

## Encapsulation stability and antioxidant activity of lutein in an iota-carrageenan–inulin hydrogel

Golara Asadi <sup>1</sup>, Akram Pezeshky<sup>2✉</sup>, Babak Ghanbarzadeh <sup>3</sup>

<sup>1</sup>MSc, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup> Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

✉ Corresponding author: a\_pezeshky62@yahoo.com

### ARTICLE INFO

#### Article type:

Research Article

#### Article history:

Received: 2026-04-28

Revised: 2026-05-07

Accepted: 2026-06-07

#### Keywords:

Gluten-free cake, Roselle seed, Physicochemical Characteristics, Sensorial properties

### ABSTRACT

**Background:** This study falls within the field of employing polymeric systems for the protection and delivery of bioactive compounds in food and pharmaceutical industries. In this regard, hybrid hydrogels based on iota-carrageenan and inulin have been highlighted as promising matrices for lutein encapsulation.

**Aims:** The aim of this study was to design an iota-carrageenan–inulin hybrid hydrogel as a delivery system for lutein and to evaluate the effect of various inulin concentrations (15, 20, and 25% w/w) on the structural stability, encapsulation efficiency, and antioxidant activity of the system.

**Methods:** The structure of the hydrogels was characterized using X-ray diffraction (XRD), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscopy (SEM). Furthermore, the encapsulation efficiency, stability over 30 days of storage, and antioxidant activity of lutein were evaluated using the DPPH assay.

**Results:** XRD results indicated a predominantly amorphous structure with limited semi-crystalline domains, and the addition of lutein reduced crystallinity while increasing the amorphous phase. FTIR analysis confirmed the formation of hydrogen bonds and interactions among the components. SEM images revealed a compact structure for the empty hydrogel and a porous structure for the lutein-loaded samples. The encapsulation efficiency reached 82% at 25% inulin concentration. Stability assessments over 30 days showed that the hydrogel containing 25% inulin preserved 78% of the lutein, compared to 50% in the control sample. Finally, the antioxidant activity of the encapsulated lutein was reported with an IC<sub>50</sub> value of 32.8 µg/mL.

**Conclusion:** Overall, the iota-carrageenan–inulin hydrogel with 25% inulin is proposed as an effective system for the encapsulation, protection, and delivery of lutein in food and pharmaceutical products.



### Extended Abstract

**Introduction:** Lutein is a xanthophyll carotenoid with a conjugated polyene structure that plays an important role in protecting the macula against oxidative damage induced by blue light. Epidemiological evidence has shown that adequate lutein intake may reduce the risk of age-related macular degeneration; however, its practical application in food and pharmaceutical systems is limited by its high sensitivity to light, heat, oxygen, and acidic conditions, as well as its poor dispersibility in aqueous media due to its lipophilic nature. Therefore, the development of suitable carrier systems for lutein encapsulation and stabilization is of considerable importance.

Polysaccharide-based hydrogels have attracted increasing attention as encapsulation matrices because of their biocompatibility, biodegradability, and ability to form three-dimensional water-retaining networks. Among them, iota-carrageenan is capable of forming elastic, transparent, and stable gels in the presence of divalent ions such as calcium, although its pure gel system may have limitations in thermal stability. Inulin, a fructan polysaccharide, can act as a structuring agent and strengthen the gel network by increasing viscosity and promoting intermolecular entanglement. Accordingly, the present study aimed to design an iota-carrageenan–inulin hybrid hydrogel as a carrier for lutein and to evaluate the effect of different inulin concentrations on structural properties, encapsulation efficiency, storage stability, and antioxidant activity.

**Materials and Methods:** Iota-carrageenan, inulin from chicory root, lutein, Tween 80, hexane, ethanol, calcium chloride, and DPPH were used in this study. The hydrogel base was prepared by dissolving 3 g of iota-carrageenan in 97 mL of deionized water to obtain a 3% w/w solution. Inulin was then incorporated at 15, 20, and 25% w/w relative to the total hydrogel weight. The mixture was stirred at 70°C for 30 min at 500 rpm until a clear solution was obtained, then cooled to 50°C. Gelation was induced by adding CaCl<sub>2</sub> to a final concentration of 20 mM.

For lutein-containing samples, 0.1 g lutein was first dispersed in 4 g Tween 80 and stirred for 30 min at 25°C until a uniform premix was formed. This premix was added to the hydrogel phase before CaCl<sub>2</sub> addition and stirred for an additional 15 min.

The samples were stored at 4°C for 24 h to complete gelation. Both lutein-free and lutein-loaded hydrogels were prepared for each inulin level. For XRD and FTIR analyses, samples were freeze-dried at -50°C and 0.1 mbar for 48 h.

Encapsulation efficiency was determined by extracting free lutein from the hydrogel with n-hexane, followed by spectrophotometric measurement at 441 nm. A lutein calibration curve was constructed using standard solutions in hexane:ethanol (1:1). Storage stability was evaluated over 30 days. Antioxidant activity was determined by the DPPH assay.

**Results and discussion:** The structural analyses confirmed successful incorporation of lutein into the hybrid hydrogel matrix. XRD results showed a broad halo in the range of  $2\theta=18-25^\circ$  ( $\theta = 18-25^\circ$ ), indicating an essentially amorphous structure with limited semi-crystalline domains. Upon lutein incorporation, the intensity of the halo significantly decreased ( $p<0.05$ ), suggesting reduced crystallinity and an increase in the amorphous phase. FTIR spectra further confirmed hydrogen bonding interactions among the hydrogel components, while the reduced OH-band intensity in lutein-containing samples indicated molecular interactions between lutein and the polymeric matrix. SEM images revealed that the lutein-free hydrogel had a compact and uniform structure, whereas the lutein-loaded sample exhibited a more porous and heterogeneous microstructure.

Encapsulation efficiency increased significantly with rising inulin concentration ( $p<0.05$ ). The EE% values for hydrogels containing 15, 20, and 25% inulin were  $71\pm 2\%$ ,  $76\pm 1.5\%$  and  $82\pm 1.2\%$ , respectively. This improvement can be attributed to increased viscosity of the continuous phase, greater polymer chain entanglement, and formation of a denser gel network with smaller pores, which more effectively entrapped lutein within the matrix. Inulin, unlike many gums that mainly increase viscosity, is able to form a strong gel network and act as a physical barrier against oil-phase migration. The 25% inulin system showed the highest entrapment efficiency and appears particularly suitable as a wall material for sensitive bioactive compounds.

