



Universitat de Girona

ESTRATÈGIES PRÈVIES AL SACRIFICI QUE PODEN AFECTAR AL BENESTAR ANIMAL I LA QUALITAT DE LA CARN DE PORCS DE DIFERENT GENOTIP RYRI

Núria PANELLA-RIERA

Dipòsit legal: GI-I209-2011

<http://hdl.handle.net/10803/37381>

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei [TDX](#) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio [TDR](#) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the [TDX](#) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**ESTRATÈGIES PRÈVIES AL SACRIFICI QUE
PODEN AFECTAR EL BENESTAR ANIMAL I LA
QUALITAT DE LA CARN DE PORCS DE
DIFERENT GENOTIP RYR1**



-Tesi Doctoral-

Núria PANELLA RIERA

-Maig 2011-



TESI DOCTORAL

***ESTRATÈGIES PRÈVIES AL SACRIFICI QUE PODEN
AFECTAR EL BENESTAR ANIMAL I LA QUALITAT DE LA
CARN DE PORCS DE DIFERENT GENOTIP RYR1***

Núria Panella-Riera

2011

**Programa de doctorat de
Química i Física de les Molècules i els Materials,
Ciències de la Salut i Biotecnologia**

**Dirigida per:
Dra. Marta Gil i Farré
Dra. Maria Àngels Oliver i Pratsevall**

**Tutor:
Dr. Xavier Puigvert Colomer**

**Memòria presentada per optar al títol de doctora per la
Universitat de Girona**



Tesi doctoral

**Estratègies prèvies al sacrifici que poden afectar el
benestar animal i la qualitat de la carn de porcs de
diferent genotip RYR1**

Memòria presentada per Núria Panella Riera, inscrita al programa de doctorat de Química i Física de les Molècules i els Materials, Ciències de la Salut i Biotecnologia, per optar al grau de Doctor per la Universitat de Girona. El present treball s'ha realitzat a la Unitat de Qualitat de la Producte de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries.

Núria Panella Riera
Monells, Maig 2011



La Dra. Maria Àngels Oliver i Pratsevall, directora de la unitat de Qualitat de Producte, i la Dra. Marta Gil i Farré, investigadora de la unitat de Qualitat de Producte de l'Institut de Tecnologia Agroalimentàries de Monells,

CERTIFIQUEN:

Que aquest treball titulat 'Estratègies prèvies al sacrifici que poden afectar el benestar animal i la qualitat de la carn de porcs de diferent genotip RYR1', que presenta Núria Panella Riera per a l'obtenció del títol de doctora, ha estat realitzat sota la nostra direcció.

Dra. M^a Àngels Oliver Pratsevall
Directora de la
Unitat de Qualitat de Producte,
Institut de Recerca i Tecnologia
Agroalimentàries (IRTA)
Monells

Dra. Marta Gil Farré
Investigadora de la
Unitat de Qualitat de Producte,
Institut de Recerca i Tecnologia
Agroalimentàries (IRTA)
Monells

Monells, Maig 2011

El treball exposat en aquesta memòria ha estat subvencionat per l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris a través de la concessió d'una beca predoctoral i dels projectes *Efecto de la restricción alimentaria y el manejo pre-sacrificio sobre el bienestar y la calidad de la canal y de la carne en distintos genotipos porcinos* (Ref. INIA RTA04-007) finançat pel Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) i *Suplementación de tranquilizantes naturales en la dieta de cerdos con diferente genotipo al estrés: efecto sobre el bienestar animal y la calidad tecnológica y sensorial de la carne* (Ref. CICYT AGL2002-00777) del Ministerio de Educación y Ciencia.

Agraïments

Aquesta tesi és fruit d'un llarg viatge que va començar ja fa vuit anys quan vaig entrar a l'IRTA per fer les pràctiques de Ciència i Tecnologia dels Aliments. Durant tots aquests anys, ha plogut molt, i hi ha hagut molts canvis i moltes persones amb les quals he compartit vivències i de les que he après moltes coses, tant a nivell humà com científic.

En primer lloc, voldria agrair al director general de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària, Sr. Josep Maria Monfort, pel seu suport en el treball d'investigació que estic desenvolupant, i per donar-me l'oportunitat de treballar al costat d'un grup de tanta qualitat, i m'agradaria agrair al director actual d'IRTA-Monells, el Sr. Joan Tibau, el seu suport incondicional durant aquests anys i per creure tant en les meves possibilitats.

Sortint d'un laboratori de química, el món del porc pot arribar a ser força complicat. Però quan algú diposita tanta confiança en tu, les coses es tornen molt més fàcils. És per això que voldria donar les gràcies a les directores del treball, M. Àngels Oliver i Marta Gil o Marta Gil i M. Àngels Oliver, pel suport i confiança que m'han donat des del primer dia. Qui m'havia de dir que aquell dissabte al matí, a un pati d'escola mirant un partit de bàsquet, seria el principi d'aquesta aventura...! Gràcies per creure en mi, per donar-me totes les oportunitats que m'heu donat i per ensenyar-me tot el que m'heu ensenyat.

La veritat és que tot esdevé molt fàcil quan et trobes envoltat d'un grup bo. És per això que voldria agrair a la gent del programa Qualitat de producte per ensenyar-me TOT el que he après. Hi ha una persona, que si fos possible, hagués estat la tercera directora de tesi. Marina, mil gràcies per resoldre un dubte rere altre, per l'eficiència, i per ser-hi sempre que ha fet falta. I gràcies a la Maria, per tot el que m'ha ensenyat. Gràcies, de debò.

Voldria agrair als nois de Benestar Animal, en Toni Velarde i en Toni Dalmau, per donar el cop de mà quan ha sigut necessari i per fer-me tocar de peus a terra quan ha fet falta; i la gent del Centre d'Avaluació Porcina. Emma, Quim, Anna, ... moltes gràcies!

Un bon grup d'investigadors sempre disposa d'un equip de tècnics excepcional. És per això que m'agradaria esmentar especialment a la Maria José, l'Agustí, l'Albert i en Carles per participar en la realització dels experiments. Sense vosaltres la nostra tasca no seria possible. Moltíssimes gràcies.

I no vull oblidar-me de la *Polivalent!* Gràcies a n'en Pedro (l'alcalde), en Joel (per ser-hi), en Pol, la Marta, la Maria (sí, et considero de la polivalent!), l'Albert i els nouvinguts, l'Eva, l'Anna, la Ceci, en Francisco, la Saoussan, en Diego, en Dario,... pels *brainstormings* i les bones estones a la *superpolivalent*. Gràcies per ser com sou, per les hores de teràpia, per les crisis, pels cafès compartits, pels pastissos, galetes,... i per recordar-me que sempre hi ha (o hi hauria d'haver) un 'bolso' prop meu! Gràcies per ser-hi!

A part from my project, I spent some months abroad at the Department of Food Science of the Swedish University of Agricultural Sciences d'Uppsala, at the Division of Farm Animal Science of the University of Bristol and at the University of the West of England. I would like to thank Jana Pickova and Olena Doran for giving me this opportunity and for their hospitality. The stay in Uppsala, in Langford and in Bristol accelerated my own research. Charo, thanks for making things so easy, and thank you to all the people from the *Langford Mental Institution* (;-) , from the *Thorndale Project* and *Disc-o-Biscuits* team, specially Christine, Mike, Luca, Dario, Nancy and Vale, for all the coffees, beers and whisky evenings.

A nivell més humà, he compartit aquest viatge amb tantes persones que em resulta molt difícil no deixar-me ningú... A les flors: la Bego, la Carolina, la Mireia (*i la peque!*), la Bri i l'Elsa (les bruixotes), la Katarina (un àngel), l'Anna i l'Irene. Nenes, gràcies per ser com sou. Moltes gràcies per les sessions de risoteràpia (...i per tocar-me la cresta quan ha fet falta!). Un bocinet (bastant gran) d'aquest treball és vostre. Gràcies, de veritat.

I a TOTS aquells que estant ben lluny de l'institut i de la vida dels porcs, heu patit d'una manera o altra la realització d'aquest treball: gent del bàsquet (Imma, Lauri, Eli, Carla, Faust, Albert – gràcies per les correccions –i la resta de l'equip), la nova colla (i els peques que venen),... i sobretot a la colla de química, per les llargues xerrades sobre la vida i sobre l'estrès dels porcs: la Roser, l'Eva (la petita Laia i la criatura que ve...), la Neus, en Xavi i la Vero, la Sandra i els seus respectius. Almenys he aconseguit que us *piqui* la curiositat amb tot això oi??? No oblideu que hi ha tota una vida darrera d'una llonza de porc!

A la Lola i l'Adolf, gràcies per ajudar-me a fer el dia a dia més fàcil durant molts anys, i gràcies a en Santi per ser-hi malgrat tot.

I finalment, no vull oblidar-me de les persones més importants de la meua vida: els meus pares (Narcís i Maria) i en Marc, i en Joel. Sincerament, sense vosaltres crec que no hagués pogut seguir amb això. Gràcies, gràcies i GRÀCIES.

Mil i una gràcies a tots!

*Anyone can achieve their fullest potential.
Who we are might be predetermined,
but the path we follow is always of our own choosing.
We should never allow our fears or the expectations
of others to set the frontiers of our destiny.
Your destiny can't be changed, but it can be challenged.*

Every man is born as many men, and dies as a single one.

Martin Heidegger

**Als meus pares i en Marc,
a n'en Joel,**

Index



Índex general

Índex de taules

Índex de figures

Abreviatures

ÍNDEX GENERAL

Títol	Pàgina
Índex general	i
Índex de taules	v
Índex de figures	vii
Abreviatures.....	ix
Resum	3
Resumen	5
Abstract.....	7
Publicacions.....	11
I. REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA	15
1 Qualitat de la carn de porc.....	16
2 Qualitat tecnològica de la carn	17
2.1 Conversió del múscul a carn	17
2.2 Categories de Qualitat.....	19
2.2.1 Carns PSE.....	19
2.2.2 Carns DFD.....	20
2.2.3 Altres categories relacionades amb la qualitat tecnològica de la carn	20
2.3 Paràmetres de qualitat tecnològica de la carn.....	21
3 Qualitat des del punt de vista de la societat: paper del benestar animal	26
3.1 Definició de benestar animal	28
3.2 La resposta a l'estrès.....	29
4 Factors previs al sacrifici que afecten el benestar i la qualitat tecnològica de la carn de porc	32
4.1 El genotip RYR1 i la síndrome de l'estrès porcí	33
4.2 Tractament previ al sacrifici	37
4.2.1 El dejuni.....	37
4.2.2 El transport	39
4.2.3 El maneig previ al sacrifici.....	40
4.2.4 Mètodes d'estaborniment	40
4.3 Dieta.....	42

5	Estratègies per disminuir l'estrès dels animals associat als moments previs al sacrifici	43
5.1	Dejuni.....	43
5.2	Temps d'espera	46
5.3	Utilització de suplementes de magnesi i/o triptòfan.....	48
5.3.1	Utilització de suplementes de magnesi a la dieta	48
5.3.2	Utilització de suplementes de triptòfan a la dieta.....	52
6	Bibliografia.....	57
II.	OBJECTIUS	77
1	Justificació.....	77
2	Objectius específics	77
III.	DISSENY EXPERIMENTAL I MATERIALS I MÈTODES	81
1	Disseny experimental	81
2	Materials i mètodes	83
IV.	RESULTATS	89
1	Effect of feed deprivation and lairage time on carcass and meat quality traits on pigs	93
1.1	Introduction.....	93
1.2	Materials and methods	94
1.2.1	Animals and fasting periods	94
1.2.2	Measurements of carcass and meat quality	95
1.2.3	Data analyses	96
1.3	Results.....	96
1.3.1	Feed intake.....	96
1.3.2	Carcass traits, skin bruises and gastrointestinal traits	97
1.3.3	Effect on meat quality traits.....	98
1.4	Discussion.....	98
1.4.1	Feed intake.....	98
1.4.2	Carcass traits, skin damage and gastrointestinal traits	99
1.4.3	Effect on meat quality traits.....	102
1.5	Conclusion	103
1.6	References.....	104

1.7	Figures	110
1.8	Tables.....	113
2	Effect of supplementation with MgCO ₃ and L-tryptophan on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn).....	119
2.1	Introduction.....	119
2.2	Materials and methods	121
2.2.1	Animals and diets	121
2.2.2	Ante-mortem treatment and slaughter procedure	121
2.2.3	Animal welfare and behaviour measurements.....	122
2.2.4	Chemical analysis of feed.....	123
2.2.5	Measurements of carcass and meat quality	123
2.2.6	Statistical analysis	124
2.3	Results.....	125
2.3.1	Animal behaviour and welfare in the experimental abattoir	125
2.3.2	Carcass and meat quality	126
2.4	Discussion.....	127
2.4.1	Animal behaviour in the experimental abattoir. Aversion to the exposure to the CO ₂	127
2.4.2	Carcass and meat quality	129
2.5	Conclusions.....	131
2.6	References.....	131
2.7	Figures	137
2.8	Tables.....	139
3	Effect of magnesium sulphate and L-tryptophan and genotype on the feed intake, behaviour and meat quality of pigs.....	147
3.1	Introduction.....	147
3.2	Materials and methods	148
3.2.1	Animals and diets	148
3.2.2	Ante mortem treatment and slaughter procedure	149
3.2.3	Animal behaviour measurements	149
3.2.4	Chemical analysis of feed.....	150
3.2.5	Measurements of carcass and meat quality	150
3.2.6	Statistical analyses.....	152

3.3	Results.....	153
3.3.1	Feed intake.....	153
3.3.2	Mortality.....	153
3.3.3	Animal behaviour in the experimental abattoir.....	154
3.3.4	Carcass and meat quality.....	154
3.4	Discussion.....	156
3.4.1	Feed intake and mortality.....	156
3.4.2	Animal behaviour in the experimental abattoir. Aversion to the exposure to the CO ₂	158
3.4.3	Carcass and meat quality.....	159
3.5	Conclusions and implications.....	161
3.6	References.....	162
3.7	Figures.....	169
3.8	Tables.....	170
V.	DISCUSSIÓ.....	181
VI.	CONCLUSIONS.....	199

ÍNDIX DE TAULES

Taula	Pàgina
I.2-1. Categories de qualitat tecnològica de la carn descrites per Kauffman <i>et al.</i> (1993).....	21
I.2-2 Criteris de definició de les característiques de carn PSE i DFD segons paràmetres tecnològics (pH, conductivitat elèctrica, pèrdues per degoteig i color).....	23
I.2-3. Criteris de classificació de les diferents categories de qualitat tecnològica de lloms segons les mesures del pH realitzades als 45 minuts i a les 24h <i>post mortem</i> , les pèrdues per degoteig i la lluminositat (CIE-L) ¹	24
I.4-1 Factors productius que afecten la qualitat de la carn (adaptat de Cannon <i>et al.</i> , 1995).....	33
I.4-2. Caracterització dels 3 possibles genotips pel que fa al gen RYR1 o Gen de l'Halotà.....	35
I.4-3. Susceptibilitat de diferents races porcines a produir carns PSE i patir la síndrome de l'Estrès Porcí (modificat a partir de Gregory, 1998).....	36
I.5-1. Temps de dejuni i d'espera recomanats segons diferents estudis.....	47
I.5-2. Taula resum dels efectes la suplementació durant els últims dies abans del sacrifici de diferents fonts de magnesi sobre la qualitat tecnològica de la carn.....	51
I.5-3. Estudis que evidencien l'efecte de l'adició durant pocs dies de suplement de triptòfan a la dieta sobre la qualitat de la canal i de la carn.....	56
III.1-1. Estudis realitzats segons els objectius plantejats.....	82
IV.1-1. Least square means (LSM) and standard error (S.E.) of carcass, gastrointestinal and meat quality parameters according to on-farm fasting time (F, 0 or 12h) and lairage at the abattoir (L, 0 or 12h).....	113
IV.1-2. Least square means (LSM) and Standard error (S.E.) of carcass and meat quality parameters according to the interaction between on-farm fasting time (F0 or F12) and lairage (L0 or L12).....	114
IV.1-3. Incidence of meat quality conditions related to meat classes (PSE, PFN, RSE, RFN, DFD), and meat classes incidence according to the interaction between on-farm fasting time (F, 0 or 12h) and lairage (L, 0 or 12h).....	115

IV.2-1. Magnesium and tryptophan concentration (g/100g fresh diet) in the control and supplemented diets.	139
IV.2-2. Percentage of pigs showing retreat attempts and voluntary movement and time taken to cross the raceway according to three diets and two genotypes.	140
IV.2-3. Aversion to CO ₂ : behavioural parameters evaluated on the pigs in the CO ₂ stunning unit during the descent into the pit according to three diets and two genotypes.	141
IV.2-4. Least square means (LSM) and Standard error (S.E.) of the time to perform the first retreat attempt during exposure to 90% CO ₂ in atmospheric air, among diets and halothane genotype.	142
IV.2-5. Enzymatic activity variables † (cathepsin B and cathepsin B+L) and instrumental texture variables † after Warner-Bratzler Shear force test, among diets and halothane genotype.	143
IV.3-1. Feed composition of experimental and control diets (%).	170
IV.3-2. Number of pigs with feed intake higher and lower than 2kg/d, and feed intake (LSM ¹) according to the three diets and two genotypes.	171
IV.3-3. Mortality of pigs during the pre-slaughter period according to the three diets and two genotypes.	172
IV.3-4. Time taken to cross the raceway ¹ , Percentage of pigs showing retreat attempts and time to perform the first retreat attempt according to the three diets and two genotypes. Pigs with feed intakes >2kg/day are considered.	173
IV.3-5. Carcass and meat quality traits of diet and genotype effects, measured considering pigs with feed intake higher than 2kg /day.	174
IV.3-6. Percentage of carcasses with skin lesions according to the three diets and two genotypes. Pigs with feed intake > 2kg/day are considered.	175
IV.3-7. Significance levels of meat quality variables of diet and genotype effects, measured considering all pigs and those pigs with feed intake higher than 2kg /day.	176
IV.3-8. Enzymatic activity variables ¹ (cathepsin B and cathepsin B+L) and instrumental texture variables ¹ after Warner-Bratzler Shear force test, among diets and halothane genotype. Pigs with feed intake > 2kg/day are considered. ...	177

ÍNDIX DE FIGURES

Figura	Pàgina
I.1-1. Pilars de la qualitat de carn (adaptat de Hofmann, 1994).....	17
I.2.1. Representació esquemàtica de l'evolució del pH <i>post mortem</i> amb el temps <i>post mortem</i> segons les categories de qualitat tecnològica de la carn: Normal, PSE i DFD (Gregory, 1998).....	19
I.3-1. Evolució de la freqüència cardíaca (mitjanes) de porcs (n=91) durant un transport de curta durada, i les etapes <i>ante mortem</i> (espera i maneig) i sacrifici (estaborniment i dessagnat). Adaptat de Álvarez <i>et al.</i> (2009).	31
I.4-1. Representació esquemàtica de diferents factors previs al sacrifici que poden afectar al comportament i benestar dels porcs, a la qualitat de la canal i a la qualitat tecnològica de la carn (entre parèntesi es mostra el capítol de resultats on s'estudia aquest factor).....	38
I.4-2. Importància relativa del tractament pre- i post- sacrifici, genètica i dieta sobre la qualitat de la carn. Les dimensions de les fletxes indiquen el grau relatiu que cada factor pot contribuir a modificar-ne un altre (Adaptat de Goodband <i>et al.</i> , 2006).....	42
I.5-1. Estructura química del triptòfan.	52
I.5-2. Transport del Trp a través de la barrera hematoencefàlica i competència amb els aminoàcids de cadena llarga (LNAA) (Adaptat de Leathwood, 1987).	53
I.5-3. Etapes de formació de l'escatol a partir de l'aminoàcid triptòfan (Jensen & Jensen, 1998).	54
III.2-1. Esquema de les instal·lacions del sistema d'estaborniment i la seva rampa d'accés.....	84
IV.1-1. Feed intake (mean \pm s.d.) behaviour of pigs from the two treatments before the beginning of the fasting period.....	110
IV.1-2. Stomach content categories ¹ used to predict the length of time between last feeding and slaughter according to the fasting (F) and lairage (L) duration (Chevillon, 1994).....	111
IV.1-3. Incidence (%) of skin damages according to on-farm fasting duration and lairage time.	112

IV.2-1. Pig behaviour during the exposure to CO ₂ (90%, 132s). The values correspond to the least square means and standard error (in brackets) of the time (s) to perform the first retreat attempt, the first gasp and the loss of posture.	137
IV.2-2. Incidence of pigs (%) showing corneal reflexes among diets (A) or halothane genotype (B). C: Control Diet; Mg: Control diet with Mg supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns:P>0.05 and **P<0.01.....	138
IV.3-1. Relationship between feed intake (kg/day) and growth rate (kg/day) among diets.	169
V-1. Classificació del múscul <i>Longíssimus thoracis</i> de cada experiment en les categories de qualitat tecnològica de la carn segons els criteris de classificació Flores <i>et al.</i> (1999) i Faucitano <i>et al.</i> (2010b) (vegeu Taula I.2-3).....	189

ABREVIATURES

a*	Tendència al vermell a l'espai de color CIELab	MH	Hipertermia Maligna
ADFI	Ingesta diària mitjana	NAD	Dinucleòtid de nicotinamida i adenina
ADG	<i>Average daily gain</i>	NADP	Fosfat de dinucleòtid de nicotinamida i adenina
ADN	Àcid desoxiribonucleic	NN	Homozigot recessiu pel gen RYR1 (halotà negatiu)
ATP	Adenosin trifosfat	Nn	Heterozigot o portador del gen RYR1 (halotà negatiu)
b*	Tendència al groc a l'espai de color CIELab	nn	Homozigot dominant del gen RYR1 (halotà positiu)
BW	Pes viu de l'animal, de l'anglès <i>Body Weight</i>	PCR	Tècnica de la reacció en cadena de la polimerasa per amplificació de seqüències d'àcids desoxiribonucleics, de l'anglès <i>Polymerase Chain Reaction</i>
CE	Conductivitat elèctrica	PFN	Carn pàl·lida, ferma i no exsudativa, de l'anglès <i>Pale, firm & non-exudative</i>
CEu	Conductivitat elèctrica mesurada al múscul a les 24h <i>post mortem</i>	pH45	pH muscular mesurat als 45min <i>post mortem</i>
CO ₂	Diòxid de carboni	pHu	Mesura del pH muscular a les 24h <i>post mortem</i>
CRA	Capacitat de retenció d'aigua	PI	Pietrain
DFD	Carn fosca, ferma i seca, de l'anglès <i>Dark, firm & dry</i>	PSE	Carn pàl·lida, tova i exsudativa, de l'anglès <i>Pale, soft & exudative</i>
DU	Duroc	PSS	Síndrome de l'estrès porcí, de l'anglès <i>Porcine Stress Syndrome</i>
EFSA	Agència Europea de Seguretat Alimentària	PVC	Policlorur de vinil
FAD	Dinucleòtid de flavina i adenina	RFN	Carn vermella, ferma i no exsudativa, de l'anglès <i>Red, firm & non-exudative</i>
FAWC	<i>Farm Animal Welfare Council</i>	RSE	Carn vermella, tova i exsudativa, de l'anglès <i>Red, soft & exudative</i>
FMN	Mononucleòtid de Flavina	RYR1	Receptor de la rianodina
GMD	Guany Mig Diari	SM	Múscul <i>Semimembranosus</i>
HN	Halotà negatiu, corresponent als homozigots recessius –NN– i heterozigots –Nn– del gen RYR1	Trp	Aminoàcid L-triptòfan
HP	Halotà positiu, corresponent als homozigots dominants –nn– del gen RYR1		
JCR	<i>Journal of Citation Reports</i>		
L*	Lluminositat a l'espai de color CIELab		
LNAA	Aminoàcids de cadena llarga		
LR	Landrace		
LT	Múscul <i>Longissimus thoracis</i>		
Mg	Magnesi		

**Resum
Resumen
Abstract**



Resum

El sector carni català –i en especial el sector porcí– representa un dels clústers agroalimentaris més importants a nivell europeu, i qualsevol estratègia que n'optimitzi el procés de producció pot tenir repercussions econòmiques importants. De manera general s'accepta que durant el període previ al sacrifici els porcs estan sotmesos a situacions d'estrès que causen una disminució del seu benestar, i que poden afectar la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn, de manera que un correcte tractament *ante mortem* adquireix especial importància. Així, l'objectiu principal d'aquesta tesi doctoral és *estudiar estratègies relacionades amb factors previs al sacrifici dels porcs que poden afectar el seu nivell d'estrès i modificar el seu comportament, la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn*. Per assolir l'objectiu general, es van plantejar dues parts diferenciades realitzant-se 3 experiments diferents.

La primera part pretenia estudiar *l'efecte del dejuni i el temps d'espera* a l'escorxador sobre la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn. Els resultats indiquen que un dejuni total previ al sacrifici de 24-26h pot incrementar les pèrdues de pes viu dels porcs sense afectar el pes de la canal i per tant, augmentar el rendiment fred de la canal. S'han observat també diferències entre les canals provinents de porcs dejunats 12h a la granja o 12h a l'escorxador, essent aquestes últimes les que han tingut menys contingut estomacal i menor incidència de danys severos a la pell. En relació a la qualitat tecnològica de la carn, s'ha observat que a l'augmentar el dejuni i l'espera a l'escorxador disminueix el percentatge de canals amb carn exsudativa i augmenta el de canals amb carn vermella, ferma i no exsudativa (RFN), sense augmentar el percentatge de canals amb carn fosca, seca i dura (DFD).

La segona part pretenia estudiar l'efecte de *l'addició de suplementes a la dieta* (magnesi i/o triptòfan) durant els 5 dies previs al sacrifici com a estratègia per disminuir els nivells d'estrès. Per aquest segon bloc es van realitzar dos experiments, utilitzant dues sals de magnesi i l'aminoàcid triptòfan, aplicats a diferents concentracions i amb dos genotips porcins diferents respecte el gen RYR1 (homozigots dominants –NN, resistents a l'estrès– i homozigots recessius –nn, sensibles a l'estrès).

En el primer experiment d'aquesta part es van utilitzar dietes amb un suplement de carbonat de magnesi (Mg; 0,38% MgCO₃) o L-Trp (Trp; 0,61%). Pel que fa al comportament dels porcs, es va observar una interacció significativa entre dietes i genotips durant l'estaborniment amb CO₂ de manera que un suplement de Mg podria afectar positivament el benestar dels porcs nn al intentar recular més tard respecte el grup control. Pel que fa als paràmetres relacionats amb la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn, els resultats mostren diferències entre genotips, tal i com s'esperava, però no es va observar cap efecte de la dieta.

A partir dels resultats d'aquest experiment es va plantejar el següent, amb una nova font d'aportació de magnesi i amb nivells d'estrès més elevats, utilitzant una mescla de sulfat de magnesi i triptòfan (Mg&Trp; 0,40% MgSO₄+ 0,70% L-Trp) i una dieta amb triptòfan (Trp; 0,77% L-Trp). El primer fet remarcable és que la incorporació de Mg va reduir considerablement el consum de pinso, el qual, en molts porcs va ser inferior als 2kg/d que era el consum mínim esperat. A més, fruit del tractament *ante mortem*, hi va haver una mortalitat del 8,7% considerant només els animals amb un consum superior als 2kg/d, i del 15,2% considerant tots els animals. Totes les baixes van ser de porcs sensibles a l'estrès (nn), i cap d'ells del grup Trp. Van ser precisament els porcs del grup Trp els que van mostrar períodes d'excitació muscular més curts respecte dels porcs del tractament control (C) i Mg&Trp durant l'exposició amb CO₂. Com a resultat del tractament *ante mortem*, els animals Mg&Trp van presentar major incidència de danys severos a la pell. El grup Trp també va destacar en els paràmetres relacionats amb la qualitat tecnològica de la carn, ja que es va obtenir un pH₄₅ en el múscul *Longissimus thoracis* (LT) més alt que el grup C, un pH_{24h} més alt, i major incidència de canals DFD en el múscul *Semimembranosus* (SM). Es varen observar diferències entre genotips en els paràmetres de qualitat tecnològica de la carn, de manera que el 75% dels lloms i el 60% dels pernills de porcs nn van ser classificats com a PSE (carns pàl·lides, toves i exsudatives), mentre cap dels lloms i pernills de porcs NN van mostrar aquestes característiques.

De manera general, s'evidencia la vulnerabilitat dels porcs al tractament *ante mortem*, i es recomana aplicar una combinació correcta de temps de dejuni i d'espera, evitar la barreja d'animals de grups diferents i realitzar un transport adequat per alleujar les conseqüències negatives sobre el benestar, la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn. Els estudis realitzats en aquesta tesi doctoral suggereixen que un suplement de 5 dies de MgCO₃ o de Trp en condicions de mínim estrès no ofereixen avantatges des del punt de vista de la qualitat tecnològica de la carn, i que, a causa dels efectes negatius observats al grup amb una dieta suplementada amb MgSO₄ i Trp, no es recomana la utilització d'aquesta combinació com a suplement. No obstant això, en el cas d'optar per la utilització de genètiques amb animals homozigots recessius respecte el gen RYR1 (nn), es recomana considerar la utilització de suplementos a la dieta tals com la combinació de L-Trp amb fonts de magnesi (excloent el sulfat de magnesi) per pal·liar les conseqüències negatives de l'estrès i millorar la qualitat tecnològica de la carn.

Paraules clau: Qualitat tecnològica de la carn; Porc; Tractament *ante mortem*; Consum de pinso; Dejuni; Espera; Magnesi; Triptòfan; Gen de l'halotà; Benestar animal.

Resumen

El sector cárnico catalán –y en especial el sector porcino– representa uno de los clústeres agroalimentarios más importante a nivel europeo, y cualquier estrategia que optimice el proceso de producción de carne puede tener repercusiones económicas importantes. En general, se acepta que durante el periodo previo al sacrificio los cerdos experimentan situaciones de estrés que disminuyen su bienestar, y que pueden afectar a la calidad de la canal y la calidad tecnológica de la carne, de modo que un correcto tratamiento *ante mortem* adquiere especial importancia. Así, el objetivo principal de esta tesis doctoral *es estudiar estrategias relacionadas con factores previos al sacrificio que puedan afectar el nivel de estrés de los cerdos y modificar su comportamiento, la calidad de la canal y la calidad tecnológica de la carne fresca*. Para llevar a cabo el objetivo general, se plantearon dos bloques diferenciados con un total de 3 experimentos.

La primera parte estudió el *efecto del ayuno y reposo* en el matadero sobre la calidad de la canal y la calidad tecnológica de la carne. Los resultados indican que un ayuno total de 24-26h puede aumentar las pérdidas de peso vivo de los cerdos sin afectar el peso de la canal, y por consiguiente, aumentar el rendimiento en frío de la canal. Se observaron diferencias entre las canales ayunadas 12h en la granja o 12h en el matadero, siendo estas últimas las que tuvieron menor contenido estomacal y menor incidencia de heridas severas en la piel. En cuanto a la calidad tecnológica de la carne, se observó que al aumentar el ayuno y la espera, el porcentaje de canales exsudativas disminuía y aumentaba el de canales rojas, firmes y no exsudativas (RFN), sin aumentar el porcentaje de canales oscuras, secas y duras (DFD).

En el segundo bloque se estudió la *incorporación de suplementos en la dieta* (magnesio y/o triptófano) durante los 5 días previos al sacrificio como estrategia para disminuir los niveles de estrés. Para ello se plantearon 2 experimentos, utilizando dos sales de magnesio y el aminoácido triptófano en distintas concentraciones, y con dos genotipos porcinos distintos respecto al gen RYR1 (homocigotos dominantes –NN, resistentes al estrés– y homocigotos recesivos –nn, sensibles al estrés).

En el primer experimento de la segunda parte se utilizaron dietas con un suplemento de carbonato de magnesio (Mg; 0,38% MgCO₃) o L-Trp (Trp; 0,61%). En cuanto al comportamiento de los cerdos, se observó una interacción significativa entre dietas y genotipo durante el aturdimiento con CO₂ indicando que un suplemento con Mg podría afectar positivamente el bienestar de los cerdos nn, que intentaban retroceder más tarde respecto el grupo control. En relación a la calidad de la canal y la calidad tecnológica de la carne, se obtuvieron diferencias entre genotipos, tal y como se esperaba, pero no se obtuvieron diferencias entre dietas.

A partir de los resultados obtenidos en este experimento se planteó el siguiente, con una fuente de Mg diferente y con niveles de estrés más elevados, utilizando una mezcla de magnesio y triptófano (Mg&Trp; 0,40% MgSO₄+ 0,70% L-Trp) y una dieta con triptófano (Trp; 0,77% L-Trp). Cabe destacar, en primer lugar, que la incorporación de Mg redujo considerablemente el consumo de pienso, cuyos valores fueron, en muchos cerdos, inferiores a los 2kg/día, valor mínimo esperado. Fruto del tratamiento *ante mortem*, se obtuvo una mortalidad del 8,7% de los animales que consumieron más de 2kg/día, y del 15,2% considerando todos los animales del experimento. Todos ellos eran cerdos sensibles al estrés (nn), y ninguno de ellos del grupo Trp. Fueron precisamente los cerdos del grupo Trp los que mostraron periodos de excitación muscular más cortos que los del grupo control (C) y Mg&Trp durante la exposición al CO₂. El grupo Mg&Trp tuvo mayor incidencia de heridas severas en la piel. El grupo Trp también destacó en los parámetros relacionados con la calidad tecnológica de la carne, ya que presentaron un pH₄₅ en el músculo *Longissimus thoracis* (LT) mayor que el grupo C, un mayor pH_{24h}, y una mayor incidencia de canales DFD en el músculo *Semimembranosus* (SM). Se observaron diferencias entre genotipos en los parámetros de calidad tecnológica de la carne, de modo que el 75% de los lomos y el 60% de los jamones de los cerdos nn fueron clasificados como PSE (carnes pálidas, blandas y exsudativas), mientras que ninguno de los lomos y jamones de cerdos NN tuvieron estas características.

En general, se evidencia la vulnerabilidad de los cerdos al tratamiento *ante mortem*. Se recomienda tener en cuenta una correcta combinación del ayuno y la espera, evitar la mezcla de animales y realizar un transporte adecuado para evitar las consecuencias negativas sobre el bienestar, la calidad de la canal y la calidad tecnológica de la carne. Los estudios realizados en esta tesis doctoral sugieren que un suplemento de 5 días de MgCO₃ o Trp en condiciones de mínimo estrés no ofrece ninguna ventaja desde el punto de vista de la calidad tecnológica de la carne, y que, debido a los efectos negativos observados en el grupo tratado con MgSO₄ y Trp, no se recomienda la utilización de esta combinación. No obstante, al apostar por la utilización de genéticas de animales homocigotos recesivos respecto al gen RYR1 (nn), se recomienda considerar la utilización suplementos en la dieta como la combinación de L-Trp con fuentes de magnesio (excluyendo el sulfato de magnesio) para paliar las consecuencias negativas del estrés y mejorar la calidad de la canal y la calidad tecnológica de la carne.

Palabras clave: Calidad tecnológica de la carne, Cerdo, Tratamiento *ante mortem*, Consumo de pienso, Ayuno, Reposo, Magnesio, Triptófano, Gen del halotano, Bienestar animal.

Abstract

The meat Catalan sector –and particularly the porcine one– represents one of the most important food-processing clusters in Europe, and any strategy that optimizes the meat production process may have an important economic impact. In general, it is accepted that during the pre-slaughter period pigs experience stressful situations that decrease their welfare, and that may ultimately affect the carcass and technological meat quality. Consequently, an adequate *ante mortem* treatment acquires special importance. Therefore, the main objective of this thesis is to study strategies related to critical factors affecting the *ante mortem* treatment that may affect the stress levels, the behaviour, carcass quality and technological meat quality of pigs. To carry out the general objective, two different parts with a total of 3 experiments were planned.

The first part studied the effect of the fasting and lairage on carcass and technological meat quality. Results indicate that 24-26h fasting time increased live body weight losses up to 3.5% at no detriment for carcass weight and, therefore, prolonging fasting and lairage period improved cold killing-out. Under the present experimental conditions, feed withdrawal carried out at the abattoir was found to bring certain advantages (less stomach content and lower percentage of severe skin lesions) compared to the on farm fasting. Regarding technological meat quality, when fast and lairage increased the incidence of exudative meat decreased, and also the percentage of red, firm and non-exudative meat (RFN) whereas the incidence of dark, firm and dry meat (DFD) was not affected.

The second part studied the inclusion of diet supplements (magnesium and/or tryptophan) during 5 days before slaughtering pigs as a strategy to decrease stress levels. To achieve it, two trials were planned using two magnesium salts and tryptophan amino acid with different concentrations, and two different porcine RYR1 genotypes (NN –resistant to the stress– and nn –sensitive to the stress).

The first experiment of the second part included magnesium carbonate (Mg; 0.38% MgCO₃) or tryptophan (Trp; 0.61% L-Trp) on the diet. Considering the behaviour of pigs, a significant diet by genotype interaction was found in the time to appear the first retreat attempt during the exposure to the CO₂, indicating that Mg supplementation could have a positive effect on welfare of nn pigs. Concerning carcass and technological meat quality, differences between genotypes were observed as expected, but no differences among diets were found.

Considering the obtained results, a second study with another source of Mg and higher stress levels was planned. In this case, a mixture of Mg and Trp (Mg&Trp; 0.40% MgSO₄ + 0.70% L-Trp) and a diet with Trp (Trp; 0.77% L-Trp) were used. It is important to highlight that the inclusion of Mg reduced the feed intake, which was in many pigs lower than 2kg/d, the minimum expected. Additionally, due to the *ante mortem* treatment, a total of 8.7% of the pigs died, considering only those pigs that ate more than 2kg/d, whereas the mortality was 15.2% if

all pigs were considered. All the dead pigs were stress-sensitive pigs (nn). During the stunning procedure, Trp diet showed shorter periods of muscular excitation than control and Mg&Trp diets. The combination of a stressful *ante mortem* treatment and Mg&Trp supplementation led to carcasses with high incidence of severe skin lesions. Regarding technological meat quality traits, Trp increased pH₄₅ vs Control diet in the *Longissimus thoracis* (LT) muscle and pH_{24h}, leading to a higher incidence of dark, firm and exudative (DFD) traits in *Semimembranosus* muscle (SM). Genotype affected negatively all the meat quality traits. Seventy-five percent of LT and 60.0% of the SM muscles from nn pigs were classified as pale, soft and exudative meat (PSE), while none of the NN pigs showed these traits. No significant differences were found between genotypes on the incidence of DFD meat.

In general, this research provides more evidences of the vulnerability of pigs to the *ante mortem* treatment. An adequate combination of fasting and lairage periods is recommended, to avoid mixing of pigs and to perform a friendly transport of pigs to the abattoir to mitigate the negative consequences on welfare, carcass quality and technological meat quality. Results from the present doctoral thesis suggest that a 5-day supplementation of MgCO₃ or Trp under minimal stressful *ante mortem* conditions did not bring any advantage from the meat quality point of view and, due to the negative effects observed in feed intake and carcass quality in the group supplemented with MgSO₄ and Trp, the utilization of this combination is not recommended. However, when including homozygote recessives to the RYR1 genotype pigs (nn) it is recommended to consider diet supplements such as L-Trp and magnesium sources (excluding magnesium sulphate) to counteract the negative effect related to *ante mortem* stress, and improve technological meat quality.

Key words: Technological meat quality; Pig; *Ante mortem* treatment; Feed intake; Fasting time; Lairage time; Magnesium; Tryptophan; Halothane gene; Animal welfare.

Publicacions



Publicacions

A continuació exposo la memòria que constitueix la meva tesi doctoral, la qual es presenta com a compendi de publicacions. Els següents articles, que s'adjunten al capítol IV de resultats, conformen el cos central d'aquesta memòria:

Panella-Riera, N., Gispert, M., Gil, M., Soler, J., Tibau, J., Oliver, M.A., Fàbrega, E. Effect of feed deprivation and lairage time on carcass and meat quality traits on entire male pigs. (submitted 12 Abril 2010). Livestock Science

Índexs de qualitat de la publicació segons dades de JCR¹ 2009

- Índex d'impacte: 1,410
- Quartil i àrea (s'indica la posició de la revista en el total de publicacions de l'àrea):
2^{on} quartil (15 de 50) Area: Agriculture, dairy & animal science.

Panella-Riera, N., Dalmau, A., Fàbrega, E., Font i Furnols, M., Gispert, M., Tibau, J., Soler, J., Velarde, A., Oliver, M.A., Gil, M. 2008., Effect of supplementation with MgCO₃ and L-tryptophan on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn) Livestock Science, 115: 107-117.

doi:[10.1016/j.livsci.2007.06.014](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.06.014)

Índexs de qualitat de la publicació segons dades de JCR¹ 2009

- Índex d'impacte: 1,410
- Quartil i àrea (s'indica la posició de la revista en el total de publicacions de l'àrea):
2^{on} quartil (15 de 50) Area: Agriculture, dairy & animal science.

¹ JRC: Journal of Citation Report (<http://sauwok.fecyt.es/admin-apps/JCR/JCR?RQ=HOME>)

Panella-Riera, N., Velarde, A., Dalmau, A., Fàbrega, E., Font i Furnols, M., Gispert, M., Soler, J., Tibau, J., Oliver, M.A., Gil, M., 2009. Effect of magnesium sulphate and L-tryptophan and genotype on the feed intake, behaviour and meat quality of pigs *Livestock Science*, 124: 277–287.

doi:[10.1016/j.livsci.2009.02.010](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.02.010)

Índexs de qualitat de la publicació segons dades de JCR 2009

- Índex d'impacte: 1,410
- Quartil i àrea (s'indica la posició de la revista en el total de publicacions de l'àrea):

2^{on} quartil (15 de 50) Àrea: Agriculture, dairy & animal science.

Revisió Bibliogràfica



- 1. Qualitat de la carn de porc.**
- 2. Qualitat tecnològica de la carn.**
- 3. Qualitat des del punt de vista de la societat: paper del benestar animal.**
- 4. Factors previs al sacrifici que afecten el benestar i la qualitat tecnològica de la carn.**
- 5. Estratègies per disminuir l'estrès dels animals associat als moments previs al sacrifici.**
- 6. Bibliografia.**

I. REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA

A Espanya totes les comunitats autònomes tenen explotacions i cabanya porcina, però són fonamentalment Catalunya, Aragó i Castella i Lleó les que lideren la producció porcina nacional. Segons fonts de l'Institut Nacional de Estadística, l'any 2009 es varen sacrificar 40,1 milions de porcs a Espanya, dels quals, 16,7 M es varen sacrificar a Catalunya, situant-se com a principal productora de carn de porc, amb les províncies de Barcelona i Girona al capdavant (MARM, 2011). Des de l'any 2000, les exportacions de carn de porc produïda a Espanya s'han triplicat en volum de vendes i en valor econòmic, comercialitzant-se en mercats europeus (França, Itàlia, Portugal, Alemanya, Regne Unit, Dinamarca, Polònia, Romania...), i mercats de la comunitat internacional com Rússia i Xina (Cruz, 2010).

En els darrers anys, a Europa, pressions tan a nivell legal com a nivell social han originat un augment de la preocupació per part de la societat pel benestar dels animals (Eurobaròmetre, 2007). Això ha provocat que les explotacions ramaderes no només intentin optimitzar la producció per assolir un màxim rendiment econòmic sinó que, cada vegada més, incorporin als objectius bàsics de l'explotació la millora del benestar dels animals.

Com a resposta a la pressió mediàtica de les ONGs i de les organitzacions de consumidors, moltes empreses del sector carni així com cadenes de supermercats de rellevant importància han adoptat mesures per poder donar una millor imatge pública de respecte per les preocupacions del consumidor. Aquesta actitud ha originat estratègies de màrqueting per comercialitzar productes carnis que garanteixen una producció més respectuosa amb el medi ambient, més saludable i/o respectant el benestar dels animals (*welfare friendly products*; Veissier *et al.*, 2008).

En els moments previs al sacrifici, els animals d'abast experimenten situacions estressants a causa de la seva manipulació (dejuni, càrrega i descàrrega del camió, transport etc.). En el cas concret del sector porcí, aquestes pràctiques, per una banda afecten negativament el benestar dels animals i per l'altra, una incorrecta manipulació dels porcs en el període previ al sacrifici pot originar canals i carns defectuoses (D'Souza *et al.*, 1998a; Grandin, 1980; van der Wal *et al.*, 1999; Warris *et al.*, 1990), que poden representar importants pèrdues econòmiques per a la indústria (Gispert *et al.*, 1996). Per tal de minimitzar-les, els productors han augmentat els seus esforços per

millorar les condicions de tractament dels animals prèvies al sacrifici així com les pràctiques dutes a terme pels operaris de l'escorxador durant el propi sacrifici.

Per tant, la motivació dels ramaders per millorar el benestar dels porcs no només ve donada per motius legals o ètics, sinó que cada vegada existeixen més evidències que relacionen una millora del benestar animal amb repercussions molt positives en la qualitat tecnològica de la carn. Contràriament, defectes de qualitat de la carn repercuteixen negativament en els ingressos econòmics de tots els actors de la cadena càrnia porcina. Entenent les causes i l'abast d'aquests defectes es podrien modificar les pràctiques en el sistema de producció per tal de minimitzar-los, o fins i tot eliminar-los. Així, unes adequades condicions en el dejuni dels animals i durant el transport des de l'explotació fins a l'escorxador, a més d'unes bones pràctiques de maneig dels animals en els corrals d'espera i durant l'estaborniment, poden contribuir a minimitzar tots aquests efectes negatius. Al mateix temps, la utilització de tranquil·litzants no al·lopàtics, com la incorporació de magnesi o de triptòfan durant els dies previs al sacrifici es plantegen com una bona bona estratègia per disminuir els efectes negatius del període just abans al sacrifici.

1 Qualitat de la carn de porc

A l'espècie porcina hi ha molts factors que contribueixen a la qualitat final de la carn. El concepte de *qualitat de la carn* ha anat evolucionant al llarg del temps, incorporant en la seva definició connotacions de naturalesa més social o ètica.

La *qualitat de la carn* es pot definir com el conjunt d'atributs que contribueixen al valor sensorial, tecnològic, higiènic i nutritiu de la carn (Hofmann, 1994; Figura I.1-1). Cada vegada més, s'han de tenir en compte aquelles qualitats que intervenen en el valor social (Figura I.1-1), que inclou conceptes com la sostenibilitat, la proximitat al territori, aspectes ambientals, econòmics, comercials i ètics.

El concepte qualitat es diferencia clarament en funció de la fase de producció, industrialització o comercialització a la que ens referim ja que el productor, l'industrial i el propi consumidor poden interpretar el terme 'qualitat' basant-se en diferents criteris. El consumidor forma part de l'últim esglaió de la cadena càrnia, i com a tal, cada vegada més els diferents actors dins la cadena ajusten el sistema de producció per a satisfer-lo. També en aquest sentit, Wood *et al.* (1998) subratlla que el terme la qualitat de la carn no inclou només característiques sensorials com la tendresa i el color, sinó també

aspectes relacionats amb la seguretat alimentària, les condicions de benestar dels animals que l'han produït, així com l'impacte sobre el medi ambient, aportant en alguns casos un valor afegit al producte final.

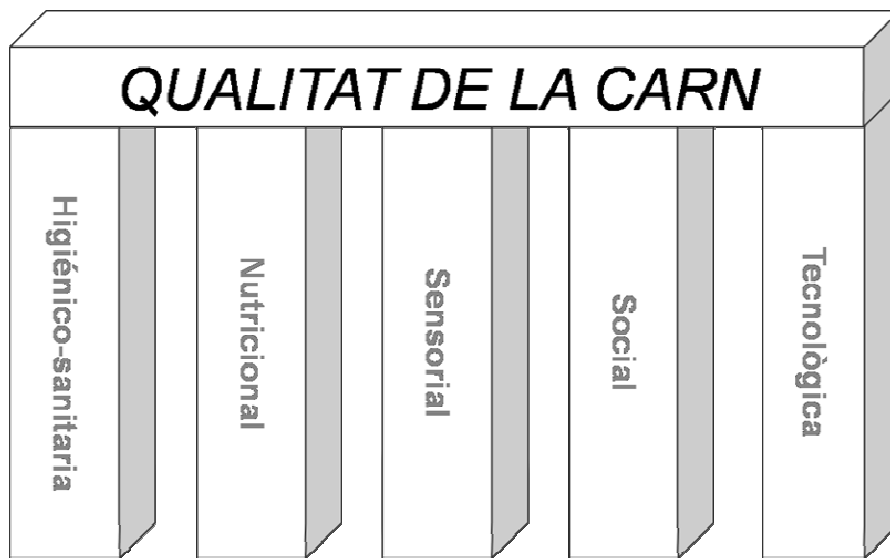


Figura I.1-1. Pilars de la qualitat de carn (adaptat de Hofmann, 1994).

2 Qualitat tecnològica de la carn

2.1 Conversió del múscul a carn

Amb la mort de l'animal, el reg sanguini del múscul s'atura amb la conseqüent aturada de l'aport d'oxigen i de la recirculació dels productes derivats del metabolisme al teixit muscular.

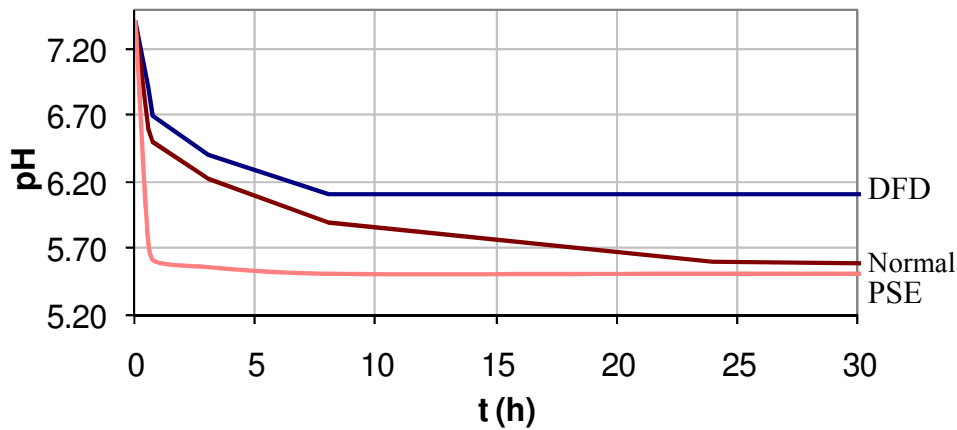
L'oxigen associat a l'hemoglobina sanguínia i a la mioglobina muscular s'esgota ràpidament, i com a conseqüència, s'atura la síntesi d'adenosin trifosfat (ATP) mitocondrial de manera que s'impossibilita el correcte funcionament del metabolisme aerobi. Per tal de mantenir l'homeòstasi, s'inicia el metabolisme anaerobi, provocant un esgotament de les reserves de glucogen muscular. Com a conseqüència, es produeix àcid làctic que, tot i l'acidificació del medi intracel·lular, permet mantenir la integritat

de les cèl·lules durant un cert temps malgrat que la producció d'energia en forma d'ATP sigui menys eficient (Guyton, 2001).

