

CARLA CARDOZO CACHONI

**BIODISPONIBILIDADE DE COBRE DE VÁRIAS FONTES
COMERCIAIS PARA FRANGOS DE CORTE NA
FASE INICIAL**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Zootecnia, Área de Nutrição de Monogástricos, para obtenção do grau de Mestre.

**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS**

1993

CARLA CARDOZO CACHONI

BIODISPONIBILIDADE DE COBRE DE VÁRIAS FONTES
COMERCIAIS PARA FRANGOS DE CORTE NA
FASE INICIAL

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricul-
tura de Lavras, como parte das exigências do curso
de Mestrado em Zootecnia, Área de Nutrição de Ma-
nuseio, para obtenção do grau de Mestre.

[REDACTED]

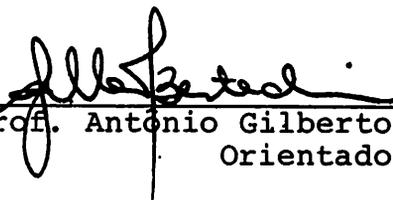
[REDACTED]

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS

1993

**BIODISPONIBILIDADE DE COBRE DE VÁRIAS FONTES COMERCIAIS
PARA FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL**

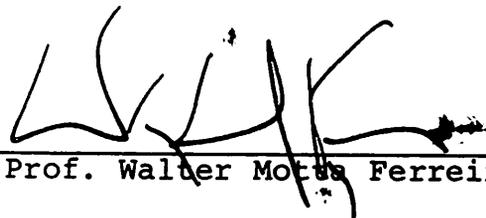
APROVADA em 22 de outubro de 1993



Prof. Antonio Gilberto Bertechini
Orientador



Prof. Sazzad M. Hossain
Co-Orientador



Prof. Walter Motta Ferreira



Pesq. Willibaldo Brás Sallum

"As pessoas que vencem neste mundo
são as que procuram as circunstâncias de que precisam
e quando não as encontram criam-nas".

KUNG-FU TSE

A minha mãe, Beatriz Cardozo, pelo amor, educação, estímulo e amizade recebidos durante minha vida;

A minha avó, Joaquina, minha segunda mãe;

A minha irmã Christiane, grande amiga;

Aos meus irmãos Carlos e Marcelo, grandes amigos;

Ao meu cunhado Walter, um irmão que ganhei;

A minhas cunhadas Gisela e Eliana;

Aos meus sobrinhos, Wanessa e Maximillian

DEDICO, com carinho e orgulho

A meu namorado Breno P. Pizzolante pela compreensão, apoio e carinho constantes;

OFEREÇO

BIOGRAFIA DO AUTOR

CARLA CARDOZO CACHONI, filha de Carlos Cachoni e Beatriz Cardozo Cachoni, nasceu em Ribeirão Preto, S.P., em 11 de julho de 1964.

Em 1989, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá-PR.

Estagiou no Instituto de Pesca - SP. de 1989 a 1991.

Em março de 1991, ingressou no Curso de Mestrado em Zootecnia, tendo concluído a tese na Área de Nutrição de Monogástricos em outubro de 1993. Neste mesmo ano ingressou no Instituto de Zootecnia - SP., como Pesquisador Científico I, na área de Avicultura.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura de Lavras, pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

À VACCINAR pela doação do suplemento vitamínico.

Ao Professor Antonio Gilberto Bertechini pela valiosa orientação, estímulo, amizade e pelo constante apoio a execução deste trabalho.

Aos Professores Sazzad M. Hossain, Walter Motta Ferreira, Igor M.E.V. von Tiesenhausen e Ivanor Nunes do Prado, pelas sugestões, estímulo e amizade.

Às Professoras Maria das Graças C.M. e Silva e Dulce Maria Antoniutti, pelo estímulo e amizade.

A todos os Professores do Departamento de Zootecnia da ESAL pelos ensinamentos e colaboração.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, Eliana Maria dos Santos Silva, Suelba Ferreira de Souza, Márcio dos Santos Nogueira, José Geraldo Virgílio pela amizade e valiosa colaboração nas análises realizadas.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia José Geraldo, Borginho, Cláudio e Preto pela contribuição durante a fase experimental.

As secretárias Sueli Ferreira de Carvalho e Ivone Ferreira do Vale Amaral e Silva pela colaboração e amizade.

Ao secretário Carlos Henrique de Souza pela colaboração e amizade.

Aos funcionários da Biblioteca Central pela amizade e auxílio constante na revisão e correção das referências bibliográficas.

Aos colegas Claudineli B. Máximo, Paulo Borges Rodrigues e estagiários Jeferson e Magali pela colaboração e amizade na condução dos experimentos.

A Denise Garcia de Santana pela amizade e auxílio nas análises estatísticas.

A José Eduardo Colombo Andrade pela colaboração e ensinamentos em inglês.

As grandes amigas Vera Lucia Banys e Kênia Ferreira Rodrigues pelo convívio e amizade sempre.

Aos amigos Sérgio T. Barreto, Fernando J. Dias, Júlio Reis, José Otávio de Castro, Edgar A.C. Saenz, Robson H. Silva e demais colegas de curso pela colaboração, convívio e amizade.

A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado, muito obrigado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Funções do cobre	4
2.2. Metabolismo do cobre	5
2.2.1. Interação com outros elementos	8
2.2.2. Concentração de cobre nos tecidos	11
2.2.3. Excreção de cobre	12
2.2.4. Deficiência e toxidez pelo cobre	13
2.3. Biodisponibilidade de cobre	16
2.3.1. Fatores que afetam a biodisponibilidade	19
2.3.2. Métodos de determinação de biodisponibilidade .	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Localização	22
3.2. Experimento 1: Biodisponibilidade de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (25,00%) e óxido de cobre F.C. (73,00%)	23

3.2.1. Dieta basal	23
3.2.2. Determinação da biodisponibilidade	25
3.3. Experimento 2: Biodisponibilidade de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%)	25
3.3.1. Dieta basal	25
3.3.2. Determinação da biodisponibilidade	26
3.4. Parâmetros avaliados	27
3.5. Manejo dos animais	28
3.6. Análises químicas	28
3.7. Análises estatísticas	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1. Análises químicas	31
4.2. Experimento 1: Biodisponibilidade de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (25,00%) e óxido de cobre (73,00%)	32
4.2.1. Resultados de desempenho	32
4.2.2. Concentração de cobre nos tecidos	34
4.3. Experimento 2: Biodisponibilidade de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%)	40
4.3.1. Resultados de desempenho	40
4.3.2. Concentrações de cobre nos tecidos	41

5. CONCLUSÕES	47
6. RESUMO	49
7. SUMMARY	52
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Conteúdo de cobre do fígado em função dos níveis de cobre ingeridos	37
2	Conteúdo de cobre do fígado em função dos níveis de cobre ingeridos	45

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Composição química dos ingredientes	23
2	Composição percentual da dieta basal	24
3	Composição percentual da dieta basal	27
4	Características físicas e químicas das fontes de cobre	32
5	Ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar das aves no período de 7 à 28 dias de idade, com níveis de suplementação de cobre e fontes	33

Quadro

Página

6	Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento na tíbia de frangos de corte	34
7	Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no soro sanguíneo de frangos de corte	35
8	Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no fígado de frangos de corte	36
9	Equação de regressão linear da concentração de cobre no fígado para as fontes e níveis do elemento na dieta	37
10	Biodisponibilidade relativa estimada no fígado, do sulfato e óxido de cobre para frangos de corte dos 7 aos 28 dias de idade	39
11	Ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar das aves no período de 5 à 28 dias de idade, com níveis de suplementação de cobre e fontes	41

Quadro	Página
12 Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento na tíbia de frangos de corte	42
13 Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no soro sanguíneo de frangos de corte	42
14 Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no fígado de frangos de corte	43
15 Equação de regressão linear da concentração de cobre no fígado para as fontes e níveis do elemento na dieta	44
16 Biodisponibilidade relativa estimada no fígado, de sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%) para frangos de corte dos 5 aos 28 dias de idade	46

1. INTRODUÇÃO

A importância que a avicultura vem tomando nos últimos anos no Brasil, não tem precedentes em outros setores de produção animal.

O consumo da carne de frango cresce anualmente, constituindo-se a avicultura em uma atividade econômica de grande destaque.

O incremento da população avícola é resultado do grande avanço genético das aves, nutrição, sanidade e manejo, proporcionando um produto de excelente qualidade para o consumidor.

A nutrição das aves tomou grande impulso apenas nos últimos 40 anos e apesar dos satisfatórios índices zootécnicos atingidos, é notório que, em exigências nutricionais a atividade não possui o domínio tecnológico completo.

Visando a uma alimentação adequada às aves, a suplementação mineral, em especial os microminerais requerem atenção especial.

Dos 14 microminerais considerados essenciais aos animais, 7 são geralmente definidos como sendo necessários em forma suplementar em alimentos comerciais: Zinco, Ferro, Manganês, Cobre, Cobalto, Selênio e Iodo (MILLER, 1983b).

Os primeiros estudos mostrando que o cobre é um micromineral essencial e age como fator associado a formação do sangue, hemorragias e deformidades ósseas foi demonstrado por HART et al. (1928) trabalhando com ratos.

Esta essencialidade para animais e as manifestações de deficiência foram bem documentados por DAVIS & MERTZ, 1987.

Há escassez de informações atualizadas sobre a biodisponibilidade de cobre para suplementação de dietas práticas de aves, o que, tem levado ao uso de níveis inadequados deste microelemento que podem causar problemas de ordem nutricional e de meio ambiente, pois o cobre dietético se concentra em dejetos animais que são descarregados em mananciais e no solo como adubo causando aumento da sua concentração, desta forma os animais que eventualmente estejam pastando ou ingerindo essa água estarão sujeitos à toxidez (UNDERWOOD, 1977).

As técnicas convencionais de balanço são insatisfatórias para determinar a biodisponibilidade de cobre, visto que ele é necessário em pequenas quantidades e porque existem interações de cobre com outros elementos e qualquer diferença na absorção pode facilmente ser mascarada por erros. Essas diferenças podem ocorrer devido a várias fontes primárias de microelementos

utilizados, sendo essas o óxido, carbonato e sulfato (MILLS & WILLIAMS, 1971 e MILLER, 1983b).

Pesquisas sugerem que a administração de altos níveis de cobre em um curto período, associado a análise dos tecidos dão uma estimativa mais confiável na determinação da biodisponibilidade deste microelemento com fontes inorgânicas (LEDOUX et al., 1989a,b, 1991).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a biodisponibilidade de cobre de várias fontes comerciais para frangos de corte na fase inicial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Funções do Cobre

O cobre é um elemento do sub-grupo B do grupo I na tabela periódica, possui valência variável (Cu^{2+} e Cu^{+3}) formando assim compostos cuprosos e cúpricos. Este mineral desempenha várias funções metabólicas no organismo animal como no processo de osteogênese, hematopoiese, formação do sangue, proteção do corpo, pigmentação dos pelos e pele e na formação de proteínas cúpricas com funções enzimáticas como a tirosinase, lacase, ácido ascórbico oxidase, citocromo oxidase, monoaminoxidase plasmática, eritrocuprina e uricase (GEORGIEVSKII et al., 1982).

O cobre influencia o metabolismo do Ferro favorecendo a sua reabsorção intestinal e a mobilização dos tecidos para o plasma, desempenhando um papel importante na síntese de hemoglobina como na manutenção da célula vermelha. Quando a dieta é deficiente em cobre, decresce a absorção do ferro, rebaixando sua taxa total no

organismo, diminuindo a mobilização nos tecidos e o desenvolvimento de uma severa anemia microcítica hipocrônica (MAYNARD et al., 1984).

