

## مطالعه میزان استرس وارده و خصوصیات کیفی گوشت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تحت تراکم و روش‌های مختلف کشتار

کاوه رحمانی فرح\*، بهاره شعبانپور، علی شعبانی

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیرات تراکم و روش کشتار بر میزان استرس وارده و کیفیت گوشت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio L.*) بود. در این تحقیق ماهیان تحت دو تراکم کم و زیاد قرار گرفتند و با دو روش خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب یخ کشتار گردیدند. نتایج به دست آمده نشان داد تراکم و روش مختلف کشتار بر مقادیر کورتیزول، گلوکز، لاکتات، منیزیم، کلر و کلسیم پلاسما تاثیر معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ) اما بر مقادیر پروتئین کل پلاسما بی تاثیر بودند ( $P > 0.05$ ). طی دوره ۷۲ ساعته نگهداری ماهیان در یخ، میانگین pH گوشت کپورهایی که خارج از آب خفه شدند به‌طور معنی‌دار کمتر از ماهیان غوطه‌ور شده در آب یخ بود ( $P < 0.05$ ). جمود نعشی در ماهیان خفه شده خارج از آب ۳ ساعت پس از مرگ کامل شد، در حالی که در ماهیان غوطه‌ور شده در آب یخ ۳۶ ساعت پس از مرگ کامل گردید. میزان آب‌چک گوشت ماهیان غوطه‌ور شده در آب یخ کمتر از ماهیان خفه‌شده خارج از آب بود ( $P < 0.05$ ). شاخص انکسار چشم در کلیه تیمارها طی ۷۲ ساعت نگهداری در یخ روند افزایشی نشان داد و در ماهی‌های خفه‌شده خارج از آب بیشتر از دیگر تیمارها بود. بعلاوه روش کشتار بر رنگ پوست و رنگ فیله ماهیان تاثیر معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج این تحقیق نشان داد کشتار با روش غوطه‌وری در آب یخ استرس کمتری نسبت به روش خفگی خارج از آب به ماهی‌ها تحمیل نموده و همچنین ماهیان کشته شده در آب یخ نسبت به ماهی‌های کشته شده به روش خفگی خارج کیفیت گوشت بهتری دارا بودند.

واژگان کلیدی: جمود نعشی، شاخص‌های استرس، pH گوشت، کشتار، تراکم ماهی، *Cyprinus carpio*.

## ۱. مقدمه

کپور معمولی، *Cyprinus carpio* یکی از مهم‌ترین ماهی‌های پرورشی کشور می‌باشد. رشد و قیمت مناسب این ماهی و نزدیکی مراکز تولید به بازار مصرف سبب شده که تولید و مصرف آن در کشور روزبه‌روز افزایش یابد. از خصوصیات قابل توجه این ماهی مقاومت به شرایط مرگ خارج از آب می‌باشد، چنانچه پس از خارج کردن آن از آب، می‌تواند تا ساعت‌ها در خشکی زنده بماند. در حال حاضر در بسیاری از مراکز فروش ماهی در کشور ماهیان پرورشی به صورت زنده عرضه می‌گردند. این مستلزم انتقال ماهی‌ها از مناطق تولید به مراکز عرضه ماهی و نگهداری آنها در مخازن فروش می‌باشد که تراکم بالای ماهی‌ها برای مدت زمان قابل توجه (معمولاً بیش از ۲۴ ساعت) اجتناب ناپذیر است. از طرفی به طور رایج روش کشتار خاصی برای مرگ سریع ماهی و یا بیهوشی آن قبل از مرگ اعمال نمی‌گردد و ماهی‌ها از آب خارج می‌شوند و پس از تقلای فراوان در اثر خفگی در هوا می‌میرند. در مجموع تراکم بالای ماهی‌ها قبل از مرگ (Bagni et al., 2007; Skjervold et al., 1999 Lambooji et al., 2008, Acerete et al., 2009, ) (Sattari et al., 2010) استرس فراوانی به ماهی تحمیل می‌کند. گزارشات فراوانی بر پایه اثرات نامطلوب استرس قبل از مرگ بر ویژگی‌های کیفی گوشت ماهی (Roth et al., 2010, Bahuauud et al., 2010) وجود دارد، که از جمله می‌توان به کاهش pH گوشت (Ribas et al., 2007)، کامل و حل شدن سریع‌تر جمود نعشی (Bagni et al., 2007)، تکه‌تکه شدن عضلات (Kiessling et al., 2004)، نرم شدن گوشت (Roth et al., 2007) و در مجموع کاهش کیفیت فیله ماهیان (Sigholt et al., 1997) اشاره نمود.

در صنعت آبی پروری جهت کاهش استرس وارده هنگام مرگ و بهبود کیفیت گوشت ماهی از روش‌های متنوعی برای کشتار سریع یا بیهوشی استفاده می‌شود (EFSA, 2009). از جمله مهم‌ترین روش‌های بیهوشی و کشتار ماهیان می‌توان به ضربه به سر، الکتریسیته، خون‌گیری، استفاده از مواد بیهوش و آرام کننده، انتقال ماهی به محیطی با دمای پایین و بیهوشی با گاز دی‌اکسید کربن اشاره نمود (EFSA, 2004). دما همواره به عنوان یکی از عوامل موثر بر ماندگاری و کیفیت گوشت شناخته شده است (Skjervoldt et al., 2001, Whittle, 1996)، به‌طوریکه در گزارشاتی کیفیت پایین گوشت و تکه‌تکه شدن عضلات را در ارتباط با دمای بالای محیط اطراف ماهی هنگام مرگ گزارش کرده‌اند (Love, 1988, Lavety et al., 1988). کاهش دمای گوشت ماهی و نزدیک کردن آن به دمای حدود ۰ درجه سانتیگراد، انرژی و گرمای مورد نیاز برای تغییرات و اُفت کیفی گوشت را تا ساعت‌ها پس از مرگ کاهش می‌دهد (Skjervoldt et al., 2001). مزایای فیزیولوژیکی انتقال ماهی به آب یخ از سالها پیش شناخته شده است (McCraen, 1978). روش غوطه‌وری در آب یخ یکی از روش‌های رایج سرد کردن ماهی‌ها می‌باشد که با انتقال ماهی به محیطی با دمای نزدیک به صفر درجه سانتیگراد، ماهی همزمان هم سرد شده و و هم بیهوش می‌شود. در این روش معمولاً آب و یخ با نسبت ۱ به ۳ مخلوط می‌شوند (Van de Vis et al., 2004). استفاده از این روش در بسیاری از گونه‌ها سبب مرگ ماهی نمی‌شود و پس از بیهوشی، مرگ با تخلیه امعاء و احشاء، قطع کمان‌های آبششی و یا ضربه به سر ماهی حاصل می‌شود (Huidobro et al., 2000). سرد کردن ماهی (هیپوترمی) همچنین کاهش پاسخ‌های