En els animals vius l'àcid làctic és transportat dels músculs al fetge on la glucosa es resintetitza a glucogen, o al cor, on es metabolitza a diòxid de carboni (CO₂) i aigua (Warris, 2000). En canvi, en els animals que es troben en el procés de desaignat, el sistema circulatori és incapaç de recircular aquest metabòlit, de manera que l'àcid làctic es va acumulant al múscul fins que s'esgoten les reserves de glucogen, baixant així el valor de pH muscular (Kastenschmidt *et al.*, 1968; Warris, 2000). L'activitat ATP-asa, l'activitat d'enzims glucolítics, la regulació de calci i el contingut en glucogen muscular afecte la velocitat i l'abast de la glucòlisi *post mortem* (Bowker *et al.*, 2000). Al mateix temps, el pH i la temperatura muscular *post mortem* afecten la velocitat i magnitud de la desnaturalització proteica, l'oxidació lipídica, el color, la capacitat de retenció d'aigua i les característiques sensorials de la carn (Rosenvold & Andersen, 2003). Precisament, la rapidesa i la magnitud del metabolisme energètic i l'acidificació del múscul tenen un paper clau en la conversió de múscul a carn, i són importants per determinar les característiques relacionades amb la qualitat tecnològica de la carn fresca de porc (Briskey, 1964; Offer & Knight, 1988).

Durant les hores immediates posteriors a la mort, el pH muscular disminueix de valors 7,0-7,2 (pH fisiològic) fins a valors 5,4-5,7 (Briskey & Wismer-Pedersen, 1961; Warris, 2000). Aquest valor final s'anomena pH últim (pHu) i s'assoleix a diferent temps segons l'espècie, el tipus de múscul, el sistema d'estaborniment i l'estrès que ha sofert l'animal en el període previ al sacrifici (Warris, 2000).

La figura I.2-1 mostra una baixada normal de pH *post mortem* en porcí, la qual parteix de valors de pH al voltant de 7,0 i disminueix fins a valors de 5,6-5,7 a les 6-8 hores *post mortem*, i finalment assoleix un valor final (pHu) de 5,5 (Gregory, 1998). La carn que segueix aquest comportament és vermella, ferma i no exudativa, i es coneix com a carn normal o RFN (*Red, Firm & Non-exudative*; Kauffman *et al.*, 1993; Warner *et al.*, 1997; Taula I.2-2).



DFD (Fosca, seca i ferma); PSE (Pàl·lida, tova i exudativa)

Figura I.2.1. Representació esquemàtica de l'evolució del pH *post mortem* amb el temps *post mortem* segons les categories de qualitat tecnològica de la carn: Normal, PSE i DFD (Gregory, 1998).

2.2 Categories de Qualitat

Un maneig inadequat dels animals durant els moments previs al sacrifici pot provocar bàsicament dos tipus d'estrès, el crònic i l'agut. L'estrès crònic, o perllongat en el temps causa l'esgotament de les reserves de glucogen del múscul, mentre l'estrès de tipus agut té lloc a causa d'un maneig violent just en els minuts previs al sacrifici de l'animal amb suficients reserves de glucogen al múscul, i que s'agreuja en el cas de porcs portadors del gen RYR1 o gen de l'halotà (vegeu apartat I.4.1). El primer provoca l'aparició de carns fosques, fermes i seques (DFD; de l'anglès *Dark, Firm & Dry*), i el segon carns pàl·lides, toves i exsudatives (PSE; de l'anglès *Pale, Soft & Exudative*; Honkavaara, 1988).

2.2.1 Carns PSE

Una situació de màxim estrès just abans del sacrifici (estrès agut) pot provocar a un augment de la concentració plasmàtica de catecolamines i una despesa energètica excessiva. Com a conseqüència s'estimula la glucòlisi anaeròbia i la formació d'àcid làctic abans del dessagnat, de manera que té lloc una disminució anòmala i més pronunciada del pH muscular assolit-se durant la primera hora *post mortem* valors inferiors a 6 (Figura I.2-1, Monin *et al.*, 1987; Oliver *et al.*, 1993, López Bote, 2001). Aquesta ràpida acidificació, juntament amb una temperatura de la canal encara elevada

(>38°C) provoca la desnaturalització de proteïnes musculars (Briskey & Wismer-Pedersen, 1961). Acompanyant aquest fenomen també té lloc una disminució de la capacitat de retenció d'aigua i un augment de la pal·lidesa de la carn (Offer, 1991; Offer & Cousins, 1992). Aquest conjunt de característiques que adquireix la carn de porcs sotmesos a condicions prèvies al sacrifici estressants (amb o sense predisposició genètica) origina carns pal·lides, toves i exsudatives (PSE), defecte de qualitat que actualment comporta importants pèrdues econòmiques (Gispert *et al.*, 2000a, Honkavaara, 1988).

2.2.2 *Carns DFD*

Per altra banda en alguns animals, i pel fet de tenir poques reserves de glucogen al múscul, la caiguda del pH esdevé molt lleugera durant la primera hora i es manté estable a un valor relativament elevat, donant un pHu d'aproximadament 6.0 (Figura I.2-1). La carn resultant és l'anomenada DFD, carn fosca, ferma i seca (*dark, firm & dry*). El valor de pH que la caracteritza afecta algunes propietats de la carn com el color i la capacitat de retenció d'aigua, de manera que els músculs que es mantenen a pH elevats durant la conversió de múscul a carn esdevenen foscos i molt secs en la superfície a causa dels forts lligams proteics. A més, el pH elevat facilita la degradació microbiològica de la carn (Gregory, 1998).

2.2.3 *Altres categories relacionades amb la qualitat tecnològica de la carn*

Basat en el color, la fermesa i la capacitat de retenció d'aigua, Kauffman *et al.* (1993) va definir cinc categories de qualitat de la carn (Taula I.2-1). La carn que va considerar com a normal l'anomenà RFN (vermella, ferma i no exsudativa, de l'anglès *Red, Firm & Non-exudative*), i les carns PSE i DFD, acabades d'esmentar, corresponen als casos extrems suggerits per Kauffman. Addicionalment va descriure carns RSE (vermella, ferma i exsudativa, de l'anglès *Reddish pink, Firm and Exudative*) i carns PFN (pàl·lida, ferma i no exsudativa, de l'anglès *Pale pinkish gray, Firm and Non-exudative*).

Taula I.2-1. Categories de qualitat tecnològica de la carn descrites per Kauffman et al. (1993).

Categoria	Descripció
PSE	Pàl·lida, tova i exsudativa, de l'anglès <i>Pale pinkish gray, Soft and floppy and Exudative</i>
RSE	Vermella, ferma i exsudativa, de l'anglès <i>Reddish pink, Firm and Exudative</i>
PFN	Pàl·lida, ferma i no exsudativa, de l'anglès <i>Pale pinkish gray, Firm and Non-exudative</i>
RFN	Vermella, ferma i no exsudativa, de l'anglès <i>Reddish pink, Firm and Non-exudative</i>
DFD	Fosca, ferma i seca, de l'anglès <i>Dark purplish red, very Firm and Dry</i>

2.3 Paràmetres de qualitat tecnològica de la carn

Durant el procés de conversió de múscul en carn tenen lloc una sèrie de canvis bioquímics que modifiquen un conjunt de paràmetres com són el pH muscular, la capacitat de retenció d'aigua, el color del múscul i la textura. Tots aquests paràmetres poden ser indicatius de la qualitat tecnològica de la carn.

La mesura del pH muscular és una de les més utilitzades per determinar la qualitat de la carn. Tant la velocitat de la caiguda com el nivell últim a què s'arriba després del sacrifici tenen un efecte important sobre la capacitat de retenció d'aigua, el color i la textura de la carn. Com ja s'ha comentat anteriorment, el pH muscular disminueix progressivament segons les reserves de glucogen disponible i segons el tractament *ante mortem* experimentat per l'animal. Així, i seguint l'esquema de la figura I.2-1, una mesura del pH a 45 minuts *post mortem* (pH₄₅) ens permet detectar possibles carns PSE, mentre que un pH últim (pH_u) mesurat a partir de les 24 hores permet identificar carns DFD.

La mesura de la conductivitat elèctrica a les 24h (CEu) s'ha relacionat amb carns exsudatives de manera que pot utilitzar-se com a paràmetre predictiu de carns PSE (Àlvarez & Torre Saez de Argadoá, 1996).

Per altra banda, la capacitat de retenció d'aigua (CRA) i el color es veuen afectats per la integritat estructural de les proteïnes. Aquestes són sensibles a les temperatures altes i valors de pH baixos, dues condicions que poden causar la desnaturalització i la conseqüent pèrdua d'estructura i funcionalitat de les proteïnes, que es tradueix en una pèrdua de la capacitat de retenció d'aigua i un color més pàl·lid. Quan el pH final assoleix el punt isoelèctric, que en moltes de les proteïnes càrnies és al voltant de 5,0 (Hamm, 1960) la repulsió de les miofibril·les es minimitza i l'espai entre filaments s'estreny. La disminució de l'espai entre filaments com a conseqüència de la disminució de les repulsions miofibril·lars, resulta en un augment de les pèrdues per degoteig després de tallar la carn (Offer & Knight, 1988). A més, un mecanisme similar té lloc amb la dispersió de la llum en superfície. A un pH final baix es dispersa més llum de la superfície, originant carn pàl·lida. El color de la carn també depèn de la concentració de mioglobina –un pigment de la carn– i del seu estat químic (Lindahl *et al.*, 2001). És precisament l'estat químic del pigment muscular un dels punts importants per a l'estabilitat del color de la carn durant l'emmagatzematge de la carn.

La Taula I.2-2 recull els criteris de les categories relacionades amb la qualitat tecnològica de la carn, segons diversos autors, en funció dels valors que prenen el pH, la conductivitat elèctrica, les pèrdues per degoteig i el color.

Segons el pH mesurat als 45 minuts *post mortem* (pH45 min), Hofmann (1988) va descriure els músculs *Longissimus thoracis* (LT) i *Semimembranosus* (SM) com a PSE quan als 45 minuts presentaven un pH inferior o igual a 5,8. Aquest criteri ha variat segons el grup d'investigadors, essent 5,9 en el cas de Barton Gade *et al.* (1995) i 6,0 en el cas de Smith *et al.* (1978) i Oliver *et al.* (1988).

El pH mesurat a 24h *post mortem* (pH24) permet identificar les carns DFD. En aquesta cas, un pHu superior o igual a 5,9 , 6,0 , 6,2 o 6,4 es relaciona amb carns DFD (Barton Gade *et al.*, 1995; Joo *et al.*, 1995; Hoffmann, 1988; van der Wal *et al.*, 1988, respectivament).

Pel que fa a la capacitat de retenció d'aigua, s'utilitzen dos paràmetres: la conductivitat elèctrica i les pèrdues per degoteig. Els músculs exsudatius s'han definit com aquells que presenten una conductivitat elèctrica a les 24h *post mortem* (CEu) $\geq 6,0$ mS (Barton Gade *et al.*, 1995; Oliver *et al.*, 2001a), tot i que actualment també es considera una definició més restrictiva la qual defineix carn exsudativa com aquella amb ECu $\geq 4,5$ (Kocwin-Podsiadla *et al.*, 2006). Les carns exsudatives també s'han caracteritzat segons

les pèrdues per degoteig. Lloms amb pèrdues per degoteig $\geq 5,0\%$ s'han descrit com a exsudatius (Oliver *et al.*, 2001a; Warner *et al.*, 1997).

I finalment, les carns pàl·lides s'han descrit com aquelles amb valors de lluminositat (L^*) ≥ 51 mentre que carns fosques s'han descrit com aquelles amb $L^* < 42$ (Warner *et al.*, 1997).

Taula I.2-2 Criteris de definició de les característiques de carn PSE i DFD segons paràmetres tecnològics (pH, conductivitat elèctrica, pèrdues per degoteig i color).

	Múscul	Característiques PSE	Característiques DFD
pH 45min	LT	$\leq 5,8^1$ $\leq 5,9^2$ $\leq 6,0^{3,4}$	-
	SM	$\leq 5,8^1$ $\leq 5,9^2$ $\leq 6,0^4$	-
pH 24h	LT	-	$\geq 5,9^2$ $\geq 6,0^5$ $\geq 6,2^1$ $\geq 6,4^6$
	SM	-	$\geq 5,9^2$ $\geq 6,0^5$ $\geq 6,2^1$ $\geq 6,4^6$
CEu	LT	$\geq 4,5^7$ $\geq 6,0^2$	-
	SM	$\geq 4,5^7$ $\geq 6,0^{2,8}$	-
Pèrdues per degoteig	LT	$\geq 5,0^{9,10,11}$	-
Color - L^*	LT	$\geq 51^9$	$< 42^9$

PSE: pàl·lides, toves i exsudatives, de l'anglès *Pale, Soft, Exudative*; DFD: carns fosques, seques i dures, de l'anglès *Dark, Firm, Dry*; CEu: conductivitat elèctrica (mS); LT: múscul *Longissimus thoracis*; SM: múscul *Semimembranosus*; ¹ Hofmann, 1988; ² Barton Gade *et al.*, 1995; ³ Oliver *et al.*, 1988; ⁴ Smith *et al.*, 1978; ⁵ Joo *et al.*, 1995; ⁶ van der Wal *et al.*, 1988; ⁷ Kocwin-Podsiadla *et al.*, 2006; ⁸ Oliver *et al.*, 2001a,b; ⁹ Warner *et al.*, 1997; ¹⁰ Warriss *et al.*, 1989; ¹¹ Kauffman *et al.*, 1993.

A partir de la combinació dels valors que poden prendre el pH (als 45 minuts *post mortem* i a les 24h), les pèrdues per degoteig i la lluminositat, els llocs (LT) de porc podrien caracteritzar-se com s'indica a la taula I.2-3.

Taula I.2-3. Criteris de classificació de les diferents categories de qualitat tecnològica de llocs segons les mesures del pH realitzades als 45 minuts i a les 24h *post mortem*, les pèrdues per degoteig i la lluminositat (CIE-L)¹

Categories	pH45	pHu	Pèrdues per degoteig	L*
PSE	≤6,0	<6,0	>6,0	>50
RSE	≤6,0	<6,0	>6,0	44-50
PFN	-	<6,0	<6,0	>50
RFN	>6,0		<6,0	<50
DFD		≥6,0	<3,0	<44

¹ Criteris segons Flores *et al.* (1999) i Faucitano *et al.* (2010a).

PSE: pàl·lida, tova i exsudativa; RSE: vermella, ferma i exsudativa; PFN: pàl·lida, ferma i no exsudativa; RFN: vermella, ferma i no exsudativa; DFD: fosca, ferma i seca.

La textura de la carn depèn, en general, d'un component relacionat amb el sistema contràctil del múscul (miofibril·les) i d'un component relacionat amb el teixit connectiu (col·lagen). Les propietats mecàniques del col·lagen pràcticament no s'alteren durant l'emmagatzematge de la carn a temperatures baixes, de manera que la disminució de la duresa en el període *post mortem* és deguda principalment a alteracions que experimenten les miofibril·les. Un dels tests instrumentals emprats per avaluar la textura és el Test de Warner-Bratzler. Aquest consisteix en sotmetre la carn a una força de cisallament mitjançant un analitzador de textura. Com a resultat s'obté la força necessària per tallar la carn expressada en 3 variables: càrrega màxima (*Shear force*), mòdul o pendent (*Shear Firmness*) i l'energia total (Møller, 1980).

Durant el procés de maduració de la carn no només intervenen els sistemes fisicoquímics com el pH (la velocitat caiguda i el valor final assolit), el potencial glucolític del múscul o l'osmolaritat. També existeix un conjunt de proteïnases intracel·lulars les quals intervenen al fenomen d'entendiment de la carn en el període *post mortem* (Ouali, 1990). Les principals són:

- Les calpaïnes (μ -calpaïna, m-calpaïna i calpaïna 3), proteïnases calciodependents situades al citoplasma, actives a pH neutre (Guroff, 1964),

- Les catepsines (B, D, L i H), proteïnases lisosomals actives a pH inferiors a 6 (entre 4,0 i 6,0; De Duve *et al.*, 1955) i
- La proteïnasa multicatalítica (MCP) complex multicatalític situat al citoplasma, actiu a pH bàsic (7,5-8,0; Wilk & Orłowski, 1980).

Els sistemes enzimàtics calpaïnics i catepsínics han estat els més estudiats. Alguns estudis defensen la postura que són els dos mecanismes els que intervenen en el procés de maduració. Per explicar la majoria de modificacions a nivell estructural, alguns autors postulen que és necessari considerar l'acció sinèrgica dels dos sistemes, ja que cadascun per separat no és capaç de reproduir tots els canvis (Etherington *et al.* 1987; Valin & Ouali, 1992). Inicialment les catepsines eren el sistema enzimàtic considerat en els estudis sobre els mecanismes de tenderització de la carn. Posteriorment, els treballs es centraren en les calpaïnes per la seva capacitat d'alterar la densitat de la línia Z de l'estructura muscular, una alteració sovint observada durant el període *post mortem* malgrat no haver-hi evidències d'estar correlacionada amb la tendresa (Taylor *et al.*, 1995). Més recentment, diversos estudis han donat suport al paper del proteasoma 20S en aquest procés d'entendiment (Dutaud, 1998; Lamare *et al.*, 2002; Matsuishi & Okitani, 1997; Otsuka *et al.*, 1998; Ouali, 1999). Posteriorment, es suggerí que les calpaïnes podrien ser les primeres responsables de la proteòlisi en el múscul durant els primers 3-4 dies *post mortem*, mentre que la contribució de les catepsines seria principalment a partir dels 6 dies *post mortem*, quan el pH muscular és baix (Taylor *et al.*, 1995). La controvèrsia sorgeix pel fet que cap dels sistemes enzimàtics és capaç d'explicar al complet tots els canvis fisicoquímics que tenen lloc al múscul *post mortem*. Més recentment, l'equip de Ouali postulà que la mort cel·lular programada, i concretament uns enzims anomenats *caspases*, podia tenir un paper important en el procés de conversió del múscul en carn durant les primeres hores *post mortem* (Ouali *et al.*, 2006). Segons aquesta teoria, com a conseqüència de la manca de reg sanguini i per la fallada en el subministrament de nutrients a les cèl·lules, s'activaria una sèrie de mecanismes coneguts com mort cel·lular programada o *apoptosi* que facilitaria l'acció dels altres sistemes proteolítics intracel·lulars descrits anteriorment com són les catepsines, calpaïnes, proteasomes, i possiblement algun altre enzim proteolític que encara no s'ha relacionat amb el procés d'entendiment de la carn (Ouali *et al.*, 2006).

3 Qualitat des del punt de vista de la societat: paper del benestar animal

Un component important en el pilar social de la qualitat de la carn (Figura I.1-1) és la qualitat ètica, la qual es relaciona amb sistemes de producció sostenibles i respectuosos amb el medi ambient i amb sistemes de producció respectuosos amb el benestar dels animals (Warris, 2000).

Enquestes recents dutes a terme per la Comissió Europea (European Commission, 2005 i 2007) confirmen que el benestar animal és un aspecte important per als consumidors europeus. Això posa de manifest un increment en la sensibilització dels ciutadans europeus envers alts estàndards de benestar animal, i evidencien que les mesures adoptades a nivell europeu resulten essencials no només per motius relacionats amb la sanitat animal o qualitat dels aliments, sinó també per raons ètiques i morals. Així, i malgrat tenir entitat pròpia, en aquest document el benestar animal és considerat com un valor addicional a la qualitat del producte que pot tenir conseqüències sobre la qualitat tecnològica de la carn (Cannon *et al.*, 1995).

Tot i que el benestar animal, o l'anomenat *Dret del benestar animal* neix a finals del segle XIX a la Gran Bretanya, no és fins els anys 70 del segle XX que comença a consolidar-se i desenvolupar-se definitivament. Després d'anys d'estancament, especialment des dels anys 30, la intensificació de la producció ramadera dels anys 50-60 provocà la publicació al Regne Unit del llibre *Animal Machines* per part de Ruth Harrison l'any 1964. La conseqüència de l'edició i èxit d'aquest llibre fou la creació del Comitè *Brambell* que tenia com a objectiu revisar tots aquells aspectes relacionats amb el benestar dels animals de granja criats en condicions intensives, assessorar el govern en matèria de benestar i establir les directrius i objectius nacionals en l'àmbit legislatiu i d'investigació. Des d'aquest moment es pot dir que neix el benestar animal tal i com l'entenem avui en dia. De fet, el Comitè Brambell fou el precursor del Farm Animal Welfare Council (FAWC) que, l'any 1993, va proclamar la *Declaració de les cinc llibertats de l'animal*, el compliment de les quals garanteix el benestar dels animals (FAWC, 1997):

1. Nutrició adequada,
2. Sanitat adequada,
3. Absència d'incomoditat física i tèrmica,

4. Absència de por, dolor i estrès,
5. Possibilitat d'expressar les conductes importants per a l'espècie.

Malgrat no existir cap relació oficial entre l'informe del comitè de *Brambell*, la declaració de les cinc llibertats (FAWC) i les regulacions europees de protecció dels animals, el fet és que les primeres regulacions a Europa, adoptades 10 anys després de l'informe, segueixen la mateixa línia de les seves conclusions (àmpliament discutit a *Veissier et al.*, 2008).

Les primeres iniciatives de la Comunitat Econòmica Europea (CEE) –posteriorment Unió Europea (UE)– per protegir els animals van tenir lloc durant la dècada dels 70 del segle XX. Un dels objectius que perseguia era evitar les discrepàncies entre les normatives nacionals de protecció dels animals, que causaven desigualtats en la competència i per tant problemes en el funcionament del mercat comú. Dues dècades després, la UE va realitzar un gran pas introduint un protocol específic de protecció i benestar dels animals al Tractat d'Amsterdam (Anònim, 1997), posteriorment actualitzat al Tractat de Lisboa (Anònim, 2007). Aquest protocol estableix noves normes sobre l'acció de la Unió Europea en aquest camp, i reconeix oficialment que els animals són éssers capaços de sentir emocions per primer cop a la història i disposa que, al formular i aplicar les polítiques comunitàries, les institucions comunitàries han de tenir en compte les exigències en matèria de benestar animal. Actualment, la protecció dels animals és sota la responsabilitat de la Direcció General de Salut i Protecció del Consumidor (DG-SANCO) que, al seu torn, consulta a un comitè científic (comitè científic de salut animal i benestar animal, actualment part de l'Agència Europea de Seguretat Alimentària –EFSA–) per elaborar la normativa. L'EFSA elabora regularment informes científics a partir dels quals, DG-SANCO considera si és necessari elaborar un esborrany de directiva que haurà de ser aprovat pel Consell de Ministres de la UE per esdevenir una Directiva del Consell.

La legislació europea sobre protecció dels animals té per objectiu evitar qualsevol patiment inútil dels animals en tres àmbits fonamentals: en les explotacions ramaderes, durant el transport i el sacrifici.

Amb tot, actualment el benestar animal és una matèria de gran importància a Europa. En primer lloc, els moviments socials específics, com ara ONGs o la societat de forma més genèrica, donen més importància al benestar animal. En segon lloc, els òrgans legislatius han adoptat aquesta preocupació com a pròpia, de manera que la protecció

dels animals s'ha convertit en una prioritat per la UE. Això ha quedat palès amb el Pla d'Acció en matèria de benestar animal (2006-2010).

3.1 Definició de benestar animal

El *Benestar animal* és un concepte difícil de definir que combina aspectes objectius i subjectius relacionats amb la qualitat de vida dels animals i que es relaciona amb el benestar físic i mental de l'individu (Warriss, 2000). El benestar físic implica que l'animal es trobi en una correcta condició física i de salut, però el benestar mental és més difícil de definir. Disposar d'un bon estat de salut no implica necessàriament un nivell correcte de benestar animal. Aquí rau la dificultat de trobar una definició acceptada per tota la comunitat científica. Segons Duncan i Fraser (1997), la majoria de les definicions poden agrupar-se en 3 categories:

- a) Definició del benestar animal tenint en compte les emocions que experimenten els animals:

El benestar dels animals augmenta quan aquests experimenten emocions positives, i disminueix quan experimenten emocions negatives, com el dolor o la por.

- b) Definició del benestar basant-se en què la conducta que mostra l'animal i l'entorn en el qual es troba són semblants a la conducta i entorn natural de l'espècie:

El benestar dels animals es garanteix si aquests es mantenen en condicions semblants a les de l'hàbitat natural de la seva espècie i, a més, poden mostrar el seu comportament natural.

- c) Definició del benestar animal basant-se en el funcionament de l'organisme:

El benestar dels animals es basa en la seva capacitat per superar aquelles condicions adverses a les quals els sotmet el seu entorn.

La primera definició presenta el problema que, fruit del desconeixement que encara existeix del funcionament del cervell, és molt difícil trobar indicadors objectius de patiment, paràmetres que ens permetin avaluar les emocions dels animals sense interpretacions (Dawkins, 1990). Amb la segona definició, el que s'estableix com a condicions naturals o comportaments naturals pot ser discutible fins i tot dins d'una mateixa espècie desenvolupada en entorns diferents. A més, les pròpies condicions naturals sotmeten els animals a gana, a fred o a depredadors, i no és clar que aquestes

condicions es puguin relacionar amb un benestar òptim. Per tant, el problema rau en definir objectivament quines són aquestes condicions i quines es prioritzen. Finalment, la tercera definició, basada en la resposta d'estrès, ha estat tradicionalment la més emprada en ciència, ja que aporta indicadors objectius de benestar animal. Així, Broom (1986) defineix benestar animal com aquell *estat en el qual l'individu no ha d'enfrontar-se a l'entorn que l'envolta*, en la mateixa línia de les definicions de Hughes (1976) i Fraser *et al.* (1975): *el benestar animal es relaciona amb l'esforç que ha de realitzar l'individu per adaptar-se al seu entorn*, i segons la FAWC, queda garantit quan es compleixen els cinc requisits que corresponen a les cinc llibertats esmentades anteriorment (FAWC, 1997).

3.2 La resposta a l'estrès

Quan un animal afronta una situació desconeguda o que potencialment pot posar-lo en perill, desenvolupa ràpidament una resposta d'adaptació que es coneix com a resposta d'estrès (Terlouw, 2005; Warris, 2000) que el prepara fisiològicament per enfrontar-se al perill o bé eludir-lo, resposta que es coneix com a '*lluitar o fugir*' del sistema nerviós autònom (Cannon 1935). En aquesta resposta participa inicialment el sistema simpàtic adrenomedul·lar amb l'alliberació de catecolamines (adrenalina i noradrenalina) al torrent sanguini, augmentant l'estat d'alerta i preparant el cos de l'animal a *lluitar o fugir* (Cannon 1935). Entre altres, augmenta la freqüència cardíaca i el reg sanguini, el nivell de glucosa en sang procedent del catabolisme del glucogen al fetge, la profunditat i ritme respiratori i la capacitat de la sang de transportar oxigen cap el cervell i als grans paquets musculars (Warris, 2000).

Quan l'animal supera aquesta situació l'organisme torna a la normalitat. Aquesta resposta fisiològica ha permès que les espècies domèstiques hagin evolucionat al llarg de la història i hagin arribat on són ara. Al llarg de la vida d'un porc aquest procés es dona milers de vegades, i és precisament en el moment en el qual no pot tenir lloc quan la capacitat d'adaptació d'un animal al seu entorn comença a perillar. Per tant, cal considerar que la resposta d'estrès, per sí mateixa, no és negativa, sinó al contrari, és imprescindible per a la supervivència de tot individu en un entorn que sempre és hostil (Selye, 1976). Tanmateix, quan els factors d'estrès comencen a allargar-se en el temps, fent que l'animal mantingui l'estat d'alerta, la tonificació muscular i els ritmes cardíac i respiratoris elevats, l'organisme comença a entrar en un dèficit energètic. Per superar-lo

s'activa inicialment l'eix hipotalàmic-pituïtari-adrenal (Warris, 2000), i com a resultat, s'allibera cortisol al torrent sanguini amb la funció d'augmentar els nivells sanguinis de glucosa (perquè disminueix la degradació de glucosa alhora que augmenten la proteòlisi i la gluconeogènesi) i promou l'acumulació de glucogen al múscul, aconseguint així energia per l'organisme (Greenberg *et al.*, 2002). Addicionalment també interromp les funcions orgàniques que consumeixen energia amb el que es coneix com a cost biològic de la resposta d'estrès, i que es tradueix en què el cortisol interromp funcions com la reproducció o el sistema immunitari. Si la resposta d'estrès dura pocs minuts l'organisme no se'n ressent, però si dura hores o dies, nivells elevats de cortisol poden derivar en falles reproductives, pèrdua de massa corporal i immunodepressió, fet que pot acabar en malaltia (Fraser & Broom, 1990; Selye, 1976).

Depenent de la intensitat i durada dels factors d'estrès, un animal pot viure 3 situacions diferents (Warris, 2000):

1. Un entorn del tot satisfactori en el qual l'animal s'adapta sense necessitat d'activar una resposta d'estrès. Aquesta situació és ideal per garantir el benestar dels animals. Així, l'animal supera la situació sense cap problema ni cost biològic.
2. Un entorn que malgrat ser advers, l'animal aconsegueix adaptar-s'hi. Així, l'animal supera la situació, però ho fa comproment altres funcions orgàniques i per tant, hi ha un cost biològic.
3. Un entorn que és tan advers que l'animal no s'hi pot adaptar. Així l'animal no és capaç de superar el factor d'estrès i tenen lloc fallides parcials d'adaptació (malaltia o lesió) o fallides totals (mort).

En una població, la presència de malalties, lesions, índex de mortalitat o problemes reproductius, de creixement, etc. són els indicadors objectius de benestar que permeten avaluar la situació d'un grup d'animals en relació a les situacions a les quals els sotmet el seu entorn (Greenberg *et al.*, 2002; Warris, 2000). A més però, l'anàlisi del cortisol sanguini, la freqüència cardíaca o la temperatura corporal d'un animal permet saber com percep aquell animal una situació determinada (Greenberg *et al.*, 2002).

En general, cal tenir en compte que els estímuls estressants poden ser additius de manera que un estímul que inicialment pot ser trivial pot originar un efecte desproporcionat (Greenberg *et al.*, 2002). Així, un animal reacciona a tot allò que li és nou o que surt de la seva rutina i la seva reacció és tan més potent com més vulnerable

es senti i com més factors de novetat estiguin actuant sobre ell al mateix temps. És per això que es considera que en la vida d'un animal de producció els moments més estressants són el naixement (és un ésser molt vulnerable i tot li és nou) i les últimes 24 hores de vida (Murray & Jones, 1994). Àlvarez *et al.* (2009), registrant freqüències cardíques de 91 porcs durant el tractament previ al sacrifici van observar que els pics màxims de freqüència cardíaca succeïen durant la càrrega i descàrrega dels porcs del vehicle de transport, als 10 minuts previs al sacrifici degut a la manipulació prèvia a l'estaborniment, durant el propi estaborniment i finalment, durant el dessagnat (Figura I.3-1). En aquest estudi es destaca que durant el transport la freqüència dels porcs anava disminuint fins assolir un valor mínim als 30 minuts, i que durant l'espera a l'escorxador (6h) els animals recuperaven freqüències cardíques baixes (al voltant dels 60-70 batecs/min).

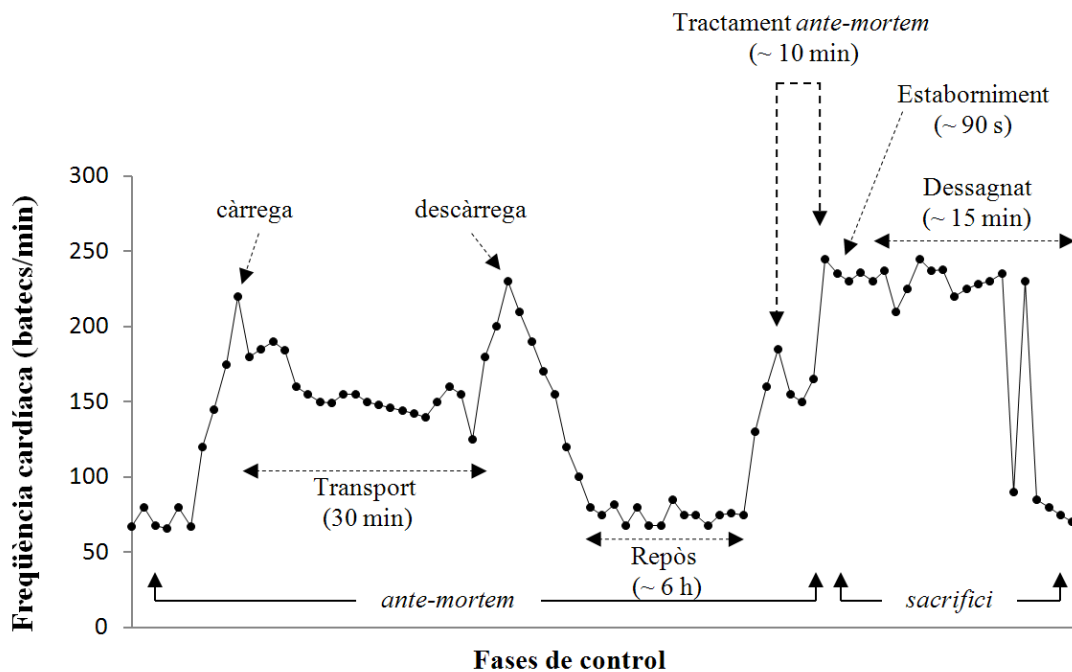


Figura I.3-1. Evolució de la freqüència cardíaca (mitjanes) de porcs (n=91) durant un transport de curta durada, i les etapes *ante mortem* (espera i maneig) i sacrifici (estaborniment i dessagnat). Adaptat de Álvarez *et al.* (2009).

En aquest últim període de vida cal tenir en compte que sobre l' animal estan actuant molts factors d'estrès al mateix temps, fet que els suposa un cost biològic i que alguns d'ells fins i tot es vegin superats per les circumstàncies. Com a resultat, es pot observar (Gregory, 1998):

- Un augment de la mortalitat causada per l'estrès per calor,
- fractures i dislocacions òssies com a conseqüència de cops,
- lesions a la pell i possibles septicèmies,
- elevació del pH final de la carn per una disminució del glucogen muscular com a conseqüència d'un transport llarg, períodes de dejuni llargs o excés d'exercici,
- aparició de carns PSE per un període de repòs previ al sacrifici massa curt o bé per un estrès elevat just abans del sacrifici,
- augment de presència de *salmonel·la* a la femta per estrès emocional.

Així, com a resposta a aquestes situacions estressants, l'animal experimenta canvis fisiològics i de comportament que s'han relacionat amb la disminució de la qualitat de la canal i qualitat tecnològica de la carn que se n'obté (Cannon *et al.*, 1995).

4 Factors previs al sacrifici que afecten el benestar i la qualitat tecnològica de la carn de porc

Existeixen diversos factors que poden tenir repercussions sobre la qualitat de la carn (Cannon *et al.* 1995). A la taula I.4.1 es recullen alguns d'aquests factors i els efectes que s'han observat. Cannon *et al.* (1995) van relacionar canvis en el color i la capacitat de retenció d'aigua del múscul en aquelles pràctiques que suposen una situació estressant per part de l'animal com són el tractament *ante mortem*, el transport i l'estaborniment. La nutrició i l'origen genètic també poden tenir conseqüències sobre el color del múscul, la capacitat de retenció d'aigua i la composició de la canal. Els canvis observats en la carn relacionats amb l'origen genètic de l'animal s'han relacionat amb la síndrome de l'estrès porcina, que al seu torn, està relacionada amb una mutació del gen receptor de la rianodina (RYR1) o gen de l'halotà (Fujii *et al.*, 1991; vegeu apartat I.4.1).

Taula I.4-1 Factors productius que afecten la qualitat de la carn (adaptat de Cannon *et al.*, 1995)

Factor productiu	Característica de qualitat de la carn que es veu afectada
Genètica	Color del múscul Capacitat de retenció d'aigua del múscul Composició de la canal
Nutrició	Composició de la canal Flavor de la carn
Tractament <i>ante mortem</i> i transport	Color de la carn Capacitat de retenció d'aigua del múscul
Estaborniment	Color del múscul Capacitat de retenció d'aigua del múscul Equimosis Ossos trencats
Depilat	Temps de vida útil de la carn Color del múscul Capacitat de retenció d'aigua del múscul
Tractament <i>post mortem</i> de la carn	Color del múscul Capacitat de retenció d'aigua del múscul Temps de vida útil de la carn
Envasat i emmagatzematge	Temps de vida útil de la carn Seguretat alimentària de la carn

4.1 El genotip RYR1 i la síndrome de l'estrès porcí

El paper de la selecció genètica i dels esquemes de selecció és molt important en la indústria porcina. L'eficiència dels porcs, la composició de la canal i la qualitat de la carn pot canviar segons l'origen genètic de l'animal (Cannon, 1995), i no només això, sinó també hi ha diferències en la resposta d'estrès o en l'efecte d'aquesta resposta d'estrès sobre les reserves de glucogen muscular (Terlow & Rybarczyk, 2008). Porcs que són portadors o que expressen el gen de l'halotà s'han utilitzat històricament per millorar el percentatge de magre de les canals (Cannon, 1995). No obstant això, aquests animals són més propensos a experimentar la Síndrome de l'Estrès Porcí (PSS).

La PSS és una disfunció hereditària monogènica recessiva que es caracteritza per un desordre neuromuscular (Shen *et al.*, 1992) amb un *locus* autosomal únic. El gen

responsable va rebre inicialment el nom de gen de l'halotà (Deckers, 1999; Eikelenboom & Minkema 1974), i actualment també es coneix com a gen receptor de la ryanodina RYR1 (Fujii *et al.*, 1991). Localitzat al gen 6 del genoma porcí, aquest gen té dues expressions o al·lels possibles: l'al·lel normal (N) que és dominant sobre l'al·lel mutat (n). Així existeixen tres tipus de genotips (Calvo *et al.*, 1997):

1. Individus no portadors, homozigots dominants (NN).
2. Individus portadors de l'al·lel mutat n a la descendència, heterozigots (Nn).
3. Individus transmissors de l'al·lel mutat, homozigots recessius (nn).

Els animals homozigots recessius (nn) i en menor mesura els heterozigots (Nn) són més susceptibles a desenvolupar la PSS quan es sotmeten a situacions que els provoquen estrès (físic o ambiental). La fisiopatologia de la PSS és el resultat d'un augment sobtat i continuat de la concentració de calci al citoplasma dels músculs dels animals afectats, que origina rigidesa muscular, hipertèrmia i acidosi metabòlica i respiratòria, donat que el calci activa els metabolismes aerobi i anaerobi. La mutació de la proteïna formadora del canal d'alliberació del calci del reticle sarcoplasmàtic, d'on surt el calci per començar la contracció, seria la causa que originaria tots els desequilibris assenyalats. Malgrat la predisposició genètica d'alguns animals a l'estrès, la resta també poden presentar els mateixos símptomes en ser sotmesos a situacions estressants molt intenses (Warris, 2000).

Actualment existeixen diverses tècniques per detectar i identificar el gen de l'halotà. La primera es coneix com la prova de l'halotà: els investigadors Eikelenboom i Minkema l'any 1974 van observar que després de fer inhalar una mescla de gas halotà i oxigen a porcs joves, alguns desenvolupaven un quadre clínic semblant al de la hipertèrmia maligna (MH). Durant molts anys s'ha utilitzat com a prova per determinar la susceptibilitat a l'estrès en programes de selecció genètica. La prova de l'halotà es realitza a garrins d'edat compresa entre 6 i 15 setmanes, i consisteix en fer-los respirar una barreja d'halotà (4-8%) i oxigen (de 2 a 3 litres/minut). Es classifiquen com halotà negatius o resistents a l'estrès (HN) aquells animals que no manifesten cap símptoma d'hipertèrmia maligna, mentre que els halotà positius o sensibles a l'estrès (HP) són aquells que durant el primer minut desenvolupen rigidesa muscular de les cames, respiració accelerada i aparició de taques violàcies a la pell (Taula I.4-2).

Taula I.4-2. Caracterització dels 3 possibles genotips pel que fa al gen RYR1 o Gen de l'Halotà.

Genotip	Susceptibilitat a l'estrès	Prova de l'Halotà	Fenotip
Homozigot dominant	NN	Resistent	HN
Heterozigot	Nn	Resistent	HN
Homozigot recessiu	nn	Sensible	HP

Més tard, l'any 1991, Fuji *et al.* desenvoluparen un test bioquímic molecular basat en la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) que permetia la detecció de la mutació gènica responsable de la PSS (mutació al locus RYR1, o del gen *ryanodina*). Van observar que es produïa una substitució d'una citosina en el nucleòtid 1843 del porc no sensible per una timina a l'ADN de l'animal sensible. Aquesta substitució provoca un canvi en la seqüència d'una arginina en la posició 615 en l'animal no sensible per una cisteïna en l'animal sensible (Calvo *et al.*, 1997). Així, mitjançant aquesta tècnica es diagnostiquen els porcs resistents a l'estrès (homozigots dominants; NN), els porcs portadors (heterozigots; Nn) i els sensibles a l'estrès (homozigots recessius; nn).

Com s'ha comentat anteriorment, una de les conseqüències extremes menys desitjables de la PSS és la mort prematura dels animals. La mortalitat és, evidentment, l'indicador més clar de la manca de benestar animal (Greenberg *et al.*, 2002; Gispert *et al.*, 1996; Guàrdia, 2002; Warris, 2000) i causa considerables pèrdues econòmiques al ramader. Aquesta, però, no és l'única conseqüència amb repercussions econòmiques. Els animals susceptibles a l'estrès que són sacrificats en condicions estressants sovint tenen carn de qualitat inferior: poden desenvolupar ràpidament el *rigor mortis* i la carn assoleix les característiques de pàl·lida, tova i exsudativa, anteriorment esmentat com a carn PSE (vegeu apartat I.2.2: Cassens *et al.*, 1975; Fabrega, 2002; Fabrega *et al.*, 2002; Oliver *et al.*, 1994; Solomon *et al.*, 1998).

Els genotips que tendeixen a desenvolupar carns PSE coincideixen amb els que són sensibles a l'estrès o que presenten la síndrome de l'estrès porcina. Gregory (1998) va

classificar les races de porc segons la susceptibilitat de les diferents races a l'estrès (Taula I.4-3).

Aquesta classificació coincideix amb aquella que Oliver *et al.* (1992) van presentar anteriorment sobre la incidència de carns PSE en creuaments utilitzats a Espanya. L'estudi consistia en comparar 5 creuaments diferents basats en femelles Duroc, Landrace i Large White i en mascles Duroc, Landrace Belga o Large White amb l'objectiu de trobar quina era la millor combinació de races per les diferents estratègies comercials a l'estat Espanyol. Els resultats mostren que els creuaments amb component Landrace Belga tenien més incidència de carns PSE (superior al 23%), mentre que en races com Large White o Duroc la incidència era menor (de l'11 i 6% respectivament).

Taula I.4-3. Susceptibilitat de diferents races porcines a produir carns PSE i patir la síndrome de l'Estrès Porcí (modificat a partir de Gregory, 1998)

Susceptibilitat alta	Susceptibilitat mitjana	Susceptibilitat baixa
Pietrain	Landrace holandès	Large White irlandès
Landrace belga	Landrace francès	Large White australià
Poland china	Landrace suec	Large White francès
Landrace alemany	Landrace suís	Yorkshire americà
	Landrace anglès	Large White anglès
	Landrace noruec	Duroc
	Landrace australià	
	Landrace irlandès	
	Yorkshire holandès	
	Hampshire americà	

Posteriorment, Oliver *et al.* (2001b) van presentar un estudi realitzat entre els anys 1995 i 1996 en el qual s'avaluava la incidència de carn PSE en canals comercials basant-se en la conductivitat elèctrica ($CE > 6mS$). La presència de canals PSE fou diferent en funció de l'estació de l'any. A l'estiu fou del 8,5% mentre que a l'hivern fou lleugerament inferior, del 5,2%. En funció del temps de transport dels animals des de la granja fins a l'escorxador també van observar diferències: en el cas de transports inferiors a 2h el percentatge de carns PSE va ser del 8,0%, mentre que per temps superiors a les 2h fou

del 5,7%. Per tant, de manera general s'accepta que minimitzant l'estrès en el període previ al sacrifici es redueix el risc de desenvolupar carns tecnològicament defectuoses, tot i que aquesta reducció depèn de la sensibilitat genètica que presenti l'animal a l'estrès (De Smet *et al.*, 1996).

4.2 Tractament previ al sacrifici

La figura I.4-1 mostra, esquemàticament, els factors previs al sacrifici que influeixen en el benestar animal i la qualitat de la carn. Entre els factors *ante mortem* més estressants hi ha els processos de càrrega i descàrrega al camió que transporta els porcs de la granja a l'escorxador, les condicions de transport i espera, el temps de dejuni i el tipus d'estaborniment. Són molts els factors d'estrès amb els quals es pot enfrontar un porc durant les seves últimes 24h de vida (vegeu apartat I.3.2), i des del punt de vista de la qualitat tecnològica de la carn tots ells poden contribuir en originar carns PSE o DFD (vegeu apartat I.2.2).

Per tant, una bona gestió dels factors d'estrès que estan actuant sobre un animal en les seves últimes 24h de vida, a més d'augmentar el valor ètic pel fet de millorar el benestar dels animals, permetrà obtenir un major rendiment econòmic (més quilograms perquè hi haurà menys animals morts a l'arribada de l'escorxador i menys decomisos per lesions o cops) i un producte de major qualitat tecnològica (menys carns PSE i DFD).

4.2.1 *El dejuni*

El motiu principal pel qual es recomana dejunar els porcs és per reduir el contingut del tracte intestinal per reduir els marejos (Bradshaw *et al.*, 1996) i el risc de contaminacions de la canal per enterobactèris en cas de trencament del tub digestiu durant l'evisceració (Eikelenboom *et al.*, 1991; Morrow *et al.*, 2002). S'ha vist que també permet disminuir la mortalitat durant el transport (Warris, 1994) alhora que pot afectar els rendiments de la canal (Eikelenboom *et al.*, 1991) i a la qualitat tecnològica de la carn (Murray & Jones, 1994). Segons alguns estudis, els períodes de dejuni superiors a les 16 hores en porcí poden reduir lleument la incidència de carn PSE (Eikelenboom *et al.*, 1991; López Bote, 2001), i un dejuni perllongat podria augmentar la incidència de carns DFD (Gregory, 1998). No obstant això, altres estudis conclouen que no hi ha diferències en la qualitat de la carn entre animals dejunats durant la nit prèvia al sacrifici i animals no dejunats (De Smet *et al.*, 1996) (Vegeu apartat I.5.1).

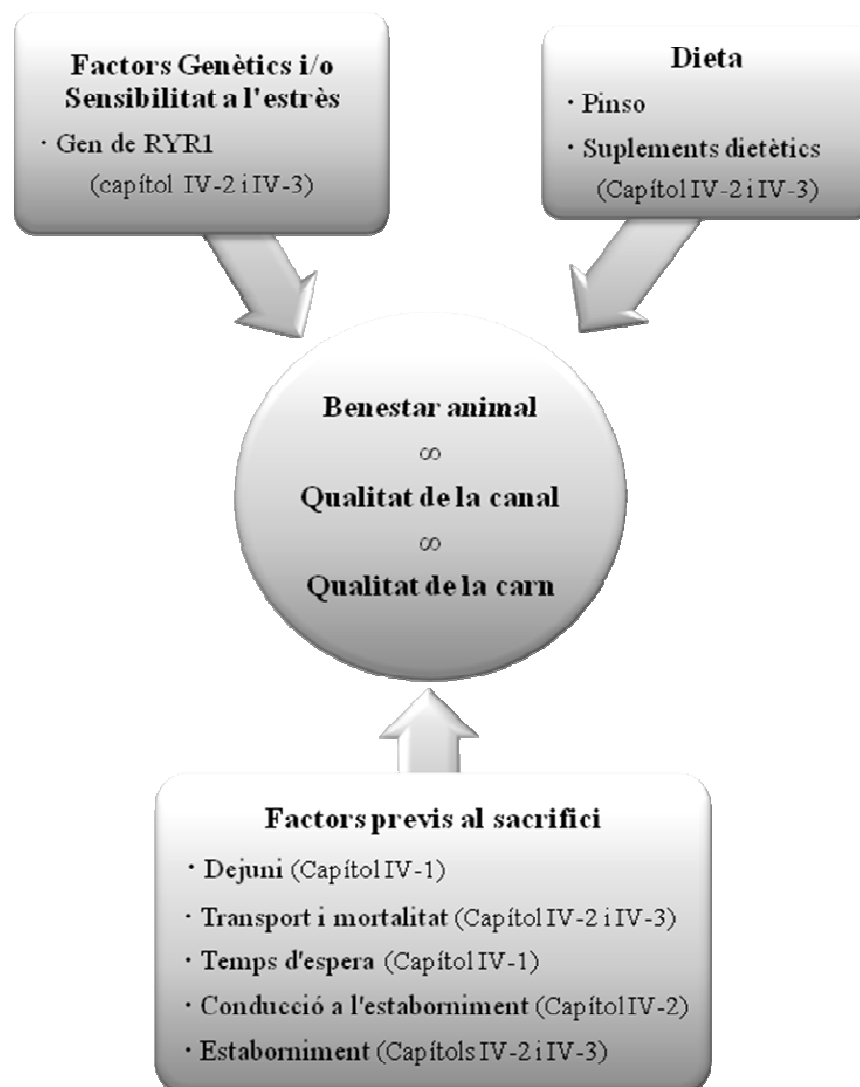


Figura I.4-1. Representació esquemàtica de diferents factors previs al sacrifici que poden afectar al comportament i benestar dels porcs, a la qualitat de la canal i a la qualitat tecnològica de la carn (entre parèntesi es mostra el capítol de resultats on s'estudia aquest factor)

4.2.2 *El transport*

El maneig durant el transport, i en concret durant la càrrega i la descàrrega dels animals, és un dels punts més crítics del període *ante mortem*. De sobte, el porc és forçat a canviar el seu ambient rutinari (el corral) per un ambient nou (el camió) amb una altra distribució, sòl metàl·lic o llit de serradures, que es mou, amb sorolls i olors nous i que acaba en un ambient desconegut (l'escorxador). S'ha descrit que els moments més estressants del transport són la càrrega i la descàrrega (Álvarez *et al.*, 2009; Guàrdia, 2002) segurament perquè en aquests moments es sumen els factors de novetat propis del transport (que són molts) als del maneig per part dels cuidadors o transportistes. Tot plegat, a més, es pot agreujar si hi ha barreja d'animals provinents de grups diferents, fet que implica baralles i estrès social. Tot això pot originar carns de baixa qualitat, ja sigui pel transport en si mateix (càrrega i descàrrega del vehicle de transport, durada del transport, densitat dels animals, moviments del camió) com per barreja d'animals entre ells (Driessen & Geers, 2000) que implica interaccions (agressions) per establir noves jerarquies (Velarde & Diestre, 2000). Com a resultat d'unes males pràctiques en aquest punt, augmenta la mortalitat prèvia al sacrifici, els danys a la canal (Driessen & Geers, 2000) i pot disminuir la qualitat tecnològica de la carn augmentant, per exemple, la incidència de carns DFD (Guàrdia *et al.*, 2005), de manera que les pèrdues econòmiques poden ser elevades (Gispert *et al.*, 1996). No obstant això, existeixen certes discrepàncies. Alguns autors no han vist un efecte important de les condicions durant el transport sobre la qualitat de la carn. Hambrecht *et al.* (2005) van estudiar l'efecte de dos tipus diferents de transport (un de curt i suau i l'altre de llarg i brusc), dos temps d'espera diferents (curts i llargs) i dos tipus de maneig previ al sacrifici (estressant, utilitzant xocs elèctrics i crits, o bé no estressant) sobre la qualitat de la carn. Els resultats foren que el tipus de transport va afectar poc les variables de qualitat de carn. No obstant això, suggereixen que quan coincideix un maneig previ estressant amb un transport brusc i un temps d'espera insuficient es poden agreujar els efectes negatius de l'estrès abans de sacrificar l'animal, de manera que incidint sobre aquests punts podria millorar-se la qualitat de la carn.

