



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA "ELISEU MACIEL"
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AGROINDUSTRIAL

INFLUÊNCIA DO ESTRESSE NO MANEJO PRÉ-ABATE E NA QUALIDADE DA
CARNE SUÍNA

CHARLI BEATRIZ LUDTKE

Pelotas-RS, 2004

CHARLI BEATRIZ LUDTKE

**INFLUÊNCIA DO ESTRESSE NO MANEJO PRÉ-ABATE E NA QUALIDADE DA
CARNE SUÍNA**

DISSERTAÇÃO apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia Agroindustrial
da Faculdade de Agronomia "Eliseu
Maciel" da UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS, como
requisito parcial à obtenção do título
de Mestre em Ciências (M. S.).

Orientador: Prof. Dr. GERMANO JORGE DORNELLES SOARES

Co-Orientador: Prof. Dr. EXPEDITO TADEU FACCO SILVEIRA

Pelotas-RS, 2004

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Germano Jorge Dornelles Soares (Faculdade de Agronomia / UFPEL)

Prof. Dr. Odir Antonio Dellagostin (Faculdade de Biologia / UFPEL)

Prof^a. Dra. Maria Tereza Osório (Faculdade de Agronomia / UFPEL)

Pesq. Dr. Exedito Tadeu Facco Silveira (Instituto de Tecnologia de Alimentos / ITAL /
Campinas / SP)

Dedico este trabalho ao
meu amor “Carlos Nogueira”
que sempre esteve presente,
fazendo-me acreditar que posso tornar
a vida uma constante realização.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Prof. Germano J. Dornelles Soares, pela dedicação neste trabalho, bem como pelos ensinamentos, incentivo, amizade e confiança.

Ao co-orientador Expedito Tadeu Facco Silveira, pela ajuda constante e incentivo em viabilizar o trabalho.

Aos amigos do Centro de Biotecnologia em especial ao Prof. Aleixo que sempre me incentivou a prosseguir na carreira científica.

Aos amigos do CTC / ITAL Juliana, William, Cíntia, Thaís, Karina, Marcela, Maristela, Wálter, Davi, Mayra, Edinho, Muza, Célia e Serginho pelo inestimável empenho em viabilizar a parte experimental deste trabalho.

As minhas queridas amigas Heloisa, Cristina e Silvana pelo carinho, solidariedade e companheirismo demonstrado no decorrer do curso.

Aos amigos Cláudio, Eliézer, Luciano, Márcio, Fernando, Celso, Aline, Ricardo, Rita, Dani, Lélis, Ana, Andréa e Márcia pelos momentos de descontração e amizade.

Ao amigo José V. Peloso pelo incentivo e amizade.

Ao Luciano Bessa e Vanessa pela dedicação das atividades deste trabalho.

Aos professores Wladimir, Gládis e Vivian pelos ensinamentos, amizade e auxílio no decorrer deste trabalho.

À Prof. Eunice Oba e sua equipe Unesp / Botucatu pelo auxílio na execução das análises bioquímicas.

Ao apoio financeiro do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, CAPES, Frigorífico PIFPAF / MG, Danbred e Elanco.

À minha família em especial a minha mãe e irmã Soninha pelo incentivo e amor sempre presente.

À Esterzinha, Eduardo e Titi pela torcida, carinho e incentivo em todos os momentos.

À Deus a força que move os meus caminhos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	X
ABSTRACT	xi
1- INTRODUÇÃO	1
2- OBJETIVOS	3
3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Caracterização do estresse	4
3.2 Avaliação da resposta fisiológica do estresse	9
3.2.1 Formas de avaliações	10
3.2.1.1 Determinação de cortisol	10
3.2.1.2 Determinação de lactato	12
3.3 Influência do estresse na qualidade da carne	12
3.4 Influência da genética na qualidade da carne	16
3.4.1 Gene <i>Rendimento Napole</i> (RN ⁻)	17
3.4.2 Gene <i>Halotano</i>	17
3.5 Situações de estresse no manejo pré-abate	19
4- MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Material	23
4.2 Metodologia	23
4.2.1 Experimento	23
4.2.2 Amostragem	24
4.2.3 Avaliações das características visuais	25

4.2.3.1 Lesões da pele (escoriações)	25
4.2.3.2 Petéquias (salpicamento)	25
4.2.4 Avaliações das características físico-químicas	26
4.2.4.1 Análise de pH	26
4.2.4.2 Análise da cor	26
4.2.4.3 Perda por exsudação	27
4.2.4.4 Capacidade de retenção de água (CRA)	27
4.2.4.5 Reflectância luminosa interna	28
4.2.5 Análise dos parâmetros fisiológicos para o estresse	28
4.2.6 Análise molecular - Caracterização do gene <i>hal</i>	29
4.2.6.1 Extração do DNA	29
4.2.6.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)	29
4.2.6.3 Reação de digestão	29
4.2.6.4 Análise da digestão	30
4.2.7 Estatística	30
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 Avaliações das características visuais	31
5.1.1 Lesões da pele (escoriações)	31
5.1.2 Petéquias (salpicamento)	32
5.2 Avaliações das características físico-químicas da carne	33
5.3 Avaliações das respostas fisiológicas para o estresse	39
5.4 Análise molecular – Caracterização do gene <i>hal</i>	41
6- CONCLUSÕES	42
7- REFERÊNCIAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Cérebro hipotálamo hipófise adrenal	6
Figura 2-	Demonstração esquemática do mecanismo da resposta biológica dos animais ao estresse	8
Figura 3-	Suínos utilizados no experimento	24
Figura 4-	Avaliação visual da incidência de escoriações nas carcaças suínas	25
Figura 5-	Medições de pH no músculo <i>Longissimus dorsi</i>	26
Figura 6-	Avaliação da cor do músculo <i>Longissimus dorsi</i>	26
Figura 7-	Padronização das amostras para exsudação	27
Figura 8-	Suspensão das amostras para exsudação	27
Figura 9-	Padronização do peso das amostras	27
Figura 10-	Prensagem das amostras	27
Figura 11-	Avaliação da reflectância luminosa, utilizando sistema HGP	28
Figura 12-	Seqüência do fragmento do gene <i>hal</i> amplificado por PCR e indicação da região de anelamento dos oligonucleotídeos iniciadores	29
Figura 13-	Distribuição do gene <i>hal</i> nos suínos avaliados no Frigorífico PIFPAF / MG	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Frequência de escores de lesões (%) em função do uso do bastão elétrico ou painel	32
Tabela 2-	Incidência de petéquias (%) segundo o uso do bastão elétrico e painel em diferentes regiões do <i>Longissimus dorsi</i> , utilizando escala de (1 a 4) pontos	32
Tabela 3-	Parâmetros físico-químicos de músculos suínos (LD e SM) em função do manejo com bastão elétrico (alto estresse) e painel (baixo estresse)	36
Tabela 4-	Parâmetros bioquímicos do plasma de suínos em função do manejo pré-abate	40

RESUMO

A forma de movimentar os suínos, no manejo pré-abate, influencia significativamente a qualidade da carne. O trabalho comparou o uso do painel (G1) e do bastão elétrico (G2) na condução de suínos, verificando os níveis de estresse e sua influência na qualidade da carne. O experimento utilizou suínos híbridos (n=120) para determinações dos níveis de estresse, o qual foi obtido por parâmetros bioquímicos (cortisol e lactato) e, nas carcaças (n=70), foi avaliada a qualidade da carne pelas modificações físico-químicas *post mortem* e susceptibilidade do gene do estresse suíno (gene *hal*) em 20% das mesmas. Os resultados, submetidos à análise variância, constataram diferença significativa ($p < 0,001$) nas concentrações de cortisol e lactato plasmático entre os grupos suínos G1 e G2. Não houve diferença significativa para os fatores cor e retenção de água, contudo, constatou-se maior redução dos valores de pH, indicando maior velocidade de glicólises, nas primeiras horas do *post mortem*, no grupo G2 em relação a G1, caracterizando, nos primeiros, uma maior incidência de carne PSE. O gene *hal* não interferiu nos níveis de PSE, pois não se constatou suínos portadores (nn), 15% foram heterozigotos (Nn) e 85,7% normais (NN). Concluindo-se que o uso do painel, durante o manejo pré-abate dos suínos, diminui os níveis de estresse, reduzindo em 53% a incidência de carne PSE.

Palavras chave: suínos, estresse, manejo pré-abate, qualidade de carne.

ABSTRACT

The pre-slaughter handling of swines has a significant influence in the meat quality. This work compared the use of a board (G1) and electric prod (G2) for moving swines, checking the stress level and its influence in the meat quality. The experiment used hybrid swines (n=120) for the determination of stress levels, which were obtained through biochemical parameters (cortisol and lactate) and, in the carcasses (n=70) the quality of the meat was evaluated by the physico-chemical *post mortem* changes and the susceptibility of the swine stress gene (gene *hal*) in 20% of the carcasses. The results, submitted to variance analysis, showed significant differences ($p < 0,001$) in the cortisol and plasma lactate concentrations between the swine groups G1 and G2. There was no significant difference regarding to color and water holding capacity, however, it was verified higher reduction of pH values, indicating higher speed of glycolysis in the first hours *post mortem* in G2 group in relation to G1 group, resulting in the first group, a higher incidence of PSE meat. The *hal* gene did not interfere in the PSE, because it was not verified carrier swines (nn), only 15% were heterozygote (Nn), and 85,7% were normal. It can be concluded that the use of the board during the pre-slaughter treatment of swines decreases the levels of stress, reducing in 53% the incidence of PSE meat.

Key words: swines, stress, handling, pre-slaughter, meat quality

1- INTRODUÇÃO

No manejo pré-abate há fatores estressantes, que dependendo da duração ou severidade são capazes de alterar a qualidade da carne. Um dos fatores considerado crítico para o bem-estar é a movimentação inadequada dos animais. Assim, dependendo da forma de condução dos suínos, pode-se observar que maus tratos, medo, esforço e excessiva utilização de bastão elétrico, resultam em perdas econômicas, em função da redução da qualidade obtida.

A facilidade de manejo dos suínos, com descargas elétricas, aliada a falta de treinamentos e regulamentações, corroboram com o uso intensivo desse dispositivo e conseqüentemente, induz defeitos na carne, pelo aumento dos níveis de estresse.

Suínos movimentados com bastão elétrico durante o carregamento, descarregamento e na área de abate, podem apresentar modificações no comportamento e nas respostas fisiológicas. Esta prática de manejo influi na indução do estresse psicológico e físico. O estresse aumenta a liberação de hormônios adrenérgicos e corticotróficos, que podem interferir nas reservas de glicogênio muscular, antecipando a glicólise *post mortem*. Esse mecanismo, dependendo da intensidade, pode resultar em valores de pH desfavoráveis nas primeiras horas (5,3 a 5,6), que combinados à temperatura elevada, das carcaças suínas, provocam diminuição da capacidade de retenção de água. Portanto, há maior desnaturação das proteínas, aumentando a incidência de carne pálida, flácida, exsudativa (PSE) e vermelha, flácida, exsudativa (RSE).

Na condução de suínos, a substituição do bastão elétrico pelo painel de alumínio comprovou ser um sistema eficiente na diminuição do estresse e, dependendo da susceptibilidade dos animais, pode minimizar os defeitos da carne.

As adequações das condições de abate são fundamentais para atender as legislações de bem-estar animal, tornando extremamente relevante propostas que investiguem os níveis de estresse em relação à qualidade da carne, o que melhora sua competitividade no exigente mercado internacional.

O trabalho quantifica os níveis de estresse, através da determinação de cortisol e lactato plasmáticos, em duas condições de movimentação dos animais, utilizando o bastão elétrico e o painel de alumínio, avaliando a qualidade da carne pelos parâmetros físico-químicos da cor, reflectância luminosa, pH, capacidade de retenção de água e perda por exsudação.

2- OBJETIVOS

Gerais

- a) Comparar e avaliar a influência das duas formas de condução de suínos no pré-abate, em relação aos níveis de estresse e qualidade da carne.

Específicos

- a) Comparar duas formas de condução de suínos: painel e bastão elétrico, em relação aos níveis de estresse, através de análises bioquímicas: cortisol e lactato plasmático;
- b) Avaliar o efeito dos níveis de estresse no pH, incidência de carne PSE e RSE, bem como na cor e retenção de água;
- c) Avaliar a interferência do gene *hal* nos índices de carne PSE.

3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Caracterização do estresse

O estresse é o principal indicador utilizado para avaliar o bem-estar animal. A maioria dos autores, entre os quais destacam-se GRANDIN, (1998), MOBERG, (2000), PINHEIRO MACHADO FILHO & HÖTZEL, (2000), descrevem que o estresse não é causa e sim consequência. Demonstrando que os animais desenvolvem mecanismos de respostas, quando sua homeostasia está ameaçada, necessitando de ajustes fisiológicos ou comportamentais, para adequar-se aos aspectos adverso do manejo ou ambiente. A adaptação envolve uma série de respostas neuroendócrinas e comportamentais, para manter o equilíbrio das funções vitais (BARNETT & HEMSWORTH, 1990; Van BOERLL, 1995).

As respostas são específicas para a ameaça sofrida e ocorrem em três linhas de defesa:

- Reconhecimento ao agente estressante
- Defesa biológica contra o agente estressor
- Consequência da resposta ao estresse - Custo Biológico

A primeira reação ao estresse, é o reconhecimento do agente estressante com alteração do comportamento. Portanto, os animais têm reações comportamentais ao serem expostos a estímulos estressantes na tentativa de escapar ou aliviar-se do estressor (MOBERG, 2000). As alterações comportamentais de estresse são rápidas, especialmente em situações agudas que revelam medo e refletem o sentimento para evitar o estressor (PASSILLÉ *et al.*, 1995). Um exemplo

disto é o aumento da vocalização dos suínos, no manejo pré-abate em condições estressantes. WARRISS *et al.* (1994), GRANDIN (1998) mediram os níveis de vocalização, nessas condições e constataram correlação positiva entre vocalização e estresse, demonstrando que o manejo pré-abate inadequado, altera o comportamento dos suínos.

A defesa biológica contra o agente estressor ocorre por ativação do sistema nervoso autônomo, através de uma resposta rápida ao estresse, denominada “alarme”, “síndrome de emergência” ou também “reação de luta ou fuga” (CANNON, 1929; MOBERG, 2000). A resposta ocorre quando os estímulos externos e internos são conduzidos via sistema nervoso, por neurotransmissores, até o hipotálamo, onde é secretado o hormônio liberador de corticotropina (CRH). Esse hormônio é transportado até a hipófise (pituitária), estimulando a síntese e a liberação de adrenocorticotropina (ACTH), que por sua vez estimula a liberação de glicocorticóides (cortisol) e catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) pela glândula adrenal (Fig. 1). O CRH também estimula a resposta rápida de “luta ou fuga”, que num mecanismo coordenado pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), cria diferentes sinais, entre os quais, encontra-se o aumento da frequência respiratória e cardíaca nos animais (MATTERI *et al.*, 2000).

