BJPS
BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES

المجلة البرازيلية للعلوم الصيدلانية
vol. 50, n. 4, oct./dec., 2014
doi number

حبات البولي فينول لقشر الرمان: تأثيرات مقاييس الصيغة على فعالية التحميل

***وسام زم *غادة بشّور * وسام عبد الواحد * ورد خياط**

قسم التحليل وكيمياء الغذاء، كلية الصيدلة، جامعة الأندلس للعلوم الطبية، الجمهورية العربية السورية، قسم التحليل وكيمياء الغذاء، كلية الصيدلة، جامعة حلب، الجمهورية العربية السورية، قسم تكنولوجيا الصيدلة، كلية الصيدلة، جامعة حلب، الجمهورية العربية السورية

حبيبات ألجينات الكالسيوم الحاوية على مستخلص البولي فينول من قشر الرمان المكبسلة بطريقة الدبق الأيوني. تم بحث تأثيرات العوامل المتعددة للصيغة (كثافة ألجينات الكالسيوم، كثافة كلوريد الكالسيوم، فترة تعرض كلوريد الكالسيوم، وقت صيانة حمام التبلور، بالإضافة إلى كثافة المستخلص) على فعالية تحميل المستخلص. لقد تم اختيار الصيغة التي تحوي على 1 غرام من قشر الرمان في 100 مل من الماء المقطر المغلفة بـ 3% من ألجينات الصوديوم المعالجة في 0،05 مل من كلوريد الكالسيوم لمدة 20 دقيقة والتي تم إبقاؤها في حمام التبلور لمدة 15 دقيقة كأفضل صيغة فيما يخص فعالية التحميل. إن هذه الشروط المحسنة سمحت بكبسلة 43.90% من البولي فينول المستخلص و 46.34% والبروانثوسيانيدينس المستخلص. إن الكبسلة المصغرة لمستخلص قشر الرمان في حبات ألجينات الكالسيوم هي تقنية واعدة في المكملات الصيدلانية والغذائية ومضادات الأكسدة الطبيعية.

المصطلحات: حبات ألجينات الكالسيوم، عوامل الصيغة، الكبسلة المصغرة، بولي فينولات قشر الرمان.

المجلة البرازيلية للعلوم الصيدلانية
vol. 50, n. 4, oct./dec., 2014
doi number

إن عملية التبلور الأيونية هي واحدة من الطرائق الفيزيوكيميائية المستخدمة في الكبسلة المصغرة التي تحوي محلولاً مائياً منبثقاً من البوليمر من إبرة حقن أو ممص الذي يحوي المادة الفعالة المتحللة أو المشتتة.

يتم تلقي القطيرات في طور التشتت وتُحول بعد رد الفعل إلى جسيمات الهلام كروية كما في حالة ألجينات الصوديوم المستخدمة في طور تشتيت كلوريد الكالسيوم. (فاندام وآخرون، 2007)

إن عميلة الكبسلة المستخدم في هذه الدراسة هو ألجينات الصوديوم. وهو بوليمر أيوني ذو ارتباط متعدد سهل مع كلوريد الكالسيوم وهذا لأن ايونات الكالسيوم مرتبطة برواسب الكربوكسيلات لكل من حمض المانورأونيك و حمض الغلوكورونيك وهما عناصر ألجينات الصوديوم (رافيندرا وآخرون، 2010). إن ألجينات الصوديوم هي مادة مسترطبة وعلى الرغم من أنها مستقرة إذا تم حفظها في وسط ذو رطوبة قليلة نسبياً ودرجة حرارة معتدلة.

إن درجة الphالمساوية لـ 4-10 هي الأكثر استقراراً بالنسبة للمحاليل المائية لألجينات الصوديوم. ويترسب الحمض الألجيني بالنسبة لـph أقل من 3 (رايموند وآخرون، 2009). ويُعتبر مادة غير سامة وغير مهيجة بشكل عام، حيث تم تصنيفها كمادة آمنة بشكل عام وتم الموافقة على استخدامها كإضافات غذائية في أوروبا.

وعلى الرغم من أن الاستهلاك الفموي المفرط قد يكون مؤذياً، لم تحدد منظمة الصحة العالمية الجرعة اليومية المقبولة من الحمض الألجيني وأملاح الألجينات حيث لا تُشكل النسب المستخدمة في الطعام خطراً على الصحة.

وبهذا يكون هدف الدراسة كبسلة مستخلص البولي فينول بحبيبات ألجينات الكالسيوم ليتم دمجها كإضافة للمنتجات الصيدلانية والغذائية.

إن تأثيرات عوامل الصيغة العديدة (كثافة ألجينات الكالسيوم، كثافة كلوريد الكالسيوم، فترة تعرض كلوريد الكالسيوم، وقت صيانة حمام التبلور، بالإضافة إلى كثافة المستخلص) على فعالية تحميل المستخلص.

