

Efeitos de níveis de cobre suplementar na dieta sobre o desempenho produtivo, colesterol na gema e lípidos no plasma sanguíneo de poedeiras comerciais*

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Cássio Xavier de Mendonça Jr.
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP
Cidade Universitária Armando de
Salles Oliveira
Av. Orlando Marques de Paiva, 87
05508-000 - São Paulo - SP
e-mail: cxmendon@usp.br

Effects of high supplemental dietary copper on laying performance, egg yolk cholesterol and blood plasma lipids

1-Departamento de Clínica Médica
de Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da USP-SP

Cássio Xavier de MENDONÇA Jr.¹; Cláudio WATANABE¹; Agnes Veridiana MORI¹; Cristiane de Oliveira Fraga SANTOS¹; Cristiana Ribeiro Mariano de ALMEIDA¹

RESUMO

No presente estudo, foi verificado o efeito da suplementação de elevados níveis de cobre alimentar sobre o desempenho de galinhas poedeiras, níveis de colesterol na gema do ovo e de lípidos plasmáticos. Foram utilizadas 160 galinhas poedeiras comerciais, perfazendo 5 tratamentos com 4 repetições de 8 aves, alimentadas por 6 semanas com dieta comercial (controle) ou suplementada com sulfato de cobre de modo a fornecer 200, 400, 600 e 800 mg de cobre/kg de dieta. A suplementação de cobre em níveis de até 400 ppm não afetou significativamente o peso e a produção dos ovos, o consumo e a conversão alimentar, no entanto, quando em teores de 600 e 800 mg/kg, determinou redução significativa no peso dos ovos, postura e consumo de alimento. A qualidade da casca, avaliada em termos de peso (gramas e % do peso do ovo) e espessura da casca, foi significativamente reduzida apenas com 800 ppm na ração. As concentrações plasmáticas de triglicérides e de colesterol HDL mostraram comportamento inverso em relação ao excesso de cobre suplementar. Em nível de 800 ppm, o cobre determinou, de forma significativa, diminuição dos triglicérides (705 mg/dL) e aumento do colesterol HDL (9,7 mg/dL) sanguíneos em relação ao grupo controle (1.643 e 4,5 mg/dL, respectivamente). Quando administrado na concentração de 800 ppm, o cobre determinou aumento significativo dos valores de colesterol no ovo, tanto expressos em relação à gema original (14,83 mg/g) como à gema seca (27,70 mg/d) comparado ao controle (12,35 e 23,08 mg/g, respectivamente). O efeito de elevados níveis de cobre alimentar na redução do colesterol na gema do ovo não foi confirmado no presente estudo. Futuras pesquisas são recomendadas.

UNITERMOS: Cobre; Colesterol no ovo; Galinhas.

INTRODUÇÃO

O cobre atua, quando utilizado nas rações em concentração de 169 ppm, como promotor do crescimento em frangos de corte³ e a 176 ppm, com a finalidade de aumentar a produção de ovos⁵.

Jackson⁷, Stevenson *et al.*¹⁶ e Gilbert *et al.*⁴ assinalaram, em aves alimentadas com dietas contendo valores elevados de cobre, diminuição do consumo de alimento e da produção de ovos. Jackson⁷ consignou que nas rações contendo 1.920 mg/kg ocorreu parada completa da postura. Griminger⁵, por sua

vez, constatou depressão da ingestão alimentar, peso vivo e postura e diminuição da espessura da casca do ovo em poedeiras submetidas a dietas contendo suplementação de sulfato de cobre de 0,2% (800 mg de cobre/kg de ração) ou mais. Gilbert *et al.*⁴ verificaram queda de 16% na produção de ovos de aves Leghorn, com 51 semanas de idade, que receberam dieta contendo 1.477 ppm de cobre.

