

Changes in the quality (microbial, chemical and organoleptic) properties of the Ship sturgeon (*Acipenser nudiventris*) ovulated caviar during shelf – life

Yousefi Jourdehi, A.^{1*} Monsef Shokri, M.¹, Hallajian, A.¹, Sarpanah, A.¹, Mohseni, M.¹, Sohrabi, T.¹, Ghorbani Vaghei, R.¹, Hosseinnia, E.¹, Pajand, Z.¹, Sayed Hasani, M.H.¹

¹-International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Received: 12 August 2024

Accepted: 21 December 2025

Abstract:

Introduction: Sturgeon salted eggs (Caviar) is one of the most precious foods in the world, which is obtained from sturgeon fish. Sturgeon caviar is one of the best and most delicious fish products in terms of taste and nutritional value. Ovulated eggs have a loose membrane and usually burst. The severe decline in sturgeon stocks, the value of their broodstock, and the need to preserve their genetic resources make it inevitable to prevent the sudden elimination of sturgeon broodstock.

Materials and methods: In this research, first, the ovulated egg (stage V of sexual maturity) was obtained from the breed *A. nudiventris* (10 year - old) through hormone therapy and using the oviduct microincision technique. Then, using different formulas, the ability to return the consistency of the ovulated egg was tested. Finally, 3 formulas include control: common caviar salt + preservative; Treatment 1: common caviar salt + preservative + natural fruit juice; Treatment 2: calcium salt + preservative was considered as the main treatments. Ovulated caviar samples at refrigerator temperature during 6 months of storage at time intervals of 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months in terms of microbial indicators (total microbial count, mold and yeast), chemical (sum of volatile nitrogen bases) (TVB-N), peroxide value (PV) and volatile fatty acids) and organoleptic were evaluated.

Results and Discussion: Based on the results, rheological properties and the hardness of the caviar treated with calcium chloride, it was acceptable compared to control. From the microbial point of view, the number of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulase, *Salmonella*, sulfite-reducing *Clostridium* and *Listeria monocytogenes* in the control and other treatments were negative. Caviar processed with calcium salt had a higher consistency and shelf - life (6 months) than control (3 months). The results of the

chemical indicators showed that the treatment processed with calcium chloride was within the acceptable standard range during 6 months of shelf - life and the caviar processed with this formula was usable. This was while the control treatment and other treatments had a shorter shelf - life. The results of sensory indicators (organoleptic) showed that the caviar processed with calcium salt had more precedence compared to control during the shelf - life of 6 months.

Conclusion: by achieving the desired results, while preventing the killing of sturgeon broodstock during caviar obtaining, it was possible to obtain caviar from them repeatedly. On the other hand, with the availability of hormone therapy techniques and oviduct microincision and the periodicity of the sexual maturation period in sturgeons (approximately every two years), the productivity of sturgeons has increased, and a serious step has been taken towards preserving their valuable stocks. In general, caviar processed with calcium chloride salt had a better quality (reologic, organoleptic, chemical and micobial status) and more shelf - life than control for consuming.

Keywords: Ovulated caviar, microencision, shelf - life, *Acipenser nudiventris*

* *Corresponding Author: masoudian@sanru.ac.ir*

"مقاله پژوهشی"

تغییرات شاخص های کیفی (میکروبی، شیمیایی و حسی) خاویار اووله تاسماهی شپ (Acipenser nudiventris) پرورشی طی دوره ماندگاری

ایوب یوسفی جوردی^{۱*}، مریم منصف شکری^۱، علی حلاجیان^۱، علینقی سرپناه^۱، محمود محسنی^۱، تورج سهرابی^۱، رضا قربانی واقعی^۱، ذبیح اله پزند^۱، اسماعیل حسین نیا^۱، میر حامد سید حسنی^۱

۱ - انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۲

چکیده

تخمک نمک سود شده ماهیان خاویاری (خاویار) یکی از گرانبهاترین مواد غذایی در جهان است. خاویار ماهیان خاویاری از نظر طعم و ارزش غذایی یکی از بهترین و لذیذترین محصولات ماهی است. کاهش شدید ذخایر تاسماهیان و ارزشمند بودن مولدین آنها و لزوم حفظ ذخایر ژنتیکی آنها ضرورت جلوگیری از حذف یکباره مولدین ماهیان خاویاری را اجتناب ناپذیر می نماید. تخمک های اووله غشای سستی داشته و معمولاً می ترکند. در این تحقیق ابتدا تخمک اووله از تاسماهی شپ پرورشی (۱۰ ساله) از طریق هورمون تراپی و با بکارگیری تکنیک ریزبرش مجرای تخمک بر استحصال شد. سپس تخمک های اووله بر اساس روش مرسوم نمک سدیم + نگهدارنده بوراکس (شاهد) و با استفاده از نمک کلسیم + نگهدارنده بوراکس عمل آوری گردید. نمونه های خاویار اووله شده در دمای یخچال (۴- ° درجه سانتی گراد) در فواصل زمانی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ ماه از نظر شاخص های میکروبی (شمارش کل میکروبی، کپک و مخمر)، شیمیایی [مجموع بازهای ازته فرار (TVB-N)، عدد پراکسید (PV) و اسیدهای چرب فرار] و حسی (ارگانولپتیک) مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نتایج، از نظر خاصیت رئولوژیک، دان بندی و سفتی خاویار عمل آوری شده با تیمار حاوی کلرور کلسیم نسبت به شاهد بهتر بود. از نظر میکروبی، اشرشیاکلی، استافیلوکوس اورئوس کوآگولازمیت، سالمونلا، کلستریدیوم احیاء کننده سولفیت و لیستریامونوسیتوزنز در تیمار شاهد و تیمار حاوی نمک کلرور کلسیم مشاهده نشد. براساس نتایج خاویار عمل آوری شده با نمک کلسیم قوام و مدت زمان ماندگاری بیشتری به مدت ۳ ماه نسبت به سایر تیمارها داشت. نتایج شاخص های شیمیایی نشان داد که تیمار عمل آوری شده با کلرور کلسیم طی ۶ ماه ماندگاری در دامنه قابل قبولی قرار داشت. این در حالی بود که تیمار شاهد مدت زمان ماندگاری کمتری (تا ۳ ماه) داشتند. نتایج شاخص های حسی (ارگانولپتیک) نشان داد که خاویار عمل آوری شده با نمک کلسیم از امتیاز بیشتری در مقایسه با شاهد طی مدت زمان ۶ ماه ماندگاری برخوردار بود. در مجموع، خاویار اووله تاسماهی شپ عمل آوری شده با نمک کلرید کلسیم کیفیت مناسب تری نسبت به شاهد برای مصرف داشت. با دستیابی به نتایج مورد نظر، ضمن جلوگیری از کشتن مولدین ماهیان خاویاری حین استحصال خاویار، امکان استحصال چندباره خاویار از آنها فراهم گردید. از طرفی، با در دسترس بودن تکنیک هورمون تراپی و ریزبرش مجرای تخمک بر و تناوبی بودن دوره رسیدگی جنسی در تاسماهیان (تقریباً هر دو سال یکبار) میزان بهره وری ماهیان خاویاری افزایش می یابد.

