Preparing Microcapsules for Selenium Using Different Shells and Evaluation of the Encapsulation Efficiency

Dr. Mohamad Alshahneh*
Dr. Wissam Zam**
Azez Ali Hasan***

(Received 20 / 9 / 2022. Accepted 2 / 1 /2023)

□ ABSTRACT □

Selenium is an essential element in human nutrition, closely related to human health. Selenium plays an important role in the prevention of various diseases, such as high cholesterol, cardiovascular diseases, and certain types of cancer.

Although food and vegetables can be the main source of selenium intake, selenium supplementation is still more in demand in low selenium regions.

Selenium deficiency diseases are well known and that large amounts of selenium cause toxicity in humans. Therefore, there must be a simple, rapid, sensitive and economical way to prepare selenium micro-portfolios as dietary supplements.

Selenium micro-preservatives were prepared using different polymers such as sodium alginate, chitosan, starch, and casein, by ionic gelation method after adding them to 2% calcium chloride solution.

The percentage of reservation when using sodium alginate was 51.2%, 86.37% for chitosan, 23.29% for starch, and 60.87% for casein.

Keywords:Selenium, microcapsules, chitosan, starch, sodium algenate, casein .

***Professor, Department of chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**
**** Assistant Professor - Department of Analytical and food chemistry - Faculty of Pharmacy - Tartous University, Tartous, Syria.**
*****Postgraduate Student (PhD) - Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

تحضير محافظ دقيقة للسيلينيوم باستعمال أغلفة مختلفة وتقييم نسبة التمحفظ

د. محمد الشحنة*

د. وسام زم **

عزيز علي حسن ***

(تاريخ الإيداع 20 / 9 / 2022. قُبِل للنشر في 2 / 1 /2023)

□ ملخّص □

يعد السيلينيوم عنصراً أساسياً في تغذية الإنسان، يرتبط ارتباطا وثيقاً بصحة الإنسان. يلعب السيلينيوم دوراً هاماً في الوقاية من الأمراض المختلفة، مثل ارتفاع الكوليسترول في الدم، أمراض القلب والأوعية الدموية، وأنواع معينة من السرطان.

وعلى الرغم من أن الطعام والخضراوات يمكن أن تكون المصدر الرئيس لتناول السيلينيوم إلا أن مكملات السيلينيوم لا تزال أكثر طلباً في المناطق منخفضة السيلينيوم.

إن أمراض نقص السيلينيوم معروفة وأن تناول السيلينيوم بكميات كبيرة يسبب السمية عند البشر، لذلك لا بد من وجود طريقة بسيطة وسريعة وحساسة واقتصادية لتحضير المحافظ الدقيقة للسيلينيوم كمكملات غذائية.

حضرت المحافظ الدقيقة للسيلينيوم باستعمال بوليميرات مختلفة كألجينات الصوديوم، الكيتوزان، النشاء، الكازئين بطريقة التهلم الشاردي بعد إضافتها إلى محلول كلوريد الكالسيوم 2% .

بلغت نسبة التمحفظ عند استخدام الجينات الصوديوم 51.2 % ، 86.37% للكيتوزان، 23.29% للنشاء، و 60.87% للكازئين.

الكلمات المفتاحية: السيلينيوم، المحافظ الدقيقة، الكيتوزان، النشاء، ألجينات الصوديوم، الكازئين.

* أستاذ – قسم الكيمياء_ كلية العلوم_ جامعة تشرين_ اللاذقية_ سورية.

**مدرس – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية_ كلية الصيدلة_ جامعة طرطوس_ طرطوس_ سورية.

***طالب دراسات عليا (دكتوراه) – قسم الكيمياء_ كلية العلوم_ جامعة تشرين_ اللاذقية_ سورية.

مقدمة:

1- السيلينيوم:

يعد السيلينيوم هو أحد المغذيات الدقيقة الأساسية بتركيز منخفض ولكنه سام عند التركيز العالي مع وجود فرق بسيط نسبيًا بين هذه المستويات. يستخدم جسم الإنسان السيلينيوم لإنتاج الجلوتاثيون بيروكسيديز [1] ، والذي يعمل مع فيتامين [E] [2] لحماية أغشية الخلايا من التلف الناتج عن المواد الخطرة التي تحدث بشكل طبيعي والمعروفة باسم الجذور الحرة الناتجة عن التمثيل الغذائي التأكسدي [3].

يحتل السيلينيوم مركز الصدارة كعامل محتمل مضاد للسرطان [5 – 4] من خلال تعزيز تكوين خلايا الدم البيضاء التي تدمر الخلايا السرطانية وهي مكون أساس لأكثر من 10 بروتينات سيلين مع وظائف كيميائية حيوية متعددة. إضافةً لذلك، فهو يقوي جهاز المناعة [6] عن طريق زيادة نشاط وعدد خلايا الدم البيضاء ويمنع الشيخوخة المبكرة والأمراض التنكسية وأمراض القلب والأوعية الدموية والأمراض الالتهابية والسكتة الدماغية وإعتام عدسة العين والتهاب المفاصل الروماتويدي. كما أنه ضروري لوظائف الغدة الدرقية العادية [7] والحماية من سمية المعادن الثقيلة.

يمكن أن يتسبب نقص العنصر في مرض كيشان، الذي يتميز بتضخم القلب وضعف وظائف القلب [8] أو يكون عاملاً من عوامل ارتفاع ضغط الدم الأساسي [9]. يمكن أن يؤدي ارتفاع مستويات السيلينيوم في الدم إلى الإصابة بالتسمم المرتبط باضطرابات الجهاز الهضمي وفقدان الشعر وبقع الأظافر البيضاء وتلف الأعصاب الخفيف [10].

