

## بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانپوشینه های روغن ماهی و ویتامین E تولید شده با استفاده از تکنیک کوآسرواسیون ترکیبی

فاطمه میرزایی کلایی<sup>۱</sup>، سید علی جعفرپور<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گرایش فرآوری محصولات شیلاتی، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲- دانشیار گروه شیلات، گرایش فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۶)

### چکیده

یکی روش های مختلفی که برای ریزپوشانی استفاده می شود، تکنیک کوآسرواسیون ترکیبی است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر درصد روغن ماهی (۳،۱ و ۰،۵٪)، درصد بیوپلیمرکل (۳،۱ و ۰،۵٪) و سرعت هموژنایزر (۹۰۰۰، ۷۰۰۰ و ۱۱۰۰۰ rpm) بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی پودرهای تولیدی است. بدین منظور از روش سطح پاسخ<sup>۱</sup> (RSM) در قالب طرح مرکب مرکزی<sup>۲</sup> (CCD) استفاده گردید. امولسیون بهینه به دست آمده در پوشش ژلاتین و صمغ عربی (با نسبت ۱:۱) شامل (روغن ماهی ۰،۱٪، بیوپلیمرکل ۰،۱٪ و سرعت هموژنایزر ۷۰۰۰ rpm) بوده و دارای بازدهی ریزپوشانی ۹۷/۹۷٪ بود، و به منظور بررسی پایداری اکسایشی تیمارها به مدت ۳ ماه در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. نتایج حاصل از پژوهش نشان داد با افزایش درصد روغن ماهی شاخص روشنایی روشنایی<sup>(L\*)</sup> و سفیدی پودر ها کاهش و شاخص زردی<sup>(b\*)</sup> افزایش یافت، نتایج حاصل از بررسی نرخ اکسیداسیون نشان داد مقادیر تیوباربتوریک اسید (TBA) در نمونه های ریزپوشانی شده به طور معنی داری نسبت به نمونه های شاهد کمتر بود، همچنین در نمونه ریزپوشانی شده حاوی ویتامین E نسبت به نمونه شاهد (فاقد ویتامین E) مقادیر تیوباربتوریک اسید در ماه اول نسبت به سایر دوره ها به طور معنی دار کمتر بود.

کلید واژگان: روغن ماهی، ویتامین E، خواص فیزیکوشیمیایی، پایداری اکسایشی، کوآسرواسیون ترکیبی.

\* مسئول مکاتبات: a.jafarpour@sanru.ac.ir

1. Response surface methodology  
2. Central composite rotatable design

## ۱- مقدمه

روغن ماهی عمده ترین منبع غذایی اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره ی طولانی است که اثرات سلامتی بخش بر بدن دارد. مطالعات نشان داده که مصرف محصولات غذایی غنی شده با روغن ماهی، مزایای بالقوه ای برای سلامتی، به ویژه محافظت در برابر بیماری های قلبی، سرطان و بهبود کارایی مغز دارد. اسیدهای چرب امگا ۳ شامل آلفالینولینیک اسید (C<sub>18:3</sub>) و متابولیت های طویل زنجیر آن یعنی ایکوزاپنتانویک اسید (C<sub>20:5</sub>) و دکوزاهگزانویک اسید (C<sub>22:6</sub>) می باشد [۱].

روغن ماهی به علت لیپاز و باکتری های طبیعی در چربی بسیار سریع تخریب می شود. هردوی اینها چربی را به اسیدهای چرب آزاد تجزیه می کنند. شرایط ماهی در زمان فرآوری، روغن را از نظر فیزیکی، شیمیایی، و تغذیه ای تحت تأثیر قرار می دهد [۲]. پایداری اکسیداتیو روغن در ریزپوشانی توسط ذخیره سازی میکروپوشینه ها تحت یک مجموعه ی دما و رطوبت نسبی برای یک دوره ی تعریف شده و اندازه گیری محصولات اکسیداتیو تشکیل شده اندازه گیری می شود. پایداری اکسیداتیو عبارت است از مدت زمان لازم برای رسیدن به نقطه ای که در آن یکی از کمیت های اکسایشی پس از طی نمودن روند افزایشی خود به طور ناگهانی افزایش می یابد و باعث تولید طعم و بوی نامطلوب در روغن می شود [۳]. دی ان های درهم آمیخته شده، آلدئیدها، چربی های ترانس و پراکسیدها، محصولات اکسیداسیون اسیدهای چرب امگا ۳ هستند و می توانند از نظر کمی در نمونه های روغن اندازه گیری شوند [۴].

ویتامین E یکی از مهم ترین ترکیبات مغذی طبیعی ضروری می باشد که می تواند از غشاء بیولوژیکی به عنوان جاذب رادیکال در برابر پر اکسیداسیون لیپید محافظت کند [۵، ۶]. علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی، ویتامین E پاسخ سلولی در مواجهه با استرس های اکسیداتیو را از مسیرهای سیگنالی تعدیل می کند [۷]. ریزپوشانی فرآیندی است که در آن عناصر حساس یا مواد هسته در پلیمرهای محافظ یا مواد دیواره به عنوان عوامل پوشینه ساز به دام می افتند [۸].

برای ریزپوشانی روغن ماهی مواد مختلفی مانند امولسیون ها، کمپلکس های بیوپلیمری، هیدروژل ها و همچنین انواع تکنولوژی استفاده می شود [۱]. کوآسرواسیون ترکیبی از پروتئین ها و پلی ساکاریدهایی تشکیل می شود که به عنوان وسیله انتقال امگا ۳ استفاده می شوند. ریزپوشانی روغن ماهی

اغلب با کوآسرواسیون ترکیبی با صمغ عربی و ژلاتین صورت می گیرد [۹]. ژلاتین پوششی ایده آل به منظور میکروپوشینه کردن عناصر زیست فعال می باشد زیرا دارای ویژگی های منحصر به فرد از قبیل تجزیه زیستی، سازگاری زیستی، عدم سمیت، حلالیت در آب و قابلیت تشکیل فیلم می باشد. صمغ عربی پلی ساکاریدی گیاهی است که دارای خواص امولسیفایری ویژه می باشد خصوصاً برای سیستم های امولسیون روغن در آب بسیار مناسب است [۱۰].

مزیت اصلی کوآسرواسیون ترکیبی تولید میکرو پوشینه هایی با اندازه ی ۱ تا ۱۰۰۰ میکرومتر می باشد. علاوه بر این، در مقایسه با دیگر فرآیندهای ریزپوشانی، در کوآسرواسیون ترکیبی ظرفیت انتقال هسته به مواد دیواره ۹۰ درصد برای ذرات تک هسته ای و ۶۰ درصد برای ذرات چند هسته ای می باشد. این روش به طور موفقیت آمیزی از مهاجرت روغن به سطح ذره جلوگیری می کند و غلظت روغن سطحی در مقایسه با دیگر روش ها به طور معمول کمتر است. پایین بودن غلظت روغن به معنی ماندگاری خصوصیات حسی پودر کوآسروات ترکیبی در زمان نگهداری محصولات غذایی امگا ۳ پوشش داده شده است [۱۱].

