

## درون پوشانی ویتامین D3 با نانوذرات ژلاتین ساخته شده به روش ضد حلال دو مرحله ای

سمیه میرآقائی<sup>۱</sup>، زهرا امام جمعه<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی پردیس بین المللی ارس دانشگاه تهران

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۰۷)

### چکیده

ژلاتین یکی از فراوان ترین ماکرومولکول های طبیعی است که به طور گسترده برای تهیه انواع نانو ذرات مورد استفاده قرار می گیرد. در این مطالعه نانوذرات از ژلاتین تیپ B با روش ضد حلال دو مرحله ای تهیه شد و جهت بهینه سازی نانوذرات عوامل مختلفی مانند غلظت ژلاتین، استون مصرفی، دما و سرعت همزنی مورد بررسی قرار گرفت. سپس ویتامین D3 در نانو ذره بهینه سازی شده درون پوشانی شد. نتایج پژوهش نشان داد که مطلوب ترین شرایط برای تولید نانو ذرات با غلظت ژلاتین ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، حجم مصرفی استون ۱۵ میلی لیتر، دمای ۴۰ °C و سرعت همزنی ۱۰۰۰ rpm تعیین شد. اندازه ذره تولیدی با این شرایط ۸۸.۶ نانومتر گزارش شد. همچنین مورفولوژی نانو ذره حاصل به شکل کروی با سطحی صاف می باشد که با میکروسکوپ الکترونی روبشی به وضوح قابل مشاهده است. اندازه ذره با افزودن ویتامین D3 به ۱۷۷.۲ نانومتر افزایش یافت که نشان دهنده درون پوشانی نانو ذره می باشد.

کلید واژگان: اندازه ذره، ویتامین D3، ژلاتین، روش ضدحلال دو مرحله ای

\* مسئول مکاتبات: emamj@ut.ac.ir

## ۱- مقدمه

کلاژن گاوی تهیه می شود) قابل دسترس می باشد [۸]. ژلاتین از جمله ماکرومولکول هایی است که برای تولید نانوذرات از آن استفاده می شود [۱۰]. اخیراً نانوذرات ها مزایای بسیار زیادی در بهبود سیستم های تحویل دارو از جهت افزایش اثربخشی ارائه کرده اند [۹]. نانوذرات ها در مقایسه با میکروذرات ها از جذب بالاتری برخوردارند نتایج تحقیقات نشان داده که ذره ای با اندازه ۱۰۰ نانومتر 2.5 برابر نسبت به ذره ای با اندازه ۱ میکرومتر جذب دارد [۱۱]. روش های متعددی برای تهیه نانوذرات ها از ماکرومولکول های طبیعی گزارش شده است. روش اول مبنی بر امولسیون سازی بوده و روش دوم مبنی بر جداسازی فاز در محیط آبی می باشد. در روش اول به دلیل ناپایداری امولسیون امکان تهیه نانوذرات کوچکتر از ۵۰۰ نانومتر با توزیع اندازه ذره ی باریک وجود ندارد. بنابراین روش کواسرواسیون و یا روش ضد حلال که مبتنی بر جداسازی فاز می باشد جهت تهیه نانوذرات ها از ماکرومولکول های طبیعی پیشنهاد شد [۱۲]. هدف ما در این پژوهش ابتدا تولید نانوذرات با روش ضدحلال دو مرحله ای بوده و جهت بهینه کردن اندازه ذرات عوامل مختلفی مانند غلظت ژلاتین، حجم استون مصرفی، دما و همچنین سرعت همزنی مورد بررسی قرار گرفت. سپس از ویتامین D3 در درون پوشانی بهینه نانوذره بدست آمده استفاده شد.

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- مواد

ژلاتین تیپ B (گاوی) با بلوم ۲۶۰-۲۴۰ از شرکت فراوری غذایی و دارویی ژلاتین حلال ایران، محلول گلو تارآلدئید ۲۵ درصد آبی از شرکت سیگما، ویتامین D3 از شرکت DSM، استون از شرکت نوترون ایران و اسید هیدروکلریک از شرکت مرک خریداری گردید.

