

مقاله علمی - پژوهشی:

تعیین شرایط بهینه پیش کشتار کپور معمولی با استفاده از شاخص TBA و روش سطح پاسخ (RSM)

غلامرضا بختیاری^۱، ابراهیم عزیزاده دوغیکلائی^۱، محسن شهریاری مقدم^{۲*}، محسن صمیمی^۳

*mohsen.shahriari@uoz.ac.ir

- ۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
 ۲- گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
 ۳- گروه شیمی، دانشکده انرژی، دانشگاه صنعتی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۹

چکیده

کیفیت گوشت ماهی تحت تاثیر عوامل متعددی از جمله روش کشتار و همچنین شرایط پرورش قبل از کشتار می‌باشد. هدف این تحقیق بررسی تاثیر شاخص‌های زمان قطع غذا (X_1)، تراکم (X_n) و وزن ماهی (X_w) به عنوان عوامل تاثیر گذار قبل از کشتار بر میزان TBA فیله کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از روش سطح پاسخ و مدل باکس-بنکن و بهینه سازی عددی مدل برای رسیدن به کمترین میزان TBA بوده است. ماهی کپور معمولی پس از سازگاری تحت تیمارهای قطع غذا، تراکم و وزن پس از ۱، ۴ و ۷ روز برداشت و به روش خفه شدن خارج از آب کشتار و فیله گردید. نتایج نشان داد که کمترین میزان TBA بر پایه مدل درجه دوم در شرایط آزمایشی با سطح پایین (X_n) (X_n ۴ عدد)، سطح پایین (X_w) (۵۰۰ گرم) و سطح بالای (X_1) (۷ روز قطع غذا) بود. میزان TBA در شرایط پیشنهادی با مدل ۰/۶۸۴۲ (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی) تعیین گردید که پس از انجام تست اعتبارسنجی عملی در شرایط بهینه برابر ۰/۷۰۱ اندازه گیری گردید. این تفاوت و خطای ناچیز میزان TBA بین مدل و شرایط عملی نشان از صحت و اعتبار مدل پیشنهادی و نتایج بدست آمده دارد. لذا، نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از روش سطح پاسخ برای بهینه سازی شرایط پیش از کشتار کپور معمولی مناسب بوده است و نیز مدل درجه دوم می‌تواند برای پیش‌بینی متغیر پاسخ در شرایط پیش کشتار متفاوت استفاده گردد.

لغات کلیدی: کپور معمولی، کشتار، قطع غذا، مدل باکس-بنکن

*نویسنده مسئول

مقدمه

استفاده از ماهی و سایر آبزیان به عنوان یکی از منابع ارزشمند غذایی از دیرباز مورد توجه بشر قرار گرفته است. همچنین با ارتقاء سطح دانش بشری و آگاهی از اهمیت و نقش مواد پروتئینی در برنامه غذایی و نیز افزایش جمعیت از سوی دیگر، میزان تقاضا برای مصرف آبزیانی که از مواد غذایی با ارزش به‌شمار می‌روند، به تدریج افزایش یافته است.

گوشت ماهی در مقایسه با گوشت مرغ و گوشت قرمز بسیار فسادپذیرتر و حاوی مقادیر زیادی اسیدهای آمینه آزاد و بازهای نیتروژنی فرار در مقایسه با سایر گوشتهاست. در نتیجه، حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم مورد توجه صنعت ماهی و مصرف کنندگان می‌باشد (چراغی و همکاران، ۱۳۹۷). بنابراین، حفظ کیفیت محصول تولیدی و زمان ماندگاری آن بسیار مهم است. بدین منظور تکنیک‌های متفاوتی مثل انجماد (Aubourg *et al.*, 2004; Aubourg *et al.*, 2005) بسته بندی در خلأ و اتمسفر تغییر یافته (Özogul *et al.*, 2004)، پرتودهی با اشعه گاما و UV (Savvaidis *et al.*, 2002)، استفاده از مواد ضد میکروبی مثل اسیدهای آلی (Al-Dagal and Buzarra, 1999) و نمک اسیدهای آلی (Manju *et al.*, 2007; Sallam, 2007)، استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی (اورعی و همکاران، ۱۳۹۹)، استفاده از پد جاذب (پودینه و همکاران، ۱۳۹۹) و استفاده از روش کشتار مناسب (Robb and Kestin, 2002) به کار برده می‌شود.

براساس مطالعات انجام شده عدم رعایت شرایط پیش کشتار و کشتار مناسب ماهیان موجب تغییر سریع فاکتورهای میکروبی و بیوشیمیایی می‌شود و فساد زودتر اتفاق خواهد افتاد. استفاده از روش مناسب کشتار جهت حفظ کیفیت محصول برای مصارف انسانی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. هر یک از روش‌های کشتار تأثیر متفاوتی بر کیفیت نهایی محصول از لحاظ فساد شیمیایی و بار باکتریایی دارد. بنابراین، قبل از اینکه راهی مناسب جهت نگهداری ماهی انتخاب شود، ابتدا باید روشی مناسب جهت کشتار ماهی انتخاب گردد. تاکنون مطالعات

مختلفی در زمینه تأثیر روش‌های مختلف کشتار از قبیل خفه شدن خارج از آب، روش‌های الکتریکی، قطع پایه آبششی و بیهوشی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ماهیان مختلف انجام شده است (Concollato *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2017; Baldi *et al.*, 2018).

