

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

**Gustavo Ribeiro Del Claro**

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE COBRE  
E SELÊNIO NO METABOLISMO DE LIPÍDEOS  
EM BOVINOS**

---

---

Pirassununga

2007

Gustavo Ribeiro Del Claro

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE  
COBRE E SELÊNIO NO METABOLISMO DE  
LIPÍDEOS EM BOVINOS**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti

---

Pirassununga

2007

## RESUMO

DEL CLARO G.R. **Influência da suplementação de cobre e selênio no metabolismo de lipídeos em bovinos.** 2007. 89p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

Vinte e oito bovinos Brangus foram usados para se determinar o efeito da suplementação de cobre e selênio no desempenho, características de carcaça, composição de ácidos graxos no músculo *Longissimus dorsi* (LD) e na concentração de colesterol sérico e no músculo LD . Os tratamentos foram : 1) C(Controle) - sem a suplementação de cobre e selênio; 2) Se - 2 mg Se/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio; 3) Cu- 40 mg Cu/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre; 4) Se/Cu- 2 mg Se/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg Cu/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre. O ganho de peso diário aumentou com a suplementação de selênio ( $P < 0,05$ ). A eficiência alimentar foi melhor ( $P < 0,05$ ) nos tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre, em relação ao controle. A ingestão de matéria seca não foi alterada pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). A espessura de gordura e composição de ácidos graxos do músculo LD não foram influenciados pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). A concentração sérica de colesterol não foi influenciada pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ), entretanto, a concentração de colesterol no LD foi menor nos bovinos suplementados com cobre e selênio ( $P < 0,05$ ). A glutathiona peroxidase e GSSG aumentaram ( $P < 0,05$ ) com a suplementação de cobre , selênio ou selênio/cobre ( $P < 0,05$ ).

Palavras-chave: colesterol, ácidos graxos, minerais

## ABSTRACT

DEL CLARO, G. R. **Influence of copper and selenium supplementation on lipid metabolism in cattle.** 2007. 89p. Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

Twenty eight Brangus steers were used to determine the effects of copper (Cu) and selenium (Se) supplementation on performance, carcass characteristics, Longissimus dorsi muscle fatty acid composition and serum and Longissimus dorsi muscle cholesterol concentrations. Treatments were: 1) control - no supplemental Cu and Se; 2) Se - 2 mg Se/kg DM as sodium selenite; 3) Cu - 40 mg Cu/kg DM as copper sulfate; 4) Se/Cu - 2 mg Se/kg DM as sodium selenite and 40 mg Cu/kg DM as copper sulfate. Daily weight gain increased with selenium supplementation ( $P < 0.05$ ). Feed efficiency was better in selenium, copper and selenium/copper treatments than in the control group. Dry matter intake was not affected by treatments ( $P > 0.05$ ). Backfat and Longissimus dorsi fatty acid concentrations were not affected by treatments ( $P > 0.05$ ). Serum cholesterol concentration was not affected by treatments ( $P > 0.05$ ), however, Longissimus dorsi cholesterol concentrations were lower in steers supplemented with Cu and Se ( $P < 0.05$ ). GSSG and GSH Px increased ( $P < 0.05$ ) with Cu, Se and Se/Cu supplementation

Key-words: cholesterol, fatty acid, mineral

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Bovinos Brangus empregados no experimento. ....	32
Figura 2. Colheita de sangue.....	35
Figura 3. Pesagem das carcaças.....	36
Figura 4. Músculo <i>Longissimus dorsi</i> na 12° costela usado para a determinação da espessura de gordura e área de olho de lombo.....	37
Figura 5. Colheita de líquido ruminal para a determinação de ácidos graxos voláteis e pH ruminal. ....	37
Figura 6. Colheita de amostras do fígado .....	37
Figura 7. Fluxograma para determinação de colesterol em carne.....	39
Figura 8. Concentração de selênio e desvios padrões, em mg por kg de fígado (em base seca) de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), suplementados com cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ....	42
Figura 9. Concentração de cobre e desvios padrões, em mg por kg de fígado( em base seca de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), suplementados com cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ....	43
Figura 10. Ganho de peso diário (GPD) e desvios padrões, kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca), ou	

selênio (2mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca) durante confinamento experimental. .... 50

Figura 11. Ingestão de matéria seca (IMS) e desvios padrões, em kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca), ou selênio (2mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca) durante confinamento experimental. .... 50

Figura 12. Eficiência alimentar (EA) e desvios padrões de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca), ou selênio (2mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca) durante confinamento experimental. .... 51

Figura 13. Extrato etéreo e desvios padrões, em % da matéria original, no músculo *Longissimusdorsi* de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental. .... 57

Figura 14. pH do rúmen e desvios padrões de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental. .... 60

Figura 15. Ácido acético no rúmen e desvios padrões, em % molar, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental. .... 61

Figura 16. Ácido propiônico no rúmen e desvios padrões, em % molar, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental..... 61

Figura 17. Ácido Butírico no rúmen e desvios padrões, em % molar, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental. .... 62

Figura 18. Ácidos graxos saturados e insaturados, em %, no músculo LD de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental..... 64

Figura 19. Atividade da enzima glutathiona peroxidase e desvios padrões, em mmol por minuto, por mg de proteína do fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca)/ cobre (40 mg/kg de matéria seca). .... 68

Figura 20. GSH e desvios padrões, em  $\mu\text{mol}$  por grama de fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca)/ cobre (40 mg/kg de matéria seca)..... 71

Figura 21. GSSG e desvios padrões, em  $\mu\text{mol}$  por grama de fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40

mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca)..... 72

Figura 22. Relação entre GSH e GSSG e desvios padrões, em  $\mu\text{mol}$  por grama de fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca)/ cobre (40 mg/kg de matéria seca). ..... 72

Figura 23. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por dL, no sangue de bovinos no 28° dia recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ..... 75

Figura 24. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por dL, no sangue de bovinos no 56° dia recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ..... 76

Figura 25. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por dL, no sangue de bovinos no 84° dia recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2 mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ..... 76

Figura 26. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por 100 gramas de carne, no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ..... 77



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Composição percentual da dieta basal, em base seca. ....	33
TABELA 2. Composição bromatológica da dieta basal, em base seca. ....	34
TABELA 3. Ganho de peso diário e desvios padrões, em kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre. ....	47
TABELA 4. Ingestão de matéria seca diária e desvios padrões, em kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre.....	48
TABELA 5. Eficiência alimentar (ganho de peso/ingestão de matéria seca) e desvios padrões, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre. ....	49
TABELA 6. Rendimento de carcaça quente (% do peso vivo), rendimento de carcaça fria (% do peso vivo), perda pelo frio (% da carcaça quente) e respectivos desvios padrões, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre. ....	54
TABELA 7. Espessura de gordura subcutânea média e desvios padrões (mm) e área de olho de lombo média e desvios padrões (cm <sup>2</sup> ) do músculo <i>Longissimus dorsi</i> , medidas na 5° e na 12° costela de bovinos recebendo dieta controle, suplementada com selênio, cobre ou selênio/cobre. ....	56
TABELA 8. Perfil de ácidos graxos no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de bovinos recebendo dieta controle , selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) e selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca). ....	65

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. OBJETIVO .....	16
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1 Cobre.....	17
3.2 Selênio .....	19
3.3 Interação Selênio e Cobre.....	21
3.4 Síntese de colesterol.....	22
3.5 Cobre e Selênio no metabolismo de lipídeos .....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1 Local e Período .....	32
4.2 Procedimento experimental.....	33
4.3 Procedimento Laboratorial .....	38
4.4 Delineamento experimental.....	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1 Concentração de selênio e cobre no fígado .....	42
5.2 Desempenho .....	47
5.3 Rendimento de carcaça e perda pelo frio.....	54
5.4 Espessura de gordura (EP) , Área de olho de lombo (AOL) e extrato etéreo na carne. ....	56
5.5 Fermentação ruminal .....	60
5.6 Perfil de ácidos graxos na carne .....	64
5.7 Glutationa peroxidase.....	68
5.10 GSH e GSSG no fígado.....	71
5.12 Concentração de colesterol no sangue e músculo.....	75
6. CONCLUSÕES.....	81
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

## 1. INTRODUÇÃO

A alimentação saudável é um desafio para o homem moderno e uma preocupação de grande parte da população mundial. As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas os principais problemas de saúde pública em função da redução da qualidade de vida, do grande dispêndio financeiro, além de serem responsáveis por cerca de 30% do total de mortes no Brasil.

A carne bovina, alimento rico em diversos nutrientes é freqüentemente relacionada às DCV pela sua proporção de ácidos graxos saturados e pelo teor de colesterol. Alguns experimentos têm sugerido que a suplementação de cobre em níveis iguais ou superiores a 20mg/kg de matéria seca promovem diminuição na concentração de colesterol no músculo *Longissimus Dorsi*, e aumento dos ácidos graxos insaturados em detrimento dos saturados. A explicação reside na relação da forma oxidada e reduzida da glutathiona (GSSG e GSH), e conseqüente modificação da atividade da enzima HMG-CoA redutase (3-hidroxi-3metil-glutaril-CoA), que é a principal responsável pelo controle da síntese de colesterol. Dessa forma, o selênio também pode ter influência no metabolismo de lipídeos, por ter ação no equilíbrio entre GSH e GSSG por fazer parte da glutathiona peroxidase. Além disso, há uma interação entre o selênio e o cobre, sendo importante o estudo dos dois elementos suplementados de forma conjunta. A diminuição de colesterol e o aumento de ácidos graxos insaturados na produção de carne para o consumo humano,

trariam benefícios tanto mercadológicos como também do ponto de vista de saúde pública.

## **2. OBJETIVO**

O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito da suplementação de cobre e selênio no metabolismo de lipídeos em bovinos Brangus recebendo alta proporção de concentrado.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Cobre

O estudo do elemento cobre iniciou-se em 1925, com Hart e colaboradores, os quais descobriram sua importância sinérgica com o ferro na formação hemoglobínica (MAYNARD, 1984).

O cobre têm baixa absorção. Geralmente 5-10% do cobre na dieta são absorvidos por animais adultos, enquanto que jovens podem absorver de 15-30%. Em ruminantes, segundo McDowell (1992), cerca de 1-3% do cobre são absorvidos. A absorção do cobre se dá em todos os segmentos do trato gastrointestinal. O intestino delgado tem a maior absorção, entretanto, o estômago de humanos e o intestino grosso de ovinos apresentam absorção considerável (O'DELL & SUNDE, 1997). A absorção intestinal do cobre pode ser influenciada pela interação com outras substâncias da dieta, como: cálcio, ferro, zinco, cádmio e molibdênio, que reduzem a absorção (KEGLEY & SPEARS, 1993). Dietas com molibdênio podem inibir a utilização de cobre, pois no rúmen é formado o tiomolibdato na presença de enxofre, o qual se une ao cobre, formando tiomolibdato de cobre, dificultando a absorção desse último. Segundo Underwood e Suttle (1999), ocorrem excreções via bile, urina e pequenas quantidades na respiração, além de secreções nas fezes.

A maior parte do cobre presente no plasma de mamíferos está na forma de ceruloplasmina, sendo o carreador específico, que exporta cobre do fígado para os órgãos alvos (McDOWELL, 1992).

O fígado é o órgão central do metabolismo do cobre, e sua concentração reflete o nível de cobre que está sendo ingerido pelo organismo (McDOWELL, 1992). A concentração hepática de cobre, na maior parte dos mamíferos, vai aumentando com a idade, entretanto, bovinos e ovinos constituem uma exceção. Nos ovinos esta concentração aumenta com o desenvolvimento do animal, enquanto nos bovinos a concentração hepática de cobre varia muito pouco com a idade do animal. A toxicidade é variável entre os ruminantes, sendo o ovino a mais sensível das espécies (SOLI, 1980). Engle et al. (1964) encontraram correlação significativa entre concentração de cobre no fígado e plasma, quando houve menos que 33mg de cobre/kg de fígado. A máxima concentração de cobre tolerada por bovinos de corte tem sido estimada em 100 mg/kg, entretanto o NRC (2005) sugeriu uma redução desse valor para 40 mg/kg. Os adultos são mais susceptíveis que os jovens. Em bezerros alimentados com 115mg de cobre /kg de MS, por 91 dias, foram encontrados sinais de toxidez (NRC, 2000).

Estudos com animais e humanos têm mostrado que o cobre está envolvido em grande número de reações enzimáticas. Ele é componente essencial de importantes metaloenzimas, como a citocromo oxidase, superóxido dismutase, hidrolase e tirosinase. O cobre é essencial no crescimento infantil, mecanismos de defesa, transporte de ferro, metabolismo do colesterol e glicose e desenvolvimento cerebral, entre outras funções. Além disso, é necessário para o bom funcionamento do sistema imune, respiração celular, formação óssea, função cardíaca normal, desenvolvimento do tecido

conjuntivo, mielinização da medula espinhal, queratinização e pigmentação de tecidos.

A deficiência de cobre afeta a enzima citocromo oxidase, a qual catalisa a reação de transformação de  $O_2$  até água, uma etapa de fundamental importância no metabolismo celular. Foram observadas falhas reprodutivas em mamíferos com deficiência de cobre. A deficiência desse mineral altera a resposta imune em humanos e animais (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Alguns estudos têm demonstrado que a deficiência de cobre afeta o metabolismo de lipídeos, resultando em elevado nível de triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol no soro de ratos (McDOWELL, 1992).

### **3.2 Selênio**

O selênio é um semi-metal que pode existir em vários estados de oxidação, o que lhe permite formar uma série de compostos. Segundo McDowell (1992), o papel do selênio na nutrição animal foi descoberto quando se observou que a suplementação evitava necrose hepática em ratos. Após essa constatação, também foi relatada a prevenção de distrofia muscular quando bovinos e ovinos foram suplementados com selênio.

A absorção de selênio em ruminantes se dá principalmente no duodeno, enquanto que em suínos, ocorre no íleo ceco e cólon. A absorção em ruminantes é inferior a não-ruminantes, pois o selenito pode ser reduzido a compostos insolúveis no rúmen (McDOWELL, 1992). O requerimento de Se para bovinos de corte é de 0,1mg/kg de MS e a concentração máxima



estimada, para evitar problemas de toxidez é de 2mg/Kg de MS (NRC, 2000), sendo que recentemente o NRC (2005) aumentou este nível para 5 mg/kg.

No organismo animal o selênio é incorporado a várias enzimas, das quais a mais importante é a glutathiona peroxidase (GPx). Omaye e Tappel (1974) encontraram relação semilogarítmica entre a atividade desta enzima em diversos tecidos de frangos e a quantidade de selênio da dieta. Desde então, esta é a função mais importante do selênio nos vertebrados e, a atividade da glutathiona peroxidase é considerada um dos melhores indícios do “status” de selênio e de sua utilização. As ações bioquímicas do selênio e da vitamina E são de complementação no mecanismo de defesa normal do corpo. A vitamina E aumenta a retenção de selênio e previne a auto-oxidação de lipídeos no interior das membranas celulares, evitando a formação de peróxidos, contudo, somente a glutathiona peroxidase pode destruir os peróxidos já formados. A ação das enzimas glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (Gr) estão relacionadas com redução e oxidação da glutathiona. A glutathiona peroxidase é uma enzima que contém quatro átomos de selênio (HOLBEN, 1999). Ela usa a glutathiona reduzida (GSH), um tripeptídeo presente no citosol, para doar elétrons para hidroperóxidos, produzindo água. A glutathiona oxidada (GSSG) é reciclada, voltando ao seu estado reduzido (GSH) pela ação da glutathiona redutase (FETTMAN, 1991). A regeneração de GSH a partir da GSSG é dependente da disponibilidade de NADPH, oriundo da via das pentoses (MURRAY et al. 1998). Segundo Sen (1997), a diminuição da emissão de NADPH poderia resultar no aumento de GSSG e diminuição de GSH.

