

Verbeteren dierenwelzijn tijdens CO₂ verdoven van slachtvarkens

M.A. Gerritzen, H.G.M. Reimert

Rapport 1181



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Verbeteren dierenwelzijn tijdens CO₂ verdoven van slachtvarkens

Dr. Ing. M.A. Gerritzen, H.G.M. Reimert

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research in samenwerking met onderzoeksinstituut IRTA in Girona Spanje, in opdracht van en gefinancierd door de PPS Verbeteren dierenwelzijn tijdens CO₂ verdoven van slachtvarkens (TKI-AF16017)

Wageningen Livestock Research
Wageningen, juli 2019

Rapport 1181

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/495792> of op www.wur.nl/livestock-research (onder Wageningen Livestock Research publicaties).

© 2019 Wageningen Livestock Research
Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl,
www.wur.nl/livestock-research. Wageningen Livestock Research is onderdeel van Wageningen
University & Research.

Wageningen Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.

Wageningen Livestock Research is NEN-EN-ISO 9001:2015 gecertificeerd.
Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponneerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Wageningen Livestock Research Rapport 1181

Inhoud

	Samenvatting	5
1	Aanleiding	7
2	Motivatie onderzoek	8
	2.1 Hoge concentratie stikstof	8
	2.2 Low Atmospheric Pressure Stunning (LAPS)	8
	2.3 Verbeteren elektrische verdoven.	8
	2.4 Mengsel van N ₂ / CO ₂	9
3	Effect van 85%CO₂, 95%CO₂ en 70%N₂/30%CO₂ op dierenwelzijn en productkwaliteit	10
	3.1 Aanpak	10
4	Resultaten	13
	4.1 Gas concentraties	13
	4.2 Gedrag	14
	4.3 Fysiologische meting	15
	4.4 Activiteitmeting	15
	4.5 Respiratie	16
	4.6 Hartactiviteit	17
	4.7 Hersenactiviteit	17
	4.8 Vleeskwaliteit	19
5	Conclusies	21
	5.1 Experiment met verschillende CO ₂ concentraties	21
	5.2 Andere alternatieven	22
	Literatuur	23

Samenvatting

Het verdoven van slachtvarkens met hoge concentraties CO₂ staat regelmatig ter discussie. Het welzijn van de dieren zou sterk worden benadeeld door directe blootstelling aan hoge CO₂ concentraties. Een groot voordeel van gas verdoven ten opzichte van elektrisch verdoven is het opdrijven en verdoven van de dieren in groepen waardoor de dieren tijdens het aandrijven veel minder stress ervaren dan bij het individuele aandrijven van dieren bij elektrische verdoving. Om deze reden wordt elektrisch verdoven niet als goed alternatief gezien voor gasverdoven.

Op basis van literatuur onderzoek en gesprekken met andere onderzoekers zijn de meest recente ontwikkelingen voor het verbeteren van CO₂ verdovingsmethoden in kaart gebracht. Op basis van de resultaten uit eerder onderzoek en de lopende onderzoekstrajecten in Duitsland en Engeland heeft overleg met verschillende stakeholders geresulteerd tot een Publiek Privaat Samenwerking project.

Resultaten van onderzoek in Duitsland naar het gebruik van stikstof (N₂) gevuld schuim voor het verdoven van slachtvarkens heeft tot nu toe nog geen voldoende resultaat opgeleverd om dit als alternatief te zien. Belangrijkste conclusie uit het onderzoek in Duitsland is dat er geen duidelijkheid is over het moment van bewustzijnsverlies en het optreden van eventuele negatieve effecten zoals verhoogde activiteit van de dieren en of het moment dat convulsies optreden (Marahrens et al., 2017). Belangrijkste oorzaken voor dit beperkte resultaat zijn de slechte zichtbaarheid en observatiemogelijkheden van de dieren in het schuim. Daarnaast zijn de pogingen om goede EEG's te meten niet gelukt. Aanvullend aan het onderzoek naar N₂-schuim in Duitsland is een onderzoek gestart in Zweden (RISE). Resultaten van dit onderzoek worden verwacht in de loop van 2019. Onderzoek naar Low Atmospheric Pressure Stunning (LAPS) als alternatief voor het verdoven van varkens wordt uitgevoerd in Schotland. De resultaten van dit onderzoek worden verwacht in 2020. Voor hoge slachtsnelheden en gezien de vleeskwaliteitsaspecten wordt elektrisch verdoven niet als redelijk alternatief gezien voor gasverdoven.

Verlagen van de CO₂ concentratie in combinatie met hoog N₂ is een mogelijk alternatief voor verdoven van varkens met hoog CO₂. In deze rapportage worden de resultaten gepresenteerd van het onderzoek naar optimaliseren van gasmengsels en CO₂ concentratie om op die manier dierenwelzijn te verbeteren.

Uit dit onderzoek kan worden geconcludeerd dat bij zowel hoge concentraties CO₂ als bij een mengsel van 70%N₂ met 30%CO₂ onrust en ongerief optreedt. De duur en intensiteit van het ongerief is vergelijkbaar bij alle onderzochte gasmengsels. De periode van ernstige opwinding duurt bij de onderzochte gasmengsels 12-15 seconden.

De resultaten uit dit onderzoek laten geen grote voordelen zien van een mengsel van 70%N₂ met 30%CO₂ ten opzichte van hoog (85% of 95%) CO₂.

1 Aanleiding

Het verdoven van slachtvarkens met hoge CO₂ concentraties ontwikkeld zich tot de belangrijkste verdovingsmethode voor slachtvarkens. De methode staat nationaal en internationaal echter ter discussie vanwege het feit dat hoge CO₂ concentraties sterk irriterend zijn voor de slijmvliezen en daardoor pijnlijk zijn om in te ademen. Daarnaast leidt het inademen van een hoge CO₂ concentratie tot ademnood voordat dieren het bewustzijn verliezen.

Om te komen tot verbetering voor het dierenwelzijn zijn er in het recente verleden verschillende onderzoeken uitgevoerd naar het gebruik van verschillende gasmengsels voor het verdoven van slachtvarkens. In onder anderen Denemarken, Spanje, Zweden en in Nederland zijn verschillende onderzoeken uit gevoerd met verschillende verhoudingen CO₂ en Stikstof (N₂) zoals 70% N₂ + 30% CO₂; 80% N₂ + 20% CO₂; 85% N₂ + 15% CO₂; 85% CO₂ en 95 CO₂ in lucht. In Engeland zijn voornamelijk onderzoeken uitgevoerd met Argon en een mengsels van Argon met CO₂. In Duitsland is een korte studie uitgevoerd met Helium.

Uit deze onderzoeken komen de volgende resultaten naar voren;

- N₂/CO₂ mengsel t.o.v. hoog CO₂ resulteert in minder aversie, langere inductietijd tot bewusteloosheid, snellere recovery en dus een korter stun-stick interval.
- Hoog N₂ heeft mogelijk effect op vleeskwaliteit; snellere pH daling, meer dripverlies, en een rodere kleur.
- Toevoegen van O₂ en verlagen CO₂ heeft geen positief effect vanwege de langere inductie tijd en korter stun-stick interval.
- Hoog CO₂ geeft altijd een periode van ongerief, geen verschil in impact tussen 80% en 95%, hogere concentratie geeft kortere periode van ongerief.
- Anoxia, dus blootstelling aan een atmosfeer met geen of zeer weinig zuurstof (stikstof, of argon of helium) nog geen overtuigende resultaten gepubliceerd.

