engberg, R., Elnif, J., Hotowy, A., Sawosz, F., Gao, Y., Ali, A., & Moghaddam, H. (2012). Effect of silver nanoparticles on growth performance, metabolism and microbial profile of broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition*, 66(5), 416–429. doi:10.1080/1745039X.2012.710081
120. Prabhu, S., & Poulose, E.K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2, 32. doi:10.1186/2228-5326-2-32
121. Puchkova, L. V., Brogini, M., Polishchuk, E. V., Ilyechova, E. Y., & Polishchuk, R. S. (2019). Silver ions as a tool for understanding different aspects of copper metabolism. *Nutrients*, 11(6), 1364. doi:10.3390/nu11061364
122. Pulit-Prociak, J., & Banach, M. (2016). Silver nanoparticles – a material of the future...? *Open Chemistry*, 14(1), 76-91. doi:10.1515/chem-2016-0005

123. Pulit-Prociak, J., Staroń, A., Staroń, P., Chmielowiec-Korzeniowska, A., Drabik, A., Tymczyna, L., & Banach, M. (2020). Preparation and of PVA-based compositions with embedded silver, copper and zinc oxide nanoparticles and assessment of their antibacterial properties. *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), 148. doi:10.1186/s12951-020-00702-6
124. Ranoszek-Soliwoda, K., Tomaszewska, E., Małek, K., Celichowski, G., Orłowski, P., Krzyzowska, M., & Grobelny, J. (2019). The synthesis of monodisperse silver nanoparticles with plant extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 177(1), 19-24. doi:10.1016/j.colsurfb.2019.01.037
125. Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H.M., He, X., Mbarki, S., & Brestic, M. (2017). Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in Chemistry*, 5, 78.
126. Ravishankar, R.V., & Jamuna, B.A. (2011). Nanoparticles and their potential application as antimicrobials. In: Méndez-Vilas A, editor. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Badajoz: Formatex; p. 197- 209.
127. Reidy, B., Haase, A., Luch, A., Dawson, K.A., & Lynch, I. (2013). Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. *Materials*. 6(6), 2295-2350
128. Ricke, S. C., Birkhold, S. G., & Gast, R. K. (2001). Eggs and egg products. In: Downs F. P., Ito K., editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods* . 4th. Washington, D.C.: American Public Health Association. pp. 473–479.
129. Rozenberg, B. A., & Tenne, R. (2008). Polymer-assisted fabrication of nanoparticles and nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, 33, 40–112. doi:10.1016/j.progpolymsci.2007.07.004
130. Said, D. E., Elsamad, L. M., & Gohar, Y. M. (2012). Validity of silver, chitosan, and curcumin nanoparticles as anti-Giardia agents. *Parasitology Research*, 111(2), 545–554. doi:10.1007/s00436-012-2866-1

131. Saleh, A. A., & El-Magd, M. A. (2018). Beneficial effects of dietary silver nanoparticles and silver nitrate on broiler nutrition. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(27), 27031-27038. doi:10.1007/s11356-018-2730-7
132. Salem, S. S., El-Belely, E. F., Niedbała, G., Alnoman, M. M., Hassan, S. E., Eid, A. M., Shaheen, T. I., Elkelish, A., & Fouda, A. (2020). Bactericidal and in-vitro cytotoxic efficacy of silver nanoparticles (Ag-NPs) fabricated by endophytic *Actinomycetes* and their use as coating for the textile fabrics. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 10(10), 2082. doi:10.3390/nano10102082
133. Samari, F., Salehipoor, H., Eftekhari, E., & Yousefinejad, S. (2018). Low-temperature biosynthesis of silver nanoparticles using mango leaf extract: catalytic effect, antioxidant properties, anticancer activity and application for colorimetric sensing. *New Journal of Chemistry*, 42, 15905-15916. doi:10.1039/C8NJ03156H
134. Samiullah, J.R. Roberts, K.K. Chousalkar (2014). Effect of production system and flock age on egg quality and total bacterial load in commercial laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(1), 59-70. doi:10.3382/japr.2013-00805.
135. Sánchez-López, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., Cano, A., Espina, M., Ettcheto, M., Camins, A., Silva, A. M., Durazzo, A., Santini, A., Garcia, M. L., & Souto, E. B. (2020). Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 10(2), 292. doi:10.3390/nano10020292
136. Saravanan, M., Barik, S. K., MubarakAli, D., Prakash, P., & Pugazhendhi, A. (2018). Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 116, 221–226. doi:10.1016/j.micpath.2018.01.038

