وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – مرکز تحقیقات آرتمیای کشور

عنوان :

بررسی اثرات حمل ونقل و نگهداری درشرایط منجمد بر روی کیفیت گوشت شاه میگوی دراز آب شیرین

مجری:
علی نکوئی فرد

شماره ثبت
۴۸۵۸۳

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات آرتمیای کشور

عنوان پروژه : بررسی اثرات حمل ونقل و نگهداری درشرایط منجمد بر روی کیفیت گوشت شاه میگوی دراز آب شیرین
شماره مصوب پروژه : ۹۱۱۴۴-۱۲-۷۹-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : علی نکوئی فرد
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : علی نکوئی فرد
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : علی اصغرخانی پور ،عباسعلی مطلبی مغانجوق،داریوش آزادی خواه،یزدان مرادی،سعیدجوان،احدقاسمی،کامران زلفی نژاد،بیژن مصطفی زاده،افشین فهیم،فرحنازلکزایی،فاطمه نوغانی،فرشته خدابنده،صغری کمالی،مینا احمدی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -
محل اجرا : استان آذربایجان غربی
تاریخ شروع : ۹۱/۷/۱
مدت اجرا : ۲ سال و ۲ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال۱۳۹۵
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : بررسی اثرات حمل ونقل و نگهداری درشرایط منجمد بر روی کیفیت گوشت شاه میگوی دراز آب شیرین

کد مصوب : ۹۱۱۴۴-۱۲-۷۹-۲

شماره ثبت (فروست) : ۴۸۵۸۳ تاریخ : ۹۴/۱۱/۸

با مسئولیت اجرایی جناب آقای علی نکوئی فرد دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بهداشت و بیماریهای آبزیان می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فنآوری و فرآوری آبزیان مورد ارزیابی و با رتبه متوسط تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت معاون پژوهشی در مرکز تحقیقات آرتمیای کشور مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱-۱- کلیاتی در مورد شاه میگوی آب شیرین ۳
۱-۲- پراکنش جغرافیایی شاه میگوی دراز آب شیرین براساس تنوع زیستی در جهان ۴
۱-۳- پراکنش شاه میگوی دراز آب شیرین در ایران ۴
۲- محصولات شاه میگوی آب شیرین ۵
۲-۱- انتقال شاه میگوی صید شده(زنده) ۶
۲-۲- فرآوری شاه میگوی آب شیرین ۷
۲-۳- دستورالعمل های HACCP در فرآوری شاه میگوی آب شیرین ۷
۲-۴- جمعیت میکروبی شاه میگوی آب شیرین ۸
۳- موادو روش کار ۱۲
۳-۱- فاز اول ۱۲
۳-۲- فازدوم (بررسی تغییرات در شرایط انجماد) ۱۶
۴- شیوه تجزیه و تحلیل داده ها ۱۸
۵- نتایج ۱۹
۵-۱- نتایج فاز ۱ ..... ۱۹
۵-۲- نتایج فاز۲ ..... ۲۵
۶- بحث ۳۱
۷- نتیجه گیری کلی ۳۴
پیشنهادها ۳۵
منابع ۳۷
چکیده انگلیسی ۴۰

چکیده

این تحقیق جهت مطالعه اثرهندلینگ (حمل زنده) برشاخص های شیمیایی فیله دمی شاه میگوی دراز آب شیرین درطول ۷ روز پس از صید و تغییرات شاخص های شیمیایی و میکروبی در نگهداری فیله دمی (بسته بندی درمجاورت هوا)در دمای ۱۸- درجه سانتی گرادبمدت ۶ ماه بادر نظر گرفتن یک تیمار و ۳ تکرارصورت گرفت.مقایسه نتایج میانگین(خطای استاندارد±) اثر هندلینگ بر روی شاخص های آزمایش شده نشان دهنده کاهش معنی داردرصد(وزن خشک)پروتئین فیله دمی روز۷ (۰/۰۷±۱۳/۸۵) با روز صید(۰/۰۵±۱۶/۱) بود($p<0/05$) ، بطوریکه با افزایش زمان هندلینگ ونگهداری در شرایط حصر میزان پروتئین برحسب وزن خشک کاهش داشت.مقایسه درصد(وزن خشک)کربوهیدرات با روندکاهشی در طول هندلینگ تفاوت معنی داری بین روز اول (۰/۰۰۹±۲/۸) با روز هفتم (۰/۰۰۵±۰/۹) را نشان داد($p<0/05$). درصدرطوبت افزایش معنی دار درطول هندلینگ بین روز۱(۰/۲۴±۷۹/۲)با۷ (۰/۴۱±۸۴)رانشان داد ($p<0/05$).بررسی میانگین ترکیبات شیمیایی همولنف نشان دهنده کاهش معنی دار تری گلسیرید (میلی گرم در دسی لیتر) روز صید(۰/۱۶±۱۴/۳) با روز ۷ (۰/۱۳±۱۱/۷) بود ($p>0/05$) .مقایسه میانگین های(خطای استاندارد±) شمارش کلی باکتریایی (log CFU/g) و باکتری های سرمادوست درزمانهای مختلف نگهداری فیله دمی در دمای ۱۸- درجه سانتی گرادبترتیب اختلاف معنی دار روزاول(۰/۰۰±۳/۴۸)و(۰/۰۰±۱/۰) رانسبت به روز ۱۸۰ (۰/۸۵±۶/۸۶) و(۰/۲۵±۶/۷۵)نشان داد($p>0/05$). مقایسه میانگین(خطای استاندارد±) شاخص های شیمیایی روزاول باروز۱۸۰بترتیب :تیوباربیتوریک اسید(میلی گرم مالون دی آلدئید برکیلوگرم) (۰/۰۷±۰/۱۹)و(۰/۲۵±۱/۴۵)،پراکسید (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم چربی) (۰/۲۱±۰/۸۱)و(۰/۳±۲/۲)، مجموع بازهای نیتروژنی فرار(میلی گرم در۱۰۰گرم فیله)(۱/۰۱±۱۳/۲۱)و(۱/۴۰±۲۶/۶)و اسیدیته (۰/۰۸±۶/۲۶)و(۰/۰۵±۶/۵۵) اختلاف معنی داری را با یکدیگرنشان دادند($p<0/05$).لذا باستناد نتایج شاخص های میکروبی وشیمیایی حداکثر مدت ماندگاری فیله دمی شاه میگوی دراز آب شیرین در بسته بندی در مجاورت هوا حداکثر بمدت ۵ ماه پس از انجماد در دمای ۱۸- سانتی گراد پیشنهاد می شود.

کلمات کلیدی : هندلینگ ، شاه میگو ، کیفیت ، انجماد ،فیله،فساد

۱- مقدمه

سالانه ۱۱۰ هزارتن انواع شاه میگوی آب شیرین (تقریبا 12 گونه) در دنیا صیدتجاری می شودکه دراین میان آمریکا ۵۵ درصد ،چین 36 درصد واروپا واسترالیا هم بخشی از باقی مانده را بصورت فرآوری شده دراختیار مصرف کنندگان قرارمی دهند (Martin et al., 2000). شاه میگوی دراز آب شیرین,(*A.leptodactylus*) بعلت دارا بودن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب امگا 3 مانند ایکوزاپنتاانوئیک اسید و دوکوزاهگزاانوئیک اسید بعنوان یکی از گونه های تجاری به طور گسترده ای در بسیاری از کشورها مصرف دارد .این موجود درکشورهای متعددی به عنوان مثال لهستان، ایتالیا، آلمان، انگلستان، اسپانیا و فرانسه بطور ناخواسته (فرار از مراکز فروش)به منابع آبی راه پیداکرده وجمعیت های مشخصی را برای خود ایجادکرده اند(Harlioğlu, ۲۰۰۴). امروزه این موجوددر 27 کشورجهان یافت می شود که در ۱۴ کشور بصورت معرفی به منابع آبی حضورآنها میسربوده است Skurdal et al) 2002) ,..ارزش بالای تجاری شاه میگو های دراز آب شیرین در اروپا، باعث شده که به عنوان یک تولید مهم اقتصادی مطرح باشد مهمترین کشورهای تولید کننده.*A*.leptodactylus روسیه ، ترکیه، فرانسه و اسپانیا هستندکه تقریباً توانایی تامین همه نیازهای کشورهای اروپای غربی و اسکاندیناوی را دارند(Nekuie Fard et al., 2011).

مصرف کنندکان اروپایی ترجیح می دهند*A.astacus* را که یک گونه اروپایی با ارزش تر نسبت به *A.leptodactylus*است را مصرف کنند. ولیکن*A.leptodactylus* همیشه جایگاه خاص و مهمی را دربین مصرف کنندگان شاه میگو آب شیرین در اروپا دارا است(Harlioğlu,۲۰۰۴) .در چند سال اخیر شیلات ایران فعالیت های چشمگیری در زمینه گسترش آبزی پروری و بویژه صید و بهره برداری از ذخایر شاه میگوی دراز آب شیرین موجود در سد ارس و صادرات آن به خارج از کشور انجام داده است.بطوریکه بیش از ۲۰۰ تن شاه میگو دراز آب شیرین توسط۸ شرکت صیادی،صیدوبه خارج ازکشورصادرمی شودکه موجب ارز آوری متنابهی برای کشورمی شود.

هدف از طراحی و ترویج سیستم عرضه شاه میگو حفظ کیفیت گوشت این آبزی صادراتی ، ایجاد اشتغال در بخش خصوصی و بکارگیری نیروهای متخصص ، ارز آوری و... می باشد. ازجمله مواردی که در سیستم صید تا صادرات باید مورد توجه دست اندرکاران مربوطه قرار گیرد طراحی سیستم نظام مند وحفظ کیفیت محصول تا مصرف کننده است از آنجائیکه این روند زمانبر می باشد شناخت تمامی عوامل دخیل در کاهش کیفی محصول و رفع آن باید مدنظر گیرد.با تمام این اوصاف،دستوالعمل مکتوبی در زمینه شرایط ونحوه نگهداری فیله شاه میگوی دراز آب شیرین براساس عملکرد سیستم صیادی کشور وجود ندارد، لذا نتایج این طرح می تواند نقش مهمی در پیشرفت روشهای نوین مدیریت نگهداری و عرضه شاه میگو دراز آب شیرین با کاهش استرس و ارتقا سطح سلامت مصرف کنندگان و توسعه صادرات کیفی و به تبع آن افزایش ارزآوری و سود اقتصادی بهره برداران و عرضه کنندگان شاه میگو دراز آب شیرین ایفا نماید. ازآنجائیکه فساد در آبزیان وابسته به درجه حرارت و زمان بوده وپراکنش زیادی بین کشورهای تولید و فرآوری کننده ودرخواست کننده وجود

دارد استفاده ازسیستم انجماد، بسته بندی شاه میگو در شرایط خلاء بعنوان فن آوری های کمک کننده جهت افزایش عمرماندگاری و ازفسادشیمیایی،اکسیداسیون و میکروبی محسوب می شود (Gates, 2012).از آنجائیکه تاکنون تحقیقی در خصوص اثرات هندلینگ بر کیفیت شاه میگوی دراز آب شیرین ارس*A.leptodactylus* و تعیین عمر ماندگاری فیله دمی در دمای انجماد 18-درجه سانتی گراد در شرایط بسته بندی درمجاورت هوا صورت نگرفته ، این تحقیق انجام شد تابا تکیه به یافته های آن صادرکنندگان ، توزیع کنندگان و کارخانجات فرآوری و دستگاههای ذی ربط درجهت بهینه سازی روشهای حمل و فرآوری خود برحسب ویژگی های گونه ای بهره برداری لازم را بعمل آورند.

۱-۱- کلیاتی در مورد شاه میگوی آب شیرین

شکل ۱- نمای پشتی شاه میگوی درازآب شیرین دریاچه مخزنی ارس *A. leptodactylus*(Fard *et al*., 2011)

نام شاه میگوی آب شیرین در زبانهای مختلف به اشکال ذیل آمده است:

انگلیسی: کرای فیش ، کراوفیش Crawfish

آمریکایی: کراودد Crawded و احتمالاً نام اصلی آن از اصطلاح فرانسوی ایکرویس Ecrevisse به معنی ساکن در شکاف مشتق گردیده است.شاه میگو آب شیرین به کمک سر و سینه متصل به هم و شکم بندبندش که به رنگ زرد شنی، سبز، سفید صورتی یا قهوه ای تیره است، شناخته می شود. درازای آن تا ۱۵ سانتی متر است (Holdich, 2002).کوچکترین آنها ۲/۵ سانتی مترطول دارد که با نام علمی *Cambarellus diminutus* می باشد و در جنوب شرق ایالات متحده زیست می کند و بزرگترین آنها نیز *Astacopsis gouldi*از تاسمانی است که طول آن به ۴۰cm و وزن آن حدوداً ۳/۵ کیلوگرم یا ۸ پوند است(Holdich, 2002).

۲-۱- پراکنش جغرافیایی شاه میگوی دراز آب شیرین براساس تنوع زیستی در جهان

تا به‌حال بیش از ۶۴۰ گونه از شاه میگو دراز آب شیرین در سرتاسر جهان بجز آفریقا، هند و قطب جنوب شناسایی و مشخص شده‌اند. پراکنش جغرافیایی آن‌ها از آب‌های شور تا شیرین در رودخانه‌ها، آبگیرها، دریاها و آب‌بندها بوده و در مناطق معتدل تا گرم نیمکره شمالی و جنوبی زیست می‌کنند.گرچه پراکنش جغرافیایی شاه میگو دراز آب شیرین در اروپا ، وسیع و زیاد می‌باشد (Lowery & Holdich 1988) ولی تنوع گونه‌ای شاه میگو دراز آب شیرین در اروپا نسبت به سایر مناطق کمتر است. از میان بیش از ۵۰۰ گونه شاه میگو دراز آب شیرین گزارش شده فقط۵گونه*A. pachypus* , *Astropotamobius torretiu*m ،*Astropotamobius torrentinus, A.astacus* ، *Astacus* , *leptodactylus* در اروپا ساکن و بومی بوده وبقیه گونه‌ها معروفی شده می‌باشند.(Holdich 2002b).در طی سال‌های اخیر مطالعاتی در خصوص شناسایی جمعیت‌ها و گونه های مختلف آبزیان ایران صورت گرفته است. در خصوص شاه میگو دراز آب شیرین مشخص شده است شاه میگو دراز آب شیرین(جدول ۱) نواحی شمال ایران بطور یقین متعلق به زیر جنس Astacu(pontastacus)BOTT.1950 است که در حوزه پنتو- کاسپین انتشار دارد.

جدول ۱طبقه بندی جانوری شاه میگوی دراز آب شیرین(برادران نویری، ۱۳۷۶).

Animalia	Kingdom
Arthropoda	Phylum
Crustacea	Subphylum
Crustacea	Class
Malacostraca	Subclass
Decapoda	Order
Pleocyemata	Suborder
Astacidea	Infraorder
Astacoidea	Super family
Astacidae	Family
Astacus	Genus
Leptodactylus (Eschscholtz, 1829)	Species

۳-۱- پراکنش شاه میگوی دراز آب شیرین در ایران

عمده پراکنش گونه اقتصادی شاه میگوی دراز آب شیرین دریاچه سد مخزنی ارس و تالاب انزلی می‌باشد، همچنین دو گونه و یا زیرگونه آن نیز در سواحل و رودخانه‌های واقع در بخش غربی دریای خزر یافت از ایران به اروپا از سال ۱۳۶۴ به تعداد اندک از *A. leptodactylus* می‌شود. هرچند صید و صادرات شاه میگوی تالاب انزلی شروع گردیده است، ولی در حال حاضر تنها منبع صید و صادرات آن سد مخزنی ارس می‌باشدکه از سال

۱۳۷۶ صادرات آن به برخی از کشورهای اروپایی توسط شرکت‌های خصوصی صورت می‌گیرد.گرچه میزان صید و صادرات آن در طول سال‌ها تا به امروز با نوساناتی همراه بوده است. در سال‌های موجود در سد ارس به برخی از منابع آبی *A.leptodactylus* اخیر بر اساس اطلاعات غیر رسمی شاه میگوی دیگر در ۱۳ استان کشور شامل استان‌های آذربایجان غربی، شرقی، اردبیل، زنجان، لرستان، فارس،کهکولیه و بویر احمد، استان مرکزی، اصفهان، ایلام، خراسان، گلستان و کرمان معرفی شدهشاه میگوی دراز آب شیرین (*A. leptodactylus*)تنها گونه از جنسAstacus در ایران می باشدکه از منابع آبهای شیرین داخلی صید می گردد(Nekuie Fard et al.,2011).در بین منابع آبی ،دریاچه مخزنی پشت سد ارس واقع در شهرستان پلدشت از توابع استان آذربایجان غربی زیستگاه اصلی این موجود در ایران است که سالیانه بیش از 200 تن آن به کشورهای اروپایی صادر می شود (Nekuie Fard et al., 2011).