In gesprekken met vertegenwoordigers uit de varkensslachterijsector en met onderzoekers in het buitenland komen een beperkt aantal mogelijke alternatieven naar voren voor de huidige CO₂ verdovingsmethode namelijk;

1. Hoge concentratie Stikstof (N₂) (anoxie)
2. Low Atmospheric Pressure Stunning (LAPS)
3. Verbeteren elektrisch verdoven
4. Mengsel van N₂ met CO₂

2 Motivatie onderzoek

2.1 Hoge concentratie stikstof

Verdoven van varkens door anoxie oftewel het vervangen van O₂ door een ander, inert, gas is een alternatief dat wordt onderzocht in Duitsland (pers. comm. M. Marahrens, Friedrich Loeffler Institut) en is om die reden niet als alternatief meegenomen in dit project. In het onderzoek in Duitsland worden varkens blootgesteld aan N₂ gevuld schuim waardoor bewusteloosheid intreedt door O₂ tekort. De resultaten van het onderzoek in Duitsland zijn niet geheel naar tevredenheid verlopen en hebben nog niet geleid tot een alternatieve methode. Belangrijkste conclusie uit het onderzoek in Duitsland is dat er geen duidelijkheid is over het moment van bewustzijnsverlies en het optreden van eventuele negatieve effecten zoals verhoogde activiteit van de dieren en of het moment dat convulsies optreden (Marahrens et al., 2017). Belangrijkste oorzaken voor dit beperkte resultaat zijn de slechte zichtbaarheid en observatie mogelijkheden van de dieren in het schuim. Daarnaast zijn de pogingen om goede EEG's te meten niet gelukt.

2.2 Low Atmospheric Pressure Stunning (LAPS)

In de USA is een verdovingsmethode ontwikkeld voor pluimvee waarbij een situatie wordt gecreëerd met lage druk waardoor de opname van zuurstof dusdanig verminderd dat er bewusteloosheid intreedt. Onderzoek naar deze methode heeft aangetoond dat de methode effectief is en dat er geen aversie optreedt bij de inductie naar bewusteloosheid. Nadeel van deze methode zijn de spierconvulsies die mogelijk optreden na intreden van bewusteloosheid. De methode is getoetst door de wetenschappelijke advies commissie van EFSA en van een positief advies voorzien voor opname in VO 1099/2009 als verdovingsmethode voor vleeskuikens. Een projectvoorstel in het Verenigd Koninkrijk, gefinancierd door de Humane Slaughter Association (HSA) en DEFRA om te onderzoeken of de methode als alternatief voor hoog CO₂ geschikt is voor toepassing bij varkens wordt uitgevoerd in 2018 en 2019 onder leiding van Dr. Dorothy McKeegan, Glasgow University. Om deze reden is LAPS niet als te onderzoeken methode opgenomen in dit onderzoek. De resultaten van dit onderzoek zullen beschikbaar komen en worden verwacht in 2020.

2.3 Verbeteren elektrische verdoven.

Het elektrisch verdoven van varkens is historisch gezien het belangrijkste en beschikbare alternatief voor gas verdoven. Voor elektrisch verdoven worden varkens vanuit de wachtruimte in een groep naar de elektrische verdover gebracht. Als de varkens de verdover ingaan moeten ze van uit een groep achter elkaar de verdover in. De manier van opdrijven en fixeren in de verdover is een grote stressfactor die niet is los te koppelen van elektrisch verdoven. De totale periode van ongerief in het proces van elektrisch verdoven kan 60-120 seconden duren. De stress die wordt veroorzaakt bij het opdrijven en fixeren in het traject naar elektrisch verdoven kan worden verminderd bij het traject naar gas verdoven omdat daar de varkens in een groep in de verdover worden gebracht zonder dat ze gedwongen worden om achter elkaar te lopen. De stress factor bij elektrisch verdoven heeft bij een goed uitgevoerde elektrische verdover dan ook voornamelijk te maken met het opdrijven en fixeren van de dieren. Naast het opdrijven en fixeren kan het bij elektrisch verdoven, zeker met de huidige hoge slachtsnelheid, vóórkomen dat de elektroden niet correct worden geplaatst zodat er niet effectief wordt verdoofd. Naast de dierwelzijnsaspecten veroorzaakt elektrisch verdoven puntbloedingen in het vlees waardoor er ook een economisch afweging moet plaatsvinden.

Door verschillende marktpartijen wordt elektrisch verdoven dan ook niet als een redelijk alternatief voor gas verdoven gezien. Verder onderzoek naar verbeteren van het traject naar elektrische verdoving, het opdrijven en fixeren is om die reden verder buiten beschouwing gelaten.

2.4 Mengsel van N₂ / CO₂

In het hier beschreven onderzoek is onderzocht of blootstelling van varkens aan een mengsel van CO₂ met een inert gas zoals N₂ minder ongerief veroorzaakt. Naast de effecten op dierenwelzijn is vastgesteld of er verschillen in productkwaliteit optreden.

3 Effect van 85%CO₂, 95%CO₂ en 70%N₂/30%CO₂ op dierenwelzijn en productkwaliteit

3.1 Aanpak

Voor het onderzoek naar het effect van het verdoven van slachtvarkens met hoge concentraties kooldioxide (CO₂) en een mengsel van stikstof (N₂) met laag CO₂ is een dierexperiment uitgevoerd bij de onderzoek faciliteit van het instituut IRTA in Spanje. De experimenten zijn uitgevoerd bij IRTA in plaats van bij een commerciële slachterij, omdat het veranderen van de gasconcentratie en het meten van fysiologische parameters aan de dieren in een commerciële procesgang niet mogelijk is zonder ernstige verstoring van het slachtproces. De faciliteit bij IRTA leent zich voor het uitvoeren van onderzoek waarbij de kleinschalige procesgang goed te vergelijken is met wat varkens ervaren in de gangbare praktijk. Varkens kunnen worden aangevoerd van een commercieel varkensbedrijf, verblijven in een wachtruimte, en worden verdoofd in een dip-lift gasverdover (Butina Aps, Copenhagen, Denmark) met een gondel van 299 cm × 138 cm × 100 cm. Dieren kunnen worden uitgerust met verschillende meetapparaten voor het vaststellen van fysiologische responsen en in de verdover zijn camera's gemonteerd op de gondel voor gedragsobservaties. De onderzoeksfaciliteit omvat daarnaast een kleinschalige maar compleet ingerichte slachterij en heeft uitgebreide expertise voor het bepalen van productkwaliteit.

Verdeeld over 3 dagen zijn in totaal 60 varkens (Piétrain × Large White × Landras) met een gewicht variërend van 93 tot 123 kg levend gewicht aangevoerd van een commercieel varkensbedrijf bij de slachterij van IRTA. De dieren zijn om 7.00 uur in de ochtend aangevoerd en gehuisvest in de wachtruimte. In de wachtruimte werden zeugen en beren apart gehuisvest.

De experimenten starten om 8.30 uur op de dag dat de dieren werden aangevoerd.

In totaal zijn 20 dieren (10 zeugen en 10 beren) in paren blootgesteld aan een gasmengsel van:

1) 70% N₂ + 30% CO₂; 2) 95% CO₂ in lucht of 3) 85% CO₂ in lucht.

De gasverdover werd vooraf gevuld met het betreffende gasmengsel tot de gewenste gasconcentratie was bereikt. De CO₂ en O₂ concentratie werd gemeten (PBI Dansensor) in de gondel op 40 cm boven de vloer. De gondel ging naar beneden van startpositie tot de bodem van de verdover in 22 seconden. De gondel bleef gedurende respectievelijk 4 minuten voor behandeling 1, en 3 minuten voor behandeling 2 en 3 onder in de verdover. Hierna ging de gondel in 25 seconden terug naar boven en werden de varkens uit de gondel gekanteld en verbloed.

Hart (ECG) activiteit en acceleratie:

Direkt voorafgaand aan blootstelling aan de gasmengsels werden dieren voorzien van een hartslag / acceleratie meter (Zephyr™ BioHarness™ 3, Annapolis, USA). De 2 dieren die als paar werden verdoofd zijn samen uit de wachtruimte gehaald en naar de voorbereidingsruimte gebracht. Terwijl 1 dier op de weegschaal stond is de hartslag / acceleratie meter met een borstband voorzien van contactgel aangebracht (zie foto). De hartslagmeter werd door middel van een extra elastische band om de borst op zijn plaatsgehouden. Gedurende minimaal 3 minuten werd een baseline meting uitgevoerd. Hartslag en acceleratie (3 dimensionaal) werden continu gemeten en opgeslagen gedurende de gehele blootstellingstijd tot en met het uitkantelen en aansnijden met een meetfrequentie van 100Hz.