مخازن فایبر گلاس نگهداری شدند. مخازن نگهداری ماهی ها به طور مداوم هوادهی شده و هر ۴۸ ساعت نیمی از آب آنها تعویض شد. در طول این دوره، مخازن دارای دمای آب حدود  $23 \pm 1$  درجه سانتیگراد و شرایط پرورشی کاملاً یکسانی بودند. ماهیهای آزمایشی روزانه یکبار و در ساعت ۱۲ ظهر با پلت های تجاری بیومار به میزان ۲ درصد وزن بدن مورد تغذیه دستی قرار گرفتند. ۴۸ ساعت قبل از اعمال روش های کشتار، غذادهی ماهیان قطع شد. بدین منظور ۳۲ عدد ماهی با میانگین وزن و طول به ترتیب  $1037 \pm 24$  گرم و  $35/3 \pm 0/6$  سانتی متر به طور تصادفی انتخاب شدند. زیست سنجی توسط ترازوی دیجیتالی (دقت ۱ گرم) و تخته زیست سنجی (با دقت ۱ میلی متر) انجام گردید. در این تحقیق ماهیان به چهار گروه تقسیم گردیدند و تحت دو تراکم قبل از مرگ و دو روش مختلف کشتار قرار گرفتند: گروه اول قبل از مرگ دارای تراکم پایین بود و با خفگی به علت خارج شدن از آب مردند (تیمار A). گروه دوم قبل از مرگ دارای تراکم پایین بود و تحت بیهوشی با آب یخ قرار گرفتند (تیمار B). گروه سوم مدت ۴۸ ساعت در تراکم بالا نگهداری شده و با خارج شدن از آب و خفگی مردند (تیمار C). گروه چهارم مدت ۴۸ ساعت در تراکم بالا نگهداری شده و سپس تحت بیهوشی با آب یخ قرار گرفتند (تیمار D) تعداد ماهی در هر گروه آزمایشی ۸ عدد بود. برای افزایش تراکم ماهیان ۴۸ ساعت قبل از مرگ، ۱۶ عدد از ماهیان به یک حوضچه با سطح آب کم منتقل و با تراکم ۱۶ کیلو بر متر مکعب نگهداری گردیدند. در روش بیهوشی با آب یخ، ماهیها در یک مخزن با نسبت یخ به آب ۳ به ۱ قرار گرفتند. پس از مدت زمان میانگین ۴۸ دقیقه حرکت سرپوش آبششی تمامی ماهیها متوقف و با ضربه

فیزیولوژیکی استرسی را موجب شده (Wedermeyer et al., 1990) و نیز سرد کردن تدریجی ماهی به زیر ۴ درجه سانتیگراد، یکی از قدیمیترین روشهای بیهوشی ماهی محسوب می گردد (Hroar و Randall, 1971). از طرف دیگر محققینی معتقدند که کاهش سریع دمای بدن می تواند استرس را باشد (Rørvik et al., 1999) و احتمالاً هرچه دمای محیط زندگی ماهی بالاتر باشد، استرس وارده در پی شوک سرما شدیدتر خواهد بود (Skjervoldt et al., 2001).

در این مطالعه هدف آزمایش اثرات غوطه‌وری ماهیان در آب یخ، تراکم بالای قبل از مرگ و اثرات متقابل این تیمارها بر پاسخهای استرسی خون و گوشت به استرس می باشد. به علاوه با توجه به گزارشات فراوان اثرات نامطلوب استرس بر کیفیت گوشت (Roth et al., 2009a, Roth et al., 2009b, Gatica et al., 2008) هم چنین در این پژوهش آزمایش اثرات غوطه‌وری در آب یخ، تراکم بالا و اثرات متقابل این تیمارها بر خصوصیات کیفی گوشت ماهی کپور معمولی می باشد.

## ۲. مواد و روشها

در این تحقیق از آزمایشات فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو سطح تراکم و دو روش کشتار استفاده گردید. حدود ۹۰ ماهی کپور معمولی با میانگین وزن بازاری حدود ۱ کیلوگرم در سال ۱۳۸۷ از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی سد وشمگیر استان گلستان تهیه و با مخزن مجهز به سیستم هوادهی به مرکز تحقیقات آبی پروری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. به منظور سازگاری با شرایط جدید، ماهی ها به مدت یک ماه با تراکم حدود ۱/۵ کیلوگرم بر متر مکعب در

pH گوشت با وارد کردن pH متر ( Testo 206 pH2, Germany) با الکتروود خودکاری در عضلات بخش پشتی ماهیان اندازه گیری شد.

جهت اندازه گیری میزان آب چک، از قسمت پشتی ماهی یک فیله با اندازه های حدود  $1 \times 2 \times 20$  سانتیمتر از هر ماهی تهیه و با دقت  $0.01$  توسط ترازوی دیجیتال وزن شد و در فویل آلومینیومی پیچیده و در دمای  $4$  درجه سانتیگراد نگه داری شد. بعد از  $96$  ساعت نگه داری، فویل ها باز شده و فیله مجدداً توزین شد (Roth et al., 2006). درصد آب چک با محاسبه اختلاف وزن فیله قبل و بعد از نگه داری در یخچال بخش بر وزن اولیه فیله ضرب در  $100$ ، محاسبه گردید.

شاخص جمود نعشی، با محاسبه میزان خمیدگی بدن و ساقه دم تعیین گردید (Bito et al., 1983). بدین ترتیب که نصف طول (قسمت سر ماهی) بر روی لبه میز قرار گرفت و ارتفاع بین قسمت روی میز و دم ماهی به وسیله ی تخته جمود متر اندازه گیری شد و نتایج بر اساس درصد به صورت شاخص جمود ارائه گردید. شاخص جمود نعشی با محاسبه اختلاف ارتفاع آن قسمتی از بدن ماهی که بلافاصله پس از کشتار از لبه میز آویزان شده، از ارتفاع آن قسمتی از بدن ماهی که در هر یک از زمان های نمونه گیری از لبه میز آویزان شده تقسیم بر ارتفاع آن قسمتی از بدن ماهی که بلافاصله پس از کشتار از لبه میز آویزان شده ضرب در  $100$ ، محاسبه گردید.

برای سنجش شاخص انکسار چشم یک قطره از مایع چشمی به وسیله سرنگ از چشم استخراج شد و انکسار آن بوسیله ی دستگاه رفاکتومتر دیجیتالی دارای تصحیح کننده دما (Ceti, Abbe., Belgium) سنجیده و با درجه بریکس نشان داده شد. نمونه برداری برای محاسبه شاخص انکسار چشم با توجه به محدود بودن میزان مایع چشمی،

به سر کشتار شدند. برای این کار با اعمال دو تا سه ضربه به ناحیه فوقانی سر ماهی ها (بین دو چشم)، به وسیله ی یک میله فلزی کشته شدند. برای مقایسه با روش رایج مرگ ماهیان در کشور، ماهی ها بدون اعمال هیچ گونه تیمار بیهوشی از آب خارج شدند و در خشکی تا زمانی که بمیرند قرار گرفتند.