La temperatura és un factor ambiental que pot tenir importants conseqüències al final del transport. Diversos autors han relacionat temperatures elevades un augment de la mortalitat durant el transport dels porcs de les explotacions a l'escorxador (Gispert *et*

al., 1996) i amb l'augment de la incidència de carns exsudatives (Cassens *et al.*, 1975, Santos *et al.*, 1997).

4.2.3 ***El maneig previ al sacrifici***

El maneig previ al sacrifici, ententent-lo com la interacció porc-home, és també un dels principals factors d'estrès a tenir en compte. Durant mesos el porc té més aviat poca relació amb els seus cuidadors. De sobte, però, aquests entren al seu espai (el corral) i el fan sortir per conduir-lo cap al camió que el portarà a l'escorxador. Perquè l'animal es mogui amb rapidesa, han d'actuar com a factor d'amenaça de manera que aquest percep això com un potent factor d'estrès, augmentant així l'excitabilitat i la predisposició a fer exercici. En aquest apartat es considera el sistema per conduir els porcs del camió a les quadres d'espera i d'aquestes cap el sistema d'estaborniment amb l'ús de piques elèctriques, el temps d'espera i les pròpies condicions d'espera dels animals als escorxadors.

Malgrat estar cada vegada més en desús les piques elèctriques, que provoquen descàrregues entre 30 i 200 V, sovint s'utilitzen en qualsevol moment que requereixi moure els animals a l'escorxador. El reglament (CE) 1099/2009 del Consell recomana evitar la utilització d'aquests dispositius excepte en casos específics, ja que podrien afectar negativament el benestar dels porcs. A més, alguns autors han suggerit que la seva utilització podria afectar a la qualitat de la canal (danys a la pell) i la qualitat tecnològica carn, augmentant la incidència de carns PSE (D'Souza *et al.*, 1998a; Grandin, 1998).

Un altre punt crític és el temps durant el qual els animals resten en espera abans de ser sacrificats. Molts autors han estudiat l'efecte del temps d'espera dels animals a l'escorxador (Fernandez, *et al.*, 1991; De Smet *et al.*, 1996; Faucitano, 2000; Gispert *et al.*, 2000b; Nanni Costa *et al.*, 2002 ; Pérez *et al.*, 2002; vegeu apartat I.5.2)

En aquest apartat també s'ha de considerar el manteniment dels grups socials des de la granja fins al punt d'estaborniment així com l'ambient durant l'espera a l'escorxador, ja que podrien afectar també al benestar animal i la qualitat final de la carn (Faucitano, 2000).

4.2.4 ***Mètodes d'estaborniment***

Segons el reglament (CE) 1099/2009 tots els animals han d'estar prèviament estabornits abans del seu sacrifici, exceptuant els sacrificis religiosos realitzats per les comunitats

jueves i musulmanes. Els principals objectius de l'estaborniment són induir la inconsciència de l'animal de manera que pugui ser degollat i dessagnat sense causar-li ni dolor ni estrès, i immobilitzar-lo per obtenir un dessagnat correcte i sense suposar cap perill per l'operari. En porcí, el sacrifici es realitza mitjançant una incisió al pit, seccionant el tronc branquiocefàlic interrompent així l'aport de nutrients i oxigen al cervell. Això provoca una anòxia cerebral i posteriorment la mort de l'animal. Aquest procés tarda entre 22 i 30 segons (Wotton & Gregory, 1986). El procés d'engorjat provoca dolor degut a la presència de nociceptors a la zona del coll on es realitza el tall (Kavaliers, 1989; Grandin, 1994). Un cop s'ha realitzat el tall i fins que no perd la consciència, l'animal pot patir estrès i ansietat degut a la deficiència d'oxigen al cervell i a la pèrdua gradual de consciència (EFSA, 2004).

Els dos mètodes autoritzats d'estaborniment en porcí (*sus scrofa*) són l'electronarcosi (elèctric) i l'exposició al diòxid de carboni (CO₂; EC, 1993). L'electronarcosi es basa en l'aplicació d'un corrent elèctric entre 2 elèctrodes situats a cada cantó del cervell que indueix un estat d'epilèpsia caracteritzat per les convulsions tonico-clòniques. Aquest estat provoca la pèrdua instantània de la consciència degut a la despolarització de les neurones del sistema nerviós central (EFSA, 2004). Aquest mètode pot induir també la mort de l'animal si s'aplica un tercer elèctrode a la zona de projecció del cor amb la finalitat de provocar una fibril·lació cardíaca. L'estaborniment amb CO₂ consisteix en fer respirar els animals una atmosfera amb una concentració mínima de CO₂ del 80% provocant també la inconsciència (Reglament (CE) 1099/2009).

En general, els músculs de porcs estabornits elèctricament sofreixen una baixada del pH *post mortem* més ràpida que els músculs d'animals que s'han estabornit amb CO₂ i mostren també menys capacitat de retenció d'aigua (revisat per Rosenvold & Andersen, 2003). Seguint aquesta mateixa línia, alguns estudis mostren que el sistema d'estaborniment amb CO₂ podria reduir la incidència de carns PSE i de lesions quan es compara amb l'estaborniment elèctric (Velarde & Diestre, 2000; Velarde *et al.*, 2001) ja que els animals presenten menys convulsions, i així s'obtidria una carn de millor qualitat. A més, cal afegir que donat que el sistema d'estaborniment amb CO₂ pot ser un sistema reversible, es recomana que l'interval entre d'estaborniment i el dessagnat sigui inferior a 30 segons per evitar que els animals recuperin la consciència abans de la mort (Velarde, 2000).

4.3 Dieta

La dieta també és considerada com un factor important que afecta la qualitat de la carn. No obstant això, alguns autors consideren que té un paper relatiu comparat amb aquell de la genètica i del tractament pre- i post- sacrifici (Goodband *et al.*, 2006; Figura I.4). Per exemple, els porcs alimentats adequadament i amb un excel·lent potencial genètic des del punt de vista de la qualitat de la carn, poden mostrar una incidència de carn de baixa qualitat (ex. carns PSE o DFD) si el tractament previ al sacrifici no és l'adequat. De la mateixa manera, un tractament *ante mortem* adequat i una bona nutrició poden reduir la incidència de problemes relacionats amb la qualitat de la carn només si els animals utilitzats provenen d'una genètica amb predisposició a mostrar carn de baixa qualitat. I finalment, una dieta perfectament dissenyada per aportar tots els nutrients necessaris per a un desenvolupament adequat de l'animal no és suficient per evitar els efectes potencialment negatius d'una genètica o d'un tractament *ante mortem* inadequat. Així doncs, tot i que l'efecte de la dieta pot ser menys important que el de la genètica i del tractament pre- i post- sacrifici, és important tenir-la en compte per obtenir una qualitat de la carn òptima. Per tant, en estudis de factors relacionats amb la dieta també es controlin aquells altres factors que tenen influència sobre la qualitat de la carn.

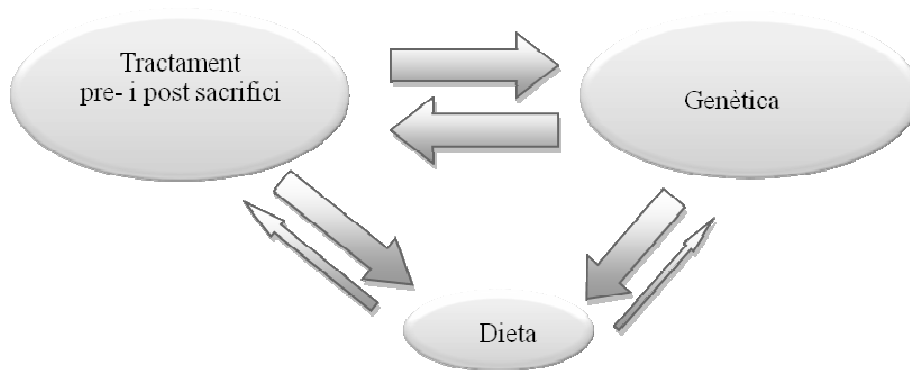


Figura I.4-2. Importància relativa del tractament pre- i post- sacrifici, genètica i dieta sobre la qualitat de la carn. Les dimensions de les fletxes indiquen el grau relatiu que cada factor pot contribuir a modificar-ne un altre (Adaptat de Goodband *et al.*, 2006).

El porc és un animal monogàstric i com a tal, molts dels nutrients que consumeix són fàcilment absorbits i incorporats al teixit muscular i a l'adipós, afectant així la qualitat de la carn. Existeixen molts estudis dirigits a millorar la qualitat de la carn mitjançant modificacions a la dieta del porc. Així per exemple, s'ha estudiat la manipulació de les reserves de glucogen muscular o l'aportació de glucosa a l'aigua de beguda per reduir la incidència de carns PSE (López Bote, 2001; Rosenvold & Andersen, 2003), o també s'ha estudiat l'efecte de la vitamina E i altres antioxidants per millorar el color i l'estabilitat oxidativa de la carn entre altres paràmetres (Rosenvold & Andersen, 2003). Per altra banda, qualsevol component alimentari que redueixi la resposta a l'estrès directament o indirectament pot millorar aquells defectes de qualitat de carn que hi estan relacionats. La resposta immediata a factors estressants és l'alliberament de neurotransmissors a nivell del cervell, els quals estimulen el sistema nerviós i alliberen hormones (anomenades hormones de l'estrès) a la sang. Aquestes poden estimular negativament el metabolisme muscular de manera que afecten així la qualitat de la carn (vegeu apartat I.3.2). Durant els últims anys han augmentat el nombre d'estudis que es centren en suplementar la dieta amb algun compost químic just abans del sacrifici seguint aquest objectiu. Entre els més estudiats hi ha diversos compostos de magnesi com el sulfat, aspartat, acetat, òxids o clorur de magnesi (vegeu l'apartat I.5.3.1). Altres estudis suggereixen que modificant la proporció de certs nutrients ja presents a la dieta (com els aminoàcids triptòfan, tirosina, fenilalanina, treonina i arginina, i la colina, precursora del neurotransmissor acetilcolina), poden modificar-se els nivells d'alguns neurotransmissors i, per tant, es poden observar canvis en el comportament (revisat a Lieberman, 2003; vegeu l'apartat I.5.3.2).

5 Estratègies per disminuir l'estrès dels animals associat als moments previs al sacrifici

5.1 Dejuni

Les explotacions porcines apliquen restriccions alimentaries abans de transportar els animals cap a l'escorxador que oscil·len entre 12 i 18h (Gispert *et al.*, 1996) o de 16-23h (Eikelenboom *et al.*, 1991).

Segons les revisions de Beattie *et al.* (2002) i Faucitano *et al.* (2010b) els motius principals pel qual es recomana aquesta pràctica són per reduir el contingut del tracte

intestinal per tal de reduir els marejos (Bradshaw *et al.*, 1996), per disminuir el risc de contaminacions de la canal per entero-bacteries per trencament del tub digestiu durant l'evisceració (Berends *et al.*, 1996) i per reduir la mortalitat. En alguns casos però, el dejuni no s'aplica o bé s'aplica incorrectament, fet que causa queixes i penalitzacions per part dels escorxadors.

Diversos estudis han relacionat el dejuni amb canvis en les característiques de la canal, en paràmetres relacionats amb la qualitat de la carn, amb el benestar animal, i fins i tot s'ha descrit el potencial impacte ambiental i econòmic del dejuni previ al sacrifici. A continuació es resumeixen els principals efectes del dejuni:

- Característiques de la canal. Segons Warris (1994) i Beattie *et al.* (2002) el dejuni pot ocasionar canvis en el pes viu i rendiment de la canal que sovint s'han relacionat, amb el pes de la femta i de l'orina. Durant les primeres 24h de dejuni, el porc pot perdre fins un 5% del pes viu, a una velocitat de 0,2% per hora o 0,25kg/h, resultant en pèrdues de pes de fins a 5kg després d'un dejuni de 24h (Warris, 1993). A més, segons les correlacions entre el rendiment de la canal i el quocient entre l'estomac buit i el pes de la canal, aproximadament el 25% de la variació de les pèrdues per oreig de les canals podria explicar-se amb el pes dels estomacs que es retiren durant l'eviscerat de les canals (Faucitano *et al.*, 2006). Kephard & Mills (2005) observaren una diferència entre 0,90kg i 2,0kg en el pes de l'estómac al moment del sacrifici entre porcs dejunats 16-24h i porcs no dejunats, i Eikelenboom *et al.* (1991) va publicar dades amb pesos d'estomacs dues vegades més grans en porcs dejunats 6h respecte dels porcs dejunats 12h (11,5 vs 6,7kg). Segons Chevillon *et al.* (1994), per assolir els requeriments de la indústria cal que el pes de l'estómac sigui inferior al 1,4kg i que el seu contingut sigui inferior a 0,5kg.

Per altra banda, si el tracte gastrointestinal és perforat durant l'eviscerat a l'escorxador, les canals poden contaminar-se. Quan el tub digestiu conté quantitats importants de sòlids o gasos augmenta la probabilitat de ferides i perforacions amb el consegüent risc de contaminació bacteriana de la canal (Chevillon, 1994; Faucitano *et al.*, 2010b; Schoonerwoerd, 1997; Martin-Peláez *et al.*, 2008). Per tant, el dejuni previ al sacrifici facilita també l'eviscerat a l'escorxador, reduint així el decòmís de canals per contaminació microbiològica procedent del contingut gastrointestinal en el cas de perforacions de l'aparell digestiu (Eikelenboom *et al.*, 1991; Miller *et al.*, 1997; Morrow *et al.*, 2002).

- Qualitat tecnològica de la carn. Diversos autors han relacionat el temps de dejuni amb una reducció de la incidència de carns PSE (Lopez-Bote, 2001; Murray & Jones, 1994) i amb un augment de la incidència de carns DFD (Gregory, 1998). Sterten et al. (2009) van suggerir que un dejuni molt prolongat (26,5h) pot provocar deshidratació, fet que explicaria l'obtenció de pèrdues per degoteig baixes. Altres autors, però, publiquen un baix impacte o un impacte nul sobre la qualitat de la carn (Beattie et al., 2002; De Smet et al., 1996; Morrow et al., 2002; Murray et al., 2001).
- Implicacions sobre el benestar dels animals. Un augment del dejuni també s'ha relacionat amb danys addicionals a la pell dels animals a causa de baralles (Faucitano et al., 2006; Murray & Jones, 1994; Warriss et al., 1998). Però una bona pràctica del dejuni té efectes positius per al benestar dels animals ja que redueix els marejos (Bradshaw et al., 1996; Warriss, 1994) i la mortalitat durant el transport (Averós et al., 2008; Gispert et al., 2000b; Guàrdia et al., 2004, 2005).
- Impacte ambiental. Alguns autors també relacionen el dejuni amb una reducció dels residus a l'escorxador ja que permet que els porcs arribin amb el tracte intestinal buit (Eikelenboom et al., 1991).
- Impacte econòmic. Kephart & Mills (2005) relacionaren el temps de dejuni amb una reducció de les despeses econòmiques pel fet d'estalviar pinso.

A la bibliografia es poden trobar diferents períodes recomanats de dejuni segons les condicions experimentals i el motiu pel qual s'aplica. La taula I.5-1 recull aquestes recomanacions. Tot i que des del punt de vista del benestar animal Brown et al. (1999) recomana que el dejuni sigui inferior a 1h, la majoria d'estudis recomanen que el dejuni sigui superior a les 12h (sense especificar si aquest es realitza a la granja o és el temps total de dejuni fins que l'animal és sacrificat). Warriss (1994, 1998) distingeix precisament entre període de dejuni previ al transport i el període de dejuni total. Especifica que el dejuni sigui superior a 4h abans del transport Warriss (1994, 1998), i que per evitar pèrdues econòmiques, el dejuni total sigui com a màxim de 18h abans de la mort de l'animal (Warriss, 1998). La majoria d'estudis, però, recomanen un temps màxim de 24h de retirada d'aliment. Com a excepció, Leheska et al. (2002) distingeix períodes de dejuni segons la distància entre la granja i l'escorxador. Suggereix que productors situats a 1h de l'escorxador poden beneficiar-se del dejuni per millorar la qualitat de la carn, mentre que productors situats a més distància no necessitarien dejunar els animals ja que el propi transport permetria obtenir els mateixos resultats.

5.2 Temps d'espera

El tractament adequat dels animals a l'escorxador pot reduir considerablement la incidència de carns PSE (Barbut *et al.*, 2008). Aquestes pràctiques inclouen el temps d'espera a l'escorxador el qual proporciona una reserva d'animals a la línia de l'escorxador que permet l'adaptació a les variacions als horaris d'arribada d'animals, i en segon lloc però no menys important, permet que els animals reposin i es recuperin d'un transport sovint estressant (Grandin, 1994; Nanni Costa *et al.*, 2002; Pérez *et al.*, 2002; Warris, 2003), i per tant, també té implicacions positives pel que fa al benestar dels animals i la qualitat de la carn (Warris, 2003). Actualment es considera que els porcs no s'han de sacrificar en condicions d'estrès, i s'accepta que el propi maneig previ a l'arribada dels porcs a l'escorxador és estressant. A més, s'accepta que segons el patró normal de conducta a l'arribar a l'escorxador, els porcs arriben a una situació de calma a les 2-3h després de l'arribada (Honkavaara, 1989). Si s'aconsegueix manipular i transportar els animals en condicions d'estrès mínimes, l'espera a l'escorxador no millora la qualitat de la carn i per tant, alguns autors defensen que en el cas que els porcs hagin estat manipulats en condicions no hi ha necessitat de deixar-los temps per recuperar-se a l'escorxador (Aaslyng *et al.*, 2001; Warris *et al.*, 2003).

Les recomanacions pel que fa al temps d'espera ideal varien segons els estudis, i existeix certa discrepància en el període òptim (vegeu Taula I.5-1). La majoria d'ells suggereixen períodes de 0 a 6h, argumentant qüestions relacionades amb el benestar dels porcs (Grandin, 1998; De Smet *et al.*, 1996). Altres però, parlen del seu potencial efecte sobre la qualitat de la carn, principalment el color anormal, la capacitat de retenció d'aigua, la incidència de PSE i DFD, i la presència de danys a la pell per la barreja d'animals. Nanni Costa *et al.* (2002) trobaren que d'entre tots els factors previs al sacrifici estudiats (gen RYR1, mètode de càrrega, situació dels animals i la densitat dins el camió) el temps d'espera era aquell que més afectava la qualitat de la carn, de manera que a l'augmentar el temps d'espera disminuïa la proporció de carn PSE. També es distingeix l'estació de l'any, de manera que a l'hivern el període de repòs podria ser inferior a les 2h i es recomana que a l'estiu aquest període s'allargui fins a les 4h (Van de Perre *et al.*, 2010).

Taula I.5-1. Temps de dejuni i d'espera recomanats segons diferents estudis.

Estudi	Durada de dejuni recomanada	Durada d'espera recomanada
<i>Aaslyng & Barton Gade., 2001</i>		0h (si les condicions prèvies al sacrifici són de mínim estrès)
<i>Beattie et al., 2002</i>	~12h	
<i>Bertol et al., 2005</i>	24h (Disminució del potencial glicolític i possible millora color i CRA)	
<i>Brown et al., 1999</i>	< 1h (punt de vista de benestar animal)	
<i>Chevillon, 1994</i>	12-18h	
<i>De Smet et al., 1996</i>	Tota la nit (↑a*; ↓ duresa instrumental)	2-6h
<i>Eikelenboom et al., 1991</i>	16-24h	
<i>Fischer et al., 1988</i>		Fins a 72h (dejuni + espera) (No redueix PSE però ↑ DFD)
<i>Geverink et al., 1996</i>		0h (punt de vista de benestar animal)
<i>Gispert et al., 1996</i>	12-18h	
<i>Gispert et al., 2000b</i>	12-18h	
<i>Guàrdia et al., 2004</i>	18-20h	
<i>Guàrdia et al., 2005</i>	18-20h	
<i>Grandin, 1994</i>		2-4h
<i>Kephard & Mills, 2005</i>	16-24h (↓ pes vísceres)	
<i>Murray & Jones, 1994</i>	24h	
<i>Murray et al., 2001</i>	15h	2h
<i>Nanni Costa et al., 2002</i>		2-22h (↓ % PSE ; = % DFD)
<i>Leheska et al., 2002</i>	2h (si granja i escorxador són a menys d'1h) 0h (si granja i escorxador són lluny)	
<i>Pérez et al., 2002</i>		2-4h
<i>Santos et al., 1997</i>		2-3h (porcs susceptibles a l'estrès, a temperatures moderades) 0h (a temperatures elevades)
<i>Sterten et al., 2009</i>	26,5h (↓ driploss; ↓ L*; ↑ tendresa)	
<i>Van de Perre et al. (2010)</i>		2-4h (a l'estiu) ↓ % PSE <2h (a l'hivern) ↓ % PSE
<i>Warriss et al., 1992</i>		2-3h
<i>Warriss et al., 1998</i>		1-3h
<i>Warriss, 1982</i>	Max. 18h (per evitar pèrdues econòmiques)	
<i>Warriss, 1994</i>	4-12h (abans transport) 8-18h (abans sacrifici)	8-28h
<i>Warriss et al., 2003</i>		2h
<i>Young et al., 2009</i>		1-3h

PSE: pàl·lida, tova i exsudativa; DFD: fosca, ferma i seca; CRA: capacitat de retenció d'aigua.

Tanmateix, un repòs excessiu també pot augmentar de manera important els danys a la pell de la part posterior de la canal dels animals – relacionat amb baralles (Brown *et al.*, 1999; Faucitano, 2001)– implicant possibles pèrdues econòmiques per la devaluació de la canal especialment per a producció de pernil curat (Nanni Costa *et al.*, 2002). En un estudi de Pérez *et al.* (2002) es varen observar danys a la pell a partir de les 9h d’espera. Un temps d’espera excessiu també tendeix a augmentar el percentatge de carns DFD (Fernandez, *et al.*, 1991; Pérez *et al.*, 2002; Warriss *et al.*, 1998), tot i que no tots els estudis obtenen les mateixes conclusions. Segons els resultats de Nanni Costa *et al.* (2002), el fet d’augmentar fins a 22h l’espera (33h de dejuni en total) no originaria una major proporció de canals DFD respecte els animals sotmesos a 2h d’espera.

5.3 Utilització de suplementes de magnesi i/o triptòfan

Anys enrere, una de les pràctiques realitzades per part dels ramaders per tal de reduir l’estrès dels porcs des de la granja a l’escorxador era la injecció de tranquil·litzants farmacològics. Però a causa del possible risc de la presència de residus d’aquests compostos a la carn destinada al consum humà, alguns d’aquests sedants van ser prohibits (Reial Decret 1135/2002). Per tant, va sorgir la necessitat de trobar alternatives per ajudar a pal·liar els efectes negatius del maneig abans del sacrifici. Una de les possibles solucions és la utilització d’additius alimentaris, afegits al pinso o a l’aigua de beguda (Frederick *et al.*, 2003a i b; Frederick *et al.*, 2004; Swigert *et al.*, 2004) per tal de calmar els porcs i repercutir així positivament en el benestar animal i en la qualitat tecnològica final de la carn.

5.3.1 Utilització de suplementes de magnesi a la dieta

El magnesi és un catió divalent que actua com a cofactor essencial en molts sistemes enzimàtics i metabòlics (Heaton, 1990). Intervé en processos bioquímics primitius com la fotosíntesi i adhesió cel·lular; actua com a regulador de l’estructura del ribosoma, en el transport de membrana, síntesi de proteïnes i àcids nucleics; generació i transmissió de l’impuls nerviós, contracció muscular i cardíaca així com en la fosforilació oxidativa (Aranda *et al.*, 2000). Les funcions bioquímiques del Mg poden resumir-se en:

- Síntesi i utilització de compostos rics en energia (ATP, fosfocreatina, fosfoenol piruvat, acil-CoA o succinil-CoA), de transportadors de protons i electrons (NAD, NADP, FMN i FAD), i de molts enzims.

- Element estabilitzant de la membrana cel·lular i de nombroses proteïnes i àcids nucleics intracel·lulars.
- Regulador de canals iònics.
- Intervé en la transmissió nerviosa, la contracció muscular, el transport de potassi i els canals de calci.

El 99% del Mg es troba als ossos o a l'espai intracel·lular. La renovació del Mg ossi és molt lenta de manera que els requeriments d'aquest catió depenen de l'equilibri entre l'absorció intestinal i l'excreció renal. Per tant, el ronyó juga un paper important en el balanç d'aquest element. Actualment s'admet l'existència de dos sistemes de transport intestinal per aquest catió, un a través d'un transportador i saturable a baixes concentracions (2-4mEq/l) i una difusió simple que té lloc a concentracions elevades (MacIntyre & Robinson, 1969; Shills, 1988).

El 90% del Mg ingerit s'absorbeix principalment a l'intestí prim (Partridge, 1978). En condicions normals el Mg s'absorbeix en una proporció que oscil·la entre el 45 i el 70%. Tanmateix, substàncies com els àcids grassos i les sals biliars així com el calci, el fosfat i el citrat disminueixen la seva absorció perquè formen compostos insolubles amb aquest catió. Alhora, un altre factor molt important a tenir en compte és l'equilibri àcid base, ja que en els casos d'acidosi l'absorció de Mg augmenta (Aranda *et al.*, 2000). Un cop absorbit, aquest ió és transportat als diferents teixits, majoritàriament el teixit ossi, però també al teixit muscular.

En situacions d'estrès, l'animal allibera hormones (catecolamines) que estimulen la glucogenòlisi, de manera pot causar un esgotament de les reserves de glucogen i per tant, disminueix el pH de la carn i la capacitat de retenció d'aigua. Diversos estudis han demostrat que el magnesi podria provocar la disminució de la secreció de catecolamines (D'Souza *et al.*, 1998b) i així es disminuiria la velocitat de la glucogenòlisi i per tant, s'evitaria l'esgotament ràpid de glucogen. Així, un suplement de magnesi a la dieta podria evitar la pèrdua de qualitat de la carn dels animals sotmesos a estrès.

En porcs amb elevada sensibilitat a la síndrome de l'estrès porcí el metabolisme *post mortem* muscular és alterat per una mutació al canal d'alliberació de calci de manera que es veu afectada l'estimulació de la contracció-relaxació muscular (Fujii *et al.*, 1991). El Mg té un efecte antagonista del calci que redueix l'estimulació neuromuscular de la contracció del teixit muscular (Classen *et al.*, 1983; Schmitten *et al.*, 1984). Competeix amb el calci pels llocs d'enllaç a les fibres musculars i potencia la circulació

del calci des del sarcoplasma cap el reticle sarcoplasmàtic mitjançant l'activació de la bomba $Mg^{2+} - Ca^{2+}$ ATPasa (Lahucky *et al.*, 2004). Però al mateix temps, evita que aquest torni al sarcoplasma de manera que impedeix que hi hagi calci disponible per la contracció muscular. Així, podria frenar la despesa d'energia (en forma d'ATP) que suposa la contracció muscular i endarrerir l'inici del metabolisme anaerobi.

La utilització de suplementes de Mg a la dieta, ja sigui durant un període llarg (a partir dels 25-30kg de pes viu) com durant els últims 2-5 dies previs al sacrifici de l'animal, pot millorar tant la qualitat de la canal com el guany mig diari (GMD ó ADG), el rendiment, el percentatge de magre i la profunditat del múscul LT (Caine *et al.*, 2000). Així mateix, una suplementació de magnesi pot tenir efectes sobre la qualitat de la carn, com el pH muscular, la capacitat de retenció d'aigua, el color i sobre la textura, així com efectes sobre la incidència de carns PSE (vegeu Taula I.5-2).

La suplementació amb magnesi s'ha estudiat tant en forma sòlida, barrejat amb el pinso (D'Souza *et al.*, 1998b, 1999, 2000, 2002a; Lahucky *et al.*, 2004; Otten *et al.*, 1992), com en forma líquida barrejat amb l'aigua de beguda (Frederick *et al.*, 2003a i b, Frederick *et al.*, 2004, 2006; Peeters *et al.*, 2005; Swigert *et al.*, 2004) o bé per injecció intramuscular (Shaefer *et al.*, 1993). També s'ha estudiat l'efectivitat de diferents compostos químics de magnesi així com diferents dosis diàries (Schaefer *et al.*, 1993; D'Souza *et al.*, 1999, 2000; Hamilton *et al.*, 2003) i diferents temps de suplementació (D'Souza *et al.*, 2000; Hamilton *et al.*, 2002., 2003; Frederick *et al.*, 2003a i b).

Molts autors han estudiat l'efecte de la suplementació de magnesi sobre la qualitat de la carn de porc en una situació d'estrès agut abans del sacrifici. Els resultats, però, són contradictoris i no concloents (Apple, *et al.*, 2000, 2001; Caine, *et al.*, 2000; D'Souza, *et al.* 1998b; 1999 i 2002b, Hamilton, *et al.*, 2002; O'Quinn, *et al.*, 2000). Per altra banda, existeixen certes discrepàncies pel que fa a l'efecte d'aquest tranquil·litzant en animals portadors o lliures del gen de l'halotà (Apple *et al.*, 2000; Caine *et al.*, 2000).

Taula I.5-2. Taula resum dels efectes la suplementació durant els últims dies abans del sacrifici de diferents fonts de magnesi sobre la qualitat tecnològica de la carn.

Font de magnesi	Descripció	Referències	Descripció del tractament
Aspartat de magnesi	↑ CRA Millora color carn ↓ % PSE	<i>Caine et al., 2000</i> <i>D'Souza et al., 1999</i> <i>D'Souza et al., 1998c</i> <i>Schaefer et al., 1993</i> <i>D'Souza et al., 2000</i> <i>D'Souza et al., 2002a</i> <i>D'Souza et al., 2002b</i>	7d o 43d; sòlid 5d; sòlid 5d; sòlid 5d o injecció intramuscular; sòlid 2d, 5d; sòlid 2 o 5d; sòlid 10 d; sòlid
MgAspHCl	↑ CRA Millora color carn ↑ agressions en NN ↑ % PSE en Nn	<i>Caine et al., 2000</i>	7d o 43d; sòlid
Propionat de Mg	= CRA, pHu, a* i pèrdues per coccíó	<i>Hamilton et al., 2003</i>	1d, 2d, 5d; sòlid
Proteinat de Mg	= CRA, pHu, a* i pèrdues per coccíó	<i>Hamilton et al., 2003</i>	1d, 2d, 5d; sòlid
Acetat de Mg	↓ L*	<i>Geesink et al., 2004</i>	5d; sòlid
MgSO ₄	↓ L* i ↑ a*	<i>Niemack et al., 1979</i> <i>D'Souza et al., 2000</i> <i>Hamilton et al., 2003</i> <i>Frederick et al., 2004</i> <i>Frederick et al., 2006</i>	Minimitza efecte de l'estrès Font de Mg econòmica Millora CRA i L*
MgCl ₂	Minimitza efecte de l'estrès Font de Mg econòmica	<i>Niemack et al., 1979</i> <i>D'Souza et al., 1999</i>	2d, 5d; sòlid 1d, 2d, 5d; sòlid 0d, 2d, 4d, 6d; líquid 0d, 2d; líquid
MgO	↑ pHu i ↓ pèrdues per degoteig en NN i Nn	<i>Lahucky et al., 2004</i>	5d; sòlid

CRA: Capacitat de retenció d'aigua; PSE: carn pàl·lida, tova i exsudativa; NN: animals halotà negatius; Nn: animals heterozigots del gen RYR1; pHu: pH mesurat a les 24h *post mortem*; a*: paràmetre del sistema CIE-Lab que indica la 'tendència al vermell'; L*: paràmetre del sistema CIE-Lab que indica la lluminositat.

5.3.2 *Utilització de suplementes de triptòfan a la dieta*

El triptòfan (Trp) és un aminoàcid aromàtic essencial (Figura I.5-1) que no només intervé en la síntesi proteica sinó que també té un paper important com a precursor de neurotransmissors i hormones (serotonina, melatonina, triptamina, i també NAD, NADP,...) que participen en la regulació del comportament animal (Sainio *et al.*, 1996). Una petita part del triptòfan actua al cervell com a precursor de la serotonina (neurotransmissor i vasoconstrictor), i aquesta alhora com a precursora de la melatonina.

En el cervell, la serotonina és sintetitzada a partir del Trp mitjançant una hidroxilació intermèdia amb l'enzim triptòfan 5-monooxigenasa formant 5-hidroxitriptòfan, seguit d'una decarboxilació a 5-hidroxitriptamina (o serotonina). El pas intermediari és el pas limitant per a la síntesi de la serotonina (Leathwood, 1987). Per tal de tenir Trp disponible al cervell, fa falta que aquest sigui absorbit a nivell intestinal entrant així al torrent sanguini, i una vegada allà, és necessari que creui la barrera hematoencefàlica per arribar finalment al cervell (Figura I.5-2). El transport del Trp a través de les membranes cel·lulars (tan a nivell intestinal com al cervell) competeix amb el transport dels aminoàcids neutres d'alt pes molecular (LNAA: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina i tirosina), i és la proporció Trp:LNAA aquella que determina l'entrada de Trp al plasma i la consegüent repercussió en la síntesi de serotonina a l'hipotàlem (Leathwood, 1987; Guzik, 2002).

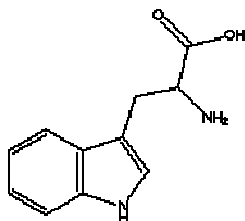


Figura I.5-1. Estructura química del triptòfan.

La serotonina influeix en la regulació de la temperatura corporal, excitació, sensibilitat al dolor, comportament sexual, comportament alimentari i agressivitat (Leathwood, 1987). Diversos estudis han demostrat que en situacions estressants els animals mostren una concentració inferior de catecolamines (serotonina, adrenalina i noradrenalina) a l'hipotàlem (Adeola & Ball, 1992; Henry *et al.*, 1996), de manera que augmentant la

concentració de serotonina es podria pal·liar la resposta dels porcs davant aquest tipus de situacions (Adeola & Ball, 1992).

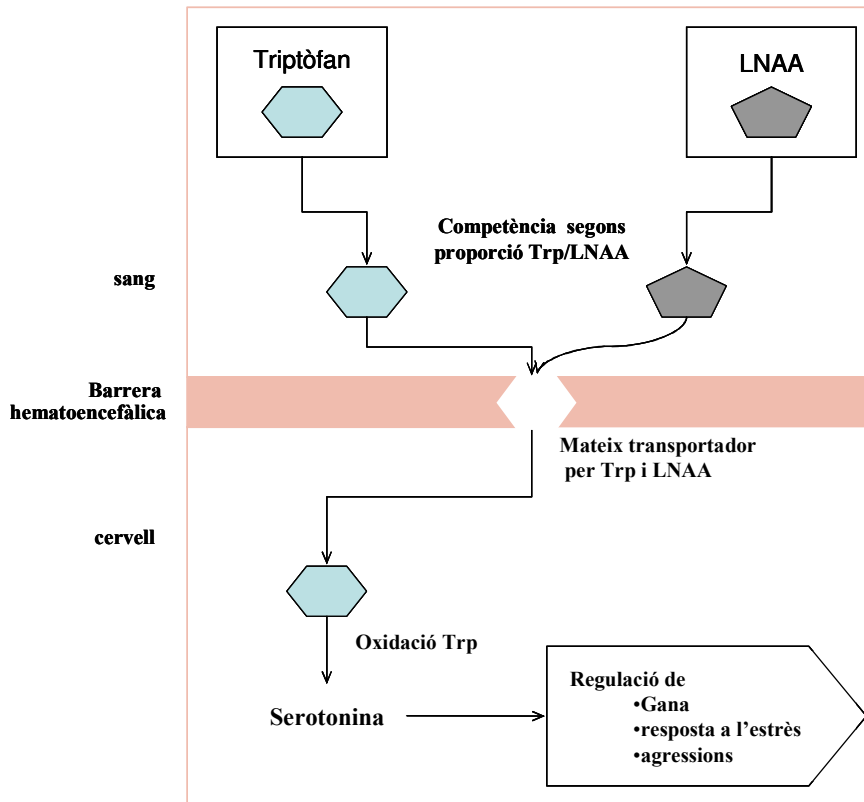


Figura I.5-2. Transport del Trp a través de la barrera hematoencefàlica i competència amb els aminoàcids de cadena llarga (LNAA) (Adaptat de Leathwood, 1987).

Pel fet que la serotonina no pot creuar la barrera hematoencefàlica, l'única manera d'augmentar-ne la seva concentració és modificant la concentració dels seus precursors, 5-hidroxitriptòfan o el mateix triptòfan, per exemple, a través de la dieta. Per tant, el Trp té un potencial efecte sobre alguns comportaments com les agressions, la ingesta d'aliments i l'estrès (Guzik, 2002).

La melatonina, per la seva banda, és una neurohormona sintetitzada a partir de la serotonina. Està relacionada amb la regulació del cicle de la son (Lydic & Baghdoyan, 1999). La seva producció augmenta fins a 10 vegades durant la nit.

L'objectiu de la incorporació de Trp a la dieta és comprovar el seu efecte sobre el comportament i la qualitat tecnològica de la carn dels animals. No obstant això, alguns estudis mostren que la degradació anaeròbia del Trp a l'intestí per part de bacteries

làcties es produeix, entre altres compostos, l'escatol (Jensen *et al.*, 1995). Aquest, juntament amb l'androstenona, és un dels principals compostos responsables de l'olor sexual de la carn de porc i a certs nivells pot disminuir l'acceptabilitat de la carn per part dels consumidors (Annor-Frempong *et al.*, 1997; Hansson *et al.*, 1980; Font i Furnols, 2000). La biosíntesi d'aquest té lloc en un procés de dues etapes on es transforma en primer lloc a àcid 3-indolacètic i posteriorment a escatol (3-metil indol, Figura I.5-3). Aquesta reacció és duta a terme per bacteris, del gènere *Lactobacillus sp.*, de manera que la producció d'escatol dependrà en primer lloc de la disponibilitat del Trp (procedent de la dieta) i també de l'activitat de les bacteries intestinals (Jensen & Jensen, 1998). Aquesta substància s'absorbeix a nivell intestinal i es distribueix al teixit adipós, on s'emmagatzema. Una part de l'escatol es degrada al fetge o bé als pulmons mentre que una altra part és excretada pels ronyons via orina (Hansen-Møller & Kjeldsen, 1998). A més de ser absorbit a través de l'intestí, l'escatol també és present a la femta, i pot ser absorbit a través de la pell de manera que un contacte constant amb la femta pot provocar també olor sexual fins i tot en femelles (Nonboe, 1991). Mostres de greix amb continguts elevats d'escatol produeixen olors fecals a l'escalfar-les, constituint el que s'anomena olor sexual o *boar taint*.

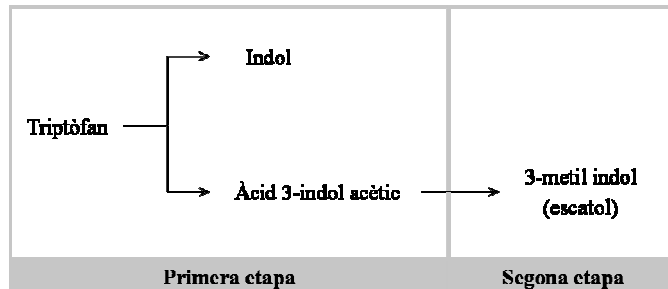


Figura I.5-3. Etapes de formació de l'escatol a partir de l'aminoàcid triptòfan (Jensen & Jensen, 1998).

Al contrari del cas del Mg, existeixen pocs estudis que es centrin en la suplementació de Trp durant un període de temps curt abans del sacrifici amb l'objectiu de millorar la qualitat de la carn (Taula 1.5-3). Possiblement, pel fet de ser un aminoàcid que pot modificar la producció de serotonina al cervell, la major part dels treballs estudien l'efecte d'aquests aminoàcids sobre el comportament i l'eficiència productiva. Alguns autors han estudiat l'efecte de la ingesta de Trp sobre el consum de pinso, el comportament dels animals, així com el guany mig de pes diari (ADG), ingesta diària mitjana (ADFI) i percentatge de magre (Henry, 1995; Henry *et al.*, 1996; Koopmans *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006; Peeters *et al.*, 2004). Tanmateix, alguns treballs també

presenten resultats de qualitat de la carn, demostrant que la suplementació de Trp durant els dies previs al sacrifici podria afectar positivament la qualitat de la carn (Henry *et al.*, 1996) disminuint la incidència de carns PSE (Adeola & Ball, 1992; Henry *et al.*, 1996). Això no obstant, treballs més recents mostren resultats contradictoris amb els esmentats. Així, Guzik *et al.* (2002) van concloure que un tractament amb Trp podria, fins i tot, empitjorar la qualitat de la carn produint carn més pàl·lida i més exsudativa, mentre que Li *et al.* (2006) no va observar cap efecte de la suplementació amb Trp durant 7 dies sobre la qualitat de la carn.

Taula I.5-3. Estudis que evidencien l'efecte de l'adició durant pocs dies de suplementes de triptòfan a la dieta sobre la qualitat de la canal i de la carn.

Autor	Compost i durada tractament	Sexe	Activitat animals	Rdt	% magre	pH45	pHu	PSE	Pèrdues per degoteig	L*	a*
Adeola & Ball., 1992 (exp1)	Trp i Tyr, 5d	MC, F		C=Trp	C=Trp			↓			
Adeola & Ball., 1992 (exp2)	Trp i Tyr, 5d	MC, F		↑TYR	↑TYR		=	↓			
Guzik (cap6), 2002	Trp, 5d	MC									
Guzik (cap6), 2002	Trp, 5d	MC									
Guzik (cap6), 2002	Trp,2h (bolus), 5d	MC				↑ o ↓			↑	↑ o ↓	↑
Henry <i>et al.</i> , 1995	L-Trp,										
Li <i>et al.</i> , 2006 (exp1)	Trp, 7d	MC, F	↓ Trp								
Li <i>et al.</i> , 2006 (exp2)	Trp, 7d	MC, F									
Li <i>et al.</i> , 2006 (exp3)	Trp, 7d	MC, F					=		=	=	=
Peeters <i>et al.</i> , 2004	trp, vitE, herbal products, 3d		↓ Trp								
Sainio <i>et al.</i> , 1996	Trp										
Séve <i>et al.</i> , 1991	Trp										

Rdt: rendiment; pH45: pH mesurat als 45 min *post mortem*; pHu: pH mesurat a 24h *post mortem*; PSE: carn pàl·lida, tova i exsudativa; L* paràmetre del sistema CIE-Lab que indica la lluminositat de la carn; a* paràmetre del sistema CIE-Lab que indica la 'tendència al vermell'; MC muscle castrat; M muscle enter, F femella;

6 Bibliografia

- Aaslyng, M.D., Barton Gade, P., 2001. Low stress pre-slaughter handling: effect of lairage time on the meat quality of pork. *Meat Sci.* 57, 87-92.
- Adeola, O., Ball, R.O., 1992. Hypothalamic Neurotransmitter Concentrations and meat quality in stressed pigs offered excess dietary tryptophan and tyrosine. *J. Anim. Sci.* 70, 1888-1894.
- Àlvarez, C., Torre Saez de Argadoá, A.I., 1996. La conductividad eléctrica como sistema de detección de carnes de baja calidad en el proceso de elaboración del jamón cocido. *Eurocarne* 50, 1-11.
- Álvarez, D., Garrido, M.D., Bañon, S., 2009. Influence of pre-slaughter process on pork quality: An overview. *Food Rev. Int.* 25, 233-250.
- Annor-Frempong, I., Nute, G.R., Whittington, F.W., Wood, J.D., 1997. The problem of taint in pork-II. The influence of skatole, androstenone and indole, presented individually and in combination in a model lipid base, on odour perception. *Meat Sci.* 47, 49-61.
- Anonim, 1997. Tratado de Amsterdam por el que se modifican el tratado de la Unión Europea, los tratados constitutivos de las Comunidades Europeas y determinados actos conexos, *Diari Oficial*, 340, available at <http://eur-lex.europa.eu/en/treaties/dat/11997D/htm/11997D.html> (última visita 5 Abril 2009).
- Anonim, 2007. Tratado de Lisboa por el que se modifican el Tratado de la Unión Europea y el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea, *Diari oficial*, C 306, available at <http://eur-lex.europa.eu/JOHtml.do?uri=OJ:C:2007:306:SOM:ES:HTML> (última visita 5 Abril 2009).
- Apple, J.K., Maxwell, C.V., de Rodas, B., Watson, H.B., Johnson, Z.B., 2000. Effect of magnesium mica on performance and carcass quality of growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 78, 2135-2143.
- Apple, J.K., Maxwell, C.V., Stivarius, M.R., Rakes, L.K., Johnson, Z.B., 2001. Effects of dietary magnesium and halothane genotype on performance and carcass traits of growing-finishing swine. *Livest. Prod. Sci.* 76, 103-113.

- Aranda, P., Planells, E., Llopis, J., 2000. Magnesio. Scientific Communication: art o Technique? *Ars Pharmaceutica* 41(1), 91-100.
- Averós, X., Knowles, T.G., Brown, S.N., Warriss, P.D., Gonsálvez, L.F., 2008. Factors affecting the mortality of pigs being transported to slaughter. *Vet. Rec.* 163, 386-390.
- Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Huff-Lonergan, E., Wilson, E.W., 2008. Progress in reducing pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Sci.* 79, 46-63.
- Barton-Gade, P., Warriss, P.D., Brown, S.N., Lambooi, B., 1995. Methods of improving pig welfare and meat quality by reducing stress and discomfort before slaughter– methods of assessing meat quality. In Proceedings of the EU-Seminar ‘New information on welfare and meat quality of pigs as related to handling, transport and lairage conditions, 29-30 June, 23-34.
- Beattie, V.E., Burrows, M.S., Moss, B.W., Weatherup, R.N., 2002. The effect of food deprivation prior to slaughter on performance, behaviour and meat quality. *Meat Sci.* 62, 413-418.
- Berends, B.R., Urlings, H.A.P., Snijders, J.M.A., van Knapen, F., 1996. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *Int. J. Food Microbiol.* 30, 37–53.
- Bertol, T.M., Ellis, M., Ritter, M.J., McKeith, F.K., 2005. Effect of feed withdrawal and handling intensity on *Longissimus* muscle glycolytic potential and blood measurements in slaughter weight pigs. *J. Anim. Sci.* 83, 1536-1542.
- Bowker, B.C., Grant, A.L., Forrest, J.C., Gerrard, D.E., 2000. Muscle metabolism and PSE pork. Proceedings of the American Society of Animal Science, Purdue University, USA.
- Bradshaw, R.H., Parrott, R.F., Goode, J.A., Lloyd, D.M., Rodway, R.G., Broom, D.M., 1996. Behavioural and hormonal responses of pigs during transport: effect of mixing and duration of journey. *Anim. Sci.* 62, 547-554.
- Briskey, E.J., 1964. The etiological status and associated studies of pale, soft, exudative porcine musculature. *Advances in food research* (Vol. 13, pp. 89-178). New York: Academic Press.

- Briskey, E.J., Wismer-Pedersen, J., 1961. Biochemistry of pork muscle structure. I. Rate of anaerobic glycolysis and temperature change versus the apparent structure of muscle tissue. *J. Food Sci.* 26, 297-305.
- Broom, D.M., 1986. Indicators of poor welfare. *Br. Vet. J.* 142, 524-526.
- Brown, S.N., Knowles, T.G., Edwards, J.E., Warris, P.D., 1999. Behavioural and physiological responses of pigs to being transported for up to 24h followed by six hours recovery in lairage. *Vet. Rec.* 145, 421-426.
- Caine, W.R., Schaefer, L.A., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2000. Behaviour, growth performance and pork quality of pigs differing in porcine stress syndrome genotype receiving dietary magnesium aspartate hydrochloride. *Can. J. Anim. Sci.* 80, 75-182.
- Calvo, J.H., Osta, R., Garcia-Muro, E., Zaragoza, P., 1997. Síndrome del estrés porcino: aplicación y ventajas de la PCR para su diagnóstico. *Med. Vet.* 14, 110-113.
- Cannon, J.E., Morgan, J.B., Heavner, J., McKeith, F.K., Smith, G.C., Meeker, D.L., 1995. Pork Quality Audit: a review of the factors influencing pork quality. *J. Muscle Foods* 6, 369-402.
- Cassens, R.G., Marple, D.N., Eikelenboom, G., 1975. Animal physiology and meat quality. *Adv. Food Res.* 21, 71-155.
- Chevillon, P., 1994. Le contrôle des estomacs de porcs à l'abattoir : miroir de la mise à jeun en élevage. *Techni-Porc* 17, 23-30.
- Classen, H.G., Fischer, G., Moschlin, M., Tilch, C., 1983. Cubic Function between increasing dietary magnesium levels and magnesium concentration of serum and bone in young rats. *Magnesium*, 2, 267-278.
- Cruz, J., 2010. El porcino capea mejor la crisis que otros segmentos del sector cárnico. *Eurocarne*, 187, 37-46.
- Dawkins, M.S., 1990. From a animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behav. Brain Sci.* 13, 1-9.
- De Duve, C., Pressman, B.C., Gianetto, R., Wattiaux, R., Appelmans, F., 1955. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J.* 60, 604-617.

- De Smet, S. M., Pauwels, H., De Bie, S., Demeyer, D. I., Callewier, J., Eeckhout, W., 1996. Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of Belgian Slaughter Pigs. *J. Anim. Sci.* 74, 1854-1863.
- Dekkers, J.C.M., 1999. Optimizing strategies for selection on major genes. Plant and Animal Genome VII held at St Diego, CA, pp. 1-16.
- Driessen, B., Geers, R., 2000. Stress during transport and quality of pork – an European view. Proceedings 1st international virtual conference on pork quality, Concordia, SC, Brazil 39-51.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Dunshea, F.R., Leury, B.J., 1998a. Effect of on-farm and pre-slaughter handling of pigs on meat quality. *Aust. J. Agr. Res.* 49, 1021-1025.
- D'Souza, D. N., Warner, R. D., Leury, B. J., Dunshea, F. R., 1998c. The Effect of Dietary Magnesium Aspartate Supplementation on Pork Quality. *J. Anim. Sci.* 76, 104-109.
- D'Souza, D.N., Dunshea, F.R., Warner, R.D., Lewry, B.J., 1998b. The effect of handling pre-slaughter and carcass processing rate post-slaughter on pork quality. *Meat Sci.* 50(4), 429-437.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Dunshea, F.R., Leury, B.J., 1999. Comparison of different dietary magnesium supplements on pork quality. *Meat Sci.* 51, 221-225.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Leury, B.J., Dunshea, F.R., 2000. The influence of dietary magnesium supplement type, and supplementation dose and duration, on pork quality and the incidence of PSE pork. *Aust. J. Agric. Res.* 51, 185-189.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Leury, B.J., Dunshea, F.R., 2002a. Dietary magnesium supplementation improves pork quality. In: P.D. Cranwell (Editor), *Manipulating pig production VII: proceedings of the Seventh Biennial Conference of Australasian Pig Association (APSA) held in Adelaide, South Australia on November 28 to December 1, 1999.* Australasian Pig Science Association, Werribee, Vic., pp 184.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Leury, B.J., Dunshea, F.R., 2002b. Effect of dietary Magnesium supplementation dose and duration on plasma magnesium levels in pigs. Paper presented at the 48th ICoMST, 25-30 August, Rome, Italy.