Respiratie metingen:

De Zephyr™ biomodule was voorzien van een respiratie meter. Ademhaling werd gelijktijdig met hartslag en acceleratie gemeten met een frequentie van 25Hz.



Foto 1 Aanbrengen meetapparatuur.

Hersenactiviteit:

Per run werd 1 van de 2 dieren voorzien van plakelectroden op de schedel voor het meten van hersenactiviteit. Het hersen (EEG) signaal is gemeten en opgenomen met behulp van een qCon2000 module (Qantium Medical, Barcelona). De EEG meetmodule werd verbonden met de 3 plakelectroden op de schedel en op de rug van het varken geplaatst onder de elastische borstband. Het ruwe EEG signaal wordt opgenomen met een meetfrequentie van 100 Hz. Uit het ruwe signaal wordt een afgeleide berekend als maat voor de diepte van bewusteloosheid, zowel als maat voor analgesie / nociceptie (qNOX) als voor anaesthesie diepte (qCON en burst Supressie Ratio). Aanvullend op de afgeleide berekening zijn alle signalen omgezet en ingelezen voor visuele analyse met behulp LabChart Pro v8.1.13 software (AD Instruments –Europe ltd Unit B, Bishops Mews, Transport Way, Oxford OX4 6HD UNITED KINGDOM).

In de visuele analyse wordt gecontroleerd of de afgeleide qcon waarde betrouwbaar is wat betreft timing van intreden van bewusteloosheid. Het ruwe EEG wordt visueel beoordeeld op verandering in frequentie en amplitude die kenmerkend zijn voor het intreden van bewusteloosheid.

Gedrag:

De gondel is op beide uiteinden voorzien van een camera voor het maken van video opnamen gedurende de gehele blootstellingsperiode. Gedrag van de dieren wordt achteraf beoordeeld op starten van onrust of opwinding, omvallen of verliezen van coordinatie, Loss of Posture en tot bewegingsloos.

Tabel 1 Specificatie van de gedragsparameters.

Gedrag	Definitie
Onrustig gedrag / opwinding	Dier vertoont verschillende uitingen van onrust; lopen heen en weer, draaien om, zoeken, proberen omhoog te komen in de gondel
omvallen	Dier gaat zitten, valt op buik of flank en komt weer in zittende of staande positie of doet pogingen daartoe
Loss of posture	Dier in liggende positie en doet geen poging om weer op te staan
Stil	Dier vertoont geen noemenswaardige bewegingen meer

Het omvallen van de dieren wordt gezien als een eerste teken van verminderend bewustzijn maar doordat dieren nog de capaciteit hebben om een deel van de lichaamshouding te behouden wordt dit niet als verlies van bewusteloosheid geïnterpreteerd.

Op het moment dat Loss of Posture wordt aangegeven is er geen teken meer dat het dier controle heeft over zijn lichaamshouding. Uit verschillende onderzoeken blijkt dat Loss of Posture een betrouwbare gedragsparameter is voor verlies van bewustzijn.

Productkwaliteit:

Na uitkantelen uit de gondel worden de dieren aan de slachtlijn gehangen en verbloed. Tijdens het uitbloeden worden hartslag- en EEG apparatuur verwijderd en worden de dieren aansluitend geslacht volgens het standaard protocol van eht onderzoeksinstituut, gelijkend commerciële omstandigheden. Na verbloeden worden de karkassen gesplitst in een linker en rechterhelft, gewogen (warm gewicht) en gekoeld gedurende 24 uur. Voor koelen worden spekdikte, spierdikte en magervlees % bepaald met behulp van een Fat-O-Meat'er II (FOM II, Frontmatec, Herlev, DK).

De pH en temperatuur worden op 45 minuten en 24 uur post mortem gemeten aan de *M. longissimus thoracis* en de *M. semimembranosus*. Op 24 uur post mortem worden de elektrische geleidbaarheid, kleur zowel m.b.v. minolta (CIE, 1976) en Japanse kleurschaal (Nakai et al, 1975) en dripverlies (Rasmussen and Andersson, 1996) bepaald aan de *M. Longissimus* ter hoogte van de laatste rib.

Statistische analyse:

De statistische analyse van de gedragsparameters en de fysiologische parameters zijn uitgevoerd met een variantie analyse (ANOVA) in het statistiek programma GenStat. De statistische analyse van de productkwaliteit data is uitgevoerd door IRTA met het statistiek programma SAS. In het statistisch model zijn behandeling (gas mengsel) en sekse opgenomen als fixed effect en is slachtdag opgenomen als blok effect.

4 Resultaten

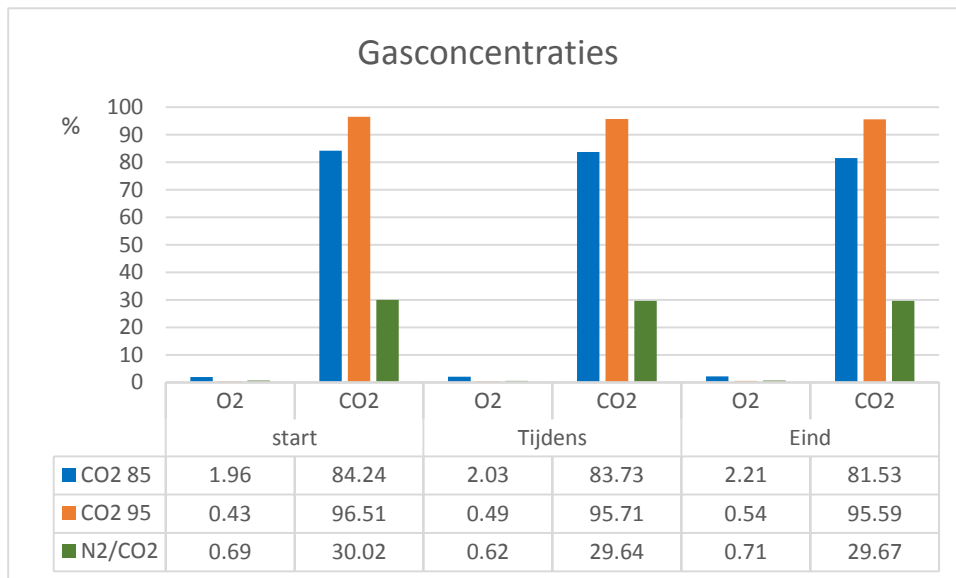
De experimenten zijn op 3 verschillende meetdagen uitgevoerd (Tabel 2). Aan alle 3 de gasmengsels zijn in 10 runs, 20 dieren blootgesteld, 10 beren en 10 zeugen. Het levend gewicht van de dieren in de N₂/CO₂ groep was 107 ± 5kg, in de CO₂-95 groep 108 ± 8kg en in de CO₂-85 groep 108 ± 7kg. Er is geen verschil in gewicht tussen de verschillende experiment dagen vastgesteld.

Tabel 2 Realisatie aantal dieren per gasmengsel per slachtdag.

	Gas		
	85-CO2	95-CO2	70N2/30CO2
Dag 1 (n)	10	-	10
Dag 2 (n)	4	6	10
Dag 3 (n)	6	14	-

4.1 Gas concentraties

De gasconcentraties zijn gemeten 40 cm boven de bodem van gondel tijdens de gehele blootstellingsduur. De gerealiseerde gasconcentraties zijn erg stabiel gedurende de gehele blootstellingsduur en komen goed overeen met de ingestelde waarde (Figuur 1). Voor zowel de CO₂-95 groep als is de N₂/CO₂ groep was de gasconcentratie stabiel tijdens het dalen (start), het verblijf (tijdens) en stijgen (eind) van de gondel. In de CO₂-85 groep was de CO₂ concentratie aan het eind van de blootstelling, tijdens het stijgen 2,5% lager dan de ingestelde waarde.