### نمونه برداری:

به منظور بررسی شاخص های فیزیولوژیک استرس، به وسیله ی سرنگ های هپارینه بلافاصله پس از مرگ از ساقه دم ماهیان خونگیری شد. همچنین برای مقایسه شاخص های فیزیولوژیک با گروه شاهد، تعداد  $3$  ماهی سریعاً از حوضچه صید و با کنترل ناحیه سر و ساقه دم به وسیله پارچه سریعاً خون گیری گردیدند. خون های بدست آمده به لوله های هپارین دار منتقل شدند و بلافاصله در  $3000$  دور به مدت  $15$  دقیقه سانتریفوژ شدند. متعاقباً پلاسما جدا شده و تا زمان انجام آزمایشات در دمای  $20-20$  درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس کلیه ماهیان در جعبه های استیروفوم حاوی یخ نگه داری شدند و نمونه برداری برای ارزیابی برخی خواص فیزیوشیمیایی گوشت ماهیان، در دوره های زمانی  $0$ ،  $3$ ،  $9$ ،  $24$ ،  $36$ ،  $48$ ،  $60$  و  $72$  ساعت پس از مرگ انجام گرفت. نمونه برداری زمان  $0$  بلافاصله پس از مرگ ماهی ها صورت گرفت.

برای ارزیابی شاخص های فیزیولوژیک خون مقادیر هورمون کورتیزول پلاسما با استفاده از روش الایزا، سطوح گلوکز، منیزیم، کلسیم، پروتئین کل پلاسما، از کیت تجاری شرکت پارس آزمون، اندازه گیری لاکتات و کلراید پلاسما، از کیت تجاری شرکت شیم آنزیم و مقادیر الکترولیت و یون ها با روش رنگ سنجی (اسپکتوفوتومتری) تعیین شدند.

گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری و در بین تیمارهای مختلف از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده گردید. آنالیز آماری در این تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 انجام گرفت.

### ۳. نتایج

نتایج سنجش‌های بیوشیمیایی پلاسماي خون کپور ماهیان بین گروه‌های مختلف تفاوت‌های معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ). استرس تراکم و روش کشتار اثر متقابلی بر میزان کورتیزول پلاسما داشت. میانگین کورتیزول پلاسماي ماهیان گروه A، B، C و D، به ترتیب ۶/۶، ۲/۶، ۸/۵ و ۳/۱ برابر کورتیزول در پلاسماي گروه شاهد بود. بیشترین میزان گلوکز پلاسما در گروه A مشاهده گردید. گروه‌های B و D با روش‌های کشتار مشابه اختلاف معنی‌داری از نظر میزان گلوکز پلاسما نداشتند. روش کشتار همچنین بر میزان گلوکز، لاکتات، کلر، کلسیم و منیزیم پلاسماي ماهیان تاثیر معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.01$ ). میزان لاکتات پلاسماي ماهیانی که با خارج شدن از آب خفه شدند بیشتر از ماهیان کشته شده با آب یخ بود ( $P < 0.05$ ). میانگین میزان کلر پلاسما در تیمار C بیشتر از سایر تیمارها بود. تراکم و روش‌های کشتار مختلف تاثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین کل پلاسما نداشتند ( $P < 0.05$ ). نتایج سنجش‌های بیوشیمیایی پلاسماي ماهیان کمترین میزان کلسیم را در تیمار شاهد نشان داد. تراکم و روش کشتار بر میزان کلسیم پلاسما اثر معنی‌دار داشت ( $P < 0.01$ ). استرس تراکم و کشتار سبب کاهش منیزیم پلاسماي تیمارهای آزمایشی گردید (جدول ۱).

در زمان‌های ۳۶ و ۶۰ ساعت پس از مرگ انجام نشد. دستگاه قبل از انجام آزمایش با استفاده از آب مقطر بر روی عدد صفر تنظیم گردید (Eskin, 1990). در این آزمایش رنگ پوست و فیله ماهیان مورد سنجش قرار گرفت.

رنگ پوست ماهی بالای خط جانبی پشت سر، در ابتدا و ۷۲ ساعت بعد با استفاده از اندازه گیری میزان طیف‌های رنگی توسط دستگاه رنگ سنج (Lovibond CAM-system 500, England) سنجیده شد. انتخاب این دو زمان به دلیل تغییرات کند این فاکتورها می‌باشد. پس از عکس برداری اولیه مقادیر  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$  توسط دستگاه مجهز به رایانه تعیین شد. فاکتورهای Hue و Chroma نیز به طریق زیر محاسبه گردیدند:

$$C_{ab}^{\circ} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad \text{رابطه شماره ۱:}$$

$$H_{ab}^{\circ} = \text{Arctan}(b^*/a^*) \quad \text{رابطه شماره ۲:}$$

به منظور ارزیابی رنگ فیله ماهیان، ۷۲ ساعت پس از مرگ پوست ماهیان به‌طور کامل از گوشت جدا شد و از سمت چپ بدن مورد آنالیز رنگ سنجی قرار گرفتند. متغیر  $L^*$  برای بیان شاخص روشنایی گوشت از ۰ (بعد سیاهی) تا ۱۰۰ (بعد سفیدی) بود، شاخص  $a^*$  برای بیان بُعد قرمزی-سبزی ( $a^*$  نشان دهنده قرمزتر و  $-a^*$  نشان دهنده سبزتر) و  $b^*$  برای بیان بُعد زرد-آبی ( $b^*$  نشان دهنده زردتر و  $-b^*$  نشان دهنده آبی‌تر) می‌باشد (CIE, 1976).

نرمال بودن داده‌های به دست آمده ابتدا با آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی گردید و سپس مورد آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه قرار گرفتند. به منظور بررسی اختلاف‌های آماری بین فاکتورهای کیفی گوشت، روش‌های کشتار، تراکم و زمان به طور مجزا مورد مطالعه قرار

دیگر اختلاف معنی‌داری از نظر میزان آب‌چک نداشتند (شکل ۴).

نتایج رنگ‌سنجی پوست ماهیان تفاوت‌های معنی‌داری بین تیمارهای مختلف نشان دادند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲). فاکتورهای رنگ‌سنجی پوست بلافاصله و ۷۲ ساعت پس از کشتار تحت تاثیر روش کشتار بود. بلافاصله پس از مرگ ماهی‌های تیمار A و C پوست روشن‌تری نسبت به تیمارهای B و D داشتند. بعلاوه پس از ۷۲ ساعت پوست ماهیان تیمارهای A و C تیره‌تر شد درحالی‌که پوست تیمارهای B و D طی ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری از نظر میزان روشنایی نداشتند ( $P < 0.05$ ). همچنین مقادیر تهرنگ در تیمارهای A و C بیشتر از تیمارهای B و D بود. میزان تهرنگ طی ۷۲ ساعت پس از کشتار در تمامی تیمارها کاهش معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.05$ ).

