

Nano-encapsulation of Folic Acid into Chitosan–Sodium tripolyphosphate Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Controlled Release Kinetics

Fatemeh heidari dalfard^{1*}, Fatemeh Amighi¹

1(Corresponding author) Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, University of Jiroft, Kerman, Iran, Email: fatemeh_heidari87@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

Received: 10/10/2025
Revised: 18/12/2025
Accepted: 08/05/2026

Keywords:

Citrus
Storage
Modified Atmosphere
Cold Storage
Textile Firmness

ABSTRACT

Background and Objective: Folic acid, an essential B-group vitamin, plays a pivotal role in DNA synthesis, cell division, and tissue development. However, its high sensitivity to environmental factors such as light, temperature, pH, and oxidation significantly limits its stability and practical use in food and pharmaceutical formulations. To overcome these limitations and enhance its bioavailability, the development of controlled-release delivery systems based on biodegradable polymers such as chitosan has attracted considerable interest. This study aimed to fabricate chitosan–sodium tripolyphosphate (TPP) nanoparticles encapsulating folic acid via the ionic gelation technique and to evaluate their physicochemical, structural, and release characteristics.

Materials and Methods: Chitosan nanoparticles were prepared through ionic gelation using sodium TPP as a cross-linking agent, with folic acid encapsulated during nanoparticle formation. The morphology and size of the synthesized nanoparticles were characterized using field emission scanning electron microscopy (FESEM), while surface charge was determined by zeta potential analysis. To confirm the chemical interactions and the formation of intermolecular bonds among chitosan, folic acid, and sodium tripolyphosphate, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) was employed to investigate the potential interactions between chitosan and folic acid. Encapsulation efficiency was quantified spectrophotometrically. The *in vitro* release behavior of folic acid was monitored under ambient conditions over 30 days, and the release kinetics were analyzed using various mathematical models, including the Higuchi, Peppas, first-order, and zero-order equations.

Results: FESEM images revealed uniform, spherical nanoparticles in both blank and folic acid-loaded formulations. The average particle size increased from 39 nm for blank nanoparticles to 360 nm after folic acid incorporation, likely due to increased suspension viscosity. Zeta potential measurements indicated a positive surface charge sufficient to maintain colloidal stability, despite a slight reduction following folic acid loading. FTIR spectra exhibited characteristic peak shifts and intensity changes, confirming the successful encapsulation of folic acid within the chitosan matrix without altering the polymer backbone. The encapsulation efficiency reached 91%, demonstrating excellent formulation performance.

The release profile showed a slow and sustained release pattern, with approximately 28% of the folic acid released after 30 days. Kinetic modeling revealed that the Peppas equation provided the best fit ($R^2 = 0.97$), indicating that Fickian diffusion was the predominant release mechanism. **Conclusion:** Overall, chitosan–TPP nanoparticles exhibited favorable physicochemical properties, high encapsulation efficiency, and a prolonged, controlled-release profile of folic acid. These findings suggest that the developed nanoparticles represent a promising and stable carrier system for targeted and sustained delivery of folic acid in food, nutraceutical, and pharmaceutical applications.

Keywords: Chitosan nanoparticles, Controlled release, kinetic models, folic acid encapsulation.

Cite this article: heidari dalfard, F., Amighi, F. 2026. Nano-encapsulation of Folic Acid into Chitosan–Sodium tripolyphosphate Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Controlled Release Kinetics. *Food Processing and Preservation Journal*, 18(1), 127-143..



© The Author(s)



[10.22069/fppj.2026.24154.1908](https://doi.org/10.22069/fppj.2026.24154.1908)

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نانو درون پوشانی اسیدفولیک در نانوذرات کیتوزان- سدیم تری پلی فسفات: سنتز، مشخصه‌یابی و مدلسازی رهائش کنترل شده

فاطمه حیدری دلفارد^{۱*}، فاطمه آمیغی^۱

^۱ (نویسنده مسئول) استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه جیرفت، کرمان، ایران. رایانامه: fatemeh_heidari87@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	سابقه و هدف: اسیدفولیک یکی از ویتامین‌های ضروری گروه B است که نقش حیاتی در سنتز DNA، تقسیم سلولی و رشد بافتی دارد. با این حال، این ویتامین به شدت نسبت به عوامل محیطی از جمله نور، دما، pH و اکسیدکننده‌ها حساس بوده و در نتیجه در فرمولاسیون‌های غذایی و دارویی به سرعت تخریب می‌شود. به منظور افزایش پایداری و فراهمی زیستی اسیدفولیک، طراحی سامانه‌های رهائش کنترل شده بر پایه پلیمرهای زیست تخریب پذیر نظیر کیتوزان مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، هدف اصلی تهیه نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات حاوی اسیدفولیک به روش ژل شدن یونی و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختاری و الگوی رهائش این سامانه بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۱۷ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۱۸	مواد و روش‌ها: نانوذرات کیتوزان از طریق فرآیند ژل شدن یونی با استفاده از سدیم تری پلی فسفات به عنوان عامل اتصال دهنده یونی سنتز شد و اسیدفولیک در طی فرایند درون پوشانی گردید. ویژگی‌های فیزیکی و ساختاری نانوذرات از طریق میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FESEM)، اندازه‌گیری پتانسیل زتا با دستگاه زتاسایزر و به منظور تایید برهمکنش‌های شیمیایی و تشکیل پیوندهای بین مولکولی میان کیتوزان، اسیدفولیک و سدیم تری پلی فسفات، طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR) مورد بررسی قرار گرفت. راندمان نانو درون پوشانی اسیدفولیک به روش اسپکتروفتومتری محاسبه شد. همچنین آزمون رهائش کنترل شده در شرایط محیطی طی یک دوره ۳۰ روزه انجام و داده‌های حاصل با مدل‌های سینتیکی مختلف شامل هیگوچی، پیاس، مرتبه اول و مرتبه صفر برازش داده شدند.
واژه‌های کلیدی: نانوذرات کیتوزان نانوذرات کیتوزان رهائش کنترل شده مدل‌های سینتیکی درون پوشانی اسیدفولیک.	یافته‌ها: تصاویر FESEM مورفولوژی کروی و یکنواخت نانوذرات را در هر دو نمونه خالص و حاوی اسیدفولیک نشان داد. اندازه متوسط ذرات برای نانوذرات خالص حدود ۳۹ نانومتر و برای نمونه های حاوی اسیدفولیک ۳۶۰ نانومتر بود. نتایج پتانسیل زتا بیانگر بار سطحی مثبت و مناسب برای حفظ پایداری کلوئیدی سامانه بود، هرچند حضور اسیدفولیک موجب کاهش نسبی بار مثبت گردید. طیف‌های FTIR نشان دادند که باندهای مشخصه کیتوزان و اسیدفولیک دچار جابجایی و تغییر شدت شده‌اند که تأییدی بر درون پوشانی مؤثر اسیدفولیک در شبکه پلیمری کیتوزان است. راندمان نانو درون پوشانی برابر با ۹۱ درصد به دست آمد که نشان دهنده

کارایی بالای فرمولاسیون بود. بررسی رهائش در شرایط محیطی نشان داد که الگوی رهائش به صورت آهسته و کنترل شده بوده و تنها حدود ۲۸ درصد از اسیدفولیک طی ۳۰ روز آزاد شد. تحلیل داده‌ها با مدل‌های سینتیکی نشان داد مدل پپاس با ضریب همبستگی ۰/۹۷ بهترین برازش را دارد و مکانیزم غالب رهائش از نوع انتشار فیکتی است.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات حاوی اسیدفولیک از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پایداری کلونیدی، راندمان بالای درون پوشانی و الگوی رهائش کنترل شده، سامانه‌ای کارآمد و پایدار محسوب می‌شوند. بنابراین، این نانوذرات می‌توانند به عنوان حامل‌های مؤثر در سامانه‌های انتقال هدفمند و رهائش آهسته اسیدفولیک در صنایع غذایی، مکمل‌های تغذیه‌ای و داروسازی مورد استفاده قرار گیرند.