مانند جانوران خشکی ارتباط تنگاتنگی بین میزان استرس پیش از کشتار و کیفیت نهایی محصولات تولیدی از ماهی وجود دارد (Morzel *et al.*, 2003). وجود استرس یا فعالیت زیاد قبل و هنگام مرگ بر کیفیت نهایی محصول تأثیرگذار است و هر چه ماهی قبل و هنگام مرگ آرام‌تر باشد، کیفیت نهایی و زمان ماندگاری افزایش می‌یابد (Duran *et al.*, 2008). همچنین شرایط پرورشی ماهیان از قبیل مدت زمان قطع غذا قبل از کشتار، تراکم ماهیان پرورشی، وزن ماهیان پرورشی و همچنین غلظت اکسیژن محلول بر کیفیت ماهی و محصولات تولیدی از آن پس از کشتار تأثیرگذار است. Castro و همکاران (۲۰۱۷) اثر استرس هیپوکسی به مدت ۳، ۶ و ۱۰ دقیقه پیش از کشتار را بر کیفیت گوشت ماهی تیلاپیای نیل مطالعه کردند. نتایج نشان داد که پس از گذشت ۱۰ روز نگهداری در یخ، تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده نگردید. Kayan و همکاران (۲۰۱۵) اثر وزن ماهی (۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ گرم) تیلاپیا نیل را بر کیفیت فیله این ماهی مطالعه کردند. نتایج نشان داد درصد چربی و سفتی عضله با افزایش وزن ماهی افزایش می‌یابد. Gines و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که دوره گرسنگی اثر معنی‌داری بر کیفیت گوشت *Sparus aurata* دارد. Bagni و همکاران (۲۰۰۷) در یک مطالعه مروری بیان کردند که مراحل قبل از کشتار و کشتار توأم با استرس، اثرات بدی بر کیفیت ماهیان دارد. زیرا استرس موجب تخلیه انرژی ماهیچه‌ها، افزایش بیشتر اسید لاکتیک و کاهش pH عضلات می‌شود.

به رغم مطالعات انجام شده محققان مذکور فوق، مطالعه‌ای در زمینه تأثیر همزمان فاکتورهای تأثیرگذار بر کیفیت محصول قبل از کشتار از قبیل مدت زمان قطع غذا، تراکم و وزن ماهیان پرورشی انجام نشده است. روش‌های مختلفی برای مطالعه تأثیر همزمان فاکتورهای مختلف

تیوباربیتوریک اسید (TBA^۲) فیله‌ها به عنوان متغیر پاسخ پس از ۱۵ روز اندازه گیری گردید.

اندازه‌گیری TBA

اندازه‌گیری TBA به روش رنگ‌سنجی انجام گرفت. ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتر انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب دار انتقال داده شد و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA (۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانل پس از فیلتر شدن به‌دست می‌آید) اضافه گردید. سپس لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت قرار گرفتند و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. مقدار جذب نمونه (As) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل بلانک (شاهد آب مقطر) (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی) بر اساس رابطه ۱ محاسبه گردید (Egan et al., 1997):

$$(1) \quad TBA = 50 \times (\text{جذب بلانک} - \text{جذب نمونه})$$

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) یک روش قابل اعتماد برای تحلیل و تعیین درجه اطمینان داده‌های تجربی است (Montgomery, 2017). جهت تجزیه و تحلیل آماری بهتری از مدل، ارزیابی واریانس (ANOVA) انجام شد. متغیر پاسخ با یک مدل مربع کامل به منظور یافتن رابطه میزان TBA با متغیرهای مرتبط منطبق گردید. صورت ریاضی مدل درجه دوم در رابطه ۲ نشان داده شده است:

$$(2) \quad P = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_{ij}$$

استفاده شده است. از میان روش‌های مورد استفاده، روش‌های مبتنی بر طراحی آزمایش مانند روش سطح پاسخ با توجه به قابلیت استخراج یک معادله برای هدف خروجی اهمیت ویژه‌ای دارد. در این روش تحلیل آزمایش‌های طراحی شده از طریق مدل‌هایی با تعداد کم آزمایش‌ها انجام می‌شود (Ryan and Morgan, 2011). با توجه به مطالب مذکور و نیز اهمیت کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در ایران، این مطالعه با هدف استفاده از روش سطح پاسخ برای بررسی اثرات همزمان وزن ماهیان، مدت زمان قطع غذا و تراکم ماهیان پرورشی بر کیفیت فیله کپور معمولی کشتار شده با روش خفه شدن خارج از آب انجام گرفت.

مواد و روش کار

طراحی مدل

در مطالعه حاضر، مدل طراحی آزمایشی Box-Behnken جهت مشخص کردن تعداد و شرایط آزمایش‌های مورد نیاز و روش سطح پاسخ (RSM^۱) جهت تحلیل شرایط بهینه عملیاتی پیش کشتار کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) استفاده شد. تاثیر متغیرهای اصلی عملیاتی از قبیل مدت زمان قطع غذا قبل از صید (t)، وزن ماهیان (w) و تراکم ماهیان پرورشی (n) در جدول ۱ مشخص گردید. با استفاده از این روش ۱۳ آزمایش با دو تکرار آزمون در نقطه مرکزی برای تعیین خطا انجام گرفت.

تهیه ماهی و تیمارها

با توجه به طرح آزمایش‌ها، ۱۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان شهرستان زهک تهیه و به وان‌های نگهداری برای آداپته شدن انتقال یافت. سپس ماهیان آداپته شده براساس جدول ۱ تیمار بندی و برداشت گردیدند. ماهیان پس از برداشت به روش خفه شدن خارج از آب کشتار و سپس فیله گردیدند. فیله‌ها در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند و میزان

^۱ Response Surface Methodology

^۲ Thiobarbituric acid

(Montgomery, 2017).