### ۲-۲- تهیه نانوذرات

برای تهیه نانوذرات ژلاتین از روش ضد حلال دو مرحله ای استفاده شد. در ابتدا ۲۰۰ - ۵۰۰ میلی گرم ژلاتین در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در شرایط دمایی  $1^{\circ}\text{C} \pm 40$  به همراه همزدن حل می شود تا یک محلول شفاف بدست آید. سپس ۱۰ میلی لیتر استون به محلول ژلاتین اضافه گردید تا وزن مولکولی

در سال های اخیر بر روی ترکیبات ریزمغذی ها مانند ویتامین ها مطالعات قابل توجهی صورت گرفته است. ویتامین ها موادی هستند که روزانه هر شخصی جهت متابولیسم طبیعی بین سلولی به آنها احتیاج دارد و خود به دو گروه ویتامین های محلول در آب و محلول در چربی تقسیم می شوند. ویتامین D جز ویتامین های محلول در چربی به حساب می آید. ویتامین D یک هورمون استروئیدی است و به دو ساختار شیمیایی ویتامین D3 (کوله کلسیفرول) <sup>۱</sup> و ویتامین D2 (ارگو کوله کلسیفرول) <sup>۲</sup> دیده می شود. در اثر تابش اشعه ماوراء بنفش نور آفتاب بر استرول های آن (ارگواسترول موجود در گیاهان و ۷-دهیدروکلسترول موجود در پوست) بترتیب ویتامین D2 و D3 سنتز می شود [۱]. ویتامین D از طریق قرار گرفتن در معرض نور آفتاب، رژیم غذایی و بصورت مصرف مکمل ها تامین می شود [۲]. کمبود ویتامین D در کودکان به شکل راشیتیس، در بالغین بصورت استئومالاسی و در سالمندان به شکل پوکی استخوان (استئوپروز) نمایان می شود. با این حال در سال های اخیر توجه بسیاری به اثر ویتامین D بر بافت های غیر از استخوان جلب شده است [۳]. همچنین کمبود ویتامین D با افزایش خطر بسیاری از سرطان ها [۴]، دیابت نوع ۲ [۴]، بیماری های قلبی - عروقی [۵]، بیماری های خود ایمنی [۶] و بیماری های عفونی [۷] نیز همراه است. از هر دو پلیمر طبیعی و سنتزی برای تهیه نانوذرات استفاده شده است. اما اخیراً بکار رفتن پلیمرهای طبیعی به علت منشا طبیعی و همچنین غیرسمی بودن آنها بطور چشمگیری افزایش یافته است [۸]. ژلاتین یکی از متنوع ترین بیوپلیمرهای طبیعی است که به دلیل هزینه کم، دسترسی آسان، زیست تخریب پذیری و زیست سازگار بودن با طبیعت در صنایع غذایی و دارویی مورد توجه قرار گرفته است [۹]. این هیدروکلوئید پروتئینی از هیدرولیز جزئی کلاژن به دست می آید و از لحاظ تجاری ژلاتین به دو صورت کاتیونی (ژلاتین نوع A با نقطه ایزوالکتریک (pI) ۷ - ۹ و توسط هیدرولیز اسیدی از پوست خوک کلاژن نوع I ساخته می شود) و آنیونی (ژلاتین نوع B با نقطه ایزوالکتریک (pI) ۴/۸ - ۵ و توسط هیدرولیز قلیایی از

1. cholecalciferol  
2. ergo cholecalciferol

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تاثیر غلظت ژلاتین بر روی اندازه ذرات

هدف در این پژوهش تولید نانوذرات کوچکتر با توزیع اندازه باریک می باشد و بنابر نتایج اعلام شده توسط محققین قبلی اندازه ذره تحت تاثیر غلظت ماده بکار رفته می باشد. به همین دلیل لازم است بهینه غلظت ژلاتین تعیین شود. همچنین نتایج سایر محققین نیز نشان داده که اندازه ی ذره یکی از ویژگی های مهم برای تحویل دارو در تولید محصولات نانو درون پوشانی می باشد به علت اینکه میزان رهایش دارو به اندازه ذره و توزیع اندازه بستگی دارد [۱۱].