- Duncan, I.J.H., Fraser, D., 1997. Understanding animal welfare. M.C. Appleby y B.O. Hughes (Eds.) Animal Welfare. Wallingford: CAB International.
- Dutaud, D., 1998. Quantification et caractérisation du proteasome 20S de muscle de bovin en relation avec l'attendrissage de la viande bovine. PhD thesis, Blaise Pascal University, Clermont-Ferrand, France.
- Eikelenboom, G., Minkema, D., 1974. Prediction of pale, soft, exudative muscle with a non letal tests for the halothane-induced porcine malignant hyperthermia syndrome. *Neth. J. Vet. Sci.* 99, 421.
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A.H., Sybesma, W., 1991. Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. *Meat Sci.* 29, 25-30.
- Etherington, D.J., Taylor, M., Dransfield, E., 1987. Conditioning of meat from different species. Relationship between tenderising and the levels of cathepsin B, cathepsin L, calpain I, Calpain II and b-glucoronidase. *Meat Sci.* 20,1.
- European Commission. 2005. Attitudes of consumers towards the welfare of farmed animals. Brussels: Eurobarometer, 138.
- European Commission, 2007. Attitudes of EU citizens towards animal welfare. Brussels: Eurobarometer, 82.
- European Directive, 93/119/CE relative a la protecció de los animales en el momento de su sacrificio o matanza. Diario Oficial de las Comunidades Europeas de 31 de diciembre de 1993.
- Fàbrega, E., 2002. Efecte del genotip halotà i la línia paterna en el comportament, productivitat, qualitat de canal i carn i benestar animal en porcí. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Biologia Cel·lular, de Fisiologia i d'Immunologia. Barcelona.
- Fàbrega, E., Diestre, A., Carrión, D., Font, J., Manteca, X., 2002. Effect of the halothane gene on pre-slaughter mortality in two Spanish commercial pig abattoirs. *Animal Welfare*, 11, 449-452.
- Faucitano, L., 2000. Effects of preslaughter handling on the pig welfare and its influence on meat quality. I Conferència Virtual Internacional sobre Qualidade de Carne Suina, Via Internet, Embrapa.
- Faucitano, L., 2001. Causes of skin damage to pig carcasses. *Can. Journal of Animal Science*, 81, 39-45.

- Faucitano, L., Saucier, L., Correa, J.A., Méthot, S., Giguère, A., Foury, A., Mormède, P., Bergeron, R., 2006. Effects of feed texture, meal frequency and pre-slaughter fasting on carcass and meat quality, and urinary cortisol in pigs. *Meat Sci.* 74, 697-703.
- Faucitano, L., Chevillon, P., Ellis, M., 2010b. Effects of feedwithdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight and carcass and meat quality in pigs. *Livest. Sci.* 127, 110-114.
- Faucitano, L., Ielo, M.C., Ster, C., Lo Fiego, D.P., Methot, S., Saucier, L., 2010a. Shelf life of pork from five different quality classes. *Meat Sci.* 84, 466-469.
- FAWC, Farm Animal Welfare Council. 1997. Report on the welfare of dairy cattle FAWC, Surbiton, Surrey, Angleterra.
- Fernandez, X., Tornberg, E., 1991. A review of the causes of variation in muscle glycogen content and ultimate pH in pigs. *J. Muscle Foods*, 2, 209-235.
- Fischer, K., Augustini, C., McCormick, R., 1988. Effect of fasting time before slaughter on the quality of pigmeat. *Fleisch.* 68, 485-488.
- Flores, M., Armero, E., Aristoy, M.C., Toldrà, F., 1999. Sensory characteristics of cooked pork loin as affected by nucleotide content and *post mortem* meat quality. *Meat Sci.* 51, 53-59.
- Font i Furnols, M., 2000. Utilització de mascles enters per a la producció de carn: anàlisi sensorial i estudis de consumidors. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya. Departament d'estadística i Investigació Operativa. Barcelona.
- Fraser, A.F., Broom, D.M., 1990. Farm animal behaviour and welfare. CABI Publishing, CAB International, Wallingford.
- Fraser, D., Ritchie, J.S.D., Fraser, A.F., 1975. The term 'stress' in a veterinary context. *Br. Vet. J.* 131, 653-662.
- Frederick, B., van Heugten, E., See, M.T., 2003a. Oxidative stability and quality of stored pork from pigs receiving magnesium supplementation through drinking water. (Annual Swine Report 2003). North Carolina: College of Agriculture and Life Sciences.

- Frederick, B., van Heugten, E., See, M.T., 2003b. Timing of magnesium supplementation through drinking water to improve fresh pork quality. (Annual Swine Report 2003). North Carolina: College of Agriculture and Life Sciences.
- Frederick, B., van Heugten, E., See, M.T., 2004. Timing of magnesium supplementation administered through drinking water to improve fresh and stored pork quality. *J. Anim. Sci.* 82, 1454-1460.
- Frederick, B., van Heugten, E., Hanson, DJ., See, MT., 2006. Effects of supplemental magnesium concentration of drinking water on pork quality. *J. Anim. Sci.* 84, 185-190.
- Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., Leon, S.D., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P.J., Maclennan, D.H., 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* 253, 448-451.
- Geesink, G.H., van Buren, R.G.C., Savenije, B., Verstegen, M.W.A., Ducro, B.J., van der Palen, J.G.P., 2004. Short-term feeding strategies and pork quality. *Meat Sci.* 67, 1-6.
- Geverink, N.A., Engel, B., Lambooi, E., Wiegant, V.M., 1996. Observations on behaviour and skin damage of slaughter pigs and treatment during lairage. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 50, 1-13.
- Gispert, M., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 1996. La mortalidad durante el transporte y la espera en porcinos destinados al sacrificio. *Eurocarne* 45, 73-79.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggins, K., Harvey, K., Diestre, A., 2000b. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.* 55(1), 97-106.
- Gispert, M., Guàrdia, M.D., Diestre, A. 2000a. La calidad de la carne porcina. *Anaporc* 200, 76-80.
- Goodband, B., De Rouchey, J., Tokach, M., Dritz M., S., Nelssen, J., 2006. A practical look at nutritional attempts to improve pork quality. London Swine Conference – Thinking Globally, Acting Locally. 5-6 April 2006.
- Grandin, T., 1980. The effect of stress on livestock and meat quality prior to and during slaughter: review article. *Int. J. Stud. Anim. Prob.* 1(5), 313-337.

- Grandin, T., 1994. Farm animal welfare during handling, transport and slaughter. *J. Am. Med. Assoc.*, 204, 372-377.
- Grandin, T., 1998. Solving Livestock Handling Problems in Slaughter Plants. In: *Animal Welfare and Meat Sci.* Gregory, N.G. (Eds) CAB International, Wallingford, pp. 42-63.
- Greenberg, N., Carr, J.A., Summers, C.H., 2002. Causes and consequences of stress. *Integr. Comp. Biol.* 42, 508-516.
- Gregory, N.G., 1998. *Animal Welfare and Meat Science.* CAB International, Wallingford, pp. 165-191.
- Guàrdia, M.D., Estany, J., Balash, S., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 2004. Risk assessment of PSE condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Sci.* 67, 471-478.
- Guàrdia, M.D., Estany, J., Balash, S., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 2005. Risk assessment of DFD condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Sci.* 70, 709-716.
- Guàrdia, M^a.D., 2002. Influència del Maneig *ante mortem* i de la sensibilitat genètica a l'estrès sobre la qualitat i el benestar en bestiar porcí. Tesi doctoral. Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida. Espanya.
- Guroff, G., 1964. A neutral, calcium-activated proteinase from the soluble fraction of rat brain. *J. Biol. Chem.* 239, 149-155.
- Guyton, A.C., 2001. *Tratado de fisiología médica* (Eds. A.C. Guyton, J.E. Hall. Pie Impren México: McGraw-Hill Interamericana.
- Guzik, A.C., 2002. Tryptophan requirements and the effects of supplemental tryptophan on growth performance, plasma metabolites, and meat quality in nursery, growing and finishing pigs. The Department of Animal Science. Louisiana, Louisiana State University, 115.
- Hambrecht, E., Eissen, J.J., Newman, D.J., Smits, C.H.M., den Hartog, L.A., Verstegen, M.W.A., 2005. Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are agravated by suboptimal transport and lairage conditions. *J. Anim. Sci.* 83, 440-448.

- Hamilton, D.N., Ellis, M., Hemann, M.D., McKeith, F.K., Miller, K.D., Purser, K.W., 2002. The impact of *Longissimus* glycolytic potential and short-term feeding of magnesium sulfate heptahydrate prior to slaughter on carcass characteristics and pork quality. *J. Anim. Sci.* 80, 1586-1592.
- Hamilton, D.N., Ellis, M., McKeith, F.K., Eggert, J.M., 2003. Effect of level, source, and time of feeding prior to slaughter of supplementary dietary magnesium on pork quality. *Meat Sci.* 65, 853-857.
- Hamm, R., 1960. Biochemistry of meat hydration. *Adv. Food Res.* 10, 355-463.
- Hansen-Møller, J., Kjeldsen, N.J., 1998. Introduction to Danish research on boar taint. In: Jensen, W.K. (Ed.), *Skatole and Boar Taint*. Roskilde, Denmark: Danish Meat Research Institute, 41-75.
- Hanson, K.E., Lundström, K., Fjelkner-Modig, S., Persson, J., 1980. The importance of androstenone and skatole for boar taint. *Swed. J. Agr. Res.* 10, 167-173.
- Heaton, F.W., 1990. Role of magnesium in enzyme systems. In H. Sigel and A. Sigel. *Metal ions in biological systems* (pp. 119-133). New York: Marcel Dekker.
- Henry, Y., 1995. Effects of dietary tryptophan deficiency in finishing pigs, according to age or weight at slaughter or live weight gain. *Livest. Prod. Sci.* 41, 63-76.
- Henry, Y., Sève, B., Mounier, A., Ganier, P., 1996. Growth Performance and Brain Neurotransmitters in Pigs as Affected by Tryptophan, Protein and Sex. *J. Anim. Sci.* 74, 2700-2710.
- Hofmann, K., 1988. pH. A quality criterion for meat, *Fleisch.* 68(1), 67-70.
- Hofmann, K., 1994. What is meat quality? Definition, measurement, and evaluation of meat quality. *Meat Focus International*, February, 73-81.
- Honkavaara, M., 1988. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. *Meat Sci.* 24, 201-207.
- Hughes, B.D., 1976. Behavior as an index of welfare. In *Proceedings 5th European Poultry Conference*, Malta, pp. 1005-1012.
- Jensen, M.T., Cox, R.P., Jensen, B.B., 1995. 3-Methylindole (skatole) and indole production by mixed populations of pig faecal bacteria. *Appl. Environ. Microb.* 61, 3180-3184.

- Jensen, B.B., Jensen, T., 1998. Microbial production of skatole in the digestive tract of entire male pigs. In: Jensen, W.K.(Ed.), Skatole and Boar Taint. Roskilde, Denmark: Danish Meat Research Institute, 41-75.
- Joo, S.T., Kauffman, R.G., Kim, B.C., Kim, C.J., 1995. The relationship between colour and water-holding capacity in postrigor porcine *Longissimus* muscle. *J. Muscle Foods* 6, 211-226.
- Kastenschmidt, L.L., Hoekstra, W.G., Briskey, E.J. 1968. Glycolytic intermediate and co-factors in 'fast- and slow- glycolyzing' muscles of the pig. *J. Food Sci.* 33, 151-158.
- Kauffman, R.G., Sybesma, W., Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G., Engel, B., van Laack, R.L.J.M., Hoving-Bolink, A.H., Sterrengurg, P., Nordheim, E.V., Walstra, P., van der Wal, P.G., 1993. The effectiveness of examining early *post mortem* musculature to predict ultimate pork quality. *Meat Sci.* 34, 283-300.
- Kavaliers, M., 1989. Evolutionary aspects of the neuro-modulation of the nociceptive behaviours. *Am Zoology*, 29, 1345-1353.
- Kephart, K.B., Mills, E.W. 2005. Effect of withholding feed from swine before slaughter on carcass and viscera weights and meat quality. *J. Anim. Sci.* 83, 715-721.
- Kocwin-Podsiadla, M., Krzecio, E., Przybylski, W., 2006. Pork quality and methods for its evaluation – A review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 15/56(3), 241-248.
- Koopmans, J., Guzik, A.C., van der Meulen, J., Dekker, R., Kogut, J., Kerr, B.J., Southern, L.L., 2006. Effects of supplemental L-tryptophan on serotonin, cortisol, intestinal integrity, and behavior in weanling piglets. *J. Anim. Sci.* 84, 963-971.
- Lahucky, R., Nurnberg, K., Küchenmeister, U., Bahelka, I., Mojto, J., Nurnberg, G., Ender, K., 2004. The effect of dietary magnesium oxide supplementation on fatty acid composition, antioxidative capacity and meat quality of heterozygous and normal malignant hyperthermia (MH) pigs. *Arch.Tierz.* 47, 183-191.
- Lamare, M., Taylor, R.G., Farouta, L., Briand, Y., Briand, M., 2002. Changes in proteasome activity during *post mortem* aging of bovine muscle. *Meat Sci.* 61, 1999-1204.

- Leathwood, P.D., 1987. Tryptophan availability and serotonin synthesis. Proceedings of the Nutrition Society, 46(1), 143-156.
- Leheska, J.M., Wulf, D.M., Maddock, R.J., 2002. Effects of fasting and transportation on pork quality development and extend of *post mortem* metabolism. J. Anim. Sci. 81, 3194-3202.
- Li, Y.Z., Kerr, B.J., Kidd, M.T., Gonyou, H.W., 2006. Use of supplementary tryptophan to modify the behavior of pigs. J. Anim. Sci. 84, 212-220.
- Lieberman, H.R., 2003. Nutrition, brain function and cognitive performance. *Apetite*, 40, 245-254.
- Lindahl, G., Lundström, K., Tornberg, E., 2001. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the color of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Sci.* 59, 141-151.
- López Bote, C.J., 2001. Efecto de la alimentación sobre la composición y atributos de la calidad de la carne. (cap. 6). In: S. Martín Bejarano (ed.) *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*. Vol. 1: 189-201. Martín and Macías, Plasencia.
- Lydic, R., Baghdoyan, A., 1990. Digestible lysine requirement of starter and grower pigs. *J. Anim. Sci.* 68, 2748-2755.
- MacIntyre, I., Robinson, C.J., 1969. Mg and the gut: experimental and clinical observation. *Ann. NY Acad. Sci.* 162, 865-873.
- MARM 2011. El sector de la carne de cerdo en cifras. Principales indicadores económicos en 2010. Marzo 2011. Subdirección General de Productos Ganaderos. MARM
- Martin-Peláez, S., Martín-Orúe, S.M., Pérez, J.F., Fàbrega, E., Tibau, J., Gasa, J., 2008. Increasing feed withdrawal and lairage times prior to slaughter decreases the gastrointestinal tract weight but favours the growth of cecal Enterobacteriaceae in pigs. *Livest. Sci.* 119, 70-76.
- Matsuishi, M., Okitani, A., 1997. Proteasome from rabbit skeletal muscle: some properties and effects on muscle proteins. *Meat Sci.* 45, 451-462.

- Miller, M.F., Carr, M.A., Bawcom, D.B., Ramsey, C.B., Thomson, L.D., 1997. Microbiology of pork carcasses from pigs with different origins and feed withdrawal times. *J. Food Protec.* 60, 242-245.
- Møller, A., 1980. Analysis of Warner Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Sci.* 5, 247-260.
- Monin, G., Talmant, A., Laborde, D., Zabari, M., Sellier, P., 1987. Influence of breed and muscle metabolic type on muscle glycolytic potential and meat pH in pigs. *Meat Sci.* 20, 149.
- Morrow, W.E., See, M.T., Eisemann, J.H., Davies, P.R., Zering, K., 2002. Effect of withdrawing feed from swine on meat quality and prevalence of *Salmonella* colonization at slaughter. *J. Anim. Vet. Med. Assoc.* 220, 497-502.
- Murray, A.D., Jones, S.D.M., 1994. The effect of mixing, feed restriction and genotype with respect to stress susceptibility on pork carcass and meat quality. *Can. J. Anim. Sci.* 74, 587-594.
- Murray, A., Robertson, W., Nattress, F., Fortin, A., 2001. Effect of pre-slaughter overnight feed withdrawal on pig carcass and muscle quality. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 89-97.
- Nanni Costa, L., Lo Fiego, D.P., Dall'Ollio, S., Davoli, R., Russo, V., 2002. Combined effects of pre-slaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different halothane genotype. *Meat Sci.* 61, 41-47.
- Niemack, E.A., Stockli, F., Husmann, E., Sanderegger, J., Classen, H.G., Helbig, J., 1979. Einfluss von Magnesium-Aspartat-Hydrochlorid auf Kannibalismus, Transportstress und den Electrolytgehalt im Herzen von Schweinen. *Magnesium Bulletin* 3, 195.
- Nonboe, U., 1991. Biological mechanisms behind skatole concentration in back fat in Danish. Dissertation. The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark, DJVB, KVL no. 1991-1497.
- Offer, G., Knight, P., 1988. The structural basis of water-holding in meat. Part 2: Drip losses. In R. Lawrie (Ed.). *Development in meat science*. Elsevier. 4, 172-243.

- Offer, G., 1991. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Sci.* 30, 157-184.
- Offer, G., Cousins, T., 1992. The mechanism of drip production: formation of two compartments of extracellular space in muscle *post mortem*. *J. Sci. Food Agr.* 58, 107-116.
- Oliver, M.A., Gobantes, I., Arnau, J., Elvira, J., Riu, P., Grèbol, N., Monfort, J.M., 2001a. Evaluation of electrical impedance spectroscopy (EIS) equipment for ham meat quality selection. *Meat Sci.* 58, 305-312.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Coll, C., Guàrdia, D., Diestre, A., 2001b. Incidencia de carne PSE y DFD en canales comerciales de cerdo en cinco mataderos españoles: influencia de factores antes del sacrificio. *Eurocarne* 100, 1-7.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 1993. The effects of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Sci.* 35, 105-118.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Gou, P., Blasco, A., Diestre, A., 1992. Pig meat quality in crosbreed experiments in the Mediterranean Area. 38th ICoMST, Clermont-Ferrand, France.
- Oliver, M.A., Gou, P., Gispert, M., Diestre, A., Arnau, J., Noguera, J.L., Blasco, A., 1994. Comparison of five types of pig crosses. II. Fresh meat quality and sensory characteristics of dry cured ham. *Livest. Prod. Sci.* 40, 179-185.
- Otsuka, Y., Homma, N., Shiga, K., Ushiki, J., Ikeushib, Y., Suzukib, A., 1998. Purification and properties of rabbit muscle proteasome, and its effect on myofibrillar structure. *Meat Sci.* 49, 365-378.
- Otten, W., Berrer, A., Hartmann, S., Bergerhoff, T., Eichinger, H.M., 1992. Effects of a magnesium fumarate supplementation on meat quality in pigs. Paper presented at the 38th ICoMST, Clermont-Ferrand, France.
- Ouali, A., 1990. Meat Tenderization: possible causes and mechanisms. A review. *J. Muscle Foods* 1, 129-165.
- Ouali, A., 1999. Structure and biochemistry of muscle as related to meat structure. In *Proceedings 14th European symposium on the quality of poultry meat*, Bologna, 1, 91-121.

- Ouali, A., Hernan Herrera-Mendez, C., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., Sentandreu, M.A., 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.* 74, 44-58.
- Partridge, L.G., 1978. Studies on digestion and absorption in the intestines of growing pigs. 3. Net movements of mineral nutrients in the digestive tract. *Brit. J. Nutr.* 39, 527-537.
- Peeters, E., Driessen, B., Steegmans, R., Henot, D., Geers, R., 2004. Effect of supplemental tryptophan, vitamin E, and herbal product on responses by pigs to vibration. *J. Anim. Sci.* 82, 2410-2420.
- Peeters, E., Neyt, A., Beckers, F., De Smet, S.M., Aubert, A.E., Geers, R., 2005. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *J. Anim. Sci.* 83, 1568-1580.
- Pérez, M.P., Palacio, J., Santolaria, M.P., Aceña, M.C., Chacón, G., Verde, M.T., Calvo, J.H., Zaragoza, M.P., Gascón, M., García-Belenguer, S., 2002. Influence of lairage time on some welfare and meat quality parameters in pigs. *Vet. Res.* 33, 239-250.
- Real Decret 1135/2002, de 31 d'octubre, relatiu a les normes mínimes per a la protecció dels porcs.
- Reglament (CE) N° 1099/2009 del Consell de 24 de Setembre de 2009 relatiu a la protecció dels animals en el moment de la matança.
- Rosenvold, K., Andersen, H.J., 2003. Factors of significance for pork quality – a review. *Meat Sci.* 64, 219-237.
- Sainio, E.L., Pulkki, K., Young, S.N., 1996. L-tryptophan: Biochemical, nutritional, and pharmaco-logical aspects. *Amino Acids*, 10, 21-47.
- Santos, C., Almeida, J.M., Matias, E.C., Franqueza, M.J., Roseiro, C., Sardinha, L., 1997. Influence of lairage environmental conditions and resting time on meat quality in pigs. *Meat Sci.* 45, 253-262.
- Schaefer, A.L., Murray, A.C., Tong, A.K.W., Jones, S.D.M., Sather, A.P., 1993. The effect of *ante mortem* electrolyte therapy on animal physiology and meat quality in pigs segregating and the halothane gene. *Can. J. Anim. Sci.* 73, 231-240.

- Schmitt, F., Jungs, H., Schepers, K.H., Festerling, A., 1984. Effect of Mg-containing feed additive Cytran on meat quality of stress-resistant and stress-susceptible swine. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 91, 149-151.
- Schoonderwoerd, M., 1997. Main factors responsible for visible pork carcass contamination. *Proceedings of the World Congress on Food Hygiene.* The Hague, Holanda, p.67.
- Selye, H., 1976. *The stress of life*, rev. ed. Mc Graw Hill, New York.
- Sève, B., Meunier-Salaün, M.C., Monnier, M., Colléux, Y., Henry, Y., 1991. Impact of dietary tryptophan and behavioral type on growth performance and plasma aminoacids of young pigs. *J. Anim. Sci.* 96, 3679-3688.
- Shen, H., Lahucki, R., Kovac, L., O'Brien, P.J., 1992. Comparison of Hal gene status with ³¹P MNR-determined muscle metabolites and with Ca sequestration activity on anoxia – challenged muscle from pigs homozygous and heterozygous for porcine stress syndrome. *Pig News and Information*, 13, 105-109.
- Shills, M.S., 1988. Magnesium in health and disease. *Ann. Rev. Nutr.* 8: 429-436.
- Smith, W.C., Wilton, L.A., 1978. A note of some factors influencing muscle pH values in commercial pig carcasses, *Anim. Prod.* 26, 229-232.
- Solomon, M.B., van Laack, R.L.J.M., Eastridge, J.S., 1998. Biophysical basis of pale, soft, exudative (PSE) pork and poultry muscle: a review. *J. Muscle Foods* 9, 1-11.
- Sterten, H., Frøystein, T., Oksbjerg, N., Rehnberg, A.C., Ekker, A.S., Kjos, N.P., 2009. Effects of fasting prior to slaughter on technological and sensory properties of the loin muscle (*M. Longissimus dorsi*) of pigs. *Meat Sci.* 83, 351-357.
- Swigert, K.S., McKeith, F.K., Carr, T.C., Brewer, M.S., Culbertson, M., 2004. Effects of dietary vitamin D₃, vitamin E and magnesium supplementation on pork quality. *Meat Sci.* 67, 81-86.
- Taylor, R.G., Geesink, G.H., Thompson, V.F., Koochmarai, M., 1995. Is Z-disk degradation responsible for *post mortem* tenderization? *J. Anim. Sci.* 73, 1351-1367.

- Terlow, C., 2005. Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: genetic background and prior experience. A brief review of recent findings. *Livest. Prod. Sci.* 94, 125-135.
- Terlow, E.M.C., Rybarczyk, P., 2008. Explaining and predicting differences in meat quality through stress reactions at slaughter: The case of Large White and Duroc pigs. *Meat Sci.* 79, 795-805.
- Valin, C., Ouali, A., 1992. Proteolytic muscle enzymes and *post mortem* meat tenderisation. In F. J. M. Smulders and F. Toldrá and J. Flores and M. Piets (Eds.), *New technologies for meat and meat proteins*, 163-178.
- Van de Perre, V., Ceustermans, A., Leyten, J., Geers, R., 2010. The prevalence of PSE characteristics in pork and cooked ham – Effects of season and lairage time. *Meat Sci.* 86, 931-937.
- van der Wal, P.G., Engel, B., Reimert, H.G.M., 1999. The effect of stress, applied immediately before stunning, on pork quality. *Meat Sci.* 52(2), 101-106.
- Veissier, I., Butterworth, A., Bock, B., Roe, E., 2008. European approaches to ensure good animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 113, 279-297.
- Velarde, A., 2000. Efecto del método de aturdimiento sobre el bienestar animal y la calidad en porcino y ovino. Tesis Doctoral. Facultat de Veterinaria, Universitat autònoma de Barcelona. España.
- Velarde, A., Diestre, A., 2000. Los consumidores en la integración de la cadena porcina. *Anaporc*, 206, 22-33.
- Velarde, A., Gispert, M., Faucitano, L., Alonso, P., Manteca, X., Diestre, A., 2001. Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. *Meat Sci.* 58, 313-319.
- Warner, R. D., Kauffman, R. G., Greaser, M. L., 1997. Muscle protein Changes *Post mortem* in Relation to Pork Quality Traits. *Meat Sci.* 45(3), 339-352.
- Warriss, P.D., 1982. Loss in carcass weight, liver weight and liver glycogen and the effects on muscle glycogen and ultimate pH in pigs fasted pre-slaughter. *J. Sci. Food Agric.* 33, 840-846.

- Warriss, P.D., Brown, S.N., Bevis, E.A., Kestin, S.C., 1990. The influence of pre-slaughter transport and lairage on meat quality in pigs of two genotypes. *Anim. Prod.* 50, 165-172.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., Edwards, J.E., Anil, M.H., Fordham, D.P., 1992. Time in lairage needed by pigs to recover from the stress of transport. *Vet. Rec.* 131, 194-196.
- Warriss, P.D., 1993. *Ante mortem* factors which influence carcass shrinkage and meat quality. Proceedings of 39th International congress of Meat Science and Technology, 1-6 August, 1993. Calgary, Canada. pp 51-65. Agriculture Canada: Ottawa, Canada.
- Warriss, P.D., 1994. *Ante mortem* handling of pigs. In: Principles of pig Science. Eds. Cole, D.J.A., Wiseman, J., Varley, M.A. Nottingham University press, 425-432.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., Edwards, J.E., Knowles, T.G., 1998. Effect of lairage time on levels of stress and meat quality in pigs. *Anim. Sci.* 66, 255-261.
- Warriss, P.D., 2000. Meat Science. An introductory text. CABI Publishing, CAB International, Wallingford.
- Warriss, P.D., 2003. Optimal lairage times and conditions for slaughter pigs: a review. *Vet. Rec.* 153, 170-176.
- Wilk, S., Orłowski, M., 1980. Cation-sensitive neutral endopeptidase: isolation and specificity of the bovine pituitary enzyme. *J. Neurol.* 35(5), 1172-1182.
- Wood, J.D., Holder, J.S., Main, D.C.J., 1998. Quality assurance schemes. *Meat Sci.* 49 Suppl.1, S191-S203.
- Wotton, S.B., Gregory, N.B., 1986. Pig slaughtering procedures: Time to lose brain responsiveness after exsanguinations or cardiac arrest. *Res. Vet. Sci.* 40, 148-151.
- Young, J.F., Bertram, H.C., Oksbjerg, N., 2009. Rest before slaughter ameliorates pre-slaughter stress-induced increased drip loss but not stress-induced increase in the toughness of pork. *Meat Sci.* 83, 634-641.

**Justificació
Objectius**

2

II. OBJECTIUS

1 Justificació

El present estudi s'emmarca dins de les línies d'investigació de la Unitat de Qualitat de Producte de l'IRTA-Monells. Dins aquest marc, es varen plantejar diferents estratègies a curt termini per millorar el benestar dels animals i la qualitat de la carn de bestiar porcí. Així, l'objectiu general d'aquest estudi és *estudiar estratègies prèvies al sacrifici que poden afectar el nivell d'estrès dels porcs i modificar el seu comportament, la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn.*

2 Objectius específics

Per dur a terme l'objectiu general, s'han plantejat dues parts diferenciades:

1. La primera part pretén estudiar l'efecte del dejuni i el temps d'espera durant el període *ante mortem* sobre la qualitat de la canal i de la carn. Aquest estudi es troba emmarcat dins el projecte *Efecto de la restricción alimentaria y el manejo pre-sacrificio sobre el bienestar y la calidad de la canal y de la carne en distintos genotipos porcinos* (Ref. INIA RTA04-007).

Els objectius específics d'aquesta part són (Experiment IV-1):

- 1.1. Avaluar l'efecte de diferents *temps de dejuni a la granja* sobre la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn.
 - 1.2. Avaluar l'efecte de diferents *temps d'espera a l'escorxador* sobre la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn.
 - 1.3. Avaluar l'efecte de diferents *temps de dejuni total abans del sacrifici* sobre la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn dels porcs.
2. La segona part pretén estudiar la incorporació de tranquil·litzants no al·lopàtics (sals de magnesi i/o triptòfan, en diferents concentracions) com a suplementes a la dieta durant els 5 dies previs al sacrifici com a estratègia per disminuir els nivells d'estrès i avaluar el seu efecte sobre el comportament dels porcs i sobre la qualitat de la canal i de la carn. Aquest estudi es troba emmarcat dins el projecte *Suplementación de*

tranquilizantes naturales en la dieta de cerdos con diferente genotipo al estrés: efecto sobre el bienestar animal y la calidad tecnológica y sensorial de la carne (Ref. CICYT AGL2002-00777).

Els objectius específics d'aquesta part són:

2.1. Avaluar l'eficàcia de l'addició de suplementes a la dieta (0,38% MgCO₃ o 0,61% L-triptòfan) en el període previ al sacrifici (5 dies) com a estratègia per a disminuir els nivells d'estrès i millorar la qualitat tecnològica de la carn d'animals de dos genotips diferents respecte al gen de l'Halotà (homozigots dominants –NN– o recessius –nn), en condicions de estrès mínim (Experiment IV-2).

2.2. Avaluar l'eficàcia de l'addició de suplementes a la dieta (0,40% MgSO₄ i 0,77% L-triptòfan, o 0,70% L-triptòfan) en el període previ al sacrifici (5 dies) com a estratègia per a disminuir els nivells d'estrès i millorar la qualitat tecnològica de la carn, d'animals de dos genotips diferents respecte al gen de l'Halotà (homozigots dominants –NN– o portadors –nn), en condicions d'estrès elevat (Experiment IV-3).

**Disseny experimental
Material i mètodes**

3

III. DISSENY EXPERIMENTAL I MATERIALS I MÈTODES

1 Disseny experimental

Els resultats d'aquest treball s'agrupen en tres capítols d'acord amb el disseny experimental. Per assolir els objectius plantejats, es varen realitzar 3 experiments diferents amb 72 mascles enters cadascun. En tots els casos, els animals es van criar al Centre d'Avaluació Porcina de l'IRTA i es van sacrificar a l'escorxador experimental també de l'IRTA, ambdós situats a Monells (Baix Empordà) i separats una distància de 3 km.

La primera estratègia es va plantejar per estudiar **l'efecte del dejuni i el temps d'espera** sobre la qualitat de la canal i de la carn. Per fer-ho, es va plantejar un disseny experimental 2x2, amb dejunis de 0 i 12h i temps d'espera de 0 i 12h (Taula III.1, Capítol 1)

La segona estratègia es va plantejar per estudiar l'efecte de **l'addició de suplement a la dieta** (magnesi i/o triptòfan) durant els 5 dies previs al sacrifici sobre els nivells d'estrès just abans del sacrifici, i sobre el comportament dels porcs, sobre la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn. Es van plantejar dos experiments, el primer en condicions de mínim estrès, i el segon en condicions d'estrès *ante mortem* més elevat (Taula III.1-1). En els dos casos també es va tenir en compte la diferent sensibilitat a l'estrès dels animals. Per tant, en els dos experiments es va plantejar un disseny 3x2, amb tres dietes (Control, Magnesi, Triptòfan) i dos genotips respecte el gen RYR1 (NN i nn).

Taula III.1-1. Estudis realitzats segons els objectius plantejats.

Experiment	Capítol	Disseny Experimental	N	Sexe	Paràmetres estudiats
Combinació de dos temps de dejuni amb dos temps d'espera	IV-1	(2x2) Dejuni: • 0h • 12h Temps d'espera: • 0h • 12h	72	Mascles enters	Consum de pinso Qualitat de la canal Qualitat tecnològica de la carn
Utilització de magnesi o triptòfan durant els 5 dies previs al sacrifici. Condicions d'estrès mínim	IV-2	(3x2) Dietes: • Control • MgCO ₃ • Trp Genotip: • NN • Nn	72	Mascles enters	Consum de pinso Comportament durant l'estaborniment Qualitat de la canal Qualitat tecnològica de la carn
Utilització de magnesi i/o triptòfan durant els 5 dies previs al sacrifici. Condicions d'estrès elevat	IV-3	(3x2) Dietes: • Control • MgSO ₄ + Trp • Trp Genotip: • NN • nn	72	Mascles enters	Consum individual de pinso Comportament durant l'estaborniment Qualitat de la canal Qualitat tecnològica de la carn

2 Materials i mètodes

A continuació s'explica, en termes generals, el materials i mètodes utilitzats en els tres experiments. Pel fet de ser tres experiments independents la metodologia pot diferir entre ells i per aquest motiu, cada capítol conté una descripció més detallada de la metodologia específica emprada.

1. Control del consum alimentari individual

Al capítol IV-1 i IV-3 de resultats es va mesurar el consum (global o individual) dels animals de cada tractament mitjançant una estació automàtica de control d'ingesta (IVOG[®] Hokofarm, Marknesse, Holanda). Aquest aparell registra el consum de pinso per cada animal registrant l'hora inicial i final de cada visita a la menjadora, i el pes inicial i final de les tolves de cada menjada.

2. Transport dels animals de la granja experimental a l'escorxador experimental

El dia del sacrifici, els animals es van carregar al camió i es van transportar des de la granja experimental del CAP-IRTA a les instal·lacions de l'escorxador experimental de l'IRTA. A cada capítol es detallen les condicions específiques amb les quals es van traslladar els animals ja que el tractament *ante mortem* formava part del disseny experimental.

3. Escorxador experimental

Els experiments es van dur a terme a l'escorxador experimental de l'IRTA de Monells. Aquest disposa de dues zones, els corrals d'espera i l'escorxador, separats per una porta i un passadís. A cada experiment, els animals estaven distribuïts per tractaments segons el disseny experimental.

Les quadres d'espera estaven separades del sistema d'estaborniment per un passadís, de 412 cm de llarg i 60 cm d'ample facilitant que l'animal avancés per aquest però dificultant-li la possibilitat de girar i tornar enrere (Figura III.2-1). Al llarg de tot el passadís hi havia uns panells d'acer inoxidable de 90 cm d'alt per prevenir que l'animal tingués contacte visual amb l'exterior del passadís. L'amplada del corredor limitava els moviments dels animals a l'avançament i la reculada, i impedié que l'animal es girés.

El passadís conduïa a la gàbia del sistema d'estaborniment a través d'una rampa de 148cm de llarg i 7° de pendent. L'entrada al sistema d'estaborniment consistia en una porta suspesa amb una polítilja, que es trobava situada al final de la rampa del passadís.

4. Estaborniment dels animals amb diòxid de carboni

L'estaborniment va realitzar-se amb CO₂ emprant el sistema Dip-Lift tipus ascensor (BUTINA ApS DK-4300 Holbeak, Dinamarca, Figura III.2-1), que consisteix en una gàbia de 195cm de llargada, 90cm d'alçada i 61cm d'ample, amb capacitat per a un animal i amb la superfície del terra foradada per facilitar l'entrada del gas i amb llum interior. La gàbia tenia una porta d'entrada tipus guillotina. Durant l'estaborniment, la gàbia baixava per l'interior d'un pou a una profunditat de 260cm, on la concentració de CO₂ era del 85-90%, depenent de l'experiment. L'ompliment del pou de gasos es va controlar manualment utilitzant un rotàmetre per regular el cabdal.

El procés durava 132 segons durant els quals, els animals s'estaven 86 segons al fons del pou a la màxima concentració de CO₂, i tardaven 23 segons per pujar i 23 segons per baixar.

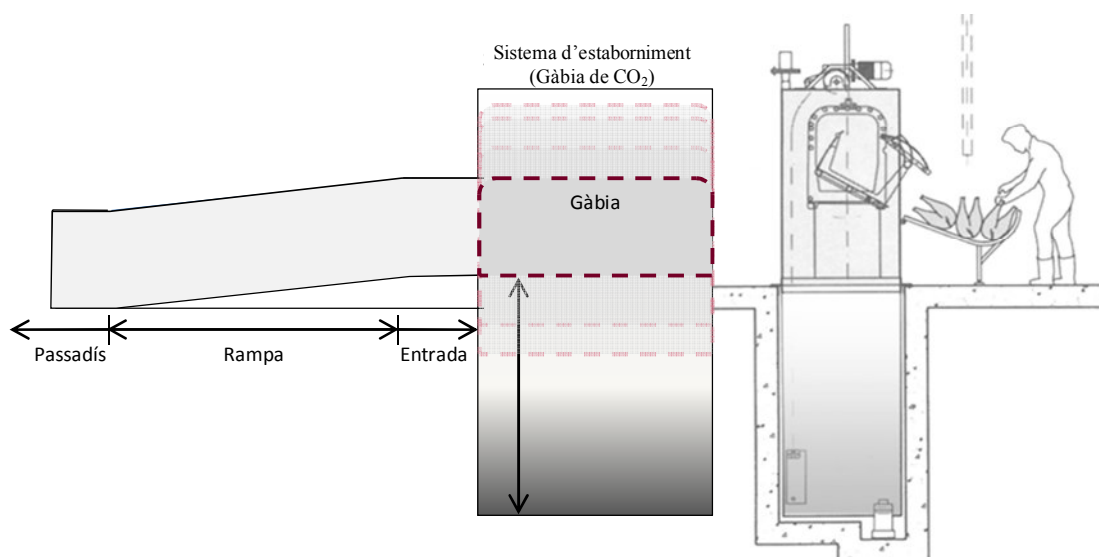


Figura III.2-1. Esquema de les instal·lacions del sistema d'estaborniment i la seva rampa d'accés.

5. Mesures de les característiques de la canal

El pes de la canal es va registrar amb la canal eviscerada i amb la presentació estàndard de la Unió Europea (sense greix pèlvico renal, ronyons ni diafragma). La relació entre aquest pes calent (kg) i el pes viu obtingut prèviament, va permetre calcular el rendiment al sacrifici.

$$RT (\%) = \left(\frac{\text{Pes canal (kg)}}{\text{Pes viu (kg)}} \right) \times 100$$

A la mitja canal esquerra es van realitzar les mesures d'espessor de greix (LR34FOM) i múscul (MFOM) mitjançant la sonda de classificació semiautomàtica *Fat-o-meat'er* (FOM), els valors dels quals van permetre calcular el percentatge de magre de la canal calculat a partir de l'equació oficial espanyola pel FOM (Gispert & Diestre, 1994):

$$\% \text{ Magre estimat} = 61.56 - 0.878 \cdot LR34FOM + 0.157 \cdot MFOM$$

Després de l'oreig de les canals durant 24 hores en una càmera de refrigeració a $2 \pm 0,1^\circ\text{C}$ les canals es van tornar a pesar per calcular les pèrdues per oreig. A cada capítol s'especifiquen les mesures addicionals realitzades sobre la canal en cada experiment.

6. Mesures de les característiques de la carn

La qualitat tecnològica de la carn es va mesurar a la mitja canal esquerra, i les mesures es van prendre en dos músculs de referència, el *Longíssimus thoracis* (LT) a nivell de l'última costella i el *Semimembranosus* (SM). També es van mesurar *on line* el pH a 45 min (pH45) i a 24h (pHu) *post mortem* i la conductivitat elèctrica a 24h *post mortem*. A 24h *post mortem* es van prendre mostres del múscul LT on es va fer la mesura del color instrumental i, en el cas dels capítols IV-2 i IV- 3, es va guardar mostra per analitzar posteriorment el contingut de greix intramuscular, l'activitat de les catepsines i la textura instrumental.

Per a la mesura instrumental del color es van utilitzar dos aparells diferents: el colorímetre CR-200 i l'espectrofotòmetre Minolta 2002. En tots els experiments es va realitzar la mesura a les 24h *post mortem* a la superfície del múscul LT, secció transversal, a nivell de l'última costella. Les coordenades de descripció del color

utilitzades van ser L^* , a^* i b^* , recomanades per la *Commission Internationale de l'Eclairage* l'any 1976 (Hunt *et al.*, 1991). Aquestes coordenades pertanyen al sistema de color CIELab, que defineix el color com un espai tridimensional amb les variables esmentades:

- Luminositat (L^*): és l'eix vertical i pren valors de 0 (negre) a 100 (blanc).
- Tendència al vermell (a^*): és un dels eixos horitzontals. Si el valor és positiu tendeix al vermell i si és negatiu tendeix al verd.
- Tendència al groc (b^*): és l'altre eix horitzontal, perpendicular a a^* . Si el valor és positiu tendeix al groc i si és negatiu, al blau.

La determinació de la capacitat de retenció d'aigua (CRA) es va realitzar seguint el mètode proposat per Honikel l'any 1987 i que posteriorment va ser proposat com a Mètode de Referència per la OCDE l'any 1997. Per aquesta determinació es va realitzar per duplicat utilitzant dues llenques consecutives del LT (aproximadament 100 g) entre la 3^a i 4^a costella començant per l'última. Cada llenca es col·loca en una xarxa i es manté en suspensió durant 48 hores en un recipient hermètic a 4 °C. El percentatge d'aigua perduda (Pèrdues per degoteig) es calcula per diferència de pes de la llenca just en el moment de tallar-la i a les 48 hores.

7. Anàlisi estadística

Les dades obtingudes van ser analitzades amb el programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2001) utilitzant diferents procediments en funció de la naturalesa de les dades. Així doncs, i de forma general, es va realitzar un test de normalitat Shapiro-wilk de totes les variables contínues per conèixer el tipus de distribució que seguïen. Per les dades de distribució normal es va utilitzar el procediment GLM (*General Linear Models*). Quan l'anàlisi de la variància mostrava diferències significatives es va aplicar el test de Tukey per a la comparació de mitjanes. Per a l'anàlisi de les dades contínues que no s'ajustaven a una distribució normal es va utilitzar un model lineal generalitzat d'anàlisi de la variància (PROC GENMOD) seguint un model de distribució Binomial negativa o de Poisson en funció del resultat del test de la deviança. En aquest cas, quan l'anàlisi de la variància demostrava diferències significatives es va fer un test de comparació de mitjanes dels quadrats mínims (LSMEANS). Les dades binàries es van analitzar mitjançant un PROC FREQ fent taules 3x2 prenent els valors esperats segons

el coeficient de Fisher. En tots el casos, el nivell de significació es va fixar a $p < 0.05$, tanmateix s'han considerat els p-valors $< 0,1$ com a tendències.

Bibliografia

Gispert, M., Diestre, A., 1994. Classement des carcasses de porc en Espagne: un pas vers l'harmonisation communautaire. *Techni-Porc*. 17, 29-32.

Honikel, K.O., 1987. The water binding of meat. *Fleisch*. 67(9), 1098-1102.

Hunt, M.C., Acton, J.C., Benedict, R.C., Calkins, C.R., Cornforth, D.P., Jeremiah, L.E., Olson, D.G., Salm, C.P., Savell, J.W., Shivas, S.D., 1991. Guidelines for Meat Color Evaluation. Paper presented at the 44th Reciprocal Meat Conference Proceedings (AMSA) 44, 1-15.

SAS, 2001. SAS for Windows release v.8.2, SAS, Institute, Cary, North Carolina, USA. SAS Institute Inc.

Capítol IV- 1

Efecte del dejuni i el temps d'espera sobre les característiques de la canal i de la carn de mascles enters.

1- Effect of feed deprivation and lairage time on carcass and meat quality traits on pigs.

Capítol IV- 2

**Efecte de suplementos a la dieta en condicions de mínim estrès:
Efecte del carbonat de magnesi i L-triptòfan en el benestar animal i en la qualitat de la canal i de la carn.**

2- Effect of supplementation with MgCO₃ and L-tryptophan on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn).

Capítol IV- 3

**Efecte de suplementos a la dieta en condicions d'estrès elevat:
Efecte del sulfat de magnesi i L-triptòfan en el benestar animal i en la qualitat de la canal i de la carn.**

3. Effect of magnesium sulphate and L-tryptophan and genotype on the feed intake, behaviour and meat quality of pigs.

**Efecte del dejuni i el temps d'espera sobre les
característiques de la canal i de la carn de
mascles enters.**

4.1

*1. Effect of feed deprivation and lairage time on carcass and meat
quality traits on pigs*

Panella-Riera, N., Gispert, M., M.Gil, Soler, J., Tibau, J., Oliver, M.A., Fàbrega, E.

Livestock Science (enviat 12 Abril 2011)

Abstract

Fasting pigs at the farm prior to transport and keeping pigs in lairage before slaughter can affect carcass, gastrointestinal tract content and meat quality. The aim of the present study was to determine the effect of the on-farm fasting (F) periods and lairage (L) on the killing-out, carcass and meat quality. Seventy-two pigs were submitted to two on-farm fasting periods (F0, F12) and two lairage times (L0, L12) while handling was performed under minimal stressful *ante mortem* conditions. Feed intake was monitored individually, and carcass and meat quality traits were studied. On-farm fasting time affected live body weight losses during the on-farm fast period ($P<0.0001$), cold killing-out ($P=0.0099$) and gut content ($P<0.0001$). On-farm fasting time also tended to affect skin lesions ($P=0.0821$) and pH measured at 45 min (pH45) in the *Semimembranosus* muscle (pH45SM; $P=0.0753$). Lairage affected body weight losses ($P<0.0001$), killing-out ($P=0.0033$) and gut content ($P<0.0001$) and did not affect any of the meat quality traits. The incidence of meat quality classes was also studied. No incidence of DFD (*Dark, Firm and Dry*) pork was observed, and loins from pigs fasted up to 12h were mainly classified as Red, Soft and Exudative (RSE). In the present study, long feed deprivation (24-26h) did not negatively affect carcass traits and reduced the incidence of exudative meat without increasing DFD occurrence.

Keywords

Fasting time; Feed intake; Lairage time; Killing-out; Lairage time; Stomach content; Meat quality.

1 Effect of feed deprivation and lairage time on carcass and meat quality traits on pigs

1.1 Introduction

A common practice on pigs' handling is feed withdrawal (at farm) and lairage (at abattoir). Several reasons justify the feed deprivation before transportation to the abattoir. Fasting of pigs can result in some benefits on economical grounds (saving of feed for the producer; Kephart & Mills, 2005), environmental (reducing waste at the abattoir; Eikelenboom *et al.*, 1991), welfare (decreasing mortality during transport; Averós *et al.*, 2008; Gispert *et al.*, 2000) and food safety (minimizing the risk of carcass contamination from a punctured stomach during the dressing process; Eikelenboom *et al.*, 1991; Faucitano *et al.*, 2010a). Decreases in killing-out have been reported when fast is longer than 24h (Saffle & Cole, 1960; Warriss & Down, 1985). Depriving pigs of feed may also reduce loss of weight in chilling losses (Warriss & Brown, 1983) and drip loss (DRIP; Eikelenboom *et al.*, 1991) and results in lower muscle glycogen at the time of death, which leads to a higher ultimate pH (pHu; Eikelenboom *et al.*, 1991), lower DRIP and consequently lower incidence of PSE pork (Murray & Jones, 1994). When fast is too long (up to 18h), an increase of fighting may occur (Brown *et al.*, 1999), being detrimental to animal welfare and causing additional carcass damage and higher incidence of DFD pork (Guàrdia, 2009). Effect of fasting on glycogen levels in muscle is concluded to be dependent on other factors like feeding and pre-slaughter handling practices (Leheska *et al.*, 2002). Thus, results from studies dealing with the effect of fasting time on pHu are conflicting and furthermore, fasting time is often confounded with resting time at the abattoir.

Recommendations on the best fasting interval before slaughter range from 8 and 24h (Eikelenboom *et al.*, 1991; Warriss, 1994). In Spain, feed is commonly withdrawn approximately 12-18h before slaughter (Averós *et al.*, 2008; Gispert *et al.*, 2000; Guàrdia *et al.*, 2009; Perez *et al.*, 2002). A fasting period of 16-24h is recommended in practice (Eikelenboom *et al.*, 1991) in order to reduce the volume of stomach content and the risk of microbial contamination in the period from delivery to post evisceration. A period from 4 to 12h between the last meal and the transport, and a total fasting time of 8h to 18 before slaughtering pigs have been recommended (Warriss, 1994).

Lairage offers a reservoir of animals for the slaughter line to accommodate variations in the delivery schedule to the plant. Pigs should have access to water in lairage so that they can recover completely from any dehydration incurred during their transportation to the abattoir. Feed is not provided unless lairage time exceeds 12h (Directive 93/119/EC). In Spain, pigs are rarely fed in lairage as they are not usually rested more than 12h (Guàrdia *et al.*, 2009; Perez *et al.*, 2002). Lairage is reported to have positive effects on meat quality and on pigs' welfare provided that pigs have not been previously stressed by handling procedures (Warriss *et al.*, 2003), and even some authors conclude that there is no need of lairage when low stress pre-slaughter handling is used (Aaslyng *et al.*, 2001).

A lairage of 2-3h has been recommended as it allows sufficient time to recover from previous stresses prior to arrival at the abattoir without significantly increasing the problems of long-term food deprivation, muscle glycogen depletion and skin damages (De Smet *et al.*, 1996; Warriss 2003). Recently, Young *et al.* (2009) recommended a lairage period between 1 and 3h to recover pre-slaughter treatment effects, although it is generally accepted that minimizing stress in the pre-slaughter period reduces the risk of development of meat quality defects.

The aim of the present study is to determine the effect of different on-farm fasting periods, the lairage times at the slaughter plant and their interaction on the killing-out, carcass and meat quality parameters.

1.2 Materials and methods

1.2.1 *Animals and fasting periods*

The study was carried out at the experimental farm and slaughterhouse of IRTA Monells (Girona, Spain) during 3 consecutive days. Seventy two pigs (Pi x (Du x LR)) were allotted to 4 pens and slaughtered in 2 different repetitions. Individual feed intake was monitored for each pig and feeders were designed in order to make physically impossible the access to any remaining feed once feeders were closed.