### 3.3 Interação Selênio e Cobre

A interação entre esses elementos tem sido reportada em experimentos conduzidos com ruminantes e não-ruminantes. Ovinos adultos receberam grandes concentrações de sulfato de cobre por um longo período e tiveram aumento de selênio no fígado, além de maior atividade da enzima glutathione peroxidase. Entretanto, de 0 à 10mg/Kg de suplementação de cobre não foram encontradas diferenças na excreção e na retenção de Se. A suplementação de Se para carneiros, com deficiência de cobre, resulta em significativo aumento da concentração de cobre no fígado (McCHOWELL e GAWTHORHE, 1985).

Van Ryssen et al. (1998), afirmaram que um aumento no cobre da dieta resulta em aumento significativo ( $P < 0,01$ ) de Se no fígado.

Brisola (2000) verificou que a suplementação com selênio diminuiu o cobre sérico, mas a presença de selênio e enxofre aumentou o cobre sérico possivelmente devido a uma interação tríplice.

Saran Netto (2002), em experimento desenvolvido com cordeiros objetivando verificar uma interação tríplice de S X Cu X Se, encontrou que a suplementação com níveis elevados de cobre acarretaram em efeito antagônico sobre o nível de selênio sérico, em animais recebendo níveis tóxicos de selênio. Também foi encontrado que o aumento de selênio na dieta reduziu a concentração hepática de cobre.

Rukgauer et al. (2001), em experimento desenvolvido com humanos, determinaram a concentração de Se, Cu e Zn e a atividade da enzima

glutathiona peroxidase e superóxido dismutase (SOD Zn/Cu dependente). No plasma foi encontrada correlação positiva entre concentração de Se e atividade da GPx. Nos eritrócitos foi encontrada relação positiva entre concentração de Cu e atividade da SOD e GPx. Dessa forma, a concentração de Se e Cu nos eritrócitos pode melhorar o “status” antioxidativo.

Bozkaya et al. (2001), em estudo desenvolvido com eritrócitos de galinhas, verificaram que o grupo com deficiência de Cu teve redução da atividade da SOD. A atividade da GPx no grupo deficiente de Se foi inferior ao grupo deficiente de Cu.

Prohaska (1990) afirmou que a atividade da GPx é menor no fígado e plasma de ratos com deficiência de cobre, a explicação dos autores reside em uma interação do cobre com o selênio.

### **3.4 Síntese de colesterol**

O colesterol é um álcool de origem exclusivamente animal, fundamental para a viabilidade da vida. Ele é precursor de sais biliares, hormônios esteróides e vitamina D, desempenhando importante função no metabolismo de cálcio e fósforo. Em teoria, todos os tecidos que possuem células nucleadas são capazes de sintetizar colesterol, entretanto, a síntese na maior parte dos mamíferos ocorre primariamente no fígado. Em ruminantes, a biossíntese de colesterol é destacada no intestino delgado e células adiposas (LIEPA citado por ENGLE e SPEARS, 2001). O colesterol é sintetizado a partir do acetil-CoA,

em uma via composta por cinco etapas. Primeiramente, três moléculas de acetil-CoA vão ser convertidas ao mevalonato, através da reação da via que é limitante da velocidade, sendo essa etapa catalisada pela enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3metil-glutaril-CoA). Na segunda etapa, o mevalonato é fosforilado pelo ATP e, por meio de uma descarboxilação, formam-se duas unidades de isopentenil-pirofosfato. Em seguida, seis dessas unidades de isoprenoides ativas formam o esqualeno o qual é convertido a lanosterol. A última etapa ocorre na membrana do retículo endoplasmático, sendo caracterizada pela transformação do lanosterol em colesterol. A regulação da síntese de colesterol ocorre na etapa catalisada pela enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3metil-glutaril-CoA). Dessa forma, a síntese de colesterol é inibida pelo produto final (mevalonato), jejum, LDL-colesterol captada via receptores de LDL (receptores da apo-B-100 e apo E), glucagon e glicocorticoides. A administração de insulina ou hormônio tireoidiano reduzem a atividade da HMG-CoA redutase (MURRAY et al. 1998).

### **3.5 Cobre e Selênio no metabolismo de lipídeos**

Alguns estudos têm demonstrado que a suplementação de cobre para animais domésticos tanto ruminantes como não ruminantes, influencia o metabolismo dos lipídeos. Segundo Lei, citado por Engle e Spears (2001) a deficiência de cobre causa elevação do colesterol plasmático. Em ratos, a deficiência tem mostrado aumento de atividade da enzima HMG-CoA no fígado (KIM et al.,1992). Segundo Pesti e Bakalli (1996), a adição de 125 ou 250mg de

Cu por kg de matéria seca, diminuiu o colesterol plasmático e também o colesterol do músculo peitoral em frangos de corte. A elevada concentração de cobre no fígado, em função da suplementação de cobre, pode diminuir os níveis séricos e musculares de colesterol.

Armstrong et al. (2001), suplementando suínos com diferentes níveis e fontes de cobre observaram que 100mg/kg de MS desse mineral, na forma de citrato cúprico, diminuiu os níveis de colesterol séricos no 42º dia da fase de terminação.

Rey et al. (2004) suplementaram suínos com cobre e/ou vitamina E, em confinamento, e não encontraram alterações na concentração de colesterol no músculo, entretanto, a relação colesterol:fosfolipídeos foi maior nos suínos suplementados com cobre.

Skrivan et al. (2002), suplementando frangos com 0, 13, 35 ou 126 mg de cobre/kg de MS, na forma de sulfato de cobre observaram que a redução dos lipídeos e também do colesterol muscular foi o principal efeito de tal suplementação.

Alarcon-Corredor et al. (2000) compararam o perfil lipídico sanguíneo de ratos suplementados com 10, 20 e 50mg/kg de MS e ratos com 0,6 e 6mg de cobre/kg de MS. Os resultados mostraram que a suplementação de cobre diminuiu os níveis séricos de colesterol e triglicerídeos, aumentou os de fosfolipídeos e ácidos graxos não esterificados e diminuiu a concentração hepática de ferro e zinco.

Balevi e Coskun (2004), em experimento desenvolvido com poedeiras afirmaram que a suplementação de cobre diminuiu a concentração de colesterol da gema, sem afetar o desempenho produtivo das aves.

A suplementação de cobre pode alterar o perfil lipídico em suínos, com aumento dos ácidos graxos insaturados em detrimento dos saturados, quando incorporado a dieta em concentrações superiores a 250mg/kg de MS (AMER e ELLIOT citados por ARMSTRONG et al. 2001)

Alguns experimentos têm sugerido que a suplementação de cobre pode afetar o metabolismo de lipídeos em ruminantes (ENGLE e SPEARS 2000; ENGLE et al. 2000a; ENGLE et al. 2000b; ENGLE et al. 2000c; ENGLE e SPEARS 2001). O mecanismo pelo qual o cobre afeta o perfil de ácidos graxos não está claro, mas inclui efeitos na desnaturação, esterificação e mobilização de triglicerídeos. O cobre tem alto potencial de redução, e no rúmen pode reduzir alguns equivalentes de redução na forma de NADPH e NADH, interferindo na biohidrogenação microbiana de ácidos graxos insaturados. O cobre pode reduzir a síntese de colesterol no intestino delgado por um mecanismo similar ao que ocorre no fígado em não ruminantes, resultando em diminuição de colesterol sérico e muscular (ENGLE et al. 2000a).

Engle et al. (2000a) conduziram experimento para determinar o efeito das fontes e níveis de cobre no metabolismo de lipídeos e colesterol em bovinos da raça Angus e Angus-Hereford em crescimento e terminação. Antes do período experimental foram feitas biópsias e determinações de cobre no fígado dos novilhos. Após as análises foram feitos grupos baseados no peso,

raça e também nos resultados das biópsias. Os bovinos foram submetidos a 6 tratamentos: 1) controle (sem a suplementação de cobre) ; 2) 20 mg de Cu/Kg de MS na forma de sulfato de cobre; 3) 40 mg de Cu/kg de MS na forma de sulfato de cobre; 4) 20 mg de Cu/kg de MS na forma de cobre citrico; 5) 20 mg de Cu/kg de MS na forma de proteinato de cobre; 6) 20 mg de Cu/kg de MS na forma de cloreto de cobre tribásico. No início do experimento, quando em fase de crescimento os animais foram alimentados com dieta à base de silagem de milho e farelo de soja. Foram feitas colheitas de sangue nos dias 0, 28 e 56, para posteriores análises de colesterol. Após esse período de crescimento, os animais passaram a receber uma dieta de alto concentrado e os mesmos tratamentos da primeira fase. Foram retiradas amostras de sangue no dia 0, 28, 56, 84, 96 e no final da fase de terminação. Seis animais por tratamento foram abatidos após receberem a dieta de terminação por 101 ou 121 dias. Durante a fase de crescimento, o desempenho dos animais não foi afetado pela suplementação de cobre, entretanto, na fase de terminação, a suplementação com cobre reduziu o ganho em 19%, o consumo em 6,3% e a eficiência alimentar em 14%. O colesterol sérico não foi afetado durante a fase de crescimento (56 dias iniciais). Durante a fase de terminação, o colesterol sérico não foi afetado até o 56º dia, entretanto, diminuiu nos bovinos suplementados com cobre, nos dias 84, 96 e 116, em relação ao grupo controle. A concentração de colesterol no músculo *Longissimus dorsi* tendeu a se reduzir ( $P < 0,11$ ) com a suplementação de cobre, os ácidos graxos insaturados (C18:2 e C18:3) nesse músculo aumentaram e os saturados tenderam a diminuir. A

concentração de cobre no músculo, o percentual de lipídeos no músculo e fígado e a gordura de marmoreio não foram afetados pelos tratamentos.

Engle e Spears (2000) avaliaram bovinos da raça Angus, em tratamentos sem a suplementação, com 10mg de Cu/kg de MS e 20mg de Cu/kg de MS, sendo a fonte o sulfato de cobre. Os bovinos receberam essa dieta por 96 ou 112 dias e no 86º e 92º dias foram colhidas amostras de líquido ruminal. Não houve diferença no pH e nos ácidos graxos voláteis do rúmen entre os tratamentos. A suplementação com cobre aumentou ( $P < 0,05$ ) a concentração de cobre no fígado, sendo que os novilhos suplementados com 20mg/kg de Cu tiveram maior concentração de cobre no fígado que os demais. As concentrações de cobre e lipídeos no músculo não foram afetadas, entretanto, o teor de colesterol diminuiu com a suplementação. Houve um aumento significativo nos ácidos graxos insaturados e uma tendência de diminuição dos saturados. A concentração de colesterol sérico diminuiu nos animais suplementados com cobre a partir do 56º dia. Esses resultados indicam que a adição de 10 ou 20mg de Cu/kg de MS às dietas de alto concentrado, contendo 4,9mg de Cu/kg de MS, altera o metabolismo de lipídeos e colesterol em novilhos, mas não muda a fermentação ruminal. O desempenho dos animais não foi afetado pela suplementação com cobre, em contraste com o experimento de Engle et al. (2000a) o qual encontrou redução de desempenho com a suplementação de cobre. A diferença entre esses dois experimentos pode estar na duração da suplementação com cobre; Engle et al. (2000a) adicionaram cobre a dieta na fase de crescimento e também na de terminação



(56, 96 ou 112 dias), Engle e Spears (2000) suplementaram cobre apenas na fase de terminação (101 ou 121 dias). Engle et al. (2000b) objetivando avaliar os efeitos da suplementação de cobre no metabolismo de lipídeos e catecolaminas, observaram que a concentração sérica de colesterol diminuiu com a suplementação de cobre em 10 ou 40mg/kg de MS. Os ácidos graxos não esterificados no soro também diminuíram com a suplementação de cobre. A deposição de gordura decresceu e o percentual de ácidos graxos polinsaturados aumentou com a suplementação de cobre ( $P < 0,10$ ).

Engle e Spears (2001) conduziram um experimento a fim de avaliar os efeitos de varias concentrações de cobre (0, 10 ou 40mg/kg de MS), na forma de sulfato, sobre o desempenho, características de carcaça e metabolismo de lipídeos em bovinos Simental em crescimento e terminação. Não foram encontradas alterações no colesterol plasmático e muscular com a suplementação de cobre, indicando que em bovinos da raça Simental não há efeito no metabolismo de colesterol. É interessante destacar que os bovinos dessa raça são os mais sensíveis à deficiência de cobre.

Brzoska e Sala (2001) encontraram efeito negativo entre cobre e o conteúdo de gordura do leite, entretanto, não foram observadas alterações nos teores de colesterol no leite.

Engle e Spears (2004), com o objetivo de avaliar os efeitos do sistema de terminação (pasto ou confinamento) e da suplementação de cobre, em novilhos da raça Angus, sobre a composição lipídica do músculo, concluíram que os novilhos recebendo a suplementação de cobre tiveram maior concentração de

ácido linoléico conjugado, C18:1 e C17:0 no músculo *Longissimus Dorsi*. Esses resultados indicaram que a suplementação de cobre altera a composição de ácidos graxos do músculo.

Johnson e Engle (2003), avaliando o efeito da fonte de cobre sobre o metabolismo de lipídeos e colesterol, em novilhos Angus, encontraram menor deposição de gordura nos animais suplementados com cobre em relação ao controle ( $P=0,07$ ). Entretanto, os autores concluíram que a suplementação de cobre teve pouco efeito sobre o perfil de lipídeos no sangue e tecidos, mas pareceu ter efeito direto no tecido adiposo propriamente dito. Os autores trabalharam com nível máximo de 20mg de Cobre/kg de MS.

Em ratos, Kim et al. (1992) mostraram que a deficiência de cobre causa hipercolesteromia pelo aumento hepático de GSH com aumento da atividade da HMG-CoA redutase. Os autores sugeriram que pela inibição da GSH por um inibidor específico (“BSO”), deveria haver aumento da atividade da enzima HMG-CoA redutase, aumentando a síntese de colesterol. Foram feitos dois experimentos, um com deficiência em cobre (Cu-D) e outro com níveis adequados de cobre (Cu-A). No 35º dia, o colesterol plasmático aumentou de 30 para 43% no grupo Cu-D. Em seguida, 10 de cada grupo receberam juntamente com a água 10mg de “BSO” por 2 semanas. No grupo Cu-D houve aumento de colesterol plasmático, GSH hepático e da atividade HMG-CoA redutase.

Dessa forma, a hipótese é que a alta concentração de cobre no fígado regule indiretamente a biossíntese de colesterol pelo decréscimo da forma

reduzida da glutathiona (GSH) e aumento da forma oxidada (GSSG). O decréscimo da GSH intracelular ocorre através da proteção das células hepáticas dos efeitos tóxicos dos radicais livres, provenientes da alta concentração de cobre. O cobre entra nas células do fígado sendo rapidamente transferido à metalotioneína (FREEDMAN citado por ENGLE et al. 2000b). O aumento da concentração da forma oxidada (GSSG) tem mostrado relação indireta com a atividade da enzima HMG-CoA (GILBERT citado por ENGLE e SPERS, 2001). Se a suplementação com cobre diminui a concentração celular da forma reduzida da glutathiona (GSH), então diminui a síntese de colesterol (BAKALLI et al. 1995).

