Liberación de selenio en soluciones amortiguadoras a partir de comprimidos elaborados con diferentes tipos de aglomerantes

Selenium release in buffer solutions with the use of pellets made with different types of agglomerates

Carlos Gutiérrez Olvera* René Rosiles Martínez* Adriana Ducoing Watty**

Abstract

The present study was made to determine *in vitro* release of selenium from mineral pellets of 1 g of weight, with 5 and 10% of selenium and made with three different agglomerates (plaster, concrete-cement and tile- cement), with or without copper sulfate. They were kept in four buffer solutions with pH 7.0, 6.5, 6.0 and 5.5. The concentration of released Se (mg/pellets/day) was measured by atomic absorption spectroscopy on days 1, 4, 8, 16, 32 and 64. At day 4, the plaster pellets were disintegrated in every buffer solution. There was no release of selenium after day 32 in the concrete-cement pellets, with or without copper sulfate. The average release of Se was greater for the pellets containing both tile-cement, and copper sulfate, than the pellets containing only tile-cement without copper sulfate. This was higher for pellets containing 10% of Se than the ones containing 5% Se. Throughout time, a complex interaction was observed between the Se content, the presence or absence of copper sulfate and pH levels, without showing any predominant pattern. In conclusion, the best agglomerate is the tile- cement because the release of Se is more constant and lasts longer.

Key words: SELENIUM, MINERAL PELLETS, RELEASE, AGGLOMERATES, COPPER SULFATE,

Resumen

Esta investigación se realizó con el fin de medir la liberación de selenio (Se) *in vitro* a partir de comprimidos de 1 g de peso, con 5% y 10% de Se y fabricados con tres tipos de aglomerantes (yeso, cemento para concreto, cemento pega-azulejo) y la adición o no de sulfato de cobre. Los comprimidos se sumergieron en soluciones amortiguadoras con pH 7.0, 6.5, 6.0 y 5.5. La concentración de Se liberado (mg/comprimido/día) se midió mediante espectrometría a partir del líquido sobrenadante a los días 1, 4, 8, 16, 32 y 64. Los comprimidos de yeso se desintegraron en todas las soluciones a partir del día 4. Los comprimidos de cemento (con y sin sulfato de cobre) dejaron de liberar Se a partir del día 32 y poco tiempo después se fracturaron y rompieron. La liberación promedio de Se de los comprimidos de cemento pega-azulejo y sulfato de cobre fue mayor que la de los comprimidos de cemento pega azulejo sin sulfato de cobre. Esta última fue superior para los comprimidos que contenían 10% que para los comprimidos con 5% de Se. A través del tiempo se observa una interacción compleja entre el contenido de Se, la presencia o ausencia de sulfato de cobre y los niveles de pH, sin que se manifieste un patrón predominante. Se concluye que el mejor aglomerante es el cemento pega-azulejo, ya que mantiene una liberación del elemento de manera constante y durante mayor tiempo.

Palabras clave: SELENIO, BOLOS MINERALES, LIBERACIÓN, AGLOMERANTES, SULFATO DE COBRE.

Recibido el 14 de noviembre de 2005 y aceptado el 29 de mayo de 2006.

*Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

**Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

Introduction

Selenium deficiency greatly affects sheep production, especially during the development stage of lambs and during gestation of ewes.[1,2] Some Se deficiency correction forms are:[3] inclusion of salts in feed; subcutaneous injections, sodium Se oral dosing and intraruminal Se pellets.

Intraruminal Se pellets are used to supply, with a low cost, this element to pasturing sheep, preserving its effectiveness during several years. It has been observed that the pellets may maintain Se levels for three or four years, in animals that are on pasture that is deficient of this element[2,4-6].

Pellets are manufactured with different Se sources and several compacting materials or cement types whose purpose is to maintain constant release during a long time. Se sources must be water soluble and its release should maintain a balance between its solubility and the digestive effect induced by the ruminal liquid. Commonly used sources for this element are sodium selenite, calcium selenate, barium selenate and pure or elemental selenium.[4]

The availability and duration of selenium in the pellet is given by several factors: *a*) Se concentration: the higher the Se concentration in the pellets, the more amount released as well as time of release.[4,5] *b*) Porosity; the more porous the pellet, the greater the Se release, due to a greater contact surface.[4] *c*) Size of the Se source grain: the thicker the grain, the greater the release of this element is and it lasts longer.[4,7-9] *d*) Agglomerate: the type of agglomerate or adhesive cement used for the pellet, conditions the degree and time of release of Se, as well as the permanence of the pellet within the rumen.[10] *e*) Compression: it has been observed that the pressure applied to the pellet has effects on its longevity; thus, pellets that have been subjected to high pressure are more effective than those subjected to lower pressure.[4] *f*) Salt deposits: The formation of a crust on the pellet surface when inside the animal rumen causes low or null liberation of this element; the administration of steel grains with the pellets may avoid the salt deposits.[6] *g*) Lubricant: the inclusion of 1% lubricant (magnesium stearate) tends to increase the effectiveness of the pellet in relation to release; nevertheless, the application of 3% and 5% of lubricant tends to reduce release.[4]

In this context, contact surface (size of the pellet), treatment season and age of sheep does not have any effect on pellet effectiveness.[7]

The objective of this study was to asses Se liberation by time and different types of pellets with 5% and 10% of this element, manufactured with concrete-cement, tile-cement and plaster, with or without copper sulfate, in four different pH buffer solutions, with the

Introducción

La deficiencia de Se afecta de manera importante la producción ovina, sobre todo en la etapa de desarrollo de los corderos y durante la gestación de las ovejas.[1,2] Algunas de las formas mediante las cuales se puede corregir la deficiencia de Se son:[3] inclusión en forma de sales en el alimento; aplicación de inyecciones subcutáneas; dosificación oral de Se sódico y aplicación de comprimidos intrarruminales de Se.