استناد: حیدری دلفارد، فاطمه؛ آمیغی، فاطمه. (۱۴۰۵). نانو درون پوشانی اسیدفولیک در نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات: سنتز، مشخصه‌یابی و مدل‌سازی رهائش کنترل شده. *فراوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۸(۱)، ۱۴۳-۱۲۷.



[10.22069/fppj.2026.24154.1908](https://doi.org/10.22069/fppj.2026.24154.1908)

© نویسندگان



ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

یکی از مهم ترین ترکیبات زیست فعال با کاربرد گسترده در صنایع غذایی و دارویی، اسیدفولیک^۱ (پتروئیل-ال-گلوتامیک اسید) است؛ شکلی مصنوعی و محلول در آب از ویتامین B که در برابر عوامل خارجی مانند نور، گرما، اکسیژن و تغییرات pH به شدت حساس و مستعد تخریب است. اسیدفولیک نقش حیاتی در بسیاری از واکنش های زیستی بدن ایفا می کند؛ از جمله سنتز نوکلئیک اسیدها، متیلاسیون DNA، تقسیم سلولی، رشد بافت ها و عملکرد صحیح سیستم عصبی (۱). کمبود این ویتامین در رژیم غذایی با بروز بیماری هایی مانند کم خونی مگالوبلاستیک^۲، نقص های مادرزادی لوله عصبی در جنین^۳، افزایش سطح هموسیستئین خون و در نهایت، افزایش خطر بیماری های قلبی-عروقی و برخی سرطان ها مرتبط است. از این رو، طراحی سامانه ای کارآمد برای افزایش پایداری، بهبود جذب و کنترل رهایش این ویتامین، ضرورتی انکارناپذیر به ویژه در صنایع غذایی و داروسازی به شمار می آید (۲، ۳).

در سال های اخیر، فناوری های نوین نانو، به ویژه در حوزه سامانه های انتقال و رهایش کنترل شده ترکیبات فعال، به عنوان یکی از مؤثرترین ابزارها در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی مطرح شده اند. نانو درون پوشانی به عنوان فناوری کلیدی در این زمینه، با هدف بهبود پایداری، افزایش قابلیت حلالت، کنترل سرعت رهایش و هدفمندسازی ترکیبات زیست فعال به کار می روند. این فناوری به ویژه برای ترکیبات حساس به نور، دما، اکسیژن و pH مانند ویتامین ها، رنگدانه ها، پلی فنول ها، اسیدهای چرب ضروری و ترکیبات دارویی مؤثر از اهمیت بالایی برخوردار است (۴، ۵).

در میان حامل های مختلف مورد استفاده برای نانو درون پوشانی، پلیمرهای زیست سازگار طبیعی مانند کیتوزان^۴ به دلیل ویژگی هایی مانند سمیت پایین، زیست تخریب پذیری، توانایی اتصال یونی، بار مثبت، و خواص آنتی باکتریال، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. کیتوزان یک پلی ساکارید اساساً کاتیونی است که می تواند از طریق واکنش با پلیمرهای آنیونی، مانند پلی (متاکریلیک اسید)^۵ یا از طریق ژل شدن یونی^۶ با استفاده از سدیم تری پلی فسفات^۷ (STTP) به عنوان یک عامل اتصال عرضی به نانوذرات تبدیل شود (۶). روش ژل شدن یونی یکی از روش های ساده، کم هزینه، و مؤثر برای تولید نانوذرات کیتوزان است. در این روش، برهم کنش بین بار مثبت گروه های آمینی کیتوزان و بار منفی عامل اتصال عرضی مانند تری پلی فسفات، منجر به تشکیل ژل و نانوذرات می شود. مزیت این روش آن است که در شرایط ملایم (بدون نیاز به اعمال حرارت بالا یا حلال های آلی) قابل انجام بوده و از این رو، برای نانو درون پوشانی ترکیبات حساس مناسب است. همچنین، از آنجا که فرآیند ژل شدن سریع و قابل کنترل است، می توان با تغییر پارامترهایی مانند pH، نسبت پلیمر به عامل اتصال عرضی، و غلظت اولیه ماده فعال، نانوذراتی با اندازه، بار سطحی و بازده نانو درون پوشانی مطلوب تولید کرد (۷، ۳). چنین سیستمی در نانو درون پوشانی ویتامین های C، B₁₂، D₃ و کورکومین با کاهش رضایت بخش تخریب آنها، به ویژه هنگامی که در معرض نور و O₂ قرار می گیرند، ارزیابی شده است (۱۰-۷).

نانو درون پوشانی اسیدفولیک نه تنها می تواند باعث افزایش پایداری و حفاظت از آن در برابر

⁴ Chitosan

⁵ Poly (methacrylic acid)

⁶ Ionic Gelation

⁷ Sodium tripolyphosphate

¹ Folic acid

² Megaloblastic anemia

³ Neural tube defects; NTDs

پایداری آن را افزایش دهد و در نهایت رهایش کنترل شده و تدریجی اسید فولیک را در طول زمان تضمین کند

مواد و روش ها

مواد: کیتوزان (وزن مولکولی پایین و درجه داستیلاسیون بین ۷۵ تا ۸۵٪) و اسید فولیک (خلوص ۹۸٪) از شرکت سیگما آلد ریچ خریداری شدند. سدیم تری پلی فسفات (STPP)، اسید استیک و هیدروکسید سدیم نیز توسط شرکت مرک آلمان تهیه شدند. فیلتر سرنگی ۰/۴۵ و ۰/۲۲ میکرومتر، برای حذف رسوبات و مواد حل نشده نیز استفاده شد.

سنتز نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات: نانوذرات با استفاده از تکنیک ژل شدن یونی، مطابق روش کالوو و همکاران (۱۹۹۷) با اندکی اصلاح، سنتز شدند (۱۲). به طور خلاصه، محلول کیتوزان (۶ میلی گرم بر میلی لیتر) و محلول سدیم تری پلی فسفات (STPP) (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) به ترتیب از طریق حل کردن کیتوزان در محلول آبی اسید استیک ۱٪ (حجمی/حجمی) و حل کردن STPP در آب دیونیزه، تحت هم زدن ملایم تهیه شدند. سپس، pH محلول های کیتوزان و STPP به ترتیب روی ۵ و ۴ تنظیم گردید. محلول کیتوزان و STPP به ترتیب از فیلترهای با قطر منفذ ۰/۴۵ و ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شدند. در نهایت، به منظور تشکیل نانوذرات، محلول STPP به صورت قطره قطره به محلول کیتوزان که با سرعت ۸۰۰ دور بر دقیقه روی همزن مغناطیسی در حال هم زدن بود، اضافه شد و این فرایند تا ایجاد سوسپانسیونی شیرین رنگ ادامه یافت. تشکیل نانوذرات کیتوزان به طور خودکار از طریق آغاز مکانیسم ژل شدن یونی ناشی از STPP صورت گرفت. **نانو درون پوشانی فولیک اسید در نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات:** به طور خلاصه،

