

Aus der Klinik für kleine Klautiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

und dem

Institut für Tierschutz und Tierhaltung des Friedrich-Loeffler-Instituts

**Untersuchung zur alternativen Betäubung
von Schlachtschweinen mit einem hochexpansiven,
Stickstoff-gefüllten Schaum unter Tierschutz- und
Fleischqualitätsaspekten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Valeska Pöhlmann
Tierärztin aus Bremen

Berlin 2018
Journal-Nr.: 4032

Aus der Klinik für kleine Klauentiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
und dem Institut für Tierschutz und Tierhaltung des Friedrich-Loeffler-Instituts

**Untersuchung zur alternativen Betäubung von Schlachtschweinen
mit einem hochexpansiven, Stickstoff-gefüllten Schaum
unter Tierschutz- und Fleischqualitätsaspekten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Valeska Pöhlmann
Tierärztin
aus Bremen

Berlin 2018

Journal-Nr. 4032

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Lahrmann
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Christa Thöne-Reinecke
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Diana Meemken

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

pigs; inhalation; nitrogen; stunning; animal welfare; slaughter; foams; meat quality; respiratory gases; respiration; heart rate; echocardiography; body temperature; carcass quality; pH

Tag der Promotion: 19.02.2018

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-883-2

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2018

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2018

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis

a*	Rot-Grün-Farbachse
AAI	A-line ARX index
AF	Atemfrequenz
AF Gruppe	Mittlere Atemfrequenz von 6-7 Tieren, von denen 2-4 Tiere für den Versuch ausgewählt wurden. AF Gruppe wurde als absoluter Basiswert für die Atemfrequenz angenommen
ASAT	Aspartataminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AVV LmH	Allgemeine Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung der Einhaltung von Hygienevorschriften für Lebensmittel und zum Verfahren zur Prüfung von Leitlinien für eine gute Verfahrenspraxis
b*	Blau-Gelb-Farbachse
BSI	burst suppression index
CK	Creatinkinase
d.h.	das heißt
dB	Dezibel
EEG	Elektroenzephalographie/Elektroenzephalogramm
EFSA	European Food Safety Authority
EKG	Elektrokardiographie /Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyographie/Elektromyogramm
FAD(H ₂)	Flavin-Adenin-Dinukleotid
HCO ₃ -	Bikarbonat
HF	Herzfrequenz
HWS	"hot-water-spraying"
IASP	International Association for the Study of Pain

L*	Helligkeit
LF	Leitfähigkeit
LF ₄₅	Leitfähigkeit 45 Minuten post mortem
LF ₂₄	Leitfähigkeit 24 Stunden post mortem
LOP	"loss of posture"
LORR	"loss of righting reflex"
M.	Musculus (lat. Muskel)
MLEAP	"middle latency evoked auditory potentials"
MW	Mittelwert
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
o.g.	oben genannte
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
pH	pH-Wert
pH ₄₅	pH-Wert 45 Minuten post mortem
pH ₂₄	pH-Wert 24 Stunden post mortem
[F/f]	Quotient aus der gepressten Fleischfläche (F) und der aus ihr auspressbaren Gewebsflüssigkeit (f)
Q	Ergebnis von [F/f] (Wasserbindung)
Q ₁	Wasserbindung 45 Minuten post mortem
Q ₂₄	Wasserbindung 24 Stunden post mortem
SatO ₂	Sauerstoffsättigung
SEP	somatosensorisch evozierte Potentiale
TierSchlV	Tierschutz-Schlachtverordnung
TierSchNutzV	Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung
vergl.	vergleiche
ZNS	zentrales Nervensystem

Liste projektspezifischer Fachausdrücke

Analgesie: vollständige Aufhebung oder Unterdrückung des Schmerzempfindens durch Blockade oder Schädigung der Nervenleitungen oder durch Ausschaltung der zentralen Schmerzzentren.

Anästhesie: Zustand vollständiger Empfindungslosigkeit.

Anoxie: vollständiges Fehlen von Sauerstoff.

Aversive Reaktion (lat. aversatio: Abneigung): ist eine auf einen aversiven Reiz (z.B. die Bildung von Kohlensäure auf der Schleimhaut während der CO₂-Betäubung) folgende Vermeidungsreaktion. Beim Schwein umfassen diese Reaktionen Rückwärtsdrängen, Fluchtversuche, Vokalisation und Schnappatmung (LLONCH et al., 2012).

Bewusstsein: Bewusstsein ist ein "Zustand geistiger Klarheit", der die volle Herrschaft über die Sinne bedingt (Duden) bzw. wird beschrieben als ein subjektiver Zustand, Gefühl oder Denkweise über Objekte und Ereignisse (GRIFFIN & SPECK, 2004). In dieser Arbeit wird der Begriff weitestgehend durch den Begriff der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ersetzt:

Wahrnehmungslosigkeit: Es "ist davon auszugehen, dass ein Tier dann wahrnehmungslos ist, wenn es [...] nicht wach ist und keine Anzeichen dafür vorliegen, dass es positive oder negative Gefühle wie Angst oder Aufregung spürt." [EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Erwägungsgrund 21].

Empfindungslosigkeit: "Das Empfindungsvermögen eines Tieres besteht im Wesentlichen in seiner Fähigkeit Schmerzen zu fühlen. Im Allgemeinen ist davon auszugehen, dass ein Tier dann empfindungslos ist, wenn es auf Reize wie Schall, Geruch, Licht oder physischen Kontakt nicht reagiert oder keine entsprechenden Reflexe zeigt." [EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Erwägungsgrund 21].

Expansionsrate: beschreibt das Verhältnis zwischen Schaumvolumen und eingesetztem Schaumkonzentrat.

Exzitation: = Erregung: Induzierte, reizbedingte Exzitation: chemische und physikalische Zustandsänderungen des Membranpotentials von Nerven- oder Muskelzellen nach äußeren Einwirkungen. Dies führt zu einer vorübergehenden, lokalen oder sich ausbreitenden deutlichen Veränderung der Potentialdifferenz mit gekoppelten elektrischen Impulsen, veränderter Stoffwechselaktivität und veränderter Permeabilität in nachgeschalteten Zellen.

hochexpansiv: in diesem Versuch: Schaum mit einer Expansionsrate von mehr als 1:300 in Bezug auf die Expansionsrate.

Hyperkapnie: Erhöhter arterieller Kohlendioxid-Partialdruck ($p\text{CO}_2$) auf Werte über 5,8 kPa (= 45 mmHg).

Hyperventilation: Vertiefte oder beschleunigte Atmung, die über den physiologischen Gasaustausch hinausgeht. Sie führt zu einer Verminderung des CO_2 -Partialdruckes ($p\text{CO}_2$) in den Alveolen und im arteriellen Blut (Hypokapnie), sowie zu einem Anstieg des arteriellen pH-Wertes (Alkalose).

Hypokapnie: Verminderter arterieller CO_2 -Partialdruck ($p\text{CO}_2$), z.B. infolge von Hyperventilation.

Hypoxie: Unterversorgung des Körpers mit Sauerstoff. Sie äußert sich durch eine Verminderung des Sauerstoff-Partialdrucks im Blut und in den Geweben.

i-Buttons: Integrierter Schaltkreis mit einer Eindrahttechnik-Schnittstelle des Herstellers Maxim Integrated (San Jose, USA). Die Gehäuse bestehen aus Edelstahl und ähneln einer Knopfzelle. Sie dienen der Erfassung der Körperkerntemperatur.

"Proof of Concept": Dieser Begriff wird im Zusammenhang dieser Arbeit nicht als Meilenstein, sondern als Synonym für eine Orientierungsstudie/Machbarkeitsstudie verwendet, bei der die prinzipielle Durchführbarkeit eines Vorhabens, die Betäubung von Schlachtschweinen mit einem hochexpansiven, Stickstoff-gefülltem Schaum unter möglichst geringen Belastungen für das Einzeltier im Vordergrund steht. Dabei wurden tierbasierte Parameter erhoben und kritische Anforderungen an den technischen Versuchsaufbau für den Bau einer größeren Betäubungseinheit für Schlachtschweine validiert (siehe auch: EFSA, 2013).

PSE-Fleisch: Abkürzung für die englischen Begriffe "pale" (blass), "soft" (weich) und "exsudative" (wässrig), bezogen auf die Fleischeigenschaften. Durch die einseitige Selektion auf einen hohen Magerfleischanteil im Fleisch ist in der Vergangenheit ein bestimmter Gendefekt, das sogenannte MHS-Gen (pathologisches P-Allel des Ryanodin-Rezeptor-Gens) (BICKHARDT, 2004) in der Schweinepopulation verbreitet worden. Insbesondere bei Tieren mit diesem sogenannten MHS-Gen kann es im Zusammenspiel mit Belastungen in jeglicher Form durch erhöhte Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum zu blassem Fleisch mit Verlust der Muskelfaserstruktur und erhöhtem Wasserverlust kommen. Durch Stresseinwirkung vor der Schlachtung erhöht sich der Stoffwechsel der Tiere, wodurch es zum Abbau von Glycogen und Glucose mit Temperaturanstieg im Muskel kommt. Im Zuge der Belastung kommt es zu einer erhöhten Bildung von Laktat (Milchsäure) und folglich einem pH-Wert-Abfall in der weißen Muskulatur. Es folgt die irreversible Zerstörung von Eiweißen, die nicht mehr im Stande sind Wassermoleküle zu binden.

respiratorische Azidose: Sie entsteht, wenn das durch den Stoffwechsel anfallende Kohlendioxid nicht eliminiert werden kann.

RSE-Fleisch: Abkürzung für die englischen Begriffe „reddish pink, soft, exudative“ und bezeichnet rötlich-pinkes, weiches, wässriges Schweinefleisch. Ebenso wie bei PSE-Fleisch (pale, soft, exsudative) wird RSE-Fleisch als Fleisch minderwertiger Qualität eingestuft.

somatosensorisch evozierten Potentiale (SEP): zentralnervöse Reizschwelle für Wahrnehmungen und Empfindungen an der Körperoberfläche, sowie für die Tiefensensibilität in der somatischen Hirnrinde. Ihr Verschwinden ist gleichzusetzen mit dem Eintritt der Bewusstlosigkeit.

"stun-to-stick"-Intervall: Maximale Dauer zwischen dem Eintreten in die Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit und der Tötung des Tieres durch Blutentzug, während der eine anhaltende Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit als gesichert gilt.

Tierversuchsgenehmigung und zeitlicher Rahmen der Versuchsdurchführung

Die Genehmigung von Versuchen an Wirbeltieren gemäß §8 Abs. 1 TierSchG i.V.m. §§34 Abs. 3, 33 TierSchVersV wurde am 09.11.2015 beantragt und am 15.03.2016 genehmigt. Dem Versuchsvorhaben wurde das Aktenzeichen: 84-02.04.2015.A532 zugeteilt.

Die Versuche wurden über einen Zeitraum von 8 Monaten zwischen dem 27.04.2016 und dem 30.11.2016 durchgeführt.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	I
LISTE PROJEKTSPEZIFISCHER FACHAUSDRÜCKE	III
TIERVERSUCHSGENEHMIGUNG UND ZEITLICHER RAHMEN DER VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	VI
INHALTSVERZEICHNIS	VII
1 EINLEITUNG.....	1
2 LITERATUR.....	3
2.1 Gesetzeslage	3
2.2 Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bei Mensch und Tier.....	4
2.2.1 Physiologische Grundlagen	4
2.2.2 Beurteilung von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch Beobachtung	7
2.2.2.1 Positionsverlust.....	7
2.2.2.2 muskuläre Exzitationen.....	8
2.2.2.3 EEG	9
2.2.2.4 sensorisch evozierte Potentiale.....	11
2.2.2.5 „Hot-Water-Spraying“	11
2.2.2.6 Blutmengenkontrollsysteme.....	12
2.2.3 Beurteilung von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch Berührung.....	13
2.2.3.1 Reflexe	13
2.3 Beurteilung von Stressempfinden beim Tier	14
2.3.1 Transkutaner pO ₂ , pCO ₂ , SpO ₂ und Atemtätigkeit	14
2.3.2 EKG- und Herzfrequenz.....	18
2.3.3 Körpertemperatur.....	21
2.3.4 Tierverhalten.....	22
2.3.5 Stichblut.....	23
2.4 Gasbetäubungsverfahren bei Schlachtschweinen.....	29
2.4.1 Kohlendioxid	29
2.4.1.1 Betäubungsanlagen in der Praxis	29
2.4.1.2 Gaswirkung	32
2.4.1.3 Vergleich zur Elektrobetäubung.....	35

2.4.2	Alternative Gasbetäubungsverfahren bei Schlachtschweinen	36
2.4.2.1	Argon	36
2.4.2.2	Helium	37
2.4.2.3	Stickstoff	39
2.4.2.3.1	Betäubung mit hochexpansivem, Stickstoff- gefülltem Schaum (Geflügel).....	43
2.5	Fleischqualität	45
2.5.1	pH-Wert	45
2.5.2	Muskelkerntemperatur.....	46
2.5.3	Leitfähigkeit.....	47
2.5.4	Wasserbindung.....	47
2.5.5	Tropfsaftverlust.....	49
2.5.6	Fleischfarbe.....	50
3	MATERIAL UND METHODEN	53
3.1	Studiendesign	53
3.1.1	Versuchstiere	54
3.1.2	Versuchsaufbau.....	55
3.1.2.1	Versuchsbox.....	55
3.1.2.2	Schaumerzeugung	56
3.1.2.3	Technische Anpassungen.....	61
3.1.3	Versuchsbedingungen.....	69
3.1.3.1	Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit	69
3.1.3.2	Umgebungslautstärke.....	69
3.1.3.3	Schaumbeschaffenheit	69
3.1.3.3.1	Restsauerstoffgehalt	70
3.1.3.3.2	Temperatur.....	72
3.1.3.3.3	Blasengröße.....	72
3.2	Beurteilung der Betäubung	73
3.2.1	pCO ₂ , pO ₂ und Atemtätigkeit	73
3.2.2	Herzfrequenz.....	76
3.2.2.1	dichotomisierte Atem- und Herzfrequenzen	78
3.2.3	Körperinnentemperatur.....	78
3.2.4	Körperbeschleunigung und Körperbewegungen.....	79
3.2.5	Tierverhalten während der Exposition	80
3.2.6	Reflexe und Tierreaktionen nach der Exposition.....	80
3.2.6.1	"stun-to-stick"-Intervall	82
3.2.7	EEG	82

3.2.8	sensorisch evozierte Potentiale.....	83
3.2.9	Stichblut.....	83
3.3	Beurteilung des Schaumgehalts in den Schlachtlungen	84
3.4	Beurteilung der Fleischqualität	85
3.4.1	pH-Wert.....	85
3.4.2	Muskelkerntemperatur.....	86
3.4.3	Leitfähigkeit.....	86
3.4.4	Wasserbindung.....	86
3.4.5	Tropfsaftverlust.....	87
3.4.6	Fleischfarbe.....	88
3.4.7	Kohlendioxidvergleichsgruppe	88
3.5	Statistik.....	89
3.5.1	Datenaufbereitung	89
3.5.2	Datenauswertung und statistische Tests	89
4	ERGEBNISSE.....	92
4.1	Versuchstiergröße und Untersuchungsdauer.....	92
4.2	Versuchsbedingungen	92
4.2.1	Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit	92
4.2.2	Lautstärke	92
4.2.3	Schaumbeschaffenheit	93
4.2.3.1	Restsauerstoffgehalt.....	93
4.2.3.2	Temperatur	93
4.2.3.3	Blasengröße	93
4.3	Beurteilung der Betäubung	94
4.3.1	pCO ₂ , pO ₂ und Atemtätigkeit	94
4.3.1.1	pCO ₂ und pO ₂	94
4.3.1.2	Atemtätigkeit	96
4.3.2	Herzfrequenz.....	98
4.3.2.1	dichotomisierte Atem- und Herzfrequenzen:	99
4.3.3	Körperinnentemperatur.....	99
4.3.4	Körperbeschleunigung und Körperbewegungen.....	99
4.3.5	Tierverhalten während der Exposition	100
4.3.6	Reflexe und Tierreaktionen nach der Exposition.....	102
4.3.6.1	Reflexprüfung und Nachbetäubung.....	102

4.3.6.2	Gasping	103
4.3.6.3	"stun-to-stick"-Intervall	103
4.3.7	EEG und sensorisch evozierte Potentiale	103
4.3.8	Stichblut	104
4.3.8.1	pH-Wert und Temperatur	104
4.3.8.2	Katecholamine	104
4.3.8.2.1	Adrenalin	104
4.3.8.2.2	Noradrenalin	105
4.3.8.3	Creatinkinase, Aspartataminotransferase und CK/ASAT-Quotient	105
4.3.8.4	Laktat	107
4.3.8.5	Glukose	108
4.4	Beurteilung des Schaumgehalts in den Schlachtlungen	109
4.5	Beurteilung der Fleischqualität	109
4.5.1	pH-Wert	109
4.5.1.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	111
4.5.2	Muskelkerntemperatur	113
4.5.2.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	113
4.5.3	Leitfähigkeit	113
4.5.3.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	113
4.5.4	Wasserbindung	114
4.5.4.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	115
4.5.5	Tropfsaftverlust	116
4.5.5.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	118
4.5.6	Fleischfarbe	118
4.5.6.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	120
5	DISKUSSION	121
5.1	Methodenkritik und Statistik	121
5.1.1	Methodenkritik	121
5.1.2	Statistik	122
5.2	Versuchsbedingungen	123
5.2.1	Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit	123
5.2.2	Lautstärke	123
5.2.3	Schaumbeschaffenheit	124
5.2.3.1	Restsauerstoffgehalt	124
5.2.3.2	Temperatur	126

5.2.3.3	Blasengröße	126
5.3	Beurteilung der Betäubung	127
5.3.1	pO ₂ , pCO ₂ und Atemtätigkeit	127
5.3.1.1	pO ₂ und pCO ₂	127
5.3.1.2	Atemtätigkeit	129
5.3.2	Herzfrequenz.....	130
5.3.2.1	dichotomisierte Atem- und Herzfrequenzen	131
5.3.3	Körperinnentemperatur.....	131
5.3.4	Körperbeschleunigung und Körperbewegungen.....	131
5.3.5	Tierverhalten während der Exposition	134
5.3.6	Reflexe und Tierreaktionen nach der Exposition.....	136
5.3.6.1	Reflexprüfung und Nachbetäubung.....	136
5.3.6.2	Gaspung	138
5.3.6.3	"stun-to-stick"-Intervall	139
5.3.7	EEG und sensorisch evozierte Potentiale.....	139
5.3.8	Stichblut.....	141
5.3.8.1	pH- Wert und Temperatur	141
5.3.8.2	Katecholamine	141
5.3.8.3	Creatinkinase und CK/ASAT-Quotient	143
5.3.8.4	Laktat.....	144
5.3.8.5	Glukose.....	145
5.4	Beurteilung des Schaumgehalts in den Schlachtlungen	146
5.5	Beurteilung der Fleischqualität	147
5.5.1	pH- Wert	147
5.5.1.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	148
5.5.2	Muskelkerntemperatur.....	148
5.5.2.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	148
5.5.3	Leitfähigkeit.....	149
5.5.3.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	149
5.5.4	Wasserbindung.....	150
5.5.4.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	150
5.5.5	Tropfsaftverlust.....	151
5.5.5.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	152
5.5.6	Fleischfarbe.....	152
5.5.6.1	Kohlendioxidvergleichsgruppe	152

6	SCHLUSSFOLGERUNG	154
6.1	Betäubungsverfahren	154
6.2	Fleischqualität	156
7	ZUSAMMENFASSUNG	158
8	SUMMARY	160
9	LITERATURVERZEICHNIS	162
10	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	181
11	TABELLENVERZEICHNIS	183
12	ANHANG	185
13	PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	190
14	DANKSAGUNG	191
15	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	192

1 Einleitung

In den letzten Jahren wird aus tierschutzfachlicher Sicht, basierend auf zahlreichen wissenschaftlichen Studien zur Wirkungsweise und zu den Auswirkungen der CO₂-Betäubung auf das Tier, zunehmend Abstand von Kohlendioxid als Betäubungsgas für Schlachtschweine genommen [vgl. EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Erwägungsgrund Nr. 6]. Vor dem Hintergrund eines wachsenden Bewusstseins der Verbraucher für die Herkunft von Lebensmitteln und ihrer damit einhergehenden Forderung nach mehr Tierschutz und Transparenz in der Produktionskette steigt der Druck einerseits im Bereich der Forschung, alternative Betäubungsverfahren unter Minimierung der Belastungen für das Tier zu entwickeln, andererseits für Schlachtunternehmen, neue Verfahren in die Praxis umzusetzen und anzuwenden. Da Gasinhalationsverfahren eine Anflutungsphase benötigen und ihre Wirkung daher erst nach einer gewissen Latenzzeit einsetzt, stellt die belastungsarme Einleitung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beim Tier bei der Erforschung alternativer Gase zu Kohlendioxid einen entscheidenden Faktor dar. Eine objektive, - d.h. vom jeweiligen Untersucher unabhängige - Kontrolle zum Vorliegen einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beim Einzeltier ist unter Praxisbedingungen nicht immer zu erreichen. Vorhandene Sicherungssysteme wie die Heißwasserstrahlmethode (PAROTAT et al., 2015) werden in der Praxis nur sporadisch verwendet und sind von Seiten der Gesetzgebung noch nicht gefordert. In den vergangenen Jahren wurde durch verschiedene Studien gezeigt, dass Alternativen zur Kohlendioxidbetäubung denkbar sind (RAJ & GREGORY, 1995 und 1996; MACHOLD et al., 2003a, 2003b; LLONCH et al., 2012b; MACHTOLF et al., 2013a und 2013b).

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Beitrag zur Entwicklung einer möglicherweise tierschutzgerechteren alternativen Gasbetäubungsmethode für Schlachtschweinen zu liefern. Dabei soll der Einsatz eines Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaumes (Expansionsrate > 300) zur Betäubung von Schlachtschweinen im Rahmen eines ersten „Proof of Concepts“ (EFSA, 2013) eingesetzt und unter tierschutzfachlichen Aspekten bewertet werden. Die vorliegende Arbeit soll der Durchführung erster Untersuchungen zur Wirksamkeit des Verfahrens bzw. zur Dauer und Effektivität der Einleitung einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bei Schweinen dienen. Ziel ist auch die Erarbeitung von Angaben zur Betäubungsdauer, um daraus orientierende Vorgaben hinsichtlich eines maximalen "Stun- to Stick"- Intervalls abzuleiten. Darüber hinaus soll ermittelt werden, welche technischen Parameter zur Beschreibung des Betäubungsverfahrens aussagekräftig und welche

Schlüsselparameter entsprechend der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 für die Überprüfung einer tierschutzgerechten Betäubung mit diesem Verfahren zu benennen sind. Die Fleischbeschaffenheit (pH-Wert und Leitfähigkeit jeweils 45 Minuten und 24 Stunden post mortem, Wasserbindungsvermögen, Tropfsaftverlust, Fleischfarbe) soll im Vergleich zu einer Kohlendioxidvergleichsgruppe untersucht werden, um erste Aussagen über die Belastung des Tieres ante mortem und die Güte der Fleischqualität treffen zu können.

2 Literatur

2.1 Gesetzeslage

Entsprechend der Verordnung EU VO (EG) Nr. 1099/2009 und der Tierschutz-Schlachtverordnung [TierSchlV] sollen Tiere vor der Tötung durch Blutentzug (Schlachtung) so betäubt werden, dass sie schnell und unter Vermeidung von Schmerzen oder Leiden in einen bis zum Tod anhaltenden Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit versetzt werden (GERRITZEN et al., 2015). Eine Ausnahme von dieser gesetzlichen Verpflichtung zur Betäubung von Tieren vor der Tötung durch Blutentzug in der EU [EU VO (EG) Nr. 1099/2009, GERRITZEN et al., 2015] besteht nur unter besonderen und national unterschiedlich geregelten Bedingungen für rituelle Schlachtungen mit Bezugnahme auf den Artikel 10 der Charta für Grundrechte der EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Erwägungsgrund 18.

Die in der Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 genannten Schlüsselparameter sollen eine effektive Betäubung der Tiere sicherstellen. Sie variieren in Abhängigkeit vom eingesetzten Betäubungsverfahren. Für Gasbetäubungsverfahren sind unter anderem die Dauer der Exposition bzw. die Verweildauer der Tiere in der Betäubungsatmosphäre, sowie die Höchstdauer zwischen Betäubung und Tötung durch Entblutung (bei einfacher Betäubung) aufgeführt. Die Dauer der Betäubung gilt als Grundlage zur Definition des maximalen "stun-to-stick"-Intervalls (RODRIGUEZ et al., 2016). Aus diesem Grund ist das ständige Monitoring der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit aus Tierschutzgründen unerlässlich. Tiere sind unmittelbar nachzubetäuben, wenn eine effektive Betäubung nicht gegeben ist (RODRIGUEZ et al., 2016).

Bei der Schlachtung von Schweinen ist neben der Elektrobetäubung eine Betäubung der Tiere unter Anwendung von Gas zulässig [EU VO (EG) Nr. 1099/2009, TierSchlV]. Entsprechend der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 können dafür neben Kohlendioxid auch Edelgase (inkl. Stickstoff) und Kombinationen dieser Gase eingesetzt werden. Zahlreiche Autoren verweisen aus Tierschutzgründen auf die Notwendigkeit der Erforschung alternativer Gasbetäubungsmethoden (RODRIGUEZ et al., 2008; MACHOLD et al., 2003a und 2003b; VELARDE et al., 2000a; RAJ & GREGORY, 1995 und 1996). Entsprechend der European Food Safety Authority (EFSA, 2004) wird die schrittweise Abschaffung der Kohlendioxidbetäubung für Schweine empfohlen (EFSA, 2004). Mit Verweis auf eine notwendige Fortführung der Diskussion konnte diese Empfehlung bei der Erstellung der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 aufgrund ihrer folgenreichen wirtschaftlichen Tragweite für die EU nicht berücksichtigt werden

[EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Absatz 6]. Da der Einsatz von Edelgasen vergleichsweise teuer oder wie im Falle von Argon umweltschädlich ist und andere Inertgase bisher nicht ausreichend untersucht wurden, bleibt daher die Anwendung von Gasen zur Betäubung von Schweinen in der Praxis weiterhin auf Kohlendioxid beschränkt. Es wird jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die Diskussion über eine Kohlendioxidbetäubung bei Schweinen zukünftig weiter fortgeführt werden muss [EU VO (EG) Nr. 1099/2009 Absatz 6].