Los comprimidos intrarruminales de Se se utilizan para suministrar a bajo costo este elemento en ovejas en pastoreo, conservando su efectividad durante varios años. Se ha visto que los comprimidos pueden mantener niveles de Se de tres a cuatro años, en animales que consumen pastos deficientes de este elemento.[2,4-6]

Los comprimidos se fabrican con diferentes fuentes de Se y varios tipos de compactantes o cementos que tienen como fin mantener una liberación constante y por tiempo prolongado. Las fuentes de Se deben ser hidrosolubles y su liberación deberá mantener un equilibrio entre su solubilidad y el efecto digestivo inducido por el líquido ruminal. Las fuentes de este elemento comúnmente utilizadas para la elaboración de comprimidos son selenito de sodio, selenato de calcio, selenato de bario y selenio puro o elemental.[4]

La disponibilidad y duración del selenio en el comprimido está dada por varios factores: *a*) Concentración de Se: A mayor concentración de Se en los comprimidos, se incrementa la cantidad liberada, así como el tiempo de liberación.[4,5] *b*) Porosidad: entre más poroso sea el comprimido, mayor será la liberación de Se, debido a mayor superficie de contacto.[4] *c*) Tamaño del grano de la fuente de Se: entre más grueso sea el grano la liberación de este elemento será mayor y por mayor tiempo.[4,7-9] *d*) Aglomerante: el tipo de aglomerante o cemento adhesivo utilizado en el comprimido condiciona el grado y tiempo de liberación de Se, así como la permanencia del comprimido dentro del rumen.[10] *e*) Compresión: se ha observado que la presión impartida al comprimido trae efectos sobre su longevidad; así, comprimidos a los cuales se les ejerce presión alta, son más efectivos que los que son sometidos a una presión baja.[4] *f*) Depósito de sales: la formación de una cubierta de sarro en la superficie de los comprimidos en el rumen de los animales provoca baja o nula liberación de este elemento; la administración de granos de acero con los comprimidos puede evitar los depósitos de sal.[6] *g*) Lubricante: la inclusión de 1% de lubricante (estearato de magnesio) tiende a incrementar la efectividad del comprimido en cuanto a liberación de Se; sin embargo, la aplicación de 3% y 5% de lubricante tiende a reducir la liberación.[4]

purpose of determining which one of the pellets has a better performance, and then supply them to sheep on pasture in regions where the soil is deficient of this element.

The research hypothesis consists of the following: pellets manufactured with different agglomerates, with and without copper sulfate, with different Se concentrations, release different amounts of this element in diverse pH ranges, along different time periods.

Material and methods

Intraruminal pellets of 1 g in weight, with 5% and 10% Se were manufactured in the Toxicology Laboratory of the Animal Nutrition Department of the Veterinary Medicine and Animal Husbandry, Faculty of the National Autonomous University of Mexico, using as a selenium source sodium selenite (46% Se and 54% sodium). Six types of pellets were manufactured for each percentage, with three types of agglomerates (concrete-cement,*; tile-cement,** plaster), in the following manner:

a) Pellets with 5% Se, without copper sulfate, contained 89% agglomerate and 11% sodium selenite. Those that contained copper sulfate were manufactured with 64% agglomerate, 25% copper sulfate and 11% sodium selenite.

b) Pellets with 10% Se, without copper sulfate, contained 78% agglomerate and 22% sodium selenite. Those that contained copper sulfate were produced with 53% agglomerate, 25% copper sulfate and 22% sodium selenite.

Each component was weighed in an electric digital grain scale (with sensitivity of ten thousandth of a gram), to be then mixed. Demineralized water was then added to form a paste that was compacted in a manually driven pelleting machine, the pellets were left out to dry. Once dry, they were suspended in 50 mL of different pH buffer solutions (7.0, 6.5, 6.0 and 5.5) in plastic containers,*** at room temperature and in triplicate. Sodium phosphate (NaH2PO4), as phosphate ion and mineralized water were used to produce the buffer solutions. The solution was adjusted to the desired pH with a potentiometer,* constantly stirring over a hotplate,** Selenium release was measured by an atomic absorption spectrometer with acetylene flame and air, and a specific Se hollow cathode lamp. To know the degree of Se release, measurements were done in the buffer solution on days 1, 4, 8, 16, 32 and 64.

Buffer solutions were changed when Se concentrations were over 500 mg/mL. Daily release of selenium was estimated taking into consideration the concentration of the period, divided by the number of days. This concentration corresponded to the content of

En este contexto, la superficie de contacto (tamaño del comprimido), época de tratamiento y edad de ovinos no tienen ningún efecto sobre la eficacia del comprimido.[7]

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la liberación de Se a través del tiempo, de diferentes tipos de comprimidos con 5% y 10% del elemento fabricados con cemento para concreto, con pega-azulejo y yeso piedra, con y sin sulfato de cobre, en soluciones amortiguadoras con cuatro diferentes pH, con el fin de determinar cuál de los comprimidos tiene mejor desempeño y posteriormente suministrarlo a ovinos en pastoreo en regiones donde el suelo es deficiente de este elemento.

La hipótesis de la investigación consiste en que los comprimidos elaborados con diferentes aglomerantes, con y sin sulfato de cobre, con diferentes concentraciones de Se, liberan cantidades diferentes de este elemento en varios rangos de pH a través del tiempo.

