



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(21) Numer zgłoszenia: **422317**

(22) Data zgłoszenia: **22.07.2017**

(51) Int. Cl.

A23K 20/20 (2016.01)

A23K 50/75 (2016.01)

C01G 3/00 (2006.01)

(54) **Dodatek mineralny do paszy, sposób wytwarzania dodatku do paszy oraz zastosowanie**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

28.01.2019 BUP 03/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.03.2021 WUP 06/21

(73) Uprawniony z patentu:

**SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO W WARSZAWIE, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**EWA SAWOSZ-CHWALIBÓG, Zgorzała, PL
MONIKA ŁUKASIEWICZ, Warszawa, PL
JAN NIEMIEC, Warszawa, PL
ANDRZEJ CHWALIBÓG, Zgorzała, PL
ANDRZEJ ŁOZICKI, Warszawa, PL
SŁAWOMIR JAWORSKI, Okrężnica, PL
MATEUSZ WIERZBICKI, Warszawa, PL
JAN JANKOWSKI, Olsztyn, PL
EWA KOCZYWAŚ, Warszawa, PL
DAMIAN JÓZEFIAK, Robakowo, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Andrzej Witek

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest dodatek mineralny do paszy przeznaczony do żywienia kurcząt oraz sposób wytwarzania takiego dodatku, a także zastosowanie kompleksu nanocząstek Cu z nośnikiem skrobiowym jako dodatku mineralnego do paszy.

Metale są kluczowym nieorganicznym elementem organicznych molekuł regulujących podstawowe funkcje życiowe organizmu. Zwłaszcza metale o zmiennej wartościowości, poprzez udział w reakcjach utleniania i redukcji, warunkują homeostazę energetyczną, antyoksydacyjną czy immunologiczną organizmu.

Z opisu polskiego zgłoszenia patentowego nr P.411998 znane jest zastosowanie nanocząstek miedzi jako stymulatora przyrostu masy mięśniowej u kurcząt. Autorzy wspomnianego wynalazku zastosowali suplementację hydrokoloidem nanocząstek miedzi w okresie embriogenezy, wykorzystując technikę *in ovo* (czyli wstrzykiwania płynu do jaja) i stwierdzili, że suplementacja taka prowadzi do zwiększenia masy ciała oraz przyrostu mięśnia piersiowego u dorosłych ptaków. Zgodnie z cytowanym wynalazkiem koloid miedzi podaje się bezpośrednio do jaja techniką *in ovo*, co oznacza, że miedź jest stosowana w okresie embriogenezy, przed wylęgnięciem kurcząt. Korzystnie stosowano wodny koloid nanocząstek miedzi o czystości miedzi co najmniej 99.99% i o poziomie zanieczyszczeń biologicznych i/albo chemicznych nie przekraczającym 0,0001% w roztworze. Stosowano nanocząstki miedzi o średnicy od 1 do 100 nm, najkorzystniej o przeciętnej wielkości średnicy 35–40 nm. Technika *in ovo* jest wysoce kosztowna z uwagi na konieczność wstrzykiwania dodatku do każdego jaja, a także niebezpieczna z uwagi na potencjalną śmiertelność zarodków wskutek mechanicznego uszkodzenia jaja poprzez wprowadzanie igły.

Autorzy wynalazku zgłoszonego pod numerem P.411998 stwierdzili, że miedź w formie nanocząstek, poza wieloma funkcjami jakie pełni w organizmie, charakteryzuje się wysoką skutecznością jako czynnik stymulujący rozwój masy mięśniowej. Stwierdzono, że nanocząstki miedzi poprawiają efektywność odchowu poprzez ograniczenie liczby padnięć, poprawę wskaźników rzeźnych, a zwłaszcza poprawę przyrostu masy ciała i udział najbardziej wartościowych mięśni piersiowych w tuszce. Ponadto ptaki z grupy NanoCu charakteryzowały się lepszą wodochłonnością w mięśniach nóg. Nanocząstki miedzi, podawane w okresie embriogenezy, nie wykazały działania toksycznego, a nawet wpłynęły na zwiększenie stężenia hemoglobiny oraz ceruloplazminy u kurcząt. W badaniach tych jednoznacznie wskazano na fizjologiczne mechanizmy działania Cu stymulujące rozwój mięśni.

W omawianym opisie zgłoszenia P.411998 nanocząstki podawano w formie wstrzykiwania do jaja na początku embriogenezy. Wspomniano wprawdzie, że nanocząstki miedzi można podawać nie tylko poprzez iniekcję do zarodka kury, lecz również z paszą lub wodą, jednak dotychczasowe badania dotyczyły wyłącznie podawania miedzi metodą wstrzykiwania do jaja. Do chwili obecnej nie opisano w literaturze faktu zastosowania nanocząstek miedzi jako składnika paszy dla drobiu.

Nanocząstki Cu są materiałem bardzo pylistym, ponadto powinny być dodawane do paszy lub do premiksu w niewielkiej ilości. Problemem jest więc wprowadzenie ich do paszy bez strat oraz ich równomierne rozproszczenie w paszy.

Celem obecnego wynalazku było opracowanie dodatku mineralnego do paszy zawierającego nanocząstki miedzi.

Istotą wynalazku jest dodatek mineralny do paszy przeznaczony do żywienia kurcząt, który stanowi kompleks nanocząstek miedzi z nośnikiem skrobiowym, przy czym nośnik skrobiowy znajduje się w dodatku w ilości od 10 mg do 500 mg na 1 mg metalicznej Cu, a nanocząstki miedzi mają średnicę 10–150 nm.

Korzystnie przeciętna wielkość średnicy nanocząstki Cu zawiera się w zakresie 35–75 nm.

Korzystnie jako nośnik skrobiowy stosuje się skrobię spożywczą pszenną, mąkę pszenną, skrobię kukurydzianą, mąkę kukurydzianą. W przypadku, gdy nośnikiem skrobiowym jest mąka pszenna najkorzystniej jest stosować mąkę typ 450. Można stosować także inne mąki, przy czym zasadą jest, że im mniejsza zawartość białka i popiołu, tym mąka jest korzystniejsza.