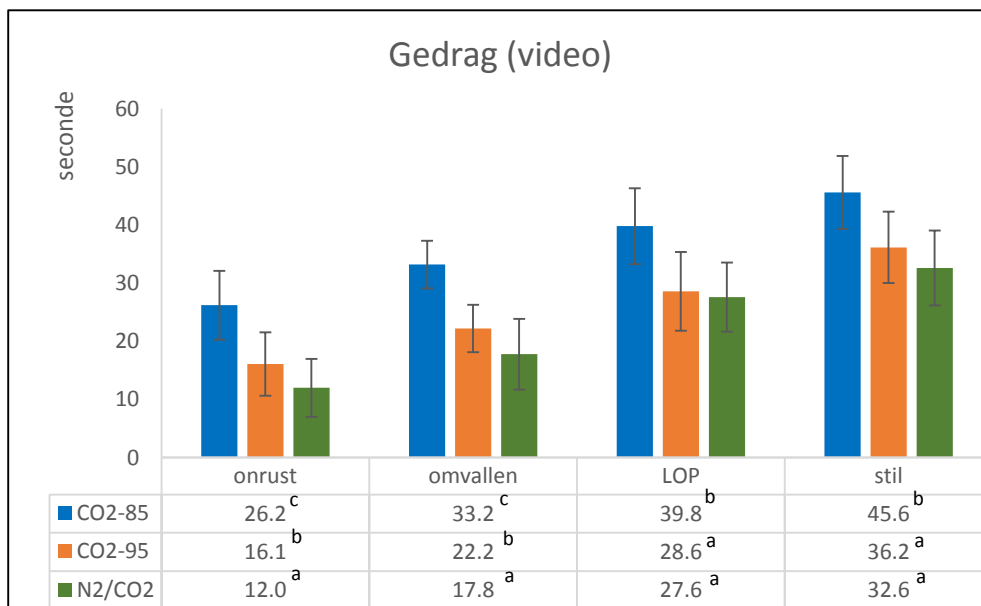
Figuur 1 Gerealiseerde O₂ en CO₂ concentraties gemeten 40 cm boven de bodem van de gondel.

4.2 Gedrag

Gedragsobservaties op basis van videobeelden zijn in een (semi) commerciële gas-verdovingsapparaat beperkt mogelijk. Door de geringe afstand van de camera's tot de dieren en het niet altijd volledig in beeld zijn van de dieren zijn de gedragsparameters beperkt tot de goed waarneembare waarnemingen en de waarnemingen die een duidelijke relatie hebben met ongerief (onrust) voor bewustzijnsverlies, of met het moment van bewustzijnsverlies (Loss of Posture).

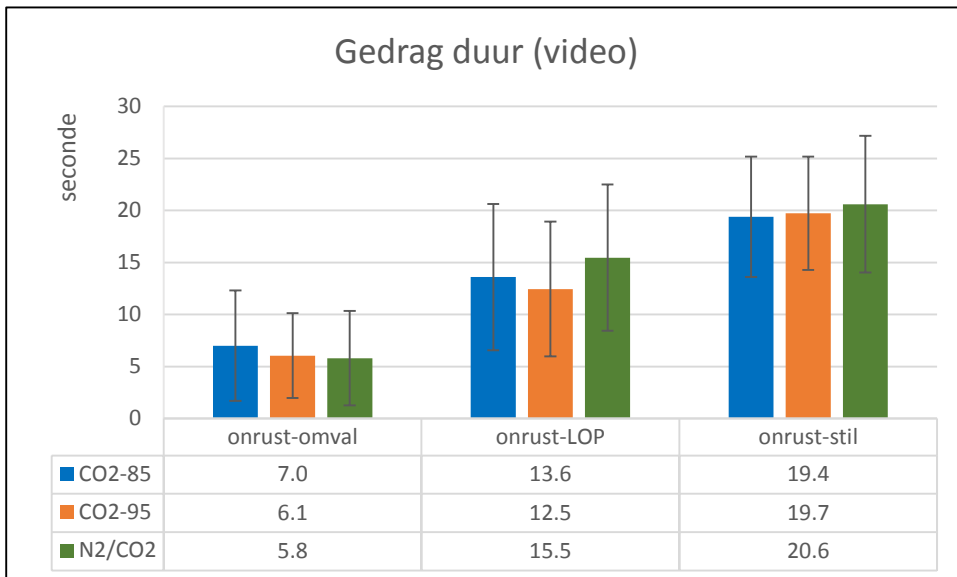
Respiratoire distress (diepe of verhoogde respiratie en of 'Gasping') is niet beoordeeld, omdat dit niet voor alle dieren goed te observeren is en daarmee een onbetrouwbare beoordeling geeft.

Kort na het begin van de blootstelling aan het gas begint bij alle varkens bij alle gasmengsel een periode van onrustig gedrag die heviger wordt en overgaat in opwinding. Het onrustige gedrag begint met achteruit en vooruit lopen, kopbewegingen, omdraaien. De periode van onrust start het snelst in de N₂/CO₂ groep, gevolgd door de CO₂-95 groep en als laatste in de CO₂-85 groep (Figuur 2). De periode van onrust gaat door als de dieren omvallen. In de N₂/CO₂ groep treedt omvallen significant het snelst op gevolgd door de CO₂-95 groep en als laatste in de CO₂-85 groep. De duur van onrust (Figuur 3), dus van start tot moment van omvallen, is in alle 3 de groepen vergelijkbaar en duurt gemiddeld 6-7seconden.



Figuur 2 Optreden van gedragsreacties tijdens blootstelling aan gasmengsels.

Loss of posture, dieren liggen en doen geen poging meer om op te richten, treedt significant eerder op in de CO₂-95 en N₂/CO₂ groepen dan in de CO₂-85 groep. De duur van de periode van start onrust tot Loss of Posture is echter voor alle 3 de groepen gelijk. Na Loss of Posture gaan bewegingen van de dieren nog door of treden convulsies op. Ook het moment dat dieren niet meer bewegen is later in de CO₂-85 groep maar de duur vanaf het moment dat onrustig gedrag optreedt tot dat de dieren stil liggen is gelijk in alle 3 de groepen.



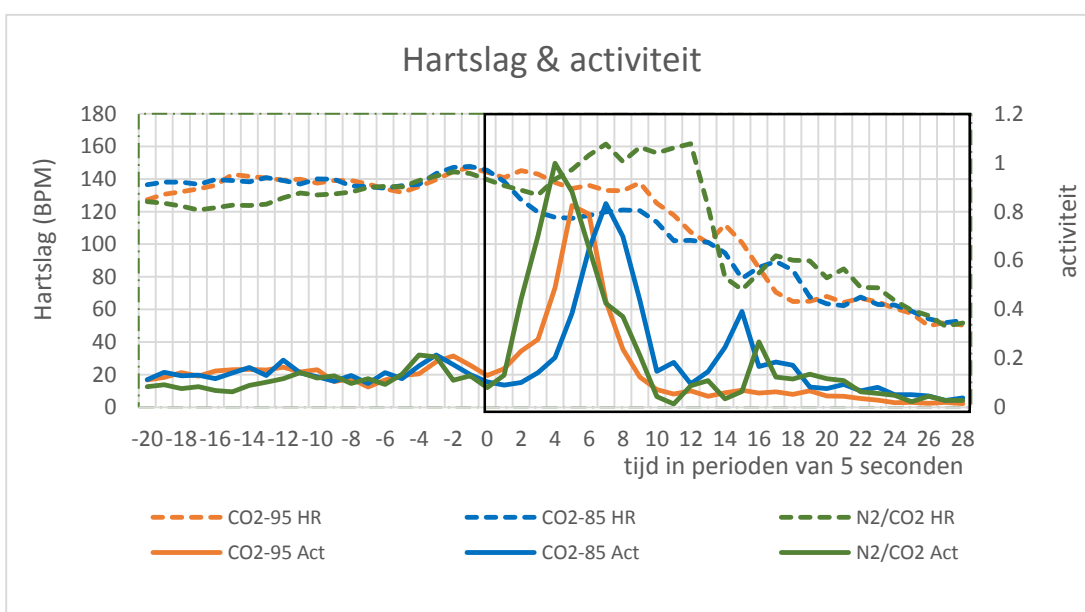
Figuur 3 Duur van onrust tot aan omvallen en bewustzijnsverlies (LOP) en totdat dieren stil liggen.