Material y métodos

Se elaboraron comprimidos intrarruminales de 1 g de peso con 5% y 10% de Se en el Laboratorio de Toxicología, del Departamento de Nutrición Animal, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, utilizando como fuente el selenito de sodio (46% de Se y 54% de sodio). Se fabricaron seis tipos de comprimidos para cada porcentaje, con tres tipos de aglomerantes (cemento para concreto,* cemento pega-azulejo,** yeso piedra), de la siguiente manera:

a) Los comprimidos con 5% de Se sin sulfato de cobre contenían 89% del aglomerante y 11% de selenito de sodio. Los que contenían sulfato de cobre se fabricaron con 64% del aglomerante, 25% de sulfato de cobre y 11% de selenito de sodio.

b) Los comprimidos con 10% de Se sin sulfato de cobre contenían 78% del aglomerante y 22% de selenito de sodio. Los que contenían sulfato de cobre se fabricaron con 53% del aglomerante, 25% de sulfato de cobre y 22% de selenito de sodio.

Cada componente se pesó en una balanza granataria digital eléctrica (con sensibilidad de diezmilésima de gramo), para mezclarse posteriormente. Después se agregó agua desmineralizada para formar una pasta que se compactó en una *peletizadora* manual; los comprimidos se dejaron secar al medio ambiente. Una vez secos fueron suspendidos en 50 mL de soluciones amortiguadoras con diferente pH (7.0, 6.5, 6.0 y 5.5) en envases de plástico,*** a temperatura ambiente y

*Olmeca.
**Elefante.
***Nalgene.

micrograms of Se per each milliliter (µg/mL) that when multiplied by 50 mL (solution volume) gave the total amount that was released. Selenium measurement results were grouped by type of agglomerate, pH of the buffer solution and days of permanence in the solution, in order to know the average of each group and identifying the differences associated with every characteristic.

The original experimental design was a 2 × 2 × 3 × 4 factorial, without random restrictions, with three replicates and repeated measurements. Nevertheless, due to the fact that the plaster pellets disintegrated and the concrete-cement ones fractured and stopped releasing, the tile-cement pellets' results were the only ones used for the statistical analysis.

Only a descriptive analysis was performed with the results of the concrete-cement pellets.[11] A multivariate variance analysis for repeated observations (MANOVA) was performed in order to evaluate the results that corresponded to the release of selenium through time, of tile-cement pellets, with or without copper sulfate, with 5% and 10% Se, in four buffer solutions. The analysis corresponds to a factorial design with three factors and repeated observations. Box and Cox transformation was applied to the Se release data, to correct the absence of normality. For multiple comparisons Bonferroni adjustment was used. Exponentials were adjusted to model the average response through time. The analysis was performed using the JMP version 3.1 statistical program.[12-15]

Results

Selenium release at the beginning of the experiment was high, especially in the tile-cement pellets, with or without copper sulfate and after that it tapered down (Table 1).

Plaster pellets, with or without copper sulfate in both percentages of Se (5% and 10%), disintegrated in all pHs since the second measurement; therefore, they were discarded.

Insofar as concrete-cement pellets, with or without copper sulfate, are concerned, Se release was null from day 16 for 5% pellets, and from day 32 for those with 10%. Also, from day 34 they began to fracture (Table 1).

Pellets made from tile-cement, with or without copper sulfate, and both Se percentages, continued releasing Se until the last sampling (day 64) and there was no apparent change of the surface and structure (Table 1). Having performed the Box and Cox transformation of the selenium release data, as well as evaluated that the normality assumption was satisfied by the Shapiro-Wilk test through a multivariate vari-

por triplicado. Para la fabricación de las soluciones amortiguadoras se utilizó fosfato de sodio (NaH_2PO_4), como ion fosfato, y agua desmineralizada. Se ajustó la solución al pH deseado con un potenciómetro,* con agitación constante en una parrilla. **

La medición del Se liberado se realizó en un espectrómetro de absorción atómica con flama de acetileno y aire, y una lámpara específica de Se de cátodo hueco. Para conocer el grado de liberación de Se, se hicieron mediciones en la solución amortiguadora a los días 1, 4, 8, 16, 32 y 64.

La solución amortiguadora se cambiaba cuando las concentraciones de Se excedían los 500 mg/mL. El cálculo de la liberación diaria de selenio se realizó considerando la concentración del periodo, dividida entre el número de días. Esta concentración correspondió al contenido de microgramos de Se por cada mililitro (µg/mL), que al multiplicarse por 50 mL (volumen de la solución) arrojó la cantidad total liberada. Los resultados de las mediciones de selenio se agruparon por tipo de aglomerante, pH de la solución amortiguadora 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.

El diseño original del experimento corresponde a un factorial 2 × 2 × 3 × 4, sin restricciones en el aspecto aleatorio, con tres replicaciones y mediciones repetidas. Sin embargo, debido a que los comprimidos de yeso se desintegraron y los de cemento dejaron de liberar Se y se fracturaron, para el análisis estadístico únicamente se utilizaron los resultados de los comprimidos de pega-azulejo.

Con los resultados correspondientes a los comprimidos de cemento únicamente se efectuó un análisis descriptivo.[11] Se realizó un análisis de varianza multivariado para observaciones repetidas (MANOVA) con el fin de evaluar los resultados correspondientes a la liberación de selenio a través del tiempo, de los comprimidos de pega-azulejo, con y sin sulfato de cobre, con 5% y 10% de Se, en cuatro soluciones amortiguadoras. El análisis corresponde a un diseño factorial con tres factores y observaciones repetidas. Se realizó la transformación Box y Cox en los datos de liberación de Se, para corregir la ausencia de normalidad. Para comparaciones múltiples se utilizó el ajuste de Bonferroni. Se ajustaron exponenciales para modelar la respuesta promedio en el tiempo. El análisis se realizó mediante el empleo del paquete estadístico JMP versión 3.1.[12-15]

*Beckman Zeromatic II.
**Thermolyne Cimarec 2.

ance analysis for repeated observations, the following results were obtained. When considering average behavior through time of the tile-cement pellets, it was found that pH does not have a significant effect on Se release (P = 0.08) and the interaction between selenium concentration in the pellets and the presence or not of copper sulfate in them was significant (P < 0.0001) (Tables 2 and 3). All multiple comparisons with Bonferroni adjustment were significant (P < 0.0001). The result was that, on average, pellets with copper sulfate released more selenium that those that did not, and this superiority was higher in pellets that contained 10% selenium than the ones that contained 5% Se (Figure 1).