Korzystnie nośnik skrobiowy dodaje się w ilości od 10 mg do 100 mg na 1 mg Cu.

Sposób wytwarzania dodatku mineralnego do paszy przeznaczony do żywienia kurcząt według wynalazku charakteryzuje się tym, że nośnik skrobiowy w postaci proszku zawieszają w koloidalnym roztworze nanocząstek Cu, przy czym nośnik skrobiowy stosuje się w ilości od 10 mg do 500 mg na 1 mg metalicznej Cu w postaci nanocząstek.

Proces zawieszania nanocząstek Cu realizuje się na drodze mieszania wspomaganego działaniem ultradźwięków, a następnie suszy się do uzyskania proszku o zawartości suchej masy nie mniej niż 90%, po czym mieli się.

W procesie korzystnie najpierw mechanicznie miesza się nośnik skrobiowy z koloidem nanocząstek miedzi do uzyskania jednorodnej mieszaniny, a następnie wspomaga się mieszanie ultradźwiękami, korzystnie w czasie od 15 do 45 minut, najkorzystniej przez 45 minut.

Istotę wynalazku stanowi także zastosowanie kompleksu nanocząstek Cu z nośnikiem skrobiowym, w którym nośnik skrobiowy znajduje się w ilości od 10 mg do 500 mg na 1 mg metalicznej Cu, a nanocząstki miedzi mają średnicę 10–150 nm, jako dodatku do premiksów witaminowo-mineralnych lub mieszanek dla kurcząt, przy czym kompleks miedziowo-skrobiowy stosuje się w ilości od 150,00 do 375,00 mg na 1 kg premiksu w przeliczeniu na miedź.

Premiks jest stosowany w mieszankach w standardowo przyjętych ilościach, zazwyczaj 0,3%–0,5% wag.

Zgodnie z obecnym wynalazkiem nanocząstki Cu są funkcjonalizowane skrobią i są połączone słabym wiązaniem ze skrobią. W tej postaci, czyli w postaci kompleksu ze skrobią, są wprowadzane do premiksu mineralno-witaminowego, a następnie wraz z premiksem do mieszanek paszowych dla kurcząt lub bezpośrednio do mieszanek paszowych.

Dodatek nanocząstek Cu w postaci nanokompleksu z węglowodanami łatwostrawnymi, jak skrobia, zamiast tradycyjnie stosowanych w mieszankach dla zwierząt soli miedzi (jak np. CuSO_4), pozwala na znaczące zmniejszenie poziomu zastosowanego dodatku Cu. Poziom Cu spada do poziomu od 10% do 25% stosowanego tradycyjnie poziomu miedzi w mieszankach, co stanowi od 0,75 mg/kg mieszanki do 1,88 mg/kg mieszanki. W przeliczeniu na koncentrację Cu w premiksie mineralno-witaminowym stanowi to od 150 mg/kg do 375 mg/kg premiksu. Proponowane rozwiązanie pozwala na redukcję poziomu miedzi w mieszankach od 75% do 90% obecnie stosowanej koncentracji miedzi w mieszankach.

Sposób według wynalazku, polegający na mieszanii nośnika skrobiowego z koloidem miedzi, wspomaganym przez działanie ultradźwięków, powoduje proces wymuszonej samoorganizacji nanocząstek miedzi i skrobi i powstanie kompleksów skrobi z miedzią. Tak uzyskany nanododatek Cu można wprowadzać do paszy w dowolny sposób, określony w procedurach postępowania dla dodatków mineralnych do paszy. Nanododatek Cu może być wprowadzany do premiksów witaminowo-mineralnych lub mieszanek dla kurcząt, zwłaszcza brojlerów, w okresie całego tuczu, czyli do mieszanek dla drobiu typu Starter, Grower i Finisher.

Nanocząstki miedzi mogą być pozyskane: (i) w postaci proszku o czystości co najmniej 99,9% albo (ii) w postaci koloidu nanocząstek miedzi o czystości 99,9% w ultra czystej wodzie.

W przypadku pierwszym proszek miedzi jest zawieszany w wodzie w celu uzyskania koloidu wodnego nanocząstek miedzi. Proszek miedzi jest zawieszany w wodzie poprzez dodawanie nanocząstek miedzi w ilości od 1 mg do 0,1 mg nanocząstek Cu^0 na 1 l wody, najkorzystniej jest dodawać od 0,10 mg do 0,50 mg, mniej korzystnie od 0,51 mg do 0,70 mg i najmniej korzystnie 0,71 mg – 1 mg. Proces tworzenia koloidu/zawiesiny i zapobiegania tworzeniu agregatów jest wspomagany mieszaniem i działaniem ultradźwięków. W obu przypadkach woda powinna być ultra czysta (rezystancja $18,2 \text{ M}\Omega \times \text{cm}$ w 25°C), o poziomie zanieczyszczeń biologicznych/chemicznych nie przekraczającym 0,0001% wag. w roztworze oraz pozbawiona obecności jonów pierwiastków. Skuteczność działania nanocząstek miedzi zwiększa się wraz ze zmniejszaniem się wielkości nanocząstek Cu^0 , a najkorzystniejsza wielkość nanocząstek miedzi wynosi do 55 nm.

W rozwiązaniu według wynalazku zastosowanie nośnika skrobiowego pozwoliło na uniknięcie trudności związanych z domieszkowaniem mieszanek i trudności w uzyskaniu homogennej mieszanki. Nośnik ten zmniejsza również możliwość adhezji nanocząstek metalu (Cu) do cząstek pozostałych komponentów premiksu lub paszy. Nanocząstka Cu może być absorbowana z przewodu pokarmowego znacznie skuteczniej niż sól miedzi, ponieważ stosunkowo łatwo przechodzi przez błonę komórkową. Nośnik zwiększa absorpcję nanocząstek miedzi z przewodu pokarmowego, co powoduje zmniejszenie wydalania Cu wraz z kałomoczem kur, a tym samym wydalania miedzi do środowiska. Jest to bardzo ważne z punktu widzenia ochrony środowiska, ponieważ absorpcja miedzi, podawanej obecnie na świecie w formie tradycyjnej soli, wynosi 30–40%, a większa jej część jest wydalana do środowiska.