Pearce *et al.*¹² observaram que o cobre, quando adicionado em níveis elevados na dieta, de 500 ou 1.000 ppm, além de deprimir o consumo alimentar, também reduzia as concentrações dos lípidos no sangue e no fígado. Jackson *et*

*Projeto financiado pela FAPESP (Proc. 1995/3764-1).

*al.*⁸ consignaram diminuição linear nos níveis de gordura hepática de galinhas submetidas a níveis crescentes de cobre, de 0 a 800 ppm.

Segundo Klevay¹¹, ratos alimentados com dietas deficientes em cobre apresentam hipercolesterolemia. Estudos recentes têm sido conduzidos no sentido de esclarecer o mecanismo pelo qual este aumento do colesterol sanguíneo ocorre. Kim *et al.*¹⁰ verificaram, em ratos, que o cobre hepático regula a biossíntese do colesterol mediante redução das concentrações do glutatión do fígado. Esta substância atua estimulando a produção da 3HMG-CoA redutase, enzima envolvida na síntese orgânica do colesterol.

Bakalli *et al.*² submeteram frangos de corte a suplementação de 250 mg de cobre/kg de dieta e observaram redução de 11,8% na colesterolemia e de aproximadamente 25% nos níveis de colesterol do tecido muscular comestível da ave.

A presente pesquisa se propõe a estudar os efeitos do excesso de cobre em dietas de galinhas poedeiras nas concentrações de triglicérides e colesterol plasmáticos, colesterol na gema do ovo e desempenho produtivo das aves.

MATERIAL E MÉTODO

O presente experimento foi conduzido utilizando-se 160 poedeiras comerciais, distribuídas em 80 gaiolas (0,45 m x 0,25 m x 0,45 m), sendo alojadas 2 galinhas por gaiola, perfazendo 5 tratamentos com 4 repetições de 8 aves com peso corporal, produção e peso dos ovos semelhantes no início do experimento. As repetições foram constituídas por um conjunto de 4 gaiolas e de um comedouro, sendo a água fornecida em bebedouro tipo "nipple".

As aves receberam um total de 16 horas diárias de luz, sendo o alimento e a água fornecidos *ad libitum*.

Para a interpretação estatística, foi utilizada a análise de variância com um critério de classificação, sendo o teste de Duncan aplicado para o contraste entre médias¹³.

Foram idealizados 5 tratamentos utilizando-se níveis de cobre crescentes, adicionados à ração sob a forma de sulfato de cobre pentaidratado, de acordo com o seguinte esquema:

Tratamentos

- 1 - Controle - sem cobre suplementar
- 2 - 200 ppm de cobre suplementar
- 3 - 400 ppm de cobre suplementar
- 4 - 600 ppm de cobre suplementar
- 5 - 800 ppm de cobre suplementar

Desempenho das aves

Os ovos foram colhidos e pesados diariamente para se obterem o registro da produção e o peso médio, por repetição.

Semanalmente, calculou-se o consumo de ração, eficiência alimentar, por dúzia e por quilo de ovos produzidos, peso e produção de ovos.

Determinação da qualidade do ovo

Nos últimos 3 dias experimentais, foi determinada a gravidade específica dos ovos, utilizando-se o método das soluções salinas⁶. Os ovos foram quebrados para avaliação da qualidade do albume, em unidades Haugh, utilizando-se micrômetro Ames S-8400. As cascas foram lavadas, mantidas em estufa a 60°C por 24 horas para secagem, em seguida pesadas procedendo-se, finalmente, à medida de sua espessura mediante micrômetro Ames 25M-5.

Determinação dos lípidos plasmáticos

Ao término do experimento, foram colhidas amostras de sangue de 10 aves por tratamento, imediatamente após a postura, para a determinação de triglicérides¹⁴, colesterol total¹ e sua fração HDL¹⁵ no plasma sanguíneo.