137. Sarhan, O. M., & Hussein, R. M. (2014). Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 1505-1517. doi:10.2147/IJN.S56729
138. Sawosz, E., Binek, M., Grodzik, M., Zielińska, M., Sysa, P., Szmidt, M., Niemiec, T., & Chwalibog, A. (2007). Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. *Archives of Animal Nutrition*, 61(6), 444–451. doi:10.1080/17450390701664314
139. Sawosz, F., Pineda, L. M., Hotowy, A. M., Hyttel, P., Sawosz, E., Szmidt, M., & Chwalibog, A. (2012). Nano-nutrition of chicken embryos. The effect of silver nanoparticles and glutamine on molecular responses, and the morphology of pectoral muscle: the effect of silver nanoparticles and glutamine on molecular responses, and the morphology of pectoral muscle. *Baltic Journal of Comparative and Clinical Systems Biology*, 2, 29–45. doi:10.7136/bjccsb.2012.2.0029
140. Schiffman, S. S. (1998). Livestock odors: implications for human health and well-being. *Journal of Animal Science*, 76(5), 1343–1355.
141. Schuck-Paim, C., Negro-Calduch, E., & Alonso, W. J. (2021). Laying hen mortality in different indoor housing systems: a meta-analysis of data from commercial farms in 16 countries. *Scientific Reports*, 11(1), 3052. doi:10.1038/s41598-021-81868-3
142. Shevchenko, L. V., Dobrozhan, Y. V., Mykhalska, V. M., Osipova, T. Y., & Solomon, V. V. (2019). Contamination of hen manure with nine antibiotics in poultry farms in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(4), 532-537. doi:10.15421/021978
143. Shevchenko, L. V., Dovbnia, Y. Y., Permyakova, N. M., Zheltonozhskaya, T. B., Shulyak, S. V., & Klymchuk, D. O. (2022). Influence of nanosilver in hybrid carriers on morphological and biochemical blood

- parameters of laying hens. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 13(1), 15–22. doi:10.15421/022203
144. Shevchenko, L. V., Dovbnia, Y. Y., Zheltonozhskaya, T. B., Permyakova, N. M., & Shulyak, S. V. (2021). Influence of preparation of silver nanoparticles in carriers based on polymer/inorganic hybrids on the mineral composition of chicken eggs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 12(4), 608-613. doi:10.15421/022183
145. Shevchenko, L. V., Dovbnia, Y. Y., Zheltonozhskaya, T. B., Permyakova, N. M., Vygovska, L. M., & Ushkalov, V. O. (2021). The effect of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids on the quality and safety of edible chicken eggs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 391-395. doi:10.15421/022153
146. Shi, T., Wei, Q., Wang, Z., Zhang, G., Sun, X., & He, Q-Y. (2019). Photocatalytic protein damage by silver nanoparticles circumvents bacterial stress response and multidrug resistance. *MSphere*, 4(3), e00175-19. doi:10.1128/mSphere.00175-19
147. Singh, P. K., Jairath, G., & Ahlawat, S. S. (2016). Nanotechnology: a future tool to improve quality and safety in meat industry. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1739–1749. doi:10.1007/s13197-015-2090-y
148. Sobczak, J. (2008). The investigations of economic efficiency of consumers' eggs production underrecommended keeping system for hens (in Polish). *Problemy Zrównoważonego Rolnictwa*, 3(4), 95–103.
149. Sokołowicz, Z., & Krawczyk, J. (2009). Housing system of laying hens as a factor for sustainable development (in Polish). *Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie*, 11(4), 249–252.
150. Sparks, N.H.C. (2006). The hen's egg – is its role in human nutrition changing? *World's Poultry Science Journal*, 62(2), 308-315. doi: [10.1079/WPS200599](https://doi.org/10.1079/WPS200599)