Zaletą prezentowanego rozwiązania jest zmniejszenie koncentracji miedzi w paszy i mieszance mineralno-witaminowej, bez negatywnego wpływu na stan zdrowia, wyniki produkcyjne, wskaźniki rzeźne, koncentrację Cu w mięśniach piersiowych i wybranych tkankach.

Wynalazek został bliżej przedstawiony w przykładach. Badania prowadzono w ramach projektu NCBiR BIOSTRATEG1/267659/7/NCBR/2015 „Gutfeed – Innowacyjne żywienie w zrównoważonej produkcji drobiarskiej” (akronim GUTFEED).

Przykład 1

Nanocząstki Cu (w postaci proszku) zostały zakupione w Sky Spring Nanomaterials, Inc. USA o czystości 99,8%.

Charakterystyka nanocząstek Cu

- Kształt – sferyczny, kulisty lub owalny
- Średnia wielkość 55 nm (10–150 nm)
- Potencjał zeta – 15 mV
- pH koloidu 7,1
- stabilność koloidu – dobra
- Efekt Tyndalla – rozpraszanie wiązki światła
- Zanieczyszczenia ogółem (Fe, Si, P) poniżej 0,01%

Proszek nanocząstek Cu zawieszano w wodzie w ilości 1 mg Cu na 1 litr wody w celu uzyskania koloidu wodnego nanocząstek miedzi. Stosowano ultra czystą wodę (rezystancja 18,2 MΩ x cm w 25°C), o poziomie zanieczyszczeń biologicznych/chemicznych nie przekraczającym 0,0001% w roztworze oraz pozbawioną obecności jonów pierwiastków. Proces tworzenia koloidu i zapobiegania tworzeniu agregatów był wspomagany mieszaniem i działaniem ultradźwięków.

Nośnik skrobiowy w postaci skrobi pszennej w ilości 10 mg na 1 litr koloidu wprowadzano i zawieszano w roztworze koloidalnym nanocząstek Cu poprzez wolne mieszanie całego roztworu przez 5 minut. Po wstępnym mieszaniu wprowadzono działanie ultradźwięków przez 45 min., w aparacie Ultrason U 509 (Zakład Urządzeń Elektronicznych), w temp. 20–25°C. Uzyskany płynny roztwór koloidalny suszono w temperaturze 105°C aż do uzyskania zawartości wody 9,9%. Wysuszony dodatek mielono w standardowym młynku paszowym, tak aby uzyskać jednorodny proszek.

Przykład 2

W doświadczeniu zastosowano kompleksy nanocząstek miedzi ze skrobią przygotowane zgodnie z Przykładem 1.

Kompleks nanoCu-S był dodawany do premiksów mineralno-witaminowych w procesie mieszania, a następnie premiks dodawany był do mieszanki dla kurcząt brojlerów. Skład premiksu przedstawiono w tabeli 1, skład mieszanki paszowej przedstawiono w tabeli 2. Dodatek kompleksu nanoCu-S dodawano do paszy według schematu doświadczenia przedstawionego w tabeli 3.

Kurczęta brojlery 1-dniowe (Ross 308) podzielono losowo na 5 grup po 10 sztuk w grupie i utrzymywano w kojcach grupowych, a następnie umieszczono w indywidualnych klatkach bilansowych, przeznaczonych dla drobiu, gdzie przebywały do 42 doby tuczu. Ptaki miały dostęp do wody i paszy *ad libitum*. Ilość pobranej paszy oraz oddawanego kału był kontrolowany. Pomieszczenie było wyposażone w kontrolowany system oświetlenia, ogrzewania i wentylacji; temperatura: 33–32°C na początku doświadczenia i obniżana o 2°C co tydzień. Wilgotność wynosiła 60%, dzień świetlny był ustalany na podstawie przyrostów.

Przeprowadzone doświadczenie wykazało, że:

- nanocząstki miedzi, podane do paszy jako dodatek mineralny w postaci kompleksu nanoCu ze skrobią, nie wpływają negatywnie na stan zdrowia i rozwoju kurcząt brojlerów oraz tempo ich wzrostu. Co więcej, stwierdzono największy przyrost masy ciała w 42 dniu tuczu w grupach, które otrzymywały nanocząstki Cu w ilości zmniejszonej o 75% w porównaniu do grupy kontrolnej oraz w ilości równoważnej grupie kontrolnej;
- nanocząstki miedzi, podane do paszy jako dodatek mineralny w postaci kompleksu nanoCu ze skrobią wpłynęły na zmniejszenie zużycia paszy określone w 42 dniu tuczu w grupach, które otrzymywały nanocząstki Cu w ilości zmniejszonej o 75% i 25% w porównaniu do grupy kontrolnej oraz w ilości równoważnej grupie kontrolnej;
- analiza rzeźna kurcząt brojlerów wykazała, że nanocząstki miedzi (podane do paszy jako dodatek mineralny w postaci kompleksu nanoCu-S) nie wpłynęły na wydajność rzeźną oraz udział najbardziej wartościowych mięśni piersiowych w tuszce, a także mięśni nóg oraz wątroby, żołądka i serca;
- nanocząstki miedzi, podane do paszy jako dodatek mineralny w postaci kompleksu nanoCu ze skrobią wpływają na zmniejszenie wydalania Cu w kałomoczu, w największym stopniu w grupie,

gdzie poziom miedzi był zmniejszony o 75%. Jednocześnie w grupie tej nie stwierdzono zmian w zakresie wydalania Fe i Zn wraz z kałomoczem;

- zastosowanie nanocząstek miedzi, podawanych do paszy dla kurcząt, jako dodatek mineralny w postaci kompleksu nanoCu ze skrobią wpłynął korzystnie na współczynnik retencji Cu, a także Fe i Zn w porównaniu do grupy kontrolnej otrzymującej w paszy CuSO_4 ;
- nanocząstki miedzi, podane do paszy jako dodatek mineralny w postaci kompleksu nanoCu ze skrobią wpłynęły na niewielkie zwiększenie poziomu Cu w mięśniach, nie stwierdzono zwiększonej akumulacji Cu w wątrobie oraz nerkach. Koncentracja Fe i Zn w mięśniu piersiowym, wątrobie i nerkach nie była zróżnicowana pod wpływem zastosowania kompleksu nanoCu w mieszankach dla kurcząt.