2.2 Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bei Mensch und Tier

In der englischsprachigen Literatur werden in Zusammenhängen, die sich mit dem Betäuben und Töten von Tieren befassen, die Begriffe "unconsciousness" und "insensibility" bzw. "consciousness and sensibility" verwendet EU VO (EG) Nr. 1099/2009. Bei wörtlicher Übersetzung ins Deutsche kann es zu einer Fehlinterpretation der eigentlichen Bedeutung dieser Fachwörter kommen, wenn diese Begriffe in einer anderen Sprache mehrere Synonyme und einen größeren Themenbezug aufweisen. So schließt der Begriff "unconsciousness" in der deutschen Übersetzung z.B. die Fähigkeit zur Selbstwahrnehmung ein. Untersuchungen, welche Tiere eine Selbstwahrnehmung aufweisen und wie sich diese zusammensetzt, sind auf dem Fachgebiet der Ethologie noch nicht abgeschlossen (GRIFFIN & SPECK, 2004; BROOM et al., 2009; GÜNTÜRKÜN, 2014; GIELING et al., 2014.). Aufgrund dieser aktuell laufenden Diskussionen um die Psyche der Tiere ist der Begriff "Bewusstsein" im Deutschen nicht ganz eindeutig und wird daher in Rechtstexten passender als "Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen" bezeichnet [TierSchlV]. Der Begriff "unconsciousness" entspricht dabei dem Verlust der Wahrnehmung, während "insensibility" für die Empfindungslosigkeit eines Individuums steht (vergl. EFSA, 2004). Entsprechend der Definition von RODRIGUEZ et al. (2008) implementiert die Wahrnehmungsfähigkeit eines Tieres die Fähigkeit verschiedene Handlungsweisen und Bewegungen als Reaktion auf einen externen Reiz kontrollieren zu können. Die Voraussetzung hierfür ist ein funktionierender Hirnstamm, sowie eine funktionsfähige Weiterleitung in die verantwortlichen kortikalen Zentren. Der Wahrnehmungsverlust tritt ein, wenn es zu einem temporären oder anhaltenden Verlust der Hirnfunktion kommt, der mit dem Verlust zur Schmerz- und Reizempfindung einhergeht (EFSA, 2004; RODRIGUEZ et al., 2008).

2.2.1 Physiologische Grundlagen

Die Empfindungsfähigkeit eines Individuums wird oft in Verbindung mit Schmerzwahrnehmung gebracht. Bei der Schmerzbewertung wird zwischen Nozizeption und Schmerz

unterschieden, da eine durch Nozizeption verursachte Bewegung nicht zwangsläufig mit Schmerz assoziiert sein muss (ANTOIGNINI, 2005; MEYER, 2015). Die International Association for the Study of Pain (IASP) definiert Schmerz als eine unangenehme sensorische und emotionale Erfahrung, die mit tatsächlicher oder potentieller Gewebeschädigung einhergeht oder als solche beschrieben wird (IASP, 2012). Die Unfähigkeit zur verbalen Äußerung von Schmerzen schließt jedoch nicht die Möglichkeit einer Schmerzpräsenz aus (IASP, 2012). Da man das Empfinden von Tieren nicht erfragen kann, werden zur Bewertung von Schmerzen beim Tier neben den am häufigsten angewandten und subjektiv eingestuften Verhaltensbeobachtungen und -bewertungen (MORTON & GRIFFITHS, 1985) objektiv physiologische Schmerzparameter als Bewertungskriterium herangezogen. Hierbei finden unter anderem Parameter wie Herzfrequenz, Atemfrequenz und Atemtypus, Körpertemperatur oder Veränderungen der Plasmakonzentration von Katecholaminen und Cortison als blutgestützte Belastungsparameter Anwendung (HENKE et al., 2012).

Nozizeption setzt die Unversehrtheit von sensorischen Nervenendigungen in der Peripherie voraus. Diese können bei mechanischer Gewebeschädigung und damit verbundener Freisetzung von intrazellulären Proteinen und K^+ -Ionen Aktionspotentiale erzeugen. Die Aktionspotentiale leiten die Information über das Rückenmark zum zentralen Nervensystem (ZNS) (JAHNEL, 2015; MEYER, 2015). Mit Ausnahme von Leber und Gehirn besitzen alle Gewebe und Organe Nozizeptoren in ihrer Peripherie oder in den sie umgebenden serösen Häuten (KITCHELL & GUINAN, 1990; JENESKOG, 1991). Durch einen nozizeptiven Reiz werden regulatorische Reflexe wie z.B. die Steigerung von Blutdruck und Herzfrequenz zur Stimulation des Kreislaufs, die Weitung der Pupillen, sowie die Veränderung der Atmung oder Prozesse im Gastrointestinaltrakt ausgelöst (GV-Solas, 2010). Der Reiz wird in Nervenimpulse umgewandelt und über Axone (dünne, schnelle, myelinisierte A- δ - und A- β - Fasern und dicke, langsame, nicht-myelinisierte C-Fasern) zum Rückenmark geleitet (SCHWENNEN, 2015). Dort kann er auf Rückenmarksebene verbleiben, wo er über die graue Substanz und exzitatorische Synapsen auf Hinterhornneurone mit Verbindung zu motorischen und sympathischen Efferenzen umgeschaltet wird (SCHWENNEN, 2015) und zu einer Erregung von motorischen Nerven der Muskulatur ohne Beteiligung des Bewusstseins (MEYER, 2015) führen kann. Eine reflektorische Rückzugsbewegung als Antwort auf einen nozizeptiven Stimulus ist folglich nicht generell schmerzvermittelt. Für eine bewusste Verarbeitung und Lokalisation des Schmerzreizes ist eine Weiterleitung der Informationen über aufsteigende nozizeptive Bahnen ausgehend vom Hinterhorn des Rückenmarks (Tractus spinothalamicus, Tractus spinoreticularis, Tractus spinotectalis) zum Thalamus und somato-

sensorischem Cortex erforderlich. Von dort wird der Reiz weiter zur *Formatio reticularis*, zum Mittelhirn und zur frontalen Großhirnrinde und subkortikalen Anteilen des limbischen Systems für eine bewusste Verarbeitung und Lokalisationsortung geleitet (RINTISCH, 2010; MEYER, 2015; SCHWENNEN, 2015).

Die oberste regulatorische Einheit des Bewusstseins ist die *Formatio reticularis* (ERNSTING, 1965). Bei Anoxie, wie sie durch den Einsatz von Inertgasen wie Argon oder Stickstoff erzeugt werden kann, oder bei Eingriffen in den Säure-Basen-Haushalt nach Exposition gegenüber Kohlendioxid, resultiert der Bewusstseinsverlust in erster Stufe aus der Hemmung des rostralen Teils der *Formatio Reticularis*, der die Wachheit (*Vigilanz*) reguliert. Als Folge der Hemmung der *Formatio reticularis* und der nachgeschalteten Synchronisation der elektrischen Aktivität zum Cortex ist letzterer ebenfalls nicht mehr funktionsfähig, so dass ein Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens erfolgt (ERNSTING, 1965; RAJ et al., 1997; VERHOEVEN et al., 2015). Eine Hemmung der synaptischen Aktivität in den aufsteigenden Bahnen der *Formatio reticularis* kann im Elektroenzephalogramm (EEG) als "Slow Waves" (Potentiale mit geringer Frequenz und hoher Amplitude) nachgewiesen werden (ERNSTING, 1965).

Weiterhin muss ausgeführt werden, dass ein zweck- und zielgerichtetes Verhalten von Säugtieren auch ohne die Verbindung zum Cortex bzw. bei dessen Fehlen erhalten bleiben (ANTOIGNINI, 2005; MERKER, 2007) und auch die Schmerzwahrnehmung des erwachsenen Menschen nach Entfernung oder Stimulation des somatosensorischen Cortex unbeeinflusst bleiben kann (CRAIG, 2003; BROOKS et al., 2005).

Bisher ist nicht bekannt, bei welchem physiologischen oder verhaltensgestützten Parameter von einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ausgegangen werden kann. Deshalb steht die Aussagekraft verschiedener Verhaltensparameter, die zur Bewertung von Bewusstseinszuständen von Tieren unter variierenden Feldbedingungen eingesetzt werden, im Zentrum internationaler Diskussionen (GERRITZEN et al., 2015). Dabei kommen sowohl Parameter zum Einsatz, die sich auf die reine Beobachtung der Tiere beschränken, als auch solche, die zusätzlich die Berührung des Tieres erfordern.

Häufig in der Literatur verwendete Verhaltensparameter stellen Positionsverlust, muskuläre Exzitationen, Verlust der Schmerzwahrnehmung und das Ausbleiben von Stammhirnreflexen dar. Ein nicht verhaltensgestützter Anhaltspunkt zur Bewertung von Bewusstseinszuständen beim Tier stellt beispielsweise die EEG-Analyse dar.

2.2.2 Beurteilung von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch Beobachtung

2.2.2.1 Positionsverlust

Beim Menschen wird von einer durch Narkosemittel induzierten Einleitung der Bewusstlosigkeit ausgegangen, wenn eine adäquate Reaktion auf Ansprache ausbleibt (KASKINORO et al. 2015; MEYER, 2015). Da dieses Kriterium auf gesunde Tiere nicht übertragbar ist, wird bei ihnen das Einsetzen der Standunfähigkeit als Zeitpunkt für die Einleitung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit angenommen (ZELLER et al., 1988; RAJ & GREGORY, 1996; VELARDE et al., 2007; ANTOGNINI et al., 2005; LLONCH et al., 2012a; LLONCH et al., 2012b). In der Literatur werden vielfach die Begriffe "loss of righting reflex" (LORR) und "loss of posture" (LOP) zitiert (RAJ & GREGORY, 1996; VELARDE et al., 2007; DALMAU, 2010b; BENSON et al. 2012a; BENSON et al., 2012b; MEYER et al., 2013; DALMAU et al., 2016.). Während LORR die Unfähigkeit beschreibt, den Körper zurück in eine aufrechte Position zu bringen (DALMAU et al., 2016), beschreibt LOP dem Zeitpunkt, an dem ein Tier seine physiologische Position verliert und auf dem Boden zum Liegen kommt. Dabei befinden sich die Beine üblicherweise in ausgestreckter Position (ZELLER et al., 1988; ANTOGNINI et al., 2005; DALMAU et al., 2016). Dieses Beurteilungskriterium wird seit über 160 Jahren mit Entdeckung der Allgemeinanästhesie angewendet. Es besitzt immer noch Gültigkeit, weil es ein einfach zu beobachtendes Ereignis darstellt, das speziesübergreifend angewendet werden kann (MEYER, 2015). GREGORY et al. (1990) definierten in früheren Untersuchungen den Zeitpunkt des Verlusts des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens beim Geflügel als den Zeitpunkt, an dem die Tiere die Augen schlossen und nicht mehr öffneten. Sechs Jahre später gingen sie davon aus, dass LOP beim Schwein als erstes Anzeichen für den Eintritt in die Bewusstlosigkeit zu werten ist (RAJ & GREGORY, 1996). Entsprechend der Definition für Wahrnehmungslosigkeit der VO (EG) Nr. 1099/2009 ist davon auszugehen, dass ein Tier wahrnehmungslos ist, wenn es seine natürlich stehende Haltung verliert. Bis zum derzeitigen Zeitpunkt ist nicht abschließend geklärt, ob die Tiere zum Zeitpunkt des Verlustes des Standvermögens tatsächlich wahrnehmungs- und empfindungslos sind. Neuere Studien geben allerdings Hinweise darauf, dass LOP einen zuverlässigen Indikator darstellt, da die Korrelation zwischen EEG-Aktivität und LOP bei Hasen und Geflügel bestätigt werden konnte (MCKEEGAN, 2011; BENSON, 2012a; DALMAU, 2016). RAJ (1999) geht davon aus, dass Lautäußerungen nach Verlust des Standvermögens nicht als Anzeichen von Aversion gewertet

und bei vorliegender Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit des Tieres auftreten können. In der Studie von LLONCH et al. (2012a) traten Lautäußerungen lediglich vor dem Eintreten von LOP ein. Zur Bewertung von Lautäußerungen nach Verlust des Standvermögens hinsichtlich eines Indikators für aversives Verhalten müsste der Bewusstseinszustand vor und nach LOP präziser erfasst werden können (LLONCH et al., 2012a).

Der Positionsverlust kann bei experimentellen Untersuchungen einen Indikator für die Einleitung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit darstellen. Bei der Kohlendioxidbetäubung befinden sich die Tiere jedoch in Gruben oder Gondeln und sind für den Beobachter aufgrund der unter Praxisbedingungen häufig nicht vorhandenen Kameraobservation erst im Anschluss an den Betäubungsprozess wieder zugänglich. Daher kann der Zeitpunkt des Eintritts des Positionsverlustes bei diesem Verfahren unter Praxisbedingungen nicht beurteilt werden.

2.2.2.2 muskuläre Exzitationen

Eine effektive Betäubung verursacht einen Positionsverlust mit einigen Sekunden andauernder tetanischer Spasmik und einer zunehmend schneller werdenden Bewegung der Hinterläufe, den sogenannten Exzitationen (GREGORY, 2008). Da muskuläre Exzitationen in Versuchen nach Betäubung z.B. mit gasförmigem Kohlendioxid und in hochexpansivem gasgefülltem Schaum nach Eintritt des Standunvermögens zu beobachten sind, wird angenommen, dass diese auftreten, wenn das Tier bereits bewusstlos ist (POOLE & FLETCHER, 1995; GERRITZEN & SPARREY, 2008). Die Untersuchungen von DALMAU et al. (2016) zeigen, dass muskuläre Exzitationen erst im Anschluss an die Präsenz von Delta-Wellen (FORSLID, 1987) und 25 Sekunden vor Beginn der isoelektrischen Linie im EEG auftraten. FORSLID (1987) geht daher davon aus, dass die Tiere zu diesem Zeitpunkt bereits wahrnehmungs- und empfindungslos sind. Es besteht jedoch weiterhin Unsicherheit hinsichtlich der Ausschaltung des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens der Tiere zum Zeitpunkt des Auftretens von Exzitationen, da bei anderen Untersuchungen die muskulären Exzitationen der Blut-pH-Wert, Sauerstoffpartialdruck (pO_2), Kohlendioxidpartialdruck (pCO_2), Sauerstoffsättigung ($SatO_2$), Bikarbonat (HCO_3^-), sowie EEG-basiertem A-line ARX index (AAI) und burst suppression index (BSI) von middle latency evoked potentials (MLEAP) keine signifikanten Veränderungen zu Basalwerten zu diesem Zeitpunkt aufwiesen (RODRIGUEZ et al., 2008). Diese Vermutung über ein zu Beginn der Exzitationen noch erhaltenes Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen wurde durch die Studie von SUTHERLAND (2011) zur Tötung von nicht überlebensfähigen Saugferkeln mit

verschiedenen Gasen und Gasmischungen (Argon, CO₂, Stickstoff) bestätigt. Während der Tötung unter Einsatz von Gasmischungen mit einem erhöhten Anteil an Restsauerstoff (10% atmosphärische Luft) zeigten die Tiere nach Beginn der Exzitationen bewusste Verhaltensweisen wie Fluchtversuche und Vokalisationen. Das bedeutet, dass die Tiere dem Stress und potentiellen Schmerzen, ausgelöst durch die Konvulsionen, bewusst erleben (SUTHERLAND, 2011). Die Ergebnisse dieser Studie deuten zusätzlich auf die für das Tier nachteilige Wirkung erhöhter Restsauerstoffgehalte während der Gasbetäubung hin.

Bei der Kohlendioxidbetäubung sind die Tiere für den Beobachter für die Dauer des Betäubungsprozesses nicht sichtbar. Zum Zeitpunkt des Auswurfes aus den Betäubungsgondeln nach 100 Sekunden Exposition zeigen nicht mehr alle Tiere muskuläre Exzitationen. Daher kann dieses Beurteilungskriterium nicht für alle Tiere dieser Gruppe angewendet werden bzw. wäre nur durch den Einsatz von Kameras in den Gondeln verifizierbar.

2.2.2.3 EEG

Die EEG-Ableitung ist die derzeit objektivste Methode zur Bestimmung von Bewusstseinszuständen und wird deshalb vielfach als Goldstandard bezeichnet (EFSA, 2013 und 2014; VERHOEVEN et al., 2015 und 2016). Bisher gibt es jedoch kein in der Literatur beschriebenes Standardverfahren zum Anbringen der Elektroden oder zur Auswertung der Aufnahmen.

Die Messung des Bewusstseinszustandes erfolgt über die Ableitung der elektrischen Hirnaktivität. Sie ist die Summe der von Neuronen erzeugten exzitatorischen und inhibitorischen postsynaptischen Potentiale (EPSPs und IPSPs) (MURREL & JOHNSON, 2006). Die elektrische Hirnaktivität lässt sich in vier verschiedenen Frequenzbänder unterteilen (MARTOFT et al., 2001): Delta (< 4Hz), Theta (4-8Hz), Alpha (8-13Hz) und Beta (> 13Hz). Die elektrische Hirnaktivität bei Ableitung am wachen Tier wird durch die Basislinie charakterisiert (SANDERCOCK et al., 2014). Diese kann durch Erregungszustände (Betawellen) oder Ruhephasen (Alphawellen) geprägt sein (VERHOEVEN et al., 2015). Eine supprimierte Hirnaktivität stellt sich durch eine Übergangsphase dar, die durch höhere Frequenzen mit geringerer Amplitude (Rauschen) bei geringer Eingangsstärke gekennzeichnet ist (MCKEEGAN et al., 2013). Niederfrequente Wellen im Delta- und Theta-wellenbereich (0,5-8Hz) sind charakteristisch für schlafende, betäubte oder bewusstlose Individuen (MCKEEGAN et al., 2013), während die Erscheinung der sogenannten isoelektrischen Linie (horizontale Linie mit Restrauschen) den Hirntod des Tieres kennzeichnet (SANDERCOCK et al., 2014).

Bisher gibt es eine überschaubare Anzahl an Studien zur Überwachung des Bewusstseinsstatus mittels EEG bei Schlachtschweinen während der Betäubung mit einer in der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 genannten Betäubungsmethode (vergl. WOTTON und GREGORY, 1986; RAJ et al., 1997; RAJ, 1999; MARTOFT et al., 2001 und 2002; HARTUNG et al., 2002; RODRIGUEZ et al., 2008; LLONCH et al., 2013). Bisher erfolgte Untersuchungen fanden unter Laborbedingungen statt. Messungen unter Feldbedingungen sind schwierig durchführbar, da wache Tiere sich bewegen und dadurch eine artefaktbehaftete Aufnahme entsteht.

Dass eine den Bauch unterstützende Matte, auf der die Tiere mit ihrem vollen Körpergewicht aufliegen können die Tiere beruhigen kann, wurde bereits beschrieben (MARTOFT et al., 2002). Zudem führt eine Hängematte, in der die Tiere keinen Bodenkontakt haben, zu einer Reduktion von Exzitationen, da die typischen Ruderbewegungen am Boden entfallen. Eine Reduktion der Bewegungen des Tieres bei Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ist entscheidend, da bereits durch kleinste Muskelzuckungen kurze Potentiale mit hoher Amplitude entstehen, die aussagekräftige Ereignisse im EEG maskieren können (MCKEEGAN et al., 2011; SUTHERLAND, 2011; BENSON et al., 2012).

Der Zeitpunkt, an dem die Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit eintritt, ist nicht eindeutig definiert. Eine Studie an Menschen zeigte, dass sich die EEG-Kurven zum Zeitpunkt des Verlustes der Reaktionsfähigkeit auf mündliche Ansprache bei Einsatz verschiedener Anästhetika (Dexmedetomidine, Propofol and Sevofluran) substantiell unterscheiden (KASKINORO et al., 2015). Eine Vergleichbarkeit der EEG-Kurven der Probanden bezüglich des Eintritts der Reaktionslosigkeit ist daher nicht gegeben.

Bei Betäubungsversuchen an Schweinen (RAJ et al., 1997) unter Einsatz von 80-90 % Kohlendioxid waren trotz vorliegender Betäubung der Tiere im EEG keine niederfrequente Wellen nachweisbar. Stattdessen kam es zur Abbildung hoher Frequenzen mit geringer Amplitude (Supression) (RAJ et al., 1997). Der Grund hierfür war höchstwahrscheinlich, dass die auf der Wirkung des Kohlendioxids basierende Hyperkapnie kortikale Aktivität erzeugt, die die Synchronisation der elektrischen Signale hemmt (MOUNTCASTLE, 1980 zitiert nach RAJ et al., 1997). Dies verdeutlicht, dass die Darstellung bzw. der Nachweis des Verlusts des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens im EEG stark von der die Betäubung einleitenden Substanz abhängig ist. Auch unter Verwendung des in der Humanmedizin etablierten Bispektralindex (BIS), der nach Prozessierung der EEG-Rohdaten einen Rückschluss auf den bestehenden Bewusstseinszustand zulässt (GALANTE et al., 2015; RINTISCH, 2010), wurde eine Substanzabhängigkeit beobachtet (BAARS et al., 2013;

RINTISCH, 2010; GALANTE et al., 2015). Bei der Verwendung von Anästhetika, die nicht in der BIS-Datenbank zur Kalkulation der Betäubungstiefe enthalten sind, ist die Interpretation der Ergebnisse aus diesem Grund kritisch zu hinterfragen (MATSUSHITA et al., 2015).

Grundsätzlich sollten daher weitere Parameter wie Reflexverlust, Bewegungen, Atemstillstand oder Positionsverlust erhoben und in Verbindung mit den erhobenen EEG-Daten detailliert analysiert werden, um anhand von Korrelationen genauere Informationen über den exakten Zeitpunkt des gesicherten Bewusstseinsverlustes bei Schlachttieren zu erhalten. Dieses Vorgehen entspricht den Anforderungen entsprechend des Erwägungsgrunds 20 in der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 zur Beurteilung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit. Demnach soll die Messung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit mit einer wissenschaftlich anerkannten Methode in Kombination mit Indikatoren durchgeführt werden, damit sich eine praktische Effizienz der Methode darstellen lässt

2.2.2.4 sensorisch evozierte Potentiale

Das Fehlen der Reaktionsfähigkeit eines Individuums ist kein sicheres Kriterium zur Bestimmung der Bewusstlosigkeit, da es übergeschaltete Prozesse im Körper gibt, die eine Reaktionsfähigkeit unterbinden, nicht jedoch eine tiefe Bewusstlosigkeit voraussetzen (GRANDIN, 1994). Zusätzlich ist die Bewertung einer nachlassenden Reaktionsfähigkeit bei Tieren erschwert, sodass evozierte Potentiale Verwendung finden, um den Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens im EEG widerzuspiegeln. Sensorisch-evozierte Potentiale (SEP) sind eine Reihe elektrischer Signale, die die störungsfreie Integrität neuronaler Strukturen entlang der somatosensorischen Bahnen belegen/aufzeigen (BENSON et al., 2012b). Entsprechend RAJ et al. (1997) stellen SEP eine objektive Messmethode dar, um den Verlust einer Hirnantwort bei Schweinen im EEG zu messen. In der genannten Studie erfolgte eine Stimulation des Tibialnerven durch einen in 2cm Abständen um das Sprunggelenk gewickelten Draht. Ein Verlust der SEP war bei den untersuchten Schweinen in dieser Studie entweder unmittelbar bevor oder zu Beginn des Einsetzens von „slow waves“ im EEG nachweisbar. Der exakte Zeitpunkt war jedoch durch Bewegungsartefakte schwierig zu bestimmen.

2.2.2.5 „Hot-Water-Spraying“

Ein weiteres mögliches Verfahren zur Feststellung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit im Anschluss an die CO₂ - Betäubung unter Praxisbedingungen ist das von Parotat et al. (2015) untersuchte "Hot-Water-Spraying" (HWS, deutsch: Heißwasserstrahlmethode).

Dabei wurden Schlachtschweine 143 bis 258 Sekunden nach der CO₂- Betäubung für 4 bis 10 Sekunden mit einem Heißwasserstrahl (57-72°C) im Bereich von Schnauze, Kopf und Vorderbeinen besprüht. HWS scheint dabei eine sensitivere Methode zur Überprüfung einer vorhandenen Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nach CO₂-Betäubung zu sein als eine manuelle Reflexüberprüfung durch das Schlachthofpersonal. Tiere mit Reaktionen auf HWS zeigten Bewegungen der durch den Nervus (N.) facialis innervierten Muskulatur (88 %), eine Öffnung des Mauls (78 %), Aufstehversuche (63 %), isolierte Beinbewegungen (35%) oder Vokalisationen (4%). Bei manueller Reflexprüfung der HWS-positiv beurteilten Tiere lag der Prozentsatz positiver Tests lediglich bei 71%. Werden nur starke Abwehrbewegungen als Indikator für eine nicht ausreichende Betäubungstiefe gewertet, beträgt die Sensitivität der Methode 75 %. Diese lässt sich jedoch auf 100 % bei Berücksichtigung auch von schwächeren Reaktionen auf HWS erhöhen. Die Spezifität liegt in jedem Fall bei > 99,9 %. Bei flächendeckendem Einsatz von HWS unter Praxisbedingungen kann es einen guten Indikator für die Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit von Schlachtschweinen nach CO₂-Betäubung darstellen (PAROTAT et al., 2015). Eine derartige Überprüfung ist laut geltendem Recht noch nicht verpflichtend und findet daher bisher kaum Einsatz unter Praxisbedingungen.

2.2.2.6 Blutmengenkontrollsysteme

Eine ausreichende Entblutung (> 1,5 Liter innerhalb der ersten 10 Sekunden) nach CO₂-Betäubung führt zu einem unmittelbaren und starken Blutdruckabfall mit zerebraler Ischämie und Ausfall sämtlicher Gehirnfunktionen als Folge (TROEGER, 2011). Nicht ausreichend entblutete Tiere können mehr als 40 Sekunden nach dem Entblutestich ihr Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen zurückerlangen (TROEGER, 2005). Zu diesem Zeitpunkt können sich die Tiere in Abhängigkeit von den baulichen Voraussetzungen bereits an einem Ort innerhalb der Schlachtkette befinden, der einen Zugriff auf das Tier unmöglich macht, so dass die Tiere u.U. mit wiedererlangtem Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen nachgeschalteten Schlachtprozessen wie dem Brühen und Entborsten bei Bewusstsein zugeführt werden (TROEGER, 2005). Zur Überprüfung einer effizienten Entblutung und einer bis zum Tod andauernden Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit findet unter Praxisbedingungen vereinzelt die Kontrolle der nach bei Entblutung austretenden Blutmenge durch Einsatz einer Waage oder einer Wärmebildkamera Anwendung (TROEGER, 2011; TROEGER, 2005). Durch sie können unter Praxisbedingungen nicht ausreichend entblutete Tiere sofort und automatisch erkannt, nachbetäubt und nachgestochen werden. Tiere mit sogenannten

"Brühlungen" (Lungen von gekochtem Aussehen aufgrund der aktiven Einatmung von 60°C heißem Wasser während des Brühens) kommen auf diese Weise unter Praxisbedingungen nicht mehr vor (Paul Vacker, Tönnies Lebensmittel GmbH & Co. KG, persönliche Mitteilung, 2016).