Considerando a relação entre GSH-GSSG e HMG-CoA redutase reportadas por Kim (1992) e Bakalli et al. (1995), e a já abordada interação entre o selênio e cobre, o selênio também poderia ter influência no metabolismo do colesterol, uma vez que a enzima glutathiona peroxidase (GPx), que é selênio dependente, e a enzima glutathiona redutase (Gr) têm ação na relação GSH/GSSG. Poucos são os experimentos relacionando a suplementação de Se com o metabolismo do colesterol. Os estudos se resumem a experimentos realizados com ratos e coelhos como unidades experimentais para hipercolesteromia em humanos.

Kang et al. (1998) dividiram ratos machos em três grupos 1) controle; 2) alta gordura na dieta; 3) alta gordura na dieta com suplementação de selênio; e concluíram que no tratamento com selênio, os níveis séricos de colesterol foram menores quando comparados com o tratamento de alta gordura na dieta.

Cases et al. (1999) avaliaram o efeito do selênio e vitamina E em dietas de alto colesterol e observaram que o colesterol plasmático foi menor nos grupos suplementados com selênio, e que na ausência de Se na dieta, os ratos apresentaram maiores níveis de LDL.

Kang et al. (2000a) submeteram coelhos a três tratamentos: 1) controle; 2) alta gordura na dieta; 3) alta gordura na dieta com suplementação de selênio. Após três semanas, os autores concluíram que no tratamento 3, ou seja, o tratamento com suplementação de selênio, os níveis de colesterol séricos foram menores quando comparados ao tratamento sem a suplementação com selênio.

Kang et al. (2000b) estudaram o efeito da suplementação de selênio em ratos, com alimentação de alta concentração de gordura. Os autores concluíram que a suplementação de Se diminuiu a concentração de colesterol e triglicerídeos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local e Período

O experimento foi conduzido nas dependências da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, no Campus de Pirassununga-SP, por um período de 131 dias, entre os meses de Dezembro de 2004 a Abril de 2005. Foram usados 28 bovinos Brangus machos inteiros, com peso inicial  $395 \pm 15$  kg (Figura 1). Os animais foram alocados na área de confinamento experimental da PCAPS e da FZEA-USP. Foram utilizadas 28 baias as quais eram compostas por cocho e bebedouro automático.



Figura 1. Bovinos Brangus empregados no experimento.

## 4.2 Procedimento experimental

Inicialmente os animais foram adaptados à dieta e ao confinamento experimental por um período de 30 dias. Após o período de adaptação ocorreu, o experimento propriamente dito, que teve duração de 101 dias.

Os animais receberam dieta contendo alta proporção de concentrado (75%), sendo a fonte de volumoso a silagem de milho. Para o cálculo das exigências nutricionais foi utilizado o Cornell Net Carbohydrate and Protein System-CNCPS. A Tabela 1 apresenta a composição percentual da dieta basal usada no experimento e a Tabela 2 mostra a composição bromatológica da mesma.

TABELA 1. Composição percentual da dieta basal, em base seca.

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Silagem de milho	25,000
Milho grão	64,200
Soja extrusada	7,875
Ureia	0,967
Bicarbonato de sódio	0,300
Sal Branco	0,285
Cálcario	0,600
Rumensin	0,022
Sal mineral	0,750

TABELA 2. Composição bromatológica da dieta basal, em base seca.

<b>Ingredientes</b>	
Proteína Bruta	12,90 %
Extrato etéreo	4,21 %
FDN	18,34 %
FDA	16,05 %
Cobre	5,80 mg/kg
Selênio	0,06 mg/kg

As pesagens dos animais foram feitas em intervalos de 28 dias, após jejum completo de 18 horas. Os 28 bovinos foram divididos em 4 grupos, conforme os tratamentos descritos abaixo, totalizando 7 animais por tratamento:

**Tratamento 1:** Dieta basal sem a suplementação adicional de cobre e selênio.

**Tratamento 2:** Dieta basal com de 2mg de selênio/kg de matéria seca, na forma de selenito de sódio.

**Tratamento 3:** Dieta basal com suplementação de 40mg cobre de /kg de matéria seca, na forma de sulfato de cobre.

**Tratamento 4:** Dieta basal com suplementação de 40mg/kg de cobre, na forma de sulfato de cobre, e 2mg/kg de selênio, na forma de selenito de sódio.

Foram feitas 4 colheitas de sangue para análises de colesterol total. As colheitas foram feitas nos dias 28, 56, 84 de experimento (Figura 2).



Figura 2. Colheita de sangue.

Após o período de jejum, de 16 horas, os animais foram abatidos no Matadouro-Escola da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga, conforme procedimento rotineiro. Os animais foram insensibilizados com concussão cerebral e abatidos por sangria na veia jugular em posição vertical, seguida de esfolagem, evisceração, inspeção, serragem das carcaças ao meio, toalete e pesagem da carcaça quente (Figura 3).





Figura 3. Pesagem das carcaças.

Ainda no dia da desossa, as meias carcaças esquerdas foram serradas, entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costela (Figura 4), para medida da Área de Olho de Lombo (AOL) e da Espessura de Gordura (EG), com o auxílio de uma grade reticulada com escala em cm<sup>2</sup>, especial para essa finalidade.

Para a determinação de extrato etéreo, perfil de ácidos graxos e colesterol foram retiradas 4 amostras do músculo *Longissimus dorsi* (LD), de aproximadamente 2,5 cm de largura cada.

Foram colhidas amostras de líquido ruminal para análises de ácidos graxos voláteis, pH (Figura 5). Foram obtidas amostras do lóbulo direito do fígado (Figura 6) de cada animal para análises de glutathiona oxidada (GSH), glutathiona reduzida (GSSG), glutathiona peroxidase (GPx), cobre e selênio.



Figura 4. Músculo *Longissimus dorsi* na 12<sup>o</sup> costela usado para a determinação da espessura de gordura e área de olho de lombo.



Figura 5. Colheita de líquido ruminal para a determinação de ácidos graxos voláteis e pH ruminal.



Figura 6. Colheita de amostras do fígado

### 4.3 Procedimento Laboratorial

A Área de Olho de Lombo foi determinada através de seção entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas da meia carcaça esquerda, onde foi exposta uma seção transversal do músculo *Longissimus dorsi* (LD), na qual se fez a determinação da área com auxílio de régua quadriculada (“grid”). Os resultados foram expressos em cm<sup>2</sup>.

A Espessura de Gordura foi medida diretamente na mesma seção do músculo *Longissimus dorsi* (LD), utilizada para determinação da Área de Olho de Lombo, com auxílio de paquímetro, sendo os resultados expressos em mm.

As determinações de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente ácido, das rações obedeceram às recomendações da AOAC (1996) em suas respectivas normas (930.15; 942.05; 988.05; 954.02 e 973.18).

As determinações quantitativas e qualitativas dos ácidos graxos voláteis foram realizadas pelo laboratório de bromatologia FMVZ/USP segundo o método de ERWIN et al., (1961). O cobre no soro e no fígado foram analisados por espectrofotometria de absorção atômica. As análises de selênio foram realizadas após a digestão úmida nítrico-perclórico e leitura fluorimétrica (OLSON et al., 1975). Para a análise dos tecidos colhidos fígado e músculo, eles foram descongelados e tiveram um fragmento separado, retirado sempre da mesma região, lavado em água destilada deionizada, seco em papel absorvente descartável e pesado em balança de precisão. As análises de

colesterol no músculo foram feitas pelo método enzimático segundo Saldanha et al. (2004), conforme Figura 7.

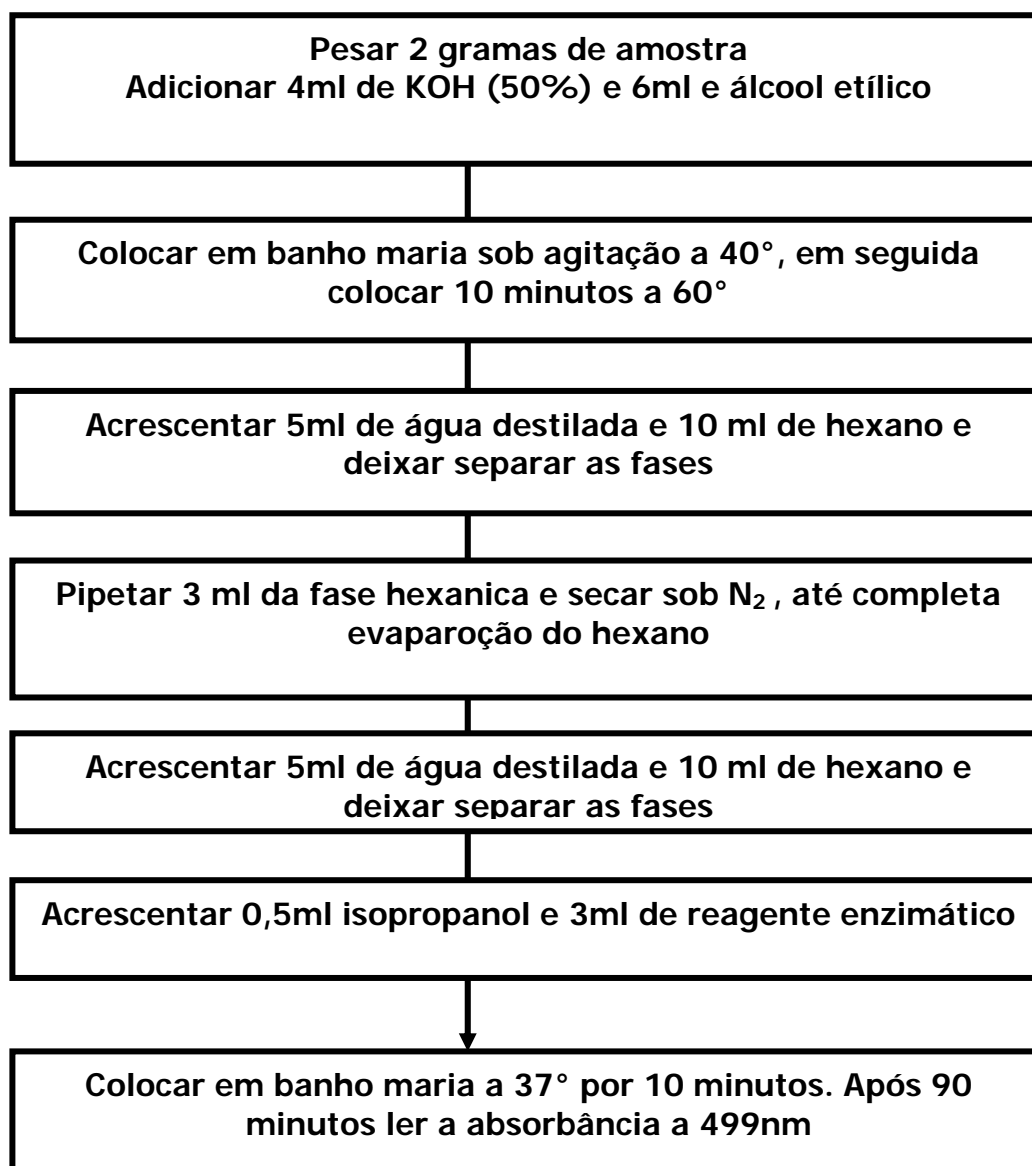


Figura 7. Fluxograma para determinação de colesterol em carne.

A fração de extrato etéreo no músculo foi determinada em extrator Soxhlet com o solvente clorofórmio, após prévia liofilização das amostras.

Foram utilizados 2 gramas de amostra, os quais foram previamente homogeneizados.

A composição de ácidos graxos do músculo LD foi realizada através de cromatografia gasosa de alta resolução, conforme metodologia descrita por Perez et al. (2002) e realizada no laboratório de Fisiologia Celular do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas – USP.

Utilizou-se tampão fosfato de sódio ( $10 \text{ mmol.L}^{-1}$ , pH 7,4) como meio de extração da glutathione peroxidase (GPx) no fígado. As amostras de fígado foram trituradas em homogeneizador tipo "potter" de alta velocidade durante 2 minutos na proporção de um grama para 10 mL de tampão de extração gelado ( $4,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Após homogeneização, centrifugaram-se as amostras a 8000 r.p.m. durante 10 minutos sob refrigeração. O sobrenadante foi retirado, cuidadosamente com uma pipeta Pasteur, transferido para tubos sob gelo e foi utilizado para determinar a atividade máxima das enzimas.

A atividade máxima da glutathione peroxidase (GPx) foi determinada espectrofotometricamente com base no decréscimo da concentração de NADPH em 340 nm. O meio de reação foi constituído de tampão fosfato de potássio ( $100 \text{ mmol.L}^{-1}$ , pH 7,0) contendo EDTA ( $3 \text{ mmol.L}^{-1}$ ), glutathione redutase (1 UI), NADPH ( $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ ), GSH ( $2 \text{ mmol.L}^{-1}$ ), azida de sódio ( $1 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) e cumene hidroperóxido (0,02%). A reação foi iniciada pela adição de cumene hidroperóxido e acompanhada por 3 min a  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Para se determinar a proporção GSH/GSSG, amostras do homogenato de fígado foram precipitadas em ácido sulfossalicílico 5%. A glutathiona total foi mensurada pelo método de reciclagem espectrofotométrico na presença de ácido nitrobenzoico, NADPH e glutathiona redutase, a 412nm. O GSSG foi determinado pela derivação direta do GSH, ao homogeneizar outra amostra do mesmo tecido na presença de N-etilmaleimida 12,5nM, seguida por hidrólise alcalina.

#### **4.4 Delineamento experimental**

O delineamento estatístico foi do tipo inteiramente casualizado, com 7 repetições por tratamento. Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, 1988), através de contrastes ortogonais pelo PROC GLM. Foi adotado um nível de 5% de significância para todos os dados analisados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Concentração de selênio e cobre no fígado

As Figuras 8 e 9 apresentam as concentrações de selênio e cobre, em miligramas por kg de fígado (em base seca).