4.3 Fysiologische meting

Bij alle dieren zijn continu de hartslag, activiteit (3d acceleratie) en respiratie gemeten. Daarnaast is van 10 dieren per groep, steeds bij 1 van de 2 dieren die gelijktijdig in de verdoover werden gebracht, de hersenactiviteit gemeten.

4.4 Activiteitsmeting

Verhoogde activiteit van de dieren is gemeten met behulp van een 3d acceleratie meter. Kort na blootstelling aan de verschillende gasmengsels neemt de activiteit van de dieren sterk toe (Figuur 4). De toename in activiteit gemeten met de acceleratie meters komt wat betreft timing goed overeen met de toename in activiteit zoals geobserveerd op de videobeelden. De eerste hoge piek in de grafiek geeft de toename in activiteit weer in de periode voor omvallen, gedurende verlies van het bewustzijn (omvallen en LOP) en kort na LOP. De 2^e, lagere piek geeft de convulsies weer die optreden enige tijd na verlies van bewustzijn.



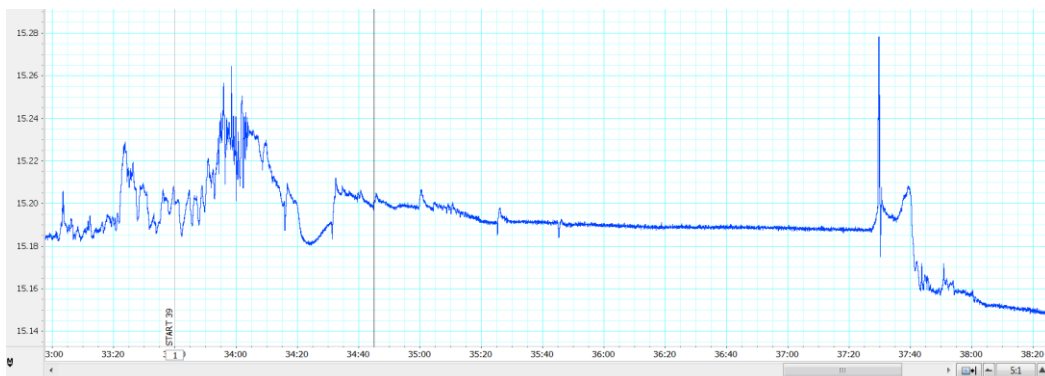
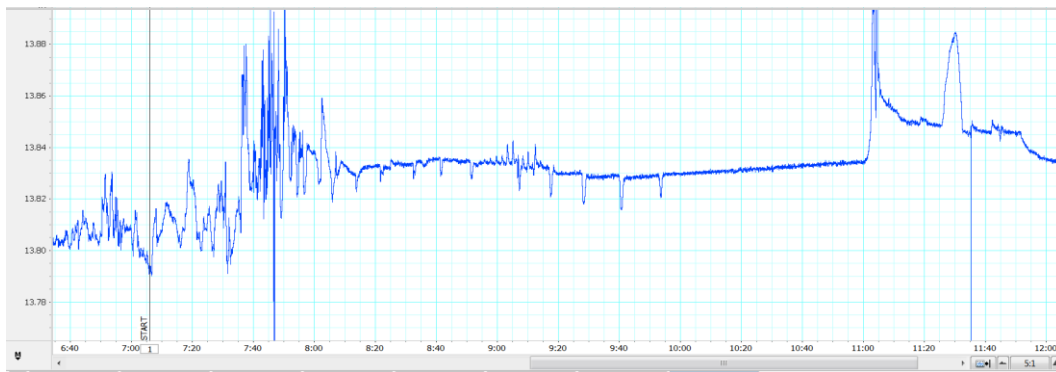
Figuur 4 Verloop van de gemiddelde hartslag (HR) en activiteit (Act) gedurende blootstelling aan de 3 gasmengsels.

4.5 Respiratie

Respiratie is gemeten bij alle dieren door middel van de borstband van het bio-harnas. Tijdens heftige spierbewegingen van de dieren is de respiratie niet te onderscheiden op het signaal vanwege de bewegingsartefacten. In de CO₂-85 en de CO₂-95 groep neemt de ademfrequentie sneller af dan in de N₂/CO₂ groep (Tabel 3). Het aantal ademhaling tijdens de blootstelling aan het gasmengsel is hoger in N₂/CO₂ groep (16) dan in de CO₂-85 en CO₂-95 groep (resp. 11 en 12). Het aantal ademhaling per minuut verschilt niet tussen de gasmengsels. Naast de snellere afname van de ademhaling is de ademhaling bij blootstelling aan de hoge CO₂ ook sneller onregelmatig dan in de N₂/CO₂ groep (Figuur 5).

Tabel 3 Duur tot laatste ademhaling en aantal ademhalingen tijdens blootstelling aan gas mengsel.

	duur ademhaling	aantal pieken
85-CO ₂	119	12
95-CO ₂	96	11
30N ₂ /70CO ₂	168	16

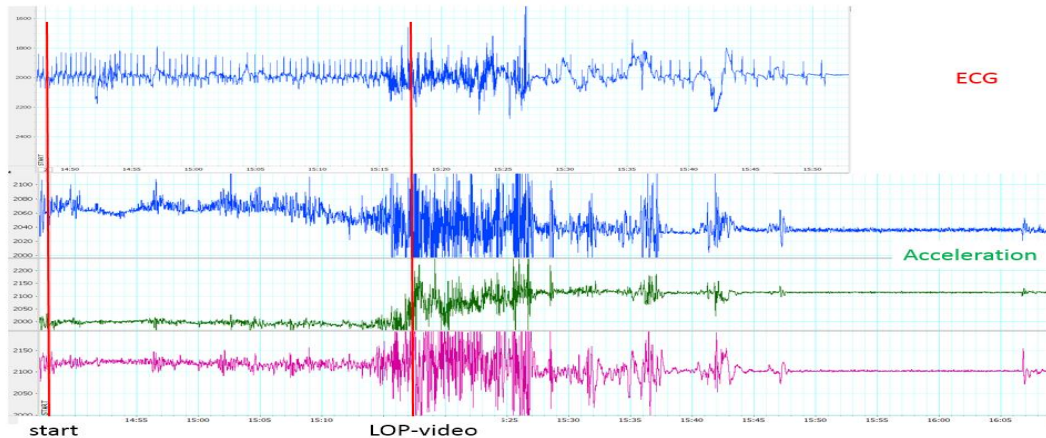


Figuur 5 Voorbeeld van verandering in respiratie tijdens blootstelling aan 1) CO₂-85, 2) CO₂-95 en 3) N₂/CO₂.

4.6 Hartactiviteit

De basis hartactiviteit van alle dieren verschilt niet per slachtdag en niet tussen de verschillende behandelingen. Nadat de dieren de gondel in zijn gegaan en worden blootgesteld aan het gasmengsel is er geen directe verandering in de hartslag te zien (Figuur 6). In zowel de CO₂-85 als de CO₂-95 groep neemt de hartslag geleidelijk af. De verlaging van de hartslag begint al na ca 10 seconden. In de N₂/CO₂ groep de neemt de hartslag pas af na intreden van bewusteloosheid.

De afname van de gemiddelde hartslag in de tijd wordt verstoord door korte perioden van verhoogde hartslag van individuele dieren tijdens de perioden van toegenomen activiteit en onrust.