During 3 consecutive days, 24 pigs were distributed in groups of 6 and transported to the abattoir. On each repetition, pigs from two pens were either deprived of feed for 12h (F12; feeders locked at 18h) or not (F0) before leaving the farm. Pigs assigned to each fasting group were loaded onto the lorry (immediately – F0 – or after 12h fasting –F12) and driven to the experimental abattoir on a two-decked truck (6 compartments per

deck) and randomly distributed through 4 compartments (2 on each deck) keeping the treatment groups separated, with a stocking density during transport of 0.61m²/100kg pig. Pigs were carefully handled during the pre-slaughter period: they were gently loaded and unloaded, kept with familiar groups during transport and kindly transported to the experimental abattoir (0.5 km), where they were allocated in the lairage pens (4.30×1.80 m) following the same distribution as in the truck. One group was slaughtered immediately (L0, non-rested pigs) and the other one was allowed to rest for 12h (L12). Due to the facilities used, which allowed slaughtering 1 pig every time, during each replicate pigs were fasted from 0-2h (pigs F0 and L0; F0L0) to 24-26h (pigs F12 and L12; F12L12). Pigs were individually driven to slaughter being gently pushed to the crate with a PVC board, and stunned using 90% CO₂ (dip-lift system; Butina Aps, Copenhagen).

1.2.2 *Measurements of carcass and meat quality*

The body weight before and after the on-farm fasting time, and after the lairage period were measured. Percentages of body weight losses due to on-farm fasting period and/or lairage were calculated.

After sticking, skin damage was visually assessed on the dressing line using a photographic scale (5-point scale; 1: none, 2: very slight blemish, 3: slight blemish, 4: moderate blemish, 5: severe blemish) provided by the Meat and Livestock Commission (MLC, 1985). Skin damage was scored as a whole carcass score.

Approximately 20 min. after sticking, the gastrointestinal tract (stomach and intestines) was removed and weighed full and empty in order to calculate the content weight.

Carcasses were weighted after evisceration (without flare fat, kidneys and diaphragm) and graded using the Fat-o-Meater grading probe (FOM, Carometec, Søborg, Denmark). Carcass lean percentage was estimated using the Spanish official equation (Gispert & Diestre, 1994).

The left side of the carcass was used to perform meat quality measurements on the *Longissimus thoracis* (LT, at last rib level) and *Semimembranosus* (SM) muscles. Muscle pH at 45 min (pH45) and at 24h (pHu) *post mortem* were measured using a portable pH-meter KNICK (Knick, Berlin, Germany) equipped with a Xerolyt electrode. Electrical conductivity at 24h *post mortem* (ECu) was measured using a Pork Quality Meater (PQM-I, INTEK Aichach, Germany).

Colour measurements were carried out at the last rib level with a Colorimeter CR-200 on the CIELab space (CIE, 1976) using D65 illuminant and standard observer of 10°.

Muscle samples from the LT muscle were collected at 24h *post mortem*, at the 3/4 last rib level, to determine drip losses (DRIP) following the OECD reference method (Honikel, 1996).

The proportion of loins from different meat quality classes were also calculated according to the following criteria (based on Flores *et al.* 1999 and Faucitano *et al.*, 2010b):

- PSE (pale, soft and exudative): $\text{pH}_{45} \leq 6.00$ or $\text{pHu} < 6.00$ and $\text{DRIP} > 6.0$ and $\text{CIE_L}^* > 50$
- RSE (red, soft and exudative): $\text{pH}_{45} \leq 6.00$ or $\text{pHu} < 6.00$ and $\text{DRIP} > 6.0$ and $\text{CIE_L}^* = 44-50$;
- PFN (pale, firm and exudative): $\text{pHu} < 6.00$ and $\text{DRIP} < 6.0$ and $\text{CIE_L}^* > 50$;
- RFN (red, firm and non-exudative): $\text{pH}_{45} > 6.00$, $\text{DRIP} < 6.0$, $\text{CIE_L}^* < 50$;
- DFD (dark, firm and dry): $\text{pHu} \geq 6.00$ and $\text{DRIP} < 3.0$ and $\text{CIE_L}^* < 44$.

1.2.3 *Data analyses*

Statistical analysis was performed using the software Statistical Analysis System (SAS, 2001). Feed intake, carcass and meat quality parameters were analysed using the GLM procedure considering on-farm fasting time and lairage time at the abattoir as fixed effects and their interaction. The carcass weight was included as a covariate and the pen effect was included in the model as a blocking effect when it was significant. Differences between treatments were tested using the Tukey's test. Significance level was fixed at $P < 0.05$, although significances at $P < 0.1$ were taken into account as a tendency. The incidence of PSE and DFD traits were analysed using the FREQ and GENMOD procedures.

1.3 Results

1.3.1 *Feed intake*

Figure IV.1-1 shows the feed intake behaviour before the beginning of the fasting period. During the last 2h before locking the feeders mean feed intake of both treatments was 0.42 ± 0.048 (F0: $0.40 \pm 0.037\text{kg}$; F12: $0.48 \pm 0.065\text{kg}$).

1.3.2 *Carcass traits, skin bruises and gastrointestinal traits*

Table IV.1-1 shows body weight, carcass, gastrointestinal and meat quality traits according to on-farm fasting time (F0 or F12) and lairage at the abattoir (L0 or L12). A significant interaction of fasting and lairage was observed for the stomach content ($P=0.0183$). Fasting affected body weight losses during the on-farm period ($P<0.0001$) and between the beginning of fast and the end of lairage. It also affected the cold killing-out ($P=0.0099$) and gut content ($P<0.0001$). F12 pigs had higher killing-out and lower gut content than F0 pigs. Lairage affected body weight before on-farm fast ($P=0.0015$), after on-farm fast ($P=0.0034$) and before slaughter ($P=0.0561$), body weight losses during lairage ($P<0.0001$) and between the beginning of fast and the end of lairage ($P<0.0001$), and it also affected the killing-out ($P=0.0033$), gut content ($P<0.0001$) and the weight of the empty stomach ($P<0.0001$).

Chevillon (1994) established four categories based on weights of stomach contents as an indicator of the length of time between last feeding and slaughter: Empty stomach ($<0.5\text{kg}$), Tendency towards an empty ($0.5\text{-}0.8\text{kg}$), Tendency not towards an empty stomach ($0.8\text{-}1.1\text{kg}$) and Not an empty stomach ($>1.1\text{kg}$). Figure IV.1-2 shows these stomach content categories according to the fasting (F) and lairage (L) duration. Different figures were seen in each group. Regarding F0L0 pigs, 38.9% did not have an empty stomach, 27.8% tended to have a not empty stomach, 11.1% tended to have an empty stomach and only 22.2% of pigs had an empty stomach. Pigs fasted 12h in the farm and slaughtered immediately (F12L0) had mainly an empty stomach (77.8%) or tended not towards an empty stomach (22.2%), whereas pigs fasted 12h in the lairage pens (F0L12) had mainly an empty stomach (94.4%) or tended to have an empty stomach (5.6%). F12L12 pigs had same figures than F0L12.

Skin damages were inspected and visually scored according MCL (1985; Table IV.1-1 and figure IV.1-3). Fasting pigs tended to increase skin lesions (Table 1; $P=0.0821$) while lairage did not affect it. When comparing the incidence of each class of intensity of lesions (Figure IV.1-3), slight differences were observed between F0L0 and F12L12 pigs. However, pigs fasted 12h showed different percentages: F12L0 pigs had higher incidence of severe skin lesions than F0L12.

1.3.3 *Effect on meat quality traits*

Table IV.1-1 shows meat quality traits of meat from the 4 treatments. Very little effects of fasting and lairage on meat quality traits were observed. A significant interaction of fasting and lairage was observed for the pH45 in SM muscle ($P=0.0286$) and electrical conductivity in LT ($P=0.0026$) and SM ($P=0.0001$) muscle (Table IV.1-2).

Additionally, loins were scored and classified in five meat quality classes (PSE, PFN, RSE, RFN, DFD) according to pH45, pHu, DRIP and L^* values. Table IV.1-3 shows the incidence of meat quality conditions related to these meat quality classes, according to the interaction between on-farm fasting time x lairage.

The proportion of loins having $\text{pH}45 \leq 6.0$ tended to be different among groups ($P=0.0867$) and differed when considering $\text{ECu} > 6 \text{ mS}$ ($P=0.0130$) and $\text{DRIP} > 6.0$ ($P=0.0240$). A significantly higher proportion of loins from F0L12 group with $\text{ECu} > 6$ was found, and the significantly lowest proportion of loins with $\text{DRIP} > 6.0$ was observed in F12L12 pigs.

Regarding the SM muscle, none of the hams from pigs that rested 12h had $\text{pH}45 < 6.0$ ($P < 0.001$, data not shown). With respect to the pHu, all hams showed values lower than 6.0, and considering the electrical conductivity, no differences were found among treatments ($P > 0.05$).

As stated above, from the pH45, pHu, drip losses and L^* values, five meat quality classes were defined. Of the 72 loins evaluated, 14.0% were scored as PSE, 6.9% as PFN, 44.4% as RSE, 34.7% as RFN and 0% as DFD, indicating that the softness and exudation (PSE and RSE) were the major problems in this study. No differences among treatments were observed on the proportion of PSE, PFN and DFD loins ($P > 0.05$). Significant differences were observed in the proportion of RSE ($P=0.0404$) and RFN ($P=0.001$) pork. The group F12L12 had the lowest proportion of RSE pork and the highest proportion of RFN pork.

1.4 Discussion

1.4.1 *Feed intake*

The automatic feeding recording system used in this experiment was very important to calculate the real fasting time, because food deprivation does not necessarily mean fasting (since food can remain at the trough and, thus, the last meal for some animals

can be at very different times). In the present study, as the individual feed intake was monitored, the amount of feed and the time at which each pig ate the last meal was perfectly known. Therefore, feed intake recording at this time helped guarantee the fasting started at the same time for all pigs. Due to logistics related to the use of small scale abattoir, which allowed slaughter one pig at a time, pigs were either slaughtered from 0-2h (F0L0) to 24-26h (F12L12) of fasting time.

1.4.2 *Carcass traits, skin damage and gastrointestinal traits*

The average body weight was 97.1 ± 6.62 Kg. It is remarkable that the body weight already differed between lairage groups even before the beginning of the fasting period and these differences were also observed until the slaughter day. These results indicate a bias produced at the establishment of groups at the beginning of the experiment.

Therefore, in order to know the effect of fasting and lairage on the body weight, relative body weight losses were calculated during on-farm fasting and lairage period, and during the whole experiment, indicating respectively life weight losses during the on-farm fasting period, lairage period and overall fasting period (which includes on-farm fasting and lairage at the abattoir). Both, on-farm fasting and lairage period had a significant effect on the percentage of body weight losses; as expected, the longest the period, the highest the life weight losses. According to Warriss (1993), pigs begin to lose weight at a rate of about 0.2% per hour due to the fasting period. In accordance, at 12-16h of fast pigs should have lost 2.4% and pigs fasted 24-26h should have lost 4.8-5.2% (Warriss, 1993). Pigs fasted 12-16h lost weight around these predictions, being between $2.1 \pm 0.27\%$ and $2.7 \pm 0.29\%$ at 12-16h (F12L0 and F0L12, respectively). However, pigs fasted 24-26h lost less life body weight than these predictions, being up to $3.5 \pm 0.27\%$ in 24-26h (F12L12; data not shown). Part of this loss is urine and faeces (Faucitano *et al.*, 2010a), especially in short journeys (Warriss *et al.*, 1990). In this sense, results from the present study showed significant correlations between body weight losses and stomach content ($r = -0.55$; $P < 0.0001$) and between body weight losses and gut content ($r = -0.44$; $P = 0.0002$). Warriss and Brown (1983) stated that loss of body substance such as carcass and liver reduction has been reported to begin around 9 and 18h after the last meal, respectively.

Results from the present study showed a significant effect of lairage, with L12 pigs presenting higher carcass weight. As discussed above, these differences might be attributed to the initial bias on life body weight produced at the establishment of groups.

When calculating the cold killing-out, these initial differences could be corrected and therefore, an increase of the killing-out was expected. Actually, both, on-farm fasting time and lairage significantly increased cold killing-out. As stated by Warriss (2003), it is expected that prolonged lairage time leads to a loss in carcass yield if pigs are in a state of negative energy balance. However, when fasting is not long enough to reach it and to modify carcass weight, it is expected that carcass yield increases with fasting time because the body weight decreases (Chevillon, 2006; Faucitano *et al.*, 2010a; Rodriguez *et al.*, 2008; Warriss, 2000). Actually, losses in carcass weight of approximately 100 g/h are reported after 24h fasting (Chevillon, 2000), which would be equivalent to a total decrease of 1% of carcass yield after a fasting period of 24h (Faucitano *et al.*, 2006). Regarding the total fasting time, as it increased from 0 to 24-26h, the cold killing-out also increased from 82.03 ± 0.49 to 83.4 ± 0.49 . These results agree with the findings of Chevillon (2006), Faucitano *et al.*, (2010) and Rodriguez *et al.* (2008).

Variations in the intestinal tract weight and stomach between treatments could be attributed to a difference in the weight of their contents. Gut and stomach content were much heavier in non-fasted and non-rested pigs as expected, which is in agreement with previous studies (Kephard & Mills, 2005; Murray & Jones, 1994). In the present study, fasting time had significant effect on gut content, while lairage affected gut content and the weight of the empty stomach. L12 pigs had less gut content and weight of the empty stomach than L0 pigs. Additionally, an interaction was observed for the stomach content between on-farm fasting time and lairage. F0L0 pigs –slaughtered immediately– had higher stomach content than those that had 12h extra hours (F12L0 and F0L12) before slaughtering. The stomach content also differed between F12L0 and F0L12.

Figure IV.1-2 shows stomach content according to the fasting and lairage duration. All pigs from F12L12 had an empty stomach or tended towards an empty one (94.4 plus 5.6%), and only 33.3% (22.2 plus 11.1%) of F0L0 pigs met these conditions. Chevillon (1994) considered that pigs with the stomach content lower than 0.8kg were correctly fasted. Chevillon (1994) also stated that only after 20-24h pigs were correctly fasted (stomach content below 500g), and between 15-20h of total fasting time or below 15-h fasting period pigs tended to be fasted or were not properly fasted, respectively. Besides, Faucitano *et al.* (2010a) pointed that under certain conditions such as pigs under restricted feeding plan or mash feeding, 24h fasting period could be not enough to

obtain empty stomachs at slaughter, and may increase the risk of carcass contamination. In accordance to Chevillon (1994), all pigs fasted 24-26h were correctly fasted in the present study. But when considering pigs fasted 12h, different figures were observed: F0L12 were all correctly fasted, while in F12L0 22.2% of pigs still had stomach content over 1.1Kg. It was expected that the transport and loading/unloading of pigs, even if it was carried out under minimal stressful conditions, could affect the intestinal motility and could have promoted an increase in transit time and in the frequency of defecation (Smulders *et al.*, 2006). Besides, considering killing-out, some evidences suggest a benefit from providing water in the lairage at the abattoir for pigs which have lost a lot of weight in transit, provided that they have not been fasted for longer than 12h (Walters, 2000). In the present study, despite the fact that we did not register the type and nature of stomach content for each pig, additional information collected for salmonella evaluation during the experiments indicated that the gut content was mainly semi-solid. Therefore, it could be expected that the higher stomach content of F0L12 pigs could have higher water content as they had access to water during the 12h of lairage, and after the pre-slaughter treatment pigs could be more active and would have increased the drinking rate (Faucitano *et al.*, 2010a). Further research is needed to understand the differences on killing-out between pigs fasted at the farm or at the abattoir.

Based on the studies from Nanni Costa *et al.* (2002) and Warriss *et al.* (2003) higher incidence of skin lesions was expected in longer fasted pigs. But only a tendency was observed. The few significant differences may be explained because in the present study pigs were not mixed and were handled under minimal stressful pre-slaughter conditions (Murray & Jones, 1994). However, when considering the frequencies of the intensity of the scores, a difference between groups with a total fasting period of 12h was observed, presenting those pigs fasted 12h and non-rested (F12L0) a higher proportion of more severe lesions compared to pigs non-fasted and rested for 12h at the abattoir. Murray *et al.* (2001) also found a higher incidence of skin lesions on pigs fasted at the piggery than those fasted at the abattoir.

Extrapolations of the present results to commercial abattoirs are not easy because, as stated by Guàrdia *et al.* (2009) in a survey carried out on 15.695 pigs from five Spanish commercial abattoirs, the risk of skin damaged carcasses can vary extensively among abattoirs, and the occurrence of skin lesions is not only influenced by on-farm and

lairage but also by other factors such the on-farm fasting, loading, lairage, the type of flooring of the lorry, the combination of the stocking area during transportation by season and the abattoir itself by season. Therefore, taking into account that many other factors may affect the incidence of skin lesions (Barton-Gade *et al.*, 1996; Faucitano, 2000; Guàrdia *et al.*, 2009; Geverink *et al.*, 1996; Turner *et al.*, 2006), results from the present study suggest that fasting time or lairage time alone (without the contribution of mixing) would not increase the incidence of skin damages, and in pigs properly handled it would not increase even if fasted for a long time (24-26h).

1.4.3 *Effect on meat quality traits*

By depleting muscle glycogen stores, fasting pigs is sometimes seen as a tool to raise the pHu (Eikelenboom *et al.*, 1991; Warner *et al.*, 1997; Warriss, 1982) and thus decrease the proportion of PSE pork and increase the incidence of DFD pork (Warriss, 2003). On the other hand, it is documented that lairage allows pigs to relieve stress so an improvement in meat quality is expected, and if it is longer than 1h it may reduce the incidence of PSE pork but a prolonged resting time can increase DFD occurrence (De Smet *et al.*, 1996; Nanni Costa *et al.*, 2002).

PSE condition has been mainly related to the values of a combination of different traits: pH45, ECu, DRIP and luminosity (CIE_L*). In the present study, although fasting time tended to decrease the percentage of pigs having $\text{pH}_{45} \leq 6.0$, no differences were observed on the percentage of pigs with $\text{pH}_u \leq 6.0$. In addition, L* values were not different among fasting and lairage times (Table IV.1-1), which disagree to Eikelenboom *et al.* (1991) and Sterten *et al.* (2009). Thus, and contrary to Warriss (2003), 24-26h of total fasting time did not influence the incidence of DFD pork based on pHu values, which was 0 in all the cases. A possible explanation of this is that DFD pork in long-term fasted pigs is exacerbated by increased fighting or physical activity (Guàrdia *et al.*, 2009) which was not expected to occur to a great extent in this study as pigs were not mixed.

It is reported that long feed deprivation could also affect colour traits and DRIP (Warner *et al.*, 1997). Results from the present study showed that as the fasting time increased, the proportion of loins and hams having $\text{pH}_{45} \leq 6.0$ tended to decrease from 22.2% for non-fasted pigs (F0L0) to 5.6% of 24-26h fasted pigs (F12L12), which agrees with Aaslyng *et al.* (2001) and Støier *et al.* (2001). Regarding water holding capacity, the

lowest percentage of loins having drip losses higher than 6% were in the F12L12 pigs, and significant differences on the percentage of loins having ECU higher than 6 mS were found in the FOL12 and F12L0. Additionally, significant interactions (on-farm fasting period x lairage) were found in the pH45 and ECU in the SM muscle, where FOL12 pigs showed simultaneously, the higher pH45 and the higher ECU. These results disagree with Oliver *et al.* (1991, 2001) and Warriss *et al.* (1989) who found a negative correlation of -0.77 between pH45 and ECU. In the present study, similar correlation was found in the LT muscle ($r = -0.23$; $P = 0.0538$) but not in the SM muscle ($P = 0.3416$). It is interesting to highlight that despite these significant differences, the mean ECU values were high in all fasting groups, indicating that SM muscles from all fasting groups could be classified as exudative (Kocwin-Podsiadla *et al.*, 2006).

Therefore, meat from the present study had low water holding capacity but not a pale colour. Thus, the term PSE was not the most adequate to describe meat from this study because, as stated by De Smet *et al.* (1996), the pale colour and exudative condition of meat do not need to occur simultaneously, they may be characterized as red, soft and exudative (RSE) pork instead of as PSE.

On the other hand, there was no evidence that the combination of 12h of fasting time and 12h of lairage (F12L12) increased the incidence of meat with DFD traits based on pHu, indicating the *ante mortem* treatment was too short to markedly affect the muscle glycogen stores, and therefore, pigs had sufficient reserve of glycogen to avoid the DFD defect (Nanni Costa *et al.*, 2002). From our results, a total fasting period of 24-26h could be recommended to reduce RSE loins and to increase the percentage of RFN.

1.5 Conclusion

Results from the present study indicate that 24-26h fasting time increased live body weight losses up to 3.5% at no detriment for carcass weight and, therefore, prolonging fasting and lairage period improved cold killing-out.

Under the present experimental conditions, feed withdrawal carried out at the abattoir was found to bring certain advantages (less stomach content and lower percentage of severe skin lesions) compared to on-farm fasting. Further research is needed to understand and confirm these differences under commercial conditions.

Loins from non-fasted pigs and pigs fasted 12h (either on farm or at the abattoir) were mainly exudative but not pale, and therefore were classified as RSE. Furthermore, a fasting period up to 24-26h did not modify the incidence of PSE loins and did not increase the proportion of DFD pork, and could be recommended to increase the percentage of RFN –red, firm and non-exudative – and reduce RSE pork –red, soft and exudative – which is one of the main technological problems of the meat industry.

Results from this study suggest that a proper on-farm feed withdrawal timing in combination with a sufficient lairage at the slaughter plant may result in better carcass and meat quality traits. Communication between producer and slaughterhouse is essential when planning the fasting and lairage times in order to avoid carcass and technological pork quality problems. Thus, the results of this study may contribute to take management decisions in order to improve technological pork quality.

Acknowledgements

This work was financed by the ‘Ministerio de Ciencia y Tecnología’ INIA- RTA04-007. The authors thank Albert Fontquerna, M^a José Bautista, Agustí Quintana and Albert Rossell for their technical assistance. We thank the ‘*Departament d’Universitats, Recerca i Societat de la Informació of Generalitat de Catalunya*’ and ‘*Fons Social Europeu*’ for the grant awarded to Núria Panella-Riera to finance her doctoral studies at IRTA.

1.6 References

- Aaslyng, M.D., Barton Gade, P., 2001. Low stress pre-slaughter handling: effect of lairage time on the meat quality of pork. *Meat Sci.* 57, 87-92.
- Averós, X., Knowles, T.G., Brown, S.N., Warriss, P.D., Gonsálvez, L.F., 2008. Factors affecting the mortality of pigs being transported to slaughter. *Vet. Rec.* 163, 386-390.
- Barton Gade, P., Warriss, P.D., Brown, S.N., Lambooij, B., 1996. Methods of improving pig welfare and meat quality by reducing stress and discomfort before slaughter– methods of assessing meat quality. Proc. EU-Seminar ‘New information on welfare and meat quality of pigs as related to handling, transport and lairage conditions, June 29-30, 23-34.

- Brown, S.N., Knowles, T.G., Edwards, J.E., Warriss, P.D., 1999. Behavioural and physiological responses of pigs to being transported for up to 24h followed by six hours recovery in lairage. *Vet. Rec.* 145, 421-426.
- Chevillon, P., 1994. Le contrôle des estomacs de porcs à l'abattoir: miroir de la mise à jeun en élevage. *Techni Porc* 17, 23–30.
- Chevillon, P., 2000. Bien-être des porcs lors des opérations de pré-abattage et d'anesthésie. 1^a Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína. Nov. 16th – Dex. 16th — Concordia, SC.
- Chevillon, P., Vauter, A., Gault, E., 2006. Quand sortir les porcs charcutiers sur le local d'embarquement à l'élevage ? Impact sur le rendement carcasse, les poids des estomacs, la qualité de la viande et les rendements à la transformation en jambons cuits. *Techni Porc* 29, 21-27.
- CIE, 1976. Commission Internationale de l'Éclairage. Colorimetry. Vienna, Austria, Bureau Central de la CIE. Publication n° 15.
- De Smet, S.M., Pauwels, H., De Bie, S., Demeyer, D.I., Callewier, J., Eeckhout, W., 1996. Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of Belgian Slaughter Pigs. *J. Anim. Sci.* 74, 1854-1863.
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A.H., Sybesma, W., 1991. Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. *Meat Sci.* 29, 25-30.
- Faucitano, L., 2000. Causes of skin damage to pig carcasses. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 39-45.
- Faucitano, L., Saucier, L., Correa, J.A., Methot, S., Giguere, A., Foury, A., Mormede, P., Bergeron, R., 2006. Effects of feed texture, meal frequency and pre-slaughter fasting on carcass and meat quality, and urinary cortisol in pigs. *Meat Sci.* 74, 697–703.
- Faucitano, L., Chevillon, P., Ellis, M., 2010a. Effects of feed withdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight, and carcass and meat quality in pigs. *Livest. Sci.* 127, 110-114.
- Faucitano, L., Ielo, M.C., Ster, C., Lo Fiego, D.P., Methot, S., Saucier, L., 2010b. Shelf life of pork from five different quality classes. *Meat Sci.* 84, 466-469.

- Flores, M., Armero, E., Aristoy, M.C., Toldrà, F., 1999. Sensory characteristics of cooked pork loin as affected by nucleotide content and *post-mortem* meat quality. *Meat Sci.* 51, 53-59.
- Gevering, N.A., Engel, B., Lambooi, E., Wiegant, V.M., 1996. Observations on behavior and skin damage of slaughter pigs and treatment during lairage. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 50, 1-13.
- Gispert, M., Diestre, A., 1994. Classement des carcasses de porc en Espagne: un pas vers l'harmonisation communautaire. *Techni-Porc* 17, 29-32.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggers, K., Harvey, K., Diestre, A., 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.* 55(1), 97-106.
- Guàrdia, M.D., Estany, J., Balasch, S., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 2009. Risk assessment of skin damage due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Sci.* 81, 745-751.
- Honikel, K.O., 1996. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chem.* 54(4), 573-582.
- Kauffman, R.G., Sybesma, W., Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G., Engel, B., Van Laack, R.L.J.M., Hoving-Bolink, A.H., Sterrengurg, P., Nordheim, E.V., Walstra, P., Van der Wal, P.G., 1993. The effectiveness of examining early *post mortem* musculature to predict ultimate pork quality. *Meat Sci.* 34, 283-300.
- Kephart, K.B., Mills, E.W., 2005. Effect of withholding feed from swine before slaughter on carcass and viscera weights and meat quality. *J. Anim. Sci.* 83, 715-721.
- Kocwin-Podsiadla, M., Krzecio, E., Przybylski, W., 2006. Pork quality and methods of its evaluation- A review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 15/56, 241-248.
- Leheska, J.M., Wulf, D.M., Maddock, R.J., 2002. Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of *post-mortem* metabolism. *J. Anim. Sci.* 80, 3194-3202.

- Meat and Livestock Commission, 1985. Rindside damage scale. Reference 2031M8/85. Milton Keynes, Meat and Livestock Commission, Bletchley, UK.
- Murray, A.D., Jones, S.D.M., 1994. The effect of mixing, feed restriction and genotype with respect to stress susceptibility on pork carcass and meat quality. *Can. J. Anim. Sci.* 74, 587-594.
- Murray, A., Robertson, W., Nattress, F., Fortin, A., 2001. Effect of pre-slaughter overnight feed withdrawal on pig carcass and muscle quality. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 89-97.
- Nanni Costa, L., Lo Fiego, D.P., Dall'Olio, S., Davoli, R., Russo, V., 2002. Combined effects of pre-slaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different halothane genotype. *Meat Sci.* 61, 41-47.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Tibau, J., Diestre, A., 1991. The measurement of light scattering and electrical conductivity for the prediction of PSE pig meat at various times *post-mortem*. *Meat Sci.* 29, 141-151.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Coll, C., Guàrdia, D., Diestre, A., 2001. Incidencia de carne PSE y DFD en canales comerciales de cerdo en cinco mataderos españoles: influencia de factores antes del sacrificio. *Eurocarne* 100, 1-7.
- Pérez, M.P., Palacio, J., Santolaria, M.P., Aceña, M.C., Chacón, G., Verde, M.T., Calvo, J.H., Zaragoza, M.P., Gascón, M., García-Belenguer, S., 2002. Influence of lairage time on some welfare and meat quality parameters in pigs. *Vet. Res.* 33, 239-250.
- Rodriguez, A., De Mercado, E., Gómez, E., Alevia, A., Chico, M., Flores, L., Sanz, E., 2008. Influencia de la duración del ayuno y de la espera antes del sacrificio sobre los rendimientos productivos y características de la canal de cerdos de cebo. *Av. Technol. porc* 10, 32-42.
- Saffle, R.L., Cole, J.W., 1960. Fasting effects on dressed yields, shrinkage, and pH of contractile tissue in swine. *J. Anim. Sci.* 19, 242-248.
- SAS, 2001. SAS for Windows release v.8.2, SAS, Institute, Cary, North Carolina, USA. SAS Institue Inc.

- Smulders, D., Verbeke, G., Mormède, P., Geers, R., 2006. Validation of a behavioral observation tool to assess pig welfare. *Physiol. Behav.* 89, 438–447.
- Sterten, H., Frøystein, T., Oksbjerg, N., Rehnberg, A.C., Ekker, A.S., Kjos, N.P., 2009. Effects of fasting prior to slaughter on technological and sensory properties of the loin muscle (*M. Longissimus dorsi*) of pigs. *Meat Sci.* 83, 351-357.
- Støier, S., Dall Aaslyng, M., Olsen, E.V., Henckel, P., 2001. The effect of stress during lairage and stunning on muscle metabolism and drip loss in Danish pork. *Meat Sci.* 59, 127-131.
- Turner, S.P., Farnworth, M.J., White, I.A.M., Brotherstone, S., Mendl, M., Knap, P., Penny, P., Lawrence, A.B., 2006. The accumulation of skin lesions and their use as a predictor of individual aggressiveness in pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 96(3-4), 245-259.
- Walters, R., 2000. Yield at slaughter. Genotype is only one of several factors affecting the dressing percentage. *Pig international* 30, 3-15.
- Warner, R.D., Kauffman, R.G., Greaser, M.L., 1997. Muscle protein changes *post-mortem* in Relation to Pork Quality Traits. *Meat Sci.* 45(3), 339-352.
- Warriss, P.D., 1982. Loss in carcass weight, liver weight and liver glycogen and the effects on muscle glycogen and ultimate pH in pigs fasted pre-slaughter. *J. Sci. Food Agr.* 33, 840-846.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., 1983. The influence of preslaughter fasting on carcass and liver yield in pigs. *Livest. Prod. Sci.* 10, 273-282.
- Warriss, P.D., Down, N.F., 1985. Bacon yield from fasted pigs. *Anim. Prod.* 40, 143-151.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., Lopez-Bote, C., Bevis, E.A., Adams, A.J.M., 1989. Evaluation of lean meat quality in pigs using two electronic probes. *Meat Sci.* 25, 281-291.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., Bevis, E.A., Kestin, S.C., 1990. The influence of pre-slaughter transport and lairage on meat quality in pigs of two genotypes. *Anim. Prod.* 50, 165-172.

- Warriss, P.D., 1993. *Ante mortem* factors which influence carcass shrinkage and meat quality. Proc. 39th International congress of Meat Sci. and Technology, Calgary, Canada. Agriculture Canada: Ottawa, Canada, August 1-6, 1993. pp 51-65.
- Warriss, P.D., 1994. *Ante mortem* handling of pigs. In: Principles of pig Science. Eds. Cole D.J.A., Wiseman J., Varley M.A. Nottingham University press, pp. 425-432.
- Warriss, P.D., 2000. Meat Science: an Introductory Text. Wallingford, CABI Publishing.
- Warriss, P.D., 2003. Optimal lairage times and conditions for slaughter pigs: a review. Vet. Rec. 153, 170-176.
- Young, J.F., Bertram, H.C., Oksbjerg, N., 2009. Rest before slaughter ameliorates pre-slaughter stress-induced increased drip loss but not stress-induced increase in the toughness of pork. Meat Sci. 83, 634-641.

1.7 Figures

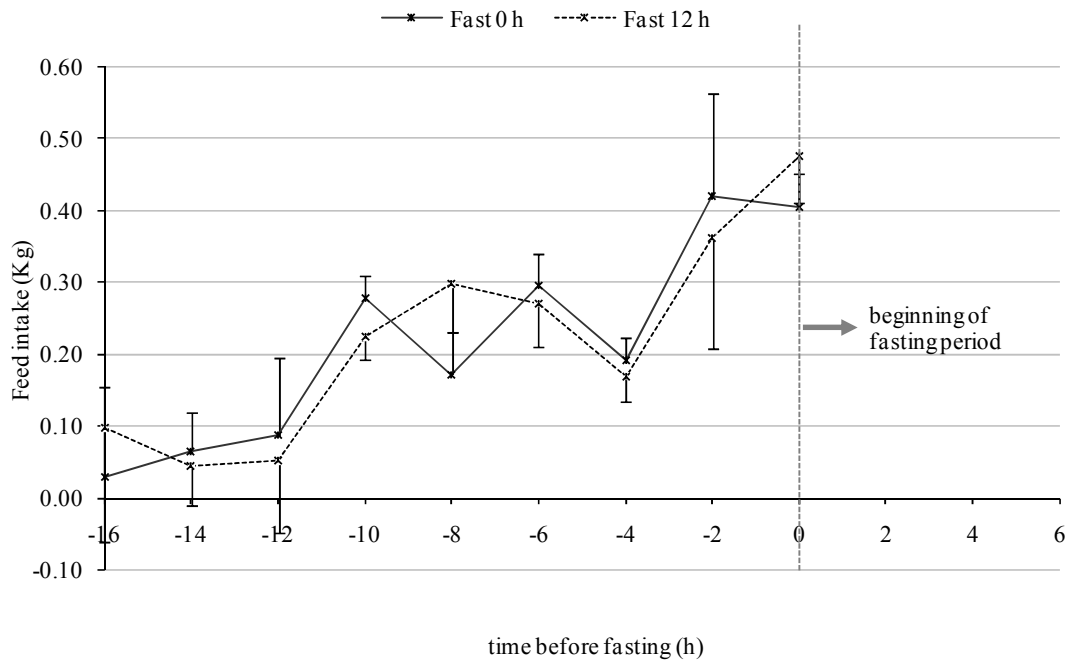


Figure IV.1-1. Feed intake (mean \pm s.d.) behaviour of pigs from the two treatments before the beginning of the fasting period.

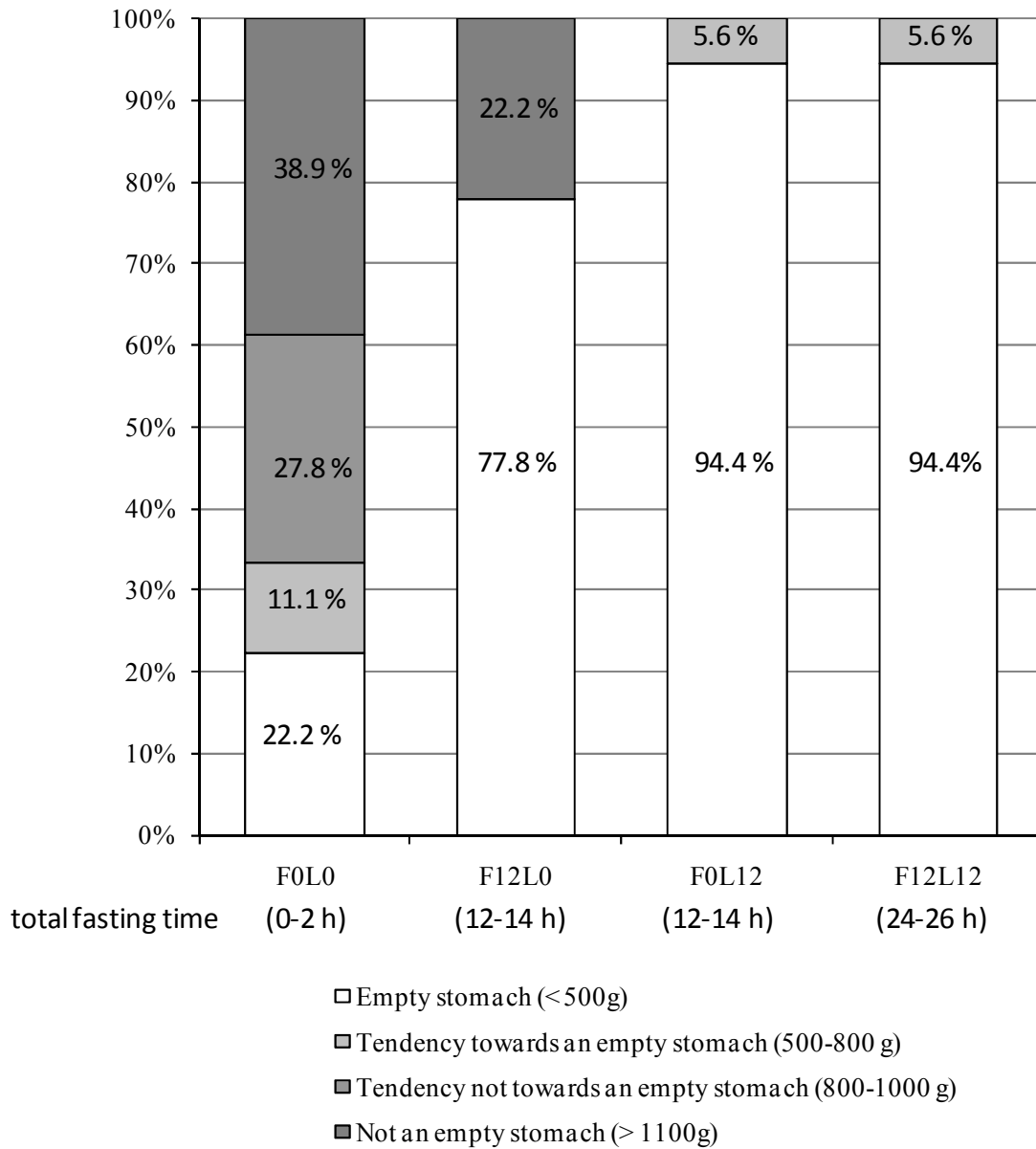
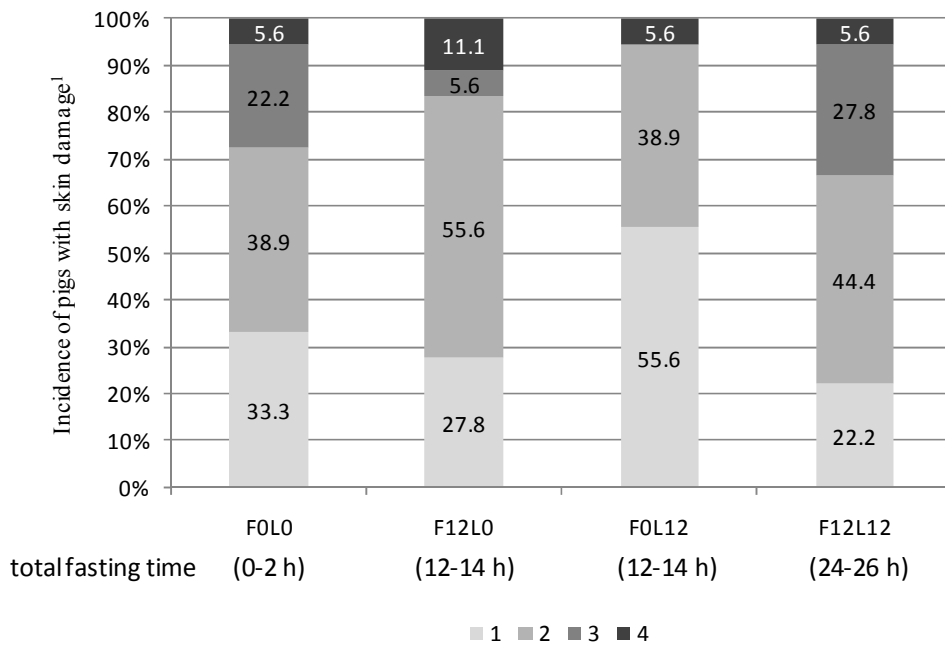


Figure IV.1-2. Stomach content categories¹ used to predict the length of time between last feeding and slaughter according to the fasting (F) and lairage (L) duration (Chevillon, 1994).



¹ Severity of skin damages were recorded according to MCL (1985): 1: none, 2: very slight blemish, 3: slight blemish, 4: moderate blemish, 5: severe blemish.

F0L0: on-farm fasting period of 0h and lairage of 0h; F12L0: on-farm fasting period of 12h and lairage of 0h; F0L12: on-farm fasting period of 0h and lairage of 12h; F12L12: on-farm fasting period of 12h and lairage of 12h.

Figure IV.1-3. Incidence (%) of skin damages according to on-farm fasting duration and lairage time.

1.8 Tables

Table IV.1-1. Least square means (LSM) and standard error (S.E.) of carcass, gastrointestinal and meat quality parameters according to on-farm fasting time (F, 0 or 12h) and lairage at the abattoir (L, 0 or 12h).

	On-farm fasting 0h	On-farm fasting 12h	Lairage 0h	Lairage 12h	Sig. ¹		
	LSM (S.E.)	LSM (S.E.)	LSM (S.E.)	LSM (S.E.)	F	L	FxL
<i>n</i>	36	36	36	36			
BW before on-farm fasting	98.6 (1.07)	99.6 (1.07)	96.6 (1.07)	101.6 (1.07)	ns	**	ns
BW after on-farm fasting	98.6 (1.06)	97.6 (1.06)	95.9 (1.06)	100.4 (1.06)	ns	**	ns
BW before slaughter	97.1 (1.11)	97.0 (1.09)	95.7 (1.08)	98.4 (1.12)	ns	*	ns
<i>Body weight losses</i>							
during on-farm fasting (%)	0.0 (0.15)	1.9 (0.15)	-	-	***	-	-
during lairage (%)	-	-	0.5 (0.21)	2.1 (0.22)	-	***	-
during fast and lairage (%)	1.5 (0.20)	2.8 (0.20)	1.2 (0.20)	3.1 (0.20)	***	***	ns
<i>Carcass quality traits</i>							
Carcass weight (kg)	80.8 (0.88)	81.6 (0.88)	79.2 (0.88)	83.2 (0.88)	ns	**	ns
Killing-out (%)	81.6 (0.28)	82.9 (0.34)	81.5 (0.34)	82.9 (0.34)	**	**	ns
Fat depth (FOM; mm) ²	11.8 (0.33)	12.0 (0.33)	11.9 (0.34)	11.9 (0.35)	ns	ns	ns
Carcass lean content (%)	58.3 (0.36)	58.4 (0.37)	58.3 (0.37)	58.4 (0.39)	ns	ns	ns
Skin damage ³	1.7 (0.15)	2.1 (0.15)	1.9 (0.15)	1.9 (0.15)	†	ns	ns
<i>Gastrointestinal tract</i>							
Gut content (kg)	5.90 (0.125)	5.04 (0.125)	5.98 (0.129)	4.96 (0.129)	***	***	ns
Stomach content (kg)	1.11 (0.077)	0.93 (0.077)	1.35 (0.079)	0.70 (0.079)	†	***	*
Empty stomach (kg)	0.58 (0.010)	0.58 (0.010)	0.60 (0.010)	0.56 (0.010)	ns	*	ns
<i>Meat quality traits</i>							
pH45 LT	6.16 (0.033)	6.25 (0.033)	6.18 (0.034)	6.24 (0.034)	†	ns	ns
pH45 SM	6.24 (0.035)	6.32 (0.035)	6.24 (0.035)	6.31 (0.035)	ns	ns	*
pHu LT	5.54 (0.013)	5.57 (0.013)	5.55 (0.014)	5.55 (0.014)	ns	ns	ns
pHu SM	5.57 (0.015)	5.59 (0.015)	5.58 (0.015)	5.58 (0.015)	ns	ns	ns
ECu LT (mS)	4.8 (0.28)	5.1 (0.28)	4.9 (0.28)	5.0 (0.28)	ns	ns	**
ECu SM (mS)	8.4 (0.34)	7.1 (0.34)	7.7 (0.34)	7.9 (0.34)	**	ns	***
DRIP (%)	7.11 (0.357)	6.29 (0.362)	6.81 (0.357)	6.59 (0.362)	ns	ns	ns
Colour- L*	48.71 (0.396)	47.80 (0.396)	48.33 (0.396)	48.18 (0.396)	ns	ns	ns

pH45: pH measured at 45 min *post-mortem*; pHu: pH measured at 24h *post-mortem*; ECu: Electrical conductivity measured 24h *post-mortem*; DRIP: loin drip loss; LT: *longissimus thoracis*; SM: *Semimembranosus*.

¹ ns: P>0.1; †: P<0.1; *: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001.

² Fat depth measured at last rib level with the Fat-o-Meater grading probe (FOM; mm)

³ Severity of skin lesions were recorded according to MCL (1985; 5-point scale; 1: none, 2: very slight blemish, 3: slight blemish, 4: moderate blemish, 5: severe blemish)

Table IV.1-2. Least square means (LSM) and Standard error (S.E.) of carcass and meat quality parameters according to the interaction between on-farm fasting time (F0 or F12) and lairage (L0 or L12).

	On-farm fasting 0h		On-farm fasting 12h		Sig.
	Lairage 0h	Lairage 12h	Lairage 0h	Lairage 12h	
	LSM (S.E.)	LSM (S.E.)	LSM (S.E.)	LSM (S.E.)	
<i>n</i>	18	18	18	18	-
<u>Gastrointestinal tract</u>					
Stomach content (kg)	1.57 ^a (0.111)	0.66 ^c (0.110)	1.13 ^b (0.110)	0.73 ^{bc} (0.111)	*
<u>Meat quality traits</u>					
pH45 SM	6.14 ^b (0.050)	6.33 ^a (0.050)	6.33 ^a (0.050)	6.30 ^{ab} (0.051)	*
ECu LT (mS)	4.13 ^b (0.400)	5.51 ^{ab} (0.400)	5.65 ^a (0.400)	4.52 ^{ab} (0.400)	**
ECu SM (mS)	7.38 ^{bc} (0.478)	9.50 ^a (0.478)	8.01 ^{bc} (0.478)	6.25 ^c (0.478)	***

pH45: pH measured at 45 min *post-mortem*; ECu: Electrical conductivity measured at 24h *post mortem*; DRIP: loin drip loss; LT: *longissimus thoracis*; SM: *Semimembranosus*.

¹ ns: P>0.1; *: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001.

Table IV.1-3. Incidence of meat quality conditions related to meat classes (PSE, PFN, RSE, RFN, DFD), and meat classes incidence according to the interaction between on-farm fasting time (F, 0 or 12h) and lairage (L, 0 or 12h).

	Fast 0h		Fast 12h		Sig (F×L)
	Lairage 0h	Lairage 12h	Lairage 0h	Lairage 12h	
<i>n</i>	18	18	18	18	
<u>Meat quality traits in LT muscle</u>					
% pigs with pH ₄₅ ≤ 6.0	22.2	0	11.1	5.6	†
% pigs with pH _u ≤ 6	100.0	100.0	100.0	100.0	ns
% pigs with EC _u > 6.0	5.6 ^b	44.4 ^a	33.3 ^{ab}	11.1 ^b	*
% pigs with DRIP > 6.0	66.7 ^a	72.2 ^a	66.7 ^a	27.8 ^b	*
% pigs with CIE _L * > 50	11.1	33.3	33.3	16.7	ns
<u>Meat quality classes in LT muscle²</u>					
PSE (%)	11.1	22.2	11.1	13.3	ns
PFN (%)	0.0	11.1	16.7	0.0	-
RSE (%)	55.6 ^a	50.0 ^a	55.6 ^a	16.7 ^b	*
RFN (%)	33.3 ^b	16.7 ^b	16.7 ^b	72.2 ^a	*
DFD (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	-

PSE: pale, soft and exudative; RSE: red, soft and exudative; PFN: pale, firm and exudative; RFN: red, firm and no-exudative; DFD: dark, firm and dry; LT: longissimus thoracis; pH₄₅: pH measured 45 minutes *post-mortem*; EC_u: Electrical conductivity (mS); pH_u: pH measured at 24h *post-mortem*; DRIP: loin drip loss (%).

¹ ns: P>0.1; *: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001.

² See Materials and methods for more details.

Efecte de suplementos a la dieta: Efecte del carbonat de magnesi i L-triptòfan en el benestar animal i en la qualitat de la canal i de la carn.

4.2

2. Effect of supplementation with MgCO₃ and L-tryptophan on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn).

Panella-Riera, N., Dalmau, A., Fàbrega, E., Font i Furnols, M., Gispert, M., Tibau, J., Soler, J., Velarde, A., Oliver, M.A. & Gil, M.

Livestock Science, 2008, 115: 107-117.

Abstract

Sixty-one animals with different Halothane genes (homozygous halothane positive, n=34; and homozygous halothane negative, n=27) were fed with three diets (control group, with no supplement; magnesium (Mg) group with 1.28g MgCO₃/kg and tryptophan (Trp) group with 5g L-Trp/kg) during the last 5 days before slaughter. Animals were submitted to minimal stress *ante-mortem* conditions. Pig behaviour was recorded at the experimental farm, raceway to the CO₂ stunning system and during the stunning period. Corneal reflexes were recorded after stunning as well. There were no differences in feed intake among diets (p>0.05) during the 5 days of treatment. The halothane positive (nn) group had lower intake than the halothane negative (NN) group (p<0.01). The behaviour of the pigs in the raceway did not differ (p>0.05) among treatments or halothane genotype. A significant (p<0.001) interaction diet*halothane was found in the time to appear the first retreat attempt during the exposure to the CO₂ system. In the nn group, the time of performing the first retreat attempt was later in the Mg (p<0.05) than the Control group. Moreover, in the Mg group, the nn had a later (p<0.05) first retreat attempt than the NN. Thus, Mg supplementation could have a positive effect on welfare of nn pigs. The nn had a lower proportion of animals that showed corneal reflexes after stunning than NN, indicating a higher effectiveness of the stunning method in nn pigs. Neither Mg nor Trp affected carcass quality and meat quality parameters, although significant differences were found between genotypes.

2 Effect of supplementation with MgCO₃ and L-tryptophan on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn)

2.1 Introduction

The pre-slaughter handling of fattening pigs is one of the most stressful events and it has an important effect on the final carcass and pork quality (Gispert *et al.*, 2000a). It includes mixing unfamiliar animals, fasting, loading, transport, abattoir lairage and the stunning procedure. All of these are stressful factors which sometimes are difficult to alleviate. The most unpleasant situation for the pigs takes place during handling and transport before slaughter (Gispert *et al.*, 1996). Inappropriate handling results in lower animal welfare shown by skin damage and a higher mortality among the pigs. Moreover, it can lead to poorer pork quality such as PSE (*Pale Soft and Exudative*) and DFD (*Dark Firm and Dry*) meat.

Likewise, the stunning procedure used should be considered because it may modify the final carcass and pork quality (EFSA, 2004). In some countries, including Spain, the CO₂ stunning method has increased in popularity due to its positive effects on meat quality compared with the electrical method (Velarde *et al.*, 2001). In the CO₂ stunning dip-lift system, pigs are lowered directly into the maximum carbon dioxide concentration at the bottom of the pit inducing their unconsciousness (EFSA, 2004). It is a statutory requirement in Europe to use a minimum of 70% CO₂ (Directive 93/119/EC), however many slaughterhouses use between 83 and 90% CO₂ to increase throughput. Nevertheless, the use of carbon dioxide is questioned on welfare grounds because it has been described as an aversive gas (Raj & Gregory, 1995), causing irritation to the nasal mucosal membranes and lungs (Peppel & Anton, 1993), a sense of breathlessness and in many pigs it provokes escape attempts (EFSA, 2004).