المقدمة:

يحتوي قشر الرمان (بونيكا غراناتوم) على كمية كبيرة من البولي فينولات المرتبطة بنشاط جامع الفضلات الجذري الحر. لقد كشفت دراسات الأوبئة أن استهلاك البولي فينولات يرتبط مع انخفاض أمراض القلب الوعائية والأمراض الدماغية الوعائية ووفيات السرطان (لانسكي وآخرون، 2007; الشبطي وآخرون، 2008).

من الواجب حماية البولي فينولات الطبيعية المستخلصة من قشر الرمان من الوسط المحيط لأنها حساسة جداً للأوكسجين والضوء والحمض والألكينات، ولكنها أقل حساسية نسبياً للحرارة.

ولذلك، فإن تطبيق المركبات الفينولية يحتاج إلى صيغة منتجات الحماية النهائية القادرة على: الحفاظ على السلامة البنيوية للبولي فينول حتى انتهاء الاستهلاك وإخفاء طعمه وزيادة ذوبانيته في الماء وتوافره البيولوجي.

تُعد الكبسلة طريقة مميزة بين طرق الاستقرار الموجودة. إن الكبسلة المصغرة التقليدية التي وصفها سوابان (2006) هي عملية تحيط إما بقطيرة سائل أو لب جسيمي صلب بقشرة صلبة محددة. وهي مستخدمة إما لتوصيل أو حماية أو تثبيت أو التحكم بتحرير اللب.

وهناك عدد من المراجعات الحديثة التي تبحث في كبسلة البولي فينولات الأكثر انتشاراً وتناقش فعاليتها وتنوعها وتطورها وميولها.

كلوريد الكالسيوم (60-5 دقيقة) فترة بقاء حمام التبلور (60-5 دقيقة) وتركيز المستخلص (% 2.5 -0.25).

صيغة الكبسولات:

تم الحصول على الحبيبات بخلط 10 مل من العنصر الفعال ب 10 مل من محلول ألجينات الصوديوم بأفضل تركيز. وعند التجانس، تم إضافة 10 مل من محلول كلوريد الكالسيوم بأفضل تركيز إلى محلول الألجينات وتمت معالجته بمدة مختلفة للحصول على أفضل وقت معالجة في الدرجة C° 25. تم إبقاء الحبيبات المتشكلة في حمام تبلور لتتصلب ثم تم طردها مركزياً ب4000 دورة في الدقيقة ودرجة C° 4 لمدة 15 دقيقة (انبندر وآخرون، 2011)

فعالية التحميل:

تم تقدير كمية المستخلص المجفف بالتجميد المحمل في الحبيبات من قبل ديلادينو وآخرين، (2007) وذلك بإذابة الكبسولات التي حصلنا عليها من 10 مل من المستخلص في سترات الصوديوم (10%w/v) وذلك بمدة 20 دقيقة لكبسولات الألجينات في خلاط بدرجة C° 37 125 دورة في الدقيقة. تم تحديد تراكيز المستخلص المجفف بالتجميد المحمل في الحبيبات من باستخدام طريقة فحص فولين سيكالتو والبوتانول. تم تطبيق فراغ من سيترات الصوديوم وتم حساب نسبة فعالية التحميل بالمعادلة التالية:

$$\textbf{فعالية التحميل (\%)} = \frac{L}{L_0} * 100$$

حيث L هي كمية المستخلص المحددة في محلول سترات الصوديوم و L_0 هي الكمية البدئية للمستخلص المذاب في محلول الألجينات (ديلادينو وآخرين، 2007).

محتوى البولي فينول الكلي:

تم تحديد محتوى البولي فينول الكلي بطريقة فولين سيوكالتو وفقاً للطريقة التي وضحتها منظمة المعايير الدولية (ISO، 2005). تم تخفيف µl 250 من المستخلص بالماء المقطر إلى أن أصبح 10 مل.

المواد والطرائق:

الكواشف والمواد الكيميائية

تم الحصول على ألجينات الصوديوم وكاشف فولين سيوكالتو 2N من سويسرا وتم الحصول على كلوريد الكالسيوم وكلوريد الصوديوم والسترات ثلاثية الصوديوم من ألمانيا، كما تم الحصول على سلفات أمونيوم الحديدي من ألمانيا وكربونات الصوديوم اللامائية و البوتانول 1- وحمض كلور الماء من المملكة المتحدة.