نتایج

در تحقیق حاضر، روش طراحی آزمایشی Box-Behnken برای یافتن شرایط مطلوب سیستمی در فرآیند پیش‌کشتار کپور معمولی به کمک بررسی پاسخ بیولوژیک بر پایه اندازه‌گیری میزان TBA استفاده گردید. تأثیر متغیرهای اصلی عملیاتی از قبیل تعداد ماهی (n)، وزن ماهی (w) و زمان قطع غذا (t) بر میزان TBA اندازه‌گیری شد. سطوح و مقادیر متغیرها (پایین (-1)، وسط (0) و بالا (+1)) در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: سطوح و مقادیر متغیرهای بهینه شده
Table 1: Levels and values of optimized variables

فاکتور	نشانه	رنج سطوح		
		-1	0	+1
وزن ماهیان (گرم)	w	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰
مدت زمان قطع غذا (روز)	t	۱	۴	۷
تراکم ماهیان پرورشی (قطعه)	n	۴	۱۰	۱۶

مقادیر متغیرها در بررسی اثر تعداد ماهی، ۴، ۱۰ و ۱۶ عدد، وزن ماهی ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ گرم و زمان قطع غذای ماهی به میزان ۱، ۴ و ۷ روز می‌باشد. با استفاده از این روش ۱۳ آزمایش با دو تکرار آزمون در نقطه مرکزی برای تعیین خطا انجام گرفت. طراحی آزمایش‌ها برای متغیرهای عملیاتی و نتایج آنها در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲: طراحی تجربی برای سه متغیر مستقل و پاسخ

Table 2: Experimental design for three independent variables and the responses

پاسخ TBA	فاکتورهای مطالعه شده			شماره آزمایش
	X _t	X _w	X _n	
۰/۷۵	۱	۰	-۱	۱
۱/۷۶	-۱	۰	۱	۲
۰/۸۷	۱	-۱	۰	۳
۰/۹۵	۱	۱	۰	۴
۱/۶۹	۰	۱	۱	۵
۱/۶۱	۰	۱	-۱	۶

p: میزان TBA در فیله‌ها، X_i و X_{ij} : متغیرهای مستقل کد نشده، β_0 : عبارت انحراف و β_i ، β_{ii} ، β_{ij} : ضرایب رگرسیون

مدل تجربی ریاضی با استفاده از آزمون ANOVA با سطح معنی‌دار ۵٪ بررسی شد. اهمیت آماری مدل‌های مرتبه دوم به وسیله آزمون آماری فیشر (Fisher test) (F-value) تعیین گردید. هرگاه مقدار F محاسبه شده بیشتر از F-value جدول باشد، مقدار p (p-value) بسیار کوچکتر خواهد بود و این حقیقت اهمیت مدل آماری را نشان خواهد داد. مقدار F محاسبه شده به عنوان رگرسیون میانگین مربعات (از جمله خطی، مربع و برهم‌کنش) و میانگین باقی مانده مربعات مطابق با رابطه ۳ تعریف شده است:

$$F - \text{value} = \frac{MS_{\text{regression}}}{MS_{\text{residual}}} \quad (3)$$

که در آن:

$$MS_{\text{regression}} = \frac{SS_{\text{regression}}}{DF_{\text{regression}}} \quad (4)$$

$$MS_{\text{residual}} = \frac{SS_{\text{residual}}}{DF_{\text{residual}}} \quad (5)$$

در روابط مجموع درجه آزادی (DF) برابر با تعداد کل آزمایش‌ها منهای یک است.

همچنین درجه آزادی رگرسیون برابر با تعداد جملات منهای یک و درجه آزادی باقیمانده برابر با مجموع درجه آزادی منهای درجه آزادی رگرسیون می‌باشد

پاسخ TBA	فاکتورهای مطالعه شده			شماره آزمایش
	X_t	X_w	X_n	
۱/۵۷	۰	-۱	۱	۷
۱/۶۳	۰	۰	۰	۸
۱/۰۲	۱	۰	۱	۹
۱/۵۳	۰	-۱	-۱	۱۰
۱/۶۸	-۱	۱	۰	۱۱
۱/۷۹	-۱	۰	-۱	۱۲
۱/۵۸	۰	۰	۰	۱۳
۱/۷۰	۰	۰	۰	۱۴
۱/۹۲	-۱	-۱	۰	۱۵

برای بررسی میزان TBA یک مدل درجه دوم با استفاده از روش خطای حداقل مربعات مورد استفاده قرار گرفت که رابطه به دست آمده آن در رابطه ۶ نشان داده شده است:

(۶)

$$TBA = 1.6367 + 0.0450X_n + 0.0050X_w - 0.4450X_t - 0.0308X_n^2 - 0.0058X_w^2 - 0.2758X_t^2 + 0.0100X_nX_w + 0.0750X_nX_t + 0.0800X_wX_t$$

مقادیر R^2 و R^2_{adj} از مدل ارائه شده قابل قبول بوده و به ترتیب ۹۸/۷۱٪ و ۹۶/۳۸٪ بدست آمد. آنالیز واریانس (ANOVA) مدل درجه دوم در جدول ۳ گزارش شده است. همان طوری که مشخص است، درجه آزادی کل ۱۴ و نیز درجه آزادی رگرسیون و خطای باقیمانده به ترتیب ۹ و ۵ می باشد.