در همین راستا Jafarpour و همکاران (۲۰۱۸) روغن ماهی و اسانس میخک در کوآسروای حاصل از برهمکنش بین ژلاتین ماهی و صمغ عربی درون پوشانی کردند، در بررسی شاخص های نرخ اکسیداسیون (پراکساید و تیوباربتوریک اسید) مشخص شد که تکنیک ریزپوشانی قابلیت بالایی جهت حفاظت از روغن در برابر اکسیداسیون دارد و در غلظت های بالاتر اسانس میخک مقادیر تیوباربتوریک اسید کاهش یافته است [۱۲]. در مطالعه ی Heinzelmann و همکاران (۲۰۰۰) نانوپوشینه های روغن ماهی با استفاده از تکنیک خشک کردن انجمادی تولید شده و مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که افزودن آنتی اکسیدان به روغن ماهی برای تولید روغن ماهی ریزپوشانی شده و خشک شده، به منظور زمان ماندگاری مناسب، لازم و ضروری است [۱۳]. بهینه سازی ریزپوشانی روغن ماهی تن در مواد پلیمری هگزامتافسفات ژلاتین - سدیم (SHMP) توسط Wang و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد. طبق نتایج پایداری روغن پوشینه شده بیش از دو برابر روغن غیر محصور شده است [۱۴]. Pourashouri و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود تأثیر مواد دیواره بر روی پایداری روغن کبد

مقدر در مقدار معین با توجه به نوع تیمار اضافه و به مدت ۸ دقیقه با هموژنایزر در سرعت‌های متفاوت (۱۱۰۰۰ rpm، ۹۰۰۰، ۷۰۰۰) هموژن شد، سپس محلول صمغ عربی به آن اضافه و دوباره ۸ دقیقه هموژن شد به این ترتیب امولسیون روغن در آب آماده شد. اندازه ذرات امولسیون‌ها با استفاده از دستگاه پراکندگی نور دینامیک (DLS) اندازه گیری شد. pH امولسیون با استفاده از HCl ۰/۱ مولار به ۳/۸ رسید و به منظور ایجاد پیوندهای عرضی بین مواد پلیمری ۱ درصد آنزیم ترانس گلوتامیناز نیز اضافه شد، سپس ۴ درصد مالتودکسترین به منظور خشک شدن بهتر دیواره‌ها به محلول‌ها اضافه گردید و ۲ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ rpm هموژن شدند سپس امولسیون‌ها به منظور خشک شدن به دستگاه خشک‌کن انجمادی (Freeze Dryer Vacume concentrators, Alpha 2-4 LDplus, CHRIST GERMANY) منتقل و نانو پوشینه‌ها تولید شدند [۱۷].

### ۳- اندازه‌گیری خواص فیزیکوشیمیایی

#### ۳-۱- اندازه‌گیری رنگ نانوپوشینه‌ها

به منظور اندازه‌گیری رنگ نانوپوشینه‌ها مقداری از پودرها در پلیت شیشه‌ای ریخته شد و سپس میزان رنگ با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج مدل IMG-Pardazesh Cam-System (شرکت ابزارکاران فن‌پویای شمال ایران) اندازه‌گیری شد و سه فاکتور  $L^*$ ،  $b^*$  و Whiteness در هر نمونه با استفاده از معادله شماره ۱ اندازه‌گیری شد.

معادله (۱)

$$= \text{سفیدی} \\ 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

#### ۴- ارزیابی پایداری اکسایشی نانوپوشینه

ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت

#### ۳ ماه متوالی

#### ۴-۱- اندازه‌گیری میزان تولید تیوباربتوریک

اسید<sup>۶</sup>

ماهی کاد و روغن امگا۳ بررسی کردند، نتایج نشان داد که استفاده از ژلاتین ماهی در ترکیب ماده دیواره پایداری اکسایشی را افزایش می‌دهد [۱۵]. هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی نانوپوشینه‌های روغن ماهی و ویتامین E تولیدشده با استفاده از تکنیک کوآسرواسیون ترکیبی از طریق روش سطح پاسخ (RSM) می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

روغن ماهی از گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به روش خیساندن (نسبت هگزان به ایزوپروپانول برابر ۱ به ۳) استخراج شد [۱۶]، ویتامین E (تیتراکم<sup>۳</sup>، تهران)، صمغ عربی (جرم مولکولی ۲۶۶۳۸ کیلو دالتون و فرمول مولکولی  $C_{16}H_{26}O_3$ ) از شرکت دای جونگ<sup>۴</sup> کره جنوبی، پودر ژلاتین پوست ماهیان سردآبی (جرم مولکولی ۶۰ کیلو دالتون، دمای نگهداری ۸-۲ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۵۰-۴۰ درصد در آب) از شرکت سیگمای<sup>۵</sup> آمریکا تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی از فروشگاه‌های مواد شیمیایی و آزمایشگاهی معتبر تهیه شدند.

### ۲-۲- تهیه امولسیون‌ها و پودر نانوپوشینه

محلول‌های ژلاتین و صمغ عربی با غلظت ۶ درصد وزنی - حجمی به‌طور جداگانه تهیه شدند. به‌منظور آبرگیری کامل مواد دیواره عمل هم زدن ترکیب ژلاتین و صمغ عربی به ترتیب در دمای ۲۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۱۲ ساعت در بن ماری انجام گرفت. روغن ماهی در سطوح ۳،۱ و ۵ درصد، بیوپلیمرکل با نسبت (۱:۱) در سطوح ۳،۱ و ۵ درصد با سرعت‌های متفاوت هموژنایزر (مکانیکی) (Ultra-Turrax, Wise-15D, South Korea) (۱۱۰۰۰، ۹۰۰۰ rpm) (۷۰۰۰) به‌عنوان متغیرهای مستقل برای تهیه امولسیون در نظر گرفته شد. در ابتدا ویتامین E در غلظت ۳۰۰۰ ppm به روغن ماهی اضافه شد. سپس محلول ژلاتین به روغن ماهی دارای ویتامین E اضافه و به‌طور کامل هموژن شد. بعد از آن آب

3. Titrachem Co

4. DeaJung Co

5. Sigma Co

6. Thiobarbituric acid

آزمایش، آنالیز نتایج، رسم نمودارها و بهینه‌سازی از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت<sup>۷</sup> (نسخه ۷) استفاده شد. شاخص‌های اندازه‌گیری شده بر طبق معادله (۳) مدل‌سازی شدند. معادله (۳):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j} \beta_{ij} X_i X_j$$

این معادله شامل اثرات خطی (Linear) عوامل، اثر مربع (Square) یا درجه دوی (Quadratic) عوامل و اثر برهمکنش، متقابل یا تداخلی (Interaction) متغیرهای مستقل می‌باشد. Y عبارت است از متغیر وابسته،  $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$  ثابت‌های برآورد شده توسط مدل،  $X_i$  و  $X_j$  سطح متغیرهای مستقل بوده و آن‌ها به ترتیب نمایانگر اثرات خطی، درجه دوم و اثرات متقابل متغیرهای  $X_1, X_2, X_3$  که با نماد A, B, C در جدول ۱ نشان داده شده اند، روی پاسخ می‌باشند.