کلمات کلیدی: خاویار اووله، ریزبرش، زمان ماندگاری، تاسماهی شپ

مقدمه

هدف از تولید خاویار از ماهیان خاویاری پرورشی به عنوان جایگزینی برای خاویار گونه‌های وحشی در حال انقراض می‌باشد و به عنوان معیاری برای حفاظت از آن‌ها استفاده می‌شود. صید بی‌رویه از تقاضای شدید برای خاویار کمیاب و با قیمت بالا ناشی می‌شود و اکنون شواهدی وجود دارد که مولدین ماده در اولین تولیدمثل و حتی در مرحله نابالغ در اکثر مناطق پراکنش ماهیان خاویاری اروپا صید می‌شوند. واضح است که حداقل راه برای جلوگیری از این صید بی‌رویه، تنظیم مقررات بین‌المللی از جمله ممنوعیت تجارت خاویار طبیعی است. در صورت ارائه راه‌های جایگزین برای تولید خاویار، این امر قابل قبول و امکان‌پذیر خواهد بود. یکی از آنها تولید خاویار با کیفیت مطلوب از گونه‌های پرورشی ماهیان خاویاری است (Feizabadi et al., 2009).

خاویار یک ماده غذایی پرانرژی است که طعم و بویی بسیار خوشایند دارد. البته این امری نسبی هست. چیزی که اهمیت دارد، این است که از دیرباز به عنوان یک غذای مغذی و اشرافی در اکثر کشورهای توسعه یافته جایگاهی برای خود اختصاص داده است و نکته مهم‌تر اینکه خاویار ایران به عنوان یکی از برندهای با کیفیت نقش مهمی را در این میان ایفاء می‌کرده است. خاویار به لحاظ میکروبی و شیمیایی دارای فسادپذیری بسیار بالایی می‌باشد. ترکیب خاویار (پروتئین و چربی بالا)، وجود بقایای بافتی در خاویار از عوامل عمده این فساد محسوب می‌گردند. بنابراین، نقش فرایند تولید و بسته‌بندی مناسب در کنترل کیفیت خاویار برجسته‌تر می‌گردد و می‌تواند به عنوان یکی از پایه‌های اساسی در

جلوگیری از فساد خاویار تلقی گردد (Salmani et al., 2009).

کاهش ذخایر ارزشمند ماهیان خاویاری در دریای خزر و جهان، طولانی‌بودن سن خاویاردهی و بالا بودن هزینه پرورش گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری از جمله مهمترین مسائل و مشکلاتی هستند که روش کنونی استحصال خاویار از این ماهیان که بصورت یکباره و با کشتن مولدین آن‌ها انجام می‌شود، را با چالش مواجه می‌سازند. در این راستا، یکی از مهمترین اقدامات علمی و فنی، استحصال تخمک اووله از آن‌ها به روش زنده با بکارگیری تکنیک ریزبرش مجرای تخمک‌بر بدون کشتن آنها می‌باشد. مشکل اساسی تخمک‌های اووله شده نازک‌شدن دیواره تخمک و نداشتن قوام لازم برای تولید خاویار مرغوب می‌باشد.

کاهش شدید ذخایر تاسماهیان و ارزشمند بودن مولدین آنها و لزوم حفظ ذخایر ژنتیکی آنها ضرورت جلوگیری از حذف یکباره مولدین ماهیان خاویاری را اجتناب‌ناپذیر می‌نماید. از لحاظ فیزیولوژیک، تخمک ماهیان خاویاری به پرده تخمدانی چسبیده است و به منظور استحصال خاویار به ناچار اقدام به کشتن ماهیان مولد خاویاری می‌شود که با حذف یکباره ماهیان از چرخه حیات بر خطر انقراض آنها افزوده، و از طرفی هزینه تولید برای پرورش‌دهندگان در شرایط پرورشی را افزایش می‌دهد. امروزه، با داشتن دانش تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری و تکنیک ریز برش مجرای تخمک‌بر امکان استحصال تخمک اووله شده از مولدین ماهیان خاویاری بدون کشتن آنها وجود دارد (Kazemi et al., 2019؛ Koehler, 2017). با انجام این تحقیق و دستیابی به نتایج مورد نظر ضمن جلوگیری از کشتن مولدین ماهیان خاویاری حین استحصال

