

# Liberación de selenio *in vitro* a partir de bolos minerales con cuatro tipos de cemento adhesivo y en pH de 7.0, 6.5, 6.0 y 5.5

René Rosiles Martínez\*  
Carlos Gutiérrez Olvera\*  
Raquel Valdez Álvarez\*

---

## Abstract

Intraruminal mineral boluses made out of sodium selenite, copper sulphate and four adhesive cement types, as source of selenium, were assayed *in vitro* for their liberation rate. Boluses (ten each group) were made with: cement for concrete (Group 1); cement for concrete plus copper sulphate (Group 2); wall brick cement (Group 3) and wall brick cement plus copper sulphate (Group 4). These boluses were kept in a 50 ml buffer phosphate solution to monitor Se liberation at pHs 7.0, 6.5, 6.0 and 5.5 during 64 days. Selenium measurement was carried out by atomic absorption spectroscopy on days 1, 4, 8, 15, 32 and 64. Final liberated selenium concentration was calculated for every bolus every day. Selenium output for cement type was statistically different, but it was not different for pHs within the same type of cement. Se concentration was 10 to 45 mg/bolus/day range in the four groups on day one. There was no Selenium liberation on day 32 in boluses in groups 1 and 2. On day 64, Group 3 liberated 0.1 mg/bolus/day, and Group 4 liberated from 0.5 to 1 mg Se/bolus/day. It is concluded that mineral boluses from Group 4 are the best choice for intraruminal selenium source.

**Key words:** *IN VITRO*, MINERAL BOLUSES, SELENIUM, LIBERATION.

## Resumen

Esta investigación se realizó para conocer la intensidad de liberación *in vitro* del selenio de bolos minerales para uso intraruminal, de 1 gramo de peso y del 10% de selenio a partir de selenito de sodio. Los bolos se hicieron con cemento para concreto (grupo 1); cemento para concreto más sulfato de cobre (grupo 2); cemento pega-azulejo (grupo 3); cemento pega-azulejo más sulfato de cobre (grupo 4). Y se suspendieron en 50 ml de solución amortiguadora a pH 7.0, 6.5, 6.0 y 5.5. Para conocer la liberación del selenio, éste se midió en el líquido sobrenadante a los días 1, 4, 8, 16, 32 y 64; la concentración se calculó en mg/bolo/día. El líquido sobrenadante se cambiaba siempre que las concentraciones de selenio excedieran a los 500 mg/ml. La concentración de selenio se identificó de acuerdo a las condiciones de operación indicadas en el manual del fabricante por medio de un espectrómetro de absorción atómica con lámpara de cátodo hueco. La concentración de selenio liberada al día 1 fue estadísticamente diferente a los días 4 y 8 entre tipos de cemento, pero no entre los diferentes pH del mismo cemento. El tiempo de liberación de los bolos 1 y 2 se terminó a los 32 días, en cambio en los grupos 3 y 4 se mantuvo hasta los 64 días, sólo que la concentración del grupo 4 estuvo entre 0.5 y 1 mg/bolo/día, y la del grupo 3 sólo alcanzó 0.1 mg/bolo/día. Con estos hallazgos se concluyó que el mejor tipo de bolo fue el que se hizo con cemento, pega-azulejo y sulfato de cobre.

**Palabras clave:** *IN VITRO*, BOLOS MINERALES, LIBERACIÓN, SELENIUM.

---

Recibido el 27 de noviembre de 1997 y aceptado el 3 de junio de 1998.

\* Laboratorio de Toxicología, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

Trabajo parcialmente financiado por Conacyt, proyecto número 1567P-B9507.