Storage stability results showed that the control sample, in which lutein was dispersed in Tween 80, experienced approximately 50% degradation after

30 days, likely due to high permeability to oxygen and light and the absence of an effective physical barrier. In contrast, hydrogels containing 15, 20, and 25% inulin retained about 65%, 72%, and 78% of the initial lutein, respectively. The improved stability with higher inulin levels is associated with greater network density, smaller pore size, reduced oxygen permeability, and the formation of quasi-glassy structures that restrict molecular mobility. The protective performance of the 25% inulin hydrogel was significantly superior to the other formulations ( $p < 0.05$ ).

The DPPH assay showed that lutein had concentration-dependent antioxidant activity. As lutein concentration increased from 10 to 50  $\mu\text{g/mL}$ , radical scavenging activity rose from approximately 17% to 69%. The calculated  $\text{IC}_{50}$  value was 32.8  $\mu\text{g/mL}$ , indicating moderate to relatively strong antioxidant power. This activity is mainly related to the conjugated polyene chain of lutein, which can donate hydrogen or electrons to free radicals, and to the hydroxyl groups at the ends of the molecule that stabilize the resulting radical. The obtained  $\text{IC}_{50}$  value was consistent with previously reported ranges for natural lutein, suggesting that encapsulation did not significantly impair its intrinsic antioxidant potential.

**Conclusion:** The results of this study clearly demonstrated that the iota-carrageenan–inulin hybrid hydrogel is an effective system for lutein encapsulation, protection, and delivery. XRD, FTIR, and SEM analyses confirmed successful entrapment of lutein within the polysaccharide matrix, accompanied by reduced crystallinity, disruption of hydrogen bonding, and a more porous microstructure. Increasing the inulin concentration from 15 to 25% significantly improved encapsulation efficiency from 71% to 82% and enhanced lutein stability during 30 days of storage from 65% to 78% retained lutein, primarily due to increased gel network density and lower oxygen permeability. Among the tested formulations, the hydrogel containing 25% inulin was identified as the optimal system. Encapsulated lutein also exhibited concentration-dependent antioxidant activity with an  $\text{IC}_{50}$  of 32.8  $\mu\text{g/mL}$ . Overall, the proposed hydrogel system shows strong potential for use in the food industry, pharmaceutical formulations, and cosmetic applications. Future studies should focus on rheological behavior, digestibility, and in vivo bioavailability of this system.

## بررسی پایداری درون پوشانی و خواص آنتی‌اکسیدانی لوتئین در هیدروژل آیوتا-کاراگینان-اینولین

گل آرا اسدی<sup>۱</sup>، اکرم پزشکی<sup>۲</sup>، بابک قنبرزاده<sup>۳</sup><sup>۱</sup> کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز<sup>۳</sup> استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

✉ مسئول مکاتبه: a\_pezeshky62@yahoo.com

## چکیده

## مشخصات مقاله

**زمینه مطالعاتی:** این پژوهش در حوزه به‌کارگیری سیستم‌های پلیمری برای محافظت و انتقال ترکیبات زیست‌فعال در صنایع غذایی و دارویی تعریف می‌شود. در این راستا، هیدروژل‌های هیبریدی بر پایه آیوتا-کاراگینان و اینولین به عنوان بستری مناسب جهت حامل‌سازی لوتئین مورد توجه قرار می‌گیرند.

**هدف:** هدف از این مطالعه، طراحی هیدروژل هیبریدی آیوتا-کاراگینان-اینولین به عنوان سامانه حامل لوتئین و ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف اینولین (۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد وزنی/وزنی) بر پایداری ساختاری، راندمان درون‌پوشانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سامانه می‌باشد.

**روش کار:** ساختار هیدروژل‌ها با آزمون‌های پراش پرتو ایکس (XRD)، طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشخصه‌یابی شد و راندمان درون‌پوشانی، میزان پایداری طی ۳۰ روز نگهداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی لوتئین به روش DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج XRD ساختار غالباً آمورف با دامنه‌های نیمه‌بلورین محدود را نشان داد و افزودن لوتئین باعث کاهش بلورینگی و افزایش فاز آمورف شد؛ FTIR تشکیل پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش اجزاء را تأیید کرد، تصاویر SEM ساختار فشرده نمونه بدون لوتئین و ساختار متخلخل نمونه حاوی لوتئین را نمایان ساخت، راندمان درون‌پوشانی در غلظت ۲۵ درصد اینولین به ۸۲ درصد رسید و بررسی پایداری طی ۳۰ روز نشان داد که هیدروژل حاوی ۲۵ درصد اینولین ۷۸ درصد لوتئین را حفظ می‌کند، در حالی که این مقدار در نمونه کنترل ۵۰ درصد بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی لوتئین با IC50 معادل ۳۲.۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

**نتیجه‌گیری کلی:** به طور کلی، هیدروژل آیوتا-کاراگینان-اینولین با غلظت ۲۵ درصد اینولین به عنوان سامانه‌ای مؤثر برای درون‌پوشانی، حفاظت و انتقال لوتئین در محصولات غذایی و دارویی پیشنهاد می‌شود.

## نوع مقاله:

علمی پژوهشی

## تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸

بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۱۷

پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۷

## کلید واژه:

لوتئین، هیدروژل هیبرید، آیوتا-کاراگینان، اینولین، درون‌پوشانی، پراش پرتو ایکس

## مقدمه

پلی‌ساکاریدی می‌تواند یک شبکه هیبریدی با خواص مکانیکی بهبودیافته و قابلیت حفاظتی بالاتر ایجاد کند (Naderi et al., 2023; Florowska et al., 2022). نوآوری پژوهش حاضر در طراحی و ارزیابی سیستماتیک هیدروژل هیبریدی آیوتا-کاراگینان-اینولین به عنوان حامل لوتئین است، موضوعی که تاکنون به صورت جامع در منابع گزارش نشده است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، طراحی و ارزیابی این سامانه و بررسی تأثیر غلظت اینولین بر ویژگی‌های ساختاری، راندمان درون‌پوشانی، پایداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی لوتئین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

## مواد

آیوتا-کاراگینان (Sigma-Aldrich، آلمان)، اینولین (از ریشه کاسنی، درجه خلوص  $\geq 90\%$ ، Sigma-Aldrich، آمریکا)، لوتئین ( $\geq 90\%$ ، Extrasynthese، فرانسه)، توئین ۸۰، هگزان، اتانول مطلق، کلرید کلسیم ( $\text{CaCl}_2$ ) و ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) (همگی از Merck، آلمان) خریداری شدند.