خاویار امکان استحصال چندباره خاویار از آنها فراهم گردید. از طرفی، با در دسترس بودن تکنیک هورمون‌تراپی و ریزبرش مجرای تخمک‌بر و تناوبی بودن دوره رسیدگی جنسی در تاسماهیان (تقریباً هر دو سال یکبار) میزان بهره‌وری ماهیان خاویاری افزایش یافته، و گامی جدی در راستای حفظ ذخایر ارزشمند آنها برداشته شد.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد نظر از بین مولدین تاسماهی شیب پرورشی تهیه شد. زمان دقیق اوولاسیون کامل، در فواصل زمانی قبل از تزریق با نمونه‌برداری از تخمک ۳ عدد از ماهیان ۱۰ ساله با میانگین وزنی 18 ± 3 کیلوگرم که در مرحله IVc قرار داشتند، و نیز تعیین GV آنها مشخص گردید. به منظور اووله کردن و تخمک‌گیری از مولدین، از هورمون LHRH A₂ استفاده شد (Bahmani et al., 2012). هورمون‌تراپی به‌وسیله LHRH A₂ طی دو مرحله به فاصله ۱۲ ساعت از یکدیگر صورت گرفت. همه مولدین ماده در دو مرحله با فاصله ۶ ساعت و به نسبت ۲۰ درصد به ۸۰ درصد و دوز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن ماهی مورد تزریق هورمون LHRH A₂ قرار گرفتند (Bahmani et al., 2017). پس از اطمینان از اووله شدن تخمک مولدین ماهیان خاویاری، ابتدا با استفاده از تیغ اسکالپل برشی به میزان ۳-۱/۵ سانتی‌متر در ناحیه مجرای اویداکت (لوله تخمک‌بر) شکافی ایجاد نموده و سپس با مالش نرم از ناحیه شکمی ماهی عملیات تخمک‌کشی صورت گرفت (Bahmani, 2005). برای عمل‌آوری تخمک اووله از دو فرمول به شرح ذیل استفاده گردید.

فرمول ۱ (شاهد): عمل‌آوری خاویار اووله‌شده با روش معمول افزودن ترکیب بوراکس و نمک کلرید سدیم ۴/۵ درصد

فرمول ۲: عمل‌آوری خاویار اووله‌شده با ترکیب بوراکس و نمک کلرید کلسیم ۴/۵ درصد

مراحل خاویارسازی از تخمک اووله شده

ابتدا ریزبرش مجرای تخمک‌بر ماهیان با رعایت استاندارد HACCP انجام شد. پس از استحصال تخمک‌های اووله سیال شده و قراردادن آنها در آب سرد یا آب نمک و خارج کردن خونابه و مایعات با غربال، شستشوی خاویار با آب سرد و یخ انجام شد. پس از چکاندن آب با غربال الیافی و مخلوط کردن با مواد نگهدارنده و نمک و نیز رد کردن شوراب مازاد توسط الک مویی و فشار، پرکردن قوطی‌ها با خاویار (قوطی‌زدن خاویار) و بسته‌بندی مجدد تحت خلاء انجام شده، و پس از پاک کردن و برچسب‌زنی، قوطی‌ها در دمای یخچال نگهداری شدند (Motalebi, 2010).

بسته‌بندی مجدد تحت خلاء

قوطی‌های خاویار به منظور افزایش ماندگاری پس از انتقال به شرکت باهو خزر واقع در شهرستان کیشهر استان گیلان مورد بسته‌بندی مجدد تحت خلاء با فشار منفی ۰/۸ میلی‌بار (بسته به نوع و مدل دستگاه متفاوت است) قرار گرفتند. در این فرآیند، هوایی که درون قوطی وجود دارد، کاملاً خارج شده، و عملیات بسته‌بندی در محیط خلاء انجام گردید.

آزمایشات حسی (ارگانولپتیک)

فاکتورهای مورد بررسی جهت ارزیابی حسی شامل قوام و دان‌بندی، شکل ظاهری، طعم و مزه، شوری، بو، و مقبولیت کلی بود. بدین منظور، پس از آموزش‌های مقدماتی، تعداد ۱۵ نفر از محققین و خاویارسازان با سنین بین ۴۰ - ۵۸ سال، با تحصیلات دیپلم تا دکتری و نسبت مرد به زن (۹۰ به ۱۰ درصد) به عنوان ارزیاب انتخاب و با استفاده از روش هدونیک (۵ نقطه‌ای)، نمونه‌های تهیه شده را در بازه‌های زمانی تعیین شده برای آزمایشات حسی مورد ارزیابی قرار دادند. بدین ترتیب که حداکثر نمره ۵ به منزله عالی بودن نمونه و ۱ کمترین نمره که نشان دهنده غیرقابل قبول بودن نمونه بود (Meilgaard et al., 2007). نحوه آزمایش بدین ترتیب بود که در اتاق با شرایط نور معمولی و استریل مقداری خاویار با استفاده از ظروف یکبار مصرف از هر قوطی شیشه‌ای برداشت گردیده تا جداگانه توسط افراد تست شود. به منظور تغییر طعم و مزه در افراد پانل، حد واسط آزمایش هر نمونه از نوشیدن آب گرم استفاده گردید.

روش انجام آزمایشات فیزیکی و شیمیایی

اندازه‌گیری شاخص‌های شیمیایی شامل رطوبت، پروتئین خام، چربی و خاکستر بر اساس روش‌های استاندارد انجام شد (AOAC, 2005).

سنجش بازهای از ته فرار (TVB-N)

ابتدا در یک بالن تقطیر کلدال مقدار ۱۰ گرم نمونه، ۲ گرم پودر اکسید منیزیم، آب مقطر و چند عدد سنگ جوش ریخته شد. در یک ارلن مایر که به عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سردکننده دستگاه تقطیر قرار

می‌گیرد، مقدار ۲۵ سانتی‌متر مکعب محلول اسیدبوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل رد برموکرزول ریخته شد. پس از اتصال به دستگاه تقطیر، محتویات بالن حرارت داده شد تا طی مدت ۱۰ دقیقه به جوش آید و با همین دما عمل تقطیر به مدت ۲۵ دقیقه ادامه یافت. سپس محلول تقطیر شده با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترو گردید و با فرمول $14 \times$ حجم اسید مصرفی = TVB-N بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه گردید (Parvaneh, 1998; Majedi, 1997).