تخریب های محیطی شود، بلکه امکان رهایش آهسته و هدفمند آن را در شرایط مختلف فراهم می کند. در صنایع غذایی، نانو درون پوشانی اسید فولیک امکان افزودن آن به محصولات غذایی مختلف (مانند نوشیدنی ها، لبنیات، محصولات نانویی و مکمل ها) را بدون کاهش کیفیت محصول و از بین رفتن ترکیب فعال فراهم می کند. در کاربردهای دارویی نیز، این ویژگی منجر به بهبود دسترسی زیستی و اثر بخشی درمانی، کاهش دفعات مصرف دارو و کاهش عوارض جانبی خواهد شد. در نتیجه، نانو درون پوشانی در سطح نانو نقش مهمی در توسعه محصولات غذایی غنی شده و مکمل های دارویی بازی می کند (۳). یکی از جنبه های کلیدی در ارزیابی عملکرد نانوذرات نانو درون پوشانی شده، بررسی پروفایل رهایش و مدل های سینتیکی آن است. رهایش ماده فعال از ماتریس پلیمری می تواند تابعی از مکانیسم هایی مانند نفوذ، تورم، یا تخریب ساختار باشد. برای تحلیل دقیق این رفتار، مدل های سینتیکی مختلفی از جمله مدل مرتبه صفر^۱، مرتبه اول^۲، هیگوجی^۳، پیاس^۴ و مدل های مبتنی بر جذب دارو به کار می روند (۲، ۱۱). این تحقیق با دو هدف اصلی طراحی شد: نخست، سنتز و مشخصه یابی نانوذرات کیتوزان از نظر ویژگی های فیزیکوشیمیایی؛ و دوم، نانو درون پوشانی اسید فولیک در نانوذرات تولید شده و بررسی رفتار رهایشی آن در شرایط محیطی طی زمان. فرضیه اصلی پژوهش بر این مبنا استوار است که نانوذرات کیتوزان - سدیم تری پلی فسفات می توانند بستری مناسب برای نانو درون پوشانی مؤثر اسید فولیک فراهم آورند، به گونه ای که این سیستم نانوحاملی قادر باشد از تخریب زودهنگام ترکیب فعال جلوگیری کرده،

¹ Zero-order

² First-order

³ Higuchi

⁴ Peppas

سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (مدل AVATAR ساخت کشور آمریکا) استفاده شد (۲).

بررسی راندمان نانو درون پوشانی: راندمان نانو درون پوشانی اسیدفولیک مشابه روش ارائه شده توسط بریتو و همکاران (۲۰۱۴) با اندکی تغییرات ارزیابی شد (۸). راندمان نانو درون پوشانی به عنوان مقداری از اسیدفولیک که در طول فرایند تهیه نانوذره به دام افتاده است تعریف می‌شود. در این راستا، سوسپانسیون نانوذرات تهیه شده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و اسیدفولیک نانو درون پوشانی نشده با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد و جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۸۲/۵ اندازه گیری شد. غلظت اسیدفولیک با استفاده منحنی استاندارد تهیه شده توسط محلول‌های استاندارد اسیدفولیک تعیین شد. سپس راندمان نانو درون پوشانی با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

$$EE(\%) = \frac{M_t - M_f}{M_t} (1)$$

M_t و M_f به ترتیب مقدار کل اسیدفولیک اضافه شده به نانوذره و مقدار اسیدفولیک نانو درون پوشانی نشده می‌باشند.

بررسی رهائش و مدلسازی رهائش اسید فولیک در شرایط محیط: میزان رهائش اسیدفولیک در طی یک ماه نگهداری نانوذرات طبق روش بریتو و همکاران (۲۰۱۴) با تغییرات جزئی تخمین زده شد (۸). در این روش مقدار معینی از سوسپانسیون نانوذرات در فواصل زمانی مشخص با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی رسوب، مقدار ویتامین موجود در فاز بالایی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۸۲،۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. به‌منظور مقایسه، نمونه کنترل شامل اسیدفولیک بدون پوشش تحت

کیتوزان در محلول اسید استیک و STPP در آب دیونیزه حل شد تا محلول‌های اولیه تهیه شوند. سپس ۲۵ میلی‌گرم اسید فولیک (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به محلول کیتوزان افزوده و مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی همگن گردید. در مرحله بعد، محلول STPP به آرامی و به صورت تدریجی به محلول کیتوزان حاوی اسید فولیک اضافه شد تا در نهایت، سوسپانسیونی شیری‌رنگ تشکیل گردد. (۳)

خصوصیات نانوذرات

تعیین مورفولوژی و اندازه ذرات: ویژگی‌های مورفولوژیکی و اندازه ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی^۱ (FESEM) (شرکت TESCAN، مدل MIRA، ساخت جمهوری چک) تعیین شدند. ابتدا نمونه سوسپانسیون نانوذرات رقیق‌سازی شد. در ادامه یک قطره از نمونه روی سطح فویل آلومینیومی ریخته و در دمای محیط خشک شد (۱۱).

پتانسیل زتا: به منظور بررسی پتانسیل زتای نانوذرات از زتا سایزر (شرکت Malvern Instruments، مدل MAL1001767، ساخت انگلیس) استفاده شد. پتانسیل زتا اختلاف پتانسیل بین لایه یونی متحرک و غیر متحرک می‌باشد و بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطحی است. قبل از انجام آزمون نمونه‌ها با آب دیونیزه رقیق شدند و به مدت ۹۰ ثانیه در حمام فراصوت قرار گرفتند (۱۳).

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR): به منظور بررسی گروه‌های شیمیایی موجود در نانوذرات کیتوزان - سدیم تری پلی فسفات، اسیدفولیک و نانوذرات حاوی اسیدفولیک نانو درون پوشانی شده از طیف

¹ Field-emission scanning electron microscope

همان شرایط نگهداری و آزمون رهایش قرار گرفت تا اثر پوشش دهی بر میزان رهایش مشخص شود. برای مدل سازی رهایش اسید فولیک از مدل های تجربی درجه صفر (معادله ۲)، درجه اول (معادله ۳)، هیگوجی (معادله ۵) و ریگتر پیاس (معادله ۶) استفاده شد و بهترین مدل بر اساس مقدار ضریب تعیین (R^2) و خطای میانگین مربعات (RMSE) انتخاب گردید (۸).

$$C_t = C_0 + kt \quad (2)$$

$$C = [1 - \exp(-kt)] \times 100 \quad (3)$$

$$C_t = k_H t^{1/2} \quad (4)$$

$$C_t = kt^n \quad (5)$$

K ضریب مدل، t مدت زمان و C_t درصد ترکیبات نانو درون پوشانی شده در نانوذره می باشد.

آنالیز آماری

تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. تمامی آزمون ها به جزء FTIR و FESEM در سه تکرار انجام شده و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش گردید. مقایسه میانگین ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) انجام گرفت. برآزش داده های آزمایشگاهی با مدل های سینتیکی مختلف با استفاده از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ انجام شد. رسم و تحلیل طیف های FTIR با استفاده از نرم افزار تخصصی OMNIC نسخه ۹/۲۸۶ انجام گرفت.

بحث و نتیجه گیری

مورفولوژی و اندازه ذرات: نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FESEM) نشان داد که نانوذرات کیتوزان، در هر دو حالت خالی و بارگذاری شده با اسید فولیک، دارای ساختار کروی هستند (شکل ۱). در نمونه نانوذرات کیتوزان خالی، ذرات کروی، یکنواخت و دارای سطح صاف و فشرده