المدخول الغذائي اليومي الأمثل من السيلينيوم هو 55 ميكروغرام / يوم للنساء و 70 ميكروغرام / يوم للرجال [11].

يتم استخدام تركيز العناصر النزرة في الدم والمصل والبول والأنسجة كمؤشر على حالة جسم الإنسان. على وجه التحديد، لا يمكن تحديد المعادن في الجسم الحي في الأعضاء، تحديد للمعادن في الأنسجة. لهذا السبب ، من المهم جدًا تقديم طرق دقيقة لتحديد أثر المعادن (وأشكالها الكيميائية أيضًا) في السوائل والأنسجة البيولوجية المختلفة.

هناك عدد من الطرق لتقدير السيلينيوم في مواد بيولوجية مختلفة.

بشكل رئيس عن طريق استخدام تقانة الامتصاص الذري (AAS) (اللهب والغرافيت)، وتوليد الهيدريد-HG) AAS (AAS [13 – 12]، والكهروحراري AAS(ETAAS)

[14]، وهو من أكثر التقنيات استخدامًا لتحديد العناصر النزرة.

2- الكيتوزان:

تعد مادة الكيتوزان سكاريد حيوية خطية طبيعية مشتق من نزع أسيتيل الكيتين القلوي، وهو المكون الرئيس للبشرة الواقية للقشريات المختلفة مثل سرطان البحر والجمبري والقريدس والكركند والجدران الخلوية لبعض الفطريات مثل الرشاشيات والمخاط [15].

الكيتوزان رخيص وقابل للتحلل وغير سام للثدييات، هذا ما يجعلها قابلة للتطبيق والاستخدام كمادة مضافة في صناعة الأغذية [16]، وكعامل مرطب في مستحضرات التجميل، ومؤخراً كعامل صيدلاني في تحضير الطب الحيوي وكعامل مضاد للميكروبات في التطبيق السريري.

يمتلك الكيتوزان قلوية ضعيفة وغير قابلة للذوبان في الماء والمذيبات العضوية، قابل للذوبان في الوسط الحمضي المائي المخفف. تترسب في محلول قلوي أو مع polyanions وتشكل مادة هلامية عند درجة حموضة منخفضة.

في الوقت الحاضر، يتم استخدام جزيئات الكيتوزان الدقيقة المترافقة من النشاء في نظام الإطلاق المستمر الخاضع للرقابة [17]. والتي تم تحضيرها بطريقة التشابك الألكلة المختزلة، و تمت دراسته في نطاق واسع من التطبيقات الطبية الحيوية بسبب توافقه الحيوي وخصائص التحلل البيولوجي [18].

يتم استخدام الكيتوزان والنشاء في الكبسلة الدقيقة للمواد النشطة بيولوجياً وكحامل في أنظمة توصيل الأدوية [21-20-19]. يتم تحضير جزيئات الشيتوزان النانوية عموماً عن طريق التكوّن الهلامي المؤين أو التجميع الذاتي أو طرق الاستحلاب الدقيق للحصول على الأيونات [22].

يمكن أن تنتج طريقة المستحلب الدقيق جسيمات نانوية بتوزيع ضيق الحجم، ولكن يجب استخدام كميات كبيرة من المذيبات العضوية، وعلى الرغم من أن التجميع الذاتي هو طريقة بسيطة، إلا أنه يجب تعديله عن طريق إدخال مجموعات كيميائية جديدة [23].

تقنية النانو هي تقنية ناشئة تحمل وعودًا كبيرة للمستقبل تعطي عملية النانو خصائص جديدة للمواد نتيجة التأثيرات السطحية والحجم الصغير.

تم استكشاف جزيئات الكيتوزان النانوية على نطاق واسع للتطبيقات الصيدلانية كحاملات للأدوية والجينات واللقاحات إضافةً لذلك فقد ثبت أن للجسيمات النانوية من الكيتوزان نشاطًا فعالًا مضادًا للأورام [24].

3- النشاء:

يشكل النشاء مصدراً رئيساً لطاقة الإنسان في جميع أنحاء العالم ويتم إنتاجه كمخزون كربوهيدرات في النباتات. وفي الحبوب المتنوعة والجذور والدرنات. يتم إنتاج النشاء المخزن في خلايا الأميلوبلاست على شكل حبيبات منفصلة ذات شكل مميز في نباتات مختلفة ، تتراوح من دائرية أو بيضاوية أو ممدودة أو عدسي أو متعدد السطوح ، وأحجام من الميكرونات الفرعية إلى أكثر من 100 ميكرومتر في القطر [25]. تتكون حبيبات النشاء بالكامل تقريبًا من عديدي سكريات رئيسيين، وهما أميلوز وأميلوبكتين. كلاهما يتكون من سلاسل من بقايا D -غلوكوز مرتبطة بروابط (1-4) ، والتي تكون مترابطة من خلال روابط بروابط (1-6) وبالتالي تشكل فروعاً في البوليمرات.

على الرغم من اعتبار الأميلوز تقليديًا خطيًا ، إلا أن جزيئات الأميلوز المتفرعة تحتوي على عدد قليل من الفروع [26]، ولكن كل من الأميلوز المتفرع والخطي لهما سلاسل طويلة مع عدة مئات أو حتى آلاف من وحدات الغلوكوزيل [28-27]، في حين أن الأميلوبكتين متفرّع على نطاق واسع وله سلاسل قصيرة نسبيًا [30-29]. تشكل الفروع في الأميلوبكتين حوالي 5 % من الجزيء ، مما ينتج عنه بنية جزيئية معقدة للغاية. تشكل السلاسل القصيرة من الأميلوبكتين حلزونات مزدوجة تتبلور وتساهم في الطبيعة شبه البلورية لحبيبات النشاء [31].