## تهیه هیدروژل آیوتا-کاراگینان-اینولین حاوی لوتئین

برای تهیه هیدروژل، اینولین در سه سطح ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد (وزنی/وزنی نسبت به وزن کل هیدروژل) به محلول ۳٪ وزنی/وزنی آیوتا-کاراگینان اضافه گردید. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تحت همزدن مغناطیسی (۵۰۰ rpm) قرار گرفت تا کاملاً شفاف شود. سپس محلول تا دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خنک شد و محلول کلرید کلسیم (غلظت نهایی ۲۰ میلی‌مولار) برای القای ژل‌شدن اضافه شد. پیش‌مخلوط لوتئین نیز با پراکنده کردن ۰.۱ گرم لوتئین در ۴ گرم توئین ۸۰ و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) تا حصول پراکندگی یکنواخت همزده شد. این پیش‌مخلوط به فاز هیدروژل (پیش از افزودن کلسیم) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه دیگر همزده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند تا ژل‌شدن کامل شود. نمونه بدون لوتئین (H) و نمونه حاوی لوتئین (H+L) برای هر غلظت اینولین تهیه گردید.  $u <$  برای

لوتئین یک کاروتنوئید از خانواده گزانتوفیل‌ها است که به دلیل ساختار دارای پیوندهای دوگانه مزدوج، نقش حیاتی در حفاظت از ماکولای چشم در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از نور آبی دارد (Stahl & Sies, 2005; Mares-Peñaloza et al., 2017). مطالعات اپیدمیولوژیک اخیر نشان داده‌اند که مصرف کافی لوتئین خطر ابتلا به دژنراسیون ماکولای وابسته به سن (AMD) را تا ۴۳٪ کاهش می‌دهد (Jahns et al., 2022). با این حال، لوتئین به شدت نسبت به نور، حرارت، اکسیژن و pH اسیدی حساس بوده و ماهیت لیپوفیل آن، پراکندگی و کارایی آن را در محیط‌های آبی به شدت محدود می‌کند (Fernández Sevilla et al., 2022). این چالش‌ها، توسعه سامانه‌های حامل مناسب برای حفاظت و افزایش پایداری لوتئین را ضروری ساخته است.

در سال‌های اخیر، هیدروژل‌های پلی‌ساکاریدی به دلیل زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و توانایی ایجاد شبکه‌های سه‌بعدی با قابلیت نگهداشت آب بالا، گزینه‌های مناسبی برای درون‌پوشانی ترکیبات زیست‌فعال محسوب می‌شوند (Anderson et al., 2022). در میان پلی‌ساکاریدها، آیوتا-کاراگینان (i-Carrageenan) به دلیل حضور گروه‌های سولفات در موقعیت‌های C2 و C6، در حضور یون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم، قادر به تشکیل ژل‌های الاستیک، شفاف و پایدار است (Pereira et al., 2018; Liu et al., 2019). با این حال، ژل‌های خالص آیوتا-کاراگینان از نظر پایداری حرارتی و مکانیکی محدودیت‌هایی دارند و نفوذپذیری بالای آن‌ها به اکسیژن، حفاظت از ترکیبات حساس را با چالش مواجه می‌کند (Mísková et al., 2021).

اینولین، یک فروکتان با درجه پلیمریزاسیون متغیر، علاوه بر خواص پیش‌بیوتیکی، می‌تواند با افزایش مواد جامد و ایجاد ساختارهای شبه‌کریستالی در دماهای پایین، تراکم شبکه ژلی را افزایش داده و نفوذپذیری آن را کاهش دهد

(Patel & Srinivasan, 2021; Alba et al., 2021) مطالعات جدید نشان داده‌اند که افزودن اینولین به هیدروژل‌های

شیشه‌ای تیره در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در معرض نور محیط (شرایط تسریع شده) به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند. در روزهای ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰، مقدار لوتئین باقی‌مانده با روش استخراج و اسپکتروفوتومتری در ۴۴۱ نانومتر اندازه‌گیری شد. آزمایشات سه بار تکرار گردید.

#### سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (آزمون DPPH)

غلظت‌های مختلف لوتئین 10، 20، 30، 40 و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در اتانول مطلق تهیه شد. ۱ میلی‌لیتر از هر غلظت با ۳ میلی‌لیتر محلول DPPH 0.1 میلی‌مولار در اتانول مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

درصد مهار رادیکال آزاد از رابطه  $\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$  محاسبه و سپس  $IC_{50}$  (غلظت مورد نیاز برای مهار ۵۰٪ رادیکال) با استفاده از رگرسیون خطی تعیین گردید.

#### آنالیز آماری

تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. داده‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در سطح معنی‌داری ۰.۰۵ تحلیل شدند.

#### نتایج و بحث

##### آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)

الگوهای XRD (شکل ۱) نشان داد که هیدروژل پایه (H) دارای یک هاله پهن در محدوده  $2\theta = 18-25^\circ$  است که مشخصه ساختارهای آمورف همراه با دامنه‌های نیمه‌بلورین محدود می‌باشد. پیک مشخص در حدود ۲۰-۲۱ درجه می‌تواند مربوط به ساختار نیمه‌بلورین کاراگینان باشد (Ronkart et al., 2009). این نظم نسبی ناشی از برهم‌کنش‌های هیدروژنی بین زنجیره‌های کاراگینان و اینولین است. پس از افزودن لوتئین (نمونه H+L)، شدت هاله پراش به طور چشمگیری کاهش یافت و پهن‌تر شد که نشان‌دهنده کاهش بلورینگی و افزایش

آنالیزهای FTIR و XRD، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $50^\circ\text{C}$  و فشار ۰.۱ میلی‌بار لیوفیلیزه شدند.

