

11662
1
2 y

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES DE CUAUTITLAN



EL COBRE COMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO EN CERDOS Y SU INTERACCION CON ALGUNOS MINERALES TRAZA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN NUTRICION ANIMAL
P R E S E N T A
M. V. Z. PATRICIA GARCIA ROJAS MONTIEL
Asesor: DR. JOSE A. CUARON IBARGUENGOYTIA
CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO, 1990

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Página.
RESUMEN	ii
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS	11
RESULTADOS	17
DISCUSION	27
CONCLUSIONES	31
LITERATURA CITADA	32
ANEXOS	36

RESUMEN

Se realizaron dos experimentos con la finalidad de estudiar el uso del sulfato de cobre como promotor del crecimiento en cerdos y su interacción con los minerales traza. El primer experimento se realizó con la finalidad de determinar la combinación óptima de los minerales Fe y Zn, probando niveles de 0, 50 y 100 ppm, con el cobre adicionado a 250 ppm. Los valores de hematocrito, hemoglobina, ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento y eficiencia alimenticia fueron similares ($P > 0.05$), la presencia de fierro o fierro+zinc previno la acumulación de cobre en hígado ($P < 0.05$) en un 42 %, mientras que Zn sólo, en un 20 % observándose que ambos minerales son efectivos para prevenir la acumulación, pero el efecto del Fe resulta de mayor relevancia al promover adicionalmente la remoción del Cu. El segundo experimento se efectuó con la finalidad de estudiar el nivel de protección que ofrece la combinación de los minerales Fe y Zn obtenida de los resultados del experimento anterior, niveles de 100 y 50 ppm respectivamente, con el cobre adicionado a 250 ppm, y los valores cuadruplicados de estos (tratamiento 3, Basal+ 1000 ppm de Cu+400 ppm de Fe+ 200 ppm Zn y tratamiento 4, Basal + 1000 ppm de Cu).

La hemoglobina, hematocrito, ganancia diaria de peso y consumo diario de alimento y eficiencia alimenticia fueron similares ($P > 0.01$) entre el tratamiento 1 (BASAL) y el tratamiento 2, (Basal + 250 ppm de Cu+ 400 ppm de Fe + 200 ppm Zn); no así entre los tratamientos 3 y 4 donde si existió una diferencia ($P < 0.01$) entre los valores. En lo que se refiere a la concentración de Cu en hígado, tuvo un comportamiento similar al señalado con los otros parámetros, i.e., no se encontró diferencia entre los tratamientos BASAL y BASAL+Cu+Fe+Zn y si de estos en relación a los tratamientos con los niveles tóxicos de Cu ($P < 0.01$). Los resultados mostraron que la premezcla sugerida posiblemente prevenga la acumulación de cobre en el hígado, por lo que se podría recomendar la utilización de Fe y Zn de manera rutinaria cuando se adicione el cobre como promotor del crecimiento en cerdos.

INTRODUCCION

El constante esfuerzo para producir alimento para los humanos a partir de fuentes de origen animal de manera más eficiente y al más bajo costo para el consumidor, ha estimulado la búsqueda continua de combinaciones de alimentos conocidos y nuevos aditivos, los cuales incrementan la eficiencia y velocidad de crecimiento de los animales (14, 24).

Esto ha originado que se haya difundido la utilización de antibióticos, hormonas y otros productos en la explotación animal. Aunque estos materiales no son nutrientes y no pueden ser considerados esenciales, es importante señalar su efecto al ser empleados.

Varias drogas son agregadas a los alimentos pecuarios para incrementar la velocidad de crecimiento y la conversión alimenticia, así como para promover un buen estado de salud.

Los aditivos promotores del crecimiento incluyen, entre otros: antibióticos, probióticos y algunos compuestos de origen mineral, los cuales han sido estudiados desde hace tiempo, encontrándose entre sus posibles modos de acción los que se citan a continuación (2):

-Evitar el engrosamiento del intestino delgado, debido a la inflamación provocada por la presencia de agentes patógenos, por lo cual los nutrientes son mejor absorbidos.

- Reducir los niveles de toxinas bacterianas, para mejorar la digestión de los nutrientes.
- Modular a nivel metabólico la conducción de los nutrientes.
- Disminuir la probabilidad de presencia de infecciones subclínicas.

En el caso de los antibióticos ha sido demostrado que tienen un número de efectos positivos en los animales en crecimiento, por ejemplo:

Reducen la destrucción de aminoácidos y vitaminas por bacterias patógenas, reducen la competencia de la microflora intestinal y favorecen la síntesis de nutrientes a partir de microorganismos benéficos, previenen el engrosamiento de la pared del intestino y aparentemente mejoran la absorción de los nutrientes, inhiben la producción de toxinas a partir de las bacterias y reducen los requerimientos de algunos compuestos, como el caso de vitamina D para una calcificación normal de los huesos y el manganeso para el crecimiento y prevención de la perosis (2, 14, 24).

Los probióticos en general pueden clasificarse en dos tipos: cultivos microbianos vivos y productos de fermentación, no viables, de los microbios. El microorganismo más común en los productos probióticos es el lactobacilo, huésped normal del aparato digestivo de los animales sanos. Se supone que el efecto promotor del crecimiento por estas bacterias sucede porque

eliminan los productos de desecho e inhiben el crecimiento de ciertas bacterias no convenientes y se ha demostrado que actúan de manera muy eficiente en los períodos que provocan "tensión", los cuales pueden modificar la microflora intestinal de manera negativa (24, 30).

En el caso de promotores del crecimiento de origen mineral, se incluye básicamente a los compuestos arsenicales y al cobre. Este último, objeto de este trabajo promueve el crecimiento a razón de 125 a 250 ppm en su forma de sulfato, por lo que en esta introducción se procede a revisar los antecedentes en su metabolismo, valor en los alimentos y potencial tóxico.

METABOLISMO.

El cobre es un elemento esencial en animales y plantas, esto fue comprobado en 1924, cuando experimentos con ratas demostraron que el cobre era necesario para la formación de la hemoglobina. Sin embargo, actualmente se sabe que no es un constituyente de esta molécula sino de otras proteínas plasmáticas, como la ceruloplasmina, la cual está relacionada con la liberación de hierro a partir de las células al plasma (2, 13, 25).

Una deficiencia del Cu afecta la habilidad de los animales de absorber hierro, la movilización de este desde los tejidos y su utilización en la síntesis de la hemoglobina, al catalizar la incorporación del hierro al grupo hemo, así como la conversión de este en su forma férrica para su transporte y utilización con la mediación de la enzima ferroxidas, la cual es cobre dependiente.