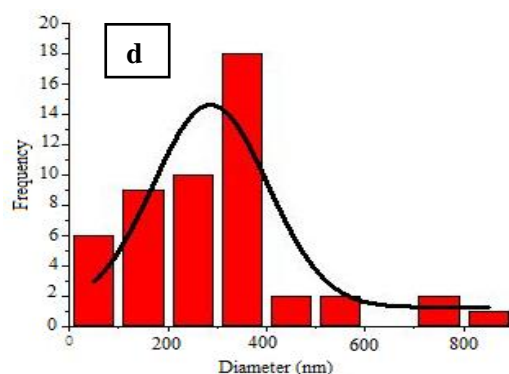
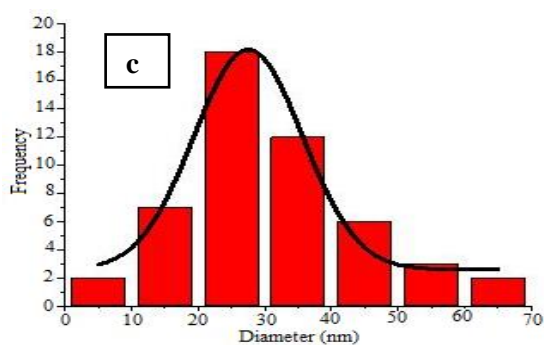
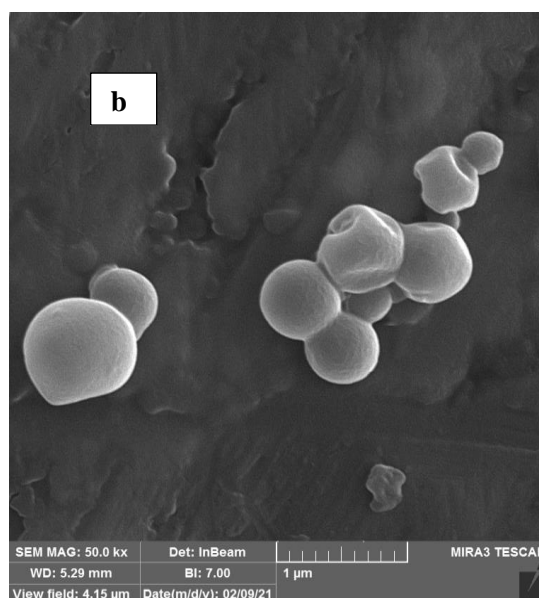
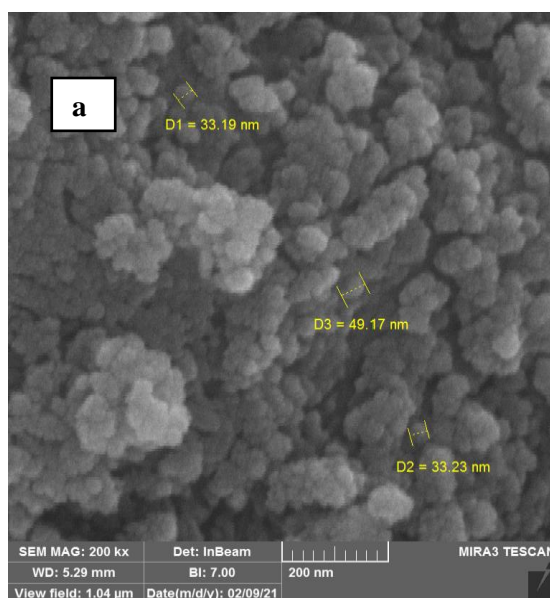
بودند، اندازه آن ها در بازه 2 ± 39 نانومتر قرار داشت. این نتایج با یافته های پژوهشگران دیگر از جمله شاه و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد که در مطالعه خود گزارش کردند نانوذرات کیتوزان سنتز شده به روش ژل شدن یونی دارای شکل کروی با اندازه ای حدود ۹۰ نانومتر هستند. قطر نانوذرات به روش ژل شدن یونی تحت تاثیر فاکتورهایی از جمله غلظت محلول های کیتوزان و STPP، نسبت کیتوزان به STPP و pH محلول ها است (۱۴).

در نمونه نانوذرات بارگذاری شده با اسید فولیک، تغییرات در اندازه ذره با اسید فولیک به دام افتاده به وضوح در شکل ۱ مشاهده می شود. اندازه ذرات به طور متوسط افزایش یافته و در بازه 3 ± 360 نانومتر تخمین زده شد. هنگامی که فولیک اسید در سوسپانسیون پلیمری پراکنده می شود، ویسکوزیته سوسپانسیون احتمالاً افزایش می یابد و نانوذرات بارگذاری شده با فولیک اسید منجر به ذرات بزرگتر می شود. یافته های مشابهی در مطالعه توسط اوکاماتو و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش شده که طی آن افزودن ترکیبات زیست فعال منجر به افزایش اندازه ذرات آن ها گردید (۳).

در نمونه نانوذرات بارگذاری شده با اسید فولیک، تغییرات اندازه ذره در حضور فولیک اسید به وضوح در شکل ۱ مشاهده می شود. اندازه ذرات به طور متوسط افزایش یافته و در حدود 3 ± 360 نانومتر برآورد شد. پراکنندگی فولیک اسید در سوسپانسیون پلیمری موجب افزایش ویسکوزیته می شود؛ زیرا حضور این مولکول ها با اشغال بخشی از حجم فیزیکی محلول، حرکت آزاد زنجیره های پلیمری را محدود کرده و مقاومت در برابر جریان را افزایش می دهد. علاوه بر این، برهمکنش الکترواستاتیکی میان گروه های کربوکسیل فولیک اسید و گروه های آمین کیتوزان نیز این محدودیت حرکتی را تشدید کرده و

(۲۰۲۳) بر روی سیستم کافئین-فولات-کیتوزان نشان داده شد که بارگذاری فولات باعث افزایش اندازه ذرات در مقایسه با نمونه‌های کنترل می‌شود (۱۷). در مجموع، تحلیل‌های FESEM نشان داد که نانو درون پوشانی اسیدفولیک سبب افزایش اندازه نانوذرات کیتوزان می‌شود، اما شکل کلی کروی و پراکندگی مناسب ذرات همچنان حفظ شده است. این موضوع نشان دهنده کنترل مناسب شرایط سنتز در تولید نانوذرات است.

نقش مؤثری در افزایش ویسکوزیته دارد. افزایش ویسکوزیته به نوبه خود تجمع و تشکیل ذرات بزرگ‌تر را تسهیل می‌کند (۱۵، ۱۶). در نتیجه، نانوذرات بارگذاری شده با فولیک اسید نسبت به ذرات فاقد بارگذاری، اندازه بزرگ‌تری از خود نشان دادند. یافته‌های مشابهی در مطالعه توسط اوکاماتو و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش شده که طی آن درون پوشانی اسیدفولیک در نانوذره کیتوزان منجر به افزایش اندازه ذرات از ۹۰ نانومتر به ۷۱۰ نانومتر گردید (۳). همچنین، در مطالعه‌ی حمید و همکاران



شکل (۱) تصاویر FESEM نانوذرات. a. نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات. b. نانوذرات بارگذاری شده با اسیدفولیک. c. هیستوگرام نانوذرات کیتوزان-سدیم تری پلی فسفات. d. هیستوگرام نانوذرات بارگذاری شده با اسیدفولیک.

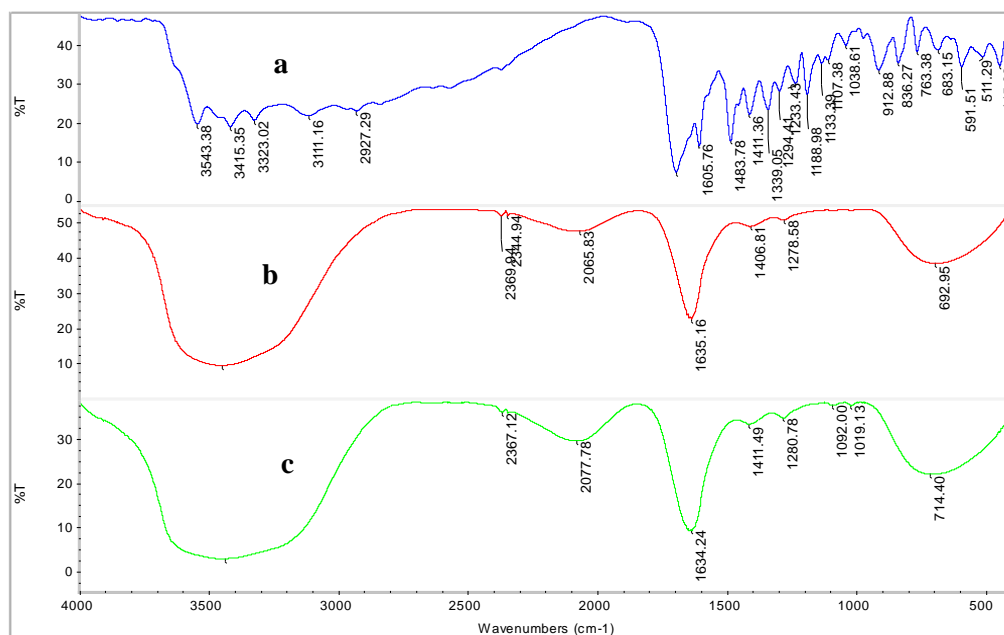
Figure (1) FESEM images of nanoparticles. a. Chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles b. Folic acid-loaded nanoparticles c. Histogram of chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles d. Histogram of folic acid-loaded nanoparticles.

