

**ISSN 0355-1880**

**HELSINGIN YLIOPISTO**

**Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos**

**EKT-sarja 1483**

**KAHDEN ERITYYPPISEN TAINNUTUSKAASUN (CO<sub>2</sub> ja N<sub>2</sub>)  
SOVELTUVUUS KALKKUNOIDEN TAINNUTUKSEEN  
PIENTEURASTAMOISSA LIHAN LAADUN NÄKÖKULMASTA**

**Satu Tuominen**

**Helsinki 2010**

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen		Laitos — Institution — Department Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author Satu Tuominen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Kahden erityyppisen tainnutuskaasun (CO <sub>2</sub> ja N <sub>2</sub> ) soveltuvuus kalkkunoiden tainnutukseen pienteurastamoissa lihan laadun näkökulmasta			
Oppiaine — Läroämne — Subject Elintarviketeknologia (lihateknologia)			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterin tutkielma		Aika — Datum — Month and year Syyskuu 2010	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 77
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Tutkielman kirjallisuusosassa käsiteltiin siipikarjan tainnutusta. Siinä kuvattiin, mitä fysiologisia ja biokemiallisia muutoksia käsittelyn aiheuttama stressi saa aikaan siipikarjassa ja miten nämä muutokset edelleen heijastuvat lihan laatuun. Lisäksi kirjallisuusosiossa tarkasteltiin eri tainnutusmenetelmien soveltuvuutta siipikarjalle ja kuvattiin, kuinka teurastusta edeltävää hyvinvointia ja lihan laatua voidaan tutkia.</p> <p>Kokeellisen osion tavoite oli selvittää kahden erityyppisen tainnutuskaasun, hiilidioksidin ja typen, vaikutusta kalkkunanlihan laatuun. Tavoitteena oli myös tutkia, miten jäähdytysnopeus vaikuttaa lihan laatuun ja onko eri tainnutusmenetelmien välillä tämän suhteen eroja. Saatujen tulosten perusteella pyrittiin löytämään kaasutainnutusmenetelmä, joka on lihan laadun kannalta paras vaihtoehto ja soveltuu hyvin käytettäväksi pienteurastamo-olosuhteissa. Kontrollikäsittelyinä käytettiin kaksivaiheista hiilidioksiditainnutusta. Tainnutus suoritettiin pienteurastamo-olosuhteisiin suunnitellun kaasutainnutusmaskin avulla. Teurastuksen jälkeistä metaboliaa seurattiin pH:n laskunopeuden sekä glykogeeni- ja maitohappopitoisuuksien avulla. Lihan laadun määrittämiseen taas käytettiin valumaa, keittotappiota ja mureutta.</p> <p>Typellä tainnutettujen kalkkunoiden lihaksissa teurastuksen jälkeinen pH:n lasku oli erittäin nopeaa muihin tainnutuskäsittelyihin verrattuna. Typellä tainnutaminen saattaisi mahdollistaa nopean jäähdytyksen ilman kylmäsupistumisriskiä, sillä 0 °C:n lämpötilassa jäähdytettäessä ei typellä tainnutettujen kalkkunoiden liha ollut yhtä sitkeää kuin hiilidioksidilla tainnutettujen. Hiilidioksiditainnutuksessa pH:n lasku oli hyvin samankaltainen kuin kaksivaiheisessa tainnutusmenetelmässä, ja hiilidioksidi olisikin näin ollen hyvin varteenotettava vaihtoehto kaasutainnutukseen pienteurastamossa. Toisaalta hiilidioksidin on todettu suurissa pitoisuuksissa olevan siipikarjalle epämiellyttävä hengittäjä, ja lisäksi hiilidioksidilla tainnutettaessa liian nopea jäähdytys aiheuttaa kylmäsupistumisriskin.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Kalkkuna, siipikarja, tainnutus, CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , liha, laatu, pienteurastamo			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto, Helda			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information EKT-sarja 1483			

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Food and Environmental Sciences	
Tekijä — Författare — Author Satu Tuominen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Suitability of two different types of stunning gases (CO <sub>2</sub> and N <sub>2</sub> ) used on turkeys in small-scale slaughterhouses from a meat quality perspective			
Oppiaine — Läroämne — Subject Food Technology (Meat Technology)			
Työn laji — Arbetets art — Level M. Sc. Thesis		Aika — Datum — Month and year September 2010	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 77
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>The literature review dealt with stunning of poultry. The effects of the stress induced by handling on the physiological and biochemical changes, and how they further affect the meat quality, were discussed. Suitability of different stunning methods for poultry was also reviewed. Methods for measuring the welfare of poultry before slaughtering and the meat quality were described, at the end of the literature review.</p> <p>The aim of the experimental work was to find out the influence of two different types of stunning gases, CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>, on turkey meat quality. An additional aim of the study was to examine how the chilling rate affects meat quality and also if there are any differences between the stunning methods concerning this. Furthermore, the most suitable gas stunning method for small-scale slaughterhouses, from a meat quality perspective, was hoped to be revealed by the results. Two-phase CO<sub>2</sub>-stunning was used as a control treatment. The turkeys were stunned using a gas stunning mask designed for the conditions of small-scale slaughterhouse. The <i>post mortem</i> metabolism was controlled with the rate of the pH fall as well as with the glycogen and lactate contents. Drip loss, cooking loss and tenderness were measured to predict the meat quality.</p> <p>The <i>post mortem</i> pH fall was significantly faster in the breast muscles of the nitrogen stunned turkeys than in the breast muscles of the turkeys stunned with other gases. Stunning with N<sub>2</sub> could enable the fast chilling of the carcasses without the risk of cold shortening because the meat of the N<sub>2</sub> stunned birds was not as tough as the meat of the CO<sub>2</sub> stunned birds, when chilled at 0 °C. The pH fall of the CO<sub>2</sub> stunned turkeys was similar to the birds stunned with the two-phase method. As a result, CO<sub>2</sub> could be a good alternative for gas stunning. On the other hand, CO<sub>2</sub> has been stated noxious for poultry to breath in high concentrations. In addition, there is a risk of cold induced toughening when using carbon dioxide if chilled rapidly.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Turkey, poultry, stunning, CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , meat, quality, small-scale slaughterhouse			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited The Digital Repository of University of Helsinki, Helda			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information EKT-series 1483			

## **ESIPUHE**

Tämä tutkimus on elintarvike- ja ympäristötieteiden laitokselle tehtävä maisterin tutkielma lihateknologian pääainesuunnasta. Tutkielman valvojana toimi professori Eero Puolanne, vastaavana ohjaajana ETT Maria Ylä-Ajos sekä toisena ohjaajana yliopistonlehtori Marita Ruusunen.

Tutkimus oli osa Eläinten hyvinvoinnin tutkimuskeskuksen kalkkunoiden hyvinvointi -projektia, jonka johtajana toimi professori Anna Valros. Muita tutkimukseen osallistuvia tutkijoita olivat ELT Laura Hänninen, professori Outi Vainio, MMT Matti Pastell ja post-doc tutkija Maria Ylä-Ajos. Tutkimuksen rahoitti Maa- ja metsätalousministeriö. Tutkimus suoritettiin Viikissä Helsingin yliopiston koe-eläinkeskuksen yksikössä sekä elintarviketeknologian laitoksen laboratoriotiloissa helmikuusta ja maaliskuussa 2010.

Haluan esittää suuret kiitokset tutkielmani teon mahdollistaneille henkilöille. Haluan kiittää professori Eero Puolannetta, Maria Ylä-Ajosta, Marita Ruususta, Irja Korhosta, Xueshen Zhuta, Mara Gusellaa, Anna Valrosia, Laura Hännistä, Erkki Muilua, Sirkka Karikkaa sekä erityisesti Mika Vainiota, jotka ovat olleet apuna graduni teossa. Lisäksi haluan kiittää kurssitovereitani Jesse Huuhanmäkeä, Sanni-Kaisa Kivessiltaa, Päivi Uotilaa ja Jarkko Viikaria sekä koetehtaan johtajaa Olavi Törmää, jotka ovat tehneet paljon asioita puolestani ja sitä kautta mahdollistaneet opintojeni edistymisen. Lopuksi haluan vielä muistaa vanhempiani, miestäni, muuta perhettäni sekä hyviä ystäviäni, jotka ovat aina kärsivällisesti olleet tukenani.

# SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	2
ABSTRACT	3
ESIPUHE	4
1 JOHDANTO	7
2 KIRJALLISUUSTUTKIMUS: SIIPIKARJAN TAINNUTUS	9
2.1 Teurastusta edeltävä stressi	9
2.1.1 Fysiologiset ja biokemialliset vaikutukset	9
Muutokset ennen teurastusta	
Muutokset teurastuksen jälkeen	
2.1.2 Stressin vaikutus lihan laatuun	13
2.2 Eri tainnutusmenetelmien soveltuvuus	16
2.2.1 Sähkötainnutus	16
2.2.2 Kaasutainnutus	21
Kaasutainnutuksen ominaisuudet	
Hiilidioksidi sekä hiilidioksidin ja hapen seos	
Inertit kaasut sekä inerttien kaasujen ja hiilidioksidin seos	
Happea sisältävät kaasuseokset	
Anestesiakaasut ja hiilimonoksidi	
2.2.3 Mekaaninen tainnutus	30
2.3 Tutkimusmenetelmiä optimaalisen tainnutusmenetelmän löytämiseksi	31
2.3.1 Tainnutusajan määrittäminen	31
2.3.2 Hyvinvoinnin tutkiminen	32
Siipikarjan käyttäytyminen	
Fysiologia	
Lihan laatu	
2.4 Yhteenvedo	35
3 KOKEELLINEN TUTKIMUS	36
3.1 Tausta ja tavoitteet	36
3.2 Materiaalit ja menetelmät	37
3.2.1 Pienteurastamojen haastattelu	37
3.2.2 Koemateriaali	37
3.2.3 Koeolosuhteet	37
3.2.4 Kokeen suoritus	37
Tainnutus ja teurastus	
Näytteenotto	
Jäähdytys	
3.2.5 Menetelmät	41
pH	
Lämpötila	
Valumahävikki	
Keittotappio	
Mureus	
Glykogeeni- ja laktaattipitoisuus	
Tulosten tilastollinen käsittely	

3.3	TULOKSET	44
3.3.1	Tainnutus- ja jäähdytyskäsittelyt suomalaisissa pienteurastamoissa	44
3.3.2	pH:n ja lämpötilan lasku teurastuksen jälkeen	45
	Leikkaamaton rinta- ja pohjelihas	
	Eri jäähdytysnopeudet	
3.3.3	Glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet	53
3.3.4	Valuma ja kypsennyshävikki	54
3.3.5	Mureus	55
3.4	POHDINTA	56
3.4.1	pH:n lasku teurastuksen jälkeen	56
3.4.2	Jäähdytyksen vaikutus pH:n laskuun	58
3.4.3	Glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet	60
3.4.4	Tainnutuskaasun ja jäähdytyskäsittelyn vaikutus lihan laatuun	61
3.4.5	Kaasutainnutuksen käytön mahdollisuudet pienteurastamoissa	62
4	PÄÄTELMÄT	63
	LÄHDELUETTELO	63
	LIITTEET	
	Liite 1. Näyttenotto M. pectoralis -lihaksesta	74
	Liite 2. Hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden mittaustulokset	75
	Liite 3. Typellä tainnutettujen kalkkunoiden mittaustulokset	76
	Liite 4. Kaksivaiheisella seoskaasulla tainnutettujen kalkkunoiden mittaustulokset	77

## 1 JOHDANTO

Tainnutuksen ja lopettamisen on tapahduttava mahdollisimman nopeasti ja tehokkaasti, jotta eläimet välttyisivät teurastuksen aikana kokemasta pelkoa, kipua ja stressiä (European Council Directive [EC] 93/119 1993). Tainnutuksen tarkoituksena on saattaa eläin tajuttomaan tilaan, jotta se ei kärsi teurastuksen aiheuttamasta kivusta. Tajuttomuuden on kestettävä siihen asti, kunnes verenhukan aiheuttama aivokuolema on saavutettu (Raj ja Tserveni-Gousi 2000). Nykyisin käytetyin menetelmä siipikarjan tainnutuksessa on sähkötainnutus vakiojännitteisessä vesialtaassa. Siihen liittyy kuitenkin käsittelyvaiheita, jotka aiheuttavat linnuille stressiä. Eettisten arvojen lisäksi siipikarjan hyvinvointi on tärkeää myös lihan laadun kannalta.

Käsittelyn aiheuttama stressi saa aikaan muutoksia eläinten hormonivasteissa, ja vapautuvat hormonit käynnistävät glykokeenin pilkkoutumisen (Siegel 1980; Wynn ym. 1995; Gregory 1998; Pösö ja Puolanne 2005). Pakoyritykset pelottavasta tilanteesta aiheuttavat fyysistä rasitusta, ja koska siipikarjan lihaksissa anaerobisten lihassolujen määrä on suuri, aerobinen energia-aineenvaihdunta ei pysty enää tuottamaan tarvittavaa määrää energiaa, vaan rinnalle käynnistyy anaerobinen glykolyysi. Anaerobisen glykolyysin seurauksena lihaksen pH laskee. Kiihtyneen glykolyysin vaikutuksesta pH on laskenut jo teurastushetkellä, ja lisäksi lasku jatkuu voimakkaana teurastuksen jälkeen. Mikäli pH laskee liian alas ruhon lämpötilan vielä ollessa korkea, tapahtuu proteiinien denaturoitumista. Proteiinien denaturoituminen voi johtaa PSE-lihaisuuteen, jolloin liha on vaaleaa, pehmeää ja vetistä. Tainnutuskäsittelyn valinnalla voidaan näin ollen vaikuttaa stressin aiheuttamiin *post mortem* -muutoksiin ja sitä kautta lihan laatuun, kuten mureuteen, makuun, väriin, vedensidontakykyyn ja saantoon (Van Hoof 1979; Barbut 1993; Rathgeber ym. 1999). Kiinnittämällä huomiota teurastusta edeltävään käsittelyyn voidaan myös ehkäistä lihan arvoa heikentävien luunmurtumien, verenpurkaumien ja värivirheiden syntymistä.

Suomen tämänhetkiset säädökset sallivat kanojen tainnutuksessa hiilidioksidin ja sähkövirran käytön (FINLEX Eläinsuojeluasetus 7.6.1996/396 1996). Lisäksi siipikarja saadaan lopettaa nopealla kaulan katkaisulla. Kaasutainnutus vähentää lintujen käsittelyn tarvetta, mutta eri kaasujen soveltuvuudesta siipikarjan tainnutukseen on vielä niukasti tutkimustietoa. Kaasutainnutus ei ole sähkötainnutuksen tapaan välitön, ja tämän vuoksi on varmistuttava, etteivät kaasut aiheuta linnuille kärsimystä (Gerritzen ym. 2000). Koska

siipikarjalla kaasujenvaihto hengityselimistössä on lisäksi erityisen tehokasta (Brown ym. 1997), on erilaisten kaasutainnutusmenetelmien tutkiminen hyvin tärkeää. Hiilidioksidin tainnuttava vaikutus perustuu hermojen ja selkäydinnesteen pH:n laskuun, jolloin hermoimpulssien siirtyminen hermosolusta toiseen estyy (Gerritzen ym. 2000). Anestesiakaasut ja vetysyanidi vaikuttavat samalla tavoin suoraan hermostoon (Barton Gade ym. 2001a). Niitä ei ole kuitenkaan käytetty siipikarjan tainnutukseen muuta kuin tautitorjuntatilanteissa. Argon, typpi ja hiilimonoksidi sen sijaan tainnuttavat syrjäyttämällä hapen verestä (Gerritzen ym. 2000). Raj'n (1996) mukaan hiilidioksidi voi happamuutensa vuoksi aiheuttaa epämiellyttäviä aistimuksia linnuilla sisäänhengityksen yhteydessä. Typpi ja argon saattavat inertteinä kaasuina olla parempia vaihtoehtoja. Koska argon on melko kallis kaasu, typen soveltuvuudesta siipikarjan tainnutukseen ollaan erityisen kiinnostuneita.

Raa'an ja kypsennetyn lihan vedensidontakyvyn sekä lihan mureuden ja värin määrittäminen antavat tietoa lihan laatuominaisuuksista, jotka riippuvat teurastusta edeltävistä ja teurastuksenaikaisista tapahtumista (Honikel 1998). Siipikarjan hyvinvointia tainnutuksen aikana voidaan arvioida myös käyttäytymisen perusteella sekä verestä ja lihaksista määritettyjen aineenvaihduntatuotteiden avulla.

Kirjallisuuskatsauksen tavoitteena on käsitellä aikaisempiin tutkimuksiin pohjautuvaa tietoa siipikarjan tainnutuksesta. Tavoitteena on luoda selkeä kuva siitä, mitä fysiologisia ja biokemiallisia muutoksia käsittelyn aiheuttama stressi saa aikaan siipikarjassa ja miten nämä muutokset edelleen heijastuvat lihan laatuun. Kirjallisuusosiossa tarkastellaan eri tainnutusmenetelmien soveltuvuutta siipikarjalle ja kuvataan, kuinka teurastusta edeltävää hyvinvointia ja lihan laatua voidaan tutkia. Kokeellisen osion tavoite on selvittää kahden erityyppisen tainnutuskaasun, hiilidioksidin ja typen, käytön vaikutusta kalkkunanlihan laatuun (pH, vedensidontakyky, mureus) ja verrata niitä kontrollikäsitellynä käytettävään kaksivaiheiseen tainnutukseen. Tavoitteena on myös tutkia, miten jäähdytysnopeus vaikuttaa lihan laatuun ja onko eri tainnutusmenetelmien välillä tämän suhteen eroja. Saatujen tulosten perusteella pyritään löytämään kaasutainnutusmenetelmä, joka on lihan laadun kannalta paras vaihtoehto ja soveltuu hyvin käytettäväksi pienteurastamo-olosuhteissa.



## 2 KIRJALLISUUSTUKIMUS: SIIPIKARJAN TAINNUTUS

### 2.1 Teurastusta edeltävä stressi

#### 2.1.1 Fysiologiset ja biokemialliset vaikutukset

Muutokset ennen teurastusta. Stressi on luonnollinen ja välttämätön sopeutumiskeino fyysistä tai psyykkistä tasapainoa horjuttavia tilanteita vastaan. Teurastusta edeltävät toimenpiteet aiheuttavat siipikarjalle stressiä, joka alkaa, kun linnut siirretään tiloilla kuljetushäkkeihin. Kuljetukset (Freeman ym. 1984; Mitchell ym. 1992), käsittelyt sekä muut uudet ja pelottavat tilanteet aiheuttavat psyykkistä stressiä. Kiinniottaminen, paikallaan oleminen ja kuljetukset aiheuttavat lisäksi fyysistä stressiä (Rosales 1994). McKeen ja Samsin (1997) mukaan myös korkealle lämpötilalle altistuminen ennen teurastusta sai aikaan fysiologisia ja biokemiallisia muutoksia kalkkunoiden elimistössä.

Stressitilanteessa sympaattinen hermojärjestelmä aktivoituu (Siegel 1980), jolloin elimistö alkaa erittää adrenaliinia (epinefriiniä) ja noradrenaliinia (norepinefriiniä). Adrenaliini käynnistää glykogenolyysin, jolloin lihaksiin varastoituneesta glykogeenista muodostuu helposti energiaksi käytettävää glukoosia (glukoosi-1-P) (Cori ja Cori 1929). Myös sydämen lyöntitiheys ja lihasjännitys kasvavat, hengitys kiihtyy ja energiaksi käytettävien rasvahappojen määrä veressä lisääntyy (Lister ym. 1970; Robert-McComb 2001). Siipikarjalla sydämen lyöntitiheyden havaittiin stressin vaikutuksesta nousevan jopa 350 lyöntiin/ minuutti (Korte ym. 1999), kun sioilla lyöntitiheys voi kohota stressitilanteessa noin 250 lyöntiin/ minuutti (de Jong ym. 2000). Adrenaliini aiheuttaa pintaverisuonten laajenemisen ja sitä kautta verenpaineen laskun, kun taas noradrenaliinin vaikutus on päinvastainen (Gregory 1998). Pian sympaattisen hermojärjestelmän aktivoitumisen jälkeen elimistössä käynnistyvät palautumisreaktiot: parasympaattinen hermosto aktivoituu ja aivolisäke alkaa erittää adrenokortikotropiinia (ACTH) (Siegel 1980). ACTH aktivoi kortikosteroidien muodostumista ja vapautumista. Kortisoli on tärkein kortikosteroidi, ja sen tehtävä elimistössä rasituksen aikana on lisätä veren glukoosipitoisuutta. Kortisoli stimuloi valkuaisaineiden ja rasvojen pilkkoutumista, jolloin glukoosinmuodostukseen tarvittavien vapaiden amino- ja rasvahappojen määrä elimistössä nousee (Bjälje ym 2005). Tämä vaikuttaa pitkällä aikavälillä haitallisesti elimistön suorituskykyyn (Siegel 1980). Siipikarjan kohdalla teurastusta edeltävästä stressistä puhuttaessa keskitytään kuitenkin lyhytaikaisen stressin aikaansaamiin muutoksiin.

Siipikarjan teurastusta edeltää usein eläimille pelkoa tuottavia käsittelyvaiheita, kuten kiinnittämistä ja ripustamista, jolloin lintu pyrkii pakenemaan. Tällöin energianlähteenä käytettävien adenosiinitrifosfaatin (ATP) ja kreatiinifosfaatin kulutus lisääntyy (Gregory 1998). ATP:a tarvitaan mm. lihassupistumistapahtumassa, ja sitä muodostuu, kun kreatiinifosfaatti reagoi adenosinidifosfaatin (ADP) kanssa.

Elimistö pyrkii pitämään hiilihydraattiaineenvaihdunnan aerobisena, mutta siipikarjalla energiantuotto siirtyy rasitus- ja stressitilanteessa helposti anaerobiseksi, koska anaerobisen IIB-lihassolutyyppin osuus on erittäin suuri. Sekä kalkkunoiden (Rémignon ym. 2000) että broilereiden (Papinaho 1996) rintalihaksissa on ainoastaan vaaleita, nopeita lihassoluja. Kun happea on riittävästi saatavilla ja lihas toimii hitaasti, riittävät aerobinen glykolyysi ja lihaksessa oleva kreatiinifosfaatti tuottamaan riittävän määrän energiaa. Kun lihaksen työteho kasvaa eikä aerobinen energia-aineenvaihdunta pysty enää tuottamaan tarvittavaa määrää energiaa, käynnistyy rinnalle anaerobinen glykolyysi. Anaerobisessa glykolyysissä muodostuu maitohappoa. Maitohapon syntymisen yhteydessä irtoava protoni alentaa lihaksen pH:ta, joka elävällä siipikarjalla on välillä 6,9–7,3 (Wynveen ym. 1999). Elimistö pyrkii fysiologiseen tasapainotilaan (homeostasis) hormonisäätelyn avulla (Choe ym 2009). Veren glukoosipitoisuus ja lihasten ATP-pitoisuus pyritään pitämään tietyissä rajoissa, ja erinomaisen puskurikyvyn vuoksi pH ei laske elävässä lihaksessa alle 6,2. Protonien poistuminen solusta on säädelty monokarboxylaattikuljettimien (MCT) ja  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -porttien avulla. Siipikarjalla lihasten puskurikyky on erityisen hyvä niiden solutyypijakauman perusteella, sillä puskurikyky on parempi vaaleissa kuin tummissa lihassoluissa (Kivikari 1996). Kivikari (1996) totesi broilerin rinnan puskurikyvyn olevan  $58 \text{ mmol H}^+ / (\text{pH} \cdot \text{kg})$  ja broilerin koipi-reiden  $41 \text{ mmol H}^+ / (\text{pH} \cdot \text{kg})$ , kun pH on välillä 5,5–7,0.

Glykolyysin lähtöainetta glukoosia on sekä veressä sellaisenaan että varastoituneena lihaksiin ja maksaan glykokeeninä. Glykogenolyysillä tarkoitetaan varastoglykokeenin pilkkoutumista energiaksi käytettävän glukoosin muotoon. Lyhytkestoisessa, kovassa rasituksessa glykokeenin pilkkoutuminen on nopeaa ja maitohappoa muodostuu suuria määriä anaerobisen energia-aineenvaihdunnan kautta. Ensin glykokeeni pilkkoutuu pyruvaatiksi, joka joko muokataan laktaatiksi, tai se tuottaa ATP:ia sitruunahappokierron kautta. Muodostunut laktaatti käytetään myöhemmin aerobisesti joko maksassa, punaisissa lihassoluissa tai sydämessä (Gregory 1998).

Siipikarjan kasvunopeus ja lihasmassa ovat lähes kaksinkertaistuneet viimeisen 30 vuoden aikana (Barbut ym. 2008). Kun esimerkiksi sioilla vaaleiden solujen määrä suhteessa tummiin soluihin on kasvanut jalostuksen myötä, on siipikarjan rintalihaksissa kasvu tapahtunut jo luonnostaan yksipuolisen solujakauman vuoksi solumäärän ja solujen kokojen kasvuna. Rémignon ym. (1995) totesivat, että lihassolujen halkaisijat ovat suurempia nopeasti kasvaneilla kanoilla kuin hitaasti kasvaneilla, ja Barbutin ym. (2008) mukaan suuret lihassolut saattavat olla herkempiä fyysisen rasituksen aiheuttamalle stressille. Santén ym. (1995) mukaan teurastuksen jälkeinen pH:n lasku tapahtui kaksinkertaisella nopeudella nopeasti kasvaneiden kalkkunoiden rintalihaksissa verrattuna hitaasti kasvaneiden kalkkunoiden rintalihaksiin. Toisaalta Debut ym. (2003) sekä Berri ym. (2005) totesivat nopeasti kasvaneilla broilereilla teurastuksen jälkeisen pH:n laskun olevan hitaampaa kuin hitaasti kasvaneilla broilereilla. Sekä Debutin ym. (2003) että Berrin ym. (2005) mukaan hitaasti kasvaneiden broilereiden nopeampi pH:n lasku nopeasti kasvaneisiin broilereihin verrattuna johtui lintujen voimakkaammasta pyristelystä ennen teurastusta. Berrin ym. (2005) mukaan myös loppu-pH oli hitaasti kasvaneilla broilereilla matalampi, mutta Debut ym. (2003) eivät havainneet eroja loppu-pH-arvoissa nopeasti ja hitaasti kasvaneiden broilereiden välillä.

Muutokset teurastuksen jälkeen. Verenlaskun seurauksena hapenkuljetus soluihin lakkaa ja solut alkavat kuluttaa energiavarastojaan. Solujen kreatiinifosfaattivarastot (CP) ovat kuitenkin pienet. Kun niistä noin 70 % on hajotettu energiaksi, ATP-pitoisuus laskee nopeasti (Scheffler ja Gerrard 2007). Koska happea ei ole enää riittävästi saatavilla, solut alkavat tuottaa ATP:a anaerobisesti. Tämä johtaa nopeaan glykokeenin käyttöön ja laktaatin muodostumiseen lihaksiin. Nopea *post mortem* -glykolyysi tuottaa ensimmäisen tunnin aikana lihaksiin suuren määrän laktaattia, protoneita ja lämpöä (Scheffler ja Gerrard 2007). Tästä seuraa nopea pH:n lasku, jota hidastaa ainoastaan lihasten puskurikyky (Kivikari 1996; Pösö ja Puolanne 2005).

Glykolyysiä kiihdyttää erityisesti teurastusta edeltävä fyysinen rasitus, kuten siipien räpyttely sekä muut pakoyritykset. Kun kuoleman jälkeen ATP:n kulutusnopeus ylittää sen muodostumisnopeuden, sitä on aina vain vähemmän käytettävissä aktomyosiinisidosten katkaisemiseen. Myös ionipumppujen toiminta heikkenee ATP:n määrän laskiessa, ja lihassupistusta aktivoivien  $\text{Ca}^{2+}$ -ionien määrä sarkoplasmassa kasvaa. ATP:n loppuun kuluminen johtaa *rigor mortiksen* eli kuolonkankeuden muodostumiseen. Kanojen

rintalihaksissa *rigor mortis* alkaa muodostua, kun pH-arvo laskee arvoon 6,1–6,2 (Dunn ym. 1993). Ylä-Ajos (2006) totesi, että broilereiden rintalihaksissa on heikko GDE-aktiivisuus verrattuna sian ja naudän lihaksiin. Broilereiden lihaksissa GDE-aktiivisuus käyttäytyi lisäksi päinvastoin kuin sian ja naudän lihaksissa: GDE-aktiivisuus oli suurempi enemmän oksidatiivisia soluja sisältävissä reisilihaksissa kuin rintalihaksissa, kun taas siialla ja naudalla GDE-aktiivisuus oli suurempi lihaksissa, joissa oli vähemmän hitaita lihassoluja. Samassa tutkimuksessa havaittiin kuitenkin, että fosforylaasiaktiivisuus oli suurempi broilereiden lihaksissa kuin sian ja naudän lihaksissa. Fosforylaasi pystyy yksinään vapauttamaan glykogeenista maksimissaan 34,6 % glukoosiyksiköistä (Meléndez-Hevia ym. 1993).

Lintujen lihaksissa tapahtuvat *post mortem* -muutokset ovat samanlaisia kuin nisäkkäiden lihaksissa tapahtuvat muutokset. Linnuilla muutokset tapahtuvat vain hyvin paljon nopeammin. Esimerkiksi sikaan verrattuna siipikarjalla teurastuksen jälkeinen glykolyysi voi tapahtua jopa kolme kertaa nopeammin (Barbut ym. 2008). Man ja Addisin (1973) mukaan osa kalkkunon rintalihaksista saavutti loppu-pH:n (5,50) jopa viidessä minuutissa. Näin nopea pH:n lasku on kuitenkin hyvin poikkeuksellista.

Pietrzakin ym. (1997) mukaan *rigor mortis* voi alkaa nopean glykolyysin seurauksena jo 20–30 minuutin kuluttua teurastuksesta. Tällöin pH laskee arvoon 5,7 keskimäärin 0,06 yksikköä minuutissa. Wynveenin ym. (1999) tutkimuksessa pH-arvon havaittiin laskevan ensimmäisten yhdeksän minuutin aikana nopeasti arvoon 5,97. Tämän jälkeen pH laski enää hitaasti: 284 minuutin kuluttua teurastuksesta pH-arvo oli 5,84. Tutkimuksessa havaittiin myös, että pH-arvo oli heti tainnutuksen jälkeen pudonnut jo arvoon 6,45, kun se elävässä lihaksessa on välillä 6,9–7,3.