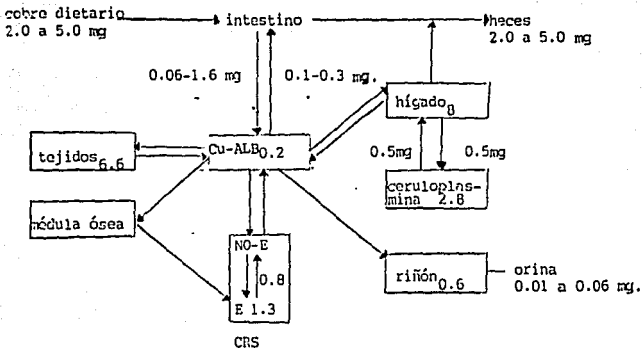
Este mineral es también componente de otras proteínas en sangre, una de ellas la eritrocupreina, la cual se encuentra en los eritrocitos y juega un papel importante en el metabolismo de la respiración. También se conocen otras funciones en diferentes sistemas enzimáticos, por ejemplo: la citocromo oxidasa que es importante en la fosforilación oxidativa, siendo necesaria para la pigmentación de plumas, pelo y lana (17, 24, 25).

El cobre se encuentra presente en todas las células del cuerpo, pero en mayor concentración en el hígado, en el cual actúa como el principal almacén de este mineral en el organismo. De manera general, no más del 5 al 10% del cobre en la dieta es absorbido en el intestino delgado en animales adultos, mientras que en jóvenes se absorbe del 15 al 30%. El Cu endógeno es eliminado principalmente por la bilis manteniendo de esta forma el equilibrio del elemento en el organismo (regulado más por su excreción que por la absorción), figura 1 .

En las células epiteliales del duodeno se ha estudiado una proteína ligada al Cu, la cual interviene en la absorción de este. El pH del contenido intestinal modifica la absorción; las sales de Ca disminuyen la absorción del Cu al elevar el pH. También otros elementos modifican la absorción, como en el caso del Fe, el Hg, Mo, Cd y el Zn actúan de diversas formas: el Cd y el Zn desplazan al Cu de la proteína que actúa en su absorción. La forma de acción del Hg y el Mo no está del todo clara, aunque se sugiere la formación del $CuMoSO$ insoluble (13, 29, 31, 34).

FIGURA 1

Representación esquemática de algunas vías metabólicas
del cobre en el hombre.



Los números de los cuadros representan los mg de Cu que están en el fondo común. Los números junto a las flechas representan los mg de Cu que pasan a través de esa vía cada día.

Cu-ALB= fracción por lectura directa; NO-E= no eritrocupreína; CRS= célula roja sanguínea.

Tomado de Cartwright y Wintrobe. 1964. *Am. J. Clin. Nutr.* 14:224; 15:94 (13).

Algunas formas del Cu se absorben con mayor facilidad que otras: el sulfato cúprico se absorbe mucho más fácilmente que el sulfuro cúprico; el nitrato cúprico, el cloruro cúprico y el carbonato cúprico se absorben más fácilmente que el óxido cuproso mientras que el cobre metálico se absorbe en forma muy deficiente (10, 12, 13, 30, 33).

El cobre es un elemento esencial que los mamíferos requieren en cuando menos 3 ppm en el alimento (NRC, 1988), la baja en los niveles sanguíneos del Cu producen una interferencia en la hematopoyesis normal y por ende anemia. En algunas especies (ratas, conejos y cerdos) la anemia es hipocrómica microcítica, pero en otras es hipocrómica macrocítica (bovinos y ovinos) o normocrómicas (perros y pollos).

La deficiencia de Cu acorta el periodo de vida de las células rojas y disminuye la absorción y utilización del Fe. Un problema en los corderos que se conoce como como hundido o ataxia enzootica se presenta cuando se tienen bajos niveles de Cu en los pastos que se utilizan para el pastoreo, junto con el consumo elevado de Mo y S. La base del transtorno nervioso es la degeneración y falla en la mielinización de las células nerviosas del cerebro y médula espinal. (13, 24, 25).

La deficiencia de este mineral también se manifiesta con anomalías óseas en varias especies, encontrándose una falla en la mineralización de la matriz cartilaginosa y la corteza de los huesos largos es muy delgada, a pesar de que las

concentraciones de Cu, P y Mg en las cenizas permanezcan normales; esto se relaciona con un cambio en la estructura de la colágena que se vuelve más soluble. El pelo y la lana de los animales con bajos niveles de cobre no se desarrolla normalmente, lo que produce una alopecia y crecimiento lento de las fibras, el cambio en la textura de la lana se relaciona con la disminución de los grupos disulfuro, con un aumento de los grupos sulfidrilo y con una interferencia en la distribución de las cadenas polipeptídicas. Otro proceso sensible a los bajos niveles es el de la pigmentación, debido a la intervención en la conversión de la tirosina en melanina por parte del cobre (13, 18, 24, 25, 36).

TOXICIDAD.

Las ovejas y los terneros son aparentemente los animales domésticos más susceptibles a la intoxicación por Cu. En su caso, se detecta hemoglobinuria, ictericia y necrosis (13, 18).

La intoxicación se presenta en las ovejas cuando el contenido del suelo y de los pastos es rico en Cu, cuando el Mo de las plantas es bajo o cuando una lesión hepática predispone a una mala eliminación del elemento por parte del hígado (13, 18, 24, 25). Con dietas conteniendo niveles de entre 20 y 30 mg/kg de Cu hay una acumulación gradual en el hígado de las ovejas hasta llegar a niveles dañinos de cerca de 1000 mg/kg y la velocidad con la que se presenta esta relacionada con la concentración del elemento en el hígado, que en el caso de la

especie es elevado, aumentando con ello su susceptibilidad a la intoxicación (25).

EL COBRE COMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO.

Este elemento ha sido ampliamente utilizado en cerdos en los niveles de 125 a 250 ppm, existiendo diversos estudios que demuestran respuestas promedio de 9.1 % en incremento de la tasa de crecimiento y de 7.4 % para la conversión alimenticia, siendo muy similares a los que se obtienen con los antibióticos para este mismo fin. Se ha sugerido que el cobre actúa sobre la microflora intestinal, donde se observan cambios al impedir la proliferación de microorganismos potencialmente patógenos, mejorando con esto el aprovechamiento de los nutrientes y su absorción, encontrándose también un efecto aditivo cuando se emplea conjuntamente con algunos antibióticos (2, 3, 5, 7, 9, 11, 30, 37). .