The loss of consciousness is not immediate and several indicators of aversion during the induction of unconsciousness with CO₂ has been described in pigs (Raj & Gregory, 1995), such as escape attempts or retreat attempts (Dodman, 1977). Therefore, the stunning procedure can be considered as a stressful pre-slaughter stimulus and should be considered from the animal welfare and pork quality point of view.

Acute pre-slaughter stress may result in an increase in drip loss and paler meat (Grandin, 1980), producing PSE meat. The existence of PSE meat also has a genetic origin related to the halothane gene (n), also known as RYR1 gene. In fact, homozygous halothane positive (nn) and heterozygous (Nn) pigs have an abnormality in their muscle metabolism that makes them particularly sensitive to acutely stressful stimuli, causing a higher incidence of PSE meat (Jensen & Barton-Gade, 1985 and Oliver *et al.*, 1993). This abnormality does not exist in halothane negative (NN) pigs. Gispert *et al.* (2000b) stated that the frequency of the halothane gene (n gene, considering NN, Nn and nn pigs) in Spanish pigs was 32%, so that the removal of the Halothane gene (Nn and nn) from the Spanish pig population would decrease the incidence of PSE meat by 65% (Gispert *et al.*, 2000a). Furthermore, an eleven-fold reduction in mortality rates could be expected (Fàbrega *et al.*, 2002). However, at the moment halothane carriers are present amongst the Spanish slaughter pig population, because carcass conformation is considered a relevant trait for ham production. Accordingly, it is necessary to find a strategy to reduce the effects of acute pre-slaughter stress.

Stress associated effects on animal welfare and on pork quality may be reduced by including feed components such as Mg or Trp in the diet. Mg is reported to be an important cofactor in many enzymatic reactions involved in energy and protein metabolism and can counteract catecholamine effects in stress situations, and thus decrease the acute stress response resulting from handling prior to slaughter (Kietzmann & Jablonsky, 1985). The primary effect of Mg appears to be a reduction in neuromuscular stimulation due to its calcium antagonist effects (Rosenvold & Andersen, 2003), so it may control intracellular calcium (Laver *et al.*, 1997). Peeters *et al.* (2005) reported that pigs subjected to vibration in a transport simulator after a Mg supplementation spent more time lying down. It may also delay the initiation of glycolysis by maintaining high energy phosphates *post-mortem* (Moesgaard *et al.*, 1993). Indeed, short-term supplemental Mg has been reported to improve pork water holding capacity (WHC), pork colour and pork texture (D'Souza *et al.*, 1998; Caine *et al.*, 2000; Frederick *et al.*, 2006). However, different results have been obtained when comparing the effect of Mg supplementation to carriers (Nn) and non-carriers (NN) of the Halothane gene (Apple *et al.*, 2000; Caine *et al.*, 2000).

The inclusion of Trp in the diet increases plasma Trp, brain Trp and brain serotonin concentration (Fernstrom & Wurtman, 1971) so it may affect mood regulation, feed

intake, behaviour, and sleep patterns (Leathwood, 1987). Trp supplementation may also improve muscular pH (Henry *et al.*, 1996) and reduce the incidence of PSE meat (Adeola & Ball, 1992 and Henry *et al.*, 1996). However, the evidence of a significant impact of Trp on meat quality is not conclusive. Guzik *et al.* (2006) reported poorer meat quality after a Trp supplementation although Li *et al.* (2006) found no significant effect when the Trp supplementation was used.

The aim of this study was to assess the effect of dietary supplementation with Mg and Trp on animal behaviour and welfare and on carcass and meat quality of pigs (NN and nn), in an experimental study carried out under non-stressful *ante-mortem* conditions. The study was carried out with NN and nn pigs because as mentioned previously a considerable percentage of Nn pigs are still present in the slaughter pig population in Spain. Therefore the study aimed at evaluate whether the use of natural tranquilizers could have a different effect depending on the genotype of the pigs.

2.2 Materials and methods

2.2.1 *Animals and diets*

Sixty-one entire male pigs were selected from a group of 72, after a DNA test (34 homozygous negative–NN- and 27 homozygous positive–nn- with respect to Halothane gene) from Landrace, Large White and Pietrain lines (average live weight: 102.6 ± 12.47kg). They were housed in 6 pens according to Halothane genotype (NN or nn) and dietary supplements (3 diets) in the experimental farm (IRTA-Monells, Spain). They were fed the same commercial diet (30% barley, 25% soy, 15% maize, 12% wheat and a vitamin/mineral source) until 5 days before slaughter. The diet contained 87.9% of dry matter, 18% of crude protein and 14.1 MJ/kg of digestible energy on fresh matter.

Five days before slaughter 3 diet groups were established for each genotype: control group, with no supplement; Mg group, same diet supplemented with 1.28g MgCO₃/kg (0.38% Mg); and Trp group, same diet supplemented with 5g L-tryptophan per kg (0.61% Trp). All pigs were allowed ad libitum access to feed and water through one single-hole self-feeder.

2.2.2 *Ante-mortem treatment and slaughter procedure*

The animals were submitted to the following *ante-mortem* conditions: they were transported without mixing groups in the lorry according to diet and genotype, taking 15

minutes from the farm to the experimental abattoir. The lairage time was from 1 to 3 hours. They were stunned with 90% CO₂ and slaughtered. Exsanguination, scalding, dehairing, and evisceration were performed according to standard procedures used in IRTA-Monells.

2.2.3 *Animal welfare and behaviour measurements*

During the stunning procedure. The animals from the 6 groups were slaughtered alternatively. Pigs were randomly separated, placed individually in the corridor and allowed to cross the corridor voluntarily. If after one minute the animal was reluctant to move, it was gently pushed into the crate.

The raceway was 412 cm long and 60 cm wide, allowing ease of movement but stopping the animal from turning around. It was also lined with steel panels of 90 cm height to prevent the animal from seeing out of the raceway. The gate of the CO₂ stunning system consists of a non-slip steel ramp of 148 cm length and a slope of 7° with a guillotine gate entrance at the end. The behaviour of each animal in the raceway was recorded with a video camera (CCD-TR820; Sony) located at the raceway entrance. The CO₂ stunning unit consisted of a dip-lift system (Butina Aps, Copenhagen, Denmark) that contained a crate 195 cm long, 90 cm high and 61 cm wide, with perforated floor to facilitate the distribution of the gas inside. After the pig entered the crate, the gate closed behind it and descended to the bottom of the pit taking 23 s, remained stationary for 86s and then ascended taking 23 s. The total cycle lasted 132 s. The behaviour of the pigs during the descent into the pit was also recorded with a second video camera (CCD-TR820; Sony) placed on the roof of the crate.

Behavioural parameters were scored in the raceway: presence of retreat attempts (when the pig backed away; Dodman, 1977), voluntary movement (the handling of the animals was scored as 0 if the pig moved voluntarily or 1 if the animal was gradually forced to enter the crate) and time taken to cross the raceway and enter to the crate.

During the exposure to the CO₂, behavioural parameters were also scored to determine the aversion to the gas: presence of retreat attempts, first retreat attempt (time to perform the first retreat attempt in the CO₂ unit), presence of gasp (number of very deep breaths through a wide open mouth, which may involve stretching of the neck; which was considered to be an indicator of the onset of breathlessness; Lambooij *et al.*, 1999), first gasp (time to perform the first gasp), presence of escape attempts (number of fast running movements across the stunning box and sometimes raising their forelegs on the

side of the wall of the crate either prior to, or at the time it was losing its posture; Raj & Gregory, 1996), first escape attempt (time to perform the first escape attempt) and time of loss of posture (it was considered when the animal fell in the crate, and was recorded as the first indicator of onset of unconsciousness; Raj & Gregory, 1996).

All recording times were synchronised with the time the pigs started to descend into the well.

After the stunning procedure, corneal reflexes were recorded by touching the cornea of the open eye with a pencil at 15-second intervals until one minute after ending the stunning procedure. If the eyelid closed when the eye was touched with a pencil, the corneal reflex was recorded as a positive, indicating that the brainstem was responsive (EFSA, 2004). The stun-stick interval was 23.3 ± 2.43 s.

2.2.4 *Chemical analysis of feed*

Feed was analyzed for Mg and Trp concentration in all diets (Table IV.2-1).

2.2.5 *Measurements of carcass and meat quality*

The carcass weight (kg) was determined individually. Carcass grading was carried out using the Fat-o-Meater grading probe (FOM) in the left side of the carcass. Carcass lean percentage was estimated using the Spanish official equation (Gispert & Diestre, 1994).

On line measurements. The left side of the carcass was used to perform meat quality measurements on the *Longissimus thoracis* (LT) and *Semimembranosus* (SM) muscles. Muscle pH at 45 min (pH45) and at 24h *post-mortem* (pHu) was measured using a portable pH-meter KNICK equipped with a Xerolyt electrode. Electrical conductivity at 24h *post-mortem* (ECu) was measured at the last rib level using a Pork Quality Meater (PQM-I, INTEK Aichach, Germany). Muscles (LT and SM) showing $\text{pH}_{45} \leq 5.8$ were classified as PSE meat (Honkavaara, 1988), whereas those presenting pHu values ≥ 6.00 were classified as DFD (Oliver *et al.*, 2001).

At 24h *post-mortem* the loin was removed from the left side of each carcass to take samples, which were vacuum-packed in aluminium bags and frozen at -20°C until analysis.

Drip loss measurements. Muscle samples from the LT muscle were collected at 24h *post-mortem*, at the 3/4 last rib level in the cranial direction, to determine drip losses, following the reference method supported by OECD (Honikel, 1996).

Meat colour. Colour measurements were carried out at the last rib section with a Spectrophotometer Minolta 2002 on the CIELab space (CIE, 1976) using illuminant D65 and 10 ° standard observer.

Intramuscular fat. Intramuscular fat was analysed by Near Infrared Transmittance (NIT, Infrared, 1265, Tecator) spectroscopy (Gispert *et al.*, 1997) in the LT muscle..

Cathepsin activity. Samples for Cathepsin activity measurements were taken in the LT and SM muscle at 24h *post-mortem*. After removing the subcutaneous fat and connective tissue, muscles were ground and kept at -20 °C until further analysis. Cathepsins were extracted according to the method of Etherington *et al.* (1990). Cystein proteinases B and L were assayed fluorimetrically using the method of Etherington & Wardale (1982). One unit activity was defined as the amount of enzyme hydrolysing 1 nmol of substrate min⁻¹ at 37 °C. Protein concentration of the enzymatic extracts was determined by the method of Lowry *et al.* (1951) using bovine serum albumin as standard.

Texture analysis. Instrumental tenderness was determined on boneless loin chops (*Longissimus thoracis*). Pork chops were thawed for 24h at 4 °C in their vacuum-packed aluminium bag and then cooked in a convection oven pre-heated to 110 °C to an internal temperature 75 °C. Chops were allowed to come to room temperature before a minimum of six pieces 3.0x1.5x1.5 cm were removed per chop. All pieces were sheared using a MTS Alliance RT/5 texture analyzer (MTS System Corp., Eden Prairie, MN, USA) equipped with a Warner Bratzler blade with crosshead speed set at 2 mm/s, and peak load (kg), modulus (kg.mm⁻¹) and peak energy (kg.mm) were recorded.

2.2.6 *Statistical analysis*

Statistical analysis was performed using the computer software Statistical Analysis System (SAS, 2001).

Animal welfare observations are count data (number of retreat attempts), time intervals (time taken to enter the crate, time to first retreat, time to first gasp, time to loss of posture, time to onset of escape attempts) and binary data (voluntary movement, presence of retreat attempts and presence of escape attempts). A Chi Square test was applied to compare the distribution of the frequencies of behavioural parameters (count data) according to the halothane genotype or the diet. In the case of the number of observations being less than 5, the Chi Square could not be performed. In these cases, count data were analysed by the PROC GLM procedure. The fixed effects included in

the model were genotype, diet and their interaction. Differences among diets and genotypes were tested using the Tukey test.

Carcass parameters and meat quality parameters were analysed using the GLM procedure. Genotype and diet were considered as fixed effects (the interaction was not significant in any of the carcass and meat quality variables studied). The day effect was included in the model as a blocking effect and carcass weight was included as a covariate when it was significant. Differences among diets or genotypes were tested using the Tukey test. Significance was fixed at $P < 0.05$.

The experiment was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) of IRTA.

2.3 Results

2.3.1 *Animal behaviour and welfare in the experimental abattoir*

Behaviour of the pigs in the raceway is presented in Table IV.2-2. No significant differences ($P > 0.05$) were found among diets or genotypes in percentage of pigs showing retreat attempts, moving voluntarily to the crate or in the time to cross the raceway.

As shown in Table IV.2-3, no significant differences ($P > 0.05$) were observed among diets or genotypes in behavioural parameters evaluated in pigs in the CO₂ stunning unit. The incidence of animals showing retreat attempts, gasping and escape attempts did not differ among treatments ($P > 0.05$). Furthermore, no differences were observed among treatments or genotypes in the time to perform the first gasp, the first escape attempt and the duration of them. The behaviour observed during the CO₂ exposure is shown in figure IV.2-1. The first behavioural parameter observed was the time to perform the first retreat attempt (4.55 ± 3.167 s). Pigs showed the first gasp at 11.28 ± 3.728 s and they lost their posture at 22.85 ± 4.638 s.

A significant interaction ($P < 0.001$) among diets and genotypes was found in the time to perform the first retreat attempt (Table IV.2-4). In nn animals, the time to perform the first retreat attempt was longer in Mg group than in Control one ($P < 0.05$), whereas in NN pigs the opposite result was obtained: pigs from Mg group took less time to perform the first retreat attempt than those from Control group ($P < 0.05$). In both cases Trp diet was in-between.

Comparing diets within genotypes, in control diet nn pigs went back earlier than NN ones ($P < 0.05$). The opposite behaviour was observed in Mg diet: nn animals took more time to perform the first retreat attempt ($P < 0.05$) than NN. Finally, no differences ($P > 0.05$) were found between NN and nn genotypes when a Trp diet was used.

At the end of the CO₂ exposure, presence of corneal reflexes was monitored for one minute to determine whether the pig was still losing consciousness, was already in an unconscious state or was regaining consciousness (Figure IV.2-1). No significant differences ($P > 0.05$) among diets were observed in the incidence of animals showing corneal reflexes, in any of the observations carried out at 0, 15, 30, 45 and 60s after the stunning procedure. With respect to HAL gene, a higher percentage ($P < 0.05$) of NN animals showed corneal reflexes in comparison with nn ones (32.4% vs. 7.4%). Furthermore, the NN group had a higher presence of corneal reflexes at 0s (Figure IV.2-2) but no differences were observed between 15 and 60s ($P > 0.05$).

2.3.2 *Carcass and meat quality*

There was no significant diet x genotype interaction ($P > 0.05$) in any carcass and pork quality measurements on the LT or SM. Accordingly, only the main effects are reported.

No significant effects were found among diets on carcass and meat quality parameters ($P > 0.05$). However, differences ($P < 0.001$) were found between genotypes in carcass and meat quality traits. The NN genotype had longer carcasses (83.87 vs. 76.35%), higher conformation (3.3 vs. 1.1) and lower lean content (55.3 vs. 60.5%) than the nn genotype. Furthermore, in comparison to NN pigs, nn pigs had lower pH₄₅ in both muscles (5.59 vs. 6.46 in LT muscle; 5.78 vs. 6.40 in SM muscle), higher electrical conductivity (7.8 vs. 4.4 in LT muscle; 8.8 vs. 4.3 in SM muscle) and higher loin drip loss (10.47 vs. 5.78) and, therefore, these animals showed a higher incidence of PSE than NN pigs (74.1 vs. 8.8% in LT muscle and 96.3 vs. 11.8% in SM muscle).

Enzymatic activity was not affected by diet, but a significant genotype effect was observed. In general, nn pigs had higher enzymatic activity than NN pigs (Table IV.2-5). Similar results were found when instrumental texture variables are considered. No differences among diets ($P > 0.05$), but significant differences between genotypes were found ($P < 0.05$; Table IV.2-5), being the meat of the nn pigs harder than the meat from NN ones.

2.4 Discussion

2.4.1 *Animal behaviour in the experimental abattoir. Aversion to the exposure to the CO₂*

In the experimental abattoir, no significant differences were found among diets and between genotypes in the time taken to cross the raceway and enter the stunning system. Furthermore, in general, no differences were found during the stunning procedure even though a diet-by-genotype interaction was observed in the time taken to perform the first retreat attempt in the crate. It is known that when pigs are confronted with an unpleasant situation, such as the CO₂ stunning procedure, the first reaction is to back away (Dodman, 1977). Although no differences among diets and genotypes were found, the presence of retreat and escape attempts indicated aversion to the exposure of a high concentration of CO₂ (Raj & Gregory, 1995; Velarde *et al.*, 2007). Furthermore, although gasping is not considered an expression of aversion, it may compromise animal welfare as it is a physiological reaction associated with breathlessness during the inhalation of the gas (Raj & Gregory 1996; Lambooij *et al.* 1999).

Velarde *et al.* (2007) stated that pigs carrying the halothane gene (Nn) were relatively more sensitive to exposure to CO₂, showing a higher incidence of aversive behaviour than halothane negative pigs (NN). Although the present study was performed using halothane positive (nn) and free-gene halothane negative pigs (NN), no differences were observed between them. The halothane gene is linked to a higher susceptibility to stress (Fàbrega *et al.*, 2002), but under the minimal stress conditions used in the present study, differences between NN and nn pigs could be difficult to identify.

Halothane carriers are still present amongst the Spanish slaughter population because carcass conformation is considered a relevant trait for ham production. According to our results, Mg supplementation may have a positive effect on nn pigs, because it delays the time of performing the first retreat attempt with respect to the nn control group. However, Mg could have a negative effect on NN pigs because NN pigs from the Mg group performed the first retreat attempt earlier than the NN control ones. Therefore, the efficacy of an Mg supplementation may be dependent on pigs' genotype. To our knowledge, there is no information available on the effect of Mg or Trp during the CO₂ stunning procedure.

It is well established that nn pigs have a mutation in the RYR1 gene which codifies the calcium release channel of the sarcoplasmic reticulum by the skeletal muscle (Fuji *et al.*, 1991). The mutation is related to an increase in the intracellular calcium levels, and Mg (from the Mg supplementation) may control the release of this intracellular calcium (Laver *et al.*, 1997).

The stunning procedure before slaughter is performed to induce unconsciousness and insensibility in animals so that slaughter can be performed avoiding, as much as possible, animal suffering. The loss of consciousness is gradual until it reaches anaesthesia deep enough to be slaughtered without experience pain or stress. In the present study the absence of corneal reflexes was used to assess the effectiveness of the CO₂ stunning in Mg and Trp groups. The corneal reflex is generally the last reflex to disappear during the loss of consciousness and it is likely that the animal is not sensible to pain when they are absent (EFSA, 2004). At the exit of the stunning, still 20% of the pigs showed corneal reflexes. This reflex disappeared up until 40 seconds from the exit of the stunning procedure. So the anaesthesia of the pigs became deeper after the stunning and they all reached maximum unconsciousness after 40 seconds, which could be considered the best moment to kill them. Although no differences among diets were observed regarding the presence of corneal reflexes, differences between genotypes were found. Our results indicated that the consciousness was lighter for the NN pigs than nn ones, so the probability of recovery from unconsciousness before death was higher in NN than in nn. In agreement with our results, Velarde *et al.* (2007) reported a reduction of the onset of unconsciousness in pigs containing the halothane gene (Nn) in comparison to NN.

Exposure to carbon dioxide induces hyperventilation in pigs before the onset of unconsciousness (Raj & Gregory, 1996). Forslid (1992) reported that this faster and deeper respiration is an advantage because it facilitates uptake of CO₂ and shortens the induction of unconsciousness, which could be an advantage from an animal welfare point of view. On the other hand, Schaefer *et al.* (1987) suggested that halothane positive pigs displayed a higher hypercapnic condition characterized by high venous levels of CO₂, bicarbonate and base excess than either Nn or NN genotypes. Therefore, either the increase in respiratory frequency or the increase of blood CO₂ may induce unconsciousness earlier in nn pigs than in NN pigs.

2.4.2 *Carcass and meat quality*

Some discrepancies exist in previous works with respect to the effect of dietary Mg supplementation when comparing carriers and non-carriers of the halothane gene (Caine *et al.*, 2000). Schaefer *et al.* (1993) pointed out that stress-susceptible pigs (in particular, heterozygous carriers of the halothane gene) may benefit the most from the supplementary Mg. Since the interaction between genotypes and diets was not significant, no differences between NN and nn pigs were found in the effect of Mg and Trp on carcass quality.

The length of the supplementation seems to be critical for the carcass and meat quality. Supplemental Mg or Trp in the diets of growing-finishing pigs during 5 days had no appreciable effect on carcass traits. A five-day treatment with Mg or Trp was not enough to improve carcass traits such as yield and lean content. This is consistent with the observations reported by Hamilton *et al.* (2002) and Adeola & Ball (1992) when a short term supplementation with Mg or Trp was used. In contrast, Apple *et al.* (2000) reported an increase of lean content after a long-term supplementation when magnesium mica was included in the starter, grower and finisher diets. Trp has been shown to increase protein synthesis in the liver of pigs (Cortamira *et al.*, 1991) but feeding crystalline Trp to pigs above their perceived nutritional requirement has not been shown to have a beneficial effect on growth performance (Adeola & Ball, 1992). Therefore, given the short time period of supplementation (one week) it is unlikely that Mg or Trp significantly increases protein or lipid deposition and thus probably does not affect carcass yield. On the other hand, significant differences were found between genotypes as was expected. The halothane gene has been associated with a higher carcass lean content and better conformation in nn pigs compared to NN ones, due to lower fat and bone proportions and better carcass weight distribution (Oliver *et al.*, 1993).

In agreement with our results, some authors did not find any improvement in pH₄₅ using Mg short-term supplementation (Frederick *et al.*, 2006) even though others suggested an improvement of initial pH values and of pork colour, and a reduction of the drip losses and of the incidence of PSE pork (Schaefer *et al.*, 1993; D'Souza *et al.*, 1998; Hamilton *et al.*, 2002).

On the other hand, regarding the use of dietary triptophan, results of the present study agree with those of Guzik *et al.* (2006) and Li *et al.* (2006) that indicated that the use this aminoacid is not beneficial to meat quality and it could even have a stimulatory

effect instead of a sedative one. Adeola & Ball (1992) found a reduction of PSE pork in finishing pigs supplemented with Trp 5 days before slaughter. Therefore, further research is required to elucidate the effect of short-term Mg and L -Trp supplementation. The negative effect of the halothane or RYR1 gene on meat quality has long been recognised. Accordingly, RYR1 gene significantly affected meat quality traits (initial muscle pH, electrical conductivity, colour and the incidence of PSE) with the exception of ultimate muscle pH (Jensen & Barton-Gade, 1985; Gispert *et al.*, 2000b).

There is no evidence that Mg supplementation may modify *post-mortem* proteolysis and tenderization (Schaefer *et al.* 1993; Panella *et al.*, 2005). Although Ertbjerg *et al.*, (1999) found a relationship between the loin tenderness and the activity of proteolytic enzymes such as cathepsins, this relation was not found in the present study since correlations between cathepsins activity and shear force values were not significant (data not shown). In the present study, differences between genotypes were found in the cathepsin activities in the SM and LT muscle, in accordance with other authors that suggest a genetic component in the variability of the proteolytic enzyme (Hernández *et al.*, 2004; Plastow *et al.*, 2005). Similarly, shear force values may vary with the RYR1 gene, since nn pigs showed significantly higher values ($p < 0.05$) than NN pigs (Murray *et al.*, 1989; Moelich *et al.*, 2003). In contrast, De Smet *et al.* (1996) found no differences between these genotypes.

Although the study was performed under minimal stress conditions, the incidence of PSE meat was relatively high. This confirmed the negative effect of the RYR1 gene on meat quality traits, and suggested that the supplementation with natural tranquillizers should not be used as a substitute for good *ante-mortem* handling.

Further research is required to elucidate the effect of Mg and Trp on animal welfare, carcass and meat quality. Increased concentrations of Mg immediately before slaughter may improve meat quality by decreasing the acute stress response resulting from handling prior to slaughter (Kietzmann & Jablonsky, 1985). Accordingly, increasing Trp intake immediately before slaughter may also improve meat quality by increasing serotonin and reducing stress, and allowing the glycogen stores to remain at a high level. However, because of the fasting that commonly occurs before slaughter, the diet may not play an important role in affecting the stress response. Therefore, greater concentrations of dietary Mg or L -Trp, a combination of different tranquillizers or the supplementation via drinking water may be necessary to improve meat quality.

Further studies are required under commercial conditions or using different chemical compounds, or a combination of Mg and Trp to obtain a reduction in the incidence of PSE meat.

2.5 Conclusions

Supplementation of Mg in the diet of pigs could have a positive effect on animal welfare of nn pigs, decreasing the aversion to the CO₂ gas. On the other hand, the exposure to 90% of CO₂ during 132s induced unconsciousness in the nn pigs earlier than in the NN ones, indicating that the gas could be more effective on nn animals.

None of the treatments had an effect either on the carcass parameters (back fat thickness and lean content) or on the meat quality traits although they were affected by the halothane gene.

The supplementation of magnesium carbonate or Trp for 5 days before slaughter failed to show any beneficial effects on meat quality traits when minimal stress *ante-mortem* conditions were used.

2.6 References

- Adeola, O., Ball, R.O., 1992. Hypothalamic Neurotransmitter Concentrations and Meat Quality in Stressed Pigs Offered Excess Dietary Tryptophan and Tyrosine. *J. Anim. Sci.* 70, 1888-1894.
- Apple, J.K., Maxwell, C.V., de Rodas, B., Watson, H.B., Johnson, Z.B., 2000. Effect of magnesium mica on performance and carcass quality of growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 78, 2135-2143.
- Caine, W.R., Schaefer, L.A., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2000. Behaviour, growth performance and pork quality of pigs differing in porcine stress syndrome genotype receiving dietary magnesium aspartate hydrochloride. *Can. J. Anim. Sci.* 80, 175-182.
- CIE., 1976. Commission Internationale de l'Éclairage. Colorimetry. Vienna, Austria, Bureau Central de la CIE. Publication n° 15.
- Cortamira, N.O., Sève, B., Lebreton, Y., Gainer, P., 1991. Effect of dietary tryptophan on muscle, liver and whole-body protein synthesis in weaned piglets: relationship to plasma insulin. *Br. J. Nutr.* 66, 423-435.

- De Smet, S.M., Pauwels, H., de Bie, S., Demeyer, D.I., Callewier, J., Eeckhout, W., 1996. Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of Belgian Slaughter Pigs. *J. Anim. Sci.*, 74, 1854-1863.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Leury, B.J., Dunshea, F.R., 1998. The Effect of Dietary Magnesium Aspartate Supplementation on Pork Quality. *J. Anim. Sci.* 76, 104-109.
- Dodman, N.H., 1977. Observations on the use of wernberg dip-lift carbon dioxide apparatus for pre-slaughter anaesthesia of pigs. *Br. Vet. J.* 133, 71-80.
- EFSA. 2004. Welfare aspects of Animal Stunning and Killing methods. Scientific report of the Scientific panel for animal health and welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of animal stunning and killing methods. Question n° EFSA-Q-2003-093. Accepted on the 15th on June 2004. Available on 14/12/06 at URL: http://www.efsa.eu.int/science/ahaw/ahaw_opinions/495/opinion_ahaw_02_ej45_stunning_report_v2_en1.pdf.
- Ertbjerg, P., Henckel, P., Karlsoon, A., Larsen, L.M., Moller, A.J., 1999. Combined effect of epinephrine and exercise on calpain/calpastatin and catheptin B and L activity in porcine Longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 77, 2428-2436.
- Etherington, D.J., Wardale, R.J., 1982. The mononuclear cell population in rat leg muscle: its contribution to the lysosomal enzyme activities of whole muscle extracts. *J Cell Sci.* 58, 139-148.
- Etherington, D.J., Taylor, M.A.J., Wakefield, D.K., Cousins, A., Dransfield, E., 1990. Proteinase (cathepsin B, D, L and calpains) levels and conditioning rates in normal, electrically stimulated and high-ultimate pH chicken muscle. *Meat Sci.* 28, 99-109
- Fàbrega, E., Diestre, A., Carrión, D., Font, J., Manteca, X., 2002. Effect of the halothane gene on pre-slaughter mortality in two Spanish commercial pig abattoirs. *Anim. Welf.* 11, 449-452.
- Fernstrom, J.D., Wurtman, R.J., 1971. Brain-serotonin content: Physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science* 173, 149-152.
- Forslid, A., 1992. Muscle spasms during pre-slaughter CO₂-anaesthesia in pigs. *Fleisch.* 72, 167-168.

- Frederick, B., van Heugten, E., Hanson, D.J., See, M.T., 2006. Effects of supplemental magnesium concentration of drinking water on pork quality. *J. Anim. Sci.* 84, 185-190.
- Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., Leon, S.D., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P.J., MacLennan, D.H., 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* 253, 448-451.
- Gispert, M., Diestre, A., 1994. Classification of pig carcasses in Spain: a step towards harmonization in the European Community. *Tecni-Porc* 17, 29-32.
- Gispert, M., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 1996. La mortalidad durante el transporte y la espera en porcinos destinados al sacrificio. *Eurocarne* 45, 73-79.
- Gispert, M., Valero, A., Oliver, M.A., Diestre, A., 1997. Problemas asociados a la falta de grasa en las canales porcinas. *Eurocarne* 61, 27-32.
- Gispert, M., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 2000a. La calidad de la carne porcina. *ANAPORC* 200, 76-80.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggins, K., Harvey, K., Diestre, A., 2000b. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.* 55, 97-106.
- Grandin, T., 1980. The effect of stress on livestock and meat quality prior to and during slaughter. *Int. J. Study Anim. Probl.* 1(3), 313.
- Guzik, A.C., Matthews, J.O., Kerr, B.J., Bidner, T.D., Southern, L.L., 2006. Dietary tryptophan effects on plasma and salivary cortisol and meat quality in pigs. *J. Anim. Sci.* 84, 2251-2259.
- Hamilton, D.N., Ellis, M., Hemann, M.D., McKeith, F.K., Miller, K.D., Purser, K.W., 2002. The impact of *Longissimus* glycolytic potential and short-term feeding of magnesium sulphate heptahydrate prior to slaughter on carcass characteristics and pork quality. *J. Anim. Sci.* 80, 1586-1592.
- Henry, Y., Sève, B., Mounier, A., Ganier, P., 1996. Growth Performance and Brain Neurotransmitters in Pigs as Affected by Tryptophan, Protein and Sex. *J. Anim. Sci.* 74, 2700-2710.

- Hernández, P., Zomeño, L., Ariño, B., Blasco, A., 2004. Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. *Meat Sci.*, 66, 525-529.
- Honikel, K.O., 1996. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chem.* 54(4), 573-582.
- Honkavaara, M., 1988. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. *Meat Sci.* 24, 201-207.
- Jensen, P., Barton-Gade, P.A., 1985. Performance and carcass characteristics with known genotypes for halothane susceptibility. Ludvigsen, J. B. (Eds.), *Stress susceptibility and meat quality in pigs*, European Association of Animal Production Publication. 33: 80-87.
- Kietzmann, M., Jablonski, H., 1985. Blocking of stress in swine with magnesium aspartate hydrochloride. *Prakt. Tierz.* 661, 331.
- Lambooj, E., Gerritzen, M.A., Engel, B., Hillebrand, S.J.W., Lankhaar, J., Pieterse, C., 1999. Behavioural responses during exposure of broiler chickens to different gas mixtures. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62, 255-265.
- Laver, D.R., Owen, V.J., Junankar, P.R., Taske, N.L., Dulhunty, A.F., Lamb, G.D., 1997. Reduced inhibitory effect of Mg⁺ on ryanodine receptor-Ca⁺ release channels in malignant hyperthermia. *Biophys. J.* 73, 1913-1924.
- Leathwood, P.D., 1987. Tryptophan availability and serotonin synthesis. *Proceedings of the Nutrition Society* 46(1), 143-156.
- Li, Y.Z., Kerr, B.J., Kidd, M.T., Gonyou, H.W., 2006. Use of supplementary tryptophan to modify the behaviour of pigs. *J. Anim. Sci.* 84, 212-220.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Moelich, E.I., Hoffman, L.C., Conradie, P.J., 2003. Sensory and functional meat quality characteristics of pork derived from three halothane genotypes. *Meat Sci.* 63, 333-338.
- Moesgaard, B., Larsen, I.E., Quistorff, B., Therkelsen, I., Christensen, V.G., Jorgensen, P.F., 1993. Effect of dietary magnesium on *post-mortem* phosphocreatine

- utilization in skeletal muscle of swine: A non-invasive study using ³¹P-NMR spectroscopy. *Acta. Vet. Scand.* 34, 397-404.
- Murray, A.C., Jones, S.D.M., Sather, A.P., 1989. The effect of preslaughter feed restriction and genotype for stress susceptibility on pork lean quality and composition. *Can. J. Anim. Sci.* 69, 83-91.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 1993. The effects of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Sci.* 35, 105-118.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Coll, C., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 2001. Incidencia de carne PSE y DFD en canales comerciales de cerdo en cinco mataderos españoles: influencia de factores antes del sacrificio. *Eurocarne* 100, 101-109.
- Panella, N., Font-i-Furnols, M., Tibau, J., Soler, J., Oliver, M.A., Gil, M., 2005. Effect of pig genotype and magnesium – tryptophan supplemented diets on the meat sensorial attributes and textural properties. 51st International Congress of Meat Science and Technology, Baltimore, Maryland USA.
- Peeters, E., Neyt, A., Beckers, F., Smet, S.M.D., Aubert, A.E., Geers, R., 2005. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *J. Anim. Sci.* 83, 1568-1580.
- Peppel, P., Anton, F., 1993. Responses of rat medullary dorsal horn neurons following intranasal noxious chemical stimulation: effects of stimulus, intensity, duration, and interstimulus interval. *J. Neurophysiol.* 70, 2260-2274.
- Plastow, G.S., Carrión, D., Gil, M., Garcia-Regueiro, J.A., Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Oliver, M.A., Velarde, A., Guàrdia, M.D., Hortós, M., Rius, M.A., Sárraga, C., Díaz, I., Valero, A., Sosnicki, A., Klont, R., Dornan, S., Wilkinson, J.M., Evans, G., Sargent, C., Davey, G., Connolly, D., Houeix, B., Maltin, C.M., Hayes, H.E., Anandavijayan, V., Foury, A., Geverink, N., Cairns, M., Tilley, R.E., Mormède, P., Blott, S.C., 2005. Quality pork genes and meat production. *Meat Sci.* 70 (3), 409-421.
- Raj, A.B.M., Gregory, N.G., 1995. Welfare implications of the gas stunning of pigs 1. Determination of aversion to the initial inhalation of carbon dioxide or argon. *Anim. Welf.* 4, 273-280.

- Raj, A.B.M., Gregory, N.G., 1996. Welfare implications of the gas stunning of pigs 2. Stress of induction of anaesthesia. . Anim. Welf. 5, 71-78.
- Rosenvold, K., Andersen, H.J., 2003. Factors of significance for pork quality-a review. Meat Sci. 64, 219-237.
- SAS, 2001. SAS for Windows release v.8.2. Cary, North Carolina, USA. SAS Institute Inc.
- Schaefer, A.L., Doornenba, H., Tong, A.K.W., Murray, A.C., Sather, A.P., 1987. Effect of time off feed on blood acid-base homeostasis in pigs differing in their reaction to halothane. Can. J. Anim. Sci. 67, 427-436.
- Schaefer, A.L., Murray, A.C., Tong, A.K.W., Jones, S.D.M., Sather, A.P., 1993. The effect of *ante-mortem* electrolyte therapy on animal physiology and meat quality in pigs segregating and the halothane gene. Can. J. Anim. Sci. 73, 231-240.
- Velarde, A., Gispert, M., Faucitano, L., Alonso, P., Manteca, X., Diestre, A., 2001. Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. Meat Sci. 58, 313-319.
- Velarde, A., Cruz, J., Gispert, M., Carrión, D., de la Torre, L.R., Diestre, A., Manteca, X., 2007. Aversion to carbon dioxide stunning in pigs: effect of the carbon dioxide concentration and the halothane genotype. Anim. Welfare 16, 513-522.

2.7 Figures

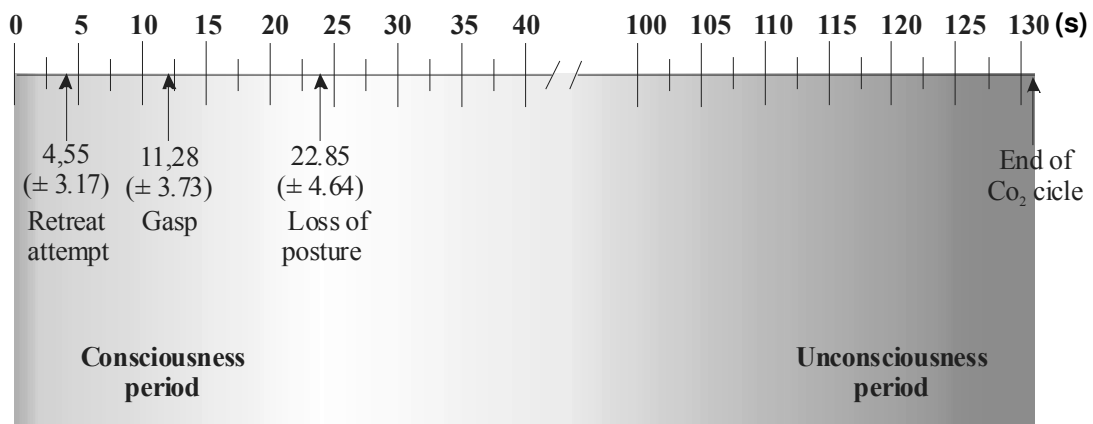


Figure IV.2-1. Pig behaviour during the exposure to CO₂ (90%, 132s). The values correspond to the least square means and standard error (in brackets) of the time (s) to perform the first retreat attempt, the first gasp and the loss of posture.

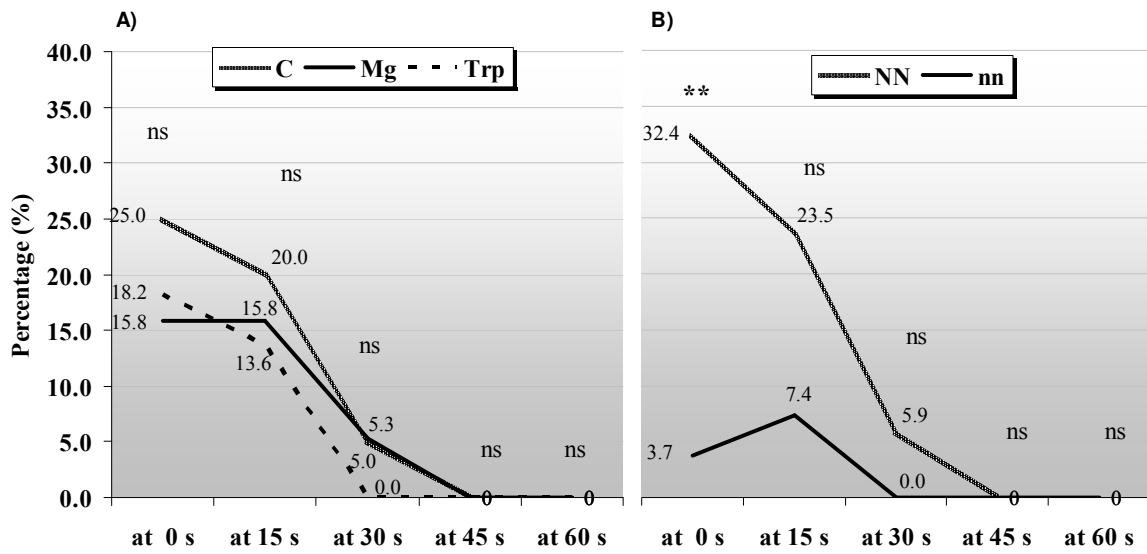


Figure IV.2-2. Incidence of pigs (%) showing corneal reflexes among diets (A) or halothane genotype (B). C: Control Diet; Mg: Control diet with Mg supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns:P>0.05 and **P<0.01.

2.8 Tables

Table IV.2-1. Magnesium and tryptophan concentration (g/100g fresh diet) in the control and supplemented diets.

	Control	Mg Supplemented	Trp Supplemented
Magnesium (%)	0.21	0.38	0.21
Tryptophan (%)	0.20	0.20	0.61

Table IV.2-2. Percentage of pigs showing retreat attempts and voluntary movement and time taken to cross the raceway according to three diets and two genotypes.

	Diet				Genotype			
	C	Mg	Trp	Sig	NN	nn	Sig	
Retreat attempts (%)	45.0	57.9	50.0	ns	50.0	51.85	ns	
Voluntary movement (%)	52.6	50.0	45.4	ns	56.2	40.7	ns	
Time to cross the raceway † (s)	LSM	244.4	248.1	243.0	ns	234.9	255.46	ns
	SE	(36.87)	(31.76)	(28.72)		(23.82)	(25.93)	

C: Control Diet; Mg: Control diet with Mg supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns: P>0.05.

† Least Square Means (LSM) and Standard Error (SE), in brackets.

Table IV.2-3. Aversion to CO₂: behavioural parameters evaluated on the pigs in the CO₂ stunning unit during the descent into the pit according to three diets and two genotypes.

		Diet			Sig	Genotype		
		C	Mg	Trp		NN	nn	Sig
Retreat attempts (%)		90.00	89.47	90.91	ns	91.18	88.89	ns
Gasp (%)		75.0	73.7	77.3	ns	79.4	70.4	ns
First Gasp [†] (s)	LSM	10.4	12.6	10.6	ns	11.88	10.57	ns
	SE	(0.94)	(1.00)	(0.88)		(0.70)	(0.84)	
Escape Attempts (%)		100.0	100.0	95.4	ns	97.1	100.0	ns
First Escape attempt [†] (s)	LSM	19.1	18.2	18.1	ns	18.1	18.9	ns
	SE	(0.70)	(0.72)	(0.68)		(0.54)	(0.60)	
Duration Escape attempts [†] (s)	LSM	3.9	3.9	5.1	ns	5.2	3.4	ns
	SE	(1.19)	(1.19)	(1.12)		(0.90)	(1.01)	
Loss of posture [†] (s)	LSM	23.1	22.0	23.2	ns	23.2	22.3	ns
	SE	(1.08)	(1.08)	(1.03)		(0.82)	(0.93)	

C: Control Diet; Mg: Control diet with Mg supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns:P>0.05

[†] Least Square Means (LSM) and Standard Error (SE), in brackets.

Table IV.2-4. Least square means (LSM) and Standard error (S.E.) of the time to perform the first retreat attempt during exposure to 90% CO₂ in atmospheric air, among diets and halothane genotype.

	NN		nn		Sig ⁺
	LSM	S.E.	LSM	S.E.	
Control Diet	6.30 ^a	0.908	2.25 ^b	1.015	**
Magnesium Diet	3.10 ^b	0.908	6.86 ^a	1.086	*
Tryptophan Diet	4.00 ^{ab}	0.866	5.11 ^{ab}	0.957	<i>ns</i>

C: Control Diet; Mg: Control diet with Mg supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; different letters within columns are significantly different ($P \leq 0.05$); *ns*, $P > 0.05$, * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$.

Table IV.2-5. Enzymatic activity variables † (cathepsin B and cathepsin B+L) and instrumental texture variables † after Warner-Bratzler Shear force test, among diets and halothane genotype.

	Diets				Genotype		
	C	Mg	Trp	Sig ⁺	NN	nn	Sig ⁺
<i>Enzymatic activity variables</i>							
CAT B (UE/ mg prot)							
SM	0.116 (0.0064)	0.11 (0.0066)	0.108 (0.0061)	ns	0.104 (0.0049)	0.12 (0.0055)	*
LT	0.050 (0.0032)	0.044 (0.0030)	0.046 (0.0028)	ns	0.041 (0.0023)	0.053 (0.0026)	***
CAT B+L (UE/ mg prot)							
SM	0.343 (0.0134)	0.332 (0.0139)	0.326 (0.0128)	ns	0.306 (0.0103)	0.362 (0.0116)	***
LT	0.261 (0.0168)	0.206 (0.0160)	0.227 (0.0148)	ns	0.214 (0.0123)	0.248 (0.0136)	ns
<i>Instrumental texture variables</i>							
Shear Force (N)	55.45 (3.062)	53.76 (3.181)	61.64 (2.920)	ns	51.98 (2.481)	61.91 (2.835)	*
Initial Yield Force (Ncm)	79.57 (4.004)	76.15 (4.117)	84.60 (3.817)	ns	74.74 (3.067)	85.48 (3.447)	*
Total Work (kg.s/cm ²)	7.38 (0.380)	7.01 (0.390)	8.08 (0.362)	ns	7.04 (0.291)	7.94 (0.327)	*

† Least Square Means and Standard Error (in brackets)

C: Control Diet; Mg: Control diet with Mg supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; CAT B: cathepsin B activity; CAT B+L: cathepsin B+L activity; SM: *Semimembranosus* muscle; LT: *Longissimus thoracis* muscle; +: ns, P>0.05, *P<0.05 and ***P<0.001.

Efecte de suplementes a la dieta: Efecte del sulfat de magnesi i L -triptòfan en el benestar animal i en la qualitat tecnològica i sensorial de la canal i de la carn.

4.3

3. Effect of magnesium sulphate and L -tryptophan and genotype on the feed intake, behaviour and meat quality of pigs.

Panella-Riera, N., Velarde, A., Dalmau, A., Fàbrega, E., Font i Furnols, M., Gispert, M., Soler, J., Tibau, J., Oliver, M.A. & Gil, M.

Livestock Science, 2009, 124:277-287.

Abstract

Sixty-nine entire male pigs with different halothane genotype (homozygous halothane positive – nn-, n=36; and homozygous halothane negative – NN-, n=33) were fed with a supplementation of magnesium sulphate (Mg) and/or L-tryptophan (Trp) in the diet for 5 days before slaughter. Animals were housed individually and were submitted to stressful *ante mortem* conditions (mixed in the lorry according to treatments and transported 1h on rough roads). Individual feed intake was recorded during the 5-day treatment. At the abattoir, pig behaviour was assessed in the raceway to the stunning system and during the stunning period by exposure to CO₂. Muscle pH, colour, water holding capacity, texture and cathepsin activities were determined to assess meat quality. The number of pigs with an individual feed intake lower than 2kg/day was significantly different among diets (P<0.05; Control: 8.7%; Mg&Trp: 43.5%; Trp: 17.4%) and they were considered to have inadequate supplement intake. During the *ante mortem* period, 15.2% of pigs included in the experiment died, and this percentage decreased to 8.7% in those pigs with a feed intake > 2kg/day, all of them from the stress-sensitive pigs (nn). In general, no differences were observed in the behaviour of pigs along the corridor leading to the stunning system and inside the CO₂ stunning system. During the stunning procedure, Trp diet showed shorter periods of muscular excitation than control and Mg&Trp diets. The combination of a stressful *ante mortem* treatment and Mg&Trp supplementation led to carcasses with high incidence of severe skin lesions. Different meat quality results were found when considering all pigs or considering only those with adequate supplement intake. In this later case, Trp increased pH₄₅ (6.15) vs Control diet (5.96) in the *Longissimus thoracis* (LT) muscle (P<0.05) and pH at 24h (Trp: 5.59 vs C: 5.47) led to a higher incidence of dark, firm and dry (DFD) traits in SM muscle (P<0.05). Genotype affected negatively all the meat quality traits. Seventy-five percent of LT and 60.0% of the SM muscles from nn pigs were classified as pale, soft and exudative (PSE), while none of the NN pigs showed these traits (P<0.0001). No significant differences were found between genotypes on the incidence of DFD meat.

Due to the negative effects observed in the Mg&Trp group in feed intake and carcass quality, the utilization of a mixture of magnesium sulphate and tryptophan is not recommended.

3 Effect of magnesium sulphate and L-tryptophan and genotype on the feed intake, behaviour and meat quality of pigs

3.1 Introduction

Carcass and meat quality of finishing pigs can be affected by genetics as well as by the pre-slaughter handling. During this period, pigs experience some of the most stressful situations in their life (Gispert *et al.*, 1996; Guàrdia *et al.*, 2004). The effect of the stress on the muscle metabolism is especially dramatic on the pigs carrying the halothane gene, *n*: nn pigs have a mutation in the RYR1 gene which codifies one of the calcium release channels of sarcoplasmic reticulum: the ryanodine receptor (Fujii *et al.*, 1991). This mutation makes pigs particularly sensitive to acute stress, which is the main cause of death before slaughter (Barton-Gade *et al.*, 1998) and of the development of pale, soft and exudative meat (PSE; Jensen & Barton-Gade, 1985; Oliver *et al.*, 1993). Despite these negative effects, the halothane gene is still used in Spanish commercial herds (Oliver *et al.*, 1993) because it enables producers to target carcass specifications of high value according to the price payment grids based on carcass weight and lean content (Gispert & Font i Furnols, 2007). Nevertheless, meat from halothane-free pigs (NN) submitted to pre-slaughter stressful stimuli can also become PSE (Honkavaara, 1988).

The stunning procedure may also modify the final carcass and pork quality (Channon *et al.*, 2000; EFSA, 2004). The CO₂ stunning system is one of the approved methods of stunning pigs in Europe (EC, 1993). Despite its positive effects on meat quality in comparison to the electrical stunning (Velarde *et al.*, 2001), it has been questioned on welfare grounds as CO₂ itself has been described as an aversive gas (Raj & Gregory, 1995).

Therefore, an adequate strategy is needed to avoid the negative effect of the *ante mortem* handling of pigs, especially those with the halothane gene. Some studies suggest that magnesium (Mg) or L-tryptophan (Trp) supplementation of the diet of pigs can help to alleviate it and improve meat quality (D'Souza, *et al.*, 1998; Kietzmann & Jablosnki, 1985; Peeters *et al.*, 2005). Mg is a cofactor essential in many metabolic pathways (Stryer, 1988), it depresses the muscular activity due to its antagonism

towards calcium and counteracts catecholamine effects in stressful situations by reducing levels of catecholamine in plasma (D'Souza, *et al.*, 1998; Kietzmann & Jablosnki, 1985). Some authors reported a positive effect of Mg supplementation on pig behaviour (Peeters *et al.*, 2005), water holding capacity of meat (WHC), pork colour and pork texture (D'Souza *et al.*, 1998; Caine *et al.*, 2000; Frederick *et al.*, 2006). Nevertheless, non conclusive results have been obtained when comparing the effect of Mg supplementation within carriers (Nn) and non-carriers (NN) of the Halothane gene (Apple *et al.*, 2000; Caine *et al.*, 2000; Panella-Riera *et al.* 2008).