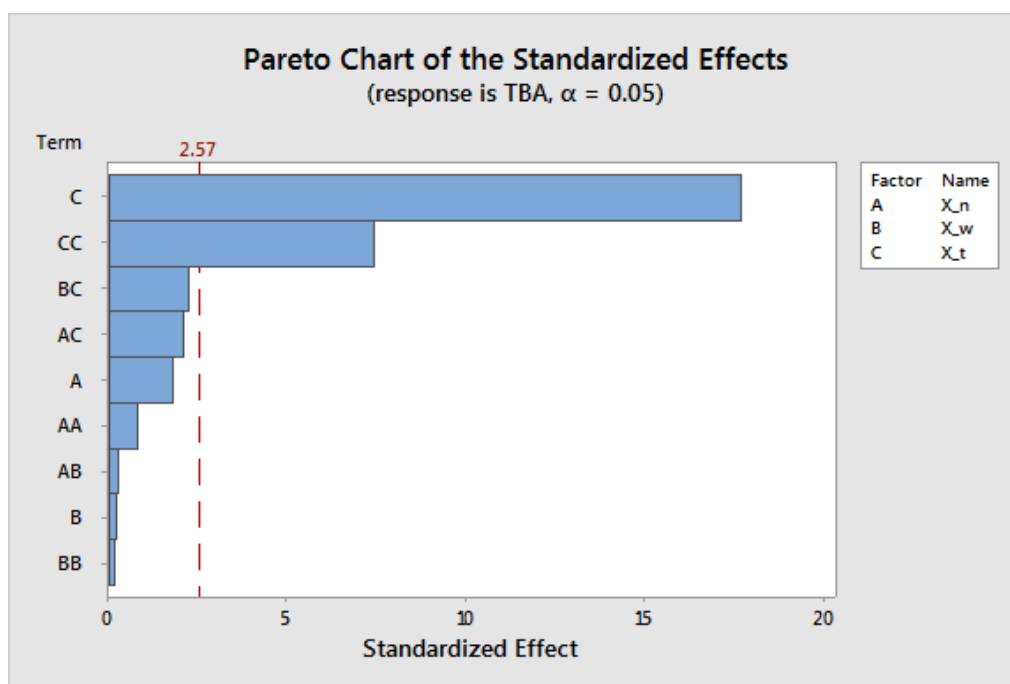
جدول ۳: تحلیل انحراف استاندارد (ANOVA) برای مدل درجه دوم

Table 3: Standard deviation analysis (ANOVA) for the quadratic model

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F - Value	P - Value
Regression	۹	۱/۹۳۱۳۳	۰/۲۱۴۵۹	۴۲/۴۷	۰/۰۰۰
X_n	۱	۰/۰۱۶۲۰	۰/۰۱۶۲۰	۳/۲۱	۱/۱۳۳
X_w	۱	۰/۰۰۰۲۰	۰/۰۰۰۲۰	۰/۰۴	۰/۰۰۰
X_t	۱	۱/۵۸۴۲۰	۱/۵۸۴۲۰	۳۱۳/۵۰	۰/۰۰۰
X_n^2	۱	۰/۰۰۳۵۱	۰/۰۰۳۵۱	۰/۶۹	۰/۴۴۳
X_w^2	۱	۰/۰۰۰۱۳	۰/۰۰۰۱۳	۰/۰۲	۰/۸۸۱
X_t^2	۱	۰/۲۸۰۹۳	۰/۲۸۰۹۳	۵۵/۵۹	۰/۰۰۱
$X_n \cdot X_w$	۱	۰/۰۰۰۴۰	۰/۰۰۰۴۰	۰/۰۸	۰/۷۹۰
$X_n \cdot X_t$	۱	۰/۰۲۲۵۰	۰/۰۲۲۵۰	۴/۴۵	۰/۰۸۹
$X_w \cdot X_t$	۱	۰/۰۲۵۶۰	۰/۰۲۵۶۰	۵/۰۷	۰/۰۷۴
Residual Error	۵	۰/۰۲۵۲۷	۰/۰۰۵۰۵		
Lack-of-Fit	۳	۰/۰۱۸۰۰	۰/۰۰۶۰۰	۱/۶۵	۰/۳۹۹
Pure Error	۲	۰/۰۰۷۲۷	۰/۰۰۳۶۳		
Total	۱۴	۱/۹۵۶۶۰			

مقایسه بین شاخص F-value در جدول ۳ نشان می‌دهد که مقدار F محاسبه شده بزرگتر برای مدل دارای سطح اهمیت بالاتری است. همچنین شاخص p-value برای مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ نشانگر آن است که پارامترهای مدل معنی‌دار است. بر این اساس X_t و X_t^2 دارای شرایط رگرسیون معنی‌داری هستند. همچنین در جملات $X_w \cdot X_t$ و $X_n \cdot X_t$ با توجه به اینکه مقدار p در دامنه

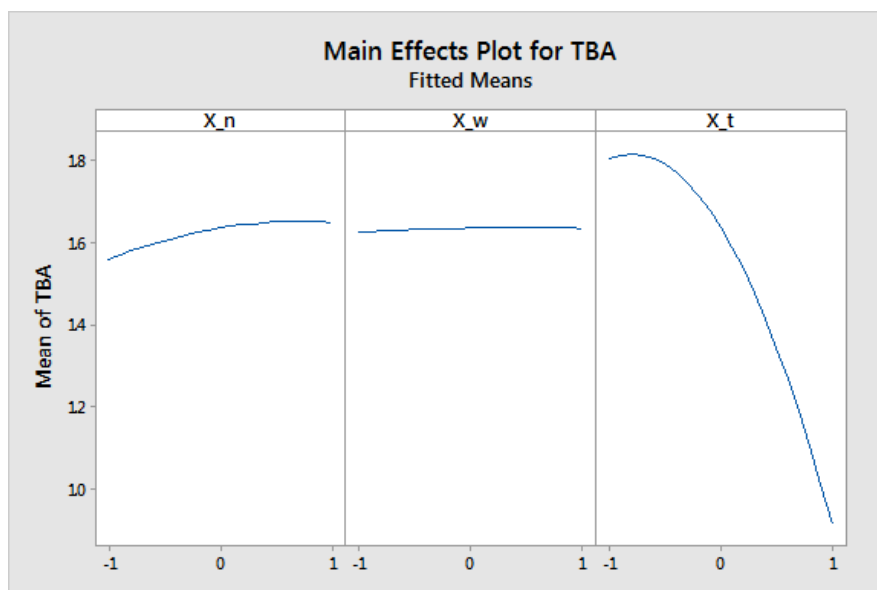
۰/۰۵-۰/۱ قرار گرفته است، احتمال با اهمیت و معنی‌دار بودن پارامتر وجود دارد. سایر پارامترها با مقادیر p بیشتر از ۰/۰۵ در دسته مقادیر با اهمیت بسیار پایین (بدون اهمیت) قرار دارند. همچنین معنی‌داری پارامتر زمان قطع غذا در هر دو حالت ساده و درجه دو بر میزان TBA در جدول پارتو (شکل ۱) نیز قابل مشاهده است.