تحضير العينة:

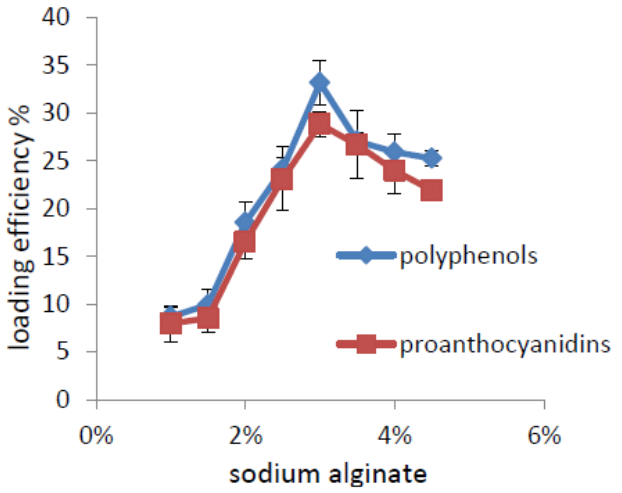
تم تنظيف الرمان الطازج بالماء وتجفيفه بقطعة قماش وفصل القشرة عنه يدوياً ثم تجفيفها في الظل في الهواء الطلق لعدة أيام. تم تحويل العينات الجافة إلى مسحوق باستخدام خلاط وحفظها في درجة حرارة C°18- حتى موعد التحليل (زم وآخرون، 2012).

إجراءات الاستخلاص:

تم وضع غرامين من القشر المجفف والمطحون في خلاط حمام ترموستات مع 100 مل من الماء الماء المقطر بدرجة حرارة C° 50 لمدة 20 دقيقة. تم فصل المستخلص السائل من البقايا الصلبة بوساطة الطرد المركزي 2000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق. تم نقل الطافي إلى دورق 100 مل وإضافة 100 مل من الماء المقطر ليصبح الحجم النهائي 100 مل (زم وآخرون، 2012).

تحسين فعالية التحميل:

إن صيغة حبيبات ألجينات الكالسيوم مبنية على كل من تركيز ألجينات الصوديوم وقدرة أيونات الكالسيوم على الارتباط المتعدد بألجينات الصوديوم. وتعتمد درجة الارتباط المتعدد على كل من تركيز محلول كلوريد الكالسيوم وفترة تلامس الحبيبات مع المحلول. ولتحسين المقاييس المؤثرة بصيغة الحبيبات، تم تقييم العديد من العوامل: تركيز ألجينات الصوديوم(% 4.5-1) وتركيز كلوريد الكالسيوم (0.01-0.1 m) ووقت تعريض



الشكل 1 - تأثير تركيز ألجينات الصوديوم علة البولي فينول المستخلص الكلي وفعالية تحميل البروأنثوسيانيدين* متوسط القيم ± SDs، (n= 3)

تُظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن ارتفاع تركيز ألجينات الصوديوم من 1% إلى 3% حسّن من فعالية التحميل من 8 تقريباً إلى 33% (الشكل 1). أعطى التركيز 3% أفضل فعالية تحميل لكل من البولي فينولات المستخلصة و البروأنثوسيانيدين مع القيم

33.19 % ± 0.014 and 28.85 % ± 0.012 كما يبين الشكل 1.

وكما ذكر الكامل وآخرون، (2003)، أن هذا قد يُعزى إلى الوفرة الفائضة لمواقع ارتباط الكالسيوم الفعال في السلاسل البوليميرية وإلى ازدياد درجة الارتباط المتعدد مع ازدياد كمية ألجينات الصوديوم. حيث ترافقت التراكيز المرتفعة لألجينات الصوديوم مع انخفاض في فعالية التحميل. واعتماداً على نتائجهم في التجربة التالية، كان تركيز الألجينات 3 % (w/v) لأن هذا التركيز هو التركيز الأدنى الذي يؤدي إلى فعالية تحميل جيدة. إن تركيز الألجينات المستخدم في هذه الدراسة كان أعلى من ذلك الذي استخدمه ديلادينو وآخرون (2 % w/v) لكبسلة البوليفينول المستخلص من المتة.

تم مزج القاسم الغير تام ل1 مل من العينات ب 5 مل من 10 أضعاف كاشف الفولين سكالتو المخفف. وبعد 3 دقائق تم إضافة 4 مل من 7.5 % كربونات الصوديوم (زاهين وآخرين، 2009). تم ترك المزيج لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 40 °C (حمام مائي) قبل أن يتم قياس درجة الامتصاص عند 734 nm باستخدام Jasco V-530 المطياف الضوئي. تم حساب محتوى البولي فينول الكلي في المستخلص والتعبير عنه بمكافئات حمض الغال (GAE، g/100g الكتلة الجافة) باستخدام حمض الغال (0-120 مل / ل) المنحني القياسي (أنسيني وآخرون، 2008).