2.2.3 Beurteilung von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch Berührung

2.2.3.1 Reflexe

Ein Reflex ist eine unwillkürliche Reaktion des Nervensystems auf einen Reiz (CARLSON, 2007 zitiert nach VERHOEVEN et al., 2015). Eine positive Reflexantwort dient als Hinweis für ein erhaltenes Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen (VERHOEVEN et al., 2015). Allgemein unterscheidet man zwischen monosynaptischen und polysynaptischen Reflexen. Beim monosynaptischen Reflex führt ein effektiver Reiz über einen sensiblen Nerven, die sog. Ia-Afferenz, zum Rückenmark. Dort wird er über eine Synapse auf das alpha-Motoneuron des Zielmuskels umgeschaltet. Die Folge ist eine Muskelkontraktion. Monosynaptische Reflexe können in einer Muskelkontraktion münden, ohne dass eine bewusste Verarbeitung des Reizes stattgefunden hat. Im Falle von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit sollten sie jedoch nicht reproduzierbar sein (VERHOEVEN et al., 2015). Beim polysynaptischen Reflex wird der Reiz über mehrere Synapsen und Neurone übertragen.

Des Weiteren unterscheidet man zwischen Eigen- und Fremdreflexen. Bei Eigenreflexen liegen Rezeptor und Effektor im gleichen Organ, beim Fremdreiflex in verschiedenen Organen. Beim Cornealreflex und beim Pupillarreflex handelt es sich um polysynaptische Fremdreiflexe. Sie werden im Hirnstamm verschaltet (VERHOEVEN et al., 2015). Der Flexorreflex ist ein polysynaptischer Reflex und verläuft auf Rückenmarksebene (VERHOEVEN et al., 2015). Bei der Allgemeinanästhesie verschwindet der Cornealreflex als letzter der Stammhirnreflexe (DUDGALE, 2010). Bei der Abwesenheit des Cornealreflexes kann in der Regel demnach von einer tiefen Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ausgegangen werden (NEWHOOK & BLACKMORE, 1982; LAUREYS, 2005; RODRIGUEZ et al., 2008; GERRITZEN et al., 2015), obwohl sein Vorhandensein nicht zwingend Bewusstsein voraussetzt (GERRITZEN et al., 2015).

So kann der Cornealreflex nach Elektrobetäubung als Folge einer restlichen Hirnstammaktivität (ANIL, 1991, GRANDIN, 1994; VERHOEVEN et al., 2015) oder nach ritueller Schlachtung (NEWHOOK & BLACKMORE, 1982; GERRITZEN et al., 2015; VERHOEVEN et al., 2015; VERHOEVEN et al., 2016) bis zu einer Minute nach Eintritt der

Bewusstlosigkeit entsprechend der EEG-Ableitung positiv getestet werden (LAMBOOIJ et al., 2012). Nach der CO₂-Betäubung von Schweinen war bei allen Tieren in der Studie von RODRIGUEZ et al. (2008) der Cornealreflex nicht auslösbar. Diesen Reflex erlangten die Tiere jedoch wieder zurück, bevor entsprechend der EEG-Ableitungen in dieser Untersuchung die vollständige Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit eingetreten war. GERRITZEN et al. (2015) beschrieben, dass der Cornealreflex bei ritueller Schlachtung bei 14 % der untersuchten Kälber nach Eintritt in die Bewusstlosigkeit und bei 86 % der Kälber erst nach Eintritt minimaler Hirnaktivität, verifiziert jeweils per EEG-Ableitungen, nicht mehr auslösbar war. Der Verlust der Reflexe erfolgte bei den Kälbern in dieser Studie in der folgenden Reihenfolge: Drohantwort (Öffnen der zuvor zusammengeführten Fingerspitzen vor dem Auge des Tieres ohne Verursachung eines Luftstroms), "withdrawal"-Reflex [Reaktion auf einen schmerzhaften Reiz (VERHOEVEN et al., 2016)], Corneal- und Lidreflex (VERHOEVEN et al., 2016). Nach GERRITZEN & HINDLE (2009) und ANASTASOV & WOTTON (2012) ist die Wiederkehr einer rythmischen Atemaktivität einer der ersten Indikatoren für eine Rückerlangung des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens nach CO₂- oder Elektrobetäubung. Da die Reflexe für sich allein jeweils nicht aussagekräftig sind, um eine sichere Bewertung des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens vorzunehmen, sollten sie immer in Kombination sowie in Ergänzung zu anderen Parametern wie Verhaltenserscheinungen überprüft werden (vgl. VERHOEVEN et al., 2016). Entsprechend VERHOEVEN et al. (2015) wird ein wahrnehmungs- und empfindungsloses Tier in keinem Fall Aufrichtversuche ("righting-reflex"), spontanes Blinzeln ("natural blinking"), rythmische Atembewegungen, Vokalisationen oder fokussierte Augenbewegungen zeigen.

2.3 Beurteilung von Stressempfinden beim Tier

2.3.1 Transkutaner pO₂, pCO₂, SpO₂ und Atemtätigkeit

Der Oxygenierungszustand eines Tieres und dessen Ventilationsfähigkeit kann mittels einer Blutgasanalyse bestimmt werden (BELENKIY et al., 2013; RUIZ et al., 2016). Hierbei wird der Anteil der im Blut gelösten Gase Sauerstoff und Kohlendioxid am Gesamtvolumen der Blutgase bestimmt. Die Teildrücke (=Partialdrücke) werden in mmHg angegeben. Pro mmHg O₂ sind 0,003 ml Sauerstoff in 100 ml Blut physikalisch gelöst (KRAFT & DÜRR, 2005; HABERSTROH & HENKE, 2012). Die Blutgasanalyse kann durch verschiedene Verfahren erfolgen. Bei der blutigen und invasiveren Bestimmung der Blutgase werden der Sauerstoff-

und Kohlendioxidpartialdruck (pO_2/pCO_2) direkt aus arteriell gewonnenem Blutplasma bestimmt. Bei der nicht invasiven Messung erfolgt die Erhebung des Gasdruckes transkutan an einem kapillaren Endstromgebiet der Haut (BELENKIY et al., 2013). Bei einer guten peripheren Durchblutung sind die Messwerte der blutigen (invasiven) und der transkutanen (nicht invasiven) Messung vergleichbar (HINKELBEIN et al., 2008; BELENKIY et al., 2013; RUIZ et al., 2016). Zur Anregung der peripheren Durchblutung sind transkutane Sensoren häufig mit einem Heizmodul ausgestattet, das die entsprechende Hautstelle erwärmt (RADIOMETER, 2008). Die Durchblutung von Geweben ist folglich temperaturabhängig (HALDANE, 1922, Kapitel 4). Ein Temperaturabfall von $1^\circ C$ bewirkt eine um 5 % verlangsamte Bindungsreaktion des O_2 -Moleküls an das Ferritin im Hämoglobin, was die Affinität beider Moleküle erhöht und die Abgabe des O_2 in peripheres Gewebe vermindert (HALDANE, 1922, Kapitel 4 & 7; HUCH et al., 1974). Bei Hypothermie, kann somit gleichzeitig eine Gewebehypoxie vorliegen (LIEBIG, 1855 zitiert nach HALDANE, 1922). Die Zentralisierung des Kreislaufes im Schockzustand oder bei Auskühlung kann zu einer Abweichung bei den Messwerten führen (LARSEN, 2012), da hier transkutaner und arterieller pCO_2 nur eingeschränkt miteinander korrelieren (RADIOMETER, 2008). Unter physiologischen Bedingungen findet bei Messungen an humanen Patienten die Severinghaus-Konstante Anwendung. Sie dient der Temperaturkorrektur des transkutan ermittelten pCO_2 -Werts, der infolge des gesteigerten Hautmetabolismus aufgrund der Temperaturerhöhung an der Messstelle im Vergleich zur arteriellen Messung geringgradig höher ausfällt (RADIOMETER, 2008). Darüberhinaus muss der Eigenmetabolismus der Haut Berücksichtigung finden, da im Stratum basale und in Stratum spinosum O_2 metabolisiert wird (HUCH, 1995), wodurch mit einem um ca. 5 mmHg höherem Wert für pCO_2 im Vergleich zur arteriellen Messung gerechnet werden muss (RADIOMETER, 2008). Aus diesem Grund findet der metabolische Korrektionsfaktor bei Messungen an humanen Patienten Anwendung. Durch ihn ist eine Annäherung der transakuten ermittelten Werte an blutig erhobene Daten zu erreichen. Er liegt beim Menschen, abhängig von Alter und Hautdicke zwischen 0 und 8, wobei junge Menschen höhere Werte besitzen (RADIOMETER, 2008). Der bei Schweinen anzuwendende metabolische Faktor ist aufgrund fehlender Untersuchungen dieses transkutanen Messverfahrens der Blutgase bei diesen Tieren bisher nicht bekannt.

Im Organismus wird bei physiologischer Stoffwechsellage ein steigender pCO_2 von den zentralen Chemorezeptoren detektiert (ORR et al., 2017). Über Neuronen werden die Inspiratoren aktiviert (ORR et al., 2017). Es kommt zu einer Steigerung der Atemfrequenz, einer gesteigerten Abatmung von Kohlendioxid und damit zu einem Abfall von pCO_2 .

Ventilationsstärke und $p\text{CO}_2$ sind folglich negativ korreliert (ORR et al., 2017). BECERRIL-HERRERA et al. (2009) zeigten in ihren Untersuchungen, dass nach Kohlendioxidbetäubung von Schlachtschweinen der $p\text{CO}_2$ negativ mit $p\text{O}_2$, Glukose und Blut-pH korreliert. Demzufolge sinken der Blutsauerstoff, die Blutglukosekonzentration und der Blut-pH mit zunehmenden $p\text{CO}_2$. Dahingegen bestehen positive Korrelationen zwischen $p\text{CO}_2$ und Laktat. Der Anstieg des $p\text{CO}_2$ wird in der Humanmedizin als unterstützender Parameter im Rahmen des Apnoe-Tests zur Bestätigung des Hirntods herangezogen. Dabei sind $p\text{CO}_2$ -Werte von > 20 mmHg über der Basallinie und $p\text{CO}_2$ -Werte ≥ 60 mmHg ohne respiratorische Tätigkeit ein Hinweis für das Aussetzen der Spontanatmung (NAKAGAWA et al., 2011; Richtlinie zur Feststellung des Todes, Bundesärztekammer, 2015). Das Aussetzen der Atemtätigkeit als essentielle Vitalfunktion erzeugt eine akute Gewebhypoxie (HALDANE, 1922, Kapitel 7), die auch dem Gehirn den lebensnotwendigen Sauerstoff entzieht. Aufgrund des Versagens der Kompensationsmechanismen sistiert die Gehirnaktivität. Kommt es darüber hinaus zum Herzstillstand eines Patienten, führt dies zur globalen Ischämie (BRIAN, 1998).

In Tabelle 2.1 sind die in verschiedenen Studien aus arteriellem Blut ermittelten Werte für $p\text{CO}_2$ und $p\text{O}_2$ beim Schwein dargestellt.

Tabelle 2.1 Physiologische Werte beim Mastschwein für den pCO₂ und pO₂ (jeweils arteriell, sofern nicht anders beschrieben)

<u>pCO₂ arteriell</u>	44,5 ± 0,7 mmHg	WEISKOPF et al. (1992)
	58,03 ± 0,42 mmHg	BECERRIL- HERRERA et al. (2009)
	50 mmHg	KRAFT & DÜRR (2005, S.357)
	47,62 ± 8,42mm Hg (Min. 18,60 mmHg -65,00 mmHg Max) → Erhebung in Narkose (Thiobarbiturate, atemdepressiv)	SAERS (2005)
	37,5 mm Hg (5,0 kPa) Spannweite: 30,8-45,8 mmHg (4,1-6,1 kPa)	MARTOFT (2001)
	Spannweite: 36,8-39,8 mmHg (4,9-5,3 kPa)	RING et al. (1988)
	Spannweite: 31-34 mmHg → Erhebung in Narkose mittels Nasensonde (Ketamin-Azaperon, atemdepressiv)	LAHRMANN et al. (2014)
<u>pO₂ arteriell</u>	96,2 ± 2,2 mmHg	WEISKOPF et al. (1992)
	32,02 ± 0,57 mmHg	BECERRIL- HERRERA et al. (2009)
	98 mm Hg	KRAFT & DÜRR (2005, S. 357)
	84,12 ± 21,21 mm Hg (Min. 44,90 mm Hg – Max. 162,50 mm Hg) → Erhebung in Narkose (Thiobarbiturate, atemdepressiv)	SAERS (2005)
	85,5 mm Hg (11,4 kPa); Spannweite: 74,3-98,3 (9,9-13,1 kPa)	MARTOFT (2001)
	Spannweite: 72,8-92,3 mm Hg (9,7-12,3 kPa)	HANNON et al. (1990)

Sauerstoff liegt im Blut in zwei Formen vor: chemisch gebunden und physikalisch gelöst (GROS, 2005). Die Sauerstoffsättigung (SpO_2) beschreibt den Anteil des chemisch an Hämoglobin gebundenen Sauerstoffs im Blut und wird in Prozent angegeben (HABERSTROH & HENKE, 2004; KRAFT & DÜRR, 2005). Metabolische Veränderungen im Organismus können durch eine kontinuierliche Messung durch z.B. die nichtinvasive transkutane Pulsoximetrie erfolgen, bei der der Sensor über einem Endstromgebiet (Finger, Ohr) angebracht wird (STRIEBEL, 2003). LAHRMANN et al. (2014) berichteten über Werte zwischen 86 % und 99 % bei vier bis fünf Monate alten Schweinen (40-60 kg Körpergewicht). Die durchschnittliche Sauerstoffsättigung betrug 98 %. Ein von LENDL (1991) erhobener Referenzwert für Tiere zwischen 20 und 100 kg lag zwischen 87 % und 96 %. Diese Werte können durch Stoffwechselferänderungen verändert werden, wobei Atemtätigkeit, Temperatur und pH-Wert-Veränderungen den größten Einfluss auf die Oxygenierung des Hämoglobinmoleküls besitzen (GROS, 2005). Eine Verminderung der Atemtätigkeit (Hypoventilation) führt zu einer Reduktion der peripheren Sauerstoffsättigung (Hypoxigenation) (STRIEBEL, 2003).

Der im Blut gelöste Sauerstoff dient auch zur Bestimmung des pH-Wertes des Blutes bzw. des Säuren-Basen-Haushalts des Organismus und steht daher mit den Werten aus der Blutgasanalyse in Zusammenhang. Eine Senkung des pH-Wertes im Blut unter den Normbereich von 7,36 bis 7,44, wie bei einer respiratorischen oder metabolischen Azidose möglich, erhöht wiederum die Abgabe von O_2 in peripheres Gewebe (GROS, 2005).

2.3.2 EKG- und Herzfrequenz

Der Herzschlag wird über das autonome Nervensystem kontrolliert. Bei der Aktivierung des sympathischen Nervensystems steigt die Herzfrequenz. (Tachykardie). Eine reduzierte Herzfrequenz (Bradykardie) ist entweder auf eine Suppression des sympathischen Nervensystems oder eine Aktivierung des parasympathischen Nervensystems zurückzuführen (MEYER, 2015). Diese Veränderungen, sowie verschiedene Herzerkrankungen und Herzrhythmusstörungen können durch das EKG diagnostiziert werden. Das EKG repräsentiert eine zweidimensionale Darstellung der vom Sinusknoten als primärem Schrittmacher generierten elektrischen Potentiale, die sich über den AV-Knoten, die HIS-Bündel, linken und rechten Tawara-Schenkel bis in die Purkinjefasern ausbreiten und an der epikardialen Oberfläche der Ventrikel aufgezeichnet werden (TILLEY, 1992; BEAR, 2015). Abbildung 2.1 zeigt den Verlauf eines physiologischen EKG.

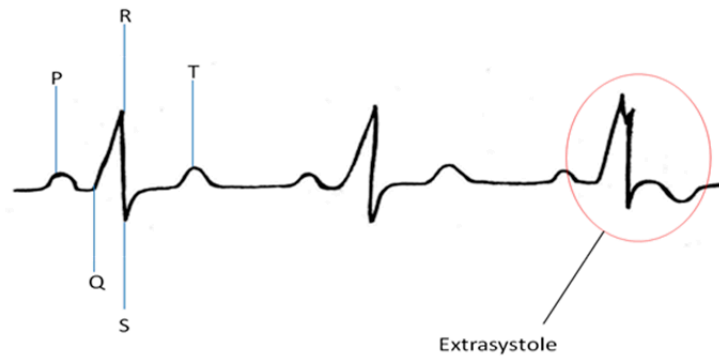


Abbildung 2.1 QRS- Komplex und ventrikuläre Extrasystole (modifiziert nach Schrader, 2003)

Die Vorhoferregung entspricht der P- Welle (TILLEY, 1992; SCHRADER, 2003). Das PQ- Intervall entspricht der Zeit zwischen Vorhof- und Kammererregung. Die Erregung des Ventrikels (QRS- Komplex) breitet sich beginnend von der linken Ventrikelseite zunächst herzbasiswärts aus (Q- Zacke). Ist diese größtenteils erregt, dreht sich die Erregungsleitung um und verläuft weiter in Richtung Herzspitze. Aufgrund der Masse der in diesem Verlauf zu erregenden Herzmuskeln entsteht eine große Potentialdifferenz, die R- Zacke. Zuletzt werden posterobasale Teile des linken Herzmuskels erregt, was dem Ausschlag der S-Zacke entspricht (TILLEY, 1992; SCHRADER, 2003). An das Ende des QRS- Komplexes (J- Punkt) schließt die ST- Strecke an (NELSON, 2006). Die darauf folgende T- Welle bildet die Repolarisation der Ventrikelmuskulatur ab (Abbildung 2.1) (TILLEY, 1992; NELSON, 2006). Sie kann beim Tier positiv, negativ oder biphasisch sein (TILLEY, 1992; NELSON, 2006). Veränderungen der Form, Größe oder Ausrichtung innerhalb einer Verlaufsmessung, sind als Anzeichen einer gestörten Herztätigkeit zu bewerten (NELSON, 2006).

Der Herzschlag bzw. das EKG geben keine Auskunft über den Bewusstseinszustand, da die mechanische Integrität des Herzens und ein effektives Pumpen zur Lebenserhaltung keine Voraussetzung für die reine elektrische Aktivität in den kardialen Zellen darstellt, welche im EKG zu sehen ist (TILLEY, 1992). Auch bewusstlose Individuen können über eine autonome Nervenantwort (Nozizeption) auf einen Schmerzreiz reagieren ohne bewusst Schmerz zu empfinden, was die Herzfrequenz steigern kann (MEYER, 2015). Sogar nach Eintritt des Hirntods im EEG kann bei Bestandstötungen von Geflügel weiterhin eine Herzaktivität beobachtet werden (BENSON et al., 2012). In der Studie von MCKEEGAN et al. (2013) erfolgte bei Bedeckung des Geflügels mit dem Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum ein Anstieg der Herzfrequenz. Das ist vermutlich als ein Zeichen von Angst auf den Schaum als fremdes Medium und die Lautstärke der Schaumdüsen zu deuten. Der Zeitpunkt, an dem aufgrund der anoxischen Umgebungsatmosphäre ein Abfall der Herzfrequenz zu verzeichnen war, wurde nicht angegeben und ist in der Veröffentlichung lediglich graphisch dargestellt.

Eine durch Anreicherung von Kohlendioxid entstehende respiratorische Azidose bewirkt eine Elektrolytverschiebung im Säure-Base-Haushalt die die Repolarisation des Herzens (Ausstrom von K^+ -Ionen aus der Herzmuskelzelle) beeinflussen und zu morphologischen Veränderungen des P-QRS-T Komplexes führen können (BERNAL, 2011). SCHMIDT et al. (1966) beschreiben, dass eine anoxische Umgebung bei Hunden im EKG zu Störungen der Vorhofftätigkeit, der AV-Überleitung, sowie zu ventrikulären Erregungsleitungsstörungen in Form von Extrasystolen (Abbildung 2.1) und einer Erhöhung der T-Welle führt. Diese Erhöhung der T-Welle wird auch als Erstickungs-T bezeichnet (Abb. 2.3). Es ist im Vergleich zur normalen T-Welle hoch und gleichschenkelig und gilt als Frühzeichen eines Herzinfarkts. Entsprechend TILLEY (1992) sollte die normale T-Welle nicht mehr als 25 % der R- Zacke betragen. Abweichungen der T-Wellen Morphologie können beispielsweise auf eine myokardiale Hypoxie oder auch auf eine Erhöhung der Katecholaminkonzentration im Blut hindeuten (TILLEY, 1992). Weitere von der normalen Physiologie abweichende T-Wellen sind das präterminale negative T (Abbildung 2.2-3) und das terminal negative T (Abbildung 2.2-4)(BERNAL, 2011). Beide können Anzeichen für Myokardschädigungen durch Koronarinsuffizienz (oder andere Krankheitserscheinungen) mit akutem und anhaltendem Sauerstoffmangel sein. Bei dem präterminalen negativen T ist die Winkelhalbierende der T-Welle zur R-Zacke geneigt, während sie beim terminal negativen T senkrecht verläuft.

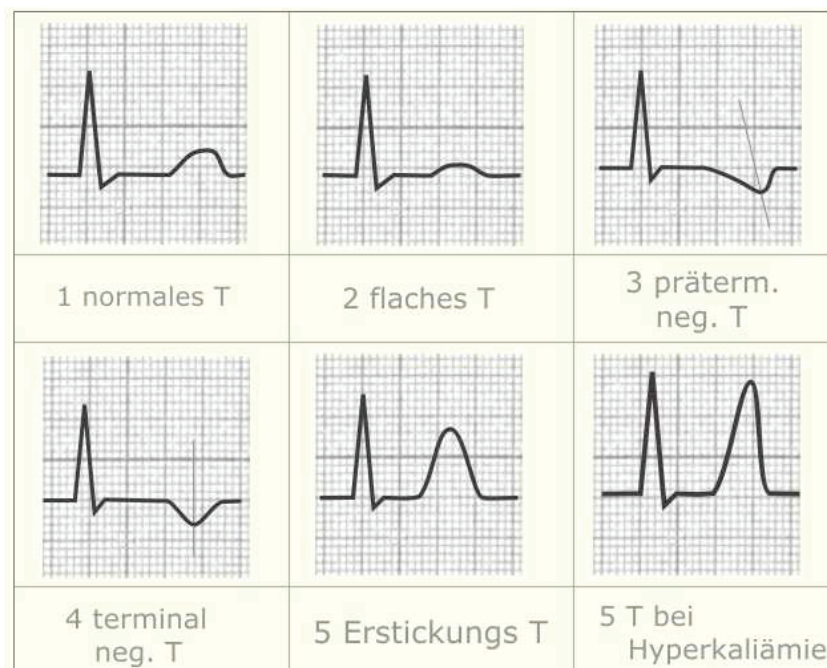


Abbildung 2.2 T- Wellen (Bernal, 2011)

Auch eine Erhöhung der ST-Strecke im EKG oder eine abnorme Erniedrigung (auch in Kombination mit prominenten R-Zacken) weisen auf eine myokardiale Hypoxie (TILLEY, 1992), Ischämie oder andere Formen von akuten Myokardschädigungen als Zeichen einer inadäquaten Durchblutung oder eines Herzinfarkts hin (TILLEY, 1992; SCHMIDT, 2003; NELSON, 2006).

TILLEY (1992) beschrieb, dass eine Erhöhung um 0,15 mV bzw. eine Erhöhung um 0,2 mV oder eine Erhöhung oder Erniedrigung um 0,3 mV in verschiedenen Ableitungen bei Hund und Katze auf eine Abnormalität hindeuten. Pseudodepressionen der ST-Strecke können entstehen, wenn es zu einer Erhöhung der T-Welle z.B. als Folge von Tachykardie kommt (TILLEY, 1992).

Das EKG wird analog zum EEG durch Bewegungsartefakte beeinflusst. Diese können für gerichtete Bewegungen oder terminale Konvulsionen stehen (BENSON et al., 2012). Studien an Hühnern zeigten, dass bereits kleine Bewegungen der Pektoral Muskulatur infolge Herzschlags zu Artefakten in den empfangenen Signalen führen (MCKEEGAN et al., 2013; MARTIN et al., 2016).

2.3.3 Körperinnentemperatur

Die physiologische Körpertemperatur beim Schwein liegt im Bereich zwischen 38,0 °C und 40,0 °C (JESSEN, 2000; BICKHARDT, 2004). Die Körpertemperatur kann zur Bewertung der Belastung von Tieren herangezogen werden. Sind Schweine vor der Schlachtung akutem Stress ausgesetzt, steigt ihre Körper- und Muskeltemperatur infolge eines erhöhten Energieumsatzes der Muskeln bei exothermer Stoffwechsellage an (ADZITEY und NURUL, 2011; VERMEULEN et al., 2015). Die bei steigenden Muskeltemperaturen vorliegenden höheren Laktatkonzentrationen sind mit einer Reduzierung des Muskel-pH-Wertes verbunden, der in Kombination mit einer erhöhten Körpertemperatur zur Denaturierung von Proteinen führt und die Bildung von PSE-Fleisch (PSE = „pale“, „soft“, „exudative“ = blasses weiches Fleisch mit einem reduzierten Wasserbindungsvermögen) begünstigt (MONIN et al., 1995; HAMBRECHT et al., 2005; ADZITEY und NURUL, 2011). VERMEULEN et al. (2015) zeigten in einer Studie mit über 500 Schweinen, dass die Körpertemperatur (rektal) in Korrelation zur Muskeltemperatur im M. longissimus dorsi (Kotelett) sowie im M. semimembranosus (Schinken), jeweils 30 Minuten post mortem gemessen, steht. Auch WARRIS et al. (1995) fanden bei Tieren, die über eine Dauer von 2 Minuten unmittelbar vor der Schlachtung bewusst Stress ausgesetzt wurden, erhöhte Muskelkerntemperaturen im M. longissimus dorsi nach 20 Minuten (1,1 °C) und nach 45 Minuten (0,9 °C). Sie schluss-

folgerten daher auf eine um ca. 1 °C erhöhte Körperkerntemperatur als Folge des stressigen Ereignisses. Demzufolge ist die Erhebung der Körpertemperatur ein wichtiger Bestandteil zur Bewertung von akut auf das Tier einwirkenden Belastungen und zur Beurteilung der Fleischbeschaffenheit.