151. Spitzer, H. (2016). An Analysis of Bacterial Contamination of Chicken Eggs and Antimicrobial Resistance. All College Thesis Program, 2016-present. 27. https://digitalcommons.csbsju.edu/honors_thesis/27
152. Stepień-Pyśniak, D. (2010). Occurrence of gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13(3), 507–513.
153. Stepień-Pyśniak, D., Kolasa, A., & Rzedzicki, J. (2008). Occurrence of gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13, 507–513.
154. Sulaiman, F. A., Adeyemi, O. S., Akanji, M. A., Oloyede, H. O. B., Sulaiman, A. A., Olatunde, A., Hoseni, A. A., Olowolafe, Y. V., Nlebedim, R. N., Muritala, H., Nafiu, M. O., & Salawu, M. O. (2015). Biochemical and morphological alterations caused by silver nanoparticles in Wistar rats. *Journal of Acute Medicine*, 5(4), 96-102. doi:10.1016/j.jacme.2015.09.005
155. Svihus, B. (2014). Function of the digestive system. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(2), 306-314. doi:10.3382/japr.2014-00937
156. Svobodová, J., Tůmová, E., Popelářová, E., & Chodová, D. (2016). Effect of light colour on egg production and egg contamination Czech Journal of Animal Science, 60, 550-556. doi: 10.17221/8597-CJAS
157. Tammam, A., Alkahachi, S. A., Hemid, A., Abdelazeem, F., & Salem, W. (2020). Effect of nanoparticles supplementation in broiler diets on performance, microbial population and digestive tract measurements. *International Journal of Veterinary Science*, 9, 373–378. doi:10.37422/IJVS/035
158. Tauson, R. (2005). Management and housing systems for layers – effects on welfare and production, *World's Poultry Science Journal*, 61(3), 477-490. doi:10.1079/WPS200569
159. Thiyagarajan, K., Bharti, V. K., Tyagi, S., Tayagi, P. K., Ahuja, A., Kumar, K., Raj, T., Kumar, B. (2018). Synthesis of non-toxic, biocompatible, and colloidal stable silver nanoparticle using egg-white protein as capping and

- reducing agents for sustainable antibacterial application. *RSC Advances*, 8, 23213–23229. doi:10.1039/C8RA03649G
160. Tian, X., Jiang, X., Welch, C., Croley, T. R., Wong, T-Y., Chen, C., Fan, S., Chong, Y., Li, R., Ge, C., Chen, C., & Yin, J-J. (2018). ACS Applied Materials & Interfaces, 10(10), 8443–8450 doi:10.1021/acsami.7b17274
161. Vadalasetty, K. P., Lauridsen, C., Engberg, R. M., Vadalasetty, R., Kutwin, M., Chwalibog, A., & Sawosz, E. (2018). Influence of silver nanoparticles on growth and health of broiler chickens after infection with *Campylobacter jejuni*. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 1. doi:10.1186/s12917-017-1323-x
162. van den Brule, S., Ambroise, J., Lecloux, H., Levard, C., Soulas, R., de Temmerman, P-J., Palmari-Pallag, M., Marbaix, E., & Lison, D. (2015). Dietary silver nanoparticles can disturb the gut microbiota in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 13, 38. doi:10.1186/s12989-016-0149-1
163. Vlčková, J., Tůmová, E., Ketta, M., Englmaierová, M., & Chodová, D. (2018). Effect of housing system and age of laying hens on eggshell quality, microbial contamination, and penetration of microorganisms into eggs. *Czech Journal of Animal Science*, 63, 51-60. doi: 10.17221/77/2017-CJAS
164. Völker, C., Oetken, M., & Oehlmann, J. (2013). The biological effects and possible modes of action of nanosilver. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 223, 81–106. doi:10.1007/978-1-4614-5577-6_4
165. Wadhera, A. & Fung, M. (2005). Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver. *Dermatology Online Journal* 11, 12 (<http://dermatology.cdlib.org/111>).
166. Wang, Z., Xia, T., & Liu, S. (2015). Mechanisms of nanosilver-induced toxicological effects: more attention should be paid to its sublethal effects. *Nanoscale*, 7, 7470–7481. doi:10.1039/c5nr01133g
167. Wilding, L. A., Bassis, C. M., Walacavage, K., Hashway, S., Leroueil, P. R., Morishita, M., Maynard, A. D., Philbert, M. A., & Bergin, I. L. (2016).