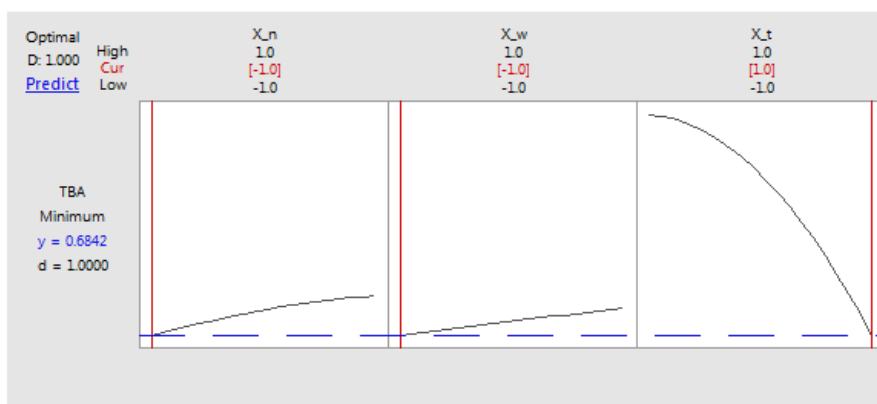
شکل ۱: اثر پارتو برای TBA
Figure 1: Pareto effect for TBA

همان‌طوری که در شکل ۲ نیز قابل مشاهده است، افزایش وزن ماهی تأثیری بر تابع پاسخ ندارد. اما با افزایش تعداد ماهی میزان TBA افزایش اندک اما محسوسی دارد. با توجه به قسمت سوم شکل ۲ با افزایش زمان قطع غذا به ۷ روز میزان TBA به شدت کاهش یافته است. بررسی بهینه‌سازی مدل نشان داد که همانند روش قبل، در شرایط آزمایشی با سطح پایین X_n (تعداد کمتر ماهی) و سطح پایین X_w (وزن ۵۰۰ گرم) و سطح بالای X_t

(زمان ۷ روز قطع غذا)، میزان TBA ماهی به کمترین مقدار خود می‌رسد. همان‌طوری که در شکل ۳ مشخص است، تخمین TBA بهینه با مدل در شرایط مذکور ۰/۶۸۴۲ بدست آمد. تست اعتبار سنجی عملی در شرایط بهینه انجام گرفت و بر این اساس میزان TBA برابر با ۰/۷۰۱ اندازه‌گیری شد که این اختلاف و خطای ناچیز بین میزان بدست آمده با مدل و شرایط عملی، صحت و اعتبار مدل پیشنهادی و نتایج دریافتی را نشان می‌دهد.



شکل ۲: اثرات اصلی برای TBA
Figure 2: Main effects for TBA



شکل ۳: طرح بهینه سازی برای TBA
Figure 3: Optimization plan for TBA

بحث

استرس ایجاد شده در مراحل پیش و زمان کشتار جانوران می‌تواند کیفیت گوشت را طی زمان نگهداری تحت تاثیر قرار دهد. طی فرآیند کشتار به دلیل تغییرات هورمونی، بیوشیمیایی و اختلالات ایجاد شده در تنظیم اسمزی، ماهیان دچار استرس بالایی می‌شوند. استرس بالا منجر به افزایش فعالیت ماهیچه‌ای و تاثیر بر شروع فرآیند جمود نعشی، کاهش pH عضلات بلافاصله بعد از مرگ و کاهش میزان ذخیره ATP می‌گردد (Zampacavallo et al., 2015). بنابراین، با تعیین شرایط بهینه فاکتورهای تاثیرگذار بر یک پاسخ مشخص، می‌توان ارزیابی دقیقی را از میزان اثر عوامل دخیل بدست آورد. جهت تعیین شرایط بهینه پیش از کشتار ماهیان می‌توان از روش‌های مختلفی استفاده نمود. استفاده از طراحی آزمایش به‌وسیله طرح فاکتوریل کامل امکان هر گونه ترکیب ممکن بین فاکتورهای موجود و نیز بررسی تداخلات آنها را امکان‌پذیر می‌نماید. با این وجود به دلیل انجام تعداد زیاد آزمایش، کار بسیار زمان‌بر و پیچیده

۱۶۱

مختلف دیگری نیز وجود دارند که در کیفیت و زمان ماندگاری ماهی‌ها تاثیرگذارند. یکی از مهم‌ترین آنها می‌توان به مدت زمان قطع غذا قبل از کشتار اشاره کرد. گرسنگی قبل از کشتار سبب خالی شدن دستگاه گوارش می‌شود و در نتیجه موجب حفظ کیفیت ماهی در زمان نگهداری در یخ می‌گردد (Caggiano, 2000). همچنین اثر قطع غذا پیش از کشتار در ماهی آزاد آتلانتیک تاثیر مثبتی بر فاکتورهای کیفی ماهی داشته است (Einen and Thomassen, 1998). Ginés و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که قطع غذای ماهی *Sparus aurata* قبل از کشتار سبب افزایش زمان نگهداری محصولات تولیدی از این ماهی می‌گردد. نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر بر کپور معمولی نیز در راستای مطالعات پیشین بوده است.