Wykazano, że nanocząstki Cu podawane w paszy w postaci kompleksu ze skrobią mogą zastąpić tradycyjnie stosowane w paszy dla kurcząt sole Cu (CuSO_4) w ilości o 75% mniejszej bez negatywnego wpływu na wyniki produkcyjne i wartość rzezną, co więcej wpływają na zwiększenie przyrostu o 7,5%. Wykazano także, że nanocząstki Cu podawane w paszy w postaci kompleksu ze skrobią wpływają na zmniejszenie wydalania Cu w kałomoczu, jak również wpływając na niewielkie zwiększenie akumulacji Cu w mięśniu piersiowym.

Wpływ zmniejszenia udziału miedzi w mieszankach dla kurcząt brojlerów o 75%, 50% i 25% w stosunku do standardowo stosowanego poziomu (grupa kontrolna) na wyniki produkcyjne i wartość rzezną przedstawiono w tabelach: 4, 5, 6.

Wpływ zmniejszenia udziału miedzi w mieszankach dla kurcząt brojlerów o 75%, 50% i 25% w stosunku do standardowo stosowanego poziomu (grupa kontrolna) na strawność Cu oraz Fe i Zn, a także koncentrację Cu, Fe i Zn w wybranych tkankach przedstawiono w tabelach 7 i 8.

Przykład 3

Badanie wykonano na 960 kurkach genotypu Ross 308 podzielonych losowo na 8 grup, każda w 10 powtórzeniach po 12 sztuk. Ptaki doświadczalne były utrzymywane w boksach rozmieszczonych równomiernie wzdłuż dwóch linii pojenia w standardowym kurniku. Poza ptakami doświadczalnymi (boksy) na hali produkcyjnej przebywało około 9000 nieseksowanych kurcząt brojlerów w celu zapewnienia warunków jak najbardziej zbliżonych do tych występujących w standardowym cyklu produkcyjnym. Kurczęta rzeźne utrzymywane w boksach otrzymywały jedną z ośmiu sypkich mieszanek pełnoporcjowych – z dodatkiem kompleksu nanocząstek Cu ze skrobią lub CuSO_4 według schematu (tabela 4). Kurczęta żywione były mieszankami o składzie przedstawionym w tabeli 5, systemem *ad libitum*. Wszystkie diety doświadczalne zostały ułożone przez PIAST PASZE Sp. z o.o. i stanowiły pełnoporcjowe mieszanki paszowe dla kurcząt rzeźnych, podzielone na dwa okresy skarmiania. W pierwszym okresie, trwającym od pierwszego do 14 dnia życia zastosowano mieszankę Brojler 1, w drugim okresie od 14 do 35 dnia Brojler 2. Przez cały czas trwania eksperymentu ptaki miały nieograniczony dostęp do paszy i wody (*ad libitum*). Wszystkie mieszanki paszowe były skarmiane w formie sypkiej.

Prowadzone doświadczenie wykazało, że:

- w całym okresie odchowu kurczęta charakteryzowały dobrym stanem zdrowia. Śmiertelność ptaków we wszystkich grupach była bardzo mała i wynosiła 0,6%, co więcej nie wynikała z zastosowanych czynników doświadczalnych i nie miała wpływu na uzyskane wyniki;

Tempo wzrostu i rozwoju kurcząt nie różniło się w sposób istotny w poszczególnych grupach – zarówno zmniejszenie poziomu CuSO_4 jak też nanoCu o 90%, 70% i 40% poziomu stosowanego standardowo w mieszankach nie wpłynęło na przyrosty masy ciała, jak również na pobranie i zużycie paszy na 1 kg przyrostu;

- zmniejszenie poziomu koncentracji Cu poprzez dodatek kompleksu nanoCu o 90% charakteryzowała większa wartość przyrostu dziennego i mniejsze zużycie paszy w porównaniu do zmniejszenia poziomu CuSO_4 w mieszankach.

Wykazano, że zmniejszenie poziomu miedzi o 90% w stosunku do standardowo stosowanego (7,5 mg/kg paszy) w mieszankach dla kurcząt brojlerów nie wpływa negatywnie na wskaźniki produkcyjne oraz stan zdrowia i tempo wzrostu kurcząt. Jednak zastosowanie nanocząstek Cu (jako kompleks nanoCu ze skrobią) spowodowało niewielkie zwiększenie przyrostów dziennych oraz zmniejszenie zużycia paszy w porównaniu do grupy o zmniejszonej do 90% podaży CuSO_4 .

Wyniki doświadczenia wykazały możliwość zmniejszenia poziomu miedzi w mieszankach dla kurcząt brojlerów, co więcej efekt bardziej korzystny obserwowano dla dodatku nanoCu.

Określenie wpływu nanocząstek Cu w porównaniu do CuSO₄ (w ilości 10%, 30%, 60% i 100%) zastosowanych w sypkich pełnoporcjowych mieszankach paszowych, na wyniki odchowu kurcząt rzeźnych w 35 dniowym tuczu przedstawiono w tabeli 9.

Proponowany skład premiksu mineralno-witaminowego do stosowania do mieszanek typu Grower oraz Finisher dla kurcząt brojlerów przedstawiono w tabeli 10.