#### تعیین منحنی استاندارد لوتئین

محلول استوک لوتئین (۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در حلال هگزان:اتانول (۱:۱) تهیه شد. سپس غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه و جذب آنها در طول موج ۴۴۱ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV-Vis (مدل UV-1800، شیمادزو، ژاپن) اندازه‌گیری شد. معادله منحنی کالیبراسیون با  $Y = 5.0536X + 0.0096$  و ضریب تعیین  $R^2 = 0.999$  به دست آمد.

#### راندمان درون‌پوشانی (EE/%)

یک گرم از هیدروژل با ۹ میلی‌لیتر n-هگزان مخلوط، ۲ دقیقه و رتکس و سپس سانتریفیوژ (4000 rpm، 1 دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد) شد. میزان لوتئین آزاد در فاز روایی (سوپرناتانت) توسط اسپکتروفوتومتر در ۴۴۱ نانومتر خوانده شد. راندمان درون‌پوشانی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Lee et al., 2025).

$$\text{راندمان درون‌پوشانی} = \frac{\text{مقدار لوتئین اولیه} - \text{مقدار لوتئین آزاد}}{\text{مقدار لوتئین اولیه}} \times 100$$

#### آنالیزهای ساختاری (SEM, XRD, FTIR)

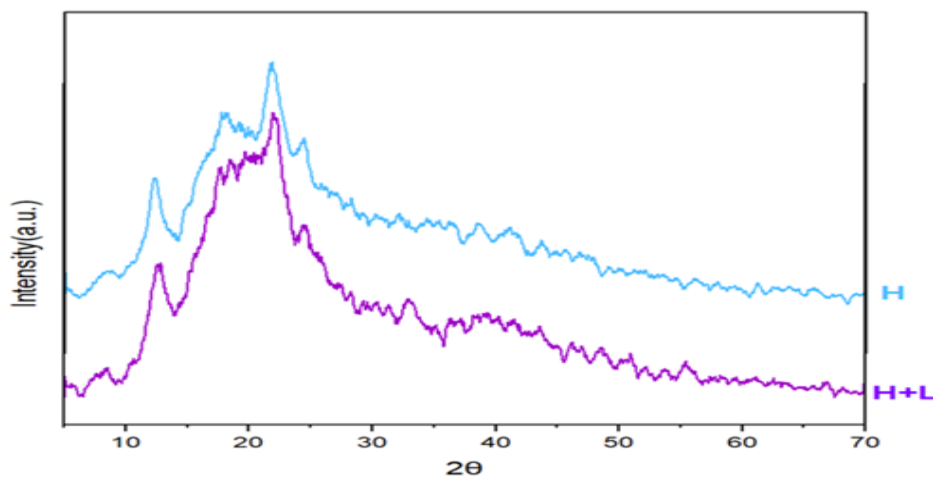
طیف‌های FTIR با دستگاه (Tensor 27 Bruker، آلمان) در محدوده  $400-4000\text{ cm}^{-1}$  و با روش قرص KBr ثبت شدند. الگوهای XRD با دستگاه Siemens (D500، آلمان) با تابش Cu-K $\alpha$  (طول موج ۰.۱۵۴ نانومتر، ولتاژ ۴۰ کیلوولت، جریان ۳۰ میلی‌آمپر) در محدوده  $2\theta = 5-70^\circ$  درجه، با گام ۰.۰۵ درجه و سرعت ۱ درجه بر دقیقه ثبت شدند. ریزساختار نمونه‌های لیوفیلیزه شده با میکروسکوپ (MIRA3 FEG-) SEMTESCAN، چک) پس از پوشش‌دهی با طلا، با بزرگنمایی  $\times 5000$  و  $\times 10000$  تصویربرداری شد.

#### بررسی پایداری لوتئین طی مدت زمان نگهداری

هیدروژل‌های حاوی لوتئین (با غلظت‌های ۱۵، ۲۰ و ۲۵٪ اینولین) و نمونه کنترل (لوتئین در توئین ۸۰) در ویال‌های

بلورینگی می‌تواند بر ویژگی‌های عملکردی هیدروژل، از جمله رفتار نفوذ، نفوذپذیری به آب و همچنین ویژگی‌های رهایش ترکیب زیست‌فعال محصور شده تأثیرگذار باشد. (Sun et al., 2023). این نتایج با یافته‌های (Naderi et al., 2022) در مورد هیدروژل‌های اینولین حاوی ترکیبات حساس به نور همخوانی دارد.

سهم فاز بی شکل و بی نظم است. این پدیده به دلیل قرارگیری مولکول‌های آمفی‌فیلیک لوتئین در بین زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی و اختلال در بسته‌بندی منظم آنها رخ می‌دهد (Zhao et al., 2022). عدم ظهور پیک‌های تیز مربوط به کریستال‌های لوتئین در الگوی H+L نشان می‌دهد که لوتئین به صورت مولکولی یا آمورف در ماتریس هیدروژلی پراکنده شده است که برای رهایش کنترل‌شده مطلوب است و کاهش