اندازه‌گیری پراکسید

برای اندازه‌گیری پراکسید از روش Lea استفاده گردید (Takagi et al., 1978). که در این روش حدود یک گرم از نمونه خاویار در یک لوله آزمایش خشک و تمیز توزین گردید و یک گرم پوریدور پتاسیم به آن افزوده شد. سپس ۲۰ سانتی‌متر مکعب از حلال (اسید استیک و کلروفرم) به آن اضافه گردید. لوله آزمایش در یک بشر در حال جوش بمدت ۳۰ ثانیه قرار گرفت. سپس محتوی لوله آزمایش دوبار و هر بار با ۲۵ سانتی‌متر مکعب آب شسته و به ارلن مایر اضافه شد. نمونه با محلول هیپوسولفیت سدیم ۱/۵۰۰ نرمال تیترو شده و از چسب نشاسته به عنوان معرف استفاده شد. عدد پراکسید از مقدار هیپوسولفیت سدیم مصرف شده بر حسب سانتی‌متر مکعب بدست آمد. با ضرب کردن عدد حاصل در ۲، عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی والان برای ۱۰۰۰ گرم نمونه محاسبه گردید (Parvaneh, 1998; Borella et al., 2015).

روش اندازه گیری pH

اندازه گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی ۴ Multiline P (WTW) به روش (APHA, 1998) انجام شد.

سنجش درصد جذب نمک

میزان ۵ گرم از نمونه پس از له شدن توسط همزن شیشه ای بوسیله آب مقطر به حجم ۲۵۰ سانتی متر مکعب رسانده شد. پس از ۲۴ ساعت، بعد از هم زدن محلول، مقدار ۵۰ سانتی متر مکعب از آن برداشت گردید و ۰/۵ تا ۱ سانتی متر مکعب کرومات پتاسیم ۵ درصد به آن افزوده شد و با نیترات نقره ۰/۱ نرمال تا پیدایش رنگ آجری سنجش گردید (Parvaneh, 1998). درصد جذب نمک از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد جذب نمک} = 5/85 \times a/b \times 10$$

۵/۸۵: یک میلی لیتر نیترات نقره معادل ۰/۰۵۸۵ گرم کلرور سدیم است.

a: حجم نیترات نقره مصرفی

b: وزن نمونه در ۵۰ سانتی متر مکعب، معادل یک گرم

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا بررسی نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف - اسمیرنوف و همگنی واریانس داده ها با آزمون لون انجام شده و به منظور ارزیابی پارامترهای مختلف شیمیایی و میکروبی در زمان های مختلف ماندگاری از تست های Anova استفاده گردید. جهت مقایسه واریانس ها و ارزیابی معنی دار بودن داده ها، از روش t - test استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ انجام شد.

نتایج

وضعیت دان بندی و ظاهری تیمارهای اولیه

بر اساس نتایج حاصل، وضعیت دان بندی خاویار اووله به شرح جدول ۱ بود.

شاخص های شیمیایی

از نظر تغییرات کمی درصد پروتئین، رطوبت، چربی و خاکستر تفاوت معنی داری بین تیمار آزمایشی و شاهد نشان نداد ($p > 0/05$) (جدول ۲)

جدول ۱: نتایج وضعیت دان بندی و ظاهری خاویار اووله تاسماهی شپ (*A. nusi ventris*) در فرمول های مورد استفاده

Table 1: Results of the grain and appearance status of the ovulated caviar of the Ship sturgeon (*A. nusi ventris*) in the formulas used

Formula	Formula description	Apearance and grain status
1 (Control)	Processing of ovulated caviar using the usual method of adding 4.5% sodium chloride salt and borax	Weak 3 grain
2	Processing of ovulated caviar using a combination of borax and 4.5% calcium chloride salt	It was found to be desirable in terms of grain size and appearance and was considered as a preparation

جدول ۲: نتایج شاخص‌های شیمیایی خاویار اووله تاسماهی شپ (*A. nusi ventris*) تولید شده با روش‌های مختلف

Table 2: Results of chemical indices of ovulated caviar in *A. nusi ventris* produced by different methods

Indices (percent based on wet weight)	Formula 1 (control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)
Moisture	54.1	58.3
Fat	4.51	3.97
Protein	19.90	19.96
Ash	2.88	2.39

شاخص‌های میکروبی

تغییرات شمارش کلی‌فرم در ماه ششم ماندگاری به ترتیب ۱/۵ و ۱/۴ در تیمارهای شاهد و حاوی نمک کلسیم بود. مقادیر رشد کپک و مخمر در پایان ماه ششم ماندگاری به ترتیب ۲/۶ و ۱/۷ لوگ کلنی در هر گرم در تیمارهای شاهد و حاوی نمک کلسیم بود (جدول ۳).

از نظر شمارش کلی اولیه در نمونه‌های خاویار اووله شده بسیار پایین و در حد کمتر از ۱۰۰۰ CFU/gr بود که بیانگر کیفیت مناسب خاویار و رعایت GMP، GHP و HACCP مطلوب در واحد عمل‌آوری خاویار می‌باشد. شمارش کلی نمونه‌های تیمار پس از ۶ ماه ماندگاری در دمای یخچال به ترتیب ۴/۳ و ۴/۱ در شاهد و تیمار حاوی نمک کلرید کلسیم بود که اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) (جدول ۳). بر اساس نتایج

جدول ۳: تغییرات بار میکروبی، شمارش کلی‌فرم، رشد کپک و مخمر خاویار اووله تاسماهی شپ (*A. nusi ventris*) طی ۶ ماه ماندگاری

Table 3: Changes in microbial load, coliform count, mold and yeast growth of *A. nusi ventris* ovulated caviar during 6 months

Indices	Total microbial count (logarithm of colonies per gram)		Coliform count (logarithm of colonies per gram)		Mold and yeast growth (logarithm of colonies per gram)	
	Formula 1 (control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)	Formula 1 (control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)	Formula 1 (control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)
Shelf life (Month)						
1	2.2	2.6	0.2	0.5	1.3	1
2	3.3	3.1	0.3	0.7	1.6	1.1
3	3.38	3.5	0.7	0.9	1.7	1.3
4	4	3.6	1	1	2	1.4
5	4.1	4	1.2	1.3	2.4	1.6
6	4.3	4.1	1.5	1.4	2.6	1.7

تغییرات شمارش اشرشیاکلی، استافیلوکوس اورئوس کوآگولازمیت، سالمونلا، کلستریدیوم احیاء کننده سولفیت و لیستریامونوسیتوزنز در خاویار اووله طی ۶ ماه ماندگاری در دمای یخچال ($4^{\circ}\text{C} - 0$)

بر اساس نتایج حاصل میکروب‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوس اورئوس کوآگولازمیت، سالمونلا، کلستریدیوم احیاء کننده سولفیت و لیستریامونوسیتوزنز در تیمار شاهد و تیمار حاوی نمک کلسیم مشاهده نگردید.