۲- محصولات شاه میگوی آب شیرین

از زمانی که جمعیت شاه میگو در ایالت متحده افزایش یافت تلاش برای تدوین استانداردهایی برای فرآوری و تولید محصولات موردعلاقه از آن آغازگردید. باکتریها میکروارگانیسم هایی هستند که میتوانند بیشترین چالش را در امر فرآوری شاه میگو و نیز انتخاب نوع بسته بندی برای این محصول را ایجاد کنند (Moody, ۲۰۰۰).خوشبختانه پیشرفت در امر علم و تکنولوژی در رابطه با شاه میگو توانسته است بسیاری از مشکلات ناشی از باکتری ها و نیز سموم تولیدی توسط آنها در محصولات فرآوری شده را کاهش دهد.فرآیند طبخ کامل و نیز فرایندهای بسته بندی و نگه داری به طور بالقوه ای میتواند اطمینان خاطر در مصرف کنندگان از لحاظ کیفیت محصول ایجاد کنند . جمعیت قابل صیدشاه میگو در جهان به روش اقتصادی در سال به میزان ۱۱۰۰۰۰ تن می باشد. ایالت متحده ۵۵ درصد ونیز چین ۳۶ درصد این مقدار را تولید می کنند. البته اروپا و استرالیا در تولید شاه میگوی آب شیرین نقش دارند.(Huner, ۱۹۹۱) .گونه ی Procambarus clarkiiگونه ای است که به تنهایی ۷۰ درصد جمعیت اقتصادی شاه میگوهای آمریکای شمالی را تشکیل میدهد(Moody, ۲۰۰۰) . بیشترین حجم فرآوری شاه میگو در آمریکای شمالی در ایالت لویزیانا جهت استخراج و فرآوری گوشت آن انجام می گیرد (Moody, 1994). امروزه علاوه بر انجام کارهایی که بر مبنای همان اعمال گذشته استوار است، تکنیک های فرآوری نیز پیشرفت نموده است. این بخش روی مراحل مختلف فرآوری شاه میگو متمرکز گردیده است.

فیله بخش دمی و انبرک های شاه میگو از نواحی مورد استحصال گوشت در این موجود بشمار می روند.رنگ این گوشت سفید روشن است.موارد مختلفی بر روی طعم ومزه محصول تاثیر گذارهستند (Rutherford et al., 2007).

شاه میگو تقریبا همه چیز خوار بوده و میتوانداز گیاهان و حیوانات مختلفی تغذیه نمایدصید این موجود مانند سایرغذاهای دریایی وابسته به فصل می باشد. به طور کلی دو منبع برای صیدشاه میگو وجود دارد .یکی صید

ازمنابع آبی ودیگری مزارع پرورشی که گونه های دارای رشد سریع را پرورش می دهند (Lilley & Inglis, 1997).

۱-۲- انتقال شاه میگوی صید شده(زنده)

زمانی که شاه میگو به صورت زنده با موفقیت ازآب بیرون کشیده شد بایددر جایی خنک و مرطوب با هوای تازه نگهداری و حمل گردد. بیشتر صیادان شاه میگو را داخل سرد خانه هایی با درجه ی حرارت ۵۰ تا ۴۰ درجه ی فارنهایت (۱۰تا۴ درجه سانتیگراد) نگهداری و حمل شود. سیستم حمل و نقل سرد باعث کاهش استرس ونیز کاهش سوخت وساز بدن شاه میگو گشته ونیمه عمر آن را افزایش می دهد.در اوایل فصل صید انباشتن بیش از اندازه شاه میگو روی هم ممکن است باعث آسیب به شاه میگو گردد.همچنین جعبه ها باید طوری روی هم چیده شوند که هوا بتواند داخل وبینابین آنها چرخش داشته باشدکه این خود عامل مهمی می باشد. شاه میگوها اگر در شرایط مناسب نگهداری شوندمیتوانند چندین روز تا شروع فرآیند فرآوری زنده بمانند(Moody, 2000).

Mcclain در سال ۱۹۹۴ شاه میگوها را در دمای ۴درجه سانتی گراد به مدت ۶ روز زنده نگه داشته و نتایج کار خویش را این گونه گزارش نمود که مرگ و میر طی نگهداری در شرایط سرد ۶/۸۸ و ۱۱/۰۷ در صد و ۱۹/۹۴درصد برای گروه شاهد بود. شاه میگوهایی که طی استرس نگهداری قرار می گیرند نیمه عمر کمتری دارند. این استرس میتواند از چندین عامل ناشی گردد. صید در روزی که دمای هوا زیاد باشد میتواند مرگ ومیر را افزایش دهد. حمل ونقل با کامیون هایی که در معرض هوای آزاد قرار دارند دهیدراتاسیون را افزایش می دهد (McClain et al., 2004).

یکی دیگر از عوامل استرس زا میزان اکسیژن پایین است. شاه میگو در زمانی که داخل تله می افتد ،اگر اکسیژن محلول در آب کم باشد می میرد. یافته های اندکی درباره ی مرگ بر اثر تراکم داخل جعبه های حمل و نقل در دسترس است ولی میتوان این وضعیت را به راحتی کنترل نمود(Moody, ۲۰۰۰). در بهار هر چه قدر تعداد و کمیت شاه میگو افزایش یابد ، کیفیت آن نیز بهبود می یابد. کیفیت شاه میگو به وسیله ی چندین پارامتر ارزیابی می گردد. در زمانهای گذشته طول چرخه ی زندگی شاه میگو طولانی بود ولی در زمان حال اندازه ی شاه میگو کوچکتر شده ولی میزان رشد آن افزایش یافته است. طی این مدت اسکلت خارجی شاه میگو نرم تر شده وآسیب پذیری آن نسبت به نیروهای وارد شده ی خارجی افزایش می یابد. در زمانهای گذشته اسکلت خارجی شاه میگو ضخیم بوده و فیله نمودن آن را سخت می نموده است. بهترین زمان از لحاظ وضعیت اسکلت خارجی برای صید شاه میگو ماههای می و آوریل میباشد. زمانی که اسکلت شاه میگو شروع به سخت شدن می کند نشانگر آن است که فصل صید به اتمام رسیده است (McClain et al., 2004).

۲-۲- فرآوری شاه میگوی آب شیرین

Moody و همکاران در سال ۱۹۸۸پایه گذار اطلاعات مربوط به فرآوری غذاهای دریایی در لویزیانا می باشد.در این ایالت از ۶۷۰ دستور العمل متعلق به فرآوری غذاهای دریایی تعداد ۱۳۰ عدد از آنها مربوط به شاه میگو است.. بیشتر کارگاههای فرآوری شاه میگو دارای ۵بخش هستند . بخش نگهداری و انبار نمودن شاه میگوی زنده ، اتاق پخت، اتاق فیله نمودن، اتاق بسته بندی و بخش انبار وانجماد محصول نهایی. هر یک از بخش ها در محل خود از دیگر بخش ها جدا شده اند (Moody, 2000).

به طور معمول ، بسته بندی گوشت شاه میگو داخل بسته هایی انجام می گیرد که در مقابل هوا غیر قابل نفوذ باشند. گوشت هایی که به صورت یخ زده نگهداری میشوند با استفاده از خلاء بسته بندی می شوند. گوشت هایی که به صورت تازه قرار است استفاده شونددر بسته های پلی اتیلنی بسته بند ی می گردند. زمان لازم برای فرآوری شاه میگو پس از فرآیند پخت تا بسته بندی و نگهدار ی در شرایط ۳۲درجه فارنهایت کمتر از دو ساعت طول می کشد(Moody, ۲۰۰۰). نیمه عمر محصول نهایی بستگی به کیفیت خود شاه میگو و شرایطی دارد که شاه میگو تحت آن شرایط فرآوری شده است . گفته شده است که گوشت با کیفیت میکروبی خوب میتواند از ۷تا ۱۲ روز ماندگاری داشته باشد(Moody, ۲۰۰۰).

Gerdes و همکاران در سال ۱۹۸۹ تاثیر دی اکسید کربن (CO_2) را روی نیمه عمر گوشت شاه میگو را در شرایط نگهداری مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بسته بندی با ۸۰ درصد CO_2 و ۲۰ درصد هوا باعث کاهش شمارش میکروبی شده و در اینگونه بسته بندی سایر پارامترهای شیمیایی بهتر از بسته بندی در ۱۰۰ درصد CO_2ویا ۱۰۰ درصد هوا میباشد. کیفیت بسته بندی ۸۰/۲۰ با کیفیت گوشت تازه مورد مقایسه قرار گرفته است .طی فرآیند انجماد هپاتوپانکراس اکسیده شده وباعث طعم نامطلوب محصول می گردد(Flick et al., 1994).

Moodyو Moertle در سال ۱۹۸۶روی حل این مشکل عمده تحقیقاتی را انجام داده اند. این مهم است که حالت شاه میگو از کارخانه تا محل مصرف به طور یکسان حفظ گردد. طبق تحقیقات انجام گشته منبع صید شاه میگو و فصل صید آن در بهبود کیفیت گوشت منجمد شاه میگو تاثیرگذار است. Marshall در سال ۱۹۸۸ مطالعه مقایسه ای روی کیفیت میکروبی ، روشهای انجماد و درجه ی حرارت نگهداری در حالت انجماد گوشت شاه میگو و نیز قوام ومیزان رطوبت آن انجام داده است (Moody, ۲۰۰۰).

۲-۳- دستورالعمل های HACCP در فرآوری شاه میگوی آب شیرین

اصلی ترین دستورالعمل ها برای تمامی فرآورده های غذاهای دریایی برای ارتقا کیفیت و سلامت آنها ارائه گردیده است. این برای فرآوری هایی که برای غذاهای دریایی آماده ی عرضه ارائه میگردند نیز صدق می نماید. دستور العمل های HACCPبر پایه ی تنظیم سیستم های کارخانه ای و دیگر گروه هایی است که تحت نظارت HACCP اقدام به تائید سلامت و حل مشکلات غذاهای دریایی می نمایند. در دسامبر ۱۹۹۵ معاونت غذا

و داروی ایالت متحده (FDA) اقدام به ارائه راه کار تازه ای نمود و رعایت قوانین HACCPرا اجباری اعلام نمود. (21 CFR Part 123) . HACCP اقدام به تنظیم انواع فرآیندهای فرآوری غذاهای دریایی و در این مورد به خصوص در امر شاه میگو نمود تا انواع فرآیندهای بهداشتی و سلامت به طور کامل رعایت گردد. طی دستور العمل HACCP سیستم فرآوری باید محدوده های کنترل را که این قوانین برای آنها تعیین نموده اند را رعایت نمایند وبه کنترل این محدوده ها (CCPS) گفته میشود. نظارت بر CCPS نیازمند استفاده از امکاناتی برای کنترل دما و زمان است. این اطلاعات در زمان اندازه گیری باید به طور کامل و دقیق ثبت گشته و به FDAگزارش گردند. زمانی که دستورالعمل های HACCP در دسامبر سال ۱۹۹۷ به مرحله ی اجرا در آمدند کارگاهها و کارخانه های فرآوری شاه میگو تغییراتی را در سیستم های فرآوری خود ایجاد نمودند. بعد از اجرای این دستور العمل ها ، کارخانه ها برای بسته بندی گوشت تازه ی شاه میگو به منظور جلوگیری از رشد کلستریدیوم بوتولینیوم از بسته های غیر قابل نفوذاکسیژن استفاده نمودندو بسته بندی در شرایط خلاء همچنان در کارخانه ها انجام میگیرد چون کلستریدیوم بوتولینیوم نمی تواند در دمای انجماد رشد نماید. بیشتر فرآیندهای فرآوری نیز از سیستم سرد کردن شاه میگو بعد از پختن استفاده می کنند . زمان مورد تائید برای سرد نمودن محصولات آبزی چه شاه میگو و چه دیگر غذاهای دریایی آماده ی عرضه به وسیله ی FDA تعیین گردیده است . فرآوری شاه میگو همچنین باید با رعایت کامل شرایط بهداشتی اداره ی استاندارد انجام گردد(Moody, 2000).

۴-۲- جمعیت میکروبی شاه میگوی آب شیرین

میکروب هایی که از شاه میگوی زنده جدا سازی میشوند نشان دهنده جمعیت میکروبی آبی هستند که آن شاه میگو ها از آن منطقه صید میگردند. مطالعات میکروبی بر پایه ی سلامت روی شاه میگوی *P. clarkia* نشان داد که باکتریهایی در آنها حضور داشتند که این باکتریها عبارت بودند از : Coliforms(%100)Coagulase positive staphylococci (%3/0) -Escherichia coli (%92/6)–Fecal streptococci(%94/1)-ونیز مطالعات نشان داد که کلستریدیوم بوتولینیوم نوع Eدر هیچ یک از ۶۶ نمونه ای که از ۲۲ محل صید گردید حضور نداشت . استافیلو کوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس فکالیس و اشرشیا کولای و سالمونلا تایفی موریوم در گوشت پخته ی دمی شاه میگو در دماهای ۲۵و ۳۷ درجه سانتی گراد به خوبی رشد کردند. هیچ یک از ۴ ارگانیسم یاد شده در ۵ درجه سانتی گراد رشد نکرد . کلستریدیوم بوتولینیوم نوع E بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه و بعد از ۳۳ روز در دمای ۵ درجه سانتی گراد در گوشت دمی توکسین تولید نمود . توکسین تا روز ۵۵ در حالتی که گوشت دمی در حالت بسته بندی و در کنار یخ نگهداری شد تولید نگردید در مطالعات تکمیلی بر روی گوشت نگهداری شده در دمای صفرتا ۵ درجه ی سانتی گراد باکتریهای دیگری نیز شناسایی شد (Moody, 2000).سودوموناس ها باکتریهای عمده ی شناسایی شده در دمای ۰ درجه و آکروم باکتر (که به آنها موراکسلا و یا آسینتو باکتر نیز گویند) باکتریهای عمده ی شناسایی شده در دمای ۵ درجه بودند .