تاثیر غلظت ژلاتین بر روی اندازه ذره و PDI ارزیابی شد نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

**Table 1** Effect of gelatin concentration on nanoparticles size

| Concentration of Gelatin (mg) | Particle size (nm)        | Polydispersity index (PDI) |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 200                           | 224.7 <sup>d</sup> ± 2.83 | 0.111 <sup>d</sup> ± 0.02  |
| 300                           | 269.7 <sup>c</sup> ± 2.75 | 0.208 <sup>c</sup> ± 0.03  |
| 400                           | 328.1 <sup>b</sup> ± 2.76 | 0.326 <sup>b</sup> ± 0.02  |
| 500                           | 367.3 <sup>a</sup> ± 2.69 | 0.356 <sup>a</sup> ± 0.03  |

Data are presented as mean values (n=3) ± standard deviation. Data with different superscript letter show statistical difference at  $p \leq 0.05$ .

Polydispersity index شاخصی است که جمعیت توزیع اندازه نانو ذره را محاسبه می کند هر چه این شاخص پایینتر باشد توزیع اندازه باریکتر است [۱۱]. همانطوری که در جدول ۱ مشاهده می شود با افزایش غلظت ژلاتین اندازه نانو ذرات و همچنین PDI بطور قابل توجهی افزایش می یابد. این نتایج با تحقیقات محققین مطابقت داشت و همچنین آنها دریافتند که با افزایش تعداد بلوم ژلاتین اندازه ذره و PDI کاهش می یابد [۱۵]. در این مرحله مطلوب ترین مقدار مصرف ژلاتین برای تولید نانوذرات ۲۰۰ میلی گرم با اندازه ذره ۲۲۴.۷ نانومتر مدنظر قرار گرفت و از این مقدار ژلاتین در مرحله بعد استفاده شد.

#### ۳-۲- تاثیر حجم استون مصرفی بر روی اندازه ذرات

تاثیر حجم استون مصرفی بر روی اندازه ذره و PDI آن نیز مورد بررسی قرار گرفت. بنا بر نتایج اعلام شده اثر حلال تاثیر مستقیم بر روی اندازه دارد. بنابراین بهتر است بهینه غلظت

بالای ۳ ژلاتین رسوب کند. بعد سوپرناتانت سفید<sup>۳</sup> را جدا کرده و به وزن مولکولی بالای ژلاتین ۱۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده تا در حین همزدن حل شود. pH محلول به کمتر از ۴٫۸ (pH < 4.8) با افزودن اسید هیدروکلریک ۰٫۱ مولار تنظیم می شود. در ادامه برای تشکیل نانوذرات ۳۰ میلی لیتر استون بصورت قطره ای و تحت شرایط همزدن اضافه می گردد تا وقتی که کدورت بدست آید استون اضافه شد. ویتامین D3 در اتانول بعنوان محلول استوک حل می شود (1mg/mL). سپس ۰٫۳ میلی لیتر از محلول استوک ویتامین D3 بصورت قطره ای به داخل ۲ میلی لیتر از محلول نانوذرات ژلاتین افزوده می شود و اجازه داده می شود به مدت ۳۰ دقیقه همزده شود تا ویتامین D3 در داخل نانوذرات ژلاتین درون پوشانی شود. در انتها ۱۰۰ میکرولیتر محلول گلو تار آلدهید جهت کراس لینک کردن اضافه می شود و به محلول اجازه داده شد بمدت ۳۰ دقیقه همزده شود. محلول حاصل بمدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۵۰۰ RPM سانتریفیوژ شد. سپس نانوذرات آماده شده در دستگاه فریزد رایر خشک می شوند [۱۳] و [۱۱].

#### ۳-۲- سنجش اندازه ذره<sup>۵</sup>

سنجش اندازه ذره با دستگاه پخش نور دینامیک (HORIBA, SZ-100z Dynamic Light Scattering) انجام شد. قطر موثر<sup>۶</sup> به عنوان اندازه ذره گزارش شد. برای سنجش دامنه پراکندگی ذرات در مخلوط نیز فاکتور بس پاشیدگی<sup>۷</sup> در نظر گرفته شد. آزمایش ها در زاویه پخش ۹۰ درجه و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه گیری شد [۱۴].