Um dos exemplos mais evidentes da resposta rápida é a movimentação dos suínos no pré-abate. BRUNDIGE *et al.* (1998) verificaram aumento na frequência cardíaca de suínos, manejados no carregamento e descarregamento, utilizando bastão elétrico, estas alterações foram acompanhadas de indicadores comportamentais de agitação (orelhas em pé, vocalização, perda de equilíbrio) e hormonais (aumento do cortisol). RUSHEN, (2000) afirma que uma vez entendida as causas das alterações do comportamento, pode-se definir a inter-relação neurofisiológica e a atuação neuroquímica nos animais de produção.

Os glicocorticóides (cortisol) desempenham papel importante na gliconeogênese, que no fígado converte gordura e proteína em glicose para produção de energia. Esses hormônios potencializam a síntese e ação da epinefrina, a qual estimula a gliconeogênese e lipólise, mobilizando os estoques de energia para uma vigorosa atividade e, ao mesmo tempo, regula a concentração de

glicocorticóides para manter a homeostasia. O aumento na liberação de hormônios adrenérgicos e corticosteróides acaba interferindo nos níveis de glicogênio e fosfocreatina muscular e, conseqüentemente, nas concentrações de ATP, lactato e íons hidrogênio. O acúmulo de lactato e íons hidrogênio causam o declínio do pH *post mortem* (WARRISS, 1998b; D'SOUZA *et al.*, 1998; STØIER *et al.*, 2001; HENCKEL *et al.*, 2002; ALLISON *et al.*, 2003).

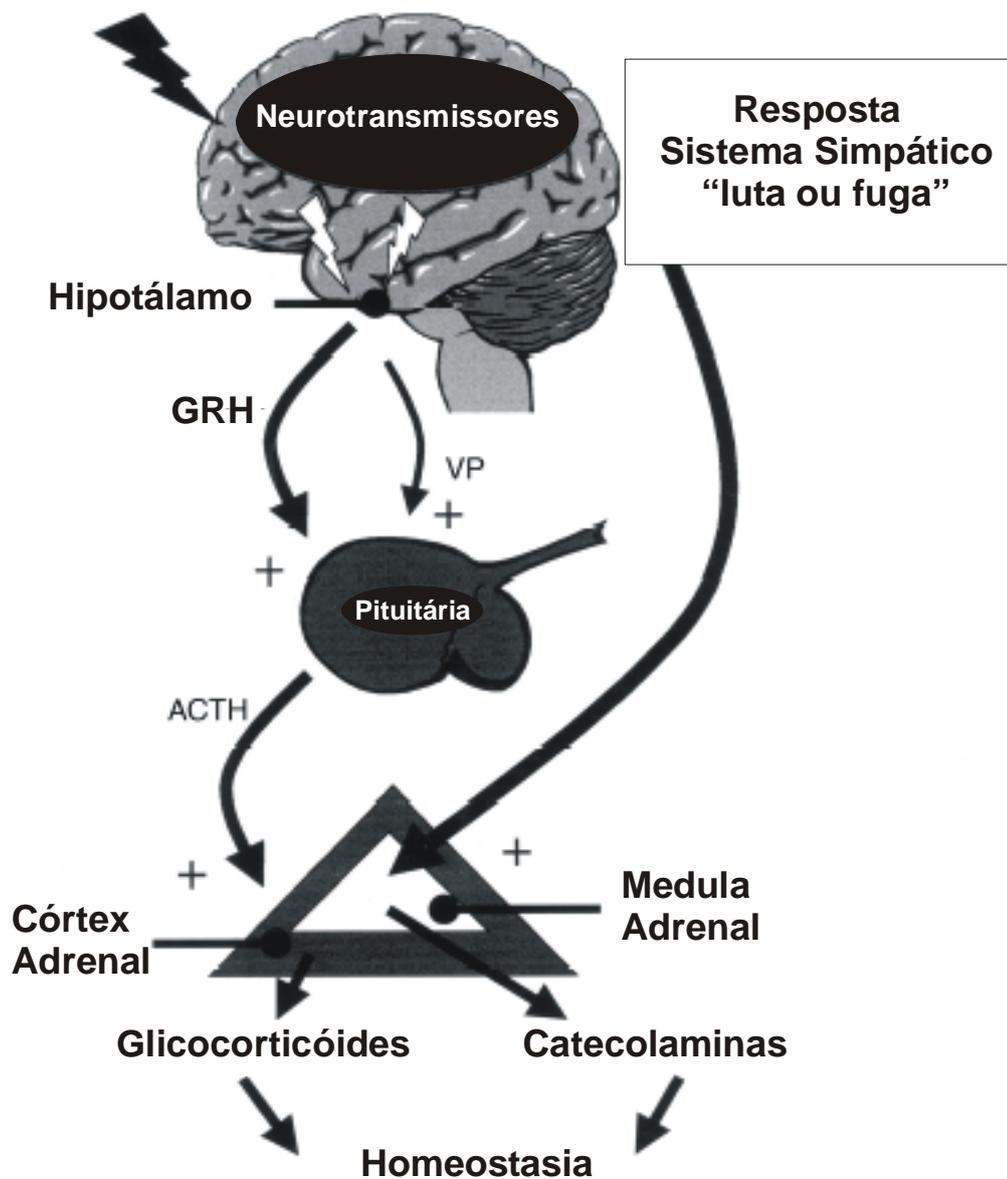


Figura 1- Cérebro hipotálamo hipófise adrenal

Fonte: MATTERI *et al.* 2000

Na tentativa de manter a homeostase, o estresse é positivo e tem valor adaptativo. O estresse crônico, entretanto, leva a uma outra reação, conhecida como “desistência aprendida”. O animal “aprende” que sua reação ao meio desfavorável não resulta em adaptação e, portanto, deixaria de reagir. Essa condição tem inúmeras conseqüências para o organismo animal: maior fragilidade do sistema imunológico, aumentando a susceptibilidade a doenças; redução da produtividade em alguns casos; ocorrência de comportamentos anômalos (PINHEIRO MACHADO FILHO & HÖTZEL, 2000).

A elevação crônica dos glicocorticóides, resulta no catabolismo protéico, hiperglicemia, supressão imune, susceptibilidade para infecção e depressão (MATTERI *et al.*, 2000). A energia no estresse crônico é mobilizada constantemente, o que pode ser uma forma de desviá-la do mecanismo de produção (ZULKIFLI & SIEGEL, 1995). Outros efeitos são o aumento da vasoconstrição, a inibição do processo inflamatório e da resposta imunitária, observando-se que os corticosteróides diminuem a blastogênese de linfócitos B, a atividade das células *natural killer* e a síntese de citocinas (Van BOERLL, 1995).

O modelo de estresse apresentado na figura 2 é uma resposta em cascata representando os eventos biológicos, cuja natureza pode variar de indivíduo para indivíduo. Acredita-se que o principal problema, não está na natureza das defesas biológicas durante o estresse, mas no seu impacto para o animal. Portanto para determinar quando ou quanto o estresse afeta o bem-estar animal, deve ser avaliado o custo biológico. Quando o custo biológico de suportar a situação estressante desviar reservas de outras funções biológicas, como da manutenção da competência imunológica, reprodutiva, metabólica ou crescimento, o animal experimenta o diestresse. Durante o diestresse há o prejuízo das demais funções, o que coloca o animal no estágio pré-patológico, provocando vulnerabilidade a numerosas patologias (MOBERG 2000).

O efeito nas funções biológicas e a manutenção do estresse, quando não adaptado, levam ao aparecimento de patologias, ameaçando o bem-estar animal. Há fatores que podem influenciar na percepção do estímulo, permitindo uma melhor resposta do animal e diminuindo os gastos metabólicos, entre os quais pode-se destacar a experiência prévia, idade, genética, interação humano-animal (MOBERG, 2000).

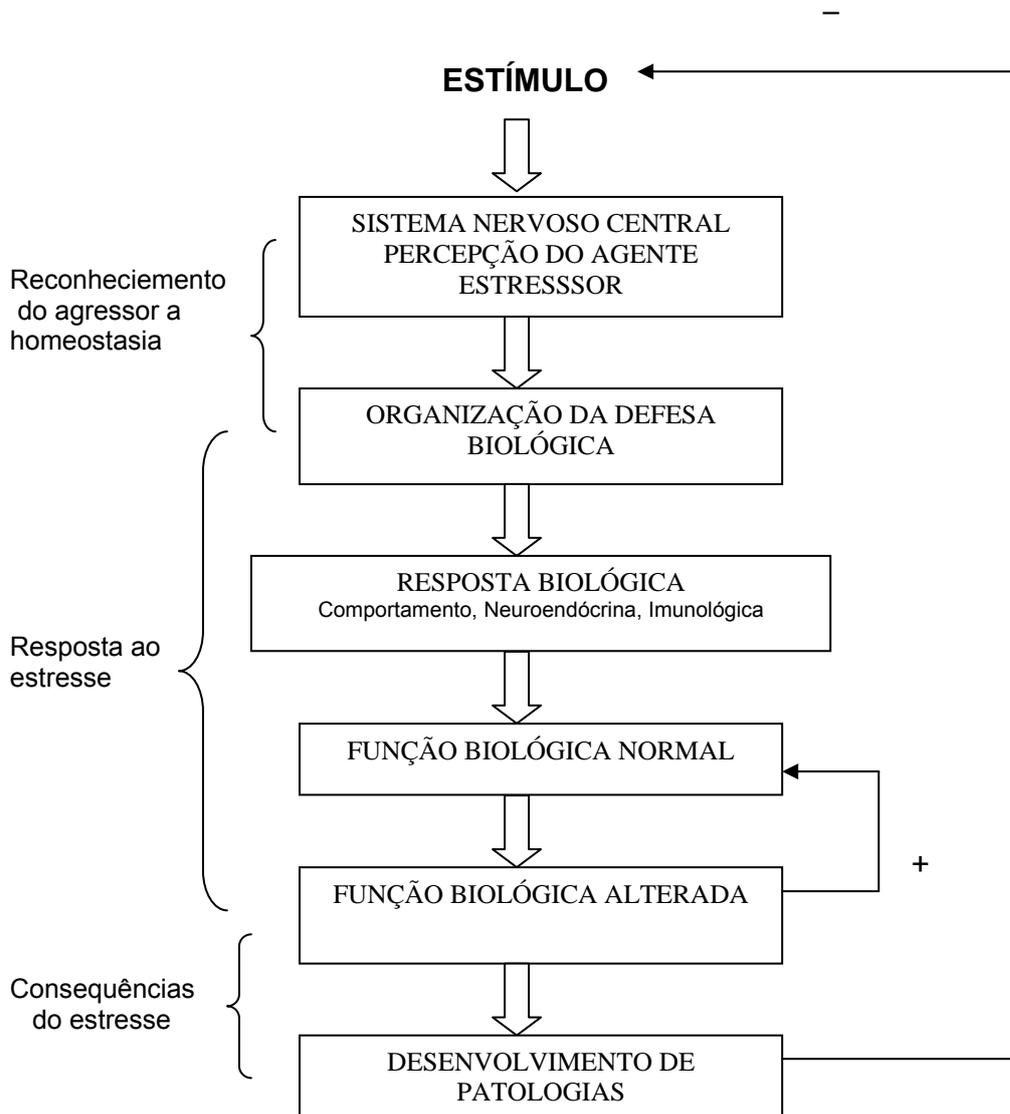


Figura 2- Demonstração esquemática do mecanismo da resposta biológica dos animais ao estresse.

Fonte: MOBERG (2000)

3.2 Avaliação da resposta fisiológica do estresse

Hans Selye em 1939, observou alterações marcantes no tamanho do tecido endócrino, subsequente à exposição a um agente estressante. As observações de Selye foram confirmadas em vários experimentos, demonstrando claramente que as respostas endócrinas, constituem um componente integral da resposta ao estresse (Van de KAR *et al.*, 1991; STRATAKIS & CHROUSOS, 1995). Os sinais hormonais desempenham papel vital na manutenção da homeostasia e os hormônios endócrinos respondem de alguma forma, aos agentes estressantes específicos (WEISSMAN, 1990; WENK, 1998). Entretanto, o estresse pode afetar o controle do metabolismo hormonal. A maioria dos efeitos da resposta adaptável ao estresse, está na integração de múltiplos fatores que freqüentemente interagem na resposta hormonal e afetam diretamente a saúde física e o bem estar animal.

A secreção de hormônios corticosteróides pela córtex adrenal, está relacionada aos níveis de estresse e sua medida no plasma é relativamente fácil. Os níveis circulantes de hormônios corticosteróides podem ser extremamente sensíveis respondendo a estímulos discretos, incluindo baixos níveis de ativação emocional semelhantes à exposição a um novo meio ambiente. HENRY & STEPHENS, (1977) observaram que a atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenocortical (HPA) está relacionada à forma comportamental de suportar, com atividades de controle intenso, sob a ativação preferencial do sistema nervoso simpático (SNS), enquanto o comportamento passivo e submisso, está associado com alta secreção de hormônios corticosteróides.

Há outros fatores que devem ser considerados na sensibilidade característica do sistema neuroendócrino, todos relacionados aos procedimentos, como a manipulação, manejo, punção venosa para coleta sanguínea, enquanto formas específicas têm sido desenvolvidas para minimizar esta influência no experimento.

3.2.1 Formas de avaliações

Há pelo menos dois métodos para medir o estresse; através da resposta comportamental e pela avaliação das funções biológicas (endócrinas e enzimáticas) nos fluídos ou tecidos de animais vivos. No caso dos animais de abate, as informações adicionais do estresse *ante mortem*, podem ser obtidas por avaliações posteriores na carcaça (MOBERG, 1985; SHAW & TUME, 1992). Um dos maiores problemas no monitoramento do estresse é a variação na resposta individual, porque frente ao mesmo estressor cada animal responde diferentemente (MOBERG, 1985; D'SOUZA *et al.*, 1998).

A fadiga e o estresse podem ser avaliados através de análises bioquímicas no plasma (adrenalina, noradrenalina, cortisol), por avaliações visuais e físico-químicas da carcaça. Pode-se mensurar o estresse, avaliando-se as funções endócrinas, reações comportamentais e ações do sistema nervoso autônomo, no entanto estas análises isoladas, não têm demonstrado qualidade para quantificar a situação de estresse, porém quando associadas, se tornam uma metodologia eficaz. Na prática da etologia, o bem-estar é avaliado por meio de indicadores fisiológicos e comportamentais. As medidas fisiológicas associadas ao estresse têm sido usadas baseadas em que, se o estresse aumenta, o bem-estar diminui. Já os indicadores comportamentais são baseados especialmente na conduta de comportamentos anormais, e de comportamentos que se afastam do ambiente natural. Porém, se o nível da resposta rápida não permite adaptação ou à mudança ambiental, ou a resposta não está disponível, o animal pode alterar a sua biologia, através de mudanças significativas no seu sistema endócrino e autônomo via HPA.