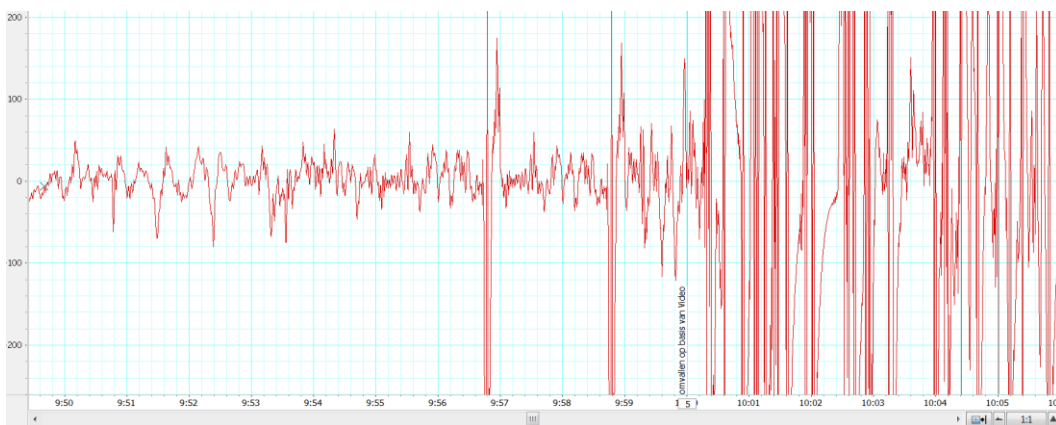
Figuur 6 Voorbeeld van hartslag en acceleratie van 1 varken (dier 31).

4.7 Hersenactiviteit

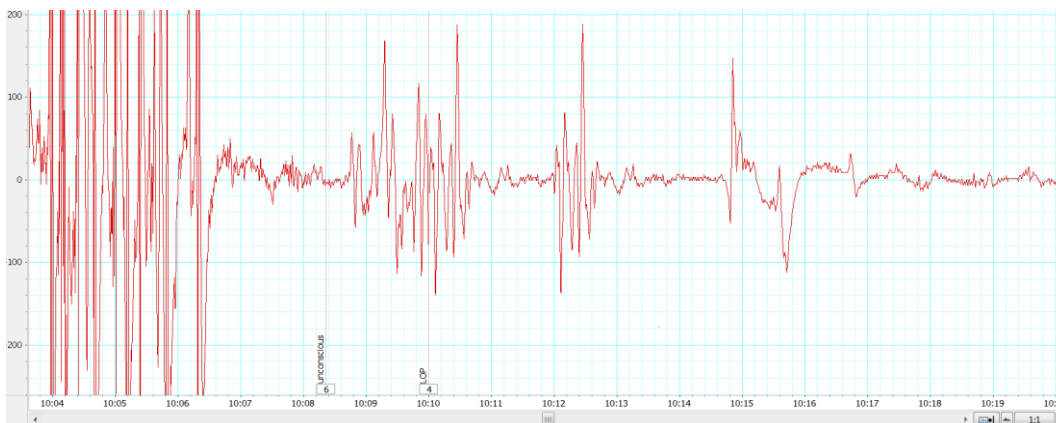
Voor het vaststellen van het moment van bewustzijnsverlies zijn 29 dieren voorzien van plak elektroden voor het registreren van het EEG. Bij 17 van de 29 dieren, 8 dieren in de CO₂-85 groep, 3 dieren in de CO₂-95 en 6 dieren in de N₂/CO₂ groep zijn de elektroden blijven zitten en is een EEG signaal opgenomen. Het loslaten van de plakelektroden wordt voornamelijk veroorzaakt door de ongecontroleerde heftig bewegingen en is een bekend risico van de toegepaste methode. Op de verkregen data is een automatische analyse uitgevoerd. De QCON index of consciousness en de burst-suppressie ratio (BSR) waarden die zijn gevonden blijken een onjuiste inschatting van het verlies van bewusteloosheid te geven. Reden hiervoor zijn de bewegingsartefacten op het signaal. De automatische analyse software analyseert het opgenomen signaal in periodes van 12 seconden. Indien het signaal niet voldoet aan de karakterisering voor een EEG signaal, bijvoorbeeld tijdens het optreden van bewegingsartefacten (Figuur 7b), wordt er een nieuwe periode geanalyseerd. Door de bewegingsartefacten is daardoor de interpretatie van de Qcon waarde en BSR waarde veel te conservatief en niet toepasbaar op de huidige data. Om toch te komen tot een beoordeling van het EEG op intreden van bewusteloosheid naast de beoordeling van het gedrag, zijn alle hersenactiviteitopnamen omgezet naar een ander format zodat het ruwe EEG visueel kon worden beoordeeld.



Figuur 7a EEG signaal kort voor blootstelling aan gasmengsel (basislijn) en direct na start blootstelling aan gasmengsel.

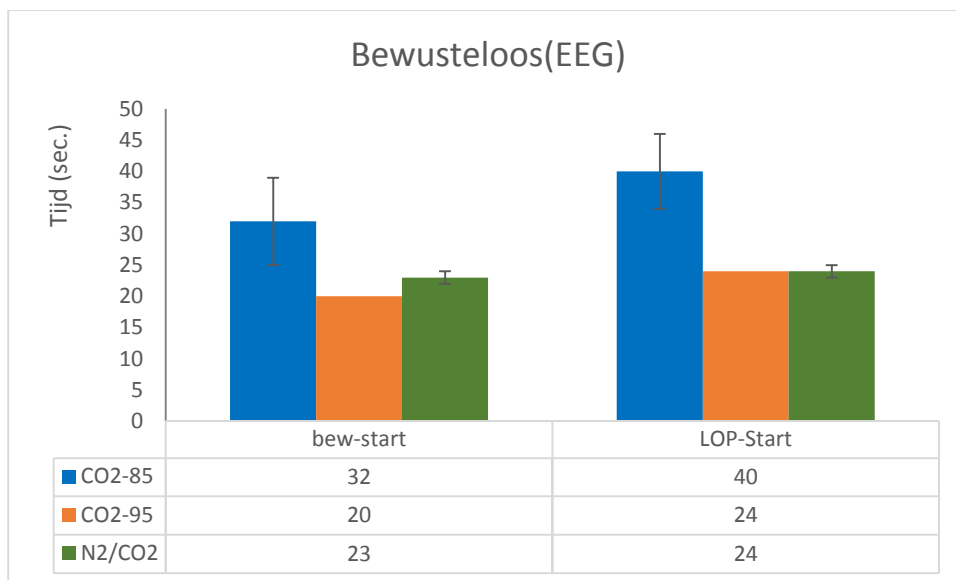


Figuur 7b EEG signaal kort voor en direct nadat de dieren "omvallen".



Figuur 7c Suppressie van het EEG.

Het EEG is beoordeeld op verandering van frequentie en amplitude die kenmerkend zijn voor het intreden bewusteloosheid (Figuur 7c) ten opzichte van de basislijn (Figuur 7a) (Baars et al., 2003, Verhoeven et al., 2015a). De verandering van het EEG, met name de verschuiving naar een groter aandeel in lage frequentie start kort voor of valt samen met de bewegingsartefacten op het signaal (Figuur 7b). Tijdens de bewegingsartefacten is er geen goede interpretatie van het EEG signaal mogelijk. Ook is er door de bewegingsartefacten geen consistente poweranalyse van het signaal mogelijk. De eerste verandering van het EEG signaal valt samen met het moment dat dieren moeite krijgen met staan en beginnen te vallen. Kort na de sterke bewegingsartefacten op het signaal is er een sterke afname in amplitude en frequentie van het EEG te zien die kenmerkend is voor bewusteloosheid. Het moment waarop bewusteloosheid op het EEG is beoordeeld valt nagenoeg samen met het moment van Loss of Posture op de videobeelden.



Figuur 8 Intreden van bewusteloosheid vastgesteld op basis van EEG verandering en op basis van loss of posture.