طی مطالعات بر پایه ی بسته بندی در شرایط خلا و نیز فرآوری تحت تاثیر اتمسفر تغییر یافته نشان داد که ۲۵ گونه ی باکتریایی از این محصولات قابل شناسایی و جدا سازی هستند .تنها دو گونه باکتریایی بیماری زا از هر دو نوع بسته بندی شناسایی گردید که یکی از آنها آئروموناس هیدروفیلا و دیگری استاف آرئوس میباشد . به گوشت پخته ی دمی شاه میگو ۱۰۰۰ اسپور باکتری کلستریدیوم بوتولینیوم در گرم تلقیح گردیده و به دو روش یاد شده در دماهای ۴و ۱۰ درجه سانتی گراد به مدت بیش از ۳۰ روز بسته بندی و نگه داری گردید . در هیچ یک از بسته بندی ها باکتری طی ۳۰ روز مطالعه شناسایی و جدا ساز ی نگردید . در طی این زمان تمامی نمونه ها به طور کامل فاسد گردید . در مطالعه ای دیگر گوشت دمی شاه میگو به وسیله کلرورین وکلرورین دو اکساید به میزان ۱۰ تا ۴۰ میلی گرم در لیتر با فشار ۶۰۰ psi و بدون این فشار شسته شدند . باکتریهای استاندارد هوازی و نیز سیکرو تروفیک در این گوشت ها جدا سازی و شناسایی گردید. نمونه های شسته شده با کلرورین دو اکساید در حالت شسته شدن با و بدون فشار دارای باکتریهای هوازی و سیکرو ترو فیک کمتری بودند . میزان کاهش ۹۰ تا ۹۹/۹۹٪ ونیز افزایش غلظت ترکیبات کلرورین با هم رابطه ی معنی داری دارند . فشار نیز خواص و تاثیرات مواد را حداقل تا ۵۰٪ افزایش میدهد(Gates, ۲۰۱۲).

لیستریا مونو سایتوژنز میتواند در خانمهای باردار باعث ایجاد لیستریوسیز و نیز پاسخ ها ی خود ایمن فردی و نیز مرگ و میر ۲۰ تا ۳۰ در صدی گردد. باکتری را میتوان از بیشتر محیط اطراف جدا سازی نمود مثل سبزیجات شسته نشده و نیز محیط های آبی . البته خوب پخته شدن باعث از بین رفتن باکتری می شود. این باکتری می تواند به به وسیله دستها و یا دستکشها و یا ابزار فرآوری آلوده به گوشت منتقل گردد. در مطالعه ای که روی گوشت پخته شده دمی ۳۳۷ عدد شاه میگوی انجام شد تعداد ۳۱ عدد از آنها آلوده به لیستریا بودند. اگرچه گونه *L. innocua* گونه ی غالب لیستریا های جداسازی شده بود ولی از آن تعداد نمونه ۳ عدد از آنها که از سطح نمونه برداری شده بودند ونیز تعداد یک عدد از نمونه ی خود گوشت از لحاظ آلودگی به لیستریا مونو سایتوژنز مثبت بودند . گونه ی لیستریا در ۲۹/۵٪ از نمونه های شاه میگوی کامل و ۴/۴ ٪ از نمونه هادر محیط فرآوری مشاهده گردید ولی هیچ یک از نمونه های فرآوری شده کاملا مثبت گزارش نشد . در بین نمونه برداری از محیط فرآوری ۱۵/۴٪ از نمونه های جمع اوری شده از سطح محیط و نیز ۵/۱٪ از دستکش های کارگران و خط تولید از لحاظ آلودگی به لیستریای مثبت گزارش گردیده ولی از سطح خود فراورده هیچ نمونه ی مثبتی یافت نشد. در تحقیق بعدی رشد و زمان ماندگاری لیستریا مونوسایتوژنز در گوشت دمی شاه میگوی پخته در دماهای ۶ و ۱۲ درجه ی سانتی گراد بررسی گردیده است(Gates, ۲۰۱۲).

توقف رشد لیستریا مونو سایتوژنز در دمای نگهداری ۰ درجه سانتی گراد طی ۲۰ روز نگهداری مشاهده شد . در دماهای ۶و ۱۲ درجه سانتی گراد رشد آهسته و تدریجی بدون افزایش لگاریتم رشد مشاهده گردید . زمان تکثیر باکتری در دماهای ۶و ۱۲ درجه طی مدت ۷۲/۲ و ۱۷ و ۶/۹ ساعت بررسی گردیده است (Gates, ۲۰۱۲).

در مطالعه ای دیگر تاثیرات لاکتیک اسید روی رشد و زنده مانی لیستریا مونو سایتوژنز تحت شرایط نگهداری یخچالی و نیز نگهداری در مجاورت گازهای مختلف بررسی گردیده است . نمونه های مورد نظر در غلظت های ۰/۲٪ اسید لاکتیک تحت شرایط بسته بندی باهوا و بسته بندی خلا و بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده (۷۴/۸٪ دی اکسید کربن، ۴ /۱۰٪ اکسیژن و ۱۴/۸٪ نیتروژن) و نگهدار ی در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ روز بررسی گردیده اند. نگهداری در شرایط بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده بیش از نگهداری در خلا و نیز نگهداری در غلظت های ۰/۱ ٪ اسید لاکتیک از رشد لیستریا مونو سایتوژنز جلو گیری نمود . شمارش میکروبی در حالتی که در نگهداری از غلظت ۲٪ اسید لاکتیک استفاده گردیده بود و هیچ تغییری در شرایط بسته بندی ایجاد نگردیده بود انجام گردید . فاز لگاریتمی طی ۸ روز نگهداری در نمونه هایی که در شرایط بسته بندی های ۱٪ اسید لاکتیک و نیز بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده بسته بندی شده بودند بررسی شده و با نمونه هایی که در شرایط خلا و یا بسته بندی با هوا بسته بندی گردیده بودند مقایسه گردید .مطالعه روی اثر اسپری کردن پتاسیوم سوربات و اسید سیتریک روی رشد لیستریا مونو سایتوژنز در گوشت دمی شاه میگوی نگهداری شده در ۴ درجه سانتی گراد نشان دهنده کاهش رشد این باکتری در نمونه ها بوده و به هر حال فاز لگاریتمی در این مطالعه ۲ روز به تعویق افتاد(Thimothe et al., 2002).

Azime Kuçukgul Gulec و همکاران در سال ۲۰۱۲تاثیرات حمل ونقل روی عوامل فیزیولوژیک آستاکوس لپتوداکتیلوس را مورد بررسی قرار دادند.هدف اصلی این تحقیق بررسی تاثیر عوامل استرس زای محیطی مثل حمل و نقل روی پارامتر های همولنفی آستاکوس لپتوداکتیلوس به عنوان یک گونه بیو اندیکاتور می باشد.همولنف آستاکوس لپتوداکتیلوس یک ساعت بعد از تحمیل استرس حمل و نقل گرفته شد.تعداد ۳۰ عدد از نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه دچار استرس حمل و نقل شدند.بعد از این مدت همولنف هر کدام از نمونه ها (در حدود ۰/۴)جمع آوری شد.عوامل فیزیولوژیکی اندازه گیری شده نشان از پاسخ های استرس بر علیه استرس وارد شده در آستاکوس لپتوداکتیلوس می باشد.در شرایط تنش (استرس حمل و نقل)که در این تحقیق از آن استفاده شده است سطح تری گلیسرید های همولنف با هم متفاوت بود و این مطلب نشان دهنده آن است که مقدار سطح تری گلیسرید ها در طی استرس حمل و نقل افزایش می یابد در حالی که پروتعین کل و گلوکوز کاهش می یابد(Gulec et al., 2012).

Yen-chang tsengو همکاران در سال ۲۰۰۵ به بررسی کیفیت عضلات (گوشت) منجمد شاه میگو استرالیایی که در نگه داری آن از آنتی اکسیدان های پیش انجمادی استفاده شده است پرداختند.قسمت دمی خرچنگ در داخل ۰.۰۶ درصد آنتی اکسیدان(tocopherols و propyl gallate و یا عصاره رزماری) و نیز داخل آب قرار گرفته و در دمای زیر بیست درجه سانتی گراد به صورت منجمد نگه داری و انبار گردید.در پایان ماه های ۰ و ۱ و ۳ و ۶ بعد ازشروع نگه داری نمونه عضله سفید دمی به منظور بررسی اکسیداسیون لیپیدی و نیز برای قوام پروتئینی و نیز میزان پخت پذیری آنالیز گردید. شاه میگو هایی که به وسیله آنتی اکسیدان نگه داری شده بودند TBARS

کمتری ($p<۰/۰۵$) را نسبت به گروه کنترل که در آب و بدون مواد آنتی اکسیدان نگه داری شده اند نشان دادند.تغییر شکل در شکل میوزین عضلات دمی شاه میگو در طی ۶ ماه نگه داری در هر دو گروه دیده شد.البته در مقایسه با گروه کنترل در گروهی که آنتی اکسیدان استفاده شده بود میزان TBARS کمتر بوده است.بنابراین نتیجه گرفته اند که استفاده از آنتی اکسیدان ماندگاری شاه میگو را افزایش داده ولی روی قوام تاثیر معنا داری ندارد.

Lyon and Redmann در سال ۲۰۰۰ به بررسی میزان ماندگاری گوشت شاه میگوی پخته در دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی گراد به میزان ۳۰ روز در شرایط بسته بندی خلاء و غیر خلاء پرداخته و در نهایت ۳۱ گونه باکتریایی جدا سازی . شنااسیی شد.میکرو ارگانیسم های شنایایی شده عبارت بودند از:Acinetobacter، Aeromonas ، Peptostreptococcus ، Escherchia، Enterococcus، Enterobacter Pantoea ، Cornebacterium،Flavobacterium ، Seratia، Staphylococcus ، Streptococcus .نیز به منظور بررسی این که آیا اسپور کلستردیوم بوتولینوم نوع E در گوشت شاه میگوکه در یخچال نگه داری می شود می تواند رشد کند یا نه تحقیق دیگری توسط این افراد انجام گرفته است.بدین منظور تعداد ۱۰۰۰ اسپور در گرم کلستردیوم بوتولینوم نوع E به گوشت شاه میگوکه تلقیح شده و در دمای یخچال نگه داری شد.برای نگه داری از آن ها از دو نوع بسته بندی خلاء و غیر خلاء استفاده گردیده و در دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ روز نگه داری شدند. اسپور کلستردیوم بوتولینوم نوع E از هیچ یک از بسته بندی ها طی ۳۰ روز نگه داری جدا سازی نشد (Lyon et al., 2000).

۳- موادو روش کار

عملیات اجرایی پروژه در دو فاز یا مرحله انجام شد :

۱-۳- فاز اول

این مرحله شامل بررسی تغییرات فیزیکی، شیمیایی و میکروبی فیله دمی شاه میگوی دراز آب شیرین طی حمل و نقل زنده از محل صید تا مقصد است.در این مرحله در محل صید (سد ارس- آذربایجان غربی) از شاه میگوهای دراز آب شیرین صید وبسته بندی شده در مرکزفرآوری میکال ماهی نمونه برداری گردیده و میزان : پروتئین، چربی، خاکستر، کربوهیدرات و رطوبت و همچنین سطح گلوکز، تری گلیسیرید فیله دمی و پروتئین کل همولنف در مرکز تحقیقات آرتمیای کشور اندازه گیری شدند. نمونه هایی از شاه میگو در مبدا و مقصد جهت بررسی تغییرات پروفایل اسیدهای چرب طی هندلینگ درپژوهشکده اکولوژی دریای خزرارسال گردید. نمونه برداری بطور تصادفی بوده و تعداد نمونه های بررسی شده در قالب یک تیماردر سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفت (در مجموع تعداد کل شاه میگوهای مورد آزمایش ۳۰ عدد، با سه تکرار ده قطعه ای بود).

۱-۱-۳- آزمونهای شیمیایی

نتایج بر مبنای وزن خشک (پس از خشک کردن نمونه در آون ۱۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت بر اساس استاندارد AOAC۹۲۵/۱۰ گزارش گردید.

۱-۱-۱-۳- اندازه گیری میزان پروتئین

اندازه گیری پروتئین توسط روش کجلدال بر اساس استانداردAOAC ۹۲۰/۸۷ با در نظر گرفتن اندیس۶/۲۵ انجام شد.این روش با ماکرو کجلدال اتوماتیک صورت گرفت که شامل دو مرحله به شرح ذیل می باشد :

الف- مرحله هضم ماده غذایی: مقدار ۲ گرم از نمونه غذایی را به همراه ۸ گرم کاتالیزور شامل ۹۶ درصد سولفات سدیم خشک، ۳/۵ درصد سولفات مس و ۰/۵ دی اکسید سلنیم را پس از توزین به همراه کاغذ صافی در یک بالن هضم منتقل و مقدار ۲۵-۲۰ سی سی اسید سولفوریک غلیظ به آنها اضافه می کنیم. بالن را به دستگاه مخصوص هضم وصل کرده و توسط یک گاز حرارت می دهیم (داخل حباب دستگاه به مقدار ۱/۳ حجم آن سود ۵۰ درصد ریخته تا گازهای متصاعد شده را جذب نماید).

حرارت در ابتدا باید ملایم و کم باشد تا زمانیکه محتوی داخل بالن دیگر کف نکند. آنگاه حرارت را زیاد می کنند تا زمانیکه مایع زلال و بی رنگی (آبی کمرنگ متمایل به سبز که در اثر ماندن تقریبا بی رنگ می شود) حاصل شود. این مرحله اغلب ۳-۲ ساعت به طور می انجامد. این مرحله به دلیل جلوگیری از انتشار گازهای محرک و سوزاننده بایستی در زیر هود شیمیایی انجام شود.

ب- تقطیر ماده هضم شده: پس از مرحله هضم و سرد شدن بالن، در حدود ۲/۳ حجم آن آب مقطر ریخته و تعدادی سنگ جوش به آن می ازاییم. سپس قیف سود ریز دستگاه را از سود ۵۰ درصد پر می کنیم. مقدار ۵۰ میلی لیتر اسید بوریک ۲ درصد را داخل یک ارلن مایر گیرنده (به حجم ۳۰۰ میلی لیتر) ریخته و پس از افزودن ۳ تا ۴ قطره معرف برموکروزول در زیر قیف متصل به دستگاه سرد کننده قرار می دهیم. شیر آب سرد کندانسور را باز می کنیم و همزمان با حرارت دادن بالن تا زمانیکه محتوی بالن بجوش آید از راه قیف سود ریز قطره قطره به آن سود می افزاییم تا رنگ قهوه ای تیره حاصل شود. آنگاه اضافه کردن سود متوقف میشود و حرارت دهی را ادامه می دهیم تا تمام آمونیاک متصاعد شده در ارلن گیرنده جمع شود (معمولا جمع آوری ۲۰۰ میلی لیتر محلول تقطیر شده اطمینان بخش است) در این حال رنگ محتوی ارلن گیرنده برنگ سبز روشن در می آید. سپس ارلن گیرنده را از دستگاه تقطیر جدا کرده و با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر می کنیم تا مجددا رنگ صورتی باز گردد.پروتئین ماده غذایی از رابطه زیر محاسبه می شود .

$$\%protein = \frac{ml \times meqN \times N \times I \times ۱۰۰}{P}$$

Ml= مقدار مصرف اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال

meqN = میلی اکی والان ازت که برابر با ۰/۰۱۴ است

N= نرمالیته محلول اسید سولفوریک

I= ضریب پروتئین

P= مقدار نمونه

۲-۱-۱-۳- اندازه گیری خاکستر

اندازه گیری خاکستر طبق استاندارد AOAC۹۴۲/۴۵صورت گرفت .دراین روش بوته های چینی و درب آن را تا حصول وزن ثابت در داخل کوره ۵۵۰ درجه سانتیگراد قرار می دهیم. سپس آن را به داخل دسیکاتور منتقل و پس از سرد شدن با ترازوی دیجیتالی تا سه رقم اعشار وزن می کنیم. حدود ۵ گرم از نمونه را داخل کروزه منتقل نموده سپس بر روی شعله به قدری حرارت می دهیم تا دیگر دودی متصاعدنگردد. سپس بوته ها را به داخل کوره منتقل می نمائیم و درجه حرارت بوته ها را به تدریج افزایش داده تا به ۵۵۰ درجه سانتیگراد برسد، سپس نمونه ها را ۱۲ ساعت در این دما نگه داشته در صورت بدست آمدن خاکستر سفید کوره را خاموش کرده بوته ها را داخل دسیکاتور سرد نموده سپس با ترازو وزن می نمائیم. درصد خاکستر با فرمول ذیل محاسبه می گردد:

درصد خاکستر = وزن بوته و خاکستر – وزن بوته تقسیم بر وزن نمونه (گرم) ضرب در ۱۰۰

۳-۱-۱-۳- اندازه گیری رطوبت

اندازه گیری رطوبت طبق استاندارد AOAC۹۵۲/۰۸صورت گرفت. ابتدا ظروف اندازه گیری رطوبت (پلیتهای شیشه ای) را به مدت نیم ساعت در آون به دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار می دهیم تا رطوبت آن به طور کامل گرفته شود. سپس آنرا داخل دسیکاتوری که حاوی رطوبت گیر مناسب (سیلیکاژل آبی) است قرار می دهیم تا در دمای محیط سرد شود و آن را با دقت حداقل یک میلی گرم توزین می کنیم. سپس ۱۰ گرم از نمونه ماده غذایی را پس از خرد کردن در داخل ظرف رطوبت گیر ریخته با ترازوی یک هزارم توزین نموده و وزن دقیق آن را یادداشت می کنیم. پتری های محتوی نمونه را برای مدت ۶ ساعت در داخل آورن به دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد قرار می دهیم. پس از این مدت ظرفهای محتوی نمونه را در داخل دسیکاتور سرد نموده توزین کرده و وزن آن را یادداشت می کنیم. این عمل را برای حصول اطمینان تا رسیدن به وزن ثابت تکرار می کنیم. برای محاسبه میزان رطوبت نمونه ماده غذایی از رابطه زیر استفاده می شود :

$$\text{٪ رطوبت} = \frac{(m_1 - m_2) \times ۱۰۰}{m_0}$$

m1= وزن ظرف و نمونه قبل از خشک کردن

m2= وزن ظرف و نمونه بعد از خشک کردن

m0= وزن نمونه

۴-۱-۱-۳- اندازه گیری چربی

چربی به روش هیدرولیز اسیدی مطابق روشAOAC۹۲۲/۰۶ صورت گرفت .در این روش ابتدا ۵ گرم ماده غذایی آماده شده (خشک شده) را دقیقا در کاغذ صافی توزین نموده و داخل کارتوش سوکسله گذاشته و سر آن را پنبه می گذاریم و داخل قسمت استخراج کننده قرار می دهیم. سپس بالن دستگاه را که از قبل در آون ۱۰۵ درجه بخوبی خشک کرده و در دسیکاتور سرد نموده ایم به دقت وزن نمونه و وزن دقیق آن را یادداشت می کنیم. در داخل بالن دستگاه به میزان ۲/۳ اتردوپترول ریخته و به دستگاه وصل می کنیم. شیر آب سرد دستگاه کندانسور را باز کرده و بالن را توسط هیتر پنج شعله حرارت می دهیم (۶۰-۵۰ درجه سانتیگراد) پس از ۸-۶ ساعت بالن را از دستگاه جدا نموده و حلال آن را در بن ماری تبخیر می کنیم و تا حصول وزن ثابت آن را در اتو ۱۰۵ درجه سانتیگراد حرارت می دهیم و پس از سرد کردن بالن در دسیکاتور وزن دقیق آن را یادداشت نموده و درصد چربی را از رابطه زیر محاسبه می شود .

$$\%Fat = \frac{F \times ۱۰۰}{P}$$

F= مقدار چربی در نمونه

P= مقدار نمونه برداشت شده

۵-۱-۱-۳- اندازه گیری کربوهیدرات

اندازه گیری کربوهیدرات طبق استاندارد AOAC۳۲/۳/۵۱صورت گرفت . در این روش از هیدرولیز مقدار معینی از نمونه با استفاده از اسید کلریدریک به کمک حرارت به منظور انحلال تمام مواد تشکیل دهنده گوشت و هیدرولیز کامل مواد نشاسته ای آن، خنک کردن و تنظیم pH و افزودن مواد رسوب دهنده و صاف کردن و تنظیم دوباره pH به میزان متناسب و اندازه گیری قندهای احیا کننده با استفاده از محلولهای فهلینگ است.

- تهیه محلول فهلینگ A: ۳۴/۶۳۹ گرم سولفات مس را توسط آب مقطر به حجم ۵۰۰ سی سی می رسانیم.

- تهیه محلول فهلینگ B: ۵۰ گرم سود خالص MERCK +۱۷۳ گرم تارتارات مضاعف سدیم و پتاسیم را با آب مقطر با حجم ۵۰۰ سی سی می رسانیم .برای اندازه گیری کربوهیدرات ابتدا فیله دمی شاه میگو را چرخ یا رنده کرده تا نمونه همگن شود .از نمونه همگن شده ۱۰ گرم وزن نموده و در بالن ۵۰۰ سی سی می ریزیم ، ۱۰۰ سی سی اسید کلریدریک ۱۵ درصد حجمی را توسط مزور به بالن اضافه کرده وسپس چند عدد پرل یا سنگ جوش به آن اضافه می کنیم . شیر آب متصل به سرد کننده را باز کرده ، بالن را به مبرد آبی وصل کرده و روی اجاق گاز قرارمی دهیم. اجاق را روشن کردن تا محلول درون بالن به جوش آید،حجم محلول نباید تا پایان آزمایش تغییر کند، حداقل باید محلول داخل بالن به مدت یک و نیم ساعت به صورت مداوم بجوشد. بعد ازجوش آمدن اجاق را خاموش کرده تا بالن کاملا سرد شود . بالن را از سرد کننده جدا کرده و محتوی درون بالن را به بشر ۲۵۰ سی سی منتقل می کنیم . الکترود دستگاه pH سنج را داخل محتوی درون بشر قرار داده و قطره قطره سود به آن اضافه می کرده و به هم می زنیم تا pH آن به ۶/۵ برسد . به محتوی درون بشر از محلولهای استات روی فروسیانور پتاسیم به حجم مساوی ۳ سی سی الی ۵ سی سی اضافه کرده و هم می زنیم. به محتوی درون بشر چند قطره معرف فنل فتائلین می ریزیم و با استفاده از دستگاه pH سنج مجددا با سود، pH را به ۸/۳ الی ۸/۵ می رسانیم . محتوی درون بشر را به بالن ژوژه ۲۰۰ سی سی منتقل کرده با آب مقطر به حجم رسانده و به هم می زنیم . قیف را روی ارلن ۲۵۰ سی سی گذاشته، کاغذ صافی را روی قیف می گذاریم , محتوی درون بالن ژوژه را روی کاغذ صافی می ریزیم و صاف می کنیم .محتوی صاف شده را در بورت ۵۰ سی سی ریخته و در ارلن مایر ۲۵۰ سی سی از فهلینگ A و B به نسبت مساوی ۵ سی سی ریخته و حدود ۲۰ سی سی آب مقطر اضافه می کنیم. از محتوی درون بورت حدود ۶-۵ سی سی به محتوی ارلن اضافه کرده و ارلن را روی سه پایه گذاشته و شعله را زیر آن قرار می دهیم .چند قطره معرف متیلن بلو به ارلن اضافه کرده و شیر بورت را باز و قطره قطره به ارلن اضافه می کنیم تا رسوب قرمز آجری رنگ تشکیل شود .پس ازتشکیل شدن رسوبت قرمز آجری شیر بورت را بسته و عدد مصرفی را می خوانیم و بعد همین عدد مصرفی را در فرمول می گذاریم تا مقدار کربوهیدرات به دست آید.

C = مقدار نمونه ×۱۰۰۰ / بر حسب گرم (۱۰۰×A / عیار فهلینگ mg) ×۰/۹

A= ۲۰۰/ عدد مصرفی

C= درصد کربوهیدرات حاصل از مواد نشاسته ای

۶-۱-۱-۳- آزمایشات بیوشیمیایی همولنف

اندازه گیری تری گلیسیرید، گلوکز وپروتئین تام همولنف شاه میگو در مرکز تحقیقات آرتمیای کشور انجام شد. برای این بررسی همولنف توسط سرنگ ۱ سی سی استریل با سر سرنگ به ابعاد۰/۴ × ۲۴ میلیمتر ازقاعده پای پنج حرکتی از سینوس پری کاردیال اخذ گردید سپس بمدت ۱ دقیقه در دور۱۰۳۰۰ سانتریفوژشده و سریعا پلاسمای استخراج شده به دمای زیر ۲۰ درجه سانتی گراد جهت انجام آزمایشات مربوطه انتقال داده شد (Gulec et al., 2012).

۱- اندازه گیری گلوکز

میزان گلوکز همولنف را با استفاده از استاندارد و روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه گیری کرده و میزان آن را بر حسب gr/dl بیان شد(Gulec et al.,2012).

-اندازه گیری تری گلیسیرید

میزان تری گلیسیرید همولنف را نیز طبق استاندارد و با استفاده از روش آنزیمی گلیسروفسفات دهیدروژناز محاسبه کرده و بدست می آوریم، و میزان آن را بر حسب gr/dl بیان شد(Gulec et al.,2012).

-اندازه گیری پروتئین تام

پروتئین تام موجود در همولنف را نیز برابر استاندارد با استفاده از روش رنگ سنجی بیوره به وسیله دستگاه آنالیز بیوشیمی خودکار بدست می آوریم و میزان آن را بر حسب gr/dl بیان شد(Gulec et al.,2012).

۲-۳- فازدوم (بررسی تغییرات در شرایط انجماد)

بررسی تاثیر انجماد وتغییرات مربوط به فساد شیمیایی و میکروبی آن در طول مدت نگهداری در فیله بسته بندی شده در مجاورت هوا درمرکزملی فرآوری آبزیان موسسه تحقیقات علوم انجام شد .

۱۳۰ عددشاه میگوی دراز آب شیرین با وزن متوسط 10±50گرم از دریاچه مخزنی سدمخزنی ارس صیدوسریعا بطورزنده در مجاورت با یخ به مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان ایران(یونیدو)منتقل و پس ازشستشو ،فیله دمی آنهاخارج گردید.وزن متوسط هر فیله دمی۱/۵±۴/۵ گرم محاسبه شد.فیله ها به صورت تصادفی در بسته های ۲۰گرمی از جنس پلی آمیدقرارداده شده وپس از برچسب زنی درمجاورت هوا بسته بندی شدند .نمونه ها به مدت 6 ماه دردمای انجماد18- درجه سانتی گراد نگهداری شدند .برای هر دوره آزمون (۳۰ روزه) یک تیمار

وسه تکرار درنظرگرفته شد.آزمونهای تشخیص فساد شیمیایی و میکروبی در روز صفر(شروع تحقیق) وهر ماه یکباربمدت 6 ماه متوالی انجام گرفت .آزمایشات زمان صفر حدودا ۴ ساعت بعد از اتمام این مراحل انجام شد.

۱-۲-۳- اندازه گیری اسیدیته pH

2گرم از فیله دمی از هر تیمار به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه توسط دستگاه هموژنیزریکنواخت سازی شد سپس اسیدیته نمونه ها با pH مترمدل Metrohm۷۱۳ اندازه گیری شد(Sallamet al., 2007).

۲-۲-۳- اندازه گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار(TVB-N)

۱۰گرم فیله دمی را در یک بالن تقطیر ۱۰۰۰ میلی لیتری قرار داده و 2 گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی لیترآب مقطر به همراه چند عدد سنگ جوش و کمی ضد کف به آن افزوده شد . بالن حرارت داده شد تا به مدت 15 دقیقه به دمای جوش برسد. بخارهای خارج شده از بالن تقطیر مستقیما در داخل ارلن مایری که حاوی 25 میلی لیتر محلول اسید بوریک 2 درصد و چند قطره معرف متیل رد بود، جمع گردید تا این که حجم اسید بوریک و بخارهای میعان یافته در داخل آن به 150 میلی لیتر برسد. رنگ اسید بوریک حاوی معرف متیل رد که در ابتدا به دلیل اسیدی بودن آن قرمز بود، با تجمع بخارهای حاصل از تقطیر به تدریج قلیایی شده به رنگ سبز در آمد .در پایان، محلول حاصل از تجمع بخارهای تقطیر به وسیله اسیدسولفوریک 0.1 نرمال تا رسیدن به رنگپوست پیازی تیتر گردید.مقدار مواد ازته فرار بر حسب میلی گرم درصد گرم نمونه بدست آمد(Parvaneh,۲۰۱۱).

۳-۲-۳- اندازه گیری اندیس تیوباربیوتوریک اسید(TBARS)

به ۱۰ گرم نمونه فیله دمی شاه میگو موجود در یکبالن تقطیر یک لیتری ۹۷.۵ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد وبه مدت 2 دقیقه هم زده شد .سپس 2.5 میلی لیتر اسید کلریدریک 4 مولار به آن افزوده شد .بعد از اضافه کردن چند قطره ضد کف، بالن را حرارت داده تا در مدت 10 دقیقه از زمان جوش50 میلی لیتر مایع تقطیر به دست آید .سپس 5 میلی لیتر از مایع تقطیر با 4 میلی لیتر معرف تیوباربیوتوریک اسید(این معرف با حل کردن ۰.۲۸۸گرم پودر معرف تیوباربیوتوریک اسید در 100 میلی لیتر اسید استیک گلاسیال۹۰ درصد به دست می آید)در یک لوله آزمایش مخلوط شد . لوله های آزمایش که حاوی مایع تقطیر و معرف بودند همراه با لوله شاهد به مدت 30 دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرارگرفتند. بعد از سرد شدن نمونه ها به مدت 10 دقیقه، جذب آنهاتوسط دستگاه اسپکتروفتومتردر مقابل محلول شاهددرطول موج 538 نانومترخوانده شد. مقدار تیوباربیوتوریکاسید بر حسب میلی گرم مالونالدهید در کیلوگرم نمونه بدست آمد (Bottion et al., 1979).

۴-۲-۳- اندازگیری اندیس پراکسید(PV)

برای اندازه گیری پراکسید نمونه روغن استخراج شده شاه میگو از محلول اسیداستیککلروفرم (نسبت اسیداستیک به کلروفرم 3 به۲) استفاده و مقدارید آزادشده با محلول تیوسولفات سدیم۰/۰۱ نرمال تیترگردید(Egan et al., ۱۹۹۰) .

۵-۲-۳- اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید(TBA)

این آزمایش بروش تقطیر و رنگ سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومترانجام می گردد(Tardlarjis et ۱۹۶۰ al,.).

۶-۲-۳- آزمون های میکروبی

۱۰ گرم از فیله دمی در یک کیسه استومیکر قرار داده شد سپس ۹۰ میلی لیتر محلول نمک استریل (۰/۸۵ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) به آن اضافه شد. بعد از هموژنیزه کردن به مدت 1 دقیقه با استفاده از دستگاه استومیکررقتی تا $۱۰^{-۱۰}$ تهیه گشت . یک میلی لیتر از هر رقت برای کشت باکتریها به روش پور پلت درمحیط پلیت کانت آگار قرار گرفت. پلیت کانتهای کشت داده شده مربوط به کل باکترها [1](Total viable counts) بعداز۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی گراد پلیتهای مرتبط با باکتریهای سرمادوست [2](Psychrothrophic counts) بعد از ۱۰ روز انکوباسیون دردمای6 درجه سانتی گراد شمارش شد(Arashisar et al., 2004).

۴- شیوه تجزیه و تحلیل داده ها

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزارMedcalc ورژن ۱۳انجام شد .ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس داده ها با کمک آزمون لون بررسی شد . برای تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه و برای بررسی تفاوت بین میانگین های یک تیمار در زمان های مختلف و بین تیمارهای مختلف در یک زمان از آزمون دانکن استفاده شد . در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر، ۵درصد در نظر گرفته شد(Schoonjans, ۲۰۰۸).