تغییرات pH و درصد جذب نمک

تغییرات مقدار pH به ترتیب ۶/۹۰ و ۶/۹۸ در تیمارهای شاهد و حاوی نمک کلسیم پس از ۶ ماه ماندگاری در دمای یخچال بود. براساس نتایج حاصل روند تغییرات در جذب نمک با گذشت زمان ماندگاری افزایشی بود و در همه تیمارها در ماه ششم نسبت به ماه‌های اولیه نگهداری افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) (جدول ۴).

جدول ۴: تغییرات pH و درصد جذب نمک خاویار اووله تاسماهی شیب (*A. nusi ventris*) در دمای یخچال طی ۶ ماه ماندگاری
Table 4: Changes in pH and percentage of salt absorption in ovulated caviar of *A. nusi ventris* at refrigerator temperature during 6 months of shelf - life

Indices	pH		Salt absorbtion (%)	
	Formula 1 (Control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)	Formula 1 (Control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)
Shelf life (month)				
0	6.06	6	–	–
1	6.13	6.12	3.3	3.4
2	6.38	6.35	3.4	3.4
3	6.56	6.37	3.4	3.6
4	6.73	6.51	3.6	3.6
5	6.84	6.57	3.8	3.7
6	6.90	6.70	3.9	3.9

تغییرات بازهای از ته فرار کل (TVB-N) و عدد پراکسید (PV^2)

نتایج نشان داد که تغییرات TVB-N در تیمار حاوی نمک کلرید کلسیم در مقایسه با شاهد از حد مجاز استاندارد (۱۹/۷ میلی گرم درصد) پایین تر بوده و پس از ۶ ماه ماندگاری قابلیت مصرف داشت. بر اساس نتایج حاصل، تغییرات میزان پراکسید در همه تیمارها با

گذشت مدت زمان نگهداری افزایش تدریجی داشت و بسته به نوع تیمار متفاوت بود. عدد پراکسید در نمونه خاویار اووله عمل‌آوری شده با نمک کلرید کلسیم کمتر از حد مجاز استاندارد (۱۰ میلی‌اکی والان در هزار گرم) در دمای یخچال پس از ۶ ماه نگهداری بود و قابلیت مصرف داشت (جدول ۵).

2.Peroxide Value

جدول ۵: تغییرات کیفیت خاویار اووله تاسماهی شیپ (*A. nusiventris*) در دمای یخچال طی ۶ ماه ماندگاری

Table 5: Changes in the quality of ovulated caviar of *A. nusiventris* during 6 months of storage at refrigerated temperature

Indices Shelf - life (months)	TVB-N (mg/100 g)		PV (meq/1000 g)	
	Formula 1 (control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)	Formula 1 (control)	Formula 2 (treatment containing calcium salt)
1	12.9	12.4	1.1	1
2	14.5	14.3	1.2	1.1
3	15.1	14.7	1.2	1.1
4	15.8	15	1.3	1.2
5	17.4	15.6	1.3	1.3
6	19.8	16.3	1.4	1.3

شاخص‌های حسی (ارگانولپتیک)
 قرار گرفتند. امتیاز ۳ و بالاتر از آن قابل قبول برای
 نمونه‌های خاویار به لحاظ حسی مانند طعم و بو،
 قوام و بافت و پذیرش کلی توسط سیستم پنج نقطه‌ای
 هدونیک (۱ خیلی بد، ... و ۵ خیلی خوب) مورد ارزیابی

جدول ۶: نتایج ارگانولپتیک (حسی) خاویار اووله تاسماهی شیپ (*A. nusiventris*) طی ۶ ماه ماندگاری در دمای یخچال

Table 6: Organoleptic (sensory) results of ovulated caviar from *A. nusiventris* during 6 months of storage at refrigerated temperature

Quality	Smell					Salinity					Taste					Appearance					Grain				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1 month shelf- life																									
Samples	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Control	-	6	7	2	-	1	4	8	2	-	-	6	7	2	-	-	7	6	2	-	6	-	-	8	-
Calcium chloride	-	1	8	2	-	-	3	6	5	1	-	-	7	5	3	-	4	6	4	2	6	3	1	1	5
3 months shelf - life																									
Samples	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Control	15	-	-	-	-	14	-	1	-	-	15	-	-	-	-	14	1	-	-	-	15	-	-	-	-
Calcium chloride	-	-	2	8	5	-	-	2	9	4	-	1	1	8	4	-	-	2	2	11	-	-	3	-	12
6 months shelf - life																									
Samples	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium chloride	-	3	5	1	6	-	6	7	2	1	-	2	2	4	7	-	3	1	5	6	-	1	1	8	4

1 – Unacceptable; 2 – Average; 3 – Good; 4 – Very good; 5 – Excellent

Explanation: The number of panelists was 15.

بحث

خاویار عالی و درجه یک (Imperial) خاویاری است که با توجه به گونه ماهیان خاویاری از تخمک-های مرحله چهار (IV_b) این ماهیان استحصال می شود. ولی هر ساله در فصل صید و تخم ریزی تعدادی از ماهیان در مرحله پنچ (V) رسیدگی جنسی قرار داشته و تخمک های آنها به علت رسیدگی زیاد (سستی غشاء) به مقدار زیادی خاویار فشرده تبدیل می شوند (Zare Gashti et al., 2005) که ارزش تجاری پایین تری نسبت به خاویار معمولی دارد.