به‌منظور آماده‌سازی معرف تیوبایتوریک اسید مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر تیوبایتوریک اسید به ۱۰۰ میلی‌لیتر ایزوبوتانول اضافه شد، روی همزن مغناطیسی قرار گرفت تا پودر TBA کاملاً در ایزوبوتانول حل شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم پودر ریزپوشانی شده (وزن دقیق نمونه ثبت شد) داخل بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری قرار داده شد. نمونه در مقادیر کمی از ایزوبوتانول حل شد و سپس به حجم رسانیده شد. محلول کاملاً مخلوط شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول حاوی پودر و ایزوبوتانول به لوله‌های خشک و درب دار منتقل شد و ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA به آن اضافه شد. هم‌زمان یک نمونه شاهد (۵ میلی‌لیتر ایزوبوتانول و ۵ میلی‌لیتر معرف TBA) آماده شد. لوله‌ها پس از هم‌زدن با ورتکس، به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد درون حمام آب قرار گرفت. پس از طی شدن زمان مذکور لوله‌ها از حمام آب گرم بیرون آورده شد و زیر آب خنک قرار گرفت تا به دمای محیط رسید. اندازه‌گیری میزان جذب نمونه: دستگاه اسپکتوفتومتری روشن و بر روی طول موج ۵۳۲ nm تنظیم شد. دستگاه با استفاده از شاهد صفر شد و سپس میزان جذب نمونه توسط سل شیشه‌ای اندازه‌گیری شد. مقادیر TBA با استفاده از معادله (۲) محاسبه و نتایج به‌صورت میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن بیان شد:

معادله (۲)

$$\text{TBA value} = \frac{50 * A_{532}}{m}$$

که عدد ثابت ۵۰ بر اساس حجم بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری و طول سل ۱ cm می‌باشد،  $A_{532}$  میزان جذب نمونه و m وزن نمونه به میلی‌گرم می‌باشد [۲۰].

#### ۵- تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

در این پژوهش به‌منظور بهینه‌سازی فرآیند تولید نانو پوشینه‌ها از روش سطح پاسخ (RSM) در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) استفاده شد. این طرح دارای ۲۰ آزمایش که خود شامل ۸ نقطه فاکتوریل، ۶ نقطه محوری و ۶ نقطه مرکزی به‌منظور تخمین خطای آزمایش بود. در جدول ۱ اثر متغیرهای مستقل شامل میزان روغن ماهی، میزان بیوپلیمرکل و سرعت هموزنایزر در ۳ سطح آورده شده است. بهینه‌سازی بر اساس میزان بازدهی ریزپوشانی به‌عنوان شاخص در نظر گرفته شد. آزمون آماری مدل به‌دست‌آمده برای هر پاسخ بر اساس آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت. جهت طراحی

**Table 1** Levels of experimental variables for the encapsulation of fish oil

Encoded levels	icon	variable type		
		-1	0	+1
Fish oil %	A	1	3	5
Total biopolymer%	B	1	3	5
Homogenizer speed (rpm)	C	7000	9000	11000

**Table 2** Experimental design of fish oil with vitamin E with polymeric materials of gelatin and Arabic gum using the complex coaservation

Treatment	Fish oil %	Total biopolymer%	Homogenizer speed (rpm)
1	3	3	9000
2	1	1	11000
3	3	5	9000
4	5	5	11000
5	5	3	9000
6	3	3	9000
7	3	3	7000
8	3	3	9000
9	5	5	7000
10	5	1	11000
11	1	1	7000
12	1	5	11000
13	3	3	9000
14	1	3	9000
15	3	1	9000
16	3	3	9000
17	3	3	11000
18	5	1	7000
19	3	3	9000
20	1	5	7000

و کمینه میزان سفیدی پودر ها مربوط به نمونه های ۲ و ۵ می باشد. تیمار ۲ با کمترین میزان روغن ماهی از شاخص سفیدی بیشتری برخوردار است (جدول ۳).

تجزیه آنالیز واریانس داده ها در جدول (۴) نشان دادند پارامتر خطی بیوپلیمرکل بر پاسخ شاخص روشنایی ( $L^*$ ) معنی دار بوده است ( $p < 0.01$ )، بدین صورت که با افزایش درصد بیوپلیمرکل میزان روشنایی پودرها کاهش یافت. با توجه به شیب تند بیوپلیمر کل در شکل (۱) به خوبی مشهود است پارامتر روشنایی پودر تحت تاثیر درصد بیوپلیمرکل قرار دارد. در این مدل سایر متغیرهای مستقل اثر معنی داری بر سطح پاسخ نشان ندادند.

## ۶- نتایج و بحث

### ۶-۱- رنگ نانوپوشینه ها

رنگ پودرهای تولید شده از لحاظ افزودن به فرآورده های متنوع و پذیرش در بازار مصرف بسیار دارای اهمیت است [۱۹]. میزان روشنایی و زردی نمونه ها در تیمار (تیمار ۲) با کمترین میزان روغن ماهی و بیوپلیمرکل نسبت به سایر نمونه ها به ترتیب بیشتر و کمتر بود. تیمار ۹ با بالاترین درصد روغن و بیوپلیمرکل بیشترین میزان زردی و کمترین میزان روشنایی را نشان داد. بالا بودن شاخص زردی و مقدار پایین شاخص روشنایی در تیمار ۹ را می توان به ترتیب به درصد بالای روغن سطحی و درصد بالای بیوپلیمرکل نسبت داد [۲۰]. بیشینه