Trp, as a precursor of serotonin (Fernstrom & Wurtman, 1971), has a potential sedative effect by promoting its synthesis in the brain (Leathwood, 1987). Contradictory results have been found with Trp supplementation with respect to meat quality: some authors claimed an increase of *post-mortem* muscle pH (Henry *et al.*, 1996) or a reduction of incidence of PSE meat (Adeola & Ball, 1992 and Henry *et al.*, 1996), while others reported no significant effect or even poorer meat quality (Guzik *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006).

A previous study reported the effect of magnesium carbonate (MgCO₃) and Trp on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn) under non-stressful conditions (Panella-Riera *et al.*, 2008). The aim of the present work was to evaluate the effect of dietary supplementation with magnesium and Trp on feed intake, mortality, animal behaviour and carcass and meat quality characteristics of NN and nn pigs under stressful *ante mortem* conditions.

3.2 Materials and methods

3.2.1 *Animals and diets*

Sixty-nine pure-breed entire male pigs were used in this study: 36 NN (24 Landrace and 12 Large White) and 33 nn (Pietrain), with an average live weight at slaughter of 108.5 ± 8.3kg. They were housed individually from the age of 90 to 150 days in pens with a space allowance of 4m², with visual and olfactory contact between each other. All were fed the same commercial diet (30.0% barley, 25.0% soy, 15.0% maize, 11.9% wheat and a vitamin/mineral source) until 5 days before slaughter. The diet contained 87.9% of dry matter and 14.1MJ/kg of digestible energy on fresh matter.

Five days before slaughter three diet groups were established for each genotype: Control group, with no supplement; Mg&Trp group, control diet supplemented with 1.2g

elemental Mg and 8g L-tryptophan per kg; and Trp group, control diet supplemented with 8g L-tryptophan per kg (Table IV.3-1). Diets were designed considering a minimum of feed intake of 2kg/day during the monitoring period (initial pig weight: 105.6 ± 7.0 kg). Individual feed intake was monitored for each pig during the 5 days prior to slaughter.

3.2.2 *Ante mortem treatment and slaughter procedure*

Two batches of 36 and 33 animals were slaughtered on two different days. The animals from each treatment were mixed in 6 different groups according to diet and genotype. The day before slaughter, pigs were fasted on-farm during 9h and then transported from the IRTA pig experimental station to the IRTA experimental abattoir for 1h on rough secondary roads. Lairage time for the first pig slaughtered was about 30 min and for the last one was 7h as they were slaughtered individually by exsanguination, after stunning with 90% CO₂. In each batch, the animals from the 6 groups were slaughtered alternatively (3 diets x 2 genotypes).

3.2.3 *Animal behaviour measurements*

Behaviour measurements were recorded along the corridor leading to the stunning system and in the CO₂ stunning unit following the procedure described by Panella-Riera *et al.* (2008). The raceway was 412 cm long and 60 cm wide, and it was lined with steel panels of 90 cm height to prevent the pig from seeing out of the raceway. It was divided into three different sections: raceway, ramp and entrance. Pigs were separated from the group, placed individually at the starting point of the raceway and allowed to cross the raceway to enter the CO₂ stunning crate. If after 1 min. the animal was reluctant to move, it was gently pushed into the next section. The following behavioural variables were scored in each section: presence of retreat attempts (when the pig backed away; Dodman, 1977), time to perform the first retreat attempt and time to cross each section (the time taken to cross the raceway, the entrance and the ramp).

The CO₂ stunning unit was a dip-lift system (Butina Aps, Copenhagen) that contained a crate (195 x 90 x 61 cm) with perforated floor to facilitate the distribution of the gas inside. The CO₂ concentration at the bottom of the crate was 90% by volume in atmospheric air. The stunning procedure lasted 132s (23s descending, 23s ascending and 86s at the bottom of the crate). Behavioural variables were monitored during the exposure to the CO₂ to determine the aversion to the gas: presence of retreat attempts,

first retreat attempt (time to perform the first retreat attempt in the CO₂ unit), presence of gasp (number of very deep breath through a wide open mouth, which may involve stretching of the neck and which was considered to be an indicator of the onset of breathlessness; Velarde *et al.*, 2007), first gasp (time to perform the first gasp), presence of muscular excitation (number of fast running movements across the stunning box and sometimes raising their forelegs on the side of the wall of the crate either prior to, or at the time it was losing its posture; Raj & Gregory, 1996), first and last muscular excitation (time to perform the first and last muscular excitation) and time of loss of posture (it was considered when the animal fell in the crate and was recorded as the first indicator of onset of unconsciousness; Raj & Gregory, 1996). The presence of gagging, as low frequency inhalations with its neck towards its front legs and, sometimes, emitting sounds similar to snore (Gregory *et al.*, 1987), was also recorded. All recording times were synchronised with the time the pigs started to descend into the well.

3.2.4 *Chemical analysis of feed*

The feed was analysed for crude protein, crude fibre, ether extract, humidity and ash according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990). Magnesium and Trp content were also determined (AOAC, 1990; Table 1).

3.2.5 *Measurements of carcass and meat quality*

After sticking, and when carcasses were hoisted on the bleeding rail, fresh scratches on the skin were inspected and subjectively scored according to their severity (Barton-Gade *et al.* 1996).

Carcass measurements.

The carcass weight (kg) without flare fat, kidneys and diaphragm was determined individually. Carcass grading was carried out using the Fat-o-Meat'er grading probe (FOM) in the left side of the carcass and carcass lean percentage was estimated using the Spanish official equation (Gispert & Diestre, 1994). Visual conformation was determined following the photographic model for EC Pig Grading Grid (1= very good conformation to 4= very poor conformation).

Meat quality measurements.

The left side of the carcass was used to perform meat quality measurements on the *Longissimus thoracis* (LT, at last rib level) and *Semimembranosus* (SM) muscles. Muscle pH at 45min (pH45) and pH at 24h (pHu) *post-mortem* (*pm*) were measured

using a portable pH-meter KNICK equipped with a Xerolyt electrode. Electrical conductivity at 24h *pm* (ECu) was measured using a Pork Quality Meater (PQM-I, INTEK Aichach, Germany). Muscles (LT and SM) showing $\text{pH}_{45} \leq 5.8$ were classified as PSE meat (Honkavaara, 1988), whereas those presenting pH_u values ≥ 6.00 were classified as DFD (Oliver *et al.*, 2001).

Sampling.

Samples from the LT muscle were collected at 24h *pm*, at the 3/4 last rib level, to determine drip losses, following the reference method supported by OECD (Honikel, 1996).

Colour measurements were carried out at the last rib level with a Spectrophotometer Minolta 2002 on the CIELab space (CIE, 1976) using D65 illuminant and 10° standard observer. Before the measurement, a slice of 0,2 mm was removed, and the colour was measured after 5 min blooming.

After chilling, at 24h *pm* the LT muscle was removed from the left side of each carcass to take the samples for posterior analysis of intramuscular fat, cathepsin activities and texture. Samples of SM muscle were also taken. They were vacuum-packed in aluminium bags and frozen at -20°C until analysis.

Intramuscular fat was analysed by Near Infrared Transmittance spectroscopy (NIT, Infrared, 1265, Tecator; Gispert *et al.*, 1997) in the LT muscle at the last rib level.

Cathepsin activity measurements were performed in the LT and SM muscles at 24h *pm*. After removing the subcutaneous fat and connective tissue, muscles were ground and kept at -20 °C until further analysis. Cathepsins were extracted according to the method of Etherington *et al.* (1990). Cystein proteinases B and L were assayed fluorimetrically using the method of Etherington and Wardale (1982). One unit activity was defined as the amount of enzyme hydrolysing 1 nmol of substrate min^{-1} at 37 °C. Protein concentration of the enzymatic extracts was determined by the method of Lowry *et al.* (1951) using bovine serum albumin as standard. Results are given in nIU ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g protein}^{-1}$).

Instrumental tenderness was determined on boneless LT muscle. Samples were thawed for 24h at 4 °C in their vacuum-packed aluminium bag and then cooked in a convection oven pre-heated to 110 °C to an internal temperature of 75 °C. Afterwards, they were allowed to come to room temperature before a minimum of six pieces 3.0x1.5x1.5 cm was removed per chop. All pieces were sheared using a MTS Alliance RT/5 texture

analyzer (MTS System Corp., Eden Prairie, MN, USA) equipped with a Warner Bratzler blade with crosshead speed set at 2 mm/s, and peak load (kg), modulus (kg.mm⁻¹) and peak energy (kg.mm) were recorded (Møller, 1980).

3.2.6 *Statistical analyses*

Statistical analysis was performed using the software Statistical Analysis System (SAS, 2001).

Behavioural data.

Behavioural observations were count data, time intervals and binary data. As data were not normally distributed, the statistical analysis was performed using Proc GENMOD of SAS with binomial, multinomial, Poisson or negative binomial distributions (Cameron and Trivedi, 1998). A binomial distribution with logit model as link function was used to analyse the incidence of pigs showing voluntary movement, presence of retreat attempts and presence of muscular excitation. A multinomial distribution with cumlogit model as link function was used in retreat attempts in the raceway, ramp entrance and the whole way and the time to perform the first retreat attempt in the stunning system. A Poisson distribution with log model as a link function was used with the time to perform the 1st sniffing, time to start the 1st and the last muscular excitation, time to loss of posture and the time to the first gasp. Negative binomial distribution with a log model as a link function was used for the time to cross the raceway, time to perform the 1st retreat attempt in the raceway, and time to perform the 1st gagging in the stunning unit. The effects studied were diets (Control, Mg&Trp, Trp) and genotype (NN, nn) and the interaction between them. Significance was fixed at P<0.05 in all cases. The residual maximum likelihood was used as a method of estimation. In the case of Poisson and negative binomial distributions, the least square means of fixed effects (LSMEANS) were used when analysis of variance indicated differences. In the case of multinomial distribution, the estimate statements were used.

Carcass and meat quality data.

Feed intake, carcass parameters and meat quality parameters were analysed using the GLM procedure. Genotype and diet were considered as fixed effects (the interaction was not significant in any of the carcass and meat quality variables studied). The day effect was included in the model as a blocking effect and carcass weight was included as a covariate when it was significant. Differences among diets or genotypes were adjusted with Tukey's honestly significant difference (HSD). Significance level was

fixed at $P < 0.05$, although significances at $P < 0.1$ were taken into account as a tendency in some cases. The least square means of fixed effects (LSMEANS) were used when analysis of variance indicated differences.

Two types of statistical analysis were used, the first one included all pigs in the model and the second one included only pigs with feed intake $> 2\text{kg/day}$.

3.3 Results

3.3.1 *Feed intake*

Table IV.3-2 shows the feed intake according to diets and genotypes. No differences among diets ($P > 0.05$) were found during the 5-day treatment on the daily feed intake, whereas NN pigs showed higher feed intake ($P < 0.001$) than nn (3.26 vs 2.13kg/day).

As stated above, diet supplements were included in the feed considering a minimum feed intake of 2kg/day in order to meet the appropriate dose of Mg and/or Trp. Table IV.3-2 also shows the number of pigs with feed intake higher and lower than 2kg/day (adequate and inadequate supplement intake, respectively). Diet supplements had a significant effect ($P < 0.05$) in both cases in the number of pigs showing adequate and inadequate supplement intake. When considering pigs with adequate feed intake ($> 2\text{kg/day}$), no differences in the daily feed intake were observed. However, there were significantly more pigs from the Mg&Trp group with feed intake lower than 2kg/day (Mg&Trp: 10 pigs vs C: 2 and Trp:4 pigs). Regarding genotypes, NN had higher feed intake than nn ones, and these differences were also observed when pigs with adequate supplement intake were considered (feed intake $> 2\text{kg/day}$).

Sixteen pigs showed feed intake lower than 2kg/d, 5 of them with extremely low values ($< 0.5\text{kg/d}$). Nine of the 16 pigs with feed intake $< 2\text{kg/day}$ had also a negative growth rate, 4 from the Trp group and 10 from the Mg&Trp group (Figure IV.3-1).

3.3.2 *Mortality*

The mortality rate during the *ante mortem* treatment is shown in Table IV.3-3. When considering all the animals, 5 pigs died, all from the stress-sensitive genotype (nn). Regarding diets, none of the dead pigs belonged to the Trp group, 2 pigs were from the Mg&Trp group (8.7%) and 3 from the control one (13.0%). Among pigs with an

adequate supplement intake (>2kg/day), 4.8% of Control and 7.7% of the Mg&Trp pigs died.

3.3.3 *Animal behaviour in the experimental abattoir*

Table IV.3-4 shows the behaviour of pigs in the corridor that led to the CO₂ stunning system, considering those pigs with a feed intake > 2kg/day. There were no differences in the proportion of pigs showing retreat attempts among diets (P>0.05) in the three sections of the raceway, and no differences were found when the whole way was considered. Genotype had a significant effect (P<0.05) on the proportion of pigs showing retreat attempts at the entrance of the CO₂ stunning system, as all the pigs that showed retreat attempts were NN pigs (NN: 20.6% ; nn: 0%).

The behaviour of the pigs was assessed in the CO₂ stunning unit during the descent into the pit. No differences were found between genotypes and among diets. The first behaviour exhibited was the time to perform the first retreat attempt (4.4 ± 0.3 s), followed by the sniffing (9.0 ± 0.4 s), and the gasping (22.1 ± 0.5 s). The loss of posture took place after 27.8 ± 0.8 s, and gagging took place at 47.8 ± 1.2 s. Muscular excitation began at 21.6 ± 0.4 s, finished at 35.5 ± 0.8s and lasted 13.5 ± 0.8s. No differences in the time to begin muscular excitation among diets were observed, but a significant effect was found in the duration (P<0.001): Trp pigs showed shorter muscular excitation than other diet groups (Trp: 9.9s vs C: 16.6 and Mg&Trp: 14.0s).

3.3.4 *Carcass and meat quality*

Diet supplements did not have any effect (P>0.05) on the carcass quality variables considering those pigs with feed intake > 2kg/day (Table IV.3-5). No differences among diets were found in any of them. Besides, genotype had a significant effect (p<0.001) on almost of the carcass variables (body weight, lean content, carcass length, fat depth at last rib level and conformation,). Carcasses from nn pigs were shorter, leaner, showed higher conformation and had less fat depth at last rib level than NN ones.

Carcass skin lesions were scored according to the procedure described by Barton-Gade *et al.* (1996). In general, no differences were found in the number of pigs showing skin lesions (Table 6). More than 85% of pigs had skin lesions, with no significant differences among diets and between genotypes. Regarding the severity of skin lesions,

significant differences were observed among diets. Mg&Trp pigs were more likely to show more intense skin lesions than C pigs.

Two different data sets depending on the feed intake were studied to analyse meat quality traits. The first one considered all pigs and the second one considered only pigs with feed intake higher than 2kg/day. Table IV.3-7 shows significance levels of meat quality traits considering both statistical analyses, according to diet or halothane gene effect. When considering all the pigs the diet tended to affect pH values at 24h in SM muscle (P= 0.010; C: 5.59, Mg&Trp: 5.79, Trp: 5.67), electrical conductivity in LT muscle (P= 0.09; C: 6.8, Mg&Trp: 7.0, Trp: 5.9mS), drip loss in LT muscle (P= 0.08; C: 8.7 , Mg&Trp: 7.6, Trp: 7.5%), and the L* value in LT muscle (P= 0.05; C: 54.08, Mg&Trp: 50.92, Trp: 51.22). However, when considering pigs with feed intake higher than 2kg/d, diet had only a significant effect on pH at 45 min in the LT muscle (C: 5.96, Mg&Trp: 5.96, Trp: 6.15; Table IV.3-6).

The same statistical analyses were performed on the incidence of PSE and DFD meat. Overall, in the LT muscle 34.9% of the carcasses showed PSE and 4.8% DFD traits. In the SM muscle, 28.6% of carcasses showed PSE and 11.1% showed DFD condition. Table 5 shows the percentage of pigs with feed intake > 2kg/day that showed PSE and DFD traits according to diets and genotypes. Diets did not affect the percentage of pigs with PSE traits in LT or SM muscles but affected the number of carcasses showing DFD traits in the SM muscle, with a higher percentage in the Trp group.

Genotype affected significantly most of the meat quality variables (Table IV.3-5 and Table IV.3-7). Similar significance levels were found either analysing data considering all pigs and considering only those with feed intake higher than 2kg/day, with the exception of the pH_{24h} in the SM muscle: considering all pigs, no differences were found (P=0.20) whereas a significant effect was observed with pigs eating more than 2kg feed/day, NN pigs showing higher pH₂₄ (P=0.02).

In comparison to NN pigs, nn ones showed lower pH at 45 min , lower pH at 24h, higher electrical conductivity and loin drip loss and higher value of L*, a* and b* variables than NN pigs (Table IV.3-5). A significant genotype effect was found in the percentage of pigs showing PSE traits (P<0.0001), 75.0% of LT and 60.0% of the SM muscles from nn pigs were PSE, while none of the NN pigs showed PSE traits (Table IV.3-5).

The activity of cathepsin B in LT muscle tended to be lower in the Mg&Trp and Trp groups than in the C group ($P=0.07$; Table IV.3-8). No significant effect was observed among diets in the activity of cathepsin B+L enzymes. Genotype affected cathepsin B+L activity in LT and SM muscles ($P<0.05$): nn pigs showed higher enzymatic activity than NN pigs; but no effect was found in cathepsin B enzymatic activity (Table IV.3-8). Texture measurements were performed on non-aged meat (frozen at 24h *pm*). The values of shear force (Warner-Bratzler test) neither depended on the diet supplements nor on the pig genotype ($P>0.1$).

3.4 Discussion

3.4.1 *Feed intake and mortality*

The transport between the farm and the experimental abattoir was performed under stressful conditions. As a result 5 pigs died, all of them being halothane positive (nn). Mortality during transportation to slaughter plant reflects the high levels of stress suffered by the pigs during the journey. A genetic susceptibility, as well as some inadequate procedures when loading pigs may add sufficient stress to poor transport conditions to result in deaths (Warris, 1998) and, as stated by Gispert *et al.* (1996), high mortality rates may lead to important economic losses. Our results are consistent with the fact that the halothane gene is related to a high sensitivity to stress (Fàbrega *et al.*, 2002) and that if nn pigs are submitted to minimal stressful conditions, losses before slaughter can be avoided (Panella-Riera *et al.*, 2008). In accordance with these results, Geers *et al.* (1994) and Pérez *et al.* (2002) also found a greater effect of the handling and transport before slaughter on nn pigs than on NN pigs.

In studies assessing the effect of a diet supplement, it is very important to consider the individual feed intake especially when the supplement is provided through the feed. In the present study, the feed intake was measured individually during the 5-day treatment. Supplemented feeds were designed considering a minimum feed intake of 2kg/day for pigs with a live weight of 105.7 ± 7.0 kg (Fàbrega *et al.*, 2003). Therefore, pigs with feed intake lower than 2kg/day did not ingest enough supplements, Mg and/or Trp. When considering pigs with the desired supplement intake, only 2 died, one from the control group and the other one from the Mg&Trp group. Further research should be carried out to ascertain whether there is any relationship between the mortality of pigs and the Trp

supplementation as it has been suggested that the sedative effect of this amino acid could counteract the negative effect of a stressful pre-slaughter treatment (Kietzmann & Jablonski, 1985).

One of the hypotheses of the present study was that after removing pigs with inadequate supplement intake, diet effect on pigs' behaviour and meat quality may vary. Therefore, data were analysed firstly, considering all pigs, and secondly including only pigs with an adequate supplement intake (> 2kg/day).

No differences among diets were found in the average feed intake, probably due to the wide variability in feed intake within treatments. However, differences were observed in the number of pigs with feed intake lower than 2kg/day. In the Mg&Trp group there were significantly more pigs with inadequate supplement intake than in Control group. All the pigs that lost weight during the treatment had a feed intake lower than 2kg/d. Among them, two different groups can be distinguished. The first one that lost between 0.4 and 0.6kg/day had a feed intake lower than 0.5kg during the treatment, indicating that they scarcely ate (Figure IV.3-1). All these pigs belonged to the supplemented diets (Mg&Trp and Trp groups) so it could be suggested that, apart from the effect of changing the diet, pigs did not like the new feed. The second group, all from the Mg&Trp group, includes pigs with feed intake from 1 to 2kg/day that lost weight anyway. This may be due to the potential laxative/purgative effect associated with magnesium sulphate (Frederick *et al.*, 2004; O'Quinn *et al.*, 2000), as diarrhoea was observed in Mg&Trp pens. D'Souza *et al.* (1999) suggested that although aspartate, chloride and sulphate salts of Mg were equally effective in reducing the incidence of PSE pork, MgSO₄ could be the best choice because magnesium aspartate was an expensive source of Mg and the chloride salt had chemical properties that make its inclusion in the feed difficult. Hamilton *et al.* (2002) also concluded that MgSO₄ produced the greatest improvement in meat quality traits; more than proteinate and propionate sources. However, none of these studies reported a potential laxative effect of the MgSO₄ affecting muscle glycogen stores and therefore the *post-mortem* energy metabolism.

To our knowledge, few studies have reported the effect of 5-day Mg and/or Trp supplementation on feed intake and none of them found any effect of the inclusion of supplements of Mg or Trp in the diet (Caine *et al.*, 2000; Peeters *et al.*, 2005). However, most of them reported an effect of Mg supplements on meat colour (Caine *et al.*, 2000;

D'Souza *et al.*, 1998; Hamilton *et al.*, 2002) and water holding capacity (D'Souza *et al.*, 1998, 1999; Hamilton *et al.*, 2002; Schaefer *et al.*, 1993).

When Frederick *et al.* (2004) studied the effect of Mg supplementation through drinking water, no differences in feed intake and water disappearance were found among different Mg concentrations.

On the other hand, the relationship between Trp consumption and the feed intake was extensively discussed by Le Floc'h & Sève (2007). While Trp deficiency was related to a reduction of appetite and feed intake for finishing pigs (Henry *et al.*, 1992), an excess of 4% of Trp in the diet was also reported to decrease the feed intake in finishing pigs (Chung *et al.*, 1991).

3.4.2 *Animal behaviour in the experimental abattoir. Aversion to the exposure to the CO₂*

The first behaviour that pigs exhibited in the cage when they were exposed to the gas was retreat attempts, followed by sniffs and gasp indicating the onset of breathlessness according to Raj (1999) and Gregory *et al.* (1987). Almost simultaneously, pigs showed muscular excitation from 21.6 ± 0.4 to 35.3 ± 0.8 s lasting an average time of 13.5 ± 0.8 s. Similar results were found by Rodriguez *et al.* (2008), who found muscular excitation appeared between 19 and 39s.

Our results indicated that genotype tended to have an effect on the duration of muscular excitation, lasting 14.6 ± 1.14 s for the nn pigs and 12.8 ± 1.00 s for the NN ones. Diet had a significant effect, as the muscular excitation period in Trp-group was shorter than in C and Mg&Trp ones. In contrast to these results, no differences between genotypes (NN *vs* nn) and among supplemented-diets (Control, Mg, Trp) were found in the previous experiment carried out under conditions of minimal stress during transport (Panella-Riera *et al.*, 2008).

Rodriguez *et al.* (2008) suggest that the onset of muscular excitation is likely to occur when pigs are still conscious. On the other hand, the loss of posture during the exposure to gas has been considered by some authors to be the first behavioural indicator of the onset of unconsciousness (Raj & Gregory, 1996). In the present study, pigs lost their posture at 27.8 ± 0.8 s after the beginning of the stunning procedure, taking place during the presence of muscular excitation. In fact, for 13.2% of animals the muscular

excitation appeared earlier than the loss of posture, for 5.7% appeared at the same time, and for 81.1% the loss of posture took place before the appearance of muscular excitation. So it is not clear if these muscular excitations are escape attempts, as described by Raj & Gregory (1996) or involuntary convulsions, as described by Forslid (1987).

In general, no differences were found among diets and between genotypes on animal behaviour. However, in agreement with Raj (2004) and Velarde *et al.*, (2007), our results indicated that the induction of unconsciousness with carbon dioxide, by using a dip-lift system, could be distressing to animals and thus compromise the welfare of pigs. Therefore, the meat industry should be encouraged to consider potential alternatives (Raj, 2004; Velarde *et al.*, 2007). The role of Trp in the muscular excitation of animals inside the system needs further investigation.

3.4.3 *Carcass and meat quality*

Carcass quality was positively affected by halothane genotype, with the nn pigs having leaner carcasses and higher conformation (lower score) than the NN ones. These are considered relevant traits for ham production in Spain and for that reason halothane genotype is still desired by many producers and the meat industry in Europe despite knowing the detrimental effects on pork quality. The negative effect of the halothane gene to meat quality traits has been extensively studied (e.g. Jensen & Barton Gade, 1985; Channon *et al.*, 2000; Gispert *et al.*, 2000; Guàrdia *et al.*, 2004). Accordingly, in the present study the nn pigs showed lower pH values and water holding capacity (higher drip loss and electrical conductivity) and paler meat (L^* value) than the NN ones. Similar results were also obtained in the previous study under non-stressful *ante mortem* conditions (Panella-Riera *et al.*, 2008).

Supplementation with Mg and/or Trp had no effect ($P>0.05$) on midline back fat measurements, last rib fat depth and lean content (Table IV.3-5). These results are consistent with other studies that did not find any effect of Mg supplementation on fat and muscle measurements of pig carcasses after a 5-day treatment (Schaefer *et al.*, 1993; D'Souza *et al.*, 1998, 1999).

Carcass quality is also affected by the presence of skin lesions as this may determine the commercial application (Barton-Gade *et al.*, 1996). In the present experiment, no differences were observed in the number of pigs showing skin lesions, as most of them

had lesions on the skin. This may be explained by the fact that pigs tried to establish hierarchy at the lairage pens as until then they did not have the chance to do it. However, differences in the severity of these lesions were observed among diets. Mg&Trp pigs were more likely to have more intense skin lesions than C ones. This may be related to the fact that these pigs may be hungry due to the laxative effect of magnesium sulphate. There is also some evidence that fasted pigs tend to fight more aggressively and for a longer time than fed pigs (Fernandez *et al.*, 1995). According to Barton-Gade *et al.* (1996), a score of between 3 and 4 is unacceptable for most of the commercial applications, and even a score of 2 should be also considered unacceptable when carcasses are used for sensitive productions. In the case of Mg&Trp diet, more than 83.3% of the carcasses showed a score higher than 3, and 100% of the carcasses had a score of ≥ 2 . Therefore, in the present experiment 83.3% of carcasses would be unacceptable for most commercial applications.

Meat quality traits were also studied. When taking into account all pigs, diet tended to affect pH at 24h in SM muscle, electrical conductivity and drip loss in LT muscle and showed a statistically significant effect on colour (Table IV.3-7). As magnesium sulphate has been associated with a laxative effect, pigs may have had depleted muscle glycogen stores and, therefore it may produce meat with higher ultimate pH, darker colour and higher water holding capacity (Lambooi, 2007). These differences were not found when the data were analysed with pigs with adequate supplement intake, as diets only had an effect on pH measured at 45 min at LT muscle.

As shown in Table IV.3-5, high incidence of pigs still showed PSE traits ($\text{pH}_{45} \leq 5.8$) after removing those with feed intake lower than 2kg/day. A total of 16 pigs were removed from the statistical analysis for their inadequate supplement intake, most of them showing PSE traits (8 in the LT and 6 in the SM muscle), all of them nn pigs. These results confirm that the pre-slaughter treatment was indeed under stressful conditions, and also confirm the relationship between the halothane gene and the incidence of PSE meat. Besides, two pigs from the removed ones were classified as DFD ($\text{pH}_{24\text{h}} \geq 6.0$) in the SM muscle which was the expected result as DFD meat occurs when the animals are fatigued and the glycogen energy store is exhausted at slaughter (Lambooi, 2007).

Despite the higher incidence of PSE, it is surprising the higher incidence of DFD meat among pigs with an adequate supplement intake. Pigs from the Trp group showed

higher incidence of DFD in the SM muscle than C and Mg&Trp, indicating that the supplementation of this amino acid could not completely avoid the depletion of the glycogen under a long stressful *ante-mortem* treatment, questioning the initial hypothesis. Further research is needed to ascertain whether the increase of the pH is due to the Trp supplement or the long stressful *ante-mortem* treatment. Henry *et al.* (1996) concluded that *post-mortem* muscle pH increased (both, pH₄₅ and pH_u) in response to a long term Trp supplementation.

In agreement with the previous study (Panella-Riera *et al.*, 2008), cathepsin activities were influenced by the genotype but not by the diet (Table 8): nn pigs showed higher activity than NN ones. Genetic type is known to affect cathepsin activity (Hernández *et al.*, 2004; Plastow *et al.*, 2005).

No differences were found between the two genotypes with instrumental measurements (Shear force test). However the panel test carried out within the same experiment found that the meat from nn pigs was harder than NN ones (Panella *et al.*, 2005). Controversial results have been published. De Smet *et al.*, (1996) did not find any differences with instrumental measurements between genotypes. However, Moelich *et al.* (2003) and Murray *et al.* (1989) reported higher shear force values in meat from nn pigs than in meat from NN pigs.

3.5 Conclusions and implications

When studying the use of diet supplements, the individual measurement of feed intake should be a requirement as it allows the detection of pigs with inadequate supplement intake, even when the average feed intake is the expected value.

Potential side effects of the diet supplements should be taken into account as they may lead to misleading conclusions. The inclusion of a mixture of magnesium sulphate and tryptophan in the diet did not show any advantage due to the laxative effect of magnesium sulphate, showing lower feed intake. The Mg&Trp group showed higher probability of having severe skin lesions in comparison to Control and Trp groups. From the results of this study the utilization of a mixture of magnesium sulphate and tryptophan is not recommended.

Trp reduced the duration of muscular excitation when animals were stunned with high concentrations of CO₂, and pigs showed the same probability as control pigs of having

severe skin lesions. An increase of pH at 45 min *pm* in the LT muscle and the percentage of pigs showing DFD traits in the SM muscle were observed. Further research is needed to ascertain whether Trp can prevent the mortality related to high levels of stress during the pre-slaughter period, and whether the increase of pH is due to the Trp supplement or to the stressful *ante-mortem* treatment.

A new strategy, such as the combination of Trp with other compounds or other sources of magnesium (excluding magnesium sulphate) should be considered for further studies, with the aim of reducing stress before slaughter and being able to reduce the negative effect of the use of the halothane gene.

3.6 References

- Adeola, O., Ball, R.O., 1992. Hypothalamic Neurotransmitter Concentrations and Meat Quality in Stressed Pigs Offered Excess Dietary Tryptophan and Tyrosine. *J. Anim. Sci.* 70, 1888-1894.
- Apple, J.K., Maxwell, C.V., de Rodas, B., Watson, H.B., Johnson, Z.B., 2000. Effect of magnesium mica on performance and carcass quality of growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 78, 2135-2143.
- Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, VA: AOAC.
- Barton-Gade, P., Warris, P.D., Brown, S.N., Lambooij, B., 1996. Methods of improving pig welfare and meat quality by reducing stress and discomfort before slaughter – methods of assessing meat quality. In: Proceedings of the EU-Seminar ‘New information on welfare and meat quality of pigs as related to handling, transport and lairage conditions, 29-30 June, 23-34.
- Barton-Gade, P., Christensen, L., 1998. Effect of different stocking densities during transport on welfare and meat quality in Danish slaughter pigs. *Meat Sci.* 48, 237-247.
- Caine, W.R., Schaefer, L.A., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2000. Behaviour, growth performance and pork quality of pigs differing in porcine stress syndrome genotype receiving dietary magnesium aspartate hydrochloride. *Can. J. Anim. Sci.* 80, 175-182.

- Cameron, A. C., Trivedi, P. K., 1998. Regression Analysis of Count Data. Cambridge University Press. USA.
- Channon, H.A., Payne, A.M., Warner, R.D., 2000. Halothane genotype, pre-slaughter handling and stunning method all influence pork quality. *Meat Sci.* 56, 291-299.
- Chung., T.K., Gelberg, H.B., Dorner, J.L., Baker, D.H., 1991. Safety of L-tryptophan for pigs. *J. Anim. Sci.* 69, 2955-2960.
- CIE., 1976. Commission Internationale de l'Éclairage. Colorimetry. Vienna, Austria, Bureau Central de la CIE. Publication n° 15.
- De Smet, S. M., Pauwels, H., De Bie, S., Demeyer, D. I., Callewier, J., Eeckhout, W., 1996. Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of Belgian Slaughter Pigs. *J. Anim. Sci.* 74, 1854-1863.
- Dodman, N.H., 1977. Observations on the use of wernberg dip-lift carbon dioxide apparatus for pre-slaughter anaesthesia of pigs. *Br. Vet. J.* 133, 71-80.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Leury, B.J., Dunshea, F.R., 1998. The Effect of Dietary Magnesium Aspartate Supplementation on Pork Quality. *J. Anim. Sci.* 76, 104-109.
- D'Souza, D. N., Warner, R. D., Dunshea, F. R., Leury, B. J., 1999. Comparison of different dietary magnesium supplements on pork quality. *Meat Sci.* 51, 221-225.
- EC (European Community), 1993 Directive 93/119/EC on the protection of animals at the time of slaughter or killing. *European Community Official Journal* 320, 21-34.
- EFSA, 2004. Welfare aspects of animal stunning and killing method. In: Scientific report of the Scientific Panel for Animal Health and Welfare on a request from the Commission. Question n° EFSA-Q-2003-093. Accepted 15th June 2004. Brussels, Belgium. Available on 14/12/06 at URL: http://www.efsa.eu.int/science/ahaw/ahaw_opinions/495/opinion_ahaw_02_ej45_stunning_report_v2_en1.pdf.
- Etherington, D.J., Wardale, R.J., 1982. The mononuclear cell population in rat leg muscle: its contribution to the lysosomal enzyme activities of whole muscle extracts. *J Cell Sci.* 58, 139-148.
- Etherington, D.J., Taylor, M.A.J., Wakefield, D.K., Cousins, A., Dransfield, E., 1990. Proteinase (cathepsin B, D, L and calpains) levels and conditioning rates in

- normal, electrically stimulated and high-ultimate pH chicken muscle. *Meat Sci.* 28, 99-109.
- Fàbrega, E., Diestre, A., Carrión, D., Font, J., Manteca, X., 2002. Effect of the halothane gene on pre-slaughter mortality in two Spanish commercial pig abattoirs. *Anim. Welf.* 11, 449-452.
- Fàbrega, E., Tibau, J., Soler, J., Fernández, J., Font, J., Carrión, D., Diestre, A., Manteca, X., 2003. Feeding patterns, growth performance and carcass traits in group-housed growing-finishing pigs : the effect of terminal sire line, halothane genotype and age. *Anim. Sci.* 77, 11-21.
- Fernandez, X., Meunier-Salaun, M.C., Ecolan, P., Mormède, P., 1995. Interactive effect of food deprivation and agonistic behavior on blood parameters and muscle glycogen in pigs. *Physiol. Behav.* 58, 337-345.
- Fernstrom, J.D., Wurtman, R.J., 1971. Brain-serotonin content: Physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science* 173, 149-152.
- Forslid, A., 1987. Transient neocortical, hippocampal and amygdaloid EEG silence induced by one minute inhalation of high concentration CO₂ in swine. *Acta Physiol. Scand.* 130, 1-10.
- Frederick, B., van Heugten, E., See, M.T., 2004. Timing of magnesium supplementation administered through drinking water to improve fresh and stored pork quality. *J. Anim. Sci.* 82, 1454-1460.
- Frederick, B., van Heugten, E., Hanson, D.J., See, M.T., 2006. Effects of supplemental magnesium concentration of drinking water on pork quality. *J. Anim. Sci.* 84, 185-190.
- Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., Leon, S.D., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P.J., MacLennan, D.H., 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* 253, 448-451.
- Geers, R., Bleus, E., Van Schie, T., Ville, H., Gerard, H., Janssens, S., Nackaerts, G., Decuyper, E., Jourquin, J., 1994. Transport of pigs different with respect to halothane gene : stress assessment. *J. Anim. Sci.* 72, 2552-2558.
- Gispert, M., Diestre, A., 1994. Classification of pig carcasses in Spain: a step towards harmonization in the European Community. *Tecni-Porc* 17, 29-32.
- Gispert, M., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 1996. La mortalidad durante el transporte y la espera en porcinos destinados al sacrificio. *Eurocarne* 45, 73-79.

- Gispert, M., Valero, A., Oliver, M.A., Diestre, A., 1997. Problemas asociados a la falta de grasa en las canales porcinas. Eurocarne 61(Noviembre 97), 27-32.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggens, K., Harvey, K., Diestre, A., 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. Meat Sci. 55, 97–106.
- Gispert, M., Font i Furnols, M., 2007. Evolución y situación de la cabaña porcina española. Eurocarne 161 (Noviembre 2007), 1-10.
- Gregory, N.G., Moss, B., Leeson, R., 1987. An assessment of carbon dioxide stunning in pigs. Veterinary Record 121, 517-518.
- Guàrdia, M. D., Estany, J., Balasch, S., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 2004. Risk assessment of PSE condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. Meat Sci. 67, 471-478.
- Guzik, A.C., Matthews, J.O., Kerr, B.J., Bidner, T.D., Southern, L.L., 2006. Dietary tryptophan effects on plasma and salivary cortisol and meat quality in pigs. J. Anim. Sci. 84, 2251-2259.
- Hamilton, D. N., Ellis, M., Hemann, M. D., McKeith, F. K., Miller, K. D., Purser, K. W., 2002. The impact of *Longissimus* glycolytic potential and short-term feeding of magnesium sulfate heptahydrate prior to slaughter on carcass characteristics and pork quality. J. Anim. Sci. 80, 1586-1592.
- Henry, Y., Sève, B., Colléaux, Y., Ganier, P., Saligaut, C., Jégo, P., 1992. Interactive effects of dietary levels of tryptophan and protein on voluntary feed intake and growth performance in pigs, in relation to plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. J. Anim. Sci. 70, 1873-1887.
- Henry, Y., Sève, B., Mounier, A., Ganier, P., 1996. Growth Performance and Brain Neureotransmitters in Pigs as Affected by Tryptophan, Protein and Sex. J. Anim. Sci. 74, 2700-2710.
- Hernández, P., Zomeño, L., Ariño, B., Blasco, A., 2004. Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. Meat Sci. 66, 525-529.
- Honikel, K.O., 1996. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. Food Chem. 54(4), 573-582.

- Honkavaara, M., 1988. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. *Meat Sci.* 24, 201-207.
- Jensen, P., Barton-Gade, P.A., 1985. Performance and carcass characteristics with known genotypes for halothane susceptibility. Ludvigsen, J. B. (Eds.), *Stress susceptibility and meat quality in pigs*, European Association of Animal Production Publication. 33: 80-87.
- Kietzmann, M., Jablonski, H., 1985. Blocking of stress in swine with magnesium aspartate hydrochloride. *Prakt. Tierz.* 661, 331.
- Lambooj.E., 2007. Transport of pigs. In: Grandin T. (Eds.), *Livestock Handling and Transport*. CABI Publishing, USA, pp. 228-244.
- Le Floc'h, N., Seve, B., 2007. Biological roles of tryptophan and its metabolism: Potential implications for pig feeding. *Livest. Sci.* 112, 23-32.
- Leathwood, P.D., 1987. Tryptophan availability and serotonin synthesis. *Proceedings of the Nutrition Society* 46(1), 143-156.
- Li, Y.Z., Kerr, B.J., Kidd, M.T., Gonyou, H.W., 2006. Use of supplementary tryptophan to modify the behaviour of pigs. *J. Anim. Sci.* 84, 212-220.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Moelich, E.I., Hoffman, L.C., Conradie, P.J., 2003. Sensory and functional meat quality characteristics of pork derived from three halothane genotypes. *Meat Sci.* 63, 333-338.
- Møller, A., 1980. Analysis of Warner Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Sci.* 5, 247-260.
- Murray, A.C., Jones, S.D.M., Sather, A.P., 1989. The effect of preslaughter feed restriction and genotype for stress susceptibility on pork lean quality and composition. *Can. J. Anim. Sci.* 69, 83-91.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 1993. The effects of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Sci.* 35, 105-118.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Coll, C., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 2001. Incidencia de carne PSE y DFD en canales comerciales de cerdo en cinco mataderos españoles: influencia de factores antes del sacrificio. *Eurocarne* 100, 101-109.

- O'Quinn, P.R., Nelssen, J.L., Unruh, J.A., Goodband, R.D., Woodworth, J. C., Tokach, M.D., 2000. Effects of feeding modified tall oil and supplemental potassium and magnesium on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing-finishing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 80, 443-449.
- Panella, N., Font i Furnols, M., Tibau, J., Soler, J., Oliver, M.A., Gil, M., 2005. Effect of pig genotype and magnesium – tryptophan supplemented diets on the meat sensorial attributes and textural properties. *Proceedings of the 51st International Congress of Meat Science and Technology*, 124-128. Baltimore, USA,
- Panella-Riera, N., Dalmau, A., Fàbrega, E., Font i Furnols, M., Gispert, M., Tibau, J., Soler, J., Velarde, A., Oliver, M.A., Gil, M., 2008. Effect of supplementation with MgCO₃ and L-tryptophan on the welfare and on the carcass and meat quality of two halothane pig genotypes (NN and nn). *Livest. Sci.* 115, 107-117.
- Peeters, E., Neyt, A., Beckers, F., Smet, S.M.D., Aubert, A.E., Geers, R., 2005. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *J. Anim. Sci.* 83, 1568-1580.
- Pérez, M.P., Palacio, J., Santolaria, M.P., Aceña, M.C., Chacón, G., Gascón, M., Calvo, J.H., Zaragoza, P., Beltran, J.A., García-Belenguer, S., 2002. Effect of transport time on welfare and meat quality in pigs. *Meat Sci.* 61, 425-433.
- Plastow, G.S., Carrión, D., Gil, M., Garcia-Regueiro, J.A., Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Oliver, M.A., Velarde, A., Guàrdia, M.D., Hortós, M., Rius, M.A., Sárraga, C., Díaz, I., Valero, A., Sosnicki, A., Klont, R., Dornan, S., Wilkinson, J.M., Evans, G., Sargent, C., Davey, G., Connolly, D., Houeix, B., Maltin, C.M., Hayes, H.E., Anandavijayan, V., Foury, A., Geverink, N., Cairns, M., Tilley, R.E., Mormède, P., Blott, S.C., 2005. Quality pork genes and meat production. *Meat Sci.* 70 (3), 409-421.
- Raj, A.B.M., Gregory, N.G., 1995. Welfare implications of the gas stunning of pigs 1. Determination of aversion to the initial inhalation of carbon dioxide or argon. *Anim. Welf.* 4, 273-280.
- Raj, A.B.M., Gregory, N.G., 1996. Welfare implications of the gas stunning of pigs 2. Stress of induction of anaesthesia. *Anim. Welf.* 5, 71-78.
- Raj, A.B.M., 1999. Behaviour of pigs exposed to mixtures of gases and the time required to stun and kill them: welfare implications. *Veterinary Record* 144, 165-168.

- Raj, A.B.M., 2004. CO₂ and other gases. In: Jensen, W.K., Devine, C., DIKEMAN, M. (Eds.), Encyclopedia of Meat Sciences. Elsevier, UK, pp. 1348-135.
- Rodríguez, P., Dalmau, A., Ruiz-de-la-Torre, J.L., Manteca, X., Jensen, E.W., Rodríguez, B., Litvan, H., Velarde, A., 2008. Assessment of unconsciousness during carbon dioxide stunning in pigs. *Animal Welfare*, 17: 341-349.
- SAS, 2001. SAS for Windows release v.8.2. Cary, North Carolina, USA. SAS Institute Inc.
- Schaefer, A.L., Murray, A.C., Tong, A.K.W., Jones, S.D.M., Sather, A.P., 1993. The effect of *ante mortem* electrolyte therapy on animal physiology and meat quality in pigs segregating and the halothane gene. *Can. J. Anim. Sci.* 73, 231-240.
- Stryer, L., 1988. Biochemistry. W.H.Freeman & Co. New York.
- Velarde, A., Gispert, V., Faucitano, L., Alonso, P., Manteca, X., Diestre, A., 2001. Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. *Meat Sci.* 58, 313-319.
- Velarde, A., Cruz, J., Gispert, M., Carrión, D., de la Torre, L.R., Diestre, A., Manteca, X., 2007. Aversion to carbon dioxide stunning in pigs: effect of the carbon dioxide concentration and the halothane genotype. *Anim. Welf.* 16, 513-522.
- Warriss, P. D., 1998. The welfare of slaughter pigs during transport. *Animal Welfare* 7, 365-381.

3.7 Figures

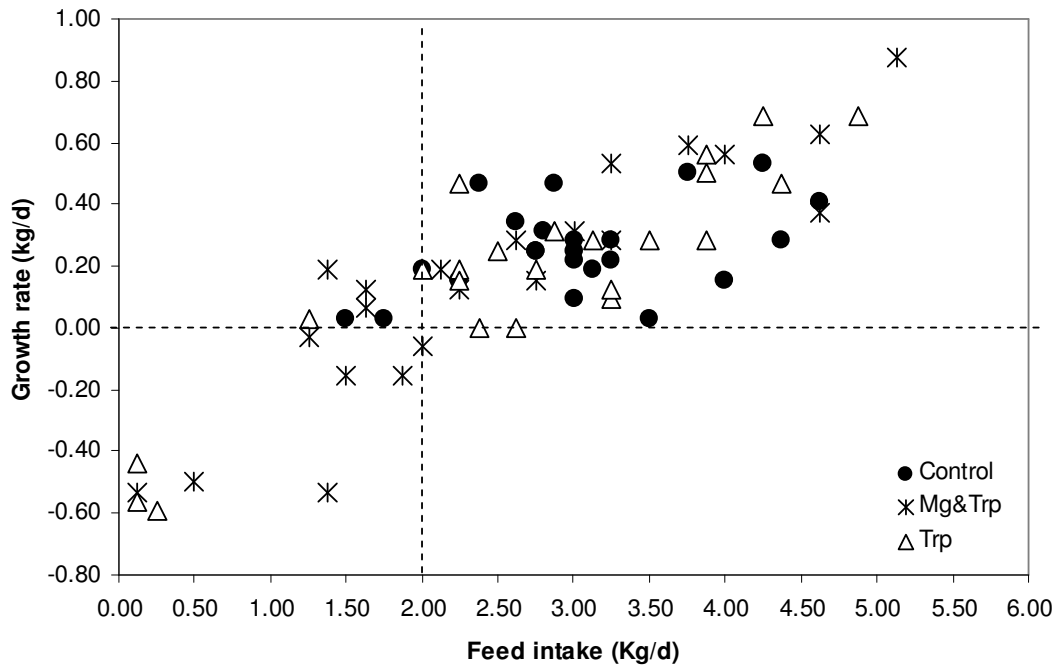


Figure IV.3-1. Relationship between feed intake (kg/day) and growth rate (kg/day) among diets.

3.8 Tables

Taula IV.3-1. Feed composition of experimental and control diets (%).

	Diets		
	C	Mg&Trp	Trp
Humidity (%)	11.80	11.47	11.80
Ash (%)	6.79	6.78	6.87
Crude fiber (%)	3.12	3.40	3.24
Crude protein (%)	16.80	18.54	18.4
Ether extract (%)	6.84	6.30	6.19
Magnesium (%)	0.21	0.40	0.20
Tryptophan (%)	0.21	0.70	0.77

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation.

Taula IV.3-2. Number of pigs with feed intake higher and lower than 2kg/d, and feed intake (LSM¹) according to the three diets and two genotypes.

	Diet				Genotype		
	C	Mg&Trp	Trp	Sig	NN	nn	Sig
Number of pigs ²							
In the experiment	23	23	23		36	33	
With feed intake \geq 2kg/d	21 (91.3)	13 (56.5)	19 (82.6)		30 (83.3)	23 (69.7)	
With feed intake < 2kg/d	2 (8.7)	10 (43.5)	4 (17.4)		6 (16.7)	10 (30.3)	
Sig. ³	a	b	ab	**	-	-	ns
Feed intake ¹							
Total feed intake (kg/d)	3.00 (0.19)	2.40 (0.19)	2.67 (0.19)	ns	3.26 (0.16)	2.13 (0.17)	***
Pigs with feed intake \geq 2kg/d	3.09 (0.13)	3.20 (0.17)	3.13 (0.14)	ns	3.07 (0.11)	2.58 (0.13)	***
Pigs with feed intake < 2kg/d	1.69 ^a (0.41)	1.26 ^a (0.17)	0.44 ^b (0.27)	*	1.21 (0.26)	1.06 (0.19)	ns

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns: P>0.1; *: P<0.05; **: P<0.01 and ***: P<0.001.

¹ LSM: Least square means and standard error within brackets.

² Number of pigs and percentage within brackets.

³ Columns with different letter were significantly different at a level of P<0.05. The probability of showing feed intake < 2kg/day was tested with a GENMOD procedure.

Taula IV.3-3. Mortality of pigs during the pre-slaughter period according to the three diets and two genotypes.

	Diet				Genotype		
	C	Mg&Trp	Trp	Sig	NN	nn	Sig
Mortality considering all pigs included in the experiment							
n	23	23	23		36	33	
deaths	3	2	0	ns	0	5	*
(%)	13.0	8.7	0.0		0.0	15.2	
Mortality between pigs with feed intake > 2kg/d							
n	21	13	19		30	23	
deaths	1	1	0	ns	0	2	ns
(%)	4.8	7.7	0.0		0.0	8.7	

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns: P>0.1 and *: P<0.05.

Taula IV.3-4. Time taken to cross the raceway¹, Percentage of pigs showing retreat attempts and time to perform the first retreat attempt according to the three diets and two genotypes. Pigs with feed intakes >2kg/day are considered.

	n	Diet			Sig	Genotype		
		C	Mg&Trp	Trp		NN	nn	Sig
Time to cross (s)								
the raceway		18.4 (4.8)	30.7 (12.0)	32.3 (7.4)	ns	26.1 (5.9)	26.7 (6.5)	ns
the ramp		41.2 (7.8)	50.6 (10.1)	51.3 (10.9)	ns	49.7 (7.6)	42.7 (7.6)	ns
the entrance		38.6 (8.2)	26.8 (9.6)	42.2 (7.2)	ns	43.2 (6.8)	27.3 (5.2)	*
all the way		98.2 (10.7)	108.1 (25.2)	125.8 (17.0)	ns	119.0 (13.5)	96.7 (11.5)	ns
Pigs showing retreat attempts (%)								
in the raceway		4.8	15.4	21.1	ns	10.0	17.4	ns
in the ramp		47.6	38.5	36.8	ns	50.0	30.4	ns
in the entrance		14.3	7.7	10.5	ns	20.6	0.0	*
all the way		57.1	46.2	63.2	ns	66.7	43.5	ns

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns: P>0.1 and *: P<0.05.