نتایج رنگ‌سنجی فیله ماهیان ۷۲ ساعت پس از مرگ اختلافات معنی‌دار در فاکتورهای رنگی را تحت تاثیر روش کشتار نشان داد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۳). میزان تهرنگ تیمارهای A و C بیشتر از تیمارهای B و D بود. بعلاوه فام در تیمارهای A و C بیشتر از سایر تیمارها بود.

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق مقادیر کورتیزول، گلوکز، لاکتات، کلسیم، منیزیم و کلر بیشتر تحت تاثیر روش کشتار بود و در ماهی‌های خفه شده خارج از آب بیشتر از تیمار آب‌یخ بود. Acerete و همکاران (2009) و Ribas و همکاران (2007) تاثیر روش‌های کشتار خفگی خارج آب و غوطه‌وری در آب یخ را در ماهی‌های به‌ترتیب باس دریایی اروپایی و سول سنگال مطالعه کردند و بیشترین میزان کورتیزول، گلوکز، لاکتات و اسمولالیت را در ماهی‌های خفه‌شده خارج آب مشاهده کردند

الگوی تغییرات pH که در شکل ۱ آمده است، طی زمان ۷۲ ساعت پس از مرگ بین دو روش کشتار اختلاف معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ). ماهی‌های تیمار B و D که با غوطه‌وری در آب یخ کشته شدند در طول زمان آزمایش روند تغییرات pH ملایم و کاهشی نشان دادند درحالی‌که این روند برای ماهیان کشته شده خارج از آب تقریباً ثابت بود. کمترین میزان pH گوشت برای ماهیان کشته شده خارج از آب ۳ ساعت پس از مرگ و برای ماهیان کشته شده با غوطه‌وری در آب یخ ۶۰ ساعت پس از مرگ ثبت گردید. بعلاوه میانگین pH گوشت بلافاصله پس از مرگ در ماهی‌های کشته شده با روش متفاوت، اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ).

جمود نعشی تیمارهای آزمایشی مختلف طی ۷۲ ساعت نگهداری در یخ از نظر زمان کامل شدن، اختلاف معنی‌داری باهم نشان دادند ( $P < 0.05$ ) (شکل ۲). ماهیان تیمار A و C، ۳ ساعت پس از مرگ جمود نعشی کامل داشتند. حل شدن جمود نعشی این تیمارها ۳ ساعت پس از مرگ به سرعت آغاز گردید. جمود نعشی ماهیان تیمار B و D به‌طور مشابه ۳۶ ساعت پس از مرگ کامل گردید. حل شدن جمود نعشی در این تیمارها سرعت کمتری نسبت به تیمار ماهیان کشته شده خارج از آب داشت. ضریب شکست مایع چشمی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و طی ۷۲ ساعت پس از کشتار نشان داد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۳). میانگین این شاخص طی ۷۲ ساعت نگهداری در ماهیان غوطه‌ور شده در آب یخ کمتر از ماهیان کشته شده با خفگی بود.

روش کشتار و تراکم بر میزان آب‌چک خارج شده از گوشت ماهیان گروه‌های آزمایشی تاثیر معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). تیمار C بیشترین میزان آب‌چک را دارا بود درحالی‌که تیمارهای

بود. همچنین حداقل pH گوشت در تیمارهای ماهیان خفه شده خارج آب سریع تر از دیگر تیمارها ایجاد شد. Kiessling و همکاران (2004) بیان نمودند که تقلای ماهی خارج از آب سبب تجزیه سریع تر ذخایر گلیکوژن بدن شده و حداقل pH گوشت در این ماهی ها سریع تر فرا می رسد. در مطالعه حاضر ماهی های تیمار خفگی خارج آب، پس از خروج از آب حدود ۵ ساعت در خشکی تقلا نمودند و در نتیجه ذخایر گلیکوژن بدن تخلیه شده و اسید لاکتیک در عضلات تجمع یافت که مسبب کاهش pH گوشت در این ماهیان گردید که با نتایج سنجش pH Kristoffersen و همکاران (2006) بر ماهی کاد اطلس مطابقت داشت. ماهی های غوطه ور شده در آب یخ که تحت استرس و فعالیت کمتر بودند کاهش گندی در مقادیر pH گوشت داشتند که نتایج Roth و همکاران (2009a) آنرا تایید می کند. Haard و همکاران (1985)، کاهش سریع pH را علت نرم شدن گوشت ماهی کاد گزارش کردند. پیشرفت جمود نعشی به عنوان یکی از شاخص های استرس قبل از مرگ (Bagni et al., 2007, Lowe et al., 1992, Nakayama et al., 1993) و کیفیت گوشت (Kiessling et al., 2004, Mørkøre et al., 2008) شناخته شده است. در مطالعه حاضر جمود نعشی در ماهی هایی که با خارج شدن از آب مردند زودتر از ماهی های غوطه ور در آب یخ کامل شد که مسلماً با تخلیه ذخایر گلیکوژن بدن به دنبال تقلای فراوان خارج آب، در ارتباط می باشد. Roth و همکاران (2002) همچنین بیان نمودند که استرس قبل از مرگ سبب تسریع در کامل شدن جمود نعشی می گردد.

ضریب شکست مایع چشمی در این تحقیق در کلیه تیمارها روند افزایشی طی ۷۲ ساعت نگهداری پس از مرگ نشان داد. این ضریب در

که با این تحقیق همسو بود. بعلاوه در مطالعه حاضر ماهیان غوطه ور شده در آب یخ از نظر شاخص های فیزیولوژیک خون اختلاف معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند که این خود بیانگر اثرات استرسی آب یخ بر ماهیان می باشد. پاسخ استرسی ماهیان غوطه ور شده در آب یخ، به دلیل شوک سرمایی است که سبب بروز پاسخ های فیزیولوژیک اولیه در نتیجه تحریک محور هیپوتالاموس و ترشح کاتکول آمین ها و پاسخ های ثانویه استرس شامل اختلالات در تنظیمات اسمزی و یونی می گردد (Iwama et al., 1997). در مطالعه Roth و همکاران (2009a) که بر پاسخ های رفتاری، بیوشیمیایی خون و خصوصیات کیفی گوشت ماهی توربوت تحت تیمار آب یخ به تنهایی بود، افزایش گلوکز و کلسیم پلاسما در ماهیان تحت استرس و شوک سرما مشاهده گردید. نتایج سنجش های بیوشیمیایی خون ماهیان در این مطالعه نشان داد که اگرچه روش کشتار خفگی خارج آب بیشترین میزان استرس را به ماهی تحمیل می کند اما روش غوطه وری در آب یخ نیز استرس قابل توجهی به ماهی وارد می کند. در این پژوهش تراکم بالای قبل از مرگ سبب بروز پاسخ های استرسی در میزان کورتیزول و منیزیم گردید. اگرچه تراکم قبل از مرگ برای ماهی ها استرس زا بود اما فاکتورهای استرسی پلاسما بیشتر تحت تاثیر روش کشتار بود. همچنین در دیگر گزارشات تغییرات مقادیر یون های پلاسما ارتباط نزدیکی با استرس قبل از مرگ نشان داده است (Misimi Erikson, 2008) and pH گوشت یکی از مهم ترین فاکتورهای کیفی گوشت است (Kristoffersen et al., 2006, Marx et al., 1997). در مطالعه حاضر میانگین pH گوشت ماهی های تیمار آب یخ طی دوره ۷۲ ساعته یخ گذاری بیشتر از تیمار خفگی خارج آب