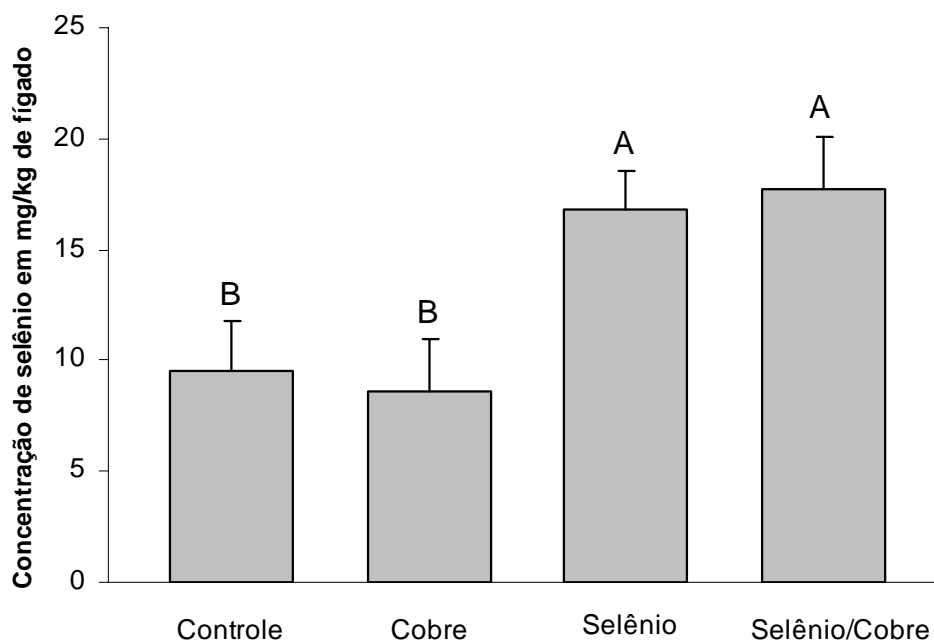


Figura 8. Concentração de selênio e desvios padrões, em mg por kg de fígado (em base seca) de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), suplementados com cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

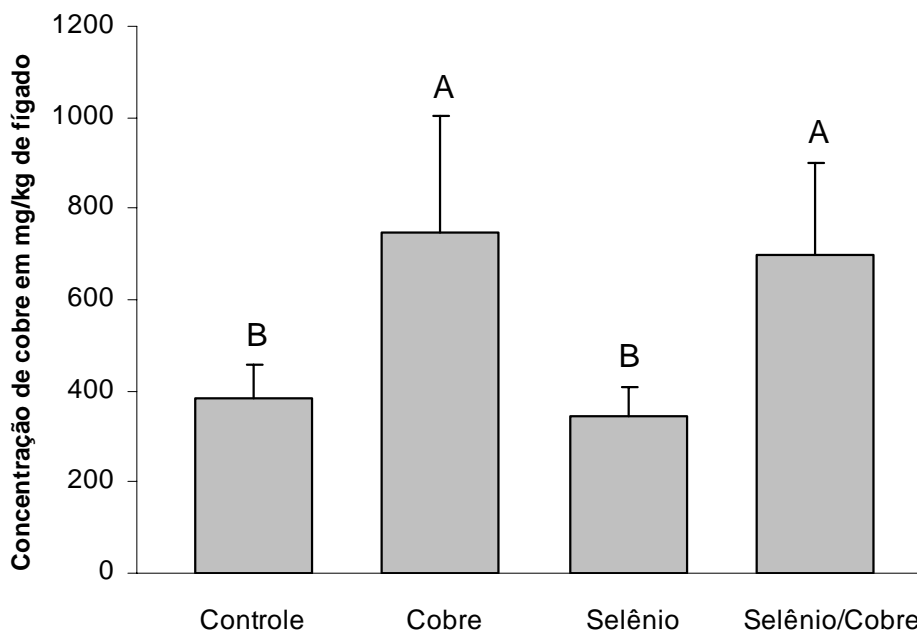


Figura 9. Concentração de cobre e desvios padrões, em mg por kg de fígado( em base seca de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), suplementados com cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

Os tratamentos selênio e selênio/cobre apresentaram maior concentração de selênio ( $P < 0,05$ ) no fígado que os tratamentos controle e cobre, os quais não apresentaram diferenças entre si ( $P > 0,05$ ). Para a concentração de cobre, os tratamentos cobre e selênio/cobre apresentaram maiores valores que os tratamentos controle e selênio ( $P < 0,05$ ), os quais não apresentaram diferenças entre si ( $P > 0,05$ ).

A concentração de selênio no fígado dos bovinos aumentou com a suplementação de selênio na dieta, tanto para a suplementação isolada quanto para o fornecimento em conjunto com o cobre. Dietas com suplementação de



selênio apresentaram maior acúmulo de selênio no fígado do que as dietas sem a suplementação de selênio. O selênio é distribuído por todo organismo, sendo que a maior parte do selênio absorvido, do selenito de sódio, é acumulada no fígado (HERDT, RUMBEIHA e BRASELTON, 2000). Segundo Valk e Horstra (2000), a concentração de selênio no fígado fornece uma indicação acurada da ingestão recente de selênio, o que explica os maiores valores encontrados nos tratamentos com maior selênio na dieta. As concentrações de selênio no fígado dos animais experimentais variaram entre 7,26 e 21,45 mg/kg de matéria seca. Segundo Underwood e Suttle (1999), distúrbios oriundos da intoxicação por selênio dependem do contínuo consumo, até que valores de saturação sejam alcançados nos tecidos. Para o fígado, segundo os autores, o valor de saturação pode variar de 20 a 30 mg/kg de MS. Dessa forma, mesmo nos tratamentos com alto selênio, apesar dos altos níveis encontrados, no fígado, não foram tóxicos, uma vez que foram respeitados os valores de toxidez dietéticos do NRC (2000).

O tratamento selênio não apresentou diferença ( $P>0,05$ ) quando comparado ao tratamento selênio/cobre, para a concentração de selênio no fígado. O tratamento cobre também não apresentou alterações nos níveis de selênio hepático, quando comparado com o controle. Esses dois resultados denotam que não houve interação entre selênio e cobre nos níveis estudados. McChowell (1985) afirmaram que as suplementações de grandes concentrações de sulfato de cobre resultaram em aumento de selênio no fígado. Van Ryssen et al. (1998) também afirmaram que um aumento no cobre

da dieta resultou em aumento significativo de selênio no fígado. Segundo Deol et al. (1994), níveis elevados de cobre aumentam os níveis de selênio hepático, o que, ocorre em função de uma interação indireta, resultado dos danos causados no fígado pelos altos níveis de cobre. No presente estudo, o nível de 40mg/kg, apesar de ser superior ao nível recomendado pelo NRC (2000), não é considerado tóxico o que explica a não interação com os níveis de selênio hepático.

A concentração de cobre hepática aumentou com o aumento dos níveis dietéticos desse mineral. O cobre, após ser absorvido, é transportado para o fígado, sendo esse o principal órgão de estocagem. A concentração hepática reflete o nível de cobre que está sendo ingerido pelo organismo (McDOWELL, 1992), o que explica os resultados obtidos no presente estudo, ou seja, maior concentração de cobre hepático nos tratamentos cobre e selênio/cobre. Nos tratamentos cobre e selênio/cobre, as concentrações médias de cobre encontradas foram de 748,37 e 696,48 mg/kg de MS e apesar de serem consideradas altas, nenhum animal apresentou sinal de intoxicação por cobre, sendo normais a anatomia e peso de rins e fígado.

Ao compararmos o tratamento selênio com o controle não observamos diferenças significativas no teor hepático de cobre. O tratamento selênio/cobre também não diferiu significativamente do tratamento cobre, o que nos mostra que não houve interação nos níveis estudados. Brisola (2000) encontrou diminuição de cobre sérico com a suplementação de selênio, entretanto, não houve efeito no cobre hepático, assim como no presente experimento.

McDowell e Gawthorne (1985) afirmaram que a suplementação com selênio para ovinos em crescimento com deficiência de cobre, resulta em aumento hepático de cobre, entretanto, esse efeito não é encontrado em ovinos em adequado “status” desse mineral. Em ovinos adultos, os autores afirmaram que suplementação de selênio não alterou o “status” de cobre. Se essa explicação for válida para bovinos, ela pode explicar os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que mesmo os animais do tratamento controle não estavam com deficiência de cobre e os animais utilizados no presente estudo estavam em fase de terminação.

## 5.2 Desempenho

Os valores referentes ao ganho de peso diário, ingestão de matéria seca e eficiência alimentar durante o confinamento experimental estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5 e Figuras 10, 11 e 12.

TABELA 3. Ganho de peso diário e desvios padrões, em kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre.

Período experimental	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
<b>0-28</b>	0,99 <sup>b</sup> ±	1,48 <sup>a</sup> ±	1,19 <sup>ab</sup> ±	1,05 <sup>ab</sup> ±	<b>0,04</b>	0,39	0,77	0,24	0,07	0,56
	0,57	0,33	0,30	0,44						
<b>28-56</b>	1,28±	1,36±	1,27±	1,31±	0,61	0,94	0,87	0,57	0,73	0,82
	0,42	0,26	0,17	0,26						
<b>56-84</b>	0,71 <sup>b</sup> ±	0,96 <sup>ab</sup> ±	1,14 <sup>a</sup> ±	1,08 <sup>a</sup> ±	0,17	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>	0,36	0,53	0,74
	0,17	0,32	0,46	0,26						
<b>84-101</b>	0,95 <sup>b</sup> ±	1,71 <sup>a</sup> ±	1,23 <sup>ab</sup> ±	1,35 <sup>ab</sup> ±	<b>0,01</b>	0,28	0,10	0,06	0,15	0,62
	0,72	0,09	0,31	0,52						
<b>Total</b>	0,98 <sup>b</sup> ±	1,35 <sup>a</sup> ±	1,21 <sup>ab</sup> ±	1,18 <sup>ab</sup> ±	<b>0,01</b>	0,06	0,09	0,26	0,17	0,84
	0,24	0,14	0,17	0,24						

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio)

Se= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio

Cu= Suplementação de 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre

Se/Cu= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

**A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu**

**B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu**

**Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05)**

TABELA 4. Ingestão de matéria seca diária e desvios padrões, em kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre.

Período experimental	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
<b>0-28</b>	10,57± 1,69	11,04± 1,22	11,07± 0,74	10,82± 1,17	0,50	0,41	0,71	0,96	0,75	0,73
<b>28-56</b>	10,01± 1,53	10,63± 1,48	10,70± 1,04	10,22± 1,63	0,40	0,43	0,78	0,93	0,61	0,56
<b>56-84</b>	9,82± 1,40	10,68± 1,41	10,79± 0,86	10,49± 1,74	0,21	0,29	0,19	0,88	0,81	0,69
<b>84-101</b>	10,22± 1,59	11,52± 1,43	11,13± 0,89	11,07± 1,82	0,11	0,28	0,29	0,64	0,57	0,93
<b>Total</b>	10,16± 1,32	10,89± 0,73	10,99± 1,31	10,65± 1,56	0,23	0,31	0,48	0,88	0,62	0,73

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio)

Se= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio

Cu= Suplementação de 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre

Se/Cu= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu

B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu

TABELA 5. Eficiência alimentar (ganho de peso/ingestão de matéria seca) e desvios padrões, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre.

Período experimental	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
<b>0-28</b>	0,09± 0,04	0,13± 0,02	0,10± 0,03	0,09± 0,03	<b>0,03</b>	0,36	0,80	0,22	<b>0,05</b>	0,50
<b>28-56</b>	0,12± 0,03	0,12± 0,01	0,11± 0,01	0,13± 0,02	0,81	0,54	0,69	0,40	0,87	0,32
<b>56-84</b>	0,07± 0,02	0,08± 0,02	0,10± 0,04	0,09± 0,02	0,38	0,06	0,13	0,28	0,52	0,63
<b>84-101</b>	0,08 <sup>b</sup> ± 0,06	0,15 <sup>a</sup> ± 0,01	0,11 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,12 <sup>ab</sup> ± 0,04	<b>0,01</b>	0,30	0,08	0,12	0,34	0,50
<b>Total</b>	0,09 <sup>c</sup> ± 0,01	0,12 <sup>a</sup> ± 0,01	0,11 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,10 <sup>b</sup> ± 0,01	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>	0,10	<b>0,05</b>	0,78

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio)

Se= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio

Cu= Suplementação de 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre

Se/Cu= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

**A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu**

**B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu**

**Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05)**

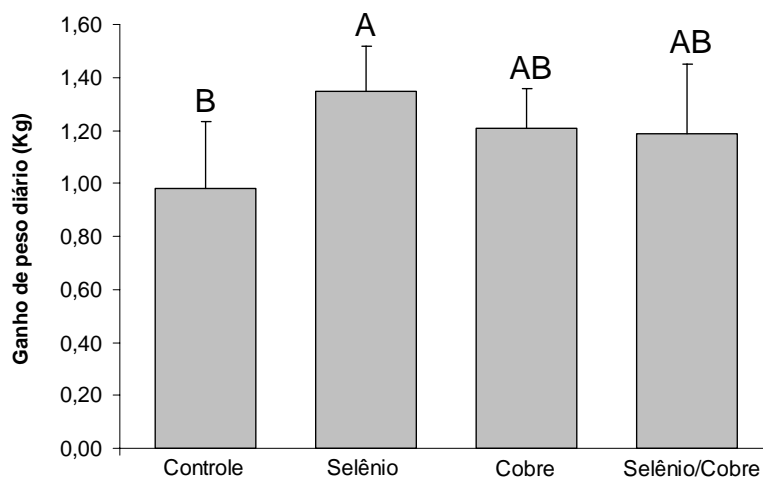


Figura 10. Ganho de peso diário (GPD) e desvios padrões, kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca), ou selênio (2mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca) durante confinamento experimental.

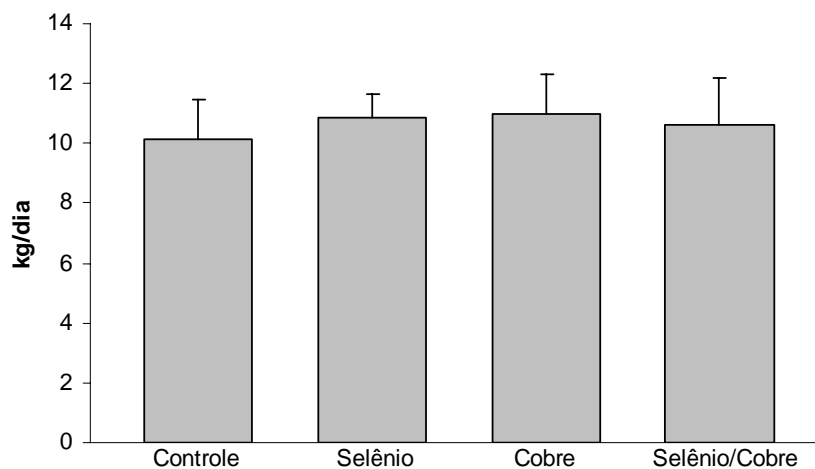


Figura 11. Ingestão de matéria seca (IMS) e desvios padrões, em kg por dia, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca), ou selênio (2mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca) durante confinamento experimental.

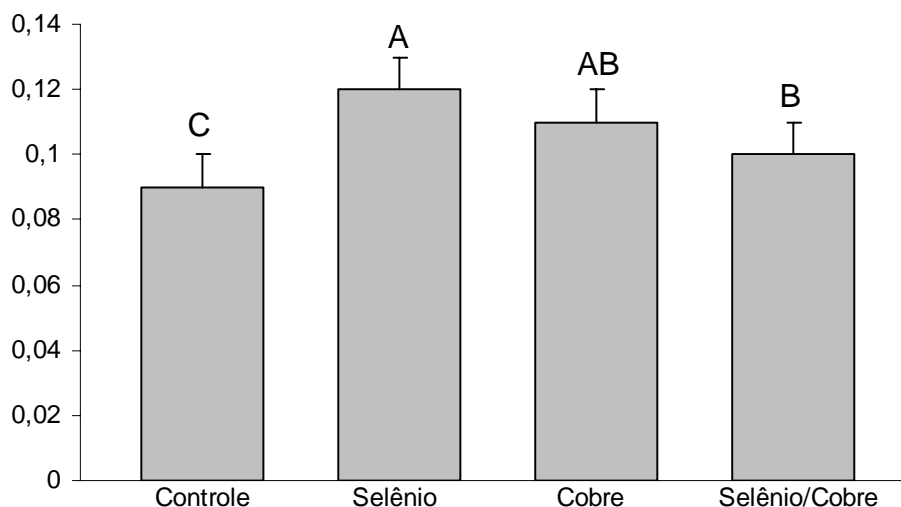


Figura 12. Eficiência alimentar (EA) e desvios padrões de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca) , selênio (2mg/kg de matéria seca), ou selênio (2mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca) durante confinamento experimental.