2.3.4 Tierverhalten

Neben Körperbewegungen stellen Lautäußerungen ein entscheidendes Kriterium zur Bewertung der Tierbelastung dar (DALMAU, 2010b, LLONCH et al., 2012a, LLONCH et al., 2012b). WARRIS et al. (1994) fanden heraus, dass die Intensität von Lautäußerungen während des Zutriebs mit den im Blut messbaren physiologischen Stressindikatoren Laktat und Creatinkinase korreliert. SCHÄFFER & BORELL (2005) konnten mit ihren Untersuchungen von Vokalisationen bei Schlachtschweinen im Zutrieb zu unterschiedlichen Betäubungsanlagen ebenfalls darstellen, dass Lautäußerungen einen zuverlässigen Bioindikator für Stress bei Schlachtschweinen darstellen. Darüberhinaus stellten sie fest, dass Vokalisationen von mehr als 20 % der Tiere eines Betriebes bzw. einer Herkunft nicht akzeptabel sind und Mängel im Treibmanagement offenlegen. Als konkretes Beispiel für den Anstieg des Schallpegels in Dezibel (dB) wird eine Erhöhung um 10 dB bei wartenden und zusammengedrängten Schweinen, sowie um 20 dB beim Treiben der Tiere in Richtung Betäubungsanlage genannt. Lautäußerungen, gemessen bei der CO₂-Betäubung von Schlachtschweinen durch Anbringung eines Schallpegelmessgerätes (PCE-322A, PCE Deutschland gmbH, Menschede) direkt innerhalb der Betäubungsgondel, erreichten ein Maximum von 105,8 dB (MACHTOLF et al., 2013). Damit liegt der bei der Kohlendioxidbetäubung gemessene Schallpegel mehr als 20 dB oberhalb des in der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung [TierSchNutzV] festgeschriebenen Geräuschpegels von 85 dB, welcher im Aufenthaltsbereich der Schweine in der Stallanlage nicht dauerhaft überschritten werden darf. In Versuchen von GREGORY et al. (1987) zeigten 95 % der Tiere im Zuge einer Kohlendioxidbetäubung mit 86 % Lautäußerungen. Sie unterschieden zwischen physiologischen und nicht physiologischen Lauten. Physiologische Laute dauerten zwischen 2 und 38 Sekunden (durchschnittlich 10 Sekunden) und endeten 15 bis 44 Sekunden (durchschnittlich 30 Sekunden) nach Betäubungsbeginn. Sie traten bei 59 % der Tiere auf. Im Anschluss daran traten bei 86 % der Tiere unphysiologische, undeutliche bzw. verschwommene Laute auf, die als Stöhnen, Brüllen oder Jammern beschrieben wurden. Ihr Einsetzen wurde als Kriterium für das Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit angenommen. Diese Laute begannen 22 bis 57 Sekunden (durchschnittlich 39 Sekunden) nach Betäubungsstart.

GREGORY et al. (1987) schlussfolgerten daraus dass das Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bei Kohlendioxidbetäubung (86 %) nach 30 bis 39 Sekunden beginnt.

2.3.5 Stichblut

pH-Wert. Der arterielle pH-Wert gibt Auskunft über den Säure-Basen-Haushalt des Blutes. Er ist eine Maßzahl für die Aktivität der freien Wasserstoffionen im Blut (KRAFT & DÜRR, 2005; HABERSTROH & HENKE, 2012) und wird im arteriellen Blut gemessen. Die Ergebnisse unterschiedlicher Studien zeigten, dass auch der venöse pH-Wert zu 95% übereinstimmende Werte mit dem arteriell gemessenem Blut-pH liefert (KELLY et al., 2001; MALATESHA et al., 2007). Bei geringfügigen Schwankungen des Säure-Basen-Status sorgen die Puffersysteme des Blutes dafür, dass der Blut-pH zwischen 7,36 und 7,44 bleibt. FRIES (2013) beschreibt, dass der Blut-pH bei Kohlendioxidbetäubung mit steigendem $p\text{CO}_2$ sinkt, was zu einer zunehmenden Bewusstlosigkeit führt. Nach Kohlendioxidbetäubung stellten BECERRIL-HERRERA et al. (2009) deutlich tiefere Blut pH- Werte ($6,93 \pm 0,006$) fest, ebenfalls im direkten Vergleich zur Elektrobetäubung ($7,14 \pm 0,007$). Entsprechend GERRITZEN et al. (2008) sollte eine Erholung des Tieres möglich sein, sofern der Blut-pH nicht unterhalb eines Wertes von 7 sinkt, was bedeutet, dass das natürliche Puffersystem unter den Bedingungen der Kohlendioxidbetäubung versagt.

Temperatur. Stress und längere Gasexpositionszeiten führen zu einer Erhöhung der Stichbluttemperatur (TROEGER et al., 2003). TROEGER et al. (2003) fanden in Untersuchungen niedrigere Stichbluttemperaturen nach Argonbetäubung (Median: $38,8 \text{ }^\circ\text{C}$) als nach einer CO_2 -Betäubung (Median: $39,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

Cortisol und Noradrenalin sind standardisierte Untersuchungsparameter zur Einschätzung von Belastungssituation (MINTON., 1994; MEYER, 2015). Zahlreiche Autoren (FORSLID, 1988; WARRIS et al., 1994; POLLARD et al., 2002; BECERRIL-HERRERA et al., 2009) berichten, dass der Cortisolspiegel im Stichblut aufgrund einer längeren Reaktionszeit als Laktat und Creatinkinase (CK) weniger Aussagen über den Stress während der Schlachtung zulässt als vielmehr über vorausgegangene Belastungen wie Handling auf dem Betrieb und während des Transports. Gleichzeitig ist eine längere Dauer zum Absinken der Cortisolkonzentrationen in Ruhephasen erforderlich (WARRIS et al., 1994). Dafür sprechen auch Untersuchungen, bei denen durch die Handhabung der Tiere unmittelbar vor der Schlachtung ein erhöhten Plasmacortisolspiegel resultierte, während durch eine Variation der Betäubungsmethode und das Stechen der Cortisolspiegel unbeeinflusst blieb (SHAW & TUME, 1992; SHAW & TROUT, 1995; MEYER, 2015). Tiere, die in Schlachthöfen mit

einem stressigeren Management geschlachtet wurden, wiesen keine signifikanten Abweichungen des Cortisolspiegels ($20,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) zu Tieren auf, die in Systemen mit schonenderem Handling ($20,6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) geschlachtet wurden (WARRIS et al., 1994).

Bei der Interpretation von Cortisolwerten muss berücksichtigt werden, dass ihre Ausschüttung tageszeitabhängig ist und daher die Tiere für einen unmittelbaren Vergleich zum gleichen Tageszeitpunkt geschlachtet werden müssten, um tageszeitabhängige Variationen zu vermeiden (SHAW and TROUT, 1995; SPENCER, 1979). Auch zuvor verabreichte Betäubungsmittel wie Ketamin oder Halothan können zu einer Cortisolerhöhung führen (RINTISCH, 2010).

Katecholamine. Im Vergleich zur Heliumbetäubung weisen Schlachtschweine nach Kohlendioxidbetäubung einen um das Doppelte erhöhten Adrenalin- und Noradrenalinwert auf (MACHTOLF et al., 2013), bzw. nach Kohlendioxidbetäubung eine im Vergleich zum Basiswert beim selben Tier (HARTUNG et al., 2002) im Durchschnitt sogar 900-fache Erhöhung (NOWAK et al., 2007). Auch im Anschluss einer Elektrobetäubung zeigen sich drastische Anstiege (20-60-fach) der Katecholaminkonzentrationen (TROEGER & WOLTERS DORF, 1988) als Folge einer stark erhöhten endokrinen Reaktion. Stresshormone wie Adrenalin führen zu einem raschen Abfall von ATP und Glycogen (HONIKEL & KIM, 1986) und wirken somit auch auf die Fleischqualität ein. Schlachtkörper mit guter Fleischqualität weisen im Allgemeinen keine hohen Katecholamingehalte auf, wohingegen niedrige Katecholamingehalte nicht beweisend für eine gute Fleischqualität sind (TROEGER & WOLTERS DORF, 1988). Insbesondere bei den Katecholaminen herrscht eine große individuelle Spannweite (Tabelle 2.2). Ohne Dauerkatheter oder eine Vergleichsprobe desselben Tieres vor dem stressigen Ereignis, ist eine Interpretation von Blutwerten zur Beurteilung einer Stressantwort erschwert (vgl. WARRIS et al., 1994).

Laktat als ein Produkt der Glukoneogenese steigt im Blutserum progressiv mit zunehmender Belastung und im Anschluss an das unvermeidbare Handling der Tiere vor der Schlachtung im Blut an (WARRIS et al., 1995; MEYER, 2015) und sinkt im Anschluss nicht früher als nach 2 Stunden zurück auf die Basiswerte (MEYER et al., 2013). Nach Kohlendioxidbetäubung fanden BECERRIL-HERRERA et al. (2009) stark erhöhte Laktatwerte im Blut von Schlachtschweinen. Eine Studie von WARRIS et al. (1994) zeigte, dass sich der Kortisolspiegel der Tiere in Betrieben mit belastungsreichen und belastungsarmen Schlachthofbedingungen nicht unterscheiden, während der Laktat Spiegel bei den belastungsreichen ($139,8 \text{ mg}/100 \text{ ml} \pm 2,376 \text{ mg}/100 \text{ ml}$) im Vergleich zu den belastungsarmen Systemen ($63,5 \text{ mg}/100 \text{ ml} \pm 1,739 \text{ mg}/100 \text{ ml}$) hochgradig erhöht war. Die aus dem Stichblut ermittelte

Laktatwerte können folglich als Indikator zur Ermittlung von Belastung unmittelbar vor und während der Schlachtung herangezogen werden (HAMBRECHT et al., 2004). Hohe Laktatwerte könnten auch die Folge eines erhöhten Noradrenalinpiegels sein, da die Ausschüttung von Katecholamine zu einer Erhöhung der Herzfrequenz führt, den pH-Wert senkt und zu einer Akkumulation von Laktat führt (HAMBRECHT et al., 2004). Von den blutgestützten Belastungsparametern korreliert Laktat als einziger Indikator hochgradig mit der Fleischqualität (HAMBRECHT et al., 2004).

Creatinkinase (CK). Die CK ist für Muskelerkrankungen spezifisch. Sie findet sich sowohl im Herzmuskel als auch in der Skelettmuskulatur. Erhöhte Werte lassen auf Muskeltraumen oder ungewöhnliche körperliche Belastungen schließen. Darüber hinaus können erhöhte Werte Anzeichen für eine Belastungsmyopathie, einen Kreislaufschock (Stoffwechselstörung der Muskulatur), Paralytische Myopathie, Mangelmyopathie, Muskelentzündungen oder für eine nutritive Muskeldystrophie sein. Sehr stressanfällige Schweine zeigen ausgeprägte CK-Aktivitätsanstiege. Werte über 2000 U/l deuten auf eine Belastungsempfindlichkeit hin (KRAFT & DÜRR, 2005).

In der Studie von WARRIS et al. (1994) war die CK in den von den Autoren als belastungsreicher für die Tiere bewerteten Zuführungssystemen zur Betäubung ($1436 \text{ U/l} \pm 194,14 \text{ U/l}$) im Vergleich zu entsprechend belastungsärmeren Systemen ($965 \text{ U/l} \pm 81,26 \text{ U/l}$) erhöht. Der Anstieg von CK im Vergleich zu Laktat war jedoch geringer (WARRIS et al., 1995). Die Genotyp-bedingte Stressanfälligkeit von Schlachtschweinen spiegelt sich vordergründig in erhöhten CK-Werten wieder, weshalb insbesondere hier von einer Abhängigkeit zur individuellen Adaptation des Tieres und dessen Genetik zu erwarten ist (WARRIS et al., 1998). Von den blutgestützten Belastungsparametern scheinen lediglich Laktat, CK und Glukose zur Messung von physikalischem Stress unmittelbar vor der Schlachtung geeignet zu sein (FORSLID, 1988; WARRIS et al., 1994; POLLARD et al., 2002; BECERRIL-HERRERA et al., 2009). SHAW & TROUT (1995) berichteten, dass erhöhte CK-Werte bei Tieren nachweisbar waren, die später PSE-Fleisch entwickelten.

Aspartataminotransferase (ASAT). Die hohe Aktivität von ASAT in den Hepatozyten vom Schwein machen es zu einem klassischen Diagnostikum für eine vorliegende Hepatopathie für diese Spezies. ASAT kann allerdings in unterschiedlicher Aktivität in verschiedenen Organen in zahlreichen Geweben angetroffen werden und ist daher nicht organspezifisch. Sie steigt besonders stark bei Muskelerkrankungen an und gilt daher als Indikator für Myopathien. Hohe Aktivitäten sind im Herz- und Skelettmuskel nachweisbar. ASAT findet sich im

Zytoplasma und auch den Mitochondrien, darum ist sie bei Zellnekrose, in geringem Umfang auch schon bei Membranschäden im Blutserum erhöht. Aktivitätssteigerungen bis zum Dreifachen des oberen Referenzwertes können als geringgradige Erhöhungen, Werte über das Dreifache als schwere Aktivitätssteigerungen bezeichnet werden (KRAFT & DÜRR, 2005).

CK/ASAT-Quotient. Zur Unterscheidung von Leber- und Muskelschäden bzw. Belastungsmyopathie und ernährungsbedingter Myopathie wird der Quotient aus CK und ASAT herangezogen (BICKHARDT, 2004; KRAFT & DÜRR, 2005) Die CK liegt in weißer und roter Muskulatur in ähnlicher Konzentration vor, während die ASAT in der roten Muskulatur im Vergleich zur weißen Muskulatur erhöht vorliegt (BICKHARDT, 2004). Bei der Belastungsmyopathie sind durch eine exzessive anaerobe Glykolyse vor allem weiße Muskelfasern geschädigt (BICKHARDT, 2004). Ein Quotient über 50 (meistens sogar über 100) liegt bei Schädigung dieses Muskelfasertyps vor. Bei einer Schädigung der roten Muskulatur liegt das Verhältnis unter 50. Dies spricht in den meisten Fällen eher für eine Muskelverletzung (BICKHARDT, 2004). Ein Quotient unter 20 spricht häufig für eine Leberzelldegeneration (BICKHARDT, 2004; KRAFT & DÜRR, 2005;).

Glukose. BECERRIL-HERRERA et al. (2009) untersuchten den direkten Zusammenhang zwischen Exposition in Kohlendioxidatmosphäre und Belastungsindikatoren im Blut. Bei Schlachtschweinen, die durch Kohlendioxid betäubt wurden, ließen sich deutlich über dem Referenzbereich von bis zu 6,4 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005) liegende Werte für Glukose feststellen, was auf eine starke Stressbelastung und einen damit einhergehendem Anstieg der Glukoneogenese zurückzuführen ist.

Aufgrund unterschiedlicher genetischer Voraussetzungen oder einer tierindividuell variierenden Adaptation an Stress, reagieren Tiere auf einen identischen Stressimpuls unterschiedlich stark. Die einzige Möglichkeit zur Objektivierung der Messung wäre ein Dauerkatheter über die gesamte Untersuchungsperiode. Dies ist in der Praxis allerdings nur sehr schwer umsetzbar und bedeutet zusätzlichen Handlingstress für die Tiere, auf den wiederum eine individuelle Stressantwort folgt (WARRIS et al., 1994). Eine zusätzliche zu berücksichtigende Gegebenheit bei der Interpretation von Blutparametern als objektive Stressparameter sollte sein, dass sich z.B. Körperreaktionen wie Exzitationen nach Bewusstseinsverlust in Blutwerten widerspiegeln können und daher nur eine Aussage über die Gesamtbelastung bis Todeseintritt, nicht jedoch über die applizierte Belastung bis Bewusstseinsverlust machen lassen (MEYER, 2015).

In Tabelle 2.2 sind die von verschiedenen Autoren veröffentlichten Blutwerte für das Schlachtschwein dargestellt.

Tabelle 2.2 Basisblutwerte und Stresswerte nach Kohlendioxidbetäubung

Parameter	Durchschnittlicher Basiswert	Wert nach CO ₂ -Betäubung	CO ₂ -Konz.	Quelle
pH	7,43 ± 0,006	6,93 ± 0,006	(70%)	BECERRIL-HERRERA et al. (2009)
	7,42 ± 0,04			RODRIGUEZ et al. (2008)
Glukose (mmol/l)	76,57 ± 0,44 mg/dl = 4,249635 mmol/l	201,49 ± 4,41 mg/dl = 11,182695 mmol/l	(70%)	BECERRIL-HERRERA et al. (2009)
	3,9-6,4			KRAFT & DÜRR, 2005; Universität Leipzig *
	5,84 ± 0,39			BICKHARDT & WIRTZ (1978)
Laktat (mmol/l)	33,10 ± 0,45 mg/dl = 1,83705 mmol/l	129,49 ± 0,57 mg/dl = 7,186695 mmol/l	(70%)	BECERRIL-HERRERA et al. (2009)
	7,29 ± 3,56			BICKHARDT & WIRTZ (1978)
	0,5-11			BICKHARDT (1992)
	1,4	10,8	(80%)	HARTUNG et al. (2002)
	1,2	7,1	(90%)	HARTUNG et al. (2002)
	0,1-2			NOWAK et al. (2007)
CK (U/l)	< 1250			Universität Leipzig *
	bis 2000			KRAFT & DÜRR, 2005

CK/ASAT	20-50			KRAFT & DÜRR, 2005; Bickhardt, 2004
ASAT (U/l)	bis 35			KRAFT & DÜRR, 2005
	8-25			NERBAS, 2008
Noradrenalin (ng/ml)	320	252.600	(80%)	HARTUNG et al. (2002)
	395	228.100	(90%)	HARTUNG et al. (2002)
		393,2 ± 195,520	(90%)	MACHTOLF et al. (2013a)
	0,2-6			NOWAK et al. (2007)
	1,1			TROEGER & WOLTERS DORF (1988)
Adrenalin (ng/ml)	90	131.400	(80%)	HARTUNG et al. (2002)
	146	112.600	(90%)	HARTUNG et al. (2002)
		121,630 ± 42,170	(90%)	MACHTOLF et al. (2013a)
	0,2			TROEGER & WOLTERS DORF (1988)

* (www.vetmed.uni-leipzig.de/ik/wmedizin/labor/diagnostik/referenzwerte/schwein.htm)

2.4 Gasbetäubungsverfahren bei Schlachtschweinen

Nach der Verordnung EU VO (EG) Nr. 1099/2009 und der Tierschutz-Schlachtverordnung [TierSchlV] sind Tiere vor der Tötung durch Blutentzug (Schlachtung) so zu betäuben, dass sie schnell und unter Vermeidung von Schmerzen oder Leiden in einen bis zum Tod anhaltenden Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit versetzt werden.

In der EU besteht eine gesetzliche Verpflichtung zur Betäubung von Tieren vor der Tötung durch Blutentzug [EU VO (EG) Nr. 1099/2009, GERRITZEN et al., 2015]. Eine Ausnahme hiervon gilt nur unter besonderen und national unterschiedlich geregelten Bedingungen für rituelle Schlachtungen mit Bezugnahme auf den Artikel 10 der Charta für Grundrechte der EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Absatz 18.

Entsprechend der sogenannten "Schlüsselparameter" der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 muss für jedes Betäubungsverfahren die Verweildauer der Tiere in der Betäubungsatmosphäre und die Dauer der Betäubung definiert werden. Die Dauer der Betäubung gilt als Grundlage zur Definition des maximalen "stun-to-stick"-Intervalls (Zeitspanne von der Betäubung des Tieres bis zum Entblutestich) (RODRIGUEZ et al, 2016). Durch die Erhebung der Schlüsselparameter soll eine effiziente Betäubung sichergestellt werden. Aus diesem Grund ist das ständige Monitoring der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit zur Sicherstellung des Tierschutzes bei der Schlachtung unerlässlich. Tiere sind nachzubetäuben, wenn eine effektive Betäubung nicht gegeben ist (RODRIGUEZ et al., 2016).

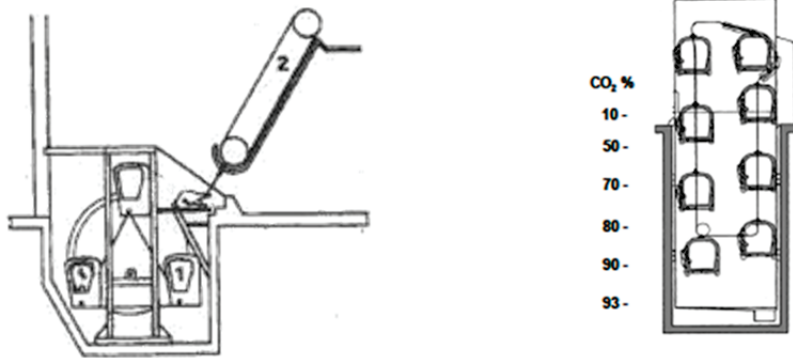
Bei der Schlachtung von Schweinen ist neben der Elektrobetäubung und dem penetrierenden Bolzenschuss eine Betäubung der Tiere unter Anwendung von Gas zulässig. Entsprechend der VO (EG) Nr. 1099/2009 können dafür neben Kohlendioxid auch Edelgase und Edelgasgemische mit anderen Gasen (inkl. Stickstoff) eingesetzt werden.

2.4.1 Kohlendioxid

2.4.1.1 Betäubungsanlagen in der Praxis

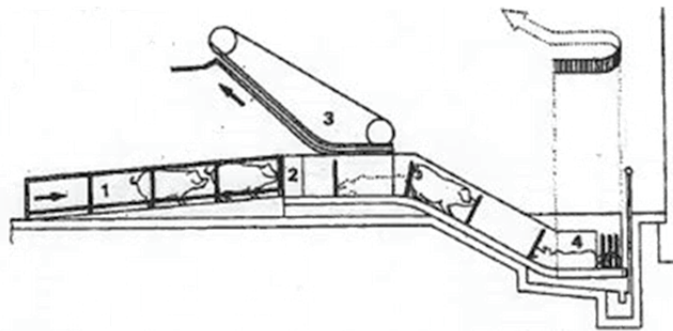
Jährlich (Stand 2016) werden allein in der Bundesrepublik Deutschland rund 59 Millionen Schweine zu gewerblichen Zwecken geschlachtet (Statistisches Bundesamt, 2017). Besonders auf Schlachthöfen mit großer Schlachtleistung hat sich die Kohlendioxidbetäubung durchgesetzt. Im Gegensatz zur sofort wirksamen Elektrobetäubung (unter der Voraussetzung einer fachgerechten Durchführung), bei der die Tiere vor der Betäubung vereinzelt werden müssen, ermöglicht die nicht unmittelbar wirksame Kohlendioxidbetäubung die gleichzeitige

Betäubung mehrerer Tiere in Gruppen. Zum einen sind dadurch höhere Schlachtleistungen pro Stunde erreichbar, zum anderen reduziert der gruppenweise Zutrieb in die Betäubungsanlage die Belastung bei den Tieren (VELARDE et al., 2000a; EFSA, 2004). Schweine sind soziale und in Gruppen lebende Tiere, die auf eine Vereinzelung Anzeichen von Stress zeigen (RAJ & GREGORY, 1996). Grundsätzlich unterscheidet man zwischen zwei Verfahren bei der CO₂- Betäubung, dem sog. Paternostersystem und dem Dip-Lift-System (EFSA, 2004). Das häufiger genutzte System ist das kontinuierlich arbeitende Paternostersystem. Seine Funktionsweise ist vergleichbar mit dem Arbeitsmechanismus eines Riesenrads, das in definierten zeitlichen Abständen jeweils für den Eintrieb der Tiere in die Gondeln und auf der anderen Seite für den Auswurf betäubter Tiere kurz zum Halten kommt (EFSA, 2004). Die einzelnen Gondeln in diesem System laufen auf einer vertikal angeordneten Schiene und führen in eine Grube, in der sich ein CO₂-Gradient befindetet. Am Boden der Grube wird eine Konzentration von mindestens 90 % empfohlen (HARTUNG et al., 2002; EFSA, 2004). Zwischen Eintrieb und Auswurf der Tiere gibt es einen oder mehrere Stopps, bei denen weitere Tiere Gondeln betreten und andere auf der gegenüberliegenden Seite verlassen. Ältere Anlagen waren so konstruiert, dass die Gondeln lediglich ein Tier fassen konnten (Abbildung 2.3: a). Durch die notwendige Vereinzelung der Tiere wie bei der Elektrobetäubung wurden bei diesen älteren Anlagen die Nachteile der Elektrobetäubung durch die Vereinzelung und die Nachteile der Kohlendioxidbetäubung durch die bei Kohlendioxidexposition auftretende Aversion der Tiere kombiniert. Heute können sechs bis acht Tiere in einer Gondel gleichzeitig betäubt werden (EFSA, 2004). Die Anzahl und Geschwindigkeit der Gondeln sowie die Anzahl und Dauer der Stopps und damit auch das Auswurfintervall sind abhängig von der zuvor definierten Verweildauer und variieren entsprechend der baulichen Voraussetzungen (EFSA, 2004). Bis 2003 betrug die gesetzlich vorgeschriebene Mindestkonzentration 70 % Kohlendioxid bei mindestens 70 Sekunden Verweildauer. Heute sind laut EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Anhang I Kapitel II Nummer 7 mindestens 80 % Kohlendioxid bei mindestens 100 Sekunden Verweildauer vorgeschrieben. Darüber hinaus schreibt die TierSchlV vor, dass die Tiere nach spätestens 30 Sekunden den ersten Halt erreicht haben müssen (TierSchlV, Anlage 1, Nr.7.4). An dieser Position ist die Kohlendioxidkonzentration hoch genug, um aversive Reaktionen bei den Tieren zu erzeugen, jedoch zu niedrig, um zu einer effektiven und schnellen Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit zu führen (DALMAU et al., 2010a).



a) Parisserrad (Paternostersystem):
1-Gondel, 2-Steचाufzug (Cantieni, 1977, S.261)

b) Arbeitsprinzip des Paternoster-Systems (EFSA,
2004, S.100)



c) Dipliflanlage: 1-Zugang, 2-Eingangsklappe, 3-CO₂-Kammer, 4-Steचाufzug (Cantieni, 1977, S.261)

Abbildung 2.3 CO₂- Betäubungsanlagen in der Praxis

Das Dip-Lift-System arbeitet diskontinuierlich. Die Tiere werden gruppenweise in eine Gondel getrieben, die auf direktem Weg in eine Grube mit mindestens 80 % CO₂ abgesenkt wird und dort 100s verbleibt. Anschließend wird die Gondel wieder hochgefahren und wirft auf der gegenüberliegenden Seite des Eintriebs die Tiere auf das Schlachtband aus, wo sie entblutet werden. Anschließend wird eine neue Gruppe Tiere in die leere Gondel getrieben und in die kohlendioxidgefüllte Grube abgesenkt. Nach VELARDE et al. (2007) wird das Dip-Lift-System als das tierschutzfreundlichere der beiden Systeme betrachtet, weil beim Paternostersystem die Tiere anfänglich in eine Atmosphäre mit geringerer Kohlendioxidkonzentration verbracht werden, was die effektive Dauer bis zum Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit verlängert, dabei jedoch nicht weniger aversiv ist.