محتوى البروأنثوسيانيدين :

تم تحديد محتوى البروأنثوسيانيدين في المستخلص باستخدام فحص حمض البوتانول وفقاً لطريقة بورتر وآخرين (1986). تم شفط عينة 200 µl من المستخلص المخفف إلى أنبوب اختبار 100 x 12 mm وتم إضافة 0.3 مل من البيتانول كاشف حمض كلور الماء(95:5) و 0.1 مل من 2% حمض الحديدي المحضر في HCl 2N. تم تدوير الأنبوب ثم تغطية فتحته بالرخام الزجاجي ووضعه في حاصرة حرارة بدرجة تتراوح بين 90 إلى 100 °C لمدة 60 دقيقة. تُرك بعد ذلك الأنبوب ليبرد وتم تسجيل الامتصاص عند 550 nm. وصيغة حساب نسبة العفص المركز كمكافئ ليوكوأنثوسيانيدين هي:

الامتصاص 550 nm * 78.26 * عامل التمديد / % المادة الجافة

النتائج والمناقشة:

تركيز ألجينات الصوديوم

تمت دراسة تراكيز مختلفة لألجينات الصوديوم : 1، 1.5 ، 2 ، 2.5 ، 3 ، 3.5 ، 4 و 4.5 % (w/v) (كلوريد الكالسيوم 0.05 mol/L كوسيد ارتباط متعدد لمدة 15 دقيقة وتم إبقاء الحبيبات المتشكلة في هذه العملية في حمام التبلور لتتصلب لمدة 15 دقيقة)

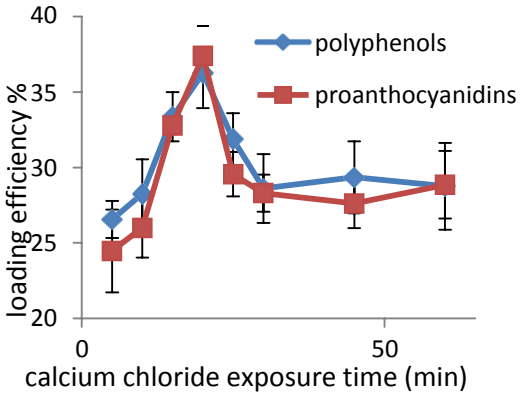
(الشكل 2) تتوافق هذه النتائج مع تاكا وآخرون (1998) و وميرغاني وآخرون (2000).

ومن جهة أخرى، وجدنا أن فعالية التحميل تنخفض التراكيز التي تزيد عن M0.005 . وقد يشير ذلك إلة تضرر الكبسولات المصغرة بسبب الإشباع المحتمل لمواقع ترابط الكالسيوم في سلسلة حمض الغلوكورونيك الأمر الذي يمنع من انحباس إذافي لأيونات الكالسيوم كما ذكر اوستبيرغ وآخرون (1994). أو الضغط الأسموزي كما ذكر تاكايوكي وآخرون، (2009). وبناءً على هذه النتائج، تم استخدام تركيز يساوي m 0.05 في التجارب اللاحقة.

فترة تعرض كلوريد الكالسيوم:

اقترح كينغ (1983) أنه عند تماس محاليل الكالسيوم والالجينات يتشكل هلام على السطح الفاصل بشكل فوري وبالتالي فغن تجانس المادة الخلالية يتوقف على انتشار الكالسيوم خلال شبكة الهلام. إن التعريض المستمر للألجينات لمحلول الكالسيوم يزيد من متانة الهلام بزيادة تدفق الكالسيوم عبر الهلام وارتباطه بحاصرات الـ Gفي بنية الألجينات (لمكي وآخرون، 2009).

لقد تمت دراسة تدفق كلوريد الكالسيوم باتجاه لب الحبيبات عند 5،10، 15، 20، 25، 30، 40، 60 دقيقة وتم توضيح قيم فعالية التحميل في الشكل 3.

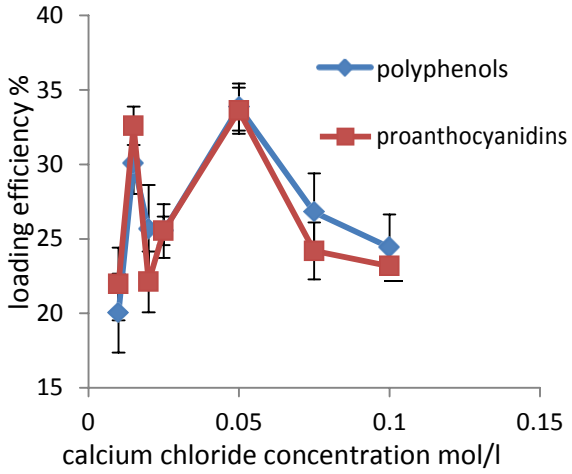


الشكل 3- تأثير فترة تعريض كلوريد الكالسيوم على قابلية استخلاص البولي فينولات و البروأنثوسيانيدين لفعالية التحميل الكلية متوسط القيم ± SDs، (n= 3)

تركيز كلوريد الكالسيوم

تبلورت قطرات محلول الألجينات في هذه التجربة بالتلامس مع قطرات محلول كلوريد الكالسيوم. إن لتركيز كلوريد الكالسيوم تأثيراً هاماً على صفات حبيبات الألجينات الناتجة.