پس از مرگ وجود دارد. Erikson و همکاران (2008) تغییرات رنگ گوشت و پوست ماهی آزاد اقیانوس اطلس را تحت تاثیر استرس قبل از مرگ، جمود نعشی و یخ‌گذاری بررسی کردند. گرچه مقایسه اثرات استرس قبل از کشتار بر شاخص‌های رنگ‌سنجی ماهی کپور با دیگر گونه‌ها کار دشواری می‌باشد، به هر حال در مطالعه Erikson و همکاران (2008) روش‌شنایی پوست ماهیان در ناحیه پشتی بدن ۷ روز پس از نگه‌داری افزایش یافت که برخلاف نتایج این تحقیق بود. این می‌تواند به دلیل اختلاف در الگوهای رنگی بین گونه‌ای باشد. میزان تهرنگ پوست در تحقیق حاضر تحت تاثیر روش کشتن بود، به‌طوریکه همواره در ماهی‌های غوطه‌ور شده در آب یخ کمتر از ماهی‌های خفه‌شده در هوا بود. نتایج رنگ‌سنجی گوشت ماهیان در این آزمایش مانند بسیاری از فاکتورهای بحث شده، تحت تاثیر روش کشتار قرار داشت و تراکم تاثیر معنی‌داری بر رنگ گوشت نداشت. Sigholt و همکاران (1997) ماهی‌های آزاد با تراکم بالا و پایین قبل از مرگ را باهم مقایسه کردند و هیچ اثر معنی‌داری بین تیمارها نیافتند. مقایسه شاخص‌های رنگی  $a^*$  و  $b^*$  گوشت ماهی‌ها در این آزمایش اندکی پیچیده به نظر می‌رسد. با توجه به تغییرات اندک فاکتورهای  $a^*$  و  $b^*$  برای بررسی نتایج می‌توان از  $Hue^*$  استفاده نمود. زیرا به لحاظ قرارگرفتن فاکتورهای قرمزی و زردی در رابطه‌ی ریاضی، تغییرات اندک در این فاکتورها موجب تغییرات قابل توجه در میزان تهرنگ می‌شود (Pavlidis et al., 2006). به‌طوریکه در مطالعه حاضر میزان  $Hue^*$  (ته‌رنگ) گوشت ماهی‌های تیمار خفگی خارج آب تحت استرس و فعالیت شدیدتر، بیشتر از تیمار ماهی‌های تیمار آب یخ بود.

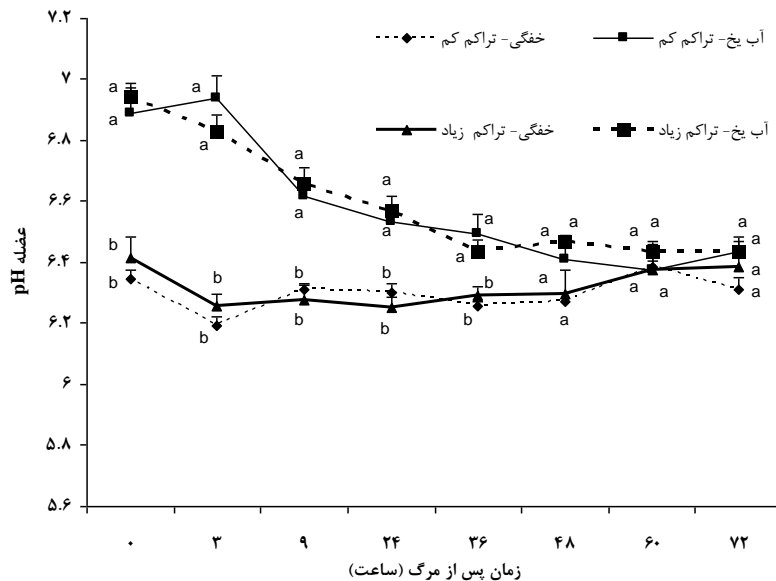
ماهی‌های خفه‌شده خارج از آب بیشتر از ماهی‌های تیمار آب یخ بودند که تحقیق Ribas و همکاران (2007) بر سول سنگال آنرا تایید می‌کند. البته این شاخص نتایج ضد و نقیضی در تحقیقات مختلف داشته است و کاربرد آن به عنوان یک شاخص برای ارزیابی کیفی ماهی هنوز در حالت ابهام می‌باشد. در تحقیق حاضر ماهیان تحت تراکم بالا و خفه‌شده خارج آب بیشترین میزان آب‌چک را نسبت به سایر تیمارها دارا بودند. Roth و همکاران (2008) گلیکولیز بی‌هوازی پس از مرگ را مسبب افزایش میزان آب‌چک گوشت طی نگه‌داری در یخچال گزارش کردند. Kiessling و همکاران (2004) بیان کردند که علاوه بر تغییرات بیوشیمیایی گوشت پس از مرگ، آسیب‌های وارد شده بر گوشت ماهی هنگام تقلا هم ممکن است موجب کاهش خصوصیات کیفی گوشت ماهی شود. در این مطالعه نیز ماهی‌های تحت استرسی که پس از تقلا فراروان خارج آب مردند در نتیجه‌ی کاهش pH گوشت و صدمات مکانیکی، بیشترین میزان آب‌چک را بین تیمارها دارا بودند. رنگ پوست، فیله و ظاهر از جمله مهم‌ترین شاخص‌های بازار پسندی ماهی محسوب می‌گردد. در این پژوهش پوست ماهیان خفه شده خارج آب نسبت به ماهیان تیمار آب یخ رنگ‌پریده‌تر، قرمزی کمتر، زردی بیشتر و تهرنگ بیشتری داشت. همچنین در تحقیق حاضر مشخص گردید روش‌شنایی پوست ماهیان تحت استرس با سرعت و شدت بیشتری در طول زمان کاهش می‌یابد به‌طوریکه میزان  $L^*$  در ماهیان تیمار خفگی خارج آب پس از ۷۲ ساعت افزایش یافت اما در تیمار آب یخ تفاوتی طی زمان مشاهده نگردید. اطلاعات کمی در رابطه با تاثیر روش‌های کشتار و تراکم قبل از مرگ بر تغییرات رنگ ماهی