3.2.1.1 Determinação de cortisol

Os animais elevam os níveis plasmáticos de cortisol, no manejo pré-abate mais estressante, em resposta ao estresse psicológico sofrido, que prepara seu organismo com suprimento extra de energia, permitindo a “reação de luta ou fuga”. O cortisol é o maior hormônio adreno-cortical secretado, em resposta à liberação do hormônio adreno-corticotrófico (ACTH) pela hipófise em situações de estresse. A liberação se dá pela córtex adrenal, resultando em elevada concentração de glicose

plasmática, através do aumento da glicogenólise hepática e gliconeogênese associada ao catabolismo da proteína. O hormônio também é necessário para a efetividade das funções das catecolaminas, especialmente na mobilização de ácidos graxos voláteis (SHAW & TUME, 1992; SHAW & TROUT, 1995). O efeito final dessas alterações metabólicas é aumentar a glicose sanguínea até seu nível normal e armazenar glicogênio para suprir de energia (NELSON & COX, 2002).

GRANDIN, (1994) observou que em situações de extremo estresse, os valores de cortisol podem dobrar ou quadruplicar. D'SOUZA *et al.* (1998) observaram que há muitas diferenças individuais num mesmo grupo, alguns suínos podem ter aumento à resposta hormonal, quando comparados com outros, isto dificulta a resposta à intensidade do estressor. No entanto (SHAW & TUME, 1992; SHAW & TROUT, 1995) sugeriram que na comparação de dois tratamentos, em relação ao estresse, aquele grupo que produzir cortisol em valores médios mais baixo, seja adotado como o menos estressante, portanto, não prescindindo de padrões pré-estabelecidos.

WARRISS *et al.* (1998a) e GISPERT *et al.* (2000) mediram as concentrações plasmáticas de cortisol e encontraram correlação positiva entre os níveis de cortisol e o grau de lesões de pele, causadas por brigas entre os suínos no manejo. BERTOLONI & SILVEIRA, (2003) observaram que suínos insensibilizados com dióxido de carbono ou com corrente elétrica possuem diferentes níveis de cortisol. WARRISS *et al.* (1998d) e PÉREZ *et al.* (2002) avaliaram tempos diferentes de transporte e constataram diferença significativa nas concentrações de cortisol, no entanto WARRISS *et al.* (1998c) e BARTON-GADE & CHRISTENSEN, (1998) ao submeterem suínos a diferentes densidades de transporte, não constataram diferença neste hormônio.

BROWN *et al.* (1998) estabeleceram para suínos abatidos em condições estressantes $17,02\mu\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ e em situações de mínimo estresse $7,62\mu\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$. SHAW & TROUT (1995) avaliaram a concentração de cortisol plasmático em suínos que desenvolveram carne PSE, encontrando valores elevados ($16,63\mu\text{g}\cdot \text{dL}^{-1}$).

3.2.1.2 Determinação de lactato

Em situações de estresse intenso pode ocorrer exaustão muscular formando grandes quantidades de ácido láctico, resultante da degradação intensa do glicogênio muscular, o qual poderá ser liberado na corrente circulatória. Como resultado, altas concentrações de lactato plasmático são formadas na exaustão muscular. Adicionalmente, liberação de catecolaminas como resultado de medo ou excitação podem também causar rápida glicogenólise (SHAW & TUME, 1992).

WARRISS *et al.* (1994) observaram diferenças nas concentrações de lactato em suínos abatidos em condições de estresse $139,8\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ e mínimo estresse $63,5\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$. Posteriormente BROWN *et al.* (1998), WARRISS *et al.* (1998a) e STØIER *et al.* (2001) também encontraram diferença ao comparar manejo convencional e um manejo com o mínimo estresse. GISPERT *et al.* (2000) avaliaram as concentrações de lactato, em suínos que possuíam escores altos de lesões de pele, constataram que, quanto mais numerosas as lesões, maior a deposição de lactato.

Aumentos nos níveis de lactato, também podem ser causados por outras situações de estresse, conforme foi observado por WARRISS *et al.* (1998d) e PEREZ *et al.* (2002) em relação a tempos de transporte e BERTOLONI & SILVEIRA, (2003) que avaliaram diferentes métodos de insensibilização.

3.3 Influência do estresse na qualidade da carne

O manejo pré-abate estressante influencia negativamente a qualidade da carne suína. As correlações entre as reações induzidas por fatores estressantes e a qualidade da carne, especialmente em termos de capacidade de retenção e intensidade da cor, foram comprovados por diversos autores, entre os quais citam-se TARRANT, (1989), WARRISS, (1998b), MILLIGAN *et al.* (1998), FAUCITANO, (2000), NANNI COSTA *et al.* (2002) e ROSENVOLD & ANDERSEN, (2003a). Há necessidade de monitorar os pré-requisitos fisiológicos do músculo no momento do abate, devido à relação existente com a qualidade final (HENCKEL *et al.*, 2002).

A conversão de músculo em carne é um processo que demanda de energia. No músculo a energia provém da quebra de ATP em ADP e fósforo inorgânico. Após a morte, o ATP é restabelecido pela conversão de ADP para ATP pela transferência do fosfato da fosfocreatina e pela degradação de glicogênio. O declínio observado no pH depende da habilidade para formação de lactato, a partir do glicogênio disponível (BENDALL & SWATLAND, 1988). As reações bioquímicas básicas fundamentam o declínio do pH após a morte, e este declínio, exerce a maior influência nas características da qualidade da carne (BENDALL & SWATLAND, 1988; HENCKEL *et al.*, 2002).

O declínio do pH depende das concentrações iniciais de glicogênio e fosfocreatina (BENDALL & SWATLAND, 1988) que em situações de estresse são mobilizadas para produção de energia. Se o estresse é baixo, a energia é provida do processo aeróbico, existindo oxigênio suficiente para suprir o músculo. Se o animal é abatido durante este estágio, pode não ser possível detectar nenhuma influência no desenvolvimento do pH *post mortem* ou qualidade da carne, assim como, os níveis de glicogênio não são significativamente reduzidos (HENCKEL *et al.*, 2002). Dependendo da duração da baixa intensidade do estresse a depleção do glicogênio poderá ocorrer (GOLLNICK & MATOBA, 1984). Por exemplo nas situações causadas por longos períodos de jejum, que promovem degradação lenta do glicogênio muscular. A carne acidifica pouco no *post mortem* e resulta em pH_{24h} próximo ao inicial, apresentando superfície seca, coloração escura e textura firme (DFD). WARRISS *et al.* (1998d), BARRETO & BUTZKE, (2003) e LEHESKA *et al.* (2003), constataram que os suínos com jejum acima de 24h manifestaram pH_{24h} $\geq 6,0$ e alta incidência de carne DFD, quando comparados aos animais que tiveram jejum normal (18h).

O estresse médio pode ter influência no declínio do pH, reduzindo a quantidade de glicogênio e fosfocreatina, antecipando a queda do pH *post mortem*. Como a intensidade do estresse é aumentada, a contração do músculo deve ser suprida com maior produção de ATP, que provém de fontes anaeróbicas, pela degradação de fosfocreatina e glicogênio, formando altas concentrações de ácido

lático (GOLLNICK & HERMANSEN, 1973). Se o animal é abatido nesse momento, ocorre aumento na velocidade de queda do pH *post mortem*.

No estresse de alta intensidade, o processo de degradação é semelhante ao descrito anteriormente, porém a velocidade e a exigência de energia é maior, a qual implica em rápida exaustão muscular (SAHLIN *et al.*, 1994; HENCKEL *et al.*, 2002). Manejos utilizando o bastão elétrico podem causar situações de alta e média intensidade de estresse. Diversos autores, entre os quais, destaca-se D'SOUZA *et al.* (1998), FAUCITANO *et al.* (1998), Van der WAL *et al.* (1999) e STØIER *et al.* (2001) comprovaram que o estresse pré-abate, utilizando bastão elétrico, acelera a velocidade de glicólise nas primeiras horas *post mortem*, promovendo uma maior incidência de carne PSE. Outras formas de estresse, no abatedouro, como o abate imediatamente depois do descarregamento, ou um descanso muito pequeno, no pré-abate, pode aumentar a proporção de carne PSE (WARRISS *et al.*, 1998d).

Em situações de estresse intenso, a velocidade de queda do pH pode aumentar de duas a quatro vezes, podendo o pH na primeira hora chegar a valores abaixo de 6,0 (SWATLAND, 1995). O desenvolvimento de acidez (baixo pH) no músculo, associado a temperaturas elevadas (acima de 25°C), provoca maior desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas e nas miofibrilares, durante a conversão do músculo em carne (LAWRIE *et al.*, 1998; JOO *et al.* 1999; CHANNON *et al.*, 2000). A desnaturação causa perda da solubilidade protéica e da capacidade da água ligar-se as proteínas, além de alterar a coloração (HEDRICK *et al.*, 1993; FISHER *et al.*, 2000; ROSENVOLD & ANDERSEN, 2003b), caracterizando o defeito PSE em diferentes graus. O aumento da liberação de água na fibra muscular se dá, devido ao rompimento das ligações químicas, que alteram a reflectância do feixe de luz, diminuindo a intensidade da cor da carne (WARRISS & BROWN, 1987; HEDRICK *et al.*, 1993; SWATLAND, 1995).

Em casos extremos de desnaturação protéica, o defeito PSE é facilmente observado, como decorrência de uma maior velocidade de queda de pH nas primeiras horas *post mortem*. O declínio rápido do pH nem sempre é indicativo de

defeito, visto que, algumas carnes, podem apresentar velocidades normais de glicólise e adequada cor, porém com altos níveis de exsudação, o que as caracterizam como RSE (OURIQUE, 1989; MILLER, 2001; ROSENVOLD & ANDERSEN, 2003a).

A relação do estresse com a velocidade de glicólise é fundamental no metabolismo *post mortem* para caracterizar os possíveis defeitos da carne. Para melhor dimensionar esses defeitos alguns autores, entre os quais PINHEIRO MACHADO FILHO & HÖTZEL, (2000) e ROSENVOLD & ANDERSEN, (2003a) classificam o estresse pelo tempo de duração: curto e longo. Suínos expostos a estresse de curta duração, estão susceptíveis a desenvolver defeitos na qualidade da carne como RSE e PSE. Enquanto o estresse de longa duração está associado à presença de carne DFD.

A carne RSE é um tipo de PSE intermediária, mas sem atingir o extremo da desnaturação protéica (DENG *et al.*, 2002). As primeiras descrições desse defeito foram realizadas por KAUFFMAN *et al.* (1993), WARNER *et al.* (1997) e Van LAACK & KAUFFMAN (1999) ao constatarem que algumas carnes apresentavam alto percentual de exsudação (acima de 5%) e coloração normal, diferindo da PSE. Esses autores baseando-se nas avaliações de cor L^* (brilho), pH_u e perda por exsudação, dividiram as amostras em quatro categorias: Vermelha, firme, não exsudativa (RFN) correspondendo a valores de L^*42-50 , exsudação $<5\%$ e $pH_u<6,0$; vermelha, flácida, exsudativa (RSE) L^*42-50 , exsudação $>5\%$ e $pH_u<6,0$; pálida, flácida, exsudativa (PSE) $L^*>50$, exsudação $>5\%$ e $pH_u<6,0$ e escura, firme e seca na superfície (DFD) $L^*<42$, exsudação $<5\%$ e $pH_u\geq 6,0$.

As variações na qualidade da carne suína têm sido observadas em diversos trabalhos, entre os quais cita-se KIRCHHEIM *et al.* (2001), que constataram na Alemanha 38,1% (RSE), 8,4% (PSE), 5,7% (DFD) e 47,8% (RFN), na Irlanda O'NEIL *et al.* (2003) encontraram 14,5% (RSE), 25,5% (PSE), 59,5% (RFN) e 0,5% (DFD). Enquanto nos Estados Unidos 28% (RSE), 7% (PSE), 45% (RFN) e 20% (DFD) (KAUFFMAN, 1997- citado por MILLER, 2001). Há alta incidência de carne RSE em diversos países, no entanto, a causa desse defeito, ainda não está bem esclarecida

(Van LAACK & KAUFFMAN, 1999; JOO *et al.*, 1999). OFFER *et al.* (1989), BENDAL & SWATLAND (1988) e CHEAH *et al.* (1998) relatam que a desnaturação da miosina é um dos principais fatores causadores da exsudação inaceitável. WARNER *et al.* (1997), avaliando a influência da desnaturação das proteínas estruturais na exsudação, não constataram, diferença entre amostras RSE e RFN. No entanto, LUNDSTRÖN *et al.* (1996) e DENG *et al.* (2002), verificaram que houve desnaturação na MML (meromiosina leve) e nas proteínas sarcoplasmáticas em suínos portadores, ou não, do gene da carne ácida. CHEAH *et al.* (1998) atribuíram o aumento da incidência da carne RSE, às condições estressantes de manejo. Entretanto, para a maioria dos autores a incidência da carne RSE está ligada à influência genética, como o gene do *Rendimento Napole* ou gene da carne ácida (WARNER *et al.*, 1997; BERTRAM *et al.*, 2000; MILLER *et al.*, 2000; RÜBENSAM, 2000; DENG *et al.*, 2002).

3.4 Influência da genética na qualidade da carne

A seleção genética, ao aumentar drasticamente a eficiência na produção de carne, induziu também alterações nas relações proteína: água, o que explica a menor retenção de água, quando há aceleração da queda inicial do pH *post mortem* em músculos de suínos melhorados (LONERGAN *et al.*, 2001) quando comparados a grupos sem melhoramento genético. A velocidade de crescimento muscular é intensificada, devido ao aumento do número de fibras musculares e proliferação de células satélites no período de seleção genética, podendo ocorrer efeitos negativamente correlacionados com a qualidade da carne, em termos de maior palidez (BARTON-GADE, 1990; citado por ROSENVOLD & ANDERSEN, 2003a).

As diferenças entre animais da mesma raça ou raças distintas podem ser causadas por um grande número de genes com pequeno efeito, conhecido como efeito poligênico. Dentre os fatores genéticos os dois principais genes, que tem influência direta na qualidade tecnológica da carne, é o gene *Rendimento Napole* (gene RN⁻) e o gene *Halotano* (gene *hal*) (ROSENVOLD & ANDERSEN, 2003a).

3.4.1 Gene *Rendimento Napole*

Os suínos que carregam o alelo RN⁻ apresentam alto potencial glicolítico no músculo, que é convertido em lactato no *post mortem*, resultando em pH final baixo (MONIN & SELLIER, 1985; ESTRADE *et al.*, 1993). Normalmente tem sido encontrado em populações de suínos Hampshire, ou populações com ancestrais Hampshire (MILLER *et al.*, 2000). Não tem efeito na velocidade de declínio do pH, mas sim nos valores de pH final 24h *post mortem*, o que resulta em baixos valores de retenção de água (HAMILTON *et al.*, 2003).

MILLER *et al.* (2000) avaliaram a frequência do gene RN⁻ em suínos Hampshire e constataram alta frequência deste alelo, acompanhado de alta deposição de glicogênio muscular, pH final baixo e maior perda por gotejamento. WARNER *et al.* (1997), avaliaram amostras de carne RSE e atribuíram a causa do pH mais ácido à presença do gene RN⁻. LUNDSTRÖN *et al.* (1996) e DENG *et al.* (2002) verificaram que a desnaturação da meromiosina leve (MML) e das proteínas sarcoplasmáticas, foi intensificada nos suínos portadores do gene RN⁻, devido a mudanças na conformação das proteínas, causadas pelo baixo pH. Entretanto, ainda está incerto, o principal mecanismo que causa a variação na retenção de água. Van LAACK & KAUFFMAN, (1999) não constataram alta incidência do gene RN⁻ em amostras de carne RSE, concluindo que a sua ocorrência, não está relacionada somente à presença desse gene.