لذلك، درسنا تأثير تركيز كلوريد الكالسيوم على فعالية تحميل حبيات الألجينات. تم تثبيت تركيز محلول ألجينات الصوديوم عند 3 % وكانت فترة الحفظ عند إضافة كلوريد الكالسيوم 15 دقيقة ووقت التصلب في حمام التبلور أيضاً 15 دقيقة. تراوح تركيز كلوريد الصوديوم من 0.01 m إلى 0.1 m.



الشكل 2 - تأثير تركيز كلوريد الكالسيوم على البولي فينول المستخلص الكلي و فعالية التحميل لالبروأنثوسيانيدين. متوسط القيم ± SDs، (n= 3)

أظهرت النتائج أن زيادة تركيز كلوريد الكالسيوم من 0.01 **m** إلى 0.1 **m** زاد من فعالية التحميل من 20 تقريباً إلى 34 % (الشكل 2). ويمكن شرح ذلك بزيادة قوة الهلام مع زيادة ايونات الكالسيوم. أعطى التركيز 0.005 **m** أفضل فعالية تحميل لكل من البولي فينول المستخلص و البروأنثوسيانيدين مع القيم

33.84 % ± 0.007 and 33.61 % ± 0.012

ويمكن تفسير ذلك بأن قوة الهلام ازدادت بازدياد الوقت، وأعطى وقت الإطالة 15 دقيقة أفضل فعالية تحميل لكل من البوليفينولات القابلة للاستخلاص و البروأنثوسيانيدين بقيم

37.39 % ± 0.007 و 38.59 % ± 0.010,

وأظهرت النتائج تناقص فعالية التحميل لحبيبات ألجينات الكالسيوم بازدياد وقت الإطالة في حمام التبلور لأنه من الممكن للوقت الأطول أن يزيد من تحرر البولي فينولات من المادة الخلالية. وتتوافق هذه النتائج مع أنبندر وآخرون (2011).

كثافة المستخلص:

استغرق انتشار الدواء في وسط مائي محيط خلال وقت محدد عند ازدياد كمية الدواء كما ذكر جازول وآخرون (2009).

حضر ترافيدي وآخرون (2008) أسيكلوفيناك المجهرية بواسطة تبخر مستحلب المذيبات وتبين نتائج هذه الدراسة بوضوح أن فعالية الكبسلة تزداد بشكل كبير كلما انخفضت نسبة الدواء على البوليمر.

بعد اتخاذ هذا القرار تم تحليل تأثير تركيز البولي فينولات القالبة للاستخلاص الكلي. وأظهرت النتائج أنه عند ازدياد تركيز البولي فينولات تتناقص فعالية التحميل وبنفس كمية البوليمر في التشتيت (الجدول 1) .

وبناء على هذه النتائج فإن تركيز للمستخلص يؤدي إلى أعلى فعالية تحميل تم تحضيره باستخدام 1 غ من قشر الرمان المستخلص و المطحون جيداً مع 100 مل من الماء الماء المقطر.

وبالتالي فإن 20 دقيقة في الهواء كانت كافية للحصول على أفضل فعالية تحميل لكل من البوليفينولات القابلة للاستخلاص و البروأنثوسيانيدين بقيم