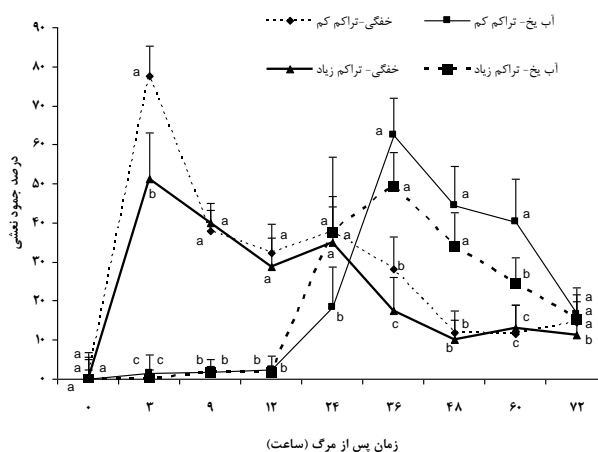
جدول ۱. نتایج سنجش‌های بیوشیمیایی پلاسمای کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب یخ

فاکتور	شاهد	تراکم کم		تراکم زیاد		آنالیز دوطرفه	
		خفگی خارج آب	آب یخ	خفگی خارج آب	آب یخ	تراکم	تراکم × روش کشتن
کورتیزول	۲۸/۴±۲/۲ <sup>d</sup>	۱۸۷/۹±۷/۱ <sup>b</sup>	۷۴/۴±۵/۴ <sup>c</sup>	۲۳۹/۷±۵/۹ <sup>a</sup>	۸۸/۶±۴/۹ <sup>c</sup>	**	**
گلوکز	۴۲/۹±۶/۴ <sup>d</sup>	۲۲۵/۱±۱۸/۰ <sup>a</sup>	۹۰/۹±۱۵/۰ <sup>c</sup>	۱۶۵/۷±۱۵/۰ <sup>b</sup>	۹۲/۸±۸/۰ <sup>c</sup>	NS	**
لاکتات	۱۲/۰±۴/۳ <sup>c</sup>	۱۸۵/۷±۴/۷ <sup>a</sup>	۸۰/۸±۹/۶ <sup>b</sup>	۲۰۰/۹±۱۶/۱ <sup>a</sup>	۸۶/۰±۷/۳ <sup>b</sup>	NS	**
کلر	۱۱۹/۳±۲/۴ <sup>a</sup>	۱۱۲/۱±۱/۶ <sup>cb</sup>	۱۱۴/۵±۲/۱ <sup>cb</sup>	۱۰۶/۱±۴/۱ <sup>c</sup>	۱۲۴/۰±۲/۰ <sup>ab</sup>	NS	*
پروتئین کل	۳/۴±۰/۵ <sup>a</sup>	۳/۴±۰/۰ <sup>a</sup>	۳/۱±۰/۳ <sup>a</sup>	۳/۴±۰/۱ <sup>a</sup>	۳/۲±۰/۲ <sup>a</sup>	NS	NS
کلسیم	۸/۲±۳/۵ <sup>b</sup>	۲۲/۱±۴/۲ <sup>a</sup>	۱۴/۳±۱/۱ <sup>ab</sup>	۱۸/۳±۳/۵ <sup>ab</sup>	۱۳/۳±۱/۹ <sup>ab</sup>	NS	*
منیزیم	۰/۴±۰/۰ <sup>a</sup>	۰/۲±۰/۰ <sup>c</sup>	۰/۳±۰/۱ <sup>b</sup>	۰/۱±۰/۰ <sup>d</sup>	۰/۲۳±۰/۰ <sup>c</sup>	NS	**

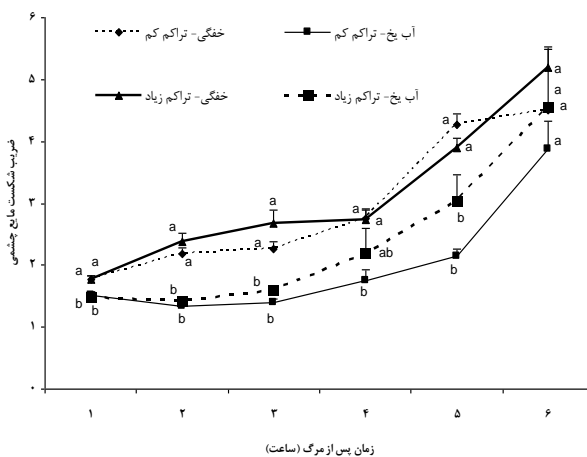
حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد. \* معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد، \*\* معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ درصد، NS عدم معنی‌داری.



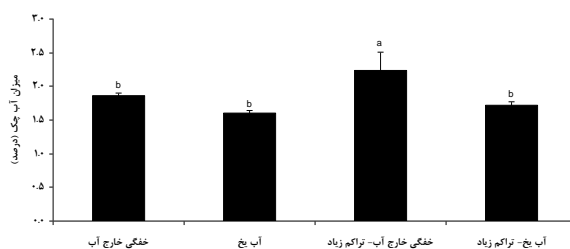
شکل ۱. نمودار تغییرات pH گوشت کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب یخ. (اعداد میانگین ۸ تکرار با خطای معیار می‌باشند).



شکل ۲. نمودار میانگین شاخص جمود نعلشی (درصد) کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب یخ. (اعداد میانگین ۸ تکرار با خطای معیار می‌باشند).



شکل ۳. نمودار تغییرات ضریب شکست مایع چشمی کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب یخ. (اعداد میانگین ۸ تکرار با خطای معیار می‌باشند).



شکل ۴. نمودار میانگین میزان آب چک گوشت کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب یخ. (حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ظرفیت نگهداری آب بین تیمارهای مختلف می‌باشد) ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. نتایج رنگ‌سنجی پوست کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب‌یخ.