2.2. Metabolismo do cobre

Nos animais monogástricos, em geral, o cobre é pouco absorvido com apenas cerca de 5-10% do cobre ingerido, sendo absorvido e retido (BOWLAND et al., 1961). A absorção ocorre principalmente na parte superior do intestino delgado, onde o pH do conteúdo ainda é ácido. Uma pequena porção é absorvida na corrente sanguínea, sendo frouxamente ligado a albumina e aos aminoácidos do soro (VAN CAMPEN et al., 1965). Nessas formas, ele é amplamente distribuído aos tecidos e pode entrar imediatamente nos eritrócitos. O cobre na ceruloplasmina não é tão prontamente disponível para troca ou transferência, e tem um tempo de transformação muito lento para permitir que a ceruloplasmina seja a principal forma do transporte (STERNLIEB et al., 1961).

O cobre entra no fígado que é o principal órgão de armazenagem onde é incorporado na mitocondria, microssomos, núcleos e fração solúvel das células parenquimáticas em proporções que variam com a idade (PORTER, 1974) e linhagem (THIERS & VALEE, 1957).

O cobre ou é armazenado nestes sítios ou liberado para incorporação na eritrocupreína, ceruloplasmina e nas inúmeras

enzimas que contêm cobre das células. A ceruloplasmina é sintetizada no fígado e secretada no soro sanguíneo. A eritrocupreína é sintetizada nos normoblastos no tutano do osso. O fígado proporciona a principal rota de excreção do cobre via bilis e eliminação nas fezes, onde uma pequena quantidade deste cobre biliar é reabsorvido (MARKOWITZ et al., 1955; EVANS, 1973 e UNDERWOOD, 1977).

Uma série de estudos têm demonstrado efeitos antagônicos sobre a absorção de cobre e outros elementos da dieta como ions metálicos e substâncias orgânicas. A intensidade de absorção também é influenciada pela quantidade e forma química ingerida e idade do animal (BUNCH et al., 1963; VAN CAMPEN & SCAIFE, 1967; MILNE & WESWIG, 1968 e JENSEN et al., 1974).

Em animais de laboratório o excesso de cálcio, zinco, cádmio e ferro foram demonstrados reduzir a absorção do cobre. Parece assim que a competição de outros elementos por sítios de ligação pode inibir a absorção de cobre. MARCEAU et al. (1970) trabalhando com ratos, demonstrou que a porcentagem de cobre absorvido diminuiu a medida que a quantidade de cobre dietético aumentou, ou seja, que a absorção aumenta linearmente com a dose de cobre até $4 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ peso corporal, além do qual a taxa de absorção decresce. Assim, um processo de transporte ativo parece estar envolvido na absorção do cobre através do lúmen do trato gastro-intestinal. STARCHER (1969) injetou ^{64}Cu nos lúmens do proventrículo, moela e duodenos ligados de frangos anestesiados e

determinou que a absorção (medida pela quantidade de cobre no fígado) é aproximadamente 5 vezes mais rápida no duodeno do que no pró-ventrículo. As paredes da moela ligaram cerca de 90% da dose administrada, porém o EDTA reduziu esta ligação permitindo que mais ^{64}Cu passasse até o duodeno. Após o fornecimento do ^{64}Cu , o metal foi fortemente ligado a uma proteína na mucosa duodenal. O zinco e o cádmio inibidores da absorção de cobre agiram como antagonistas neste processo de ligação, visto que deslocaram o cobre da mesma fração protéica. Não se sabe se esta ligação protéica é parte do processo fisiológico do transporte de cobre intestinal. EVANS (1973), similarmente demonstrou que em mamíferos, a principal porção do cobre hepático total está localizado no citossol onde o metal está ligado a enzima superóxido dismutase e a uma proteína de baixo peso molecular semelhante à metalotioneína.

Segundo MURRAY et al. (1992) cerca de 90% do cobre total do plasma está ligado à ceruloplasmina, que é uma globulina -2 com peso molecular aproximado de 160.000 da. Possui coloração azul devido ao seu conteúdo de cobre. Cada molécula de ceruloplasmina retém 6 átomos de cobre ligados fortemente de modo que não se trocam com facilidade. OWEN & HAZELRIG (1966), comentam que a síntese de ceruloplasmina ocorre no fígado, onde o cobre é incorporado na apoproteína para produzir holoceruloplasmina um pouco antes da sua excreção. HOLTZMAN & GAUMNITZ (1970) mostraram em ratos com deficiência severa em

cobre que o fígado secreta a apoceruloplasmina no plasma na mesma taxa que um animal normal secreta a holoproteína e que a primeira desaparece no plasma numa taxa muito mais rápida do que a segunda. O tempo no qual a síntese da ceruloplasmina é iniciada parece ser dependente da espécie. CHANG et al. (1975) mostraram, que nenhuma holoceruloplasmina é produzida no leitão recém-nascido até 10-15 horas após o nascimento, enquanto a apoceruloplasmina é sintetizada e excretada durante este período. Parece entretanto que a ceruloplasmina não cruza a placenta. Esperava-se que com o aumento dos níveis de cobre no fígado no neonato fosse disponível para a incorporação na ceruloplasmina. Contudo, todas as espécies parecem ter níveis baixos de ceruloplasmina no soro ao nascimento, após o que sobem até que valores comuns aos animais adultos sejam atingidos entre um mês a um ano de idade. A albumina é responsável pelo transporte dos 10% restantes de cobre plasmático. No entanto, a firmeza da ligação do cobre à albumina é menor que a ligação à ceruloplasmina. Conseqüentemente, a albumina cede seu cobre aos tecidos com maior facilidade e ao que parece é mais importante que a ceruloplasmina no transporte de cobre nos animais.

2.2.1. Interação com outros elementos

Diversos fatores dietéticos inorgânicos afetam acentuadamente a absorção, retenção e distribuição do cobre no

corpo. Estes incluem especificamente o cálcio, cádmio, zinco, ferro, chumbo, prata, molibdênio e enxofre (UNDERWOOD, 1977).

BUNCH et al. (1963) demonstraram que sinais de envenamento por cobre podem ocorrer em suínos quando alimentados com dietas suplementadas de 250 ppm de cobre, a menos que os níveis de zinco e ferro nestas dietas sejam adequadamente aumentados. Os sinais de toxidez pela ingestão excessiva de cobre são a redução no consumo alimentar, taxa de crescimento, anemia, icterícia e níveis elevados de cobre no soro sanguíneo, no fígado e atividade da aminotranferase do aspartato do soro que podem ser eliminados fornecendo simultaneamente zinco e ferro à dieta. Esses efeitos podem ser melhor explicados pela competição entre os íons metálicos por sítios de ligação de proteína no processo de absorção e por uma alteração induzida pelo zinco na ligação de cobre com outras proteínas hepáticas (BREMNER et al., 1978).

A prata interage metabolicamente com o cobre e com o selênio. Dos antagonistas do cobre, ela parece ser a mais forte, seguida pelo cádmio, molibdênio, zinco e sulfato. Segundo JENSEN et al. (1974) trabalhando com perus jovens, a adição de 900 ppm de prata na forma de acetato ou nitrato a dietas práticas, reduziu a taxa de crescimento, o volume celular e provocou uma dilatação cardíaca nas aves, o que poderia ser evitado com a adição de 50 ppm de cobre nas dietas. Em estudos semelhantes PETERSON & JENSEN (1975) trabalhando com frangos, a dilatação cardíaca induzida pela dieta alta em prata foi evitada por 50 ppm

de cobre, porém, o retardamento do crescimento foi parcialmente corrigido, provavelmente devido aos níveis inadequados de selênio e vitamina E em relação as grandes quantidades de prata.

Altos consumos de cálcio reduzem a disponibilidade do zinco, intensificando assim a possibilidade de toxidez por cobre em rações de suínos suplementados por cobre e introduzindo uma interação tripla entre cálcio, zinco e cobre (UNDERWOOD, 1977).

VAN CAMPEN & MITCHELL (1965) mencionaram um efeito redutor do cobre sobre a absorção do zinco. Estes autores mostraram que elevados consumos de zinco reduzem a absorção do cobre.

O cádmio reduz a absorção de cálcio e aumenta a sua excreção no trato digestivo. A suplementação do 10, 20 e 40 mg cádmio/kg em rações de codorna japonesa com níveis elevados de Zn, Mn e Cu resultou em menores concentrações de cádmio no fígado e rins das aves (UNDERWOOD, 1977).

Existe uma correlação inversa significativa entre Ferro hepático e concentração de cobre. Quando a dieta é deficiente em ferro ocorre acúmulo elevado da concentração de cobre no fígado e quando a dieta é deficiente em cobre ocorre acúmulo de ferro no fígado (UNDERWOOD, 1977).

Em animais de laboratório e em ruminantes, o excesso de molibdênio provoca sintomas físicos de deficiência cúprica e dificuldades no metabolismo do cobre (MAYNARD et al., 1984). É importante observar que o molibdênio e o sulfato podem aumentar ou diminuir o status do cobre de um animal, dependendo de seus consumos em relação aos consumos do cobre (UNDERWOOD, 1977).

2.2.2. Concentração de cobre nos tecidos

CARTWRIGHT & WINTROBE (1964) estimaram que o corpo adulto saudável possui 80 mg de cobre total. A distribuição do cobre corporal total entre os tecidos varia com a espécie, idade e status do animal.

Segundo GEORGIEVSKII et al. (1982), o cobre se deposita diferentemente nos diversos órgãos e tecidos, sendo a maior concentração nos ossos, fígado, cérebro, baço, pele e pelos; médio teor de cobre nos músculos, rins, pâncreas, coração e um baixo teor nas glândulas de secreção interna e órgãos sexuais. Esses autores comentam que animais recém nascidos (exceto os carneiros), contêm mais cobre devido provavelmente a sua mais alta concentração no fígado em relação à um animal adulto.

As concentrações de cobre no fígado variam com a espécie, idade do animal e com a composição química da dieta. Não há efeito do sexo com a concentração de cobre no fígado, exceto no salmão australiano no qual a fêmea possui níveis mais altos que o macho. A variação individual é alta em todas as espécies (UNDERWOOD, 1977).

MILNE & WESWIG (1968) mostraram que bovinos e carneiros possuem uma capacidade superior de ligar o cobre no fígado, porque os níveis de cobre sanguíneos não aumentam nestas espécies com o aumento das ingestões de cobre como ocorre em ratos, exceto em ingestões muito altas. Esses autores mostraram em ratos que as

concentrações de cobre do fígado são sensíveis a baixas ingestões de cobre e são úteis na diagnose da deficiência de cobre.

DICK (1956) comenta que além dos efeitos da espécie, idade, os níveis de cobre são afetados por outros fatores dietéticos que influenciam a retenção de cobre no corpo, através de seus efeitos na absorção, excreção de cobre, ou ambos. Ele comenta que a armazenagem de cobre no fígado de ovinos e bovinos pode ser reduzida significativamente por um aumento no molibdênio dietético, contanto que as ingestões de sulfato dietético sejam adequadas.

Segundo UNDERWOOD (1977), a faixa normal de concentração de cobre no sangue de animais saudáveis pode ser dado como 0,5-1,5 $\mu\text{g/ml}$, com uma alta proporção dos valores encontrando-se entre 0,8-1,2 $\mu\text{g/ml}$.

2.2.3. Excreção de cobre

Em todas as espécies estudadas, uma proporção elevada de cobre ingerida aparece nas fezes. A função da célula hepática é preparar o cobre que está em excesso em relação às exigências orgânicas, para excreção na biliar.

BOWLAND et al. (1961) mostrou que a rota mais importante de excreção de cobre em suínos é o sistema biliar. Da mesma maneira EVANS & CORNATZER (1971), que a concentração de cobre na biliar do rato é 10 vezes a do plasma e que a excreção do cobre biliar

nessa espécie pode ser aumentada de diversas maneiras: com o aumento do fluxo da biliar, aumento da temperatura corporal ou pela administração de esteróides das adrenais. FARRER & MISTILIS (1967) demonstraram em ratos que 10-15% do cobre biliar é reabsorvido pela circulação enterohepática. Comparando-se esses dados com os obtidos por TERAO & OWEN (1973) sugere-se que as frações de cobre de baixo peso molecular da biliar é reabsorvida principalmente desta maneira, com os componentes de cobre de alto peso molecular sendo excretado nas fezes.