**Table 3** Results of colorimetric parameters of powder produced

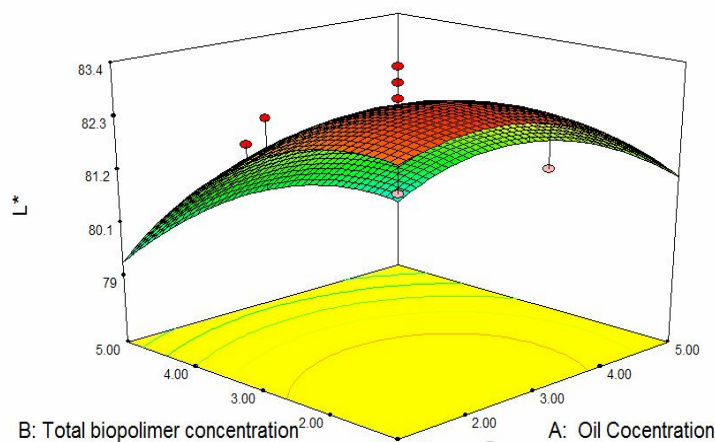
Treatment	$L^*$	$b^*$	Whiteness
2	82/12±2/4	1/87±2/60	82/48±3/30
5	81/82±3/4	28/21±12/90	65/62±11/66
9	78/18±0/9	31/47±4/28	75/44±9/34

**Table 4** Analysis of variance of measured parameters of manufactured nanoparticles

Model	$L^*$		$b^*$		Whiteness	
Source	R-Squares	p-value	R-Squares	p-value	R-Squares	p-value
model	47/29	0/0066	797/93	0/02	187/82	0/0412
A	2/10	0/1675	747/53	0/003	159/36	0/0090
B	18/63	0/0013	42/15	0/4179	15/58	0/3629
C	0/028	0/8667	8/24	0/7179	12/61	0/4158
AB	0/99	0/3297				
AC	0/48	0/4927				
BC	0/33	0/5692				
$A^2$	2/27	0/1526				
$B^2$	3/11	0/1000				
$C^2$	1/04	0/3203				
Residual	9/47		975/43		289/10	
Lake of fit	5/13	0/4297	668/40	0/5439	148/37	0/8563
Pure Error	4/34		307/03		140/73	
Core Total	56/76		1773/63		476/92	

ترتیب میزان زردی پودرها افزایش و میزان روشنایی کاهش یافت که نتایج مشابهی با پژوهش حاضر داشت [۲۲, ۱۲]. رنگ میکروپوشینه ها با درجه سفید شدن بیان می شود. هرچه مقدار whiteness بیشتر باشد رنگ میکروپوشینه سفیدتر است [۲۳]. در بررسی شاخص سفیدی مشاهده شد درصد روغن ماهی در سطح احتمال ۹۹٪ بر سطح پاسخ اثر خطی داشت ( $p < 0/01$ ) و سایر متغیرهای مستقل بر سطح پاسخ بی اثر بودند. با توجه به اثر متغیرهای ورودی بر پاسخ سفیدی در شکل (۳)، با افزایش درصد روغن ماهی میزان سفیدی پودر تولیدی کاهش یافت. در مطالعه Pratiwi و همکاران (۲۰۱۶) درجه سفیدی میکروپوشینه های اسانس دارچین مورد بررسی قرار گرفت، طبق نتایج افزایش در مقدار صمغ عربی سبب کاهش سفیدی میکروپوشینه ها شد [۲۳].

همچنین مشاهده شد پارامتر خطی روغن ماهی بر پاسخ شاخص زردی ( $b^*$ ) موثر می باشد ( $p < 0/01$ ). با توجه به (شکل ۲) نمودار سه بعدی اثر متغیرهای ورودی بر پاسخ شاخص زردی پودرها ( $b^*$ ) نمایانگر شیب تند خط انحناي غلظت روغن ماهی بود و بیانگر آن است، این متغیر بسیار بر سطح پاسخ اثرگذار است و سطح پاسخ به این متغیر بسیار حساس می باشد. در این شاخص با افزایش درصد روغن ماهی میزان زردی پودر تولید شده افزایش یافت که احتمالا به دلیل مقدار بالای روغن سطحی آزاد در سطح ذرات بود [۲۳]. در مطالعه Jafarpour و همکاران (۲۰۱۶) و Karaca و همکاران (۲۰۱۳) به ترتیب روغن ماهی و روغن بذرتان با استفاده از مواد پلیمری مختلف ریزپوشانی شدند، آن ها مشاهده کردند با افزایش درصد روغن و افزایش درصد بیوپلیمرکل به

**Fig 1** Response level effect of fish oil and biopolymer on the index of nanocapsuls

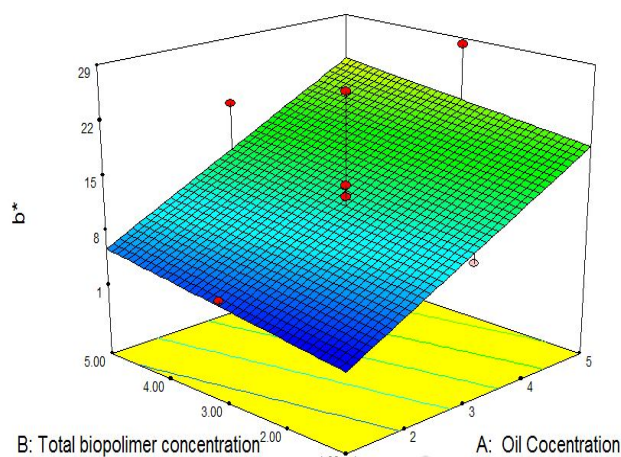


Fig 2 Response level effect of fish oil and biopolymer on the  $b^*$  index of nanocapsuls

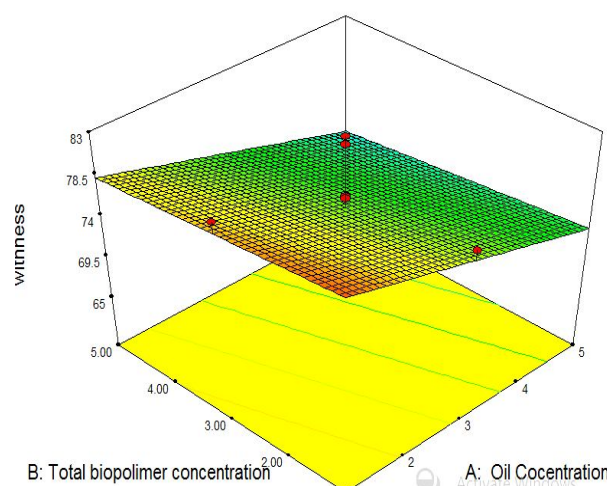


Fig 3 Response level effect of fish oil and biopolymer on the Whiteness index of nanocapsuls