El efecto de promoción de crecimiento se observa en cerdos solamente cuando el cobre es proporcionado como sulfato ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$), debido a que su disponibilidad es alta en esta forma, en relación con otras fuentes del mineral como el hidróxido de cobre, el carbonato de cobre, el cloruro de cobre y el óxido de cobre (10, 12, 30).

Para determinar el nivel óptimo de cobre como promotor del crecimiento en cerdos, así como su dosis tóxica, se han realizado una serie de estudios, donde se determinó que 250 ppm de Cu es el nivel adecuado para esta función. La respuesta en promoción del

crecimiento es más marcada en el periodo comprendido entre el destete y los 60 kg, disminuyendo conforme aumenta el peso de los animales, por lo que algunos autores recomiendan no conservar los mismos niveles durante toda la etapa de crecimiento a finalización, sino que a partir de los 60 kg se disminuya a la mitad la cantidad proporcionada, obteniéndose la misma actividad de promoción del crecimiento de 125 a 250 ppm (15, 17, 20, 23, 41).

La utilización de los niveles de cobre para promover el crecimiento en cerdos trae consigo posibles problemas de intoxicación, lo que ha provocado que en diversos países este restringido el uso del Cu como aditivo. Se piensa que las muertes que se han presentado al utilizar 250 ppm de Cu se deben a una mezcla inadecuada del alimento, ya que son pocos los casos de dicha intoxicación, cuyos signos varían desde una disminución muy leve del crecimiento y una anemia ligera hasta la muerte súbita acompañada de lesión hepática y hemorragia. Los niveles de más de 450 ppm de Cu producen una anemia severa, ictericia y lesión hepática; también se llega a presentar cuando hay una disminución en la ganancia de peso, una anemia microcítica hipocrómica, pero, generalmente, sin lesión hepática (13, 28, 39).

Otros autores señalan la presencia de una disminución de Fe hepático, del volumen corpuscular medio y de la concentración de hemoglobina, estos cambios se evitaron al suministrar una cantidad extra de Fe, lo que mostró que se trataba de una

deficiencia inducida de este mineral por el cobre. Existe también una fuerte interacción entre el Cu y el Zn, sobre todo a nivel de sitios de absorción y de deposición a nivel celular, por lo que el aumento de uno en relación al otro, provoca manifestaciones de deficiencia de uno y toxicidad del otro (4, 8, 16, 19, 21, 22, 29, 34, 40).

Otras interacciones estudiadas son, por ejemplo, con el azufre en su forma de sulfato, el cual puede actuar disminuyendo la deposición de Cu en el hígado, sin interferir con el efecto de este mineral como promotor del crecimiento, posiblemente por disminuir la absorción de este a nivel intestinal (22).

Por lo expuesto anteriormente los niveles utilizados de sulfato de cobre para promover el crecimiento son altos en relación a los requeridos, por lo que su empleo podría ser potencialmente tóxico. Con base en trabajos publicados por diferentes autores, el empleo del cobre conjuntamente a otros minerales podría dar un margen de seguridad en su uso, siendo el Fe y el Zn dos de los elementos que nos ofrecen esto.

Para corroborar la bondad de la interacción entre los tres minerales, para que, en primer lugar el cobre como sulfato sea promotor del crecimiento y en segundo se disminuya el peligro que representa su toxicidad, se planteó el siguiente trabajo experimental, el cual estuvo dividido en dos partes secuenciales y cuyos objetivos fueron:

OBJETIVOS.

1. Estudiar la distribución y almacenamiento del cobre en el organismo animal al estar combinado con otros minerales (Fe y Zn).

2. Determinar la conveniencia de la adición de fierro y (o) zinc como elementos que prevengan la toxicidad por el cobre.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria - Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), en Palo Alto, Distrito Federal.

En los experimentos que se presentan a continuación, se usaron cerdos provenientes del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria - Fisiología, INIFAP. Los cerdos fueron machos castrados y hembras, todos producto de cruzamientos alternos Duroc - Landrace. En todos los casos, los animales se desparasitaron con Levamisol y vacunaron contra cólera porcino siete días después de su arribo, permitiendo un total de 21 días de aclimatación antes de su uso en experimentación.

Desde el arribo de los animales, estos fueron alojados en corraletas, en un edificio de tipo frente abierto, con piso sólido de concreto, comedero de tolva y bebedero automático de tazón. El alimento se les ofreció a libertad y tuvieron acceso al agua de bebida en todo momento.

EXPERIMENTO 1. Este trabajo se diseñó para revisar los efectos de una premezcla de minerales traza calculada para resultar en la promoción de crecimiento por la inclusión de 250 ppm de Cu en la dieta, así como la respuesta a la corrección por la inclusión de Fe y Zn. La interacción entre los elementos se

evaluó con el estudio de distribución y almacenamiento de los minerales en estudio (i.e., Cu, Fe y Zn).

Se usaron 30 cerdos, todos machos castrados con un peso inicial promedio de 29.5 kg, que por la edad y peso corporal se asignaron, bajo el esquema de aleatorización de un diseño de bloques al azar (Steel y Torrie, 1980), a 5 tratamientos y 15 corrales (i.e., 3 unidades experimentales de 2 cerdos cada una), la duración del experimento fue de 98 días.

Los tratamientos se establecieron por la modificación de la premezcla de minerales traza para resultar en la adición, a una dieta basal (BASAL, tratamiento 1., cuadro 1.), de 250 ppm de Cu (BASAL+Cu, tratamiento 2.). Los tratamientos 3 a 5 se constituyeron por la adición a la premezcla en la dieta BASAL+Cu de: tratamiento 3., 100 ppm de Fe (BASAL+Cu+Fe); tratamiento 4., 100 ppm de Zn (BASAL+Cu+Zn) y, tratamiento 5., 50 ppm de Fe y 50 ppm de Zn (BASAL+Cu+Fe+Zn).

Durante los 98 días del experimento, se realizaron pesajes de los cerdos cada catorce días, (con fines de supervisión ya que en el análisis final se incluyeron solo las diferencias entre el inicio y el día 98) obteniéndose también muestras de heces y de sangre, por punción en la vena cava anterior, utilizando EDTA como anticoagulante. Al terminar el trabajo, los cerdos se sacrificaron para tomar segmentos de: hígado, vesícula biliar y músculo esquelético; así como muestras de bilis, conservándose todas en congelación hasta su análisis.