Ma ym. (1971) havaitsivat kalkkunoiden kohdalla suurta vaihtelua loppu-pH:n saavutusnopeudessa. Kun teurastuksen jälkeinen glykolyysi oli nopeaa, loppu-pH:n saavuttaminen kesti vain 37 minuuttia, kun se enimmillään kesti jopa 221 minuuttia. Man ja Addisin (1973) mukaan laktaattipitoisuus oli korkeampi kalkkunoilla, jotka pyristelivät paljon teurastusvaiheessa. Vastaavasti ATP-pitoisuus ja pH olivat matalampia. Erot olivat nimenomaan merkittäviä, kun teurastuksesta oli kulunut alle tunti. Tämä viittaa pyristelyn nopeuttavan teurastuksen jälkeistä glykolyysiä.

Teurastuksen jälkeisen hiilihydraattiaineenvaihdunnan nopeus ja suuruus riippuvat ATP:n kulutuksen nopeudesta, hiilihydraattipitoisuudesta, saatavilla olevan hapen määrästä sekä lihaksen lämpötilasta (Pösö ja Puolanne 2005; Choe ym. 2009). Glykolyysi kiihtyy lämpötilan noustessa ja lisäksi glykolyysi itse on lämpöä vapauttava reaktio. Näin ollen pH:n lasku riippuu hyvin paljon myös ympäristön lämpötilasta. Koska teollisuudessa teurastusprosessiin kuuluu aina kaltaus, pysyy ruhon lämpötila verenlaskun jälkeen korkeana, jolloin nopean pH:n laskun aiheuttamat lihan laatuongelmat nousevat helposti esille.

Van Hoof (1979) sekä Papinaho ym. (1995) totesivat tainnutuksella olevan erityisen suuri merkitys glykolyysin nopeuteen. Sähköllä tainnutettujen kalkkunoiden kohdalla loppu-pH:n saavuttaminen kesti kuusi tuntia, kun taas tainnuttamattomilla kalkkunoilla loppu-pH saavutettiin jo muutaman minuutin kuluttua verenlaskusta (Van Hoof 1979). Tainnutus hidasti pH:n laskua ja siten viivästytti rigor mortiksen alkamisajankohtaa. Loppu-pH:ssa ei sen sijaan havaittu eroa. Eri tainnutusmenetelmien vaikutuksia tarkastellaan tarkemmin kohdassa 2.2. Alentunut pH-arvo antaa viitteitä kalkkunoiden kokemasta teurastusta edeltävästä stressistä. Poikkeuksellisen korkea pH taas viittaa eläimen kokemaan pitkäaikaiseen stressiin.

### **2.1.2 Stressin vaikutus lihan laatuun**

Teurastuksen jälkeiset biokemialliset muutokset vaikuttavat lihan laatuun kuten makuun, mureuteen, vedensidontakykyyn ja väriin (taulukko 1) (Barbut 1993; Pietrzak 1997; Choe 2009). Debut ym. (2003) totesivat, että broilerinlihan laatuun vaikuttivat sekä loppu-pH että pH:n laskun nopeus heti teurastuksen jälkeen. Mikäli teurastuksen jälkeinen glykolyysi on erittäin nopeaa ja pH laskee riittävän alas ruhon lämpötilan vielä ollessa korkea, tapahtuu proteiinien denaturoitumista (Honikel ja Kim 1986; Offer 1991; Dransfield 1994b; Choe 2009). Proteiinien denaturoituminen johtaa vedensidontakyvyn heikkenemiseen, ja lihasta tulee tällöin usein vaaleaa, pehmeää ja vetistä (PSE). Dransfield (1994b) totesi lisäksi kalpaiinien inaktivoituvan, mikäli pH laski nopeasti lämpötilan vielä ollessa korkea. Matalan pH:n ja korkean lämpötilan yhdistelmän teurastuksen jälkeen todettiin aiheuttavan joko PSE-lihaisuuden tai lämminsupistumisen riskin. Näiden seurauksena lihasta tuli sitkeämpää.

Taulukko 1. Korkean pH:n (normaali) ja matalan pH:n (PSE) ryhmiin kuuluvien kalkkunan rintalihasten biokemialliset ja fysikokemialliset ominaisuudet<sup>a</sup> (Pietrzak ym. 1997).

Ominaisuus	Korkean pH:n ryhmä (>5,8; 20 min post mortem)	Matalan pH:n ryhmä (≤5,8; 20 min post mortem)
pH 20 min teurastuksen jälkeen	6,44 ± 0,3	5,80 ± 0,1
pH 60 min teurastuksen jälkeen	6,02 ± 0,1 <sup>b</sup>	5,78 ± 0,1 <sup>c</sup>
pH 120 min teurastuksen jälkeen	5,88 ± 0,1	5,69 ± 0,1
ATP 20 min teurastuksen jälkeen, μmol/g	3,30 ± 1,1 <sup>b</sup>	1,36 ± 0,4 <sup>c</sup>
ATP 60 min teurastuksen jälkeen, μmol/g	2,52 ± 1,2 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,3 <sup>c</sup>
ATP 120 min teurastuksen jälkeen, μmol/g	1,62 ± 1,8 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,2 <sup>c</sup>
Laktaatti 20 min teurastuksen jälkeen, μmol/g	57,9 ± 16,3 <sup>b</sup>	94,4 ± 19,3 <sup>c</sup>
Laktaatti 60 min teurastuksen jälkeen, μmol/g	70,8 ± 16,9 <sup>b</sup>	102,3 ± 14,5 <sup>c</sup>
Laktaatti 120 min teurastuksen jälkeen, μmol/g	79,8 ± 6,9 <sup>b</sup>	106,9 ± 12,6 <sup>c</sup>
Vedensidontakyky, % lihan painosta <sup>d</sup>	112,4 ± 6,1 <sup>b</sup>	84,9 ± 12,8 <sup>c</sup>
Keittosaanto, % lihan painosta	126,1 ± 8,5 <sup>b</sup>	107,1 ± 8,2 <sup>c</sup>
Vaaleus, L*	44,4 ± 1,8 <sup>b</sup>	49,2 ± 1,0 <sup>c</sup>
Punaisuus, a*	5,2 ± 1,0	4,6 ± 0,8

<sup>a</sup> Keskiarvo ± keskihajonta

<sup>b,c</sup> Samalla rivillä olevien keskiarvojen ero on tilastollisesti merkitsevä (p<0,05), mikäli yläindeksissä on eri kirjain.

<sup>d</sup> Vedensidontakyky on mitattu kykynä sitoa ylimääräistä vettä lihan alkuperäiseen massaansa nähden.

Glykolyysissä vapautuu lämpöä, ja näin ollen proteiinien denaturoitumisen riski on erityisen suuri glykolyysin ollessa voimakasta (Offer 1991). Khanin (1971) mukaan broilerinrinnasta tuli huomattavasti sitkeämpää, mikäli rintalihaksia pidettiin teurastuksen jälkeen 30 °C:n tai 37 °C:n lämpötilassa kuin jäädytettäessä 20 °C:ssa tai matalammissa lämpötiloissa. Lisäksi lihasta tuli sitä sitkeämpää, mitä matalampi pH oli heti teurastuksen jälkeen. Samoin McKee ja Sams (1997) totesivat yli 40 °C:n lämpötilassa pidettyjen ruhojen pH:n laskevan nopeammin kuin 0 °C:n lämpötilassa jäädytettyjen ruhojen. Korkeammassa lämpötiloissa pidetyillä ruhoilla tapahtui suurempi valumahävikki ja keittotappio. Liha oli myös hyvin vaaleaa. Toisaalta liian nopea jäähditys voi aiheuttaa kalkkunanlihan kohdalla kylmäsitkistymistä, mikäli prerigor-liha altistui liian kylmälle lämpötilalle (Virtanen 2003). Teurastusta edeltävän stressin alentaminen on tärkeää, jotta pH ei laske liian alas teurastushetkellä ja jotta pH:n lasku ei ole kovin voimakasta teurastuksen jälkeen. Näin jäähditysvaihetta ei tarvitsisi suunnitella liian tehokkaaksi, ja

samalla saataisiin estetyksi sekä *rigor mortiksen* muodostuminen korkeassa lämpötilassa että kylmäsupistumisen riski. Toisaalta on aina otettava huomioon myös mikrobiologisen riskin kasvaminen jäähdytysajan pidentyessä.

Kiihtyneen teurastuksen jälkeisen glykolyysin lisäksi PSE-lihaisuuteen vaikuttaa lihaksen pH teurastushetkellä. Mikäli pH on stressin vaikutuksesta laskenut hyvin alas jo ennen teurastusta, täyttyvät PSE-lihaisuuden ehdot jo tavallisella glykolyysinopeudella. PSE-lihaisuutta on tutkittu paljon sioilla (Bendall ja Swatland 1988; Lewis ym. 1989; Barbut ym. 2008), mutta myös kalkkunoilla (Van Hoof 1979; Barbut 1996; McKee ja Sams 1997; Pietrzak ym. 1997; Wynveen ym. 1999; Owens ym. 2000; Barbut ym. 2008) ja broilereilla (Barbut 1997; Van Laack ym. 2000; Woelfel ym. 2002; Barbut ym. 2005; Barbut ym. 2008) on todettu esiintyvän samoja ongelmia. PSE-lihaisuuteen johtavia tekijöitä ovat lihasten nopea kasvu ja iso koko sekä hallitseva anaerobinen aineenvaihdunta. Barbut ym. (2008) totesivat siipikarjan koon kaksinkertaistuneen 50 vuoden aikana, samalla kun kasvatusaika on lyhentynyt puoleen entisestä. Kun näihin tekijöihin yhdistetään teurastusta edeltävä stressi, laskee pH nopeasti liian alas, ennen kuin ruhoa ehditään riittävästi jäähdyttää.

Koska siipikarjanlihassa on enemmän vaaleita kuin punaisia lihassoluja, on sen vedensidontakyky erinomainen muista eläimistä peräisin olevaan lihaan verrattuna. Teurastusta edeltävän stressin ja siihen liittyvän teurastuksen jälkeisen voimakkaan pH:n laskun sekä alhaisen loppu-pH:n on kuitenkin todettu alentavan vedensidontakykyä (Gault ym. 2000; Savenije ym. 2002; Choe 2009). Vedensidontakyvyn heikkeneminen johtuu matalan pH:n aiheuttamasta myofibrilliproteiinien denaturoitumisesta. Kun pH laskee, myofibrilliproteiinien nettovaraus vähenee. Tällöin myofilamentit liikkuvat lähemmäksi toisiaan ja vettä puristuu rakenteiden välistä pois (Hamm 1972). Ennen teurastusta korkeassa lämpötilassa olleiden kanojen ja broilereiden lihassa havaittiin vedensidontakyvyn heikkenemistä ja sitkeyttä (Holm ja Fletcher 1997; Petracci ym. 2001; Debut 2003).

Barbutin (1993) mukaan kalkkunan rintalihaksen väri oli sitä vaaleampi mitä nopeampaa pH:n lasku oli teurastuksen jälkeen ja mitä alhaisempi oli loppu-pH. Joon ym. (1999) mukaan väriin vaikutti sarkoplasmaproteiinien liukoisuus. Lihan väri oli sitä vaaleampi, mitä alhaisempi oli pH ja mitä vähemmän sarkoplasmaproteiinit olivat liuenneet. Lihan väriin vaikuttaa kuitenkin myös vedensidontakyky. Kun vedensidontakyky heikkenee pH:n laskiessa, heijastuu lihaan kohdistuva valo rakenteeseen sitoutumattomista vesipisaroista,

jolloin liha näyttää vaalealta (Swatland 2004). Barbut (1993) totesi, että keittotappion ja värin vaaleuden välillä on vahva korrelaatio. Tulosten perusteella voitiinkin päätellä, että nopea pH:n lasku aiheuttaa samanlaisia laatuvirheitä kuin sianlihan kohdalla oli aiemmin havaittu.

Teurastuksen jälkeisen glykolyysin nopeudella ja pH:n laskulla on havaittu olevan vaikutusta myös siipikarjanlihan mureuteen (taulukko 3) (Khan ja Nakamura 1970; Ma ja Addis 1973; Raj ym. 1990b). Khan ja Nakamura (1970) havaitsivat teurastuksen jälkeisellä laktaattipitoisuudella olevan selvä vaikutus broilerinlihan mureuteen: Mitä enemmän lihaksissa oli laktaattia heti teurastuksen jälkeen, sitä sitkeämpää liha oli 24 tunnin kuluttua teurastuksesta. Lee ym. (1979) totesivat leikkausvoiman pienenevän broilereiden rintalihaksissa 30 %, mikäli linnut tainnutettiin ennen pistoa. Teurastusta edeltävien tapahtumien lisäksi mureuteen vaikutti lämpötila sekä ajankohta, jolloin lihas leikattiin irti ruhosta (Lyon 1985; Papinaho ja Fletcher 1996).

## **2.2 Eri tainnutusmenetelmien soveltuvuus**

### **2.2.1 Sähkötainnutus**

Yleisimmin käytetty tainnutusmenetelmä siipikarjalla on sähkötainnutus, jossa sähkö johdetaan vesialtaan läpi. Linnut roikkuvat jaloistaan kattoradalla, jota pitkin ne ohjataan vesialtaalle. Kun linnun pää uppoaa veteen, kulkee sähkövirta koko kehon läpi. Kallon läpi aivoihin kulkeva virta aiheuttaa epilepsiatyyppisen kohtauksen (Woolley ym. 1986). Tajunnan menetyksen mittarina ei voida kuitenkaan pitää epilepsiatyyppisen kohtauksen esiintymistä, sillä hermoimpulssien siirtyminen sähkötainnutuksen vaikutuksesta voi katketa ilman sitäkin (Gregory ja Wotton 1989). Sähkötainnutus voidaan suorittaa myös ilman vettä, jolloin sähkövirta johdetaan elektrodeilla suoraan linnun päähän, niin että elektrodit asetetaan pään ylä- ja alapuolelle. Menetelmän etuna vesiallasmenetelmään nähden on, ettei lintujen tarvitse roikkua jaloistaan epäluonnollisessa ja kivuliaassa asennossa pää alaspäin. Taintuminen ei kuitenkaan tapahdu saman tien, kuten vesiallasmenetelmässä (Gregory ja Wotton 1990a). Kranenin ym. (1996) mukaan sähkösaksilla tapahtuva tainnutus aiheutti enemmän kouristelua, mutta vähemmän verenpurkauksia, kuin vesialtaan avulla tapahtuva tainnutus. Sähkösaksilla tapahtuva tainnutus on kuitenkin hitaampi ja hankalampi toteuttaa teollisessa mittakaavassa, ja sitä on



käytetty erityisesti pienteurastamoissa. Gregory ja Wotton (1991b) havaitsivat sen olevan vesiallasmenetelmää tehokkaampi aiheuttamaan nopean häiriön aivotoiminnassa.

Eläinten tietoisuus perustuu paljon aivoissa, erityisesti talamuksessa ja aivokuoressa, olevien neuroneiden depolarisoituneeseen tilaan (Raj ja Tserveni-Gousi 2000). Sähkötaimnutuksen vaikutuksesta vapautuvat, toimintaa kiihdyttävät (eksitatoriset) välittäjäaineet, glutamiini- ja aspariinihappo, häiritsevät tätä depolarisoitunutta tilaa, jolloin seuraa tajuttomuus. Toinen vaikuttava välittäjäainejärjestelmä on toimintaa hidastava (inhibitorinen) gamma-aminobutyryihappo (GABA). Cookin ym. (1992) mukaan sähkötaimnutuksen vaikutuksesta eksitatoristen välittäjäaineiden toiminta kiihtyy, kun taas GABA-järjestelmän aktiivisuus vähenee. Siipikarjalla hermosolut ovat vastaavia kuin nisäkkäillä, mutta nisäkkäistä poiketen ne sijaitsevat pintaosien sijaan syvällä aivopuoliskoissa (Raj ja Tserveni-Gousi 2000). Cook ym. (1992) totesivat myös, että sähkötaimnutus saattaa aiheuttaa samanlaisen tilan kuin stressin aikaansaama analgesia. Analgesialla tarkoitetaan tunnottomuutta kivulle, ja se aiheutuu joko opioidien tai muiden, ei-opioidisten, aineiden välityksellä (Terman ym. 1984).

Sähkötaimnutus on nopea ja halpa menetelmä, mutta sitä edeltävät käsittelyvaiheet ovat haitallisia siipikarjan hyvinvoinnin ja lihan laadun kannalta. Esimerkiksi luunmurtumien todettiin olevan yleisempiä käytettäessä sähkötaimnutusta kuin mekaanista taimnutusta (Göksoy ym. 1999) tai kaasutaimnutusta (Raj ym. 1992). Lintujen ripustaminen jaloista kattoradalle on varmasti linnuille pelottavaa ja aiheuttaa stressiä, mutta ripustamisen on todettu tuottavan linnuille myös kipua (Gentle ja Tilston 2000). Lisäksi linnut saavat sähkötaimnutuksessa usein kivuliaita sähköiskuja, kun niiden siivet koskettavat vesialtaaseen ennen taintumista. Koska kalkkunoilla siivet roikkuvat sähkötaimnutuksessa niiden ison koon vuoksi pään alapuolella, kalkkunat ovat erityisen alttiita tällaisille sähköiskuille. Näiden tekijöiden vuoksi sähkötaimnutukselle on pyritty löytämään hyvinvoinnin kannalta parempia vaihtoehtoja. Sähkötaimnutuksen aikana lintuja pystytään rauhoittamaan muun muassa käyttämällä hämärää valaistusta ja riippumavaiheessa rintatukea (Jones ym. 1998). Rintatuella tarkoitetaan esimerkiksi muovista valmistettua verhoa, joka ulottuu koko linnun pituudelta ja jota vasten linnun rinta lepää. Jonesin ym. (1998) mukaan lintujen rauhallisuus rintatuen vaikutuksesta johtuu siitä, että linnut rauhoittuvat, kun niiden rintaan kosketaan, sekä siitä, että kova rintatuki estää jossakin määrin fyysisesti lintujen pyristelyä.

Papinaho ym. (1995) tutkivat sähkövirran suuruuden vaikutusta teurastuksen jälkeiseen metaboliaan katkaisemalla hermot osasta broilereiden rintalihaksista ennen teurastusta, jolloin linnuille tyypillisen siipien räpyttelyn ja muun liikehdinnän vaikutukset tuloksiin saatiin poistetuiksi. Koska linnuilla, joiden rintalihaksista hermot oli katkaistu, laktaattipitoisuus oli huomattavasti matalampi ja pH korkeampi 15 minuuttia teurastuksen jälkeen, voitiin päätellä, ettei sähkötaimnutuksen virralla ole suoraa vaikutusta teurastuksen jälkeisiin biokemiallisiin muutoksiin. Sähkötaimnutuksen haitalliset hyvinvointi- ja laatuvaikutukset liittyvät näin ollen nimenomaan käsittelyvaiheiden aiheuttamaan pelkoon, kipuun ja stressiin. Toisaalta Papinahon ym. (1995) tutkimuksessa fyysisen rasituksen aiheuttaman glykolyysin lisäksi hermojen katkaisu aiheutti myös sen, ettei sähkövirta voinut vaikuttaa lihaksissa tapahtuviin muutoksiin hermoston välityksellä, vaan ainoastaan suoraan lihaksiin (Raj 1999).

Sähkötaimnutus aiheuttaa siipikarjanlihaan veren purkaumia, joita on kuitenkin saatu vähennetyksi käyttämällä perinteisten 50 ja 60 Hz taajuuksien sijaan suuritaajuisempaa sähköä ( $\geq 450$  Hz) (Gregory 2005). Hillebrand ym. (1996) havaitsivat taajuuden nostamisen jo 50 Hz:stä 200 Hz:iin vähentävän verenpurkaumien määrää. Mouchonierèn ym. (1999) mukaan suurilla taajuuksilla myös sydänpysähdysten määrä kalkkunoilla väheni ja verenlaskun nopeus ja määrä kasvoivat, mikä vaikutti positiivisesti ruhojen laatuun. He havaitsivat kuitenkin, että taajuuden kasvaessa linnut palasivat nopeammin tajuihinsa. Tutkimuksissa käytettiin 150 mA:n sähkövirtaa. Suomessa kanoilla sekä broilereilla on käytettävä vähintään 120 mA:n ja kalkkunoilla vähintään 150 mA:n virran voimakkuutta, kun käytetään 50 Hz:n sinimuotoista vaihtovirtaa (Maa- ja metsätalousministeriön päätös nro 23/EEO/1997).

Gregoryn ja Wottonin (1990b) mukaan vesiallasmenetelmää käytettäessä broilereilla tarvittiin ainakin 105 mA:n virta, jotta tajuttomuus kesti yli 52 sekuntia, jonka katsottiin olevan riittävä aika tainnutuksen ja verenlaskun välillä. Samassa tutkimuksessa todettiin, ettei alle 75 mA:n virtaa tulisi koskaan käyttää, sillä tainnutus ei tällöin onnistunut kaikkien broilereiden kohdalla. Yli 120 mA:n virtaa käytettäessä kaikilta broilereilta katosivat somatosensoriset herätepotentiaalit (SEP), jolloin tainnutuksen katsottiin varmasti onnistuneen. Gregoryn ja Wilkinsin (1989a) mukaan broilereilla esiintyi eniten verenpurkaumia käytettäessä 130–190 mA:n sähkövirtoja. Suositeltava virtamäärä onkin vähintään 120 mA:a broilereiden kohdalla käytettäessä 50 Hz:n sinimuotoista tasavirtaa, jolloin Gregoryn ja Wottonin (1990b) mukaan kaikilta linnuilta katoavat SEP:t. Gregory ja

Wotton (1991a) havaitsivat myös 350 Hz:n vaihtovirtaa käytettäessä 120 mA:n olevan sopiva virtamäärä broilereilla. Gregory ja Wilkins (1989b) totesivat 150 mA:n virran olevan kalkkunoiden hyvinvoinnin kannalta suositeltava virtamäärä. Kyseisellä virran voimakkuudella kammiovärinä havaittiin 97 %:lla kalkkunoista. Kammiovärinän aikaansaanti on suositeltavaa, sillä tällöin linnut kokevat aivokuoleman eivätkä voi palata enää tajuihinsa ennen verenlaskua (Gregory ja Wotton 1986). Gregory ja Wilkins (1989b) totesivat kammiovärinän aiheuttavan verenpurkauksia, kun taas Weise ym. (1987) eivät havainneet kammiovärinän ja verenpurkauksien välillä olevan yhteyttä. Broilereiden kohdalla kammiovärinän esiintyvyyden todettiin kasvavan huomattavasti 60 ja 90 mA:n välillä (Gregory ja Wotton 1990b). Gregoryn ja Wottonin (1990a) mukaan tainnuttaessa broilereita sähköksillä vaadittiin 300–400 mA:n virta, jotta tainnutus oli tehokas.

Papinahon ja Fletcherin (1995, 1996) sekä Papinahon ym. (1995) mukaan 15 minuutin kuluttua teurastuksesta pH oli korkeampi käytettäessä tainnutuksessa 100–150 mA:n virtaa kuin käytettäessä 50 mA:n virtaa. Papinaho ym. (1995) eivät havainneet kuitenkaan käytetyn virran suuruudella olevan merkitystä lihan mureuden kannalta. Papinahon ja Fletcherin (1995) mukaan virran voimakkuudella ei niin ikään ollut vaikutusta väriin. Craig ja Fletcher (1997) totesivat lisäksi, ettei broilerinlihan värissä ollut eroja tainnuttaessa broilereita suurella vakiovirralla tai matalalla vakiojännitteellä.

Gregoryn ja Wottonin (1991b) mukaan kalkkunat, joilla ei havaittu kammiovärinää, palasivat tajuihinsa 60 sekunnin kuluessa tainnutuksesta, osa jopa 15 sekunnin jälkeen. He totesivatkin kalkkunoiden sähkötainnutuksessa olevan vaarana, että linnut saattavat palata tajuihinsa ennen verenlaskua. Tämän vuoksi kammiovärinän aikaansaaminen on suositeltavaa kalkkunoiden kohdalla. Vesialtaan avulla tapahtuva sähkötainnutus ei näin ollen ole yhtä tehokas kalkkunoilla kuin se on broilereilla. Gregory ja Wotton (1991b) kuitenkin totesivat sen olevan sitä tehokkaampi, mitä suurempaa virtaa käytettiin. He totesivat myös vain päähän kohdistuvan sähkötainnutuksen olevan vesiallasmenetelmää tehokkaampi kalkkunoiden kohdalla.

Sydänpysähdyksen tuottaminen ei ole välttämätöntä, mutta sillä pystytään takaamaan, ettei eläin palaa tajuihinsa tainnutuksen ja kuoleman välillä (Raj ja Tserverni-Gousi 2000). Toisaalta suurten sähkövirtojen on todettu aiheuttavan lihan laatua heikentäviä verenpurkauksia sekä kalkkunoiden että broilereiden lihaksissa (Gregory ja Wilkins 1989b,c). Verenpurkaukset olivat yleisempiä isoilla kuin pienillä linnuilla (Gregory ja

Wilkins 1989b). Gregory ja Wilkinsin (1989c) mukaan kammiovärinän myötä lisääntyneet verenpurkaumat johtuivat siitä, että veren lasku tapahtui kammiovärinän vaikutuksesta hitaammin. Broilereilla esiintyi lisäksi luunmurtumia suuria sähkövirtoja käytettäessä. Papinahon ja Fletcherin (1996) mukaan *rigor mortiksen* muodostuminen viivästyi noin kuusi tuntia käytettäessä suuria virtoja verrattuna tainnuttamattomiin tai pienillä virroilla tainnutettuihin broilereihin.

Sparrey ym. (1993) tutkivat sähkövirran suuruutta eri linnuilla ja havaitsivat virran suuruuden vaihtelevan merkittävästi yksilöiden välillä. Tästä seurasi, että osaan linnuista ei kohdistunut riittävää sähkövirtaa, kun taas osassa havaittiin ruhovaurioita liian voimakkaan virran vaikutuksesta. Ongelma ilmeni nimenomaan vakiojännitettä käytettäessä. Yksittäiseen lintuun kohdistuvan virran määrä on ratkaiseva tekijä sekä tainnutuksen tehokkuuden että ruhon ja lihan laadun kannalta, minkä vuoksi vakiovirran käyttö olisi parempi vaihtoehto. Linnut toimivat sähkötainnutuksessa vastuksina, ja eri yksilöiden muodostama vastus vaihtelee muun muassa linnun koon mukaan (taulukko 2). Vesialtaaseen kohdistetulla jännitteellä ei niinkään ole väliä (Bilgili 1992; Sparrey 1993).

Taulukko 2. Lintujen tehokas impedanssi ja sähkövirta, joka aiheuttaa sydänpysähdyksen 90 %:lle linnuista (Sparrey 1993).

	Lintujen impedanssi, $\Omega$	Virta, mA
Broilerit	1000–2600	120
Kanat	1900–7000	120
Kalkkunat	800–5700	150

Kun sähkötainnutukseen käytettiin 21–117 mA:n virtoja, havaittiin epilepsiatyyppisen kohtauksen esiintymisen kasvavan altiestettaessa linnut virralle yli kahden sekunnin ajan (Gregory ja Wotton 1987, 1989). Altistamisajalla ei ollut kuitenkaan vaikutusta siihen, kuinka nopeasti linnut palasivat tajuihinsa (Gregory ja Wotton 1989). Altistamisajan vaikutuksesta teurastuksen jälkeiseen pH:n laskuun ei ole saatu yksiselitteistä vastausta (Raj 1999).

Alvaradon ym. (2007) mukaan lihan rasvojen hapettuminen oli hitaampaa sähkötaimnutuksen jälkeen kuin hiilidioksiditainnutuksen tai mekaanisen kaulan katkaisun jälkeen. Tämän oletettiin johtuvan sähkötaimnutuksen aiheuttamasta tehokkaasta veren poistumisesta.

### **2.2.2 Kaasutainnutus**

Kaasutainnutuksen ominaisuudet. Kaasutainnutus voidaan suorittaa ilman, että lintuja tarvitsee poistaa kuljetushäkeistään. Koska myös tajuissaan olevien lintujen ripustamiselta vältytään, ei kaasutainnutusta edellä samanlaisia, pelkoa aiheuttavia käsittelyvaiheita kuin sähkötaimnutusta edeltää. Tainnutus tapahtuu kuitenkin sähkötaimnutusta ja mekaanista tainnutusta hitaammin, jolloin itse tainnutustapahtuma, toisten lintujen taintumisen näkeminen sekä hengitetty kaasu saattavat aiheuttaa linnuille stressiä.

Kaasuseoksia käytettäessä on otettava huomioon kaasujen erilaisista tiheyksistä aiheutuva vajoaminen sekä lintujen liikehdinnästä aiheutuva jatkuvasti muuttuva kaasutila. Kun linnut menevät tainnutuskammioon kuljetushäkeissään, ei joukosta pystytä välttämättä havaitsemaan kuljetuksen aikana kuolleita yksilöitä, jotka esimerkiksi sähkötaimnutuksessa huomataan helposti ripustusvaiheessa (Barton Gade 2001b). Mikäli kaasutainnutus tapahtuu kuljetushäkeissä, joissa on useita lintuja samassa häkissä, on tainnutuksen jälkeen pystyttävä nopeasti tyhjentämään häkit, jotta veri saadaan lasketuksi ennen kuin linnut palaavat tajuihinsa (Raj ym. 1994). Jos kaasutus aiheuttaa sydänpysähdyksen, ei tajunnan palautuminen luonnollisestikaan muodosta ongelmaa, mutta tällöin veren poistuminen elimistöstä saattaa heikentyä. Raj ja Whittington (1990) havaitsivat broilereilla veren poistumisen heikkenevän melko pian tainnutuksen jälkeen. Raj ym. (1994) kuitenkin totesivat, että kaasutainnutuksen jälkeen veri poistui hyvin kalkkunoiden ruhoista vielä 10 minuutin kuluttua tainnutuksesta. Raj ym. (1994) arvelivat toisistaan poikkeavien tulosten johtuvan lintujen kokoeroista aiheutuvista erilaisista jäähtymisnopeuksista: isokokoisella kalkkunalla ruhon lämpötila oli 40 °C vielä 20 minuuttia kuoleman jälkeen. Myös eri kaasuseokset saattavat vaikuttaa eri tavoin.