يتم هضم النشاء الموجودة في النباتات أو الخبز عن طريق الإنزيمات الموجودة في الفم واللعاب، حيث يقوم إنزيم ألفا أميلاز بتحطيم روابط الجلوكوز 1 و4.

4- الكازئين:

الحليب هو سائل بيولوجي معقد يحتوي على نسبة عالية من البروتينات والمعادن والدهون التي تفرزها الثدييات لتوفير التغذية وتوفير الحماية المناعية للأطفال [32]. تتمثل الوظيفة الرئيسة للحليب في توفير الأحماض الأمينية والمعادن الأساسية التي تعد حيوية للنمو ولوظيفة العضلات والأنسجة الأخرى في الثدييات المولودة حديثاً، ويشمل أيضًا البروتينات النشطة التي توفر الأجسام المضادة، والبروتينات المرتبطة بالمعادن والفيتامينات ، والعديد من الهرمونات البروتينية [33]. تتخثر بروتينات الحليب بسرعة كبيرة في معدة الأطفال حديثي الولادة حيث يتم بناؤها هيكليًا بطريقة

تؤدي إلى تكوين مركبات كبيرة مع فوسفات الكالسيوم. يحتوي حليب البقر العادي على ما يقرب من 3.2-3.7 % بروتين يختلف في التركيب والتركيز خلال مراحل مختلفة [35-34].

يمثل الجزء المتبقي المصل أو بروتين مصل اللبن قابل للذوبان في ظروف مماثلة [36]. بقية البروتينات الموجودة في الحليب هي أجزاء ضئيلة من البروتين السكري [37].

تشكل بروتينات الكازئين والكالسيوم فوسفات جسيمات غروانية كبيرة تسمى مذيلات الكازئين والتي كانت موضع اهتمام لسنوات عديدة [38]، حيث أنه بالإضافة إلى دور الكازئين البيولوجي الذي يتمثل بتوفير التغذية فقد تمت دراسته أيضًا لدوره في صحة الإنسان والأمراض الأخرى، حيث أن بروتينات الكازئين عبارة عن بروتينات فسفورية تشكل حوالي 80% من إجمالي البروتين الموجود في حليب الأبقار [39]. تم تعريفها على أنها بروتينات فسفورية تترسب من الحليب الخام عند التحميض عند درجة PH= 4.6 عند 20 درجة مئوية [40].

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية هذا البحث من خلال إيجاد طريقة تحليلية (طريقة طيفية) تكون بسيطة، سريعة التحليل، تكاليفها منخفضة، وتتميز بحساسية جيدة في مجال التحليل الكيميائي لتحديد السيلينيوم وذلك بتحديد الشروط المثلى لتشكيل معقد السيلينيوم والكاشف NEDA، ومن ثم تطبيق هذه الطريقة على عينات غذائية من مواد مختلفة التحضير لتقدير عنصر السيلينيوم فيها.

1- أهداف البحث:

1. تحضير محافظ دقيقة للسيلينيوم من أغلفة مختلفة.
2. دراسة الشروط المثلى لتشكل المحافظ .
3. تحديد الشروط المثلى لتشكل معقد السيلينيوم والكاشف NEDA لمراقبة نسبة التمحفظ.

2- المواد المستخدمة:

سيلينيت الصوديوم نقاوته 95% (Rajasthan, India)، الجينات الصوديوم نقاوته 95% (Rajasthan, India)، كلوريد الكالسيوم نقاوته 95% (Rajasthan, India)، هيدروكسيد الصوديوم نقاوته 96% (Rajasthan, India)، فوسفات أحادية الصوديوم نقاوته 96% (Rajasthan, India)، الكيتوزان نقاوته 95% (Rajasthan, India)، الكازئين نقاوته 95 % (Rajasthan, India) ، النشاء نقاوته 95% (Rajasthan, India)

طرائق البحث ومواده:

جهاز سبيكتروفوتوميتر Spekol 1200 صنع شركة analytik Jeana الألمانية، ميزان تحليلي صنع شركة Sartorius الألمانية نموذج BL210s بدقة 0.0001 mg ، ماصات وأنابيب اختبار وبياشر ودوارق بحجوم مختلفة من شركة Marienfeld الألمانية، جهاز تقطير صيني (ثنائي التقطير)، مقياس pH من شركة Sartorius الألمانية نموذج pB11، حمام مائي من شركة Grant الانكليزية نموذج GD120 .

5- تحضير المحاليل:

1-5- تحضير محلول سيلينيت الصوديوم بتركيز 0.0078 M :

تم تحضير محلول سيلينيت الصوديوم بتركيز 0.0078 M بإذابة 1.34 g من سيلينيت الصوديوم الصلب في بالون معايرة سعة 1000 ml وأذيب بالماء المقطر وأكمل الحجم في بالون المعايرة حتى إشارة التدريج 1000

2-5- تحضير محلول حمض الخل 1%:

حضر محلول حمض الخل 1% بأخذ 1 ml من حمض الخل ووضع في بالون معايرة سعة 100 ml وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى إشارة التدريج.

3-5- تحضير محاليل الكيتوزان (0.25- 0.5- 0.75 - 1- 1.5- 2) %

أخذ عدة وزنات مختلفة من الكيتوزان الصلب ووضعت في دوارق حجمية سعة 100 ml وحلت بحمض الخل (1%) المحضر سابقاً وأكمل الحجم حتى إشارة التدريج.

4-5- تحضير محلول موقي الفوسفات بتركيز 0.1 M :

يحل 35.61 g من فوسفات ثنائية الصوديوم في بالون معايرة سعة 1000 ml، و 27.6 g من فوسفات أحادية الصوديوم في الماء المقطر ويكمل الحجم حتى إشارة التدريج .