زمان	فاکتور	تراکم پایین		تراکم بالا		آنالیز دوطرفه	
		خفگی خارج آب	آب یخ	خفگی خارج آب	آب یخ	تراکم	تراکم × روش کشتن
بلافاصله پس از مرگ	L*	69/6±2/5 <sup>A a</sup>	60/3±1/0 <sup>A b</sup>	71/5±1/7 <sup>A a</sup>	60/3±1/3 <sup>A b</sup>	Ns	ns
	a*	3/3±0/4 <sup>B b</sup>	4/7±0/2 <sup>A a</sup>	3/3±0/4 <sup>A b</sup>	4/9±0/2 <sup>A a</sup>	Ns	**
	b*	3/4±1/1 <sup>B a</sup>	1/6±0/4 <sup>B b</sup>	2/6±0/7 <sup>B ab</sup>	1/5±0/4 <sup>B b</sup>	Ns	**
	Hue*	44/4±9/2 <sup>A a</sup>	18/5±4/1 <sup>A b</sup>	37/2±6/2 <sup>A a</sup>	17/0±4/4 <sup>A b</sup>	Ns	**
	Chroma*	4/8±0/9 <sup>A ab</sup>	5/1±0/1 <sup>B ab</sup>	4/2±0/7 <sup>A b</sup>	5/3±0/2 <sup>B a</sup>	Ns	**
۷۲ ساعت پس از مرگ	L*	51/8±5/1 <sup>B b</sup>	57/8±1/3 <sup>A a</sup>	52/4±4/9 <sup>B b</sup>	58/0±0/6 <sup>A a</sup>	Ns	**
	a*	4/3±0/6 <sup>A b</sup>	5/1±0/2 <sup>A a</sup>	4/1±0/8 <sup>A b</sup>	5/4±0/2 <sup>A a</sup>	Ns	**
	b*	-0/2±1/2 <sup>A a</sup>	-7/9±0/4 <sup>A b</sup>	-0/6±0/6 <sup>A a</sup>	-7/6±0/3 <sup>A b</sup>	Ns	**
	Hue*	-3/7±16/4 <sup>B a</sup>	-56/7±2/2 <sup>B b</sup>	-8/8±6/8 <sup>B a</sup>	-54/5±1/2 <sup>B b</sup>	Ns	**
	Chroma*	4/5±0/5 <sup>A b</sup>	9/4±0/2 <sup>A a</sup>	4/2±0/7 <sup>A b</sup>	9/4±0/3 <sup>A a</sup>	Ns	**

\* معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد، \*\* معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ درصد، ns عدم معنی‌داری. اختصارات: L\* (روشنایی)، a\* (قرمزی)، b\* (زردی)، Hue (h\*) (ته رنگ) و Chroma (c\*) (فام). حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار شاخص‌های رنگ بین تیمارها می‌باشد. حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار (P<0.05) بین تیمارها در هر زمان نمونه برداری می‌باشد حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار (P<0.05) بین زمان‌های نمونه برداری در تیمارهای مشابه می‌باشد.

جدول ۳. نتایج رنگ‌سنجی فیله کپور ماهیان تحت تراکم زیاد و کم قبل از مرگ و کشته شده با خفگی خارج از آب و غوطه‌وری در آب‌یخ.

فاکتور	تراکم پایین		تراکم بالا		آنالیز دوطرفه	
	خفگی خارج آب	آب یخ	خفگی خارج آب	آب یخ	تراکم	تراکم × روش کشتن
L*	40/2±2/0 <sup>ab</sup>	45/6±1/5 <sup>a</sup>	38/3±1/7 <sup>b</sup>	44/4±0/6 <sup>a</sup>	ns	*
a*	11/9±0/5 <sup>a</sup>	11/7±0/7 <sup>a</sup>	12/2±0/2 <sup>a</sup>	11/9±0/5 <sup>a</sup>	ns	Ns
b*	-1/3±0/5 <sup>a</sup>	-10/0±0/7 <sup>b</sup>	-0/8±0/3 <sup>a</sup>	-11/1±0/3 <sup>b</sup>	ns	**
Hue*	-6/4±2/1 <sup>a</sup>	-40/0±1/4 <sup>b</sup>	-3/9±1/3 <sup>a</sup>	-43/2±0/9 <sup>b</sup>	ns	**
Chroma*	12/0±0/5 <sup>b</sup>	15/4±0/9 <sup>a</sup>	12/2±0/2 <sup>b</sup>	16/2±0/5 <sup>a</sup>	ns	**

\* معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد، \*\* معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ درصد، ns عدم معنی‌داری. اختصارات: L\* (روشنایی)، a\* (قرمزی)، b\* (زردی)، Hue (h\*) (ته رنگ) و Chroma (c\*) (فام). حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار شاخص‌های رنگ بین تیمارها می‌باشد.

این مساله می‌تواند ناشی از سازگاری ماهی طی مدت نگهداری با تراکم بالا باشد. به‌هرحال نتایج اثبات کردند که روش رایج کشتار خفگی خارج از آب استرس قابل توجهی به ماهی وارد می‌کند و خصوصیات کیفی گوشت را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. در نتیجه می‌توان از روش‌هایی که استرس کمتری به ماهی تحمیل و کیفیت گوشت را

به‌طور کلی نتایج بررسی خصوصیات کیفی گوشت و استرس وارده به ماهی در پژوهش حاضر نشان دهنده تاثیر بیشتر روش کشتار نسبت به تراکم نگهداری ماهی قبل از مرگ، بر فاکتورهای مورد بررسی بود. تراکم متفاوت قبل از مرگ بر شاخص‌های خونی استرس تاثیر داشت اما بر خصوصیات کیفی گوشت تاثیر معنی‌داری نداشت.

Terms. Suppl. No. 2 to CIE Publication No.15, Colorimetry. Commission International de l'Eclairage, Paris.

EFSA 2009. Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed rainbow trout. EFSA J. 1013: 1-55

EFSA, 2004. The welfare of animals during transport Suffering. <http://www.efsa.europa.eu>.

Erikson, U. and Misimi, E., 2008. Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by perimortem handling stress, rigor mortis, and ice storage. J food sci. 73: C50-C59.

Eskin, N.A. 1990. Biochemistry of foods. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants World Health Organization Technical Report Series 20.

Gatica, M.C., Monti, G., Gallo, C., Knowles, T.G., Warriss, P.D. 2008. Effects of well-boat transportation on the muscle pH and onset of rigor mortis in Atlantic salmon. Vet Rec. 163: 111-116.

Haard, N. F. 1985. Chemical composition and post-mortem changes in soft textured muscle from intensively feeding cod, *Gadus morhua*. J. Food Biochem. 9: 49-64.- Huidobro A., Pastor A. and Tejada M, 2000. Quality index method developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*). J. Food Sci. 65: 1202-1205.

Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. and Scherck, C.B. 1997. Fish stress and health in aquaculture. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University press, Cambridge, U.K.

Kiessling, A., Espe, M., Ruohonen and K., Morkore, T. 2004. Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO2 anaesthesia. Aquaculture. 236: 645-657.

Kristoffersen, T. Tobiassen, M. Esaiassen, G. B. Olsson, L. A. Godvik, M. A. Seppola and Olsen, R. L. 2006 Effects of pre-rigor filleting on quality aspects of Atlantic cod (*Gadus morhua L.*), Aquac Res. 37 pp.1556-1564.