[1] PTC

[2] TVC

۵- نتایج

۱-۵- نتایج فاز ۱

جدول ۲- فاکتورهای مورفولوژیک ووزنی(میانگین ±انحراف از معیار) نمونه های شاه میگوی دراز آب شیرین مورد تحقیق به تفکیک روز(۳۰= تعداد)

روز	میانگین طول±انحراف معیار (میلی متر)	میانگین وزن±انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن گوشت دم و پوسته±انحراف معیار (گرم)	میانگین وزن خالص فیله دمی±انحراف معیار(گرم)
۱	13/39±106/6	7/49±35/05	1/868±7/740	0/913±2/945
۲	107/4±4/04	39/26±3/84	8/66±/88	3/2±۰/984
۳	105/6±7/03	34/74±1/49	7/67±1/34	2/918± ۰/495
۴	106/19±8/7	34/91±5/19	7/708±0/69	2/933±087
۵	106/41±11	34/98±5/02	7/724±1/9	2/938±۰/954
۶	105/98±5/4	34/84±5/08	7/693±1/647	2/927±۰/198
۷	107/02±4/1	35/18±6/57	7/768±1/131	2/955±۰/884

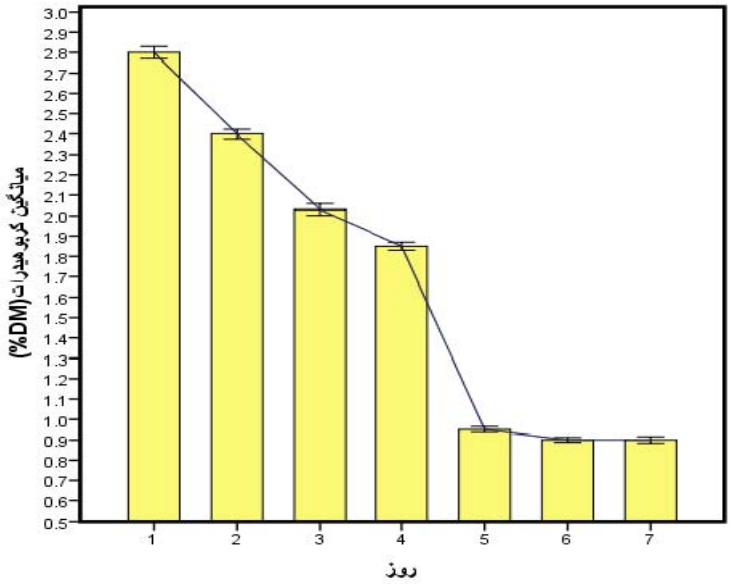
طبق نتایج بدست آمده میانگین وزنی نمونه های صید شده در محدوده ۳۵ الی ۳۹ گرم و وزن خالص فیله دمی(±انحراف معیار) شاه میگوها حداکثر ۳/۲±۰/۹۱۳ و حداقل ۲/۹۱۸±۰/۴۹۵ گرم بود که اختلاف معنی داری را بین روزهای مختلف نگهداری نشان نداد($p<۰/۰۵$).میانگین (انحراف معیار±) مشخصات بیومتری نمونه های بررسی شده درجدول ۲ آورده شده است.

جدول ۳ مقایسه ترکیب شیمیایی (میانگین± خطای استاندارد) بافت فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین ارس در روزهای مختلف تحقیق(تعداد=۳۰)

روز	رطوبت (درصد)	کربوهیدرات (درصد وزن خشک)	چربی (درصد وزن خشک)	پروتئین (درصد وزن خشک)
1	79.2±0.24[a]	2.8±0.009[a]	0.6±0.002[a]	16.1±0.05 [a]
2	81.06±0.21[b]	2.4±0.006[b]	0.56±0.001[b]	14.96±0.04[b]
3	82±0.34[b]	2.03±0.008 [c]	0.52±0.002[c]	14.5±0.06[c]
4	82.3±0.25[b]	1.85±0.006[d]	0.5±0.002[d]	14.41±0.04[c]
5	83.41±0.37[c]	0.95±0.004[e]	0.49±0.002[e]	14.23±0.06[d]
6	83.6±0.32[c]	0.9±0.003[f]	0.49±0.002[e]	14.1±0.05[d]
7	84±0.41[c]	0.9±0.005[f]	0.43±0.002[f]	13.85±0.07[e]

حروف یکسان نشان دهنده غیرمعنی داربودن وحروف غیریکسان نشان دهنده معنی داربودن است(**p**<۰/ ۰۵)

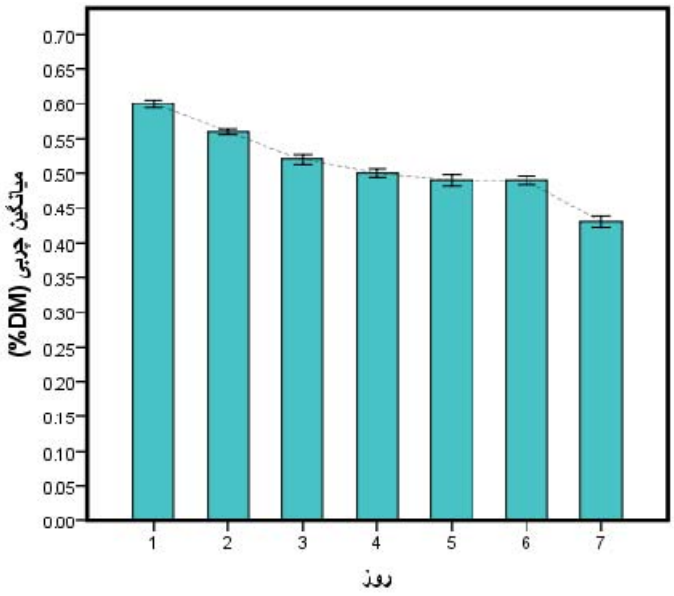
۱=روز صید،۷= روز صادرات،۳ تکراردر۳گروه ۱۰ قطعه ای



نمودار ۱ مقایسه میزان کربوهیدرات براساس درصد وزن خشک(میانگین± خطای استاندارد) بافت فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین ارس در روزهای مختلف تحقیق(تعداد=۳۰)

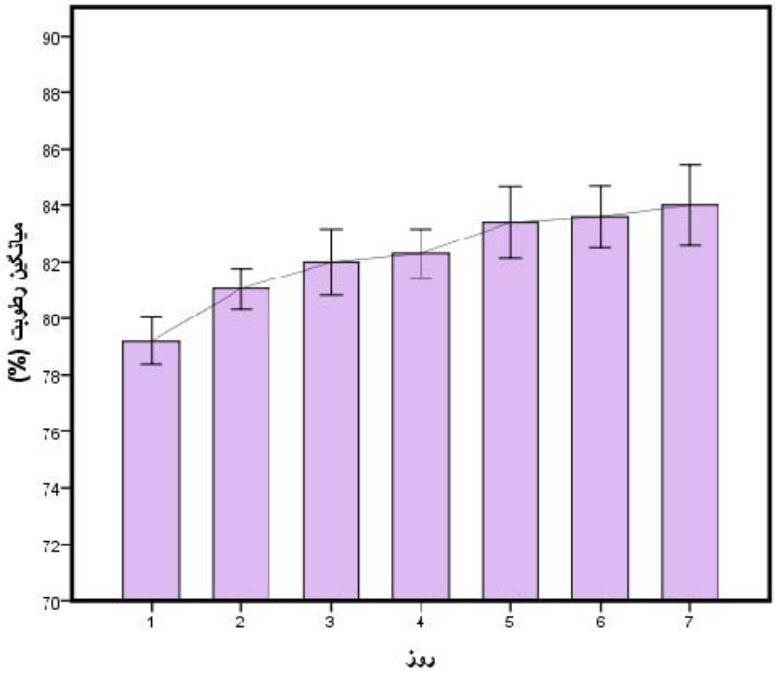
مقایسه میانگین درصد کربوهیدرات فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین در طول هندلینگ(جدول ۳) نشان دهنده روند کاهشی این شاخص در تمامی روزهای هندلینگ(نمودار۱) بوده بطوریکه از ۲/۸±۰/۰۰۹ در روز اول به ۰/۹±۰/۰۰۵ درصد کاهش یافت که نشان دهنده اختلاف معنی دار در تمامی روزها بود(p<۰/ ۰۵).

مقایسه میانگین درصد چربی فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین در طول هندلینگ(جدول ۵) نشان دهنده سیر نزولی این شاخص درطول روزهای هندلینگ(نمودار۲) بوده بطوریکه از ۰/۶±۰/۰۰۲ در روز اول به ۰/۴۳±۰/۰۰۲ درصد کاهش یافت که نشان دهنده اختلاف معنی دار در تمامی روزهای هندلینگ را نشان داد (p<۰/ ۰۵).



نمودار ۲مقایسه میزان چربی براساس درصد وزن خشک(میانگین± خطای استاندارد) بافت فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین ارس در روزهای مختلف تحقیق(تعداد=۳۰)

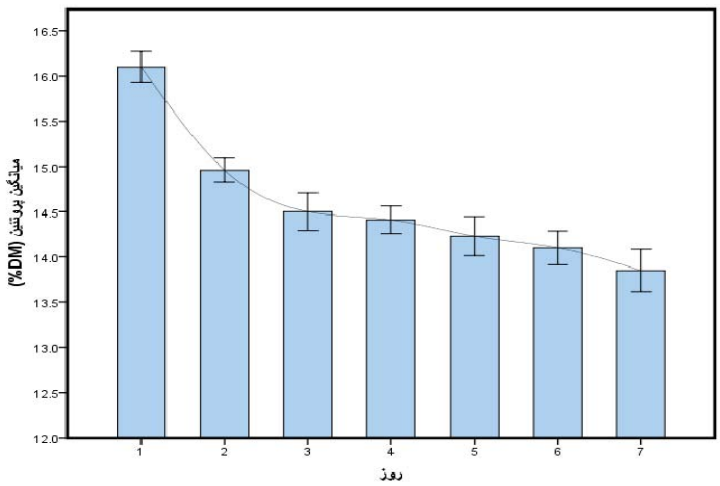
مقایسه درصدمیانگین رطوبت (جدول ۳) در نمونه های بررسی شده نشان دهنده اختلاف معنی دار روز اول با سایرروزها بود (p<۰/ ۰۵). مقایسه میانگین این شاخص در روزهای ۲ الی ۴ و روزهای ۵الی ۷با یکدیگر (نمودار ۳) اختلاف معنی داری را نشان نداد(p>۰/۰۵) . روند افزایشی رطوبت فیله در طول هندلینگ اختلاف معنی داری بین روزهای یک۷۹/۲±۰/۲۴ با هفتم ۸۴±۰/۴۱ را نشان داد (p<۰/ ۰۵).



نمودار ۳ مقایسه میزان رطوبت (میانگین± خطای استاندارد) بافت فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین ارس در روزهای مختلف تحقیق(تعداد=۳۰)

مقایسه میانگین درصد پروتئین فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین در طول هندلینگ(جدول ۳) نشان دهنده سیر نزولی این شاخص درطول روزهای هندلینگ(نمودار۴) بوده بطوریکه از ۰/۰۵±۱۶/۱ در روز اول به ۰/۰۷±۱۳/۸۵ درصد ماده خشک کاهش یافت که نشان دهنده اختلاف معنی دار در تمامی روزهای هندلینگ بود (p<۰/ ۰۵).

نمودار ۴ مقایسه میزان پروتئین براساس درصد وزن خشک(میانگین± خطای استاندارد) بافت فیله دمی شاه میگوی درازآب شیرین ارس در روزهای مختلف تحقیق(تعداد=۳۰)



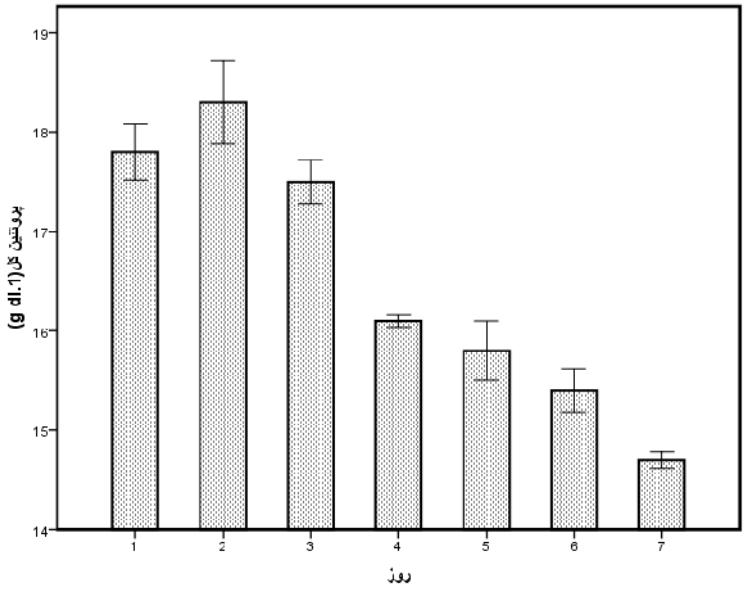
جدول ۴ مقایسه مقدارپروتئین کل ،گلوکز و تری گلیسرید(میانگین±خطای استاندارد)همولنف نمونه های شاه میگوی درازآب شیرین(*A. leptodactylus*) درروزهای مختلف تحقیق

روز	پروتئین کل (میلی گرم در دسی لیتر)	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)
۱	17.8±0.08 [a]	10.1±0.47 [a]	14.3±0.16 [a]
۲	18.3±0.12 [b]	13.95±0.06 [b]	13.2±0.08 [b]
۳	17.5±0.06 [a]	12.11±0.35 [c]	12.9±0.21 [b]
۴	16.1±0.02 [c]	11.42±0.17 [c]	12.8±0.09 [b]
۵	15.8±0.09 [c]	9.75±0.07 [a]	12.5±0.36 [b]
۶	15.4±0.06 [d]	805±0.06 [d]	12.2±0.31 [b]
۷	14.7±0.02 [e]	7.8±0.36 [d]	11.7±0.13 [c]

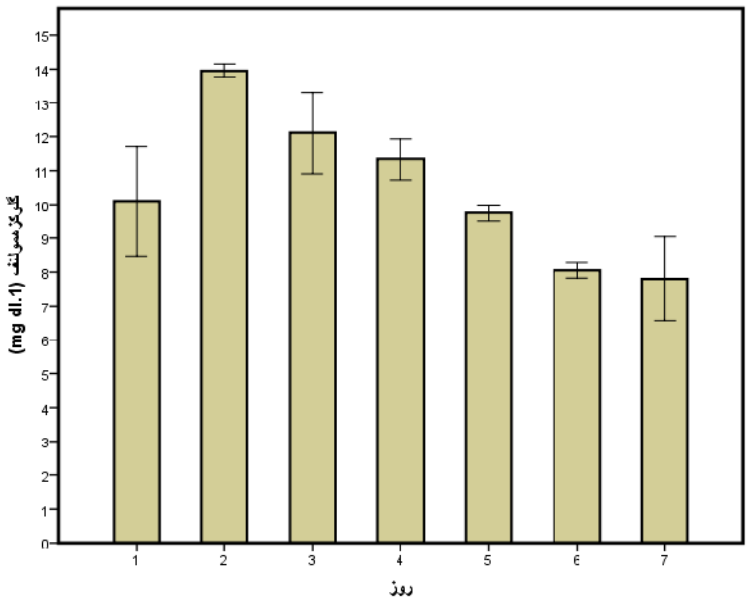
تعدادنمونه هرروز (۳۰ قطعه)، ۱= روزصید،۷= روزصادرات

حروف یکسان نشان دهنده غیرمعنی داربودن وحروف غیریکسان نشان دهنده معنی داربودن است(**p**<۰/ ۰۵)

مقایسه میانگین پروتئین تام (میلی گرم در دسی لیتر) همولنف شاه میگوی دراز آب شیرین در طول روزهای مختلف هندلینگ(جدول ۴) با روند کاهشی اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان دادند (p<۰/ ۰۵) بطوریکه این شاخص در روز اول ۰/۰۸±۱۷/۸ و در روز هفتم ۰/۰۲±۱۴/۷ بدست آمد (نمودار۵).