يحضر 100 ml منه بأخذ 77 ml من فوسفات ثنائية الصوديوم و 23 ml من فوسفات أحادية الصوديوم وتوضع في بالون معايرة سعة 100 ml .

5-5- شروط تشكيل المعقد :

الشروط المثلى لتشكيل المعقد من تأثير درجة الحرارة، تأثير الزمن، درجة ثبات المعقد، تأثير تركيز الكاشف المضاف، تأثير حجم الكاشف المضاف جميعها طبقت وفقاً للمرجع [41].

6-5- تحضير محافظ ألجينات الصوديوم

أخذ عدة بياشر ووضع في كل منها تراكيز مختلفة من الألجينات (4 - 3 - 2 - 1) % وأضيف لها محلول السيلينيوم ذو التركيز 300 mg/l ، وتم التحريك حتى انحلال كامل الألجينات بوساطة محرك مغناطيسي. وضع في بياشر أخرى محلول كلوريد الكالسيوم (1 %) حيث أخذ 40 ml وضعت في بيشر . أضيف لهذه المحاليل المختلفة التركيز بوساطة سيرنغ المحاليل المسحوبة من الألجينات بإضافة قطرة قطرة على محلول كلوريد الكالسيوم، حيث كررت العملية على جميع محاليل كلوريد الكالسيوم الثابت التركيز. لوحظ عند التقاء قطرة الألجينات مع سطح محلول كلوريد الكالسيوم تشكل كرة أو محفظة صغيرة الحجم. رشحت المحاليل السابقة للحصول على محافظ السيلينيوم.

7-5- دراسة فعالية التمحفظ على المحافظ المحضرة باستخدام ألجينات الصوديوم:

أخذت المحافظ ووضعت في بياشر وأضيف لكل بيشر 10 ml منظم الفوسفات وتركت لمدة 24 ساعة، وضعت بعد ذلك للتحريك بوساطة محرك مغناطيسي حتى انحلال كامل محافظ السيلينيوم . أخذ 3 ml من محاليل المحافظ وأضيف 2 ml من محلول هيدروكسيل أمين هيدروكلوريد، وأضيف 5.75 ml من حمض كلور الماء المركز، وأضيف 3 ml من محلول بارا نيترو الأنيلين . سخن المزيج السابق لمدة 80 دقيقة عند الدرجة 50°C، أضيف بعد ذلك 4 ml من الكاشف NEDA (1%) وسخن المزيج لمدة 15 دقيقة عند الدرجة 50°C ، ثم مدد المزيج حيث أضيف 7.25 ml ماء مقطر.

قيست امتصاصية المعقد المتشكل عن λ_{max} =540 nm وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة

8-5- دراسة تأثير تغير تركيز كلوريد الكالسيوم على فعالية التمحفظ:

ثبت تركيز الألجينات المستخدم في تحضير المحافظ الدقيقة للسيلينيوم 3 % حيث وضع تركيز ثابت من الجينات الصوديوم في عدة بياشر وأضيف لها محلول السيلينيوم معلوم التركيز 300 mg/l وتم التحريك حتى انحلال كامل الألجينات. أخذت عدة بياشر ووضع في كل منها تراكيز مختلفة من كلوريد الكالسيوم (1 -2 - 3 - 4) % وأخذ منها 40 ml وضعت في بياشر أخرى، أضيف لهذه المحاليل المختلفة التركيز بوساطة سيرنغ المحاليل المسحوبة من الألجينات بإضافة قطرة قطرة على محلول كلوريد الكالسيوم، حيث كررت العملية على جميع محاليل كلوريد الكالسيوم المختلفة التركيز. لوحظ عند التقاء قطرة الألجينات مع سطح محلول كلوريد الكالسيوم تشكل كرة أو محفظة صغيرة الحجم. رشحت المحاليل السابقة للحصول على محافظ السيلينيوم، ثم أخذت المحافظ ووضعت في بياشر وأضيف لكل بيشر 10 ml وتركت لمدة 24 ساعة. وضعت بعد ذلك على محرك مغناطيسي حتى انحلال كامل محافظ السيلينيوم . أخذ 3 من محاليل المحافظ وأضيف 2 ml من محلول هيدروكسيل أمين هيدروكلوريد، وأضيف 5.75 ml من حمض كلور الماء المركز، وأضيف 3 ml من محلول بارا نيترو الأنيلين. سخن المزيج السابق لمدة 80 دقيقة عند الدرجة °C 50، أضيف بعد ذلك 4 ml من الكاشف NEDA (1%) وسخن المزيج لمدة 15 دقيقة عند الدرجة °C 50 ، ثم مدد المزيج حيث أضيف 7.25 ml ماء مقطر.

ست امتصاصية المعقد المتشكل عن λ_{max} =540 nm وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة .

5-9- تحضير المحافظ الدقيقة للسيلينيوم باستخدام طبقة مضاعفة من الكيتوزان وألجينات الصوديوم :

تم أخذ وزن عدة وزنات مختلفة من الكيتوزان الصلبة (2- 1.5- 1- 0.75- 0.5- 0.25) ووضعت في دوارق حجمية سعة 100 ml وحلت بحمض الخل المحضر سابقاً 1% وأكمل الحجم حتى إشارة التدريج.

حضرت المحافظ الدقيقة للسيلينيوم بألجينات الصوديوم 3% وكلوريد الكالسيوم 2%

تغطس كل مجموعة من المحافظ المحضرة في محاليل الكيتوزان المحضرة لمدة 15 دقيقة مع التحريك اللطيف، ثم ترشح المحافظ وتوضع في محلول موقي الفوسفات لمدة 24 ساعة بعد ذلك تحرك حتى تمام الانحلال.