## Introducción

Se han desarrollado varios métodos de suplementación para corregir o prevenir deficiencias de minerales en el ganado; sobre todo en aquellas zonas en donde se tienen forrajes deficientes y los animales se encuentran bajo un sistema de alimentación en pastoreo, o con dietas controladas. Algunas de las formas para suplementar el selenio son: soluciones estériles para inyección hipodérmica, premezclas minerales añadidas en el alimento, suplementación de los fertilizantes antes o durante la siembra, la preparación de suplementos minerales en saladeros a libre acceso.<sup>1,2,3,4</sup> Sin embargo, siempre se busca un método que pueda dosificar con precisión, reducir mano de obra para el manejo de los animales y que sea eficiente, que reduzca las posibilidades del trauma ya sea por la aplicación hipodérmica y otros manejos en el animal y además que ofrezca la disponibilidad por periodos prolongados. Uno de los métodos que ha sido desarrollado tanto experimentalmente como en la práctica, es el uso de bolos minerales intrarruminales.<sup>5,6,7</sup> Estos bolos han demostrado que van liberando el mineral continuamente y por largo tiempo. El uso de los diferentes minerales dependerá de la necesidad y de las deficiencias detectadas mediante un estudio previo.

Los elementos que se han utilizado en estos bolos para suplementación son: el selenio, el cobre, el hierro y el cobalto.<sup>8,9</sup> Los bolos petrificados de selenio constituyen uno de los sistemas de suplementación que más se ha utilizado y estudiado en animales en pastoreo. Estos bolos se fabrican con diferentes fuentes de selenio y varios tipos de compactantes o cementos, con el fin de mantener la liberación constante y por un tiempo prolongado. El tipo de sal del elemento mineral tiene que ser hidrosoluble y su liberación deberá estar en equilibrio entre su solubilidad y el efecto digestivo inducido por el líquido ruminal. En cuanto al selenio se conocen sales como el selenito de sodio, selenato de calcio, selenato de bario y selenio puro que van generalmente mezclados con sales de hierro a una proporción de 1:9. También se han probado bolos de selenometionina, aunque ésta es una sal orgánica que durará poco tiempo pero de una alta capacidad para absorberse.<sup>10</sup>

Se han estudiado varios factores que afectan la disponibilidad y duración del Se en el bolo mineral. Donald *et al.*<sup>10</sup> observaron que el uso de bolos agujereados, permite una mejor liberación que los compactos, además de una mayor superficie de contacto con el líquido ruminal. Asimismo, el uso de bolos con mayor concentración de selenio ayuda a liberar mayor cantidad y por un tiempo más prolongado.

Las sales minerales de selenio, de grano grueso, liberan mayores concentraciones y por un tiempo más largo que las sales minerales de grano fino; este punto también puede estar relacionado con la superficie de contacto con el líquido ruminal.<sup>10</sup>

Se ha encontrado que la formación de cubierta o sarro sobre la superficie del bolo después de un tiempo, bloquea la liberación del mineral en el rumen. Sin embargo, al ser removida, el mineral continúa liberándose. Asimismo, el tipo de aglomerante o cemento adhesivo usado para la fabricación de los bolos condiciona el grado y el tiempo de liberación del selenio, además del tiempo de permanencia en el rumen.<sup>9</sup>

En un trabajo realizado por Langlands *et al.*,<sup>11</sup> se encontró que las concentraciones de selenio en sangre fueron elevadas por un periodo más corto cuando se administraron dos bolos con concentraciones de 3%, 4% y 5% de selenio, que cuando se utilizó uno solo con concentraciones de 6%, 8% y 10%.

La intensidad de liberación del selenio a partir de los bolos minerales se identifica por la modificación de la concentración de selenio sanguíneo, o de glutatión peroxidasa en animales vivos, y en muestras de necropsia se recurre a hígado, riñón, músculo y bazo.<sup>12,13,14,15</sup>

Los factores que tienen poco efecto en la eficacia de la liberación del selenio del bolo son: la cubierta, la estación anual del tratamiento y la edad del ovino.<sup>16,17,18</sup>

El desarrollo de la presente investigación *in vitro* tiene como objetivo buscar un tipo de bolo mineral que libere diariamente las cantidades de selenio que el animal requiere para su adecuada suplementación y por un tiempo prolongado (de más de 6 meses). En los ovinos, las necesidades diarias de selenio son de 0.2 a 0.4 mg/kg de alimento. Si se tratara de un ovino de 50 kg de peso corporal, ingeriría 1.5 kg de alimento como materia seca. La cantidad de selenio necesaria sería de 300 a 600 mg/animal/día, de aquí que parte de estos planteamientos son los que se desean identificar en la presente investigación.