Las muestras obtenidas se sujetaron a las siguientes pruebas en sangre completa, hemoglobina por espectrofotometría y hematocrito por microcentrifugación (42); en plasma, concentración de Cu, Fe y Zn por absorción atómica; en organos y heces, concentración de Cu, Fe y Zn por absorción atómica (Anexo 1 , descripción de la técnica).

Cuadro 1. COMPOSICION DE LA DIETA BASAL, EXPERIMENTOS 1 Y 2.

Ingrediente	%
Sorgo, grano molido	75.25
Pasta de soya	11.25
Harina de pescado	1.50
Pasta de girasol	6.50
Premezcla de vitaminas*	0.15
Sal mineralizada**	0.35
Aceite crudo vegetal	1.50
Roca fosfórica	1.25
Ortofosfato de calcio	0.75
Almidón de maíz	0.50
ANALISIS CALCULADO, %	
Proteína cruda	16.01
Energía metabolizable, Mcal/kg	3.11
Calcio	0.67
Fósforo	0.63

* Cada kg de la premezcla aportó, vitaminas: A, 3'300,000 UI; D3, 330,000 UI; E, 22,000 UI; Riboflavina, 1,100 mg; Pantoténato de Ca, 6.576 mg; Niacina, 27,000 mg; Colina-HCl, 175,000 mg y B12 activada, 17.6 mg.

** Cada kg de premezcla aportó: Se de Selenito de sodio 25 mg; I de Yoduro de potasio 100 mg; Cu de Sulfato de cobre 2.20 g; Mn de Sulfato de manganeso 5.71 g; Fe de Sulfato de hierro 25.5 g; Zn de Sulfato de Zinc 28.5 g; Mg de Carbonato de magnesio 2.7 g; Co de cloruro de cobalto 215 mg; NaCl, 830 g.

La adición de Cu, Fe y Zn se hizo a partir de las siguientes fuentes:

Cu	SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO	CuSO .5 H O 4 2
Fe	SULFATO FERROSO HEPTAHIDRATADO	FeSO .7 H O 4 2
Zn	SULFATO DE ZINC MONOHIDRATADO	ZnSO .H O 4 2

todas en una premezcla (cuadro 2.).

Cuadro 2. PREMEZCLA DE MICROELEMENTOS (kg/ 20 kg),
EXPERIMENTO 1*

	TRATAMIENTOS				
	B	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn
Almidón de maíz	14.90	14.00	13.15	13.57	13.54
Premezcla de vitaminas	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Sal mineralizada	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
Antioxidante BHT	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sulfato de Cobre	0.00	0.98	0.98	0.98	0.98
Sulfato de Fierro	0.00	0.00	0.50	0.00	0.25
Sulfato de Zinc	0.00	0.00	0.00	0.44	0.22

* Suficiente para una tonelada de alimento balanceado.

EXPERIMENTO 2. Este trabajo se diseñó para ensayar la protección que pueda ofrecer la mezcla de Fe y Zn, obtenida de

los resultados en el primer experimento contra una posible intoxicación por Cu.

Se usaron 24 cerdos, 16 machos castrados y 8 hembras, con un peso inicial promedio de 21.5 kg, que por el sexo y el peso corporal se asignaron, bajo el esquema de aleatorización de un diseño de bloques al azar (38), a 4 tratamientos y 12 corrales (i.e., 3 unidades experimentales de dos cerdos cada una).

Los tratamientos se establecieron por la modificación de la premezcla de minerales traza, partiendo de la observación previa (experimento 1) de que el Fe ofrece aproximadamente un 50% más de protección que el Zn y que, posiblemente, los efectos de ambos pueden ser aditivos, resultando una dieta BASAL (tratamiento 1., descrito en el cuadro 1.), de 250 ppm de Cu + 100 ppm de Fe + 50 ppm de Zn (BASAL + Cu + Fe + Zn, tratamiento 2.), de 1000 ppm de Cu + 400 ppm de Fe + 200 de Zn (BASAL+ Cu+Fe+Zn , tratamiento 3.), de 1000 ppm de Cu (BASAL + Cu, tratamiento 4).

El trabajo tuvo una duración de 84 días, siguiendo los mismos procedimientos generales que en el experimento 1. Se tomaron muestras de sangre por punción en la vena cava anterior en cada ocasión, utilizando EDTA como anticoagulante para la obtención del plasma. Al finalizar el trabajo se tomaron segmentos de hígado conservándolos en congelación hasta su análisis. Las muestras obtenidas, se sujetaron a los mismos análisis y procedimientos que en el experimento anterior.

Las fuentes de los minerales que se emplearon en este trabajo son las mismas que en el primero, cabe señalar que se utilizaron estas por ser altamente disponibles (15, 17, 23, 30, 41), y la composición de las premezclas usadas se describe en el cuadro 3.

Cuadro 3. PREMEZCLA DE MICROELEMENTOS (kg/ 20 kg),
EXPERIMENTO 2*

	TRATAMIENTOS			
	NORMAL**		TOXICO**	
	BASAL	B+Cu +Fe+Zn	B+Cu +Fe+Zn	B+Cu
Almidón de maíz	14.90	13.29	8.19	11.07
Premezcla de vitaminas	1.50	1.50	1.50	1.50
Sal mineralizada	3.50	3.50	3.50	3.50
Antioxidante BHT	0.10	0.10	0.10	0.10
Sulfato de Cobre	0.00	0.98	3.92	3.92
Sulfato de Hierro	0.00	0.50	2.00	0.00
Sulfato de Zinc	0.00	0.22	0.88	0.00

*Suficiente para una tonelada de alimento balanceado.

** Normal= BASAL (B) o la adición de 250 ppm de Cu; Tóxico= calculadas para rendir 1000 ppm de Cu.

RESULTADOS

La adición del sulfato de cobre resultó efectiva en la dieta al incluirse 250 ppm del elemento (cuadro 4), lo mismo que sucedió con Fe y Zn; en el cuadro 4 muestra los resultados de los análisis de los minerales en las dietas de los experimentos 1 y 2.

Cuadro 4. COMPOSICION ANALIZADA DEL CONTENIDO DE LOS MINERALES TRAZA EN EL ALIMENTO.

EXPERIMENTO 1.

	TRATAMIENTOS				
	BASAL	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn
Cu ppm	25	280	276	271	274
Fe ppm	142	137	219	136	190
Zn ppm	120	125	123	227	172

EXPERIMENTO 2.