أخذ 3 من محاليل المحافظ وأضيف 2 ml من محلول هيدروكسيل أمين هيدروكلوريد، وأضيف 5.75 ml من حمض كلور الماء المركز، وأضيف 3 ml من محلول بارا نيترو الأنيلين . سخن المزيج السابق لمدة 80 دقيقة عند الدرجة °C 50، أضيف بعد ذلك 4 ml من الكاشف NEDA (1%) وسخن المزيج لمدة 15 دقيقة عند الدرجة °C 50 ، ثم مدد المزيج حيث أضيف 7.25 ml ماء مقطر.

ست امتصاصية المعقد المتشكل عن λ_{max} =540 nm وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة .

5-10- تحضير المحافظ الدقيقة للسيلينيوم باستخدام طبقة مضاعفة من النشاء وألجينات الصوديوم:

حضرت محاليل كلوريد الكالسيوم % في دوارق حجمية سعة 100 ml ، كما حضرت في دوارق أخرى سعة 100 ml ألجينات الصوديوم 3% وأضيف لها 10 ml من محلول سيلينيت الصوديوم المحضر سابقاً 300 mg/l وأضيف لها تراكيز مختلفة من النشاء (5- 4- 3- 2- 1)% مع التحريك المستمر حتى انحلال كامل النشاء.

أضيف المزيج إلى محلول كلوريد الكالسيوم بوساطة سيرنغ حتى تتشكل المحافظ الدقيقة للسيلينيوم مع التبريد، ثم رشحت ووضعت في 10 ml محلول موقي الفوسفات لمدة 24 ساعة ثم وضعت للتحريك حتى انحلال كامل المحافظ .

أخذ 3 ml من محاليل المحافظ وأضيف 2 ml من محلول هيدروكسيل أمين هيدروكلوريد، وأضيف 5.75 ml من حمض كلور الماء المركز، وأضيف 3 ml من محلول بارا نيترو الأنيلين . سخن المزيج السابق لمدة 80 دقيقة عند

الدرجة 50 °C، أضيف بعد ذلك 4 ml من الكاشف NEDA (1%) وسخن المزيج لمدة 15 دقيقة عند الدرجة °C 50 ، ثم مدد المزيج حيث أضيف 7.25 ml ماء مقطر.

قيست امتصاصية المعقد المتشكل عن λ_{max} =540 nm وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة .

12-5- تحضير المحافظ الدقيقة للسيلينيوم باستخدام طبقة مضاعفة من الكازئين وألجينات الصوديوم:

تم أخذ وزن عدة وزنات مختلفة من الكازئين الصلب والتي أضيف إلى كل عينة 10 ml من محلول السيلينيوم mg/l 300 وتم التحريك حتى تمام الانحلال. أضيف محلول NaOH بتركيز 4 M حتى أصبحت قيمة الـ pH 10.5 وذلك بعد تغيير عدة قيم للـ pH بدأت من القيمة (8- 8.5- 9- 9.5- 10- 10.5- 11- 11.5- 12- 12.5)، بعد ضبط الـ pH عند القيمة 10.5 وضع في بيشر آخر حمض HCl بتركيز 1 M وذلك بعد تغيير عدة قيم للـ pH الحمضي بدأت من القيمة (4-3.5- 3- 2.5- 2- 1.5- 1) أضيف بوساطة السيرنغ إلى المحلول الحمضي حيث شكلت المحافظ الدقيقة للسيلينيوم بعد التبريد.

الوزنات المأخوذة من الكيتوزان التي تشكلت المحافظ الدقيقة من خلالها هي (1.75− 1.50− 1.25− 1) % رشحت المحافظ المحضرة ووضعت في 10 ml ايتانول وحركت حتى تمام الانحلال، ثم وضعت في مثفلة (4000 دورة في الدقيقة) لمدة 10 دقائق وأخذ من المحلول الطافي 3 ml من محاليل المحافظ وأضيف 2ml من محلول هيدروكسيل أمين هيدروكلوريد، وأضيف 5.75 ml من حمض كلور الماء المركز، وأضيف 3 ml من محلول بارا نيترو الأنيلين. سخن المزيج السابق لمدة 80 دقيقة عند الدرجة 50 °C، أضيف بعد ذلك 4 ml من الكاشف NEDA (1%) وسخن المزيج لمدة 15 دقيقة عند الدرجة 50 °C ، ثم مدد المزيج حيث أضيف 7.25 ml ماء مقطر.

قيست امتصاصية المعقد المتشكل عن λ_{max} =540 nm وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة .

النتائج والمناقشة:

وفقاً للمرجع [41] يبين الجدول (1) أهم الشروط المثلى لتشكل معقد السيلينيوم والكاشف NEDA

الجدول (1) أهم الشروط المثلى لتشكل معقد السيلينيوم والكاشف NEDA

تركيز الكاشف المضاف	% 1
حجم محلول الكاشف المضاف	4 ml
زمن تشكل المعقد	240 min
زمن ثبات المعقد	30 h
درجة حرارة تشكل المعقد	درجة الحرارة 50 °C

6-النسبة المئوية للتمحفظ:

تم حساب نسبة المئوية للتمحفظ كما في علاقة النسبة المئوية المردود

$$\text{النسبة المئوية للمردود} = \frac{\text{الوزن العملي}}{\text{الوزن النظري}} \times 100$$