O tratamento com 2 mg/kg de selênio, suplementado na forma de selenito de sódio, apresentou maior ganho de peso diário ( $P < 0,05$ ) do que o tratamento controle. Não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para ingestão de matéria seca entre os tratamentos estudados. Para a eficiência alimentar os tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre foram superiores ( $P < 0,05$ ) ao controle. O tratamento selênio ainda apresentou maior eficiência alimentar que o tratamento selênio/cobre ( $P < 0,05$ ).

A explicação para o maior desempenho, encontrado para os animais suplementados com selênio, cobre e selênio/cobre, pode ser atribuída à ingestão desses minerais abaixo do preconizado pelo NRC (2000) no



tratamento controle. A dieta basal usada no tratamento controle apresentava cerca de 60% do valor preconizado pelo NRC, tanto no caso do selênio quanto do cobre. Não foi observado nenhum sinal clínico de deficiência, seja de cobre ou selênio, mas talvez essa ingestão abaixo dos níveis recomendados, pelo período de 101 dias, possa ter acarretado um desempenho inferiorizado dos animais não suplementados.

Lawler et al. (2004) suplementaram selênio com diferentes fontes para novilhos, com doses acima das preconizadas pelo NRC e não encontraram alteração no ganho de peso ou eficiência alimentar, entretanto, o tratamento controle desse estudo se apresentava dentro das recomendações de selênio preconizadas pelo NRC (2000). Ward e Spears (1997) e Engle e Spers (2000) reportaram que a suplementação de cobre aumentou a eficiência alimentar de bovinos durante o período de terminação, em relação aos bovinos do tratamento controle não suplementados com cobre, assim como os resultados obtidos no presente experimento. Entretanto, o efeito do cobre sobre o desempenho de bovinos apresenta resultados conflitantes na literatura. Para a suplementação de 40 mg de cobre/kg de MS, alguns experimentos encontraram queda de desempenho, resultado esse não observado no presente estudo. Engle et al. (2000a) em experimento desenvolvido com bovinos da raça Angus e Angus-Hereford em crescimento e terminação, com suplementação de 20 e 40 mg de Cu/kg de MS, não encontraram, durante a fase de crescimento, alteração no desempenho pela suplementação de cobre, entretanto, na fase de terminação, a suplementação com cobre reduziu o ganho em 19%, o consumo

em 6,3% e a eficiência alimentar em 14%. Engle e Spears (2000) e Engle et al. (2000c) em experimentos semelhantes ao anterior, não encontraram alteração no desempenho dos animais com a suplementação com cobre. A diferença entre os experimentos está na duração da suplementação desse mineral. Engle et al. (2000a) adicionaram cobre a dieta na fase de crescimento e também na de terminação; Engle e Spears (2000) e Engle et al. (2000c) suplementaram cobre apenas na fase de terminação. O presente estudo utilizou-se da suplementação de cobre nos níveis estudados, apenas durante o período de terminação dos animais (101 dias), o que explica o fato de não encontrarmos queda no desempenho. Alguns fatores podem contribuir para a discrepância de resultados na literatura em relação ao efeito do cobre no desempenho de bovinos, tais como: a duração da suplementação de cobre, o “status” inicial de cobre dos animais, presença ou não de antagonistas como o enxofre e o molibdênio, diferenças raciais, entre outras.

### 5.3 Rendimento de carcaça e perda pelo frio

Os valores referentes aos rendimentos de carcaça e perda pelo frio estão apresentados na Tabela 6.

TABELA 6. Rendimento de carcaça quente (% do peso vivo), rendimento de carcaça fria (% do peso vivo), perda pelo frio (% da carcaça quente) e respectivos desvios padrões, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre.

	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
<b>Rendimento de carcaça quente</b>	58,03± 1,46	58,15± 1,73	58,40± 1,72	58,93± 1,64	0,88	0,68	0,31	0,78	0,38	0,56
<b>Rendimento de carcaça fria</b>	57,64± 1,31	57,30 ±1,91	57,14± 1,56	57,93± 1,49	0,84	0,57	0,35	0,70	0,74	0,74
<b>Perda pelo frio</b>	1,52± 0,27	1,46± 0,36	1,30± 0,63	1,68± 0,40	0,83	0,42	0,55	0,55	0,42	0,17

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio)

Se= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio

Cu= Suplementação de 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre

Se/Cu= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

**A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu**

**B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu**

Não houve efeito significativo em rendimento de carcaça e perda pelo frio com a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre nos níveis estudados.

Engle et al. (2000a) encontraram diminuição no peso de carcaça de animais suplementados com 40 mg/kg de MS de cobre, entretanto, os autores também encontraram diminuição da espessura de gordura no músculo *Longissimus dorsi*, o que pode ser a explicação para esse resultado. Engle e Spears (2000) não encontraram alteração na perda pelo frio ou peso de carcaça quente com suplementação de 20 mg/kg de MS de cobre, entretanto, esses autores também não encontraram redução na espessura de gordura. Com relação aos tratamentos com selênio, assim como os resultados encontrados no presente estudo, alguns autores, Lawler et al. (2004); Mahan et al. (1999) suplementaram selênio e não encontraram alteração no peso de carcaça quente em novilhos e suínos, respectivamente.

O presente estudo não encontrou redução na espessura de gordura músculo *Longissimus dorsi*, como pode ser observado na Tabela 7, razão pela qual não foi encontrado alteração tanto para rendimento de carcaça quanto para perda pelo frio.

#### 5.4 Espessura de gordura (EP) , Área de olho de lombo (AOL) e extrato etéreo na carne.

Na Tabela 7 estão apresentados os valores de espessura de gordura (mm) e de área de olho de lombo (cm<sup>2</sup>). A Figura 13 apresenta a concentração de extrato etéreo, em gramas por 100 gramas de carne, na matéria original.

TABELA 7. Espessura de gordura subcutânea média e desvios padrões (mm) e área de olho de lombo média e desvios padrões (cm<sup>2</sup>) do músculo *Longissimus dorsi*, medidas na 5° e na 12° costela de bovinos recebendo dieta controle, suplementada com selênio, cobre ou selênio/cobre.

	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
EGS	8,14±	7,50±	7,16±	5,28±	0,71	0,57	0,09	0,85	0,21	0,28
12 °	3,48	2,07	3,43	3,14						
EGS	5,35±	3,00±	3,50±	2,25±	0,28	0,41	0,17	0,82	0,59	0,74
5 °	7,01	1,63	2,42	1,72						
AOL	74,28±	79,57±	75,83±	81,42±	0,22	0,72	0,10	0,40	0,21	0,66
12 °	6,67	3,04	13,13	6,32						
AOL	29,71±	33,71±	32,00±	33,00±	0,17	0,45	0,26	0,57	0,80	0,74
5 °	4,15	8,61	3,89	2,44						

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio)

Se= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio

Cu= Suplementação de 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre

Se/Cu= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

**A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu**

**B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu**

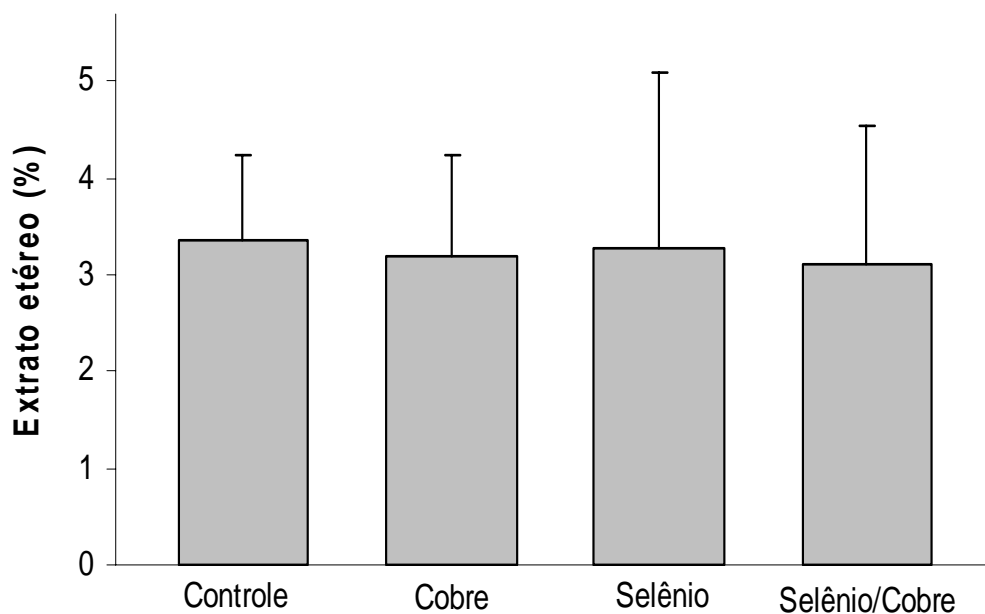


Figura 13. Extrato etéreo e desvios padrões, em % da matéria original, no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental.

Não foi observado efeito da suplementação de cobre, selênio, ou selênio/cobre na espessura de gordura e área de olho de lombo, tanto na altura da 5° quanto na da 12° costela. Entretanto, o tratamento selênio/cobre apresentou uma redução de 35% na espessura de gordura em relação ao tratamento controle ( $P=0.09$ ). Se a variação dos dados fosse menor, provavelmente encontraríamos uma diferença significativa ( $P<0.05$ ). Para a concentração de extrato etéreo no músculo *Longissimus dorsi*, não foram

encontradas diferenças em função dos tratamentos com selênio, cobre ou selênio/cobre ( $P>0,05$ ).

Alguns trabalhos reportaram queda da espessura de gordura e aumento da área de olho de lombo com a suplementação de cobre em 40 mg/kg de MS, são os trabalhos de Engle et al. (2000a); Engle e Spears (2000) e Ward e Spears (1997). A explicação desses autores está fundamentada no experimento realizado por Konjufca et al. (1997) com aves, onde foi encontrada queda de atividade da enzima ácido graxo sintetase com a elevação dos níveis de cobre. Dessa forma, a elevação dos níveis de cobre diminuiria a atividade dessa enzima e conseqüentemente a síntese de gordura, diminuindo a espessura de gordura e também a concentração de extrato etéreo na carne. O presente estudo não mensurou a atividade da enzima ácido graxo sintetase, entretanto, no experimento de Konjufca et al. (1997) os níveis de cobre utilizados foram muito superiores aos empregados no presente estudo (180 mg/kg de matéria seca), o que pode justificar os resultados do presente estudo para a suplementação isolada de cobre e selênio. Entretanto, para o tratamento selênio/cobre possivelmente os níveis utilizados sejam suficientes para a diminuição da atividade da enzima ácido graxo sintetase e conseqüentemente síntese de lipídeos.

Outra explicação para a diminuição de espessura de gordura nos experimentos de Engle et al. (2000a); Engle e Spears (2000) está na diminuição do desempenho dos animais suplementados com altas dosagens de cobre, fato esse que, como explicado anteriormente, não ocorreu no presente estudo.

Outra explicação ainda, seria um possível efeito do cobre no metabolismo ruminal. Segundo Hunter citado por Engle et al (2000c), o cobre pode servir como carreador de elétrons em processos de redução, dessa forma, podendo interferir na fermentação ruminal e conseqüentemente no metabolismo de lipídeos. Nos animais não ruminantes a síntese de lipídeos se dá principalmente no fígado e tem a glicose e eventualmente aminoácidos como precursores. Nos ruminantes, em vez da clivagem do citrato, os grupos de acetil-SCoA são produzidos diretamente a partir do acetato no tecido adiposo (KOZLOSKI, 2002). A produção de ácidos graxos voláteis no rúmen, no presente estudo, pode ser observada posteriormente nas figuras 15, 16, 17 e 18, e apresentou pouca variação pela suplementação de cobre ou selênio, o que pode explicar a ausência de alterações dessas suplementações na síntese de gordura, representadas pela espessura de gordura e concentração de extrato etéreo na carne. Com relação aos tratamentos com suplementação de selênio, Lawler et al. (2004) suplementaram selênio em novilhos e não encontraram alteração na espessura de gordura e marmorização da carne, assim como os resultados encontrados no presente experimento.



### 5.5 Fermentação ruminal

A Figura 14 apresenta o pH do rúmen de bovinos recebendo tratamento controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre. As Figuras 15, 16 e 17 apresentam as proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico, no rúmen dos bovinos nos diferentes tratamentos propostos.

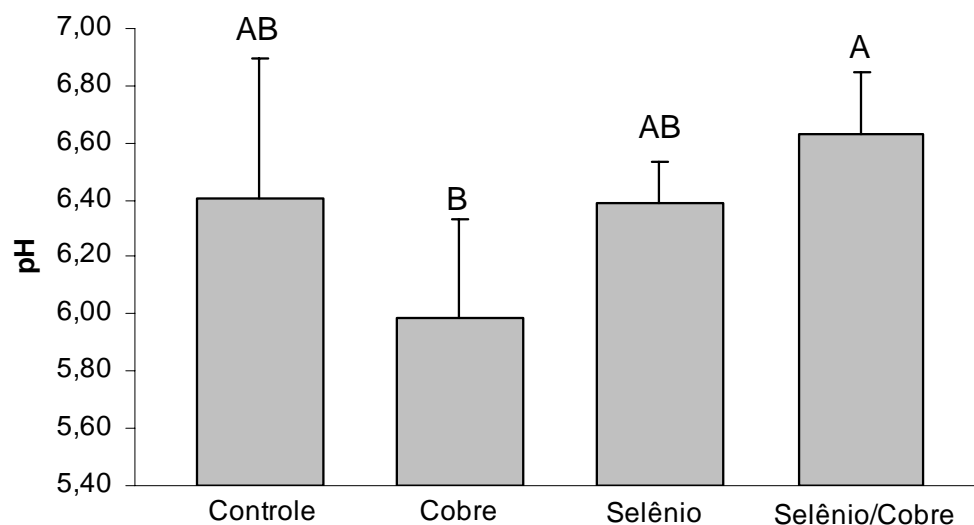


Figura 14. pH do rúmen e desvios padrões de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental.

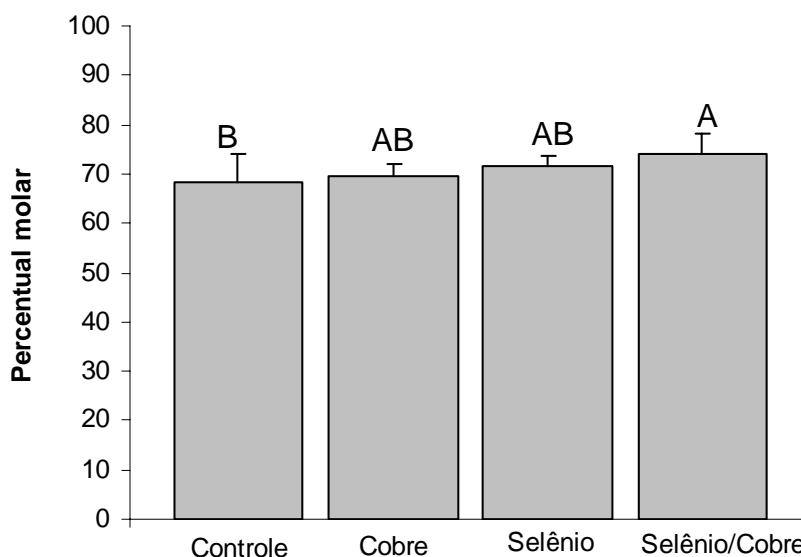


Figura 15. Ácido acético no rúmen e desvios padrões, em % molar, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental.