پتانسیل زتا: پتانسیل زتا به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین پایداری کلوئیدی نانوذرات، برای نانوذرات کیتوزان خالی و نانوذرات بارگذاری شده با اسیدفولیک اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که نانوذرات کیتوزان خالی دارای پتانسیل زتای مثبت قابل توجهی برابر با 35 ± 0.3 میلی‌ولت بودند که نشان‌دهنده بار سطحی مثبت ناشی از گروه‌های آمینی آزاد کیتوزان و همچنین پایداری مناسب سیستم در محیط کلوئیدی است. مقادیر مثبت بار سطح ذرات نشان داد که بار سطح ذرات تولید شده در این مطالعه مطابق مطالعات قبل است (۱۸، ۱۹). ايسواتی و همکاران (۲۰۱۹) و سولیوان و همکاران (۲۰۱۸) به ترتیب پتانسیل زتا $32/3$ و 30 میلی‌ولت را برای نانوذرات کیتوزان تولید شده با روش ژل شدن یونی گزارش کردند (۲۰، ۲۱). پس از نانو درون پوشانی اسیدفولیک، پتانسیل زتا کاهش یافت و مقدار آن به حدود 32 ± 0.2 میلی‌ولت رسید. این کاهش قابل انتظار است، چرا که مولکول‌های اسیدفولیک دارای گروه‌های کربوکسیلیک منفی هستند که می‌توانند با گروه‌های آمینی مثبت کیتوزان وارد برهم‌کنش شوند و در نتیجه موجب خنثی شدن نسبی بار سطحی شوند. با این حال، پتانسیل زتای باقی‌مانده همچنان در محدوده‌ای ($30 \text{ mV} \geq$ پتانسیل زتا) است که می‌تواند پایداری نانوذرات را حفظ کند (۳، ۲۰). در مطالعه مشابه توسط اوکاماتو و همکاران (۲۰۲۰)، کاهش پتانسیل زتا در نتیجه بارگذاری داروی دارای بار منفی روی نانوذرات کاتیونی را گزارش شده است (۳).

FTIR: طیف‌های FTIR مربوط به نانوذرات کیتوزان و ارتباط آن‌ها با اسید فولیک در شکل ۲ نمایش داده شده است. ناحیه‌ای که بیشترین اهمیت را در ارزیابی دارد، بین بازه 600 cm^{-1} تا 1800 cm^{-1} قرار دارد. در طیف FTIR نانوذرات کیتوزان، یک نوار پهن و شدید در ناحیه $3200-3500 \text{ cm}^{-1}$ مشاهده

می‌شود که به ارتعاشات کششی همپوشانی شده گروه‌های هیدروکسیل (OH-) و آمین نوع اول (-NH₂) موجود در ساختار پلیمری کیتوزان نسبت داده می‌شود. علاوه بر این، ارتعاشات مربوط به حلقه آروماتیک در حدود 1600 cm^{-1} (کششی C=C) به همراه حالت‌های خمشی گروه N-H در نزدیکی 1400 cm^{-1} ظاهر شده‌اند (۲۲). شواهد بیشتری از برهم‌کنش میان کیتوزان و TPP در ناحیه $1200-690 \text{ cm}^{-1}$ قابل مشاهده است که به ترتیب به کشش‌های P=O و P-O و همچنین P-O-P در ساختار TPP نسبت داده می‌شود که تأییدی بر ایجاد پیوندهای عرضی فسفات در ماتریس نانوذرات است (۲۳، ۲۴). در طیف FTIR مربوط به اسید فولیک خالص، پیک‌های مشخصی متناظر با گروه‌های عاملی آن قابل مشاهده است. یک باند جذب قوی در حدود 1685 cm^{-1} به ارتعاش کششی C=O گروه کربوکسیلیک اسید نسبت داده می‌شود. همچنین، ارتعاشات حلقه آروماتیک در حدود 1600 cm^{-1} (کشش C=C) و خم‌شدگی N-H در نزدیکی 1500 cm^{-1} مشاهده می‌شوند. نوارهای پهن در بازه $3200-3500$ نیز به دلیل ارتعاشات کششی گروه‌های O-H و N-H، نشان‌دهنده وجود گروه‌های هیدروکسیل و آمین در مولکول هستند (۲۵). پس از فرآیند نانو درون پوشانی، طیف FTIR مربوط به نانوذرات کیتوزان حاوی اسید فولیک تغییرات قابل توجهی نسبت به طیف اجزای منفرد نشان می‌دهد. در این طیف، نوارهای ارتعاشی اختصاصی فولیک اسید در 1019 و 1092 cm^{-1} مشاهده شده‌اند که به ترتیب به خمیدگی‌های C=C و C-H اسید فولیک مربوط می‌شوند و در طیف نانوذرات خالی وجود ندارند. جابجایی پیک کربوکسیل فولیک اسید از 1694 cm^{-1} به 1634 cm^{-1} نیز بیانگر تشکیل پیوندهای استری بین اسید فولیک و کیتوزان است (۳). به طور کلی،

آنالیز طیفی FTIR شواهد قوی از بارگذاری موفقیت آمیز اسید فولیک در نانوذرات کیتوزان تولید شده از طریق روش ژل شدن یونی ارائه می دهد.



شکل (۲) طیف FTIR. a. اسیدفولیک b. نانوذرات کیتوزان- سدیم تری پلی فسفات c. نانوذرات بارگذاری شده با اسیدفولیک.
Figure (2) FTIR spectrum. a. Folic acid b. Chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles c. Folic acid-loaded nanoparticles.

راندمان حدود ۶۰ درصد را برای بارگذاری ویتامین B₁₂ در نانوکیتوزان گزارش کردند (۹). همچنین، در مطالعه ای مشابه توسط میلینا و همکاران (۲۰۲۳)، با استفاده از روش ژل شدن یونی، راندمانی معادل ۹۰ درصد برای ترکیبات زیست فعال ضد میکروبی به دست آمد (۲۶). بررسی میزان رهایش اسیدفولیک از نانوذرات کیتوزان تهیه شده به روش ژل شدن یونی نشان داد که این سامانه قادر است رهایش کنترل شده و پایداری از ترکیب زیست فعال را در شرایط محیطی فراهم کند. در ۴۸ ساعت ابتدایی، تنها حدود ۹ درصد از اسیدفولیک آزاد شد و سپس این مقدار به تدریج افزایش یافت و تا پایان دوره ی نگهداری، میزان رهایش تجمعی به حدود 1 ± 28 درصد رسید (شکل ۳). رهایش کم در ساعات اولیه، که برخلاف بسیاری از سامانه های رهایش دارو فاقد فاز انفجاری اولیه بود، نشان می دهد که بخش عمده ای از اسیدفولیک در

راندمان درون پوشانی و سیتیک رهایش در شرایط محیطی: بررسی راندمان درون پوشانی نانوذرات کیتوزان بارگذاری شده با اسیدفولیک نشان داد که نانوفرمولاسیون تهیه شده از کارایی بسیار بالایی در به دام انداختن و تثبیت مولکول های اسیدفولیک برخوردار است، به طوری که میانگین راندمان درون پوشانی در محدوده نسبتاً بالای 0.8 ± 91 درصد قرار گرفت. چنین راندمانی بیانگر موفقیت آمیز بودن طراحی و اجرای سامانه نانوذره ای بوده و می توان آن را نتیجه برهم کنش مؤثر میان کیتوزان و اسیدفولیک، شرایط بهینه فرمولاسیون (نسبت بهینه کیتوزان به STPP به عنوان عامل ژل کننده، همراه با کنترل دقیق pH و دمای واکنش) و ساختار فیزیکی مناسب ذرات دانست (۱۳). یافته های به دست آمده از این تحقیق کاملاً هم راستا با نتایج گزارش شده در سایر مطالعات علمی است. برای مثال، کارلن و همکاران (۲۰۱۷)

تدریجی، شرایطی ایده‌آل برای رهایش پایدار و طولانی مدت فراهم آورد.