لكن في حساب النسبة المئوية للتمحفظ يتم الاعتماد على امتصاصية المحلول العياري الذي حضرت به المحافظ تركيزه 300 mg/l وامتصاصيته معلومة 0.455 وذلك عند طول موجة الامتصاص الأعظمي λ_{max} =540 nm (الامتصاصية النظرية)، وبعد تشكل المحافظ يتم حلها في المحلول الموقي ثم تشكيل المعقد وقياس امتصاصيتها (الامتصاصية العملية).

$$\text{النسبة المئوية للتمحفظ} = \frac{\text{الامتصاصية العملية}}{\text{الامتصاصية النظرية}} \times 100 \qquad (1)$$

الجدول (2): نسبة التمحفظ عند اختلاف تركيز ألجينات الصوديوم وتركيز ثابت من كلوريد الكالسيوم

تركيز ألجينات الصوديوم %	نسبة التمحفظ %
1	13.86
2	25.93
3	36.04
4	19.56

لوحظ من الجدول (2) أن نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة ليست متزايدة بشكل مستمر مع زيادة التركيز، بل أنه عندما كان تركيز ألجينات الصوديوم 1% كانت نسبة التمحفظ 13.86 % ، و 25.93 % عندما كان تركيز ألجينات الصوديوم 2 %، ووصلت نسبة التمحفظ إلى أعلى قيمة وهي 36.04 % عندما كان تركيز ألجينات الصوديوم 3% ، بينما انخفضت نسبة التمحفظ لتصبح 19.56% عند تركيز 4 % لألجينات الصوديوم.
والسبب في ذلك يعود إلى أن ألجينات الصوديوم عند التركيز 1و 2 % تشكل طبقة تحيط بمحلول السيلينيوم وتكون تلك الطبقة رقيقة وغير كافية لحجز كامل محلول السيلينيوم ضمن الطبقة الرقيقة، بينما عند التركيز 3 % تشكل ألجينات الصوديوم طبقة أو غلاف يحتجز ويحافظ على القسم الأكبر من محلول السيلينيوم داخله وعدم تسرب محلول السيلينيوم إلى الوسط المحيط لتعطي بذلك أعلى نسبة تمحفظ للمحافظ المحضرة لذلك يعتبر التركيز 3 % من ألجينات الصوديوم من أهم العوامل المستخدمة لتحضير محافظ السيلينيوم، بينما عند التركيز 4 % تعود نسبة التمحفظ للانخفاض من جديد لعدم الحفاظ على محلول السيلينيوم داخل المحفظة بشكل جيد مما يدل على أن التركيز 3 % من ألجينات الصوديوم تعطي افضل نسبة تمحفظ.

الجدول (3): نسبة التمحفظ عند اختلاف تركيز كلوريد الكالسيوم وتركيز ثابت من الألجينات:

تركيز كلوريد الكالسيوم %	نسبة التمحفظ %
1	39.56
2	51.20
3	40
4	-

لوحظ من الجدول (3) أن نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة متغيرة مع زيادة التركيز، حيث وجد أن نسبة التمحفظ 39.56 % عند التركز 1 % لكلوريد الكالسيوم، وارتفعت إلى 51.20 % عند التركيز 2 %، بينما عادت للانخفاض عند التركيز 3 % ، بينما لم تتشكل محافظ عند التركيز 4 % من كلوريد الكالسيوم.

يعود ذلك إلى أنه عند التركيز الأمثل من كلوريد الكالسيوم 2% تجذب هذه الشوارد الموجبة الجينات الصوديوم السالبة لتشكل البوليمير أو طبقة المحافظ المناسبة والتي تمنع تسرب محلول السيلينيوم إلى خارج المحفظة بينما عندما يزداد التركيز أكثر من ذلك ويصل إلى 4 % يصبح البوليمير أكثر صلابة وأقل ليونة وبالتي عدم تمحفظ السيلينيوم بداخله، لذا يكون التركيز الأمثل من كلوريد الكالسيوم الذي يعطي أعلى نسبة تمحفظ هو 2% .

الجدول (4): نسبة التمحفظ عند تراكيز مختلفة من ألجينات الصوديوم + الكيتوزان:

تركيز الكيتوزان %	نسبة التمحفظ %
0.25	41.09
0.5	86.37
0.75	55.16
1	34.06
1.5	22.41
2	47.03

لوحظ من الجدول (4) أن نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة متغيرة مع تغير تركيز الكيتوزان، حيث وجد أن نسبة التمحفظ للمحافظ المحضرة من ألجينات الصوديوم و الكيتوزان تتراوح بين (86.37 – 22.41)% .
يعود السبب في ذلك إلى أنه حتى حدود تراكيز منخفضة (0.5 – 0.25)% يتم تشكيل أغلفة تحافظ على محلول السيلينيوم وعدم تسربه من المحفظة، بينما بزيادة تركيز الكيتوزان تتشكل أغلفة غير مناسبة للحفاظ على محلول السيلينيوم.
التركيز الأمثل من الكيتوزان والذي يعطي أعلى نسبة تمحفظ هو 0.5 % .

الجدول (5): نسبة التمحفظ عند تراكيز مختلفة من ألجينات الصوديوم + النشاء:

تركيز النشاء %	نسبة التمحفظ %
1	23.29
2	11.86
3	10.76
4	10.54
5	9.45

لوحظ من الجدول (5) أن نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة متغيرة مع تغير تركيز النشاء، حيث تزداد نسبة التمحفظ عند التركيز (1) % وتعطي أعلى نسبة تمحفظ 23.29 % ثم تعود للانخفاض بزيادة التركيز (5–2)% بشكل مستمر لأنه عند زيادة التركيز تتشكل أغلفة من النشاء غير مناسبة للحفاظ على محلول السيلينيوم من التسرب خارج المحافظ لذا يكون التركيز الأمثل من النشاء 1 % .