بر اساس نتایج بدست آمده اگرچه تراکم ماهیان پرورشی تاثیر معنی‌داری بر متغیر پاسخ نشان نداده است، ولی با افزایش تعداد ماهی میزان TBA افزایش اندک، اما محسوسی نشان داد. در طول دوره پرورش استرس‌هایی از قبیل تراکم ماهیان پرورشی و کاهش میزان اکسیژن بر ماهیان پرورشی و کیفیت آنها تاثیرگذار است (Thetmeyer et al., 1999). استرس‌هایی که جانور در مرحله پیش کشتار متحمل می‌شود، منجر به مصرف سریع گلیکوژن و ذخایر ATP و به موجب آن تولید اسید لاکتیک و کاهش میزان pH عضله می‌شود (Bagni et al., 2007). براساس نظر Poli و همکاران (۲۰۰۵) صید و مراحل پیش کشتار به دلیل تقلا کردن ماهیان و انباشت آنها مرحله‌ای تاثیرگذار است. در مطالعه حاضر نیز با افزایش تراکم کپور معمولی کیفیت فیله‌های تولیدی تا حدی کاسته شد که می‌توان آن را به استرس بیشتر ماهیان در شرایط پرورشی با تراکم بیشتر نسبت داد. محققین بیان کردند که افزایش تراکم ماهیان قبل از کشتار منجر به افزایش میزان کورتیزول خون می‌گردد (Parisi et al., 2002). همچنین تحقیقات نشان داده است که افزایش تراکم قبل از کشتار موجب افزایش پاسخ های استرسی و در نتیجه آن کاهش میزان کیفیت ماهیان خواهد شد (Poli et al., 2005). به طور کلی، میزان استرس با کیفیت ماهی در ارتباط است و با افزایش میزان

خواهد شد. اما در این تحقیق با استفاده از روش RSM انجام ۱۳ آزمایش با دو تکرار آزمون در نقطه مرکزی برای تعیین خطا، شرایط بهینه تعیین و همچنین مدلی کارآمد معرفی گردید. استفاده از روش RSM در صنایع غذایی و علوم زیستی در مطالعات مختلفی به‌کار گرفته شده است که می‌توان به بهینه‌سازی تاثیر دما، زمان و شوری بر میزان دهیدراسیون فیله ماهی آنچوی (Yildiz, 2017)، بهینه‌سازی شرایط خشک کردن گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) با استفاده از روش RSM (Ikrang and Umani, 2019) و بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز برای تولید آنتی‌اکسیدان‌های پپتیدی از ژلاتین ماهی با استفاده از روش سطح پاسخ (You et al., 2010) اشاره کرد. در مطالعه حاضر بر کپور معمولی نیز پس از انجام آزمایش‌ها، مدلی درجه دوم برای بررسی میزان TBA با استفاده از روش خطای حداقل مربعات مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده با توجه به مقادیر R^2 و R^2_{adj} بدست آمده (به ترتیب ۰/۹۸/۷۱ و ۰/۹۶/۳۸) و مدل ارائه شده قابل قبول بوده است. با استفاده از مدل بدست آمده می‌توان تغییرات میزان TBA در فیله‌ها را در شرایط مختلف پیش از کشتار پیش‌بینی کرد. بررسی بهینه‌سازی مدل نشان داد که در شرایط آزمایشی با سطح پایین X_n (تعداد کمتر ماهی) و سطح پایین X_w (وزن ۵۰۰ گرم) و سطح بالای X_t (زمان ۱۶ روز قطع غذا)، میزان TBA ماهی به کمترین مقدار خود می‌رسد. تخمین TBA بهینه از طریق مدل در شرایط مذکور ۰/۶۸۴۲ بدست آمد. میزان TBA پس از تست اعتبارسنجی عملی در شرایط بهینه برابر با ۰/۷۰۱ اندازه‌گیری شد که این اختلاف و خطای ناچیز بین میزان بدست آمده از طریق مدل و شرایط عملی، صحت و اعتبار مدل پیشنهادی و نتایج دریافتی را نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش زمان قطع غذا میزان TBA در فیله‌ها کاهش یافته و تاثیر معنی‌دار و مثبتی بر تابع پاسخ داشته است. مهم‌ترین فاکتورهای دخیل در فساد ماهی در فاصله زمانی بین کشتار، خرید مشتری و شرایط نگهداری پس از کشتار روی می‌دهد (Færgemand et al., 1995). با این وجود فاکتورهای

پودینه، ا.، علیزاده دوغیکلایی، ا.، شهریاری مقدم، م. و احمدی فر، ا.، ۱۳۹۹. تاثیر اسانس آویشن به همراه پد جاذب بر کیفیت و ماندگاری فیله کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) طی نگهداری در یخچال. مجله علمی شیلات ایران. ۲۹ (۵): ۱۸۷-۱۹۸.

چراغی، ن.، علیزاده دوغیکلایی، ا. و شهریاری مقدم، م.، ۱۳۹۷. ارزیابی اثر نایسین، استات سدیم و دما بر کیفیت فیله کپور علفخوار تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۴ (۵): ۸۱۵-۸۰۳.