3.4.2 Gene *Halotano*

O gene *Halotano*, também denominado de gene da síndrome do estresse porcino, causa hipertermia maligna, que é desencadeada através do estresse ou da exposição ao gás anestésico halotano (FÁBREGA *et al.*, 2002). Os efeitos do gene são conhecidos desde 1960 e associados ao desenvolvimento da carne PSE (BRISKEY, 1964). A carne PSE foi a primeira descrição de degeneração muscular feita por LUDVIGSEN, (1954) (SWATLAND, 1995). Em 1960 SAYRE *et al.* (1963) descreveram que certas raças como Pietran, Poland China, ou certas linhagens

genéticas com raças Landrace, continham alta incidência de carne PSE, no entanto, outras raças ou linhagens genéticas, estavam praticamente livres deste defeito. Após EIKELENBOOM & MINKEMA (1974) confirmaram que os suínos portadores do gene *Halotano* (gene *hal*), reagem ao gás halotano, e assim foi nomeado.

O gene *hal* codifica para os receptores *ryanodine* (RYR1), os quais são proteínas transmembranas que atuam nos canais liberadores de cálcio (CRC) do retículo sarcoplasmático do músculo esquelético (FUJII *et al.*, 1991). A mutação ocorre na posição 1843, de uma base C (citosina) para uma base T (timina), resultando na substituição de um resíduo de arginina (Arg) na posição 615 da seqüência normal da proteína para um resíduo de cisteína (Cys) na seqüência mutante. Esta mutação está relacionada à síndrome do estresse porcino (PSS) (FUJII *et al.*, 1991; MICKELSON & LOUIS, 1996).

A disfunção dos canais liberadores de cálcio (CRC) causa aumento do cálcio no citosol, em decorrência de um estímulo, ocasionando contração muscular, hipertermia, taquicardia, acidose metabólica e respiratória (LOUIS *et al.* 1990). Os suínos portadores do gene *hal* heterozigotos (Nn) ou homozigotos recessivos (nn), quando expostos a fatores estressantes, no período que antecede o abate, podem apresentar alterações musculares, morte e o aparecimento de carne PSE no *post mortem*.

Diversos países eliminaram a presença do gene *hal* de suas linhas de seleção genética. No Brasil o gene *hal* encontra-se também reduzido ou eliminado (BASTOS *et al.*, 1998; CULAU, 1999; PELOSO *et al.*, 2001). Um grande número de trabalhos tem comprovado o efeito do gene *hal* (homozigotos e heterozigotos) no rendimento de carcaça e percentual carne magra (AALHUS *et al.*, 1991; GARCIA-MACIAS *et al.*, 1996; ANTUNEZ, 1997; HERFORT *et al.*, 2001; LARZUL *et al.*, 1997; LEACH *et al.*, 1996; McPHEE & TROUT, 1995), no entanto, o efeito positivo no rendimento de carcaça é compensado, através do efeito negativo na cor e capacidade de retenção de água. Suínos homozigotos e heterozigotos, acompanhados de estresse no manejo, desenvolvem maior velocidade de glicólise *post mortem*, baixos valores de pH inicial, altas temperaturas, o que induz ao desenvolvimento de carne PSE. Este efeito é mais severo nos animais homozigotos

para o gene *hal*. Embora tenha se eliminado ou reduzido o gene *hal*, a condição PSE ainda continua alta, mostrando que outros fatores, como o manejo pré-abate inadequado, podem estar sendo negligenciados (CHANNON *et al.*, 2000; GISPERT *et al.*, 2000; RÜBENSAM, 2000).

3.5 Situações de estresse no manejo pré-abate

O manejo pré-abate expõe os suínos a vários agentes estressantes, entre os quais citam-se a mudança de ambiente, transporte, método de movimentação, mistura com animais desconhecidos e sistemas de insensibilização (GRANDIN, 1994; ROSENVOLD & ANDERSEN, 2003a).

A condução de suínos durante o carregamento, descarregamento e instalações do frigorífico, utilizando excessivamente o bastão elétrico, por manejadores pouco treinados, associado à falta de rigidez na aplicação da legislação de bem-estar animal, contribuem, significativamente, nas perdas de qualidade da carne suína (BRUNDIGE *et al.*, 1998; FAUCITANO, 2000; ZANELLA, 2000).

Suínos manejados com bastão elétrico no pré-abate apresentaram maior velocidade de queda do pH e menor retenção de água, no entanto, os valores da cor L^* não foram alterados (D'SOUZA *et al.*, 1998; Van der WAL *et al.*, 1999). A eliminação do uso de bastão elétrico reduziu o percentual de carne PSE, de 41 para 9% (D'SOUZA *et al.*, 1998). No entanto, GUISE & PENNY (1989) não observaram redução na incidência de PSE, nem melhorias nas características físico-químicas de qualidade, somente diminuição das lesões de pele (escoriações). A redução das escoriações, também foram observadas por Van der WAL *et al.* (1999) e FAUCITANO *et al.* (1998) na eliminação do bastão elétrico.

As escoriações severas são um problema econômico, com diminuição do valor das carcaças (FAUCITANO, 2000). BARTON-GADE & CHRISTENSEN, (1998) encontraram correlação entre os escores de lesões e procedimentos de manejo inadequado em carcaças suínas.

WARRISS *et al.* (1998a), avaliando suínos (n=5500), abatidos em cinco países na Europa, constataram que 63% dos animais possuíam escoriações e, dessas, 10% apresentaram escores inaceitáveis (3 e 4), além de elevados níveis de cortisol (15,1 e 20,6 $\mu\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$), lactato (60 e 76 $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$) e creatina fosfoquinase (1554 e 1801 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$), quando comparados com suínos com escores 2 (cortisol-11,9 $\mu\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$; creatina fosfoquinase-1554 $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ e lactato-54 $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$), comprovando que escoriações severas, decorreram de maior estresse físico e psicológico.

O tempo de transporte também tem causado estresse nos suínos. PEREZ *et al.* (2002), avaliaram suínos transportados em dois tempos (15min e 3h) e constataram que o menor tempo, apresentou valores de pH mais baixo, nas primeiras horas do *post mortem* e altos níveis de cortisol e lactato, quando comparado ao maior tempo. No entanto, os valores de perda por exsudação não apresentaram diferenças. Esses autores explicam que o maior tempo, apesar de expor os animais a maior período de condições estressantes, também proporciona uma melhor adaptação, tornando-os menos influenciados pelas agressões do meio.

A densidade de lotação adequada no transporte, sugerida por WARRISS *et al.* (1994) para proporcionar maior bem-estar aos suínos é de 0,45 $\text{m}^2\cdot 100\text{kg}^{-1}$, valor que pode variar, conforme as condições climáticas. A alta densidade proporciona maior esforço dos suínos, inviabilizando as condições de recuperação da fadiga, por outro lado, as baixas densidades, oferecem maior espaço para o animal deitar-se, regulando a temperatura corporal e melhor adaptando-se às condições estressantes (WARRISS *et al.*, 1998d; NANNI COSTA *et al.*, 2002). WARRISS *et al.* (1998d), avaliando a atividade da enzima creatina fosfoquinase plasmática de suínos, verificaram que altas densidades de transporte induzem maior estresse físico. Entretanto, a cor e a capacidade de retenção de água, não foram afetadas pela densidade de transporte (BARTON-GADE & CHRISTENSEN, 1998; WARRISS *et al.*, 1998d ; NANNI COSTA *et al.*, 2002). WARRISS, (1995b) e Van der WAL *et al.*, (1997) mencionam que o estresse provocado no transporte, pode ser recuperado com um correto manejo nas instalações do frigorífico, sendo mais prejudicial o estresse provocado minutos antes do abate.

O tempo de descanso no frigorífico causa diferentes níveis de estresse em suínos (FAUCITANO, 1998). O tempo ótimo de descanso varia, entre 2 a 3h (Van der WAL *et al.*, 1997; MILLIGAN *et al.*, 1998). WARRISS *et al.*, (1998d) constataram que utilizando 3h de descanso, os suínos acalmam-se diminuindo brigas e, conseqüentemente, recuperando os níveis de glicogênio muscular. Há diferença significativa entre os tempos de descanso dos suínos e os níveis de PSE, que diminui a incidência com 3h de descanso. Entretanto, se o tempo de descanso for estendido, à proporção de danos cutâneos e de carne DFD, causadas pelas brigas e conseqüente depleção de glicogênio, aumentam (WARRISS *et al.*, 1998d; NANNI COSTA *et al.*, 2002). Contrariamente, para DALL AASLYNG & BARTON- GADE, (2001) não foram constatadas diferenças entre as características de qualidade da carne suína, em diferentes tempos de descanso, utilizando manejos com mínimo estresse (sem bastão elétrico).

Misturar animais desconhecidos deve ser evitado, durante o manejo pré abate (BROWN *et al.*, 1998). Suínos em grupos desenvolvem hierarquia social, as quais são interrompidas quando animais desconhecidos são misturados, ocorrendo freqüentemente brigas, para estabelecer uma nova ordem de dominação (WARRISS, 1998b). Suínos que brigam apresentam aumento da depleção de glicogênio no músculo, aumentando desta forma o pH final da carne (WARRISS & BROWN, 1987; FAUCITANO *et al.*, 1998; WARRISS *et al.*, 1998a). BROWN *et al.* (1998) comparando grupos de suínos manejados com mínimo estresse, adaptados ao ambiente, com animais estranhos entre si, encontraram valores de pH inicial menor e níveis elevados de cortisol, lactato, creatina fosfoquinase, nesse último grupo. Entretanto, os valores de cor e capacidade de retenção de água não foram afetados.

Na insensibilização de suínos os dois métodos mais utilizados são: elétrico e dióxido de carbono. CASTEELS *et al.*, (1995), CHANNON *et al.*, (2000, 2002) e BERTOLONI & SILVEIRA, (2003) verificaram que, a insensibilização elétrica apresentou maior velocidade de glicólise *post mortem*, menor capacidade de retenção de água, aumento de corticosteróides e maior palidez, quando comparada com dióxido de carbono. Também constataram aumento da incidência de petéquias hemorrágicas (VELARDE *et al.*, 2000, 2001; CHANNON *et al.*, 2002), indicando que

a insensibilização elétrica promove aumento da atividade muscular e maior estresse psicológico (TROEGER & WOLTERS DORF, 1990).

Esforços vêm sendo realizados no sentido de melhorar as condições de movimentação dos suínos até o insensibilizador, exemplo disto, é o sistema com baixo estresse, proposto por BARTON-GADE *et al.* (1992) e STØIER *et al.* (2001) onde portões automáticos, movem-se das pocilgas de espera até a área de insensibilização, sem os suínos ter contato com os manejadores e bastão elétrico para conduzir. STØIER *et al.* (2001) compararam este sistema (automatizado) com o convencional (utilizando bastão elétrico e misturando suínos estranhos no corredor de insensibilização) e constataram menor velocidade de glicólise *post mortem*, melhor cor e capacidade de retenção de água, quando comparado ao sistema convencional.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Suínos híbridos, procedentes de uma granja na região de Patos de Minas / MG, foram abatidos no frigorífico PIFPAF / Patrocínio / M.G. Após padronização da genética e idade de abate (140d), mantiveram-se sob controle das condições de transporte (noturno), utilizando densidade ($0,4\text{m}^2 \cdot 100\text{kg}^{-1}$) e distância percorrida (120Km), além do tempo de espera dos suínos no frigorífico (4h) e o método de insensibilização (elétrico).

4.2 Metodologia

4.2.1 Experimento

O experimento utilizou 120 suínos, com pesos entre 86 e 95Kg, divididos em dois grupos, contendo 60 animais (Fig 3). No grupo 1 os animais foram movimentados utilizando painel de alumínio, durante carregamento, descarregamento e nas instalações frigoríficas. No grupo 2 os animais foram movimentados com bastão elétrico (40v).



Figura 3: Suínos utilizados no experimento

No abatedouro, os suínos foram previamente agrupados num determinado manejo, conduzidos às baias de espera com densidade de lotação ($0,6\text{m}^2 \cdot 100\text{Kg}^{-1}$) e sistema de aspersão de água. Os animais permaneceram em dieta hídrica e descanso por 4h, após foram conduzidos para o insensibilizador elétrico, utilizando painel (grupo 1) ou bastão elétrico (grupo 2). A insensibilização dos suínos utilizou eletrodos na região das têmporas, com descarga elétrica de 340v por 3s e corrente elétrica de 1,06A. Os animais, na seqüência, foram abatidos pela incisão da veia jugular e artéria carótida, efetuando-se a sangria (mesa rolante), sendo as demais etapas: escaldamento, remoção de pêlos, flambagem, evisceração, tipificação e resfriamento, cumpridas de acordo com os procedimentos adotados pelo frigorífico. O tempo para finalização da evisceração variou de 30 a 35 min. Após a obtenção da carcaça esta foi resfriada, iniciando 50min *post mortem* com choque térmico (-22°C durante 60min) e posteriormente câmara de equalização (2°C durante 24h).

4.2.2 Amostragem

Efetou-se a coleta de sangue dos suínos ($n=120$) durante a etapa de sangria, coletando as amostras em tubos cônicos de 15mL, contendo 2.500UI de anticoagulante heparina. As amostras foram imediatamente resfriadas (5°C) e, a seguir centrifugadas, separando-se o plasma, que foi congelado em nitrogênio líquido (-196°C), para posterior análise bioquímica dos indicadores de estresse.

Separou-se, aleatoriamente, 70 carcaças suínas, incluindo ambos os grupos, para avaliação da qualidade da carne, através de características visuais e físico-químicas. Essas análises nas carcaças foram obtidas dentro do período de 24h *post mortem*. Para a análise molecular, foi utilizado 20% das carcaças (n=14) na caracterização do gene *hal*.

4.2.3 Avaliações das características visuais

4.2.3.1 Lesões da pele (escoriações)

Os índices de escoriações foram obtidos visualmente no pernil, paleta e corpo das carcaças (Fig. 4), baseando-se em um padrão fotográfico com escala de 1 a 4 (1-ausência, 2-leve; 3-moderada e 4-severa) conforme descrito por BARTON-GADE *et al.* (1993).



Figura 4: Avaliação visual da incidência de escoriações nas carcaças suínas

4.2.3.2 Petéquias (salpicamento)

O *Longissimus dorsi* (LD) foi separado da coluna vertebral e a pele e o tecido subcutâneo retirados. As petéquias foram localizadas de acordo com a região do LD: anterior, posterior, central, medial e lateral. A incidência destas, foi determinada utilizando uma escala subjetiva de quatro pontos (1-ausência, 2-ligeira, 3-moderada e 4-severa), conforme descrito por BARTON-GADE *et al.* (1993).

4.2.4 Avaliações das características físico-químicas

4.2.4.1 Análise de pH

Os valores de pH foram medidos utilizando-se pHmêtro (INGOLD-WTW) com sistema de identificação digital, sensor de compensação de temperatura (TEC 530) e eletrodo de vidro apropriado para determinação de pH em profundidade. As medições foram realizadas em duplicata nos músculos *Semimembranosus*, no período de 4, 6, 8 e 24h *post mortem* (Fig. 5).