در این تحقیق، تخمک های اووله شده از طریق هورمون تراپی از طریق مجاورت بیرونی با استفاده از یکی از مولکول های انتقال دهنده سیگنال که بطور طبیعی در دیواره تخمک رخ می دهد، از قبیل پراکسید هیدروژن و یا کلرید کلسیم تیمار شدند. در این حالت آنزیم اووپراکسیداز (Ovoperoxidase) فعال می شود که باعث شکل گیری و سخت شدن غشای خارج سلولی تخمک می شود. تیمار کاملاً بی ضرر برای سفت کردن تخمک های اووله شده که از نظر قانون غذا مورد قبول باشد، تیمار آنها با استفاده از یک مولکول می باشد که بطور طبیعی در سلول تخمک رخ می دهد که در غیر این صورت متابولیسم نرمال سلول به منظور جلوگیری از پلی اسپرمی اتفاق می افتد. میزان سفتی تخمک از طریق مدیریت زمان قابل تنظیم می باشد. تخمک های سفت شده بطور مصنوعی را می توان زیر میکروسکوپ الکترونی با استفاده از ساختارهای ویژه تشخیص داد و می توان بهتر نگهداری نمود. زیرا این روش علاوه بر اینکه اثرات ضد باکتریایی دارد، بلکه از کریستالیزه شدن تیروزین جلوگیری می کند (Koehler, 2017).

تاکنون تخمک زنده فقط برای اهداف تولید مثلی استفاده می شد. در طی دو دهه اخیر، حجم پرورش ماهیان خاویاری در ایران و جهان بطور معنی داری افزایش یافته است. تعدادی از مزارع ماهیان خاویاری که اقدام به تولید خاویار نموده اند، با مشکلاتی از قبیل عمل آوری خاویار از تخمک های خام اووله شده مواجه هستند. تعدادی از اختلافات اساسی بین خصوصیات تخمک های تولید شده از ماده هایی که به روش کشتار تولید می شوند، وجود دارد که به آنها اجازه مصرف توسط انسان را نمی دهد. این حقیقت که تخمک اووله شده در مرحله IVC رسیدگی قرارداد، برخلاف مرحله IV_b نمی توان از طریق تکنولوژی سنتی عمل آوری نمود. تلاش هایی جهت توسعه یک تکنولوژی برای تولید خاویار از تخمک اووله ماهیان خاویاری طی دو دهه گذشته انجام شده است (Koehler, 2017). همانطور که می دانید تکنیک های سنتی عمل آوری تخمک ماهیان خاویاری شامل کشتن و سلاخی کردن ماهیان ماده، بیرون کشیدن تخمدان ها و عمل آوری و فروش خاویار بود (Zaitsev et al., 2004). با این وجود، تکنولوژی سنتی نمک زدن خاویار برای تولید خاویار از تخمک اووله شده قابل قبول نمی باشد (Ginsburg, 1968).

از طریق ویژگی های لمسی - بصری از قبیل رنگ، شکل و قابلیت ارتجاعی خاویار تولید شده به روش زنده در دو مرحله اول عمدتاً کیفیت مطلوب می باشد. خاویار پمپاژ شده معمولاً در برخی موارد ضعیف، و در برخی موارد همراه با وجود لکه هایی می باشد که از اولین دسته از نظر رنگ روشن تر و از نظر اندازه و بافت ضعیف تر می باشد. چون فرآیند اوولاسیون خاویار جهت جداسازی تخمک ها از قسمت های مختلف

رنگ روشن‌تر، قوام ضعیف و نیز اندازه آن با خاویار معمولی متفاوت است. از آنجایی که، فرآیند اووله‌شدن برای تک تک تخمک‌ها از قسمت‌های مختلف تخمدان با سرعت‌های متفاوتی انجام می‌شود، وضعیت بلوغ آنها در زمان دریافت تخمک متفاوت است، در نتیجه در برخی موارد، تخمک‌های متفاوتی قابل تشخیص است. از یک ماهی ماده، از تخمک‌های تیره کوچک تا روشن بزرگ ممکن است استحصال شود.

نتایج مشاهدات ما با داده‌های قبلی به‌دست‌آمده توسط سایر نویسندگان، که بیان داشتند تخمک‌های اووله شده، معمولاً از نظر اندازه و وضعیت فیزیولوژیکی نه‌تن‌ها در ماهیان مختلف، بلکه در ماهیان مشابه نیز متفاوت است، مطابقت دارد (Dettlaff *et al.*, 1981). وجود انواع تخمک‌های اووله در یک مولد ماده یک ویژگی مشترک ماهی خاویاری است. پدیده کیفیت متفاوت تخمک‌ها نیز به دلیل ویژگی‌های ارثی، شرایط زندگی، تغذیه و بلوغ غیر همزمان تخمدان‌ها، روش‌ها و زمان تخمک‌گذاری است (Dettlaff *et al.*, 1981).

نتایج تحقیق حاضر از نظر روند تغییرات شاخص‌های ماندگاری از قبیل آزمایشات فیزیکی، شیمیایی و حسی (ارگانولپتیک) با نتایج سایر محققین (Zare Gashti, 2005؛ 2010, 2018, Motalebi *et al.*) تقریباً همخوانی داشت. در تحقیق حاضر، نتایج شاخص‌های ماندگاری نشان داد که تیمار عمل‌آوری شده با کلرور کلسیم طی ۶ ماه ماندگاری در دامنه قابل قبولی قرار داشت. این در حالی بود که تیمار شاهد (تیمار عمل-آوری شده با نمک سدیم) مدت زمان ماندگاری کمتری (تا ۳ ماه) داشت. TVB-N به عنوان یکی از شاخص‌های تعیین کیفیت در تازگی خاویار بوده و برابر