Determinação do colesterol na gema do ovo

Durante a última semana experimental, procedeu-se à colheita de 4 ovos por repetição que foram cozidos, as gemas separadas e pesadas individualmente e em seguida homogeneizadas ("pool" de 4 ovos), de modo a constituírem um total de 4 amostras por tratamento. As amostras foram submetidas a saponificação e a extração utilizando-se metodologia citada por Jiang *et al.*⁹.

As determinações de colesterol foram processadas utilizando-se aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de marca Shimadzu, modelo LC-10AD, acoplado a detector de ultravioleta computadorizado modelo SPD-10A. Utilizou-se coluna Shim-pack 5 µm CLC-ODS (250 mm x 4,6 mm) precedida por coluna de guarda Shim-pack 5 µm CLCG-ODS (10 mm x 4 mm).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho das aves

Os valores médios de peso dos ovos, índice de postura, consumo de ração e conversão alimentar, expressa em quilos de alimento por dúzia e por quilo de ovo, nos diferentes tratamentos estudados, podem ser vistos na tab. 1. O aumento dos níveis de cobre na dieta determinou queda no desempenho das aves em termos de peso do ovo, postura, consumo e conversão alimentar. Em comparação com o grupo controle,

Tabela 1

Peso médio do ovo (g), índice de postura (%), consumo (g/ave/dia) e conversão alimentar de acordo com os tratamentos estudados (São Paulo, maio e junho de 1996).

Tratamentos	Peso do ovo (g)	Postura (%)	Consumo de Ração (g/ave/dia)	Conversão kg de dúzia de ovos	Alimentar ração por : quilo de ovos
Controle	66,5 ^a	76,4 ^a	111,6 ^a	1,77 ^a	2,21 ^a
200 mg Cu	65,7 ^{ab}	75,3 ^a	110,7 ^a	1,78 ^a	2,25 ^a
400 mg Cu	65,1 ^{ab}	71,1 ^a	109,4 ^a	1,87 ^a	2,39 ^a
600 mg Cu	64,9 ^b	57,0 ^b	96,7 ^b	2,10 ^a	2,70 ^a
800 mg Cu	63,1 ^c	26,7 ^c	77,4 ^c	5,05 ^b	6,71 ^b

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan.

Tabela 2

Qualidade do ovo de acordo com os tratamentos estudados (São Paulo, maio e junho de 1996).

Tratamentos	Gravidade Específica	Peso da (g)	Casca (% do peso)	Espessura da casca (mm)	Unidades Haugh (%)
Controle	1,0777 ^a	5,38 ^a	8,06 ^a	0,362 ^a	86,7 ^a
200 mg Cu	1,0792 ^a	5,41 ^a	8,27 ^a	0,364 ^a	85,2 ^a
400 mg Cu	1,0775 ^a	5,19 ^a	7,98 ^a	0,355 ^a	85,7 ^a
600 mg Cu	1,0777 ^a	5,30 ^a	7,98 ^a	0,353 ^a	6,1 ^a
800 mg Cu	1,0672 ^b	4,03 ^b	6,35 ^b	0,293 ^b	89,4 ^a

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan.

Tabela 3

Níveis de Triglicérides e Colesterol (Total e HDL) no plasma sanguíneo das galinhas, conforme os tratamentos estudados (São Paulo, maio e junho de 1996).

Tratamentos	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol Total	(mg/dL) HDL
Controle	1643 ^a	107,2 ^a	4,5 ^a
200 mg Cu	1677 ^a	116,2 ^a	5,2 ^a
400 mg Cu	905 ^{ab}	76,4 ^a	3,6 ^a
600 mg Cu	1389 ^{ab}	103,1 ^a	4,3 ^a
800 mg Cu	705 ^b	108,4 ^a	9,7 ^b

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan.

Tabela 4

Níveis de colesterol na gema do ovo (original e seca) e no ovo total de galinhas submetidas aos diferentes tratamentos (São Paulo, maio e junho de 1996).