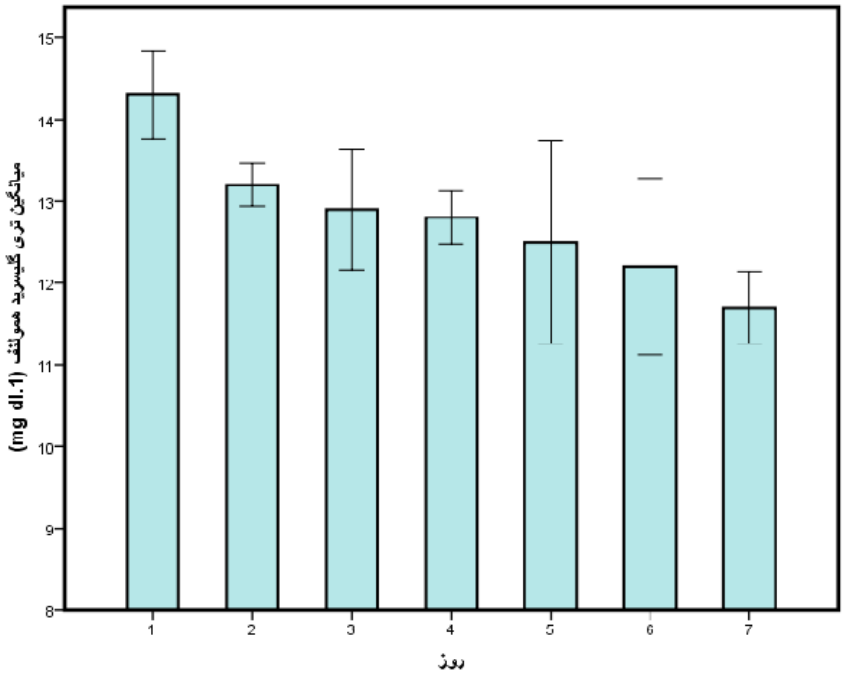
نمودار ۵ مقایسه مقدارپروتئین کل(میانگین± خطای استاندارد)همولنف نمونه های شاه میگوی درازآب شیرین(*A. leptodactylus*) درروزهای مختلف تحقیق



نمودار ۶ : مقایسه مقدار گلوکز(میانگین±خطای استاندارد)همولنف نمونه های شاه میگوی دراز آب شیرین *(A. leptodactylus)* درروزهای مختلف تحقیق

مقایسه میانگین گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) همولنف شاه میگوی دراز آب شیرین در طول روزهای مختلف هندلینگ(جدول ۴) با روند کاهشی اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان دادند (p<۰/ ۰۵) بطوریکه این شاخص در روز اول ۰/۴۷±۱۰/۱ و در روز هفتم ۰/۳۶±۷/۸ بدست آمد (نمودار۶).

مقایسه میانگین تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر) همولنف شاه میگوی دراز آب شیرین(جدول ۴) روز اول ۰/۱۶±۱۴/۳ با روز هفتم ۰/۳۱±۱۱/۷ اختلاف معنی داری را بایکدیگر نشان داد(p<۰/ ۰۵). مقایسه میانگین این شاخص(نمودار ۷) در روزهای ۲الی ۵ اختلاف معنی داری بایکدیگر نشان نداد (p>۰/ ۰۵) ولی روزهای ذکر شده با روز اول وهفتم اختلاف معنی داری را نشان دادند(p<۰/ ۰۵).



نمودار ۶ مقایسه مقدارتری گلیسرید(میانگین±خطای استاندارد)همولنف نمونه های شاه میگوی درازآب شیرین(*A. leptodactylus*) درروزهای مختلف

۲-۵- نتایج فاز۲

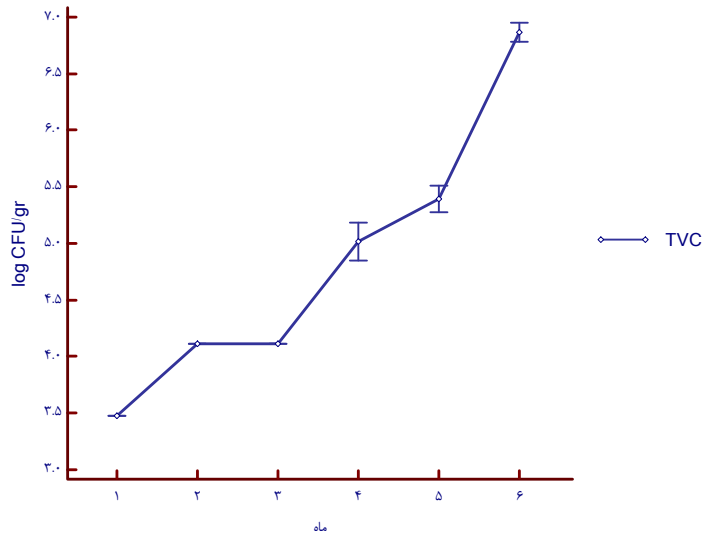
۱-۲-۵- آزمون های میکروبی

جدول ۵ مقایسه تغییرات(میانگین ± خطای استاندارد)اندیسهای کیفی میکروبی فیله منجمد شاه میگو درطول دوره آزمون

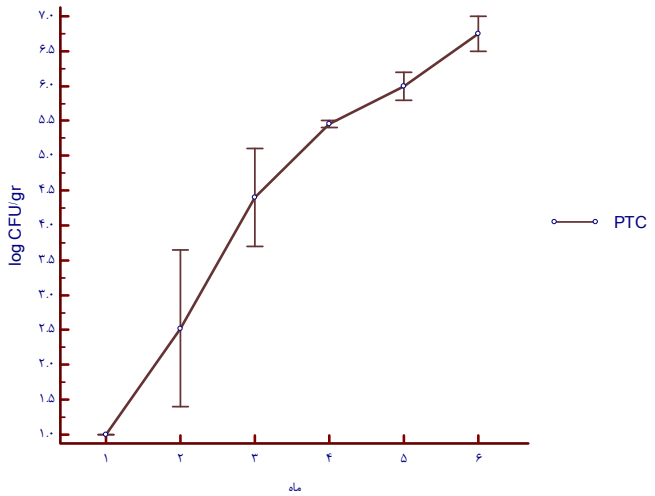
ماه / آزمون	۱		۲		۳		۴		۵		۶	
	میانگین	± خطای استاندارد	میانگین	± خطای استاندارد	میانگین	± خطای استاندارد	میانگین	± خطای استاندارد	میانگین	± خطای استاندارد	میانگین	± خطای استاندارد
PTC (log CFU/g)	1.000	0.0000	2.525	1.1250	4.400	0.7000	5.450	0.05000	6.000	0.2000	6.750	0.2500
TVC (log CFU/g)	3.480	0.0000	4.110	0.0000	4.110	0.0000	5.015	0.1650	5.395	0.1150	6.865	0.08500

مقایسه میانگین های TVC درزمانهای مختلف نگهداری عدم اختلاف معنی دار($p<۰/۰۵$) در زمانهای صفر و ماه اول و اختلاف معنی دارآن از ماه سوم تاپایان دوره با تمامی تیمارها را نشان داد($p<۰/۰۵$) بطوریکه در ماه ششم این مقداربه۰.۸۵±۶.۸۶(log CFU/g) رسید(جدول ۵و نمودار ۸).

مقایسه میانگین های PTC درزمانهای مختلف نگهداری عدم اختلاف معنی دار($p>۰/۰۵$) در زمانهای صفر و ماه اول و اختلاف معنی دارآن از ماه سوم تاپایان دوره با تمامی تیمارها را نشان داد($p<۰/۰۵$). بطوریکه در ماه ششم این مقداربه۰.۲۵± ۶.۷۵(log CFU/g) رسید(جدول ۵ و نمودار ۹).



نمودار ۷ تغییرات اندیس شمارش کلی میکروبی(میانگین ± خطای استاندارد)فیله شاه میگوی دراز آب شیرین درطول مدت آزمون



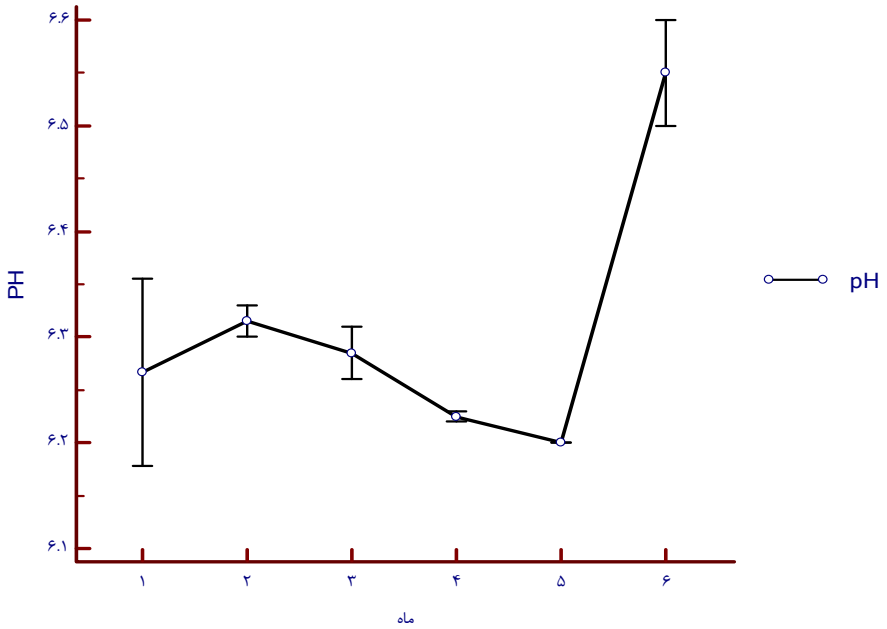
نمودار ۸ تغییرات اندیس باکتری های سرما گرا(میانگین ± خطای استاندارد)فیله شاه میگوی دراز آب شیرین درطول مدت آزمون

۲-۲-۵- آزمون های شیمیایی

جدول ۶: مقایسه تغییرات(میانگین ± خطای استاندارد)اندیسهای شیمیایی فیله منجمدشاه میگو درطول دوره آزمون

ماه / آزمون	۱		۲		۳		۴		۵		۶	
	میانگین	خطای استاندارد ±	میانگین	خطای استاندارد ±	میانگین	خطای استاندارد ±	میانگین	خطای استاندارد ±	میانگین	خطای استاندارد ±	میانگین	خطای استاندارد ±
pH	6.267	0.08819	6.315	0.01500	6.285	0.02500	6.225	0.005000	6.200	0.0000	6.550	0.05000
TBA (میلی گرم مالون دی آلدهیددرکیلوگرم بافت فیله دمی شاه میگو)	0.190	0.07000	0.395	0.01500	0.475	0.05500	0.770	0.03000	0.935	0.03500	1.450	0.2500
TVB – N (میلی گرم در۱۰۰ گرم فیله دمی شاه میگو)	13.210	1.0126	15.115	0.01500	15.295	0.01500	16.770	1.4300	19.600	0.0000	26.600	1.4000
PV (میلی اکی والان O_2 درکیلوگرم چربی شاه میگو)	0.815	0.2150	1.105	0.005000	1.140	0.02000	1.220	0.06000	1.300	0.0000	2.200	0.3000

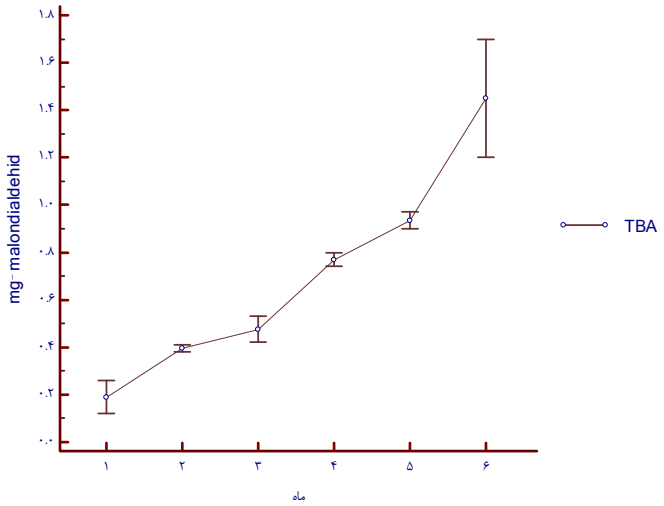
مقایسه نتایج بدست آمده از تغییرات اسیدیته فیله شاه میگوی دراز آب شیرین در طول نگهداری درشرایط انجماد(نمودار۱۰) نشان دادکه زمان صفرتا ماه پنجم نگهداری اختلاف معنی داری را با یکدیگرنداشتند($p>۰/۰۵$).ولی از ماه ششم این مقدار(میانگین ± خطای استاندارد)۰.۵±۶.۵۷ افزایش معنی داری($p<۰/۰۵$) راباسایردوره های آزمون نشان داد (جدول۶).



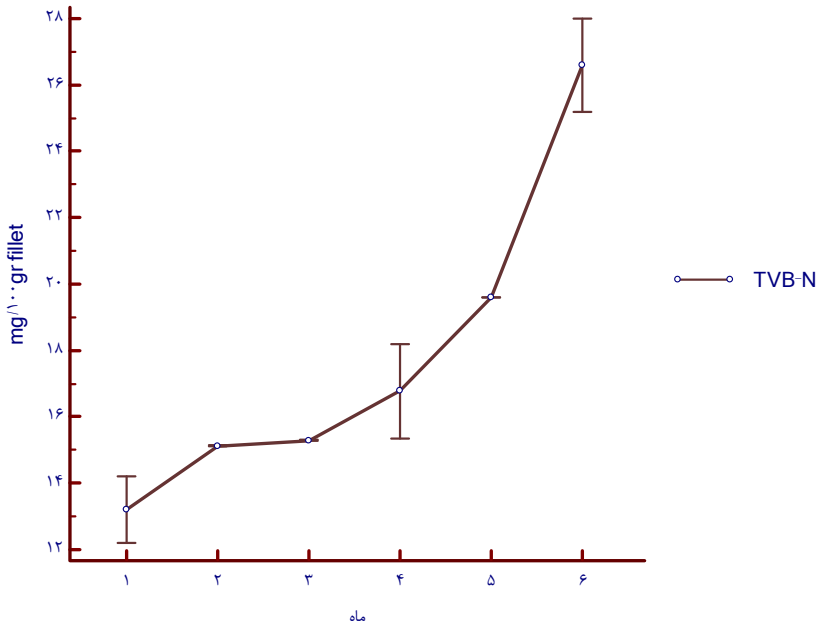
نمودار ۹- تغییرات اندیس اسیدیته (میانگین ± خطای استاندارد)فیله شاه میگوی دراز آب شیرین درطول مدت آزمون

در تحقیق حاضرمیزان تیوباربیتوریک اسیدTBARS با گذشت زمان در نمونه های منجمد شده طی مدت نگهداری افزایش داشت (نمودار۱۱). این میزان در زمان صفر اختلاف معنی داری را با سایر دوره های آزمون نشان داد($p<۰/۰۵$). مقایسه نتایجTBARS در دوره های مختلف آزمون نشان دادکه ماههای ۱ تا ۳ با یکدیگر. اختلاف معنی داری نداشتند($p<۰/۰۵$)ولی از ماه چهارم به بعد اختلاف معنی داری را با یکدیگرنشان دادند($p<۰/۰۵$). بطوریکه در پایان دوره نگهداری به(میانگین± خطای استاندارد)۰.۲۵± ۱.۴میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم رسید(جدول۶).