تضمین می‌کند مانند غوطه‌وری ماهیان در آب‌یخ به منظور کشتار ماهی استفاده کرد.

### تشکر و قدردانی

از کارشناسان محترم مرکز تحقیقات آبی‌پروری و ژنتیک گروه شیلات، آزمایشگاه صنایع غذایی و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و تمامی دانشجویان گرامی به‌خصوص آقایان عرفان کریمیان، محسن جلالی، وحید عباسی و صادق شیروانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند کمال سپاس را داریم.

### منابع

Acerete, L., Reig, L. Alvarez, D. Flos, R. and Tort, L. 2009. Comparison of two stunning/slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquacult. 287: 139-144.

Bagni, M., Civitareale, C., Priori, A., Ballerini, A., Finoia, M., Brambilla, G., Marino, G. 2007 Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). Aquacult. 263: 52-60.

Bahuaud, D., Morkor, T., Ostbye, T.K. Veiseth-Kent, E., Thomassen, M.S., Ofstad. 2010. Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) pre- and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. Food Chem. 118: 602-615.

Bito, M., Yamada, K., Mikumo, Y. and Amano, K. 1983. Studies on rigor mortis of fish: differences in the mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified Cutting's methods. Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, 109: 89-96.

CIE, 1976. Official Recommendations on Uniform Colour Space, Colour Difference Equations and Metric Colour

responses and final product quality. *Aquaculture*. 269: 250–258.

Rørvik, K.A., Skjervold, P.O., Fjæra, S.O., Mørkøre, T., Steien, S.H., 1999. Distended water-filled stomach in seawater farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* \_Walbaum., provoked experimentally by osmoregulatory stress. *J Fish Dis*. 22, 1–4.

Roth, B., Nortvedt, R., Slinde, E., Foss, A., Grimsbø, E., Stien, L.H. 2010. Electrical stimulation of Atlantic salmon muscle and the effect on flesh quality. *Aquacult*. 301: 85-90.

Roth, B., Birkeland, S. and Oyarzun, F. 2009a. Stunning, pre slaughter and filleting conditions of Atlantic salmon and subsequent effect on flesh quality on fresh and smoked fillets. *Aquacult*. 289: 350-356.

Roth, B., Imsland, A., Foss, A. 2009b. Live chilling of turbot and subsequent effect on behavior, muscle stiffness, muscle quality, blood gases and chemistry. *Anim Welfare*. 18: 33-41.

Roth, B., Oines, S., Rotabakk, B.T., Birkeland, S. 2008 Using electricity as a tool in quality studies of Atlantic salmon. *Food Res Tech*. 227: 571-577.

Roth, B., Imsland, A., Gunnarsson, S., Foss, A., Schelvis, R. 2007. Slaughter quality and rigor contraction in farmed turbot (*Scaphthalmus maximus*). A comparison between different stunning methods. *Aquacult*. 272: 754-761.

Roth, B., Slinde, E., Arildsen, J. 2006. Pre or post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. *Aquacult*. 257: 504–510.

Roth, B., Moeller, D., Veland, J.O., Imsland, A., Slinde, E., 2002. The effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Sci*. 67, 1462–1466.

Sattari, A., Lambooji, E., Shari, H., Abbink, W., Reimert, H. and Van de vis, J.W. 2010. Industrial dry electro-stunning followed by chilling and decapitation as a slaughter method in Clarias® (*Heteroclaris sp.*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquacult.* 302: 100-105.

Lambooji, E., Gerritzen, M.A., Reimert, H., Burggraaf, D., Van de vis, J.W. 2008. A humane protocol for electro-stunning and killing of Nile tilapia in fresh water. *Aquaculture*. 275: 88-95.

Love, R.M., 1988. *The Food Fishes - Their Intrinsic Variation and Practical Implications*. Farrand Press, London.

Lavety, J., Afolabi, O.A. and Love, R.M., 1988. The connective tissues of fish: 9. Gaping in farmed species. *Int. J Food Sci Tech*. 23: 23–30.

Lowe, T., Ryder, J.M., Carrager, J.F. and Wells, R.M.G. 1993. Flesh quality in snapper, *Pagrus auratus*, affected by capture stress. *J Food Sci*, 58: 770–773.

Marx, H., Brunner, B., Weinzierl, W., Hoffman, R. and Stolle, A. 1997 Methods of stunning freshwater fish: impact on meat quality and aspects of animal welfare. *Z Lebensm Unters Forsch*. 204: 282–286.

McCraen, J.P., 1978. History. In: Smith, C. (ed). *Manual of Fish Culture*, Section G; Fish Transportation. US Fish and Wildlife Service, Washington, DC, pp. 1–6.

Mørkøre, T.; Pablo I., Mazo, T., Vildana, T. and Einen, O. 2008. Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquacult.*, 277: 231-238.

Nakayama, T., Liu, D.-J. & Ooi, A. 1992. Tension change of stressed and unstressed carp muscles in isometric rigor contraction and resolution. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 1517–1522.

Pavlidis, M.; Papandroulakis, N. and Divanach, P. 2006. A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: Preliminary results for coloration pattern of red skin Sparidae. *Aquacult.*, 258: 211–219.

Randall, D.J. and Hroar, W.S., 1971. Special techniques. In: Hroar, W.S., Randall, D.J. \_Eds., *Fish Physiology* vol. 6, Academic Press, London, pp. 511–528.

Ribas, L., Flos, R., Reig, L., MacKenzie, S., Barton, B. A. and Tort, L. 2007. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress

H. and Nesvadba, P., 2003. Is humane slaughter of fish possible for industry? *Aqua. Res.* 34: 211-220.

Wedemeyer, G.A., Barton, B.A. and Mcleay, D.J., 1990. Stress and acclimation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. Eds., *Stress and Acclimatisation*. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp. 451-488.

Whittle, K.J., 1996. Factors affecting the quality of farmed salmon *Salmo salar*. Presented at: Refrigeration and Aquaculture, International Institute of Refrigeration, Commission C2 Meeting, Bordeaux, March 20-22, 1996. International Institute of Refrigeration, Paris, France. Conference proceedings, pp. 175-188.

Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T.S. and Seland, A., 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Sci.* 62: 898-905.

Skjervoldt, P. O., Fjaera, S. O., Ostby, P. B., Einen, O. 2001. Live chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquacult.* 192: 265-280.

Skjervold, P.O., Fjæra, S.O., Østby, P.B., 1999. Rigor in salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. *Aquaculture* 175: 93-101.

Van de Vis, J. W., Kestin, S.C., Robb, D.H.F., Oehlenschläger, J., Lambooij, E., Münkner, W., Kuhlmann, H., Kloosterboer, R.J., Tejada, M., Huidobro, A., Otterå, H., Roth, B., Sørensen, N.K., Akse, L., Byrne,