Al-Dagal, M.M. and Bazaraa, W.A., 1999. Extension of shelf life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and bifidobacteria. *Journal of Food Protection*, 62(1): 51-56. DOI: 10.4315/0362-028x-62.1.51.

Aubourg, S.P., Pérez-Alonso, F. and Gallardo, J.M., 2004. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric and ascorbic acids. *Journal of Lipid Science and Technology*, 106(4): 232-240. DOI:10.1002/ejlt.200400937.

Aubourg, S.P., Piñeiro, C., Gallardo, J.M. and Barros-Velazquez, J., 2005. Biochemical changes and quality loss during chilled storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chemistry*, 90(3): 445-452. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.05.008.

استرس از کیفیت ماهی‌ها کاسته خواهد شد (Pottinger, 2001).

فهم این مساله که آیا وزن ماهیان کشتار شده بر کیفیت و زمان ماندگاری محصولات تولیدی دخیل است یا خیر، پر اهمیت است. نتایج بهینه سازی با روش RSM در این تحقیق نشان داد که افزایش وزن ماهی تأثیری بر تابع پاسخ نشان نداده است. مطالعه انجام شده Kayan و همکاران (۲۰۱۵) بر ماهی تیلایپای نیل نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تیوباربتوریک اسید ماهیان گروه‌های وزنی مختلف مشاهده نگردید. با این وجود، برخی محققین نشان داده‌اند که میزان تیوباربتوریک اسید با افزایش وزن ماهی‌های کشتار شده در ماهی تیلایپا بیشتر می‌شود (Biscalchin-Gröyschek *et al.*, 2003). میزان تیوباربتوریک اسید ارتباط مستقیمی با میزان چربی فیله‌ها دارد، با افزایش میزان چربی در عضله اکسیداسیون لیپیدها سریع‌تر اتفاق می‌افتد و در نتیجه، محصولات اکسیداسیون زودتر در عضله انباشته می‌شوند (Chaiyapechara *et al.*, 2003).

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که کیفیت فیله در ارتباط مستقیم با قطع غذادهی می‌باشد. هر چه وزن و تراکم ماهی کمتر و مدت زمان قطع غذا بیشتر باشد، کیفیت فیله‌های نگهداری شده در یخچال بالاتر خواهد بود. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از روش سطح پاسخ برای بهینه سازی شرایط پیش از کشتار کپور معمولی مناسب بوده است و یک مدل درجه دوم برای پیش‌بینی متغیر پاسخ در شرایط پیش کشتار متفاوت، تعیین گردید.

منابع

اورعی، ف.، حسینی، س.ا.، ذریه زهرا، س.م.ج. و صفری، ر.، ۱۳۹۹. تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی پوست پرتقال و تاثیر آن بر فلور باکتری‌های مولد فساد در فیله فیل ماهی (*Huso huso*) در زمان نگهداری در یخچال. مجله علمی شیلات ایران، ۲۹ (۳): ۲۵-۳۶.

- Bagni, M., Civitareale, C., Priori, A., Ballerini, A., Finoia, M., Brambilla, G. and Marino, G., 2007.** Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 263(1-4): 52-60. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.07.049
- Baldi, S.C.V., Parisi, G., Bonelli, A., Balieiro, J.C.C., Guimarães, J.L. and Viegas, E.M.M., 2018.** Effects of different stunning/slaughter methods on frozen fillets quality of cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 486: 107-113. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.12.003.
- Biscalchin-Gröschek, S.F., Oetterer, M. and Gallo, C.R., 2003.** Characterization and frozen storage stability of minced Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red tilapia (*Oreochromis* spp.). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 12(3): 57-69. DOI:10.1300/J030v12n03_06.
- Caggiano, M., 2000.** Quality in harvesting and post-harvesting procedures-influence on quality. Fish freshness and quality assessment for sea bass and sea bream. *Cahiers Options Mediterraneennes*, 51, 55-61.
- Castro, P.L.D., Lewandowski, V., Souza, M.L.R.D., Coradini, M.F., Alexander, A.A.D.C., Sary, C. and Ribeiro, R.P., 2017.** Effect of different periods of pre-slaughter stress on the quality of the Nile tilapia meat. *Food Science and Technology*, 37(1): 52-58. DOI: 10.1590/1678-457x.05616.
- Chaiyapechara, S., Casten, M.T., Hardy, R.W. and Dong, F.M., 2003.** Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. *Aquaculture*, 219(1-4): 715-738. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00025-5.
- Concollato, A., Olsen, R.E., Vargas, S.C., Bonelli, A., Cullere, M. and Parisi, G., 2016.** Effects of stunning/slaughtering methods in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from death until rigor mortis resolution. *Aquaculture*, 464: 74-79. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.06.009.
- Duran, A., Erdemli, U., Karakaya, M. and Tyilmaz, M., 2008.** Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre-, in-or post-rigor periods. *Fisheries Science*, 74(5): 1146-1156. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2008.01634.x.
- Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R., 1997.** Pearson's chemical analysis of food. 9th edn. Longman Scientific and Technical. pp. 609-634.
- Einen, O. and Thomassen, M.S., 1998.** Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*): II. White muscle composition and evaluation of freshness, texture and colour characteristics in raw