	TRATAMIENTOS			
	BASAL	B+Cu +Fe+Zn	B+Cu +Fe+Zn	B+Cu
Cu, ppm	27	273	1030	1029
Fe, ppm	140	237	549	137
Zn, ppm	123	176	342	121

EXPERIMENTO 1. El cuadro 5 resume la respuesta productiva de los animales y muestra que no se detectaron diferencias ($P > 0.05$) entre los tratamientos en ninguno de los criterios de respuesta mostrados, lo que es sorprendente ya que se esperaba, cuando menos, la manifestación del efecto promotor del crecimiento por el cobre (i.e., Basal + Cu superior a Basal).

Cuadro 5. COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE CERDOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE Cu, Fe y Zn, EXPERIMENTO 1.

	TRATAMIENTOS					EEM
	BASAL	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn	
Ganancia de peso kg/cerdo/día	0.680	0.630	0.710	0.680	0.660	0.037
Consumo de alimento kg/cerdo/día	1.530	1.540	1.470	1.480	1.440	0.026
Eficiencia alimenticia, G/C	0.450	0.410	0.480	0.460	0.450	0.027

No se detectaron diferencias ($P > 0.05$).

El Hematocrito, la hemoglobina y la concentración de Cu en plasma tampoco respondieron a la adición de los elementos en estudio (cuadro 6, $P < 0.05$). Sin embargo, es de hacerse notar el que el Fe en plasma sanguíneo fue menor ($P > 0.05$) al adicionar

Cu, pero no Fe. En cuanto al Zn en respuesta a las premezclas altas en Cu, la dosis pareció determinante: el Zn a no mantuvo la concentración de Zn en plasma sanguíneo, la presencia de Fe a 100 ppm mantuvo el Zn plasmático, pero la combinación de ambos (50 ppm de Fe y 50 ppm Zn) no logró mejorar la concentración de Zn en plasma.

Cuadro 6. VALORES DE HEMATOCRITO Y HEMOGLOBINA Y CONCENTRACION DE Cu, Fe y Zn EN EL PLASMA SANGUINEO, EXPERIMENTO 1.*

	TRATAMIENTOS					EEM
	BASAL	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn	
Hematocrito (final), %	33.80	30.60	32.80	32.60	33.00	0.957
Hemoglobina (final), g/ 100 ml	11.00	9.90	10.70	10.70	10.50	0.314
<u>Concentración de:</u>						
Cu en plasma mg/ ml	1.32	1.69	1.39	1.58	1.96	0.437
	a	b	a	b	a	
Fe en plasma mg/ml	0.57	0.37	0.50	0.40	0.53	0.066
	a	b	a	b	b	
Zn en plasma mg/ml	0.42	0.33	0.41	0.38	0.35	0.018

*) Medias seguidas de diferente literal son estadísticamente diferentes (P <0.05).

El hígado actuó virtualmente como un filtro de cobre ya que lo captó (siendo su principal almacén) y se detectó una diferencia significativa ($P < 0.05$) con la adición de 905 vs 16 ppm (cuadro 7); la presencia de los otros microminerales involucrados en los tratamientos, previno la acumulación del Cu en el hígado: el fierro ó el fierro y el Zn tuvieron un efecto de prevención del 42% mientras que el Zn por si solo fue unicamente del 20 % (en ambos casos, $P < 0.05$), lo que se evidencia por la ausencia de efectos del consumo de Cu sobre el contenido del elemento en el músculo.

La concentración de Cu en vesícula biliar fue alta y en general siguió los mismos patrones de acumulación que en hígado, excepto que el Zn no pudo prevenir su acumulación en el tejido. El Cu en bilis puede sugerir sobre la excreción del elemento; esta aparentemente fue menor ($P < 0.05$) cuando se añadieron Fe y Zn, lo que coincide con la concentración de Cu en las heces en respuesta a los tratamientos. De aquí que sea aparente la confirmación de que Fe y Zn previnieron la acumulación de Cu al interferir con su absorción y quizá al promover su remoción.

Cuadro 7. CONCENTRACION DE Cu EN LOS TEJIDOS, EXPERIMENTO 1*.

	TRATAMIENTOS					EEM
	BASAL	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn	
<u>Concentración de cobre en:</u>						
Higado, ppm	16 ^a	905 ^b	573 ^c	721 ^d	467 ^e	31.001
Vesícula biliar, ppm	57 ^a	1097 ^b	881 ^c	1023 ^b	878 ^c	0.592
bilis, ppm	0.15 ^a	0.64 ^b	0.55 ^c	0.46 ^c	0.57 ^c	0.173
heces, ppm	29 ^a	470 ^b	435 ^b	352 ^b	403 ^b	5.212
músculo, ppm	36	48	29	29	35	0.661

*) La concentración de los minerales se expresa en función del tejido deshidratado. Medias en un mismo renglón seguidas de diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

La distribución del Fe mostró una similitud con la del Cu, se detectó una diferencia ($P < 0.05$) con la adición en la dieta (Cuadro 8), presentando un patrón de distribución en los órganos que mostró al hígado como su principal almacén (por la capacidad de acumulación del elemento por unidad de tejido) y a la vesícula biliar y músculo esquelético como segunda

alternativa, los valores en bilis sugieren excreción del elemento existiendo diferencias entre los tratamientos presentes ($P < 0.05$) y mostrando mayores concentraciones el Fe, cuando se incluyó solo, que en conjunto con el Zn, indicando esta afinidad en la deposición entre ambos minerales. Estos resultados sugieren sobre el papel de los órganos en la metabolización del mineral.

Cuadro 8. CONCENTRACION DE Fe EN TEJIDOS, EXPERIMENTO 1*

	TRATAMIENTOS					EEM
	BASAL	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn	
<u>Concentración de Fe en:</u>						
Hígado, ppm	a 650	b 940	c 1580	d 810	e 920	0.370
Vesícula biliar, ppm	a 420	a 443	b 617	c 320	b 576	0.963
Bilis, ppm	a 1.82	b 1.30	c 3.33	d 2.41	e 3.10	0.651
Músculo esquelético, ppm	a 296	b 351	c 423	d 149	a 252	0.436

*) La concentración de los minerales se expresa en función del tejido deshidratado. Medias en un mismo renglón seguidas de diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

El Zn por su parte mostró una relación directa de las concentraciones en los órganos y su nivel de inclusión en la dieta, existiendo una mayor deposición en hígado y vesícula

biliar ($P < 0.05$) al incluirse solo que cuando se incluyo + Fe, por su probable afinidad en sitios de deposición, y no se observó que la mayor cantidad de Cu influyera directamente en la concentración del Zn en estos órganos. No se detectaron diferencias entre los tratamientos ($P > 0.05$) en cuanto a la concentración de este mineral en bilis. La concentración en músculo no pudo ser analizada ya que durante las determinaciones, accidentalmente, se perdieron la mayoría de las muestras.