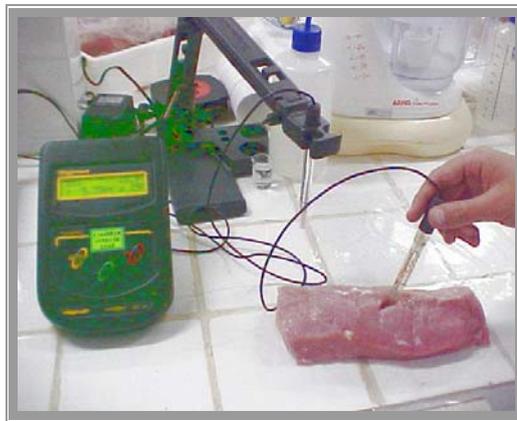


Figura 5: Medições de pH no músculo *Longissimus dorsi*

4.2.4.2 Análise da cor

A cor foi avaliada num período de 24h *post mortem*, utilizando colorímetro Minolta (modelo CR 300, Minolta Câmera Co., Ltd., Osaka, Japan). As medições foram realizadas em triplicatas no músculo LD, todas no sistema L* (brilho) a*(vermelho) b* (amarelo) (Fig. 6).



Figura 6: Avaliação da cor do músculo *Longissimus dorsi*

4.2.4.3 Perda por exsudação

Amostras de 100g do *Longissimus dorsi* (Fig.7), foram utilizadas em duplicatas para a determinação da perda por exsudação num período de 24h *post mortem*, baseado na suspensão da amostra em sacos plásticos inflados (Fig. 8), sob atuação da gravidade, conforme metodologia descrita por HONIKEL, (1998).



Figura 7: Padronização das amostras para exsudação



Figura 8: Suspensão das amostras para exsudação

4.2.4.4 Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água foi realizada de acordo com a metodologia descrita por GRAU & HAMM (1954) e modificada por HOUFFMANN *et al.* (1982). Amostras em duplicatas do músculo *Longissimus dorsi* 24h *post mortem*, foram pesadas 0,5g ($\pm 0,0005$) (Fig. 9) e colocadas entre dois discos de papel filtro Wathman nº1 e placas de plexiglass com pressão hidráulica de 500 lb/pol² durante 2 minutos (Fig. 10).



Figura 9: Padronização do peso das amostras



Figura 10: Prensagem das amostras

4.2.4.5 Reflectância luminosa interna

As mensurações de reflectância luminosa interna, foram realizadas com o sistema de tipificação Hennessy Grading Probe (HGP), realizando-se duas inserções da sonda óptica (comprimento de onda 590nm) no músculo *Longissimus dorsi* (Fig. 11), entre a 10^a e 11^a costelas e 13^a e 14^a, a 80mm da linha média da carcaça. As inserções foram realizadas no período de 45min pós abate, sendo repetida 24h *post mortem*.



Figura 11: Avaliação da reflectância luminosa, utilizando sistema de tipificação HGP

4.2.5 Análise dos parâmetros fisiológicos para o estresse

A avaliação dos parâmetros fisiológicos para o estresse foi realizada pela dosagem do hormônio cortisol e atividade da enzima lactato-oxidase. Amostras de plasma foram descongeladas (-196°C) e usadas para análise de cortisol usando o método de radioimunoensaio (Coat-A-Count Cortisol Kit, Diagnostic Products Corporation-DPC, Los Angeles, USA) e lactato-oxidase pelo método espectrofotométrico (Lactat PAP enzym. Farbtest, Rolf Greiner Biochemica, Flacht, Germany). A dosagem de cortisol foi realizada em contador gama (Gama Count Cobra II-PackardTM) e a atividade enzimática em espectrofotômetro (RA-XTM, Technicon, Bayer) com comprimento de onda de 340nm.

4.2.6 Análise molecular para caracterização do gene *hal*

4.2.6.1 Extração do DNA

A extração do DNA genômico foi realizada em 20% das carcaças suínas (n=14), utilizando metodologia descrita por LUDTKE *et al.* (2001).

4.2.6.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

As PCR's foram realizadas em um volume final de 25 μ L, sendo 20 μ L do Mix-PCR (200 μ M de dNTP's, 1,5mM de MgCl₂, 1,5U de DNA Taq polimerase e 200ng de cada *primer*) e 5 μ L da extração (INNIS *et al.*, 1990). A sequência do oligonucleotídeos iniciadores utilizados foi a descrita por FUJII *et al.* (1991), correspondendo a (5'GTTCCCTGTGTGTGTGCAATGGTG3') e (5'GCCAGGGAGCAAGTTCTCAGTAAT3') (Fig. 12). As amostras foram colocadas em um termociclador *Thermal Reactor* e o programa abrangeu 35 ciclos, compreendendo desnaturação a 95°C por 1min, anelamento a 56°C por 1min. e extensão a 72°C por 1min.

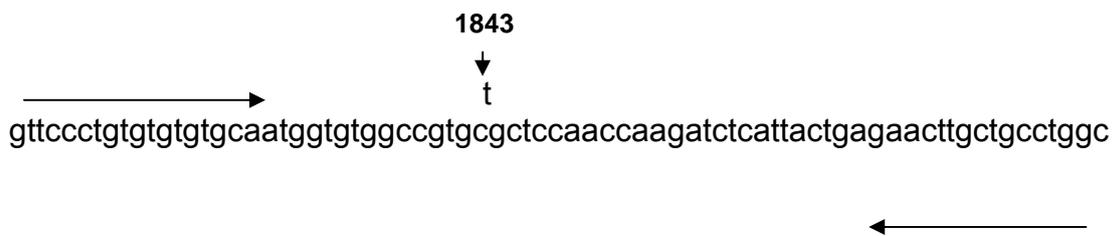


Figura 12. Seqüência do fragmento do gene *hal* amplificado por PCR e indicação da região de anelamento dos oligonucleotídeos iniciadores

Fonte: FUJII *et al.* (1991)- Adaptado por BASTOS, (1998)

4.2.6.3 Reação de digestão

O produto da PCR foi digerido com a endonuclease de restrição *CfoI*. As reações de digestão foram realizadas a 37°C por 3h em um volume de 20 μ L, sendo 5 μ L da reação de PCR e 15 μ L de *mix-digestão* (5U da endonuclease *CfoI*, tampão

de reação 10x e água deionizada q.s.p.) (SAMBROOK *et al.*, 1989). A endonuclease utilizada reconhece e cliva o sítio de restrição 5'g₁cgc3'.

4.2.6.4 Análise da digestão

A digestão do fragmento do gene *hal* pela endonuclease *CfoI* foi analisado por eletroforese em gel de agarose, utilizando uma concentração de agarose de 4%, baseada no provável tamanho dos fragmentos gerados pela digestão (SAMBROOK *et al.*, 1989). Ao gel de agarose foi adicionado 0,5mg.µL⁻¹ de brometo de etídio, sendo a visualização dos fragmentos feita mediante exposição do gel a luz ultravioleta.

4.2.7 Estatística

Os resultados das avaliações físico-químicas, bioquímicas e visuais, foram submetidos à análise de variância e correlação, para o estudo dos efeitos dos principais tratamentos, utilizando o teste de Tukey, conforme Snedecor & Cochran (1978). As análises foram realizadas pelo programa Statistical Analysis System (SAS, 1989). Análises complementares como teste χ^2 , tabelas e gráficos também foram utilizados.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliações das características visuais

5.1.1 Lesões da pele (escoriações)

Não foram verificadas escoriações severas na região do pernil, corpo e paleta (Tab. 1), no entanto, constataram-se baixos percentuais de escoriações leves e moderadas, no grupo manejado com painel (G1) e com bastão elétrico (G2). O grupo G2 apresentou maior percentual de lesões, com escore 2 e 3 na região da paleta, diferindo significativamente do grupo G1. Os resultados demonstram apenas uma tendência maior para lesões nos suínos, movimentados com bastão elétrico. Também foi observado maior agitação dos suínos, muitas vezes jogando-se uns sobre os outros, o que pode ter contribuído no número de lesões. GUISE & PENNY (1989), Van der WAL *et al.* (1999) e FAUCITANO *et al.* (1998) constataram na eliminação do bastão elétrico, uma diminuição significativa nas escoriações da carcaça suína.

Em relação a outras formas de estresse, também foram observados aumentos de lesões nas carcaças suínas (WARRISS *et al.*, 1998a).

Tabela 1- Freqüência de escores de lesões (%) em função do uso do bastão elétrico ou painel.

Amostra	1- Ausência		2- Leve		3- Moderada		4- Severa		Significância
	G1- Baixo estresse	G2- Alto estresse	G1- Baixo estresse	G2- Alto estresse	G1- Baixo estresse	G2- Alto estresse	G1- Baixo estresse	G2- Alto estresse	
Pernil (%)	26,00	36,00	18,00	16,00	4,00	0	0	0	0,248
Corpo (%)	16,00	16,00	24,00	24,00	8,00	12,00	0	0	0,852
Paleta (%)	42,00 ^c	30,00 ^d	6,00 ^b	18,00 ^a	0	4,00	0	0	0,051

Lesões da pele são medidas por um escore de 4 pontos: 1 e 2 representam valores aceitáveis e 3 e 4 inaceitáveis. G1- Baixo estresse (utilização de pranchas de alumínio para movimentar os animais); G2- Alto estresse (utilização de bastão elétrico); Valores com sobrescritos distintos são significativamente diferentes pelo teste do chi-quadrado ($p < 0,05$).

5.1.2 Petéquias (salpicamento)

Verificou-se aumento do número de petéquias na região central do lombo (Tab. 3), utilizando o manejo com bastão elétrico, quando comparado com o painel. Esta incidência se manteve maior em diversas regiões, sendo significativa, somente na região central do lombo, devido ser o principal local atingido pelo bastão elétrico. Não foram encontradas referências nas bases de dados pesquisadas (CAB e FSTA) relacionando o uso de bastão elétrico com petéquias, contudo CHANNON *et al.* (2002) e VELARDE *et al.* (2000, 2001) ao comparar dois sistemas de insensibilização (elétrico e dióxido de carbono) encontraram maior número desse defeito no sistema elétrico.

Tabela 2- Incidência de petéquias (%) segundo o uso de bastão elétrico e painel em diferentes regiões do *Longissimus dorsi*, utilizando escala de (1 a 4) pontos.

Salpicamento	1- Ausência		2- Leve		3- Moderado		4- Severo		Significância
	G1- Baixo estresse	G2- Alto estresse	G1- Baixo estresse	G2- Alto estresse	G1- Baixo Estresse	G2- Alto estresse	G1- Alto estresse	G2- Baixo estresse	
<i>Longissimus dorsi</i> ¹ (%)	33,33	50,00	3,70	12,96	0	0	0	0	0,313
<i>Longissimus dorsi</i> ² (%)	27,78	25,93	7,41 ^b	33,33 ^a	1,85	3,70	0	0	0,048**
<i>Longissimus dorsi</i> ³ (%)	37,04	55,56	0	7,41	0	0	0	0	0,111
<i>Longissimus dorsi</i> ⁴ (%)	29,63	33,33	7,41	25,93	0	3,70	0	0	0,114
<i>Longissimus dorsi</i> ⁵ (%)	37,04	59,26	0	3,70	0	0	0	0	0,269

*Longissimus dorsi*¹ (%) - região anterior; *Longissimus dorsi*² (%) - região central; *Longissimus dorsi*³ (%) - região posterior; *Longissimus dorsi*⁴ (%) - região medial; *Longissimus dorsi*⁵ (%) - região lateral. G1- Baixo estresse - utilização de painéis para movimentar os suínos; G2- Alto estresse - utilização de bastão elétrico; Valores com sobrescritos distintos são significativamente diferentes pelo teste do chi-quadrado ($p < 0,05$).

5.2 Avaliações das características físico-químicas da carne

Analisando os valores médios de pH *post mortem* (Tab. 3), constata-se que houve diferença significativa no pH (4, 6 e 8 h) do músculo *Semimembranosus* (SM), segundo os tratamentos de baixo estresse (G1) ou alto estresse (G2). Verifica-se que o grupo G2 em relação ao G1 apresentou os menores valores de pH, indicando uma maior velocidade de queda do pH *post mortem*. A maior velocidade de queda pode ser explicada, pelo aumento do estresse psicológico e físico que os suínos movimentados com bastão elétrico sofreram, sendo comprovada observando-se as diferenças dos valores médios de cortisol e lactato plasmático (Tab. 4). Em situações de estresse ocorre aumento da liberação de hormônios adrenérgicos e corticosteróides, que interferem na regulação de enzimas que atuam na degradação da fosfocreatina e glicogênio, formando altas concentrações de lactato, íons hidrogênio e ATP. O acúmulo de lactato e íons hidrogênio causam o declínio do pH *post mortem* (TROEGER & WOLTERS DORF, 1990; GRANDIN, 1991; WARRISS 1998b; D'SOUZA *et al.*, 1998; STØIER *et al.*, 2001; HENCKEL *et al.*, 2002; ALLISON *et al.*, 2003).

Os resultados de pH *post mortem* são similares aos encontrados por D'SOUZA *et al.* (1998) para suínos estressados com bastão elétrico. Também Van der WAL *et al.* (1999) e STØIER *et al.* (2001) observaram alteração na velocidade de glicólise em grupos de suínos estressados, nas primeiras horas *post mortem*. Entretanto GUISE & PENNY (1989), manejando grupos de suínos com bastão elétrico não observaram alterações significativas no pH *post mortem* comparados ao grupo controle.

A maior velocidade de queda do pH também pode ser influenciada por outras causas de estresse, além do método de condução dos animais. PEREZ *et al.* (2002) compararam diferentes tempos de transporte, constatando maior velocidade de queda do pH nos animais transportados em menores tempos. Não há interferência do tempo de transporte na redução dos valores de pH dos grupos G1 e G2, uma vez que os animais percorreram uma distância de 120km, que pode ser considerada com tempo intermediário em relação aos estudos referenciados anteriormente.

Autores como WARRISS, (1995b) e Van der WAL *et al.*, (1997) confirmam que o estresse adquirido no transporte, pode ser recuperado com correto manejo nas instalações do frigorífico, sendo mais prejudicial o estresse minutos antes do abate.

Analisando-se os valores médios da cor (L^* , a^* , b^*) dos músculos LD 24h *post mortem*, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos G1 e G2. No entanto pode-se observar (Tab. 3) que o grupo G2 apresentou maior média de L^* , quando comparado ao G1. Esta diferença de acordo com FISHER *et al.* (2000) pode ser devido ao aumento das perdas por exsudação, que resultam em maior brilho na superfície da carne.