Betrouwbare beoordeling van de EEG signalen is mogelijk bij slechts een beperkt aantal dieren, in de CO₂-85 groep bij 6 dieren, in de CO₂-95 groep bij 1 dier en in de N₂/CO₂ groep bij 4 dieren. Door de heftige bewegingen van de dieren in alle groepen zijn een deel van de elektroden los gegaan. Bij de dieren waar de elektroden goed zijn blijven zitten zijn een aantal dieren afgevallen doordat er teveel artefacten op het signaal zijn voor een betrouwbare analyse. Bij de dieren waar betrouwbaar bewusteloosheid op basis van het EEG is vastgesteld blijkt het moment van bewustzijnsverlies overeen te komen met het moment van loss of posture of zelfs iets hiervoor te liggen (Figuur 8). De beoordeling van het moment van loss of posture is mogelijk iets beïnvloed door de bewegingen van de dieren.

4.8 Vleeskwaliteit

Algemeen zijn de karkaskwaliteit (Tabel 4) en vleeskwaliteit (Tabel 5) als goed beoordeeld. Er zijn geen significante verschillen in karkaskwaliteit gevonden door de 3 verschillende gasmengsels. Zoals verwacht zijn er significante sekse effecten gevonden in met name karkasgewicht, rendement en vet % in de spier (MFOM).

Tabel 4 Gemiddelde waarde en P-waarde voor karkas kwaliteit variabelen.

	Gas			Sexe		P Value	
	70N30CO2	85CO2	95CO2	gelt	beer	Gas	sex
Levend gewicht (kg)	108.64	107.93	107.07	107.1	108.66	0.773	0.388
Geslacht gewicht (kg)	88.18	86.94	86.55	85.37	89.07	0.677	0.022
slachtpercentage (%)	79.19	78.34	78.88	77.59	80.01	0.228	0.0001
Spekdikte (mm)	12.9	12.68	12.57	12.63	12.81	0.837	0.717
Spierdikte (mm)	60.3	59.06	62.33	57.61	63.51	0.202	0.0002
mager vlees (%)	64.39	64.11	64.81	63.89	64.98	0.536	0.061

Er zijn zeer beperkte verschillen gevonden in vleeskwaliteitsparameters (Tabel 5). In pH en temperatuur van de spier op 45 minuten post mortem (p.m) is er alleen een lagere pH gevonden bij beren dan bij zeugen. Er is geen verschil gevonden in pH en temperatuur op 45 minuten post mortem tussen de gasmengsels.

Opvallend is de significant lagere eind temperatuur van de SM en LT spier in de 70N₂30CO₂ groep in vergelijking met de andere twee behandelingen. Het verschil kunnen we niet verklaren want er is geen significante correlatie gevonden met gewicht, spek en of spierdikte.

Er is een significant effect van gasmengsel gevonden op de kleur van de spier. Het vlees van de dieren in de 70N₂30CO₂ groep heeft een significant hogere a-waarde en een hogere mate van kleurverzadiging (chroma) dan in de andere 2 groepen. Dit laat zich zien in een meer rode kleur.

Tabel 5 Gemiddelde waarde en significantie (P-waarde) voor vleeskwiteit variabelen.

	Gas			Sexe		P-value	
	70N30CO2	85CO2	95CO2	gelt	beer	Gas	sexe
pH45SM	6.32	6.45	6.44	6.49	6.32	0.116	0.001
pH45LT	6.44	6.4	6.42	6.5	6.34	0.951	0.01
Temp SM °C	35.74	36.06	36.01	35.83	36.05	0.853	0.605
Temp LT °C	35.68	36.54	36.66	36.17	36.42	0.079	0.461
Measurements at 24 h p.m.							
pHuSM	5.65	5.62	5.59	5.62	5.63	0.28	0.8
pHuLT	5.65	5.6	5.59	5.6	5.62	0.33	0.53
Temp SM °C	5.9b	7.38a	7.18a	6.92	6.72	0.0001	0.186
Temp LT °C	5.44b	6.5a	6.62a	6.33	6.03	0.0001	0.031
ECuSM (mS)	4.75	5.05	4.31	4.33	5.08	0.157	0.008
ECuLT (mS)	3.36	3.37	3.58	3.52	3.35	0.099	0.064
Drip loss %	2.24	2.25	2.27	2.27	2.24	0.998	0.949
Colour JSC	2.68	2.39	2.44	2.5	2.5	0.291	1
Minolta Colour							
L*	49.37	48.74	49.61	49.42	49.06	0.6977	0.583
a*	6.99a	6.25b	6.33b	6.45	6.61	0.027	0.45
b*	1.37	1.18	1.2	1.28	1.22	0.762	0.77
Croma	26.18a	20.71b	21.17b	22.34	23.05	0.026	0.635

EC: Electrical conductivity; u: ultimate; SM: *semimembranosus* muscle; LT: *longissimus thoracis*. JSC: Japanese scale colour; L*, a* and b*: variables of Minolta: tendency to the white, red and yellow colour; Croma = $(a^{**2} + b^{**2})^{**1/2}$

5 Conclusies

5.1 Experiment met verschillende CO₂ concentraties

Blootstellen van varkens aan gasmengsels met 85% en 95% CO₂ en ook aan het 70% N₂/ 30%CO₂ mengsel veroorzaakt onrustig gedrag, verhoogde activiteit en opwinding voordat de dieren het bewustzijn verliezen. Het onrustig gedrag start met achteruit en vooruit lopen, kopbewegingen, omdraaien. De intensiteit van de activiteit neemt snel toe en bereikt een piek op het moment van of kort nadat dieren moeite krijgen om te blijven staan. Er is geen verschil gevonden in de intensiteit van veranderend gedrag tussen de 3 gasmengsels.

De heftige bewegingen beginnen voordat met zekerheid kan worden vastgesteld dat de dieren bewusteloos zijn. Bij een deel van de dieren lijken er nog duidelijke pogingen tot oprichten te zijn. Het moment dat het dier geen poging meer doet om zich op te richten, Loss of posture, valt samen met het verlies van bewusteloosheid gebaseerd op EEG metingen. Het moment waarop onrustig gedrag start tot het moment van bewustzijnsverlies is de periode dat er sprake kan zijn van ongerief. De duur van deze periode verschilt niet significant tussen de 3 gasmengsels (12 tot 16 seconden) maar lijkt het kortst bij de hoogste CO₂ concentratie. Het moment dat de dieren beginnen om te vallen komt overeen met het moment dat er een eerste verandering op het EEG lijkt te zijn. Deze eerste verandering kenmerkt de start van de inductie naar vermindert bewustzijn maar er kan dan op basis van het EEG nog niet worden geconcludeerd dat de dieren bewusteloos zijn en het is niet duidelijk hoe bewust dieren deze transitieperiode meemaken.

In de hele periode tussen omvallen en loss of posture, dus een totaal verlies van controle over het lichaam worden heftige spierbewegingen gezien. Door deze heftige spierbewegingen zijn er veel artefacten op het EEG signaal waardoor interpretatie van EEG in deze periode niet goed mogelijk is. Bij de interpretatie van de EEG's moet enige voorzichtigheid in acht worden genomen. Door artefacten op het signaal is interpretatie van het EEG signaal vaak beperkt tot delen van het totale signaal. Daarnaast is bij 1 behandelingsgroep (CO₂ 95) slecht bij 1 dier een bruikbaar EEG geregistreerd. Direct na het stoppen van de heftige bewegingen zijn de veranderingen op het EEG dusdanig dat er kan worden geconcludeerd dat de dieren dan het bewustzijn verliezen of hebben verloren. In de 70%N₂ / 30%CO₂ groep gaan de hartslag en ademhaling langer door dan bij de 85%CO₂ en 95%CO₂ groepen. Om deze reden is bij een lage CO₂ concentratie een langere verblijfsduur nodig om zeker te zijn dat de dieren niet meer bij bewustzijn komen na verlaten van de verdoover. Hoge CO₂ concentraties veroorzaken naast een sneller daling ook een onregelmatigere ademhaling dan laag CO₂. Deze snelle verstoring van de ademhaling is een indicatie dat hoog CO₂ een meer ademnood veroorzaakt.