Hiilidioksidi sekä hiilidioksidin ja hapen seos. Hiilidioksidin tainnuttava vaikutus perustuu hermojen ja selkäydinnesteen pH:n laskuun, jolloin hermoimpulssien siirtyminen hermosolusta toiseen estyy (Becerril-Herrera ym. 2009). Rodríguez ym. (2008) mukaan hiilidioksidin tainnuttava vaikutus perustuu samanaikaisesti myös hapenpuutteeseen. Hiilidioksidi soveltuu hyvin teolliseen käyttöön, koska se on halpaa ilmakehässä olevan suuren pitoisuutensa vuoksi ja on ilmaa raskaampi kaasu. Hiilidioksidin tiedetään kuitenkin olevan happamuutensa vuoksi epämiellyttävä hengittää suurina pitoisuuksina (Raj ja Tserveni-Gousi 2000). Lisäksi siipikarjalla on keuhkoissa hiilidioksidille herkkiä reseptoreita, joita ei ole havaittu nisäkkäiden keuhkoissa (Scheid 1982).

Sekä siipikarjalla (Raj 1996) että sioilla (Raj ja Gregory 1995) tehdyt tutkimukset osoittivat eläinten välttelevän tilaa, jossa hiilidioksidipitoisuus oli 90 %. Tämä on kuitenkin jo melko suuri pitoisuus. Hiilidioksidin aiheuttamasta stressistä antoi viitteitä myös McKeeganin ym. (2007b) mittaamat sykearvot broilereilla. Hiilidioksidin ja typen seosta käytettäessä syke kohosi alussa jopa yli 400 lyönnin/minuutti, kun muilla kaasuseoksilla se oli selvästi alempi. McKeeganin (2004) mukaan kipureseptorien aktivoitumiseen tarvittiin noin 50 %:n hiilidioksidipitoisuus. Gerritzenin ym. (2000) tutkimuksessa suurin käytetty hiilidioksidipitoisuus oli 60 % eikä kaasutilan välttelemisessä havaittu eroja muihin käytettyihin kaasuseoksiin verrattuna. Hiilidioksiditainnutuksen havaittiin kuitenkin aiheuttavan pään puistelua, ääntelyä ja hengen haukkomista (Gerritzen ym. 2000; McKeegan ym. 2007b; Hänsch ym. 2009a). Toisaalta Gerritzenin ym. (2000) tutkimuksessa myös kontrollina käytetty ilmakehä aiheutti pään ravistelua, joten se saattoi johtua ennemminkin pelkotilasta kuin kaasun aiheuttamasta epämiellyttävyyden tunteesta. Myös Raj ja Gregory (1991) totesivat, että pelko yksin jäämisestä oli tainnutuskaasujen epämiellyttävyyttä merkittävämpi tekijä. Gerritzen ym. (2004) totesivat jo 15–20 %:n hiilidioksidipitoisuuden riittävän broilereiden tainnuttamiseen. Gerritzenin ym. (2006) mukaan asteittainen hiilidioksidipitoisuuden nostaminen oli lintujen hyvinvoinnin kannalta parempi vaihtoehto kuin altistaminen suoraan korkealle hiilidioksidipitoisuudelle. Toisaalta korkea hiilidioksidipitoisuus tainnuttaa jo 17–30 sekunnissa, kun asteittaisessa (5 tilavuus-%/min) pitoisuuden nostamisessa rauhallinen tajunnanmenetys tapahtui noin neljässä minuutissa. Gerritzenin ym. (2004; 2006) tutkimukset koskivat kuitenkin lintujen massalopetusmenetelmiä, ja teurastustarkoitusta varten esimerkiksi edellä mainittua asteittaista hiilidioksidin nostamista olisi vaikea soveltaa.

Gerritzen ym. (2000) havaitsivat hiilidioksidin aiheuttavan runsasta kouristelua. Raj'n ym. (1990a) mukaan hiilidioksiditainnutuksessa 45 sekunnin kuluttua kaasulle altistamisesta alkoi klooninen kouristeluvaihe, jota seurasi tooninen vaihe joko suoraan tai lyhyen rauhallisen vaiheen jälkeen. Kloonisessa vaiheessa tapahtui siipien räpyttelyä, kun taas toonisessa vaiheessa kanat jäykistyivät. Klooninen vaihe kesti 15 sekuntia ja tooninen vaihe 25 sekuntia. Hänsch ym. (2009a) totesivat siipien räpyttelyn tapahtuvan kalkkunoiden ollessa tajuissaan ja korostivat, että tainnutuksen alkuvaihetta tulisi kehittää eläinten hyvinvoinnin kannalta paremmaksi. Gerritzenin ym. (2000) sekä Raj'n ym. (1990b) havaitsema kouristelu tapahtui sen sijaan vasta lintujen menetettyä tajuntansa, joten kouristelulla oli suurempi merkitys lihan laadun kuin eläinten hyvinvoinnin kannalta.

Raj'n ja Gregoryyn (1994) mukaan taintumiseen kului 20, 15 ja 21 sekuntia ilman hiilidioksidipitoisuuden ollessa 49, 65 ja 86 prosenttia. Hiilidioksidipitoisuudella ei näin ollen näyttäisi olevan vaikutusta tainnutusaikaan. Hoenderkenin ym. (1994) ja Lamboojin ym. (1999a) mukaan happipitoisuuden tai kosteuden nostaminen lievensi hiilidioksidin negatiivisia vaikutuksia. Myös Gerritzen ym. (2000) totesivat voimakkaiden hengenhaukkomisten olevan vähäisiä, kun tainnutukseen käytettiin kaasuseosta, jossa oli 40 % hiilidioksidia ja 30 % happea ilmassa. Lisäksi kouristelujen määrä väheni, eivätkä ne olleet yhtä rajuja kuin 60-prosenttisella hiilidioksidiseoksella tainnutettaessa.

Zeller ym. (1988) totesivat, että hiilidioksidilla tainnuttamisen ja tappamisen välillä ei ole eroa lihan laadun suhteen. Tappaminen saattaisikin olla lintujen hyvinvoinnin kannalta parempi vaihtoehto, koska tällöin linnut eivät voi palata tajuihinsa. Zeller ym. (1988) totesivat kuolleisuuden kasvavan kasvatettaessa hiilidioksidikonsentraatiota tai pidentämällä altistusaikaa.

Raj'n ym. (1990b) mukaan hiilidioksidilla tainnutettujen broilereiden liha oli mureampaa ja teurastuksen jälkeinen pH:n lasku hieman nopeampaa ensimmäisten 15 minuutin aikana kuin sähköllä tainnutettujen (taulukko 3). Argon- ja typpitainnutukseen verrattuna hiilidioksidilla tainnutetuilla broilereilla pH:n lasku oli sen sijaan hitaampaa (Raj ym. 1990b; Poole ja Fletcher 1995).

Inertit kaasut sekä inerttien kaasujen ja hiilidioksidin seos. Inertit kaasut ovat mauttomia ja hajuttomia kaasuja, jotka syrjäyttävät hapen verestä. Niiden tainnuttava vaikutus perustuu näin ollen hapenpuutteeseen eli anoksiaan. Typpi ja argon ovat tällaisia inerttejä kaasuja, jotka ovat potentiaalisia vaihtoehtoja siipikarjateollisuudessa käytettäviksi tainnutuskaasuiksi. Argon on tyypeä kalliimpi kaasu, mutta sen etu tyypeen nähden on, että se on ilmaa raskaampi ja soveltuu näin ollen paremmin teollisiin tainnutuslaitteisiin. Myös ksenon ja krypton ovat inerttejä kaasuja, jotka ominaisuuksiltaan sopisivat kaasutainnutuksessa käytettäväksi. Ne ovat kuitenkin liian kalliita tähän tarkoitukseen.

Raj'n ja Gregory'n (1993) mukaan kalkkunoiden aivot sietävät anoksisia kaasuja paremmin kuin broilereiden tai kanojen aivot. He havaitsivat somatosensoristen herätepotentiaalien (SEP) katoavan 22 sekunnissa kalkkunoilla, kun aiemmassa kanoilla tehdyssä tutkimuksessa (Raj ym. 1992) SEP:t katosivat jo 10 sekunnissa.

Raj'n (1996) mukaan kalkkunat eivät vältelleet argonille altistumista. Minkäänlaisia viitteitä argonin tuottamista epämiellyttävistä aistimuksista ei niin ikään ollut havaittavissa. Ennen tajunnan menetystä havaittiin kuitenkin kevyttä pään puistelua. Abeysinghen ym. (2007) tutkimus tukee tätä, sillä broilereilla ei havaittu argonilla tainnutettaessa hengen haukkomista. He havaitsivat argonilla tainnutettaessa kuitenkin enemmän pään ravistelua, potkimista ja muita nykiviä liikkeitä kuin argonin ja hiilidioksidin seosta tai kaksivaiheista tainnutusta käytettäessä. Myös Gerritzen ym. (2000) totesivat argonin aiheuttavan runsasta kouristelua. Molempien tutkimusten tulokset kuitenkin viittaisivat siihen, että nykivät liikkeet olisivat refleksinomaisia eivätkä tahdonalaisia. McKeeganin ym. (2007a) mukaan broilereilla havaittu siipien räpyttely tapahtui kuitenkin ennen tajunnan menetystä. Vaikka argon vaikuttaisikin olevan suotuisa tainnutuskaasu hyvinvoinnin kannalta, niin myös reflekseihin perustuvissa liikkeissä kuluu ATP:a, ja lihan laadun kannalta asiaa on tarkasteltava näin ollen erikseen.



Taulukko 3. Eri tainnutusmenetelmien vaikutus broilerinlihan laatuun (Raj ym. 1990b).

	Hiilidioksidi (47 %)	Argon (90 %)	Sähkö (50 Hz, 107 mA AC)	tainnutusme- netelmän merkitsevyys
pH 20 min post mortem	6,37 <sup>b</sup>	5,91 <sup>a</sup>	6,56 <sup>c</sup>	p<0,001
pH 24 h post mortem	5,77 <sup>a</sup>	5,81 <sup>b</sup>	5,83 <sup>b</sup>	p<0,05
pH:n laskun nopeus (20 min–24 h)	0,60 <sup>b</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,73 <sup>c</sup>	p<0,001
Keittotappio (g/kg)	262,5	260,7	259,9	p>0,05
Murtumisvoima (kg)	2,02 <sup>b</sup>	1,80 <sup>a</sup>	2,19 <sup>c</sup>	p<0,05
Vaaleus L*	54,77 <sup>b</sup>	52,74 <sup>a</sup>	54,75 <sup>b</sup>	p<0,05
Punaisuus a*	1,49 <sup>a</sup>	2,06 <sup>c</sup>	1,79 <sup>b</sup>	p<0,01
Keltaisuus b*	-0,25	-0,44	-0,31	p>0,05

Keittotappio määritettiin koko ruhosta, muut ominaisuudet *p. major* -lihaksesta.

<sup>a,b</sup> Riveillä eri kirjaimin merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan (p<0,05).

Teurastuksen jälkeinen pH:n lasku oli hitaampaa, kun altistus anoksiselle kaasulle tapahtui vaiheittain (Poole ja Fletcher 1995) kuin tapauksessa, jossa altistus tapahtui nopeasti (Raj ym. 1990b). Taulukossa 3 on esitetty Raj'n ym. (1990b) tutkimustuloksia hiilidioksidi-, argon- ja sähkötainnutuksen vaikutuksesta broilerinlihan laatuun. Argonilla tainnutettaessa pH:n lasku oli nopeinta. Raj ja Gregory (1990) ja Raj ym. (1991) saivat vastaavia tuloksia. *Rigor mortis* muodostui jo 20 minuutin kuluttua argonilla tainnutettaessa, kun pH oli laskenut arvoon 5,8–5,9 (Raj ym. 1990b). Myös kalkkunoilla *rigor mortiksen* todettiin muodostuvan 20 minuutin kuluttua teurastuksesta argontainnutuksen seurauksena (Raj 1994). Tainnutusmenetelmällä ei sen sijaan havaittu olevan vaikutusta keittotappioon (Raj ym. 1990b). Argonilla tainnutettaessa liha oli mureampaa kuin sähköllä tai hiilidioksidilla tainnutettaessa.

Abeysinghen ym. (2007) mukaan *rigor mortis* muodostui kuitenkin vasta 5–7 tunnin kuluttua teurastuksesta. Abeysinghe ym. (2007) tarkastelivat *rigor mortiksen* syntymistä leikkausvoiman avulla, kun taas Raj ym. (1990b) arvioivat sen muodostumisen pH-arvojen avulla. Tutkimuksissa käytettiin samanrotuisia broilereita, ja tainnutus- ja teurastuskäsittelyt vastasivat toisiaan. Raj'n ym. (1990b) tutkimuksessa jäähditys oli nopeampaa. Broilereiden painoja ja teurastusikiä tarkasteltaessa havaittiin, että Abeysinghen ym. (2007) tutkimuksessa käytetyt broilerit olivat kasvaneet huomattavasti nopeammin kuin Raj'n ym. (1990b) tutkimuksessa käytetyt broilerit, kun 35 päivän ikäiset broilerit painoivat noin 1,9 kilogrammaa. Vastaavasti Raj'n ym. (1990b) tutkimuksessa

käytettiin 54 päivän sekä 59 päivän ikäisiä broilereita, joiden teuraspainot olivat 1–2,3 kilogrammaa. Kasvunopeus voisi olla yksi selittävä tekijä erilaisiin pH:n laskun nopeuksiin, sillä Debutin ym. (2003) ja Berrin ym. (2005) mukaan pH:n lasku oli hitaampaa nopeasti kasvaneilla broilereilla. Muuttujia on kuitenkin paljon, kun kyseessä on kaksi erillistä tutkimusta, ja tuloksissa esiintyvien erojen syitä on näin ollen vaikea arvioida.

Raj ja Gregory (1991) sekä Raj ym. (1991; 1992) pohtivat argontainnutuksessa tapahtuvan nopean pH:n laskun johtuvan voimakkaasta siipien räpyttelystä. Gaultin ym. (2000) mukaan siipien räpyttelyllä ei sen sijaan ollut vaikutusta pH:n laskun nopeuteen. Raj ym. (1990b) totesivat, ettei PSE-lihaisuutta esiintynyt nopeasta pH:n laskusta huolimatta, kun broilerit tainnutettiin argonilla. Liha oli esimerkiksi tummempaa argontainnutuksen jälkeen kuin sähkö- tai hiilidioksiditainnutuksen jälkeen eikä vedensidontakyvyn todettu heikentyneen (taulukko 3). Raj ym. (1991) eivät niin ikään havainneet rigor-supistumisen muodostavan ongelmaa argonilla tainnutettaessa, vaikka olosuhteet olivat siihen otolliset. Argontainnutus mahdollistaakin todennäköisesti ruhon aikaisemman leikkuun ilman rigor- tai kylmäsupistumisvaaraa. Kun rintafilee irrotettiin ruhosta kaksi tuntia teurastuksen jälkeen, oli murtumisvoima 2,97 kg (Raj ym. 1991), kun sen sähkötainnutuksessa havaittiin olevan 6,65 kg leikkausajankohdan ollessa 2,5 tuntia teurastuksesta (Jones ja Grey 1989). Toisaalta Raj ym. (1990b) sekä Raj ja Gregory (1991) eivät havainneet lihan mureudessa eroja vuorokauden jälkeen argonilla ja sähköllä tainnutettujen broilereiden välillä, mikäli rintafileet leikattiin irti ruhosta 21 tunnin kuluttua teurastuksesta. Argontainnutus tekee nopean pH:n laskun vuoksi myös tehokkaan jäähtymisen mahdolliseksi ilman kylmäsupistumisen vaaraa.

Argontainnutuksen osalta erityisen mielenkiintoista on, ettei nopealla pH:n laskulla näyttäisi olevan lihan laatua heikentävää vaikutusta. Erikoista on myös nopea pH:n lasku, sillä argon ei vaikuttaisi aiheuttavan linnuille minkäänlaista stressiä. Nopeaa pH:n laskua ei voida täysin selittää Raj'n ja Gregory'n (1991) sekä Raj'n ym. (1991; 1992) havaitsemilla, typen aiheuttamilla voimakkailla siipien räpyttelyillä, sillä muissakin tainnutusmenetelmissä on havaittu siipien räpyttelyä ilman yhtä nopeaa pH:n laskua. Argon saattaakin solutasolla käynnistää ATP:n hajoamisen ja näin ollen kiihdyttää anaerobista glykolyysiä (Raj 1999).

Poole ja Fletcher (1995) totesivat typen aiheuttavan yhtä nopean pH:n laskun teurastuksen jälkeen kuin argon, mutta Raj'n ym. (1990b) tuloksiin verrattuna pH:n lasku oli

huomattavasti hitaampaa. Kun teurastuksesta oli kulunut 15 minuuttia, pH oli laskenut arvoon 6,40 argonia käytettäessä ja arvoon 6,44 typpeä käytettäessä (Poole ja Fletcher 1995). Samassa tutkimuksessa hiilidioksidin todettiin aiheuttavan merkittävästi hitaamman pH:n laskun, kun pH-arvo 15 minuutin kuluttua teurastuksesta oli 6,55.

Puhtaiden anoksisten kaasujen lisäksi on tutkittu myös seoksia, joissa anoksisten kaasujen sekaan on lisätty eri määriä hiilidioksidia. Tällöin puhutaan hyperkapnisesta anoksiasta. Hyperkapnisanoksisten kaasuseosten havaittiin hidastavan teurastuksen jälkeistä pH:n laskua verrattuna puhtaisiin anoksisiin kaasuihin (Raj ym. 1992). Hoenin ja Lankhaarin (1999) mukaan argonin ja hiilidioksidin seosta käytettäessä teurastuksen jälkeinen glykolyysi oli kuitenkin nopeampaa ja valumahävikki suurempi kuin hiilidioksidin ja hapen seosta käytettäessä. Myös taintumisen on havaittu olevan nopeampaa sekä kalkkunoilla että broilereilla, kun puhtaan anoksisen kaasun sijaan on käytetty anoksisen kaasun ja hiilidioksidin seosta (Raj ja Gregory 1993; Raj ja Gregory 1994; Gerritzen ym. 2000; Abeysinghe ym. 2007).

Raj (1996) totesi välttämiskokeiden perusteella argonin tai argonin ja hiilidioksidin seoksen olevan kalkkunoille miellyttävämpi kaasu kuin hiilidioksidi, ja McKeegan ym. (2007b) totesivat hyperkapnisen anoksian todennäköisesti olevan anoksiaa parempi vaihtoehto, sillä kouristelu ei ollut sitä käytettäessä yhtä voimakasta. Vaikka hyperkapnisessa anoksiassa esiintyi hengen haukkomista, ei sen ajateltu olevan broilereille kovin tuskaista, koska broilereiden oli havaittu jatkavan hengen haukkomisen yhteydessä syömistä (McKeegan ym. 2006). Gerritzen ym. (2000) havaitsivat argonin (70 %) ja hiilidioksidin (30 %) seoksen aiheuttavan myös päänrivistelua. Toisaalta Hänsh ym. (2009b) totesivat, että argonin lisääminen tainnutuksen alkuvaiheeseen ei ollut kalkkunoiden hyvinvoinnin kannalta parempi vaihtoehto kuin pelkän hiilidioksidin käyttö. Tutkimuksessa havaittiin argonin ja hiilidioksidin seoksen johtavan nopeampaan pH:n laskuun sekä korkeampiin adrenaliini-, noradrenaliini-, kortikosteroni- ja laktaattipitoisuuksiin.

Hapteen sisältävät kaasuseokset. Abeysinghen ym. (2007) mukaan kaksivaiheinen menetelmä, jossa ensin on tainnuttava anestesian vaihe (40 % CO<sub>2</sub>, 30 % O<sub>2</sub>, 30 % N<sub>2</sub>) ja sen jälkeen tappava eutanasiavaihe korkealla hiilidioksidipitoisuudella (80 %), saattaisi olla hyvinvoinnin kannalta parempi vaihtoehto kuin pelkän anoksisen kaasun, argonin tai typen, käyttö. McKeegan ym. (2007a) mukaan kaksivaiheista tainnutusta käytettäessä

rintalihaksen pH oli heti teurastuksen jälkeen merkittävästi korkeampi kuin argonin ja hiilidioksidin seoksella tainnutettaessa (taulukko 4). Samoin loppu-pH:n saavuttamiseen kului keskimäärin viisi tuntia, kun argonin ja hiilidioksidin seoksella loppu-pH saavutettiin jo noin 15 minuutin kuluttua. Hajonta huomioon ottaen pH ei toisaalta laskenut kumpaakaan kaasuseosta käytettäessä niin alas, että voitaisiin puhua PSE-lihaisuuden riskistä. Samassa tutkimuksessa havaittiin kaksivaiheisessa tainnutuksessa syntyvän vähemmän luunmurtumia, jotka heikentävät lihan laatua. Mikäli argonin ja hiilidioksidin seoksella tainnutettaessa tulleet luunmurtumat syntyivät linnun ollessa vielä tajuihinsa, on kaksivaiheinen tainnutusmenetelmä parempi myös linnun hyvinvoinnin kannalta. Toisaalta Abeysinghen ym. (2007) mukaan tainnutusaika oli merkittävästi pidempi käytettäessä kaksivaiheista tainnutusta (25 s) kuin käytettäessä argonia (14 s) tai argonin ja hiilidioksidin seosta (10 s).

Coenen ym. (2000) tutkivat kaksivaiheista tainnutusta kahdella eri anestesiavaiheen kaasuseoksella. He havaitsivat seoksen, jossa oli 40 % hiilidioksidia, 30 % happea ja 30 % typpeä, olevan parempi vaihtoehto kuin 40 % hiilidioksidia, 15 % happea ja 45 % typpeä sisältävän seoksen. Enemmän happea sisältävä seos näytti tuottavan vähemmän tuskaa broilereille kuin seos, jossa happea oli 15 %. Tajunnan menetys oli lisäksi nopeampaa, kun seos sisälsi enemmän happea. Myös tässä tutkimuksessa eutanasiavaiheessa käytettiin korkeaa hiilidioksidipitoisuutta.

Raj ym. (1998) ja Lambooj ym. (1999a) tutkivat broilereiden tainnuttamista kaasuseoksella, joka sisälsi 40 % hiilidioksidia, 30 % happea ja 30 % typpeä. Kyseisellä kaasuseoksella taintuminen tapahtui hitaammin kuin argonilla tai argonin ja hiilidioksidin seoksella ja linnut palasivat lisäksi nopeammin tajuihinsa.

Taulukko 4. Broilerin rintalihaksen pH:n, leikkausvoiman, varastohävikin ja keittotappion muutokset ajan funktiona eri kaasuilla tainnuttaessa (McKeegan ym. 2007a).

	Aika teurastuksesta, h						Kaasu	
	0,25	1,5	3	5	7	24	$\sigma$	p
Fileen pH								
Ar + CO <sub>2</sub>	6,00	6,04	5,99	5,97	5,98	5,97	0,021	<0,001
CO <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	6,32	6,48	6,38	6,04	5,97	5,95		
Leikkausvoima (t <sub>0</sub> , N), ln								
Ar + CO <sub>2</sub>	-	4,94	4,73	4,28	3,67	2,95	0,043	0,05
CO <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	4,86	4,93	4,53	3,74	3,07		
Leikkausvoima (t <sub>24</sub> , N), ln								
Ar + CO <sub>2</sub>	-	3,95	3,60	3,32	3,05	2,87	0,028	0,002
CO <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	4,14	3,91	3,52	3,18	2,85		
Varastohävikki (%)								
Ar + CO <sub>2</sub>	-	0,55	0,53	0,44	0,40	0,56	0,019	>0,05
CO <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	0,51	0,50	0,49	0,35	0,50		
Keittotappio (%)								
Ar + CO <sub>2</sub>	-	27,4	25,6	25	24,7	24,7	0,455	>0,05
CO <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	26,1	26	24,8	24,9	23,7		

Ar + CO<sub>2</sub>: 60 % Ar, 30 % CO<sub>2</sub> ilmassa, <2 % O<sub>2</sub>

CO<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>: anestesiavaihe 40 % CO<sub>2</sub>, 30 % O<sub>2</sub>, 30 % N<sub>2</sub>, eutanasiavaihe 80 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub>, 15 % N<sub>2</sub>

Anestesiakaasut ja hiilimonoksidi. Anestesiakaasut, kuten ilokaasu ja eteeni, sekä vetysyanidi vaikuttavat hiilidioksidin tavoin suoraan hermostoon. Niiden käyttö tainnutuskaasuina teollisuudessa ei kuitenkaan ole yleistä (Barton Gade ym. 2001a). Heinosen (2008) mukaan anestesiakaasut tainnuttavat nopeasti, mutta voivat olla pistävähajuisia ja limakalvoja ärsyttäviä, ja näin ollen aiheuttaa levottomuutta linnuissa.

Hiilimonoksidi vaikuttaa anoksisten kaasujen tavoin. Se sitoutuu veressä hemoglobiiniin ja aiheuttaa jo 4–6 %:n pitoisuutena hypoksemian eli liian vähäisen happipitoisuuden valtimoveressä, mikä johtaa kuolemaan (Galvin 2005). Koska hiilimonoksidi on hengenvaarallinen jo näin pienissä pitoisuuksissa, sen käyttö tainnutuskaasuna vaatisi äärimmäistä huolellisuutta teurastuksessa työskentelevien ihmisten turvallisuuden vuoksi, eikä se näin ollen ole kovin varteenotettava vaihtoehto lihateollisuudessa käytettäväksi tainnutuskaasuksi. Hiilimonoksidin käyttö sisältää lisäksi räjähdysvaaran, mikäli pitoisuus ylittää 10 % (Raj ym. 2006). Hiilimonoksidi olisi kuitenkin eläinten hyvinvoinnin kannalta hyvä tainnutus-/lopetusmenetelmä, sillä se ei aiheuta eläimille kipua eikä oireita epämukavuudesta, ja lisäksi se tainnuttaa hyvin nopeasti (Heinonen 2008).

### 2.2.3 Mekaaninen tainnutus

Mekaaninen tainnutus voidaan suorittaa usealla eri tavalla. Heinonen (2008) käsitteli kirjallisuuskatsauksessaan muun muassa niskamurtoa, dekapitaatiota, päähän kohdistuvaa iskua ja pulttipistoolitainnutusta hyvinvoinnin näkökulmasta.

Päähän kohdistuva isku aiheuttaa kudosvaurioita, jolloin aivojen toiminta heikkenee lopullisesti. Göksoyn ym. (1999) tutkimuksessa isku päähän tapahtui takaapäin, jolloin linnut eivät nähneet niihin kohdistuvaa iskua. Pulttipistoolitainnutus perustuu joko pultin työntymiseen aivoihin ja sitä kautta aiheuttamalla kudosvaurioita tai päähän kohdistuvan iskun tavoin aivotärähdykseen (Raj ja Tserveni-Gousi 2000). Ajopanosena voidaan käyttää joko tyhjää panosta tai tiivistettyä ilmaa. Dekapitaatiolla tarkoitetaan linnun kaulan katkaisemista giljotiinilla tai muulla teräaseella. Taintuminen ei tapahdu kuitenkaan välittömästi, minkä vuoksi dekapitaatiota käytetään lähinnä lopetukseen muilla tavoin tainnutetuille linnuille (Heinonen 2008). Niskamurto perustuu selkäytimen katkeamiseen, mutta on etenkin isojen lintujen hyvinvoinnin kannalta kyseenalainen menetelmä (Heinonen 2008). Venytysmenetelmässä tajunnan menetys ja kuolema perustuvat hapenpuutteeseen, kun hengitys pysähtyy ja kaulan valtimot ahtautuvat.

Mekaanisesti tainnutetuilla broilereilla todettiin vähemmän verenpurkauksia ja luunmurtumia kuin sähköllä tainnutetuilla (Hillebrand ym. 1996; Göksoy ym. 1999). Toisaalta Göksoyn ym. (1999) mukaan teurastuksen jälkeinen pH:n lasku oli nopeampaa sähköllä tainnutetuilla kuin mekaanisesti tainnutetuilla broilereilla. Nopean pH:n laskun ja siten nopean *rigor mortiksen* muodostumisen katsottiin ehkäisevän kylmäsupistumisen vaaraa ja mahdollistavan aikaisemman ruhonleikkuun.

Hillebrandin ym. (1996) sekä Lambooj'n ym. (1999b) mukaan paineilmaan perustuvat pulttipistoolit olivat lihan laadun kannalta hyvä tainnutusmenetelmä. Pulttipistoolien käyttö siipikarjan tainnutuksessa ei suurissa teurastamoissa ole kuitenkaan järkevää, kun yhden päivän aikana teurastetaan kymmeniä tuhansia lintuja. Lisäksi lintujen pää on pieni, joten iskun kohdistaminen näin pienelle alueelle on hankalaa, jolloin hyvinvointikysymykset nousevat esille. Hillebrandin ym. (1996) mukaan broilereiden kouristelujen voimakkuuteen saattoi vaikuttaa, kumpaan aivopuoliskoon pultti ammuttiin. Tutkimus antoi viitteitä, että vasempaan aivopuoliskoon kohdistuva osuma aiheuttaisi linnuissa vähemmän kouristelua.

## 2.3 Tutkimusmenetelmiä optimaalisen tainnutusmenetelmän löytämiseksi

### 2.3.1 Tainnutusajan määrittäminen

Elektroenkefalografian (EEG) avulla voidaan tutkia eläimen tajuntatilaa. EEG mitataan yleensä aivojen pinnalta, ja sen avulla saadaan tietoa siitä, milloin eläin menettää tajuntansa, ja siitä, kuinka kauan tajuttomuus kestää (Cook ym. 1992). Sähkötainnutus aiheuttaa yleensä siipikarjan EEG:ssa useita piikkejä. Kun tätä seuraa hiljainen vaihe, katsotaan tainnutuksen onnistuneen (Gregory ja Wotton 1989). Myös elektrokoleografiaa (ECoG) on käytetty epilepsiatyyppisen kohtauksen mittaamiseen, mutta Cook ym. (1992) totesivat EEG:n olevan parempi vaihtoehto eläinten hyvinvoinnin kannalta, koska mittaus tapahtuu elimistön ulkopuolelta.