به منظور بررسی دقیق‌تر روابط بین متغیرها، مدل رگرسیون چندگانه خطی بر داده‌ها، برازش داده شد (جدول ۲). ضریب تبیین (R^2) حاصل برازش داده‌های رهایش شرایط آزمایشگاهی با مدل‌های سینتیکی بین ۰ تا ۱ متغیر است. به طوری که مقدار ۱ بیانگر برازش کامل و دقت بالا در پیش‌بینی داده‌ها و مقدار ۰ نشان‌دهنده عدم پیش‌بینی است (۲۸). نتایج تحلیل رگرسیون نشان داد که ضرایب معادله به صورت زیر هستند:

$$\begin{aligned} \text{Release} \\ = 13.366 - 6.393(\beta_1) + 2.027(\beta_2) \\ - 1.231(\beta_3) \quad R^2 = 0.978 \end{aligned}$$

در این معادله، ضریب منفی مربوط به متغیر نانوذره (β_1) بیانگر آن است که حضور نانوذره باعث کاهش قابل توجه رهایش در زمان صفر نسبت به نمونه کنترل می‌شود. ضریب زمان (β_2) نشان می‌دهد که در نمونه کنترل، به ازای هر واحد افزایش زمان، میزان رهایش به طور متوسط حدود ۲ درصد افزایش می‌یابد. ضریب متقابل زمان و نانوذره (β_3) نیز حاکی از آن است که وجود نانوذره شیب تغییرات رهایش بر حسب زمان را کاهش می‌دهد، به طوری که شیب زمان در گروه نانوذره به ۰٫۷۹۶ کاهش می‌یابد و رهایش آهسته‌تر اتفاق می‌افتد. ضرایب استاندارد شده β نشان دادند که متغیر نانوذره قوی‌ترین اثر را بر میزان رهایش دارد (۰/۹۲۴-)، پس از آن زمان با اثر مثبت و متوسط (۰/۶۶۸) و اثر متقابل زمان و نانوذره ضعیف‌تر ولی معنادار است (۰/۱۶۹-). نتایج نشان می‌دهد که مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده رهایش، حضور نانوذره است که به طور معناداری باعث کاهش و کنترل رهایش می‌شود.

در این مطالعه، به منظور تحلیل دقیق‌تر فرآیند رهایش اسید فولیک از نانوذرات، از مدل‌های ریاضی

داخل ساختار شبکه‌ای نانوذره به صورت مؤثر نانو درون پوشانی شده و بر سطح ذرات تجمع نیافته است. این ویژگی برای سامانه‌هایی که نیاز به رهایش آهسته و یکنواخت دارند، بسیار مطلوب است (۲۷).

رفتار مشاهده‌شده در این تحقیق با نتایج گزارش شده در مطالعات پیشین هم‌راستا است. برای مثال، برونو و همکاران (۲۰۲۵) در مطالعه‌ای مشابه بر روی نانوذلهای کیتوزان حاوی ویتامین‌های گروه ب، رهایشی تدریجی و فاقد فاز انفجاری با رهایش نهایی حدود ۲۵ درصد گزارش کردند، که آن را ناشی از شبکه‌ی فشرده‌ی ایجادشده توسط برهم‌کنش‌های یونی میان کیتوزان و *STPP* دانستند (۲۸). رهایش تدریجی مشاهده شده در پژوهش حاضر نه تنها از نظر پایداری ماده مؤثره و یکنواختی در دسترسی زیستی آن اهمیت دارد، بلکه برای فرمولاسیون‌های خوراکی و مکمل‌های غذایی نیز مناسب است. در این کاربردها، حفظ تدریجی ماده فعال در مدت زمان طولانی بدون نیاز به مصرف مکرر، یک مزیت عمده به شمار می‌آید.

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اثر اصلی زمان و اثر اصلی نوع نمونه (نانوذره حاوی اسید فولیک در مقایسه با نمونه کنترل بدون پوشش) هر دو بر میزان رهایش اسید فولیک معنی‌دار بودند. علاوه بر این، اثر متقابل زمان \times نوع نمونه نیز معنی‌دار گزارش شد، که نشان‌دهنده تفاوت الگوی رهایش دو سامانه در طول زمان است (جدول ۱). به بیان دیگر، تغییرات میزان رهایش نه تنها تحت تأثیر زمان نگهداری بلکه به طور هم‌زمان متأثر از نوع فرمولاسیون بوده و رفتار رهایش در نانوذرات به طور معناداری از نمونه کنترل متمایز است. این نتایج حاکی از آن است که سامانه نانوذره‌ای توانسته است با کاهش رهایش سریع در ساعات اولیه و فراهم کردن یک الگوی رهایش

رهایش دارو از نوع انتشار فیکو و تحت تأثیر گرادیان غلظت بوده است (۲۹) مقدار بالای R^2 در مدل پیاس بیانگر دقت بالا و توان پیش‌بینی مناسب این مدل در شرایط مشابه آزمایشگاهی است. با این حال، مدل هیگوچی نیز به‌طور کامل قابل رد نیست، زیرا مقدار R^2 در این مدل برابر با ۰/۹۶۶ گزارش شد. این مدل نیز نشان‌دهنده آن است که مکانیسم غالب در رهایش فولیک اسید، فرآیند انتشار فیک بوده است، یعنی مولکول‌های دارو از نواحی با غلظت بالا به سمت نواحی با غلظت پایین حرکت می‌کنند (۲۹).

برای توصیف سینتیک رهایش و مکانیسم‌های انتقال استفاده شد. بر اساس تحلیل‌های ریاضی، مشخص شد که رهایش اسیدفولیک بیشترین انطباق را با مدل پیاس دارد، به‌گونه‌ای که مقدار R^2 به‌دست‌آمده برای این مدل برابر با ۰/۹۷۷ بود. این مقدار نشان می‌دهد که بیش از ۹۷ درصد از تغییرات مشاهده‌شده در روند رهایش دارو توسط این مدل قابل توضیح است، که بیانگر آن است که فرآیند رهایش عمدتاً تحت کنترل مکانیسم انتشار (diffusion-controlled) قرار دارد (شکل ۴). علاوه بر این، مقدار ضریب n در این مدل برابر با ۰/۴۸۱ ($\leq 0/5$) به‌دست آمد که تأیید می‌کند