- Repeated dose (28-day) administration of silver nanoparticles of varied size and coating does not significantly alter the indigenous murine gut microbiome. *Nanotoxicology*, 10(5), 513–520. doi:10.3109/17435390.2015.1078854
168. Williams, K., Milner, J., Boudreau, M. D., Gokulan, K., Cerniglia, C. E., & Khare, S. (2015). Effects of subchronic exposure of silver nanoparticles on intestinal microbiota and gut-associated immune responses in the ileum of Sprague-Dawley rats. *Nanotoxicology*, 9(3), 279–289. doi:10.3109/17435390.2014.921346
169. World Health Organization. (2008). Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating 1st and 2nd addenda, Vol.1, recommendations, 3rd ed. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204411>
170. Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996–9031. doi:10.7150/thno.45413
171. Yilmaz Dikmen, B., İpek, A., Şahan, Ü., Petek, M., & Sözcü, A. (2016). Egg production and welfare of laying hens kept in different housing systems (conventional, enriched cage, and free range). *Poultry Science*, 95(7), 1564–1572. doi:10.3382/ps/pew082
172. Yilmaz Dikmen, B., İpek, A., Şahan, Ü., Sözcü, A., & Baycan, S. C. (2017). Impact of different housing systems and age of layers on egg quality characteristics. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41, 1, 12. doi:10.3906/vet-1604-71
173. Zheltonozhskaya T., Shevchenko L., Permyakova N., Dovbnia Y., Klepko V., Klymchuk D. Promising nanobiotechnology to increase the shelf life of chicken eggs based on nanosilver preparation in hybrid carrier. XV Української конференції з високомолекулярних сполук з міжнародною участю «ВМС-2022». Тези доповіді 25-27 жовтня 2022 року м. Київ. С. 269.

174. Zheltonozhskaya, T. B., Permyakova, N. M., Kravchenko, O. O., Maksin, V. I., Nessin, S. D., Klepko, V. V., & Klymchuk, D. O. (2021). Polymer/inorganic hybrids containing silver nanoparticles and their activity in the disinfection of fish aquariums/ponds. *Polymer-Plastics Technology and Materials*, 60(4), 369–391. doi:10.1080/25740881.2020.1811318
175. Zheltonozhskaya, T. B., Permyakova, N. M., Kondratiuk, T. O., Beregova, T. V., Klepko, V. V., & Melnik, B. S. (2019). Hybrid-stabilized silver nanoparticles and their biological impact on hospital infections, healing wounds, and wheat cultivation. *French-Ukrainian Journal of Chemistry*, 7(2), 20–39. doi:10.17721/fujcV7I2P20-39
176. Zorraquín-Peña, I., Cueva, C., Bartolomé, B., & Moreno-Arribas, M. V. (2020). Silver nanoparticles against *Foodborne Bacteria*. Effects at intestinal level and health limitations. *Microorganisms*, 8(1), 132. doi:10.3390/microorganisms8010132
177. Богачик, О.Г. (2008). Добробут курей-несучок за інтенсивної системи утримання та шляхи його покращення. Матеріали ІХ Укр. конф. по птицеводству с междунар. участием. Харьков, С. 5–9.
178. Довбня, Ю. Ю., & Шевченко Л. В. (2020). Оцінка впливу нанопрепарату срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на хімічний склад курячих яєць сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин: мат. ІV Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції, 15–16 жовтня, 2020 р. Полтава, 2020. С. 289-290. [електронне видання]
179. Довбня, Ю.Ю., & Шевченко, Л.В. (2021). Хімічні та мікробіологічні показники харчових курячих яєць за застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам. «Глобальні виклики ветеринарної медицини 21 століття» Міжнародна наукова конференція «Глобальні виклики