Erityisesti eri kaasutainnutusmenetelmien tutkimisessa on syytä ottaa huomioon taintumiseen kuluva aika, koska tainnutusajoissa voi olla suuriakin eroja. Toisaalta EEG:n antama tieto tainnutuksen kestosta ei vielä anna tietoa eläinten kokemasta kärsimyksestä, sillä nopea tainnutus voi tuottaa enemmän kipua ja stressiä kuin pitkäkestoinen. Gregory ja Wotton (1987) epäilivät EEG:n soveltuvuutta tajuttomuuden mittaamiseen myös sen vuoksi, että hyvin lyhytkestoinen epilepsia-kohtaus voi antaa samanlaisen EEG-käyrän, jolloin linnun tajuttomuudesta ei ole varmuutta. Samassa tutkimuksessa todettiin, etteivät suuret sähkövirrat aiheuttaneet aina epileptistä vaihetta EEG:ssa, vaikka tainnutus todennäköisesti oli onnistunut. Tästä seuraa myös, ettei epilepsian esiintymistä voida välttämättä pitää onnistuneen tainnutuksen mittarina.

Gregory ja Wotton (1989) havaitsivat broilereilla tehdyissä tutkimuksissa, että SEP-vasteiden mittaaminen kertoo enemmän tainnutuksen tehokkuudesta kuin EEG-tutkimukset, sillä sen avulla saatiin suoraan tietoa hermoimpulssien välittymisen katkeamisesta aivoihin. Toisaalta onnistunut tainnutus ei välttämättä vaadi SEP:ien katoamista, sillä niiden ei havaittu katoavan nukutetuilla linnuilla.

Gerritzen ym. (2000), Raj ym. (1992) sekä Raj ja Gregory (1995) katsoivat tutkimuksissaan tajuttomuuden alkaneeksi hetkellä, jolloin lintu ei kyennyt enää istumaan ja jännittämään kaulaansa. Raj'n ym. (1990a) mukaan tajuttomuus voitiin katsoa alkaneeksi hetkellä, jolloin lintu sulki silmänsä, sillä silmien sulkeminen tapahtui keskimäärin neljä sekuntia SEP:ien katoamisen jälkeen. Gerritzen ym. (2006) havaitsivat

sydämen lyöntitiheyden laskeneen 300 lyönnistä minuutissa 225 lyöntiin hetkellä, jolloin kalkkuna menetti asentonsa.

### 2.3.2 Hyvinvoinnin tutkiminen

Siipikarjan käyttäytyminen. Siipikarjan hyvinvointia tainnutuksen aikana on tutkittu paljon käyttäytymisen perusteella. Esimerkiksi hengen haukkomista, pään ravistelua, siipien räpyttelyä ja ulostamista on pidetty merkinä lintujen kokemasta pelosta ja stressistä (Wathes 2005). Pään ravistelua ja hengen haukkomista voidaan pitää merkinä hengen salpautumisesta ja siten kaasun aiheuttamasta epämiellyttävästä tunteesta (Gerritzen ym. 2000). On kuitenkin otettava huomioon, että kyseessä voi olla myös autonomisen hermoston aikaansaamia refleksejä, jolloin tällaista käyttäytymistä ei voida pitää lintujen hyvinvoinnin mittarina. Kun käyttäytymisen tutkiminen yhdistetään EEG-mittauksiin, saadaan enemmän tietoa siitä, tapahtuuko liikehdintä linnun ollessa tajuissaan vai onko liikehdintä refleksinomaista (McKeegan ym. 2007b).

Barton Gaden ym. (2001b) mukaan tainnutuksen laatuvaatimuksia olivat, ettei linnuilla havaittu säännöllistä hengitystä, siivenlyöntejä, ääntelyä tai sarveiskalvorefleksiä eli silmän sulkeutumista sarveiskalvoon koskettaessa. Bilgilin (1992) mukaan tainnutuksen tehokkuutta pystyttiin tarkkailemaan kaulan kaareutumisesta, avautuneista silmistä, taipuneista siivistä, ojentuneista ja jäykistä jaloista, vapinasta, kääntyneistä pyrstösulista sekä siitä, ettei ulostamista tapahdu.

Fysiologia. Lintujen pelkoa voidaan tutkia fysiologisten vasteiden, kuten stressihormonipitoisuuksien ja ruumiinlämmön nousun sekä sykkeen kiihtymisen, avulla (Knowles ja Broom 1990; Korte ym. 1999; Cabanac ja Aizawa 2000). Zulkifli ym. (2000) mittasivat lintujen kokemaa teurastusta edeltävää stressiä TI-testin sekä veren valkosolujen heterofiili/lymfosyytti -suhteen muutosten avulla. Grossin ja Siegelin (1983) mukaan heterofiilien ja lymfosyyttien suhde on yksittäisiä veren kortikosteroidipitoisuuksia parempi mittari määritettäessä linnun kokemaa stressiä. Koska sydämen lyöntitiheys kiihtyy stressin vaikutuksesta, pystytään myös sen avulla ennustamaan siipikarjan kokemaa stressiä.



Siipikarjan kokemaa stressiä voidaan ennustaa myös määrittämällä plasman eri ainesosien pitoisuuksia (taulukko 5). Esimerkiksi veren kohonnut adrenaliini-, noradrenaliini- tai kortisolipitoisuus antavat viitteitä linnun kokemasta pelosta. Kortikosteroidit ovat adrenaliinia ja noradrenaliinia parempia stressin indikaattoreita, sillä niiden puoliintumisajat ovat huomattavasti pidempiä. Adrenaliinin ja noradrenaliinin aikaansaamat vasteet, kuten sydämen lyöntitiheyden kasvu ja hematokriittipitoisuus, ovat kuitenkin hyviä mittareita (Gregory 1998). Hänsch ym. (2009b) tutkivat kalkkunoiden stressaantuneisuutta veren katekoliamiini-, kortikosteroni- ja laktaattipitoisuuksien avulla.

Koska stressi saa aikaan biokemiallisia muutoksia lihaksissa, voidaan lihasten glykogeeni-, ATP- ja laktaattipitoisuuksien määrittämisellä saada tietoa eläimen hyvinvoinnista. Nämä antavatkin usein tarkempaa tietoa eläimen kokemasta stressistä kuin veren tutkiminen. Glykolyttinen potentiaali (GP) kuvaa lihaksissa olevan glykogeenin määrää teurastushetkellä (Monin ja Sellier 1985). GP on pelkkää glykogeeni-arvoa kuvaavampi suure, sillä glykogeeni hajoaa nopeasti ja näytteenotto teurastushetkellä on hankalaa, jolloin tarkkojen arvojen saaminen on lähes mahdotonta. R-arvo on inosiinin ja adenosiinin suhde, joka kuvaa ATP:n hajoamista lihaksissa (McKee ja Sams 1997).

Taulukko 5. Stressin indikaattorit plasmassa eri stressitekijöiden vaikutuksesta (Gregory 1998).

Stressitekijä	Indikaattori plasmassa
Paasto	glukoosi ↓, vapaat rasvahapot ↑, glyseroli ↑, urea ↑, GLDH↑
Nestehukka	
Ilman ruokaa	proteiini ↑
Ruoan kanssa	proteiini ↑ osmolaliteetti ↑, hematokriitti ↑
Liikunta	hematokriitti ↑, adrenaliini ↑, noradrenaliini ↑, K <sup>+</sup> ↑, β-endorfiini ↑, laktaatti ↑ (kun anaerobista), CPK ↑
Matkapahoinvointi	kortisoli ↑, VIP ↑
Pelko	adrenaliini ↑, noradrenaliini ↑, ACTH ↑, kortisoli ↑, glukagoni ↑, prolaktiini ↑, β-endorfiini
Kuumuus	ACTH ↑, kortisoli ↑, adrenaliini ↑, β-endorfiini ↑
Kylmyys	noradrenaliini ↑, kortisoli ↑, PCV ↑

ACTH = adrenokortikotropiini, CPK = kreatiinifosfokinaasi, GLDH = glutamaattidehydrogenaasi, VIP = vasoaktiivinen intestinaalinen peptidi

Lihan laatu. Vaikka käyttäytymistä tutkimalla voidaan saada paljon tietoa eläinten hyvinvoinnista tainnutuksen yhteydessä, on lihan laadun tutkiminen myös tärkeää. Lihan laatu kertoo jonkin verran eläinten hyvinvoinnista, mutta on lisäksi itsessään tärkeä tekijä, jotta lihan laatu vastaa kuluttajien ja teollisuuden tarpeita sekä vaatimuksia. Koska siipikarjan rintalihaksessa on ainoastaan tyyppin IIB-lihassoluja, pystytään sitä tutkimalla selvittämään hyvin eläimen kokemaa teurastusta edeltävää stressiä. Nimenomaan rintalihas on altis PSE-lihaisuudelle. Rintalihas on lisäksi markkinoilla arvokkain osa ruhosta, joten sen laatu on erityisen tärkeä. Lihan laatuun vaikuttavat eläinten hyvinvoinnin lisäksi paljon teurastuksen jälkeiset prosessit, kuten ruhojen jäähdytysolosuhteet sekä leikkausajankohta.

Teurastuksen jälkeistä pH:n laskua seuraamalla saadaan tietoa glykolyysin nopeudesta ja sitä kautta voidaan arvioida eläinten mahdollisesti kokemaa teurastusta edeltävää stressiä. Koska siipikarjalla teurastuksen jälkeinen pH:n lasku on hyvin nopeaa, niillä mitataankin yleisesti pH<sub>15</sub> sioilla mitattavan pH<sub>45</sub>:n sijaan (Gregory 1998). Poikkeuksellisen matalat arvot näissä kertovat kiihtyneestä teurastuksen jälkeisestä metaboliasta, ja arvoja voidaan lisäksi käyttää lihan laatuluokitukseen (Gregory 1998). Koska PSE-lihaisuutta ilmenee stressin ja kiihtyneen glykolyysin seurauksena, ovat vedensidontakyvyn ja värin mittaaminen niin ikään tehokkaita keinoja selvittää eläinten hyvinvointia. Vedensidontakyky on lisäksi yksi lihan tärkeimmistä ominaisuuksista, koska sillä on merkittävä vaikutus lihajalosteiden valmistuksessa. Liha on arvokas raaka-aine, ja vedensidontakyvyn heikkeneminen aiheuttaa suuria taloudellisia tappioita. Vedensidontakyky voidaan määrittää helposti valuma- ja keittotappiokokeiden avulla. Lihan mureus on yksi tärkeimmistä laatukriteereistä kuluttajien näkökulmasta. Lihasta tulee erityisen sitkeää, mikäli tapahtuu rigor-, lämmin- tai kylmäsupistumista (Gregory 1998). Näitä pystytään estämään sekä vähentämällä teurastusta edeltävää stressiä että jäähdyttämällä liha optimaalisissa olosuhteissa.

Lihan väri pystytään mittaamaan helposti ja nopeasti. Barbutin (1997) mukaan väri ja vedensidontakyky korreloivat keskenään. Väriä mitattaessa on kuitenkin otettava huomioon, että eri ikä-, laji- ja sukupuoliryhmien välillä on luontaisia värieroja (Barbut ym. 2008). Lisäksi verenlaskun tehokkuus ja siten lihaan jääneen veren määrä vaikuttaa lihan väriin. Tämän vuoksi mittaustuloksista tehtyjen johtopäätösten kanssa on oltava hyvin varovaisia.

## 2.4 Yhteenveto

Käsittely, teurastusta edeltävät uudet ja pelottavat tilanteet sekä korkea lämpötila saavat aikaan muutoksia lintujen hormonivasteissa. Tästä aiheutuva glykokeenin pilkkoutuminen sekä fyysisen rasituksen aiheuttama anaerobinen glykolyysi johtavat pH:n laskuun. Mikäli pH laskee teurastuksen jälkeen liian alas ruhon lämpötilan ollessa vielä korkea, tapahtuu proteiinien denaturoitumista, mikä taas voi johtaa PSE-lihaisuuteen. Tainnutuskäsittelyn valinnalla voidaan vaikuttaa lihan laatuun, kuten mureuteen, makuun, väriin, vedensidontakykyyn ja saantoon. Tainnutusmenetelmän lisäksi lihan laatuun vaikuttavat luonnollisesti teurastuksen jälkeiset prosessiolosuhteet, kuten jäähdityslämpötila ja -aika sekä leikkuuajankohta.

Nykyisin käytetyin tainnutusmenetelmä siipikarjateollisuudessa on sähkötainnutus vesialtaassa. Sähkötainnutusta edeltää kuitenkin paljon elävien lintujen käsittelyä vaativia vaiheita, eikä se ole lintujen hyvinvoinnin ja lihan laadun kannalta välttämättä paras vaihtoehto. Lisäksi sähkötainnutus aiheuttaa siipikarjanlihaan veren purkaumia, joita on kuitenkin saatu vähennetyksi käyttämällä suuritaajuista sähköä ( $\geq 450$  Hz).

Kaasutainnutus vähentää siipikarjan käsittelyn tarvetta sähkötainnutukseen ja mekaaniseen tainnutukseen verrattuna. Se on kuitenkin sähkötainnutusta ja mekaanista tainnutusta hitaampi menetelmä, jolloin itse tainnutustapahtuma, toisten lintujen taintumisen näkeminen sekä hengitetty kaasu saattavat aiheuttaa linnuille stressiä. Kun linnut tainnutetaan kuljetushäkeissään, muodostuu ongelmaksi myös vaadittava nopea häkkien tyhjentäminen tainnutuksen jälkeen.

Hiilidioksidi on Suomessa sallittu kanojen tainnutuksessa, mutta sen on todettu olevan epämiellyttävä hengittää happamuutensa vuoksi. Happi- ja kosteuspitoisuuden lisäämisen hiilidioksidiseoksessa on havaittu vähentävän hengen haukkomisia ja kouristeluja ja olevan näin ollen mahdollisesti parempi vaihtoehto kuin korkean hiilidioksidipitoisuuden käyttö. Inerteillä kaasuilla, argonilla ja typellä, tainnutettaessa pH laskee hyvin nopeasti teurastuksen jälkeen. Tämä johtuu todennäköisesti tainnutuksen aikana tapahtuvista voimakkaista kouristuksista, jotka kiihdyttävät anaerobista glykolyysiä. Inerttien kaasujen ei kuitenkaan ole havaittu olevan epämiellyttäviä hengittää. Kouristuksetkin tapahtuvat usein tajunnanmenetyksen jälkeen, jolloin linnut eivät kärsi niistä. Inerttien kaasujen aikaansaamalla nopealla pH:n laskulla ei ole todettu olevan lihan laatua heikentäviä

vaikutuksia. Tainnuttamisen tyellä tai argonilla saattaakin mahdollistaa nopean jäädytyksen ja aikaisen ruhon leikkuun ilman kylmä- tai rigor-supistumisen vaaraa. Inerttien kaasujen ja hiilidioksidin seoksella tainnutettaessa sekä kaksivaiheista tainnutusta käytettäessä pH:n lasku on hitaampaa kuin puhtaita anoksisia kaasuja käytettäessä.

### **3 KOKEELLINEN TUTKIMUS**

#### **3.1 Tausta ja tavoitteet**

Kalkkunoiden kaasutainnutus ei ole vielä sallittua Suomessa. Koska kaasutainnutus on mahdollisesti eläinten hyvinvoinnin ja lihan laadun kannalta parempi vaihtoehto kuin sähkötainnutus tai mekaaninen tainnutus, ollaan sen soveltuvuudesta kalkkunoiden tainnutukseen kiinnostuneita. Erityisesti pienteurastamoissa yleisesti käytössä olevat menetelmät, mekaaninen tainnutus ja päähän kohdistuva sähkötainnutus, aiheuttavat linnuille kouristuksia ja ovat näin ollen lihan laadun kannalta epäsuotuisia menetelmiä. Pienteurastamoilla ei suurempien teurastamoiden tapaan ole mahdollisuuksia, tai edes tarvetta, investoida linjastoihin, joissa kalkkunat voitaisiin tainnuttaa kuljetushäkeissään kaasulla. Pienteurastamoissa kaasutainnutus olisi kuitenkin mahdollista tainnutusmaskia käyttämällä.

Kokeellisen osion tavoite oli selvittää kahden erityyppisen tainnutuskaasun, hiilidioksidin ja typen, vaikutusta kalkkunalihan laatuun (pH, vedensidontakyky, mureus). Tainnutuskäsittelyjä verrattiin kontrollikäsittelyä käytettyyn kaksivaiheiseen hiilidioksiditainnutukseen, jonka on todettu olevan lihan laadun ja eläinten hyvinvoinnin kannalta hyvä kaasutainnutusvaihtoehto (Abeysinghe ym. 2007; McKeegan ym. 2007a). Tavoitteena oli myös tutkia, miten jäähdytysnopeus vaikuttaa lihan laatuun ja onko hiilidioksidi- ja tyyppitainnutuksen välillä tämän suhteen eroja. Saatujen tulosten perusteella pyrittiin löytämään kaasutainnutusmenetelmä, joka on kalkkunoiden hyvinvoinnin kannalta paras vaihtoehto ja soveltuu hyvin käytettäväksi pienteurastamo-olosuhteissa.

## **3.2 Materiaalit ja menetelmät**

### **3.2.1 Pienteurastamojen haastattelu**

Seitsemään Suomessa tällä hetkellä toimivaan tai aiemmin toimintaa harjoittaneeseen siipikarjan pienteurastamoon otettiin yhteyttä puhelimitse. Pienteurastamoilta tiedusteltiin käytössä olevaa tainnutusmenetelmää ja jäähdytysolosuhteita. Lisäksi kysyttiin kiinnostusta kaasutainnutukseen siirtymisestä, mikäli se tulevaisuudessa sallittaisiin. Elintarviketurvallisuusvirastosta (2010) saatujen tietojen mukaan Suomessa toimii nykyisin 13 siipikarjan pienteurastamo, joista yhdeksällä on lupa kalkkunoiden teurastukseen.

### **3.2.2 Koemateriaali**

Tutkimuksessa käytettiin 26 uroskalkkunaa (Nicholas 300 x BUT8), jotka tuotiin Helsingin yliopiston koe-eläinkeskuksen tiloihin Viikkiin 105 päivän ikäisinä. Tutkimuksessa käytetyt kalkkunat osallistuivat kipulääkitys- ja käyttäytymiskokeisiin, ennen kuin ne 116–125 päivän ikäisinä teurastettiin. Tällöin 116–119 päivän ikäisinä teurastetut kalkkunat painoivat  $15,3 \pm 1,1$  kilogrammaa ja 123–125 päivän ikäisinä teurastetut  $15,7 \pm 1,4$  kilogrammaa.

### **3.2.3 Koeolosuhteet**

Kalkkunoiden teurastus sekä näytteidenotto suoritettiin Viikissä Helsingin yliopiston koe-eläinkeskuksen leikkaussalissa (lämpötila  $18,6 \pm 0,9$  °C), jossa ei ollut mahdollisuutta kokonaisten ruhojen jäädyttämiseen. Lihan laatua kuvaavat parametrit määritettiin elintarviketeknologian laitoksen laboratoriotiloissa.

### **3.2.4 Kokeen suoritus**

Tainnutus ja teurastus. Kalkkunat kannettiin karsinasta yksitellen teurastettavaksi, ja ne pyrittiin pitämään mahdollisimman rauhallisina peittämällä niiden päät vaatekappaleella

kantovaiheessa. Kalkkunat asetettiin pää alaspäin terässuppiloon (kuva 1) ja tainnutettiin kaasutainnutusmaskia käyttäen. Kalkkunat tainnutettiin niin, että yhdeksän kalkkunaa altistettiin korkealle hiilidioksidipitoisuudelle (60 % CO<sub>2</sub>) ja yhdeksän kalkkunaa korkealle typpipitoisuudelle (98 % N<sub>2</sub>, <2 % O<sub>2</sub>) kolmen minuutin ajan. Kahdeksalle kalkkunalle käytettiin kaksivaiheista hiilidioksiditainnutusta, jossa kalkkunat altistettiin ensin minuutin ajan seokselle, joka sisälsi 40 % hiilidioksidia, 30 % typpeä ja 30 % happea, ja tämän jälkeen lopetettiin altistamalla ne kahdeksi minuutiksi korkealle (60 %) hiilidioksidipitoisuudelle.

Verenlasku tapahtui välittömästi tainnutuksen jälkeen katkaisemalla kaulavaltimot. Tämän jälkeen ruho punnittiin. Kaltausta, kynintää, suolistusta tai muita tavallisia teurastusprosessiin kuuluvia vaiheita ei suoritettu. Ruhot asetettiin pöydälle rintalihakset ylöspäin ja niitä säilytettiin huoneenlämmössä neljän tunnin ajan näytteidenottoa varten. Tämän jälkeen ruhot hävitettiin.



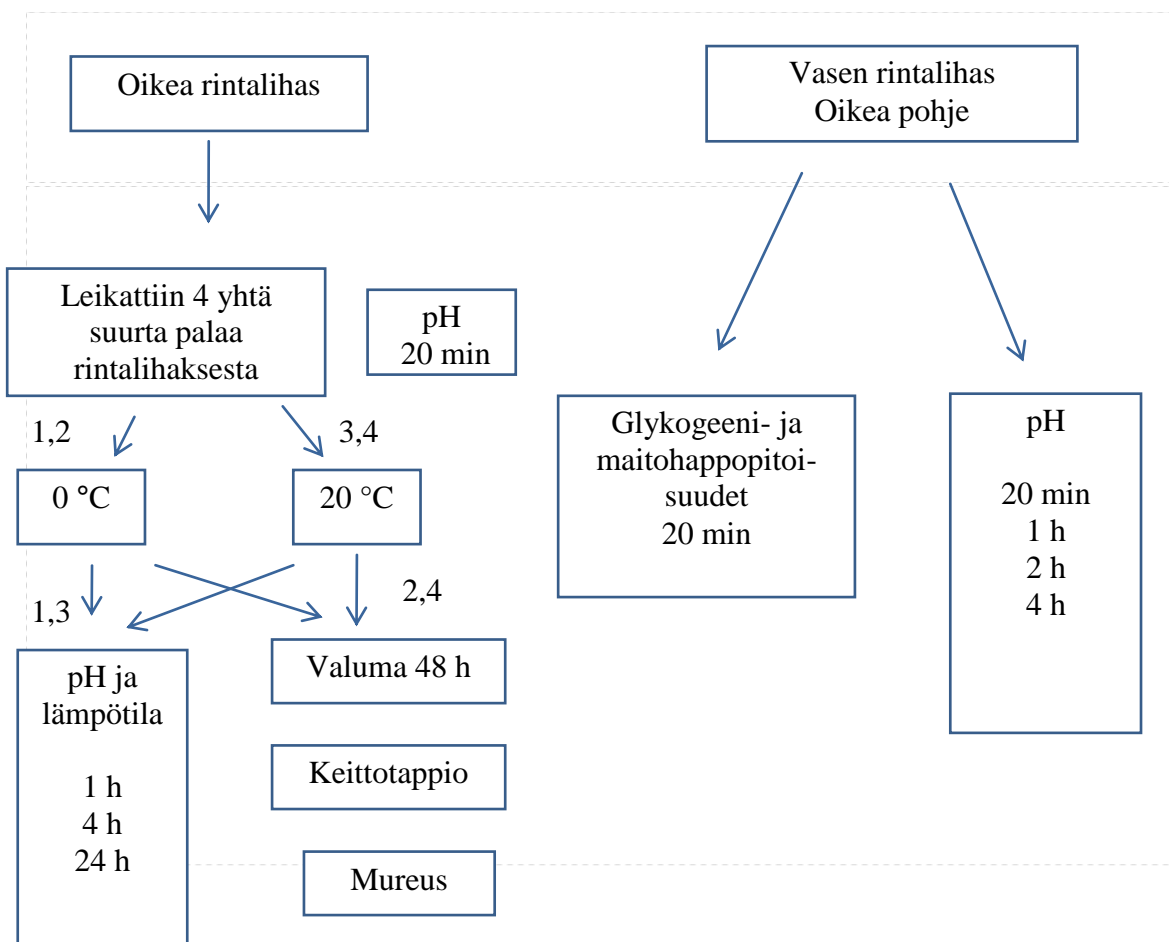
Kuva 1. Tainnutuksessa käytetty järjestely.

Näytteenotto. Näytteenotto tapahtui kuvassa 2 esitetyn kaavion mukaisesti. *M. pectoralis* -lihaksesta otettiin näytteet Wernerin ym. (2008) kuvaamalla tavalla (liite 1). Pohjelihaksesta glykogeeni- ja maitohappopitoisuuksien sekä pH:n määrittämistä varten otettiin näytteet *M. gastrocnemius* -lihaksesta.

Glykogeeni- ja maitohappopitoisuuksien määrittämistä varten otettiin jokaisesta ruhosta viisi noin gramman painoista näytettä kalkkunan vasemmanpuoleisen rintalihaksen keskikolmanneksesta sekä pohjelihaksesta 20 minuutin kuluttua teurastuksesta. Näytteet jäädettiin välittömästi nestemäisessä työssä folion päällä niin, että lihaspalat eivät koskettaneet toisiaan. Folioon käärityt näytteet säilytettiin -80 °C:n lämpötilassa glykogeeni- ja laktaattipitoisuuksien määrittämiseksi.

Ruhossa kiinniolevasta vasemmanpuoleisen rintalihaksen keskikolmanneksesta otettiin pH:n määrittämistä varten 0,5 gramman painoiset rinnakkaisnäytteet 2,5 cm syvyydeltä 20 min, 1 h, 2 h ja 4 h *post mortem*. Ne hienonnettiin spaattelilla koeputkessa, jossa oli 5 millilitraa jääkylmää natriumjodoasetaattia pH:n laskun pysäyttämiseksi.

Oikeanpuoleisen rintalihaksen ensimmäisestä kolmanneksesta noin 5 cm päästä lihaksen reunasta alkaen leikattiin neljä yhtä suurta, 50–100 gramman painoista lihaskappaletta 20 minuutin kuluttua verenlaskusta. Kappaleet punnittiin ja laitettiin minigrip-pussiin. Kaksi kappaletta jäähdytettiin 0 °C:n lämpötilassa ja kaksi 20 °C:n lämpötilassa. Kummassakin lämpötilassa jäähdytetyistä näytteistä toinen säilytettiin koskemattomana valumahävikin, keittotappion ja mureuden määrittämistä varten ja toisesta mitattiin lämpötila ja pH 20 min, 1 h, 4 h ja 24 h *post mortem*.



Kuva 2. Näytteenottoakaavio

Jäähdytys. Hiilidioksidilla ja tyvellä tainnutettujen kalkkunoiden oikeanpuoleisesta rintalihaksesta lihan laatumäärittäjä varten otetut näytteet jäähdytettiin kahdessa eri lämpötilassa, 0 °C:ssa ja 20 °C:ssa. Kaksivaiheisella menetelmällä tainnutetuista kalkkunoista otetut näytteet sen sijaan jäähdytettiin ainoastaan 0 °C:n lämpötilassa. Jäähdytyslämpötilat valittiin niin, että saatiin vertailuun mahdollisimman nopeasti jäähdytetty näyte, jossa voitaisiin havaita kylmäsupistumista sekä hitaammin jäähdytetty näyte, joka voisi olla pienteurastamoissa mahdollinen tilanne jäähdytyksen viivästyessä.

0 °C:n lämpötilassa jäähdytys tapahtui asettamalla Minigrip-pusseissa olevat näytteet kylmälaukussa olevaan jäähauteeseen. 20 °C:n lämpötilassa jäähdytys tapahtui asettamalla Minigrip-pusseissa olevat näytteet huoneenlämpötilassa (18,6 ± 0,9 °C) olevaan styroxastiaan. Neljän tunnin kuluttua teurastuksesta 20 °C:n lämpötilassa jäähdytetyt näytteet siirrettiin jäähauteeseen 0 °C:n lämpötilaan. Noin kahdeksan tunnin kuluttua teurastuksesta



näytteet siirrettiin 4 °C:n lämpöiseen kylmiöön roikkumaan valumahävikin määrittystä varten.

### 3.2.5 Menetelmät

pH. Rinta- ja pohjelihaksista määritettiin pH natriumjodoasetatimenetelmällä. 2,5 cm syvyydeltä kirurginveitsellä leikatut, 0,5 gramman painoiset rinnakkaisnäytteet hienonnettiin koeputkessa 5 ml:ssa jääkylmää natriumjodoasetattia. Natriumjodoasetatin (0,52 g Na-I-asetattia, 5,592 g KCl, 500 ml vettä) tarkoituksena oli pysäyttää pH:n lasku. pH mitattiin näyteliuksesta potentiometrisesti elektrodilla (Mettler Toledo Inlab<sup>®</sup> 427, Schwerzenbach, Sveitsi) kahdesti jokaisesta näytteestä.

Lämpötila. Lämpötilan mittaussyvyys (2,5 cm) oli vakioitu lämpömittariin (Foodcheck Thermometer KM 25, Comark Limited, Welwyn Garden City, Englanti) merkitsemällä se teipillä. Lämpötila mitattiin aina pH-näytteidenoton yhteydessä kahdesta kohtaa.

Valumahävikki. Valumahävikkiä varten oikeanpuoleisesta rintalihaksesta leikattiin 50–100 gramman painoiset näytteet, jotka punnittiin (Sartorius AG BL1500, Göttingen, Saksa), laitettiin Minigrip-pusseihin (mini) ja jäähdytettiin aiemmin kuvatulla tavalla. Noin kahdeksan tunnin kuluttua teurastuksesta pujotettiin lanka neulan avulla pussin ja lihanäytteen läpi ja pussi laitettiin vapaasti roikkumaan 4 °C:n lämpötilaan. 48 tunnin kuluttua näyte punnittiin uudestaan, ja valuma laskettiin valuneen nesteen prosentuaalisena osuutena alkuperäisen lihan painosta.

Keittotappio. Samat näytteet, joista määritettiin valumahävikki, pakattiin vakuumiin (Multivac A 300/42, Sepp Hagenmüller KG, Wolfertschwenden, Saksa) ja keitettiin punnitsemisen jälkeen 85 °C:n lämpöisessä vesihauteessa, kunnes näytteiden sisälämpötila saavutti 80 °C:n lämpötilan. Sisälämpötilan mittausta varten oli erillinen, vastaavankokoinen rintalihasnäyte. Näytteet jäähdytettiin keittämisen jälkeen ensin 30 minuuttia huoneenlämmössä, minkä jälkeen ne siirrettiin 4 °C:n lämpöiseen kylmiöön vuorokaudeksi. Jäähdytetyt näytteet poistettiin vakuumpakkauksesta ja punnittiin. Keittotappio laskettiin

keiton aikana tapahtuneen painohävikin prosentuaalisena osuutena keittoa edeltävästä massasta.