T a b e l a 1. Skład premiksu standardowego mineralno-witaminowego, zastosowanego w mieszankach dla kurcząt brojlerów w doświadczeniach (Rovimix Broiler Grower, 0,5%, DSM).

| Komponent | Jedn. miary | ilość |
|---|-------------|-----------------------|
| Witaminy | | |
| Witamina A (octan retinolu) | IU/kg | 2 200 000,00 |
| Witamina D3 (E671) | IU/kg | 500 000,00 |
| Witamina E (octan di-alfa-tokoferylu) | mg/kg | 10 000,00 |
| Witamina K3 (MNB) | mg/kg | 500,00 |
| Witamina B1(monoazotan tiaminy) | mg/kg | 400,00 |
| Witamina B2 (ryboflawina) | mg/kg | 1 400,00 |
| D-pantotenan wapnia | mg/kg | 2 722,44 |
| Witamina B6 (chlorowodorek pirydoksyny) | mg/kg | 800,00 |
| Witamina B12 (cyjanokobalamina) | mcg/kg | 4 000,00 |
| Niacyna (kwas nikotynowy) | mg/kg | 8 000,00 |
| Kwas foliowy | mg/kg | 200,00 |
| Biotyna | mcg/kg | 30 000,00 |
| Chlorek choliny | mg/kg | 60 000,00 |
| Mikroelementy | | |
| Miedź* | mg/kg | w zależności od grupy |
| Cynk (tlenek cynku) | mg/kg | 11 000,00 |
| Mangan (tlenek manganu) | mg/kg | 14 000,00 |
| Jod (jodan wapnia) | mg/kg | 120,00 |
| Selen (selenian sodu) | mg/kg | 70 00 |
| Żelazo (siarczan żelaza) | mg/kg | 9 000 00 |
| Konserwanty | | |
| Kwas cytrynowy | mg/kg | 19 00 |
| Przeciwutleniacze | | |
| Etoxyquin | mg/kg | 34 80 |
| Galusan propylu | mg/kg | 5 40 |
| Pozostałe | | |
| Wapń | % | 25,07 |
| Magnez | % | 0,22 |
| Nośnik (węglan wapnia) | | |
| Skrobia jako nośnik miedzi** | mg/kg | w zależności od grupy |

*poziom miedzi różnił się odpowiednio w grupach;

Przykład 1 i 2: grupa 1 kontrolna – CuSO₄ 1 500,00 mg/kg; grupa 2 – nanoCu-S (25%) 375 mg/kg; grupa 3 – nanoCu-S (50%) 750,00 mg/kg; grupa 4 – nanoCu-S (75%) 1 125,00 mg/kg; grupa 5 – nanoCu-S (100%) 1 500,00 mg/kg

Przykład 3: grupa 1 CuSO₄ (100%) 1 500,00 mg/kg; grupa 2 nanoCu-S (100%) 1 500,00 mg/kg; grupa 3 CuSO₄ (60%) 900 mg/kg; grupa 4 nanoCu-S (60%) 900 mg/kg; grupa 5 CuSO₄ (30%) 450 mg/kg; grupa 6 nanoCu-S (30%) 450 mg/kg; grupa 7 CuSO₄ (10%) 150 mg/kg; grupa 8 nanoCu-S (10%) 150 mg/kg

**ilość skrobi była 10 razy większa od miedzi i stanowiła odpowiednio w grupach

Przykład 1 i 2 grupa 1 skrobia 15000 mg/kg; grupa 2 – skrobia 3750 mg/kg; grupa 3 – skrobia 7500 mg/kg; grupa 4 – skrobia 11250 mg/kg; grupa 5 skrobia 15000 mg/kg

Przykład 3 grupa 1 i 2 skrobia 15000 mg/kg; grupa 3 i 4 skrobia 9000 mg/kg; grupa 4 i 5 skrobia 4500 mg/kg; grupa 6 i 7 skrobia 1500 mg/kg.

T a b e l a 2. Skład surowcowy oraz wartość pokarmowa mieszanek zastosowanych w doświadczeniach.

| Komponent | Jednostka miary | Mieszanka Brojler 1 (1-14 dni) | Mieszanka Brojler 2 (15 – 35 lub 42 dni) |
|------------------------------|-----------------|--------------------------------|--|
| Pszenica | % | 45,10 | 47,51 |
| Śruta sojowa 46,8% | % | 25,65 | 22,01 |
| Kukurydza | % | 10,00 | 10,00 |
| Śruta rzepakowa | % | 10,00 | 10,00 |
| Olej sojowy | % | 5,25 | 7,38 |
| Fosforan dwuwapniowy | % | 2,25 | 1,54 |
| Alimet 88% | % | 0,33 | 0,27 |
| L-Lizyna HCL 98 | % | 0,24 | 0,21 |
| NaCl | % | 0,21 | 0,22 |
| Kreda pastewna | % | 0,20 | 0,32 |
| Węglan sodu | % | 0,15 | 0,10 |
| L-Treonina | % | 0,14 | 0,15 |
| Premiks mineralno-witaminowy | % | 0,50 | 0,50 |
| Wartość odżywcza % | | | |
| Białko ogólne | % | 21,50 | 20,00 |
| Tłuszcz surowy | % | 6,88 | 8,99 |
| Włókno surowe | % | 3,45 | 3,36 |
| Wapń | % | 0,85 | 0,70 |
| Lizyna | % | 1,25 | 1,13 |
| Metionina + Cystyna | % | 0,99 | 0,90 |
| Energia Metaboliczna | Kcal/kg | 3000 | 3181 |

T a b e l a 3. Schemat przykładu 2.

| | Grupy | | | | |
|--|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1 - kontrolna | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Źródło Cu | CuSO ₄ | NanoCu | NanoCu | NanoCu | NanoCu |
| Zawartość Cu, mg/kg premiksu | 1 500,00 | 375,00 | 750,00 | 1125,00 | 1 500,00 |
| Zawartość Cu, % poziomu standardowego* | 100 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| Forma | Proszek CuSO ₄ | Proszek NanoCu | Proszek NanoCu | Proszek NanoCu | Proszek NanoCu |
| Dodawany do premiksu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu |

T a b e l a 4. Schemat przykładu 3. Określenie poziomu zastosowania nanocząstek Cu w porównaniu do CuSO₄.

| | Grupy | | | | | | | |
|--|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Źródło Cu | CuSO ₄ | NanoCu | CuSO ₄ | NanoCu | CuSO ₄ | NanoCu | CuSO ₄ | NanoCu |
| Zawartość Cu, mg/kg premiksu | 1500,00 | 1500,00 | 900,00 | 900,00 | 450,00 | 450,00 | 150,00 | 150,00 |
| Zawartość Cu, % poziomu standardowego* | 100 | 100 | 60 | 60 | 30 | 30 | 10 | 10 |
| Forma | Proszek CuSO ₄ | Proszek NanoCu-S | Proszek CuSO ₄ | Proszek NanoCu-S | Proszek CuSO ₄ | Proszek NanoCu-S | Proszek CuSO ₄ | Proszek NanoCu-S |
| Dodawany do premiksu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu | bez Cu |