## Material y métodos

Para conocer la cinética de liberación de *Se in vitro* se desarrolló el siguiente modelo experimental: bolos con 10% de Se a partir de selenito de sodio, 22% (selenito de sodio que contiene 46% de Se); sulfato de cobre, 25%; y un cemento adhesivo, 53%.

Se fabricaron cuatro tipos de bolos con selenio de acuerdo al cemento adhesivo: Cemento adhesivo para azulejo; cemento adhesivo para concreto; cemento adhesivo para azulejo y sulfato de cobre; cemento adhesivo para concreto y sulfato de cobre.

El peso final de los bolos fue de 1 g y se suspendieron en 50 ml de una solución amortiguadora a un volumen de 50 ml. Las soluciones amortiguadoras tuvieron los siguientes pH: 7.0, 6.5, 6.0 y 5.5, respectivamente.

La fabricación de la solución amortiguadora se realizó como sigue:

- Selección de los iones que ajusta la solución amortiguadora al pH deseado: de 4.5 a 5.5 iones fosfato ( $H^2PO_4^-/H^3PO_4^-$ ).

- Cálculo de las cantidades de  $H^2PO^4$  y  $H^3PO^4$  necesarias para el ajuste de cada solución amortiguadora, con base en las dos ecuaciones siguientes:

$$Co = \frac{[HA]}{K_a + [A^-]}$$

$$K_a = \frac{[H^+] [A^-]}{[HA]}$$

Tomando en cuenta que  $Co = 0.1 M$  y  $pH = 5.5, 6.0, 6.5$  y  $7.0$ .

- Se utilizó  $NaH^2PO^4$  como ion  $H^2PO^4$ , dado que éste es un compuesto sólido, las cantidades requeridas de acuerdo al pH del amortiguador fueron como sigue para 1 l de agua.

pH= 5.5	13.66 g $NaH^2PO^4$
pH= 6.0	13.52 g $NaH^2PO^4$
pH= 6.5	13.24 g $NaH^2PO^4$
pH= 7.0	12.97 g $NaH^2PO^4$

- El  $NaH^2PO^4$  se diluyó en 487 ml de  $H^2O$  desmineralizada y se ajustó al pH deseado con  $H^3PO^4$  en un potenciómetro Beckman Zeromatic II, con agitación constante en una parrilla Thermolyne Cimarec 2, a velocidad 8.
- Una vez ajustado el pH se continuó la agitación por 3-4 minutos.
- Las soluciones amortiguadoras se guardaron en recipientes de vidrio de 3.5 l con tapón de rosca.

Cada bolo se introdujo en un recipiente de plástico con 50 ml de cada una de las cuatro soluciones amortiguadoras y de cada uno de los cuatro cementos adhesivos. Las anteriores condiciones se hicieron por triplicado.

La medición del Selenio se realizó con un espectrómetro de absorción atómica con flama de acetileno y aire, lámpara específica de selenio de cátodo hueco, bajo las condiciones de operación señaladas en el manual de operación del fabricante.

Para conocer la intensidad de liberación del Se se hicieron mediciones en la solución amortiguadora a los días 1, 4, 8, 16, 32 y 46. La solución amortiguadora se cambió cuando las concentraciones de Se excedían los 500 mg/ml. El cálculo de la liberación diaria de Selenio se hizo considerando la concentración del periodo, dividida entre el número de días. Esta concentración corresponde al contenido de microgramos de Se por cada mililitro ( $\mu g/ml$ ), que al multiplicarse por 50 ml (volumen de la solución) se obtiene la cantidad total liberada. Esta cantidad es disponible para cada animal y se expresa en microgramos.

Los resultados de las mediciones del selenio se agruparon por tipo de cemento adhesivo, pH de la solución amortiguadora dentro de cada cemento adhesivo y día de permanencia en la solución, con el fin de conocer el promedio de cada grupo y buscar las diferencias asociadas con cada característica. Los resultados se agruparon también con el fin de elaborar cuadros y gráficas de las mediciones individuales, para su evaluación visual.