الجدول (6): نسبة التمحفظ عند تراكيز مختلفة من ألجينات الصوديوم+ الكازئين:

تركيز الكازئين %	نسبة التمحفظ %
1	42.41
1.25	60.87

1.50	54.72
1.75	38.46

لوحظ من الجدول (6) أن نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة متغيرة مع تغير تركيز الكازئين، حيث أنه عند التركيز 1 % تكون نسبة التمحفظ 42.41 % حيث تتشكل طبقة أو غلاف لا يحافظ بشكل جيد على السيلينيوم بداخله، وتزداد نسبة التمحفظ لتصل إلى 60.87% عند التركيز 1.25 % بسبب تشكل غلاف جيد يحافظ على السيلينيوم من التسرب خارج المحافظ.

تنخفض نسب التمحفظ بزيادة التركيز بسبب الغلاف غير المناسب والذي لا يمنع السيلينيوم من التسرب خارج المحافظ ما يدل على أن التركيز الأمثل من الكازئين هو 1.25 % والذي يعطي أعلى نسبة تمحفظ .

الجدول (7) نسبة التمحفظ المثلى باختلاف الأغلفة المختلفة في التحضير:

المادة	التركيز (%)	نسبة التمحفظ (%)
ألجينات الصوديوم	3	36
ألجينات الصوديوم + الكيتوزان	0.5	86.37
ألجينات الصوديوم + النشاء	1	23.29
ألجينات الصوديوم + الكازئين	1.25	60.87

لوحظ من الجدول (7) أن نسبة التمحفظ تتغير بتغير المادة المشكلة للغلاف أو المحفظة، فعند استخدام غلاف مضاعف من ألجينات الصوديوم + النشاء قدرت نسبة التمحفظ 23.29 %، وعند استخدام ألجينات الصوديوم فقط كانت نسبة التمحفظ 3%، وعند استخدام غلاف مضاعف من ألجينات الصوديوم + الكازئن ارتفعت نسبة التمحفظ لتصل 60.87% ، وأعطت أعلى نسبة تمحفظ 86.37% عند استخدام غلاف مضاعف من ألجينات الصوديوم + الكيتوزان مشكلةً غلاف مناسب لمنع السيلينيوم من التسرب خارج المحفظة على عكس الأغلفة الأخرى .

الاستنتاجات والتوصيات:

1- بينت النتائج أن الشروط المثلى لتشكل المحافظ الدقيقة للسيلينيوم وذلك عند تركيز 2% لكلوريد الكالسيوم و3 % لألجينات الصوديوم.

2- أختبرت الشروط المذكورة سابقاً في تحضير محافظ مضاعفة للسيلينيوم مع كل من (ألجينات الصوديوم + الكيتوزان)، (ألجينات الصوديوم + النشاء)، (ألجينات الصوديوم + الكازئين).

3- لوحظ أن أعلى نسبة تمحفظ للسيلينيوم داخل المحافظ المحضرة كانت باستخدام أغلفة مضاعفة من (ألجينات الصوديوم + الكيتوزان)86.37 % كما تم ذكره في الجدول (4).

4- تمثل الطريقة المذكورة في تحضير محافظ دقيقة للسيلينيوم طريقة سهلة واقتصادية وحساسة ذات مردود جيد.

5- يوصى العمل على تحضير محافظ دقيقة للسيلينيوم بالطريقة نفسها والعمل على استخدامها كمكملات غذائية.

6- يوصى العمل على تحضير محافظ دقيقة لعناصر أخرى بنفس الطريقة واستخدامها كمكملات غذائية .

References:

1. Hatanaka N, Nakaden H, Yamamoto Y, *et al.*, 2000. Selenium kinetics and changes in glutathione peroxidaactivities in patients receiving long-therm parenteral nutrition and effects of supplementation with selenite. Nutrition, 16: 22-26.
2. Douillet C, Bost M, Accominotti M, *et al.*, 1998. Effect of selenium and vitamin E supplementation on lipid abnormalities in plasma, aorta and adipose tissue of Zucker rats. Trace Elements Research, 65: 221-236.
3. Clausen J, Nielsen SA, Kristensen M, 1989. Biochemical and clinical effects of an antioxidant supplementation of geriatric patients. Biological Trace Element Research, 20: 135-151.
4. Clark LC, Combs GF, Turnbull BW, *et al.*, 1996. The nutritional prevention of cancer with selenium. 1983-1993: a randomized clinical trial. Journal of the American Medical Association, 276: 1957-1963.
5. Combs GF, Clark LC, 1999. Selenium and cancer. In: Nutritional Oncology: Academic Press, San Diego
6. Girodon F, Galan P, Monget AL, *et al.*, 1999. Impact of trace elements and vitamin supplementation on immunity and infections in institutionalized elderly patients: a randomized controlled trial. Archives of Internal Medicine, 159: 748-754.
7. Dejneka W, Sworczak K, Obolończak L, *et al.*, 2007. Classification of thyroid gland disease on the basis of selenium concentration in serum. Roczniki Państwowego Zakladu Higieny, 58: 563-567.
8. Yang QG, Chen J, Wen Z, *et al.*, 1984. The role of selenium in Keshan disease. Advances in Nutritional Research, 203-231.
9. Babalola OO, Anetor JI, Adeniyi FAA, 2007. Low blood selenium: A probable factor in essential hypertension. African Journal of Biotechnology, 6: 1697-1702.
10. Gasmi A, Garnier R, Galliot-Guilley M, *et al.*, 1997. Acute selenium poisoning. Veterinary and Human Toxicology, 39: 304-308.
11. Klapec T, Mandić ML, Grgić J, *et al.*, 1998. Daily dietary intake of selenium in eastern Croatia. Science of the Total Environment, 217: 127-136.
12. Tiran B, Tiran A, Rossipal E, *et al.*, 1993. Simple decomposition procedure for determination of selenium in whole blood, serum and urine by hydride generation atomic absorption spectroscopy. Journal of Trace Elements, Electrolytes, Health Diseases, 7: 211-216.
13. Dong X, Nakaguchi Y, Hiraki K, 1997. Quantitative analysis of human hair for selenium (IV), selenium (VI) and total selenium by hydride-generation atomic absorption spectrometry. Analytical Sciences, 13: 195- 198.
14. Tsalev DL, Lampugnani L, D'Ulivo A, *et al.*, 2001. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of selenium in biological fluids with rhodium modifier compared with hydride generation atomic spectrometric techniques. Microchemical Journal, 70: 103-113.
15. Kumar M. N. V. R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., & Domb, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives, Chemical Reviews 2004, 104, 6017–6084.
16. Koide, S. S., Chitin–chitosan, properties, benefits and risks. Nutrition Research, 1998 (18), 1091–1101.
17. Balmayor E R, Barana E T, Azevedoa H S, Reisa R L, Injectable biodegradable starch/chitosan delivery system for the sustained release of gentamicin to treat bone infections. Carbohydrate polymer 2011 87, 32-39.