شده فاقد ویتامین E مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به مقادیر  $p$ -value آزمون مدل در ماه های مختلف مشاهده شد از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در تولید تیوباریتوریک اسید در ماه اول نسبت به روز صفر وجود ندارد. مدل آزمون در روز صفر (۰/۰۱۹۴) و ماه اول (۰/۰۱۴۹) در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار شدند ( $p < ۰/۰۵$ ). همچنین مقادیر  $p$ -value آزمون مدل رگرسیون در ماه دوم (۰/۰۰۰۶) بیانگر اختلاف معنی دار تولید تیوباریتوریک اسید در ماه دوم نسبت به ماه اول و روز صفرم است. با توجه به اینکه مدل آزمون ماه دوم در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی دار شد نشان دهنده شیب تند افزایشی تولید تیوباریتوریک اسید در ماه مذکور می باشد (۰/۰۰۰۸). مقادیر تیوباریتوریک اسید در ماه سوم (۰/۰۰۰۸) نسبت به ماه دوم (۰/۰۰۰۶) اختلاف معنی داری نداشت زیرا

## ۶-۲- پایداری اکسایشی نانوپوشینه ها

مالون دی آلدئید یکی از فراوان ترین آلدئید های تولید شده از طریق اکسیداسیون لیپیدی ثانویه است و احتمالاً اغلب موارد به عنوان نشانگر اکسیداسیون نیز مورداستفاده قرار می گیرد [۲۴]. عدد TBA مربوط به اندازه گیری مقدار مالون دی آلدئید است. اندازه گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون در تعیین اکسیداسیون لیپید در غذا برای مصرف انسانی اهمیت دارد زیرا دارای بوی فعال هستند درحالی که محصولات اکسیداسیون اولیه بدون رنگ و بدون طعم هستند [۲۵]. مقادیر شاخص TBA به محدوده ۲ میلی گرم مالونوآلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی قبلاً گزارش شده است [۲۶]. در مطالعه حاضر مقادیر تیوباریتوریک اسید در دمای ۴ درجه سانتی گراد در روغن ریزپوشانی شده و روغن ریزپوشانی نشده که هر دو با ویتامین E غنی سازی شده بودند و همچنین روغن ریزپوشانی

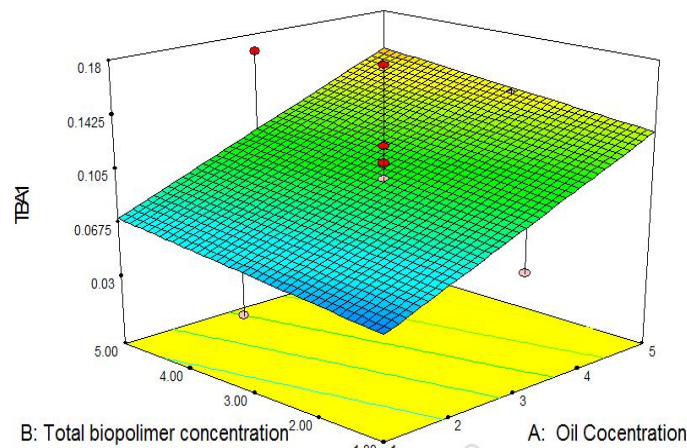
تغییرات درصد روغن ماهی بیشترین تأثیر را در میزان تولید تیوباریتوریک اسید ماه سوم داشت. با افزایش درصد روغن میزان روغن پوشینه نشده در سطح ذرات افزایش یافت و سرعت اکسیداسیون را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار داد [۱۹]. همچنین سرعت هموژنایزر بر میزان تغییرات پاسخ TBA اثر مضاعف را نشان داد ( $p < 0.05$ ) که در واقع بیانگر تغییرات پاسخ در سرعت های توانی بود. اثر تداخلی سرعت هموژنایزر و درصد روغن ماهی بعلاوه اثر تداخلی سرعت هموژنایزر و درصد بیوپلیمرکل بر تغییرات پاسخ تیوباریتوریک اسید زیاد نبود زیرا مقدار مجموع مربعات پایین و مقدار  $p$ -value در سطح احتمال ۹۵٪ دارای اثر متقابل بود ( $p < 0.05$ ). طبق شکل (۶) کاهش درصد روغن ماهی و افزایش درصد بیوپلیمرکل موجب کاهش تولید تیوباریتوریک اسید در ماه سوم شد.

مقادیر  $p$ -value آزمون مدل به یکدیگر نزدیک هستند ( $p > 0.01$ ).

تجزیه آنالیز واریانس داده‌ها در ماه اول و ماه دوم نشان دادند درصد روغن ماهی بر میزان پاسخ TBA در سطح احتمال ۹۹٪ به صورت خطی اثرگذار می‌باشد ( $p < 0.01$ ) و سایر متغیرهای ورودی اثر معنی داری بر سطح پاسخ نداشتند. به عبارتی میزان تولید تیوباریتوریک اسید در ماه اول و دوم تنها به درصد روغن ماهی استفاده شده در تولید نانوپوشینه ها بستگی داشت. شکل (۴) و (۵) نمادی سه بعدی از اثر متغیرهای ورودی بر سطح پاسخ حاکی از آن است افزایش درصد روغن ماهی اثر صعودی بر روند تولید سطح پاسخ TBA داشت. تجزیه آنالیز واریانس داده‌ها در ماه سوم نشان داد پارامتر خطی روغن ماهی و بیوپلیمرکل در سطح احتمال ۹۹٪ بر سطح پاسخ موثرند ( $p < 0.01$ ) و با توجه به مقادیر بالای مجموع مربعات

**Table 5** Measurement of the amount of Thiobarbituric acid ( $\frac{mMA}{Kg}$ ) at 4 °

Model	$TBA_0$		$TBA_1$		$TBA_2$		$TBA_3$	
Source	R-Squares	p-value	R-Squares	p-value	R-Squares	p-value	R-Squares	p-value
model	3/773E-004	0/0194	0/017	0/0149	0/046	0/0006	0/058	0/0008
A	2/500E-004	0/0006	0/016	0/0028	0/044	0/0001	0/015	0/0008
B	0	1/000	1/040E-003	0/3872	5/760E-005	0/8486	9/000E-003	0/0044
C	0	1/000	6/40E-006	0/9453	2/690E-003	0/2035	2/560E-003	0/0800
AB	0	1/000					1/250E-005	0/8944
AC	0	1/000					3/612E-003	0/0423
BC	0	1/000					4/512E-003	0/0271
$A^2$	2/273E-006	0/6482					4/455E-004	0/4354
$B^2$	9/602E-005	0/0121					2/114E-003	0/1071
$C^2$	4/602E-005	0/0604					3/914E-003	0/0368
Risidual	1/027E-004		0/021		0/024		6/747E-003	
Lake of fit	1/939E-005	0/9322	0/012	0/7605	0/012	0/8767	4/846E-003	0/1605
Pure Error	8/333E-005		8/867E-003		0/012		1/883E-003	
Core Total	4/800E-004		0/038		0/071		0/056	



**Fig 4** Response level of fish oil and biopolymeric effect on the production of thiobarbituric production of the first month