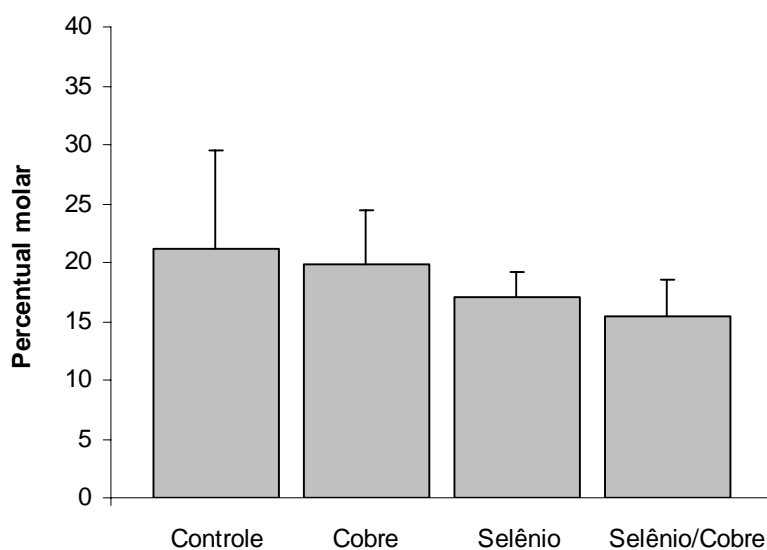


Figura 16. Ácido propiônico no rúmen e desvios padrões, em % molar, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental.

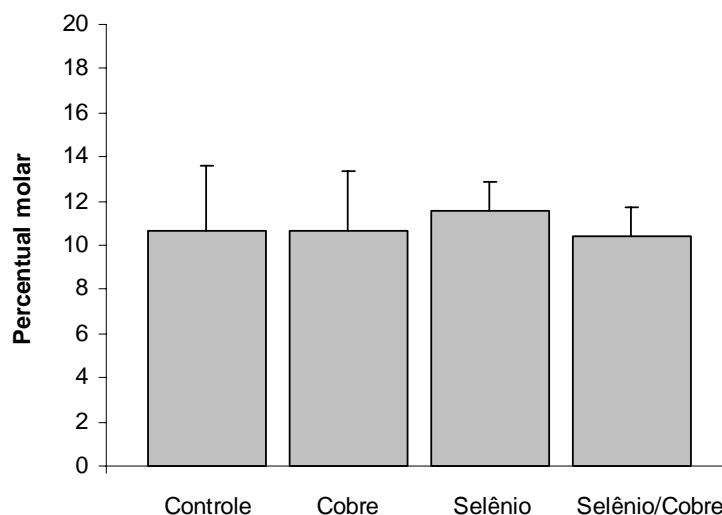


Figura 17. Ácido Butírico no rúmen e desvios padrões, em % molar, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental.

Através das figuras, podemos observar que o tratamento cobre apresentou menor pH ruminal, quando comparado com o tratamento selênio /cobre. O pH ruminal variou no presente estudo de 5,42 à 6,75, sendo considerado normal (BERCHIELLI, 2006). O pH do líquido ruminal reflete o balanço entre as taxas de produção e absorção ruminal dos ácidos graxos voláteis, o tamponamento por meio da saliva e a presença de tampões ou bases dos alimentos (VAN SOEST, 1994). No presente estudo, quando comparado com o grupo controle, não houve diferença no pH ruminal para nenhum tratamento. Assim como o resultados do presente estudo, Engle e Spears (2000), em experimento desenvolvido com novilhos Angus, suplementados com cobre em 10 ou 20mg/kg, não encontraram alteração no

pH do líquido ruminal quando comparados com o grupo controle, sem suplementação adicional de cobre.

Com relação aos ácidos graxos voláteis no rúmen, podemos observar que o tratamento selênio/cobre apresentou maior proporção de ácido acético, quando comparado com o controle ( $P < 0,05$ ). Para o ácido propiônico e ácido butírico, não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. Dessa forma, foi encontrado pouco efeito na fermentação ruminal com a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre. Engle et al. (2000a) afirmaram que a redução de desempenho dos animais de seu estudo deveu-se a uma diminuição de fermentação ruminal em função da suplementação de níveis fisiológicos de cobre, entretanto, nenhum parâmetro ruminal foi estudado naquele experimento. A explicação dos autores se baseou no experimento de Forsberg (1978) que afirmou que uma concentração de cobre de 21 mcg/mL pode diminuir o crescimento de certas populações de bactérias, com diminuição de fermentação ruminal. Engle e Spears (2000), em experimento desenvolvido com novilhos Angus suplementados em níveis fisiológicos de cobre, assim como o presente estudo, não encontraram alteração na fermentação ruminal. Dessa forma, possivelmente a suplementação de cobre ou selênio nos níveis estudados não é suficiente para uma alteração no crescimento de bactérias ruminais e conseqüentemente fermentação ruminal. Isso pode ser evidenciado pela pouca alteração na proporção de ácidos graxos voláteis e também por não haver queda de desempenho nos animais suplementados com cobre selênio ou selênio/cobre.

## 5.6 Perfil de ácidos graxos na carne

A Figura 18 e Tabela 11 apresentam as proporções molares dos ácidos graxos no músculo LD de bovinos, nos diferentes tratamentos.

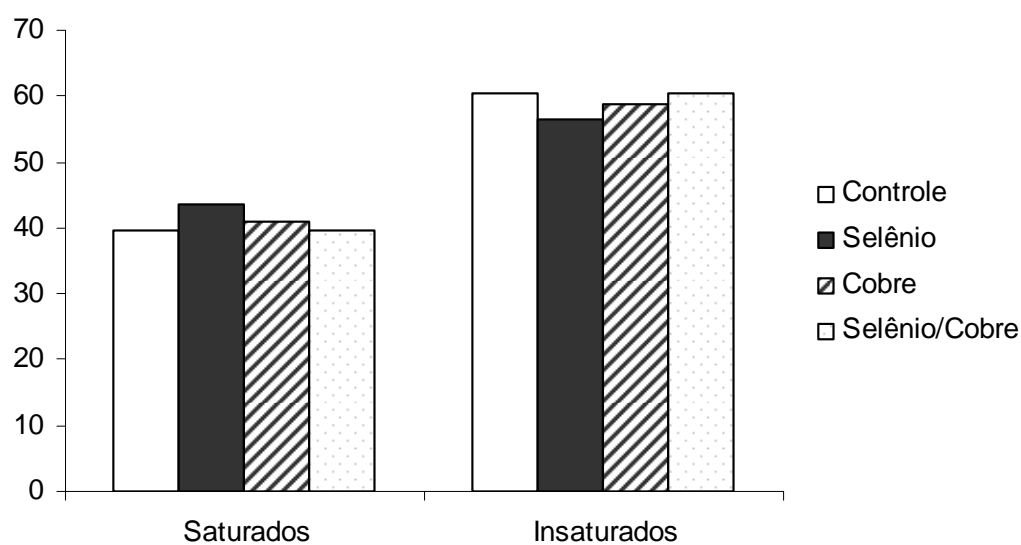


Figura 18. Ácidos graxos saturados e insaturados, em %, no músculo LD de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca), durante confinamento experimental.

TABELA 8. Perfil de ácidos graxos no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos recebendo dieta controle , selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) e selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

	Período experimental		Tratamentos		Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
Ácidos graxos										
Laurico	10,48±3,04	13,47± 4,59	13,64±5,35	12,61± 5,41	0,25	0,23	0,41	0,94	0,75	0,70
EPA	0,16± 0,43	0,25±0,63	0,31±0,77	0,58±0,69	0,79	0,67	0,24	0,87	0,38	0,46
Linolênico	7,39±6,36	7,71± 7,07	6,79± 3,55	8,32± 5,68	0,92	0,85	0,77	0,65	0,85	0,65
DHA	1,23±1,25	0,87±1,44	0,66±0,87	0,85±2,10	0,66	0,49	0,64	0,80	0,90	0,81
Mirístico	1,69±0,72	1,42±0,48	1,39±0,68	1,38±0,70	0,47	0,43	0,39	0,94	0,89	0,88
Palmitoleico	6,68±1,38	6,25±1,51	6,10±1,45	6,53±2,37	0,66	0,55	0,88	0,87	0,75	0,66
Linoleico	10,31 <sup>a</sup> ±3,35	8,58 <sup>ab</sup> ±2,1	8,48 <sup>ab</sup> ± 2,59	6,80 <sup>b</sup> ±1,97	0,24	0,22	<b>0,02</b>	0,95	0,25	0,27
Palmítico	8,83 <sup>a</sup> ±2,61	6,74 <sup>ab</sup> ± 1,93	7,00 <sup>ab</sup> ± 2,88	6,05 <sup>b</sup> ±2,41	0,14	0,20	<b>0,05</b>	0,85	0,64	0,51
Oléico	34,47± 3,14	32,75± 2,20	36,56± 7,96	37,30± 3,40	0,51	0,43	0,29	0,17	0,10	0,78
Esteárico	18,71± 7,88	21,94± 6,20	19,02 ± 5,37	19,54±5,25	0,92	0,37	0,81	0,43	0,52	0,88
Saturados	39,72±7,88	43,57± 6,03	41,07±7,46	39,59± 9,09	0,37	0,75	0,97	0,58	0,38	0,97
Insaturados	60,27± 7,88	56,42± 6,03	58,92± 7,46	60,41± 9,09	0,37	0,75	0,97	0,58	0,38	0,97

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio) Se= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio Cu= Suplementação de 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre Se/Cu= Suplementação de 2 mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40 mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre

A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu

B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05)

Não houve diferença significativa para proporção de ácidos saturados e insaturados com a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre. Pela Tabela 11 podemos observar menor proporção de ácido linoleico e palmítico com o tratamento selênio/cobre em relação ao controle ( $P < 0,05$ ).

Os resultados mostraram que a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre não alteraram o perfil de ácidos graxos na carne, na sua composição de ácidos graxos saturados ou insaturados. A composição de ácidos graxos na carne é resultado da lipogênese no tecido adiposo e também dos lipídeos da dieta e posterior biohidrogenação ruminal (BERCHIELLI et al. 2006). Alguns autores encontraram alteração na composição de ácidos graxos, diminuição de ácidos graxos saturados e aumento de insaturados com a suplementação de cobre nos níveis do presente estudo. Engle et al. (2000a) ; Engle et al. (1999) e Engle e Spears (2000) encontraram aumento de C18:2 e C18:3 com suplementação de níveis fisiológicos de cobre. A explicação desses autores residiu em uma queda de biohidrogenação ruminal promovida pelo cobre, e conseqüente aumento de absorção intestinal dos ácidos graxos insaturados. Engle et al. (2000b) explicaram que o alto potencial de redução do cobre no rúmen, pode diminuir equivalentes de redução na forma de NADPH e NADH, interferindo na biohidrogenação microbiana de ácidos graxos insaturados.

No presente estudo não foi encontrada alteração no perfil de ácidos graxos com a suplementação de cobre ou selênio. Dessa forma, não houve influência do cobre na biohidrogenação ruminal. Engle et al. (2000c) estudaram

o efeito da suplementação de cobre e óleo de soja na biohidrogenação ruminal e encontraram interação entre a suplementação de cobre e de óleo de soja. Os autores encontraram diminuição de biohidrogenação ruminal quando apenas o cobre foi oferecido, e aumento de biohidrogenação quando o cobre e óleo de soja foram oferecidos conjuntamente.

A fonte de lipídeos utilizada no presente estudo foi a da soja, presente na soja extrusada. Essa pode ter sido a razão pela qual não foram encontrados efeitos na composição de ácidos graxos com a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre, uma vez que a suplementação de cobre reduz a biohidrogenação, mas a suplementação conjunta com óleo de soja parece inibir esse efeito.

A diminuição do ácido linoleico e palmítico com o tratamento selênio/cobre em relação ao controle, não pode ser explicada biologicamente e não foi observada em nenhum trabalho da literatura.



## 5.7 Glutationa peroxidase

A Figura 19 apresenta a atividade da enzima glutathiona peroxidase frente aos diferentes tratamentos propostos.

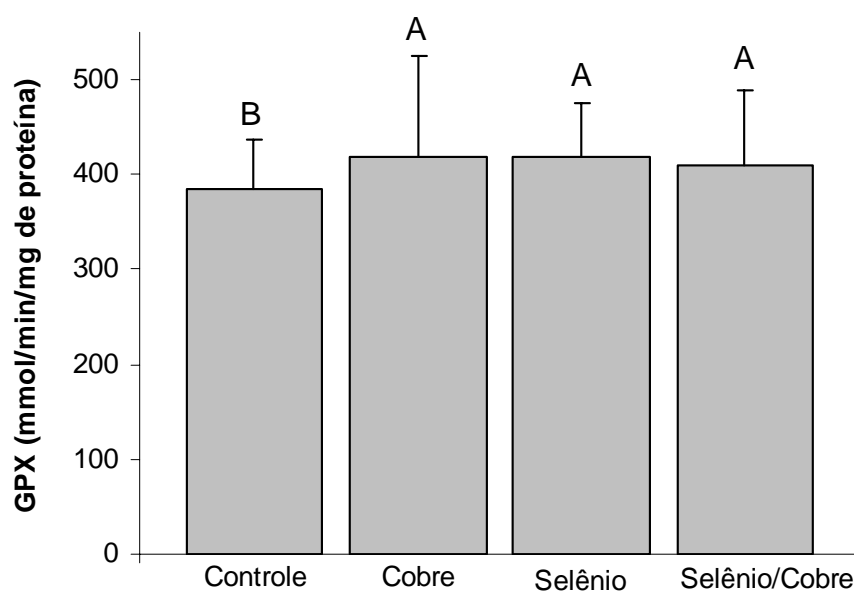


Figura 19. Atividade da enzima glutathiona peroxidase e desvios padrões, em mmol por minuto por mg de proteína do fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca)/cobre (40 mg/kg de matéria seca).

Pode-se observar que o tratamento selênio, cobre e selênio/cobre apresentaram maior atividade de glutathiona peroxidase ( $P < 0,05$ ) que o tratamento controle.

A glutathiona peroxidase é uma enzima que contém quatro átomos de selênio (Holben, 1999), apresentando a sua biossíntese induzida por selênio (Bengoumi et al., 1998). Daun e Akesson (2004) encontraram correlação significativa entre a atividade da GSH-Px e o conteúdo de selênio em diferentes órgãos de bovinos. A atividade da GSH-Px está relacionada com níveis de selênio no fígado de ovinos (SWORD Jr. et al., 1984) e bovinos (BENGOUMI et al., 1998). Isso explica os resultados obtidos no presente estudo, ou seja, maior atividade dessa enzima nos os tratamentos com maior consumo e maior acúmulo de selênio no fígado.

O tratamento cobre apresentou maior atividade de GSH-Px que o tratamento controle ( $P < 0,05$ ). Outros autores também relataram correlação entre atividade de GSH-Px e concentração de cobre. Rukgauer et al. (2001) encontraram aumento de atividade de GSH-Px em eritrócitos humanos com aumento da concentração de cobre. Segundo Uriu-Adams e Keen (2005) a deficiência de cobre diminui a atividade da GSH-Px selênio dependente no fígado, mas esse efeito não é encontrado com GSH-Px não selênio dependente, o que explica os resultados obtidos no presente estudo. Os resultados podem ser atribuídos, segundo Prohacalska et al. (1990), a um aumento de GSH-Px mRNA. O aumento de cobre no fígado pode aumentar a

atividade da enzima SOD e conseqüentemente aumentar peróxido de hidrogênio, dessa forma aumentando a necessidade de síntese de GSH-Px.

Dessa forma, a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre, nos níveis estudados aumenta a atividade da enzima glutathione peroxidase, podendo alterar o metabolismo da glutathione, o qual será visto posteriormente nas figuras 20, 21 e 22.