2.2.4. Deficiência e toxidez pelo cobre

Deficiência

Os sintomas de deficiência de cobre variam com a idade, sexo e espécie animal. Na maioria dos animais, os sintomas típicos são anemia, crescimento reduzido, diarreia, despigmentação dos pelos e lã, formação reduzida dos ossos, fraturas ósseas espontâneas e desmielinização da medula espinhal (GEORGIEVSKII, et al, 1982).

Quando o cobre dietético está abaixo do nível de exigência que é de 8 ppm para frangos de corte, ocorrem problemas de deficiência (NRC, 1984).

Segundo UNDERWOOD (1981) a medida que o cobre disponível ao animal torna-se insuficiente para todos os processos metabólicos que envolvem este mineral, como resultado de consumo inadequado, depleção das reservas corporais ou interação com antagonistas

metabólicos, alguns processos falham na competição pelo suprimento inadequado. Este autor comenta que em ovinos, os processos de pigmentação e queratinização da lã são os primeiros a serem afetados por uma deficiência de cobre. A despigmentação em ovinos também foi citada por WIKSE et al. (1992).

STARCHER et al. (1964) mostraram uma correlação significativa entre o teor de elastina e a concentração de lisina da elastina aórtica de frangos deficientes em cobre. O teor de elastina aórtica de frangos alimentados com uma dieta contendo 0,8 mg de cobre/kg aumentou levemente e nunca igualou-se aos dos frangos alimentados com uma dieta contendo 25 mg de cobre/kg. A concentração de lisina da elastina aórtica de frangos alimentados com uma dieta deficiente em cobre foi 3 vezes a do grupo suficiente em cobre.

Da mesma maneira O'DELL et al. (1966) demonstraram um desarranjo no tecido elástico das aortas de frangos deficientes em cobre e determinaram que a mortalidade nesses animais era causada por uma ruptura dos principais vasos sanguíneos. Os mesmos autores citaram ainda que o teor de elastina das aortas de frangos deficientes em cobre é reduzido e que a elastina desses animais contém um teor elevado de lisina e menor desmosina e isodesmosina do que e de animais normais.

A anemia é uma expressão comum da deficiência de cobre, onde a deficiência é severa ou prolongada. LAHEY et al. (1952) relataram que a deficiência de cobre em suínos levou a uma anemia

hipocrômica com número reduzido de células. MAAS et al. (1944) e VAN WYK et al. (1953) apresentaram evidências que no cachorro uma deficiência de cobre resulta em uma anemia normocrômica com número reduzido de células.

RUCKER et al. (1975) mostraram que a oxidase lisil e a oxidase do citocromo C no osso são acentuadamente reduzidas em frangos alimentados com dietas deficientes em cobre, ocorrendo anormalidades esqueléticas nesses animais.

SAVAGE (1968) alimentando galinhas com uma dieta severamente deficiente em cobre (0,7-0,9 ppm de cobre) por 20 semanas exibiram menor produção de ovos e níveis sub-normais de cobre no plasma e fígado. Esse autor comenta que a capacidade de eclosão caiu rapidamente e aproximou-se de zero em 14 semanas. Os embriões destas galinhas exibiram anemia, desenvolvimento retardado, alta incidência de hemorragia após 72-96 horas de incubação e uma redução na atividade da monoamina oxidase.

Toxidez

Não ocorrem problemas de toxidez em aves quando estas ingerem dietas com concentrações de até 500 ppm de cobre (NRC, 1980).

A toxicidade depende da espécie animal, idade dentro da espécie, da forma química do cobre ingerido e dos teores de cobre, molibdênio, ferro, zinco, proteínas da dieta (MAYNARD et al., 1984).

Segundo UNDERWOOD (1977), o envenenamento crônico por cobre pode ocorrer devido: a) um condições naturais de pastejo; b) como consequência do consumo excessivo de misturas de sais que contém cobre; c) do uso indiscriminado de alimentos líquidos que contém cobre; d) da contaminação de alimentos com compostos de cobre de fontes agrícolas ou industriais; e) em suínos que receberam suplementação de cobre como estimulantes de crescimento se a dieta basal não é adequadamente balanceada com outros minerais com os quais o cobre interage.

Em todos os animais, a ingestão contínua de cobre acima das exigências leva ao acúmulo nos tecidos, especialmente no fígado. A capacidade de armazenagem de cobre hepático varia muito entre as espécies. Nos bovinos e ovinos os sinais de intoxicação não são muito evidentes até que o fígado esteja com sua capacidade de armazenamento esgotado, liberando cobre para o sangue, o que causa uma crise hemolítica associada com icterícia com severa necrose hepática. Esta crise hemolítica não ocorre em ves, mas o nível de hemoglobina é reduzido (UNDERWOOD, 1977 & MAYNARD et al., 1984).

2.3. Biodisponibilidade de cobre

A biodisponibilidade ou valor biológico dos microminerais refere-se as porções que podem ser utilizadas pelos animais para realizar as funções para as quais o elemento é necessário. Parece

ser relativamente simples analisar o conteúdo de um micromineral em um ingrediente, mas a determinação da biodisponibilidade frequentemente é muito mais difícil, já que não existe um critério único para fazer as medidas que sejam significativas para todos os elementos. Devido ao alto custo e complexidade de se estabelecer a porcentagem de um micromineral utilizado pelos animais, vários procedimentos são empregados, como medidas físicas (solubilidade e análise por difração de raio x) e biológicas que são as mais comumente utilizadas como análise dos tecidos tipo fígado, soro e ossos (WATSON et al., 1970, 1971; SOUTHERN & BAKER, 1983a ; BLACK et al., 1984a, b; SMITH & KABAIJA, 1985 e BOND et al., 1991).

A seleção de uma fonte adequada do elemento, é uma das principais considerações a ser feita para se determinar a disponibilidade biológica relativa do elemento desejado em um suplemento. Os elementos minerais são fornecidos aos animais sob formas salinas inorgânicas simples (cloretos, óxidos, carbonatos, sulfatos), sob formas complexas (minerais naturais) ou sob a forma de complexos orgânicos com aminoácidos. A maioria das fontes são minerais naturais ou sub-produtos da indústria, que geralmente contém muitos elementos minerais, sendo alguns potencialmente tóxicos e os mais utilizados devem ser considerados.

Várias pesquisas foram realizadas utilizando-se dietas purificadas ou semi-purificadas com diferentes espécies (WAIBEL et al., 1964; MILNE & WESWING, 1968; MCNAUGHTON et al., 1974;

SUTTLE, 1974; NEDERBRAGT, 1980; FUNK & BAKER, 1991 e AOYAGI & BAKER, 1993), e, como consequência, os níveis indicados podem não ser práticos para o cobre, devido a fatores que interferem na biodisponibilidade como as interações do cobre com o Ca, Mo, Zn, Mn e Ni e outros compostos como proteínas, fibra, fitatos (MILLER & ENGEL, 1960 e FUNK & BAKER, 1991).

SOUTHERN & BAKER (1983b) sugerem a utilização de altos níveis não tóxicos de microminerais por um período curto para a determinação da biodisponibilidade em dietas práticas (milho e farelo de soja) através da análise de deposição do elemento nos tecidos. Esses autores comentam que a vantagem deste método é que ele não é prejudicial ao desempenho normal dos animais, não ocorre contaminação das amostras e simplifica as análises através da técnica da absorção atômica. Outros trabalhos (CZARNECKI et al., 1984; CROMWELL et al., 1989; BAKER et al., 1991 e ZANETTI et al., 1991) confirmam esses resultados. O NRC (1984) recomenda o uso de níveis de 8 ppm na ração de frangos de corte; não ocorrendo problemas de toxidez quando as aves ingerem dietas com concentrações de até 500 ppm (NRC, 1980).

Estudos com fontes de cobre parecem evidenciar que o sulfato de cobre (sulfato cúprico $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) é um dos compostos de cobre mais utilizados devido à sua boa disponibilidade em várias espécies, incluindo ratos, aves e ruminantes (LASSITER & BELL, 1960; BOWLAND et al., 1961; CHAPMAN & BELL, 1963; AMMERMAN & MILLER, 1972; UNDERWOOD, 1977 e MILLER, 1983a).

Baseando-se em regeneração da hemoglobina em ratos anêmicos, SHERMAN, EVEHJEN & HART (1934) determinaram que o sulfato cúprico foi prontamente utilizado, enquanto que o sulfito cúprico foi relativamente indisponível. Essas mesmas conclusões foram descritas por BARBER et al. (1961) e BOWLAND et al. (1961) quando trabalharam com suínos. O sulfato de cobre (CuSO_4) foi prontamente disponível para a regeneração da hemoglobina em ratos anêmicos (SCHULTZE, EVEHJEN & HART, 1936). MILLER (1983a) em uma revisão sugere que a disponibilidade do sulfito cúprico é mais baixa que a do sulfato de cobre.

O óxido de cobre é menos disponível do que o do sulfito, cloreto, nitrato e carbonato (CHAPMAN & BELL, 1963; UNDERWOOD, 1977; NRC, 1980 e MILLER, 1983a).

CHAPMAN & BELL (1963) demonstraram que o cobre de diferentes fontes é metabolizado diferentemente após a absorção.

2.3.1. Fatores que afetam a biodisponibilidade

A forma física e química do elemento é de importância fundamental na biodisponibilidade dos microminerais. Sabe-se que com o mesmo material, o tamanho da partícula ou o processo de trituração podem influenciar a taxa que os compostos minerais inorgânicos dissolvem-se e reagem. Geralmente os microminerais na alimentação devem estar na forma de pó e não devem conter níveis indesejáveis de elementos tóxicos como o chumbo (NELSON, 1982

a,b). A forma química tem influência decisiva sobre a disponibilidade biológica e um exemplo disso é que o ferro do óxido é muito menos disponível do que o Fe do sulfato ferroso (MCNAUGHTON, et al., 1974).

Segundo FLANAGAN et al. (1980) a absorção de alguns microminerais é afetada por outros componentes da dieta, como por exemplo uma dieta deficiente em Fe aumenta a absorção do cobalto, manganês e zinco.

Outro fator que dificulta o estudo da disponibilidade biológica dos microminerais é que a maior parte deles combina-se com outras substâncias, especialmente proteínas, após absorção (STARCKER, 1969). Os microminerais raramente ocorrem como elementos inorgânicos no animal e geralmente existem como complexos protéicos metálicos, quelatos protéicos metálicos, compostos de aminoácidos-metal (FUNK & BAKER, 1991).

Dos 14 microminerais considerados essenciais aos animais, 7 são definidos como sendo necessários em forma suplementar em alimentos comerciais: zinco, ferro, manganês, cobre, cobalto, selênio e iodo (MILLER, 1983b).

2.3.2. Métodos de determinação de biodisponibilidade

A biodisponibilidade ou o valor biológico de um determinado elemento refere-se à porção que pode ser utilizada pelo animal para satisfazer às funções para as quais esse elemento é necessário (MILLER, 1981).

Em contraste aos métodos relativamente simples para se determinar a quantidade total de cobre, determinar a biodisponibilidade não é fácil. A absorção é uma das maneiras para se estimar a biodisponibilidade, mas geralmente a porcentagem de cobre absorvido é baixa (BOWLAND et al., 1961; SUTTLE, 1974 e NRC, 1980).

A determinação da solubilidade e a análise de difração de raio x são também utilizadas para determinação da biodisponibilidade (WATSON et al, 1971 e MILLER, 1981).

O método de relação de coeficientes de regressão (Slope-ratio assay) tem sido utilizado quando os valores medidos em função do aumento dos níveis dietéticos possuem respostas linear, aplica-se então o método de regressão simples ou múltipla.