Tratamentos	Colesterol na gema original (mg/g)	Colesterol na gema seca (mg/g)	Colesterol no ovo (mg/ovo)	Peso médio do ovo (g)	Colesterol em ovo de 55 g (mg/ovo)
Controle	12,35 ^a	23,08 ^a	218,2 ^{ab}	65,9 ^a	181,9 ^a
200 mg Cu	12,30 ^a	22,98 ^a	211,9 ^a	64,5 ^a	180,7 ^a
400 mg Cu	12,42 ^a	23,20 ^a	220,3 ^{ab}	66,3 ^a	183,0 ^a
600 mg Cu	12,92 ^a	24,15 ^a	226,8 ^{ab}	66,3 ^a	188,4 ^a
800 mg Cu	14,83 ^b	27,70 ^b	230,4 ^b	59,4 ^b	214,4 ^b

* Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan.

a adição de cobre em níveis de 600 e 800 mg por quilo proporcionou reduções significativas no consumo alimentar e no peso e produção de ovos. Relativamente à conversão alimentar, apenas o nível de 800 mg de cobre/kg de ração revelou influência significativa.

Nossos resultados de produção e peso dos ovos, consumo e conversão alimentares estão de acordo com as observações de Jackson *et al.*⁸, que submeteram poedeiras a dietas com níveis de cobre idênticos aos do presente estudo. Os autores verificaram que as maiores alterações nos parâmetros de desempenho ocorreram quando as aves foram alimentadas com 600 e 800 mg de cobre/kg. No mesmo sentido, Gilbert *et al.*⁴, utilizando níveis mais elevados de cobre, 1.477 ppm na dieta, reportaram em apenas uma semana queda significativa de 16% na produção de ovos, em comparação ao grupo controle que recebeu apenas 78 ppm de cobre.

O efeito negativo do excesso de cobre sobre o peso do ovo observado no presente estudo discorda de Griminger⁵, que não assinalou diferenças significativas neste parâmetro quando aves foram suplementadas com 400 a 1.600 mg de cobre/kg.

Por outro lado, nossos achados corroboram as afirmativas de Stevenson *et al.*¹⁶, de que a redução no peso do ovo ocorreria de forma indireta, conseqüente à diminuição do consumo alimentar determinado pelo excesso de cobre na dieta. De fato, pela observação da tab. 1, pôde-se observar que a depressão do consumo foi significativa para os níveis de 600 e 800 mg de cobre, coincidindo com médias significativamente mais baixas de peso do ovo consignadas em relação ao controle.

Determinação da qualidade do ovo

A qualidade da casca, expressa em termos de gravidade específica, peso da casca (gramas e porcentagem do peso do ovo) e espessura da casca mostrou-se mais baixa para galinhas alimentadas com dieta contendo 400, 600 e 800 mg de cobre/kg em relação ao grupo controle. No entanto, as diferenças foram julgadas significativas apenas no contraste entre o nível de 800 ppm de cobre e o grupo controle, em relação aos parâmetros gravidade específica, peso e espessura da casca (Tab. 2).

O valor médio de espessura da casca encontrado no presente experimento (0,293 mm) para o nível de 800 ppm de cobre está bem próximo daquele (0,31 mm) observado por Griminger⁵, em poedeiras alimentadas por 2 semanas com este mesmo teor de cobre.

Determinação dos lípidos plasmáticos

Os níveis médios de triglicérides, colesterol total e colesterol HDL, expressos em mg/dL de plasma sanguíneo, observados nos diversos tratamentos estudados, são mostrados na tab. 3.

Embora fosse evidenciada redução nos níveis de colesterol total com a utilização de 400 e 600 mg de cobre/kg de ração, as diferenças em relação ao grupo controle não se revelaram significativas. Quanto às médias de triglicérides plasmáticos, observou-se diminuição significativa nas aves alimentadas com nível de 800 mg de cobre/kg de dieta, quando comparadas com aquelas não suplementadas.