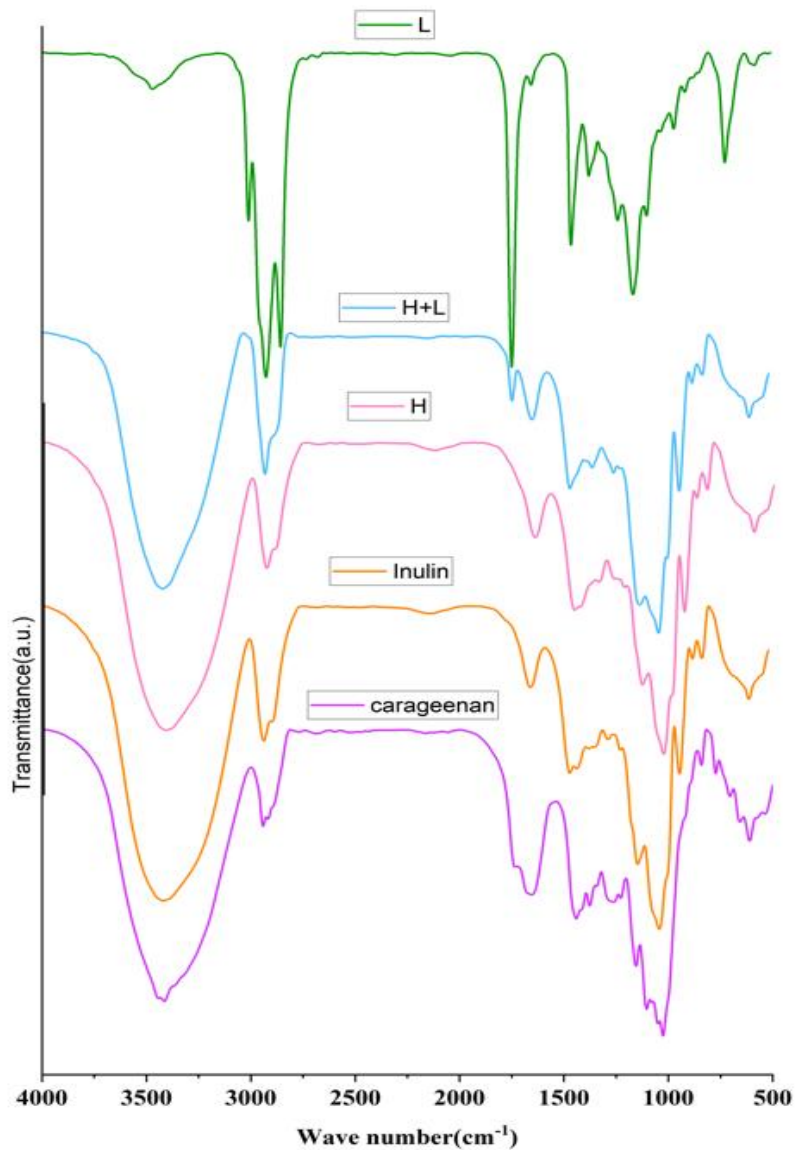


**Figure 1: X-ray diffraction (XRD) of iota-kappa carrageenan hydrogel (H) and lutein-containing hydrogel (H+L) samples**

دیگر شامل ارتعاش کششی نامتقارن گروه سولفات (S=O) در  $1220-1260\text{ cm}^{-1}$ ، ارتعاشات C-O-C در  $1030\text{ cm}^{-1}$  و باند مربوط به گروه‌های کربوکسیلات (-COO-) در  $1600$  و  $1410\text{ cm}^{-1}$  بودند. کاهش شدت این باندها در نمونه H+L، حاکی از برهم‌کنش لوتئین با گروه‌های قطبی ماتریس پلی‌ساکاریدی است (Zhao et al., 2022) مشاهدات ما با نتایج (Naderi et al., 2023) در مورد هیدروژل‌های اینولین-کاراگینان حاوی ویتامین B12 مطابقت دارد. عدم ظهور پیک‌های جدید، پراکندگی مولکولی لوتئین و عدم تشکیل فاز کریستالی جداگانه را تأیید می‌کند.

#### طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR)

در طیف FTIR (شکل ۲)، باند پهن در  $3200-3400\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی گروه‌های هیدروکسیل (OH) و تشکیل شبکه گسترده پیوندهای هیدروژنی است. شدت این باند در نمونه H نسبت به کاراگینان و اینولین خالص بیشتر بود که نشان‌دهنده برهم‌کنش قوی هیدروژنی بین دو پلی‌ساکارید است. در نمونه H+L، شدت این باند کاهش یافت که  $\langle u \rangle$  به دلیل مشارکت گروه‌های OH در برهم‌کنش با لوتئین (از طریق پیوندهای هیدروژنی ضعیف‌تر) یا اختلال فیزیکی ناشی از حضور لوتئین می‌باشد. (Li et al., 2022) باندهای شاخص

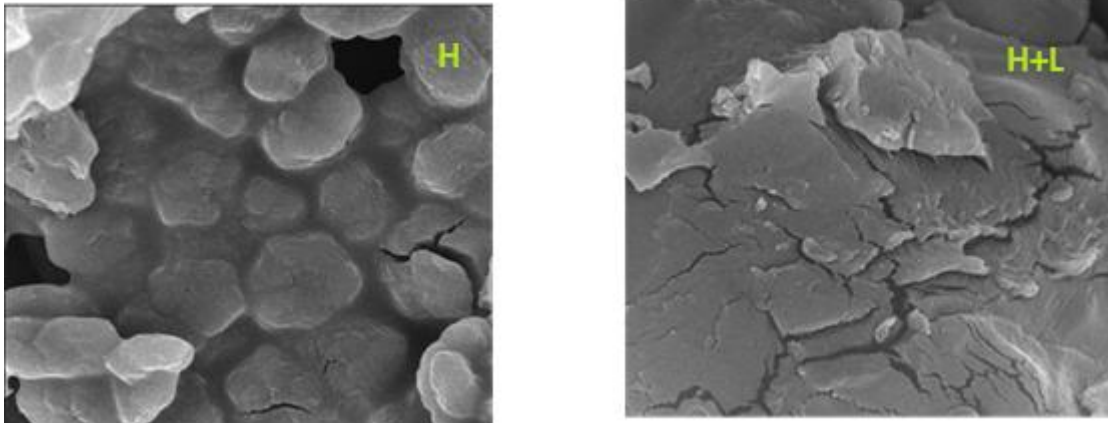


**Figure 2: Infrared spectra (FTIR) of iota-kappacarrageenan inulin, iota-kappacarrageenan hydrogel (H) and hydrogel containing lutein (H+L) samples**

اختلال در بسته‌بندی زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی توسط مولکول‌های لوتئین و کاهش برهم‌کنش‌های بین‌زنجیره‌ای رخ می‌دهد. (Dong et al., 2021). افزایش تخلخل در نمونه (H+L) می‌تواند نقش مؤثری در تسهیل فرایند رهایش لوتئین ایفا کند، زیرا مسیرهای نفوذی بیشتری برای آزادسازی تدریجی لوتئین فراهم می‌کند. این یافته با گزارش‌های (Florowska et al., 2022) در مورد هیدروژل‌های آلژینات-کیتوزان-اینولین همسو است