#### ۲-۴- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)<sup>۸</sup>

با میکروسکوپ الکترونی روبشی (KYKY EM3200) موفولوژی نانوذرات ارزیابی شد [۱۱].

#### ۲-۵- آنالیز آماری

در این مطالعه از روش آماری one factor at the time استفاده شد. در هر آزمایش همه شرایط ثابت نگه داشته می شود و پارامتر مورد نظر تغییر می کند. همه آزمایشات با سه بار تکرار انجام گرفت.

3. High molecular weight
4. White supernatant
5. Particle size
6. Effective diameter
7. Polydispersity index
8. Scanning electron microscopy

در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  زنجیره ها اینطور بنظر می آید که به اندازه کافی باز شدند و الحاق استون به عنوان ضد حلال در این دما نسبت به دماهای بالاتر منجر به رسوب بهتر ماکرومولکول ها می شود [۱۱] و [۱۵].

**Table 3** Effect of temperature on nanoparticles size

| Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) | Particle size (nm) | Polydispersity index (PDI) |
|------------------------------------|--------------------|----------------------------|
| 40                                 | $209.3^b \pm 3.04$ | $0.083^c \pm 0.003$        |
| 50                                 | $242.3^a \pm 5.37$ | $0.149^b \pm 0.004$        |
| 60                                 | $249.3^a \pm 7.64$ | $0.189^a \pm 0.006$        |

Data are presented as mean values ( $n=3$ )  $\pm$  standard deviation. Data with different superscript letter show statistical difference at  $p \leq 0.05$ .

### ۳-۴- تاثیر سرعت همزنی بر روی اندازه ذرات

با توجه به گزارش های منتشره سرعت همزنی از عوامل موثر بر اندازه ذره می باشد. بنابراین در این تحقیق جهت تعیین کوچکترین اندازه ذره بهترین سرعت همزنی تعیین می شود. بطور کلی سایز ذرات با افزایش دور همزنی کاهش می یابد. جدول ۴ تاثیر سرعت همزنی بر روی اندازه و PDI ذرات را نشان می دهد. با افزایش سرعت همزنی اندازه و PDI ذرات بطور قابل توجهی کاهش یافت. کوچکترین اندازه ذره (88.6 نانومتر) با سرعت همزنی 1000 rpm بدست آمد که به عنوان بهینه سرعت همزنی برای تولید نانوذرات ژلاتین در نظر گرفته شد. نتایج سایر محققین نیز نشان داد که با افزایش سرعت همزنی اندازه ذره بطور قابل توجهی کاهش می یابد. آنها دریافتند که نانو ذرات بزرگتر در سرعت همزنی های پایین تری تشکیل می شوند [۱۷].

**Table 4** Effect of stirring speed on nanoparticles size

| stirring speed (rpm) | Particle size (nm) | Polydispersity index (PDI) |
|----------------------|--------------------|----------------------------|
| 800                  | $178.4^a \pm 4.20$ | $0.079^a \pm 0.003$        |
| 900                  | $118.7^b \pm 5.02$ | $0.068^b \pm 0.004$        |
| 1000                 | $88.6^c \pm 3.53$  | $0.047^c \pm 0.006$        |

Data are presented as mean values ( $n=3$ )  $\pm$  standard deviation. Data with different superscript letter show statistical difference at  $p \leq 0.05$ .

### ۳-۵- تصاویر نانو ذرات ژلاتین با

#### میکروسکوپ الکترونی

تعیین اندازه ذره توسط دستگاه Dynamic Light

استون تعیین شود. به طور کلی محققین نشان دادند نانو ذراتی که با استون نسبت به اتانول به عنوان عامل ضد حلال<sup>۹</sup> تهیه شده اند PDI و همچنین اندازه ذره ی کوچکتری داشتند [۱۶]. جدول ۲ تاثیر مقادیر استون مصرفی بر روی اندازه ذره را نشان می دهد. با افزایش حجم استون اندازه ذره و همچنین PDI نیز افزایش می یابد. تحقیقات سایر محققین نیز نشان داده است که با افزایش غلظت استون اندازه ذره نیز افزایش می یابد [۱۵]. با توجه به نتایج جدول ۲ بهینه ترین حجم استون مصرفی برای تولید نانوذرات ۱۵ میلی لیتر با اندازه ذره 209.3 نانومتر با PDI 0.083 مشخص شد. از این مقدار حجم استون در مرحله بعد استفاده شد.