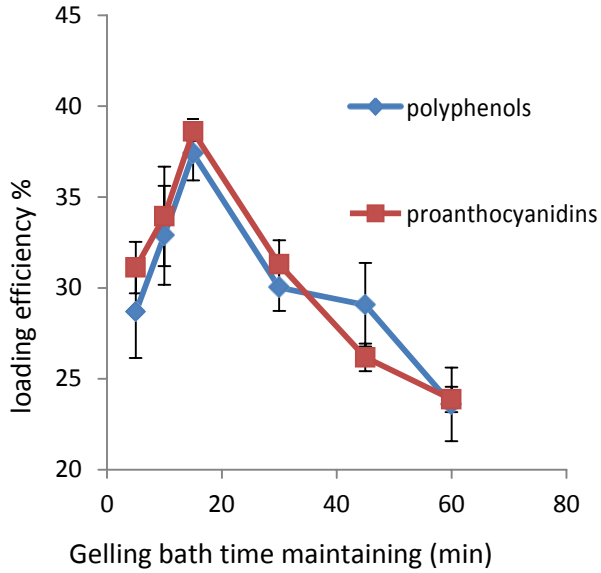
36.25 % ± 0.010 and 37.39 % ± 0.009,

كما هو مبين في الشكل 3

بين باتل وآخرون (2006) أن فعالية تحميل حبيبات ألجينات الكالسيوم التي تحتوي على ميترونيدازول انخفضت بازدياد وقت الحفظ ويمكن تفسير ذلك بأن أوقات الحفظ الأطول قد تؤدي غلة تغير في ايونات الكالسيوم المرتبطة بالألجينات كما ذكر الديلادينو وآخرون (2007) أو أنه يعود إلى التحرر الزائد للبولي فينولات من المادة الخلالية كما بين الكامل وحرون (2003).

الحفاظ على وقت حمام التبلور:

تم إبقاء الحبيبات المتشكلة في حمام التبلور لتتصلب لأوقات مختلفة (5- 60 دقيقة).



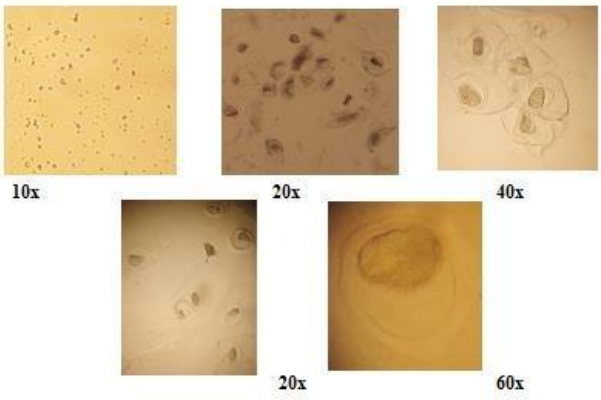
الشكل 4- تأثير إبقاء حمام التبلور على قابلية استخلاص البولي فينولات وفعالية تحميل البروأنثوسيانيدين متوسط القيم ± SDs (n= 3) ،

تُظهر النتائج أن إطالة الوقت من 5 دقائق إلى 15 دقيقة حسن من فعالية التحميل من 28 تقريباً إلى 37 % (الشكل 4).

الجدول 1- تأثير تركيز المستخلص على القابلية الكلية استخلاص البولي فينولات وفعالية تحميل البروأنثوسيانيدين متوسط القيم ± SDs، (n= 3)

[a] Values are mean ± SDs, (n = 3)

تركيز المستخلص	فعالية تحميل البولي فينولات	وفعالية تحميل البروأنثوسيانيدين
0.25 g/100ml	35.50% ± 0.001	36.58% ± 0.006
0.5 g/100ml	43.40% ± 0.003	45.49% ± 0.011
1 g/100ml	43.92% ± 0.006	46.34% ± 0.011
1.5 g/100ml	37.30% ± 0.015	37.04% ± 0.009
2 g/100ml	37.39% ± 0.007	38.59% ± 0.010
2.5 g/100ml	32.89% ± 0.027	31.89% ± 0.009



الشكل 5- صورة مجهريه بصرية لحبيبات ألجينات الكالسيوم التي تحوي مستخلص البولي فينول في قشر الرمان.

الخاتمة:

تظهر هذه الدراسة أن كبسولات ألجينات الكالسيوم المصغرة قد تكون حاملاً جيداً للبولي فينولات. ووجدنا أن طريقة تحضير الكبسولات المصغرة الحاوية على بولي فينول قشر الرمان هي طريقة بسيطة وسريعة وقابلة للتكرار. سيساهم تأثير حماية الكبسولات المصغرة بإنتاج مكملات صيدلانية وغذائية من الممكن أن تحسن من الفعالية الفيزيولوجية للبولي فينولات.

وفي الخاتمة، لقد طورنا من مقاييس تخضير حبيبات هلام ألجينات البولي فينولات مع مراعاة الإنتاج على المستوى الضخم. وكانت االتراكيز المحسنة لألجينات الصوديوم وكلوريد الكالسيوم في الأطوار المائية ووقت الحفظ وإبقاء وقت حمام التبلور وتركيز المستخلص كانت

3 % (w/v), 0.05 M, 20 min, 15 min and 1 g/100ml,

وكان متوسط فعالية التحميل 0.006 ± 43.90 % لكل البولي فينولات المستخلصة و 0.006 ± 43.90 % لكل البروأنثوسيانيدين المستخلصة. تم استخدام المجهر البصري لدراسة شكل الكبسولات المصغرة التي تم تحضيرها بالطريقة التي ذُكرت. تُشير الصور إلى أن الكبسولات المصغرة تم تغطيتها باستمرار بمادة مغلفة من ألجينات الصوديوم (الشكل 5).