تخمدان با سرعت‌های متفاوتی جریان می‌یابد، وضعیت رسیدگی تخمک‌ها در زمان استحصال متفاوت است و در نتیجه در برخی موارد از یک مولد ماده می‌توان تخمک‌های متفاوتی از کوچک تا بزرگ و روشن تا تیره استحصال نمود (Koehler, 2017). نتایج مشاهدات ما مطابق با یافته‌های قبلی توسط دیگر محققین می‌باشد که بیان نمودند تخمک‌های اووله شده معمولاً از نظر اندازه و شرایط فیزیولوژیکی نه‌تن‌ها بین افراد متفاوت است، بلکه در یک فرد نیز متفاوت می‌باشد (Dettlaff *et al.*, 1981). وجود تفاوت در اندازه تخمک‌های اووله شده در ماهی یک ویژگی معمول در ماهیان خاویاری می‌باشد. این پدیده به دلیل کیفیت متفاوت از نظر صفات ارثی تخمک، شرایط محیطی، غذایی و غیرهمزمانی رسیدگی گناد، روش‌ها و دوره زمانی استحصال تخمک می‌باشد (Chebanov and Billard, 2001).

تکنولوژیایی که امکان استحصال خاویار از تخمک‌های ماهیان خاویاری در مرحله V رسیدگی جنسی را که قرن‌ها به روش سنتی تولید می‌شد، را فراهم می‌سازد، استحصال خاویار بدون کشتن آنها می‌باشد. در ارتباط با روش زنده استحصال خاویار و شرایط رو به کاهش ذخایر ماهیان خاویاری در آبهای طبیعی، این تکنولوژی نگرش‌های خوبی برای توسعه تجاری ماهیان خاویاری در آینده فراهم می‌کند (Koehler, 2017; Koehler *et al.*, 2020).

خاویاری که به روش زنده استحصال می‌شود، از نظر ویژگی‌های بصری و لمسی از قبیل رنگ، شکل و خاصیت ارتجاعی، عموماً از کیفیت خوبی برخوردار است. خاویار اووله در برخی موارد نیز نسبتاً ضعیف است. گاهی اوقات با وجود ترشحات خونی و از نظر

عمل آوری خاویارهای آسترا از مولدین تزریق شده و تزریق نشده، فرمول عمل آوری با آب نمک‌های ۵ و ۲۰ درصد، و برای عمل آوری خاویار سوروگا فرمول آب نمک ۵ درصد و نمک خشک خالص بود.

در تحقیق حاضر، شاخص‌های حسی (ارگانولپتیک) از قبیل طعم، مزه، بو، قوام، بافت و غیره خاویار اووله عمل آوری شده با نمک کلرور کلسیم نیز متناسب با تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی طی ۶ ماه ماندگاری در محدوده قابلیت مصرف قرار داشت که می‌تواند به دلیل قابلیت نفوذ بیشتر نمک کلسیم در غشای تخمک در مقایسه با نمک سدیم و در نتیجه افزایش قابلیت نگهداری و مدت زمان ماندگاری آن باشد (Koehler et al., 2020).

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه خاویار اووله شده از نظر قوام، دان‌بندی و بافت با خاویارهای معمولی متفاوت بوده و ضعیف‌تر است، از روش سنتی نمی‌توان برای عمل-آوری آنها به منظور تولید خاویار با دان مناسب و بازاری‌پسند استفاده نمود. در این تحقیق از نمک کلرید کلسیم برای عمل آوری خاویار اووله استفاده شد. بررسی مدت زمان ماندگاری خاویار در قوطی‌های شیشه‌ای واکيوم شده و در دمای یخچال (۴-۰ °C) بیانگر روند تغییرات شاخص‌های ماندگاری همانند خاویار معمولی بوده و در برخی فرمول‌ها حتی مدت ماندگاری بالاتر بود. با توجه به نتایج سنجش شاخص‌های کیفی میکروبی، شیمیایی و حسی (ارگانولپتیک) خاویار اووله تولید شده، قابلیت مصرف را دارد.

استاندارد ملی ایران مقدار مجاز TVB-N حداکثر ۳۰ میلی گرم ازت آزاد در ۱۰۰ گرم خاویار می‌باشد. حد مجاز استاندارد تعیین شده یعنی ۱۰ میلی‌اکی والان در روغن و چربی‌ها می‌باشد (Romeu-Nadal et al., 2007). پراکسید یکی از متابولیت‌های اولیه اکسیداسیون چربی می‌باشد و نقش اساسی را در تجزیه چربی‌ها به ترکیبات کربونیل و سایر ترکیبات ایفاء می‌کند (Jeyakumari et al., 2016). افزایش مقدار pH بیشتر در اثر تولید بازهای فرار و یا در نتیجه آنزیم‌های خودی و یا تأثیر آنزیم‌های میکروبی می‌باشد (Manat et al., 2005). در تحقیق حاضر، مشخص گردید که دامنه تغییرات pH $6/5 \pm 0/4$ می‌باشد که احتمالاً این تفاوت به دلیل یکنواخت نبودن میزان جذب نمک و ماده نگهدارنده می‌باشد (Zare Ghashti et al., 2005).

چربی مواد غذایی در زمان نگهداری علاوه بر اکسیداسیون در اثر هیدرولیز باعث بوجود آمدن اسیدهای چرب آزاد می‌گردد که تجمع این اسید چرب باعث تغییرات بافتی، اکسیداسیون و ایجاد طعم بد در زمان نگهداری مواد غذایی در دمای یخچالی می‌باشد (Sequeira-Munoz et al., 2006). تولید اسید چرب آزاد در اثر هیدرولیز آسید گلیسرول یا اتیل آستر بوده که تأثیر مهمی در کیفیت مواد غذایی دارد. اسیدهای چرب آزاد همچنین بدلیل حساسیت به اکسیده شدن این روند را تسریع می‌کنند (Aubourg, 2001). Zare Gashti و همکاران (۲۰۰۵)، بهینه‌سازی خاویارهای فوق رسیده تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) در زمان تکثیر زمان تکثیر از طریق روش‌های اسمزی و فیزیکی را مورد مطالعه قرار دادند و بیان داشتند که بهترین فرمول برای

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از حمایت‌های
همکاران محترم سپاسگزاری نمایم.