**Table 2** Effect of volume of acetone consumed on nanoparticles size

| Acetone consumable (ml) | Particle size (nm)    | Polydispersity index (PDI) |
|-------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 15                      | $209.3^c \pm 3.04$    | $0.083^d \pm 0.003$        |
| 20                      | $216.8^b \pm 4.31$    | $0.090^c \pm 0.004$        |
| 25                      | $219.9^{ab} \pm 3.39$ | $0.101^b \pm 0.002$        |
| 30                      | $224.7^a \pm 2.83$    | $0.111^a \pm 0.02$         |

Data are presented as mean values ( $n=3$ )  $\pm$  standard deviation. Data with different superscript letter show statistical difference at  $p \leq 0.05$ .

### ۳-۳- تاثیر دما بر روی اندازه ذرات

با توجه به اینکه ماده بکار رفته یعنی ژلاتین پروتئینی می باشد. لذا انجام آزمون های پایداری به حرارت لازم است. دما یکی از عوامل موثر بر اندازه ذرات می باشد. عامل دما نیز بر روی اندازه و PDI ذرات مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول ۳ نشان داده شده است. مطابق جدول ۳ دمای  $40^{\circ}\text{C}$  به عنوان کوچکترین و مطلوب ترین دما برای تولید نانوذرات تعیین شد و در مرحله بعد مورد استفاده قرار گرفت. دما تاثیر قابل توجهی بر روی اندازه ذرات گذاشت با افزایش دما اندازه و همچنین PDI ذرات افزایش یافت. ارزیابی ها نشان دادند که تولید نانوذره در دمای اتاق ( $25^{\circ}\text{C}$ ) غیر ممکن بود به این دلیل که ژلاتین در این دما ژل بسیار ویسکوزی را تشکیل می دهد. وقتی که دما افزایش می یابد ساختار هلیکس سه تایی<sup>۱۰</sup> شروع به باز شدن می کند و همزمان ویسکوزیته نیز کاهش می یابد.

9. Desolvating agent

10. Triple helix structure

یکنواخت می باشد. این نتایج با نتایج سایر محققین نیز همخوانی داشت [۱۳].

**Table 5** Effect of vitamin D3 on nanoparticles size

| sample     | Particle size (nm) | Polydispersity index (PDI) |
|------------|--------------------|----------------------------|
| Vitamin D3 | 177.2 ± 2.40       | 0.319 ± 0.003              |

Data are presented as mean values (n=3) ± standard deviation.

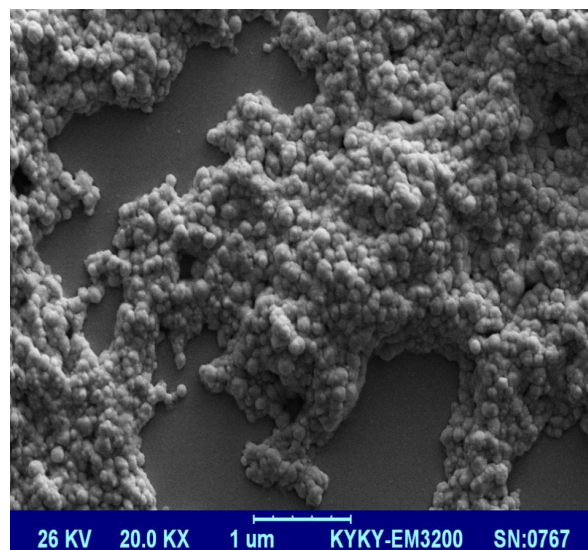
#### ۴- نتیجه گیری

نتایج تحقیقات نشان داد که بهینه شرایط برای تولید ذره ای به اندازه 88.6 نانومتر، دمای ۴۰ °C، غلظت ژلاتین ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، حجم مصرفی استون ۱۵ میلی لیتر و سرعت همزنی ۱۰۰۰rpm می باشد. مورفولوژی نانوذرات ژلاتین ساخته شده به شکل کروی با سطح صاف بوده که با میکروسکوپ الکترونی به وضوح قابل مشاهده است. همچنین با درون پوشانی نمودن ویتامین D3 در داخل نانوذرات ژلاتین اندازه ذره به 177.2 نانومتر افزایش یافت.