¹Means and standard error

Taula IV.3-5. Carcass and meat quality traits of diet and genotype effects, measured considering pigs with feed intake higher than 2kg /day.

	n	Diet ¹			Sig.	Genotype ¹		
		C	Mg&Trp	Trp		NN	nn	Sig.
		21	13	19		30	23	
<u>Carcass traits</u>								
Body weight (kg)		109.5 (1.8)	109.8 (2.3)	110.4 (1.8)	ns	113.6 (1.4)	106.2 (1.8)	**
Carcass weight (kg)		85.1 (1.4)	84.2 (1.8)	85.4 (1.4)	ns	85.5 (1.4)	84.2 (1.4)	ns
Lean content (%)		57.5 (0.63)	56.6 (0.79)	56.6 (0.62)	ns	52.7 (0.50)	61.1 (0.62)	***
Carcass length (cm)		81.6 (0.9)	81.3 (1.1)	82.0 (0.9)	ns	85.8 (0.7)	77.5 (0.9)	***
Fat depth at last rib level (FOM; mm)		12.9 (0.6)	13.4 (0.8)	13.5 (0.6)	ns	16.6 (0.5)	10.0 (0.6)	***
Conformation		2.0 (0.1)	2.1 (0.1)	2.0 (0.1)		2.9 (0.1)	1.2 (0.1)	
<u>Meat quality parameters</u>								
pH at 45 min								
LT		5.96 ^b (0.06)	5.96 ^b (0.07)	6.15 ^a (0.06)	*	6.47 (0.05)	5.58 (0.06)	***
SM		6.09 (0.06)	6.11 (0.07)	6.21 (0.05)	ns	6.47 (0.04)	5.79 (0.05)	***
pH at 24h								
LT		5.47 (0.05)	5.52 (0.06)	5.59 (0.05)	ns	5.60 (0.04)	5.46 (0.05)	*
SM		5.59 (0.06)	5.71 (0.07)	5.71 (0.06)	ns	5.75 (0.05)	5.58 (0.06)	*
Electrical Conductivity 24h (mS)								
LT		7.0 (0.4)	7.1 (0.5)	6.0 (0.4)	†	4.2 (0.3)	9.3 (0.4)	***
SM		8.4 (0.5)	7.3 (0.6)	7.0 (0.5)	ns	5.2 (0.4)	9.9 (0.5)	***
Loin drip loss (%)		8.7 (0.5)	8.0 (0.6)	7.4 (0.5)		5.1 (0.4)	11.0 (0.5)	***
Colour- L*		54.2 (1.1)	51.9 (1.4)	51.1 (1.1)	ns	50.0 (0.9)	54.8 (1.1)	***
Incidence of PSE (pH ₄₅ ≤ 5.8;%)								
LT		31.6	33.3	26.3	ns	0.0	75.0	***
SM		21.1	25.0	26.3	ns	0.0	60.0	***
Incidence of DFD (pH _u ≥ 6.0;%)								
LT		0.0	8.3	10.5	ns	6.7	5.0	ns
SM		0.0 ^b	8.3 ^b	21.1 ^a	*	13.3	5.0	ns

¹ Least square means and standard error within brackets.

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; SM: *Semimembranosus* muscle; LT: *Longissimus thoracis* muscle; PSE: Pale, Soft and Exudative; DFD: Dark, Firm and Dry; ns: P>0.1; †: P<0.1; *: P<0.05; **: P<0.01 and ***: P<0.001.

Taula IV.3-6. Percentage of carcasses with skin lesions according to the three diets and two genotypes. Pigs with feed intake > 2kg/day are considered.

	Diet ¹				Genotype ¹		
	C	Mg&Trp	Trp	Sig	NN	nn	Sig
n	21	13	19		30	23	
Skin lesions (%)	85.7	100	94.7	ns	93.3	91.3	ns
Severity of skin lesions							
No skin damage - 1	16.7	0.0	5.6		6.9	10.5	
Slight skin damage - 2	55.6	16.7	33.3		37.9	36.8	
Skin damage affecting quality - 3	22.2	50.0	50.0		37.9	42.1	
Severe skin damage - 4	5.6	33.3	11.1		17.2	10.5	
Sig. ¹	b	a	b	**	-	-	ns

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; ns: P>0.05; **: P<0.01.

¹ Columns with different letter were significantly different at a level of P<0.05. The probability of showing more intense skin lesions (from 1 to 4) was tested with a GENMOD procedure. Diet effect: P= 0.0025; Genotype effect: P=0.5769.

Taula IV.3-7. Significance levels of meat quality variables of diet and genotype effects, measured considering all pigs and those pigs with feed intake higher than 2kg /day.

		Diet effect		Halothane effect	
		All pigs	Feed intake > 2kg/d	All pigs	Feed intake > 2kg/d
	n	64	50	64	50
pH at 45 min	LT	0.34	0.05	<.0001	<.0001
	SM	0.64	0.26	<.0001	<.0001
pH at 24h	LT	0.21	0.24	0.0070	0.03
	SM	0.10	0.25	0.21	0.02
Electrical Conductivity at 24h (mS)	LT	0.09	0.11	<.0001	<.0001
	SM	0.47	0.11	<.0001	<.0001
Loin drip loss (%)	LT	0.07	0.13	<.0001	<.0001
Colour	L*	0.05	0.13	<.0001	0.001
	a*	0.10	0.37	<.0001	<.0001
	b*	0.42	0.42	<.0001	<.0001

SM: *Semimembranosus* muscle; LT: *Longissimus thoracis* muscle.
P values lower than 0.1 are showed in bold.

Table IV.3-8. Enzymatic activity variables ¹ (cathepsin B and cathepsin B+L) and instrumental texture variables ¹ after Warner-Bratzler Shear force test, among diets and halothane genotype. Pigs with feed intake > 2kg/day are considered.

	Diet				Genotype		
	C	Mg&Trp	Trp	Sig	NN	nn	Sig
n	21	13	19		30	23	
<i>Enzymatic activity</i> ²							
CAT B (nIU)							
LT	32.3 (3.1)	26.3 (3.9)	22.1 (3.0)	ns	24.2 (2.4)	30.5 (3.0)	ns
SM	79.8 (6.6)	72.9 (8.3)	71.1 (6.5)	ns	71.4 (5.2)	77.8 (6.5)	ns
CAT B+L (nIU)							
LT	161.9 (13.5)	159.0 (17.0)	151.4 (17.0)	ns	135.2 (10.7)	179.6 (13.3)	**
SM	251.6 (16.1)	255.7 (20.2)	281.1 (15.9)	ns	243.4 (12.7)	282.2 (15.8)	*
<i>Instrumental texture</i>							
Shear Force (N)	51.2 (2.2)	50.4 (2.7)	48.2 (2.3)	ns	50.5 (1.8)	49.4 (2.2)	ns
Initial Yield Force (Ncm)	72.8 (3.3)	72.0 (4.1)	70.4 (3.5)	ns	69.3 (2.7)	74.1 (3.3)	ns
Total Work (kg.s/cm ²)	6.7 (0.3)	6.1 (0.3)	6.1 (0.3)	ns	6.4 (0.2)	6.2 (0.3)	ns

C: Control Diet; Mg&Trp: Control diet with Mg and Trp supplementation; Trp: Control diet with Trp supplementation; LT: *Longissimus thoracis* muscle; SM: *Semimembranosus* muscle; CAT B: cathepsin B activity; CAT B+L: cathepsin B+L activity; ns: P>0.1 *: P<0.05 and **: P<0.01.

¹ Least square means and standard error within brackets.

² Results are given in nIU (nmol.min⁻¹.g proteïne⁻¹)

Discussió

5

- 1. Relació entre el procés d'estaborniment amb diòxid de carboni, el benestar i la qualitat.**
- 2. Estratègies per disminuir les conseqüències negatives inherents al procés de sacrifici dels porcs.**
- 3. Efecte suplementes de magnesi i/o triptòfan a la dieta.**
- 4. Conseqüències sobre la qualitat tecnològica de la carn.**
- 5. Consideracions finals.**
- 6. Bibliografia.**

V. DISCUSSIÓ

El sector carni català –i en especial el sector porcí– representa un dels clústers agroalimentaris més importants a nivell europeu i qualsevol estratègia que optimitzi el procés de producció pot tenir repercussions importants. L'objectiu principal d'aquesta tesi doctoral era estudiar alguns factors crítics del tractament previ al sacrifici dels porcs i avaluar els seus efectes sobre la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn fresca. En segon terme, també es pretenia avaluar algun d'aquests punts crítics des del punt de vista del benestar i comportament del porc per tal d'establir unes pautes que garanteixin una bona qualitat tecnològica de la carn i que no vagin en detriment del benestar dels animals. Així, s'han considerat factors *ante mortem* com el dejuni, el transport, el temps d'espera a l'escorxador, l'estaborniment dels animals, factors genètics com la presència del gen RYR1 i suplementos a la dieta (Figura I.4-1; Taula III.1-1). Per assolir aquest objectiu es varen plantejar tres estudis els resultats més rellevants dels quals es discuteixen ara amb una visió més global.

De manera general s'accepta que tot animal destinat a la producció de carn està sotmès a situacions d'estrès durant les últimes hores abans del sacrifici que causen una disminució del seu benestar, i que poden afectar a la qualitat tecnològica de la carn (Moelich *et al.*, 2003). En aquest sentit, els primers dos estudis (IV-1 i IV-2) es varen dissenyar intentant minimitzar l'estrès previ al sacrifici (sense barreja d'animals de grups diferents, transport sense canvis bruscos de direcció ni de velocitat, tractament molt curosa durant la càrrega i descàrrega al camió, etc.). El tercer experiment (IV-3) es va plantejar en condicions d'estrès més pròximes a les condicions comercials (amb barreja d'animals i transport menys curós), per estudiar l'efecte dels suplementos de Mg i Trp en una situació desfavorable des del punt de vista del benestar del porc.

En ambdues situacions, les pròpies limitacions de l'escorxador experimental, que només permetia el sacrifici individual dels animals, va impedir el sacrifici dels porcs amb el temps d'espera exacte al planificat per a cada tractament (de 0 o 12h al capítol IV-1, de 2-3h al IV-2, i de 0h al IV-3). Aquest punt fou especialment crític en el cas de l'experiment IV-3, on el temps d'espera va arribar a les 7h. Al capítol IV-1 es va observar que un temps d'espera de fins a 12h permetia reduir el percentatge de carn exsudativa (Taula IV.1-3), tot i que cal recordar que aquests animals no es barrejaven en cap moment amb animals de grups diferents. Caldria veure, en tot cas, si l'espera de fins

a 7h que es va dur a terme en els animals del tercer experiment, que sí estaven barrejats, va afectar negativament la qualitat de la canal degut a als danys a la pell produïts durant l'establiment de les jerarquies dins del grup. Segons el resultat de l'estudi IV-3, el percentatge de canals amb danys a la pell va ser elevat (al voltant del 90% en tots els tractaments), però com que el sacrifici dels animals es va realitzar seleccionant alternativament i aleatòria un animal de cada grup, l'avaluació dels danys a la pell es va realitzar sobre la canal i no avaluant les baralles a les quadres d'espera, i per tant no es pot saber si les baralles i els consegüents danys a la pell varen augmentar al allargar-se el temps d'espera. No obstant això, en un estudi de Fredericsen & Hexeberg (2009) s'apuntava que el fet d'anar seleccionant i apartant animals d'un mateix grup a la sala d'espera augmentava el comportament no desitjat (montes i baralles) d'aquells que seguien a la quadra. Per a futurs experiments, caldria estudiar la possibilitat de sacrificar tots els animals d'un grup a la vegada –això permetria controlar els diferents factors que poden alterar l'estat físic i psíquic dels animals abans del sacrifici, com ara l'efecte de les pròpies baralles entre animals provinents de grups diferents i l'estrès que pateix l'últim animal del corral quan es queda sol en un ambient que per a ell és nou– o fins i tot, valorar la possibilitat de sacrificar els animals en escorxadors comercials.

Segons els resultats obtinguts estudiant el dejuni –sovint planificat pels ramaders– i el temps d'espera –sovint planificat exclusivament pels escorxadors a causa de les dimensions i/o limitacions de la cadena productiva– s'observa que a l'augmentar la durada de qualsevol dels dos, les conseqüències sobre el benestar i la qualitat de la canal poden arribar a ser importants (per exemple, augmentant les canals amb danys a la pell; Capítol IV-1). A nivell comercial, les explotacions porcines realitzen restriccions alimentàries abans del sacrifici compreses en un interval de 12 a 18h (Averós *et al.*, 2008; Gispert *et al.*, 1996; Pérez *et al.*, 2002) o de 16 a 24h (Eikelenboom *et al.*, 1991), però el ramader no controla la durada del repòs que poden tenir els porcs a l'escorxador i que contribueix a allargar el dejuni total dels animals. És interessant remarcar en aquest punt que alguns autors han assenyalat que a partir de les 24h de dejuni l'animal podria perdre pes de la canal a raó de 100 g/h (Chevillon, 2006; Faucitano *et al.*, 2010a). Per tant, seria important poder preveure el temps d'espera als escorxadors per planificar el temps total de dejuni i decidir el moment en què es tanca la menjadora a la granja, per evitar períodes de dejuni excessius que tinguin efectes negatius tan en el benestar com en la qualitat tecnològica de la carn. Caldria que, en la comunicació entre

el productor i l'escorxador, es tinguessin en compte aquestes dades per poder realitzar una planificació adequada des del punt de vista del benestar i de la qualitat de la canal i de la carn.

Relació entre el procés d'estaborniment amb diòxid de carboni, el benestar i la qualitat

Seguint les recomanacions de l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentaria, el sistema d'estaborniment utilitzat durant el procés de sacrifici dels animals hauria de ser un dels factors a tenir en compte com a part del tractament *ante mortem* als escorxadors ja que pot alterar la qualitat final de la canal i de la carn (EFSA, 2004). En alguns països, com Espanya, el sistema d'estaborniment elèctric s'ha anat substituint pel sistema amb diòxid de carboni pels seus efectes positius sobre la qualitat de la carn (Velarde *et al.*, 2001). En el sistema d'estaborniment *dip-lift* –sistema utilitzat en tots els experiments d'aquest treball– els porcs són introduïts dins una gàbia que baixa directament fins la concentració màxima de diòxid de carboni al fons d'un pou, induint la seva inconsciència (EFSA, 2004). La primera reacció d'un animal quan experimenta un canvi en el seu entorn que pot suposar una amenaça és la d'aproximar-se per enfontrar-s'hi o bé eludir-lo, resposta que es coneix com a 'lluitar o fugir' del sistema nerviós autònom (Cannon, 1995). Dodman (1977) descriu que, precisament en el cas dels porcs, la primera reacció davant una situació desagradable és intentar fugir. En els capítols IV-2 i IV-3 es va estudiar el comportament al llarg del passadís que conduïa al sistema d'estaborniment i durant l'exposició al CO₂. Dels resultats dels dos capítols, no es poden treure conclusions clares. En el cas del capítol IV-2 al voltant del 50% dels porcs varen intentar recular, mentre que en el capítol IV-3 aquests percentatges varen ser menors (al voltant del 20%), sense observar-se, en cap cas, diferències entre dietes ni genotips. Tenint en compte que la principal diferència entre els dos estudis esmentats (IV-2 i IV-3) va ser el nivell d'estrès al qual els porcs van ser sotmesos en el període *ante mortem* –mentre que al primer fou mínim, en el segon van ser més elevat– aquestes diferències suggereixen que a l'estudi IV-3 els porcs, que havien rebut un tractament previ al sacrifici menys curòs optaven per 'fugir' de l'amenaça (de la resposta 'lluitar o fugir' descrita per Cannon, 1995).

Un cop dins la gàbia del sistema d'estaborniment, els porcs mostraven un patró de comportament similar des de l'inici del cicle: per ordre, els porcs mostraven intents

d'escapada, ensumaven, panteixaven, mostraven excitació muscular sobretot a les extremitats posteriors i aproximadament als 22s perdien la postura, caient sobre la base de la gàbia (Figura IV.2-1). En els dos experiments, la pèrdua de la postura tenia lloc en acompanyada d'excitació muscular. Pel fet que per alguns autors la pèrdua de postura durant l'exposició al gas es considera com l'inici de la pèrdua de la consciència (Raj & Gregory, 1996), aquesta excitació muscular es relaciona amb intents d'escapada si succeeixen abans de la pèrdua d'aquesta (Raj & Gregory, 1996; Rodriguez *et al.* 2008) o bé amb convulsions involuntàries si apareixen després (Forsslid, 1987).

A part, els intents de recular dins la gàbia també s'han interpretat com a intents per fugir del sistema (EFSA, 2004). Aquests intents s'han relacionat per una banda, amb les característiques del gas pel fet de ser aversiu (Raj & Gregory, 1996; Velarde *et al.*, 2007), i per l'altra, amb el propi disseny de la maquinària (Velarde *et al.*, 2007) ja que els porcs són aïllats i engabiats (Raj & Gregory, 1996) i són sotmesos a un moviment vertical de la gàbia al baixar pel pou (EFSA, 2004) que suposa en sí una situació desconeguda que desencadena una resposta d'estrés. Per tant, i tenint en compte aquests aspectes, s'esperaria que inicialment els porcs reaccionessin intentant fugir del sistema mitjançant aquests intents de recular, fet que es va confirmar observant el comportament dels experiments dels capítols IV-2 i IV-3, durant els quals, entre el 90 i el 100% dels porcs ho varen intentar. Per minimitzar aquesta situació estressant, existeixen sistemes d'estaborniment en els quals els animals són introduïts a la gàbia del sistema *dip-lift* en grups. Aquests sistemes permeten evitar l'aïllament de l'animal i augmentar la productivitat de l'escorxador i, en el nostre cas, permetrien també un control més acurat de les condicions prèvies al sacrifici ja que els animals podrien ésser sacrificats en lots i per tant homogeneïtzar el temps d'espera.

Al segon estudi (capítol IV-2) es va utilitzar la presència de reflexos corneals al final del cicle d'estaborniment com a indicador de la pèrdua de la consciència de l'animal, entenent que podria ser un dels últims reflexos a desaparèixer (EFSA, 2004). La figura IV.2-2 mostra que els reflexos corneals van desaparèixer completament als 40s després de l'exposició amb CO₂, moment que podria ser considerat com l'ideal per degollar l'animal (EFSA, 2004). De fet, Llonch *et al.* (2009) mitjançant registres d'índexs de consciència mostraren que el punt de màxima inconsciència tenia lloc durant el minut posterior a l'exposició del gas (també al 90% de concentració) i la pèrdua de reflexos corneals tenia lloc al voltant del 21 s. No obstant això, actualment s'està qüestionant si

precisament els reflexos corneals es podrien considerar com un bon indicador de la pèrdua de consciència dels porcs (Rodríguez *et al.*, 2008). Una alternativa seria la utilització de diversos indicadors fisiològics tal i com plantegen els protocols del projecte Welfare Quality[®] (Welfare Quality[®], 2009), els quals utilitzen simultàniament la pèrdua de ritme respiratori i la presència/absència de reflexes corneals amb aquesta finalitat.

Estratègies per disminuir les conseqüències negatives inherents al procés de sacrifici dels porcs

El fet d'existir creuaments genètics que fan que els animals siguin, segons els al·lels, sensibles o resistent a l'estrès (gen RYR1) va dur al disseny d'experiments amb creuaments amb diferent sensibilitat (animals NN o nn) i diferents nivells d'estrès (IV-2 i IV-3), amb una hipòtesi inicial que suposava que el suplement de substàncies com el Mg i/o Trp podrien alleujar els efectes negatius de l'estrès *ante mortem*. Així, es podria oferir una estratègia addicional per millorar el benestar dels animals sensibles a l'estrès inherent al propi procés *ante mortem*, i permetria dissenyar estratègies per mantenir genètiques amb la mutació del gen RYR1 a la cabanya porcina evitant els problemes de qualitat tecnològica de la carn, que sovint mostren els animals sensibles a l'estrès.

És coneguda la importància que té el tractament *ante mortem* sobre la mortalitat durant el transport de la granja a l'escorxador. Les baixes produïdes durant el transport i l'espera representen una pèrdua econòmica molt important en el sector porcí (Gispert *et al.*, 1996), i són l'índex més clar de la manca de benestar animal durant el període previ al sacrifici (Broom, 1986). És precisament en l'experiment IV-3 on va ser evident la vulnerabilitat dels animals nn quan són sotmesos a un tractament *ante mortem* en considerat estressant. Mentre que a l'experiment IV-2 no hi va haver cap baixa durant el transport i l'espera a l'escorxador, en l'estudi IV-3 varen morir, com a conseqüència del tractament previ al sacrifici, 5 porcs (15,2% del total de porcs participants a l'estudi, i 8,2% considerant els porcs que van ingerir la dosis planificada de suplement a la dieta), tots ells halotà positius (nn). Aquesta relació tant directa entre la mortalitat i els animals homozigots recessius (nn) no és nova. Fàbrega *et al.* (2002) van trobar que de 107 porcs morts durant el transport o l'espera a dos escorxadors espanyols, el 71% eren homozigots recessius (nn), 24% eren heterozigots (Nn) i només 5% eren lliures de la

mutació (NN). Aquests resultats posen en evidència que les baixes dels animals nn es poden reduir si el tractament previ al sacrifici es realitza en condicions de mínim estrès. Addicionalment, i malgrat implicar una mostra estadísticament reduïda, es va observar que de les 5 baixes enregistrades en l'estudi, 3 porcs corresponien al grup amb dieta control i dos al grup suplementat amb Mg, però cap de les baixes va correspondre al grup suplementat amb Trp. Aquest resultat és interessant tant des del punt de vista del benestar dels animals com des del punt de vista econòmic per part del ramader. Caldrien més estudis en aquesta línia per conèixer la relació entre un suplement amb Trp i la reducció de la mortalitat dels animals nn, ja que s'ha suggerit que l'efecte sedant d'aquest aminoàcid podria contrarestar l'efecte negatiu d'un tractament previ al sacrifici estressant (Le Floc'h & Seve, 2007).

Conseqüències sobre la qualitat de la canal

És evident que el tractament *ante mortem* té també un gran efecte sobre la qualitat de la canal, donat que si alguna de les peces ha de ser decomissada per alteracions – conseqüència d'un tractament *ante mortem* inadequat– el valor d'aquesta canal es deprecia notablement. Així, indirectament els danys a la pell són un indicador del grau d'alteracions per maneig inadequat que han sofert els animals (Faucitano, 2001), i de fet, els protocols del projecte europeu Welfare Quality[®] (Welfare Quality[®], 2009) incorporen també mesures de danys a la pell com a indicador del benestar dels animals en el període previ al sacrifici. Anys enrere aquest problema no es considerava prioritari, però amb el creixent interès per la millora de la imatge del sector porcí, els operadors comercials actualment hi paren més atenció. L'any 2000, aquesta problemàtica afectava al 70% de les canals espanyoles (en major o menor grau; Gispert *et al.* 2000).

A nivell experimental, l'avaluació de danys a la pell normalment es realitza mitjançant l'ús de patrons fotogràfics. Les escales més utilitzades són la del *Meat and Livestock Commission* (MLC 1985) de 5 punts (1= canal sense danys; 5= canal amb danys molt severes; utilitzada en el capítol IV-1), i també l'escala proporcionada per Barton Gade *et al.* (1996) de 4 punts (1= sense danys; 4= danys molt severes; utilitzada en el capítol VI-3).

Diversos estudis han relacionat el fet d'allargar el temps de dejuni i el temps d'espera a l'escorxadador amb la presència de danys a la pell (Brown *et al.*, 1999; Nanni Costa *et al.*,

2002; Warris *et al.*, 1998), i es recomana que per reduir la incidència de canals amb danys a la pell s'eviti la barreja d'animals provinents de grups diferents a les mateixes quadres evitant així baralles per establir una nova jerarquia. Al Capítol IV-1 tot i que s'esperaria un augment de danys a la pell a l'augmentar el temps de dejuni, només s'observà que les canals dels animals dejunats 12h tendien a presentar danys a la pell més severos que els animals no dejunats –probablement perquè precisament es va evitar la barreja de grups no familiars durant el transport i l'espera–, però en cap cas, els danys a la pell varen tenir puntuació de 'danys molt severos', i la incidència de canals amb 'danys a la pell moderats' fou relativament baixa.

Per altra banda, i com s'ha comentat prèviament, les limitacions de l'escorxador experimental que permetia sacrificar els porcs individualment, va provocar que el temps d'espera s'ampliés dins d'un mateix tractament. Això va fer que estrictament parlant, alguns animals varen tenir més temps per descansar en comparació amb els animals que es varen sacrificar de seguida, però per contra, l'estat alterat dels animals en el cas del capítol IV-3 va fer que també disposessin de més temps per establir les noves jerarquies que probablement no varen tenir l'oportunitat d'establir durant el transport. Aquest últim punt es confirmaria amb el fet que un percentatge molt elevat dels animals varen presentar danys a la pell en el tercer experiment (entre 85,7 i 100%; Taula IV-3.6). Així doncs, els resultats suggereixen que l'avaluació de danys a la pell de les canals podria ser un indicador del tractament *ante mortem* adequat, tal i com apuntaven Guàrdia *et al.* (2009). Seria interessant incorporar periòdicament avaluacions de danys a la pell de les canals per identificar possibles problemes relacionats amb un tractament *ante mortem* poc adequat.

Efecte suplementos de magnesi i/o triptòfan a la dieta

La dieta també és considerada com un aspecte important que afecta la qualitat de la carn, malgrat el paper relatiu que alguns autors consideren que té en comparació amb la genètica o el tractament pre- i post- sacrifici (vegeu Figura I.4-2; Goodband *et al.*, 2006). Seguint amb la hipòtesi plantejada pels experiments IV-2 i IV-3 sobre la incorporació de substàncies com el Mg i/o el Trp per alleujar els efectes negatius que un tractament *ante mortem* inadequat pot tenir sobre la qualitat tecnològica de la carn, a continuació es discuteixen els resultats d'una manera més global.

En relació a la incorporació de sals de magnesi a la dieta, existeixen molts estudis on es compara l'efecte de diferents fonts de magnesi sobre la qualitat de la canal o de la carn (vegeu Taula I.5-2). S'ha estudiat l'efecte de fonts de magnesi inorgàniques com per exemple $MgCl_2$, MgO , $MgSO_4$ i mica magnèsica (silicat de magnesi també conegut com flogopita) i fonts de magnesi orgàniques, com l'aspartat de magnesi, el proteïnat de magnesi i el propionat de magnesi. En els dos experiments es va optar per una font inorgànica de magnesi, més disponible i econòmica. En el capítol IV-2 s'utilitzà carbonat de magnesi ($MgCO_3$), mentre que en el IV-3 s'utilitzà sulfat de magnesi ($MgSO_4$).

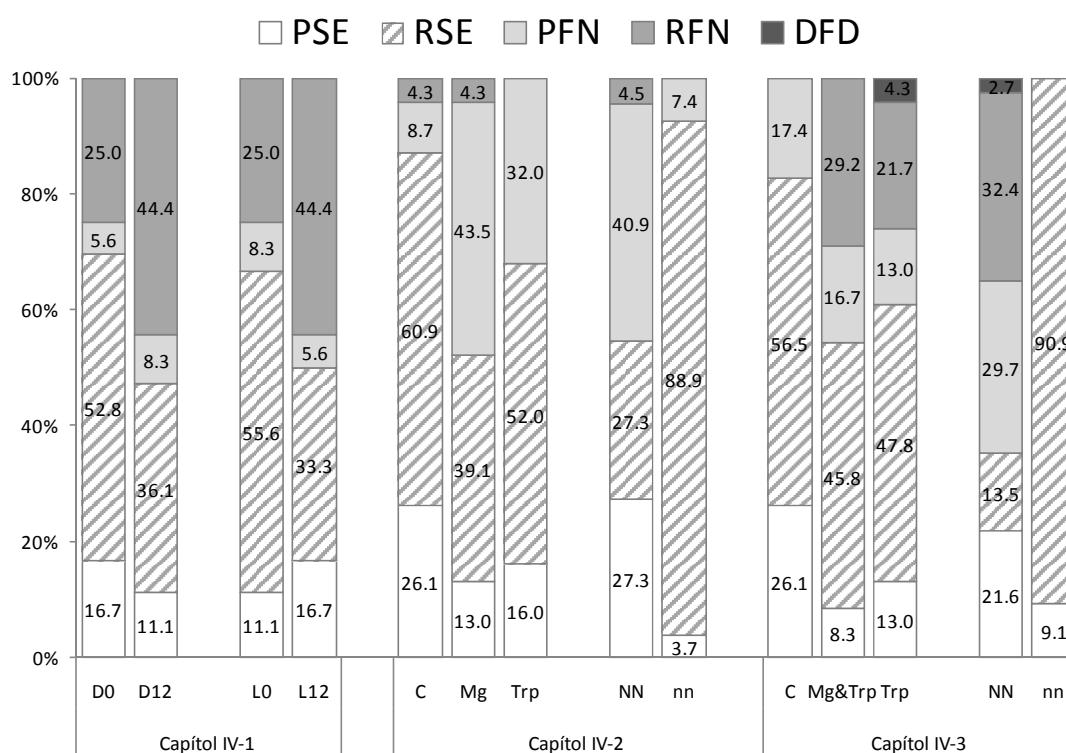
Donat que en el capítol IV-2 no es va complir la hipòtesi inicial del possible efecte de la suplementació de Mg o Trp sobre la qualitat tecnològica de la carn, es varen plantejar les següents actuacions: (1) canviar el carbonat de magnesi per una nova font de magnesi més efectiva, (2) utilitzar la combinació de diferents suplementes, com per exemple, incorporar el suplement de magnesi i el de triptòfan simultàniament a un mateix tractament, (3) augmentar el nivell d'estrès abans del sacrifici.

Així, en el següent experiment es va augmentar el nivell d'estrès abans del sacrifici, es va canviar la font de magnesi utilitzant $MgSO_4$ (una de les fonts inorgàniques més utilitzades segons la bibliografia –D'Souza *et al.*, 1999; Hamilton *et al.*, 2002; Humphreys *et al.*, 2009) enlloc de $MgCO_3$ i es va plantejar la combinació de la font de magnesi amb el triptòfan. Malgrat tot, en el capítol IV-3 l'efecte laxant del sulfat de magnesi fou més gran de l'esperat i no es varen obtenir els resultats esperats. Una possible explicació podria ser precisament aquest efecte laxant, però també cal tenir present que, tal i com apuntava Frederick *et al.* (2006) a part de la dieta, les pròpies condicions de tractament *ante mortem* i la genètica poden originar resultats finals molt diferents (Frederick *et al.* 2006; Goodband *et al.*, 2006; vegeu figura I.4-2). Calen, doncs, més estudis per establir en quines condicions *ante mortem*, i possiblement amb quin tipus de genètica, l'efecte del magnesi i del triptòfan pot ser positiu des del punt de vista del benestar i de la qualitat tecnològica de la carn.

Conseqüències sobre la qualitat tecnològica de la carn

Les estratègies plantejades en aquesta tesi doctoral estaven enfocades a millorar la qualitat tecnològica de la carn. En tots tres estudis, els paràmetres principals que es van utilitzar per caracteritzar-la van ser el pH, la conductivitat elèctrica, el color i les

pèrdues d'exsudat. A partir dels valors de pH (mesurats als 45 minuts i a les 24h) molts autors han classificat els músculs LT i SM en les categories PSE i DFD (vegeu revisió a la Taula I.2-2). Als capítols IV-2 i IV-3 es varen utilitzar aquests criteris per calcular el percentatge de llocs i pernils amb aquestes característiques. Però a partir de la combinació dels diferents paràmetres (pH, color i pèrdues d'exsudat) la carn es pot classificar segons les 5 categories definides per Kauffman *et al.* (1993): PSE, RSE, PFN, RFN i DFD (vegeu apartat I.2.2). Aquests varen ser els criteris utilitzats per classificar els músculs LT dels animals del capítol IV-1, i es presenten ara a la Figura V-1 amb els resultats dels tres estudis.



PSE: pàl·lida, tova i exsudativa; RSE: vermella, ferma i exsudativa; PFN: pàl·lida, ferma i no exsudativa; RFN: vermella, ferma i no exsudativa; DFD: fosca, ferma i seca.

Capítol IV-1. D0: 0h de dejuni en granja; D12: 12h de dejuni en granja; E0: 0h d'espera a l'escorxador; E12: 12h d'espera a l'escorxador;

Capítol IV-2. C: dieta control; Mg: dieta control suplementada amb 0.38% MgCO₃; Trp: dieta control suplementada amb 0.61% de L-triptòfan;

Capítol IV-3. C: dieta control; Mg&Trp: dieta control suplementada amb 0.40% MgSO₄ i 0.70% L-Trp; Trp: dieta control suplementada amb 0.77% de L-triptòfan.

Figura V-1. Classificació del múscul *Longissimus thoracis* de cada experiment en les categories de qualitat tecnològica de la carn segons els criteris de classificació Flores *et al.* (1999) i Faucitano *et al.* (2010b) (vegeu Taula I.2-3).

La categoria RFN correspon a la carn vermella, ferma i no exsudativa, és a dir, carn que es considera de qualitat tecnològica 'normal' (Kauffman *et al.*, 1993; Warner *et al.*, 1997), és a dir, sense defectes tecnològics i amb les característiques ideals per poder ser comercialitzada com a carn fresca. Fixant-nos en aquesta categoria, es pot observar que en el primer estudi (capítol IV-1) el major percentatge es va obtenir pels tractaments de dejuni o d'espera de 12h, en el segon estudi (capítol IV-2) es va obtenir un percentatge molt baix (4,3%) per les dietes C i amb Mg, i pels animals NN, i finalment, en el tercer estudi (capítol IV-3) es va obtenir pels tractaments Mg&Trp (29,2%) i Trp (21,7%), i pels animals NN (32,4%). En cap cas els lloms d'animals nn van ser classificats en aquesta categoria.

La figura V-1 també mostra l'elevat percentatge de músculs LT classificats com a exsudatius (RSE o PSE) en tots els tractaments, i evidencia la vulnerabilitat dels genotips NN i sobretot nn al tractament *ante mortem*.

Des del punt de vista comercial, és interessant poder caracteritzar tecnològicament la matèria primera per orientar el destí final de la peça. Mitjançant únicament la mesura del pH (a 45 minuts i a 24h) es pot obtenir, de manera poc invasiva, una orientació de la qualitat tecnològica de la carn. Però permet només predir si aquella carn tindrà característiques relacionades amb les qualitats tecnològiques PSE o DFD. Ja fa molts anys que, a nivell experimental, aquesta caracterització es fa també d'acord amb diversos paràmetres com el color i la capacitat de retenció d'aigua (sovint predita mitjançant la conductivitat elèctrica o bé mesurant les pèrdues per degoteig) i s'han realitzat diversos intents per desenvolupar mètodes que mesurin objectivament les característiques relacionades amb la qualitat tecnològica de la carn (Kauffman *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 1995; Oliver *et al.*, 1991; Warner *et al.*, 1997; Herrero, 2008). Tot i que són tecnologies simples, la majoria són difícils d'implementar *on-line* (per exemple, a la línia de producció de l'escorxador o de la indústria càrnia) i sovint impliquen un mostreig amb el corresponent procés d'extracció a nivell de laboratori, de manera que, com que la tecnologia no pot ser utilitzada per realitzar anàlisis rutinàries a la mateixa línia de producció, sovint s'analitza sobre una submostra (anàlisi selectiva) o simplement, no s'analitza. Però la indústria càrnia cada vegada més necessita informació fiable i ràpida sobre la qualitat tecnològica de la carn al llarg de tota la cadena, que, en última instància proporcioni una garantia de qualitat als consumidors tant des del punt de vista de seguretat alimentària com nutricional. Per tant, existeix la

necessitat de desenvolupar noves tecnologies per obtenir una predicció i/o caracterització ràpida de la qualitat de la carn. Això proporcionaria a la indústria càrnia eines per a la classificació de la matèria primera d'acord amb el destí final de la carn i/o producte. En concret, actualment ja s'estan considerant tecnologies ràpides i emergents com (bio)sensors, micro- i nano-tecnologies, transmitància de l'infraroig proper, tomografia computeritzada,... per determinar les característiques primàries de la carn (com el pH, la temperatura, la conductivitat elèctrica, el contingut de greix i, fins i tot, el contingut i el perfil d'àcids grassos, etc.). En definitiva, serien eines que permetrien la classificació de la qualitat de la carn des del punt de vista tecnològic, i fins i tot, des del punt de vista sensorial i nutricional.

Consideracions finals

Considerant els resultats experimentals d'aquesta tesi doctoral, es podrien realitzar les següents puntualitzacions:

- Es recomana el control individual de la ingesta de pinso per tal de controlar el consum individual durant els dies previs al sacrifici. Això permet per una banda, en el cas d'haver utilitzat suplement a la dieta, poder identificar qualsevol modificació en el consum relacionat amb la incorporació del suplement i per tant, controlar que els porcs ingereixen la quantitat planificada del mateix. Per altra banda, permet el control individual del dejuni en granja i evita que el període total sigui excessiu, fet que podria anar en detriment de la qualitat de la canal i de la qualitat tecnològica de la carn.
- En relació al tractament *ante mortem*: es recomana un dejuni total planificat d'unes 24-26h (per millorar el rendiment de la canal en fred i augmentar el percentatge de canals RFN i reduir el percentatge de canals exsudatives), repòs a l'escorxador coordinat amb el ramader per evitar temps de dejunis excessius, evitar la barreja d'animals per evitar baralles i canals amb danys a la pell i realitzar un transport suau, sense canvis bruscos de direcció ni velocitat excessiva que obligui els animals a estar en tensió. El sacrifici amb diòxid de carboni es recomana realitzar-lo en grup, amb avaluacions periòdiques mitjançant reflexes corneals, juntament amb algun altre paràmetre fisiològic per controlar el correcte estaborniment (per exemple, avaluar la pèrdua del ritme respiratori).

- Ja a la canal, es recomana realitzar avaluacions periòdiques dels danys a la pell a l'escorxador per comprovar que el tractament *ante mortem* es realitza correctament. I es recomanaria també la utilització de paràmetres com el pH, les pèrdues per degoteig i el color per caracteritzar la matèria primera, però caldrien tècniques predictives no invasives que permetessin fer-ho a nivell de l'escorxador.
- Pel que fa a la suplementació de substàncies que poden reduir els efectes negatius del tractament *ante mortem*: es recomana la utilització de fonts de Mg diferents del sulfat de magnesi pel seu efecte laxant, que tinguin una biodisponibilitat major a la del carbonat de magnesi, i considerar la suplementació de forma líquida. D'aquesta manera, i com que els porcs tenen accés als abeuradors durant el dejuni a la granja i durant el temps d'espera a l'escorxador, podrien ingerir aquestes substàncies fins el moment de sacrificar-los.

Bibliografia

- Averós, X., Knowles, T.G., Brown, S.N., Warriss, P.D., Gonsálvez, L.F., 2008. Factors affecting the mortality of pigs being transported to slaughter. *Vet. Rec.* 163, 386-390.
- Barton Gade, P., Warriss, P.D., Brown, S.N., Lambooi, B., 1996. Methods of improving pig welfare and meat quality by reducing stress and discomfort before slaughter— methods of assessing meat quality. *Proc. EU-Seminar 'New information on welfare and meat quality of pigs as related to handling, transport and lairage conditions, June 29-30, 23-34.*
- Broom, D.M., 1986. Indicators of poor welfare. *Br. Vet. J.* 142, 524-526.
- Brown, S.N., Knowles, T.G., Edwards, J.E., Warriss, P.D., 1999. Behavioural and physiological responses of pigs to being transported for up to 24h followed by six hours recovery in lairage. *Vet. Rec.* 145, 421-426.
- Cannon, J.E., Morgan, J.B., Heavner, J., McKeith, F.K., Smith, G.C., Meeker, D.L., 1995. Pork Quality Audit: a review of the factors influencing pork quality. *J. Muscle Foods* 6, 369-402.
- Chevillon, P., Vauter, A., Gault, E., 2006. Quand sortir les porcs charcutiers sur le local d'embarquement à l'élevage ? Impact sur le rendement carcasse, les poids des estomacs, la qualité de la viande et les rendements à la transformation en jambons cuits. *Techni Porc* 29, 21-27.

- Dodman, N.H., 1977. Observations on the use of wernberg dip-lift carbon dioxide apparatus for pre-slaughter anaesthesia of pigs. *Br. Vet. J.* 133, 71-80.
- D'Souza, D. N., Warner, R. D., Dunshea, F. R., Leury, B. J., 1999. Comparison of different dietary magnesium supplements on pork quality. *Meat Sci.* 51, 221-225.
- EFSA, 2004. Welfare aspects of Animal Stunning and Killing methods. Scientific report of the Scientific panel for animal health and welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of animal stunning and killing methods. Question n° EFSA-Q-2003-093. Accepted on the 15th on June 2004. Available on 18/04/2011 at URL: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/45.htm>
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A.H., Sybesma, W., 1991. Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. *Meat Sci.* 29, 25-30.
- Fàbrega, E., Diestre, A., Carrión, D., Font, J. Manteca, X., 2002. Effect of the halothane gene on pre-slaughter mortality in two Spanish commercial pig abattoirs. *Anim. Welfare* 11, 449-452
- Faucitano, L. 2001. Causes of skin damage to pig carcasses. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 39-45.
- Faucitano, L., Chevillon, P., Ellis, M., 2010a. Effects of feed withdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight, and carcass and meat quality in pigs. *Livest. Sci.* 127, 110-114.
- Faucitano, L., Ielo, M.C., Ster, C., Lo Fiego, D.P., Methot, S., Saucier, L., 2010b. Shelf life of pork from five different quality classes. *Meat Sci.* 84, 466-469.
- Flores, M., Armero, E., Aristoy, M.C., Toldrà, F., 1999. Sensory characteristics of cooked pork loin as affected by nucleotide content and *post mortem* meat quality. *Meat Sci.* 51, 53-59.
- Forslid, A., 1987. Transient neocortical, hippocampal and amygdaloid EEG silence induced by one minute inhalation of high concentration CO₂ in swine. *Acta Physiol. Scand.* 130, 1-10.
- Frederick, B., van Heugten, E., Hanson, D.J., See, M.T., 2006. Effects of supplemental magnesium concentration of drinking water on pork quality. *J. Anim. Sci.* 84, 185-190.

- Fredriksen, B., Hexeberg, C., 2009. The effect of removing animals for slaughter on the behaviour of the remaining male and female pigs in the pen. *Res. Vet. Sci.* 68, 368-370.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggers, K., Harvey, K., Diestre, A., 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.* 55(1), 97-106.
- Gispert, M., Guàrdia, M.D., Diestre, A., 1996. La mortalidad durante el transporte y la espera en porcinos destinados al sacrificio. *Eurocarne* 45, 73-79.
- Guàrdia, M.D., Estany, J., Balasch, S., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., 2009. Risk assessment of skin damage due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Sci.* 81, 745-751.
- Goodband, B., De Rouchey, J., Tokach, M., Dritz M., S., Nelssen, J., 2006. A practical look at nutritional attempts to improve pork quality. London Swine Conference – Thinking Globally, Acting Locally. 5-6 April 2006.
- Hamilton, D. N., Ellis, M., Hemann, M. D., McKeith, F. K., Miller, K. D., Purser, K. W., 2002. The impact of *Longissimus* glycolytic potential and short-term feeding of magnesium sulfate heptahydrate prior to slaughter on carcass characteristics and pork quality. *J. Anim. Sci.* 80, 1586-1592.
- Herrero, A.M., 2008. Raman spectroscopy a promising technique for quality assessment of meat and fish: A review. *Food Chem.* 107, 1642-1651.
- Humphreys, J.L., Carlson, M.S., Lorenzen, C.L., 2009. Dietary supplementation of magnesium sulfate and sodium bicarbonate and its effect on quality during environmental stress. *Livest. Sci.* 125, 15-21.
- Kauffman, R.G., Sybesma, W., Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G., Engel, B., van Laack, R.L.J.M., Hoving-Bolink, A.H., Sterrengurg, P., Nordheim, E.V., Walstra, P., van der Wal, P.G. 1993. The effectiveness of examining early *post mortem* musculature to predict ultimate pork quality. *Meat Sci.* 34, 283-300.
- Kim, B.C., Kauffman, R.G., Norman, J.M., Joo, S.T., 1995. Measuring water-holding capacity in pork musculature with a tensiometer. *Meat Sci.* 39, 363-374.
- Le Floc'h, N., Seve, B., 2007. Biological roles of tryptophan and its metabolism: Potential implications for pig feeding. *Livest. Sci.* 112, 23-32.

- Llonch, P., Rodríguez, P., Dalmau, A., Jensen, E.W., Manteca, X., Velarde, A., 2009. Relationship between behaviour and brain activity during the inhalation of 90% CO₂ in pigs. ISAE, Cairns, Austràlia, 6-10 July 2009.
- Meat and Livestock Commission, 1985. Rindside damage scale. Reference 2031M8/85. Milton Keynes, Meat and Livestock Commission, Bletchley, UK.
- Moelich, E.I., Hoffman, L.C., Conradie, P.J., 2003. Sensory and functional meat quality characteristics of pork derived from three halothane genotypes. *Meat Sci.* 63, 333-338.
- Nanni Costa, L., Lo Fiego, D.P., Dall'Olio, S., Davoli, R., Russo, V., 2002. Combined effects of pre-slaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different halothane genotype. *Meat Sci.* 61, 41-47.
- Oliver, M.A., Gispert, M., Tibau, J., Diestre, A., 1991. The measurement of light scattering and electrical conductivity for the prediction of PSE pig meat at various times *post mortem*. *Meat Sci.* 29, 141-151.
- Pérez, M.P., Palacio, J., Santolaria, M.P., Aceña, M.C., Chacón, G., Verde, M.T., Calvo, J.H., Zaragoza, M.P., Gascón, M., García-Belenguer, S., 2002. Influence of lairage time on some welfare and meat quality parameters in pigs. *Vet. Res.* 33, 239-250.
- Raj, A.B.M., Gregory, N.G., 1996. Welfare implications of the gas stunning of pigs 2. Stress of induction of anaesthesia. *Anim. Welf.* 5, 71-78.
- Rodríguez, P., Dalmau, A., Ruiz-de-la-Torre, J.L., Manteca, X., Jensen, E.W., Rodríguez, B., Litvan, H., Velarde, A. 2008. Assessment of unconsciousness during carbon dioxide stunning in pigs. *Anim. Welfare* 17, 341-349.
- Velarde, A., Cruz, J., Gispert, M., Carrión, D., de la Torre, L.R., Diestre, A., Manteca, X., 2007. Aversion to carbon dioxide stunning in pigs: effect of the carbon dioxide concentration and the halothane genotype. *Anim. Welf.* 16, 513-522.
- Velarde, A., Gispert, M., Faucitano, L., Alonso, P., Manteca, X., Diestre, A., 2001. Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. *Meat Sci.* 58, 313-319.
- Warner R.D., Kauffman, R.G., Greaser, M.L., 1997. Muscle protein Changes *post mortem* in relation to pork quality traits. *Meat Sci.* 45, 339-352.

Warriss, P.D., Brown, S.N., Edwards, J.E., Knowles, T.G. 1998. Effect of lairage time on levels of stress and meat quality in pigs. *Ani. Sci.* 66, 255-261.

Welfare Quality[®] 2009. WelfareQuality[®] Assessment protocol for pigs (sows and piglets, growing and finishing pigs). In: Dalmau, A., Velarde, A., Scott, K., Edwards, S., Veissier, I., Keeling, L., Butterworth, A. (Eds.) Welfare Quality[®] Consortium, Lelystad, the Netherlands

Conclusions

6

VI. CONCLUSIONS

A partir dels resultats obtinguts en els capítols anteriors se'n poden extreure les següents conclusions:

1. Un dejuni total de 24-26h augmenta les pèrdues de pes viu fins a 3,5% sense afectar negativament el pes de la canal, i per tant, aquest període de dejuni i espera millora el rendiment en fred.
2. Segons les condicions experimentals utilitzades, el dejuni dut a terme a l'escorxador proporciona alguns avantatges (menys contingut estomacal i tendència a presentar menor percentatge de lesions cutànies severes) respecte els porcs dejunats a la granja. No es pot concloure de manera definitiva si hi ha una millora real del benestar animal, i per tant, fan falta més estudis per poder extrapolar aquests resultats a condicions comercials.
3. Un dejuni de 24-26h permet augmentar el percentatge de lloms considerats normals (RFN), que correspon a característiques acceptables per a la comercialització com a carn fresca i per a l'elaboració de productes carnis de qualitat, en detriment dels lloms amb característiques exsudatives (RSE).
4. En la comunicació entre el productor i l'escorxador cal tenir en compte una programació adequada del dejuni en granja combinat amb el temps d'espera a l'escorxador per tal de millorar la gestió del període *ante mortem*, de manera que es minimitzin els efectes negatius sobre el benestar del porc, i s'optimitzin la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn (reducció de la incidència de carns RSE).
5. La presència dels dos al·lels del genotip RYR1(nn) afecta els paràmetres relacionats amb la qualitat de la canal i característiques tecnològiques de la carn. Addicionalment s'observa que, prenent els reflexes corneals com a indicador de l'inici de la inconsciència, l'exposició al 90% de CO₂ durant 132s indueix la inconsciència més aviat en els porcs nn que en els NN, indicant que el gas és més efectiu en els porcs nn.

6. Una dieta suplementada amb MgCO_3 (0,38%) pot tenir un efecte positiu en el benestar dels porcs homozigots respecte el genotip RYR1 (nn), reduint l'aversió al CO_2 durant l'estaborniment, encara que es requereixen noves investigacions al respecte. Pel que fa a les característiques tecnològiques de la carn, no es van veure afectades per una dieta suplementada amb MgCO_3 (0,38%) o L -triptòfan (0,61%) durant 5 dies abans del sacrifici al sotmetre els porcs a condicions *ante mortem* considerades de mínim estrès.
7. La incorporació d'una mescla de MgSO_4 i L -triptòfan (0,40% i 0,77%, respectivament) a la dieta no va comportar cap avantatge a causa de l'efecte laxant del sulfat de magnesi que provocà un consum de pinso inferior al planificat. Aquest efecte secundari va comportar obtenir una major probabilitat de danys severa a la pell al grup suplementat amb la mescla en comparació al grup control i al suplementat amb triptòfan. Per tant, es conclou que una mescla de sulfat de magnesi i L -triptòfan (0,40% i 0,77%, respectivament) no és recomanable perquè no redueix l'estrès *ante mortem*.
8. Tenint en compte que cap animal suplementat amb L -triptòfan (0,70%) va morir durant el període *ante mortem*, que aquests porcs van mostrar una durada de les excitacions musculars inferior durant l'estaborniment, i que van mostrar la mateixa probabilitat que el grup control de tenir danys a la pell severa, es pot concloure que estratègies que incorporin suplementes de L -triptòfan poden ser efectives per reduir l'estrès *ante mortem*.
9. Dels resultats d'aquest estudi es dedueix que en estudiar l'efecte de la incorporació de suplementes a la dieta és molt important controlar el consum de pinso a nivell individual. En aquest tipus d'experiments es poden treure conclusions errònies si hi ha porcs que no han consumit suficient quantitat de suplement, i que no es poden detectar coneixent només la mitjana del consum del corral.
10. De manera general, s'evidencia la vulnerabilitat dels porcs al tractament *ante mortem*, i es recomana prendre especial atenció a una correcta combinació dels temps de dejuni en granja i d'espera a l'escorxador, així com evitar la barreja d'animals i realitzar un transport suau per evitar conseqüències negatives sobre el benestar, la qualitat de la canal i la qualitat tecnològica de la carn. Es recomana seguir estudiant la relació entre els factors *ante mortem* i la qualitat de la carn, així

com la seva interacció amb la genètica dels animals. En el cas d'optar per la utilització de genètiques amb animals homozigots recessius respecte el gen RYR1, es suggereix, a més, la utilització de suplementos a la dieta com la combinació de L-triptòfan amb altres compostos o altres fonts de magnesi (excloent el sulfat de magnesi), amb l'objectiu de reduir l'estrès i millorar la qualitat tecnològica de la carn.