LEDOUX et al. (1991) conduziram um experimento com frangos de corte para determinar se a técnica de biodisponibilidade desenvolvida por BLACK et al. (1984a, b) para manganês poderia ser utilizada para estimar a disponibilidade do cobre originário de fontes inorgânicas de cobre, e encontraram valores de disponibilidade similares tanto para as técnicas de regressão simples como para múltipla, indicando que a administração de altos níveis de cobre em um período curto, associado a análise dos tecidos, podem ser utilizados para a determinação da biodisponibilidade relativa das fontes de suplementação de cobre.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização

Os experimentos foram conduzidos no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura de Lavras. O município de Lavras localiza-se na região sul do Estado de Minas Gerais, a uma altitude de 900 metros, tendo como coordenadas geográficas $21^{\circ}14'$ de latitude sul e $45^{\circ}00'$ de longitude oeste de Greenwich.

Os períodos experimentais foram de 14/08/92 a 09/09/92 para o experimento 1 e de 02/04/93 a 29/04/93 para o experimento 2.

As temperaturas médias do interior do galpão nos períodos experimentais foram $20,7^{\circ}\text{C}$ para o experimento 1 e $25,5^{\circ}\text{C}$ no experimento 2, sendo que as análises laboratoriais foram realizadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia.

3.2. Experimento 1: Biodisponibilidade de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (25,00%) e óxido de cobre F.C. (73,00%).

3.2.1. Dieta Basal

A composição química dos ingredientes está apresentada no Quadro 1. As dietas experimentais foram formuladas à base de

QUADRO 1. Composição química dos ingredientes.

Ingredientes	PB	EM	Ca	PD	Cu	
	%	kcal/kg	%	%	%	
Milho ⁴		7,7 ¹	3493 ²	0,02 ²	0,09 ²	5,22 ¹
Milho ⁵		7,6 ¹	3493 ²	0,02 ²	0,09 ²	5,15 ¹
Farelo de soja ⁴		42,4 ¹	2283 ²	0,36 ²	0,18 ²	18,42 ¹
Farelo de soja ⁵		46,41 ¹	2283 ²	0,36 ²	0,18 ²	17,92 ¹
Calcário	-	-	38,0 ¹	-	-	-
M.A.P. ³	-	-	-	22,9 ¹	-	-
Fosfato bic.	-	-	24,0 ¹	18,8 ¹	-	-
Sulfato cobre PA(25,46%)	-	-	-	-	25,46 ¹	-
Sulf.cobre F.C.(25,00%)	-	-	-	-	25,00 ¹	-
Óxido cúprico F.C.(73,00%)	-	-	-	-	73,00 ¹	-
Sulf. cobre F.C.(24,24%)	-	-	-	-	24,24 ¹	-
Sulf. cobre F.C.(23,61%)	-	-	-	-	23,61 ¹	-

1. Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia - ESAL.
2. Dados obtidos de ROSTAGNO et al. (1983).
3. Fosfato Monoamônio.
4. Milho e farelo de soja do Experimento 1.
5. Milho e farelo de soja do Experimento 2.

milho e farelo de soja (Quadro 2), contendo 9,54 ppm de cobre analisado, suplementadas com vitaminas e minerais a excessão do elemento (cobre). As exigências de microelementos foi de acordo com o NRC (1984) e os demais nutrientes equilibrados segundo as recomendações de ROSTAGNO et al. (1983).

QUADRO 2. Composição percentual da dieta basal.

Ingredientes	%
Milho	61,531
Farelo de soja	34,122
Calcário	2,144
DL metionina (98%)	0,145
Suplemento vitamínico ¹	0,100
Suplemento microminerais ²	0,100
Sal	0,390
M.A.P. ³	1,318
Caulin	0,150
Total	100,00
Composição:	
EM (kcal/kg)	2.882,604
Proteína bruta (%)	20,800
Metionina (%)	0,470
Metionina + cistina (%)	0,816
Lisina (%)	1,121
Cálcio (%)	0,950
Fósforo disponível (%)	0,420
Sódio (%)	0,390
Cobre analisado (ppm)	9,54

1. VACCINAR - 1 kg: Vit. A - 15.000.000 UI; Vit. D₃ - 2.000.000 UI; Vit. E - 20.000 UI; Vit. K₃ - 2 g; Vit. B₁ - 1 g; Vit. B₂ - 10 g; Ácido nicotínico - 40 g; Ácido pantotênico - 20 g; Vit. B₆ - 2 g; Vit. B₁₂ - 15,0 mg; Ácido fólico - 1 g; Biotina - 150 mg; Colina - 300 g; Vit. C - 50 g; BHT - 30 g.
2. Segundo NRC, conteúdo por kg: Mn = 60 g; Zn = 40 g; Fe = 80 g; I = 0,35 g; Se = 0,15 g e Co = 0,20 g.
3. O cobre suplementar foi adicionado retirando o peso equivalente do caulin.

3.2.2. Determinação da Biodisponibilidade de Cobre

Foram utilizados 600 pintos de corte machos de um dia de idade da linhagem Hubbard, distribuídos em 40 boxes de bateria de arame galvanizado com aquecimento, onde receberam 10 tratamentos com 4 repetições cada, durante 21 dias (período de 7 a 28 dias de idade das aves).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial $3 \times 3 + 1$ (níveis de suplementação Cu x fontes + nível zero de suplementação), com 4 repetições e 15 aves por unidade experimental.

Utilizou-se o sulfato de cobre P.A. (25,46%) como fonte padrão nos níveis 0, 100, 200 e 300 ppm de suplementação. As fontes comerciais avaliadas foram o sulfato de cobre F.C. (25,00%) e o óxido de cobre F.C. (73,00%), utilizando os níveis de suplementação de 100, 200 e 300 ppm.

3.3. Experimento 2: Biodisponibilidade de cobre de sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%)

3.3.1. Dieta Basal

A composição química dos ingredientes está apresentada no Quadro 1. As dietas experimentais foram formuladas à base de

milho e farelo de soja (Quadro 3), contendo 9,39 ppm de cobre analisado, suplementados com vitaminas e minerais a excessão do elemento (cobre). As exigências de microelementos foi de acordo com o NRC (1984) e os demais nutrientes equilibrados segundo as recomendações de ROSTAGNO et al. (1983).

3.3.2. Determinação da Biodisponibilidade de cobre

Foram utilizados 300 pintos de corte de um dia de idade, machos e fêmeas da linhagem Hubbard, alojados em 30 boxes de bateria de arame galvanizado, com aquecimento, onde receberam 10 tratamentos com 3 repetições cada, durante 23 dias (período de 5 a 28 dias de idade das aves). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 x 1 (níveis de suplementação de cobre x fontes x nível zero de suplementação), com 3 repetições e 10 aves por unidade experimental. Utilizou-se sulfato de cobre P.A. (25,46%) como fonte padrão nos níveis 0, 100, 200, 300 ppm de suplementação. As fontes comerciais avaliadas foram o sulfato de cobre F.C. (24,24%) e o sulfato de cobre F.C. (23,61%), utilizando os níveis de suplementação de 100, 200, 300 ppm.

QUADRO 3. Composição percentual da dieta basal.

Ingredientes	%
Milho	61,593
Farelo de soja	34,674
Calcário	0,903
DL metionina (98%)	0,139
Suplemento vitamínico ¹	0,100
Suplemento microminerais ²	0,100
Sal	0,385
Fosfato bicálcico	1,956
Caulin ³	0,150
Total	100,00
Composição:	
EM (kcal/kg)	2.895,620
Proteína bruta (%)	20,800
Metionina (%)	0,470
Metionina + cistina (%)	0,816
Lisina (%)	1,137
Cálcio (%)	1,137
Fósforo disponível (%)	0,950
Sódio (%)	0,150
Cobre analisado (ppm)	9,39
<ol style="list-style-type: none"> VACCINAR - 1 kg: Vit. A - 15.000.000 UI; Vit. D₃ - 2.000.000 UI; Vit. E - 20.000 UI; Vit. K₃ - 2 g; Vit. B₁ - 1 g; Vit. B₂ - 10 g; Ácido nicotínico - 40 g; Ácido pantotênico - 20 g; Vit. B₆ - 2 g; Vit. B₁₂ - 15,0 mg; Ácido fólico - 1 g; Biotina - 150 mg; Colina - 300 g; Vit. C - 50 g; BHT - 30 g. Segundo NRC, conteúdo por kg: Mn = 60 g; Zn = 40 g; Fe = 80 g; I = 0,35 g; Se = 0,15 g e Co = 0,20 g. O cobre suplementar foi adicionado retirando o peso equivalente do caulin. 	

3.4. Parâmetros avaliados

Para avaliação da biodisponibilidade de cobre para ambos experimentos foram utilizados a concentração do elemento nos tecidos (tíbia, fígado e soro sanguíneo) e os resultados de

desempenho (WATSON et al., 1970; SOUTHERN & BAKER, 1983b; BLACK et al., 1984a,b; HENRY et al., 1986 e 1987).

3.5. Manejo dos animais

Em ambos experimentos as aves foram mantidas em baterias metálicas com ambiente semi controlado. a iluminação do galpão foi constante (24 horas) e as aves tiveram acesso ao alimento e a água "ad libitum". Os grupos de aves de cada box foram pesados ao início e final de cada experimento. O peso médio de cada ave foi calculado dividindo-se o peso total pelo número de aves do box. A ração fornecida foi pesada assim como a sobra no final do experimento. O consumo médio de ração por ave foi calculado pela divisão do consumo total de ração do box pelo número de aves no box correspondente. A conversão alimentar foi estimada pela razão entre o consumo médio de ração e o peso médio das aves.

3.6. Análises químicas

Ao final dos experimentos, foram sacrificadas por deslocamento cervical ao acaso quatro aves de cada repetição, sendo retirados o fígado, a tíbia direita e o soro sanguíneo, para as análises químicas. Os fígados foram cortados em pequenos pedaços, desengordurados em extrator Soxhlet e posteriormente levados a estufa ventilada a 65°C por um período de 72 horas.

Após isto, os fígados foram triturados em moinho de aço, onde procedeu-se a secagem definitiva em estufa a 105°C por 24 horas. As cinzas foram determinadas de acordo com FICK et al., 1979. Os ossos livres de tecido muscular, foram mantidos em água destilada em ebulição por 10 minutos, com isso facilitando a remoção dos resíduos dos tecidos moles. Em seguida, foram levados à estufa de ventilação forçada (65°C) por 72 horas, desengordurados em extrator Soxhlet por 8 horas, posteriormente foram pesados em balança analítica e triturados em moinho de aço inoxidável. Procedeu-se então a secagem definitiva em estufa à 105°C por 24 horas. Para determinação das cinzas, o material triturado foi submetido à temperatura de 600°C por 6 horas (A.O.A.C., 1980). O sangue foi coletado em tubos de ensaio por punctura cardíaca anterior nas aves, onde após um período de coagulação, retirou-se o soro sanguíneo que foi centrifugado a 1500 rpm por 15 minutos. O cobre do fígado, ossos e soro sanguíneo foram analisados por espectrofotometria de absorção atômica em aparelho modelo Perkim-Elmer 5.000, sendo a quantidade de cobre no fígado, ossos e soro sanguíneo analisados na base da matéria seca das cinzas.

A solubilidade relativa das fontes foi determinada em água destilada, ácido clorídrico a 0,4% e ácido cítrico a 2,0%, acrescentando-se 100 ml de cada solução a 0,1 g dos produtos. O material foi mantido sob agitação constante durante uma hora, e então filtrado em papel filtro Whatman nº 42. O conteúdo de cobre da solução obtida foi comparado com a concentração total do mineral (WATSON et al., 1970).

3.7. Análises estatísticas

Os resultados de desempenho foram submetidos à análise de variância e regressão utilizando o pacote computacional SAEG, de acordo com EUCLYDES (1983).