بررسی نتایج حاصل ازآزمایشات مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)نشان دهنده افزایش این معیاردرطول نگهداری دردمای انجمادبود(نمودار ۱۲). بطوریکه زمان صفرباتمامی زمانها اختلاف معنی داری داشت ($p<۰/۰۵$) .نتایج بدست آمده درماههای دوم تا چهارم با یکدیگر اختلاف معنی داری را نداشتند($p>۰/۰۵$).از ماه پنجم باروند صعودی اختلاف معنی داری($p<۰/۰۵$) با سایر دوره های آزمون مشاهده شد .بطوریکه در ماه ششم به بالاترین میزان خود(میانگین ± خطای استاندارد)۱.۴±۲۶.۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم فیله شاه میگورسید (جدول۶).



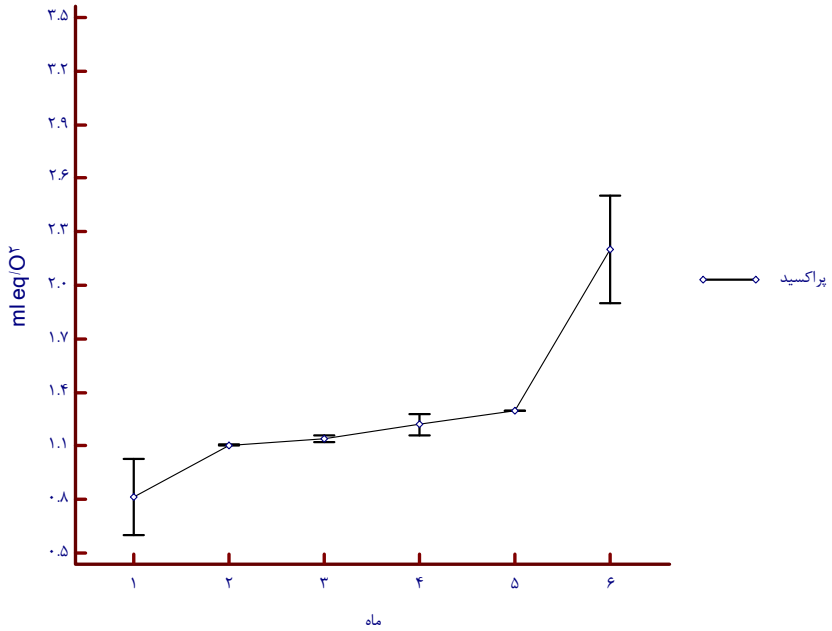
نمودار ۱۰- تغییرات اندیسTBA(میانگین ± خطای استاندارد) فیله شاه میگوی دراز آب شیرین درطول مدت آزمون



نمودار ۱۱- تغییرات اندیسTVB-N(میانگین ± خطای استاندارد)فیله شاه میگوی دراز آب شیرین درطول مدت آزمون

مقایسه میزان پراکسید(PV) در زمان صفر با سایر دوره ها تفاوت معنی داری (p<۰/۰۵) داشت(جدول۹). این شاخص در ماههای دوم تا پنجم بایکدیگر اختلاف معنی داری (p > ۰/۰۵) را نشان نداد. میزان پراکسیددر ماه

ششم به بیشترین میزان خود(میانگین± خطای استاندارد)۰/۰۳±۲/۲ میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم چربی ماهی رسید که اختلاف معنی داری(p<۰/۰۵)با تمامی دوره های آزمون داشت(نمودار۱۳).



نمودار ۱۲- تغییرات اندیس پراکسید (میانگین ± خطای استاندارد)فیله شاه میگوی دراز آب شیرین درطول مدت آزمون

۶- بحث

میزان گوشت شاه میگو معمولاً در حدود ۱۵ درصد کل وزن بدن گزارش شده است، اما در شاه میگوهای بالغ بزرگ ممکن است مقدار آن به کمتر از ۱۰ درصد وزن بدن تنزل پیدا کند .البته میزان گوشت در نمونه های نابالغ ممکن است بیش از ۲۰ درصد وزن بدن باشد، زیرا وزن اسکلت در نمونه های مسن تر بالاتر از جوان ترها می باشد(کریم زاده وهمکارانش،۲۰۱۴).نرخ رشد، میزان و کیفیت گوشت شاه میگو تحت تأثیر عواملی نظیر شرایط محیطی، بلوغ جنسی، جنسیت، سن و معدنی شدن اسکلت ممکن است تغییریابد بعلاوه مشخص شده است که کیفیت عضله در فصول ومراحل مختلف پوست اندازی میتواند متفاوت باشد(pavasovic et al.,2007).

درصد پروتئین در جنس *Astacus* و با افزایش سن کاهش ولی میزان خاکستر، فیبر و چربی افزایش پیدامی کند .با افزایش سن شاه میگوها سرعت رشد و به تبع آن نرخ پوست اندازی آنها کاهش می یابد، لذا این امر موجب انباشت فیبر، خاکستر و چربی بیشتر در بدن این موجودات می شود .بعلاوه با افزایش سن از میزان گوشت شکم که منبع اصلی پروتئین در بدن شاه میگو است کاسته شده ولی درصد وزنی چنگال، امعاء و احشاء و پوست شکم که محتوای مقدار قابل توجهی خاکستر، فیبر و چربی هستند، افزوده می گردد(کریم زاده و همکاران ،۲۰۱۴).

نتایج تجزیه تقریبی ترکیب شیمیایی بدن شاه میگوی*Astacus leptodactylus* در تحقیق کریم زاده وهمکارانش ۲۰۱۴ درخصوص چربی بدن مشابه نتایج تحقیق حاضر بوده است .در هر حال تفاوت های مشاهده شده در تجزیه تقریبی ترکیب شیمیایی بدن شاه میگو در مطالعات مختلف ممکن است ناشی از اثر عوامل گوناگونی نظیر زمان و سن نمونه برداری شاه میگوها، وضعیت پوست اندازی، نوع غذا و شرایط زیستگاه باشد .(کریم زاده و همکاران ،۲۰۱۴; Silva et al.,1991).

در تحقیقی ،زحمتکش در سال ۱۳۸۵ گزارش کرد که کاهش چربی بدن در شاه میگوی آب شیرین *Astacus leptodactylus* میتواند با تغییرات نرخ رشد و فراوانی پوست اندازیارتباط داشته باشد .از آنجایی که افزایش رشد در این موجودات مستلزم انجام پوست اندازی است، لذا فراوانی پوست اندازی و افزایش رشد احتمالا باعث می شود فرصت کافی جهت ساخت و ذخیره چربی بدن در شاه میگوها فراهم نشده و میزان چربی بدن در شاه میگوهایی که از رشد نسبتا بالایی برخوردار بودند، نقصان پیدا کند.بعلاوه زمان(فصل صید) و نوع غذا نیز میتواند بر تغییرات درصدچربی بدن مؤثر باشد (Cortes-Jacinto et al., 2005) .

کریم زاده وهمکارانش در ۲۰۱۴ در تحقیقی که بر روی کیفیت گوشت سنین مختلف شاه میگوی دراز آب شیرین انجام دادند پیشنهادکردندکه برای مطالعه ترکیب بدن شاه میگوها از اوزان بالای ۲۰ گرم انجام شود . می توان از این اطلاعات به عنوان مبنائی برای تعیین مواد مغذی در فرمولهای غذایی مصنوعی شاه میگوها استفاده کرد.لذا در این تحقیق سعی براین شد که نمونه های اخذ شده در میانگین وزنی بالاتر از ۲۰ گرم باشند.همچنین یافته های این تحقیق با نتایج کریم زاده وهمکارانش ۲۰۱۴که بیانگر رابطه معکوس بین درصد چربی و رطوبت بدن در جنس نر و ماده شاه میگو است مطابقت دارد.

استرس ناشی از هندلینگ (جابجایی)یکی از مهمترین استرسهای محیطی محسوب می شود که می تواند منجربه تغییر در متغیرهای فیزیولوژیکی مانند میزان جذب اکسیژن ، مشخصه های همولنف وترکیبات آن (گلوکز،لاکتات ،پروتئین تام) هورمون ها ویونهای سخت پوستان شود (Lorenzon et al,.2007; Suneeth et al ,.2009;Sharshar et al ,.2013.).هورمون افزایش دهنده قند(Crustacean hyperglycemic hormone) CHH در خانواده سخت پوستان نقش مهمی رادر پاسخ به عوامل استرس با افزایش قندبا تنظیم سیستم هموستاتیک همولنف ایفا می کند

(Chang et al,.1997;Abramowitz et al ,.1944;Webster et al,.1996).افزایش میزان هموسیتهای کل همولنف (THC= total haemocyte count) نیز فرم دیگری از پاسخ به استرس محسوب می شود.برخی پژوهشگران در گزارشات خود از کاهش اکسیژن ،تغییرات درجه حرارت وشوری بعنوان عوامل محرک ترشح هورمون CHH در همولنف *Hamarus americanus* نام برده اند (Chang et al,.1997;Stentiford et al ,.2001).

تحقیقاتی که توسط Lorenz و همکارانش در سال ۲۰۰۸ درخصوص نقش استرس برخرچنگ Cancer pagurus linnaeus انجام شد مبین تغییردرمیزان گلوکز، لاکتات، پروتئن کل، کلسترول، تری گلیسیرید، کلرید، غلظت کلسیم، pH و تعداد کل هموسیتها(THC) بودکه توسط اعمال استرس در دو فرم متفاوت هندلینگ در همولنف این موجود افزایش یافته و خرچنگ را به بیماریهای منجر به مرگ مستعد می کند . مقابله با شرایط استرس زا نیاز به توانایی حیوان به تامین انرژی به اندازه کافی برای بافتها به منظور مقابله با بار Allostatic دارد. هیپرگلیسمی و افزایش پروتئین و افزایش منابع چربی در همولنف جهت تامین نیازهای سوخت و ساز و انرژی برای مقابله با شرایط تحمیلی است این افزایش جهت ایفای نقش گلوکز و چربی در متابولیسم است. علاوه بر این CHH نیز در تنظیم اسمزی، احتمالا با کنترل یونهای سدیم و کلر و یا تحت تاثیر پمپ سدیم پتاسیم ATPase است (Ollivaux et al., 2002).

افزایش گلوکز، پروتئین تام و کاهش تری گلسیرید همولنف با نتایج تحقیقات Gulec وهمکارانش در سال ۲۰۱۲ درترکیه که تاثیر هندلینگ بر روی ترکیبات شیمیایی همولنف شاه میگوی دراز آب شیرین را بررسی کردند کاملا تطابق دارد .

در مطالعه تغییرات شیمیایی فیله شاه میگوی دراز آب شیرین ارس در شرایط نگهداری انجماد (۱۸- درجه سانتی گراد) میزان تیوباربیتوریک اسید TBARS با افزایش مدت نگهداری در انجماد سیر صعودی را نشان داد. بطوریکه پس ازپایان ماه پنجم به بالاتر از حداستاندارد موردقبول(میانگین± خطای استاندارد)۰/۲۵± ۱/۴میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم رسید.نتیجه بدست آمده باسایر نتایج مطالعات محققان بر روی سایر گونه های شاه میگو وسخت پوستان مطابقت دارد (Martin et al., 2000; Tseng et al., 2003;Amr et al., 2000).

پراکسید (PV) فیله منجمد در طول زمان نگهداری روند افزایشی رانشان داد بطوریکه در ماه ششم میزان پراکسیددر ماه ششم به بیشترین میزان خود۰/۳±۲/۲ میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم چربی ماهی رسید. این افزایش با تحقیقاتJeyasekaran وهمکارانش در سال ۲۰۰۲ بر روی فیله میگوی آب شیرین مطابقت داشت.

بررسی نتایج حاصل ازآزمایشات مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)نشان دهنده افزایش این معیاردرطول نگهداری دردمای انجمادبود. بطوریکه در ماه ششم به بالاترین میزان خود۱/۴±۲۶/۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم فیله شاه میگورسید . نتایج بدست آمده بانتایج Martínez و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی لابستر نروژی مطابقت داشت . تغییرات اسیدیته فیله شاه میگوی دراز آب شیرین در طول نگهداری در شرایط انجمادداز ماه پنجم روند افزایشی پدا کرده ودر ماه ششم این مقدار۰/۵±۶/۵۷ رسید.نتایج حاصل بانتایج Martínez و همکاران در سال۲۰۰۸ بر روی لابستر نروژی مطابقت داشت.

مطالعه آزمون های میکروبی پیروتحقیق حاضر رامی توان بدین صورت بیان کردکه حداکثر میزان قابل قبول شمارش کلی باکتری های هوازی مزوفیل،گوشت آبزیان آب شیرین توسط کمیته بین المللی ویژگی های میکربی غذاها ۷ log CFU/g پیشنهادشده است(Reij et al., 2004)

شمارش کلی باکتری های هوازی مزوفیل TVC (Total viable count) فیله شاه میگوی دراز آب شیرین از ماه سوم نگهداری در دمای انجماد روند افزایشی را نشان دادبطوریکه این شاخص در ماه ششم از حد استاندارد خود فراتر رفت.این افزایش با تحقیقاتTreece وهمکاران در سال ۱۹۸۵ ،Tseng وهمکارانش در سال ۲۰۰۲ وGramدر سال ۱۹۹۶ درسایر سخت پوستان آبزی مطابقت داشت.

شمارش باکتری های سرماگراPTC (Psychrotrophic bacteria count)دراین تحقیق در طول نگهداری روند افزایشی را نشان داد.بطوریکه این شاخص در ماه ششم از حد استاندارد خود فراتر رفت.این افزایش با تحقیقات Treeceوهمکاران در سال ۱۹۸۵ ،Tseng وهمکارانش در سال ۲۰۰۲ وGramدر سال ۱۹۹۶ درسایرسخت پوستان آبزی مطابقت داشت.

۷- نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق بر تغییرات ترکیبات شیمیایی فیله دمی شاه میگوی دراز آب شیرین در اثر هندلینگ وتغییرات شاخص های فساد شیمیایی ومیکروبی فیله دمی بسته بندی شده درمجاورت هوا و نگهداری در دمای انجماد(۱۸- درجه سانتی گراد) که برای اولین بار انجام شده ، مبین آن است که با افزایش دوره حصر و نگهداری شاه میگوی دراز آب شیرین در شرایط هیپوکسی از میزان پروتئین و چربی آن کاسته شده و بر میزان رطوبت فیله افزوده می شود که خود مبرهن ایجاد یک شاخص منفی در صادرات محصول از کشوروبازارپسندی است. لذا با توجه به نتایج بدست آمده تغییر سیستم جمع آوری ونقل انتقال از وضعیت فعلی که حداقل ۳۰ کیلوگرم شاه میگو را در جعبه های یونولیتی در شرایط نامطلوب هنگام جمع آوری از تورهای تله ای و صید ضمنی به کارگاه های بسته بندی و یا به همان صورت به مرکز صادرات ارسال می دارند بایستی اصلاح گردد.با توجه به افزایش شاخص های فساد شیمیایی و باکتریایی در طول نگهداری شش ماهه فیله در دمای انجمادبا توجه اینکه تا ماه ششم تغییرات شاخص های اندازه گیری شده در محدوده قابل قبول می باشد لذا می توان به این مهم اذعان داشت که حداکثر مدت ماندگاری فیله دمی شاه میگوی دراز آب شیرین در بسته بندی در مجاورت هوا بمدت ۵ ماه پس از انجماد در دمای ۱۸- سانتی گراد می باشد.