Nevertheless, when analyzing Se release from the pellets, it was found that the interaction between time and pH levels, presence or absence of copper sulfate and both levels of Se concentration was significant (P <0.005) (Table 4); therefore, exponentials were adjusted to model the average selenium release through time per treatment (Figures 2 and 3). It was found that the copper sulfate pellets release more selenium from day eight on, but the amount of selenium released varies according to pH level and selenium concentration in the pellet as a result of the statistical significance of the interaction.

Discussion

Selenium distributed on the surface of tile-cement pellets, with or without copper sulfate, was released quickly since it was in direct contact with buffer solutions. After that, Se release was reduced due to the fact that there was no change in the contact surface and superficial Se was being reduced. It would be convenient to study the behavior of the pellets in the animal rumen, since there, the contact surface would be constantly modified, as the pellet would erode by

Resultados

La liberación de Se en el inicio del experimento fue elevada, sobre todo en los comprimidos de cemento pega-azulejo con y sin sulfato de cobre, y posteriormente fue decreciendo (Cuadro 1).

Los comprimidos fabricados con yeso-piedra, con o sin sulfato de cobre, y en los dos porcentajes de Se (5% y 10%), se desintegraron en todos los pH a partir de la segunda medición, por ello fueron descartados.

En cuanto a los comprimidos fabricados con cemento para concreto con y sin sulfato de cobre, la liberación de Se fue nula a partir del día 16 en los comprimidos de 5% y a partir del día 32 en los de 10%. Además, a partir del día 34 comenzaron a fracturarse (Cuadro 1).

Los comprimidos fabricados con cemento pega-azulejo con y sin sulfato de Cu y de ambos porcentajes de Se, continuaron liberando Se hasta el último muestreo (día 64) y no sufrieron ningún cambio aparente en su superficie y estructura (Cuadro 1). Habiendo realizado la transformación de Box y Cox a los datos de liberación de selenio, así como evaluado mediante la prueba de Shapiro-Wilk que se satisfacía el supuesto de normalidad, mediante el análisis de varianza multivariado para observaciones repetidas, se obtuvieron los siguientes resultados: Al considerar el comportamiento promedio en el tiempo, de los comprimidos pega-azulejo, se encontró que el pH no tiene efecto significativo en la liberación de Se (P = 0.08) y que la interacción entre la concentración de selenio en los comprimidos y la presencia o no de sulfato de cobre en ellos fue significativa (P < 0.0001) (Cuadros 2 y 3). Todas las comparaciones múltiples con ajuste de Bonferroni fueron significativas (P < 0.0001). El resultado fue que, en promedio, los comprimidos con sulfato de cobre liberaron más selenio que los que no lo tenían, pero que esta superioridad fue mayor en los compri-

Cuadro 1

CINÉTICA DE LA LIBERACIÓN DE Se (μ_g/g) EN COMPRIMIDOS DE CEMENTO PARA CONCRETO

KINETICS OF Se RELEASE (μ_g/g) FROM CONCRETE-CEMENT PELLETS

	Pellets with 5 % Se						*Pellets with 10 % Se*					
	Observation period (days)						*Observation period (days)*					
Agglomerate	1	4	8	16	32	64	1	4	8	16	32	64
Concrete-cement	8.93	0.19	0.01	0.00	0.00	0.00	18.47	0.77	0.16	0.02	0.00	0.00
Concrete-cement and copper sulfate	5.57	0.19	0.01	0.00	0.00	0.00	7.97	0.49	0.26	0.06	0.00	0.00

Cuadro 2

LIBERACIÓN PROMEDIO DE SELENIO (µg / g), POR TRATAMIENTO, A TRAVÉS DEL TIEMPO

AVERAGE SELENIUM RELEASE (µg / g) PER TREATMENT, THROUGH TIME

			Days					
pH	*Cu*	*% Se*	*1*	*4*	*8*	*16*	*32*	*64*
7.0	Absent	10	29.45	13.98	0.65	0.14	0.09	0.11
6.5	Absent	10	28.80	12.55	0.47	0.27	0.11	0.12
6.0	Absent	10	32.44	14.91	0.49	0.26	0.09	0.09
5.5	Absent	10	31.12	15.68	0.28	0.32	0.08	0.12
7.0	Absent	5	15.13	8.45	0.37	0.07	0.04	0.05
6.5	Absent	5	13.87	9.71	0.31	0.11	0.07	0.06
6.0	Absent	5	16.67	7.82	0.27	0.10	0.04	0.03
5.5	Absent	5	13.72	9.39	0.14	0.15	0.03	0.05
7.0	Present	10	45.55	3.33	2.90	1.51	0.64	1.07
6.5	Present	10	47.83	2.92	2.76	1.82	0.99	0.83
6.0	Present	10	51.03	4.76	3.36	1.94	0.83	0.64
5.5	Present	10	47.33	3.57	2.76	1.80	0.88	0.75
7.0	Present	5	25.76	1.17	0.98	0.87	0.35	0.27
6.5	Present	5	25.19	1.03	0.84	0.75	0.36	0.34
6.0	Present	5	26.75	1.33	1.06	0.86	0.27	0.36
5.5	Present	5	22.17	0.94	0.80	0.77	0.35	0.29

Cuadro 3

ANÁLISIS DE LOS FACTORES ENTRE COMPRIMIDOS

ANALYSIS OF PELLET FACTORS

Variation source	*Degrees of freedom*	*Exact F*	*Prob > F*
Constant	1	114786.2100	< 0.0001
pH	3	2.3709	0.0889
Cu	1	1039.7690	< 0.0001
% Se	1	1165.2077	< 0.0001
pH* Cu	3	1.9877	0.1356
pH* % Se	3	1.9662	0.1389
Cu* % Se	1	67.6193	< 0.0001
pH* Cu* % Se	3	0.5106	0.6779
Error	32		

action of ruminal microorganisms, frequent pH and temperature changes, as well as constant friction by food particles contained within the rumen.