Mureus. Samoista näytteistä, joista määritettiin keittotappio, leikattiin vakiokokoisia (3 x 2 x 1 cm) lihakappaleita. Yhdestä näytteestä leikattiin kolme rinnakkaisnäytettä, ja näytepalat punnittiin. Mureus määritettiin käyttämällä Instron 4465 -aineenkoestuslaitteen (Tukholma, Ruotsi) Allo-Kramer-mittauspäättä. Terä painettiin lihakappaleen läpi kohtisuoraan syitä vastaan, ja mureus mitattiin läpäisyyn tarvittavana voimana massayksikköä kohden (N/g).

Glykogeeni- ja laktaattipitoisuus. Glykogeeni- ja laktaattipitoisuuden määrittämistä varten -80 °C:n lämpötilassa säilytetyt, 20 minuutin kuluttua teurastuksesta otetut näytteet murskattiin nopeasti nestetyypeen kastetulla vasaralla. Mursketta punnittiin noin 300 milligrammaa homogointiputkeen, johon lisättiin fosfaattipuskuria (pH 7), niin että saatiin 10-prosenttinen seos. Seosta homogenoitiin teflonterällä (Thomas Scientific, USA) jäähauteessa noin 20 sekunnin ajan, minkä jälkeen homogenaattia pipetoitiin laktaatin määrittämistä varten 500 µl:aa 30 ml:n koeputkiin, joissa oli 2 ml:aa 1 M perkloorihappoa, sekä glykogeenin määrittämistä varten 10 µl:aa Eppendorf-putkiin, joissa oli 200 µl:aa 1 M suolahappoa.

Glykogeeninäytteet hydrolysoitiin 100 °C:n lämpöisessä kuivahauteessa (Barnstead/ThermoLyne, Dubuque, Iowa, USA) kahden tunnin ajan. Tämän jälkeen pH säädettiin 5 M NaOH:n avulla välille 6,5–7,5. Eppendorf-putkia sentrifugoitiin (GWB, Hettich EBA 3S) 20 sekunnin ajan nopeudella 4000 rpm. Lopuksi mikrokyvetteihin (Oriola LP 112117) pipetoitiin 1 ml reagenssia, joka oli valmistettu 1:5 Roche-määrittämissä no. 1447521 (Glukoosikitti, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Saksa) olevista reagensseista sekä 80 µl:aa näyteliuosta. Absorbanssit määritettiin 30 minuutin kuluttua spektrofotometrillä (Novaspec® II Visible Spectrophotometer, Pharmacia Biotech Europe GmbH, Freiburg, Saksa) aallonpituudella 340 nm. Näytteiden glykogeenipitoisuudet glukoosina ilmoitettuna laskettiin standardisuoran avulla.

Laktaattipitoisuuden määrittämisessä homogenaatti-perkloorihappoliuokseen lisättiin 3 millilitraa tislattua vettä ja pH säädettiin 2 M KOH:lla välille 10–11. Liuos siirrettiin

10 ml:n mittapulloon, joka täytettiin merkkiin asti tislattulla vedellä. Tämän jälkeen liuos suodatettiin Whatman 40:n läpi koeputkeen. Näyteliuosta ja Boehringer-Mannheimin määrittyskitin n:o 139084 reagensseja pipetoitiin taulukon 6 mukaisesti ja absorbanssit mitattiin spektrofotometrillä (Novaspec® II Visible Spectrophotometer, Pharmacia Biotech Europe GmbH, Freiburg, Saksa) 365 nm:n aallonpituudella.

Glykogeeni- ja laktaattipitoisuuksien määrittysten onnistumista seurattiin valvontakortin avulla. Glykogeenipitoisuuksia määritettäessä valvontakorttinäytteiden variaatiokerroin oli 0,25 ja laktaattipitoisuuksia määritettäessä 0,10.

Taulukko 6. Laktaattikitin reagenssien pipetointi.

Reagenssi	0-koe	Näyte
Liuos 1	500 µl	500 µl
Liuos 2	100 µl	100 µl
Tislattu vesi	500 µl	-
Suspensio 3	10 µl	10 µl
Näyteliuos	-	500 µl
1. mittaus n. 5 minuutin kuluttua		
Liuos 4	10 µl	10 µl
2. mittaus 20 min kuluttua		

Tulosten tilastollinen käsittely. Saaduista tuloksista laskettiin keskiarvot ja -hajonnat. Taulukkojen ja kuvaajien tekoon käytettiin Microsoft Excel 2007 -taulukkolaskentaohjelmaa. Tilastolliset erot testattiin SPSS Statistics 17.0 -tilastojenkäsittelyohjelmalla muuttujista riippuen joko yksisuuntaisella tai kaksisuuntaisella varianssianalyysillä Bonferronin korjausta käyttäen. Tapauksissa, joissa varianssien yhtäsuuruus ei ollut voimassa, käytettiin Tamhanen T2 -testiä. Keskiarvojen vertailuun käytettiin lisäksi parittaista T-testiä. Ominaisuuksien välisiä korrelaatioita tarkasteltaessa käytettiin Pearsonin kaksisuuntaista korrelaatiokertoimen testausta.

### 3.3 TULOKSET

#### 3.3.1 Tainnutus- ja jäähdytyskäsittelyt suomalaisissa pienteurastamoissa

Suomalaiset pienteurastamot käyttävät kalkkunoiden teurastuksessa usein mekaanista kaulan katkaisua, jolloin tainnutusvaihe puuttuu kokonaan (taulukko 7). Tämä oli suosittua erityisesti teurastamoissa, joissa teurastustoiminta oli hyvin vähäistä. Kahdessa teurastamossa oli kokeiltu hiilidioksidia, mutta kummassakaan näistä teurastamoista ei enää teurasteta kalkkunoita. Hiilidioksidiin oli kuitenkin oltu tyytyväisiä, ja sitä kuvailtiin muihin tainnutusmenetelmiin verrattuna siistiksi ja miellyttäväksi tavaksi tainnuttaa lintuja. Vesisähkötainnutus on käytössä yhdessä hieman laajempaa toimintaa harjoittavassa yrityksessä, jossa kalkkunan teurastus ei kuitenkaan ole kovin merkittävässä asemassa muun siipikarjan ohella. Lisäksi yhdessä teurastamossa kalkkunat tainnutetaan suoraan päähän johdetulla sähköllä.

Lähes kaikissa pienteurastamoissa on käytössä vesijäähdytys, jossa veden lämpötila oli lähellä 0 °C:ta. Yhdessä näistä veden lämpötila pyrittiin pitämään tasaisena vedenkierron avulla. Ainoastaan yksi teurastamo ilmoitti käyttävänsä pelkkää ilmajäähdytystä.

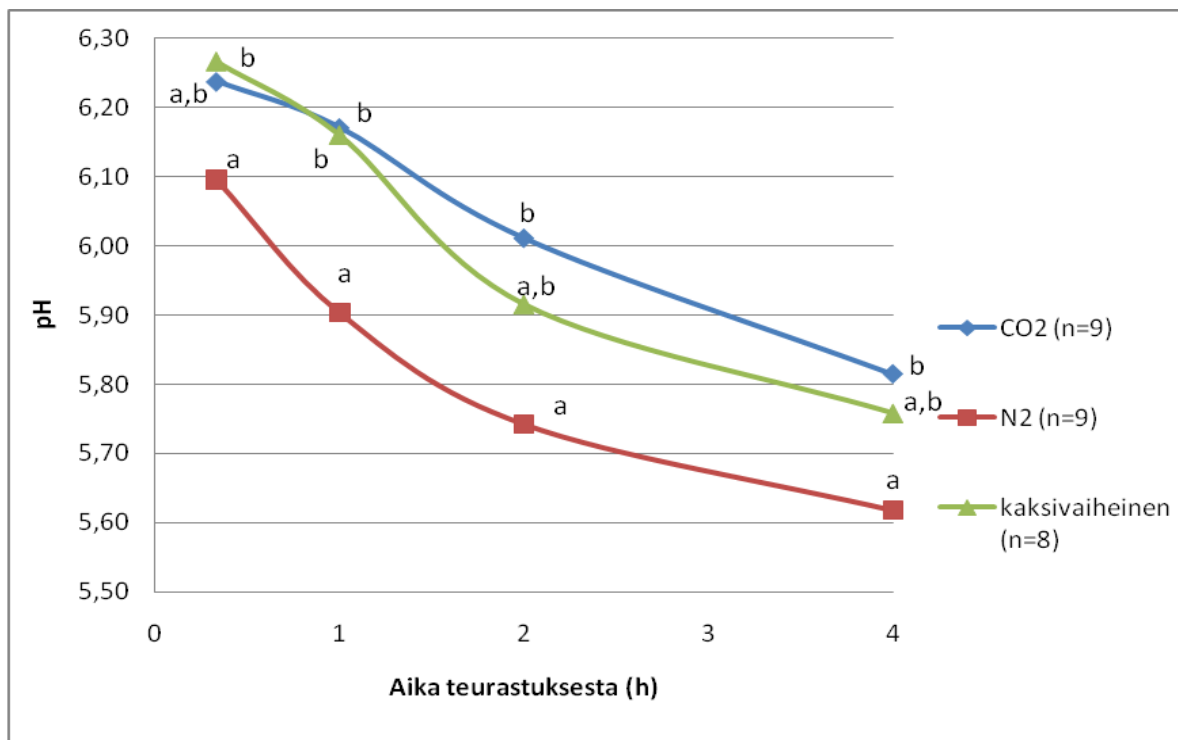
Taulukko 7. Seitsemässä suomalaisessa kalkkunoiden pienteurastamossa käytetyt tainnutus- ja jäähdytysmenetelmät.

Tainnutustapa	Jäähdytys	Kiinnostus kaasutainnutukseen
Hiilidioksidi	0 °C vesi	Ei enää toimintaa, muuten kaasu ollut jo käytössä
Mekaaninen, kaulan katkaisu	vesisuihkutus, 0 °C	Ei, koska teurastus niin vähäistä
Mekaaninen	0 °C vesi, vedenkierto kahden säiliön välillä, joista toisessa jäätä	Ei, koska teurastus niin vähäistä
Mekaaninen, giljotiini	vesijäähdytys, n. 3–4 °C	Ei tarvetta
Vesisähkötainnutus	yhdistetty vesi ja ilmajäähdytys, lämpötila lintujen koon mukaan, niin että 12 h aikana saavutetaan 4 °C:n lämpötila	Ei, liian kallis
Sähkö, suoraan päähän	Kylmä vesi	Ei, nähnyt toimintaa, joka ei vakuuttanut, pelko kaasulle altistumisesta.
Hiilidioksidi		Ei enää toimintaa, muuten kaasu ollut jo käytössä

### 3.3.2 pH:n ja lämpötilan lasku teurastuksen jälkeen

Leikkaamaton rinta- ja pohjelihas. Kuvassa 3 on esitetty pH:n lasku leikkaamattomissa rintalihaksissa teurastuksen jälkeen eri tainnutusmenetelmiä käytettäessä. Rintalihaksista otetuissa näytteissä pH:n lasku oli selvästi nopeinta, kun kalkkunat tainnutettiin typellä. Jo 20 minuutin kuluttua verenlaskusta rintalihasten pH oli merkitsevästi matalampi kuin kaksivaiheista hiilidioksiditainnutusta käytettäessä ( $p < 0,05$ ). Tunnin kuluttua typellä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten pH oli sekä hiilidioksidilla että kaksivaiheisella menetelmällä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten pH:ta matalampi ( $p < 0,05$ ). Kahden ja neljän tunnin kuluttua verenlaskusta typellä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten pH oli matalampi kuin hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden, kun taas kaksivaiheisella menetelmällä tainnutettujen kalkkunoiden pH-arvot eivät eronneet merkittävästi muista tainnutuskaasuista. Loppu-pH:ssa ei ollut eroja eri tainnutuskaasujen suhteen (taulukko 8).

Typellä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksista otetuissa näytteissä loppu-pH oli korkeampi kuin pH-arvo 4 tunnin kohdalla. Loppu-pH-arvot mitattiin kuitenkin  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa jäädytetyistä näytteistä, joissa pH ei laskenut yhtä alas kuin huoneenlämmössä olleissa näytteissä (kuva 7).



Kuva 3. Teurastuksen jälkeinen pH:n lasku ajan funktiona *M. pectoralis* -lihaksessa, kun tainnutukseen käytettiin eri tainnutuskaasuja. Tilastollisesti merkitsevät erot ( $p < 0,05$ ) eri tainnutuskaasujen välillä on merkitty eri kirjaimin (a,b).

Taulukko 8. Kalkkunan rintalihasten loppu-pH eri tainnutuskaasuja käytettäessä.

Tainnutuskaasu	pH		
	n	$\mu$	SEM
CO <sub>2</sub>	9	5,68	0,01
N <sub>2</sub>	9	5,76	0,04
kaksivaiheinen	8	5,71	0,04

Taulukossa 9 on esitetty pH:n laskunopeus eri mittausajankohtien välillä. Typellä tainnutetuilla kalkkunoilla sekä rinta- että pohjelihaksissa pH:n lasku oli ensimmäisen tunnin ajan nopeampaa kuin kaksivaiheisella menetelmällä tainnutettujen kalkkunoiden lihaksissa. Rintalihaksissa ei myöhempinä ajankohtina ollut enää eroja pH:n laskunopeudessa eri tainnutuskaasujen välillä. Pohjelihaksissa pH:n lasku hidastui typellä tainnutetuilla kalkkunoilla tunnin ja kahden tunnin välillä, kun taas hiilidioksidilla tainnutetuilla kalkkunoilla pH:n lasku jatkui yhtä nopeana kuin alussa, ja oli kyseisellä aikavälillä merkitsevästi nopeampaa kuin typellä tainnutettujen kalkkunoiden pohjelihasten pH:n lasku. Riippumatta käytetystä tainnutuskaasusta pH laski ensimmäisen tunnin aikana pohjelihaksessa numeerisesti nopeammin kuin rintalihaksessa. Ero pohje- ja rintalihaksen pH-arvon laskunopeudessa tuli merkitseväksi tunnin ja kahden tunnin välillä hiilidioksidilla tainnutetuilla kalkkunoilla ja kahden tunnin jälkeen typellä tainnutetuilla kalkkunoilla. Typellä tainnutetuilla linnuilla rintalihaksen pH oli kuitenkin tässä vaiheessa jo laskenut lähelle loppu-pH:ta. pH:n laskunopeuksia eri lihasten välillä tarkasteltaessa on lisäksi otettava huomioon, että pohjelihaksessa alku- ja loppu-pH:t olivat korkeammat kuin rintalihaksessa ja että pohjelihaksessa tapahtunut pH:n lasku oli suurempi mitatulla aikavälillä kuin rintalihaksessa.

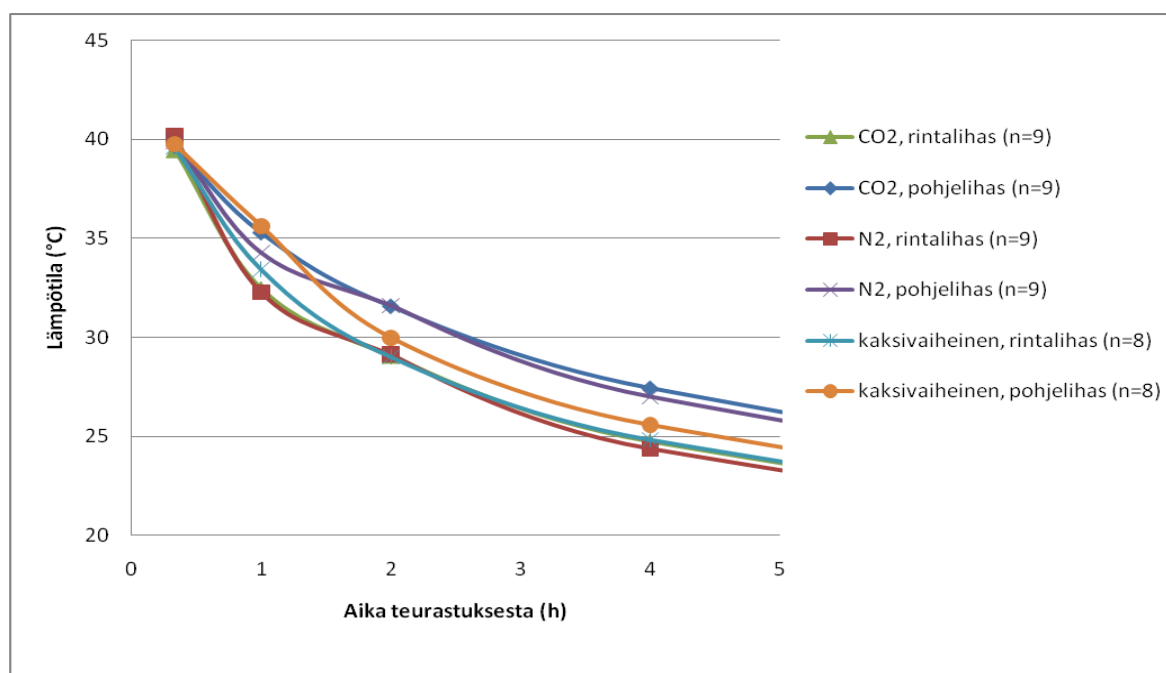
Taulukko 9. pH:n laskunopeus rinta- ja pohjelihaksessa mittausajankohtien välillä eri tainnutuskaasuja käytettäessä.

		pH:n muutos (pH yksikköä/h)					
		CO <sub>2</sub> (n=9)		N <sub>2</sub> (n=9)		kaksivaiheinen (n=8)	
		μ	SEM	μ	SEM	μ	SEM
Rintalihas							
	20 min – 1 h	0,10 <sup>x,y</sup>	0,08	0,29 <sup>y,z</sup>	0,05	0,16	0,02
	1 h – 2 h	0,16 <sup>x,y</sup>	0,05	0,16 <sup>w,x,y</sup>	0,05	0,25	0,06
	2 h – 4 h	0,10 <sup>x</sup>	0,04	0,06 <sup>w</sup>	0,02	0,08	0,06
Pohjelihas							
	20 min – 1 h	0,28 <sup>a,b,y,z</sup>	0,04	0,41 <sup>b,z</sup>	0,05	0,23 <sup>a</sup>	0,04
	1 h – 2 h	0,35 <sup>b,z</sup>	0,03	0,18 <sup>a,w,x,y</sup>	0,06	0,20 <sup>a,b</sup>	0,03
	2 h – 4 h	0,10 <sup>x</sup>	0,03	0,16 <sup>x</sup>	0,02	0,20	0,02

<sup>a,b</sup> riveillä eri kirjaimin merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan (p<0,05)

<sup>w,x,y,z</sup> sarakkeissa eri kirjaimin merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan (p<0,05)

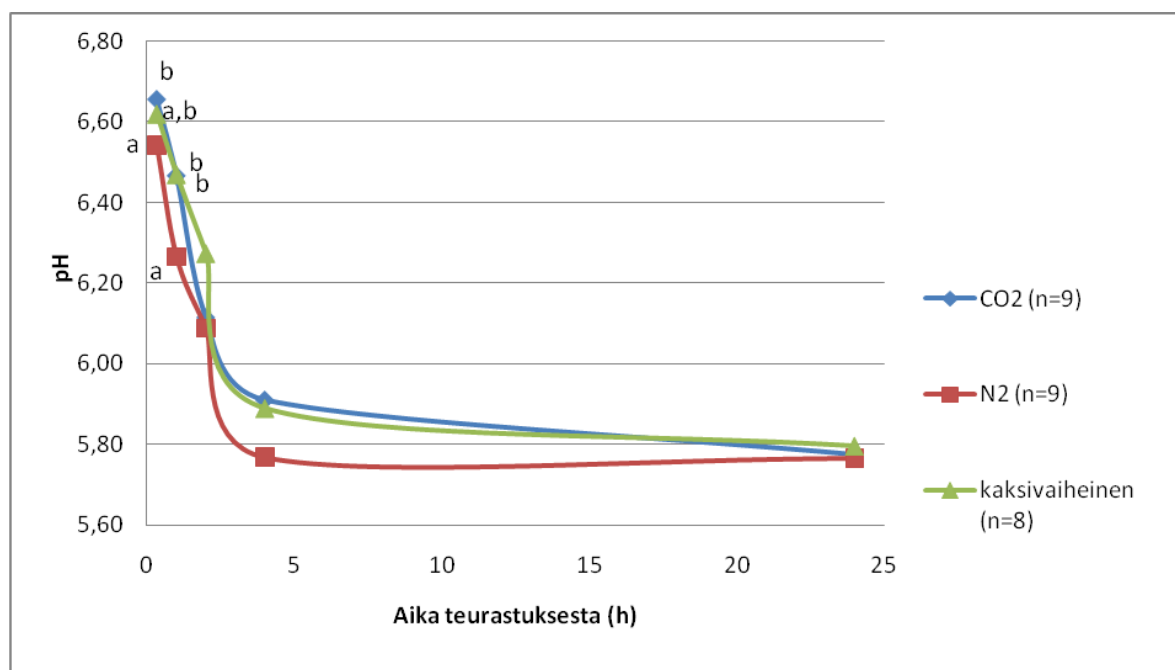
Kuvassa 4 on esitetty ruhossa kiinni olevien rinta- ja pohjelihasten teurastuksen jälkeinen lämpötilan lasku. Lämpötilan laskunopeudessa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja eri tainnutusmenetelmien suhteen. Lihasien välillä sen sijaan oli eroja teurastuksen jälkeisessä lämpötilan laskussa, kun pohjelihas jäähdytti hitaammin (p<0,01). Vaikka tilastollisia eroja ei havaittu eri tainnutuskaasujen välillä lihasien jäähdytysnopeudessa, kaksivaiheisella kaasuseoksella tainnutettujen kalkkunoiden pohjelihasten lämpötila laski hieman nopeammin kuin muita tainnutuskaasuja käytettäessä (kuva 4).



Kuva 4. Teurastuksen jälkeinen lämpötilan lasku huoneenlämpötilassa ruhossa kiinnioleivissa rinta- ja pohjelihaksissa.

Kuvassa 5 on esitetty pohjelihaksen pH ajan funktiona. Rintalihaksen tavoin myös pohjelihaksessa pH-arvot olivat tyypellä tainnutetuilla kalkkunoilla matalammat kuin muilla menetelmillä tainnutetuilla linnuilla jo 20 minuutin kuluttua verenlaskusta, ja tämä ero säilyi 1 h *post mortem* ( $p < 0,05$ ). Kahden tunnin jälkeen pH-arvoissa ei kuitenkaan ollut enää eroja eri kaasuilla tainnutettujen kalkkunoiden pohjelihasten välillä ( $p > 0,05$ ). Pohjelihasten pH oli jokaisena mittausajankohtana korkeampi kuin rintalihasten pH ( $p < 0,01$ ).

Typellä tainnutetuilla kalkkunoilla pH:n lasku pohjelihaksissa oli ensimmäisen tunnin aikana nopeampaa kuin kaksivaiheisella hiilidioksidilla tainnutetuilla kalkkunoilla ( $p < 0,05$ ) (taulukko 9). Tunnin ja kahden tunnin välillä pH:n lasku hidastui tyypellä tainnutettujen kalkkunoiden pohjelihaksissa ja oli hitaampaa kuin hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden pohjelihaksissa.

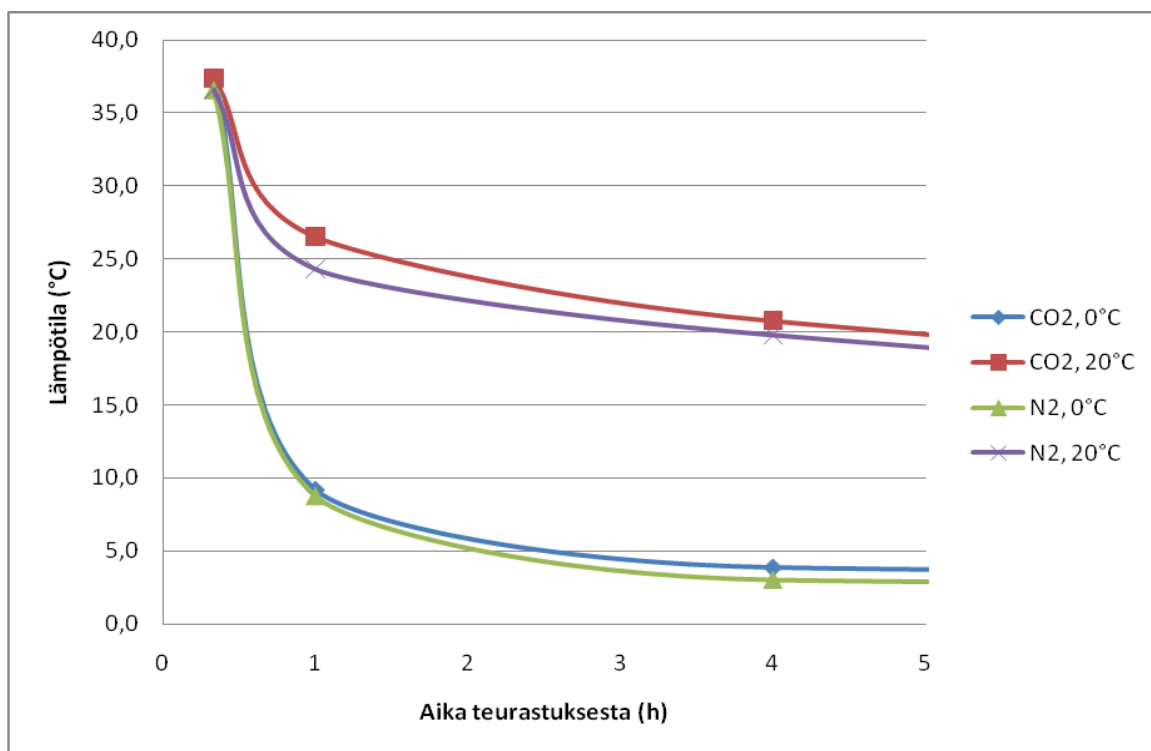


Kuva 5. Teurastuksen jälkeinen pH:n lasku pohjelihaksesta otetuissa näytteissä ajan funktiona, kun tainnutukseen käytettiin eri tainnutuskaasuja. Tilastollisesti merkitsevät erot ( $p < 0,05$ ) eri tainnutuskaasujen välillä on merkitty eri kirjaimin (a,b).

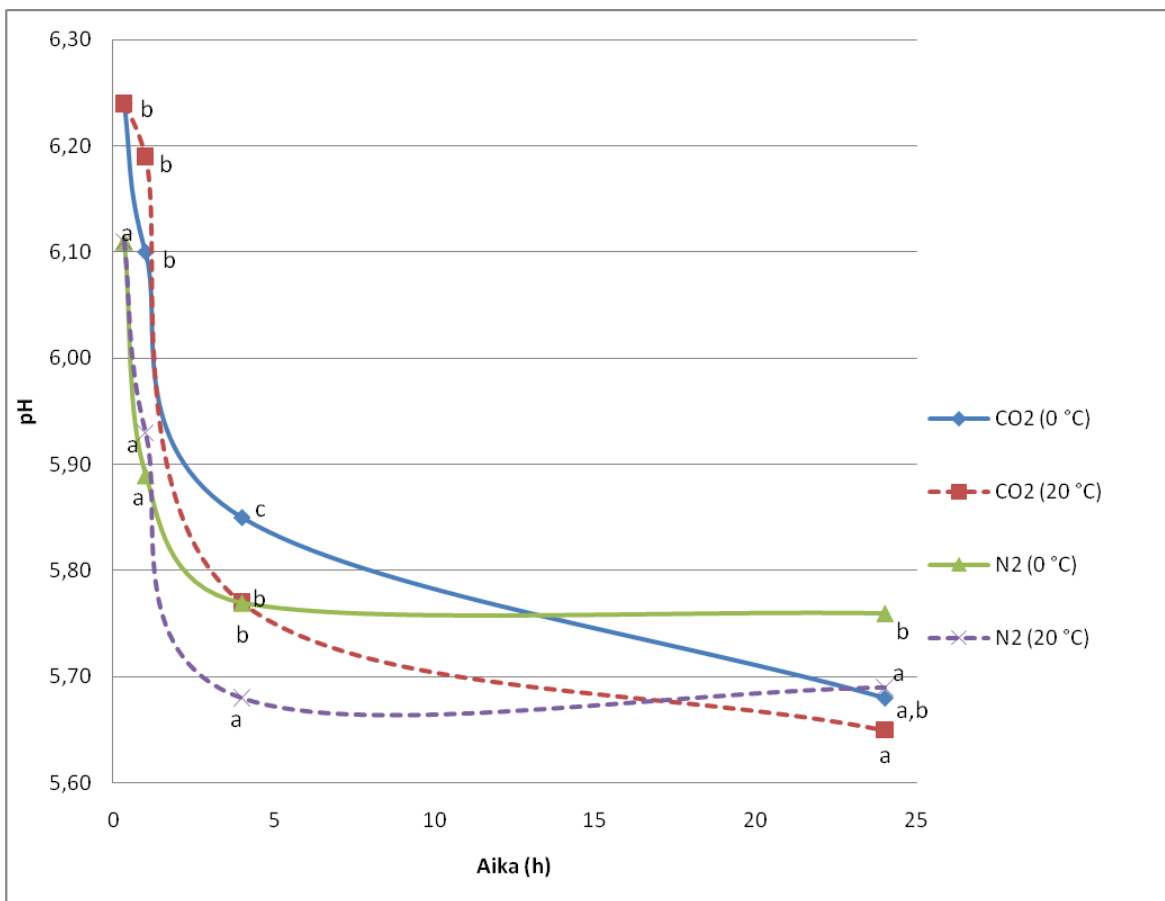
Eri jäähdytysnopeudet. Ruhoista 20 minuutin kuluttua teurastuksesta irtileikatut rintalihasnäytteet, jotka jäädytettiin 0 °C:n lämpötilassa, saavuttivat jo 40 minuutissa alle 10 °C:n lämpötilan, ja neljän tunnin jälkeen lämpötila oli selvästi vakiinnuttanut tavoitellun alle 4 °C:n lämpötilan (kuva 6). Kuvassa 7 on esitetty pH:n muutos 0 °C:n ja



20 °C:n lämpötiloissa jäädytetyissä rintalihasnäytteissä. Jäähdytyslämpötilalla oli vaikutusta pH-arvoihin neljän tunnin jälkeen ( $p < 0,01$ ) sekä vuorokauden kuluttua ( $p < 0,05$ ), mutta tunnin jälkeen pH-arvoissa ei vielä ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ( $p > 0,05$ ). Käytetyllä tainnutuskaasulla ja jäähdytyslämpötilalla ei ollut yhteisvaikutusta pH-arvoon millään ajanhetkellä. Vaikka pH-arvoissa ei havaittu merkitsevää eroa tunnin kuluttua, sekä hiilidioksidilla että työllä tainnutettaessa pH oli tällöin jonkin verran matalampi 0 °C:n lämpötilassa jäädytetyissä näytteissä kuin 20 °C:n lämpötilassa jäädytetyissä näytteissä. Neljän tunnin ja 24 tunnin kuluttua pH oli kuitenkin matalampi korkeammassa lämpötilassa jäädytetyissä näytteissä.