Os dados referentes às concentrações de cobre nos tecidos que não obtiveram linearidade foram ajustados por transformação logarítmica. Foi utilizada a técnica de relação dos coeficientes (Slope-Ratio Assay) para determinação da biodisponibilidade relativa das fontes testadas através da regressão linear simples e múltipla, segundo FINNEY (1978). De acordo com este autor, a biodisponibilidade relativa é a quantidade do padrão a que equivale uma unidade da substância teste, podendo ser estimado pela razão dos coeficientes das equações de regressão:

$$\text{Biodisponibilidade relativa} = \frac{\text{Coeficientes do teste}}{\text{Coeficientes do padrão}} \times 100$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises químicas

Os resultados obtidos com a solubilidade das fontes testadas nos dois experimentos encontram-se no Quadro 4. A disponibilidade das fontes sulfato foram similares, embora superiores à fonte óxido. O sulfato de cobre F.C. (25,00%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%) tiveram solubilidade de 98,9%; 98,6% e 97,3%, respectivamente e o óxido de cobre F.C. (73,00%) foi relativamente insolúvel em água. Todas as fontes foram solúveis em HCl a 0,4% e em ácido cítrico a 2,0%, sendo que o óxido de cobre F.C. (73,00%) foi menos solúvel do que todas as fontes de sulfato de cobre. Esses resultados coincidem com os encontrados por NORVELL et al. (1974) e LEDOUX et al. (1991), provavelmente porque os solventes que foram utilizados para a determinação da solubilidade tinham a capacidade de simular os fluidos corporais dos animais. NORVELL et al. (1974) concluíram

QUADRO 4. características físicas e químicas das fontes de cobre.

Fonte	Aspecto físico	Solubilidade relativa % ^a		
		H ₂ O	0,4% HCl	2% Ác. cítrico
Sulfato 25%	Azul claro, cristais	98,9	96,92	100,00
Óxido 73%	Preto, pó fino	0,03	57,34	6,42
Sulfato 24,24%	Azul claro, cristais	98,6	96,8	100,00
Sulfato 23,61%	Azul claro, pó fino	97,3	96,8	100,00

a. Solubilidade relativa de 0,1 g em 100 ml de solvente em 37°C por 1 hora de agitação constante.

que o cobre do óxido, a diferença do acetato, sulfato e cloreto, não foi bem absorvido pelos frangos, passando diretamente pelo trato digestivo.

4.2. Experimento 1: Biodisponibilidade de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (25,00%) e óxido de cobre F.C. (73,00%).

4.2.1. Resultados de desempenho

Os resultados de desempenho das aves estão apresentados no Quadro 5. Não foram verificadas diferenças significativas (P 0.05) quanto a suplementação de cobre e fontes estudadas. Pesquisas realizadas (ZANETTI et al., 1991; BAKER et al., 1991 e LEDOUX et al., 1991) utilizando rações práticas, como no presente

QUADRO 5. Ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar das aves no período de 7 à 28 dias de idade, com níveis de suplementação de cobre e fontes.

Cobre (ppm)	Ganho de peso (g)				Consumo de ração (g)				Conversão alimentar			
	F ₁ *	F ₂ *	F ₃ *	\bar{x}	F ₁ *	F ₂ *	F ₃ *	\bar{x}	F ₁ *	F ₂ *	F ₃ *	Média
0	-	771	-	771	-	1400	-	1400	-	1,81	-	1,81
100	805	773	765	781	1446	1400	1361	1402	1,79	1,81	1,78	1,79
200	757	807	769	778	1365	1429	1410	1401	1,80	1,77	1,83	1,80
300	790	776	799	788	1380	1361	1439	1393	1,75	1,80	1,80	1,78
Média	781	782	776		1398	1398	1403		1,79	1,80	1,81	
CV (%)	6,435				5,599				4,515			

* F₁ - sulfato de cobre P.A. (25,46%); F₂ - sulfato de cobre F.C. (25,00%); F₃ - óxido de cobre F.C. (73,00%).

trabalho, também não foram observadas diferenças quanto à suplementação de cobre no desempenho. Esses autores comentam que as rações práticas possuem certas quantidades do microelemento cobre que contribui com parte das exigências, não afetando significativamente o desempenho das aves, isto pode ser atribuído ao fato dos trabalhos serem conduzidos em períodos curtos. No presente trabalho, a dieta basal continha 9,54 ppm de cobre analisado, valor acima das recomendações preconizadas pelo NRC (1984) que é de 8 ppm.

4.2.2. Concentração de cobre nos tecidos

Os resultados das concentrações de cobre nos tecidos, mostraram que para a tíbia não houve resposta para níveis e fontes de suplementação de cobre ($P = 0,05$) (Quadro 6). LEDOUX et al. (1991) utilizando as fontes Acetado, Óxido, carbonato e sulfato nos níveis de 150, 300 e 400 ppm, verificaram ligeiro aumento na concentração de cobre da tíbia nos níveis 150 e 300 ppm de suplementação, mas as fontes estudadas não afetaram a concentração de cobre nos ossos.

QUADRO 6. Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento na tíbia de frangos de corte.

Níveis de suplementação de cobre, ppm	FONTES ¹			Média
	Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	Sulfato de cobre F.C. (25,00%)	Óxido de cobre F.C. (73,00%)	
0	27,7250	27,7250	27,7250	27,7250
100	28,2975	26,3450	28,5100	27,7175
200	25,9525	28,3400	27,4400	27,2442
300	28,2250	28,3550	28,8450	28,4750
Média	27,5500	27,6913	28,1300	
C.V. (%)		9,98		

1. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

As concentrações de cobre no sôro com níveis e fontes de suplementação apresentaram efeitos significativos (P 0,01) (Quadro 7), embora esses resultados não tenham sido um bom reflexo da porcentagem absorvida. Isto pode ser atribuído ao fato do nível de cobre no sangue ser controlado pelo conteúdo de cobre do fígado.

As concentrações de cobre no fígado foram afetadas pelos níveis e fontes de suplementação (P 0,01). Pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade as fontes sulfato foram melhor absorvidas

QUADRO 7. Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no soro sanguíneo de frangos de corte.

Níveis de suplementação de cobre, ppm	FONTES ²			Média ¹
	Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	Sulfato de cobre F.C. (25,00%)	Óxido de cobre F.C. (73,00%)	
0	0,1170	0,1170	0,1170	0,1170 b
100	0,1958	0,1940	0,1830	0,1909 a
200	0,1983	0,2125	0,1475	0,1861 a
300	0,2030	0,2388	0,1703	0,2040 a
Média	0,1785 A	0,1906 A	0,1544 A	
C.V. (%)	7,28			

1. Médias seguidas por letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas são estatisticamente desiguais pelo teste de Tukey (P 0,05).

2. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

do que a fonte Óxido (Quadro 8). Não houve interação fonte x nível ($P = 0,05$), concordando com os resultados encontrados por ZANETTI et al. (1991).

QUADRO 8. Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no fígado de frangos de corte.

Níveis de suplementação de cobre, ppm	FONTES ²			Média ¹
	Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	Sulfato de cobre F.C. (25,00%)	Óxido de cobre F.C. (73,00%)	
0	24,1325	24,1325	24,1325	24,1325 c
100	32,7350	29,2450	23,9675	28,6492 bc
200	34,5700	33,9625	26,5350	31,6892 ab
300	36,4150	36,1250	31,4175	34,6525 a
Média	31,9631 A	30,8663 A	26,5131 B	
C.V. (%)	12,25			

1. Médias seguidas por letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas são estatisticamente desiguais pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).
2. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

As regressões obtidas com os dados transformados (log) para as concentrações de cobre no fígado em relação aos níveis de cobre ingeridos, tiveram aumento linear (Quadro 9 e Figura 1). Esses resultados concordam com os estudos de JENSEN & MAURICE (1979) e LEDOUX et al. (1989b, 1991), que observaram a grande afinidade demonstrada pelo fígado em relação ao cobre, indicando

QUADRO 9. Equação de regressão linear da concentração de cobre no fígado para as fontes e níveis do elemento na dieta.

Fonte ¹	Equação de regressão ²	Coefficiente de determinação R ²
Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	$Y = 1,4136 + 0,0005543x$	0,56
Sulfato de cobre F.C. (25,00%)	$Y = 1,3922 + 0,0005963x$	0,59
Óxido de cobre F.C. (73,00%)	$Y = 1,3623 + 0,0003854x$	0,38

1. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.
2. Y é igual à concentração de cobre no fígado e x é igual aos níveis de cobre em ppm na dieta.

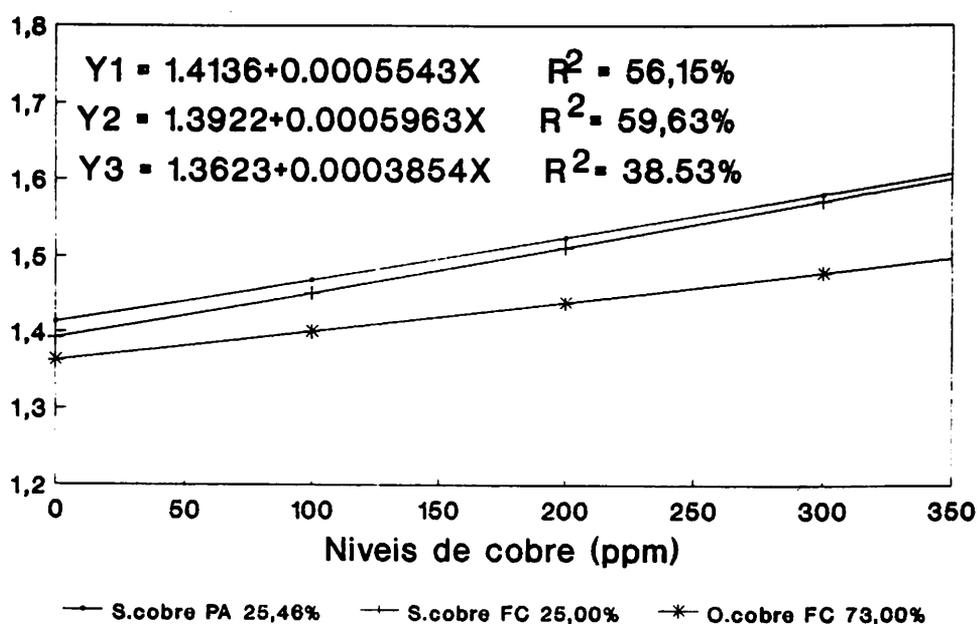


FIGURA 1. Conteúdo de cobre do fígado em função dos níveis de cobre ingeridos.

que foi o tecido mais sensível para se estimar a biodisponibilidade.

A análise da regressão linear múltipla da concentração de cobre no fígado com níveis e fontes de cobre nas dietas forneceu a seguinte equação:

$$Y = 29,7808 + 0,03868 x + 0,040695 x^2 + 0,02442 x^3 \quad R^2 = 0,51$$

onde:

- Y = concentração de cobre no fígado (ppm);
- x_1 = ppm de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%);
- x_2 = ppm de cobre do sulfato de cobre F.C. (25,00%);
- x_3 = ppm de cobre do óxido de cobre F.C. (73,00%).

A biodisponibilidade relativa do cobre foi calculada baseando-se no coeficiente de regressão linear e regressão linear múltipla (Quadro 10). A proporção de coeficientes de regressão foi calculado com o sulfato de cobre P.A. (25,46%) tomado como o padrão e fixado a 100%. A biodisponibilidade relativa foi estimada em 108% e 70% para o sulfato de cobre F.C. (25,00%) e óxido de cobre F.C. (73,00%), respectivamente, concordando com os resultados encontrados por BAKER et al. (1991) quando avaliaram a biodisponibilidade de cobre utilizando fontes de óxido de cobre em relação ao sulfato de cobre P.A. usado como padrão de referência sendo os valores encontrados de 115,%; 92,5% e -1,7% para complexo cobre-lisina, óxido de cobre (Cu_2O) e óxido de cobre (CuO), respectivamente. Essas determinações se equiparam aos resultados citados por LEDOUX et al. (1991) quando estimaram

a biodisponibilidade de cobre com várias fontes e alta suplementação deste mineral, utilizando também o fígado como o tecido de mais afinidade pelo cobre, onde os resultados obtidos foram 88,5%; 54,3% e 0,54% para sulfato de cobre F.C. (25,1%), carbonato de cobre F.C. (54,6%) e óxido de cobre F.C. (74,1%) (CuO), respectivamente. Da mesma forma AOYAGI & BAKER (1993) encontraram os seguintes valores 97,9%; 93,5%; 112,9%, 142,5% para óxido de cobre (Cu₂O), sulfato, carbonato e cloreto, respectivamente.