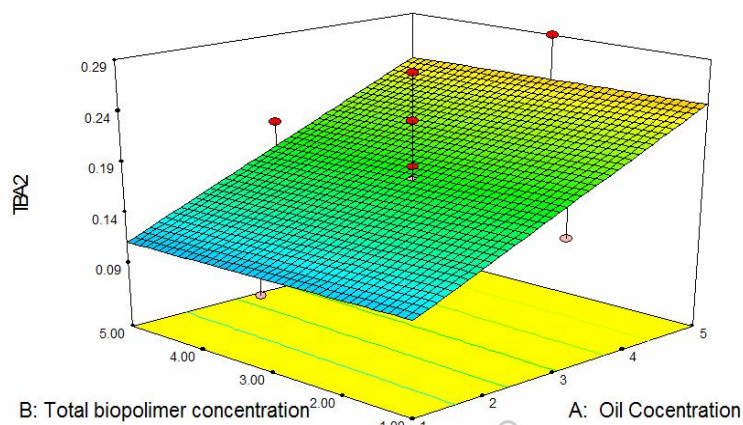


Fig 5 Response level of fish oil and biopolymeric effect on the production of thiobarbituric acid production in the second month

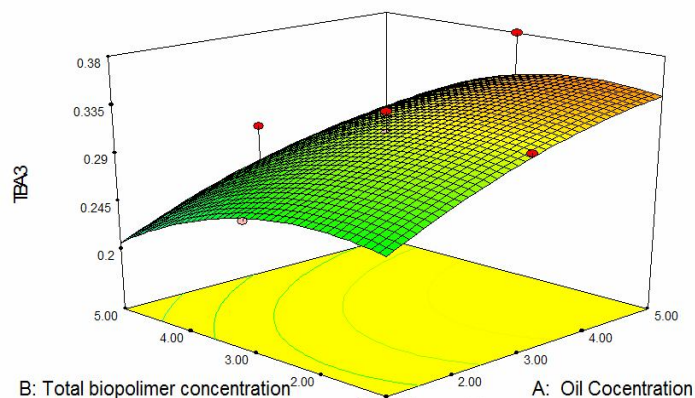


Fig 6 Response level of fish oil and biopolymeric effect on the production of thiobarbituric acid production in the third month

طور قابل توجهی کم تر بود که دلیل آن حضور توکوفرول در نمونه بود، همچنین نمونه محتوی آنتی اکسیدان توکوفرول نمره ترشیدگی بسیار کمتری در مقایسه با سایر نمونه ها داشت [۲۷]. در مطالعه ای دیگر که توسط Baik و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد، نتایج نشان دادند در حضور آلفا توکوفرول پایداری اکسیداسیون پودر روغن ماهی پوشینه شده نسبت به نمونه شاهد طولانی بود [۲۸]. نمونه ۲ و ۵ مربوط به تیمارهایی است که حاوی کمترین و بیشترین مقدار تیوباریتوریک اسید در دمای ۴ درجه سانتی گراد هستند که با روغن ریزپوشانی نشده و تیمار ۱۱ (بهینه) مقایسه شدند (شکل ۷). مقادیر TBA در روغن ماهی حاوی ویتامین E دارای روند صعودی بود که پس از گذشت ۳ ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد به ۰/۴ رسید که با روغن ریزپوشانی شده در تیمار ۲ (در هر دو حالت)

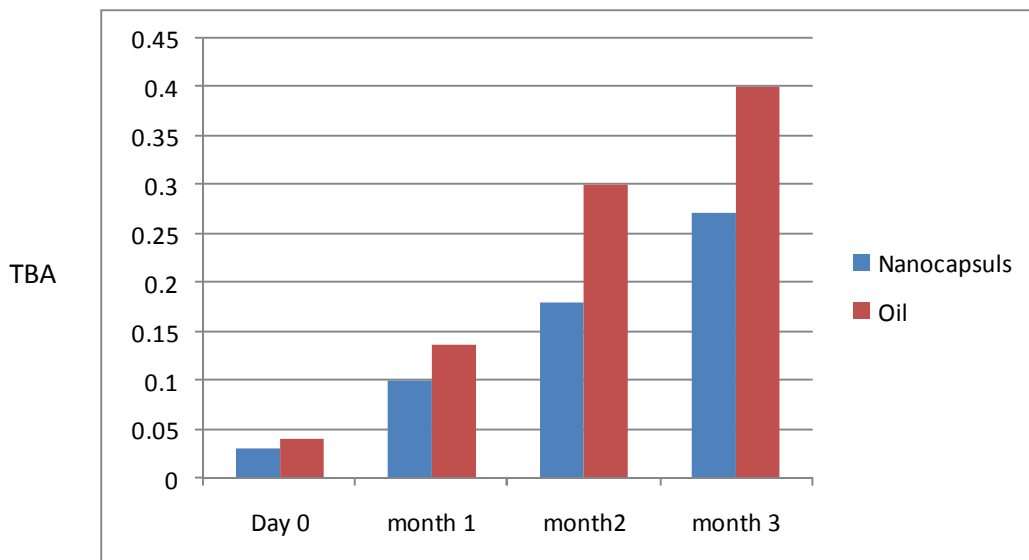
در این پژوهش علاوه بر تیمارهای تعریف شده مقادیر تیوباریتوریک اسید روغن ماهی حاوی ویتامین E و نانوپوشینه های فاقد ویتامین E بررسی شد. طبق جدول (۵) تیمار ۲ بهترین تیمار از لحاظ تولید TBA بود که در حالت بدون ویتامین E هم تولید شد، مطابق با آنالیز آماری نتایج، میزان تولید تیوباریتوریک اسید بین این دو تیمار (نانوپوشینه های حاوی ویتامین E و فاقد ویتامین E در تیمار ۲) در ماه اول اختلاف معنی داری وجود داشت، درحالی که در ماه دوم و ماه سوم این اختلاف معنی دار نبود که با مطالعه Jonsdottir و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت داشت. در مطالعه آن ها میزان تیوباریتوریک اسید در روغن ماهی کبد کاد ریزپوشانی شده در نمونه کازئینات- لاکتوز حاوی توکوفرول در ۶ هفته اول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد نسبت به سایر نمونه ها به

و تیمار ۱۱ (بهینه) اختلاف معنی داری داشت اما با تیمار ۵ (روغن ماهی ۰/۵٪، بیوپلیمرکل ۰/۳٪ و سرعت هموژنایزر ۹۰۰۰ rpm) مقدار تولید تیوباربیتوریک اسید معنی دار نبود (جدول ۶ و شکل ۷).