## Resultados

Las gráficas hechas con los resultados de las mediciones del Se en el líquido de suspensión de los bolos indican que en cada tipo de adhesivo o cemento, los pH (7.0, 6.5, 6.0 y 5.5) no influyen uniformemente en la liberación del Se. El tipo de adhesivo o cemento sí es decisivo en la intensidad de liberación (Figura 1, Cuadro 1).

La intensidad de liberación al día uno se ve diferente en todos los grupos (Figura 1, Cuadro 1). La concentración promedio de Se, liberada por los bolos de cemento para concreto (Grupo 1), fue de 18.4  $\mu g/bolo/día$ . En los bolos hechos de cemento y sulfato de cobre (Grupo 2), esta concentración fue de 7.9. Los bolos hechos con cemento adhesivo pega-azulejo (Grupo 3) tuvieron una concentración de 30.4 mg. Los bolos hechos con cemento pega-azulejo y sulfato de cobre (Grupo 4) tuvieron una concentración de 47.9. Las concentraciones registradas el día cinco fueron inferiores a 1  $\mu g/bolo/día$  en los grupos 1 y 2. En los grupos 3 y 4 las concentraciones estuvieron entre 5 y 15  $\mu g/bolo/día$ . La liberación de Se en los bolos de los grupos 1 y 2 se suspendió al día 32; en cambio, la liberación de los bolos en los grupos 3 y 4 se mantuvo al día 46 entre 0.5 y 1  $\mu g/bolo/día$ , respectivamente. Como observación importante del comportamiento de los bolos, se hace notar que en los fabricados con pega-azulejo al día 46, la concentración liberada fue de 0.1  $\mu g$ , en cambio, la concentración liberada de los bolos hechos con pega-azulejo y sulfato de cobre osciló entre 0.5 y 1.0 mg.

La variabilidad en la concentración liberada en los bolos con pega-azulejo fue muy marcada en los muestreos a 1, 5, 8 y 16 días, sin que esta variación estuviese de acuerdo con las variaciones de pH. En los 3 tipos de bolos restantes la variación en la concentración fue escasa, y tampoco hubo una relación con la variación del pH (Figura 1, Cuadro 1).

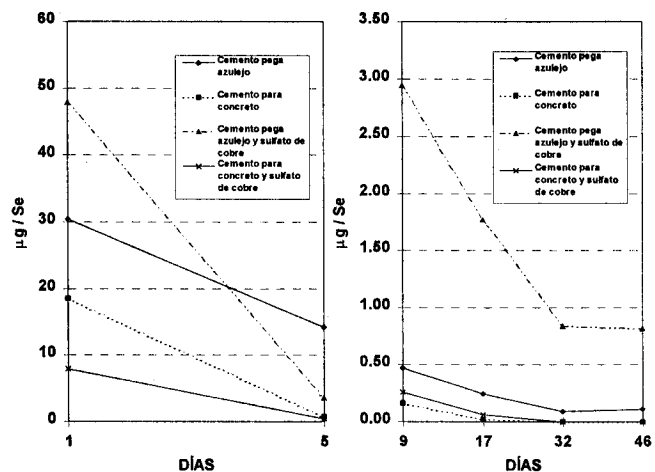


Figura 1. Cinética de liberación del Se en diferentes aglomerados en soluciones amortiguadoras con pH 7.0, 6.5, 6.0 y 5.5.

**Cuadro 1**  
**PROMEDIO DE Se ( $\mu\text{G/G}$ ) DESPUÉS DE LA SUSPENSIÓN DE AGLOMERADOS**  
**EN SOLUCIONES AMORTIGUADORAS CON pH DE 7.0, 6.5, 6.0, Y 5.5**

Aglomerado	Días					
	1	4	8	16	32	46
Cemento pega-azulejo	30.45 <sup>a</sup>	14.28 <sup>a</sup>	0.47 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>
Cemento para concreto	18.47 <sup>b</sup>	0.77 <sup>c</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.00	0.00
Cemento pega-azulejo y sulfato de cobre	47.93 <sup>a</sup>	3.65 <sup>b</sup>	2.94 <sup>c</sup>	1.77 <sup>c</sup>	0.84 <sup>b</sup>	0.82 <sup>b</sup>
Cemento para concreto y sulfato de cobre	7.97 <sup>b</sup>	0.49 <sup>c</sup>	0.26 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.00	0.00

Literales diferentes en la misma columna muestran diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

El análisis estadístico de la concentración promedio, de acuerdo al tipo de cemento adhesivo, fue significativamente diferente ( $P < 0.05$ ).