### 5.10 GSH e GSSG no fígado

As Figuras 20, 21 e 22 apresentam a concentração de GSH, GSSG e a relação entre GSH/GSSG no fígado dos bovinos, nos diferentes tratamentos propostos.

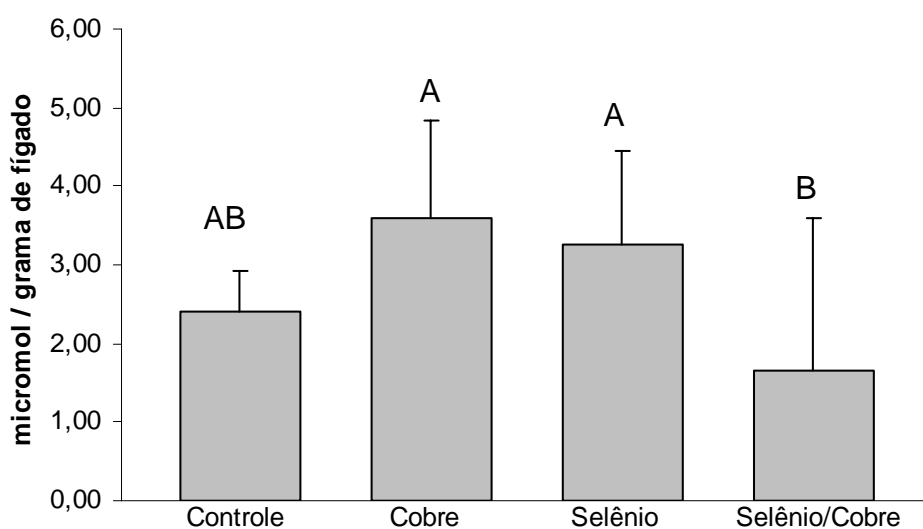


Figura 20. GSH e desvios padrões, em  $\mu\text{mol}$  por grama de fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca)/ cobre (40 mg/kg de matéria seca).

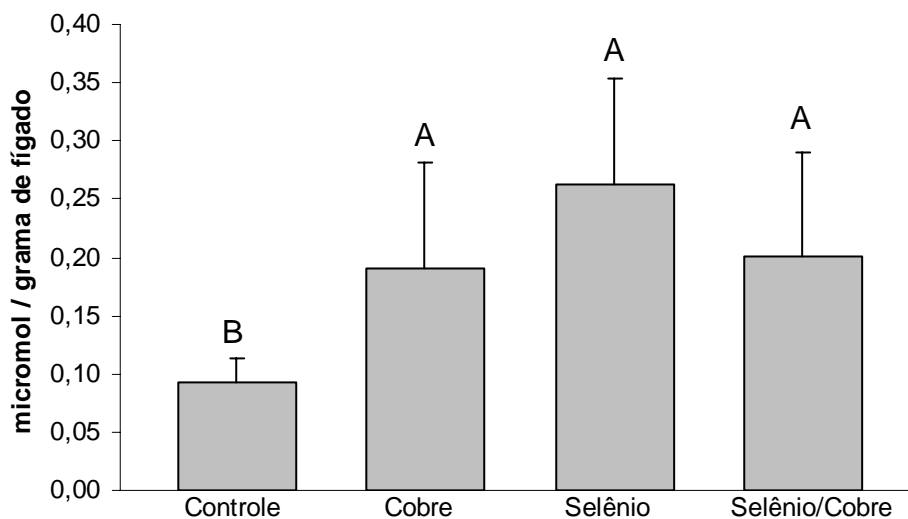


Figura 21. GSSG e desvios padrões, em  $\mu\text{mol}$  por grama de fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

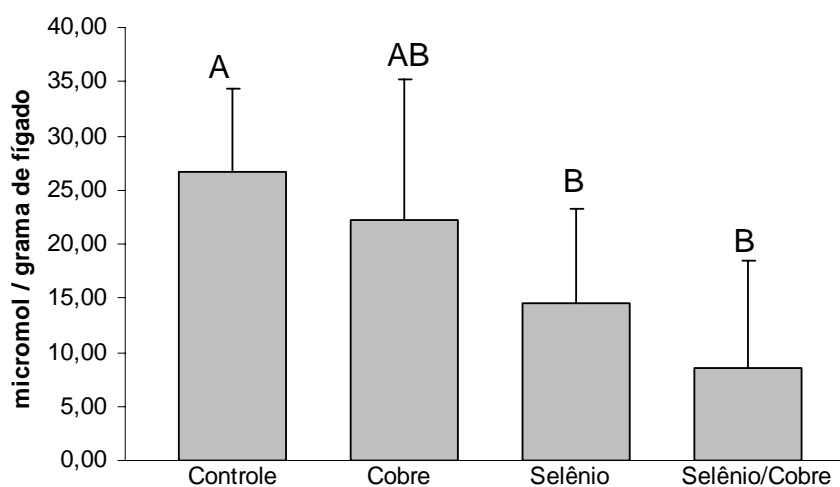


Figura 22. Relação entre GSH e GSSG e desvios padrões, em  $\mu\text{mol}$  por grama de fígado, de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), cobre (40 mg/kg de matéria seca), selênio (2mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

Conforme observado anteriormente os tratamentos selênio, selênio/cobre e cobre tiveram maior atividade da enzima GSH-Px, a qual tem ação na redução do peróxido de hidrogênio através da glutathione (GSH), formando a glutathione dissulfeto (GSSG). Dessa forma, era esperado um aumento de GSSG em detrimento de GSH, nos tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre. Podemos observar que o tratamento selênio/cobre apresentou menor concentração de GSH, quando comparado com os tratamentos selênio e cobre isolados ( $P < 0,05$ ), entretanto, os tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre não diferiram do tratamento controle. Para GSSG, conforme esperado, os tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre apresentaram valores superiores ao controle ( $P < 0,05$ ).

Segundo Uriu-Adams e Keen (2005), a deficiência de cobre ocasiona um aumento de síntese de GSH, aumentando a concentração hepática desse tripeptídeo. Entretanto, o GSH facilita a redução do  $\text{Cu}^{2+}$  para o  $\text{Cu}^+$ , formando um complexo de cobre e glutathione, diminuindo os níveis hepáticos de GSH. Alguns autores como, Jiménez e Speisky (2000), Freedman et al. (1989), encontraram diminuição dos níveis de GSH em dietas com suplementação de cobre, seja pelo seqüestro de glutathione ou mesmo por um aumento de atividade de glutathione peroxidase. O mesmo resultado também poderia ser esperado para o selênio e selênio/cobre, uma vez que aumento na atividade de glutathione peroxidase foi encontrado. Dessa forma, foi encontrado aumento de GSSG, também nesses tratamentos, entretanto não houve queda no GSH.

Chung e Maines citados por Sen (1997) afirmaram que o selênio apesar de aumentar a atividade da glutathiona peroxidase, também aumenta a atividade da  $\gamma$ - glutamilcisteína sintetase e da glutathiona redutase, o que aumentaria os níveis de GSH hepáticos, sendo uma resposta à queda possivelmente ocasionada pela maior atividade da GSH-Px. No experimento desses autores, 3 horas após a aplicação de selênio, os níveis de GSH diminuíram e os de GSSG aumentaram, entretanto, 24 horas após, houve um aumento de GSH, evidenciando um aumento de síntese.

O presente estudo não encontrou diminuição de GSH em nenhum dos tratamentos, em relação ao tratamento controle. Entretanto, encontrou o aumento esperado de GSSG. A síntese de GSH intracelular é regulada pela atividade da enzima glutamilcisteína sintetase, a qual é dependente da concentração de GSH (SEN, 1997). Dessa forma, a possível razão pela qual os tratamentos cobre, selênio e selênio/cobre não apresentaram menor concentração de GSH do que o tratamento controle, foi por um mecanismo regulatório de aumento de síntese de GSH em função de uma menor concentração anterior.

### 5.12 Concentração de colesterol no sangue e músculo

As Figuras 23, 24 e 25 apresentam a concentração de colesterol total, em mg por dL, no soro de bovinos nos diferentes tratamentos. Os valores referentes à concentração de colesterol no músculo *Longissimus dorsi*, em mg por 100 gramas de carne, estão apresentados na Figura 26.

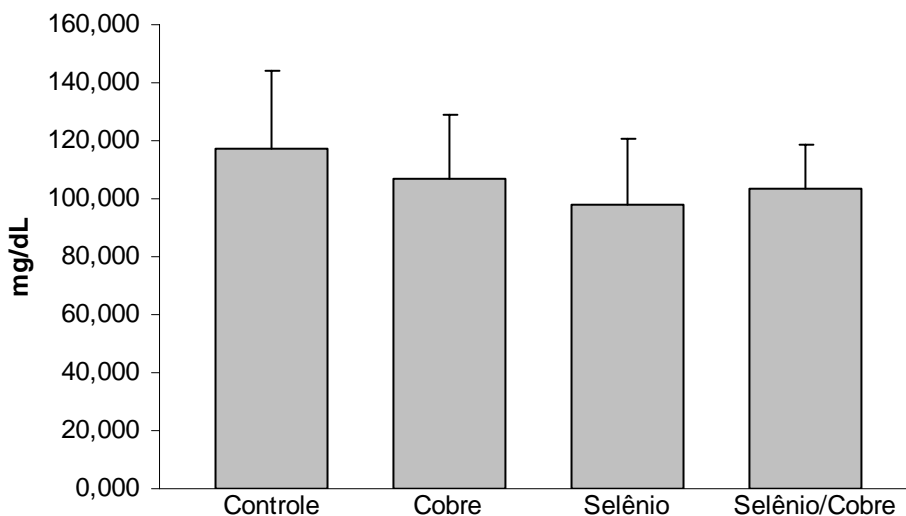


Figura 23. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por dL, no sangue de bovinos no 28º dia recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).



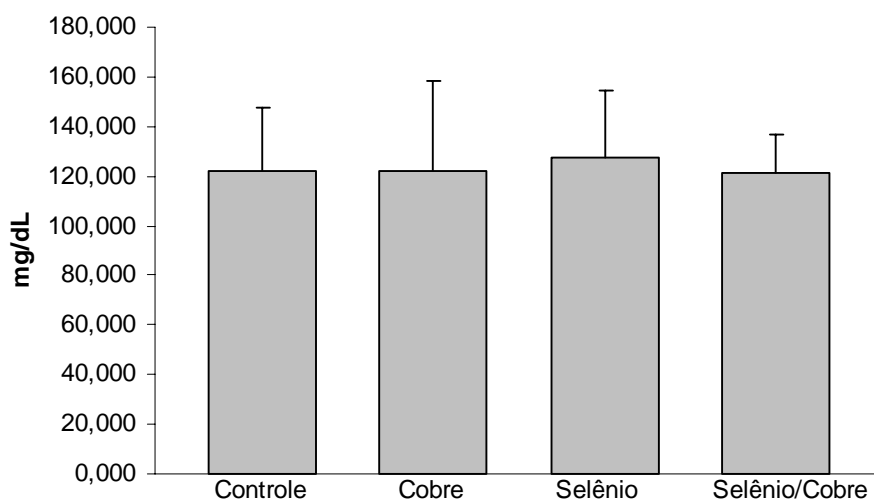


Figura 24. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por dL, no sangue de bovinos no 56° dia recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

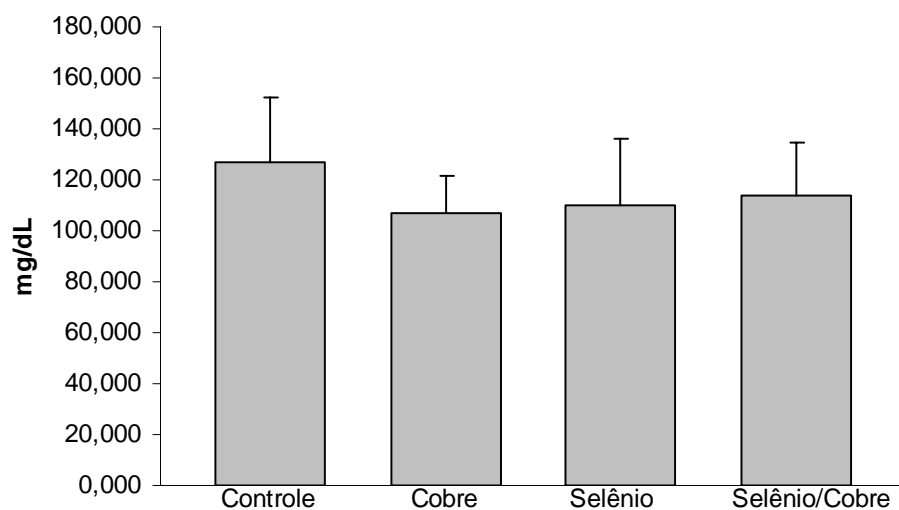


Figura 25. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por dL, no sangue de bovinos no 84° dia recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2 mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

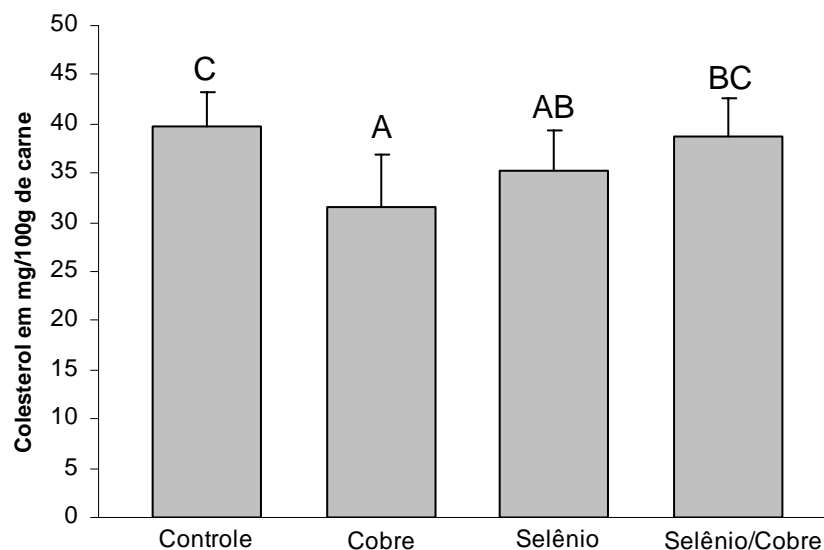


Figura 26. Concentração de colesterol e desvios padrões, em mg por 100 gramas de carne, no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de cobre de selênio), selênio (2mg/kg de matéria seca), cobre (40 mg/kg de matéria seca) ou selênio (2 mg/kg de matéria seca) / cobre (40 mg/kg de matéria seca).

Não houve efeito da suplementação de cobre, selênio ou selênio e cobre no colesterol sérico, 28, 56 ou 84 dias após o início do período experimental ( $P>0,05$ ). Para o colesterol muscular, os tratamentos com 40mg/kg de cobre e 2mg/kg de selênio suplementados separadamente, apresentaram menor concentração de colesterol muscular, que o tratamento controle ( $P<0,05$ ), entretanto, esse efeito não foi observado com a suplementação conjunta desses dois minerais, evidenciado no tratamento selênio/cobre, o qual não apresentou diferença em relação ao controle ( $P>0,05$ ).