Cuadro 9. CONCENTRACION DE Zn EN TEJIDOS, EXPERIMENTO 1*.

	TRATAMIENTOS					EEM
	BASAL	B+Cu	B+Cu +Fe	B+Cu +Zn	B+Cu +Fe+Zn	
<u>Concentración de Zn en:</u>						
Hígado, ppm	a 625	a 620	a 620	b 910	c 770	0.277
Vesícula biliar, ppm	a 645	b 750	b 710	c 1470	d 1260	0.850
Bilis, ppm	0.60	0.62	0.64	0.71	0.64	0.396

*) La concentración de los minerales se expresa en función del tejido deshidratado. Medias en un mismo renglón seguidas de diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

Experimento 2. En el cuadro 10 se resume la respuesta productiva de los animales y muestra que no existió una diferencia ($P > 0.01$) entre los tratamientos 1, (BASAL) y 2, (Basal+Cu+Fe+Zn) pero si de estos dos con respecto a los tratamientos 3, (Basal+Cu+Fe+Zn) y 4 (Basal+ Cu, $P < 0.01$), en las tres variables medidas. En la relación entre los tratamientos 3 y 4, aunque no se presentaron diferencias ($P > 0.01$) entre si, las medias obtenidas muestran valores que si podrían llegar a afectar la producción animal al realizar un balance final de esta. Nuevamente en este experimento se observó que el cobre no presentó su actividad de promotor del crecimiento al adicionarse a 250 ppm.

En el cuadro 11 se muestra que existió un patrón de comportamiento similar a lo anterior en cuanto a la hemoglobina y al hematocrito . No se observó diferencia ($P > 0.01$) entre los tratamientos 1 y 2, lo que llevaría a pensar que este último evitó de manera eficiente que los valores disminuyeran al adicionarse Cu a 250 ppm, mientras que entre los tratamientos 3 y 4 si existió diferencia ($P < 0.01$), mostrando que el primero impidió una depresión de las medias lo que podría sugerir cierto grado de protección a la intoxicación.

En las concentraciones detectadas en hígado (principal almacén de Cu) no existió diferencia ($P > 0.01$) entre los tratamientos 1 y 2, conservando el patrón observado anteriormente, aunque se sugiere que la premezcla del tratamiento

2 disminuye la concentración de cobre hepático, en relación a los datos obtenidos en el mismo renglón en el experimento uno. Los tratamientos 3 y 4 no presentaron diferencia entre ellos ($P < 0.01$), pero si se manifiesta una disminución de concentración del primero en relación al segundo, con lo que podríamos suponer que los minerales Fe y Zn actúan, evitando una mayor acumulación de Cu hepático y con esto confirmar lo expuesto anteriormente sobre la relación entre los elementos, que al ser más estrecha evita la presentación de deficiencia por alguno de ellos.

Cuadro 10. COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE CERDOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE Cu , Fe y Zn, EXPERIMENTO 2*.

	TRATAMIENTOS				EEM
	BASAL	B+Cu+ Fe+Zn	B+Cu+ Fe+Zn	B+Cu	
Ganancia diaria de peso					
kg/cerdo/día	0.564 ^a	0.552 ^a	0.396 ^b	0.259 ^b	0.025
Consumo de alimento					
kg/cerdo/día	2.000 ^a	2.020 ^a	1.630 ^b	1.370 ^b	0.052
Eficiencia alimenticia					
G/C	0.281 ^a	0.270 ^a	0.243 ^b	0.190 ^b	0.014

*)Medias en un mismo renglón seguidas de diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

Cuadro 11. VALORES DE HEMATOCRITO Y HEMOGLOBINA Y CONCENTRACION DE Cu EN HIGADO, EXPERIMENTO 2*.

	TRATAMIENTOS				EEM
	BASAL	B+Cu+ Fe+Zn	B+Cu+ Fe+Zn	B+Cu	
Hemoglobina final (g/ 100 ml)	17.28 ^a	15.22 ^a	11.00 ^b	7.75 ^c	0.854
Hematocrito final (%)	31.50 ^a	31.00 ^a	22.60 ^b	17.20 ^c	0.896
Concentración de Cu en hígado ppm	357 ^a	826 ^a	4410 ^b	5543 ^b	4.994

*) Medias en un mismo renglón seguidas de diferente literal son estadísticamente diferentes (P < 0.01)

DISCUSION

Los resultados en el primer experimento confirman lo citado ampliamente en la literatura, que el hígado y vesícula biliar son los principales órganos de almacenamiento de cobre, influidos principalmente por la concentración de este mineral en la dieta (13, 18, 24).

Al adicionar el fierro y zinc, la deposición de Cu disminuyó, siendo más notorio en el caso del Fe, el cual promovió la remoción del Cu, y la mezcla de éste con el Zn, debido a la fuerte interacción en absorción y sitios de deposición que existe entre estos minerales (4,8,15,19,21,22,29,34,40), por lo que la adición de cualquiera de ellos en cantidades superiores puede afectar a los otros en los procesos de absorción, almacenamiento, transporte y excreción.

Cantidades tóxicas de Cu (superiores a 300 ppm) pueden influir en el metabolismo del Fe y Zn causando disfunción hepática y renal (13, 34, 39). En el primer caso se observó en el experimento número dos, donde utilizando la combinación de los minerales a partir de datos obtenidos en el experimento uno y desafiando con niveles altamente tóxicos (1000 ppm) de cobre, se constató que al utilizar el Fe y el Zn, estos protegen contra una posible intoxicación al utilizar el Cu como promotor del crecimiento. Dentro de este renglón no se obtuvo la respuesta deseada, a pesar que esta actividad específica del cobre es

señalada en diferentes trabajos tanto en Europa como en los Estados Unidos (2, 5, 7, 9, 11, 37), con incrementos promedio de 9.1 % en crecimiento y de 7.4 % para conversión alimenticia, muy similares a los registrados al emplear antibióticos con el mismo fin. En un trabajo que se realizó en 1986, se probó la actividad del cobre para promover el crecimiento a los niveles de 250 ppm, corrigiendo fierro, encontrándose el efecto de promoción, aumentando de 12 a 20 % la ganancia diaria de peso de los lechones, aún cuando el cobre añadido en la premezcla interactuó con el fierro para prevenir su acumulación (1).