- ветеринарної медицини XXI століття», 11 листопада 2021 р. НУБіП України, м. Київ. С. 49-50.
180. Довбня, Ю.Ю., Шевченко, Л.В., Желтоножська, Т.Б., & Шуляк, С.В. (2021). Оцінка впливу наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на мінеральний склад курячих яєць. «Наукові передумови оптимізації органічного бізнесу» в рамках V Міжнародного «Конгресу Органічна Україна 2021» Інтернет-конференції, м. Київ, 17 квітня 2021 р. Органічна Україна. 2021 – С. 62-63.
181. Довбня, Ю.Ю., Шевченко, Л.В., Желтоножська, Т.Б., & Шуляк, С.В. (2021). Вплив препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на мінеральний склад курячого посліду. Сучасне птахівництво. 2021. №7–8 (224–225). С. 25-29. doi:10.31548/poultry2021.07-08.025.
182. ДСТУ 5028:2008. Яйця курячі харчові. Технічні умови. [Чинний від 2010-06-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2009. 19 с. (Стандарти України).
183. ДСТУ 7355:2013 Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначення кількості біфідобактерій. [Чинний від 2014-01-01]. К.: Мінекономрозвитку України, 2014. 12 с. (Стандарти України).
184. ДСТУ 8104:2015. Яйця харчові, продукти яєчні. Методи визначання мікробіологічних показників [Чинний від 2017-01-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2017. 37 с. (Стандарти України).
185. ДСТУ EN 12824:2004 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин Горизонтальний метод виявлення *Salmonella* (EN 12824:1997, IDT) [Чинний від 2005-01-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2005. 9 с. (Стандарти України).
186. ДСТУ IDF 149A:2003 Культури молочнокислих заквасок. Визначення видового складу [Чинний від 2005-01-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2005. 12 с. (Стандарти України).

187. ДСТУ ISO 18593:2006 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Мікробіологічний аналіз із використанням відбитків і змивів з поверхонь (ISO 18593:2004, IDT) [Чинний від 2007-07-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2008. 7 с. (Стандарти України).
188. ДСТУ ISO 4833:2006 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахування колоній за температури 30 °C (ISO 4833:2003, IDT) [Чинний від 2007-10-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2008. 19 с. (Стандарти України).
189. ДСТУ ISO 6888-1:2003 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод підраховування коагулазо-позитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів). Частина 1. Метод з використанням агарового середовища Беард-Паркера (ISO 6888-1:1999, IDT) [Чинний від 2004-01-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2005. 9 с. (Стандарти України).
190. Зора, В.Б. (2005). Системи для утримання птиці: вибирай сам. Пропозиція, 10, 14-15.
191. Зора, В.Б. (2009). Обґрунтування необхідності створення обладнання з роздільним годуванням різних статевих груп птиці репродуктивного стада курей. Матеріали X Укр. конф. по птицеводству с междунар. участием. Алушта, 70–75.
192. Кононенко, В.К., Ібатуллін, І.І., & Патров, В.С. (2000). Практикум з основ наукових досліджень у тваринництві. К. 96 с.
193. Кучерук, М. Д., Засекін, Д. А., & Димко, Р. О. (2022). Порівняльна аналіза застосування з профілактичною метою антибіотика та колоїдного розчину наночастинок срібла курчатам-бройлерам. Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології Nanosistemi, Nanomateriali, Nanotehnologii, 20(2). 591–606.

194. Левченко, В.І., Влізло, В.В., Кондрахін, І.П. (2002). Ветеринарна клінічна біохімія. За ред. В.І. Левченка і В.Л. Галяса. Біла Церква, 2002. 400 с.
195. Лукьянов, В. (2007). Выбираем клеточные батареи. Птицеводство, 7, 29-32.
196. Мельник, В.А. (2011). Альтернативные способы содержания кур Агробізнес сьогодні. 4 (203). 13-16.
197. Мельник, В.О. (2012). Кліткове утримання: пошук альтернативи Агробізнес сьогодні. 4 (227), 9-13.

ДОДАТКИ

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у науковому виданні,

включених до міжнародних наукометричних баз даних

Scopus та/або Web of Science Core Collection

1. Shevchenko L. V., **Dovbnia Y. Y.**, Zheltonozhskaya T. B., Permyakova N. M., Vygovska L. M., Ushkalov V. O. The effect of nanosilver in carriers based on polymer/inorganic hybrids on the quality and safety of edible chicken eggs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12 (3). P. 391–395. *(Здобувачем проведено дослідження показників якості та безпеки яєць, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

2. Shevchenko L. V., **Dovbnia Y. Y.**, Zheltonozhskaya T. B., Permyakova N. M., Shulyak S. V. Influence of preparation of silver nanoparticles in carriers based on polymer/inorganic hybrids on the mineral composition of chicken eggs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12 (4). P. 608–613. *(Здобувачем проведено дослід на птиці, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