- and cooked fillets. *Aquaculture*, 169(1-2): 37-53. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00332-9.
- Færgemand, J., Rønsholdt, B., Alsted, N. and Børresen, T., 1995.** Fillet texture of rainbow trout as affected by feeding strategy, slaughtering procedure and storage post mortem. *Water Science and Technology*, 31(10): 225-231. DOI: 10.1016/0273-1223(95)00443-Q.
- Ginés, R., Palicio, M., Zamorano, M.J., Argüello, A., López, J.L. and Afonso, J.M., 2002.** Starvation before slaughtering as a tool to keep freshness attributes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture International*, 10(5): 379-389. DOI: 10.1023%2FA%3A1023365025292.
- Ikrang, E.G. and Umani, K.C., 2019.** Optimization of process conditions for drying of catfish (*Clarias gariepinus*) using Response Surface Methodology (RSM). *Food Science and Human Wellness*, 8(1): 46-52. DOI: 10.1016/j.fshw.2019.01.002.
- Kayan, A., Boontan, I., Jaturssitha, S., Wicke, M. and Kreuzer, M., 2015.** Effect of slaughter weight on meat quality of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 5: 159-163. DOI: 10.1016/j.aaspro.2015.08.024.
- Manju, S., Jose, L., Srinivasa Gopal, T. K., Ravishankar, C.N. and Lalitha, K.V., 2007.** Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearlsplit (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Food Chemistry*, 102(1): 27-35. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.04.037.
- Montgomery, D.C., 2017.** Design and analysis of experiments. John Wiley and Sons. 688 P.
- Morzel, M., Sohler, D. and Van de Vis, H., 2003.** Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(1): 19-28. DOI: 10.1002/jsfa.1253.
- Özogul, F., Polat, A. and Özogul, Y., 2004.** the effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 85(1): 49-57. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.05.006.
- Parisi, G., Mecatti, M., Lupi, P., Scappini, F. and Poli, B.M., 2002.** Comparison of five slaughter methods for European sea bass. Changes of isometric contraction force and pH during the first 24 hours post mortem. In: Proceedings of the Aquaculture Europe 2002, EAS Special Publication N. 32, pp. 417-418.
- Poli, B.M., Parisi, G., Scappini, F. and Zampacavallo, G., 2005.** Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International*, 13(1-2): 29-49. DOI: 10.1007/s10499-004-9035-1.
- Pottinger, T.G., 2001.** Effects of husbandry stress on flesh quality indicators in fish. In: Kestin, S.C. and Warriss, P.D. (eds.),

- Farmed Fish Quality. Fishing News Books, Oxford, pp. 145–160.
- Robb, D. and Kestin, S.C., 2002.** Methods Used to Kill Fish: Field Observations and Literature Reviewed. *Animal Welfare* (South Mimms, England). 11(3): 269-282.
- Ryan, T.P. and Morgan, J.P., 2011.** Modern experimental design. *Journal of Statistical Theory and Practice*, 1(3-4): 501-506.
- Sallam, K.I., 2007.** Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18(5): 566-575. DOI 10.1016/j.foodcont.2006.02.002.
- Savvaiddis, I.N., Skandamis, P., Riganakos, K.A., Panagiotakis, N. and Kontominas, M.G., 2002.** Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged trout at 4 and 10 degrees C using irradiation. *Journal of Food Protection*, 65(3): 515-522. DOI: 10.4315/0362-028x-65.3.515.
- Thetmeyer, H., Waller, U., Black, K.D., Inselmann, S. and Rosenthal, H., 1999.** Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions. *Aquaculture*, 174(3-4): 355-367. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00028-9.
- Yildiz, Z., 2017.** Osmotic dehydration of anchovy fillets in salt solution: Optimization by using statistical experimental design. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(4): 1187-1203.
- You, L., Regenstein, J.M. and Liu, R.H., 2010.** Optimization of hydrolysis conditions for the production of antioxidant peptides from fish gelatin using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 75(6): C582-C587. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01707.x.
- Zampacavallo, G., Parisi, G., Mecatti, M., Lupi, P., Giorgi, G. and Poli, B.M., 2015.** Evaluation of different methods of stunning/killing sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by tissue stress/quality indicators. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5): 2585-2597. DOI: 10.1007/s13197-014-1324-8.
- Zhang, L., Li, Q., Lyu, J., Kong, C., Song, S. and Luo, Y., 2017.** The impact of stunning methods on stress conditions and quality of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets stored at 4°C during 72 h postmortem. *Food Chemistry*, 216: 130-137. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.08.004.

Optimization of common carp pre-slaughter by using TBA index and Response Surface Methodology (RSM)

Bakhtiari, G.¹; Alizadeh Doughikollae, E.¹; Shahriari Moghadam, M.^{2*}; Samimi, M.³

*mohsen.shahriari@uoz.ac.ir

1-Fisheries department, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran.

2-Environment department, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran.

3-Chemistry department, Faculty of Energy, Kermanshah University of Technology, Iran.

Abstract

The quality of fish flesh is affected by several factors including slaughtering methods and pre-slaughter conditions. In this study the effect of main operational variables such as fasting time (X_t), density (X_n) and fish weight (X_w) in the TBA value of common carp fillet has been evaluated and analyzed using the response surface method and Box-Behnken model. A numerical optimization model was performed to obtain the minimum amount of TBA in the fillets. Adapted fish treated by fasting time, density and weight and then harvested after 1, 4 and 7 days, slaughtered by smothering out of the water and then fillet. The results showed that the lowest TBA value on the second-order model was obtained at a low level of X_n (4 fish numbers), low level of X_w (500 g) and high levels of X_t (7 days fasting time). The optimal TBA value was determined 0.6842 by a model which was measured 0.701 after the practical validation test in the optimal condition which indicating the high accuracy of the model to determine the optimum pre-slaughter. Therefore, the results of this study showed that using the response surface method is appropriate to optimize pre-slaughter conditions of common carp and also the second-order model can be used to predict the response variable in different conditions of pre-slaughter.

Keywords: *Cyprinus carpio*, Slaughtering, Fasting time, Box-Behnken model

*Corresponding author