#### ۵- منابع

- [1] M. Gonnet, L. Lethuaut, and F. Boury, "New trends in encapsulation of liposoluble vitamins," *J. Control. Release*, vol. 146, no. 3, pp. 276–290, 2010.
- [2] M. F. Holick, "Vitamin D Deficiency," *N. Engl. J. Med.*, vol. 357, no. 3, pp. 266–281, 2007.
- [3] S. A. Stechschulte, R. S. Kirsner, and D. G. Federman, "Vitamin D: Bone and Beyond, Rationale and Recommendations for Supplementation," *Am. J. Med.*, vol. 122, no. 9, pp. 793–802, 2009.
- [4] M. PETERLIK, W. B. GRANT, and H. S. CROSS, "Calcium, Vitamin D and Cancer," *Anticancer Res*, vol. 29, no. 9, pp. 3687–3698, 2009.
- [5] J. H. Lee, J. H. O'Keefe, D. Bell, D. D. Hensrud, and M. F. Holick, "Vitamin D Deficiency. An Important, Common, and Easily Treatable Cardiovascular Risk Factor?," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 52, no. 24, pp. 1949–1956, 2008.
- [6] M. Cutolo and K. Otsa, "Vitamin D, immunity and lupus," *Lupus*, vol. 17, no. 1, pp. 6–10, 2008.
- [7] J. J. Cannell *et al.*, "Epidemic influenza and

Scattering روش مطمئن و پرکاربرد است ولی با این روش شکل و ساختار ذره معلوم نمی شود. لذا جهت بررسی شکل و ساختار ذره از روش میکروسکوپ الکترونی استفاده شد. مورفولوژی نانو ذرات ژلاتین با میکروسکوپ الکترونی در شکل ۱ نشان داده شده است. شکل نانوذرات ژلاتین بصورت کروی با سطحی صاف می باشد آنها بصورت جداگانه یا به شکل خوشه ای پراکنده می شوند. این شواهد با نتایج تحقیقات سایر محققین که از نانوذرات ژلاتین بدون بارگذاری شده با میکروسکوپ الکترونی تصویر برداری کرده بودند مطابقت داشت [۱۱] و [۱۸]. آنها نیز بیان نمودند که شکل نانو ذرات ژلاتین بصورت کروی و یکنواخت می باشد.



**Fig 1** Scanning Electron microscopy (SEM) images of gelatin nanoparticles

#### ۳-۶- تاثیر ویتامین D3 بر روی اندازه ذرات

با توجه به اینکه ذرات ساخته شده مقرر بود جهت درون پوشانی ویتامین D3 بکار رود تاثیر بارگذاری ویتامین D3 بر روی اندازه ذره مورد بررسی قرار گرفت. نانو ذرات ژلاتین با در نظر گرفتن بهینه عوامل موثر در اندازه ذرات ساخته شد و ویتامین D3 در داخل نانو ذرات ژلاتین درون پوشانی می شود. در جدول ۵ تاثیر ویتامین D3 بر روی اندازه و PDI ذرات نشان داده شده است. همانطوری که در جدول ۵ مشاهده می شود و انتظار می رفت با درون پوشانی کردن ویتامین D3 در داخل نانو ذرات ژلاتین اندازه ذرات از 88.6 نانومتر به 177.2 نانومتر افزایش یافت. همچنین PDI نسبتاً کوچکتر این ذرات درون پوشانی شده نیز نشان می دهد که توزیع ذرات