Kuva 6. Kalkkunan rintalihaksesta leikattujen, 0 °C:n ja 20 °C:n lämpötiloissa jäädytettyjen näytteiden (n=9) lämpötila ajan funktiona.



Kuva 7. Hiilidioksidilla (n=9) ja typellä (n=9) tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten pH ajan funktiona kahdessa eri jäädytyslämpötilassa. Tilastollisesti merkitsevät erot ( $p < 0,05$ ) eri tainnutuskaasujen ja jäädytyslämpötilojen välillä on merkitty eri kirjaimin (a,b,c).

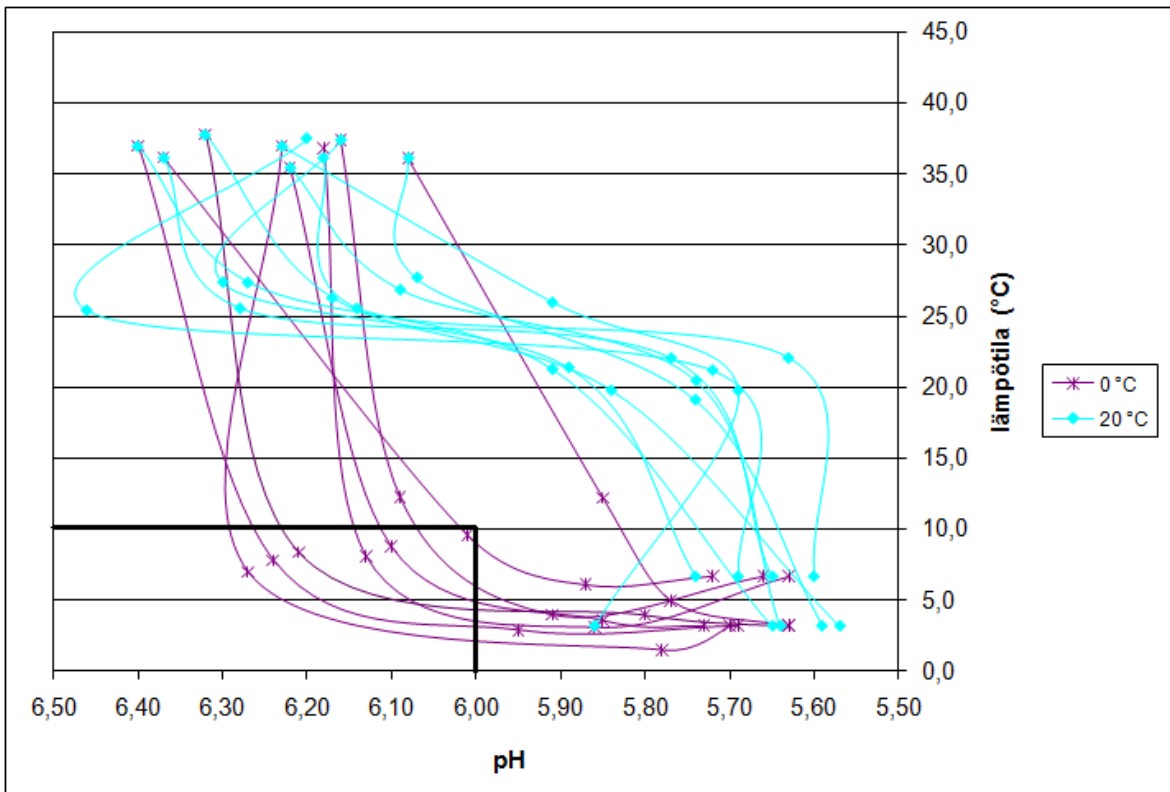
Taulukossa 10 on esitetty pH:n laskunopeus typellä ja hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksista leikatuissa näytteissä, jotka jäädytettiin joko 0 °C:n tai 20 °C:n lämpötilassa. Kaksisuuntaisen varianssianalyysin mukaan käytetyllä tainnutuskaasulla oli vaikutusta pH:n laskunopeuteen ensimmäisen tunnin aikana ( $p < 0,05$ ). Tunnin ja neljän tunnin välillä sekä tainnutustapa että jäädytyslämpötila vaikuttivat merkitsevästi pH:n laskunopeuteen ( $p < 0,01$ ). Kummallakaan aikavälillä tainnutustavalla ja jäädytyslämpötilalla ei ollut yhdysvaikutusta.

Taulukko 10. pH:n laskunopeus typellä (n=9) ja hiilidioksidilla (n=9) tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksista leikatuissa näytteissä mittausajankohtien välillä eri jäädytyslämpötiloja käytettäessä.

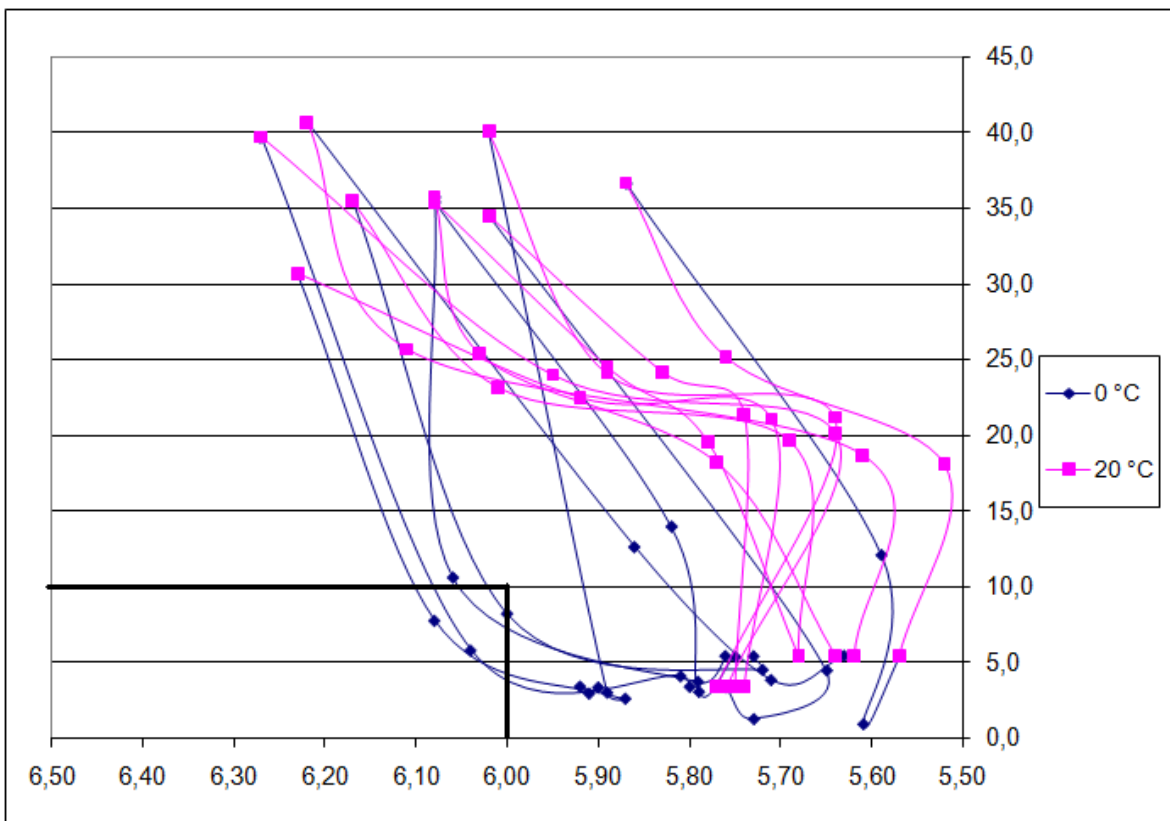
	pH:n muutos rintalihaksessa (pH yksikköä/h)							
	CO <sub>2</sub>				N <sub>2</sub>			
	0 °C		20 °C		0 °C		20 °C	
Aika teurastuksesta	μ	SEM	μ	SEM	μ	SEM	μ	Σ
20 min – 1 h	0,21	0,06	0,08	0,09	0,33	0,06	0,27	0,14
1 h – 4 h	0,08 <sup>b</sup>	0,01	0,14 <sup>b</sup>	0,02	0,04 <sup>a</sup>	0,02	0,09 <sup>b</sup>	0,04

<sup>a,b</sup> riveillä eri kirjaimin merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan (p<0,05).

Koska pH:n lasku oli aluksi nopeampaa typellä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksissa kuin hiilidioksidilla tai kaksivaiheisella kaasuseoksella tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksissa, laskivat myös pH ja lämpötila eri tavalla suhteessa toisiinsa näiden tainnutustapojen välillä. Kuvassa 8 on esitetty hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden ja kuvassa 9 typellä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten lämpötilan lasku suhteessa pH:n laskuun. Typellä tainnutetuilla kalkkunoilla rintalihasten pH laski 0 °C:n lämpötilassa jäädytetyissä näytteissä hyvin alas jo ennen kuin liha ehti jäähtyä 10 °C:n lämpötilaan, kun taas hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden kohdalla 0 °C:n lämpötilassa jäädytettyjen rintalihasnäytteiden pH oli kaikissa tapauksissa vielä yli 6, kun näytteet saavuttivat 10 °C:n lämpötilan. Kuviin 8 ja 9 rajattu alue 10 °C:n lämpötilan ja pH 6,0:n väliin valittiin Hannulan ja Puolanteen (2004), Dransfieldin (1994a) ja Marshin ja Leetin tutkimustulosten mukaan. Hannula ja Puolanne (2004) totesivat, että naudalla pH:n on laskettava alle 5,7, ennen kuin lämpötila laskee alle 7 °C:n kylmäsupistumisriskin välttämiseksi. Dransfieldin (1994a) mukaan vastaavat arvot olivat 10 °C:n lämpötila ja pH 6,2 sekä Marshin ja Leetin (1966) mukaan 10 °C:ta ja pH 6,0. Yksittäisten kalkkunoiden pH-arvot ja lämpötilat eri ajanhetkinä sekä lihan laatua kuvaavat mittaustulokset on koottu liitteisiin 2, 3 ja 4.



Kuva 8. Lämpötilan ja pH:n lasku teurastuksen jälkeen hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden (n=9) rintalihaksissa 0 °C:n ja 20 °C:n lämpötiloissa jäädytetyillä näytteillä.



Kuva 9. Lämpötilan ja pH:n lasku teurastuksen jälkeen tyypellä tainnutettujen kalkkunoiden (n=9) rintalihaksissa 0 °C:n ja 20 °C:n lämpötiloissa jäädytetyillä näytteillä.

### 3.3.3 Glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet

Rintalihasten glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet eivät eronneet merkitsevästi eri kaasuilla tainnutettujen kalkkunoiden välillä 20 minuutin kuluttua verenlaskusta (taulukko 11). Pohjelihaksissa laktaattipitoisuus oli suurempi tyypellä tainnutetuilla kalkkunoilla kuin kaksivaiheisella hiilidioksiditainnutuksella tainnutetuilla kalkkunoilla. Laktaattipitoisuus ei korreloinut eri ajankohtina mitattujen pH-arvojen välillä.

Taulukko 11. Kalkkunan rinta- ja pohjelihasten glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet 20 minuuttia teurastuksen jälkeen, kun kalkkunoiden tainnutukseen käytettiin eri kaasuja.

	CO <sub>2</sub> (n=9)		N <sub>2</sub> (n=9)		Kaksivaiheinen (n=8)	
	μ	SEM	μ	SEM	μ	SEM
Glykogeenipitoisuus (μmol/g)						
Rintalihas	39	3	31	2	37	3
Pohjelihas	65	3	72	5	65	5
Maitohappopitoisuus (μmol/g)						
Rintalihas	66	2	71	3	61	3
Pohjelihas	21 <sup>a,b</sup>	3	27 <sup>b</sup>	1	19 <sup>a</sup>	2

<sup>a,b</sup> riveillä eri kirjaimin merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan (p<0,05)

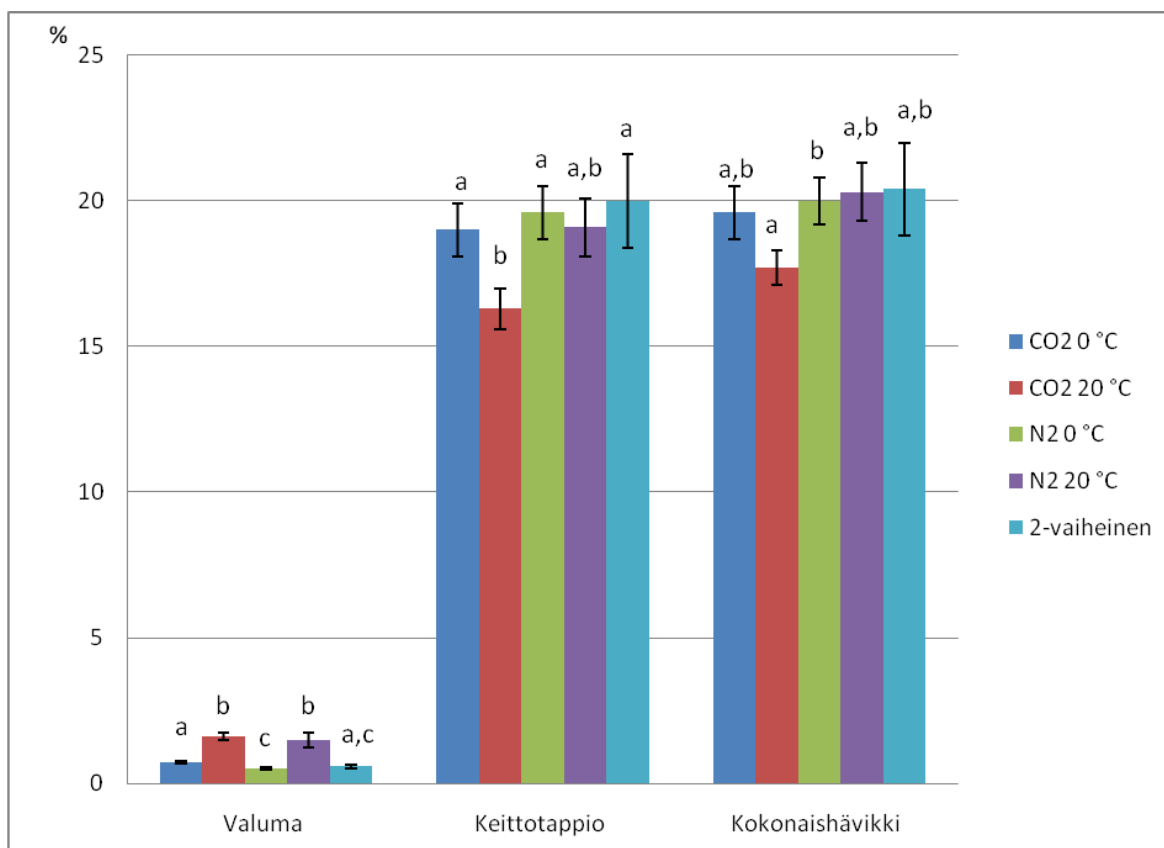
Taulukossa 12 on esitetty kalkkunoiden rinta- ja pohjelihasten glykolyttiset potentiaalit. Koska glykolyttinen potentiaali kuvaa lihaksen glykogeenipitoisuutta teurastushetkellä (Monin ja Sellier 1985), glykogeenipitoisuus oli teurastushetkellä tämän perusteella suurempi pohjelihaksissa kuin rintalihaksissa (p<0,05).

Taulukko 12. Rinta- ja pohjelihasten glykolyttinen potentiaali

	Glykolyttinen potentiaali (μmol laktaattia/g)					
	CO <sub>2</sub> (n=9)		N <sub>2</sub> (n=9)		Kaksivaiheinen (n=8)	
	μ	SEM	μ	SEM	μ	SEM
rintalihas	144	6	133	6	136	5
pohjelihas	151	6	171	10	148	8

### 3.3.4 Valuma ja kypsennyshävikki

Kuvassa 10 on esitetty eri kaasuilla tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksesta tapahtunut valuma- ja kypsennyshävikki sekä näiden muodostama kokonaishävikki, kun näytteet jäädytettiin 0 °C:n ja 20 °C:n lämpötiloissa. Tainnutuskaasulla ei ollut vaikutusta mihinkään näistä lihan laatuun vaikuttavista ominaisuuksista ( $p > 0,05$ ). Jäähdytyslämpötilalla sen sijaan oli vaikutusta valumaan ( $p < 0,01$ ): 20 °C:n lämpötilassa jäädytetyissä näytteissä oli suurempi valuma kuin 0 °C:n lämpötilassa jäädytetyissä. Mitä matalampi oli rintalihaksen loppu-pH (4 h ja 24 h *post mortem*), sitä suurempi oli valuma ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,05$ ) ja kokonaishävikki ( $r = -0,31$ ;  $p < 0,05$ ).



Kuva 10. Kalkkunanlihan valuma, keittotappio ja kokonaishävikki eri tainnutuskaasuja ja jäähdytyslämpötiloja käytettäessä. Saman mittausominaisuuden eri kirjaimilla merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan ( $p < 0,05$ ). Hajontaviivat kuvavat keskiarvojen keskivirheitä.

### 3.3.5 Mureus

Taulukossa 13 on esitetty eri kaasuilla tainnutettujen ja eri lämpötiloissa jäädytettujen kalkkunanrintalihasnäytteiden mureusarvot kypsennyksen jälkeen. Vaikka kaksisuuntaisen varianssianalyysin perusteella tainnutuskaasulla tai lämpötilalla ei ollut merkitsevää vaikutusta mureuteen, parittaisen t-testin mukaan hiilidioksidilla tainnutetuilla kalkkunoilla rintalihas oli sitkeämpää 0 °C:n kuin 20 °C:n lämpötilassa jäädytetyillä näytteillä. Myös kaksivaiheisella seoskaasulla tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksista leikatut näytteet olivat sitkeämpiä kuin 20 °C:n lämpötilassa jäädytetyt, hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden rintalihaksista leikatut näytteet. Nopeasti, kylmässä lämpötilassa jäädytetyt näytteet olivat näin ollen jonkin verran sitkeämpiä kuin hitaammin, korkeammassa lämpötilassa jäädytetyt näytteet. Typellä tainnutettaessa ero eri jäädytyslämpötilojen välillä oli kuitenkin pieni.

20 minuuttia teurastuksen jälkeen mitatun pH-arvon ja leikkausvoiman välillä havaittiin positiivinen korrelaatio ( $r = 0,40$ ;  $p < 0,01$ ). Kaiken kaikkiaan mureusmäärittelyssä hajonnat näytteiden välillä olivat melko suuret.

Taulukko 13. Tainnutuskaasun ja jäädytyslämpötilan vaikutus kalkkunanrintan mureuteen

Tainnutus- kaasu	Jäädytys- lämpötila	n	Leikkausvoima, Allo-Kramer (N/g)	SEM
CO <sub>2</sub>	0 °C	9	210 <sup>a</sup>	30
	20 °C	9	130 <sup>b,c</sup>	30
N <sub>2</sub>	0 °C	9	140 <sup>a,c</sup>	30
	20 °C	9	120 <sup>a,c</sup>	30
kaksivaiheinen	0 °C	8	190 <sup>a</sup>	30

<sup>a,b,c</sup> sarakkeissa eri kirjaimin merkityt arvot eroavat merkitsevästi toisistaan ( $p < 0,05$ ).

### 3.4 POHDINTA

#### 3.4.1 pH:n lasku teurastuksen jälkeen

Samoin kuin aiemmissa tutkimuksissa inerteillä kaasuilla argonilla (Raj ym. 1990b; Gerritzen ym. 2000; Abeysinghe ym. 2007) ja typellä (Poole ja Fletcher 1995) tainnutetuilla kalkkunoilla on havaittu, myös tässä tutkimuksessa pH laski selvästi nopeimmin typellä tainnutettujen kalkkunoiden lihaksissa. Kouristukset olivat voimakkaimpia typellä tainnutettaessa, mikä todennäköisesti johti nopeaan glykolyysiin ja nopeaan pH:n laskuun heti teurastuksen jälkeen. Samanlaisia havaintoja inerttien kaasujen aiheuttamien kouristusten vaikutuksista havaitsivat myös Raj ja Gregory (1991) sekä Raj ym. (1991; 1992).

Mitchell ja Sandercock (1995) totesivat kanoilla tekemässään tutkimuksessa, että 99 % kreatiinikinaasista (CK) on peräisin lihaksista. Tämän perusteella voidaan olettaa tainnutuksen yhteydessä tapahtuvan CK-pitoisuuden nousun kertovan tainnutuksen aikaisten lihaskouristusten voimakkuudesta. CK-pitoisuuksien muutoksia tainnutuksen yhteydessä selvitettiin laajemmassa tutkimuksessa (Ylä-Ajos ym., julkaisematon aineisto), johon tämäkin tutkimus kuuluu. Siinä todettiin, että typellä tainnutettujen kalkkunoiden CK-pitoisuus kohosi merkittävästi enemmän kuin hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden ( $p < 0,05$ ). Kaksivaiheisella menetelmällä tainnutettujen lintujen CK-pitoisuuden muutos ei eronnut hiilidioksidilla tainnutetuista linnuista, mutta oli olemassa tendenssi eroista kaksivaiheisen menetelmän ja typpitainnutuksen välillä ( $p < 0,1$ ).

Inerttien kaasujen aiheuttamaa hyvin nopeaa pH:n laskua ei voida täysin selittää voimakkailla kouristuksilla, sillä muissakin tainnutusmenetelmissä on havaittu voimakkaita kouristuksia ilman yhtä nopeaa pH:n laskua. Raj'n (1999) mukaan argon saattaakin solutasolla käynnistää ATP:n hajoamisen ja näin ollen kiihdyttää anaerobista glykolyysiä. Voimakas pH:n lasku liittyy todennäköisesti läheisesti inerttien kaasujen happea syrjäyttävään vaikutukseen. Koska happea ei ole käytettävissä aerobisen energia-aineenvaihdunnan ylläpitämiseksi, anaerobinen glykolyysi käynnistyy voimakkaana jo tainnutusvaiheessa anoksisten kouristusten kiihdyttämänä (Lutz ja Nilsson 1997; Sato ym. 2002).



Glykogeenia pilkkova fosforylaasi voi olla joko aktiivisessa (*a*) tai inaktiivisessa (*b*) muodossa (Scopes 1974). Sähköstimulaation aiheuttama lihaksen supistuminen aktivoi fosforylaasi *a* -entsyymiä (Villar-Palasi ja Wei 1970), ja sama vaikutus saattaisi olla voimakkailla kouristuksilla tyypitainnutuksen yhteydessä. Ren ja Hultman (1990) totesivat kuitenkin, ettei pelkkä fosforylaasi *b*:n muuttuminen aktiiviseksi fosforylaasi *a*:ksi riittänyt selittämään lihassupistumisen aikana tapahtuvaa glykogeenin pilkkoutumista.

Ylä-Ajos (2006) totesi fosforylaasiaktiivisuuden olevan korkea siipikarjan lihaksissa, mikä ennustaa korkeaa glykolyyttistä aktiivisuutta ja sitä kautta nopeaa teurastuksen jälkeistä pH:n laskua. Mielenkiintoista siipikarjan lihasten pH:n laskussa on erityisesti se, että pH:n laskun, puskurikyvyn ja laktaattipitoisuuden laskennallinen ja mitattu suhde eivät täsmää samoin kuin sian ja naudan kohdalla (Kivikari 1996). Kivikari (1996) totesi, että broilereiden lihaksista mitatuista laktaattipitoisuuksista 60–70 %:n olisi teoreettisesti pitänyt riittää laskemaan pH mitatun verran. Siipikarjan lihasten teurastuksen jälkeisen metabolian selvittäminen vaatiikin lisätutkimuksia.

Taulukkoon 14 on koottu eri tutkimuksista peräisin olevaa tietoa kalkkunoiden lihasten teurastuksen jälkeisestä pH:n laskusta. pH:n lasku teurastuksen jälkeen vaihtelee selvästi eri tutkimusten välillä. Koska teurastusta edeltävä käsittely, teurastusprosessit sekä teurastuksen jälkeiset prosessit vaikuttavat pH:n laskuun, ja lisäksi yksittäisten kalkkunoiden välillä on suurta vaihtelua, on kalkkunanlihassa tapahtuvasta pH:n laskusta vaikea vetää kokoavia johtopäätöksiä. Tässä tutkimuksessa loppu-pH:t olivat matalia verrattuna taulukossa 14 esitettyihin loppu-pH-arvoihin, mikä voi johtua kalkkunoiden kokemasta hyvin vähäisestä stressistä teurastusta edeltävänä aikana. Kuljetuksen ja paaston puuttuminen sekä hellävarainen käsittely vähensivät todennäköisesti lintujen kokemaa stressiä, jolloin glykogeenivarastot olivat vielä täynnä ennen teurastusta. Typellä tainnutettujen kalkkunoiden lihasten pH laski taulukon arvoihin verrattuna nopeasti. Samoin 20 minuuttia teurastuksen jälkeen ruhoista irtileikattujen lihasten pH:t laskivat nopeasti. Toisaalta Man ja Addiksen (1973), Wynveenin ym. (1999) ja Hänschin ym. (2009) tutkimuksissa pH:n lasku oli niin ikään nopeata.

Teurastuksen jälkeinen pH:n lasku oli jonkin verran nopeampaa pohjelihaksissa kuin rintalihaksissa, mihin vaikutti todennäköisesti paljon se, että pohjelihaksissa alkupH oli korkeampi ja pH:n lasku kokonaisuudessaan suurempi. Pohjelihasten rintalihaksia

hitaampi lämpötilan lasku saattaa myös selittyä voimakkaammalla glykolyysillä, joka on lämpöä tuottava reaktio.

Taulukko 14. Teurastuksen jälkeinen pH:n lasku kalkkunaa lihaksissa aiempien tutkimusten mukaan

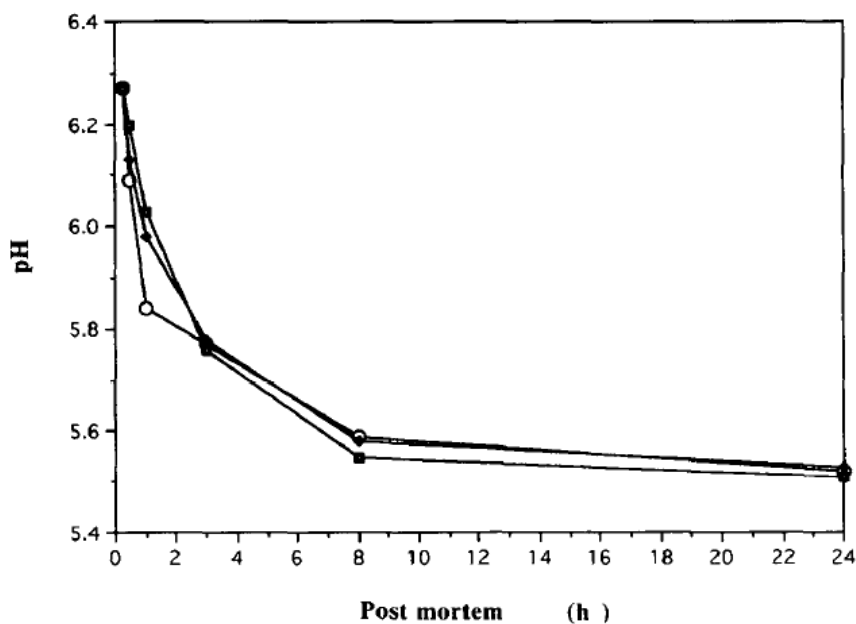
Tutkimus	Lihaks	Tainnutus- tapa	pH, <i>post mortem</i>					Huom.
			20 min	1 h	2 h	4 h	24 h	
Ma ja Addis (1973)	<i>M. pectoralis superficialis</i>		6,0	5,9				kouris- tuksia
	<i>M. pectoralis superficialis</i>		5,8	5,8				
Van Hoof (1979)	<i>M. pectoralis superficialis</i>	sähkö	6,4	6,4		6,2	6,3	
Wakefield (1989)	<i>M. pectoralis superficialis</i>		6,5				5,7	sähkö- stimu- loitu
	<i>M. pectoralis superficialis</i>		6,1				5,8	
McKee ja Sams (1997) *	<i>M. pectoralis superficialis</i>	ei tainnutusta	6,2		6,1		6,0	lämpö- stressi
	<i>M. pectoralis superficialis</i>	ei tainnutusta	6,0		5,9		5,8	
Wynveen ym. (1999)	<i>M. pectoralis superficialis</i>	vesisähkö	5,9		5,9	5,8		
Fernandez ym. (2001)	<i>M. pectoralis superficialis</i>		6,4	6,2			5,7	
	<i>Ilio Tibialis</i>		6,5	6,3			5,9	
Virtanen (2003)	<i>M. pectoralis superficialis</i>	vesisähkö	6,7	6,6	6,5	6,2	5,8	
Wichman ym. (2008),	<i>M. pectoralis superficialis</i>	vesisähkö	6,7				5,8	
	<i>M. quadriceps femoris</i>	vesisähkö	6,6				6,2	
Hänsch ym. (2009)	<i>M. pectoralis superficialis</i>	CO <sub>2</sub>		6,0			5,8	
	<i>M. pectoralis superficialis</i>	CO <sub>2</sub> + Ar		5,8			5,8	
	<i>M. gastrocnemius/</i>	CO <sub>2</sub>		6,4			6,2	
	<i>M. fibularis longus</i>							
	<i>M. gastrocnemius/</i>	CO <sub>2</sub> + Ar		6,2			6,2	
<i>M. fibularis longus</i>								

\* pH-arvot luettu kuvaajasta

### 3.4.2 Jäähdytyksen vaikutus pH:n laskuun

pH:n lasku eri jäähdytyslämpötiloissa käyttäytyi hyvin samalla tavalla kuin Lesiakkin ym. (1996) tutkimuksessa (kuva 11). Lesiakkin ym. (1996) tutkimuksessa loppu-pH:t olivat niin ikään hyvin matalia verrattuna taulukon 14 arvoihin, samalla tavoin kuin tässä tutkimuksessa. Myös Honikelin ym. (1981) naudoilla tekemässä tutkimuksessa pH:n

laskukäyrät olivat hyvin samanmuotoiset, vaikka pH-arvot luonnollisesti laskivat hyvin paljon nopeammin kalkkunan kuin naudan lihaksissa. Jäähdytettäessä näytteitä 0 °C:n lämpötilassa pH:n lasku oli aluksi nopeampaa, mutta loppu-pH jäi korkeammaksi kuin 20 °C:n lämpötilassa jäähdytetyissä näytteissä. Bendall (1975) ja Honikel ym. (1981) totesivat nopean pH:n laskun johtuvan matalan lämpötilan aikaansaamasta sarkoplasmaattisessa kalvoverkostossa olevien kalsiumpumppujen inaktivaatiosta sekä sarkoplasmaattisen kalvoverkoston tai mitokondrioiden  $\text{Ca}^{2+}$ -ionien läpäisevyyden kasvusta. Tämä  $\text{Ca}^{2+}$ -ionien vapautuminen ATP-tason vielä ollessa melko korkea aikaansaa lihasten supistumisen ennen *rigor mortista* (Newbold ja Tume 1977). Tämä on yleistä erityisesti hitaissa, oksidatiivisissa lihaksissa (Bendall 1975), mutta myös siipikarjalla on havaittu vastaavanlaisia tapauksia (Virtanen 2003).