Plaster pellets' matrix was too weak (porous) and this allowed considerable incorporation of liquids thus causing its disintegration.

midos que contenían 10% de selenio que en los comprimidos con 5% de Se (Figura 1).

Sin embargo, al analizar la liberación de Se de los comprimidos, se encontró que la interacción entre el tiempo, los niveles de pH, la presencia o ausencia de sulfato de cobre y los dos niveles de concentración de

Cuadro 4

ANÁLISIS DE FACTORES A TRAVÉS DEL TIEMPO.

FACTOR ANALYSIS THROUGH TIME

Factor	λ *Wilks*	*F approx.*	*D.F. num.*	*D.F. den.*	*Prob > F*
Time		17677.9650 *	5	28	0.0000
Time* pH	0.0752294	8.0434	15	77.697	0.0000
Time* Cu		1838.0554 *	5	28	0.0000
Time*%Se		53.4178 *	5	28	0.0000
Time* pH *Cu	0.0984197	6.8117	15	77.697	0.0000
Time* pH *%Se	0.2278626	3.6712	15	77.697	0.0001
Time*Cu*%Se		22.8573 *	5	28	0.0000
Time* pH *Cu*%Se	0.3271061	2.5847	15	77.697	0.0035

*This F is exact

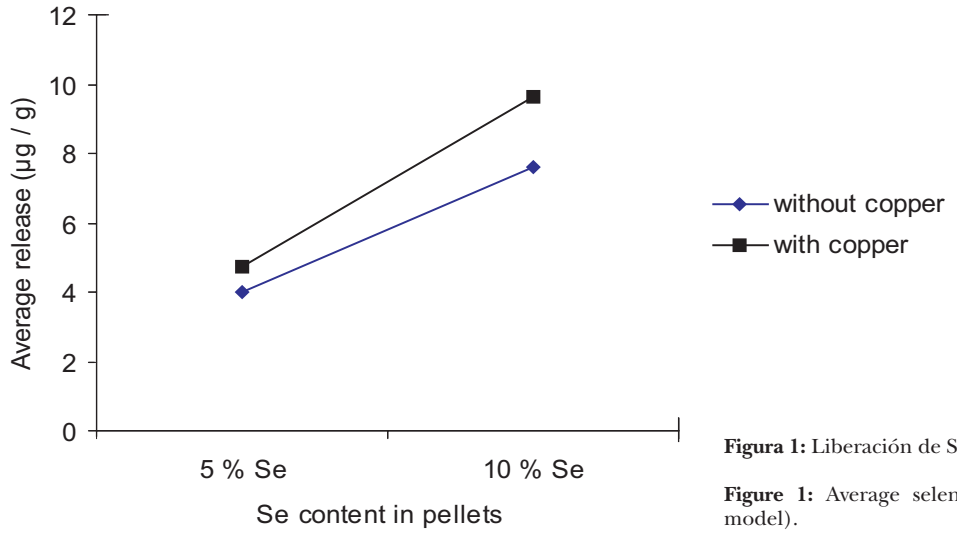

Figura 1: Liberación de Selenio (mg/g), ajustada por el modelo.

Figure 1: Average selenium release (mg/g, adjusted by the model).

On the other hand, contrary to the plaster pellets, the matrix of concrete-cement pellets apparently was more solid and it did not allow liquid penetration into its interior; therefore, Se was only released from the most superficial portion of these (until day eight in the 5% ones and day 16 on the 10% ones). Finally, these pellets fractured since they were immersed in an aqueous solution and liquids were being incorporated into them.

Different from the concrete-cement pellets, the tile-cement pellets had a solid matrix but flexible enough for liquid incorporation (some porosity) that allowed certain Se release at the end and at the same time avoid fractures. Average release throughout the time period was higher for the tile-cement with copper sulfate than for pellets without copper sulfate (this superiority was higher in the 10% pellets than

Se fue significativa ($P < 0.005$) (Cuadro 4), por lo que se ajustaron exponenciales para modelar la liberación promedio de selenio en el tiempo por tratamiento (Figuras 2 y 3), encontrándose que los comprimidos con sulfato de cobre liberan más selenio a partir del día ocho, pero la cantidad de selenio liberada varía por nivel de pH y concentración de selenio en el comprimido, como resultado de la significancia estadística de la interacción.