#### مورفولوژی ساختار (SEM)

تصاویر SEM (شکل ۳) نشان داد نمونه هیدروژل بدون لوتئین (H) دارای ساختاری فشرده، یکنواخت و با سطحی نسبتاً صاف همراه با منافذ ریز و پراکنده است که مشخصه یک شبکه زلی پایدار می‌باشد. در مقابل، نمونه حاوی لوتئین (H+L) ساختاری به مراتب زبرتر، متخلخل‌تر و ناهمگن‌تر با حفرات بزرگ‌تر و دیواره‌های نازک‌تر نشان داد. این تغییر مورفولوژی به دلیل



**Figure 3: SEM images of iota-kappacarrageenan hydrogel (H) and hydrogel containing lutein (H+L) samples**

ویسکوزیته، تحرک مولکول‌های لوتئین را محدود کرده و از مهاجرت آن‌ها به سطح و نشست جلوگیری می‌کند. همچنین افزایش غلظت اینولین منجر به درهم‌تنیدگی بیشتر زنجیره‌های پلیمری و تشکیل شبکه‌ای با حفرات (منافذ) کوچک‌تر و یکنواخت‌تر می‌شود. این ساختار فشرده، مسیرهای نفوذ را مسدود کرده و یک سد فیزیکی قوی در برابر شسته شدن لوتئین ایجاد می‌کند. این یافته با نتایج Ding و همکاران (۲۰۲۰) مبنی بر اینکه اینولین به دلیل ایجاد ساختار شیشه‌ای پایدار، مانعی مؤثر در برابر تخریب مواد زیست‌فعال محسوب می‌شود، همسو است. راندمان بالای ۸۲٪ برای نمونه ۲۵٪ اینولین نشان‌دهنده کارایی بالای این سامانه در مقایسه با بسیاری از حامل‌های دیگر گزارش شده برای لوتئین است (Lee et al., 2025). این میزان کارایی در حالی حاصل شده که ممکن است حتی از حامل‌های پروتئینی خاص مانند نانوذرات ایزوله پروتئین سویا (SPI) که راندمانی در حدود ۱۸.۵۹٪ افزایش نسبت به نمونه کنترل داشته‌اند، نیز فراتر رود. در مقایسه با ترکیبات کربوهیدراتی دیگر، اینولین محافظت مؤثرتری در طی فرآیند خشک‌سازی و ذخیره‌سازی فراهم می‌کند. این کارایی بالا، همراه با پایداری حرارتی و قابلیت تشکیل ژل در غلظت‌های مشخص، اینولین را به یک ماده دیواره ایده‌آل برای حفاظت از ترکیبات حساسی مانند لوتئین در برابر تخریب نوری و حرارتی تبدیل می‌کند (Cheng et al., 2025). در مجموع، سامانه هیدروژلی حاوی اینولین با غلظت ۲۵ درصد می‌تواند به عنوان یک حامل کارآمد

#### راندمان درون‌پوشانی (EE)

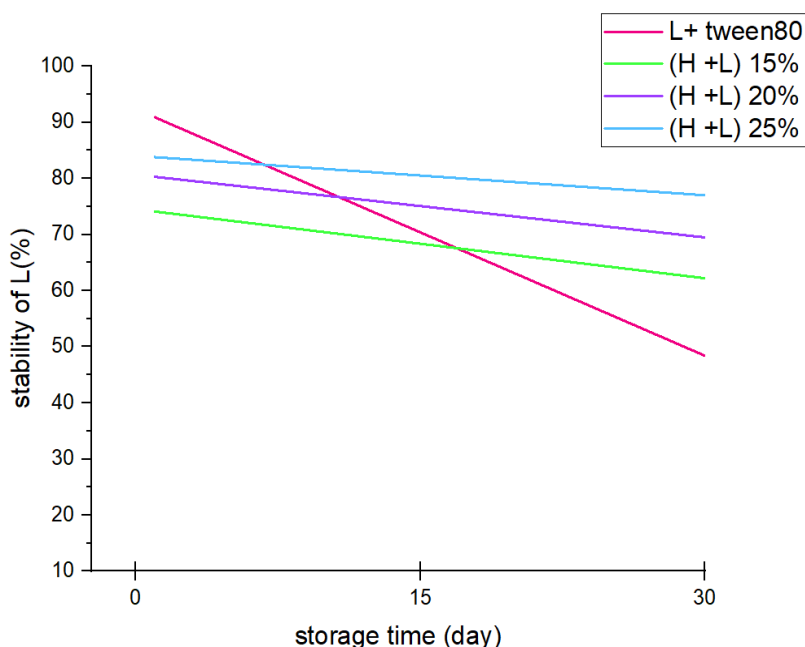
نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اینولین از ۱۵ به ۲۵ درصد، راندمان درون‌پوشانی لوتئین به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). مقادیر EE برای هیدروژل‌های حاوی ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد اینولین به ترتیب  $71 \pm 2/1$ ،  $76 \pm 1/5$ ، و  $82 \pm 1/2$  درصد بود. این افزایش را می‌توان به افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته، افزایش درهم‌تنیدگی زنجیره‌های پلیمری و تشکیل شبکه ژلی متراکم‌تر با حفرات کوچک‌تر در حضور غلظت‌های بالای اینولین نسبت داد که باعث به‌دام افتادن مؤثرتر لوتئین در ماتریس می‌شود (Alba et al., 2021; Ribeiro et al., 2020). برخلاف برخی صمغ‌ها که عمدتاً با افزایش ویسکوزیته کار می‌کنند، اینولین توانایی ایجاد یک شبکه ژل مستحکم را دارد. همان‌طور که مطالعات اخیر نشان داده‌اند، شبکه ژل اینولین به عنوان یک سد فیزیکی عمل می‌کند و با به‌دام انداختن مؤثر فاز روغنی (حاوی لوتئین)، راندمان درون‌پوشانی را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد که در برخی سامانه‌ها تا نزدیک ۱۰۰٪ نیز گزارش شده است. در غلظت‌های بالاتر، اینولین به عنوان یک عامل ساختاردهنده عمل کرده و ویسکوزیته فاز پیوسته را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. طبق تحقیقات Gomes و همکاران (۲۰۲۵)، سامانه‌های حاوی غلظت‌های بالای اینولین (۱۰-۱۵ درصد) پس از سرد شدن، ژل‌های بسیار متراکمی با خواص ویسکوالاستیک قوی‌تر تشکیل می‌دهند. این افزایش