A cor da carne do grupo de suínos conduzidos com bastão elétrico, também não diferiu em resultados encontrados por Van der WAL *et al.* (1999) e D'SOUZA *et al.* (1998). Mesmo quando se aplicam outras formas de indução de estresse, como as avaliadas por ROSENVOLD & ANDERSEN (2003b), ao submeter suínos a exercícios físicos antes do abate, ou por diferentes densidades de transporte (WARRISS *et al.*, 1998c e NANI COSTA *et al.*, 2002), ou pela mistura de suínos estranhos nas baias de espera (BROWN *et al.*, 1998) não constataram-se diferenças significativas nas leituras de cor L^*_{24h} . No entanto, comparando dois métodos de insensibilização (elétrico e dióxido de carbono) BERTOLONI & SILVEIRA (2003) encontraram diferença significativa ($p<0,05$) para a cor L^*_{24h} nas amostras de carne suína. Um sistema automatizado, onde há o mínimo de esforço no deslocamento dos suínos à insensibilização, sem intervenção de manejadores, foi comparado ao sistema convencional (bastão elétrico incluído) por STØIER *et al.* (2001) e, nesse estudo, constatou-se diferença significativa ($p<0,05$).

Há compatibilidade, entre os resultados de reflectância interna 24h *post mortem*, no músculo LD dos suínos (Tab. 3) e as leituras de cor L^* , a^* , b^* uma vez que, também não houve diferença significativa ($p>0,05$) para a reflectância 24 horas *post mortem*. No entanto, verificou-se que o grupo movimentado com bastão elétrico apresentou maiores valores de reflectância quando comparado ao grupo conduzido com painel. Essa pequena diferença é compatível tanto com a maior velocidade de

queda do pH como pela cor L* descrita anteriormente para os suínos do G2. Ainda com relação aos valores médios de reflectância encontrados, estes são considerados como normal, pois de acordo com BARTON-GADE & CHRISTENSEN, (1998) carne PSE apresenta reflectância interna no LD ≥ 80 nas 24h *post mortem*.

Para STØIER *et al.* (2001) o estresse promovido pelo sistema convencional e o automatizado, diferiram significativamente ($p < 0,001$) em termos de reflectância interna. Diferenças de reflectância foram observadas por WARRISS *et al.* (1998d) em estresse causado por distância de transporte e tempo de descanso. Também por BERTOLONI & SILVEIRA (2003), NANNI COSTA *et al.* (2002), WARRISS *et al.* (1994), avaliando outras formas de estresse no manejo pré-abate, constataram resultados significativos para reflectância interna entre os animais estressados e não-estressados.

Para a maioria dos autores mencionados a cor L* na carne suína não foi alterada pelo fator estresse, corroborando com os resultados observados (Tab. 3), os quais indicaram que a velocidade de glicólise, embora rápida, não foi suficiente para causar maior desnaturação das proteínas sarcoplasmática, que devem formar agregados insolúveis (JOO *et al.* 1999) mascarando a cor vermelha.

Pode-se inferir que as pequenas diferenças nos resultados de cor e reflectância luminosa interna (Tab. 3) reduziram a solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas, causando aumento da liberação de água na fibra muscular, que interfere na reflectância do feixe de luz incidido e conseqüentemente diminui a intensidade da cor da carne (HEDRICK *et al.*, 1993; SWATLAND, 1995; ROSENVOLD & ANDERSEN, 2003b).

Tabela 3- Parâmetros físico-químicos de músculos suínos (LD e SM) em função do manejo com bastão elétrico (alto estresse) e painel (baixo estresse).

Análises	Manejo ^a		Significância
	Baixo estresse	Alto estresse	
pH (4 h)-SM	6,58±0,22 ^b	6,36±0,3 ^c	0,0008 ***
pH (6h) –SM	6,39±0,18 ^d	6,10±0,26 ^e	0,0001***
pH (8h)-SM	6,08±0,19 ^f	5,83±0,21 ^g	0,0001***
pH (24h)-SM	5,54±0,14 ^a	5,60±0,14 ^a	0,206
Cor L*LD	48,62±1,90	49,70±4,7	0,209
Cor a*LD	0,41±0,43	0,69±1,01	0,384
Cor b*LD	7,12±0,60	7,32±1,38	0,989
Reflectância Interna (45min.)	30,62±3,25	30,83±3,18	0,862
Reflectância Interna (24h)	70,12±11,39	72,39±11,93	0,278
Drip loss (%)	7,12±3,04	8,39±2,62	0,204
CRA (cm ²)	0,37±0,07	0,35±0,07	0,220
PSE-LD (%)	13,64	23,53	0,009**

Manejo^a: Baixo estresse - utilização de painéis para movimentar os suínos; Alto estresse - utilização de bastão elétrico; Valores descritos como média; Valores com subscritos diferentes são significativamente diferentes; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05; LD-*Longissimus dorsi*; SM-*Semimembranosus*; PSE - L*>50, drip loss >5% e pH_u<6,0.

A avaliação da capacidade de retenção de água, utilizando os métodos de prensagem (CRA) e perda por exsudação, não apresentou diferença significativa (p>0,05) entre os tratamentos (Tab. 3). Os suínos movimentados com bastão elétrico, apresentaram valores menores de CRA e maiores de exsudato, quando comparados ao grupo manejado com painel. O valor de retenção de água levemente maior no G2 pode ser explicado pela maior velocidade de queda do pH e dos níveis mais elevados de cortisol e lactato (Tab. 4).

Os resultados para retenção de água em suínos estressados com bastão elétrico diferem dos encontrados por outros autores, entre os quais citam-se D'SOUZA *et al.* (1998), Van der WAL *et al.* (1999) e STØIER *et al.* (2001) que constataram diferença significativa em relação ao controle.

Entretanto os mesmos estão de acordo com BROWN *et al.* (1998), DALL AASLYNG & BARTON-GADE, (2001), PÉREZ *et al.* (2002), e NANNI COSTA *et al.* (2002) que não observaram diferença na retenção de água, ao avaliarem outras formas de estresse no manejo pré-abate.

Os resultados de retenção de água caracterizaram as carnes dos grupos G1 e G2 como exsudativas, demonstrando que pode ter ocorrido uma modificação estrutural nas proteínas sarcoplasmáticas e nas miofibrilares, induzindo desnaturações capazes de aumentar a exsudação. A molécula de água junto à proteína depende de efeito estérico e de trocas iônicas, onde ligações químicas fracas, do tipo dipolo-dipolo e Van der WALLS, podem ser facilmente rompidas pela desnaturação (HEDRICK *et al.*, 1993).

A linhagem genética dos suínos (G1 e G2) também pode ter influenciado a CRA e a exsudação, visto que ambos apresentaram níveis acima do normal para essas propriedades. A seleção genética ao aumentar drasticamente a eficiência na produção de carne pode, segundo ROSENVOLD & ANDERSEN (2003a) interferir significativamente, diminuindo os pigmentos musculares, acelerando a queda de pH e reduzindo a capacidade de retenção de água, quando comparados aos suínos mais antigos. Há, também, diferenças individuais num mesmo grupo, que dificultam as respostas à intensidade do estressor (D'SOUZA *et al.*, 1998).

Os resultados também demonstraram que não houve uma relação direta entre cor e capacidade de retenção de água, corroborando com as afirmativas de vários autores, entre os quais destacam-se WARRISS & BROWN, (1987), Van LAACK *et al.* (1994) e JOO *et al.* (1995, 1999) de que ambos os fenômenos, embora sejam dependentes de desnaturação, tenham suas propriedades bioquímicas variando independentemente.

Os valores médios de cor, perda por exsudação e pH (Tab. 3) para as amostras dos grupos G1 e G2, classificam as carnes analisadas como (RSE) de acordo com WARNER *et al.* (1997) e Van LAACK & KAUFFMAN (1999). Nessa classificação, há quatro categorias para carne: Vermelha, firme, não exsudativa (RFN) correspondendo a valores de L^*42-50 , exsudação <5% e $pH_u < 6,0$; vermelha,

flácida, exsudativa (RSE) L^*42-50 , exsudação $>5\%$ e $pH_u<6,0$; pálida, flácida, exsudativa (PSE) $L^*>50$, exsudação $>5\%$ e $pH_u<6,0$ e escura, firme e seca na superfície (DFD) $L^*<42$, exsudação $<5\%$ e $pH_u\geq 6,0$.

Fundamentados na classificação desses autores, pode-se constatar que houve diferença significativa ($p<0,05$) no percentual de amostras PSE entre o grupo movimentado com painel (13,64%) e o com bastão elétrico (23,53%), enquanto o percentual de RSE não diferiu entre os tratamentos. Apesar de não ocorrer diferença significativa entre os grupos (G1= 40,91% e G2= 37,24%) a incidência da carne RSE é elevada em ambos.

A redução de PSE no experimento foi de 23,53% para 13,64%, menor do que a observada por D'SOUZA *et al.* (1998) os quais encontraram uma redução de 41% para 9%, com a eliminação do bastão elétrico. Contudo, foram resultados similares aos encontrados por KIRCHHEIM *et al.* (2001), em suínos abatidos na Alemanha, que em condições adequadas atingiram os percentuais de 38,1 e 8,4 para as categorias RSE e PSE. Em relação aos resultados de KAUFFMAN (1997), os percentuais encontrados de PSE e RSE deste experimento foram superiores. Entretanto, percentuais de 25,5% e 14,5% de carne PSE e RSE, de suínos abatidos na Irlanda, segundo O'NEIL *et al.* (2003), foram próximos aos encontrados para PSE no G2 e maior em relação ao G1, enquanto os valores de RSE observados foram superiores para ambos os grupos.

As causas da ocorrência da carne RSE, ainda não estão bem esclarecidas (CHEAH *et al.*, 1998; Van LAACK & KAUFFMAN, 1999; JOO *et al.*, 1999). OFFER & KNIGHT (1989), BENDAL & SWATLAND (1988) e CHEAH *et al.* (1998) relataram que a desnaturação da miosina é um dos principais fatores causadores da exsudação inaceitável. WARNER *et al.* (1997), avaliaram a contribuição da desnaturação das proteínas estruturais na exsudação, não verificando diferença na desnaturação da miosina, entre amostras RSE e RFN, só constataram pequena diferença no pH final, tendo sugerido que a ocorrência da RSE pode estar relacionada à presença do gene da carne ácida. No entanto, LUNDSTRÖN *et al.* (1996) e DENG *et al.* (2002), afirmaram que houve uma desnaturação na MML (meromiosina leve) e nas proteínas sarcoplasmáticas em suínos portadores do gene

RN⁻. MILLER *et al.* (2000) avaliaram a frequência do gene RN⁻ em suínos Hampshire e constataram alta frequência do alelo RN⁻, acompanhado de alta deposição de glicogênio muscular, pH final baixo e maior perda por gotejamento e cocção. Van LAACK & KAUFFMAN, (1999), constataram baixa incidência de gene RN⁻ em amostras de carne RSE, concluindo que a sua ocorrência, não está somente relacionada à presença desse gene. Neste trabalho a presença do gene RN⁻ não foi avaliada, somente avaliou-se o gene *Halotano (hal)*.

5.3 Avaliações das respostas fisiológicas para o estresse

Analisando os valores médios de cortisol plasmáticos (Tab. 4), constata-se que houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre G1 e G2. Verifica-se que a utilização do bastão elétrico (G2) teve efeito significativo nas concentrações de cortisol, quando comparado aos suínos movimentados com painel (G1). A utilização do bastão elétrico elevou os níveis de cortisol. O cortisol aumenta a concentração de glicose sanguínea, glicogenólise hepática e gliconeogênese, associada ao aumento do catabolismo das proteínas (SHAW & TUME, 1992; SHAW & TROUT, 1995).

Os resultados encontrados para cortisol estão de acordo com BRUNDIGE *et al.* (1998) que ao avaliarem o estresse proporcionado pela utilização de bastão elétrico, observaram diferença significativa em relação ao grupo manejado com painel. BROWN *et al.* (1998) em suínos abatidos em condições estressantes encontraram valores de cortisol de $17,02 \mu\text{g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ e, em situações de mínimo estresse, $7,62 \mu\text{g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$, que são valores muito próximos aos descritos neste trabalho para os grupos G1 e G2. Os valores de cortisol descritos para o Grupo manejado com o bastão elétrico (Tab. 4) também são semelhantes aos obtidos por SHAW & TROUT (1995), em suínos que desenvolveram carne PSE ($16,63 \mu\text{g} \cdot \text{dL}^{-1}$).

Outras formas de estresse no manejo pré-abate, como as avaliadas por WARRISS *et al.* (1998a, 1998d), GISPERT *et al.* (2000), PÉREZ *et al.* (2002) e BERTOLONI & SILVEIRA, (2003) também observaram diferenças nas concentrações de cortisol. No entanto WARRISS *et al.* (1998c) e BARTON-GADE &

CHRISTENSEN, (1998) ao sumeterem suínos ao estresse, provocado por diferentes densidades de transporte, não constataram resultados significativos.

Há diferença significativa ($p < 0,001$) entre o grupo G1 e G2 nos valores médios de lactato plasmático (Tab. 4). Os suínos manejados com bastão elétrico apresentaram valores mais elevados, quando comparados aos suínos movimentados com painel, esses resultados são condizentes com maior estresse físico. Em situações de estresse intenso pode ocorrer exaustão muscular formando grande quantidade de ácido láctico, a qual poderá ser liberada na corrente circulatória (SHAW & TUME, 1992). Adicionalmente a liberação de catecolaminas e corticosteróides como resultado do medo ou excitação, também podem causar rápida glicogenólise e excesso de lactato (SHAW & TUME, 1992). O excesso de lactato encontrado no grupo G2 está de acordo com a maior velocidade de glicólise e maior incidência de PSE, constatada anteriormente (Tab. 3).

Outras formas de estresse no manejo pré-abate, como as avaliadas por WARRISS *et al.* (1998a, 1998d), GISPERT *et al.* (2000), PÉREZ *et al.* (2002) e BERTOLONI & SILVEIRA, (2003) também observaram diferenças nas concentrações de cortisol. No entanto WARRISS *et al.* (1998c) e BARTON-GADE & CHRISTENSEN, (1998) ao sumeterem suínos ao estresse, provocado por diferentes densidades de transporte, não constataram resultados significativos.

Tabela 4- Parâmetros bioquímicos do plasma de suínos em função do manejo pré-abate.

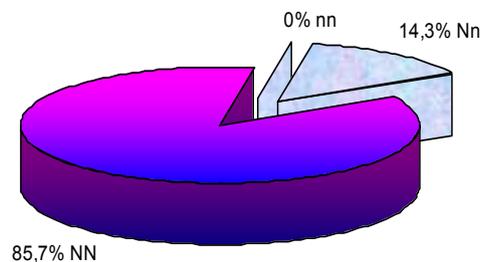
Análises	Manejo ^a		Significância
	Baixo estresse	Alto estresse	
Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)	10,76 \pm 5,76	16,32 \pm 5,50	0,0004***
Lactato (mg/dL)	80,26 \pm 41,38	189,214 \pm 72,06	0,0001***

Manejo^a - Baixo estresse - utilização de painéis para movimentar os suínos; Alto estresse- utilização de bastão elétrico; *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

5.4 Análise molecular - caracterização do gene *hal*

A amostragem utiliza $n=14$, o qual representa 20% das carcaças avaliadas nas características físico-químicas. A distribuição do gene *hal* foi de 12 NN (85,7%), 2 Nn (14,3%) e 0 nn (zero) (Fig. 13), confirmando a inexistência de homozigotos recessivos (nn). A frequência de suínos heterozigotos (Nn) foi baixa, concordando com CULAU, (1999), BASTOS *et al.* (1998) e PELOSO *et al.* (2001).