**Table 6** Comparison of TBA ( $\frac{mMA}{Kg}$ ) values in encapsulated and non-encapsulated fish oil

Time(month) Treatment	Temperature 4 °C			
	0	1	2	3
2	0/03a	0/033a	0/068b	0/17b
5	0/04a	0/137b	0/29c	0/38d
11	0/03a	0/076b	0/14c	0/29d
(Lake of vitamin E)2	0/03a	0/06b	0/08c	0/19d
Oil with Vitamin E	0/04a	0/137b	0/3c	0/4d

Different small superscript letters in each row indicating significant difference among means



**Fig 7** Comparison of Thiobarbituric acid of nanocapsuls and non-encapsulated fish oil for 3 consecutive months

که در کنار خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل پایداری اکسیداسیون را بهبود داد، نمونه روغن ماهی ریزپوشانی نشده دارای بیشترین میزان تیوباربیتوریک اسید بود اما روغن ماهی حاوی اسانس زنجبیل میزان تیوباربیتوریک کمتری تولید شد [۲۷]. در مطالعه‌ای دیگر Jafarpour و همکاران (۲۰۱۸) و Binsi و همکاران (۲۰۱۶) اثر ریزپوشانی و به ترتیب اثر آنتی اکسیدانی اسانس میخک و پلی فنول مریم گلی در افزایش ماندگاری میکروپوشینه روغن ماهی نشان دادند پایداری اکسیداتیو میکروپوشینه های حاوی روغن ماهی در طی ریزپوشانی و با افزودن آنتی اکسیدان نسبت به نمونه‌های شاهد بهبود یافته است [۲۹، ۱۲]. در مطالعه Hu و Zhong (۲۰۱۰)

در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۱۰) و Karaca و همکاران (۲۰۱۳) اثر ریزپوشانی در پایداری اکسیداتیو روغن بذرکتان در طی ۲۵ روز در دمای اتاق نشان دادند استفاده از دیواره‌های مختلف در ریزپوشانی روغن بذرکتان می‌تواند ایده‌ای مناسب جهت بهبود پایداری اکسایشی مواد هسته باشد [۲۱، ۲۶]. از سویی دیگر Annamalai و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود به نتایج مشابهی دست یافتند و بیان نمودند میزان تولید تیوباربیتوریک اسید در میکروپوشینه‌های حاوی اسانس زنجبیل که تحت شرایط خلأ و نرمال در دمای یخچال نگهداری شدند در مقایسه با تیمارهای دیگر بسیار ناچیز بود که دلیل آن حضور پوشش پلیمری کربوهیدرات در ترکیب با پروتئین بود

هایی با رنگ مطلوب و بازارپسند می‌باشد. جدول (۷) پارامترهای بهینه را برای متغیرهای مستقل و پاسخ‌های وابسته نشان داده است. بهینه‌سازی بر اساس کمترین مقدار متغیرهای مستقل برای تولید نانوذراتی با حداکثر میزان بازدهی ریزپوشانی انجام شد، بهترین فرمولاسیون تولید نانوپوشینه‌ها برای روغن ماهی ۱ درصد، بیوپلیمرکل ۱ درصد، سرعت هم‌وزن‌نایز ۷۰۰۰ (rpm) و میزان بازدهی ریزپوشانی ۹۷/۹۷٪ به دست آمد. در این فرمولاسیون میزان  $L^*$ ،  $b^*$ ، Whiteness و تیوباربتوریک اسید به ترتیب ۸۲/۵۲، ۱۲/۳۴، ۷۷/۹۱ و ۰/۲۹ ( $\frac{mMA}{Kg}$ ) بود. مقادیر برآورد شده سطوح پاسخ در تیمار بهینه به مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم افزار نزدیک بود (درصد مقبولیت ۷۹٪). مقادیر ارزیابی شده دو فاکتور رنگ و پایداری اکسایشی نانوذرات در تیمار بهینه در حد مطلوب بوده و از ویژگی کیفی مناسبی برخوردار بودند.

افزودن BHT در غلظت‌های بالاتر از ۰/۶٪ اثر کاهشی در جذب طول موج میکروپوشینه‌های روغن ماهی نشان داد [۳۰]. از سوی دیگر Wang و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه خود پایداری اکسیداتیو لیپوزوم‌های روغن ماهی پوشیده شده در کربوکسی‌متیل کیتوزان را بررسی نمودند. طبق نتایج پایداری اکسیداتیو لیپوزوم دارای پوشش و بدون پوشش در دمای ۴ درجه سانتیگراد بهتر از دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بود، همچنین تحت نگره داری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، لیپوزوم دارای پوشش به طور معنی داری از پایداری بیشتری نسبت لیپوزوم بدون پوشش برخوردار بود [۳۱].

## ۷- بهینه‌سازی

به‌منظور بهینه‌سازی فرمولاسیون فرآیند ریزپوشانی نتایج حاصله در نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ویرایش ۸ آنالیز شد. اهداف بهینه‌سازی شامل بهبود پایداری اکسایشی و تولید نانوپوشینه

**Table 7** Estimated and predicted optimal values for independent variables and response levels in optimal treatment

	$L^*$	$b^*$	Whiteness	$TBA_1$	$TBA_2$	$TBA_3$	Desirability
predicted values	82.44	4.25	80.52	0.067	0.15	0.3	79%
Real values	82.52	12.34	77.91	0.076	0.14	0.29	

Resources Campus of Karaj University of Tehran.in persian

- [2] Abdulkadir, M., G. Abubakar, and A. Mohammed, Production and characterization of oil from fishes. Journal of Engineering and Applied Sciences, 2010. 5(7): p. 769-776.
- [3] White, P.J., Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. Food technology (USA), 1991.
- [4] Frankel, E.N., et al., Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. 50(7): p. 2094-2099.
- [5] Chang, P.-S., J. Lee, and J.L.J. Lee, Development of a new colorimetric method determining the yield of microencapsulation of  $\alpha$ -tocopherol. Journal of Agricultural and food chemistry, 2005. 53(19): p. 7385-7389.
- [6] Feng, Y., Study On The Microcapsulation Of Vitamin E By Complex Coacervation. 2009: China.
- [7] Meydani, S.N., et al., Vitamin E supplementation and in vivo immune

## ۸- نتیجه‌گیری

پایداری اکسیداتیو روغن ماهی طی فرآیند ریزپوشانی با استفاده از مواد پلیمری بهبود یافته و مدت‌زمان نگهداری آن در دمای پایین افزایش می‌یابد، همچنین این تکنولوژی قادر است سدی در برابر بو و طعم بد روغن ماهی ایجاد کند و نانوپوشینه‌هایی با رنگ مطلوب تولید نماید تا از این طریق بر بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و کیفی روغن ماهی بیفزاید. با توجه به نتایج نانوپوشینه‌های تولید شده با ۱٪ روغن ماهی، ۱٪ بیوپلیمرکل و سرعت هم‌وزن‌نایز ۷۰۰۰ (rpm) دارای ویژگی‌های کیفی بهبود یافته نظیر پایداری اکسایشی مطلوب، رنگ روشن و بازارپسند هستند.