La apreciación física visual de las características de compactación de cada uno de los bolos fue como sigue: los bolos hechos de cemento para concreto y aquellos que, además, tuvieron sulfato de cobre, se mantuvieron compactos y con dureza parecida al concreto, pero la liberación del selenio ocurrió en un periodo corto y en bajas concentraciones. Los bolos hechos con adhesivo pega-azulejo y sulfato de cobre, presentaron al principio una liberación mayor, respecto a los anteriores, y se mantuvo liberando el selenio hasta los 46 días. Además de mantener la liberación constante, el compactado del bolo se mantenía firme y de dureza similar a la del concreto. La diferencia entre estos dos últimos fue que la liberación después de los 32 días en el grupo con adhesivo pega-azulejo, era sólo de 0.1  $\mu\text{g}/\text{bolo}/\text{día}$ ; en cambio en la del grupo con adhesivo pega-azulejo y sulfato de cobre la concentración liberada osciló entre 0.5 y 1.0  $\mu\text{g}/\text{bolo}/\text{día}$ .

## Discusión

De acuerdo a los estudios realizados por Hunter *et al.*<sup>5</sup> y Hudson *et al.*,<sup>7</sup> los factores que condicionan la intensidad de liberación del selenio en los bolos minerales hechos de selenito de sodio son: el tamaño del bolo, el tamaño del cristal de la sal, la concentración de selenio incluida en el bolo y el peso del bolo. Por esta razón, se han hecho bolos que contienen selenio desde el 5% al 20% y bolos que pesan de 3 g hasta 20 g. Se ha observado que los bolos con el 20% de selenio y de 20 g de peso, son los que incrementan el contenido de selenio en los bovinos.<sup>8,11</sup>

Los factores que condicionan la liberación de selenio a partir de bolos minerales, tanto *in vitro* como *in vivo*, no deben ser comparables; sino más bien la selección del bolo para la aplicación intraruminal deberá estar basada en los hallazgos del experimento *in vitro*. Se sabe

que los factores que modifican la liberación del selenio de los bolos intraruminales son: la formación de sarro en la periferia del bolo, sarro que puede estar formado por material orgánico e inorgánico; pues se tendrá la influencia de todos los componentes utilizados en la alimentación del rumiante. En cambio, la posibilidad de formación de sarro en la periferia de los bolos por efecto de los fosfatos usados en la fabricación de la solución amortiguadora serían exclusivos; pero se considera que al ser ácida la solución, las sales se mantendrán ionizadas y la posibilidad de la formación del sarro es nula como sucedió en nuestro caso.

Otro factor que condiciona la intensidad de liberación de selenio en los bolos es la sal del elemento, la más soluble es el selenito. Otra de las fuentes utilizadas de selenio para los animales es la selenometionina; este compuesto es orgánico y la posibilidad de absorción es muy alta pero por un periodo corto. En este estudio se usó como fuente de selenio al selenito de sodio.

El tipo de cemento adhesivo condiciona la corrosión del bolo y, por consiguiente, la liberación del selenio, bolos hechos a partir de cemento para concreto tienen un compactado y una dureza muy alta comparada con las hechas a base de yeso, pero la liberación es escasa o dura poco tiempo; en cambio, en los bolos hechos con cemento adhesivo pega-azulejo o los hechos a base de yeso y otros ingredientes, la liberación será mucho más alta y persistirá hasta que el bolo se haya deshecho completamente. Otro factor que modifica la intensidad de liberación de los bolos es su característica física; por ejemplo, se ha visto un incremento en la liberación, en bolos parecidos a una esponja. Al comparar éstos con bolos compactos, como los de este experimento, donde se usó cemento pega-azulejo, pero con un contenido de más del 5%; la liberación de selenio fue lenta pero prolongada y en cantidades que cubren las necesidades nutricionales de los animales.<sup>5,7,11</sup>

El comportamiento de la liberación de selenio de los bolos minerales intraruminales como fuente de minerales para los rumiantes, está sujeto a una serie de factores que dependen de las características del bolo y de las

características fisiológicas del rumen, pero este estudio presenta resultados preliminares para tomar una actitud apoyada científicamente.