هیدروژل ۲۵٪ اینولین حدود ۷۸٪ از لوتئین اولیه را پس از ۳۰ روز حفظ کرد. افزایش پایداری با افزایش غلظت اینولین به دلیل افزایش تراکم شبکه، کاهش اندازه حفرات، کاهش نفوذپذیری نسبت به اکسیژن و تشکیل ساختارهای شبه‌شیشه‌ای است که تحرک مولکولی لوتئین را محدود می‌کند (Sun et al., 2022; Alba et al., 2021). <u>۲۵٪ اینولین به طور معنی‌داری بهتر از سایر تیمارها بود </u>  
 $p < 0.05$

و قابل اعتماد برای تولید فرآورده‌های فراسودمند حاوی لوتئین در مقیاس صنعتی مطرح باشد (Yin et al., 2020).

#### پایداری لوتئین طی نگهداری

نتایج پایداری (شکل ۴) نشان داد که در نمونه کنترل (لوتئین در توئین ۸۰)، پس از ۳۰ روز حدود ۵۰٪ لوتئین تخریب شد که بیانگر نفوذپذیری بالای میسل‌ها به اکسیژن و نور و فقدان مانع فیزیکی مؤثر است (Zhao et al., 2019). در هیدروژل‌ها، تخریب لوتئین به طور معنی‌داری کمتر بود. هیدروژل حاوی ۱۵٪ اینولین حدود ۶۵٪، هیدروژل ۲۰٪ اینولین حدود ۷۲٪ و



**Figure 4: Stability of lutein in iota-kappacarrageenan-Inulin hydrogels (15,20,25% inulin)**

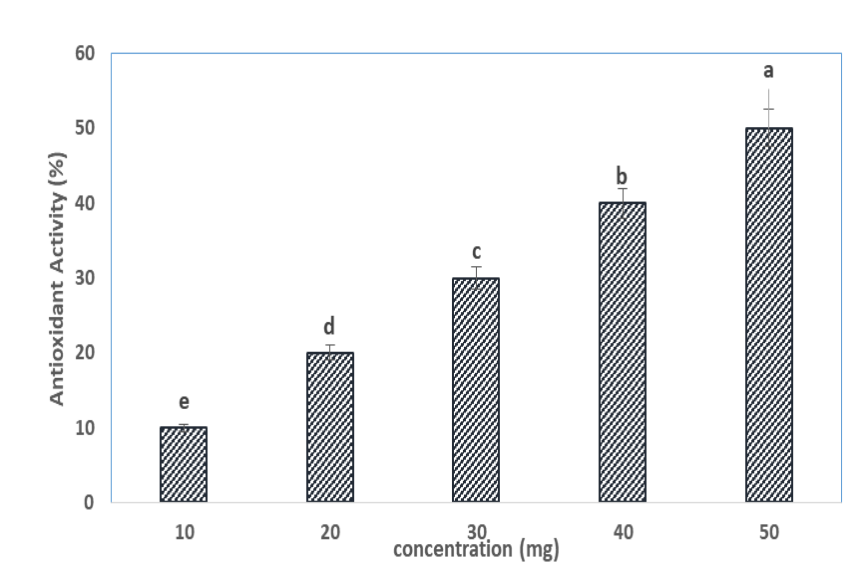
است. این رفتار به ساختار پلی‌ان مزدوج لوتئین که قادر به اهدای هیدروژن یا الکترون به رادیکال‌های آزاد است، و همچنین وجود گروه‌های هیدروکسیل در انتهای مولکول که رادیکال حاصل را پایدار می‌کند، نسبت داده می‌شود (Rodriguez-Amaya, 2019; Vílchez et al., 2023). مقدار  $IC_{50}$  به دست آمده با محدوده گزارشات پیشین برای لوتئین طبیعی (30-35  $\mu\text{g/mL}$ ) همخوانی دارد (Jahns et

#### عالیت آنتی‌اکسیدانی (آزمون DPPH)

نتایج آزمون DPPH (شکل ۵) نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی لوتئین به طور واضح وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت لوتئین از ۱۰ به ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر، درصد مهار رادیکال DPPH از حدود ۱۷٪ به ۶۹٪ افزایش یافت. مقدار  $IC_{50}$  محاسبه شده ۳۲.۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود که نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی متوسط تا نسبتاً قوی

(al., 2022) و نشان می‌دهد که فرایند درون‌پوشانی اثر

معنی‌داری بر قدرت آنتی‌اکسیدانی ذاتی لوتئین نداشته است.



**Figure 5: Antioxidant activity (DPPH test) of lutein at different concentrations of lutein**

#### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش به طور قطعی نشان داد که هیدروژل هیبریدی آیوتا-کاراگینان-اینولین می‌تواند به عنوان یک سامانه مؤثر برای درون‌پوشانی، حفاظت و انتقال لوتئین عمل کند. هر سه تکنیک FTIR, XRD و SEM تأیید کردند که لوتئین با موفقیت در ماتریس پلی‌ساکاریدی محصور شده و منجر به کاهش بلورینگی، اختلال در پیوندهای هیدروژنی و ایجاد ریزساختاری متخلخل‌تر می‌شود. افزایش غلظت اینولین از ۱۵ به ۲۵ درصد، به طور معنی‌داری باعث افزایش راندمان درون‌پوشانی (از ۷۱ به ۸۲٪) و بهبود پایداری لوتئین طی ۳۰ روز نگهداری (از ۶۵ به ۷۸٪ باقیمانده) گردید که عمدتاً به افزایش تراکم شبکه ژلی و کاهش نفوذپذیری نسبت به اکسیژن نسبت داده می‌شود. هیدروژل حاوی ۲۵٪ اینولین به عنوان