منابع

1. AOAC., 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis (14th) Arlington, VA.
2. Aubourg, S.P., 2001. Fluorescence study of the pro-oxidant effect of free fatty acids on marine lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(4), pp. 385 – 390. DOI: 10.1002/1097-0010(200103)81:4<385::AID-JSFA821>3.0.CO;2-X
3. Bahmani, M., Yousefi, A., Kazemi, R., Pourdehghani, M., Hallajian, A., Dejandian, S., Jalilpour, J., 2012. Biotechnology of breeding, artificial propagation and study of some physiological indicators of Ship sturgeon (*Acipenser nudiiventris*). *Iranian Journal of Fisheries*, 21(3), 1 – 12. (In Persian).
4. Bahmani, M., Yazdani, M.A., Pourali, H.R., Yousefi Jordehi, A., Sharafar Masouleh, A., Pajhand, Z., 2017. Comprehensive Guide to Sturgeon Breeding and Breeding. Ministry of Agricultural Jihad Publications. 400 p.
5. Borella, L., Vasconi, M., Caprino, F., Bellagamba, F., Pazzaglia, M., Moretti, V., 2015. Chemical composition of caviar from farmed sturgeon: Composition between four different species. Conference. ASPA. University of Milan, Italy.
6. Chebanov, M., Billard, R., 2001. The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. *Aquatic Living Resources*, 14(6), pp. 375 – 381. DOI: 10.1016/S0990-7440(01)01122-6
7. Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., Schmalhausen, O.I., 1981. Development of acipenserid fishes. Maturation of oocytes, fertilization, development of embryos and prelarvae. Nauka, Moscow. (in Russian).
8. Feizabadi, Y., Gholamnejad, M., Sadeghi, M., 2009. Study of factors affecting Iranian caviar exports. *Journal of Agricultural Economics Research*, 1(1), pp. 1 – 16. (In Persian).
9. Ginsburg, A.S., 1968. Fertilization in Fishes and the Problem of Polyspermy. Moscow: Nauka. (In Russian).
10. Jeyakumari, A., George, N., Joshy, C.G., Parvathy, U., Zynodheen, A.A., Lalita, K.V., 2016. Effect of chitosan on shelf life of restructured fish products from pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) surimi during chilled storage. *Journal of Food Science and Technology*. Mysore, 53(4). DOI: 10.1007/s13197-016-2174-3
11. Kazemi, R., Hallajian, A., Bahmani, M., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., 2019. Implementation Guide for Artificial Propagation of Sturgeon Fish by Microsection Method. ISBN Publications. Agricultural Education Publication. 20 p. (In Persian).
12. Koehler, A., 2017. Method for processing ovulated eggs of aquatic animals into delicacy foods and ovulated eggs processed using the methods. Patent. 84p.
13. Koehler, A., Lucassen, M., Marx, U., Mathes, M., 2020. Histology and proteins of caviar from immature and from mature and activated eggs of Beluga and Siberian sturgeon under different production conditions. Germany. DOI: 10.13140/RG.2.2.18355.37923.
14. Majedi, M., 1997. Methods of Chemical Testing of Food Materials. Jihad Publishing House. 121 p. (In Persian).
15. Manat, C., Soottawat, B., Wonnop, V., Cameron, F., 2005. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 93(4), pp. 607–617.
16. Meilgaard, M.C., Civille, G.V., Carr, B.T. 2007. Editors. Sensory evaluation techniques. Boca Raton, FL, USA: CRC Press; DOI: 10.1201/b16452.
17. Motalebi, A., 2010. Health and Seafood Industries. Tehran. Iranian Fisheries Research and Education Institute. pp. 89-104. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.10.035

2004. Fish Curing and Processing. University Press of the Pacific. 740 p.

18. Motalabi, M., Bahmani, M., Yousefi Jourdahi, A., Safari, R., Azami, L., Adel, M., Bakhshandeh, T., Pourgholam, M., Jalilpour, J., Ghadiri-Abianeh, M., Yaghoubzadeh, Z., Ahmadi, F., Farahbod Roudbarki, A., Yazdani, M.A., 2018. Investigating the possibility of increasing the shelf life of Siberian sturgeon caviar through packaging with chitosan film combined with lysozyme, acetic acid and natamycin nanoparticles. Final report of the approved research project. Caspian Sea Sturgeon International Research Institute. 72 p. (In Persian).
19. Parvaneh, V., 1998. Quality control and chemical testing of food products. Tehran University Press. 325 p. (In Persian).
20. Romeu-Nadal, M., Chavez-Servin, J.L., Castellote, A.I., Rivero, M., Lopez-Sabater, M.C., 2007. Oxidation stability of the lipid fraction in milk powder formulas. *Food Chemistry*, 100(2), pp. 756-763. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.10.037.
21. Salmani, A., Safari, R., Soltani, M., Tavakoli, H.R., 2009. Growth and toxigenesis behavior of 730 *Clostridium botulinum* type E in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) Caviar prepared 731 with various preservatives. *International Journal of Veterinary Research*, 3, 17-23.
22. Sequeira-Munoz, A., Chevalier, D., LeBail, A., Ramaswamy, H.S., Simpson, B.K. 2006. Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 7, 13-18.
23. Takagi, T., Mitsuno, Y., Masumura, M., 1978. Determination of peroxide value by the colorimetric iodine method with protection of iodide as cadmium complex. DOI: 10.1007/BF02533257
24. Zare Gashti, Q., Kouchakian, A., Shamshirkar, M., Nahavandi, R., Shavar, A. Salmani, A., Majedi, M., Moradi, Y., 2005. Optimization of overripped caviar during propagation through osmotic and physical methods. Final report of the research project. 62 p. (In Persian).
25. Zaitsev, V., Kizevetter, I., Lagunov, L., Makarova, T., Minder, L., Podsevalov, V.,