Figura 13. Distribuição do gene *hal* nos suínos avaliados no frigorífico PIFPAF/MG



Esta constatação, provavelmente deve-se ao manejo na unidade de produção, que seleciona os suínos baseando-se na eliminação dos portadores (nn) e mantém alguns animais heterozigotos (Nn), por apresentarem um bom ganho de peso (AALHUS *et al.*, 1991; GARCIA-MACIAS *et al.*, 1996; ANTUNEZ, 1997; HERFORT *et al.*, 2001; LARZUL *et al.*, 1997; LEACH *et al.*, 1996; McPHEE & TROUT, 1995). A baixa frequência de Nn não influenciou a qualidade da carne, consequentemente a condição PSE ou RSE não está associada à presença do gene do *hal* em homozigose ou heterozigose.

6- CONCLUSÕES

Ao comparar o uso do painel com o bastão elétrico, na condução dos suínos no carregamento, descarregamento e instalações do frigorífico, podemos concluir que:

- a) Os níveis de estresse sanguíneos diminuem, e o bem-estar animal é favorecido pela condução com auxílio do painel;
- b) A velocidade de queda do pH, aumenta nas primeiras horas *post mortem*, utilizando o bastão elétrico;
- c) A incidência de carne PSE diminui na condução dos suínos com painel;
- e) Há diminuição da incidência de lesões de pele e petéquias hemorrágicas nas carcaças de suínos conduzidas com painel;
- f) Os níveis de estresse dos suínos, causados pela condução por bastão elétrico, são insuficientes para causar alterações significantes na cor da carne.

7- REFERÊNCIAS

AALHUS, J.L.; JONES, S.D.; ROBERTSON, W.M.; TONG, A. K.; SATHER, A.P. Growth characteristics and carcass composition of pigs with known genotypes for stress susceptibility over a weight range of 70 to 120Kg. **Animal Production**, v.52, p.347-353, 1991.

ALLISON, C.P.; BATES, R.O.; BOOREN, A.M.; JOHNSON, R.C.; DOUMIT, M.E. Pork quality variation is not explained by glycolic enzyme capacity. **Meat Science**, v.63, p.17-22, 2003.

ANTUNEZ, R.C. **O efeito do genótipo *hal* sobre o rendimento de carne em partes da carcaça de suínos cruzados**. Uberlândia, 1997. 66 p. Dissertação (Mestrado em genética e bioquímica) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, 1997.

BARNETT, J.L.; HEMSWORTH, P.H. The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v.38, p.177-187, 1990.

BARTON-GADE, P. Danish experience in meat quality improvement. In: 4th WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 1990. Edinburgh, Scotland. **Annals...** Edinburgh, 1990, v.15, p.511-520.

BARTON GADE, P.; BLAABJERG, L.; CHRISTENSEN, L. New lairage system for slaughter pigs. Effect on behavior and quality characteristics. In: 38th INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 1992. Clermont Ferrand, France. **Annals...** Clermont Ferrand, 1992, v.2, p.161-164.

BARTON-GADE, P. **Methods of assessing meat quality**. Danish meat research Institute, Roskild, 1993. Capturado em jan. de 2003. Disponível na internet <http://www.dmri.dk>

BARTON GADE, P.; WARRISS, P.D; BROWN, S.N.; LAMBOOIJ, E. Methods of improving pig welfare and meat quality by reducing stress and discomfort before slaughter- methods of accessing meat quality. **PROC. EU SEMINAR "NEW INFORMATION ON WELFARE AND MEAT QUALITY OF PIGS AS RELATED TO HANDLING TRANSPORT AND LAIRAGE CONDITIONS"**. Mariensee, Germany, 1996, p.23-34.

BARTON GADE, P. & CHRISTENSEN, L. Effect of different stocking densities during transport on welfare and meat quality in Danish slaughter pigs. **Meat Science**, v.48, p.237-247, 1998.

BARRETO, P.L.M.; BUTZKE, J.J.C. The effect of lairage time in post mortem pH in pig muscle. In: 49th INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2nd BRAZILIAN CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2003. Campinas, SP, Brasil. **Annals...** São Paulo, 2003, p.63-64.

BASTOS, R.G. **Caracterização do gene do estresse suíno e seu efeito sobre o peso e composição da carcaça**. Pelotas, 1998. 44 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, 1998.

BELTRÁN, J.A.; JAIME, I.; SANTOLARIA, P.; SAÑUDO, C.; ALBERTI, P.; RONCALÉS, P. Effect of stress-induced high *post-mortem* pH on protease activity and tenderness of beef. **Meat Science**, v.45, p.201-207, 1997.

BENDALL, J.R. & SWATLAND, H.J. Review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. **Meat Science**, v.24, p.85-126, 1988.

BERTOLONI, W & SILVEIRA, E.T.F. The influence of genetic background and stunnings systems on welfare and meat quality of brazilian swine. In: 49th INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2nd BRAZILIAN CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2003. Campinas, SP, Brasil. **Annals...** São Paulo, 2003, p.365-366.

BERTRAM, H.C.; PETERSEN, J.S.; ANDERSEN, H.J. Relationship between RN⁺ genotype and drp loss in meat from Danish pigs. **Meat Science**, v.56, p.49-55, 2000.

BREWER, M.S.; ZHU, L.G.; McKEITH, F.K. Marbling effects on quality characteristics of pork loin chops: Consumer purchase intent, visual and sensory characteristics. **Meat Science**, v.59, p.153-163, 2001.

BRISKEY, E.J. Etiological status and associated studies of pale, soft, exudative porcine musculature. **Advances in Food Research**, v.13, p.89-178, 1964.

BROWN, S.N.; WARRISS, P.D.; NUTE, G.R.; EDWARDS, J.E.; KNOWLES, T.G. Meat quality in pigs subjected to minimal pre-slaughter stress. **Meat Science**, v.49, p.257-265, 1998.

BRUNDIGE, L.; OLEAS, T.; DOUMIT, M.; ZANELLA, A.J. Loading techniques and their effect on behaviour and physiological responses of market weight pigs. **Journal Animal Science**, v.76, suppl.1, p.95-99, 1998.

CANNON, W.B. *Bodily in Pain, Hunger, Fear and Rage: An Account of Recent Researches into the Function of Emotional Excitement*. Nova York: Appleton, 1929.

CASTEELS, M.; van OECKEL, M.; BOSCHAERTS, L.; SPINCEMAILLE, G.; BOUCQUE, C.V. The relationship between carcass, meat and eating quality of three pig genotypes. **Meat Science**, v.40, p.253-269, 1995.

CHANNON, H.A. PAYNE, A.M.; WARNER, R.D. Halothane genotype pre-slaughter handling and stunning method all influence pork quality. **Meat Science**, v.56, p.291-299, 2000.

CHANNON, H.A. PAYNE, A.M.; WARNER, R.D. Comparison of CO₂ stunning with manual electrical stunning (50Hz) of pigs on carcass and meat quality. **Meat Science**, v.60, p.63-68, 2002.

CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M.; KRAUSGRILL, D.I. Effect of dietary supplementation of vitamin E on meat quality. **Meat Science**, v.39, p.255-264, 1995.

CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M.; JUST, A. Identification and characterization of pigs prone to producing "RSE" (reddish-pink, soft and exudative) meat in normal pigs. **Meat Science**, v.48, p.249-255, 1998.

CULAU, P.O.V.A. **Contribuição do gene halotano sobre características da qualidade da carne suína**. Porto Alegre, 1999. Tese (doutorado em zootecnia) Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

DALL AASLYNG, M. & BARTON GADE, P. Low stress pré-slaughter handling: effect of lairage time on the meat quality of pork. **Meat Science**, v.57, p.87-92, 2001.

DENG, Y.; ROSENVOLD, K.; KARLSSON, A.H.; HORN, P.; HEDEGAARD, J.; STEFFENSEN, C.L.; ANDERSEN, H.J. Relationship between thermal denaturation of porcine muscle protein and water-holding capacity. **Journal of Food Science**, v.67, p.1642-1647, 2002.

D'SOUZA, D.N.; DUNSHEA, F.R.; WARNER, R.D.; LEURY, B.J. The effect of handling pre-slaughter and carcass processing rate post-slaughter on pork quality. **Meat Science**, v.50, p.429-437, 1998.

EIKELENBOOM, G.; MINKEMA, D.; Prediction of pale, soft, exudative muscle with a non-lethal test for the halothane-induced porcine malignant hyperthermia syndrome. **Tijdschrift voor Diergeneeskunde**, v.99, p.421-426, 1974 (Abstract).

ENFÄLT, A.C.; LUNDSTRÖM, K. & ENGSTRAND, U. Early post mortem pH decrease in porcine *M. longissimus dorsi* of PSE, normal and DFD quality. **Meat Science**, v.34, p.131-143, 1993.

ESTRADE, M.; VIGNON, X.; MONIN, G. Effect of the RN⁻ gene on ultrastructure and protein fractions in pig muscle. **Meat Science**, v.35, p.313-319, 1993.

FÁBREGA, E.; MANTECA, X.; FONT, J.; GISPERT, M.; CARRION, D.; VELARDE, A.; RUIZ-DE-LA-TORRE, J.L. Effects of halothane gene and pré-slaughter treatment on meat quality and welfare from two pig pig crosses. **Meat Science**, v.62, 463-472, 2002.

FAUCITANO, L.; MAQUARDT, OLIVEIRA, M.S.; SEBASTIANY, H.S.; TERRA, N.N. The effect of two handling and slaughter systems on skin damage, meat acidification and colour in pigs. **Meat Science**, v.50, p.13-19, 1998.

FAUCITANO, L. Causes of skin damage to pig carcasses. **Canadian of Animal Science**, v.81, p.39-45, 2000.

FISCHER, K.; DOBROWOLSSKI, A.; LINDNER, J.P. Variation of pork quality with ultimate pH out of the ordinary. **Fleischwirtschaft**, v.82, p.118-121, 2002.

FISHER, P.; MELLETT, F.D.; HOFFMAN, L.C. Halothane genotype and pork quality. 2. Cured meat products of tree hothane genotypes. **Meat Science**, v.54, p.107-111, 2000.

FUJII, J.; OTSU, K.; ZORZATO, F.; LEON, S.; KHANA, V.; WEILER, J.E.; O'BRIEN, P.J.; MACLENNAN, D.H. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associet with malignant hyperthermia. **Science**, v.253, p.448-451, 1991.

GARCIA-MACIAS, J.A.; GISPERT, M.; OLIVER, M.A.; DIESTRE, A; ALONSO, P.; MUÑOZ-LUNA, A., SIGGENS, K.; CUTHBERT-HEAVANS, D. The effects of cross, slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat and fat quality in pig carcasses. **Animal Science**, v.63, p.487-496, 1996.

GISPERT, M.; FAUCITANO, L.; GUARDIA, M.D.; OLIVER, M.A.; SIGGENS, K.; HARVEY, K.; DIESTRE, A. A survey on pré-slaughter conditions, halothane gene frequency and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. **Meat Science**, v.55, p.97-106, 2000.

GOLNICK, P.D. & HERMANSEN, L. Biochemical adaptations to exercise: anaerobic metabolism. **Exercise and sports sciences. Reviews**, v.1, p.1-43, 1973.

GOLLNICK, P.D. & MATOBA,I.I. Role of carbohydrate in exercises. **Clinics Sports Medicine**, v.3, p.583-593, 1984.

GRANDIN, T. Handling problems caused by excitable pigs. In: 37th INTERNATIONAL CONGRESS ON MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 1991. Kulmbach, Germany. **Annals....** Kulmbach, 1991, p.8-9.

GRANDIN, T. Farm animal welfare during handling, transport, and slaughter. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.204, p.372-376, 1994

GRANDIN, T. The feasibility of using vocalization scoring as an indicator of poor welfare during cattle slaughter. **Applied Animal Behaviour Science**, v.56, p.121-128, 1998.

GRAU,R.; HAMM, R. Brühwurstqualität und bestimmung der wasserbinddung in fleisch. **Fleischwirtschaft**. vol. 34, p.36-39, 1954.

GUISE, H.J.; PENNY, R.H.C. Factors influencing the welfare and carcass and meat quality of pigs. The effects of density in transport and the use of electric goads. **Animal Production**, v.49, p.511-515, 1989.

HAMILTON, D.N.; MILLER, K.D.; ELLIS, M.; McKEITH, F.K.; WILSON, E.R. Relationships between longissimus glycolitic potential and swine growth performance, carcass traits, and pork quality. **Journal Animal Science**, v.81, p. 2206-2212, 2003.

HEDRICK, H.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. **Principles of Meat Science**. 3ed. Iowa: Kendall / Hunt Publishing Company, 1993. Cap. 6: Properties of fresh meat: p.126-129.

HENCKEL, P.; KARLSSON, A.H.; OKSBJERG, N.; PETERSEN, J.S. Control of post mortem pH decrease in pig muscle: experimental design and testing of animal models. **Meat Science**, v.55, p.131-138, 2000.

HENCKEL, P.; KARLSSON, A.H.; JENSEN, M.T.; OKSBJERG, N.; PETERSEN, J.S. Metabolic conditions in porcine *longissimus muscle* immediately pre-slaughter and its influence on peri and *post mortem* energy metabolism. **Meat Science**, v.62, p.145-155, 2002.

HENRY, J.P.; STEPHENS,P.M. **Stress, Health and the Social Environment. A Sociobiologic approach to medicine**, Nova York, Ed.Spinger, 1977.

HERFORT PEDERSEN, P.; OKSBJERG, N.; KARLSSON, A.H.; BUSK, H.; BENDIXEN, E.; HENCKEL, P. A within litter comparison of muscle fibre characteristics and growth of halothane carriers and halothane free crossbreed pigs. **Livestock Production Science**, v.73, p.15-24, 2001.

HOUFMANN, K.; HAMM, R.; BLUCHEL, E. Neus über die bertimung der wasserbindung in fleisch. **Fleischwirtschaft**, v.62, p.87-92, 1982.

HONIKEL, K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v.49, p.447-457, 1998.

INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINKY, J.J.; WHITE, T.J. PCR Protocols: A guide of methods and applications. San Diego, CA: Academic Press, 1990.

JOO, S.T.; KAUFFMANN, R.G.; KIM, B.C.; KIM, C.J. The relationship between colour and water-holding capacity in post rigor porcine longissimus muscle. **Journal of Muscle Food**, v.6, p.211-226, 1995.

JOO, S.T.; KAUFFMANN, R.G.; KIM, B.C.; PARK, G.B. The relationship of sarcoplasmatic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. **Meat Science**, v.52, p.291-297, 1999.

KAUFFMANN, R.G.; SYBESMA, W.; SMULDERS, F.J.M.; EIKELENBOOM, G.; ENGEL, B.; VAN LAACK, R.L.J.M.; HOVING-BOLINK, A.H.; STERRENBURG, P.; NORDHEIM, E.V.; WALSTRA, P.; VAN DER WAL, P.G. The effectiveness of examining early post-mortem musculature to predict ultimate pork quality. **Meat Science**, v.34, p.283-300, 1993.