Engle et al. (2000a) não encontraram efeito da suplementação de cobre nos níveis de colesterol sérico até o 56° dia, entretanto, esses níveis diminuíram no 96° dia. Dessa forma, no presente estudo, é possível que os níveis de colesterol sérico total tenham diminuído após o 84° dia de estudo, uma vez que após 101 dias de suplementação esses animais foram abatidos e uma menor deposição de colesterol no músculo LD foi observada nos tratamentos cobre e selênio em relação ao controle. Isso explica os resultados obtidos no presente estudo, para a não influência da suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre no colesterol sérico, no período e níveis estudados. Além disso, o colesterol total apresenta-se composto em grande parte por LDL, que apresenta meia-vida longa, ou seja, o efeito de diminuição de síntese poderia ter acontecido já no 84° dia, entretanto, ainda não evidenciado em função da meia vida longa do LDL.

Muitos autores têm mostrado relação entre a suplementação de cobre e o metabolismo de colesterol em diversos animais de exploração zootécnica. Assim como no presente estudo, alguns autores encontraram queda de deposição de colesterol no LD com a suplementação de cobre em ruminantes, entre eles Engle e Spears (2000); Engle et al. (2000a); Engle et al. (2000c) e em não ruminantes, como Konjufca, et al. (1997), Pesti e Bakalli (1996); Armstrong et al. (2001).

Kim et al. (1992) mostraram que a deficiência de cobre causa hipercolesterolemia pelo aumento hepático de GSH com aumento da atividade da

HMG-CoA redutase, que é a principal enzima reguladora da síntese de colesterol.

Dessa forma, a hipótese mais aceita é que a alta concentração de cobre no fígado, regule indiretamente a biossíntese de colesterol pelo decréscimo da forma reduzida da glutathiona (GSH) e aumento da forma oxidada (GSSG). O aumento da concentração da forma oxidada (GSSG), encontrado no presente estudo para os tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre, diminui a atividade da enzima HMG-CoA (GILBERT citado por ENGLE e SPEARS 2001). Segundo Armstrong et al. (2001) a HMG-CoA redutase requer “tiols”, como o GSH, para a sua atividade e dissulfetos, como o GSSG, diminuem a atividade dessa enzima.

O presente estudo não mensurou a atividade hepática da enzima HMG-CoA redutase, entretanto, a relação citada entre essa enzima e o metabolismo da glutathiona, explica os resultados obtidos. Ou seja, a diminuição de deposição de colesterol no músculo LD e, possivelmente, a síntese, no tratamento selênio e também no tratamento cobre. Esses tratamentos, como observado anteriormente, alteraram o metabolismo da glutathiona, com aumento de GSSG, o que possivelmente ocasionou queda de atividade da HMG-CoA redutase. A literatura não apresenta trabalhos relacionando a suplementação de selênio e a síntese, ou deposição, de colesterol em animais de interesse zootécnico, entretanto, a alteração no metabolismo da glutathiona justifica os resultados obtidos. Alguns autores, como, Kang et al. (1998); Cases et al. (1999); Kang et al. (2000a); Kang et al. (2000b) relataram diminuição de LDL ou colesterol total

com a suplementação de selênio, mesmo que a influência da suplementação de selênio na síntese de colesterol não fosse o objetivo desses autores.

No tratamento selênio/cobre também foram encontradas alterações no metabolismo da glutathione, entretanto, não foi observado diminuição de deposição de colesterol no músculo LD. Esse resultado pode ter ocorrido em função de um mecanismo adaptativo, com aumento da atividade da  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase e também da glutathione reductase, na tentativa de aumento dos GSH hepáticos. Dessa forma, apesar de não evidenciado nos níveis de GSH/GSSG analisados no presente estudo, esse mecanismo pode ter sido feito de forma eficiente não diminuindo a deposição de colesterol muscular e sérico. O metabolismo da glutathione é dinâmico, com constantes alterações na proporção GSH/GSSG, o que pode dificultar a exata interpretação dos resultados. Além disso, na maior parte dos mamíferos, o principal local de síntese de colesterol é o fígado. Entretanto, em ruminantes essa síntese também pode ocorrer nos enterócitos e tecido adiposo. O metabolismo da glutathione foi estudado no fígado, o que também dificulta a conclusão da relação entre o GSH/GSSG e síntese de colesterol.

## 6. CONCLUSÕES

A suplementação de cobre (40 mg/kg de MS) e selênio (2 mg/kg de MS) alterou o metabolismo de lipídeos em bovinos Brangus em terminação, através de uma diminuição da deposição de colesterol no LD, por alterar a proporção entre GSH/GSSG. O mesmo resultado não ocorreu com a suplementação conjunta desses minerais. Esse resultado sugere cautela nas recomendações de altas concentrações de selênio ou selênio juntamente com cobre, com o objetivo de diminuir a síntese de colesterol, uma vez que o selênio pode ter uma ação no aumento na biossíntese de GSH e conseqüentemente não diminuir de forma eficiente a síntese de colesterol. Nos níveis estudados e pelo período de 101 dias, a suplementação de selênio, cobre ou selênio/cobre não modificou a fermentação ruminal, síntese e perfil de ácidos graxos no músculo LD.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALARCON-CORREDOR, O. M. et al. Efecto de la suplementacion oral con cobre en el perfil lipídico de pacientes venezolanos hiperlipémicos. **Archivos Latino americanos de Nutricion**, v.50, n.3, p.249-256, 2000.

ARMSTRONG, T.A. et al. Effect of pharmacological concentrations of dietary copper on lipid and cholesterol metabolism in pigs. **Nutrition Research**, v.2, p. 1299-1308, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington: AOAC, 1996. 1298 p.

BAKALLI, R.I. et al. Dietary copper in excess of nutritional requeriments reduces plasma and breast muscle cholesterol of chickens. **Poult. Sci.** v.74, p.360-365, 1995.

BALEVI, T.; COSKUN, B. Effects of dietary copper on production and egg cholesterol content in laying hens. **British Poultry Science**, v.45, n.4, p.530-534, 2004.

BENGOUMI, M. et al. Comparative effects of selenium supplementation on the plasma selenium concentration and erythrocyte glutathione peroxidase activity in cattle and camels. **Journal of Animal Science**, v.67, p.461-466, 1998.

BERCHIELLI, T. T., PIRES, A.V, OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. v. 1. 583 p.

BOZKAYA, L.A. et al. Effects of Se. Cu and Se plus vitamin E deficiency on the activities of CuZnSOD, GSH-Px. CAT and LPO levels in Chicken Erythrocytes. **Cell Biochemistry and Function**, v.19. n. 3, p.153-157, 2001.

BRISOLA, M.L. **Efeitos de níveis crescentes de enxofre na dieta de cordeiros submetidos a nível tóxico de selênio**. 2000. 89 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

BRZOSKA, F.; SALA, K. The effect of fatty-acid calcium salt and copper supplementation of daily rations on milk yield and composition. lipid metabolism and cholesterol level in cow's milk. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.10, n.3, p.399-412, 2001.

CASES, J. et al. Glutathione related enzymic activities in rats receiving high cholesterol standard diets supplemented with two forms of selenium. **Food Chemistry**, v.65, p.207-211, 1999.

DAUN, C.; AKESSON, B. Glutathione peroxidase activity, and content of total and soluble selenium in five bovine and porcine organs used in meat production. **Meat Science**, v.66, p.801-807, 2004

DEOL, H.,S.; HOWELL, J.M; DORLING, P.R. Effect of the ingestion of heliotrope and copper on the concentration of zinc, selenium and molybdenum in the liver of sheep. **J. Comparative Pathology**, v.110, p.303-307, 1994.

ENGLE, R.W. et al. Effect of copper intake on concentration in body tissue and on growth, reproduction and production in dairy cattle. **J. Anim. Sci.**, v.23, p. 1160-1164, 1964.

ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W. Dietary copper effects on lipid metabolism, performance and ruminal fermentation in finishing steers. **J. Anim. Sci.**, v.78, p.2352-2458, 2000.

ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W. Effect of finishing system (feedlot or pasture), high oil maize, and copper on conjugated linoleic and other fatty acids in muscle of finishing steers. **J. Anim. Sci.**, v.78, p. 261-269, 2004.

ENGLE, T.E. et al. Performance and lipid and cholesterol metabolism in finishing steers fed varying concentration of copper. **J. Anim. Sci**, v.77, suppl. 1, p.2446-2451, 1999.



ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W. Performance, carcass characteristics and lipid metabolism in growing and finishing Simmental steers fed varying concentration of copper. **J. Anim. Sci.** v.79, p.2920-2925, 2001.

ENGLE, T.E. et al. Effects of dietary copper source and concentration on carcass characteristics and lipid and cholesterol metabolism in growing and finishing steers. **J. Anim. Sci.** v.78, p.1053-1050, 2000a.

ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W.; EDENS, F.W. Dietary copper effects on lipid metabolism and circulating catecholamine concentration in finishing steers. **J. Anim. Sci.** v.78, p.2737-2744, 2000b.

ENGLE, T.E. et al. Effects of dietary soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. **J. Anim. Sci.** v.78, p.2713-2721, 2000c.

ERWIN, W. S., MARCO, G. J., MERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid gas chromatography. **Journal Dairy Science**, v.44, p.1768-1771, 1961.

FETTMAN, M. J. Comparative aspects of glutathione metabolism affecting individual susceptibility to oxidant injury. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v.13, p.1079-1091, 1991.

FORSBERG, C., W. Effects of heavy metals and other trace elements on the fermentative activity of the rumen microflora and growth of functionally important bacteria. **Can. J. Microbiol.**, v.24, p.298-306, 1978.

HERDT, T.H.; RUMBEIHA, W.; BRASELTON, W. E. The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. **Vet. Clin North Am Food Anim Pract.**, v.16, p. 423-444, 2000.

HOLBEN, D. H. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. **J. Am. Diet Assoc.**, v.99, p.836-843, 1999.

JONSON, L.R.; ENGLE, T.E. The effects of copper source and concentration on lipid metabolism in growing and finishing Angus steers. **Asian-Australasian Journal of Anim. Sci.** v.18, n.8, p.1131-1136, 2003.

JIMENEZ I, SPEISKY H. Effects of copper ions on the free radical-scavenging properties of reduced glutathione: implications of a complex formation. **J Trace Elem Med Biol.**, v.14, p.161-167, 2000.

KANG, B.P.S.; BANSAL, M.P.; MEHATA, U. Hyperlipidemia and type I 5' monodeiodinase activity - Regulation by selenium supplementation in rabbits. **Biological Trace Element Research.** v.77, n.3, p.231-239, 2000a.

KANG, B.P.S.; BANSAL, M.P.; MEHATA, U. Hyperlipidemia and type I 5' monodeiodinase activity- Regulation by selenium supplementation. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics.** v.37, n.3, p.183-187, 2000b.

KANG, B.P.S.; BANSAL, M.P.; MEHATA, U. Selenium supplementation and diet induced hypercholesterolemia in the rat: Changes in lipid levels, malanoyldialhyde production and the nitric oxide synthase activity. **General Physiology and Biophysics,** v.17, n.1, p.71-78, 1998.

KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W. Bioavailability of feed grade copper sources in growing cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 71, p.27-35, 1993.

KIM, S.; CHAO, P.Y.; ALLEN, G.D. Inhibition of elevated hepatic glutathione abolishes copper deficiency cholesterolemia. **FASEB J.** v.6, p.2467-2471, 1992.

KONJUFCA V.H.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I. Modulation of Cholesterol Levels in Broiler Meat by Garlic and Copper. **Poult. Sci.**, v.76, p.1264-1271, 1997.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes.** Santa Maria: UFSM, 2002, 140p.

LAWLER, T.L. et al. Effect of supranutritional and organically bond selenium on performance carcass characteristics, and selenium distribution in fishing beff steers **J. Anim. Sci.**, v. 82, p.1488-1493, 2004.

MAYNARD, L.A. **Nutrição animal**. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. p.260-280.

MAHAN, D.C., CLINE, T. R; RICHERT. T. Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. **J. Anim. Sci.**, v.77, p.2172-2179, 1999.

McCHOWELL. J. GAWTHORNE. J.M. **CRC Press**. Flórida: Cooper in Animals and Man, 1985.

McDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. New York: Academic Press, 1992.

MURRAY, R.K. et al. **Harper**: Bioquímica. 8.ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of cattle**. Washington: National Academy Press, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Mineral tolerance of animals**. 2 ed, Washington: National Academy Press, 2005.

O'DELL, B.L.; SUNDE, R.A. **Handbook of nutritionally essential mineral elements**. New York: Marcel Dekker, 1997. 692 p.

OLSON, O.E.; PALMER, I.S.; CARY, E.E. Modification of the official fluorimetric method for selenium in plants. **J. Assoc. Off. Agric. Chem.**, v.58, n.1, p.117-121, 1975.

OMAYE, S. T.; TAPPEL, C. Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in the chick. **Journal of Nutrition**, v.104, p.747, 1974.

PEREZ, J.R.O. et al. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e bergamácia sobre o perfil de ácidos graxos, colesterol e propriedades químicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.1, p.11-18, 2002.

PESTI, M. G.; BAKALLI, R. L. Studies on feeding of cupric sulfate pentahydrate and cupric citrate to broiler chickens. **Poult. Sci.**, v.75, p.1086-1091, 1996.

PROHASKA, J.R. Biochemical changes in copper deficiency. **Journal of Nutrition Biochemistry**, Stoneham, v.1, n.9, p.452-461, 1990.

REY, A.I.; LOPEZ-BOTE, C.J.; BUCKLEY, J.D. Effect of feed on cholesterol concentration and oxidation products development of longissimus dorsi muscle from Iberian pigs. **Irish journal of agricultural and food research**, v.43, n. 1, p.69-83, 2004.

RUKGAUER, M.; NEUGEBAUER, R.J.; PLECKO, T. The relation between selenium, zinc and copper concentration and the trace element dependent antioxidative status. **Journal of Trace Elements in Medicine And Biology**, v.15, n.3, p.73-78, 2001.

SALDANHA, T.; MAZALLI, M.R.; BRAGAGNOLO, N. Avaliação comparativa entre dois métodos para determinação do colesterol em carnes e leite. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.24, n.1, p.109-113, 2004.

SARAN NETTO, A. **Efeitos da interação Selênio**: enxofre e cobre na dieta de cordeiros. 2002. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002..

SAS. **SAS start guide**. Version 6.03. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1988. 1028p.

SEN, C.K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **Nutritional Biochemistry**, v.8, p.660-672, 1997.

SKRIVAN, M. et al. Effect of copper sulphate supplementation on performance of broiler chickens, cholesterol content and fatty acid profile of meat. **Czech Journal of Animal Science**, v.47, n.7, p.275-280, 2002.

SOLI, N.E. Chronic copper poisoning in sheep. **Norway Veterinary Medicine**, v.32, p.75-89. 1980.

SWORD Jr., J.T. et al. Effect of calcium phosphates and zinc in salt-mineral mixtures on ad libitum salt-mix intake and on zinc and selenium status of sheep. **Journal of Animal Science**, v.59, p.1594-1600, 1984.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**, 3.ed. New York: CABI, 1999. 624p.

URI-ADAMS, J.Y.; KEEN, C. L. Copper, oxidative stress, and human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v.26, p.268-298, 2005.

VALK, E. E.; HORSTRA, G. Relationship between vitamin E requirement and polyunsaturated fatty acid intake in man: a review. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v.70, p. 30-41, 2000.

VAN RYSEN, J.B.J.; VAN MALSEN, P.S.M.; HARTMANN, F. Contribution of dietary sulphur to the interaction between selenium and copper in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.130, p.107-114, 1998.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the Ruminant**. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.

WARD, J.D.; SPEARS, Long-Term effects of Consumption of low-Copper Diets With or Without Supplemental Molybdenum on Copper Status, Performance, and Carcass Characteristics of Cattle. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.3057-3065, 1997.