Cabe señalar que la respuesta de estos elementos esta en función de las condiciones sanitarias del medio, la presencia de enfermedades en la población animal, calidad de la dieta y genética de los animales (6). Durante la realización del presente trabajo los animales fueron alojados en corrales de piso de cemento, bebederos automáticos y comederos de tolva, diariamente se realizó la limpieza de los corrales, se verificó la cantidad de alimento y funcionamiento de bebederos. No se registró ninguna enfermedad y tampoco muerte de alguno de los animales, por lo que en términos generales las condiciones sanitarias que rodeaban a los animales eran buenas.

En lo referente a la presencia de anemia, otro de los signos de intoxicación (39, 41), en el primer trabajo no se encontraron diferencias entre tratamientos. En hemoglobina y hematocrito en el segundo experimento, si se observó un marcado

decremento en los valores, manteniéndose sin diferencia entre los tratamientos Basal y Basal + Cu + Fe + Zn. Al adicionarse altas cantidades de Cu y elevar en la misma proporción a los otros minerales (cuatro veces sobre los valores del tratamiento 2), si se obtuvieron diferencias ($P < 0.01$) en relación al tratamiento 4 que contenía Cu a 1000 ppm, las cantidades de hemoglobina y hematocrito fueron en este tratamiento el 54 % de los observados en el tratamiento 2, mientras los del tratamiento 3 fueron del 71 %.

Coincide este comportamiento con los datos de ganancia diaria de peso y consumo de alimento / día ($P < 0.01$), en ambos casos el promedio de ganancia de peso en el tratamiento 2 fue de 0.522 kg en comparación al tratamiento 4 donde el promedio resultó de 0.259 kg. A pesar de que los niveles utilizados en este último eran altamente tóxicos, no se presentó ninguna muerte, aunque el comportamiento productivo de los animales sugirió el de una intoxicación severa.

La relación obtenida, entre los elementos en el presente trabajo fue de 2.5:1:0.5 Cu, Fe y Zn respectivamente, aunque en la literatura se llega a manejar relaciones de 1:1:0.75 (39), en donde el Fe se utilizaría en niveles iguales, con la finalidad de mantener constante su cantidad almacenada, así como bajar la retención de Cu en la circulación sanguínea (4, 8, 16, 19, 39).

Las relaciones entre los minerales resultaron parcialmente efectivas para evitar problemas de intoxicación, como se puede

observar entre los resultados del tratamiento Basal y Basal+ Cu+ Fe+ Zn del experimento 2, por lo que antes de recomendar la premezcla de minerales que prevenga la toxicidad, habrá que estudiar los patrones de acumulación del Cu en el tiempo y en función de la concentración en la dieta, para concluir en el uso del Fe y (o) del Zn como "factores " de seguridad para, en el caso de errores de dosificación y (o) mezclado, evitar la intoxicación e incluso la pérdida de animales.

CONCLUSIONES

- Se confirmó que el hígado y vesícula biliar son los principales órganos almacenadores del Cu.
- Aunque en el presente trabajo el sulfato de cobre no presentó actividad de promoción del crecimiento, su empleo a niveles de 250 ppm conjuntamente con los minerales Fe y Zn, en forma de sulfatos, a niveles de 100 y 50 ppm respectivamente, puede aminorar los signos de intoxicación cuando la premezcla incluya más de 250 ppm de Cu.
- Por los valores de los minerales determinados en los órganos y líquidos estudiados, se observó una disminución de concentración de Cu hepático al existir otros elementos, Fe y Zn en este caso, en cantidades superiores a los requeridos, disminuyendo con esto la posibilidad de una intoxicación.
- Sería conveniente realizar otros trabajos tendientes a confirmar bajo diferentes condiciones de experimentación los niveles de los elementos recomendados en el presente estudio.

LITERATURA CITADA

1. ANGELES, L., J. Cuadrón. 1986. Utilización de Cu como promotor de crecimiento. Niveles corregidos de Fe. Reunión de Investigación Pecuaria. Centro Médico Nacional, Distrito Federal, México.
2. ANONIMO. 1979. Safety aspects of copper in feed. *Pig International*. May 36-40.
3. BARBER, R.S., R. Braude and K.G. Mitchell. 1957. Further studies of antibiotic and copper supplements for fattening pigs. *Br. J. Nutr.* 11: 70-79.
4. BARBER, R.S., R. Braude and K.G. Mitchell. 1981. Copper supplementation of isonitrogenous diets for growing pigs containing white-fish or soya bean meal as the protein supplement. *Anim. Prod.* 33: 81-86.
5. BARBER, R.S., R. Braude, K.G. Mitchell and R.J. Pittman. 1978. The value of Virginiamycin (Eskalin) as a feed additive for growing pigs in diets with or without a high copper supplement. *Anim. Prod.* 26: 151-155.
6. BEST, P. 1980. Where feed additives help?. *Pig American*. September 34-35.
7. CASTELL, R.G. and J.P. Bowland. 1969. Supplemental copper for swine: growth, digestibility and carcass measurements. *Can. J. Anim. Sci.* 48: 403-413.
8. COMBS, G.E., C.B. Ammerman, R.L. Shirley and H.D. Wallace. 1979. Effect of source and level of dietary protein on pigs fed high-copper rations. *J. Anim. Sci.* 49 (2): 613-616.
9. CORNELIUS, S. 1983. Adding copper to diet may improve pig performance. *Feedstuffs*. April 11 : 23.
10. CROMWELL, G.L., V.W. Hays and T.L. Clark. 1975. Effect of copper sulfate, copper sulfide and sodium sulfide on performance and copper stores of pigs. *J. Anim. Sci.* 46 (3): 692-698.