Kuva 11. pH:n lasku teurastuksen jälkeen kalkkunan rintalihaksessa (Lesiak ym. 2001).

Honikel ym. (1981) ja Winger ym. (1979) totesivat naudan kohdalla pH:n laskun olevan nopeata vain ensimmäisten tuntien ajan, minkä jälkeen pH:n lasku oli hitaampaa. Samanlaisia tuloksia saatiin myös tässä tutkimuksessa, kun 0 °C:n lämpötilassa jäähdytetyt lihat olivat saavuttaneet loppu-pH:n neljän tunnin kohdalla. 20 °C:n lämpötilassa jäähdytetyillä näytteillä pH:n lasku sen sijaan jatkui vielä tämänkin jälkeen. Ylä-ajos (2006)

totesi GDE-aktiivisuuden olevan heikko alle 15 °C:n lämpötilassa, mikä selittäisi matalassa lämpötilassa jäädytettyjen lihojen hidastuneen pH:n laskun myöhemmässä vaiheessa.

### 3.4.3 Glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet

Glykogeeni- ja laktaattipitoisuudet eivät eronneet eri tainnutusmenetelmien välillä muuten, kuin että tyypellä tainnutettujen kalkkunoiden pohjelihasten laktaattipitoisuus oli suurempi kuin kaksivaiheisella kaasuseoksella tainnutetuilla kalkkunoilla. Pohjelihasten glykogeenipitoisuudet olivat hyvin korkeat, kun vertaa aiemmissa tutkimuksissa määritettyihin arvoihin: Fernandezin ym. (2001) tutkimuksessa pohjelihasten glykogeenipitoisuus oli 45–55  $\mu\text{mol/g}$  geenityypistä riippuen ja Wichmanin ym. tutkimuksessa (2008) pohjelihasten glykogeenipitoisuudet olivat vain 25  $\mu\text{mol/g}$ . Koska rintalihasten glykogeenipitoisuudet vaikuttavat olevan oikeaa suuruusluokkaa, määrittäessä tehtiäessä pidettiin valvontakorttia ja hajonta mittausten välillä ei ollut kovin suuri, ei määrittäyksissä tapahtunut tämän suuruusluokan virhe ole todennäköinen vaihtoehto.

Teurastusolosuhteet poikkesivat hyvin paljon tavallisista teurastusolosuhteista, koska teurastukseen ei liittynyt kuljetusta. Kuljetuksessa kalkkunat makaavat jalkojensa päällä ja joutuvat jännittämään niitä, jotta pysyvät tärisevässä kuljetusautossa paikallaan. Kuljetustapahtuma on muutenkin pelottava eläimille, jolloin kuljetuksen aikana todennäköisesti pilkkoutuu glykogeenia. Samoin sähkötaimnutuksessa jaloista roikkuminen aiheuttaa räsitystä jalkalihaksille. Koska Wichmanin ym. (2008) tutkimus käsitteli nimenomaan kalkkunoiden kuljetusta, saattavat tässä tutkimuksessa pohjelihaksista mitatut korkeat glykogeenipitoisuudet johtua kuljetuksen puuttumisesta. Tämän tutkimuksen tarkoitus oli löytää sopiva tainnutusmenetelmä pienteurastamo-olosuhteisiin, joten kuljetuksen puuttuminen oli tutkimusnäkökulman kannalta perusteltu vaihtoehto.

Vaikka Monienin ja Sellierin (1985) mukaan glykolyttinen potentiaali kuvaa lihasten glykogeenipitoisuutta teurastushetkellä, ei GP-arvojen tulkitseminen tässä tutkimuksessa ole välttämättä yhtä yksiselitteistä. Kaasutainnutus kestää muita tainnutusmenetelmiä kauemmin, ja tainnutuksen aikana laktaattia siirtyy lihaksista vereen. Näin ollen tilanne teurastushetkellä on erilainen kuin nopean tainnutuksen jälkeen.

### 3.4.4 Tainnutuskaasun ja jäähdytyskäsittelyn vaikutus lihan laatuun

20 °C:n lämpötilassa jäähdytetyillä näytteillä valuma oli suurempi ja loppu-pH laski matalammaksi kuin 0 °C:n lämpötilassa jäähdytetyillä näytteillä. Koska loppu-pH korreloi negatiivisesti valuman kanssa, voidaan olettaa korkeamman lämpötilan aiheuttamalla matalalla loppu-pH:lla olleen vaikutusta vedensidontakyvyn heikkenemiseen. Myös Wynveen ym. (1999) totesivat matalamman loppu-pH:n aiheuttavan suuremman valumahävikin, kun valuma oli 1,75 % loppu-pH:n ollessa <5,70 ja 0,8 % loppu-pH:n ollessa  $\geq 5,70$ . Valumahävikin suuruusluokkakin vastaa näin ollen tämän tutkimuksen tuloksia. Syynä suurempaan valumahävikkiin ei kuitenkaan todennäköisesti ole vain matala loppu-pH, vaan rintalihaksessa tapahtunut teurastuksen jälkeinen nopea pH:n lasku lihaksen lämpötilan vielä ollessa korkea on voinut aiheuttaa proteiinien denaturoitumista ja sitä kautta vedensidontakyvyn heikkenemistä (Honikel ja Kim 1986; Dransfield 1994b; Choe 2009).

Hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden kohdalla 0 °C:n lämpötilassa jäähdytetyt lihat olivat merkittävästi sitkeämpiä kuin 20 °C:n lämpötilassa jäähdytetyt, kun taas tyypellä tainnutettujen kalkkunoiden kohdalla ei vastaavaa eroa havaittu. Dransfieldin (1994a) mukaan lihaksen lämpötila ei saisi laskea alle 10 °C:n ennen kuin lihaksen pH laskee arvoon 6,2, ja Marshin ja Leetin (1966) mukaan vastaava pH-arvo on 6,0. Virtanen (2003) tutki kylmäsitkistymistä vastaavasti 7 °C:n lämpötilan ja pH-arvon 6,1 yhdistelmällä ja havaitsi lihan olevan jonkin verran sitkeämpää, mikäli lämpötila laski 7 °C:n lämpötilaan pH:n ollessa vielä 6,1. Kuvien 8 ja 9 perusteella voidaankin olettaa, että tyypellä tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten nopea pH:n lasku esti osittain 0 °C:n lämpötilassa jäähdytettyjen näytteiden kylmäsitkistymisen. Hiilidioksidilla tainnutettujen kalkkunoiden rintalihasten lämpötila sen sijaan ehti 0 °C:ssa jäähdytetyillä näytteillä laskea alle 10 °C:n lämpötilaan pH:n ollessa vielä riittävän korkea muodostamaan kylmäsupistumisriskin. Kun tarkasteltiin erikseen kuvassa 8 kylmäsupistumisalueen läpi kulkeneita näytteitä, havaittiin, että ainoastaan näyte, jossa lämpötila oli laskenut 5,8 °C:seen pH:n vielä ollessa 6,08, oli selvästi sitkeämpi kuin muut näytteet (liite 3). Tämä havainto tukee Hannulan ja Puolanteen (2004) saamia tuloksia naudanlihan kohdalla. He totesivat lihan sitkistyvän, mikäli lämpötila laskee alle 7 °C:n ennen kuin pH on laskenut arvoon 5,7. Tyypellä tainnutaminen mahdollistaisikin tämän perusteella nopean jäähdytyksen, niin kuin Raj ym. (1991) jo aiemmin olettivat. Nopean jäähdytyksen etuja olisivat mikrobin kasvun hidastaminen sekä tässä tutkimuksessa havaittu valumahävikin väheneminen. Tyypellä

tainnuttamisen saattaa kuitenkin aiheuttaa nopean pH:n laskun vuoksi PSE-lihaisuuden riskin, mikäli jäähditys viivästyy. Tässä tutkimuksessa ei havaittu eroja 20 °C:n lämpötilassa jäähdytetyillä näytteillä lihan laadun suhteen tainnutuskaasujen välillä. Mikäli toinen jäähdityslämpötila olisi ollut korkeampi, olisi eroja mahdollisesti saatu näkyviin. Koska tutkimuksessa jäähdytettiin leikattuja lihaspaloja eikä kokonaisia ruhoja, vastasivat molemmat jäähdityskäsittelyt nopeita jäähdytyksiä. Kun verrataan jäähtymisnopeuksia Alvaradon ja Samsin (2004) sekä Virtasen (2003) kokoruhoilla tehtyjen tutkimusten tuloksiin, havaitaan 0 °C:ssa jäähdyttämisen vastaavan kokoruhoilla ultranopeaa ja 20 °C:ssa jäähdyttämisen nopeaa jäähdytystä.

### **3.4.5 Kaasutainnutuksen käytön mahdollisuudet pienteurastamoissa**

Kahdessa kalkkunoiden pienteurastamossa on Suomessa ollut käytössä hiilidioksiditainnutus, ja niissä oli oltu hyvin tyytyväisiä kyseiseen menetelmään. Tapa, jolla tässä tutkimuksessa kaasutainnutus suoritettiin, olisi kuitenkin melko hankalasti toteutettavissa pienteurastamoissa, koska tainnutustapahtuma vaatii useamman henkilön työskentelyä. Typellä tainnutettaessa kouristukset olivat lisäksi hyvin voimakkaita, ja myös tämän vuoksi menetelmä olisi teknologisesti vaikeasti sovellettavissa pienteurastamoihin ilman lisäkustannuksia tuovan, tarkoitukseen soveltuvan laitteen kehittämistä. Useassa teurastamossa oli jäähditysmenetelmänä käytössä 0 °C:n lämpöinen vesi, jolloin typellä tainnuttamisen ehkäisisi kylmäsupistumisen riskiä. Toisaalta taas pienteurastamoissa jäähditys voi helposti viivästyä, jolloin typellä tainnutettaessa muodostuisi PSE-lihaisuuden riski nopean pH:n laskun vuoksi. Lisäksi kaltaus, kynintä, suolistus ja muut teurastusprosessit hidastavat joka tapauksessa jäähdytyksen aloittamista tähän tutkimukseen verrattuna.

Tässä tutkimuksessa referenssinä käytettiin kaksivaiheista tainnutusta, joka on käytössä suuremman mittakaavan teurastamoissa. Jatkotutkimuksiin olisi mielenkiintoista lisäksi ottaa mukaan pienteurastamoissa nykyisin yleisesti käytössä olevat tainnutusmenetelmät, sähkötainnutus ja mekaaninen tainnutus, jolloin nähtäisiin mahdolliset erot kaasutainnutuksen ja nykyisin käytössä olevien menetelmien välillä.

## 4 PÄATELMÄT

Kaasutainnutuksen soveltaminen pienteurastamoihin vaatii kehitystä, sillä kokeen suorittamalla tavalla se on vielä melko hankalasti toteutettavissa. Sekä hiilidioksidi että typpi ovat kuitenkin varteenotettavia vaihtoehtoja lihan laadun kannalta. Vaikka typpi aiheutti voimakkaita kouristuksia ja sitä kautta nopean pH:n laskun teurastuksen jälkeen, ei valuman, keittotappion ja mureuden perusteella voida todeta nopean pH:n laskun vaikuttaneen lihan laatua heikentävästi. Typpellä tainnutaminen näyttäisi mahdollistavan nopean jäähtymisen ilman kylmäsupistumisen riskiä. Hiilidioksiditainnutuksessa pH:n lasku oli hyvin samankaltainen kuin kaksivaiheisessa tainnutusmenetelmässä, ja hiilidioksidi voisi näin ollen soveltua hyvin kalkkunoiden kaasutainnutukseen. Hiilidioksidi on kuitenkin suurissa pitoisuuksissa epämiellyttävä hengittää, ja lisäksi hiilidioksidilla tainnutettaessa liian nopea jäähtyminen sitkistyi lihaa.

Jäähtymisnopeus vaikutti tainnutuskaasuvalintaa enemmän lihan laatuun. 0 °C:n lämpötilassa pH:n lasku oli aluksi nopeampaa kuin 20 °C:n lämpötilassa, mutta pH:n lasku pysähtyi aiemmin ja loppu-pH jäi korkeammaksi. Valuma oli suurempaa hitaammin jäähtytetyssä lihassa. Nopea jäähtyminen taas sitkistyi lihaa hiilidioksidilla tainnutettaessa.

## LÄHDELUETTELO

Abeyesinghe SM, McKeegan DEF, McLeman MA, Lowe JC, Demmers TGM, White RP, Kranen RW, Van Bommel H, Lankhaar JAC, Wathes CM. 2007. Controlled atmosphere stunning of broiler chickens. I. Effects on behavior, physiology and meat quality in a pilot scale system at a processing plant. *Br Poult Sci* 48(4):406-23.

Alvarado CZ, Richards MP, O'Keefe SF, Wang H. 2007. The effect of blood removal on oxidation and shelf life of broiler breast meat. *Poult Sci* 86:156-61.

Alvarado CZ, Sams AR. 2004. Turkey Carcass Chilling and Protein Denaturation in the Development of Pale, Soft, and Exudative Meat. *Poult Sci* 83:1039-46.

Barbut S. 1993. Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. *Food Res Int* 26:39-43.

Barbut S. 1996. Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat. *Can J Anim Sci* 76:455-7.

Barbut S. 1997. Problem of pale, soft exudative meat in broiler chickens. *Br Poult Sci* 38(4):355-8.

Barbut S, Sosnicki AA, Lonergan SM, Knapp T, Ciobanu DC, Gatcliffe LJ, Huff-Lonergan E, Wilson EW. 2008. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Sci* 79(1):46-63.

Barbut S, Zhang L, Marcone M. 2005. Effects of Pale, Normal, and Dark Chicken Breast Meat on Microstructure, Extractable Proteins, and Cooking of Marinated Fillets. *Br Poult Sci* 84(5):797-802.

Barton Gade P, von Holleben K, von Wenzlawowicz M. 2001a. Fakten sprechen für Gasbetäubung. 1. Mehrphasen (CAS) -Systeme dienen dem Tierschutz und der Produktqualität. *Fleischwirtsch* 11:22-6.

Barton Gade P, von Holleben K, von Wenzlawowicz M. 2001b. Fakten sprechen für Gasbetäubung. 2. Mehrphasen-CAS-Systeme als Alternative zur elektrischen Betäubung im Wasserbad. *Fleischwirtsch* 12:26-9.

Becerril-Herrera M, Alonso-Spilsbury M, Lemus-Flores C, Guerrero-Legarreta I, Olmos-Hernández A, Ramírez-Necoechea R, Mota-Rojas D. 2009. CO<sub>2</sub> stunning may compromise swine welfare compared with electrical stunning. *Meat Sci* 81(1):233-7.

Bendall JR. 1975. Cold-Contracture and ATP-Turnover in the Red and White Musculature of the Pig, *post mortem*. *J Sci Food Agric* 26:55-71.

Bendall JR, Swatland HJ. 1988. A Review of the Relationships of pH with Physical Aspects of Pork Quality. *Meat Sci* 24:85-126.

Berri C, Debut M, Santé-Lhoutellier V, Arnould C, Boutten B, Sellier N, Baéza E, Jehl N, Jégo Y, Duclos MJ, Le Bihan-Duval E. 2005. Variations in chicken meat quality: implications of struggle and muscle glycogen content at death. *Br Poult Sci* 46(5):572-9.

Bilgili SF. 1992. Electrical Stunning of Broilers – Basic Concepts and Carcass Quality Implications: A Review. *J Appl Poult Res* 1(1):135-46.

Bjålie JG, Haug E, Sand O, Sjaastad ØV, Toverud KC. Ihminen – Fysiologia ja anatomia. 1.–3. painos. Helsinki: WSOY. 510 s.

Brown RE, Brain JD, Wang N. 1997. The Avian Respiratory System: A Unique Model for Studies of Respiratory Toxicosis and for Monitoring Air Quality. *Environ Health Perspect* 105(2):188-200.

Cabanac M, Aizawa S. 2000. Fever and tachycardia in a bird (*Gallus domesticus*) after simple handling. *Physiol Behav* 69:541-5.

Choe JH, Choi YM, Lee SH, Nam YJ, Jung YC, Park HC, Kim YY, Kim BC. 2009. The relation of blood glucose level to muscle fiber characteristics and pork quality traits. *Meat Sci* 83(1):62-7.

Coenen A, Smit A, Zhonghua L, Van Luijtelaar G. 2000. Gas mixtures for anaesthesia and euthanasia in broiler chickens. *World's Poult Sci J* 56:225-34.



Cook CJ, Devine CE, Tavener A, Gilbert KV. 1992. Contribution of amino acid transmitters to epileptiform activity and reflex suppression in electrically head stunned sheep. *Res Vet Sci* 52:48-56.

Cori CF, Cori GT. 1929. The mechanism of epinephrine action. IV. The influence of epinephrine on lactic acid production and blood sugar utilization. *J Biol Chem* 84(2):683-98.

Craig EW, Fletcher DL. 1997. A Comparison of High Current and Low Voltage Electrical Stunning Systems on Broiler Breast Rigor Development and Meat Quality. *Poult Sci* 76:1178-81.

Debut M, Berri C, Baéza E, Sellier N, Arnould C, Guémené D, Jehl N, Boutten B, Jégo Y, Beaumont C, Le Bihan-Duval E. 2003. Variation of Chicken Technological Meat Quality in Relation to Genotype and Preslaughter Stress Conditions. *Poult Sci* 82(12):1829-38.

de Jong IC, Sgoifo A, Lambooj E, Korte SM, Blokhuis HJ, Koolhaas JM. 2000. Effects of social stress on heart rate and heart rate variability in growing pigs. *Can J Anim Sci* 80(2):273-80.

Dransfield E. 1994a. Optimisation of tenderization, ageing and tenderness. *Meat Sci* 36:105-21.

Dransfield E. 1994b. Modelling post-mortem tenderization. V. Inactivation of calpains. *Meat Sci* 37:391-409.

Dunn AA, Tolland ELC, Kilpatrick DJ, Gault NFS. 1993. The effect of *post-mortem* temperature on chicken *M. pectoralis major*. Isometric tension and pH profiles. *Br Poult Sci* 34:677-88.

European Council Directive (EC) 93/119. 1993. Official Journal of European Communities, L. 340/21-34. Saatavilla: [http://ec.europa.eu/food/fs/aw/aw\\_legislation/slaughter/93-119-ec\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/aw/aw_legislation/slaughter/93-119-ec_en.pdf).

Fernandez X, Sante V, Baeza E, Lebihan-Duval E, Berri C, Remignon H, Babile R, Le Pottier G, Millet N, Berge P, Astruc T. 2001. *Br Poult Sci* 42:462-9.

FINLEX, eläinsuojeluasetus 7.6.1996/396. 1996. Saatavilla: <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1996/19960396>. Tulostettu 01.02.2010.

Freeman BM, Kettlewell PJ, Manning AC, Berry PS. 1984. Stress of transportation for broilers. *Vet Rec* 114(12):286-7.

Galvin JW, Blokhuis H, Chimbombi MC, Jong D, Wotton S. 2005. Killing of animals for disease control purposes. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 24(2):711-22.

Gault NFS, Burns C, Tolland ELC, Kilpatrick DI. 2000. Effect of some electrical stimulation variables on wing flapping *post-mortem* glycolysis and eating quality characteristics of broiler *Pectoralis major* muscle. *Br Poult Sci* 41:293-9.

Gentle MJ, Tilston VL. 2000. Nociceptors in the legs of poultry: Implications for potential pain in pre-slaughter shackling. *Anim Welf* 9:227-36.

Gerritzen MA, Lambooij E, Hillebrand SJW, Lankhaar JAC, Pieterse C. 2000. Behavioral Responses of Broilers to Different Gaseous Atmospheres. *Poult Sci* 79:928-33.

Gerritzen MA, Lambooij B, Reimert H, Stegeman A, Spruijt B. 2004. On-farm euthanasia of broiler chickens: Effects of different gas mixtures on behavior and brain activity. *Poult Sci* 83:1294-301.

Gerritzen MA, Lambooij E, Reimert HGM, Spruijt BM, Stegeman JA. 2006. Susceptibility of ducks and turkeys to severe hypercapnic hypoxia. *Poult Sci* 85:1055-61.

Gregory NG. 1998. *Animal welfare and meat science*. New York, USA: CABI Publishing. 298 s.

Gregory NG. 2005. Recent concerns about stunning and slaughter. *Meat Sci* 70(3):481-91.

Gregory NG, Wilkins LJ. 1989a. Effect of stunning current on carcass quality in chickens. *Vet Rec* 124(20):530-2.

Gregory NG, Wilkins LJ. 1989b. Effect of stunning current on downgrading in turkeys. *Br Poult Sci* 30(4):761-4.

Gregory NG, Wilkins LJ. 1989c. Effect of ventricular fibrillation at stunning and ineffective bleeding on carcass quality defects in broiler chickens. *Br Poult Sci* 30(4):825-9.

Gregory NG, Wotton SB. 1986. Effect of slaughter on the spontaneous and evoked activity of the brain. *Br Poult Sci* 27:195-205.

Gregory NG, Wotton SB. 1987. Effect of electrical stunning on the electroencephalogram in chickens. *Br Vet J* 143:175-83.

Gregory NG, Wotton SB. 1989. Effect of electrical stunning on somatosensory evoked potentials in chickens. *Br Vet J* 145(2):159-64.

Gregory NG, Wotton SB. 1990a. An evaluation of the effectiveness of hand held stunners for stunning chickens. *The Vet Rec* 126(10):290-1.

Gregory NG, Wotton SB. 1990b. Effect of stunning on spontaneous physical activity and evoked activity in the brain. *Br Poult Sci* 31(1):215-20.

Gregory NG, Wotton SB. 1991a. Effect of a 350 Hz DC stunning current on evoked responses in the chicken's brain. *Res Vet Sci* 50:250-1.

Gregory NG, Wotton SB. 1991b. Effect of electrical stunning on somatosensory evoked responses in the turkey's brain. *Br Vet J* 147(3):270-4.

Gross WB, Siegel HS. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as measure of stress in chickens. *Avian Diseases* 27:972-9.

Göksoy EO, McKinstry LJ, Wilkins LJ, Parkman I, Phillips A, Richardson RI, Anil MH. 1999. Broiler Stunning and Meat Quality. *Poult Sci* 78:1796-800.

Hamm R. 1972. *Kolloidchemie des Fleisches*. Berliini, Saksa: Verlag Paul Parey. 222 s.

Hannula T, Puolanne E. 2004. The effect of cooling rate on beef tenderness: The significance of pH at 7 °C. *Meat Sci* 67:403-8.

Heinonen S. 2008. Siipikarjan hyvinvointi ja massalopetusmenetelmät [sähköinen julkaisu]. Helsinki: Eläinten hyvinvoinnin tutkimuskeskus, Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen laitos, Eläinlääketieteellinen tiedekunta, Helsingin yliopisto. 43 s. Saatavilla: [http://www.vetmed.helsinki.fi/hyvinvointikeskus/dokumentit/siipikarjan\\_massalopetus.pdf](http://www.vetmed.helsinki.fi/hyvinvointikeskus/dokumentit/siipikarjan_massalopetus.pdf)

Hillebrand SJW, Lambooy E, Veerkamp CH. 1996. The Effects of Alternative Electrical and Mechanical Stunning Methods on Hemorrhaging and Meat Quality of Broiler Breast and Thigh Muscles. *Poult Sci* 75:664-71.

Hoen T, Lankhaar J. 1999. Controlled atmosphere stunning of poultry. *Poult Sci* 78(2):287-9.

Hoenderken R, Lambooy B, van den Boogaard AEJM, Hillebrand SJW. 1994. Tierschutzgerechte Gasbetäubung von Geflügel. *Fleischwirtsch* 74:497-500.

Holm CGP, Fletcher DL. 1997. Antemortem Holding Temperatures and Broiler Breast Meat Quality. *J Appl Poultry Res* 6(2):180-4.

Honikel KO. 1998. Reference Methods for Assessment of Physical Characteristics of Meat. *Meat Sci* 49(4):447-57.

Honikel KO, Hamid A, Fischer C, Hamm R. 1981. Influence of post mortem changes in bovine muscle on the water-holding capacity of beef. Post mortem storage of muscle at various temperatures between 0°C and 30 °C. *J Food Sci* 46:23-5,31.

Honikel K, Hamm R. 1974. Wissenschaftliche Kurzmitteilungen über die Ursachen der Abnahme des pH-Wertes im Fleisch nach dem Schlachten. *Fleischwirtsch* 54(3):557-8.

Honikel KO, Kim C-J. 1986. Causes of the development of PSE Pork. *Fleischwirtsch* 66(3):349-53.

Hänsch F, Nowak B, Hartung J. 2009a. Behavioural and clinical responses of turkeys stunned in a V-shaped carbon dioxide tunnel. *Anim Welf* 18:81-6.

Hänsch F, Nowak B, Hartung J. 2009b. Evaluation of a gas stunning equipment used for turkeys under slaughterhouse conditions. *Livestock Sci* 124:248-54.

Jones JM, Grey TC. 1989. Influence of processing on product quality and yield. *Teoksessa: Mead GC, toim. Processing of poultry. Lontoo, Englanti: Elsevier Applied Science, s 127-81.*

Jones RB, Satterlee DG, Cadd GG. 1998. Struggling responses of broiler chickens shackled in groups on a moving line: effects of light intensity, hoods, and 'curtains'. *Appl Anim Behav Sci* 58:341-52.

Joo ST, Kauffmann RG, Kim BC, Park GB. 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Sci* 52:291-7.

Khan AW. 1971. Effect of temperature during post-mortem glycolysis and dephosphorylation of high energy phosphates on poultry meat tenderness. *J Food Sci* 36:120-1.

Khan AW, Nakamura R. 1970. Effects of pre- and postmortem glycolysis on poultry tenderness. *J Food Sci* 35:266-7.

Kivikari R. 1996. Buffering capacity of meat [väitöskirja]. EKT-sarja 1048. University of Helsinki, Department of Food Technology. 131 s.

Knowles TG, Broom DM. 1990. The handling and transport of broilers and spent hens. *Appl Anim Behav Sci* 28:75-91.

Korte SM, Ruesink W, Blokhuis H. 1999. Heart rate variability during manual restraint in chicks from high- and low-feather pecking lines of laying hens. *Physiol Behav* 65:649-52.

Kranen RW, Veerkamp CH, Lambooy E, van Kuppevelt TH, Veerkamp JH. 1996. Hemorrhages in muscles of broiler chickens: the relationships among blood variables at various rearing temperature regimens. *Poult Sci* 75:570-6.

Lambooy E, Gerritzen MA, Engel B, Hillebrand SJW, Lankhaar J, Pieterse C. 1999a. Behavioral responses during exposure of broiler chickens to different gas mixtures. *App Anim Behav Sci* 62:255-65.

Lambooy E, Pieterse C, Hillebrand SJW, Dijksterhuis GB. 1999b. The effects of captive bolt and electrical stunning, and restraining methods on broiler meat quality. *Poult Sci* 78:600-7.

Lee YB, Hargus GL, Webb JE, Rickansrud DA, Hagberg EC. 1979. Effect of electrical stunning on postmortem biological changes and tenderness in broiler breast muscle. *J Food Sci* 44:1121-2, 1128.

Lesiak MT, Olson DG, Lesiak CA, Ahn DU. 1996. Effects of Postmortem Temperature and Time on the Water-Holding Capacity of Hot-Boned Turkey Breast and Thigh Muscle. *Meat Sci* 43(1):51-60.

Lewis PK, Rakes Jr LY, Brown CJ, Noland PR. 1989. Effect of Exercise and Pre-slaughter Stress on Pork Muscle Characteristics. *Meat Sci* 26:121-9.

Lister D, Sair RA, Will JA, Schmidt GR, Cassens RG, Hoekstra WG, Briskey EJ. 1970. Metabolism of striated muscle of stress-susceptible pigs breathing oxygen or nitrogen. *Am J Physiol* 218(1):102-7.

Lutz PL, Nilsson GE. 1997. Contrasting strategies for anoxic brain survival – glycolysis up or down. *J Exp Biol* 200:411-9.

Lyon CE, Hamm D, Thomson JE. 1985. pH and tenderness of broiler breast meat deboned various times after chilling. *Poult Sci* 64:307-10.

Maa- ja metsätalousministeriön päätös nro 23/EEO/1997. 1997. Saatavilla: <http://wwwb.mmm.fi/el/laki/f/f7.html#Liite%203%20Tainnutaminen>. Tulostettu 19.5.2010.

Ma R, Addis P. 1973. The Association of Struggle During Exsanguination to Glycolysis, Protein Solubility and Shear in Turkey Pectoralis Muscle. *J Food Sci* 38(6):995-7.

Ma RT-I, Addis PB, Allen E. 1971. Response to electrical stimulation and post-mortem changes in turkey pectoralis major muscle. *J Food Sci* 36(1):125-9.