Op basis van de mate en intensiteit van veranderingen in gedragsrespons en veranderingen in de hartactiviteit kan er geen verschil worden aangetoond in de impact die de verschillend gasmengsels op het dier hebben. In alle 3 de gasmengsels beginnen de eerste veranderingen kort nadat de dieren worden blootgesteld aan het gasmengsels. Op basis van dit onderzoek konden er geen verschillen in aversieve reacties worden aangetoond tussen hoge en lage CO₂ concentraties, dit komt niet overeen met eerdere publicaties (Raj & Gregory, 1996, Llonch et al., 2012). Alle 3 de gasmengsels in dit onderzoek hadden een zuurstof gehalte lager dan 2% waardoor de inductie van bewusteloosheid ook in de groep met 30% CO₂ snel gaat. Mogelijk worden hierdoor geen verschillen in aversie waargenomen.

De invloed op de productkwaliteit van de verschillend gasmengsels was klein. Het enige significante verschil dat is gevonden is een effect op kleur. Vlees van de varkens verdoofd met het N₂/CO₂ mengsel heeft een rodere kleur dan het vlees in de 2 groepen met alleen CO₂.

5.2 Andere alternatieven

Een alternatieve verdoving met alleen stikstof in plaats van een mengsel met CO₂ is onderzocht in Duitsland. In dit onderzoek zijn varkens blootgesteld aan een met N₂ gevuld schuim. Resultaten uit dat onderzoek zijn niet gepubliceerd en het onderzoek heeft nog niet tot een bruikbaar alternatief voor CO₂ geleid. Vervolgonderzoek naar bruikbaarheid van deze methode wordt uitgevoerd in Zweden bij RISE, resultaten worden medio 2019 verwacht.

Een andere alternatief voor CO₂ dat is toegestaan voor pluimvee is Low Atmospheric Pressure Stunning (LAPS). Deze methode is niet meegenomen in dit onderzoek omdat de methode in Engeland wordt onderzocht (Glasgow University). Resultaten van het onderzoek met LAPS als alternatief voor het verdoven van varkens met CO₂ worden niet eerder dan in 2020 verwacht.

Elektrische verdoving van varkens bij de huidige commerciële slachtsnelheden veroorzaakt vooral dierwelzijnproblemen in de vorm van stress en angst bij het opdrijven en fixeren van de dieren voor de daadwerkelijke verdovingshandeling. Het opdrijven van dieren uit een groep en fixeren in een lijn achter elkaar is noodzakelijk in de huidige elektrische verdovingssystemen. Ook het % foutief geplaatste elektroden (bijv. op de hals) veroorzaakt ongerief tijdens toepassing van elektrische verdoving. Daarnaast lijdt elektrische verdoving tot significante vleeskwaliteit issues zoals bloedingen in het vlees. Elektrische verdoving wordt om deze redenen niet als een redelijk alternatief gezien door de vleesindustrie.

Literatuur

- Atkinson, S., Velarde, A., Llonch, P., Algers, B. Assessing pig welfare at stunning in Swedish commercial abattoirs using CO₂ group-stun methods: *Animal Welfare* Volume 21, Issue 4, November 2012, Pages 487-495.
- Baars BJ, Ramsøy TZ and Laureys S 2003. Brain, conscious experience and the observing self. *Trends in Neurosciences* 26, 671–675.
- Becerril-Herrera, M., Alonso-Spilsbury, M., Lemus-Flores, C., Guerrero-Legarreta, I., Olmos-Hernández, A., Ramírez-Necoechea, R., Mota-Rojas, D. CO₂ stunning may compromise swine welfare compared with electrical stunning: *Meat Science* Volume 81, Issue 1, January 2009, Pages 233-237.
- Bolaños-López, D., Mota-Rojas, D., Guerrero-Legarreta, I., Flores-Peinado, S., Mora-Medina, P., Roldan-Santiago, P., Borderas-Tordesillas, F., García-Herrera, R., Trujillo-Ortega, M., Ramírez-Necoechea, R. Recovery of consciousness in hogs stunned with CO₂: Physiological responses: *Meat Science* Volume 98, Issue 2, October 2014, Pages 193-197.
- Channon, H.A., Payne, A.M., Warner, R.D. Effect of stun duration and current level applied during head to back and head only electrical stunning of pigs on pork quality compared with pigs stunned with CO₂: *Meat Science* Volume 65, Issue 4, December 2003, Pages 1325-1333.
- CIE (1976) Commission Internationale de l'Éclairage. Colorimetry. (Vol. Publication n°15). Vienna, Austria: Bureau Central of CIE.
- Dalmau, A., Llonch, P., Rodríguez, P., Ruíz-de-la-Torre, J.L., Manteca, X., Velarde, A. Stunning pigs with different gas mixtures: Gas stability: *Animal Welfare* Volume 19, Issue 3, August 2010, Pages 315-323.
- Dalmau, A., Rodríguez, P., Llonch, P., Velarde, A. Stunning pigs with different gas mixtures: Aversion in pigs: *Animal Welfare* Volume 19, Issue 3, August 2010, Pages 325-333.
- Hartmann, H., Rindermann, G., Siegling-Vlitakis, C., Arndt, G., Wolf, K., Fries, R. Relationship between the response to the corneal reflex (depth of narcosis) and specific parameters in the slaughter blood of pigs narcotised with CO₂: *Animal Welfare* Volume 19, Issue 4, November 2010, Pages 515-522.
- Llonch, P., Dalmau, A., Rodríguez, P., Manteca, X., Velarde, A. Aversion to nitrogen and carbon dioxide mixtures for stunning pigs. *Animal Welfare* 2012, 21: 33-39
- Llonch, P., Rodríguez, P., Jospin, M., Dalmau, A., Manteca, X., Velarde, A. Assessment of unconsciousness in pigs during exposure to nitrogen and carbon dioxide mixtures: *Animal* Volume 7, Issue 3, March 2013, Pages 492-498.
- Machtolf, M., Moje, M., Troeger, K., Bülte, M. Stunning slaughter pigs with helium compared to carbon dioxide: Impact on animal welfare as well as carcass and meat quality: *Fleischwirtschaft* Volume 93, Issue 10, 2013, Pages 118-124.
- Marahrens, M. 2017. Stunning of slaughter pigs and non-viable piglets with nitrogen gas filled high-expansive foam – first results of a proof of concept. In: *Welfare Impacts of Controlled Atmosphere Methods for Stunning or Killing Animals*. Symposium June 2017, United Kingdom.
- Nakai, H., Saito, F., Ikeda, T., Ando, S. and Komatsu, A. (1975) Report 29. National Institute of Animal Industry, Chilca, Japan.
- Nowak, B., Mueffling, T.V., Hartung, J. Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs: Impact on animal welfare and meat quality: *Meat Science* Volume 75, Issue 2, February 2007, Pages 300-308.
- 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. *Animal Welfare* 4, 273–280.
- Rasmussen and Andersson (1996) New method for determination of drip loss in pork muscles. *Proc. of the 42nd. ICOMST*, 1-6 sept., Lillehammer, pp. 286-287.
- Rodríguez, P., Dalmau, A., Ruiz-de-la-Torre, J.L., Manteca, X., Jensen, E.W., Rodríguez, B., Litvan, H., Velarde, A. Assessment of unconsciousness during carbon dioxide stunning in pigs: *Animal Welfare* Volume 17, Issue 4, November 2008, Pages 341-349.
- Tolo, E., Christensen, L., Martoft, L., Forslid, A. CO₂-stunning in pigs: *Animal Welfare* Volume 19, Issue 3, August 2010, Pages 369-371.
- Verhoeven M, Gerritzen M, Hellebrekers L and Kemp B 2015a. Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: a review. *Animal* 9, 320–330.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen Livestock Research Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl [www.wur.nl/
livestock-research](http://www.wur.nl/livestock-research)

Wageningen Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