جدول (۱). آنالیز تجزیه واریانس (ANOVA) - معنی داری در سطح ۰/۰۱

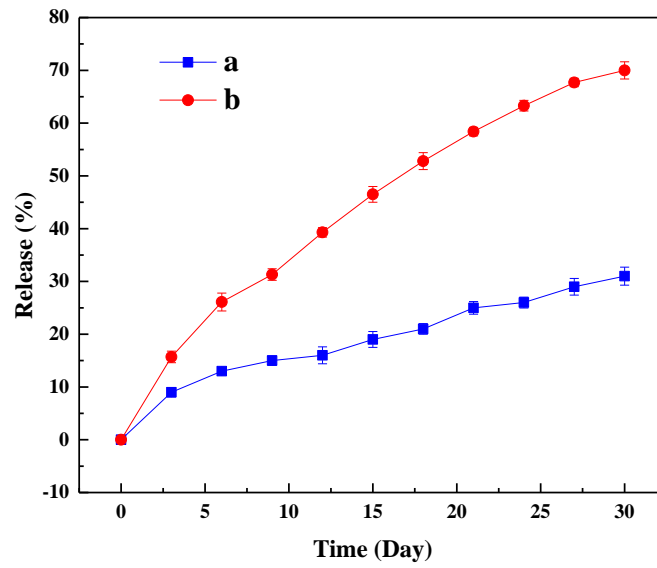
Table (1). Analysis of variance (ANOVA) ** Significance level of 0.01

منبع Source	درجه آزادی df	آزمون F F	معنی داری sig	ضریب اتای مربع جزئی Partial Eta Squared
زمان Time	9	22024.740**	0.000	1.000
گروه (نوع نمونه) Group (Sample type)	1	121102.067**	0.000	1.000
زمان * گروه Time*Group	9	4692.809**	0.002	0.913

جدول (۲) ضرایب همبستگی

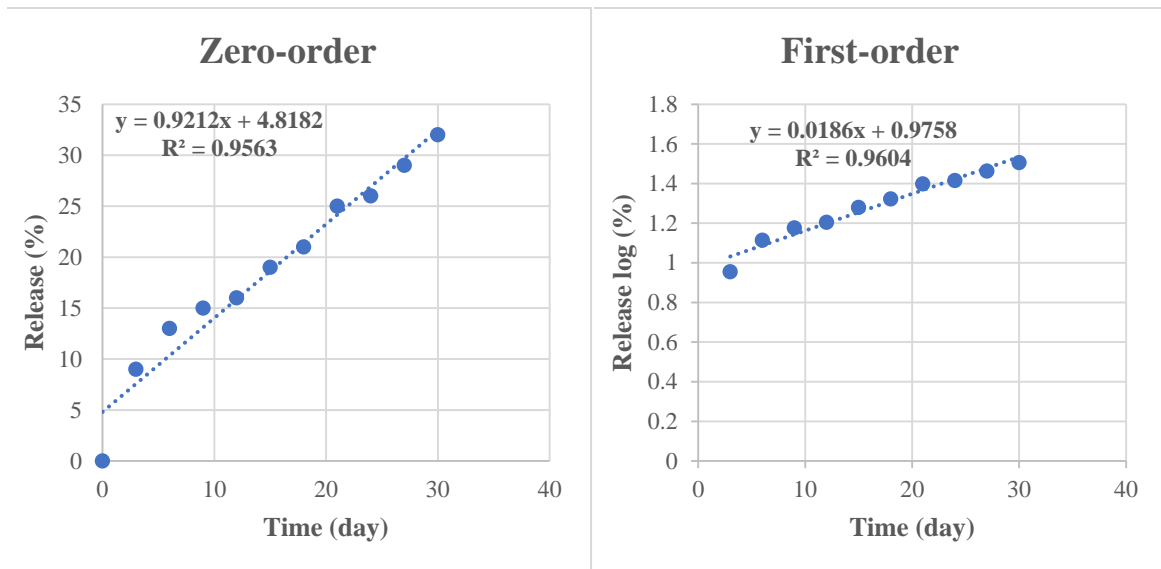
Table (2). Correlation coefficients

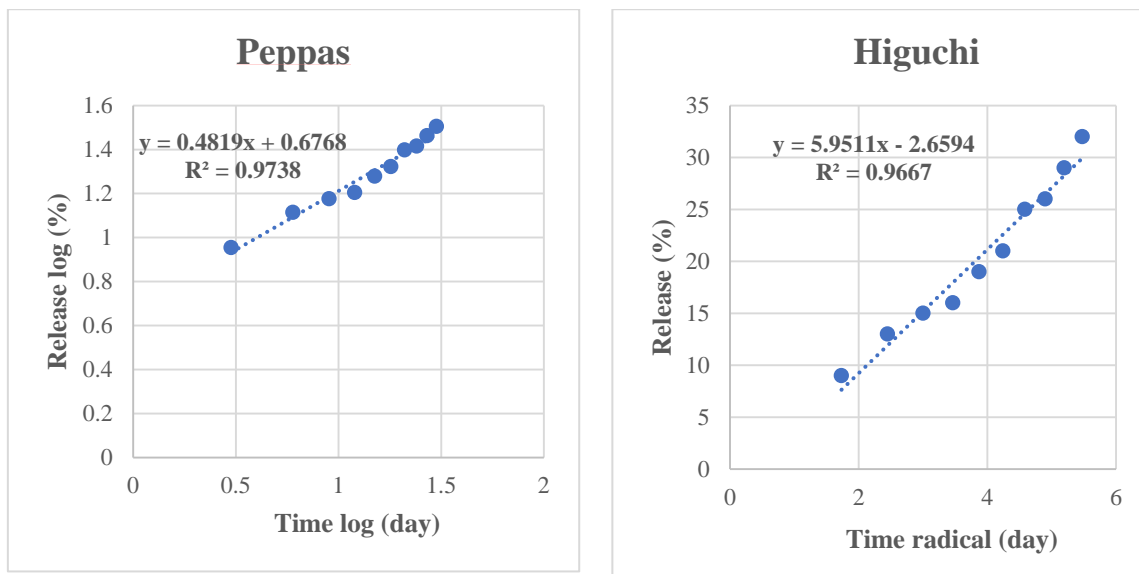
	ضریب معادله (B) Equation coefficient (B)	ضریب بتای استاندارد Beta standard coefficient	سطح معنی داری Sig
رهایش	ثابت معادله Constant (B ₀)	13.366	0.000
Release	نانوذره (B ₁) Nanoparticle (B ₁)	-6.393	0.000
	زمان (B ₂) Time (B ₂)	2.027	0.000
	تعامل (B ₃) Interaction (B ₃)	-1.231	0.000



شکل (۳) نمودار رهائش اسید فولیک در طول یک ماه نگهداری. **a.** نانوذرات بارگذاری شده با اسید فولیک **b.** اسید فولیک بدون پوشش.

Figure (3) Folic acid release diagram during one month of storage. Folic acid-loaded nanoparticles (a) and Uncoated folic acid (b).





شکل (۴) مدل‌سازی رهائش اسیدفولیک در طول یک ماه نگهداری در شرایط محیطی.

Figure (4) Modeling of folic acid release during one month of storage under ambient conditions.

مخربی در ساختار پایه کیتوزان ایجاد شود. آزمایش رهائش در شرایط محیطی طی یک ماه، الگوی رهائش کند و کنترل شده اسیدفولیک را نشان داد، به طوری که میزان رهائش تجمعی در پایان ماه به حدود ۲۸ درصد رسید. برازش داده‌های رهائش با مدل‌های سینتیکی مختلف نشان داد که مدل پیاس بهترین همبستگی را با داده‌ها دارد ($R^2 = 0.97$) و مقدار نمای رهائش در بازه $0.5 \leq$ قرار گرفت که بیانگر مکانیزم غالب انتشار فیکو در ماتریکس پلیمری کیتوزان است. در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که نانوذرات کیتوزان-سدیم تری‌پلی‌فسفات سامانه‌ای کارآمد برای نانو درون پوشانی و رهائش کنترل شده ترکیبات زیست‌فعال مانند اسیدفولیک بوده و می‌تواند در پژوهش‌های آینده به ویژه در حوزه کاربردهای غذایی و دارویی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه گیری