* poziom redukcji miedzi w stosunku do grupy kontrolnej, 100% przyjęto poziom stosowany standardowo w premiksach i mieszankach dla drobiu (7,5 mg/kg paszy)

T a b e l a 5. Wyniki produkcyjne (średnie dzienne przyrosty i zużycie paszy) kurcząt brojlerów, które otrzymywały paszę z dodatkiem nanocząstek Cu zamiast CuSO₄ na poziomie 25%, 50% i 75% poziomu stosowanego standardowo w mieszankach.

| Badany czynnik | Grupy | | | | | ANOVA | |
|---------------------------------|-------------------|----------------|---------|--------------|----------|--------|--------|
| | kontrolna | NanoCu | | | | SEM | p |
| | CuSO ₄ | 25%* | 50%* | 75%* | 100%* | | |
| Przyrost masy ciała kurcząt (g) | | | | | | | |
| • 0 dzień | 43 | 41 | 43 | 42 | 42 | 0,56 | ns |
| • 14 dzień | 310,3 | 336,0 | 343,5 | 325,0 | 324,8 | 17,05 | ns |
| • 35 dzień | 2106,6 | 2231,5 | 2067,0 | 2121,3 | 2236,1 | 87,39 | ns |
| • 42 dzień | 2582,3a | 2776,3b | 2508,3a | 2610,6ab | 2697,8ab | 120,59 | 0,0034 |
| Zużycie paszy (kg) | 1,657 | 1,596 | 1,637 | 1,582 | 1,672 | 0,012 | ns |

* poziom redukcji miedzi w stosunku do grupy kontrolnej, 100% przyjęto poziom stosowany standardowo w premiksach i mieszankach dla drobiu (7,5 mg/kg paszy)

T a b e l a 6. Analiza rzeźna kurcząt brojlerów (w 42 dniu), które otrzymywały paszę z dodatkiem nanocząstek Cu zamiast CuSO₄ na poziomie 25%, 50% i 75% poziomu stosowanego standardowo w mieszankach.

| Badany czynnik | Grupy | | | | | ANOVA | |
|---------------------|-----------|--------|-------|-------|-------|-------|----|
| | kontrolna | NanoCu | | | | SEM | p |
| | | 25%* | 50%* | 75%* | 100%* | | |
| Wydajność rzeźna % | 76,79 | 75,39 | 76,26 | 75,36 | 77,15 | 0,84 | ns |
| Zawartość % | | | | | | | |
| • mięśnie piersiowe | 34,09 | 34,40 | 33,72 | 33,26 | 32,02 | 1,54 | ns |
| • mięśnie nóg | 18,57 | 18,57 | 20,93 | 18,94 | 20,85 | 1,09 | ns |
| • żołądek | 1,57 | 1,57 | 1,96 | 1,59 | 1,63 | 0,19 | ns |
| • wątroba | 1,84 | 1,84 | 1,96 | 2,04 | 1,93 | 0,12 | ns |
| • serce | 0,52 | 0,52 | 0,56 | 0,56 | 0,56 | 0,04 | ns |

* poziom redukcji miedzi w stosunku do grupy kontrolnej, 100% przyjęto poziom stosowany standardowo w premiksach i mieszankach dla drobiu (7,5 mg/kg paszy)

T a b e l a 7. Zawartość Cu oraz Zn i Fe w kałomoczu oraz współczynnik retencji Cu oraz Zn i Fe u kurcząt brojlerów, które otrzymywały paszę z dodatkiem nanocząstek Cu zamiast CuSO₄ na poziomie 25%, 50% i 75% poziomu stosowanego standardowo w mieszankach.

| | Grupy | | | | | ANOVA | |
|-----------------------------|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------|-------|
| | kontrolna | nanoCu | | | | SEM | p |
| | | 25%* | 50%* | 75%* | 100%* | | |
| Zawartość w kałomoczu mg/kg | | | | | | | |
| • Cu | 51 ^a | 28,5 ^b | 36,5 ^c | 44,7 ^d | 43,5 ^d | 0,809 | 0,000 |
| • Fe | 738 ^a | 749,1 ^a | 756 ^a | 809 ^{ab} | 872,7 ^b | 30,16 | 0,050 |
| • Zn | 298,33 | 307 | 339 | 297,33 | 303,33 | 13,35 | 0,227 |
| Współczynnik retencji % | | | | | | | |
| • Cu | 33,41b | 36,73a | 32,68b | 27,95b | 40,63a | 4,16 | 0,024 |
| • Fe | 76,37 | 68,4 | 75,34 | 64,9 | 66,51 | 3,19 | 0,090 |
| • Zn | 67,7 | 55,76 | 62,19 | 56,03 | 60,29 | 4,44 | 0,359 |

* poziom redukcji miedzi w stosunku do grupy kontrolnej, 100% przyjęto poziom stosowany standardowo w premiksach i mieszankach dla drobiu (7,5 mg/kg paszy)

T a b e l a 8. Zawartość Cu oraz Zn i Fe w mięśni piersiowym, wątrobie i nerkach kurcząt brojlerów, które otrzymywały paszę z dodatkiem nanocząstek Cu zamiast CuSO₄ na poziomie 25%, 50% i 75% poziomu stosowanego standardowo w mieszankach.