Discusión

El Se que se encontraba distribuido en la superficie de los comprimidos de cemento pega-azulejo con y sin sulfato de cobre, se liberó con gran rapidez por estar en contacto directo con las soluciones amortiguadoras. Posteriormente, la liberación de Se dismi-

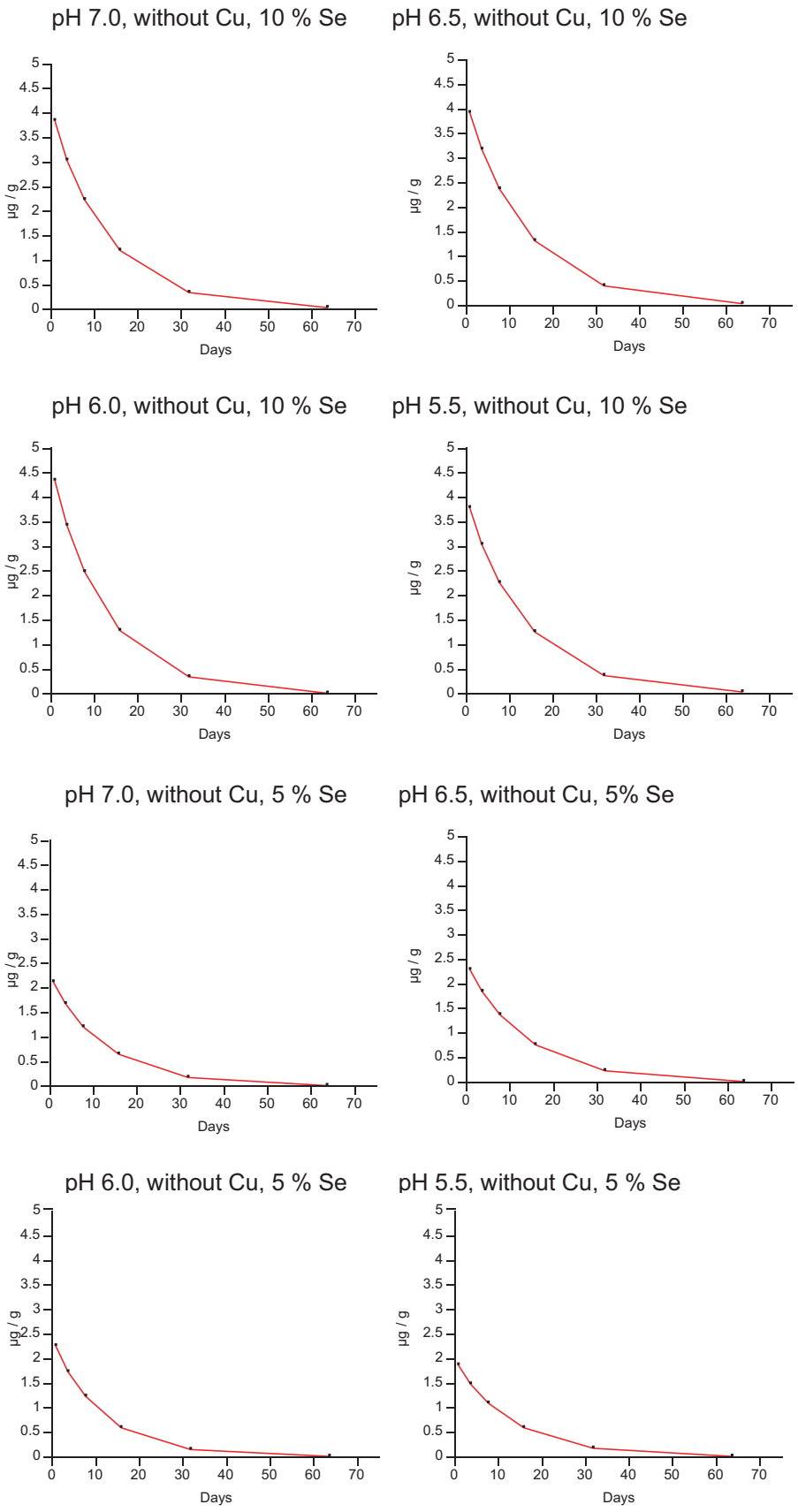

Figura 2: Liberación promedio de selenio, por tratamiento, a través del tiempo, ajustado mediante un modelo exponencial.

Figure 2: Average selenium release, per treatment, throught time adjusted by exponential model.