2.4.1.2 Gaswirkung

Kohlendioxid (CO₂) ist ein narkotisch wirksames Gas, das eine tiefe Bewusstlosigkeit erzeugt (FORSLID, 1987). Es führt bei Inhalation in hohen Konzentrationen zu einem verringerten Gasaustausch in den Alveolen und damit zu einer hyperkapnischen Hypoxie (DODMAN, 1977). Die dadurch hervorgerufene Atemnot führt zu einer Erhöhung der Atmungsfrequenz mit schnelleren und tieferen Atemzügen und demzufolge schnellerem Bewusstseinsverlust (GREGORY et al., 1990; FORSLID, 1992; LLONCH et al., 2012a). Durch den stetig steigenden Kohlendioxidpartialdruck kann die natürliche Säuren-Basen-Homöostase nicht aufrechterhalten werden und es kommt zur respiratorischen Azidose (GUYTON & HALL, 2001 zitiert nach MOTA-ROJAS et al., 2012). Zentrale Chemorezeptoren nahe des Atemzentrums in der *Formatio Reticularis* reagieren auf metabolische Veränderungen der Blut- und Hirnflüssigkeit (CANTIENI, 1977). Infolge des sinkenden Blut-pH-Werts führen sie zu einer Stimulation des chemosensiblen Atemzentrums und damit zu einer reflektorischen Steigerung der Atemfrequenz mit der Folge der Atemnot durch die anhaltend hohe Kohlendioxidkonzentration in der Umgebungsatmosphäre (TROEGER, 2008). Durch den simultan zum Blut-pH-Wert fallenden pH-Wert der Cerebrospinalflüssigkeit kommt es letztendlich zu einem Stadium der Analgesie und Anästhesie (WOODBURY and KARLER, 1960; EISLE et al., 1967, CANTIENI, 1977). Da die anästhetisierende Wirkung von CO₂ verzögert eintritt, nehmen die Tiere die Atemnot für ca. 10-20 Sekunden bewusst wahr (RAJ & GREGORY, 1995; RODRIGUEZ et al., 2008; TROEGER, 2008).

RAJ et al. (1997) zeigten in ihren Untersuchungen, dass der Verlust der somatosensorisch evozierten Potentiale (SEP) im EEG als objektiver Beweis für den Verlust des Bewusstseins bei CO₂ in hohen Konzentrationen (80-90 %) mit 16-36 Sekunden sehr langsam ist und großen Variationen unterliegt. Die infolge hyperkapnischen Hypoxie eintretende Hyperventilation und Atemnot finden vor Verlust des Bewusstseins statt (GREGORY et al., 1990) und ist als ein tierschutzrelevanter Kritikpunkt anzuführen (MACHOLD et al., 2003a). Dadurch sind die Tiere für ca. 10-20 Sekunden (TROEGER, 2008), nach RAJ & GREGORY (1995) für 15 Sekunden einem Gefühl der Atemnot ausgesetzt. Bei Einsetzen der Atemnot zeigen die Tiere tiefe Atemzüge bei klaffend geöffnetem Maul (LAMBOOIJ et al., 1999; VELARDE et al., 2007). Des Weiteren führt die Bildung von Kohlensäure aus CO₂ und Wasser zu Irritationen in der nasalen Mukosa und in der Lunge (Peppel und Anton, 1993). Diese reizende Wirkung von CO₂ auf Schleimhäute führt bei den Tieren zu aversiven Reaktionen wie z.B. Zurückweichen, Fluchtversuche, kräftiges Kopfschütteln und Vokalisationen (RAJ und GREGORY, 1995; RAJ und GREGORY, 1996 MACHOLD et al.,

2003a; EFSA, 2004; RODRIGUEZ et al., 2008; DALMAU et al., 2010; LLONCH et al., 2012a, LLONCH et al., 2012b). DALMAU et al. (2010b) und VELARDE et al. (2007) zeigten, dass das Ausmaß dieser aversiven Reaktionen mit steigender CO₂-Konzentration in Gasgemischen und bei Verwendung von Kohlendioxid allein (70% und 90%) zunimmt. RAJ & GREGORY, 1996 zeigten, dass Schweine bei Konzentrationen zwischen 20 und 30% CO₂ weniger respiratorischen Stress ausgesetzt waren als Tieren in einer Gasatmosphäre von 40-70%. Lediglich bei Konzentrationen von 40-70 %, nicht jedoch zwischen 20-30 % und 80-90 % CO₂, wurden Fluchtversuche beobachtet. Die Mehrheit der Tiere in einer Studie der gleichen Autoren ein Jahr später (RAJ & GREGORY, 1997) zeigte bei 80 und 90 % Kohlendioxid 10-15 Sekunden nach Gaseinleitung und vor Verlust von SEPs im EEG nach 16-36 Sekunden Vokalisationen und physische Aktivität, sowie für 16 Sekunden (80 % Kohlendioxid) bzw. 12 Sekunden (90 % Kohlendioxid) starken respiratorischen Stress, sodass die fehlenden Fluchtreaktionen der Studie des Vorjahres nicht als Standard angenommen werden können. Insgesamt zeigt sich, dass das Ausmaß der Aversion der Tiere (Vokalisationen, Maulöffnung) und die vom Tier willentlich durchgeführten Reaktionen bei erhaltenem Sensorium bei hohen Kohlendioxidkonzentrationen von 80-90% nicht abnimmt (RAJ & GREGORY, 1996 und 1997). Dafür spricht auch, dass 88 % der Tiere in der Studie von RAJ und GREGORY (1995) den Eintritt in eine Atmosphäre mit 80-90 % Kohlendioxid trotz 24 Stunden Futterentzug und einem Futterlockmittel in der Kammer vermieden (RAJ & GREGORY, 1995).

Auf kortikaler Ebene führen hohe Konzentrationen an CO₂ durch die Anwesenheit des Enzyms Carboanhydrase zur Bildung von Bikarbonat. Die dadurch entstehende Erhöhung des Bikarbonatquotienten zwischen intra- und extrazellulärem Raum führt zur Hyperpolarisation kortikaler Nervenzellen (CANTIENI, 1977). Sie wird über hemmende Synapsen vermittelt und führt zu einer Erhöhung des für ein Aktionspotential notwendigen Schwellenwertes (GREGORY, 2003). Letzteres resultiert in einer herabgesetzten Ansprechbarkeit des Cortex. In den Zellen der *Formatio Reticularis* fehlt das Enzym Carboanhydrase (CANTIENI, 1977). Dadurch entsteht unter Einwirkung von CO₂ weniger Bikarbonat und es kommt zur Depolarisation der Nervenzellen, die das gleichzeitige Auftreten von Exzitationen bei der CO₂-Betäubung erklärt (CANTIENI, 1977).

Bei reversiblen Betäubungsverfahren wie der CO₂-Betäubung, bei der die Rückkehr des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens ohne nachfolgende Tötung (z.B. Entblutung) nicht sicher auszuschließen ist, ist die Zeitspanne zwischen dem Betäuben und dem Entblutungsschnitt ein entscheidendes Kriterium für die Aufrechterhaltung der

Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bis zum Tod. Die Zeitspanne hierfür ist für die Betäubung mit Kohlendioxid mit 20 Sekunden angegeben [TierSchlV, Anlage 2, zu §12 Absatz 6]. Bei Einhaltung der minimalen Betäubungsdauer von 100 Sekunden [TierSchlV, Anlage 1] bei 90 % Kohlendioxid tritt die Wiederkehr von Reflexen bei Verlängerung des Stun-to-Stick-Intervalls von 25-30 Sekunden auf 40-50 Sekunden signifikant häufiger auf (NOWAK et al., 2007) und ist deshalb so kurz wie möglich zu halten.

Es ist bekannt, dass die derzeit zulässige Kohlendioxidkonzentration von mindestens 80% nicht ausreichend für die sichere Erhaltung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bis zum Tod ist (HARTUNG et al., 2002; NOWAK et al., 2007). Aufgrund der kürzeren Stressbelastung der Tiere durch den schnelleren Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens und der besseren Fleischqualität im Vergleich zu 80% (HARTUNG et al., 2002; NOWAK et al., 2007) sind viele Schlachthöfe bereits zu einer Betäubung mit > 90 % Kohlendioxid übergegangen, wodurch auch die behördliche Ausnahmegenehmigung für ein verlängertes „stun-to-stick-intervall“ Anwendung finden kann. Im Vergleich zur Betäubung bei CO₂-Konzentrationen von 90 % für 100 Sekunden und einem Stun-to-Stick-Intervall von 40-50 Sekunden treten bei CO₂-Konzentrationen von 80 % unter sonst gleichen Bedingungen Reflexe im Anschluss an die Betäubung zehnmal häufiger auf (NOWAK et al., 2007).

Flucht- und Angstreaktionen der Tiere dauern bei einer Anflutung mit 80 % CO₂ (70s Verweildauer) länger als mit 90 % (70s Verweildauer) und höhere Laktatwerte nach der Betäubung mit 80 % deuten auf eine länger anhaltende Muskelkontraktion hin, was auch die Fleischqualität durch einen rasch abfallenden pH-Wert (BINKE, 2003) und Gefäßrupturen negativ beeinflussen kann (HARTUNG et al., 2002; NOWAK et al., 2002). Der einzige Nachteil bei der Verwendung von 90 % Kohlendioxid besteht darin, dass die Tiere zum Zeitpunkt der Entblutung unter Umständen bereits tot sein können (HARTUNG et al., 2002). Dies würde aufgrund der verminderten Ausblutung negative Auswirkungen in Bezug auf die Fleischqualität mit sich bringen, aber auch ethische Fragestellungen aufwerfen, da das Gesetz die Tötung der Tiere durch Blutentzug vorschreibt (HARTUNG et al., 2002).

In den vergangenen Jahrzehnten gab es kontinuierlich technische und bauliche Anpassungen, um die Kohlendioxidbetäubung für die Tiere weniger belastend zu gestalten. Die Vergrößerung der Gondeln stellt dabei sicherlich den größten Entwicklungsschritt dar, weil er das Handling der Tiere verringert und durch den gruppenweisen Zutrieb den Stress unmittelbar vor der Betäubung reduziert (VELARDE et al., 2000a; EFSA, 2004). Hinzukommend wurde die vorgeschriebene Verweildauer verlängert und die Mindest-

konzentration erhöht, um die Zeitspanne bis zur Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit der Tiere zu verringern und eine sichere Betäubung bis zum Todeseintritt der Tiere zu gewährleisten. Trotz der Verbesserungen kann die Kohlendioxidbetäubung aufgrund der bereits geschilderten Nachteile für das Tier weiterhin nicht als tierschutzgerechte Betäubungsmethode betrachtet werden. Aufgrund der immer größer werdenden Schlachthöfe und der steigenden Schlachtzahlen jährlich ist die Suche nach einer alternativen Gasbetäubungsmethode dringend erforderlich.

2.4.1.3 Vergleich zur Elektrobetäubung

Entsprechend EU VO (EG) Nr. 1099/2009 und der TierSchlV kann zur Betäubung von Schweinen eine Elektrobetäubung durch Kopf- oder Ganzkörperdurchströmung angewendet werden, letzteres durch eine Herzdurchströmung, die frühestens gleichzeitig mit der Kopfdurchströmung erfolgen darf. Innerhalb der ersten Sekunde müssen 1,3 Ampere erreicht und am Kopf über mindestens 4 Sekunden bei Anwendung von rechteck- und sinusförmigen Wechselströmen von 50 Hz bis 100 Hz gehalten werden [TierSchlV, Anlage 1]. Abweichungen hiervon bedürfen einer gesonderten Genehmigung. Bei fachgerechter Durchführung führt die Elektrobetäubung innerhalb von wenigen Millisekunden zum epileptiformen Anfall und damit zum unmittelbaren Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit. Dies stellt aus Sicht des Tierschutzes einen entscheidenden Vorteil gegenüber der Gasbetäubung dar. Auch bei dem Vergleich positiver Reflexe, Schmerzsensibilität und spontan einsetzender Atmung schnitt die Elektrobetäubung in Untersuchungen besser ab als die Kohlendioxidbetäubung (VELARDE et al., 2000b).

Allerdings erzielt die Kohlendioxidbetäubung im Vergleich zur Elektrobetäubung eine höhere Stundenleistung, die aus der gleichzeitigen Betäubung mehrerer Tiere resultiert. Ein weiterer positiver Effekt ist der im Vergleich zur Elektrobetäubung geringere Handlungsaufwand durch den gruppenweisen Zutrieb der Tiere zur Betäubungsanlage (VELARDE et al., 2000a; NOWAK et al., 2007). Geringere muskuläre Kontraktionen bei der Kohlendioxidbetäubung verringern das Vorkommen von Blutpunkten in der Muskulatur durch Reißen von Gefäßen oder durch Knochenbrüche (VELARDE et al., 2000a, 2001). Auch das Vorkommen von PSE-Fleisch aufgrund eines höheren pH-Wertes 24 Stunden post mortem ist nach einer Kohlendioxidbetäubung geringer (VELARDE et al., 2001). In Hinblick auf die Vergrößerung der Schlachthöfe und die Anforderung, mehrere Tiere unter geringeren Belastungen gleichzeitig zu betäuben um höherer Tagesschlachtzahlen zu erzielen, tritt die

Elektrobetäubung zunehmend in den Hintergrund (VELARDE et al., 2000b; NOWAK et al., 2007).

2.4.2 Alternative Gasbetäubungsverfahren bei Schlachtschweinen

2.4.2.1 Argon

Als alternatives Gas zum CO₂ wird in der Literatur vielfach Argon zitiert. Argon gehört zur Gruppe der Edelgase. Es ist geruchs- und geschmacklos und induziert eine Anästhesie über eine Anoxie (RAJ et GREGORY, 1995 und 1996; MACHOLD et al., 2003a). Dabei wird der CO₂-Gehalt im Blut reduziert (hypokapnische Anoxie; RAJ et al., 1997; MACHOLD et al., 2003a). Die mit Argon eingeleitete Anoxie als Endstadium der Hypoxie führt bei Schweinen nicht zu Anzeichen der Aversion (RAJ et GREGORY, 1995 und 1996; MACHOLD et al., 2003a, 2003b) und erzeugt auch keine Atemnotsymptome vor Verlust des Bewusstseins (RAJ et GREGORY, 1995). Es erzielt im Vergleich zu Kohlendioxid daher eine tierschonendere Betäubung (MACHOLD et al., 2003a). Die Zeitspanne bis zum Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ist für die Tiere aufgrund der ausbleibenden Stimulation des Atemzentrums mit keiner Belastung verbunden (LLONCH et al., 2012b). Die Gasbetäubung mit 90 % Argon (2% Restsauerstoff) führt nach 9-21 Sekunden zu einem Verlust der SEPs und damit zu einer schnelleren Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit als die CO₂-Betäubung (RAJ et al., 1997). Der Zeitpunkt des SEP-Verlusts fällt mit dem Auftreten von "Slow-Waves" im EEG zusammen (RAJ et al., 1997), die für das Einsetzen von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit charakteristisch sind. Nachteil gegenüber der Betäubung mit reinem Kohlendioxid ist die verkürzte Zeitspanne, die zur Vermeidung des Wiedererwachens der Tiere zwischen Betäubung und Entblutestich zur Verfügung steht, da die Tiere ihr Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen bei einer unter Praxisbedingungen umsetzbaren Gasexpositionszeit von 120 Sekunden schneller zurückerlangen (RAJ und GREGORY, 1996; TROEGER et al., 2003; MACHOLD et al., 2003b TROEGER et al., 2004a; LLONCH et al., 2012b).

Aus ökonomischer Perspektive ist die Bereitstellung von Argon aufgrund seiner sehr geringen Konzentration in der atmosphärischen Luft (< 0,01 %) und der sehr kostenintensiven Anreicherung für den industriellen Großeinsatz, insbesondere unter Berücksichtigung der Einsatzempfehlung bei einem Restsauerstoffgehalt < 2 %, zur Erzeugung einer Anoxie sehr kostenintensiv.

CO₂ und Argon wurden in der Vergangenheit zu Versuchszwecken auch in Kombination eingesetzt. Nach RAJ et al. (1997) führte die Kombination von 30 % CO₂ in Argon zu einem schnelleren Verlust der SEPs im EEG (11-20 Sekunden) als beim Einsatz von Kohlendioxid in hohen Konzentrationen (16-36 Sekunden). Im Gegensatz zum Einsatz von CO₂ in hohen Konzentrationen zeigte der Großteil der Schweine (75 %) bei der Kombination von CO₂ und Argon keine aversiven Reaktionen (RAJ et GREGORY, 1995). Die Kombination von Argon und CO₂ (mit einem Anteil < 30 %) könnte demnach eine tierschutzgerechtere Alternative im Vergleich zu der derzeit gängigen Kohlendioxidbetäubung mit Konzentrationen von > 80% darstellen.

Nachteil von Argon gegenüber der Betäubung mit reinem Kohlendioxid sind laut TROEGER et al. (2004b) und TROEGER et al. (2003) ein dreifach erhöhtes Vorkommen von Blutpunkten, die vor allem im Schinken auftreten und die Fleischqualität reduzieren. Darüberhinaus führt eine Betäubung mit Argon in 95 %-iger Konzentration zu frühpostmortal erhöhten Schinkenkerntemperaturen, partiell erhöhten pH-Werten 30 Minuten post mortem und generell erhöhten pH-Werten 24 Stunden post mortem, sowie erhöhten Leitfähigkeitsmesswerten, vermutlich aufgrund einer verstärkten Exzitationsphase nach Argonbetäubung (TROEGER et al., 2003). Bezüglich der Fleischfarbe (L*- und a*-Werte) und Tropfsaftverlusten (0,7-0,9 % in beiden Gruppen) gab es keinen signifikanten Unterschied. Die im Vergleich zur Kohlendioxidbetäubung graduell erhöhten End-pH-Werte führten gleichzeitig zu verringerten Grillverlusten, was die sensorische Qualität in der Kotelettmuskulatur nach Argonbetäubung positiv beeinflusste (TROEGER et al., 2003). Bezüglich dieser Studie mit etwa 5 % Restsauerstoffgehalt und insbesondere in Hinblick auf die verlängerten Exzitationszeiten muss berücksichtigt werden, dass die Herbeiführung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch Anoxie mit Inertgasen nur bei einem Restsauerstoffgehalt von < 2 % (DALMAU et al., 2010a; LLONCH et al., 2013), besser < 1 % (MCKEEGAN et al., 2013) gesichert ist und andernfalls sogar als tierschutzrelevant eingestuft werden muss (SUTHERLAND, 2011).

2.4.2.2 Helium

Helium gehört wie Argon zur Gruppe der Edelgase und wird in der Humanmedizin als Atemgas zur Erleichterung der Atmung bei vorliegenden Obstruktionen eingesetzt (SYKES & LAWRENCE, 1938; HARRIS & BARNES, 2008). Die Bewusstlosigkeit wird wie bei Argon durch Hyp- bzw. Anoxie erzeugt. Aus dem EG-Sicherheitsdatenblatt für verdichtetes Helium

(EG-Sicherheitsdatenblatt, 2013) geht hervor, dass ein Ersticken während der Inhalation von Helium nicht wahrgenommen wird.

Bei der Betäubung mit 98,5 Vol.-% Helium (Restsauerstoffgehalt: 1,5 Vol.-%) über 180 Sekunden waren im Gegensatz zur Betäubung mit CO₂ keine aversiven Reaktionen bei Mastschweinen sowie Lautäußerungen während der Gasexposition feststellbar (n = 40 pro Gas; MACHTOLF et al., 2013a, MACHTOLF et al., 2013b).

Der Verlust des Standvermögens erfolgte im Anschluss an schwankende Bewegungen nach durchschnittlich 20s (CO₂: 16s). Die Dauer bis zum Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ist vergleichbar mit Betäubungsverfahren unter Einsatz von Argon (RAJ et al., 1999, TROEGER et al., 2003 zitiert nach MACHTOLF et al., 2013a). Während bei der Ausprägung der Exzitationen beim Vergleich der Helium- mit der Kohlendioxidbetäubung (90 %) keine signifikanten Unterschiede festgestellt wurden, wurden unter der Wirkung von Helium signifikant niedrigere Katecholamingehalte protokolliert (MACHTOLF et al., 2013b). Eine längere Gasexpositionszeit von 180 Sekunden erwies sich als ausreichend, um ein Wiedererwachen der Tiere bei 15-30 Sekunden Zeit zwischen Auswurf und Entblutung zu vermeiden.

Fleischbeschaffenheitsmängel in Form von Blutpunkten in der Muskulatur wie bei Argon konnten nach Betäubung von Schweinen mit Helium nicht festgestellt werden (MACHTOLF et al., 2013a, 2013b). Helium zeigte im Gegenteil einen eher positiven Einfluss auf die Fleischbeschaffenheit und wirkte einer Ausbildung von PSE-Fleisch (bei höheren pH-Werten 45 Minuten post mortem und niedrigeren Muskeltemperaturen in den jeweils untersuchten Teilstücken: *M. semimebranosus* und *M. longissimus dorsi*) entgegen (MACHTOLF et al., 2013a, 2013b). Werte hinsichtlich der Leitfähigkeit, des Grillverlusts, des Tropfsaftverlusts und der Farbhelligkeit 24 Stunden post mortem sind nach Helium- und Kohlendioxidbetäubung vergleichbar (MACHTOLF et al., 2013b). Unterschiede ergeben sich 48 Stunden post mortem bei der Fleischfarbe. Das Fleisch von heliumbetäubten Tieren ist zu diesem Zeitpunkt weniger blass und weist einen signifikant höheren Rotanteil auf (MACHTOLF et al., 2013a).

Demnach kann Helium nicht nur aufgrund seines positiven Einflusses auf die Fleischbeschaffenheit, sondern auch aus tierschutzfachlicher Sicht, ausgehend von ausbleibenden Abwehrreaktionen der Tiere während der Betäubung und Katecholaminen als blutgetragene Belastungsindikatoren, eine Alternative zur Betäubung mit Kohlendioxid darstellen (MACHTOLF et al., 2013a und b). In diesem Zusammenhang sind Zeitverzögerungen durch die notwendige längere Gasexposition im Vergleich zu Kohlendioxid zu berücksichtigen, um

eine Wiederkehr des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens sicher ausschließen zu können. Ein flächendeckender Einsatz von Helium zur Betäubung von Schlachtschweinen würde infolge seines gegenüber Luft leichteren Molgewichtes einen umfassenden und kostenintensiven Umbau der bestehenden Gasbetäubungsanlagen erfordern. Zuvor sollte Helium zunächst nur in einer dafür entwickelten Pilotanlage zur Betäubung von Schweinen in Gruppen eingesetzt werden, um die bisher noch ausstehenden Untersuchungen unter Feldbedingungen durchführen zu können. Bisher wurde es nur zur Betäubung von Einzeltieren erfolgreich eingesetzt.

Vor dem Hintergrund des großen und stetig ansteigenden Bedarfs an Helium v.a. in der Medizin und in der Industrie bei gleichzeitiger Ressourcenknappheit infolge des begrenzten Vorkommens von Helium auf der Erde (MACKOWIAK, 2011; DAMBECK, 2010), ist die Suche nach alternativen Gasbetäubungsverfahren weiterhin nicht abgeschlossen.

2.4.2.3 Stickstoff

Stickstoff ist anders als Argon und Helium kein Edelgas, aber ebenso wie diese ein Inertgas (sehr reaktionsträges Gas) und durch die EU VO (EG) Nr. 1099/2009 damit als Betäubungsgas zulässig. Stickstoff besitzt wie Helium und Argon keine atemstimulierende Wirkung. Auch in Hinblick auf die Verfügbarkeit und die ökonomischen Aspekte besitzt Stickstoff ein großes Potential als weitere Alternative zur Betäubung von Schlachtschweinen. Stickstoff ist zu fast 80 % in atmosphärischer Luft enthalten, sodass die Gewinnung im Vergleich zu beispielsweise Argon deutlich kostengünstiger ist (TROEGER et al., 2004a; RAJ et al., 2008; LLONCH et al., 2012b). Zusätzlich besitzt flüssiger Stickstoff eine bessere Expansionsfähigkeit als Kohlendioxid wenn es aus Gasflaschen bezogen wird (RAJ et al., 2008).

Aus der Literatur ist bekannt, dass hohe Konzentrationen reinen Stickstoffs zu einem schnellen und schmerzfreien Bewusstseinsverlust (HALDANE, 1922, Kapitel 6) innerhalb von 15 Sekunden führen können (ERNSTING, 1965). Gleichzeitig soll Stickstoff eine euphorische Wirkung entfalten können (ERNSTING, 1965).

Ebenso wie die Wirkung von Kohlendioxid, Argon oder Helium ist die Wirkung von Stickstoff innerhalb eines gewissen Zeitrahmens reversibel, sodass die Tiere ihr Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen zurück erlangen, wenn sie wieder atmosphärischer Luft ausgesetzt werden oder es anderweitig zur Zufuhr von Sauerstoff kommt (HALDANE, 1922, Kapitel 6; HALDANE and PRIESTLY, 1935 zitiert nach ERNSTING, 1965).

Tierversuche mit reinem gasförmigem Stickstoff in einer zur Betäubung erforderlichen hohen Konzentrationen (maximal 2 % Restsauerstoffgehalt) konnten im offenen System bisher nicht

durchgeführt werden. Der Grund hierfür ist, dass Stickstoff aufgrund seiner im Vergleich zu Luft geringeren relativen Dichte von 28,016 g/mol vs. 28,836 g/mol (BG RCI, 2015) in der Atmosphäre nicht stabil ist. Die Stabilität wird definiert als die Fähigkeit eines Gases, eine Sollkonzentration im offenen System (Grube) aufrechtzuerhalten, ohne durch Sauerstoff verdrängt zu werden (TROEGER et al., 2004b; DALMAU et al., 2010a, 2010b). Durch die Mischung mit CO₂ (relative Dichte 44,01 g/mol) wird die Stabilität des Gases in der Atmosphäre erhöht (DALMAU et al., 2010a), sodass es im offenen System verwendet werden kann. Durch die Mischung mit einem zweiten Gas lassen sich jedoch nur tendenzielle Aussagen über die Wirkung des Gases in Reinform machen.