در این پژوهش، نانوذرات کیتوزان-سدیم تری‌پلی‌فسفات حاوی اسیدفولیک به روش ژل شدن یونی تهیه و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختاری و عملکرد رهائش آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تصاویر FESEM نشان‌دهنده مورفولوژی کروی ذرات در هر دو نمونه با و بدون اسیدفولیک بود. اندازه ذرات با بارگذاری اسیدفولیک افزایش یافت، که این افزایش می‌تواند به افزایش ویسکوزیته سوسپانسیون ناشی از افزودن اسیدفولیک نسبت داده شود. اندازه‌گیری پتانسیل زتا نشان داد که حضور اسیدفولیک موجب کاهش بار سطحی مثبت ذرات شد، اما مقدار باقی‌مانده برای حفظ پایداری کلئیدی سامانه کافی بود. تحلیل طیف‌های FTIR تأیید کرد که اسیدفولیک به طور موفق در شبکه پلیمری کیتوزان نانو درون پوشانی شده است، بدون آن‌که تغییرات

References

- Zhang, J., Wang, X. Y., Yang, S., Xu, X. Q., Pan, S. J., & Li, Y. (2025). Dietary food folate and synthetic folic acid co-exposure patterns with elevated depressive symptoms: findings from NHANES 2005–2018. *Journal of Affective Disorders*, 380, 715-724.
- Bruno, S. G., Martínez, S. M., Costa Gobbato, C., Quinteros, D. A., Alaimo, A., & Pérez, O. E. (2025). Chitosan-TPP Nanogels for Ocular Delivery of Folic Acid: Release Profile, Corneal Permeation, and Mucoadhesion Assessment. *Pharmaceutics*, 17(4), 424.
- Okamoto-Schalch, N. O., Pinho, S. G. B., de Barros-Alexandrino, T. T., Dacanal, G. C., Assis, O. B. G., & Martelli-Tosi, M. (2020). Production and characterization of chitosan-TPP/cellulose nanocrystal system for encapsulation: a case study using folic acid as active compound. *Cellulose*, 27(10), 5855-5869.
- Kamble, M. G., Singh, A., Singh, S. V., Kamble, M. G., Sagar, N. A., & Rani, N. (2025). Nanotechnology for encapsulation of bioactive components: a review. *Discover Food*, 5(1), 1-18.
- Ahmed, H. A. M., & Mohmmed, R. (2025). Micro/Nano Encapsulation Methods of Bioactive Materials Controlled Release Using Chitosan for Functionalization of Textiles Substrates. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 100704.
- Viacava, G., Marcovich, N. E., & Ansorena, M. R. (2025). Chitosan-based drug and bioactive delivery systems: Application of chitosan microcapsules to enhance absorption and bioavailability of bioactive components. *Studies in Natural Products Chemistry*, 85, 181-221.
- Abbasi, A., Edjlali, L., Babazadeh, M. A., Ghasemi, E., & Mahdavinia, G. R. (2025). Tripolyphosphate-crosslinked chitosan-based nanoparticles as pH responsive for curcumin release. *Polymer Bulletin*, 82(7), 2251-2268
- de Britto, D., de Moura, M. R., Aouada, F. A., Pinola, F. G., Lundstedt, L. M., Assis, O. B., & Mattoso, L. H. (2014). Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N, N, N-trimethyl chitosan nanoparticles. *Macromolecular Research*, 22(12), 1261-1267
- Carlan, I. C., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2017). Study of microencapsulation and controlled release of modified chitosan microparticles containing vitamin B12. *Powder Technology*, 318, 162-169.
- Iida, A. S. L., Luz, K. N., Barros-Alexandrino, T. T., Fávoro-Trindade, C. S., Pinho, S. C. D., Assis, O. B. G., & Martelli-Tosi, M. (2019). Investigation of TPP-Chitosomes particles structure and stability as encapsulating agent of cholecalciferol. *Polímeros*, 29(4), e2019049.
- Tagaç, A. A., Sarp, Ö., & Yurkakoç, K. (2018). Controlled release of Vitamin C from chitosan nanoparticles. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 46(1), 69-77.
- Calvo, P., Remunan-Lopez, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of applied polymer science*, 63(1), 125-132.
- Wei, Y., Huang, Y. H., Cheng, K. C., & Song, Y. L. (2020). Investigations of the influences of processing conditions on the properties of spray dried chitosan-tripolyphosphate particles loaded with theophylline. *Scientific Reports*, 10(1), 1155.
- Shah, B. R., Li, Y., Jin, W., An, Y., He, L., Li, Z., ... & Li, B. (2016). Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation. *Food Hydrocolloids*, 52, 369-377.
- Song, H., Su, C., Cui, W., Zhu, B., Liu, L., Chen, Z., & Zhao, L. (2013). Folic acid-chitosan conjugated nanoparticles for improving tumor-targeted drug delivery. *BioMed research international*, 2013(1), 723158.
- Uyar, T., & Besenbacher, F. (2008). Electrospinning of uniform polystyrene fibers: The effect of solvent conductivity. *Polymer*, 49(24), 5336-5343.
- Hamed, A., Ghareeb, D., Mohamed, T. M., Hamed, M., Nofal, M. S., & Gaber, M. (2023). Caffeine-folic acid-loaded-chitosan nanoparticles combined with methotrexate as a novel

- HepG2 immunotherapy targeting adenosine A2A receptor downstream cascade. *BMC complementary medicine and therapies*, 23(1), 384.
18. Dammak, I., & do Amaral Sobral, P. J. (2018). Formulation optimization of lecithin-enhanced pickering emulsions stabilized by chitosan nanoparticles for hesperidin encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 229, 2-11.
 19. Tian, H., Lu, Z., Yu, H., Chen, C., & Hu, J. (2019). Fabrication and characterization of citral-loaded oil-in-water Pickering emulsions stabilized by chitosan-tripolyphosphate particles. *Food & Function*, 10(5), 2595-2604.
 20. Sullivan, D. J., Cruz-Romero, M., Collins, T., Cummins, E., Kerry, J. P., & Morris, M. A. (2018). Synthesis of monodisperse chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 83, 355-364.
 21. Iswanti, F. C., Nurulita, I., Djauzi, S., Sadikin, M., Witarto, A. B., & Yamazaki, T. (2019). Preparation, characterization, and evaluation of chitosan-based nanoparticles as CpG ODN carriers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 390-396.
 22. Reddy, N., & Yang, Y. (2005). Structure and properties of highquality natural cellulose fibers from cornstalks. *Polymer*, 46(15), 5494-5500.
 23. Rodrigues, S., Da Costa, A. M. R., & Grenha, A. (2012). Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. *Carbohydrate polymers*, 89(1), 282-289.
 24. Antoniou, J., Liu, F., Majeed, H., Qi, J., Yokoyama, W., & Zhong, F. (2015). Physicochemical and morphological properties of size-controlled chitosan-tripolyphosphate nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 465, 137-146.
 25. Hammud, K. K., Mohammed, J. M., Radif, M. M., Raouf, A. L. M., Mahmmood, S. S., Neama, R. R., & Abbas, S. J. (2013). Thermodynamic parameters for phenanthrene interaction with a biological π -acceptor (folic acid) by spectroscopic measurements. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(2), 24-28.
 26. Meylina, L., Muchtaridi, M., Joni, I. M., Elamin, K. M., & Wathoni, N. (2023). Hyaluronic acid-coated chitosan nanoparticles as an active targeted carrier of alpha mangostin for breast cancer cells. *Polymers*, 15(4), 1025.
 27. Chanphai, P., & Tajmir-Riahi, H. A. (2021). Folic acid-chitosan Nanomaterials for delivery of dietary polyphenols. *Journal of Nanotechnology and Nanomaterials*, 2(2), 57-66.
 28. Khutoryanskiy, V. V. (Ed.). (2020). *Advances in Mucoadhesive Polymers and Formulations for Transmucosal Drug Delivery*. MDPI.
 29. Bruschi, M. L. (2015). Mathematical models of drug release. *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*, 5, 63-86.