QUADRO 10. Biodisponibilidade relativa estimada no fígado, do sulfato e óxido de cobre para frangos de corte dos 7 aos 28 dias de idade.

Fonte	Coefficiente de regressão linear	Valor relativo (%)	Coefficiente de regressão múltipla	Valor relativo (%)
Sulfato P.A. (25,46%)	0,0005543	100	0,03868	100
Sulfato de cobre F.C. (25,00%)	0,0005963	107,58	0,040695	105,21
Óxido de cobre F.C. (73,00%)	0,0003854	69,53	0,02442	63,13

4.3. Experimento 2: Biodisponibilidade de cobre do sulfato de cobre P.A. (25,46%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%).

4.3.1. Resultados e desempenho

Analisando os resultados de desempenho (Quadro 11), verificou-se que para o ganho de peso e consumo de ração não houve diferenças significativas ($P = 0,05$) para fontes e níveis de suplementação de cobre. Os dados obtidos com a conversão alimentar diferiram significativamente ($P = 0,01$) entre as fontes, sendo estatisticamente iguais para todos os níveis de suplementação. Pesquisas realizadas utilizando rações práticas (ZANETTI et al., 1991; BAKER et al., 1991 e LEDOUX et al., 1991) não foram observadas diferenças significativas no desempenho das aves quanto aos níveis de suplementação de cobre e fontes ($P = 0,05$). Já AOYAGI & BAKER (1993) observaram um aumento no ganho de peso e consumo de ração com a suplementação de todas as fontes F.C. testadas.

A dieta basal continha 9,38 ppm de cobre analisado, valor acima das recomendações preconizadas pelo NRC (1984) que é de 8 ppm, não afetando significativamente o desempenho das aves. Isso pode ser atribuído ao fato do experimento ter sido conduzido em um curto período de tempo.

QUADRO 11. Ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar das aves no período de 5 à 28 dias de idade, com níveis de suplementação de cobre e fontes.

Cobre (ppm)	Ganho peso (g)				Consumo ração (g)				Conversão alimentar			
	F ₁ * F ₁	F ₂ * F ₂	F ₃ * F ₃	Média	F ₁ * F ₁	F ₂ * F ₂	F ₃ * F ₃	Média	F ₁ * F ₁	F ₂ * F ₂	F ₃ * F ₃	Média
0	-	847	-	847 ^a	-	1,423	-	1,423 ^a	-	1,68	-	1,68 ^a
100	850	866	876	864 ^a	1,426	1,484	1,467	1,459 ^a	1,68	1,72	1,68	1,69 ^a
200	823	799	848	823 ^a	1,388	1,415	1,486	1,430 ^a	1,69	1,77	1,75	1,74 ^a
300	849	781	805	811 ^a	1,325	1,375	1,428	1,376 ^a	1,56	1,76	1,78	1,70 ^a
Média	842 ^A	824 ^A	844 ^A		1,390 ^A	1,424 ^A	1,451 ^A		1,65 ^A	1,73 ^B	1,72 ^B	
CV (%)	4,978				5,115				3,798			

F₁ = sulfato de cobre P.A. (25,46%); F₂ = sulfato de cobre F.C. (24,24%); F₃ = sulfato de cobre F.C. (23,61%).

1. Médias seguidas por letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas são estatisticamente desiguais pelo teste de Tukey (P 0,05).

4.3.2. Concentração de cobre nos tecidos

Os resultados das concentrações de cobre nos tecidos, mostraram que para a tíbia não houve diferenças significativas (P 0,0%) tanto para fontes como para níveis de suplementação (Quadro 12), resultados semelhantes aos encontrados no experimento 1.

A análise do soro sanguíneo (Quadro 13), neste experimento, verificou-se diferenças significativas (P 0,01) para os níveis, onde ocorreu linearidade de acordo com os níveis de suplementação de cobre, embora não se tenha observado diferenças (P 0,05) para as fontes estudadas. De acordo com MILLER (1981), o sangue é

QUADRO 12. Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento na tibia de frangos de corte.

Níveis de suplementação de cobre, ppm	FONTES ²			Média ¹
	Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	Sulfato de cobre F.C. (24,24%)	Sulfato de cobre F.C. (23,61%)	
0	17,8750	17,8750	17,8750	17,8750 b
100	26,3900	30,1050	19,9200	25,4717 ab
200	39,9800	30,5850	21,2000	30,5883 a
300	15,5700	34,4250	24,1100	24,7017 ab
Média	24,9538 AB	28,2475 A	20,7763 B	
C.V. (%)	18,39			

1. Médias seguidas por letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas são estatisticamente desiguais pelo teste de Tukey (P 0,05).
2. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

QUADRO 13. Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no soro sanguíneo de frangos de corte.

Níveis de suplementação de cobre, ppm	FONTES ²			Média ¹
	Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	Sulfato de cobre F.C. (24,24%)	Sulfato de cobre F.C. (23,61%)	
0	0,2895	0,2895	0,2895	0,2895 c
100	0,3340	0,3485	0,3585	0,3469 c
200	0,5790	0,5200	0,4170	0,5056 b
300	0,8100	0,5010	0,6575	0,6561 a
Média	0,5731 A	0,4148 A	0,4307 A	
C.V. (%)	17,91			

1. Médias seguidas por letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas são estatisticamente desiguais pelo teste de Tukey (P 0,05).
2. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

facilmente amostrado, mas as concentrações de sangue frequentemente não são um bom reflexo da porcentagem absorvida.

Todos os níveis e fontes de cobre suplementar aumentaram acentuadamente o teor de cobre do fígado ($P = 0,01$). Pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade a fonte sulfato P.A. (25,46%) foi superior as duas fontes comerciais, já a fonte sulfato de cobre F.C. (24,24%) foi melhor absorvida do que a fonte sulfato de cobre F.C. (23,61%) (Quadro 14). Segundo GOIHL (1990, 1991), as fontes sulfato são processadas diferentemente nas indústrias, resultando em composições químicas diferentes, e conseqüentemente valores de biodisponibilidade distintos. Esses resultados

QUADRO 14. Efeito das fontes e níveis de cobre na concentração do elemento no fígado de frangos de corte.

Níveis de suplementação de cobre, ppm	FONTES ²			Média ¹	
	Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	Sulfato de cobre F.C. (24,24%)	Sulfato de cobre F.C. (23,61%)		
0	22,0550	22,0550	22,0550	22,0550	C
100	34,6400	24,2800	19,3550	26,0917	B
200	35,3000	36,0400	31,3750	34,2383	A
300	35,4300	35,4350	35,3650	35,4100	A
Média	31,8563 A	29,4525 B	27,0375 C		
C.V. (%)	4,25				

1. Médias seguidas por letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas são estatisticamente desiguais pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).
2. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

confirmam as afirmações feitas anteriormente de que o fígado é o tecido principal para armazenagem de cobre.

As regressões obtidas com os dados transformados (log) para as concentrações de cobre no fígado em relação aos níveis de cobre ingeridos, tiveram aumento linear (Quadro 15, Figura 2). Esses resultados concordam com os de JENSEN & MAURICE (1979) e LEDOUX et al. (1989b, 1991).

QUADRO 15. Equação de regressão linear da concentração de cobre no fígado para as fontes e níveis do elemento na dieta.

Fonte ¹	Equação de regressão ²	Coefficiente de determinação R ²
Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	$Y = 1,29423 + 0,0008287x$	0,73
Sulfato de cobre F.C. (24,24%)	$Y = 1,3395 + 0,0007931x$	0,83
Sulfato de cobre F.C. (23,61%)	$Y = 1,4003 + 0,0006296x$	0,62

1. P.A. representa a fonte pura para análise e F.C. representa as fontes comerciais.

2. Y é igual à concentração de cobre no fígado e x é igual aos níveis de cobre em ppm na dieta.

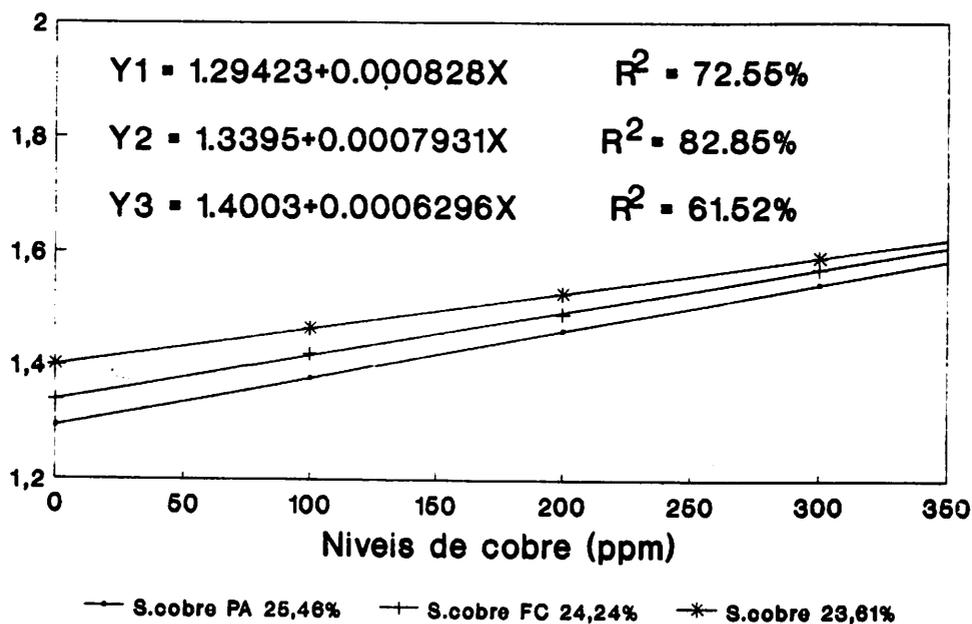


FIGURA 2. Conteúdo de cobre do fígado em função dos níveis de cobre ingeridos.

A análise de regressão linear múltipla da concentração de cobre no fígado com níveis e fontes de cobre nas dietas forneceu a seguinte equação:

$$Y = 5,39 + 0,000819 x_1 + 0,000656 x_2 + 0,000587 x_3; R^2 = 0,73$$

onde:

Y = concentração de cobre no fígado (ppm);

x_1 = ppm de cobre no sulfato de cobre P.A. (25,46%);

x_2 = ppm de cobre no sulfato de cobre F.C. (24,24%);

x_3 = ppm de cobre no sulfato de cobre F.C. (23,61%). A

biodisponibilidade relativa de cobre foi calculada baseando-se no coeficiente de regressão linear e regressão linear múltipla (Quadro 16). A proporção de coeficientes de regressão foi calculado com o sulfato de cobre P.A. (25,46%) tomado como o padrão e fixado a 100%. A biodisponibilidade relativa foi estimada em 96,0% e 76% para o sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%), respectivamente, concordando com os resultados obtidos por LEDOUX et al. (1991) que encontraram 88,5% de biodisponibilidade para a fonte sulfato de cobre F.C. (25,1%) e com os de AOAGI & BAKER (1993) que encontrou valores de 97,9% de biodisponibilidade para a fonte sulfato.

QUADRO 16. Biodisponibilidade relativa estimada no fígado, do sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%) para frangos de corte dos 5 aos 28 dias de idade.

Fonte	Coefficiente de regressão linear	Valor relativo (%)	Coefficiente de regressão múltipla	Valor relativo (%)
Sulfato de cobre P.A. (25,46%)	0,0008287	100	0,000819	100
Sulfato de cobre F.C. (24,24%)	0,0007931	95,70	0,000656	80,10
Sulfato de cobre F.C. (23,61%)	0,0006296	75,97	0,000587	71,67

5. CONCLUSÕES

1 - As fontes de cobre não afetaram o desempenho das aves, com exceção da fonte sulfato de cobre PA, que apresentou melhor conversão alimentar no 2º experimento.

2 - A concentração de cobre no fígado foi o parâmetro mais adequado na estimativa da biodisponibilidade deste elemento.