In den Versuchen erwiesen sich Gemische aus Stickstoff und Kohlendioxid weniger aversiv als die alleinige Verwendung von Kohlendioxid (RAJ et al., 1997; DALMAU, 2010b; LLONCH, 2012a), das bei Konzentrationen > 30 % Aversion bei Schweinen verursacht (RAJ & GREGORY, 1995; VELARDE et al., 2007; DALMAU et al., 2010b; LLONCH et al., 2012a; LLONCH et al., 2012b). In einem Gasgemisch mit 85% Stickstoff und 15 % Kohlendioxid und einem Restsauerstoffgehalt < 2 % zeigte kein Tier Fluchtversuche und Atemnot (LLONCH et al., 2012a). Insbesondere durch das Schaffen einer anoxischen Atmosphäre (< 2 % Restsauerstoffgehalt) mit gleichzeitig hohen Stickstoffgehalten werden aversive Verhaltensweisen im Vergleich zur Betäubung mittels Kohlendioxid signifikant reduziert (LLONCH et al., 2013).

Bei gleicher Expositionsdauer ist die Einleitung der Betäubung unter Einsatz von Stickstoffgemischen im Vergleich zu Kohlendioxid länger und die Dauer der Bewusstlosigkeit verkürzt (LLONCH et al., 2012b; LLONCH et al., 2013). Im Anschluss an die Betäubung mittels N₂-Gasgemischen erfolgt eine schnellere Rückerlangung der Hirnstammaktivität als nach Betäubung mittels CO₂ bei jeweils vergleichbarer kortikaler Reaktivität (LLONCH et al., 2013). Da dem Cortex die Verarbeitung von Sinneswahrnehmungen und Bewusstsein zugeschrieben wird, führen N₂-Gasgemische zumindest kurzzeitig zu einer vergleichbaren Tiefe der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit wie nach einer Betäubung mit Kohlendioxid.

Die Dauer der muskulären Exzitation im Anschluss an die Betäubung in N₂-CO₂ Gasgemischen ist länger als nach Betäubung mittels 90 % CO₂ (LLONCH et al., 2012b; LLONCH et al., 2013). Die Konvulsionen werden durch die Hemmung der hinteren Hirnstammregion (ERNSTING, 1965) ausgelöst. Anoxie ist ein effizienterer Suppressor dieser Hirnregion als Hyperkapnie, was folglich zu einer längeren Periode von Exzitationen führt (RAJ et al., 1999).

Bei 25,5 % der mit einem N₂-Gasgemisch mit 70-85 % N₂ betäubten Tiere finden sich unerwünschte Blutpunkte in der Muskulatur, die aus dem Reißen oberflächlicher Gefäße durch starke Exzitationen resultieren. Keines der CO₂-betäubten Tiere aus der Vergleichsgruppe zeigte diese Blutpunkte in der Muskulatur (LLONCH et al., 2012b). Auch bei der Betäubung durch ein Gasgemisch aus Stickstoff und Argon treten mehr Blutpunkte auf, als bei den CO₂-Kontrolltieren (TROEGER et al., 2004b). Mit sinkendem Kohlendioxidanteil im Gasgemisch steigt der Anteil an Schlachtkörpern mit RSE-Fleisch bei gemessenem niedrigeren pH-Wert 45 Minuten post mortem im Vergleich zu 90 % Kohlendioxid. Dieses wird auf die bei Einsatz von Stickstoff-Kohlendioxid-Gemischen verlängerte Phase der muskulären Exzitationen zurückgeführt (LLONCH et al., 2012b).

Ein im Vergleich zur Betäubung mit Kohlendioxid niedrigerer pH-Wert 45 Minuten post mortem im Musculus (M.) semimembranosus (LLONCH et al., 2012b) und im M. longissimus thoracis (M. Longissimus thoracis) (LLONCH et al., 2012b) nach Betäubung mit N₂-Gasgemischen (TROEGER et al., 2004b; LLONCH et al., 2012b), sowie eine signifikant erhöhte Leitfähigkeit im M. semimembranosus (LLONCH et al., 2012b) deuten darauf hin, dass bei der Betäubung mittels Stickstoff eine geringere Fleischqualität zu erwarten ist als nach der Betäubung mit Kohlendioxid. Diese Tendenz unterstützend wurde bei der Betäubung durch ein Gasgemisch aus Stickstoff und Argon ebenfalls eine höhere Leitfähigkeit nachgewiesen (TROEGER et al., 2004b). Die elektrische Leitfähigkeit im M. longissimus thoracis und der Tropfsaftverlust sind nach der Betäubung mit N₂-Gasgemischen nur geringfügig höher (LLONCH et al., 2012b). Die absoluten Medianwerte (keine Signifikanzen angegeben) der Leitfähigkeitsmessungen von TROEGER et al. (2004b) zeigen den gleichen Zusammenhang auf. Dagegen sprechen die signifikant erniedrigten Schinkenkerntemperaturen nach einer Betäubung mit einem Gemisch aus Stickstoff und Argon im Vergleich zu der Betäubung mit CO₂, Argon oder einem CO₂-Argon-Gemisch (TROEGER et al., 2004b). Niedrige Stichblut- und damit Körperkerntemperaturen wirken sich prinzipiell positiv, auch in Bezug auf den PSE-Fleischanteil, aus (TROEGER et al., 2003b). Die Stichbluttemperaturen nach der Betäubung mit einem Stickstoff- Argon- Gemisch sind vergleichbar mit denen nach CO₂-Betäubung (TROEGER et al., 2003b). Auch der pH-Wert 24 Stunden post mortem ist nahezu identisch (TROEGER et al., 2004b) oder geringer (LLONCH et al., 2012b). Die Fleischfarbe ist nach der Beurteilung mit dem CIEL*a*b* System mit anderen Gasbetäubungsverfahren vergleichbar (LLONCH et al., 2012b).

Trotz der längeren Dauer bis zum Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit und der verkürzten Dauer der Bewusstlosigkeit bei Stickstoffgemischen im Vergleich zu Kohlen-

dioxid in hohen Konzentrationen sowie einer akzeptablen Fleischbeschaffenheit kann eine Betäubung mit Stickstoff bei einem Restsauerstoffgehalt von $< 2\%$ aufgrund der fehlenden aversiven Reaktionen zu einer Reduzierung der Tiere bei Einleitung der Betäubung beitragen und eine tierschutzgerechtere Alternative darstellen.

Nachfolgend ist der derzeitige Kenntnisstand über die Dauer bis zum Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bei verschiedenen Gasgemischen in unterschiedlichen Studien und das zur Definition verwendete Kriterium tabellarisch zusammengefasst (Tabelle 2.3).

Tabelle 2.3: Kriterien für die Betäubung mit unterschiedlichen Gasen/Gasmischungen

Gas	Verlust Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen (Sekunden)	Bewertungskriterium	Mindestaufenthaltsdauer/ Verweildauer (Sekunden)	"stun-to-stick"- Intervall (Sekunden)
90% Kohlendioxid	15 ⁽⁴⁾	Verlust Standvermögen ⁽⁴⁾	100 ⁽⁵⁾	20 ⁽⁵⁾
	16-36 ⁽⁶⁾	Verlust von SEP ⁽⁶⁾		
90% Argon	Ca. 20 ⁽¹⁾	Verlust Standvermögen ⁽¹⁾	120 ⁽³⁾	
	9-21 ⁽⁷⁾	Verlust von SEP ⁽⁷⁾		
30% CO₂ in Argon	11-20 ⁽⁷⁾	Verlust von SEP ⁽⁷⁾		
Helium	20 ⁽¹⁾	Verlust Standvermögen ⁽¹⁾	180 ⁽²⁾	15-30 ⁽²⁾
Stickstoff	Länger als mit CO₂ ⁽⁸⁾			

(1) Raj et al., 1999, Troeger et al., 2003 zitiert nach Machtolf et al., 2013

(2) Machtolf et al., 2013b

(3) Llonche t al., 2012b; Troeger et al., 2004a; Machold et al., 2003b; Raj&Gregory, 1996

(4) Raj & Gregory, 1996

(5) EU VO EG (Nr.) 1099/2009

(6) Raj&Gregory, 1997

(7) Raj et al., 1997

(8) Llonch et al., 2012b; Llonch et al., 2013)

2.4.2.3.1 Betäubung mit hochexpansivem, Stickstoff- gefülltem Schaum (Geflügel)

Der Einsatz von Stickstoff ist wie erwähnt aufgrund seines mit atmosphärischer Luft nahezu identischen Molgewichts in den zur Betäubung erforderlichen hohen Konzentrationen im offenen System nicht möglich (LLONCH et al., 2012b). Zur unmittelbaren Bereitstellung von Stickstoff in hohen Konzentrationen am Tier kann jedoch ein neues Verfahren unter Einsatz eines hochexpansiven und mit Stickstoff gefüllten Schaums (Expansionsrate $> 1:350$) angewendet werden. Die Wirksamkeit dieses Verfahrens wurde für Geflügel bereits nachgewiesen (RAJ et al., 2008; MCKEEGAN et al., 2013). Die Datensätze von zwölf Hennen und zehn Broilern, betäubt mit Stickstoffschaum (Restsauerstoffs im Schaum unter 1 %), zeigten in den Versuchen von MCKEEGAN (2013) einen Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nach 30 bzw. 18 Sekunden. Bei Betäubung von acht Broilern, neun Enten und zehn Putenvögeln in CO₂-gefülltem, hochexpansivem Schaum erfolgte der Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit mit 16, einer und 15 Sekunden (MCKEEGAN, 2013) schneller als bei den mit Stickstoffschaum betäubten Tieren. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass der direkte Vergleich der Ergebnisse nur bedingt möglich ist, da zum Teil verschiedene Vogelarten für die beiden Versuchsgruppen verwendet wurden. Lediglich die Betäubung der Broiler mit Stickstoff- und Kohlendioxid-gefülltem Schaum ist vergleichbar und unterliegt mit zwei Sekunden Differenz keinen großen Abweichungen. Der Hirntod, im EEG repräsentiert durch das Erscheinen der isoelektrischen Linie, trat bei Hennen im Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum im Mittel nach 65 Sekunden ein, bei Broilern nach 47 Sekunden (MCKEEGAN et al., 2013). Bei durch CO₂-Schaum betäubten Broilern trat der Hirntod durchschnittlich nach 66 Sekunden ein, bei Enten nach 58 Sekunden und bei Puten nach 60 Sekunden (MCKEEGAN et al., 2013). Im Vergleich zur Betäubung mit CO₂-gefülltem Schaum ist mit diesem Verfahren für Broiler eine deutlich kürzere Zeitspanne bis zum Verlust der Hirnaktivität erwiesen. Das transitionale Übergangsstadium (Übergangsbereich zwischen wach und bewusstlos im EEG) sowie aversive Reaktionen der Tiere wurden im Gegensatz zur Betäubung mit hochexpansivem Stickstoffschaum bei der Betäubung mit hochexpansivem CO₂-Schaum bereits erreicht, bevor die Tiere mit Schaum bedeckt waren (GERRITZEN & SPARREY, 2008; MCKEEGAN et al., 2013). Als Grund hierfür wurde angenommen, dass das anästhetisierend wirkende Kohlendioxidgas teilweise nicht in Schaumblasen eingeschlossen wurde und aus den Düsen in die unmittelbare Umgebung des Tieres entwich. Die Zeit bis zum Eintritt des Hirntodes ist bei den verschiedenen Spezies und eingesetzten Gasen zeitlich jedoch nicht entscheidend (MCKEEGAN et al., 2013). Im Gegensatz zum CO₂-Schaum traten bei der Betäubung mit

Stickstoff- gefülltem Schaum keine aversiven Verhaltensweisen in Form von Schnappatmung und vermehrtem Kopfschlagen vor Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit auf. Flügelschlagen als Anzeichen beginnender Exzitationen trat ein, kurz nachdem die Tiere ihr Standvermögen verloren hatten (MCKEEGAN et al., 2013). Es trat jedoch wie der Verlust des Standvermögens vor Eintritt der mittels EEG verifizierten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit auf (MCKEEGAN et al., 2013).

Bei Anwendung des Kohlendioxid-gefüllten Schaums traten Flügelschlagen und der Verlust des Standvermögens hingegen erst nach der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit auf, während Schnappatmung und verstärktes Kopfschlagen bereits während der Einleitungsphase der Betäubung als Belastungsanzeichen bei den Tieren erkennbar waren. Das Vorliegen von freiem Kohlendioxid um den Schaum ist daher entsprechend MCKEEGAN et al. (2013) aus tierschutzfachlicher Sicht kritisch zu bewerten. Stattdessen verweisen die Autoren als möglicherweise tierschutzgerechtere Alternative zu CO₂-Schäumen auf die Verwendung von Inertgasen (MCKEEGAN et al., 2013). Auch die Tiere einer Kontrollgruppe, die luftgefülltem Schaum ausgesetzt waren, zeigten einen Anstieg der Herzfrequenz nach Bedeckung, was die Autoren als unangenehme Situation für das Einzeltier bewerteten (MCKEEGAN et al., 2013). MCKEEGAN et al. (2013) verweisen auf die Notwendigkeit bestimmter Schaumeigenschaften und der Evaluierung von Tierreaktionen für eine tierschutzgerechte Betäubung mit gasgefüllten Schäumen. Als relevante Schaumeigenschaften werden Expansionsraten > 1:250 (nach GERRITZEN & SPARREY, 2008 > 1:200), Surfactant Typ, Schaumtemperatur, Flussgeschwindigkeit, sowie Blasendurchmesser und Blasenzusammensetzung genannt. Während der Schaumeinleitung ist die initiale Reaktion der Tiere auf das fremde Gas zu überprüfen, sowie die Gefahr der Inhalation abzuschätzen.

Von diesem Betäubungsverfahren unter Anwendung von gasgefüllten hochexpansiven Schäumen abzugrenzen sind für Bestandstötungen in den USA angewandte luftgefüllte Feuerlöschschäume, die eine Tötung der Tiere durch Verlegung der Luftwege mit folgender Hypoxie erzeugen und in Hinblick auf den Tierschutz als höchst bedenklich einzustufen sind (DAWSON et al., 2006; BENSON et al., 2007; RAJ et al., 2008; BENSON et al., 2009; SPARREY et al., 2012; MCKEEGAN et al., 2013). Diese Feuerlöschschäume haben meist mittlere Expansionsraten von 25:1 bis 140:1 (MCKEEGAN et al., 2013). Des Weiteren sind sie luftgefüllt und haben daher keine eigenständige Betäubungswirkung. ALPHIN et al. (2010) verweisen darauf, dass die anoxische Wirkung des hochexpansiven, mit Stickstoff gefüllten Schaumes darüber hinaus zu einem schnelleren Hirntod als die Betäubung mit Schäumen geringerer Expansionsraten führt.

2.5 Fleischqualität

Der zentrale Energieträger von Stoffwechselprozessen ist ATP (Adenosintriphosphat) als zentrales Produkt des Citratzykluses (HONIKEL & KIM, 1986; BINKE, 2003; FISCHER, 2007). Nach Aufnahme von energiereichen Nährstoffen entsteht Acetyl-CoA, welches in den Citratzyklus eingeschleust und zu CO₂ und seinen Reduktionsäquivalenten Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) oder Flavin-Adenin-Dinukleotid (FADH₂) abgebaut wird (BINKE, 2003). ATP ist verantwortlich für die Verschiebung der Aktin- und Myosinfilamente in der Muskulatur und ermöglicht die Bewegung der angeregten Muskelgruppen. Bei Unterbrechung des Blutflusses kann ATP nur noch mittels Glykolyse unter anaeroben Bedingungen über Pyruvat zu Laktat metabolisiert werden. Die dabei entstehende Milchsäure (Laktat + H⁺) wird unter normalen Bedingungen in die Leber transportiert und zu Glukose umgewandelt (BINKE, 2003). Dies ist nach der Entblutung des Tieres nicht mehr möglich, was zu einer ansteigenden Milchsäurekonzentrationen mit verbundenem pH-Wert-Abfall im Muskel führt (BINKE, 2003). Durch das Fehlen von ATP sistiert gleichzeitig die Bewegung der Aktin- und Myosinfilamente dauerhaft (BINKE, 2003), es bildet sich ein irreversibler Aktomyosinkomplex (HONIKEL, 2000) und es kommt zum Einsetzen der Totenstarre.

2.5.1 pH-Wert

Auf das Tier vor der Schlachtung einwirkende Belastungen haben Auswirkungen auf die Fleischbeschaffenheit. Stress unmittelbar vor der Schlachtung führt zu frühpostmortalem Temperatur- und pH-Wert-Abfall (WARRIS et al., 1994; CHANNON et al. 2003; HAMBRECHT et al., 2004). Dadurch kann sich die Haltbarkeit des Fleischerzeugnisses maßgeblich verringern. Stark erniedrigte pH-Werte 45 Minuten post mortem sind ein Kriterium für PSE-Fleisch.

In der aktuellen Allgemeinen Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung der Einhaltung von Hygienevorschriften für Lebensmittel (AVV LmH, Anlage 4, Nr. 4) sind folgende Grenzwerte für PSE- und DFD-Fleisch angegeben (Tabelle 2.4):

Tabelle 2.4 Ergebnisse und Bewertung

a.) normale Säuerung

	M. semimembranosus	M. longissimus dorsi
pH ₄₅	> 5,8	> 5,6
pH ₂₄	< 6,2	

b.) beschleunigte Glykolyse (PSE-Fleisch)

	M. semimembranosus	M. longissimus dorsi
pH ₄₅	5,8 oder niedriger	5,6 oder niedriger

c.) verzögerte oder unvollständige Glykolyse (DFD-Fleisch)

	M. semimembranosus	M. longissimus dorsi
pH ₂₄	6,2 oder höher	

Starke Muskelkontraktionen haben einen nachteiligen Effekt auf die Fleischbeschaffenheit. Eine starke Beanspruchung der Muskulatur führt zu Sauerstoffmangel im Gewebe und damit zur Bildung von Milchsäure (Laktat und H⁺- Ionen), die einen stärkeren pH-Wert-Abfall bewirkt (BINKE, 2003) und damit zur Entstehung von PSE-Fleisch führen kann.

2.5.2 Muskelkerntemperatur

Auch die Muskelkerntemperaturen spielen bei der Entwicklung von PSE-Fleisch eine entscheidende Rolle (HONIKEL & KIM, 1985). Je höher die Muskeltemperaturen, umso wahrscheinlicher ist die Entstehung von PSE-Fleisch (HONIKEL & KIM, 1986; MONIN et al., 1995; ADZITEY und NURUL, 2011; HAMBRECHT et al., 2005). TROEGER et al. (2003) fanden niedrigere Muskelkerntemperaturen nach Kohlendioxidbetäubung (Median: 40,0°C) als nach Argonbetäubung (Median: 40,2 °C) vor. Insgesamt bewirken längere Gasexpositionszeiten auch eine Erhöhung der Muskelkern- und Stichbluttemperatur (TROEGER et al., 2003).

2.5.3 Leitfähigkeit

Postmortale Prozesse wie Glykolyse, pH-Wert-Absenkung, Proteindenaturierung sowie die Zerstörung von Zellmembranen führen zu einem vermehrten Austausch von inter- und intrazellulärer Flüssigkeit. Durch die damit einhergehende Zunahme an freien Ladungsträgern im Fleisch erhöht sich die Leitfähigkeit (LF). Die SI-Einheit für Leitfähigkeit ist Millisiemens/Zentimeter (mS/cm). Je höher die gemessenen Werte einer Fleischprobe sind, desto schlechter ist die Fleischqualität zu bewerten.

MÖHRLEIN et al. (2007a), MÖHRLEIN et al. (2007b) und ALTMANN et al. (2005) definierten folgende, nicht verbindliche LF-Werte für das Schwein (Tabelle 2.5):

Tabelle 2.5 Leitfähigkeitswerte

	physiologisch	Verdacht auf krankhafte Abweichung	PSE
LF ₂₄	< 5mS/cm	5-7 mS/cm	>7 mS/cm

HONIKEL (2007) nimmt einen Grenzwert für PSE-Fleisch von > 8ms/cm (LF₂₄) an. ALTMANN et al. (2005), FISCHER et al. (2007) und MÖHRLEIN et al. (2007a) berichten, dass die elektrische Leitfähigkeit 24 Stunden p.m. höher ist, je größer das Schlachtgewicht war. Mit zunehmendem Gewicht und Alter nehmen die Muskelfasern an Durchmesser zu, während ihre Anzahl sinkt. Dadurch stehen pro cm weniger Muskelzellen als elektrischer Isolator zur Verfügung (MÖHRLEIN et al., 2007a). Zusätzlich bleiben schwere Schlachtkörper länger warm als leichte, was ebenfalls für erhöhte Leitfähigkeitsmesswerte bei schweren Schlachtkörpern ausschlaggebend sein könnte (MÖHRLEIN et al., 2007a).

2.5.4 Wasserbindung

Das Wasserbindungsvermögen eines Fleischstückes gibt Aufschluss über mögliche Qualitätsminderungen des Produktes. Das Wasserbindungsvermögen lässt sich allgemein definieren als die Fähigkeit des Fleisches, Wasser bei der weiteren Bearbeitung des Teilstücks ganz oder teilweise zu binden (HONIKEL, 1987). Durch postmortale Prozesse, insbesondere bei hohen Muskelkerntemperaturen kommt es im Muskel zur Akkumulation von Laktat, einem darauffolgenden pH-Wert Abfall und zu Proteindenaturierungen mit der Folge von Muskelzellzerstörung (HONIKEL & KIM, 1985). Die zerstörten Muskelmembranen führen zu einer erhöhten Lichtreflexion (hoher L-Wert), einer verringerten Wasserbindung und

einem erhöhten Gewichtsverlust bei der folgenden Lagerung und Verarbeitung (WARRIS et al., 1998; FISCHER, 2007). Verschiebt sich der pH-Wert in Richtung des isoelektrischen Punktes ($\text{pH}_{\text{iso}} = 5,0$) der Muskelproteine, ist die Wasserbindung am geringsten (HAMM, 1981). DFD-Fleisch besitzt im Gegensatz zu PSE-Fleisch eine gute Wasserbindungskapazität aufgrund der größeren Distanz zwischen dem pH-Wert und dem isoelektrischen Punkt der Proteine (FISCHER, 2007). Bei höheren, für DFD-Fleisch typischen pH-Werten besitzen die NH_2 -Gruppen keine positiven Ladungen (NH_3^+). Dadurch ist die Anziehung zwischen den Proteinen geringer und mehr Wasser kann eingelagert werden (HONIKEL, 1986). Prämortaler Stress (z.B. Transport, im Wartestall, beim Zutrieb zur Betäubung) kann zu einer verstärkten Glykolyse und einem verstärkten pH-Wert-Abfall, sowie der Bildung von PSE-Fleisch führen (FISCHER, 2007). Darüber hinaus kann es durch starke Muskelkontraktionen zum Reißen von Muskelfaserbündeln und damit zu einer verringerten Wasserbindungskapazität kommen (FISCHER, 2007).

Mit einem definierten Druckverfahren wie dem Braunschweiger Gerät (Abbildung 2.4) wird die ausgetretene Gewebeflüssigkeit mit standardisiertem Filterpapier aufgefangen und festgestellt.



Abbildung 2.4 Braunschweiger Gerät mit Wasserbindungsprobe

Eine geringe Wasserbindung ist durch eine große auspressbare Flüssigkeitsmenge nachweisbar. Zusätzlich kann diese Methode über eine Rotfärbung der ausgetretenen Flüssigkeit Hinweise auf einen schlechten Ausblutungsgrad geben.

Entsprechend der AVV LmH (Anlage 4, Nr.5) gelten folgende Kriterien für die Bestimmung der Wasserbindungsfähigkeit (Tabelle 2.6):

Tabelle 2.6 Wasserbindungsvermögen

auspressbares Gewebewasser	Q ₁	Q ₂₄
hochgradig erhöht	0,4 oder kleiner	0,35 oder kleiner
mäßig erhöht	0,5 oder kleiner	0,4 oder kleiner
mäßig reduziert	0,64 oder höher	0,64 oder höher
hochgradig reduziert	0,72 oder höher	0,72 oder höher

2.5.5 Tropfsaftverlust

Wie die Leitfähigkeit und die Wasserbindung bzw. das auspressbare Gewebewasser einer Fleischprobe gibt der Tropfsaftverlust Aufschluss über die Fähigkeit der untersuchten Probe, die enthaltene Flüssigkeit zu binden. Der Tropfsaftverlust steht in Zusammenhang mit einer möglicherweise erfolgten Proteindenaturierung und Zerstörung der Zellstrukturen. Bei der Flüssigkeit, durch deren Verlust das Fleisch an Gewicht verliert, handelt es sich um Wasser und Proteine, die alleine durch die Schwerkraft, also ohne mechanische Einwirkung austritt (FISCHER, 2007). Der Autor beschreibt, dass der wirtschaftliche Schaden pro % Gewichtsverlust im Lachs bei insgesamt 19,8 Millionen Euro pro Jahr liegt. Die Höhe des Tropfsaftverlustes ist von der Dauer des Abhängens, von der Muskelkern- und Umgebungstemperatur, von der Art und Weise der Verpackung, von der Dicke des Fleischstückes sowie vom Schlachtgewicht und der Genetik abhängig. Je länger die Probe hängen gelassen wird, desto mehr Flüssigkeit tritt aus, wobei Temperaturschwankungen, insbesondere aber warme Temperaturen (Idealtemperatur 1-5 °C) den Flüssigkeitsaustritt begünstigen (HONIKEL, 2000; FISCHER, 2007) und Zeit und Flüssigkeitsaustritt in keinem linearen Verhältnis stehen (FISCHER, 2007). Eine geschlossene Verpackung reduziert Schwankungen des Mikroklimas und damit auch den Tropfsaftverlust, während der Kontakt zwischen Verpackung und Fleisch durch mechanische Einwirkung eine Steigerung des Tropfsaftverlustes zur Folge hat (FISCHER, 2007). Da dünne Fleischstücke aufgrund ihrer größeren Oberfläche im Verhältnis zum Gewicht mehr Flüssigkeit verlieren als dicke Stücke (HONIKEL, 2000; FISCHER, 2007), wurde eine Standarddicke von 2-2,5cm zur Bestimmung des Tropfsaftverlustes festgelegt (HONIKEL, 1998). Bei der Entnahme sollte das Fleischstück stets mit einem scharfen Messer entnommen werden, um den mechanischen Druck bei der Entnahme so gering wie möglich zu halten. Auf eine parallele oder senkrechte Schnittführung zur Faserrichtung sollte

geachtet werden (HONIKEL, 2000). Geringfügige Schwankungen des Tropfsaftverlustes werden einer genetischen Komponente zugeschrieben. Das Fleisch von Duroc-Hybriden soll dabei einen besonders geringen Tropfsaftverlust aufweisen (ARMERO et al., 1999; BLANCHARD et al., 1999; JEREMIAH et al., 1999). Darüber hinaus stellten RAUW et al. (2003) und MÖHRLEIN et al. (2007b) fest, dass das Fleisch von Duroc-Hybriden die geringsten Leitfähigkeitswerte 24 Stunden p.m. entwickelt. Bezogen auf die einzelnen Fleischbeschaffenheitsparameter eignet sich die Leitfähigkeit am besten, um den Tropfsaftverlust eines Teilstücks vorherzusagen (MÖHRLEIN et al., 2000b und MÖHRLEIN et al., 2007a). Korrelationen zwischen Tropfsaftverlust und der Helligkeit und Gelbheit des Fleisches (L^* -Wert; b^* -Wert) sind zwar geringer, aber dennoch eindeutig vorhanden (MÖHRLEIN et al., 2007a). Äquivalent zu den Zusammenhängen bei der Leitfähigkeitsmessung 24 Stunden p.m. besteht eine positive Korrelation zwischen dem Schlachtgewicht und dem Tropfsaftverlust (FISCHER et al., 2006).