11. CROMWELL, G.L., T.S. Stahly and W.D. Williams. 1981. Efficacy of copper as a growth promotant and its interrelation with sulfur and antibiotics for swine. *Feedstuffs*. November 2: 30-32-35-36.
12. CROMWELL, G.L. 1979. Effects of level and source of copper (sulfate vs oxide) on performance and liver copper levels of weanlings pigs. *J. Anim. Sci.* 59 (Suppl. 1).
13. CHURCH, D.C., W. Pond. 1987. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de animales*. Limusa. México.
14. CHURCH, D.C. 1986. *Livestock feeds and feeding*. 2o. edition Prentice-Hall. New Jersey. USA.
15. DE GOEY, L.W., R.C. Wahlstrom and R.J. Emerick. 1971. Studies of high level copper supplementation to ratios for growing swine. *J. Anim. Sci.* 33 (1): 52-57.
16. EISMANN, J.H., W.G. Pond and M.L. Thonney. 1979. Effect of dietary zinc and copper on performance and tissue mineral and cholesterol concentrations in swine. *J. Anim. Sci.* 48 (5): 1123-1128.
17. ELLIOT, J.I. and M.A. Amer. 1973. Influence of level of copper supplement and removal of supplemental copper from diet on the performance of growing-finishing pigs and acumulation of copper in the liver. *Can. J. Anim. Sci.* 53: 133-138.
18. GEORGIEVSKII, V.I. 1982. *Mineral Nutrition of Animal. Studies in the Agricultural and Food*. Butterworths. London, England.
19. GIPP, W.F., W.G. Pond and J. Tasker. 1973. Influence of level of dietary copper on weight gain, hematology and liver copper and iron storage of young pigs. *J. Nutr.* 103: 713-719.
20. GOIHL, J.H. 1978. Effect of copper in swine rations. *Feedstuffs*. Jun 12 :18.
21. GREGER, J.L. and J. Mulvaney. 1985. Absorption and tissue distribution of zinc, iron and copper by rats fed diets containing lactalbumin, soy and supplemental sulfur-containing aminoacids. *J. Nutr.* 115: 200-210.

22. KLINE, R.D., V.W. Hays and G.L. Cromwell. 1971. Effects of copper, molybdenum and sulfate on performance, hematology and copper storages of pigs and lambs. *J. Anim. Sci.* 33 (4):771-779.
23. KORNEGAY, E.T. 1983. Copper as a growth promotant. *Feed Management*, 34 (6): 50-51.
24. MAYNARD, L.A. 1979. *Animal Nutrition*. 7o. Edition. Mc Graw-Hill. New York. USA.
25. Mc DONALD, P., R.A. Edwards. 1985. *Animal Nutrition*. 3o. Edition. Longman. Avon, Great Britain.
26. MILLER, E.R., M.J. Farsons and D.E. Ullrey. 1981. Bioavailability of iron from ferric choline citrate complex for young pigs. *J. Anim. Sci.* 52 (4): 783-787.
27. MOSER, R.L. 1983. Antibacterials and swine management. Report. Department of Animal Science. University of Minnesota.
28. NEALHERY, M.W. and W.J. Miller. 1977. Tolerance levels, toxicity of essential trace elements for livestock and poultry. *Feedstuffs*. September 12 26-28.
29. OESTREICHER, P. and R.J. Cousins. 1985. Copper and zinc absorption in the rat: mechanism of mutual antagonism. *J. Nutr.* 115: 159-166.
30. POLLMAN, S. 1987. *Gula de Nutrici3n porcina*. Kansas State University.
31. PRINCE, T.J., V.W. Hays and G.L. Cromwell. 1984. Interactive effects of dietary calcium, phosphorus and copper on performance and liver stores of pigs. *J. Anim. Sci.* 58 (2): 356-361.
32. PRINCE, T.J., V.W. Hays and G.L. Cromwell. 1979. Effects of sulfate and ferrous sulfide on performance and liver copper and iron stores of pigs. *J. Anim. Sci.* 49 (2): 507-512.
33. N.R.C. 1988. *Nutrient Requirements of Swine*. 9o. Revised Edition. National Academy Press. Washington, D.C.
34. RITCHIE, H.D., R. W. Luecke, V. Baltzer, R. Miller, E. Ullrey and J. Hofer. 1963. Copper and zinc interrelationships in the pig. *J. Nutr.* 79: 117-123.

35. ROOF, M.D. and D.C. Mahan. 1982. Effect of carbadox and various dietary copper levels for weanling swine. *J. Anim. Sci.* 55 (5):1109-1117.
36. SHIMADA, A. 1984. *Fundamentos de Nutrición Animal Comparativa. Consultores en producción animal. Distrito Federal, México.*
37. STAHLY, T.S., G.L. Cromwell and H.J. Monegue. 1980. Effects of the dietary inclusion of copper and (or) antibiotics on the performance, weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 51 (6) : 1347-1351.
38. STEEL, D.G.R. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics a Biometrical Approach. 2o. Edition. Mc Graw-Hill.*
39. SUTTLE, N.F. and C.F. Mills. 1966. Studies of the toxicity of copper to pigs.
1. Effects of oral supplements of zinc and iron salts on the development of copper toxicosis. *Br. J. Nutr.* 20: 135-148.
40. SUTTLE, N.F. and C.F. Mills. 1966. Studies of the toxicity of copper to pigs.
2. Effect of protein source and other dietary components on the response to high and moderate intakes of copper. *Br. J. Nutr.* 149-153.
41. WALLACE, H.D. 1968. Effect of high levels copper on performance of growing pigs. *Feedstuffs* 40.
42. TELLO, V. 1987. *Manual de laboratorio clínico veterinario. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlán.*

ANEXO 1.

DIGESTION ACIDA PARA LA DETERMINACION DE MINERALES EN MATERIALES BIOLÓGICOS*

1. REACTIVOS.

- a) Ac. nítrico (16 N).
- b) Peróxido de hidrógeno (Superoxol, 30%).
- c) Ac. clorhídrico (3 N).

2. PROCEDIMIENTO.

- a) Pesar la muestra en un vaso de precipitado Pyrex de 50 a 150 ml. El vaso debe haberse lavado previamente con ácido.
- b) Añadir un volumen apropiado de ácido nítrico a cada muestra (suficiente para cubrirla) y tapar el vaso con un vidrio de reloj.
- c) Una vez cubiertos los vasos, colocarlos sobre una placa que deberá calentarse lentamente hasta lograr un reflujo lento. Si la muestra produce mucha espuma, debe esperarse a que esta disminuya para ponerla en la placa caliente.
- d) Cuando la muestra se haya digerido por completo y el ácido se haya evaporado, la muestra deberá aparecer blanca si no es así, continuar la digestión ácida, añadiendo más ac. nítrico, hasta que lo anterior suceda.
- e) Una vez que la muestra se observe blanca, añadir un exceso de peróxido de hidrógeno hasta que cese la formación de espuma. Reducir la temperatura de la placa paulatinamente

para evitar explosiones, el residuo de la muestra debe secarse lentamente.

f) Disolver el residuo de cenizas en HCl 3N caliente (56 C).

La mayor parte del residuo debe disolverse casi de inmediato. Los silicatos insolubles deben filtrarse para separarse de la muestra antes del análisis de cualquier mineral.

g) Transferir las cenizas solubles en HCl a un matraz volumétrico de 100 ml aforando el volumen con una solución al 50% de 3N HCl en agua deionizada. Alicuotas de esta solución se utilizan para la determinación de los minerales.