Bakalli *et al.*², trabalhando com frangos de corte submetidos a 250 mg de cobre/kg de ração, assinalaram diminuição do colesterol e dos triglicérides plasmáticos, quando relacionados com o grupo controle. No presente estudo, tal evidência foi observada apenas para os triglicérides, a partir de 400 mg de cobre na dieta. Nossos resultados concordam com aqueles consignados por Pearce *et al.*¹², que obtiveram redução significativa nos valores de lípidos totais do plasma de galinhas que receberam níveis de cobre na dieta superiores a 500 mg/kg quando comparadas às aves do grupo controle, sem suplementação do elemento.

Em relação ao colesterol HDL, a administração de dietas contendo 800 mg de cobre proporcionou o teor mais elevado (9,7 mg/dL), significativamente diferente do grupo controle, fato este também observado por Bakalli *et al.*² em frangos de corte que receberam 250 mg de cobre/kg.

Determinação do colesterol na gema do ovo

Na tab. 4, são apresentados os valores médios de colesterol do ovo expressos em relação à gema, considerando a matéria úmida original e sob matéria seca, e no ovo total (peso realmente obtido no experimento e igualado a 55 gramas).

Se atentarmos para a tab. 4, verifica-se tendência para aumento dos níveis de colesterol na gema à medida que se elevam os valores de cobre na dieta. Assim, teores de 800 mg/kg determinaram aumento significativo deste lípido no ovo, quando expresso em termos de gema original e seca, ou quando igualando-se o peso do ovo a 55 gramas. Tais resultados estão em consonância com as possibilidades levantadas por Bakalli *et al.*², de que o excesso de cobre resultaria em diminuição do colesterol nos tecidos conseqüente à diminuição de sua síntese hepática, ou então devido a um aumento de sua taxa de excreção. De acordo com esta última hipótese, como na galinha o ovo representa a principal via de excreção do colesterol, os valores elevados aqui observados em aves alimentadas com 800 mg de cobre na dieta poderiam ser plenamente justificados.

CONCLUSÕES

Os resultados da presente pesquisa confirmaram relatos de trabalhos anteriores de que o cobre suplementado à ração de poedeiras comerciais, em níveis acima de 400 ppm, afetou significativamente o desempenho produtivo das aves. Por sua vez, a qualidade da casca sofreu alteração apenas com a

suplementação de 800 ppm de cobre na dieta.

As concentrações plasmáticas de triglicérides e de colesterol HDL mostraram comportamento inverso em relação ao excesso de cobre suplementar. Em nível de 800 ppm, o cobre determinou diminuição significativa dos triglicérides e aumento, também significativo, do colesterol HDL sanguíneos. Este mesmo nível causou, ainda, aumento significativo das

concentrações de colesterol total no ovo, tanto expresso em relação à gema original, gema seca, ovo com peso médio original ou igualado em padrão médio de 55 gramas.

A expectativa de o excesso de cobre dietético reduzir os níveis de colesterol na gema do ovo não foi alcançada, havendo necessidade de novos estudos para a sua comprovação.

SUMMARY

This study was conducted to determine the effect of high supplemental dietary copper on laying performance, egg yolk cholesterol and blood plasma lipids. One hundred and sixty laying hens were placed in cages, and 8 birds were grouped per replicate, in a total of 5 treatments. Hens were fed a commercial diet supplemented as copper sulfate with 0, 200, 400, 600 and 800 mg of copper/kg for a period of 6 weeks. Egg weight, egg production, feed intake and feed conversion were not significantly affected by the supplemental copper up to 400 ppm. At 600 and 800 mg/kg copper significantly reduced egg weight, egg production and feed intake. Egg shell quality, estimated as egg shell weight (g and % of egg weight) and egg shell thickness, was significantly decreased only at the higher supplemental copper level (800 ppm). Plasma concentrations of triglycerides and HDL cholesterol showed an inversion relationship when excess of supplemental dietary copper was fed. At the level of 800 ppm copper determined a significant reduction in plasma triglycerides (705 mg/dL) and a significant increase in plasma HDL cholesterol (9.7 mg/dL) as compared to the control group (1,643 and 4.5 mg/dL, respectively). Egg yolk cholesterol calculated on original or dry matter basis was significantly increased by feeding the higher level of supplemental copper (800 ppm) showing values of 14.83 and 27.70 mg/dL, respectively, as compared to the control group (12.35 and 23.08 mg/dL, respectively). The effect of high dietary level of copper on reduction of egg yolk cholesterol was not confirmed in this study. Further researches are recommended.