Marsh BB, Leet NG. 1966. Studies in meat tenderness. III. The effect of cold shortening on tenderness. *J Food Sci* 31:450-9.

McKee SR, Sams AR. 1997. The Effect of Seasonal Heat Stress on Rigor Development and the Incidence of Pale, Exudative Turkey Meat. *Poult Sci* 76(11):1616-20.

McKeegan DEF. 2004. Mechano-chemical nociceptors in the avian trigeminal mucosa. *Brain Res Rev* 46(2):146-54.

McKeegan DEF, Abeyasinghe SM, McLeman MA, Lowe JC, Demmers TGM, White RP, Kranen RW, van Bommel H, Lankhaar JAC, Wathes CM. 2007a. Controlled atmosphere stunning of broiler chickens. II. Effects on behavior, physiology and meat quality in a commercial processing plant. *Br Poult Sci* 48(4):430-42.

McKeegan DEF, McIntyre JA, Demmers TGM, Lowe JC, Wathes CM, van den Broek PLC, Coenen AML, Gentle MJ. 2007b. Physiological and behavioral responses of broilers to controlled atmosphere stunning: implications for welfare. *Anim Welf* 16:409-26.

McKeegan DEF, McIntyre JA, Demmers TGM, Wathes CM, Jones RB. 2006. Behavioural responses of broiler chickens during acute exposure to gaseous stimulation. *App Anim Behav Sci* 99:271-86.

Meléndez-Hevia E, Waddell TG, Shelton ED. 1993. Optimization of molecular design in evolution of metabolism: the glycogen molecule. *The Biochem J* 295(2):477-83.

Mitchell MA, Kettlewell PJ, Maxell MH. 1992. Indicators of physiological stress in broiler chickens during road transportation. *Anim Welf* 1:91-103.

Mitchell MA, Sandercock DA. 1995. Creatine kinase isoenzyme profiles in the plasma of the domestic fowl (*Gallus domesticus*): effects of acute heat stress. *Res.Vet.Sci.* 59(1):30-34.

Monin G, Sellier P. 1985. 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 Sci* 13:49-63.

Mouchonière M, Le Pottier G, Fernandez X. 1999. The Effect of Current Frequency During Waterbath Stunning on the Physical Recovery and Rate and Extent of Bleed Out in Turkeys. *Poult Sci* 77:485-9.

Newbold RP, Tume RK. 1977. Effect of Orthophosphate and Oxalate on the Cold-induced Release of Calcium from Sarcoplasmic Reticulum Preparations from Rabbit Skeletal Muscle. *Aust J Biol Sci* 30:519-26.

Offer G. 1991. Modelling of the Formation of Pale, Soft and Exudative Meat: Effects of Chilling Regime and Rate and Extent of Glycolysis. *Meat Sci* 30:157-84.

Owens CM, Hirschler EM, McKee SR, Martinez-Dawson R, Sams AR. 2000. The Characterization and Incidence of Pale, Soft, and Exudative Turkey Meat in a Commercial Plant. *Poult Sci* 79(4):553-8.

Papinaho P. 1996. Physiological and processing factors affecting broiler *Musculus pectoralis* shear values and tenderness [väitöskirja]. EKT-sarja 1010. Helsinki: University of Helsinki, Department of Food Technology. 50 + 102 s.

Papinaho PA, Fletcher DL. 1995. Effect of stunning amperage on broiler breast muscle rigor development and meat quality. *Poult Sci* 74:1527-32.

Papinaho PA, Fletcher DL. 1996. The effects of stunning amperage and deboning time on early rigor development and breast meat quality of broilers. *Poult Sci* 75:672-6.

Papinaho PA, Fletcher DL, Buhr RJ. 1995. Effect of Electrical Stunning Amperage and Peri-Mortem Struggle on Broiler Breast Rigor Development and Meat Quality. *Poult Sci* 74:1533-9.

Petracci M, Fletcher DL, Northcutt JK. 2001. The Effect of Holding Temperature on Live Shrink, Processing Yield, and Breast Meat Quality of Broiler Chickens. *Poult Sci* 80(5):670-5.

Pietrzak M, Greaser ML, Sosnicki AA. 1997. Effect of Rapid Rigor Mortis Processes on Protein Functionality in Pectoralis Major Muscle of Domestic Turkeys. *J Anim Sci* 75(8):2106-16.

Poole GH, Fletcher DL. 1995. A Comparison of Argon, Carbon Dioxide, and Nitrogen in a Broiler Killing System. *Poult Sci* 74:1218-23.

Pösö AR, Puolanne E. 2005. Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Sci* 70(3):423-34.

Raj ABM. 1994. Effect of stunning method, carcass chilling temperature and filleting time on the texture of turkey breast meat. *Br Poult Sci* 35:77-89.

Raj ABM. 1996. Aversive reactions of turkeys to argon, carbon dioxide and a mixture of carbon dioxide and argon. *Vet Rec* 138(24):592-3.

Raj ABM. 1999. Effects of stunning and slaughter methods on carcass and meat quality. Teoksessa: Richardson RI, Mead GC, toim. *Poultry Meat Science*. Oxfordshire, Englanti: CABI Publishing. s 231-54.

Raj ABM, Gregory NG. 1990. Effect of rate of induction of carbon dioxide anaesthesia on the time of onset of unconsciousness and convulsions. *Res Vet Sci* 49(3):360-3.

Raj ABM, Gregory NG. 1991. Effect of argon stunning, rapid chilling and early filleting on texture of broiler breast meat. *Br Poult Sci* 32:741-6.

Raj ABM, Gregory NG. 1993. Time to loss of somatosensory evoked potentials and onset of changes in the spontaneous electroencephalogram of turkeys during gas stunning. *Vet Rec* 133:318-20.

- Raj ABM, Gregory NG. 1994. An evaluation of humane gas stunning methods for turkeys. *Vet Rec* 135(10):222-3.
- Raj ABM, Gregory NG. 1995. Welfare implications of the gas stunning of pigs 1. determination of aversion to the initial inhalation of carbon dioxide or argon. *Anim Welf* 4:273-80.
- Raj ABM, Gregory NG, Wotton SB. 1990a. Effect of carbon dioxide stunning on somatosensory evoked potentials in hens. *Res Vet Sci* 49:355-9.
- Raj ABM, Gregory NG, Wotton SB. 1994. Effect of the method of stunning and the interval between stunning and neck cutting on blood loss in turkeys. *Vet Rec* 135(11):256-8.
- Raj ABM, Grey TC, Audsley AR, Gregory NG. 1990b. Effect of electrical and gaseous stunning on the carcass and meat quality of broilers. *Br Poult Sci* 31(4):725-33.
- Raj ABM, Grey TC, Gregory NG. 1991. Effect of early filleting on the texture of breast muscle of broilers stunned with argon-induced anoxia. *Br Poult Sci* 32(2):319-25.
- Raj ABM, Sandilands V, Sparks NHC. 2006. Review of gaseous methods of killing poultry on-farm for disease control purposes. *Vet Rec* 159:229-35.
- Raj ABM, Tserveni-Gousi A. 2000. Stunning methods for poultry. *Worlds Poult Sci J* 56(4):291-304.
- Raj ABM, Whittington PE. 1990. Effect of delayed bleeding on carcass appearance in gaseous stunned broilers. *Vet Rec* 127(12):308-9.
- Raj ABM, Wotton SB, Gregory NG. 1992. Changes in the somatosensory evoked potentials and spontaneous electroencephalogram of hens during stunning with carbon dioxide and argon mixture. *Br Vet J* 148(2):147-56.
- Raj ABM, Wotton SB, McKinstry JL, Hillebrand SJW, Pieterse C. 1998. Changes in the somatosensory evoked potentials and spontaneous electroencephalogram of broiler chickens during exposure to gas mixtures. *Br Poult Sci* 39(5):686-95.
- Rathgeber BM, Boles JA, Shand PJ. 1999. Rapid Postmortem pH Decline and Delayed Chilling Reduce Quality of Turkey Breast Meat. *Poult Sci* 78(3):477-84.
- Rémignon H, Gardahaut M-F, Marche G, Ricard F-H. 1995. Selection for rapid growth increases the number and the size of muscle fibres without changing their typing in chickens. *J Muscle Res Cell Motil* 16(2):95-102.
- Rémignon H, Zanusso J, Albert G, Babilé R. 2000. Occurrence of giant myofibres according to muscle type, pre- or post-rigor state and genetic background in turkeys. *Meat Sci* 56(4):337-43.
- Ren JM, Hultman E. 1990. Regulation of phosphorylase activity in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 69(3):919-23.

Robert-McComb JJ. 2001. Physiology of stress. Teoksessa: Robert-McComb, toim. Eating disorders in women and children, prevention, stress management and treatment. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 119-46.

Rodríguez P, Dalmau A, Ruiz-de-la-Torre JL, Manteca X, Jensen EW, Rodríguez B, Litvan H, Velarde A. 2008. Assessment of unconsciousness during carbon dioxide stunning in pigs. *Anim Welf* 17(4):341-9.

Rosales AG. 1994. Managing Stress in Broiler Breeders: A Review. *J Appl Poult Sci* 3(2):199-207.

Santé V, Sosnicki AA, Greaser MI, Pietrzak M, Pospiech E, Ouali A. 1995. Impact of turkey breeding and production on breast meat quality. Teoksessa: *Proceedings of the XII European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. Zarazoga, Espanja. s.151-6. Viite julkaisusta: Dransfield E, Sosnicki AA. 1999. Relationship Between Muscle Growth and Poultry Meat Quality. *Poult Sci* 78(5):743-6.

Sato T, Harada T, Ishizawa K. 2002. Stimulation of glycolysis in anaerobic elongation of pondweed (*Potamogeton distinctus*) turions. *J Exp Bot* 53:1847-56.

Savenije B, Schreurs FJG, Winkelman-Goedhart HA, Gerritzen MA, Korf J, Lambooij E. 2002. Effects of Feed Deprivation and Electrical, Gas, and Captive Needle Stunning on Early Postmortem Muscle Metabolism and Subsequent Meat Quality. *Poult Sci* 81(4):561-71.

Scheffler TL, Gerrard DE. 2007. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Sci* 77(1):7-16.

Scheid P. 1982. Respiration and control of breathing. Teoksessa: Farner DS, King JR, Parkes KC, toim. *Avian biology, volume VI*. New York, USA: Academic Press, Inc. s 405-53.

Scopes R. 1974. Studies with a Reconstituted Muscle Glycolytic System. *Biochem J* 142(1):79-86.

Siegel HS. 1980. Physiological stress in birds. *BioSci* 30(8):529-34.

Sparrey JM, Kettlewell PJ, Paice MER, Whetlor WC. 1993. Development of a Constant Current Water Bath Stunner for Poultry Processing. *J Agric Eng Res* 56:267-74.

Swatland HJ. 2004. Progress in understanding the paleness of meat with a low pH. *S Afr J Anim Sci* 34(Suppl 2):1-7.

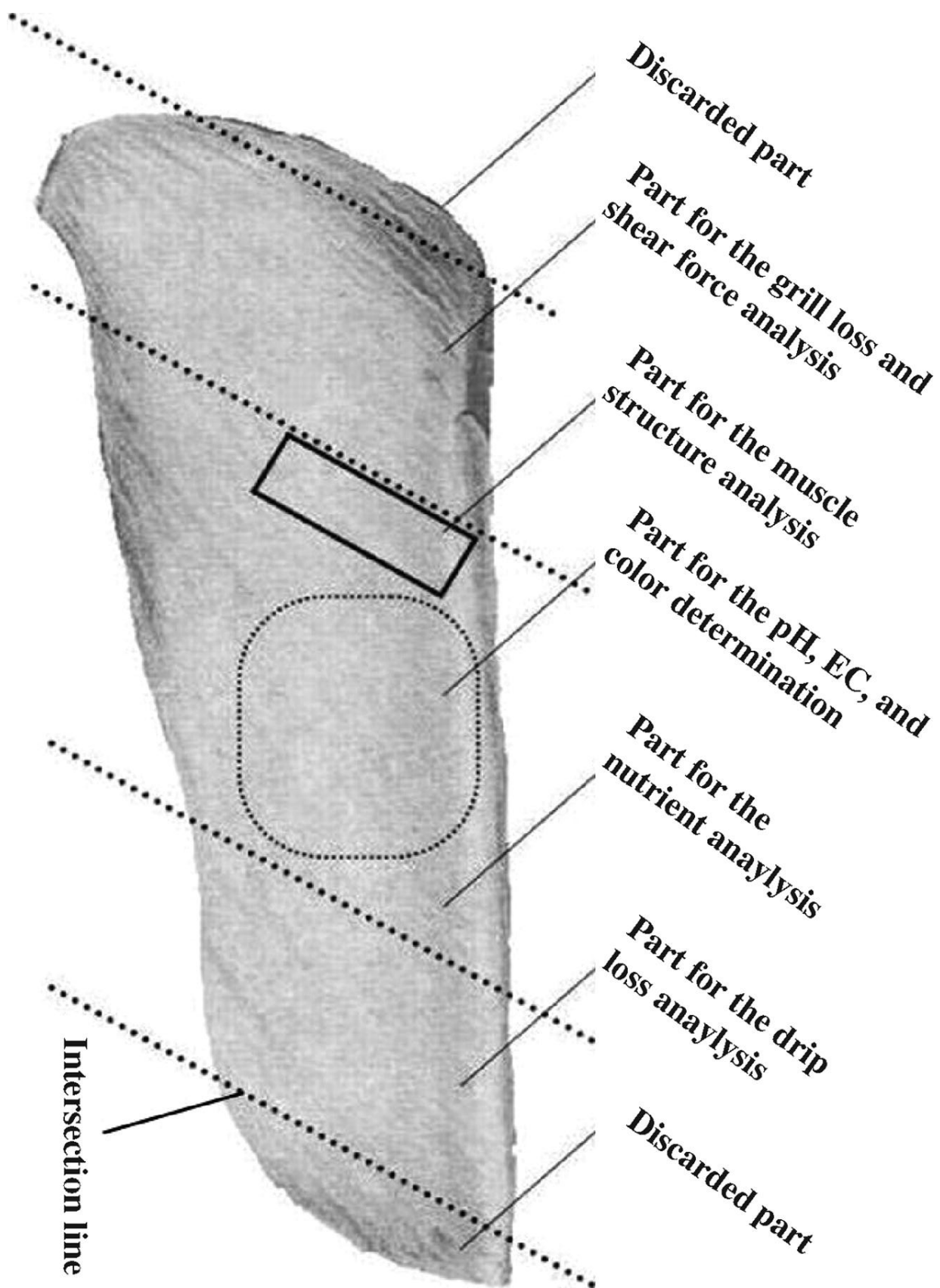
Terman GW, Shavit Y, Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC. 1984. Intrinsic Mechanisms of Pain Inhibition: Activation by Stress. *Sci* 226:1270-7.

Van Hoof J. 1979. Influence of ante- and peri-mortem factors on biochemical and physical characteristics of turkey breast muscle. *Vet Quarterly* 1(1):29-36.

Van Laack RLJM, Liu C-H, Smith MO, Loveday HD. 2000. Characteristics of Pale, Soft, Exudative Broiler Breast Meat. *Poult Sci* 79:1057-61.



- Villar-Palasi C, Wei SH. 1970. Conversion of Glycogen Phosphorylase *b* to *a* by Non-Activated Phosphorylase *b* Kinase: an *In Vitro* Model of the Mechanism of Increase in Phosphorylase *a* Activity with Muscle Contraction. *Proc Natl Acad Sci USA* 67(1):345-50.
- Virtanen K. 2003. Kalkkunanlihan kylmäsitkistyminen [pro gradu -tutkielma]. EKT-sarja 1302. Helsinki: Helsingin yliopisto, elintarviketeknologian laitos. 93 s.
- Wathes C. 2005. Report of controlled atmosphere stunning of poultry: an integrated approach. *Anim Welf* 14(1):85-6.
- Weise E, Wormuth H-J, Schütt-Abraham I, Levetzow R. 1987. Hochvoltbetäubung bei Schlachthähnchen und ihre Auswirkung auf die Fleischqualität. *Fleischwirtsch* 67:345-50.
- Werner C, Riegel J, Wicke M. 2008. Slaughter Performance of Four Different Turkey Strains, with Special Focus on the Muscle Fibre Structure and the Meat Quality of the Breast Muscle. *Poult Sci* 87:1849-59.
- Wichman A, Hänninen L, Norring M, Pastell M, Voutila L, Pösö R, Algiers B, Saloniemi H, Valros A. 2008. Turkey transport project. Kalkkunahanke 128/509/2008. Helsinki: University of Helsinki, Department of Production Animal Medicine.
- Winger RJ, Fennema O, Marsh BB. 1979. Rate of pH decline in beef muscle stored at above- and below-freezing temperatures. *J Food Sci* 44:1681-5.
- Woelfel RL, Owens CM, Hirschler EM, Martinez-Dawson R, Sams AR. 2002. The Characterization and Incidence of Pale, Soft, and Exudative Broiler Meat in a Commercial Processing Plant. *Poult Sci* 81:579-84.
- Woolley SC, Berthwick FJW, Gentle MJ. 1986. Tissue resistivities and current pathways and their importance in pre-slaughter stunning of chickens. *Br Poult Sci* 27:301-6.
- Wynn PC, Shahneh AZ, Rigby RDG, Behrendt R, Giles LR, Gooden JM, Jones MR. 1995. Physiological consequences of the induction of auto-immunity to adrenocorticotrophin. *Livestock Production Sci* 42(2-3):247-54.
- Wynveen EJ, Bowker BC, Grant AL, Demos BP, Gerrard DE. 1999. Effects of muscle pH and chilling on development of PSE-like turkey breast meat. *Br Poultry Sci* 40(2):253-6.
- Ylä-Ajos M. 2006. Glycogen Debranching Enzyme Activity in the Muscles of Meat Producing Animals [väitöskirja]. EKT-sarja 1363. Helsinki: University of Helsinki, Department of Food Technology. 90 s.
- Zeller W, Mettler D, Schatzmann U. 1988. Untersuchungen zur Betäubung des Schlachtgeflügels mit Kohlendioxid. *Fleischwirtsch* 68(10):1308-12.
- Zulkifli I, Norma MTC, Chong CH, Loh TC. 2000. Heterophil to lymphocyte ratio and tonic immobility reactions to preslaughter handling in broiler chickens treated with ascorbic acid. *Poult Sci* 79:402-6.

Liite 1. Näytteenotto *M. pectoralis* -lihaksesta

Liite 2. Hiiliidioksidilla tainnutettujen kalkkunooiden mittaukselliset

Kalkkuna	Näyte	20 min		1 h		2 h		4 h		24 h		Valuma (%)	Keittotappio (%)	Hävikki yhteensä (%)	Mureus (N/g)	Glykogeeni $\mu\text{mol/g}$	Maitohappo $\mu\text{mol/g}$
		pH	It(°C)	pH	It(°C)	pH	It(°C)	pH	It(°C)	pH	It(°C)						
1	0 °C	6,37	36,2	6,01	9,6	5,87	6,1	5,72	6,7	0,90	22,44	23,13	159				
	20 °C	6,37	36,2	6,28	25,6	5,77	22,1	5,65	6,7	1,09	17,98	18,88	53			50,9	66,1
	rinta pohje	6,36	39,4	6,33	32,4	6,41	27,8	5,81	24,7							59,7	38,5
2	0 °C	6,67	38,7	6,54	35,1	6,12	31,9	5,80	28,1	0,84	17,09	17,79	165				
	20 °C	6,18	36,8	6,13	8,1	5,86	3,1	5,63	6,7	1,88	12,21	13,85	49			44,8	68,8
	rinta pohje	6,36	39,0	6,50	32,0	6,13	28,8	5,63	21,7							73,2	18,1
3	0 °C	6,72	39,0	6,41	34,4	6,17	32,3	5,88	27,6	0,59	19,10	19,58	178				
	20 °C	6,20	37,5	6,01	8,5	5,88	4,9	5,73	6,7	1,58	14,23	15,59	69			37,2	66,4
	rinta pohje	6,20	37,5	6,46	25,4	5,72	21,2	5,69	6,7	0,78	16,75	17,40	145			58,3	28,7
4	0 °C	6,24	39,3	6,04	33,7	5,97	29,8	5,82	26,1	2,05	15,55	17,28	91				
	20 °C	6,68	40,2	6,43	37,4	5,97	33,0	5,89	26,7	0,87	18,25	18,96	139			39,3	80,7
	rinta pohje	6,16	37,4	6,09	12,3	5,91	4,0	5,66	6,7	1,89	16,71	18,28	163			52,6	18,5
5	0 °C	6,16	37,4	6,30	27,4	5,89	21,4	5,74	6,7	0,66	21,38	21,90	191				
	20 °C	6,40	40,5	6,44	35,3	5,98	32,7	5,83	25,7	1,73	17,98	19,40	171			30,8	66,7
	rinta pohje	6,40	40,5	6,24	7,8	5,95	2,9	5,69	3,2	0,66	21,38	21,90	191			55,5	7,0
6	0 °C	6,23	39,0	6,27	7,0	5,78	1,5	5,70	3,2	0,73	14,33	14,96	289				
	20 °C	6,23	39,0	5,91	26,0	5,69	19,8	5,86	3,2	1,85	17,92	19,44	58			35,9	63,0
	rinta pohje	6,04	40,0	5,97	31,6	5,76	29,4	5,70	23,7	0,73	14,33	14,96	289			78,2	17,0
7	0 °C	6,51	39,3	6,41	33,8	6,05	33,2	5,79	29,3	0,60	20,12	20,60	237				
	20 °C	6,22	35,5	6,10	8,8	5,85	3,6	5,73	3,2	1,28	16,22	17,29	199			28,4	62,0
	rinta pohje	6,22	35,5	6,09	26,9	5,74	20,5	5,64	3,2	0,67	21,24	21,77	427			63,7	23,2
8	0 °C	6,07	39,3	6,07	32,9	5,77	28,8	5,68	23,4	1,17	17,98	18,94	336				
	20 °C	6,61	40,0	6,38	34,8	6,06	29,6	5,86	28,1	0,67	21,24	21,77	427			51,7	56,0
	rinta pohje	6,08	36,1	5,85	12,2	5,77	5,0	5,63	3,2	1,17	17,98	18,94	336			73,5	17,3
9	0 °C	6,08	36,1	6,07	27,7	5,74	19,1	5,59	3,2	0,67	21,24	21,77	427				
	20 °C	6,10	40,6	5,99	32,7	5,82	29,1	5,73	24,1	1,17	17,98	18,94	336			51,7	56,0
	rinta pohje	6,09	40,5	6,59	37,4	6,30	29,9	6,09	26,8	1,17	17,98	18,94	336			73,5	17,3
9	0 °C	6,32	37,8	6,21	8,4	5,80	4,0	5,63	3,2	0,67	21,24	21,77	427				
	20 °C	6,32	37,8	6,17	26,3	5,84	19,8	5,57	3,2	1,17	17,98	18,94	336			51,7	56,0
	rinta pohje	6,31	39,5	5,92	32,3	5,95	29,4	5,65	23,6	1,17	17,98	18,94	336			73,5	17,3

Liite 3. Typellä tainnutettujen kalkkunoiden mittaustulokset

Kalkkuna	Näyte	20 min		1 h		2 h		4 h		24 h		Valuma (%)	Keittoappio (%)	Hävikki yhteensä (%)	Mureus (N/g)	Glykogeeni μmol/g	Maitohappo μmol/g
		pH	It (°C)	pH	It (°C)	pH	It (°C)	pH	It (°C)	pH	It (°C)						
1	0 °C	6,23	30,7	6,08	7,8	5,91	3,0	5,90	3,4	20,84	21,16	96					
	20 °C	6,23	30,7	5,92	22,5	5,71	21,1	5,74	3,4	12,97	14,10	334					
	rinta	6,27	39,2	6,07	32,1	5,80	28,6	6,09	34,4	5,79	28,9	5,79	3,4			37,3	70,5
2	pohje	6,62	38,1	6,34	36,1	6,09	34,4	5,79	28,9	5,79	3,4						
	0 °C	6,02	40,1	5,89	3,0	5,87	2,6	5,92	3,4	16,85	17,52	246					
	20 °C	6,02	40,1	5,89	24,1	5,64	21,2	5,77	3,4	19,66	20,70	76					
3	rinta	6,11	38,8	5,87	31,9	5,74	28,0	5,64	24,3	5,81	3,4						
	pohje	6,53	39,7	6,25	33,1	6,14	32,8	5,75	30,7	5,81	3,4						
	0 °C	6,02	34,5	5,65	4,5	5,73	1,3	5,76	3,4	17,72	18,26	144					
4	20 °C	6,02	34,5	5,83	24,2	5,74	21,4	5,75	3,4	16,25	17,17	110					
	rinta	5,92	40,5	5,85	31,2	5,71	28,3	5,64	24,5	5,80	3,4						
	pohje	6,52	38,6	6,21	31,5	6,08	28,5	5,80	25,2	5,80	3,4						
5	0 °C	6,27	39,7	6,04	5,8	5,81	4,1	5,80	3,4	17,02	17,45	276					
	20 °C	6,27	39,7	5,95	24,0	5,64	20,1	5,76	3,4	18,79	19,71	201					
	rinta	6,21	39,9	5,93	31,2	6,06	28,8	5,64	24,7	5,79	3,4						
6	pohje	6,56	40,1	6,26	36,4	5,96	34,1	5,71	30,2	5,79	3,4						
	0 °C	6,08	35,4	5,82	14,0	5,79	3,1	5,75	5,4	17,01	17,36	113					
	20 °C	6,08	35,4	5,89	24,5	5,78	19,6	5,68	5,4	20,56	21,30	67					
7	rinta	6,09	40,9	5,95	32,1	5,71	30,8	5,61	23,9	5,78	5,4						
	pohje	6,66	40,6	6,46	33,0	6,34	30,1	5,85	26,5	5,77	5,4						
	0 °C	6,17	35,5	6,00	8,2	5,72	4,5	5,73	5,4	23,41	23,80	82					
8	20 °C	6,17	35,5	6,01	23,2	5,69	19,7	5,68	5,4	20,43	21,28	63					
	rinta	6,06	39,9	5,68	31,6	5,60	29,3	5,59	24,7	5,78	5,4						
	pohje	6,48	40,6	6,17	32,0	6,27	28,2	5,73	24,5	5,78	5,4						
9	0 °C	5,87	36,7	5,59	12,1	5,61	0,9	5,57	5,4	19,42	19,83	42					
	20 °C	5,87	36,7	5,76	25,2	5,52	18,1	5,57	5,4	18,06	20,92	73					
	rinta	5,84	41,0	5,66	32,8	5,57	29,1	5,57	24,4	5,72	5,4						
10	pohje	6,45	40,5	5,97	35,7	5,90	31,8	5,62	23,7	5,72	5,4						
	0 °C	6,22	40,7	5,86	12,6	5,71	3,8	5,63	5,4	22,40	22,72	179					
	20 °C	6,22	40,7	6,11	25,7	5,61	18,7	5,62	5,4	22,34	23,23	98					
11	rinta	6,15	41,3	6,05	33,9	5,85	30,4	5,63	24,6	5,70	5,4						
	pohje	6,48	41,1	6,29	37,0	5,69	34,9	5,65	30,3	5,70	5,4						
	0 °C	6,08	35,8	6,06	10,6	5,79	3,7	5,76	5,4	21,70	22,01	69					
12	20 °C	6,08	35,8	6,03	25,4	5,77	18,2	5,64	5,4	22,59	24,09	73					
	rinta	6,21	40,1	6,07	33,7	5,64	28,9	5,61	23,8	5,73	5,4						
	pohje	6,57	39,7	6,44	33,5	6,32	29,6	6,01	22,9	5,73	5,4						

Liite 4. Kaksivaiheisella seokaulla tainnutettujen kalkkunoiden mittaus tulokset

Kalkkuna	Näyte	20 min		1 h		2 h		4 h		24 h		Mureus (N/g)	Glykosemi $\mu\text{mol/g}$	Maitohappo $\mu\text{mol/g}$
		pH	It (°C)	pH	It (°C)	pH	It (°C)	pH	It (°C)	pH	It (°C)			
1	0 °C	36,7	11,9	5,85	3,4	0,30	15,07	15,33	217					
	rinta	6,38	39,8	6,26	30,3	6,08	26,2	5,99	23,6			35,5	61,2	
	pohje	6,74	39,8	6,43	37,1	6,20	27,8	5,95	27,6			53,6	21,7	
2	0 °C	32,0		5,85	3,4	0,37	12,57	12,89	148					
	rinta	6,30	38,7	6,25	33,6	5,90	28,2	5,79	24,9			34,4	54,4	
	pohje	6,59	39,3	6,48	35,9	6,33	28,4	5,98	27,5			44,1	24,6	
3	0 °C			5,59	6,7	0,84	26,15	26,77	180					
	rintalihas	6,23	39,2	6,17	33,8	6,10	30,1	5,61	25,2			46,0	49,3	
	pohje	6,58	40,5	6,51	34,3	6,26	30,4	5,85	25,3			81,5	10,9	
4	0 °C			5,60	6,7	0,65	23,16	23,66	166					
	rintalihas	6,20	39,2	6,13	33,4	5,95	29,6	5,60	23,5			40,3	59,6	
	pohje	6,49	39,9	6,38	33,0	6,06	31,3	5,75	21,5			69,8	15,7	
5	0 °C			5,91	6,7	0,85	21,44	22,10	364					
	rinta	6,34	39,4	6,21	33,6	5,98	30,0	5,62	24,3			51,9	60,5	
	pohje	6,63	39,9	6,48	35,4	6,34	31,5	5,75	26,5			79,9	18,3	
6	0 °C			5,77	3,2	0,57	22,83	23,27	208					
	rinta	6,28	40,4	6,10	34,4	6,00	29,6	5,67	24,6			32,4	63,1	
	pohje	6,66	40,1	6,52	36,5	6,47	30,8	6,00	24,4			68,6	13,7	
7	0 °C			5,71	5,4	0,45	18,81	19,18	121					
	rinta	6,09	39,9	5,93	32,9	5,64	29,1	6,16	24,0			28,0	77,5	
	pohje	6,54	39,8	6,36	34,7	6,18	31,0	5,76	26,4			49,8	25,7	
8	0 °C			5,71	5,4	0,57	19,63	20,09	115					
	rinta	6,31	38,9	6,23	34,6	5,67	29,5	5,62	26,4			31,2	65,2	
	pohje	6,63	39,0	6,60	33,4	6,35	28,0	6,07	23,1			71,1	18,8	