3 - A biodisponibilidade variou entre as diferentes fontes. Considerando o sulfato de cobre P.A. 100% biodisponível e comparando os coeficiente de regressão linear, regressão linear múltipla, encontrou-se os valores de 108, 70, 96 e 76% para as fontes sulfato de cobre F.C. (25,00), óxido de cobre F.C. (73,00%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%), respectivamente.

4 - A biodisponibilidade relativa do óxido de cobre foi inferior às formas sulfato.

5 - O teste de solubilidade do cobre em água tiveram os seguintes resultados 98,9%, 98,6% e 97,3% para o sulfato de cobre F.C. (25,00%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%), respectivamente; enquanto que o óxido de F.C. (73,00%) foi relativamente insolúvel. Todas as fontes sulfato foram solúveis em HCl 0,4% e em Ác. Cítrico 2,0%, sendo que o óxido de cobre foi menos solúvel.

6 - A disponibilidade das fontes sulfato foram similares, embora superiores à fonte óxido.

6. RESUMO

Foram realizados dois experimentos objetivando estudar a biodisponibilidade de cobre de fontes comerciais para frangos de corte na fase inicial.

Utilizaram-se pintos de 1 dia Hubbard, sendo 600 machos para o 1º experimento e 300 de ambos os sexos para o 2º experimento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial $3 \times 3 + 1$ (níveis de suplementação de cobre x fontes + nível zero de suplementação), com 4 repetições e 15 aves por unidade experimental para o 1º experimento, e, 3 repetições e 10 aves por unidade experimental para o 2º experimento.

As dietas experimentais foram formuladas a base de milho e farelo de soja contendo 9,54 e 9,35 ppm de cobre analisado para os experimentos 1 e 2 respectivamente. Utilizou-se o sulfato de cobre P.A. (25,46%) como fonte padrão para ambos experimentos. As fontes comerciais avaliadas foram o sulfato de cobre F.C. (25,00%)

e óxido de cobre F.C. (73,00%) no experimento 1, e, sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%) no experimento 2. Os níveis de suplementação foram 0, 100, 200 e 300 ppm para ambos experimentos.

Não foram observadas diferenças significativas ($P = 0,05$) quanto aos níveis e fontes de suplementação de cobre no desempenho das aves no 1º experimento. Resultados semelhantes foram encontrados no 2º experimento, sendo que apenas os dados para a conversão alimentar diferiram significativamente ($P = 0,01$) entre as fontes, onde a fonte sulfato de cobre P.A., se mostrou superior as fontes comerciais.

A análise da deposição de cobre nos tecidos, em ambos experimentos, evidenciou efeitos significativos ($P = 0,01$) para o fígado e sôro, sendo que para a tíbia não houve resposta ($P = 0,05$).

Os valores de biodisponibilidade relativa das fontes foi de 108% e 70% do sulfato de cobre F.C. (25,00%) e óxido de cobre F.C. (73,00%) no 1º experimento, e, 96% e 76% para as fontes sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre (23,61%) em relação ao sulfato P.A. para ambos experimentos.

As concentrações de cobre nos tecidos indicaram que o fígado foi o tecido mais sensível para se estimar a biodisponibilidade. Esta afinidade demonstrada pelo fígado em relação ao cobre, confirma seu papel de principal órgão armazenador deste microelemento no organismo.

A disponibilidade das formas sulfato de cobre foram superiores à forma óxido de cobre, sendo as solubilidades encontradas de 98,9%, 98,6%, 97,3% para as fontes sulfato de cobre F.C. (25,00%), sulfato de cobre F.C. (24,24%) e sulfato de cobre F.C. (23,61%), respectivamente, enquanto o óxido de cobre F.C (73,00%) foi relativamente insolúvel em água.

7. SUMMARY

BIOAVAILABILITY OF Cu FROM SEVERAL COMMERCIAL SOURCES FOR BROILER CHICKS AT THE STARTING PHASE

Two experiments were undertaken aiming to investigate the Cu bioavailability from commercial sources for broiler chicks at the starting phase.

Hubbard one-day old chicks were utilized, being 600 males for the first experiment and 300 of both sexes for the second experiment. The experimental design utilized was the completely randomized, in a factorial scheme $3 \times 3 + 1$ (levels of Cu supplementation \times sources + zero level of supplementation), with 4 replications and 15 birds per experimental unit for the first experiment and 3 replications and 10 birds per experimental unit for the second experiment.

The experimental diets were formulated on the basis of corn and soybean meal containing 9.54 and 9.35 ppm of analysed copper

for experiment 1 and 2, respectively. Analytical grade (AG) copper sulphate (25.46%) was used as a standard source for both experiments. The commercial sources evaluated were F.G. copper sulphate (25.00 %) and F.G. copper oxide (73.00%) in experiment 1, and F.G copper sulphate 1 (24.24%) and F.G copper sulphate 2 (23.61%) in experiment 2. The levels of supplementation were 0, 100, 200 and 300 ppm for both experiments.

No significant differences were observed ($P > 0.05$) as regards both levels and sources of copper supplementation on the performance of the birds in the first experiment. Similar results were found in the 2nd experiment, being that only the data for feed conversion differed significantly ($P < 0.01$) among the sources, where AG copper sulphate proved to be superior to commercial sources.

Analysis of copper deposition in the tissues, in both experiments, pointed out significant effects ($P < 0.01$) for the liver and serum, being that for the tibia, there was not any responses ($P > 0.05$).

The values of relative bioavailability of the sources was of 108% and 70% of F.G. copper sulphate (25.00%) and F.G. copper oxide (73.00%) in the first experiment and 96.00% and 76.00% for the sources of F.G. copper sulphate (24.24) and F.G. copper sulphate (23.61%) in respect to AG sulphate for both experiments.

Copper concentrations in tissues pointed out that the liver was the most sensible to assess bioavailability. This relationship

displayed by the liver respecting copper, supports its role as the chief organ storing this microelement in the organism.

The availability of copper sulphate forms were superior to copper oxide forms, being the solubilities found of 98.9%, 98.6%, 97.3%, for the of copper sulphate F.G. (25.00%), copper sulphate F.G. (24.24%) and copper sulphate F.G. (23.61%) respectively, while copper oxide F.G. (73.00%) was relatively water-insoluble.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMMERMAN, C.B. & MILLER, S.M. Biological availability of minor mineral ion: a review. *Journal of Animal Science*, Champaign, 35(3):681-94, Sept. 1972.
2. AOYAGI, S. & BAKER, D.H. Bioavailability of copper in analytical-grade and feed-grade inorganic copper sources when fed to provide copper at levels below the chick's requirement. *Poultry Science*, Champaign, 72:1075-83, 1993.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL OF ANALYSIS. *Official methods of analysis*. 13th. Ed. Arlington, 1980. 1015p.

4. BAKER, D.H.; ODLE, J.; FUNK, M.A. & WIELAND, T.M. Research note bioavailability of copper in cupric oxide, cuprous oxide, and in a copper-lysine complex. *Poultry Science*, Champaign, 70(1):177-9, Jan. 1991.
5. BARBER, R.S.; BOWLAND, J.P.; BRAUDE, R.; MITCHELL, K.G. & PORTER, J.W.G. Copper sulphate and copper sulphide (CuS) as supplements for growing pigs. *British Journal of Nutrition*, London, 15:189, 1961.
6. BLACK, J.R.; AMMERMAN, C.B.; HENRY, P.A. & MILLES, R.D. Biological availability of manganese sources and effects of high dietary manganese on tissue mineral composition of broiler-type chicks. *Poultry Science*, Champaign, 63(10):1999-2006, Oct. 1984b.
7. _____; _____; _____ & _____. Tissue manganese uptake as a measure of manganese bioavailability. *Nutrition Reports International*, Los Altos, 29:807-14, 1984a.
8. BOND, P.L.; SULLIVAN, T.W.; DOUGLAS, J.H. & ROBERSON, L.G. Influence of age, sex, and method of rearing on tibia length and mineral deposition in broilers. *Poultry Science*, Champaign, 70(9):1936-42, Sept. 1991.

9. BOWLAND, J.P.; BRAUDE, R.; CHAMBERLAIN, A.G.; GLASCOCK, R.F. & MITCHELL, K.G. The absorption, distribution and excretion of labelled copper in young pigs given different quantities, as sulphate or sulphide, orally or intravenously. **British Journal of Nutrition**, London, 15:59-72, 1961.
10. BREMNER, I.; HOEKSTRA, W.G.; DAVIES, N.T. & YOUNG, B.W. Effect of zinc status on rats on the synthesis and degradation of copper-induced metallothioneins. **Biochemical Journal**, London, 174:883-92, 1978.
11. BUNCH, R.J.; SEER, V.C.; HAYS, V.W. & MCCALL, J.T. Effect of high levels of copper and chlortetracycline on performance of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, 22(1):56-60, Feb. 1963.
12. CARTWRIGHT, G.E. & WINTROBE, M.M. Copper metabolism in normal subjects. **American Journal Clinical Nutrition**, New York, 14:244-47. 1964.
13. CHANG, I.C.; LEE, T.P. & MATRONE, G. Development of uruloplasmine in pigs during the neonatal period. **Journal of Nutrition**, Bethesda, 105:624-30, 1975.

14. CHAPMAN, H.L.J.R. & BELL, M.C. Relative absorption and excretion by beef cattle of copper from various sources. *Journal of Animal Science*, Champaign, 22(1):82, Feb. 1963.
15. CROMWELL, G.L.; STAHLY, T.S. & MONEGUE, H.J. Effects of source and level of copper on performance and live copper stores in weanling pigs. *Journal of Animal Science*, Champaign, 67(11):2996-3002, Nov. 1989.
16. CZARNECKI, G.L.; EDMONDS, M.S.; IZQUIERDO, O.A. & BAKER, D.H. Effect of 3-nitro-4-hydroxyphenylarsonic acid on copper utilization by the pig, rat and chick. *Journal of Animal Science*, Champaign, 59(4):977-1002, Oct. 1984.
17. DAVIS, G.K. & MERTZ, W. Copper. In: Mertz, W., ed. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. New York, Academic Press, 1987. V.1. p.301-64.
18. DICK, A.T. Molybdenum in animal nutrition. *Soil Science*, Maryland, 81:229-36, Jan. 1956.
19. EUCLYDES, R.F. *Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas)*. Viçosa, UFV, 1983. 59p.

20. EVANS, G.W. Copper homeostatis in the mammalian system. **Physiological Review**, Bethesda, 53:535-70, 1973.
21. _____ & CORNATZER, W.E. Biliary copper excretion in the rat. **Proceeding of the Society for Experimental Biologie and Medicine**, New York, 136:719-21, 1971.
22. FARRER, P. & MISTILIS, S.P. Absorption of exogenous and endogenous biliary copper in the rat. **Nature**, London, 213(5073):291-2, Jan. 1967.
23. FICK, K.R.; McDOWELL, L.A.; MILLES, P.H.; WILKINSON, N.S.; FUNK, J.D. & CONRAD, J.H. **Methods of mineral analysis for plant and animal tissues**. 2.ed. Gainesville, 1979. 3261p.
24. FINNEY, D.J. **Statistical method in biological assay**. 3.ed. London, Bucks Charles Griffin & Company, 1978.
25. FLANAGAN, P.R.; HAIST, J. & VALBERG, L.S. Comparative effects of iron deficiency induced by bleeding and a low-iron diet on the intertinal absorptive interactions of iron, cobalt, manganese, zinc lead, and cadmium. **Journal of Nutrition**, Bethesda, 110(10):1754-63, Sept. 1980.

26. FUNK, M.A. & BAKER, D.H. Toxicity and tissue accumulation of copper in chicks fed casein and soy-based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, 69(11):4505-11, Nov. 1991.
27. GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N. & SAMOKHIN, V.I. **Mineral Nutrition of Animals**. London, Butlerworths, 1982. 475p.
28. GOIHL, J.H. Copper from oxide, sulfate forms differs in availability. **Feedstuffs**, Mineapolis, 62(3):13-4, Jan. 1990.
29. _____. Estimation of copper bioavailability from inorganic sources examined. **Feedstuffs**, Mineapolis, 63(10):10, Mar. 1991.
30. HART, E.B.; STENBOCK, H.; WADDELL, J. & ELVEHJEM, C.A. Iron in nutrition. VII Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, 77:797-12, 1928.
31. HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. & MILES, R.D. Bioavailability of manganese monoxide and manganese oxide for broiler chicks. **Nutrition Reports International**, Los Altos, 36:425-33, 1987.

32. HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. & MILES, R.D. Bioavailability of manganese sulfate and manganese monoxide in chicks as measured by tissue uptake of manganese from conventional dietary levels. *Poultry Science*, Champaign, 65(5):983-6, May. 1986.
33. HOLTZMAN, N.A. & GAUMNITZ, B.M. Studies in the rate of release and turnover of uruloplasmin and apouruloplasmin in rat plasma. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, 245:2354-8, 1970.
34. JENSEN, L.S. & MAURICE, D.V. Influence of sulfur amino acids on copper toxicity in chicks. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 109(1):91, Jan. 1979.
35. _____; PETERSON, R.P. and FLEN, L. Inducement of enlarged hearts and muscular dystrophy in turkey poult with dietary silver. *Poultry Science*, Champaign, 53(1):57-64, Jan. 1974.
36. LAHEY, M.E.; GUBLER, C.J.; CHASE, M.S.; CARTWRIGHT, G.E. & WINTROBE, M.M. Studies on copper metabolism. Hematologic Manifestations of Copper Deficiency in Suline. *Blood*, New York, 7:1053, 1952

37. LASSITER, J.W. & BELL, M.C. Availability of copper to sheep from Cu-64 labeled inorganic compounds. *Journal of Animal Science*, Champaign, 19:754-62, 1960.
38. LEDOUX, D.R.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. & MILES, R.D. Effect of dietary copper and age on tissue mineral composition of broiler-type chicks as a bioassay of inorganic copper sources. *Nutrition Reports International*, Los Altos, 40:53, 1989a.
39. _____; _____; _____ & _____. Effect of dietary copper on tissue mineral composition as an estimate of copper bioavailability in broiler chicks. *Nutrition Reports International*, Los Altos, 39:1117-26, 1989b.
40. LEDOUX, D.R.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. ; RAO, P.V. & MILES, R.D. Estimation of the relative bioavailability of inorganic copper sources for chicks using tissue uptake of copper. *Journal of Animal Science*, Champaign, 69(1):215-22, Jan. 1991.
41. MAAS, A.R.; MICHAUD, L.; SPECTOR, H. and ELVEHJEN, C.A. The relation ship of copper to hematopoiesis in experimental hemorrhagic Anemia. *American Journal Physiology*, Bethesda, 141:322, 1944.

42. MCNAUGHTON, J.L.; DAY, E.J. & DILWORTH, B.C. Iron and copper availability from various sources. *Poultry Science*, Champaign, 53(4):1325-30, July. 1974.
43. MARCEAU, N.; ASPIN, N. & SASS-KORTSAK, A. Absorption of copper-64 from the gastrointestinal tract of the rat. *American Journal of Physiology*, Bethesda, 218:377-83, 1970.
44. MARKOWITZ, H.; GUBLER, C.J. MAHONEY, J.P.; CARTWRIGHT, G.E. & WINTROBE, M.M. Studies on copper metabolism. XIV. Copper, ceruloplasmin and oxidase activity in sera of normal human subjects pregnant women patients with infection, hepatolenticular degeneration and nephrotic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, Baltimore, 34:1498-508, 1955.
45. MAYNARD, A.B.; LOOSLI, B.S.; HINTZ, H.F. & WARNER, B.S. *Nutrição Animal*, 3. ed. Rio de Janeiro, 1984. 736p.
46. MILLER, E.R. Techniques for determining bioavailability of trace elements. In: *Proceeding of the Sixth Annual International Minerals Conference*. Mendeleev, Sponsored by International Minerals & Chemical Corporation, 1983a. p.23-39.

47. MILLER, R.V. & ENGEL, R.W. Interrelation of copper, molybdenum and sulfate sulfur in nutrition. **Federation Proceedings**, Baltimore, 19:666-71, 1960.
48. MILLER, W.J. Biological availability of trace mineral elements. In: _____. **Proceeding Nutrition Institute Minerals National Feed Ingredients Assoc.** IOWA, 1983b. p.1-22.
49. _____. Biological value of different sources of inorganic trace elements. **Feedstuffs**, Mineapolis, 53(13):20, Mar. 1981.
50. MILLS, C.F. & WILLIAMS, R.B. Problems in the deterioration of the trace element requirements of animals. **Proceeding of the Nutrition Society**, London, 30:83-91, 1971.
51. MILNE, D.B. & WESWIG, P.H. effect of supplementary copper on blood and liver copper-containing fractions in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, 95(3):429-33, July. 1968.
52. MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Bioquímica da HARPER**. 12.ed. México, Manual Moderno, 1992. 740p.

53. NEDERBRAGT, H. The influence of molybdenum of the copper metabolism of the rat at different Cu levels of the diet. *British Journal of Nutrition*, London, 43(2):329-38, Mar. 1980.
54. NELSON, J.D. Tracing quality, microscopic examination of trace mineral ingredients and premixes. Part I. *Feed management*, Sea Isle City, 33(5):54, 56, 58 e 60, May 1982a.
55. _____. Tracing quality, microscopic examination of trace mineral ingredients and premixes. Part II. *Feed Management*, Sea Isle City, 6(6):7, 8, 10 e 12, June. 1982b.
56. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Mineral tolerance of domestic animals*. Washington, DC, National Academy Press. 1980. 577p.
57. _____. *Nutrient requirements of poultry*. 8.ed. Washington, DC, National Academy of Science, 1984. 71p. (Nutrient Requirements of Domestic Animals).

58. NORVELL, M.J.; THOMAS, M.C.; GOATCHER, W.D.; GABLE, D.A. & CALVERT, C.C. Some effects of high dietary levels of various salts of cooper in broiler chicks. In: _____. HEMPHILL, D.D., ed. Trace substance in environmental health. Columbia, University of Missouri Press, V.8, 1974. p.367-78.
59. O'DELL, B.L.; BIRD, D.W.; RUGGLES, D.L. and SAVAGE, J.E. Composition of aortic tissue from coper-deficient chicks. Journal of Nutrition, Bethesda, 88(1):9-14. Jan. 1966.
60. OWEN, C.A.J.R. & HAZELRIG, J.B. Metabolizer of Cu⁶⁴ labelled copper by the isolated rat liver. American Journal of Physiology, Bethesda, 210:1059-64. 1966.
61. PETERSON, R.P. & JENSEN, L.S. Interrelationship of dietary silver witch copper in the chick. Poutry Science, Champaing, 54(3):771-75, May. 1975.
62. PORTER, H. The particular half-cystina rich copper protein of newborn liver. Relationship to metallothionein and subcellular localization in non-mitochondrial particles possibly represent-ing heavy lysosomes. Biochemical and Biophysical Research Communications, New York, 56:661-68, 1974.

63. ROSTAGNO, H.S.; SILVA, D.J.; COSTA, P.M.A.; FONSECA, J.B.; SOARES, P.R.; PERGIRA, J.A.A. & SILVA, M.A. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos (tabelas brasileiras)**. Viçosa, UFV, 1983. 61p.
64. RUCKER, R.B.; RIGGINS, R.S.; ALUGHLIN, R.; CHAN, M.M. CHEN, M. and TOM, K. Effects of Nutritional Copper Deficiency on the Biomechanical Properties of Bone and Arterial Elastiss Metabolism in the Chick. **Journal of Nutrition**, 105:1062-70, 1975.
65. SAVAGE, J.E. Trace minerals and aviam reproduction. **Federation Proceedings. Federation of American Societies Experimental Biology**, Baltimore, 27:927-31, 1968.
66. SCHULTZE, M.O.; EVEHLEN, C.A. & HART, E.B. Further studies on the availability of copper from various sources as a supplement to iron in hemoglobin production. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, 115:453, 1936.
67. SHERMAN, W.C.; EVEHLEN, C.A. & HART, E.B. Factors influencing the utilization of the iron and copper of egg yolk for hemoglobin formation. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, 107:289, 1934.

68. SMITH, O.B. & KABAISA, E. Effect of high dietary calcium and wide calcium phosphorus ratios in broiler diets. *Poultry Science*, Champaign, 64(9):1713-20, Sept. 1985.
69. SOUTHERN, L.L. & BAKER, D.H. Eimeria aceculuia infection and the zinc-copper interrelationship in the chick. *Poultry Science*, Champaign, 62(2):401-4, Feb. 1983a.
70. _____ & _____. Excess manganese ingestion in the chick. *Poultry Science*, Champaign, 62(4):642-6, April. 1983b.
71. STARCHER, B.; HILL, C.H. & MATRONE, G. Importance of dietary copper in the formation of aortic elastin. I. *Journal of Nutrition*, London, 82:318-22, 1964.
72. STARCHER, B.C. Studies on the mechanism of copper absorption in the chick. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 97:321-26, 1969.
73. STERNLIEB, I.; MORELL, A.G.; TUCKER, W.D.; GREEN, M.W. & SCHEINBERG, I.H. The incorporation of copper into ceruloplasmin in vivo: Studies with copper⁶⁴ and copper⁶⁷. *Journal Clinical Investigation*, Baltimore, 40:1834-40, 1961.

74. SUTTLE, N.F. A technique for measuring the biological availability of copper to sheep, using hypocupraemic ewes. *British Journal of Nutrition*, London, 32(2):395-405, Sept. 1974.
75. TERAQ, T. & OWEN, C.A.J.R. Nature of copper compounds in liver supernate and bile of rats.: studies with ^{67}Cu . *American Journal of Physiological*, Bethesda, 224:682-6, 1973.
76. THIERS, R.E. and VALEE, B.L. Distribution of metals in subcellular fractions of rot liver. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, 226(2):911-20, June. 1957.
77. UNDERWOOD, E.J. *Trace elements in human an animal nutrition.* 4th ed., Ney York, Academic Press, 1977. 545p.
78. _____. Copper, molybdenum and sulphur. In: _____. *The Mineral Nutrition of Livestock.* 2.ed. Farnhan Royal, England. Common Wealth Agricultural Bureaux, 1981. p.99-111.

79. VAN CAMPEN, D.R. & MITCHELL, E.A. Absorption of ^{64}Cu , ^{65}Zn , ^{99}Mo and ^{59}Fe from ligated segments of the rat gastrointestinal tract. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 86(2):120-4, June. 1965.
80. VAN CAMPEN, D.R. & SCAIFE, P.V. Zinc interference with copper absorptions in rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 91(4):473-76, Apr. 1967.
81. VAN WYK, J.J.; BAXTER, J.H.; AKEROYD, J.H. & MOTALSKY, A.G. The anemias of copper deficient dogs compared with that produced by iron deficiency. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, Baltimore, 93:41, 1953.
82. WAIBEL, P.E.; SNETSINGER, D.C.; BALL, R.A. & SAUTTER, J.H. Variation in tolerance of turkeys to dietary copper. *Poultry Science*, Champaign, 43(2):504-6, Mar. 1964.
83. WATSON, L.T.; AMMERMAN, C.B.; MILLER, S.M. & HARMS, R.H. Biological assay of inorganic manganese for chicks. *Poultry Science*, Champaign, 49(6):1548-54, Nov. 1970.

84. WATSON, L.T.; AMMERMAN, C.B.; MILLER, S.M. & HARMS, R.H.
Biological availability to chicks of manganese from
different inorganic sources. *Poultry Science*, Champaign,
50(6):1693-700, Nov. 1971.
85. WIKSE, S.E.; HERD, D.; FIELD, R. and HOLLAND, P. Diagnosis
of copper deficiency in cottle. *Journal of the American
Veterinary Medical Association*, 200:1625-29, 1992.
86. ZANETTI, M.A.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. & MILES, R.D.
Estimation of the bioavailability of copper sources in
chicks fed on conventional dietary amounts. *British
Poultry Science*, Champaign, 32(3):583-88, July. 1991.