3. Shevchenko L. V., **Dovbnia Y. Y.**, Permyakova N. M., Zheltonozhskaya T. B., Shulyak S. V., Klymchuk D. O. Influence of nanosilver in hybrid carriers on morphological and biochemical blood parameters of laying hens. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13 (1). P. 15–22. *(Здобувачем проведено дослідження морфологічних та біохімічних показників курей, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

Стаття у науковому фаховому виданні України

4. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В., Желтоножська Т. Б., Шуляк С. В. Вплив препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на мінеральний склад курячого посліду. *Сучасне птахівництво*. 2021. № 7–8.

С. 25–29. *(Здобувачем проведено дослід на птиці, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлену статтю до друку).*

Тези наукових доповідей

5. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В. Оцінка впливу нанопрепарату срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на хімічний склад курячих яєць. Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин: IV Всеукраїнська науково-практична Інтернет-конференція, м. Полтава, 15–16 жовтня 2020 року: тези доповіді. Полтава, 2020. С. 202–203. *(Здобувачем проведено дослідження хімічного складу курячих яєць, підготовлено тези доповіді до друку).*

6. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В., Желтоножська Т. Б., Шуляк С. В. Оцінка впливу наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на мінеральний склад курячих яєць. Наукові передумови оптимізації органічного бізнесу: V Міжнародний конгрес «Органічна Україна 2021», м. Київ, 17 квітня 2021 року: тези доповіді. Київ, 2021. С. 62–63. *(Здобувачем проведено дослідження, взято участь в узагальненні результатів і підготовці тез доповіді).*

7. **Довбня Ю. Ю.**, Шевченко Л. В. Хімічні та мікробіологічні показники харчових курячих яєць за застосування препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів курям-несучкам. Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 11 листопада 2021 року: тези доповіді. Київ, 2021. С. 49–50. *(Здобувачем проведено дослідження мікробіологічних показників яєць, взято участь в узагальненні результатів і підготовці тез доповіді).*

8. Zheltonozhskaya T., Shevchenko L., Permyakova N., **Dovbnia Y.**, Klepko V., Klymchuk D. Promising nanobiotechnology to increase the shelf life of chicken eggs based on nanosilver preparation in hybrid carrier. XV Українська конференція з високомолекулярних сполук з міжнародною участю «ВМС-2022», м. Київ, 25–27 жовтня 2022 року: тези доповіді. Київ, 2022.

С. 183. (Здобувачем проведено дослідження, взято участь в узагальненні результатів і підготовці тез доповіді).

Додаток Б

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Директор Інституту хімії
 високомолекулярних сполук
 НАН України,
 доктор хімічних наук, професор



О.О. Бровко
 “ 1 ” _____ 2020 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Перший проректор
 Національного університету біоресурсів
 і природокористування України,
 академік НААН України, професор



Батуллін
 “ 2 ” _____ 2020 р.

А К Т

проведення комплексних випробувань впливу препарату наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів на фізіологічний стан, процеси метаболізму, продуктивність курей-несучок та якість і безпечність яєць

Даним актом підтверджується, що впродовж 2020 року в лабораторіях Інституту хімії високомолекулярних сполук (ІХВС) НАНУ та кафедри ветеринарної гігієни імені професора А.К. Скороходька Національного університету біоресурсів і природокористування (НУБіП) України в рамках “Договору про співробітництво та організацію взаємовідносин у сфері створення та використання нанорозмірних систем доставки наночастинок біоцидних металів (срібла) в живих організмах” на 2019-2021 роки були підготовлені та проведені випробування біологічної дії препарату наносрібла, одержаного в полімер/неорганічних гібридних носіях на курах-несучках.