Die Berechnung des Tropfsaftverlustes erfolgt standardgemäß als prozentuale Angabe ausgehend vom Ursprungsgewicht der eingewogenen Fleischprobe (HONIKEL, 2000). MÖHRLEIN et al. (2007a) und MÖHRLEIN et al. (2007b) gehen in ihren Untersuchungen davon aus, dass 7-9 % Gewichtsverlust einer Fleischprobe 48 Stunden p.m. einen Indikator für PSE-Fleisch darstellt. Bei Anwendung des höheren Grenzwertes (9 %) fielen 14,5 % Fleischproben der Studie in diese Kategorie. Bei Herabsetzung des Grenzwertes auf 7 % Tropfsaftverlust stieg die Zahl der betroffenen Fleischproben um mehr als das Doppelte (MÖHRLEIN et al., 2000b; MÖHRLEIN et al., 2007a).

2.5.6 Fleischfarbe

Durch die Farbmessung an Frischfleisch mittels Farbmessgeräten können Qualitätsabweichungen objektiv beschrieben und erfasst werden (KLETTNER & STIEBING, 1980). Die größten Einflussfaktoren bei der Farbgebung eines Fleischstücks sind der Gehalt des Pigments Myoglobin, der von der Spezies, der Rasse, der Muskellokalisation, der Fütterung, dem Alter, durch Belastungen der Tiere vor der Schlachtung, von der Geschwindigkeit der Abkühlung der Schlachtkörper und dem Zugang zu Sauerstoff bei der Lagerung beeinflusst werden kann. Letzteres ist mit einer Oxidation des Myoglobins verbunden (HONIKEL, 2000).

Verschiedene Lichtfarben können den Farbeindruck einer Körperfarbe, d.h. eines Objektes, verändern. Demnach kann unterschiedliches Tageslicht auch bei Fleisch und Fleischerzeugnissen einen variierenden Eindruck erzeugen. Aus diesem Grund wurden von

der Internationalen Beleuchtungskommission (Abk. CIE = frz. Commission Internationale de l'Éclairage) verschiedene Lichtarten für den Einsatz bei Messungen genormt (KLETTNER & STIEBING, 1980). Häufig wird mit der Normlichtart D65 gearbeitet. Sie enthält eine ähnliche Farbtemperatur von rund 6500 K wie natürliches Tageslicht und enthält einen entsprechenden UV-Anteil (KLETTNER & STIEBING, 1980). Beleuchtungs- und Beobachtungswinkel sind ebenso ausschlaggebend für die Wahrnehmung einer Farbe (KLETTNER & STIEBING, 1980). Entsprechend sollen Farbmessungen in einem Beobachtungswinkel von 10° vorgenommen werden, was dem Gesichtsfeld des Normalbeobachters entspricht (KLETTNER & STIEBING, 1980).

Normfarbwerte können im sogenannten Norm-Farbdreieck anhand von Koordinaten genau beschrieben werden. Die CIE entwickelte daraus die Farbmaßzahlen L^* , a^* und b^* , die durch Formeln aus den Normfarbwerten berechnet werden können und durch die jede Farbe eindeutig bestimmbar ist (KLETTNER & STIEBING, 1980).

Entsprechend werden die Farbtöne zwischen rot ($+a^*$) und grün ($-a^*$) auf der a-Achse und die Farben zwischen gelb ($+b^*$) und blau ($-b^*$) auf der b-Achse dargestellt. Je positiver ein Wert wird, umso größer wird die Sättigung der jeweiligen Farbe. Die Lumineszenz (0-100) liegt auf der L-Achse. Das ideale Schwarz hat die Helligkeit Null, da 100 % des auf eine schwarze Körperfarbe auftreffenden Lichts absorbiert wird, wohingegen das ideale Weiß 100 % des auftreffenden Lichts reflektiert und ihm daher die Helligkeit 100 zugeschrieben wird (KLETTNER & STIEBING, 1980). Im Mittelpunkt liegen Grautöne. Nehmen L^* , a^* und b^* -Werte allesamt zu, so wird die Probe heller, röter und gelber (KLETTNER & STIEBING, 1980).

Die Farbmessung ist nicht verbindlich in der AVV Lebensmittelhygiene beschrieben. Bei der Farbmessung handelt es sich um ein sehr sensibles Messverfahren, bei dem bereits geringe Schwankungen der Einflussfaktoren zu unterschiedlichen Messergebnissen führen können (HONIKEL, 2000). Auch das verwendete Messgerät hat dabei einen entscheidenden Einfluss. Daher sollten für einen direkten Vergleich nur Ergebnisse verglichen werden, die mit einem bau- und typgleichen Messgerät erhoben wurden (HONIKEL, 2000).

Das Messverfahren und die Bewertung der Ergebnisse sind nicht standardisiert und hier entsprechend den Ergebnissen von GARRIDO und HONIKEL, (1995) dargestellt (Tabelle 2.7).

Tabelle 2.7 Grenzwerte Fleischfarbea.) Messung **1 Stunde post mortem** im M. longissimus dorsi

	physiologisch	PSE
L*	< 45	> 52
b*	< 4,1	> 4,1

b.) Messung **24 Stunden post mortem** im M. longissimus dorsi

	physiologisch	PSE
L*	< 56	>56
b*	< 5,0	>5,0

FELDHUSEN et al. (1987) und MUSSMANN et al. (1994) kamen zu einem mit GARRIDO und HONIKEL (1995) vergleichbaren Ergebnis. Sie stellten fest, dass L*- Werte 24 h p.m. > 56 im M. longissimus dorsi und M. semimembranosus, sowie b*- Werte > 4,3 (MUSSMANN et al., 1994) als Grenzwert für PSE-Fleisch angesehen werden können. MUSSMANN et al. (2004) beurteilten Fleisch mit einem L*- Wert < 51 mit gut, während Werte von 51-56 für indifferente Qualität sprachen.

Eine reduzierte Fleischbeschaffenheit z.B. bei elektrisch betäubten Tieren im Vergleich zu CO₂- betäubten Tieren kann sich in erhöhten L*- und b*- Werten widerspiegeln (VELARDE et al., 2000a). Ursache für die erhöhten L*- und b*- Werte bei PSE- verdächtigen Tieren sind stärkere Lichtreflexionen durch einen hohen Anteil ungebundenen Wassers, der durch niedrigere pH- Werte und eine erniedrigte Wasserbindungsfähigkeit bedingt ist. Das Fleisch wirkt heller und blasser.

Der a*- Wert einer Fleischprobe gibt Auskunft über den Reduktionszustand des Myoglobins (POTTHAST, 1987; SEIDEMAN et al., 1984). Unmittelbar nach der Schlachtung sind die Myofibrillen dicht gepackt und das Myoglobin liegt in reduzierter Form vor (FELDHUSEN, 1994). Dieses reduzierte Myoglobin erscheint für den Normalbetrachter purpurrot. Nach Anschnitt des Fleisches und Kontakt mit Luftsauerstoff erfolgt eine schnelle Oxygenierung des Sauerstoffspeichers der Muskulatur und die Farbe verblasst (POTTHAST, 1987).

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die vorliegende Arbeit sollte im Rahmen einer Orientierungsstudie klären, ob die Betäubung von Schlachtschweinen mit einem hochexpansiven, Stickstoff-gefüllten Schaum eine tier-schutzgerechte Alternative zur CO₂-Betäubung darstellt und mit einer geringeren Zeit bis zum Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bzw. ohne Auftreten von aversiven Reaktionen einhergeht.

Das im Folgenden dargestellte Ablaufschema zeigt das Vorgehen bei den Betäubungsversuchen (Abbildung 3.1).

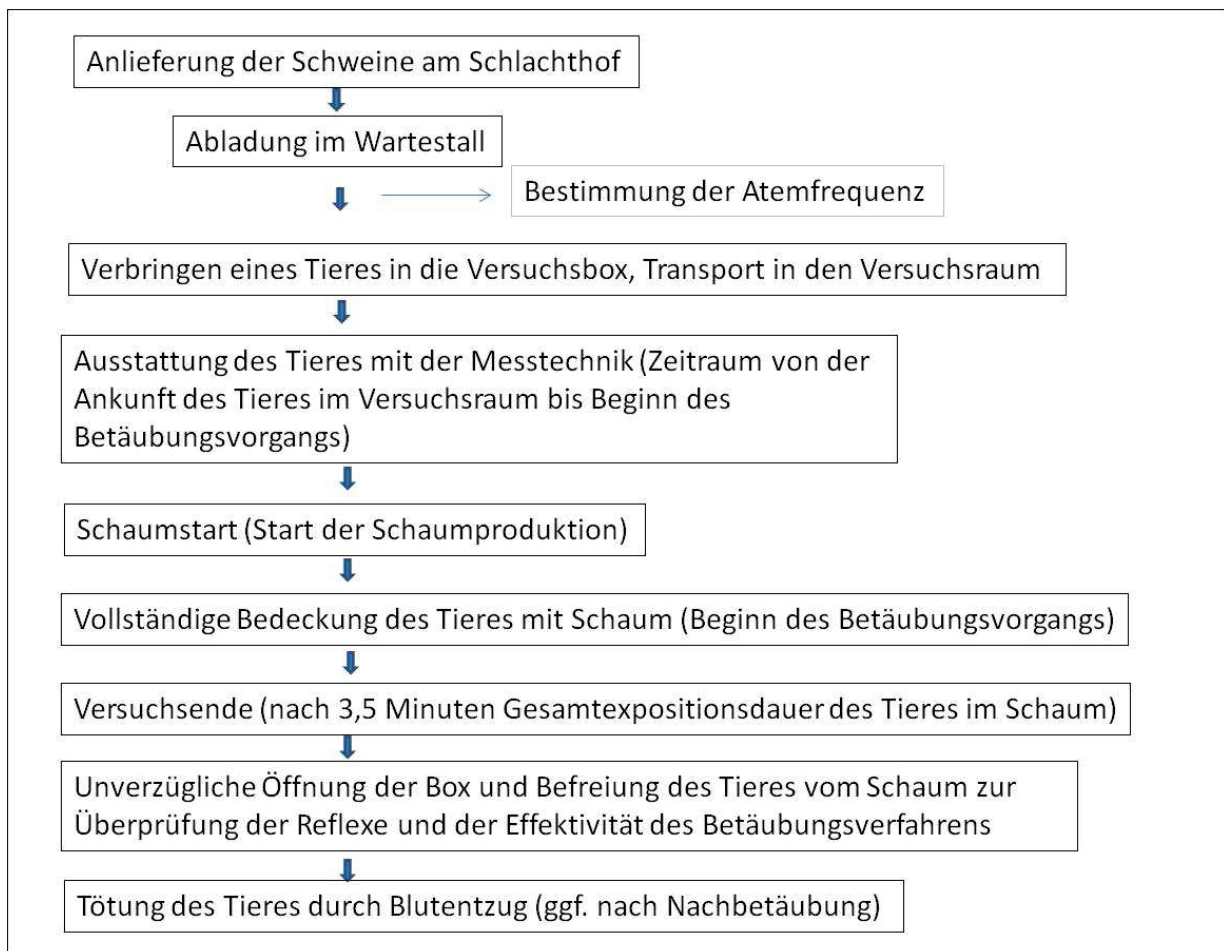


Abbildung 3.1 Ablaufschema für die Betäubungsversuche mit einem Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum

Zur Beurteilung des Tierwohls und zur Beurteilung der Betäubungsqualität wurde das Tier mit Sensoren zur Kontrolle verschiedener tierbasierter Parameter ausgestattet (EEG, EKG, transkutane Blutgasanalyse (nicht immer erfolgreich), Respirationsmodul, Beschleunigungssensoren, Sensoren zur Messung der Körperinnentemperatur) (Abbildung 3.2).

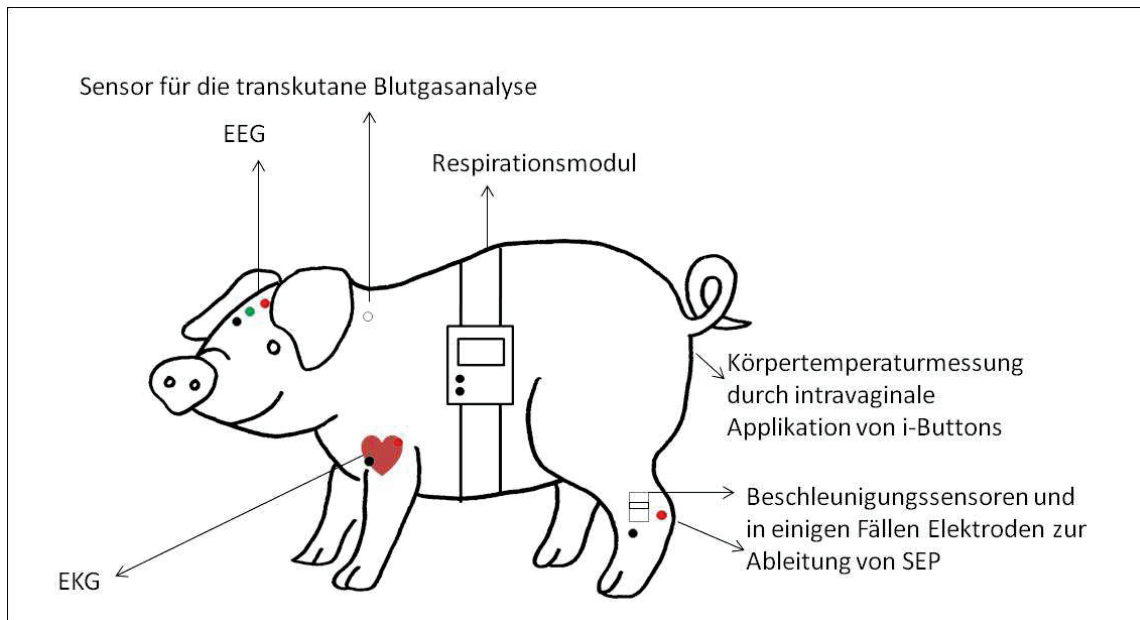


Abbildung 3.2 Schematische Darstellung der Ausstattung des Tieres mit Messtechnik

3.1.1 Versuchstiere

Es wurden 40 weibliche Mastschweine der Genetik DanZucht (Sau: Dänische Landrasse oder Dänische Yorkshire) x Duroc (Eber) mit einem Lebendgewicht von 120-130 kg (Alter: 6-7 Monate) in der vorliegenden Studie eingesetzt. Die Tiere stammten aus sieben konventionellen Mastbetrieben. In sechs Betrieben wurden die Tiere auf Vollspalten in Gruppen zu je 10 bis 14 Tieren getrennt sowie nicht getrennt-geschlechtlich gehalten. Die Fütterung erfolgte per Breiautomat mit Eigenmischer und Zukaufsfutter mit Beimischung von Fortius® Herba Intest (Fa. Fortius® in Europe GmbH, Wagenfeld). Im siebten Versuchsbetrieb wurden die Tiere in größeren Gruppen zu je 35 Tieren bei Flüssigfütterung (Zukaufsfutter) gehalten.

Die Tiere wurden an den Versuchstagen zwischen 6:30 Uhr und 9:00 Uhr durch den gleichen Zulieferer angeliefert. Bis Versuchsbeginn hatten sie eine Wartezeit von einer bis zu maximal sieben Stunden. Diese längeren Wartezeiten waren bei einzelnen wenigen Tieren durch Pausen aufgrund technischer Schwierigkeiten an der Pilotanlage zur Erzeugung des gas-

gefüllten Schaums bedingt. Die Ausstattung der Tiere mit der Messtechnik erfolgte direkt in der Betäubungsbox im Versuchsraum und dauerte im Median 40,5 Minuten (n = 40).

3.1.2 Versuchsaufbau

Die Versuchsgruppe zur Betäubung mittels eines hochexpandierenden, Stickstoff-gefüllten Schaums bestand aus 40 Schlachtschweinen. Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines "Proof of Concepts" (EFSA, 2013) als Orientierungsstudie/Machbarkeitsstudie durchgeführt. Im Verlauf der Machbarkeitsstudie mussten technische Anpassungen an der Anlage vorgenommen werden. Dadurch sollte eine optimale Grundlage für die Planung weiterer Versuche geschaffen werden. Im Folgenden wird der grundsätzliche Aufbau nach Abschluss der technischen Änderungen dargestellt. Daran anschließend wird abschnittsweise erklärt, welche Änderungen im Anschluss an die Versuche Nr. 4 und 17 im Rahmen der Versuchsdurchführung und in Rücksprache mit der den Tierversuch genehmigenden Behörde jeweils sukzessiv bei laufendem Erkenntnisgewinn umgesetzt wurden.

3.1.2.1 Versuchsbox

Die Tiere der Versuchsgruppe zur Betäubung mittels eines hochexpandierenden, Stickstoff-gefüllten Schaums wurden ohne den Einsatz von elektrischen Treibhilfen einzeln in die Betäubungsbox (2,55 m³ bei einer Bodenfläche von 1,88 m²) verbracht. Zur Verbesserung des Handlings beim Eintreiben wurde eine Wand als klappbare und rutschfeste Einstiegsrampe installiert. Alle Seiten der Box waren voneinander unabhängig zu öffnen. In dieser Box wurden die Schweine mittels eines Gabelstaplers vom Wartestall in den Versuchsraum über eine Strecke von ca. 5 m transportiert.

Die Wände der Versuchsbox wurden aus grünem Plastik gefertigt. Zum einen soll sich die Farbe Grün positiv auf die Tiere auswirken, weshalb die Beleuchtung im Wartestall des Versuchsschlachthofs diese Farbe hat (Jörg Altemeier, Tönnies Lebensmittel GmbH & Co. KG, persönliche Mitteilung, 2016). Zum anderen war durch die Intransparenz des Stickstoff-gefüllten-hochexpandierenden Schaums während des Betäubungsvorganges ohnehin nur eine Videoaufzeichnung (Sony Handycam, HX CR-220, 8.9 Megapixel) von oben möglich. Durch die Aufnahme konnten Tierreaktionen während der Einleitungsphase und Bewegungen der Schaumoberfläche dokumentiert werden. Gleichzeitig konnte das Geschehen durch das Versuchspersonal über den Rand der Betäubungsbox beobachtet werden.

3.1.2.2 Schaumerzeugung

Der hochexpansive Schaum wurde aus einem Gemisch aus Wasser und 3 % Schaumkonzentrat (HTF-1000, Dr. Stahmer, Hamburg) unter Einsatz von Stickstoff 5.0 (Reinheit > 99,999%) erzeugt. Die technische Grundausstattung zur Erzeugung des Stickstoff-gefüllten Schaums bestand aus einer Sprühdüse (Schaumgenerator), die innerhalb eines Stahlzylinders von 200 mm Durchmesser und 250 mm Länge verbaut war. Der Zylinder verfügte über einen konisch geformten und perforierten Kopf (Abbildung 3.3). Das Wasser- Schaumgemisch wurde über einen Schlauch (maximaler Arbeitsdruck 20 bar) auf ein Maschengitter von 20 cm Durchmesser gesprüht, durch welches gleichzeitig 500-1000 l/Minute gasförmiger Stickstoff mit einem Druck von etwa 3,5 bar strömte.

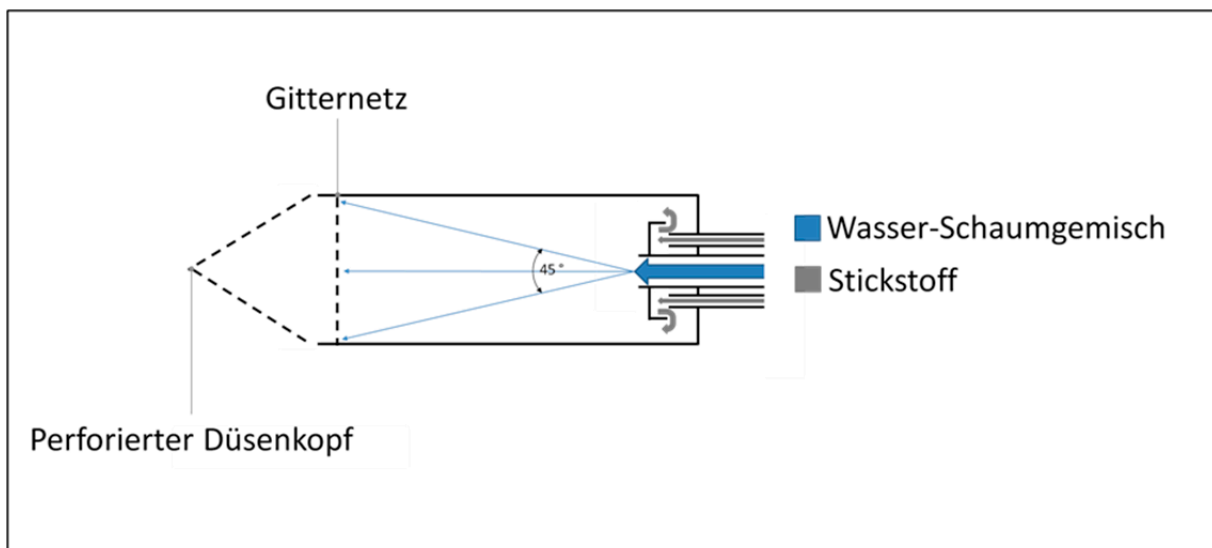


Abbildung 3.3 Schaumgenerator zur Erzeugung des Stickstoff- gefüllten, hochexpansiven Schaums

Die Gasversorgung erfolgte über insgesamt drei Gasflaschenbündel (je 12 x 50 l Gasflaschen, 200 bar). Ein Gaspaket versorgte je drei Schaumgeneratoren. Über 1 Zoll große Sicherheitsschläuche wurde das Gas aus den Gasflaschenbündeln nach innen in den Versuchsraum geleitet. Die Gasabnahme erfolgte über Gashochdruckventile. Dabei wurde der Gasdruck (bei vollem Gaspaket 200 bar) erstmals auf 10 bar reduziert (1. Druckstufe). Über Ringleitungen wurde das Gas dann gleichmäßig auf die jeweils 3 angeschlossenen Schaumgeneratoren verteilt (2. Druckstufe). Über einen Schaltkasten im Raum wurden Elektroventile an- und ausgeschaltet, die den Gasfluss steuerten. Die Einstellung des Gasflusses erfolgte über

Druckminderer, die Kontrolle des Gasflusses während des laufenden Versuchs mittels Flowmeter.

Im Versuchsraum befand sich ein Überdruckkessel mit 1000 Liter Fassungsvermögen. Der Kessel hatte vier Ein- bzw. Ausgänge: Wassereinlass und -auslass, Lufteingang zum Druckaufbau und Luftauslass zum Druckabfall. In den Kessel wurde über eine Pumpe das Wasser-Schaumgemisch eingebracht. Je Versuch wurden davon ca. 20-25 Liter benötigt. Zu Beginn wurden 100 Liter des Gemischs hergestellt und in den Tank gepumpt. Über einen 1 Zoll Schlauch wurde das Wasser-Schaumgemisch in eine Ringleitung eingebracht, von wo aus es auf die neun Schaumgeneratoren aufgeteilt wurde. Der Überdruckkessel wurde dabei auf konstant vier bar gehalten. Die Einstellungen des Wasserflusses erfolgten über Ventile, die den Durchfluss regeln. Die Kontrolle des Wasserflusses während der laufenden Versuche erfolgte über Flowmeter. Des Weiteren waren zwischengeschaltete Elektroventile vor den Schaumgeneratoren installiert, um den Wasserfluss zu öffnen bzw. zu schließen. Diese Kontroll- und Messeinheiten waren für Wasser und Gas direkt hinter die Ringleitungen geschaltet. Von diesen gingen Schläuche mit 12 mm Durchmesser zu den Schaumgeneratoren ab, welche mit Schnellkopplungen für eine einfachere Handhabung verbunden waren (Abbildung 3.4). Die neun Schaumgeneratoren (Abbildung 3.5) befanden sich horizontal auf einem Wagen in drei Reihen angeordnet. Dieser Wagen wurde zum Beginn des Versuchs bei laufenden Schaumdüsen an die Box bzw. an ein das Volumen des beschäumbaren Tierbereichs vergrößerndes eingesetztes Zwischenstück herangefahren und schloss somit die Versuchsbox. Nach Entfernung des Zwischenstücks und der folgenden Bedeckung des Tieres mit dem Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum betrug die Laufzeit der Schaumgeneratoren mindestens drei Minuten. Die Tiere verbrachten weitere 30 Sekunden in der Schaumatmosphäre, in denen die Erfassung der durchschnittlichen Schaumblasengröße erfolgte (Abbildung 3.6).