پیشنهادها

- انجام پژوهش های بیشتر بر روی تاثیر مواد ضد اکسیداسیون وضد باکتریال جهت بالا بردن زمان ماندگاری فیله شاه میگو در دمای انجماد ویخچالی
- بررسی تاثیرات عصاره های گیاهی مختلف به طور جداگانه و مقایسه ای در رابطه با افزایش ماندگاری فیله شاه میگو و مقایسه نتایج آن با نتایج مستخرج از تحقیق حاضر
- بررسی عوامل فساد در فیله شاه میگوی دراز آب شیرین در انواع بسته بندی شاه میگو
- عدم نگه داری فیله شاه میگوبدون مواد نگه دارنده بیش از ۵ ماه با توجه به نتایج تحقیق حاضر
- تدوین دستورالعمل مدون جهت بسته بندی و کنترل کیفی فیله شاه میگوی منجمدآب شیرین از لحاظ میکروبی و شیمیایی
- ارائه روشهای نوین بسته بندی جهت افزایش ماندگاری فیله شاه میگوی آب شیرین در دمای انجماد
- تدوین دستورالعمل جامع روشهای کنترل کیفی و رعایت استاندارد های جهانی در رابطه با فرآوری و بسته بندی شاه میگوی اب شیرین با توجه به دارا بودن پناتسیل بالای این گونه محصولات برای صادرات

تشکر و قدردانی

از کلیه پرسنل مرکز تحقیقات آرتمیای کشور ، مرکز تحقیقات ملی فرآوری آبزیان (یونیدو)،پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مدیریت شیلات وآبزیان استان آذربایجان غربی و شرکتهای صید وصادرات شاه میگو بخصوص میکال ماهی و باهوخزر ، جناب آقای دکتر شاه محمدی برای همکاری صمیمانه اشان درحصول نتایج تشکر وقدردانی بعمل می آید.

منابع

۱. برادران نویری،شهروز.۱۳۷۶. بررسی روابط طولی – طولی وطولی – وزنی درخرچنگ درازدریای خزر (*A.leptodactylus*)منطقه بندرانزلی.مجله علمی شیلات ایران.سال ۶،شماره ۲.صفحه ۱۷-۹.

۲. زحمتکش کومله، ع.،۱۳۸۵ .تأثیر مقادیر مختلف کلسیم و فسفر جیره بر شاخص های پرورشی و زیستی شاه میگوی آب شیرین *Astacus.leptodactylus* ،پایان نامه دکتری، دانشگاه تربیت مدرس.

۳. کریم زاده, ک. زحمتکش کومله, ع. ولی پور،ع. (۲۰۱۴). بررسی تغییرات ترکیب بدن شاه میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) در سنین و اوزان مختلف. مجله پژوهشهای جانوری, ۲۷(۲), ۲۷۰-۲۸۱.

4. Abramowitz, A. A., Hisaw, F. L., & Papandrea, D. N. (1944). The occurrence of a diabetogenic factor in the eyestalks of crustaceans. *The Biological Bulletin*, *86*(1), 1-5.
5. Amr, A. & Rutledge, J. 1980. Oxidative rancidity in whole-glazed frozen crawfish. FAO.
6. Association of Official Analytical Chemists.(2002). Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC, Arlington, VA.
7. Cha, Y. J., Baek, H. H., & Hsieh, T. C. Y. (1992). Volatile components in flavour concentrates from crayfish processing waste. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *58*(2), 239-248.
8. Chang, E. S., Chang, S. A., Keller, R., Reddy, P. S., Snyder, M. J., & Spees, J. L. (1999). Quantification of stress in lobsters: crustacean hyperglycemic hormone, stress proteins, and gene expression. *American zoologist*, *39*(3), 487-495.
9. Cortes-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., Cruz-Suarez, L.E.,Civera-Cerecedo, R.,Nolasco-Soria, H., and Hernandez-Llamas, A., 2005. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth and survival of juvenile Australian redclawcray ¢ sh, Cheraxquadricarinatus (von Martens). Aquaculture Nutrition11, 283-291.
10. D. M. & R. S. Lowery (eds), Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation. Chapman & Hall, London: 83–113.
11. Egan, H., Kirk, R. & Sawyer, R. 1990. Pearson Chemical Analysis of Foods. 8th. Longman Group and Technical, London.
12. Fard, A. N., & Gelder, S. R. (2011). First report of Branchiobdella kozarovi Subchev, 1978 (Annelida: Clitellata) in Iran, and its distribution in the Eastern Euro-Mediterranean subregion. *Acta zoologica bulgarica*, *63*, 105-108.
13. Flick, G. J., Lovell, R. T., Enrequez-Ibarra, L. G., and Arganoza, G. C. (1994). Changes in nitrogenous compounds in freshwater crayfish (Procambarus clarkii) tail meat stored in ice. *Journal of Muscle Foods*, 5(2), 105-118.
14. Gates, D. M. (2012). *Biophysical ecology*. Courier Corporation.
15. Gates, K. W. 2012. The Seafood Industry: Species, Products, Processing, and Safety: Linda Ankenman Granata, George J. Flick, Jr., and Roy E. Martin (Editors). Oxford, United Kingdom. Wiley-Blackwell . *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 21**,** 524-537.
16. Gram, L., & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International journal of food microbiology*, *33*(1), 121-137.
17. Gulec, A. K., & Aksu, O. (2012). Effects of Handling on Physiological Profiles in Turkish Crayfish, Astacus leptodactylus. *World*, *4*(6), 684-688.
18. Harlioğlu, M. M. (2004). The present situation of freshwater crayfish, Astacus leptodactylus (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture*, *230*(1), 181-187.
19. Harlioglu, MM., ۲۰۰۴. The First Record of Epistylis niagarae on Astacus leptodactylus in a Crayfish Rearing Unit, Cip, Tr. J. of Zoology 23, 13-15.
20. Holdich, D. M., andLowery, R. S., 1988. Growth, Moulting and Reproduction. In Holdich,
21. Holdich,D.M &Lowery,R.S.,1988.Freshwater crayfish (Biology, management and Exploitation) .Cambridge press . 14, 145–163.
22. Holdich,D.M .,2002.Biology of fresh water crayfish .Blackwell science . 2, 10-35.
23. Huner, J. V., Lindqvist, O. V., & Könönen, H. (1988). Comparison of morphology and edible tissues of two important commercial crayfishes, the noble crayfish, Astacus astacus Linné, and the red swamp crayfish, Procambarus clarkii (Girard)(Decapoda, Astacidae and Cambaridae). *Aquaculture*, *68*(1), 45-57.

24. Huner, j.v.,Barr,J.E.,1991.Read Swamp crawfish biology and exploitation.Luisiana sea grant collage program.Lsu-T-90-003 C3.
25. Jeyasekaran , G. & Ayyappan, S. 2002. Postharvest Microbiology of Farm reared, Tropical Freshwater Prawn (*Macrobrachium Rosenbergii*). *Journal of food science,* 67**,** 1859-1861.
26. Lilley, J.H. and Inglis, V.,1997. Comparative effects of various antibiotics, fungicides and disinfectants on Aphanomyces invadens and other Saprolegniaceous fungi. Aquaculture Research 28, 461-469.
27. Lorenzon, S., Giulianini, P. G., Martinis, M., & Ferrero, E. A. (2007). Stress effect of different temperatures and air exposure during transport on physiological profiles in the American lobster Homarus americanus. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *147*(1), 94-102.
28. Lyon, W. J., & Reddmann, C. S. (2000). Bacteria associated with processed crawfish and potential toxin production by Clostridium botulinum type E in vacuum packaged and aerobically packaged crawfish tails. *Journal of Food Protection®*, *63*(12), 1687-1696.
29. Marshall, D. L. (2004). 20 Processing. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, *34*, 585-600.
30. Martin, R. E., Carter, E. P., Flick Jr, G. J., & Davis, L. M. (Eds.). (2000). *Marine and freshwater products handbook*. CRC Press.
31. Martin, R. E., Carter, E. P., Flicker JR, G. J. and Davis, L. M. 2000. *Marine and freshwater products handbook*, CRC Press.
32. Martínez-Álvarez, Ó., Gómez-Guillén, M. D. C., & Montero, P. (2008). Chemical and microbial quality indexes of Norwegian lobsters (Nephrops norvegicus) dusted with sulphites. *International journal of food science & technology*, 43(6), 1099-1110.
33. McClain, W. R., & Romaire, R. P. (2004). Crawfish culture: a Louisiana aquaculture success story. *World Aquaculture*, 35(4), 31-35.
34. Moody, M. (1994). Freshwater crayfish processing In: Huner JV (ed) Freshwater crayfish aquaculture in North America, Europe, and Australia: Families Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae.
35. Moody, M. W. (2000). Handling and processing crawfish. *Marine and freshwater products handbook. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc*, 309-322.
36. Moody, M. W., Moertle, G. M., & Hackney, C. R. (1985). Sensory and instrumental evelotion of differences between Red swamp and White river Crawfish meat. In *Proceedings of the... Annual Tropical and Subtropical Fisheries Conference of the Americas* (p. 115). Texas A&M University, Sea Grant College Program.
37. Nekuie Fard, A., Motalebi, A. A., Jalali Jafari, B., Aghazadeh Meshgi, M., Azadikhah, D., & Afsharnasab, M. (2011). Survey on fungal, parasites and epibionts infestation on the Astacus leptodactylus (Eschscholtz, 1823), in Aras Reservoir West Azarbaijan, Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *10*(2), 266-275.
38. Nekuie Fard,A.(2010). *Survey of parasitic and fungal infestation of Astacus leptodactylus in Aras reservoir.* PhD dissertation, Tehran: Veterinary Science,Science and Research Branch, Islamic Azad University . [in Persian]
39. Ollivaux, C., Dircksen, H., Toullec, J. Y., & Soyez, D. (2002). Enkephalinergic control of the secretory activity of neurons producing stereoisomers of crustacean hyperglycemic hormone in the eyestalk of the crayfish Orconectes limosus. *Journal of Comparative Neurology*, *444*(1), 1-9.
40. Parvaneh, V. 2011. *Food quality control and chemical testing[in persian],* IRAN, Tehran University.
41. Pavasovic,A., Anderson,A., Mather,P.B., andRichardson, N.A., 2007. Influence of dietary protein on digestive enzyme activity, growth and tail muscle composition in redclaw crayfish, *Cheraxquadricarinatus* (von Martens).Aqaculture Research 38,644-652.
42. Reij, M. W., Den Aantrekker, E. D., & ILSI Europe Risk Analysis in Microbiology Task Force. (2004). Recontamination as a source of pathogens in processed foods. *International Journal of Food Microbiology*, *91*(1), 1-11.
43. Rutherford, T. J., Marshall, D. L., Andrews, L. S., Coggins, P. C., Schilling, M. W., & Gerard, P. (2007). Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of Listeria monocytogenes on ready-to-eat shrimp. *Food microbiology*, *24*(7), 703-710.
44. Sallam, K. I., Ahmed, A., Elegazzar, M. & Eldaly, E. 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4° C. *Food Chemistry,* 102**,** 1061-1070.
45. Schoonjans, F. 2008. MedCalc for windows. *Software Manual. Mariakerke, Belgium: Medical Software*.
46. Sharshar, K. M., & Haroon, A. M. (2009). Comparative investigations on some biological and biochemical aspects in freshwater crayfish (Procambarus clarkii) Fed on Eichhornia crassipes, Echinochloa stagnina L. and Polygonum tomentosum L. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, *5*(4), 579-589.

47. Silva, J.L.,Marroquin, E., and Lai, Y.M., 1991. Yeild and textural properties of pond raised crayfish Procambarus clarkia during a harvest season. Program and Abstracts. 22nd Annual Conference and Exposition. World Aquaculture Society, San Juan, Puerto Rico.57-58.
48. Skurdal, J.,Taugbøl, T., & Holdich, D. M. (2002). Astacus. *Biology of freshwater crayfish*, 467-510.
49. Skurdal, J.,Westman, K., and Bergan, P.I., 1989. Crayfish culture in Europe. Report from the Workshop on Crayfish Culture, November 1987, Trondheim, Norway, 16-19.
50. Stentiford, G. D., Bateman, K. S., Longshaw, M., & Feist, S. W. (2007). Enterospora canceri n. gen., n. sp., intranuclear within the hepatopancreatocytes of the European edible crab Cancer pagurus. *Diseases of aquatic organisms*, *75*(1), 61.
51. Thimothe, J., Walker, J., Suvanich, V., Gall, K. L., Moody, M. W., & Wiedmann, M. (2002). Detection of Listeria in crawfish processing plants and in raw, whole crawfish and processed crawfish (Procambarus spp.). *Journal of Food Protection®*, *65*(11), 1735-1739.
52. Tseng, Y.-C., Xiong, Y. L., Webster, C. D., Thompson, K. R. and Muzinic, L. A. 2002. Quality changes in Australian red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, stored at 0 C. *Journal of Applied Aquaculture,* 12**,** 53-66.
53. Webster, S. G. (1998). Neuropeptides inhibiting growth and reproduction in crustaceans. In *Seminar series-society for experimental biology* .Vol. 65, pp. 33-52. Cambridge University Press.

Abstract
Sampling for this study was carried out at the freshwater crayfish fishing season (May to December) from the selected packs made from one of the harvesting centers at the first day (harvesting and packing) until the seventh day (the export time) using registered number to determine the handling effect (live) and changes in chemical and microbial indices in tail fillet stored at -18 ° C at days 1 and every 15 days considering 1 treatment and 3 replicates.
The comparison of results mean (±SE) of the effects of handling on tested indices showed a significant reduction of protein percentage (dry weight) of tail filet at day 7 (13/85 ± 0/07) comparing with fishing day (16/1 ± 0/05) (($p < 0.05$). So that by increasing the handling and storage period, the amount of protein (dry weight) was reduced. Comparison of carbohydrate percent (dry weight) during handling showed a significant difference between the first day (2/8 ± 0/009) with the seventh day (0/9 ± 0/005 ($p <0.05$). Percent of moisture showed a significant increase during handling between day 1 (79/2 ± 0/24) and 7 (84 ± 0.41) ($p < 0.05$). Mean chemical composition of haemolymph showed a significant reduction in triglycerides (milligrams per deciliter) at fishing day (14/3 ± 0/16) and day 7 (11/7 ± 0/13) ($p < 0.05$). Comparison the means of saturated and unsaturated fatty acid profiles and the ratio of DHA / EPA did not show significant differences ($p>0.05$). Comparison of the mean (±SE) of total bacterial count (log CFU / g) and psychrophilic bacteria at different periods of tail fillet storage at - 18 °C showed significant differences at day1 (3.48 ± 0.00 and 1.0± 0.00) compared to day 180 (6.86± 0.85 and 6.75± 0.25) , respectively($p>0.05$) .Comparison of Mean (±SE) of chemical indices for first day with day 180 were thiobarbituric acid (mg malondialdehyde /kg) (0.19/0 ± 0/07) and (1/45 ± 0/25), peroxide (meq oxygen/ kg fat) (0/81 ± 0/21) and (2/2 ± 0/3), total volatile basic nitrogen (mg per 100 g fillet) (13/21 ± 1/01) and (26/6 ± 1 / 40) and acidity (6/26 ± 0/08) and (6/55 ± 0/05), respectively which showed significant differences with each other ($p < 0.05$). Therefore, cited to the results of microbiological and chemical parameters, maximum shelf life longetivity of freshwater crayfish tail fillets packaged in the air is recommended as 5 months after freezing at – 18 °C.
Keywords: Handling, *A.leptodactylus*, quality, freezing, filet, spoilage

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – National Artemia Research Center

---

Project Title : Survey of Handling and freezing storage effects on quality of Aras dam's fresh water crayfish meat (*Astacus leptodactylus*)
Approved Number: 2-79-12-91144
Author: Ali Nekuie Fard
Project Researcher : Ali Nekuie Fard
Collaborator(s) *:* AA.Khanipour, B.Mostafazadeh,A.A.Motalebi,S.Javan,Y.Moradi,A.Ghasemi,D.Azadikhah,K.Zolfineghad ,A.Fhim,F.Lakzaei,F.Noghani,F.Khodabandeh,S.Kamali,M.Ahmadi
Advisor(s): -
Supervisor: -
Location of execution : West Azarbijan Province
Date of Beginning : 2013
Period of execution : 2 Years & 2 Months
Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing : 2016

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute –National Artemia Research Center

Project Title :

Survey of Handling and freezing storage effects on quality of Aras dam's fresh water crayfish meat (*Astacus leptodactylus*)

Project Researcher :

Ali Nekuie Fard

Register NO.

48583