Дослідна партія препарату наносрібла у вигляді водної дисперсії об'ємом 27 літрів була отримана у Відділі фізики полімерів ІХВС НАНУ шляхом *in situ* синтезу наночастинок срібла в розчинах біосумісного та біодеградабельного полімер/неорганічного гібриду на основі золю кремнезему та поліакриламід. Гідрофільний полімер/неорганічний гібрид, використаний як носій наночастинок срібла, був синтезований розробленим методом прямого щеплення поліакриламід “від” немодифікованої поверхні золю кремнезему. Одержаний гібрид та кінцевий препарат з наночастинками срібла були ретельно охарактеризовані методами елементного аналізу, потенціометричного

титрування, диференційного термогравіметричного аналізу, віскозиметрії, електронної спектроскопії, ширококутового рентгенівського розсіювання та проникної електронної мікроскопії. Розмір частинок срібла у препараті складав <10 нм. Для випробувань препарат очищали від побічних продуктів *in situ* синтезу і готували його водні дисперсії з двома концентраціями наночастинок срібла - 1 і 2 мг·л⁻¹.

Комплексні дослідження біологічної дії препарату наносрібла проводили на кафедрі ветеринарної гігієни імені професора А.К. Скороходька НУБіП України з використанням 3-х груп курей-несучок кросу “Хай Лайн” по 15 голів у кожній. Одна група була контрольною, а дві – дослідними, яким протягом всього експерименту згодовували комбїкорм, що відповідав потребі курей за поживними та біологічно активними речовинами. Курам першої та другої дослідних груп додавали у питну воду 3 рази на місяць (кожний 10-й день) дослідний препарат у кількості 1 і 2 мг·л⁻¹, відповідно.

В процесі досліджень контролювали споживання курами корму і води та умови їх утримання. На кожний 10-й день після додавання порції препарату оцінювали клінічний стан птиці, відбирали проби крові, послїду та яєць для досліджень. В крові визначали морфологічні та біохімічні показники, а також аналізували морфологічні, мікробіологічні і хімічні показники яєць та послїду птиці.

За результатами досліджень не встановлено суттєвого впливу нанопрепарату срібла на клінічні та гематологічні показники курей. Виявлено дозозалежний вплив препарату наносрібла на активність окремих ферментів сироватки крові, що характеризують функціональний стан печінки, а також на окремі ланки обміну білків та вуглеводів у тканинах курей.

Доведено, що випоювання курам-несучкам з водою розчину нанопрепарату срібла в носіях на основі полімер/неорганічних гібридів не впливає на морфологічний та хімічний склад яєць на тлі високої продуктивності курей.

Окремим циклом були дослідження змін у хімічному складі яєць та вмісті

срібла і деяких інших металів (Cu, Zn, Fe, Pb та Cd) в окремих частинах яєць (шкарлупі, білку та жовтку) і посліді курей. Найбільшу здатність до кумуляції наносрібла відмічено у шкаралупі яєць, тоді як у білку та жовтку яєць накопичення срібла відбувається лише після третього вживання препарату. За рівнем накопичення срібла у різних частинах яєць було створено наступний ряд: шкарлупа > жовток > білок. Елімінація срібла з послідом курей відбувається досить швидко, на що вказує відсутність різниці в його вмісті у посліді курей дослідних груп вже на 10 добу після застосування.

Нанопрепарат срібла не впливає на чисельність МАФАНМ у шкаралупі яєць та дозозалежним чином проявляє бактерицидну дію на біфідо- та лактобактерії у посліді курей.

Таким чином, запропонований препарат наносрібла в носіях на основі полімер/неорганічного гібриду може бути рекомендований для виробничих випробувань в умовах діючих птахофабрик України під час розробки ефективних інноваційних заходів забезпечення безпечності харчових яєць.

Завідувач Відділу фізики полімерів
Інституту хімії високомолекулярних
сполук НАНУ, д.ф.-м.н., професор
В.В. Клепко _____
тел. (044) 559-37-11

Начальник науково-дослідної частини
Національного університету
біоресурсів і природокористування
України, д.с.-г.н., член-кор. НААН
В.В. Отченашко _____
тел. (044) 527-85-55

Старший науковий співробітник
Відділу фізики полімерів ІХВС НАНУ,
д.х.н., професор
Т.Б. Желтоножська _____
тел. (044) 291-02-74

Завідувач кафедри ветеринарної
гігієни імені проф. А.К. Скороходька,
к.вет.н.
М.Д. Кучерук _____
тел. 0679467580

Професор кафедри ветеринарної
гігієни імені проф. А.К. Скороходька,
д.вет.н.
Л.В. Шевченко _____
тел. 0501931029