الإهداء:

تم تأسيس هذا العمل من قبل كلية الصيدلة في جامعة حلب الجمهورية العربية السورية. يُقدم المؤلفون شكرهم لكل من د. جمال ضاهر والمركز اللغوي في جامعة الأندلس على مساعدتهم اللغوية.

المراجع:

ANESINI, C.; FERRARO, G.E.; FILIP, R.. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (Camellia sinensis) in Argentin. *J Agr Food Chem*, v.56, p.9225–9229, 2008.

ANBINDER, P.S.; DELADINO, L.; NAVARRO, A.S.; AMALVY, J.I.; MARTINO, M.N. Yerba Mate Extract Encapsulation with Alginate and Chitosan Systems: Interactions between Active Compound Encapsulation Polymers. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, v.1, p.80-87, 2011.

BARRAS, A.; MEZZETTI, A.; RICHARD, A.; LAZZARONI, S.; ROUX, S.; MELNYK, P. Formulation and characterization of polyphenol-loaded lipid nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, v.379, p.270-277, 2009.

DAS, S.; NG, K.Y. Resveratrol-loaded calcium-pectinate beads: Effects of formulation parameters on drug release and bead characteristics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.99, p.840–860, 2010.

DELADINO, L.; ANBINDER, P.S.; NAVARRO, A.S.; MARTINO, M.N. Encapsulation of natural antioxidants extracted from ilex paraguariensis. *Carbohyd Polym*, v.71, n.1, p.126-134, 2007.

DI MATTIA, C.D.; SACCHETTI, G.; MASTROCOLA, D.; PITTIA, P. Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International*, v.42, p.1163-1170, 2009.

DUBE, A.; NG, K.; NICOLAZZO, J.A.; LARSON, I. Effective use of reducing agents and nanoparticle encapsulation in stabilizing catechins in alkaline solution. *Food Chemistry*, v.122, p.662–667, 2010.

EL-KAMEL, A.H.; AL-GOHARY, O.M.N; HOSNY, E.A. Alginate-diltiazem hydrochloride beads: optimization of formulation factors, in vitro and in vivo availability. *J Microencapsul*, v.20, n.2, p.211–225, 2003.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (Daucus carota L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, v.80, p.805-812, 2007.

FANG, J.Y.; HWANG, T.L.; HUANG, Y.L.; FANG, C.L. Enhancement of the transdermal delivery of catechins by liposomes incorporating anionic surfactants and ethanol. *International Journal of Pharmaceutics*, v.310, p.131-138, 2006.

HU, B.; PAN, C.; SUN, Y.; HOU, Z.; YE, Y. Optimization of fabrication parameters to produce chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for delivery of tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p.7451-7458, 2008.

ISO 14502-1: 2005. Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.

JAISWAL, D.; BHATTACHARYA, A.; KUMAR YADAV, I.; PRATAP SINGH, H.; CHANDRA, D.; JAIN, D.A. Formulation and evaluation of oil entrapped floating alginate beads of ranitidine hydrochloride. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.1, Suppl.1, 2009.

KOSARAJU, SL.; DATH, L.; LAWRENCE, A. Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydrate Polymers*, v.64, p.163-167, 2006.

LIANG, J.; LI, F.; FANG, Y.; YANG, W.; AN, X.; ZHAO, L.; XIN, Z.; CAO, L.; HU, Q. Synthesis, characterization and cytotoxicity studies of chitosan-coated tea polyphenols nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.82, p.297–301, 2011.

LAMKEY, J.W. nonstarch hydrocolloids. In: RODRIGO, T. Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications. Springer, 2009. Cap.3, p.57-82.

LANSKY, E.P.; NEWMAN, R.A. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol*, v.19, n.2, p.177-206, 2007.

LAINE, P.; KYLLI, P.; HEINONEN, M.; JOUPPILA, K. Storage stability of microencapsulated cloudberry (Rubus chamaemorus) phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p.11251-11261, 2008.

LUCAS-ABELLAN, C.; FORTEA, MI.; LOPEZ-NICOLAS, J.M.; NUNEZ-DELICADO, E. Cyclodextrins as resveratrol carrier system. *Food Chemistry*, v.104, p.39-44, 2007.

MIRGHANI, A.; IDKAIDEK, N.M.; SALEM, M.S.; NAJIB, N.M. Formulation and release behavior of diclofenac sodium in compritol matrix beads encapsulated in alginate. *Drug Dev Ind Pharm*, v.26, p.791–795, 2000.