18. Illum L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. Pharmaceutical Research, 1998 15(9), 1326–1331.
19. Illum L, Farraj N F, Davis S S. Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs Pharm. Res. 1994, 11:1186–1189.
20. Chandy T, Mooradian D L, Rao G H R, Chitosan polyethylene glycol alginate microcapsules for oral delivery of hirudin. Journal of Applied Polymer Science, 1998 70(11), 2143–2153.
21. Agnihotri S. A., Mallikarjuna N. N., & Aminabhavi T. M.,Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. Journal of Controlled Release 2004, 100(1), 5–28.
22. Lin Y. H., Mi F. L, Chen C. T., Chang W. C., Peng S. F., Liang H. F., and Sung H. W.. Preparation and characterization of nanoparticles shelled with chitosan for oral insulin delivery Biomacromolecules 2007, 8:146–152 .
23. Yang Q., Dou F., Liang B., & Shen Q. Investigations of the effects of glyoxal cross-linking on the structure and properties of chitosan fiber. Polymer International 2005, 61, 393–398.
24. Cheng M., Deng J., Yang F., Gong Y., Zhao N, & Zhang X. Study on physical properties and nerve cell affinity of composite films from chitosan and gelatin solutions. Biomaterials 2003, 24, 2871–2880.
25. Jane, J.-L.; Kasemsuwan, T.; Leas, S.; Zobel, H.; Robyt, J.F. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. Starch/Stärke 1994, 46, 121–129. [CrossRef]
26. Hizukuri, S.; Takeda, Y.; Yasuda, M.; Suzuki, A. Multi-branched nature of amylose and the action of de-branching enzymes. Carbohydr. Res. 1981, 94, 205–213. [CrossRef]
27. Hizukuri, S.; Takeda, Y.; Maruta, N.; Juliano, B.O. Molecular structure of rice starch. Carbohydr. Res.
1989 ,189, 227–235. [CrossRef]
28. Takeda, Y.; Hizukuri, S.; Takeda, C.; Suzuki, A. Structures of branched molecules of amyloses of various origins, and molecular fractions of branched and unbranched molecules. Carbohydr. Res. , 165, 139–145.[CrossRef]
29. Bertoft, E.; Piyachomkwan, K.; Chatakanonda, P.; Sriroth, K. Internal unit chain composition in amylopectins. Carbohydr. Polym. 2008, 74, 527–543. [CrossRef]
30. Hanashiro, I.; Abe, J.-I.; Hizukuri, S. A periodic distribution of chain length of amylopectin as revealed by high-performance anion-exchange chromatography. Carbohydr. Res. 1996, 283, 151–159. [CrossRef]
31. Imberty, A.; Buléon, A.; Tran, V.; Pérez, S. Recent advances in knowledge of starch structure. Starch/Stärke
32. R. Jenness, R.E. Sloan, The composition of milks of various species: a review, Dairy Science Abstract, vol. 32, 1970, pp. 599–612.
33. P. F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P.L.H. McSweeney, J.A. O'Mahony, Heat-induced changes in milk, Dairy Chemistry and Biochemistry, Springer International Publishing (2015) 345–375.
34. R. Aschaffenburg, Imherited casein variants in cow's milk, Nature 192 (1961) 431.
35. A. Author, Variations in the composition of milk, vol. 51, Royal Society of Chemistry, 1926, pp. 146–149.
36. D.G. Dalgleish, Milk proteins. Chemistry and physics, Food proteins, Applied Sciences Publisher, London (1982) 155–178.

37. P. Walstra, Casein sub-micelles: do they exist? International Dairy Journal 9 (1999) 189–192.
38. H.S. Rollema, P.F. Fox, Casein association and micelle formation,Advanced Dairy Chemistry-1: Proteins (1992) 111–140.
39. J.R. Brunner, Milk proteins, Food proteins (1977) 175–208.
40. R.M. Whitney, J.R. Brunner, K.E. Ebner, H.M. Farrell, R.V. Josephson, C.V. Morr, H.E. Swaisgood, Nomenclature of the proteins of cow's milk: fourth revision, Journal of Dairy Science 59 (1976) 795–815.
41. Al-Shehna Muhammad, Zam Wissam, Hassan Aziz. Study of optimal conditions for selenium complex formation with (NEDA) reagent N-(1-naphthylenediamine dihydrochloride)2HCl. C_12 H_14 N_2 and its use to monitor micro-conservatives of selenium. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies 2020, Issue (5), Volume (42).