KAUFFMANN, R.G. National Pork Quality Project: **Final Report to de National Pork Producers Council publication**, Des Moines, IA, USA, 1997.

KIRCHHEIM, U.; KINAST, C.; SHONE, F. Early post-mortem measurements as indicator of meat quality characteristics. **Fleischwirtschaft**, V.81, P.89-90, 2001.

LARZUL, C.; LE ROY, P.; GUEBLEZ, R.; TALMANT, A.; GOGUE, J.; SELLIER, P.; MONIN, G. Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95Kg or 125Kg live weight. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.114, p.309-320, 1997.

LAWRIE, R.A. **Meat Science**. Oxford, UK: Pergamon press, 1974, 419p, 2ed.

LAWRIE, R.A. **Meat Science**. Cambridge, England: Woodhead Publishing, 1998, 584p, 6ed.

LEACH, L.M.; ELLIS, M.; SUTTON, D.S.; McKEITH, F.K.; WILSON, E.R. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.934-943, 1996.

LEHESKA, J.M.; WULL, D.M.; MADDOCK, R.J. Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of postmortem metabolism. **Journal Animal Science**, v.81, p.3194-3202, 2003.

LONERGAN, S.M.; HUFF-LONERGAN, E.; ROWE, L.J.; KUHLLERS, D.J.; JUNGS, S.B.; Selection for lean growth efficiency in Duroc pigs influences pork quality. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2075-2085, 2001.

LOUIS, C.F.; GALLANT, E.M.; REMPLE, E.; MICKELSON, J.R. Malignant hyperthermia and porcine stress syndrome: a tale of two species. **Pig News Information**, v.11, p.341-344, 1990.

LUNDSTRÖM, K.; ANDERSSON, A.; HANSSON, I. Effect of the RN gene on technological and sensory meat quality in crossbred pigs with Hampshire as terminal sire. **Meat Science**, v.42, p.145-153, 1996.

LUDTKE, C.B.; PELOSO, J.V.; IRGANG, R.; MICHELON, M. & DELLAGOSTIN, O.A. Relação entre os genótipos da síndrome do stress suíno (PSS) em amostras de pernis resfriados e os valores de qualidade final da carne. In: 1^o CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES: Qualidade e Segurança para os Consumidores do Novo Milênio, 2001, São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro, 2001, p. 197-198.

LUDVIGSEN, J. Undersogelser over den sakaldte "muskeldegeneration" hos svin. **Beretning fra forsogslaboratoriet**, v.272, p.1-122, 1954.

MATTERI, R.L.; CARROLL, J.A.; DYER, C.J. Neuroendocrine Responses to Stress. In: MOBERG, G.; MENCH, J.A. **The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare**. Davis, University of California, 2000, p.43-76.

McPHEE, C.P. & TROUT, G.R. The effects of selection for lean growth and the halothane allele on carcass and meat quality of pigs transported long and short distances to slaughter. **Livestock Production Science**, v.42, p.55-62, 1995.

MICKELSON, J.R.; LOUIS, C.F. Malignant hyperthermia: excitation contraction coupling, Ca^{++} release channel, and cell Ca^{++} regulation defects. **Physiological Reviews** 76, p.537-592, 1996.

MILLER, K.D.; ELLIS, M.; McKEITH, F.K.; BIDNER, B.S.; MEISINGER, D.J. Frequency of the Rendement Napole RN⁻ allele in population of American Hampshire pigs. **Journal Animal Science**, v.78, p.1811-1815, 2000.

MILLER, R. Obtendo carne de qualidade consistente. In: In: 1^o CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES: Qualidade e Segurança para os Consumidores do Novo Milênio, 2001, São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro, 2001, p. 1123-136.

MILLIGAN, S.D.; RAMSEY, C.B.; MILLER, M.F.; KASTER, C.S.; THOMPSON, L.D. Resting of pigs and hot-fat trimming and accelerated chilling of carcasses to improve pork quality. **Journal of Animal Science**, v.76, p.74-86, 1998.

MOBERG, G.P. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? In: MOBERG, G.P. **Animal Stress**. Bethesda, Maryland, American Physiological Society, 1985, p.456-496.

MOBERG, G.P. Biological Response to Stress: Implications for Animal Welfare In: MOBERG, G.; MENCH, J.A. **The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare**. Davis, University of California, 2000, p.1-22

MONIN, G.; SELLIER, P. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate *post mortem* period: the case of the Hampshire breed. **Meat Science**, v.13, p.49-63, 1985.

NANNI COSTA, L.; LO FIEGO, D.P.; DALL'OLIO, S.; DAVIOLO, R.; RUSSO, V. Combined effects of pre-slaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different halothane genotype. **Meat Science**, v.61, p.41-47, 2002.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3^a ed. São Paulo: Sarvier, 2002. Cap. 23: Integração e regulação hormonal do metabolismo dos mamíferos: p.682-692.

OFFER, G.; KNIGHT, P.; JEACOCKE, R.; ALMOND, R.; COUSINS, T.; ELSEY, J.; PARSONS, N.; SHARP, A.; STARR, R.; PURLOW, P. The structural basis of the water-holding, appearance and loughness of meat and meat products. **Food Microstructure**, v.8, p.151-170, 1989.

O'NEILL, D.J.; LYNCH, P.B.; TROY, D.J.; BUCKLEY, D.J.; J.P., KERRY, J.P. Influence of the time of year on the incidence of PSE and DFD in Irish pig meat. **Meat Science**, v.64, p.105-111, 2003.

OURIQUE, J.M.R. **Características físico-químicas e organolépticas e suas relações na avaliação de qualidade da carne suína**. Porto Alegre, 1989. 104 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.

PASSILLÉ, A.M.de; EHRLICH, A.L.; WATKINS, L.R.; SPENCER, R.L.; MAIER, S.F.; LICINO, J.; WONG, M.L.; CHROUSOS, G.P.; WEBSTER, E.; GOLD, P.W. The impact of the nonpeptide corticotrophin-releasing hormone antagonist antalarmin on behavioral and endocrine responses to stress. **Endocrinology**, v.149, p.79-86, 1995.

PELOSO, J.V.; LUDTKE, C.B.; MICHELON, M.; IRGANG, R.; DELLAGOSTIN, O.A. Relação entre os genótipos da síndrome do stress suíno (PSS) em amostras de pernis resfriados e os valores de qualidade final da carne. In: X CONGRESSO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2001. Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre, 2001, p.155-156.

PEREZ, M.P.; PALACIO, J.; SANTOLARIA, M.P.; ACEÑA, M.C.; CHACÓN, G.; GASCÓN, J.H.; CALVO, J.H.; ZARAGOZA, P.; BELTRAN, J.A.; GARCIA-BELENGUER, S. Effect of transport time on welfare and meat quality in pigs. **Meat Science**, v.61, p.425-433, 2002.

PINHEIRO MACHADO FILHO, L.C.P. & HÖTZEL, M.J. Bem Estar dos Suínos. In: V SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 2000. São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Gessuli, 2000, p.70-82.

ROSENVOLD, K. & ANDERSEN, H.J. Factors of significance for pork quality - review. **Meat Science**, v.64, p.219-237, 2003a.

ROSENVOLD, K. & ANDERSEN, H.J. The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. **Meat Science**, v.63, p.199-209, 2003b.

RÜBENSAM, J.M.O. Transformação *post mortem* e a qualidade da carne suína. I **Conferência Virtual Internacional sobre Qualidade de Carne Suína**, 16 de nov. a 16 de dez. - CNPSA/EMBRAPA, 2000. Capturado em jan. de 2004. Disponível na Internet <http://www.cnpsa.com.br>.

RUSHEN, J. Some Issues in the Interpretation of Behavioural Response to Stress, In: In: MOBERG, G.; MENCH, J.A. **The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare**, 2000, Davis, University of California, p.23-42.

SAHLIN, K.; TOKONOGI, M. & SÖDERLUND, K. Energy supply and muscle fatigue in humans. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.162, p.261-262, 1994.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SAS User's procedures guide. Version 6. 4ed., Cary, NC: SAS Institute, 1989. v.2, 1686p.

SAYRE, R.N.; BRISKEY, E.J.; HOEKSTRA, W.G. Comparison of muscle characteristics and post-mortem glycolysis in the three breeds of swine. **Journal of Animal Science**, v.22, p.1012-1020, 1963.

SELYE, H. The effect of adaptation to various damaging agents in the female sex organs in the rat. **Endocrinology**, v.25, p.615-624, 1939.

SHÄFER, A.; ROSENVOLD, K.; PURSLOW, P.P.; ANDERSEN, H.J.; HENCKEL, P. Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork. **Meat Science**, v.61, p.355-366, 2002.

SHAW, F.D.; TUME, R.K. The Assessment of Pre-slaughter and Slaughter Treatments of Livestock by Measurement of Plasma Constituents – A Review of Recent Work. **Meat Science**, v.32, p.311-329, 1992.

SHAW, F.D.; TROUT, G.R. Plasma and Muscle Cortisol Measurements as Indicators of Meat Quality and Stress in Pigs. **Meat Science**, v.39, p.237-246, 1995.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical methods**. 6ed. Ames: Iowa State University Press, 1978, 593p.

STRATAKIS, C.A.; CHROUSOS, G.P. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.771, p.1-18, 1995 (Abstract).

STØIER, S.; AASLYNG, M.D.; OLSEN, E.V.; HENCKEL, P. The effect of stress during lairage and stunning on muscle metabolism and drip loss in Danish pork. **Meat Science**, v.59, p.127-131, 2001.

SWATLAND, H.J. Physical measurements of meat quality: optical measurements, pros and cons. **Meat Science**, v.36, p.251-259, 1994.

SWATLAND, H.J. **On-line evaluation of meat**. 1 ed. Lancaster: Technomic Publishing Company, Cap. 4: Electromechanical properties of meat: 1995, p.126-129.

TARRANT, P.V. The effects of handling, transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs - review. **Irish Journal of Food Science and Technology**, v.13, p.79-107, 1989.

TROEGER, K. & WOLTERS DORF, W. Measuring stress in pigs during slaughter. **Fleischwirtschaft**, v.69, p.373-376, 1990.

Van BOERLL, E. Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of farm animals. **Applied Animal Behaviour Science**. v.44, p.219-227, 1995.

Van der WAL, P.G.; ENGEL, B.; HULSEGG, B. Causes for variation in pork quality. **Meat Science**, v.46, p.319-327, 1997.

Van der WAL, P.G.; ENGEL, B.; REIMERT, H.G.M. The effect of stress, applied immediately before stunning, on pork quality. **Meat Science**, v.53, p.101-106, 1999.

Van de KAR, L.D.; RICHARDSON-MORTON, K.D.; RITTENHOUSE, P.A. Stress: neuroendocrine and pharmacological mechanisms. In: JASMIN, G.; CANTIN, M. **Methods and Achievements in Experimental Pathology**, v.14, p.133-173, 1991

Van LAACK, R.L.J.M.; KAUFFMAN, R.G.; SYBESMA, W.; SMULDERS, F.J.M.; EIKELBOOM, G.; PINHEIRO, J.C. Is colour brightness (L*-value) a reliable indicator of water-holding capacity in porcine muscle. **Meat Science**, v.38, p.193-201, 1994.

Van LAACK, R.L.J.M. & KAUFFMAN, R.G. Glicolytic potential of read, soft, exudative pork longissimus muscle. **Journal Animal Science**, v.77, p.2971-2973, 1999.

Van OECKEL, M.J. & WARNANTS, N. Variation of the sensory quality within the m. *longissimus thoracis et lumborum* of PSE and normal quality. **Meat Science**, v.63, p.293-299, 2003.

VELARDE, A.; GISPERT, M.; FAUCITANO, L.; MANTECA, X.; DIESTRE, A. The effect of stunning method on the incidence of PSE meat and haemorrhages in pork carcasses. **Meat Science**, v.55, p.309-314, 2000.

VELARDE, A.; GISPERT, M.; FAUCITANO, L.; ALONSO, P.; MANTECA, X.; DIESTRE, A. Effects of stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pork carcasses. **Meat Science**, v.58, p.313-319, 2001.

WARNER, R.D.; KAUFFMANN, R.G.; GREASER, M.L. Muscle protein post mortem in relation to pork quality traits. **Meat Science**, v.45, p.339-352, 1997.

WARRISS, P.; BROWN, S.N. The relationships between initial pH, reflectance and exudation in pig muscle. **Meat Science**, v.20, p.65-74, 1987.

WARRISS, P.D.; BROW, S.N.; ADAMS, S.J.M. Relationships between subjective and objective assessments of stress at slaughter and meat quality in pigs. **Meat Science**, v.38, p.329-340, 1994.

WARRISS, P.D.; BROW, S.N.; NUTE, G.R.; KNOWLES, T.G.; EDWARDS, J.E.; PERRY, A.M.; JOHNSON, S.P. Potential interactions between the effects of preslaughter stress and post-mortem electrical stimulation of the carcasses on meat quality in pigs. **Meat Science**, v.41, p.55-68, 1995a.

WARRISS, P. D. Pig handling. Guidelines for the handling of pigs *ante mortem*. **Meat Focus**, dezembro, p. 491-494, 1995b.

WARRISS, P. D. The consequence of fighting between mixed groups of unfamiliar pigs before slaughter. **Meat Focus**, v.4, p. 89-92, 1996.

WARRISS, P.D.; BROW, S.N. ; BARTON GADE, P.; SANTOS, C.; NANI COSTA, L.; LAMBOOIJ, E.; GEERS, R. An analysis of data relating to pig carcass quality indices of stress collect in the European Union. **Meat Science**, v.49, p.137-144, 1998a.

WARRISS, P.D. The welfare of slaughter pigs during transport. **Animal Welfare**, v.7, p.365-381, 1998b.

WARRISS, P.D.; BROW, S.N.; KNOWLES, T.G.; EDWARDS, J.E.; KETTLEWELL, P.J.; GUISE, H.J. The effect of stocking density in transit on the carcass quality and welfare of slaughter pigs: 2 Results from the analysis of blood and meat samples. **Meat Science**, v.50, p.447-456, 1998c.

WARRISS, P.D.; BROW, S.N.; EDWARDS, J.E.; KNOWLES, T.G. Effect of lairage time on levels of stress and meat quality in pigs. **Animal Science**, v.66, p.255-261, 1998d.

WEISSMAN,C. The metabolic response to stress: an overview and update. **Anesthesiology**, v.73, p.308-327, 1990.

WENK,C. Environmental effects on nutrient and energy metabolism in pigs. **Archiv für Tierernährung**, v.51, p.211-224, 1998.

ZANELLA, A.J.; DURAN, O. Bem-estar de suínos durante o embarque e o transporte: Uma visão norte-americana. **I Conferência Virtual Internacional sobre Qualidade de Carne Suína**, 16 de nov. a 16 de dez.- CNPSA/EMBRAPA, 2000. Capturado em jan. de 2004. Disponível na Internet <http://www.cnpsa.com.br>.

ZULKIFLI, I.; SIEGEL, P.B. Is there a positive side to stress? **World Poultry Science Journal**, v.51, p.63-76, 1995.