## ۹- منابع

- [1] Soltani, s. and a. Madadloo, encapsulation of Omega-3 and food enrichment, in The first national food meal conference, 2014 : Agricultural and Natural

- gum arabic capsules. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2010. 87(7): p. 809-815.
- [18] Pokorny, J. and A. Dieffenbacher, Determination of 2-thiobarbituric acid value: direct method-results of a collaborative study and the standardised method. Pure and applied chemistry, 1989. 61(6): p. 1165-1170.
- [19] Klaypradit, W. and Y.-W. Huang, Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. LWT-Food Science and Technology, 2008. 41(6): p. 1133-1139.
- [20] Sharifi, E., S.A. jafarpour, and M. hosseini, encapsulation of omega 3 fatty acids and clove essential oil within complex coacervates resulted from fish gelatin and gum Arabic interaction, in Thesis. 2017, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University. in persian
- [21] Mehrad, B., et al., Characterization of dried fish oil from Menhaden encapsulated by spray drying. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation, 2015. 8(1): p. 57-69.
- [22] Karaca, A.C., M. Nickerson, and N.H. Low, Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. Food chemistry, 2013. 139(1): p. 448-457.
- [23] Pratiwi, I.Y., P. Darmadji, and P. Hastuti. Effect of storage temperature on the stability of microencapsulated essential oil from cinnamon (*Cinnamomum burmanii*). in AIP Conference Proceedings. 2016. AIP Publishing.
- [24] Barriuso, B., I. Astiasarán, and D. Ansorena, A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. European Food Research and Technology, 2013. 236(1): p. 1-15.
- [25] Annamalai, J., C. Dushyant, and V. Gudipati, Oxidative stability of microencapsulated fish oil during refrigerated storage. Journal of food processing and preservation, 2015. 39(6): p. 1944-1955.
- [26] Khanipour, A., S. Fathi, and Y. Fahim Dejban, Chemical indicators of spoilage and shelf-life of the consolidated burgers (*Kilka*-Silver carp) during cold storage at-18°C. ISFJ, 2013. 22(3): p. 41-49.
- response in healthy elderly subjects: a randomized controlled trial. *Jama*, 1997. 277(17): p. 1380-1386.
- [8] Hogan, S.A., et al., Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 2001. 11(3): p. 137-144.
- [9] Lamprecht, A., U. Schäfer, and C.-M. Lehr, Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for O-3 unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition. *Journal of Microencapsulation*, 2001. 18(3): p. 347-357.
- [10] Xiao, Z., W. Li, and G. Zhu, Effect of wall materials and core oil on the formation and properties of styralyl acetate microcapsules prepared by complex coacervation. *Colloid and Polymer Science*, 2015. 293(5): p. 1339-1348.
- [11] Kralovec, J.A., et al., A review of the progress in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. *Food Chemistry*, 201 (2) 131.22(2) : p. 639-644.
- [12] jafarpour, S.A., E. sharifi, and M.H. hosseini, Evaluating the stability and controlling the oxidation rate of Rainbow trout fish oil (*Oncorhynchus mykiss*) in nanocapsules containing clove essential oil (*Syzygium aromaticum*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 2018. 26(6): p. 57-68. in persian
- [13] Heinzelmann, K., et al., Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze-drying techniques. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2000. 102(2): p. 114-121.
- [14] Wang, B., B. Adhikari, and C.J. Barrow, Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food Chemistry*, 2014. 158: p. 358-365.
- [15] Pourashouri, P., et al., Oxidative stability of spray-dried microencapsulated fish oils with different wall materials. *Journal of aquatic food product technology*, 2014. 23(6): p. 567-578.
- [16] Lin, C.-Y. and B.-Y. Lin, Fatty Acid Characteristics of Isochrysis galbana Lipids Extracted Using a Microwave-Assisted Method. *Energies*, 2015. 8(2): p. 1154-1165.
- [17] Liu, S., N. Low, and M.T. Nickerson, Entrapment of flaxseed oil within gelatin-

- polyphenols: Characterization and release kinetics. *Food Chemistry*, 2017. 219: p. 158-168.
- [30] Hu, Z. and Q. Zhong, Determination of thiobarbituric acid reactive substances in microencapsulated products. *Food chemistry*, 2010. 123(3): p. 794-799.
- [31] Wang, Q., et al., Characterization, stability, and in vitro release evaluation of carboxymethyl chitosan coated liposomes containing fish oil. *Journal of food science*, 2015. 80(7): p. C1460-C1467.
- [27] Jónsdóttir, R., M. Bragadóttir, and G. Arnarson, Oxidatively derived volatile compounds in microencapsulated fish oil monitored by solid-phase microextraction (SPME). *Journal of food science*, 2005. 70(7): p. c433-c440.
- [28] Baik, M.Y., et al., Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2004. 81(4): p. 355-360.
- [29] Binsi, P., et al., Structural and oxidative stabilization of spray dried fish oil microencapsulates with gum arabic and sage

## Study physio-chemical characteristics fish oil Nano-capsules and vitamin E produced using a complex conservation technique

Mirzaei, F.<sup>1</sup>, Jafarpour, A.<sup>2\*</sup>

1. M.Sc student, Fisheries Department (Seafood processing), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran
2. Associate Professor, Fisheries Department (Seafood processing), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran

(Received: 2018/09/17 Accepted:2019/01/06)

One of the many ways that encapsulation is used is the complex conservation techniques. The purpose of this study was to evaluate the effect of fish oil percentage (1%, 3% and 5%), total biopolymer percent (1%, 3% and 5%) and homogenizer speed (7000, 9000 and 11000 rpm) on the physicochemical and oxidative stability of produced powders. To this end, the response surface method was used in the central composite design. Optimized emulsion obtained in gelatin and gum coating (1: 1 ratio) contains (fish oil 1%, total biopolymer percent 1%, homogenizer speed 7000 rpm) which and encapsulation efficiency is 97.97%, and in order to evaluate the oxidative stability of the treatments, they were placed at 4 ° C for 3 months. The results of the study showed that by increasing the percentage of fish oil, the powder lightness index  $L^*$  and whiteness decreased and the yellowness index  $b^*$  increased. The results of the study the rate of oxidation showed that thiobarbituric acid (TBA) amount were significantly lower in encapsulated samples than in control samples also, in an encapsulated sample containing vitamin E, the amount of thiobarbituric acid in the first month was significantly lower than the other periods in compared to with the control sample.

**Keywords:** Fish oil, Vitamin E, Physicochemical characteristics, Oxidative stability, Complex Conservation.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: a.jafarpour@sanru.ac.ir