| Zawartość Cu, Zn i Fe w wybranych tkankach | Grupy | | | | | ANOVA | |
|--|---|--------|--------|--------|---------|--------|-------|
| | Poziom nanoCu w stosunku do poziomu standardowego CuSO ₄ w grupie kontrolnej (%) | | | | | SEM | p |
| | Kontrola (CuSO ₄) | NanoCu | | | | | |
| 100%* | 25% | 50% | 75% | 100% | | | |
| Cu w mięśni piersiowym | 1,27 | 1,46 | 1,48 | 1,52 | 1,16 | 0,164 | 0,507 |
| Fe w mięśni piersiowym | 24,20 | 23,60 | 22,13 | 30,46 | 22,90 | 3,890 | 0,589 |
| Zn w mięśni piersiowym | 22,03 | 21,40 | 20,70 | 25,96 | 21,93 | 7,240 | 0,551 |
| Cu w wątrobie | 16,44 | 15,26 | 14,33 | 15,50 | 15,37 | 0,904 | 0,607 |
| Fe w wątrobie | 962,67 | 839,66 | 850,33 | 712,33 | 1090,39 | 136,33 | 0,419 |
| Zn w wątrobie | 125,66 | 126 | 107,67 | 120,33 | 103,86 | 8,724 | 0,302 |
| Cu w nerkach | 14,20 | 14,76 | 10,43 | 17,60 | 12,96 | 2,570 | 0,432 |
| Fe w nerkach | 396,50 | 385,67 | 353,00 | 423,66 | 415,66 | 64,51 | 0,940 |
| Zn w nerkach | 83,25 | 84,43 | 78,63 | 77,13 | 83,9 | 3,753 | 0,596 |

* poziom redukcji miedzi w stosunku do grupy kontrolnej, 100% przyjęto poziom stosowany standardowo w premiksach i mieszankach dla drobiu (7,5 mg/kg paszy)

T a b e l a 9. Wyniki produkcyjne (przyrosty, pobranie paszy i zużycie paszy) kurcząt brojlerów, utrzymywanych w warunkach produkcyjnych, które otrzymywały paszę z dodatkiem nanocząstek Cu zamiast CuSO₄ na poziomie 100%, 60%, 30% i 10% poziomu stosowanego standardowo w mieszankach.

| Grupy | Przyrost masy ciała, (g) okres tuczu | | | Pobranie paszy okres tuczu | | | Zużycie paszy kg/kg przyrostu Okres tuczu | | |
|-------------------|--------------------------------------|--------|-------|----------------------------|--------|-------|---|--------|-------|
| | 1-14d | 14-35d | 1-35d | 1-14d | 14-35d | 1-35d | 1-14d | 14-35d | 1-35d |
| | 100%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 378 | 1589 | 1961 | 524 | 2467 | 2951 | 1,39 | 1,55 | 1,51 |
| NanoCu | 381 | 1567 | 1944 | 528 | 2446 | 2934 | 1,39 | 1,56 | 1,51 |
| | 60%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 382 | 1613 | 1983 | 530 | 2466 | 2952 | 1,39 | 1,53 | 1,49 |
| NanoCu | 375 | 1590 | 1952 | 532 | 2461 | 2955 | 1,42 | 1,55 | 1,51 |
| | 30%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 367 | 1564 | 1916 | 529 | 2435 | 2917 | 1,44 | 1,56 | 1,52 |
| NanoCu | 375 | 1587 | 1954 | 523 | 2457 | 2939 | 1,40 | 1,55 | 1,50 |
| | 10%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 364 | 1550 | 1911 | 520 | 2437 | 2918 | 1,43 | 1,58 | 1,53 |
| NanoCu | 372 | 1612 | 1978 | 508 | 2504 | 2971 | 1,37 | 1,55 | 1,50 |
| SEM | 1,76 | 7,97 | 9,00 | 2,09 | 8,95 | 9,24 | 0,008 | 0,003 | 0,003 |
| p | 0,151 | 0,459 | 0,392 | 0,110 | 0,648 | 0,834 | 0,301 | 0,233 | 0,219 |
| | 100%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 378 | 1589 | 1961 | 524 | 2467 | 2951 | 1,39 | 1,55 | 1,51 |
| NanoCu | 381 | 1567 | 1944 | 528 | 2446 | 2934 | 1,39 | 1,56 | 1,51 |
| | 60%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 382 | 1613 | 1983 | 530 | 2466 | 2952 | 1,39 | 1,53 | 1,49 |
| NanoCu | 375 | 1590 | 1952 | 532 | 2461 | 2955 | 1,42 | 1,55 | 1,51 |
| | 30%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 367 | 1564 | 1916 | 529 | 2435 | 2917 | 1,44 | 1,56 | 1,52 |
| NanoCu | 375 | 1587 | 1954 | 523 | 2457 | 2939 | 1,40 | 1,55 | 1,50 |
| | 10%* | | | | | | | | |
| CuSO ₄ | 364 | 1550 | 1911 | 520 | 2437 | 2918 | 1,43 | 1,58 | 1,53 |
| NanoCu | 372 | 1612 | 1978 | 508 | 2504 | 2971 | 1,37 | 1,55 | 1,50 |
| SEM | 1,76 | 7,97 | 9,00 | 2,09 | 8,95 | 9,24 | 0,008 | 0,003 | 0,003 |
| p | 0,151 | 0,459 | 0,392 | 0,110 | 0,648 | 0,834 | 0,301 | 0,233 | 0,219 |

* poziom redukcji miedzi w stosunku do grupy kontrolnej, 100% przyjęto poziom stosowany standardowo w premiksach i mieszankach dla drobiu (7,5 mg/kg paszy)

T a b e l a 10. Proponowany skład premiksu mineralno-witaminowego do stosowania do mieszanek typu Starter, Grower oraz Finisher dla kurcząt brojlerów.

| Komponent | Jedn. miary | ilość |
|---|-------------|---------------------|
| Witaminy | | |
| Witamina A (octan retinolu) | IU/kg | 2 200 000,00 |
| Witamina D3 (E671) | IU/kg | 500 000,00 |
| Witamina E (octan di-alfa-tokoferylu) | mg/kg | 10 000,00 |
| Witamina K3 (MNB) | mg/kg | 500,00 |
| Witamina B1(monoazotan tiaminy) | mg/kg | 400,00 |
| Witamina B2 (ryboflawina) | mg/kg | 1 400,00 |
| D-pantotenian wapnia | mg/kg | 2 722,44 |
| Witamina B6 (chlorowodorek pirydoksyny) | mg/kg | 800,00 |
| Witamina B12 (cyjanokobalamina) | mcg/kg | 4 000,00 |
| Niacyna (kwas nikotynowy) | mg/kg | 8 000,00 |
| Kwas foliowy | mg/kg | 200,00 |
| Biotyna | mcg/kg | 30 000,00 |
| Chlorek choliny | mg/kg | 60 000,00 |
| Mikroelementy | | |
| Miedź (NanoCu-S)* | mg/kg | od 150,00 do 375,00 |
| Cynk (tlenek cynku) | mg/kg | 11 000,00 |
| Mangan (tlenek manganu) | mg/kg | 14 000,00 |
| Jod (jodan wapnia) | mg/kg | 120,00 |
| Selen (selenian sodu) | mg/kg | 70,00 |
| Żelazo (siarczan żelaza) | mg/kg | 9 000,00 |
| Konserwanty | | |
| Kwas cytrynowy | mg/kg | 19,80 |
| Przeciwutleniacze | | |
| Etoxyquin | mg/kg | 34,80 |
| Galusan propylu | mg/kg | 5,40 |
| Pozostałe | | |
| Wapń 25,07% | | |
| Magnez 0,22% | | |
| Nośnik (węglan wapnia) | | |