## Agradecimientos

Se agradece la colaboración del químico Oscar Héctor Mercado Servín.

## Referencias

1. Cawley G, McPhee I. Trials with a long acting parenteral selenium preparation in ruminant sheep. *Vet Rec* 1984;114:565-566.
2. Gerloff JG. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *J Anim Sci* 1992;70:393-394.
3. Hoffman CH, Rivinus B, Swabson L. Effect of intramuscular administration of selenium and vitamin E in dairy heifers on erythrocyte glutathione peroxidase activity and blood selenium levels. *J Anim Sci* 1978;47:192-197.
4. MacPerson A, Chalmers JS. Methods of selenium supplementation of ruminants. *Vet Rec* 1984;115:244-246.
5. Hunter RA, Peter DW, Hudson DR, Chandler BS. Studies with the intraruminal selenium pellet. I. Some factors influencing the effectiveness of sheep. *Austr J Agric Res* 1981;32:927-933.
6. Millar KR, Meads WJ. The efficacy of intraruminal pellets composed of elemental selenium and iron in sheep. *N Z Vet J* 1988;36:53-55.
7. Hudson DR, Hunter RA, Peter DW. Studies with the intraruminal selenium pellet. II The effect of grain size of selenium on the functional life of pellets in sheep. *Austr J Agric Res* 1981;32:935-945.
8. Millar KR, Meads WJ, Alby AT, Scahill BG, Sheppard AD. The retention and efficacy of soluble-glass boluses for providing selenium, cobalt and copper to sheep. *N Z Vet J* 1988;36:11-14.
9. Judson GJ, Brown TH, Kemper BR, Turnbull RK. Trace element and vitamin B<sub>12</sub> status of sheep given an oral dose of one, two or four soluble glass pellets containing copper, selenium and cobalt. *Austr J Exp Agric* 1988;28:299-305.
10. Donald GE, Langlands JP, Bowles JE, Smith AJ, Burke GL. Selenium supplements for grazing sheep. 3. Development of an intra-ruminal pellet with an extended life. *Anim Feed Sci Tech* 1993;40:295-308.
11. Langlands JP, Donald GE, Bowles JE, Smith AJ. Selenium supplements for grazing sheep. 4. The use of intraruminal pellets containing elevated quantities of selenium. *Anim Feed Sci Tech* 1994;46:109-118.
12. Millar KR, Meads WJ. Selenium levels in: blood, liver, kidney and muscle of sheep after the administration of iron/selenium pellets or soluble-glass boluses. *N Z Vet J* 1988;36:8-10.
13. Paynter DI. Glutathione peroxidase and selenium in sheep. I. Effect of intraruminal selenium pellets on tissue glutathione peroxidase activities. *Austr J Agric Res* 1979;30:4-8.
14. Paynter DI, Anderson JW, McDonald JW. Glutathione peroxidase and selenium in sheep. II. The relationship between glutathione peroxidase and selenium-responsive unthriftiness in Merino lambs. *Austr J Agric Res* 1979;30:703-709.
15. Handreck KA, Godwin KO. Distribution in the sheep of selenium derived from Se-labelled ruminal pellets. *Austr J Agric Res* 1970;21:71-84.
16. Wilkins JF, Hamilton BA. Low release of selenium from recovered ruminal pellets. *Austr Vet J* 1980;56:87-89.
17. Kuchel RE, Buckley RA. The provision of selenium to sheep by means of heavy pellets. *Austr J Agric Res* 1969;20:1099-1107.
18. Trengove CL, Judson GJ. Trace element supplementation of sheep: evaluation of various copper supplements and a soluble glass pellet containing copper, cobalt and selenium. *Austr Vet J* 1985;62:321-324.