- [14] Hosseini, S. M. H., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S. H., Moosavi-Movahedi, A. A., Saboury, A. A., Atri, M. S., Meeren, "Food Hydrocolloids b -Lactoglobulin e sodium alginate interaction as affected by polysaccharide depolymerization using high intensity ultrasound," *FOOHYD*, vol. 32, no. 2, pp. 235–244, 2013.
- [15] A. O. Elzoghby, "Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research," *J. Control. Release*, vol. 172, no. 3, pp. 1075–1091, 2013.
- [16] S. Azarmi *et al.*, "Optimization of a two-step desolvation method for preparing gelatin nanoparticles and cell uptake studies in 143B osteosarcoma cancer cells," *J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 124–132, 2006.
- [17] T. Gomathi, P. S. Prasad, P. N. Sudha, and S. Anil, "Size optimization and in vitro biocompatibility studies of chitosan nanoparticles," *Int. J. Biol. Macromol.*, 2017.
- [18] M. Jahanshahi, M. H. Sanati<sup>2</sup>, Z. Minuchehr, S. Hajizadeh, and Z. Babaei, "Controlled Fabrication of Gelatin Nanoparticles as Drug Carriers," *Nanotechnol. Its Appl. First Sharjah Int. Conf.*, vol. 228, no. 2007, pp. 228–232, 2007.
- vitamin D," *Epidemiol. Infect.*, vol. 134, no. 6, pp. 1129–1140, 2006.
- [8] S. Kommareddy, D. B. Shenoy, and M. M. Amiji, "Gelatin Nanoparticles and Their Biofunctionalization," *Nanotechnologies Life Sci.*, no. September, 2007.
- [9] R. Yasmin, M. Shah, S. A. Khan, and R. Ali, "Gelatin nanoparticles: a potential candidate for medical applications," 2016.
- [10] J. K. C. J. COESTER, K. LANGER, H. VON BRIESEN, "Gelatin nanoparticles by two step desolvation - a new preparation method, surface modifications and cell uptake," *J. Microencapsul.*, vol. 17, no. 2, pp. 187–193, 2000.
- [11] H. Nejat *et al.*, "Preparation and characterization of cardamom extract-loaded gelatin nanoparticles as effective targeted drug delivery system to treat glioblastoma," *React. Funct. Polym.*, vol. 120, no. September, pp. 46–56, 2017.
- [12] C. Weber, C. Coester, J. Kreuter, and K. Langer, "Desolvation process and surface characterisation of protein nanoparticles," vol. 194, pp. 91–102, 2000.
- [13] Y. Luo, Z. Teng, and Q. Wang, "Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3," *J. Agric. Food Chem.*, 2012.

## Encapsulation of Vitamin D3 with Gelatin-Based Nano-Particles Produced by the Two-Step Desolvation Method

Miraghaei , S. <sup>1</sup>, Emam-Djomeh, Z. <sup>2\*</sup>

1. Ph.D. student, Department of Food Science and Technology, Aras International Campus University of Tehran
2. Faculty Member of the Department of Food Science and Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran

(Received: 2018/09/29 Accepted:2019/05/28)

Gelatin is one of the most common natural macromolecules which is extensively used for preparing the nanoparticles. In the present study, type B gelatin-based nanoparticles were prepared using a two-step desolvation method and to optimize the nanoparticles, gelatin concentration, consumed acetone, temperature, and stirring speed were examined. Subsequently, vitamin D3 was encapsulated in obtained nanoparticles. Findings of the study indicated that the most optimum conditions for producing the nanoparticles with 20 mg/ml gelatin concentration were 15 ml acetone consumed volume, 40 °C temperature and 1000 rpm stirring speed. The size of a produced particle under these conditions was reported as 88.6 nanometers. Also, the morphology of the obtained nanoparticle was spherical with a smooth surface which was observable through the scanning electron microscope. The size of the afore-mentioned particle increased to 177.2 nanometers followed by the addition of vitamin D3 to the produced nanoparticle which represents the encapsulation of the nanoparticle.

**Keywords:** Droplet diameter, Vitamin D3, Gelatin, Two-Step Desolvation Method

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: [emamj@ut.ac.ir](mailto:emamj@ut.ac.ir)