UNITERMS: Copper; Egg yolk cholesterol; Chickens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALLAIN, C.C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v.20, n.4, p.470-5, 1974.
- 2- BAKALLI, R.I.; PESTI, G.M.; RAGLAND, W.L.; KONJUFCA, V. Dietary copper in excess of nutritional requirement reduces plasma and breast muscle cholesterol of chickens. **Poultry Science**, v.74, n.2, p.360-5, 1995.
- 3- FISHER, C. Use of copper sulfate as a growth-promoter for broilers. **Feedstuffs**, July 16, p.24-5, 1973.
- 4- GILBERT, R.W.; SANDER, J.E.; BROWN, T.P. Copper sulfate toxicosis in commercial laying hens. **Avian Diseases**, v.40, p.236-9, 1996.
- 5- GRIMINGER, P. Effect of copper sulfate on egg production and shell thickness. **Poultry Science**, v.56, p.359-61, 1977.
- 6- HAMILTON, R.M.G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v.61, n.10, p.2022-39, 1982.
- 7- JACKSON, N. The effect of dietary copper sulphate on laying performance, nutrient intake and tissue copper and iron levels of the mature, laying, domestic fowl. **British Journal of Nutrition**, v.38, p.93-100, 1977.
- 8- JACKSON, N.; STEVENSON, M.H.; KIRKPATRICK, G.McC. Effects of the protracted feeding of copper sulphate-supplemented diets to laying, domestic fowl on egg production and on specific tissues, with special reference to mineral content. **British Journal of Nutrition**, v.42, p.253-66, 1979.
- 9- JIANG, Z.; FENTON, M.; SIM, J.S. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. **Poultry Science**, v.70, n.4, p.1015-9, 1991.
- 10- KIM, S.; CHAO, P.Y.; ALLEN, K.G.D. Inhibition of elevated hepatic glutathione abolishes copper deficiency cholesterolemia. **FASEB Journal**, v.6, p.2467-71, 1992.
- 11- KLEVAY, L.M. Hypercholesterolemia in rats produced by an increase in the ratio of zinc to copper ingested. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.26, p.1060-8, 1973.
- 12- PEARCE, J.; JACKSON, N.; STEVENSON, M.H. The effects of dietary intake and of dietary concentration of copper sulphate on the laying domestic fowl: effects on some aspects of lipid, carbohydrate and amino acid metabolism. **British Poultry Science**, v.24, p.337-48, 1983.
- 13- SAS INSTITUTE, SAS user's guide: statistics. Cary : SAS Institute, 1985. 956p.
- 14- SOLONI, F.G. Simplified manual micromethod for determination of serum triglycerides. **Clinical Chemistry**, v.17, p.529-34, 1971.
- 15- STEELE, B.W.; KOEHLER, D.F.; AZAR, M.M.; BLASZKOWSKI, T.P.; KUBA, K.; DEMPSEY, M. Enzymatic determinations of cholesterol in high-density-lipoprotein fractions prepared by a precipitation technique. **Clinical Chemistry**, v.22, p.98-101, 1976.
- 16- STEVENSON, M.H.; PEARCE, J.; JACKSON, N. The effects of dietary intake and of dietary concentration of copper sulphate on the laying domestic fowl: effects on laying performance and tissue mineral contents. **British Poultry Science**, v.24, p.327-35, 1983.

Recebido para publicação: 23/07/1998
Aprovado para publicação: 24/05/1999