بهینه‌ترین فرمولاسیون معرفی می‌شود. لوتئین محصور شده در این هیدروژل فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت با IC50 معادل ۳۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر خود نشان داد. به طور کلی، سامانه معرفی شده در این پژوهش، پتانسیل بالایی برای کاربرد در صنایع غذایی (توسعه نوشیدنی‌ها و دسرهای فراسودمند)، دارویی (فرمولاسیون‌های چشمی) و آرایشی-بهداشتی (کرم‌های ضدپیری و ضدآفتاب) دارد. <u>مطالعات آینده باید بر بررسی رفتار رئولوژیکی، قابلیت هضم و فراهمی زیستی *in vivo* این سامانه متمرکز شود.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه تبریز به دلیل حمایت مالی از این طرح پژوهشی سپاسگزاری می‌نمایند.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

## References

- Alba, K., MacNaughtan, W., & Foster, T. J. (2021). Formation and functionality of high-solid inulin gels: Impact on bioactive compound protection. *Food Hydrocolloids*, 113, 106449.
- Anderson, J. C., Gómez, C. G., & Bustinza, F. D. (2022). Applications of carrageenan-based hydrogels in drug delivery and tissue engineering: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers.*, 285, 119265.
- Dong, X., et al. (2021). Characterisation, slow-release, and antibacterial properties of carboxymethyl chitosan–inulin hydrogel film loaded with novel antilisterial durancin GL. *Food Hydrocolloids*, 111, 106388.
- Fernández Sevilla, J. M., Ación, F. G., & Molina Grima, E. (2022). Biotechnological production of lutein and its applications. *Progress in Lipid Research.*, 85, 101143.
- Florowska, A., Hilal, A., Florowski, T., Mrozek, P., & Wroniak, M. (2022). Sodium Alginate and Chitosan as Components Modifying the Properties of Inulin Hydrogels. *Gels*, 8(1), 21.
- Jahns, L., Johnson, E. J., & Mayne, S. T. (2022). Lutein and zeaxanthin: Dietary sources, bioavailability, and health impacts. *Annual Review of Nutrition.*, 42, 123-148.
- Lee, M. H., et al. (2025). Effect of inulin on structural, physicochemical, and in vitro gastrointestinal tract release properties of core-shell hydrogel beads as a delivery system for vitamin B12. *Food Chemistry.*, 463, 141351.
- Li, K., Fu, L., Zhao, Y., Xue, S., Wang, P., Xu, X., & Bai, Y. (2022). Elucidating the effect of the Hofmeister effect on formation and rheological properties of soy protein–κ carrageenan hydrogels. *Food Hydrocolloids.*, 128, 107561.
- Liu, J., Zhan, X., Wan, J., Wang, Y., & Wang, C. (2019). Review of carrageenan-based hydrogels and their applications in drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules.*, 126, 282-292.
- Mares-Peñaloza, J. L., Velázquez-García, V. H., Torres-Cisneros, J. L., & Reyes-Gordillo, D. (2017). Lutein and zeaxanthin in eye health. *Journal of Ophthalmic & Vision Research.*, 12(4), 397.
- Mísková, Z., et al. (2021). Thermal stability and structural properties of carrageenan gels. *Food Structure.*, 10, 100-112.
- Naderi, M., et al. (2023). Effect of inulin on structural, physicochemical, and in vitro gastrointestinal tract release properties of core shell hydrogel beads as a delivery system for vitamin B12. *Food Hydrocolloids.*, 135, 108197.
- Patel, A., & Srinivasan, V. (2021). Inulin as a functional ingredient: Health benefits and applications. *Food Reviews International.*, 37, 1-20.
- Pereira, L., Gheda, S. F., & Ribeiro-Claro, P. J. A. (2018). Analysis of carrageenan from red algae: Extraction, structure and applications. *Carbohydrate Polymers.*, 207, 362-373.
- Ribeiro, A. M., Oliveira, S., & Costa, A. M. (2020). Inulin hydrogel networks for stabilization of hydrophobic nutraceuticals. *Carbohydrate Polymers.*, 245, 116514.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural carotenoids: Occurrence, chemistry, and functional properties. *Food Research International.*, 124, 141-158.
- Ronkart, S. N., Paquot, M., Fougny, C., Deroanne, C., & Blecker, C. (2009). Structural and physicochemical characterization of inulin. *Food Hydrocolloids.*, 23(3), 922-928.
- Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective functions of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine.*, 26, 363-379.
- Sun, Y., Xu, Z., & Liu, C. (2022). Microstructure and protective capacity of inulin hydrogels with different solid contents toward light-sensitive compounds. *International Journal of Biological Macromolecules.*, 208, 540-549.

- Vílchez, C., Forján, E., Cuaresma, M., Becerra, C., & Vega, J. M. (2023). Lutein: Biological properties and prospects for functional food applications. *Food Chemistry*, 405, 134825.
- Zhao, X., et al. (2022). Characterisation, slow release, and antibacterial properties of carboxymethyl chitosan–inulin hydrogel film loaded with novel antilisterial durancin GL. *Food Hydrocolloids*, 129, 107630.
- Zhao, Y., Wang, T., & Liu, J. (2019). Degradation kinetics of lutein in aqueous and surfactant-based environments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(12), 3453-3460.
- Gomes, A., et al. (2025). Rheological properties, microstructure, and encapsulation efficiency of inulin-type dietary fiber-based gelled emulsions at different concentrations. *Carbohydrate Polymers*, 347, 122742
- Ding, Z., et al. (2020). Influences of different carbohydrates as wall material on powder characteristics, encapsulation efficiency, stability and degradation kinetics of microencapsulated lutein by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(7), 2872-2882 .
- Cheng, Y., et al. (2025). Improved encapsulation efficiency and storage stability of lutein by soy protein isolate nanocarriers with thermal and trypsin treatments.\* *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 105(2), 1057-1068.
- Yin, X., et al. (2020). Improved encapsulation efficiency and storage stability of spray dried microencapsulated lutein with carbohydrates combinations as encapsulating material. *LWT*, 127, 109386 .