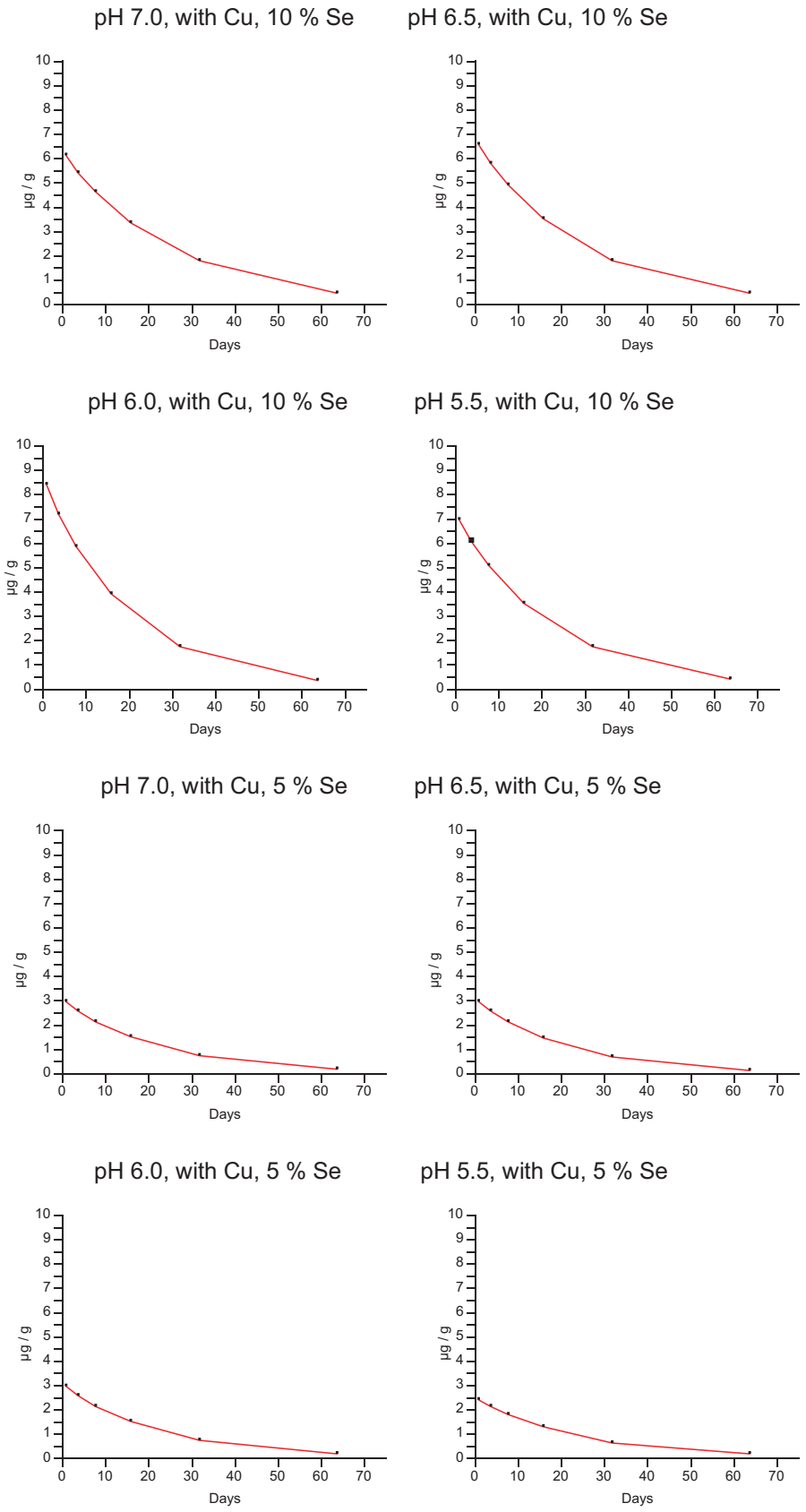

Figura 3: Liberación promedio de Selenio, por tratamiento, a través del tiempo, ajustado mediante un modelo exponencial.

Figure 3: Average selenium release, per treatment, throught time adjusted by exponential model.

the 5% pellets). This result could have been due to the fact that copper sulfate has an ionic nature that easily captures water molecules, quickly is hydrated and when the pellet dries causes spaces between molecules and thus porosity that allows a higher amount of Se release.

According to the studies by Hunter *et al.*[7] and Hudson *et al.*,[8] factors that condition the intensity of Se release from mineral pellets made with sodium selenite are: pellet size, size of the salt crystal, Se concentration included in the pellet and pellet weight. Because of this, pellets have been made with 5% to 20% Se, as well as with weights from 3 to 20 g. It has been observed that pellets with 20% Se and 20 g in weight increase Se concentration in bovine blood.[5,7,8,16]

Selenium release intensity of pellets is also due to the type of element´s salt that is being used; the ones most soluble are selenites (in this study, sodium selenite was used); another most frequently used source is selenomethionine, that has a very high absorption possibility, but lasts a short period of time.[7,8]

Pellet´s corrosion is conditioned by the type of adhesive cement that is used; therefore, it also conditions Se release. Pellets from concrete-cement are highly compacted and hard, when compared to those made of tile-cement but they scarcely release Se for a short period. On the other hand, in the case of tile-cement pellets, Se release is higher and persists longer until the pellet falls completely apart. Physical structure is another factor that modifies release intensity. For example, it has been observed that porous pellets (spongelike) increase element release. This happened with the tile-cement and copper sulfate that were more porous and had more release than those that did not contain copper sulfate. In relation to average behavior through time, it was found that tile-cement pellets and copper sulfate released more than those that had copper sulfate, notwithstanding pH level differences. Nevertheless, when analyzing the behavior of release at different points in time, it was found that the Se concentration, pH levels and the presence or not of copper interacted in a complex manner for release without any specific observable pattern.

The conclusion is that tile-cement was a good material to be used in the production of one gram Se pellets, since it did not suffer damage and had an acceptable release up to day 64. In this study, the presence of copper sulfate as well as the higher Se content (10%) permitted on average and in time, a higher amount of release of this element; nevertheless, it is advisable that other studies be performed in order to recommend its use, since the behavior of pellet release is complex as was shown here.

nuyó debido a que no hubo cambio en la superficie de contacto y el Se superficial se fue acabando. Sería conveniente estudiar el comportamiento de los comprimidos en el rumen del animal, ya que ahí la superficie de contacto se modificaría constantemente al irse desgastando el comprimido a causa de la acción de los microorganismos ruminales, los cambios frecuentes de pH y temperatura, así como por la constante fricción provocada por el roce con las partículas del alimento contenidas dentro del rumen.

La matriz de los comprimidos fabricados con yeso-piedra fue demasiado débil (muy porosa) y permitió una considerable incorporación de líquidos, lo que provocó su desintegración.

Contrario a los comprimidos de yeso, en el caso de los de cemento para concreto, la matriz aparentemente fue más sólida y no permitió la penetración de líquidos en su interior, por lo que sólo se liberó el Se de la parte más superficial de éstos (hasta el día ocho en los de 5% y hasta el día 16 en los de 10%). Finalmente, al encontrarse estos comprimidos inmersos en una solución acuosa y tratar de incorporar líquidos, terminaron por fracturarse.