MOURTZINOS, I.; SALTA, F.; YANNAKOPOULOU, K.; CHIOU, A.; KARATHANOS, V.T. Encapsulation of olive leaf extract in beta-cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.55, p.8088-8094, 2007.

OSTBERG, T.; LUND, M. E.; GRAFFNER, C. Calcium alginate matrices for oral multiple unit administration: Release characteristics in different media. *Int J Pharm*, v.112, p.241–248, 1994.

YAGNESH, LP; PRAVEEN, S; ATMARAM, PP.The effect of drug concentration and curing time on processing and properties of calcium alginate beads

containing metronidazole by response surface methodology. *AAPS Pharmscitech*, v.7, n.4, p.86, 2006.

PORTER; HRSTICH; CHAN. *Phytochemistry*, v.25, p.223-230, 1986.

RAVINDRA, K.; SABITHA, P. Effect of different Co-polymers on Sodium Alginate Microcapsules Containing Isoniazid. *International Journal of PharmTech Research*, v.2, n.4, p.2198-2203, 2010.

RAYMOND, C.R.; PAUL, J. S.; MARIAN, E.Q. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6.ed. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009, 917p.

SHABTAY, A.; EITAM, H.; TADMOR, Y.; ORLOV, A.; MEIR, A.; WEINBERG, P.; WEINBERG, Z.G.; CHEN, Y.; BROSH, A.; IZHAKI, I.; KEREM, Z. Nutritive and Antioxidative Potential of Fresh and Stored Pomegranate Industrial Byproduct as a Novel Beef Cattle Feed. *J Agr Food Chem*, v.56, p.10063–10070, 2008.

SHI, G.; RAO, L.; YU, H.; XIANG, H.; PEN, G.; LONG, S. Yeastcell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. *Journal of Food Engineering*, v.80, p.1060-1067, 2007.

SHUTAVA, T.G.; BALKUNDI, S.S.; LVOV, Y.M. Epigallocatechin gallate/gelatin layer-by-layer assembled films and microcapsules. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.330, p.276-283, 2009.

SHUTAVA, T.G.; BALKUNDI, S.S.; VANGALA, P.; STEFFAN, J.J.; BIGELOW, R.L.; CARDELLI, J.A. Layer-by-layer-coated gelatin nanoparticles as a vehicle for delivery of natural polyphenols. *ACS Nano*, v.3, p.1877-1885, 2009.

SWAPAN, K.G. Functional Coatings by Polymer Microencapsulation. Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006, 343p.

TAKAYUKI, T.; MASAHIRO, Y.; YASUO, H.; KOUICHIRO, S.; SHIRO K. Preparation of lactic acid bacteria-enclosing alginate beads in emulsion system: effect of preparation parameters on bead characteristics. *Polym Bull*, v.63, p.599–607, 2009.

TAKKA, S.; OCAK, O.H; ACARTURK, F. Formulation and investigation of nicardipine HCl-alginate gel beads with factorial design-based studies. *Eur J Pharm Sci*, v.6, p.241–246, 1998.

TOMMASINI, S.; CALABRO, M.L.; STANCANELLI, R.; DONATO, P.; COSTA, C.; CATANIA, S. The inclusion complexes of hesperetin and its 7-rhamnoglucoside with (2 hydroxypropyl)-β-cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.39, p.572-580, 2005.

TRIVEDI, P; VERMA, AML; GARUD, N. Preparation and characterization of aceclofenac microspheres. Asian J. Pharm. p.110-115, 2008.

VANDAMME, T.F.; PONCELET, D.; SUBRA-PATERNAULT, P. Microencapsulation: des sciences aux technologies. Paris, France: Lavoisier Tec & Doc, 2007. 348p.

XIONG, S.; MELTON, L.D.; EASTEAL, A.; SIEW, D. Stability and antioxidant activity of black currant anthocyanins in solution and encapsulated in glucan gel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, p.6201-6208, 2006.

YU, H.; HUANG, Q. Enhanced in vitro anti-cancer activity of curcumin encapsulated in hydrophobically modified starch. *Food Chemistry*, v.119, p.669-674, 2010.

ZAHIN, M.; AQIL, F.; AHMAD, I. The In Vitro Antioxidant Activity And Total Phenolic Content Of Four Indian Medicinal Plants. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.1, Suppl.1, p.88-95, 2009.

ZAM, W.; BASHOUR, G.; ABDELWAHED, W.; KHAYATA, W. Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.4, Suppl.3, p.675-682, 2012.

ZHANG, L. ; MOU, D.; DU, Y. Procyanidins: extraction and micro-encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.87, p.2192-2197, 2007.

***Correspondence:**
Wissam Zam. Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Al-Andalus University for Medical Sciences, Al-Qadmous, Tratous Syrian Arab Republic.
E-mail: ws.sarah2005@gmail.com