* nanocząstki Cu(0) skoniugowane ze skrobią, wartość podano w przeliczeniu na miedź.

Literatura

1. Brewer G.J. 2007. Iron and copper toxicity in diseases of aging, particularly atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Exp Biol Med*, 232, 323–335.
2. Gomes T., Pereira C.G., Cardoso C., Pinheiro J.P., Cancio L, Bebianno M.J. 2012. Accumulation and toxicity of copper oxide nanoparticles in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat Toxicol.* 15, 118–119.
3. Jomova K., Valko M. 2011. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 10, 65.
4. Lelkes P.I., Hahn K.L., Sukovich D.A., Karmiol S., Schmidt D.H. 1998. On the possible role of reactive oxygen species in angiogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 454, 295–310.

5. Mroczek-Sosnowska N., Batorska M., Łukasiewicz M., Wnuk A., Sawosz E., Jaworski S., Niemiec J. 2013. Effect of nanoparticles of copper and copper sulfate administered *in ovo* on hematological blood markers of broiler chickens. *Ann. Warsaw Univ. of Live Sci.*, 52, 141–149.
6. Pineda, L., Sawosz, R., Vadalasetty, K.P., Chwalibog, A. 2013. Effect of copper nanoparticles on metabolic rate and development of chicken embryos. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 186, 125–129.
7. Scott, A., Vadalasetty, K.P., Monika Łukasiewicz, M., Jaworski, S., Wierzbicki, M., Chwalibog, A., Sawosz, E. (2017) Effect of different levels of copper nanoparticles and copper sulphate on performance, metabolism and blood biochemical profiles in broiler chicken. *Journal of Animal Physiology and Nutrition*. DOI: 10.1111/jpn. 12754.
8. Smith D.P., Smith D.G., Curtain C.C., Boas J.F., Pilbrow J.R., Ciccotosto G.D., Lau T-L, Tew D.J., Perez K., Wade J.D., Bush A.I., Drew S.C., Separovic F., Masters C.L., Cappai R., Bamham K.J. 2006. Copper-mediated Amyloid- β Toxicity Is Associated with an Intermolecular Histidine Bridge *J. Biol. Chem.* 281, 15145–15154.
9. Tsukihara T., Aoyama H., Yamashita E., Tomizaki T., Yamaguchi H., Shinzawa-Itoh K., Nakashima R., Yaono R., Yoshikawa S. 1996. The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science* 272, 1136–44.
10. Turrens J.F. 2003. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J. Physiol.* 552, 335–344.
11. Valko M., Morris H., Cronin M.T. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 12, 1161–208.
12. Wang J., Rahman M., Duhart H.M., Newport G.D., Patterson T.A., Murdock R.C., Hussain S.M., Schlager J.J., Ali S.F. 2009. Expression changes of dopaminergic system-related genes in PC12 cells induced by manganese, silver, or copper nanoparticles *NeuroToxicology* 30, 926–933.

Zastrzeżenia patentowe

1. Dodatek mineralny do paszy przeznaczonej do żywienia kurcząt, zawierający miedź, **znamienny tym**, że stanowi go kompleks nanocząstek miedzi z nośnikiem skrobiowym, przy czym nośnik skrobiowy znajduje się w dodatku w ilości od 10 mg do 500 mg na 1 mg metalicznej Cu, a nanocząstki miedzi mają średnicę 10–150 nm.
2. Dodatek według zastrz. 1, **znamienny tym**, że przeciętna wielkość średnicy nanocząstki Cu zawiera się w zakresie 35–75 nm.
3. Dodatek według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako nośnik skrobiowy zawiera skrobię spożywczą pszenną, mąkę pszenną, skrobię kukurydzianą, mąkę kukurydzianą.
4. Dodatek według zastrz. 3, **znamienny tym**, że jako nośnik skrobiowy zawiera mąkę pszenną typ 450.
5. Dodatek według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zawiera nośnik skrobiowy w ilości od 10 mg do 100 mg na 1 mg Cu.
6. Sposób wytwarzania dodatku mineralnego jak określono w zastrz. od 1 do 5 do paszy przeznaczonej do żywienia kurcząt, **znamienny tym**, że nośnik skrobiowy w postaci proszku zawieszają się w koloidalnym roztworze nanocząstek Cu, przy czym nośnik skrobiowy stosuje się w ilości od 10 mg do 500 mg na 1 mg metalicznej Cu w postaci nanocząstek, zaś proces zawieszania nanocząstek Cu realizuje się na drodze mieszania wspomaganego działaniem ultradźwięków, a następnie suszy się do uzyskania proszku o zawartości suchej masy nie mniej niż 90% i mieli się.
7. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że najpierw mechanicznie miesza się nośnik skrobiowy z koloidem nanocząstek miedzi do uzyskania jednorodnej mieszaniny, a następnie wspomaga się mieszanie ultradźwiękami, korzystnie w czasie od 15 do 45 minut, najkorzystniej przez 45 minut.
8. Zastosowanie kompleksu nanocząstek Cu z nośnikiem skrobiowym określonego w zastrz. 1, jako dodatku do premiksów witaminowo-mineralnych lub mieszanek dla kurcząt, przy czym kompleks miedziowo-skrobiowy stosuje się w ilości od 150,00 do 375,00 mg na 1 kg premiksu w przeliczeniu na miedź.