A diferencia de los comprimidos de cemento para concreto, los de cemento pega-azulejo tuvieron una matriz sólida pero flexible a la incorporación de líquidos (cierta porosidad), lo cual permitió que al terminarse el Se superficial se siguiera liberando cierta cantidad de Se y al mismo tiempo evitó que se fracturaran. La liberación promedio en el tiempo fue mayor para los comprimidos de cemento pega-azulejo con sulfato de cobre que para los comprimidos sin sulfato de cobre (esta superioridad fue mayor en los comprimidos con 10% de Se que con los de 5%). Este resultado pudo deberse a que el sulfato de cobre por su naturaleza iónica capta fácilmente moléculas de agua, se hidrata rápidamente y al desecarse el comprimido provoca que queden espacios entre las moléculas y se formen porosidades, lo cual permite que sea liberada mayor cantidad de Se.

De acuerdo con los estudios realizados por Hunter *et al.*[7] y Hudson *et al.*,[8] los factores que condicionan la intensidad de liberación del Se en los comprimidos minerales hechos de selenito de sodio son: tamaño del comprimido, tamaño del cristal de la sal, concentración de Se incluida en el comprimido y peso del comprimido. Por esta razón se han hecho comprimidos que contienen Se desde 5% hasta 20% y comprimidos que pesan desde 3 hasta 20 g. Se ha observado que los comprimidos con 20% de Se y de 20 g de peso, incrementan la concentración de Se en sangre de los bovinos.[5,7,8,16]

La intensidad de liberación de Se en los comprimidos se debe también al tipo de sal del elemento que se utilice; los más solubles son los selenitos (en este tra-

bajo se empleó selenito de sodio); otra de las fuentes más utilizadas es la selenometionina, que tiene muy alta posibilidad de absorción, pero en un periodo corto.[7,8]

La corrosión del comprimido está condicionada por el tipo de cemento adhesivo que se utilice en él; por consiguiente, también condiciona la liberación del Se. Los comprimidos a partir de cemento para concreto tienen compactado y dureza muy altos, comparados con los están hechos con base de yeso, pero su liberación es escasa y dura poco tiempo; en cambio, en los comprimidos elaborados con cemento pega-azulejo, la liberación de Se será mas alta y persistirá hasta que el comprimido se deshaga por completo. La estructura física del comprimido es otro factor que modifica la intensidad de liberación. Por ejemplo, se ha visto que los comprimidos porosos (parecidos a una esponja) incrementan la liberación del elemento. Esto sucedió con los comprimidos de cemento pega-azulejo y sulfato de cobre, que fueron más porosos y tuvieron mayor liberación que los que no contenían sulfato de cobre. En cuanto al comportamiento promedio en el tiempo, se encontró que los comprimidos con cemento pega-azulejo y sulfato de cobre liberaban más que los que no tenían sulfato de cobre sin haber diferencias en los niveles de pH. Sin embargo, al analizar el comportamiento de la liberación a través de diferentes puntos en el tiempo, se encontró que el efecto de la concentración de Se, los niveles de pH y la presencia o no de cobre actuaron de un modo complejo en la liberación, sin que se pudiera descubrir algún patrón específico.

Se concluye que el cemento pega-azulejo fue buen material para la fabricación de comprimidos de Se de un gramo, ya que no sufrió daños y tuvo liberación aceptable hasta el día 64. En este estudio tanto la presencia de sulfato de cobre como el mayor contenido de Se (10%) permitieron mayor liberación promedio en el tiempo de este elemento; sin embargo, es recomendable realizar otros estudios antes de recomendar su uso, debido al comportamiento complejo que, con el tiempo, mostraron los comprimidos en su liberación.

Referencias

1. Allen JG, Steele P, Nasters HG, Dantouono NF. A study of nutritional myopathy in weaner sheep. Aust Vet J 1986; 68: 8 13.
2. Andrews ED, Hogan RG, Sheppard AD. Selenium in soil, pastures and animal tissues in relation to the growth of young sheep on a marginally selenium deficient area. N Z Vet J 1975; 24: 111 116.
3. Blodgett DJ, Beuill RF. Pharmacokinetics of selenium administered parenterally at toxic doses in sheep. Am J Vet Res 1987; 48: 530-534.
4. 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 Technol 1993; 40: 295-308.
5. 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 Technol 1994; 46: 109-118.
6. Wilkins JF, Hamilton BA. Low release of selenium from recovered ruminal pellets. Aust Vet J 1980; 56: 87-89.
7. Hunter RA, Peter DW, Hudson DR, Chandler,BS. Studies with the intraruminal pellet. I Some factors influencing the effectiveness of the pellet for selenium supplementation of sheep. Aust J Agric Res 1981; 32: 927-933.
8. 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. Aust J Agric Res 1981; 32: 935-945.
9. Peter DW, Hunter RA, Hudson DR. Optimum Se grain size for selenium pellets. In: J McC Howell, JM Gawthorne, CL White, editors. Trace element metabolism in man and animals. Canberra: Aust Acad Sci, 1981.
10. Judson GJ, Brown TH, Kemper BR, Turnbull RK. Trace element and vitamin B_{12} status of sheep given an oral dose of one, two or four soluble glass pellets containing copper, selenium and cobalt. Aust J Exp Agric 1988; 28: 299-305.
11. Daniels WW. Bioestadística: Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud. México (DF): Limusa, S.A. 1977.
12. Maxwell SE, Delaney HD. Designing experiments and analyzing data. A model comparison perspective. Belmont, California: Wadsworth Publishing Company, 1990.
13. Millika GA, Johnson DE. Analysis of messy data. Designed experiment. New York: Chapman & Hall, 1992.
14. Montgomery DC. Design and analysis of experiment. 4th ed. New York: John Wiley and sons, 1997.
15. SAS Institute Inc. JMP: Introductory Guide. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 1995.
16. Millar KR, Meads WJ, Albyt AT, Scahill BG, Sheppard AD. The retention and efficacy of soluble-glass pellets for providing selenium, cobalt and copper to sheep. N Z Vet J 1988; 36: 11-14.