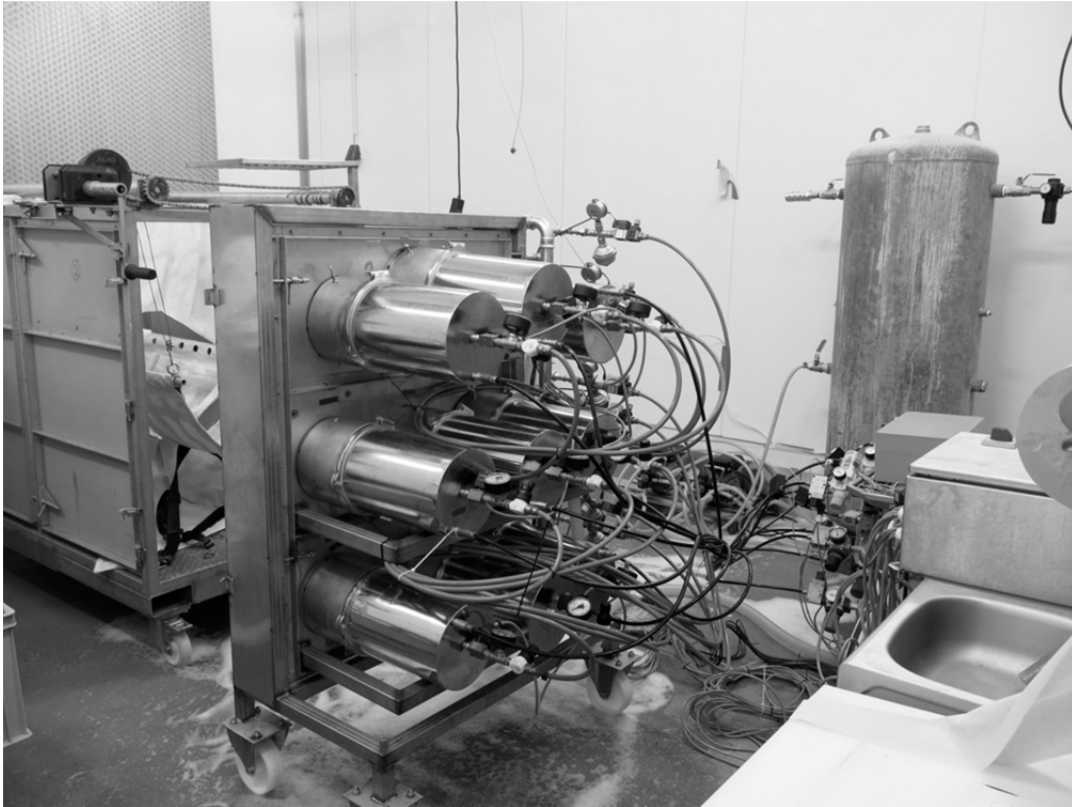


Abbildung 3.4 Schaltverbindung zur Steuerung der neun Schaumgeneratoren



Abbildung 3.5 Schaumgeneratoren (Vorderansicht)

Damit der gewünschte großblasige Schaum entstand, wurden die in Tabelle 3.1 aufgeführten Einstellungen für die einzelnen Schaumgeneratoren verwendet. Die in ihr beschriebenen Einstellungen des Drucks und Durchflusses für Gas und Wasser an den baugleichen Schaumgeneratoren wurden im Rahmen technischer Versuche auf Basis der als Ziel definierten Mindestblasengröße von 1,5 cm Durchmesser festgelegt. Dabei waren geringgradig voneinander abweichende Einstellungen an den ansonsten baugleichen Schaumgeneratoren zur Erreichung der Zielblasengröße notwendig.

Tabelle 3.1 Einstellungen der einzelnen Schaumgeneratoren

Düse	Wasser		Gas	
Von rechts oben nach links unten	Druck p2	Flow	Druck p2	Flow
1	0,3	1,05	2,5	550
2	0,3	0,75	3,2	600
3	0,3	1,05	2	550
4	0,3	1,1	2,9	550
5	0,3	1	2,9	600
6	0,4	1,1	3,6	700
7	0,3	1,4	2,6	560
8	0,2	0,85	2,5	560
9	0,4	1,15	2,6	560

Die Hersteller der Bauteile für den oben beschriebenen Versuchsaufbau sind in folgender Übersichtstabelle dargestellt (Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2 Hersteller- bzw. Lieferantenauflistung für die einzelnen Bauteile

Bauteil	Hersteller bzw. Lieferant
Gas Flowmeter SFAB-1000U-WQ10-SA-12	Festo Vertrieb GmbH & Co. KG, Esslingen-Berkheim, DE
Wasser Flowmeter PF3W7	SMC Corporation, Tokyo, JPN
Druckminderer Gas P31 mini Regulator or Agritechnics special design	Parker Hannifin GmbH, Kaarst, DE
Druckminderer Wasser bis 16 bar (AirComp Präzisionsregler)	Aircomp division, Correggio, RE
Manometer 0 bis 2.5 bar (herkömmlich)	WIKA Alexander Wiegand SE & Co. KG, Klingenberg, DE
Wasserschlagdämpfer (Flamco Kiwa Flexofit)	Flamco GmbH, Mettmann, DE
Elektroventile Gas MFH-3-1/4	Festo Vertrieb GmbH & Co. KG, Esslingen-Berkheim, DE
Elektroventile Wasser Flow Switch	SMC Corporation, Tokyo, JPN
Gas Hochdruckventile	Praxair Deutschland GmbH, Düsseldorf, DE
Sicherheitsschläuche Gas	Praxair Deutschland GmbH, Düsseldorf, DE
Gaspakete Stickstoff 5.0	Praxair Deutschland GmbH, Düsseldorf, DE
Wasser-/Gasschläuche	Standard Schläuche mit 12mm Durchmesser aus dem Baumarkt für Schnellkopplung geeignet
Überdruckkessel Wasser	zur Verfügung gestellt von Tönnies Lebensmittel GmbH & Co. KG
Schaltbox	Josef Pulsfort GmbH & Co. KG (Sonderanfertigung)

3.1.2.3 Technische Anpassungen

Versuchsreihe 1 bis 4

Der Stickstoff wurde bei den Versuchen eins bis vier nicht durch Gasflaschenbündel, sondern durch den Einsatz eines Stickstoffgenerators (Sonderanfertigung mit Kompressor und Membranfilter, Parker Hannifin, NL) mit einer Reinheit von ca. 98 % bereitgestellt. Die Anzahl der Schaumgeneratoren beschränkte sich auf vier, welche jeweils zu zweit an einem T- Stück angebracht waren.

Versuchsreihe 5 bis 17

Entfernung des Gitternetzes:

In technischen Versuchen (ohne Tier) hat sich herausgestellt, dass sich bei längeren Laufzeiten der Düsen zunehmend Flüssigkeit auf dem 1. Gitter absetzt. Dadurch kann sich die Schaumqualität spontan dahingehend verändern, dass es zur Produktion eines kleinblasigen Schaums (< 1,5 cm) kommt. Dieser ist aus Tierschutzgründen unbedingt zu vermeiden. In darauffolgenden technischen Versuchen wurde das 1. Gitter entfernt, um die Qualität des Schaumes hinsichtlich Stabilität, Blasengröße und Homogenität ohne das Gitter zu überprüfen. Dabei ergab sich, dass die Stabilität des Schaums ohne Gitter vergleichbar mit der Stabilität des Schaums mit Gitter ist. Bezüglich der Blasengröße und Homogenität wurde beobachtet, dass die Blasen optisch inhomogener wirken. Daraufhin wurde die Blasengröße mittels Teclis Instruments High-Expansion Foam Analyzer (Barneveld, NL) objektiv untersucht. Die Berechnungen ergaben, dass weiterhin > 90 % der Blasen Radien von > 7,5 mm (bzw. Durchmesser von > 1,5 cm) aufweisen (Tabelle 3.3). Dies entspricht der technisch leistbaren Obergrenze dieser Anlage. Niedrigere Werte (Tabelle 3.3) ergaben sich lediglich bei Berechnungen nach 4 bzw. 5 Minuten (79-90 %). Zu diesem Zeitpunkt war von einer sicheren Betäubung der Tiere auszugehen. Der Restsauerstoffgehalt im Schaum lag bei Messungen ohne Gitternetz zwischen 0,5 % und 0,6 %. Da die Entfernung des Gitternetzes weiterhin gewährleistet, dass der Stickstoff-gefüllte Schaum kontrollierbar und mit gleichbleibender Qualität produziert werden kann, wurde das Gitternetz für die weiteren Versuche aus den Düsen entfernt.

Tabelle 3.3 Anteil der Blasen mit Radius >7,5mm (gemessen mit Teclis Instruments High-Expansion Foam Analyzer)

<i>Foto Nr.</i>	<i>Zeit nach füllen (Minuten)</i>	<i>Anteil Blasen mit Radius >7,5 mm (Oberflächenbezogen) (%)</i>
1A	1	97
1B	4	89
2A	1	93
2B	4	79
3A	1	93
3B	5	90

Erhöhung der Anzahl der Düsen auf neun Stück und Änderung der Schaumzuführung zum Tier (Beschäumung des Tieres von vorne)

Nach Austritt des Schaums aus den Düsen verlor dieser zunehmend an Flüssigkeit. In der Versuchsbox, die zur Betäubung der Versuchstiere eingesetzt wurde, erfolgte eine „Drainage“ des Schaums: der Wasseranteil als schwerer Bestandteil des Schaums wurde durch die Wirkung der Schwerkraft während der Flusszeit von maximal 30 Sekunden zwischen dem Austritt aus der Düse und dem Erreichen der Rüsselscheibe des Schweines im Schaum reduziert. Auf diese Weise erreichte der Schaum höhere Expansionsraten (Wasserfraktion/Gas) von mehr als 1000. Bei einer Schaumzuführung von unten hinten verlief die Drainage des Schaums, dessen Flüssigkeit weitestgehend aus der Flüssigkeit der 100 bis 1000 nm dünnen Blasenwände besteht derart drastisch, dass bei Erreichen der Rüsselscheibe des Tieres nahezu keine Restflüssigkeit vorhanden war. Dadurch konnte eine ausreichende Schaumstabilität und eine sichere Aufrechterhaltung der Gasatmosphäre um das Tier nicht in jedem Fall gewährleistet werden. Aufgrund der gleichzeitig herabgesetzten Fließfähigkeit des Schaums bei zu starker Drainage bestand zusätzlich die Gefahr der Kavernenbildung (Lufteinschlüsse im Schaum). Aus diesem Grund erfolgte dann die Schaumzuführung von vorne (zum Kopf des Tieres) mit mehreren Düsen. Um die Belastung für das Tier zu minimieren, wurde die Schaumproduktion der Düsen, die auf der als fahrbarem Gestell aufgebauten Seitenwand der Betäubungsbox montiert waren, außerhalb der Box und der Reichweite des Tieres gestartet. Messwerte zur Expansionsrate ca. 50 cm nach Austritt aus den Düsen ergaben die in Tabelle 3.4 dargestellten Werte und führten zum Umbau in der oben beschriebenen Weise. Zum Ablauf überschüssigen Wassers wurde darüber hinaus eine schräg verlaufende Leiste unterhalb der oberen beiden Düsenreihen angebracht.

Tabelle 3.4 Expansionsrate nach ca. 50 cm Wegstecke

Expansionsrate (nach 1 min)	Expansionsrate (nach 5 min)	Drainage in %
392	850	46
671	2.318*	29*
500	962	52
521	906	49
560	944	59
797	1.594	50
526	895	59
628	1.144	56

* Fehlmessung

Erweiterung der technischen Steuerung der Pilotanlage bzw. der Regelbarkeit je Einzeldüse (Anbringung von einem Gas- und Druckminderer pro Düse, Entfernung der T-Stücke zur technischen Verbindung der Düsen)

Nach ausführlichen Tests zur Schaumqualität (ohne Tier) wurden für die weiteren Versuche die in Tabelle 3.1 dargestellten Gas- und Wassereinstellungen mit jeweils einem Druckminderer pro Düse (Durchfluss 1 l/min/Düse) festgelegt. Die Düsen konnten dadurch bezüglich des Gasflusses über einen Gasminderer (am Punkt PG₂) und bezüglich des Wasserdrucks über einen Druckminderer (am Punkt PW₂) individuell eingestellt werden. Die T-Stücke zur technischen Verbindung von jeweils zwei Einzeldüsen wurden nach Abschluss technischer Vorversuche (ohne Tier) entfernt, da sie die Effektivität der Einzeldüse um den Faktor 0,72 reduzierten. Mit der Erweiterung der technischen Steuerung der Pilotanlage waren die einzelnen Düsen individuell und besser einstellbar.

Verwendung von Gasflaschenbündeln

Aufgrund eines grenzwertigen Restsauerstoffgehalts erfolgte die Bereitstellung von Stickstoff anstelle des Generators durch den Einsatz von zwei Gasflaschenbündeln [Stickstoff 5.0 (99,999 %) (12 x 300 bar)].

Anbringung eines Prismas zur Messung der Blasengrößen

Die Zielblasengröße von 1,5 cm Durchmesser im Schaum, der von den Schaumgeneratoren in der Versuchsanlage produziert wurde, wurde vor Durchführung der Einzeltierversuche im Rahmen technischer Versuche an den einzelnen Schaumgeneratoren bei der Fa. Anoxia Europe (Barneveld, NL) verifiziert. Aufgrund der vor Ort durchgeführten notwendigen technischen Anpassungen auch an den Düsen wurde zur Kontrolle einer gleichmäßigen Blasengrößenverteilung ab Tier 10 der Teclis Instruments High-Expansion Foam Analyzer (Cell Size Analysis, Teclis Instruments, FR) eingesetzt. Teclis Instruments High-Expansion Foam Analyzer ist eine Kombination aus einem an einem abnehmbaren Abstandshalter montiertem Fotoapparat (The Imaging Source, DFK 72AUC02), der Fotos an einem Prisma auf Rüsselscheibenhöhe des Tieres an der Seitenwand der Versuchsbox generiert, sowie einer Analysesoftware (Cell Size Analysis, Teclis Instruments, FR). Zur Bestimmung des durchschnittlichen Anteils der Blasen mit einem Durchmesser größer als 1,5 cm im Schaum wurde drei Minuten nach Bedeckung des Tieres ein Foto über das Prisma aufgenommen und mit der Analysesoftware aus den 2D-Bildern die durchschnittliche Blasengröße, sowie die Berechnung der Anzahl der Blasen mit Größen über 1,5 cm Durchmesser anhand ihrer Oberfläche in Prozent vorgenommen (Abbildung 3.6). Für die Berechnung wurden jeweils zwei Bilder pro Einzelversuch angefertigt und ausgewertet. Aus den ermittelten Werten wurde anschließend der Mittelwert gebildet.

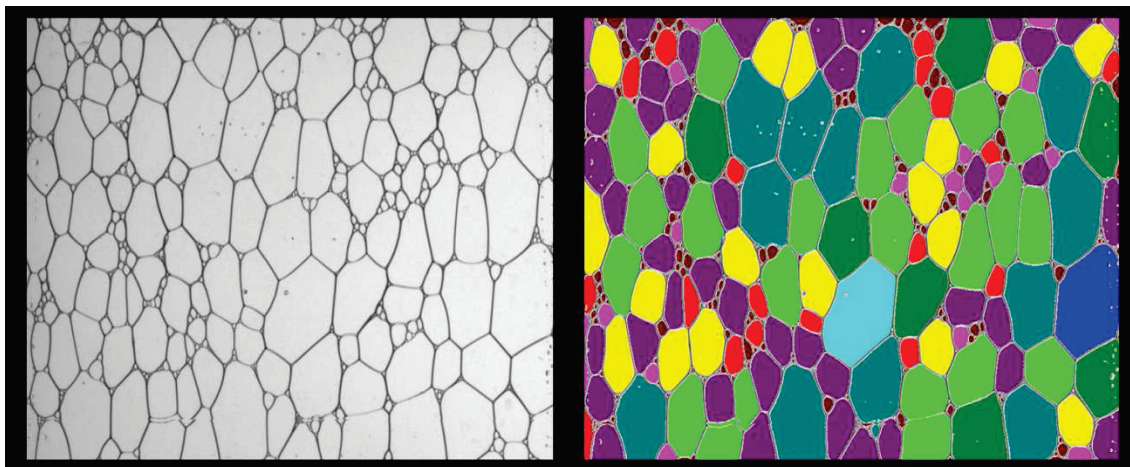


Abbildung 3.6 Bestimmung der Blasengröße im mit Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum

Einbau einer Hängematte

Um Bewegungen der Tiere und deren Auswirkungen auf die Qualität der Messsignale und die Zerstörung des Schaums zu reduzieren, wurde eine Hängematte in die Box eingebaut (Abbildung 3.7. und Abbildung 3.8). Bei Eintrieb des Tieres lag diese auf dem Boden. Nach Verbringung des Tieres in den Versuchsraum wurde das Tier mit den Beinen durch vier dafür vorgesehene Löcher mit dem Kopf in Richtung Düsen gestellt und die Matte an den vier Eckpunkten über eine Drahtseilwinde in die schwebende Position befördert. Die Ausstattung des Tieres mit der Messtechnik erfolgte anschließend.

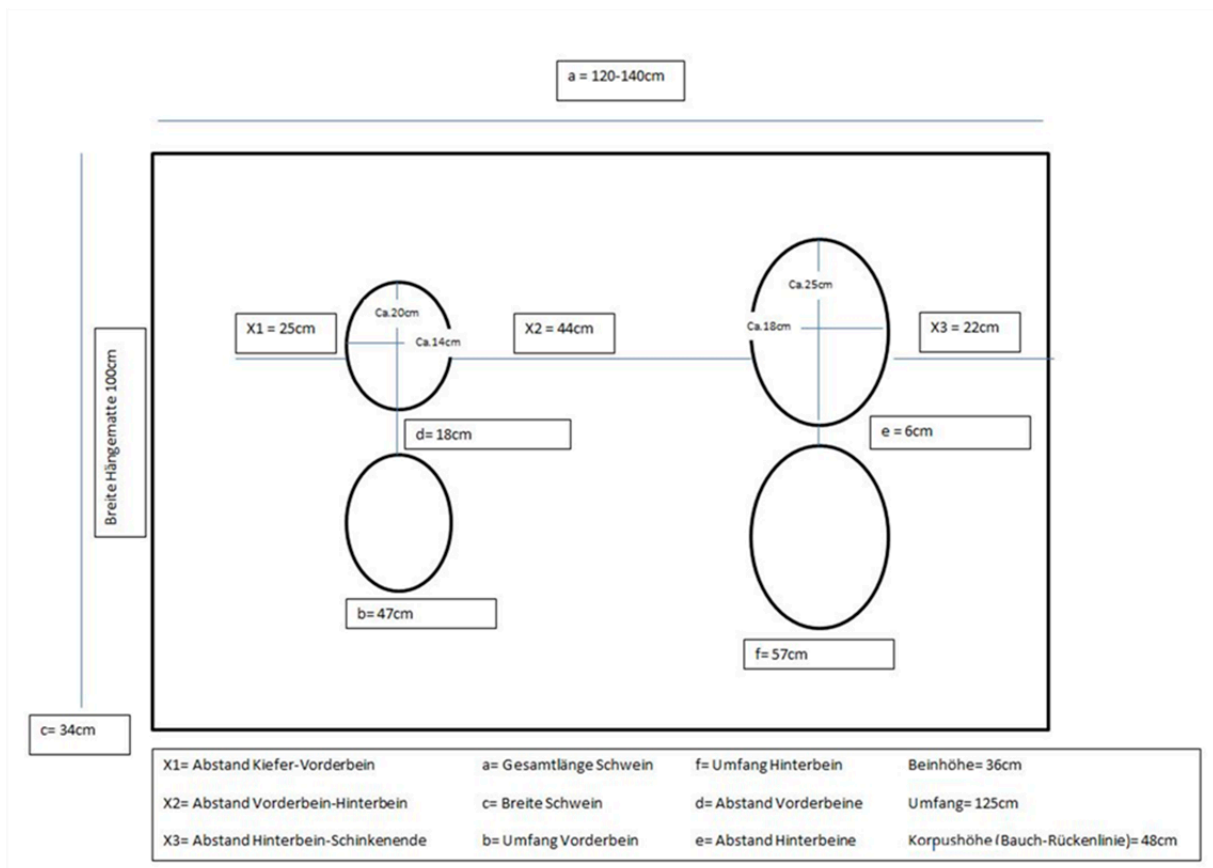


Abbildung 3.7 Maße der Hängematte



Abbildung 3.8 Hängematte

Verwendung einer Schürze

Es wurde ein von der hinteren, oberen Boxenwand bis zum Beginn der Matte an der Brust des Tieres (vorne unten) reichendes, wasserfestes Tuch angebracht (Abbildung 3.9). Diese Schürze sollte sicherstellen, dass der Kopf des Tieres auch bei Bewegungen stets mit Schaum bedeckt bleibt und damit in der Gasatmosphäre verbleibt. Durch die Schürze war eine gezielte Steuerung der Beschäumung des Tierbereichs möglich. Eine anfängliche Beschäumung der nicht relevanten Bereiche unterhalb der Hängematte auf dem Boden der Box (außerhalb des Tierbereichs) konnte auf diese Weise vermieden werden. Im Versuchsvorhaben erfolgte eine Anpassung der Führung dieses wasserfesten Tuchs. Es wurde schließlich senkrecht in der Betäubungsbox angebracht und ca. 20 cm nach hinten versetzt, um das am Tier zu befüllende Volumen zu vergrößern und das Risiko eines Lufteintrags zu minimieren. Die Schürze wurde nach einigen Versuchen wieder verworfen, weil sie keinen Einfluss auf den anhand von Videoaufnahmen ausgewerteten Betäubungsverlauf hatte.



Abbildung 3.9 Schürze

Versuchsreihe 18 bis 40

Zusätzlich zum wasserfesten Tuch wurde eine mobile, volumenvergrößernde Segeltuchkonstruktion in Form einer Ziehharmonika zwischen Versuchsbox und dem stirnseitigen Düsenwagen eingesetzt (Abbildung 3.10). Diese Konstruktion hatte keinerlei Kontakt zum Tierkörper und konnte für die Überprüfung der Reflexe nach der Betäubung unmittelbar entfernt werden, sodass der schnelle Zugriff auf das Tier zu jedem Zeitpunkt gesichert war. Zusätzlich wurde das Tier bei Start der Schaumproduktion durch eine herausnehmbare Trennwand von den Düsen getrennt. In dem entstehenden ca. 1,5 m langen Zwischenraum wurde eine größere Menge Schaum vorproduziert, um nach Herausnahme der Trennwand und Zusammenschieben der Segeltuchkonstruktion die sofortige Bedeckung des Tieres mit dem gasgefüllten hochexpansiven Schaum zu ermöglichen.



Abbildung 3.10 Ziehharmonikakonstruktion

Im Folgenden sind die technischen Anpassungen zur besseren Übersicht noch einmal tabellarisch dargestellt (Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5 technische Anpassungen während der Versuche.

(Die Ausstattung des Tieres mit Sensoren zur Beurteilung des Tierwohls bleibt von diesen Änderungen unberührt)

Versuch Nr.	Technische Anpassung
1-4	Stickstoffgenerator, 4 Düsen (jeweils 2 an einem T- Stück), Tier frei in der Box
5-17	Erweiterung der technischen Steuerung der Pilotanlage bzw. der Regelbarkeit je Einzeldüse (Installation eines Druck- und Gasminderers pro Düse, Entfernung der T- Stücke), Einsatz von Gasflaschenbündeln anstelle des Stickstoffgenerators, Hängematte, Entwicklung wasserfestes Tuch/Schürze, Beschäumung von vorne, Erhöhung auf neun Schaumgeneratoren, Anbringung von Leisten unter den Düsen zum seitlichen Abfluss überschüssiger Flüssigkeit
5-40	Entfernung des Gitternetzes aus den Schaumgeneratoren
10-40	Einbau eines Prismas zur Ermittlung der Blasengröße
18-40	Schaffung eines Raumes zur Schaumvorproduktion (Ziehharmonika-Konstruktion), Entfernung der Schürze

3.1.3 Versuchsbedingungen

Alle im Versuch eingesetzten Uhren, Geräte und Datenlogger wurden vor jedem Versuchstag mit der Uhrzeit des im Versuch eingesetzten Laptops synchronisiert. Die genauen Uhrzeiten zu besonderen Ereignissen, wie Schaumstart, Bedeckung des Tieres, dessen Ruhe, die Öffnung der Versuchsbox, sowie die Tötung des Tieres wurden durch ein- und dieselbe Person während der Versuche protokolliert.

3.1.3.1 Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit

Die Umgebungstemperatur und die Luftfeuchtigkeit wurden mit einem Datenlogger (TinyTag Ultra 2, Geminy Data Loggers, UK, Ltd.) alle 60 Sekunden gemessen und gespeichert. Gleichzeitig konnten die Umgebungsbedingungen auf einer im Versuchsraum installierten mobilen Wetterstation (TFA Dostmann, Wertheim, DE) abgelesen werden. Für die Ermittlung der auf das Tier einwirkenden Temperatur wurde ein Mittelwert über die gesamte Zeit gebildet, in der sich das Tier im Versuchsraum aufgehalten hat.

3.1.3.2 Umgebungslautstärke

Messungen der Lautstärke im Versuchsraum vor und während der Betäubung sollten überprüfbar sicherstellen, dass die Versuchsbedingungen für die Tiere weitgehend konstant sind. Folglich wurde eine Lautstärkemessung als Parameter zur Beurteilung der Stressbelastung der Tiere durchgeführt.

Unter Einsatz eines Schallpegelmessgeräts (Cirrus Optimus Green - Modell CR:171B mit CK:680 Außen-Lärmess-Kit, Cirrus Research plc, Frankfurt, DE) wurde der Geräuschpegel im Versuchsraum vor Versuchsstart und während der Versuche aufgezeichnet. Um die Aufzeichnungen so wenig wie möglich zu beeinflussen, wurden Gespräche auf ein Minimum reduziert und waren nur gestattet, wenn sie für den reibungslosen Ablauf der Versuche notwendig waren. Um die Vergleichbarkeit der Versuchsbedingungen für die einzelnen Tiere zu überprüfen fanden Messungen der Lärmbelastung vor und während der Betäubung statt. Dafür wurden die Aufzeichnungen der Lautstärkemessungen im Versuchsraum in die Zeit vor Versuchsstart und die Zeit während der Versuchsdurchführung (Zeit zwischen Schaumstart und Tötung des Tieres) unterteilt.

3.1.3.3 Schaumbeschaffenheit

Bei einem Durchfluss von 1-2 l/Minute Schaummittellösung sowie 600-900 l/Minute gasförmigem Stickstoff generiert die Schaumdüse einen hochexpansiven Schaum.

Hochexpansiver Schaum wird durch Expansionsraten $> 250:1$ charakterisiert (MCKEEGAN et al., 2013). In der Versuchsbox, die zur Betäubung der Versuchstiere eingesetzt wurde, erfolgte eine „Drainage“ des Schaums, d.h. der Wasseranteil als schwerer Bestandteil des Schaums wurde durch die Wirkung der Schwerkraft während der Flusszeit von dem Austritt aus der Düse und dem Erreichen der Rüsselscheibe des Schweines im Schaum reduziert. Auf diese Weise können Expansionsraten von mehr als 1:1000 (Wasserfraktion/Gas) erreicht werden. Bei derart hohen Expansionsraten weisen die gasgefüllten Räume aufgrund des reduzierten Wassergehalts (1 ml Wasser/1 l Schaum bei einem Expansionsfaktor von 1000) physikalisch keine sphärische Form (Bläschen) mehr auf, sondern nehmen im Schauminneren die Gestalt formvariiierender Polyeder an (Abbildung 3.11). Infolge dieser veränderten Form weisen hochexpansive Schäume ein höheres Gasvolumen im Vergleich zu Schäumen mit niedrigeren Expansionsraten auf.

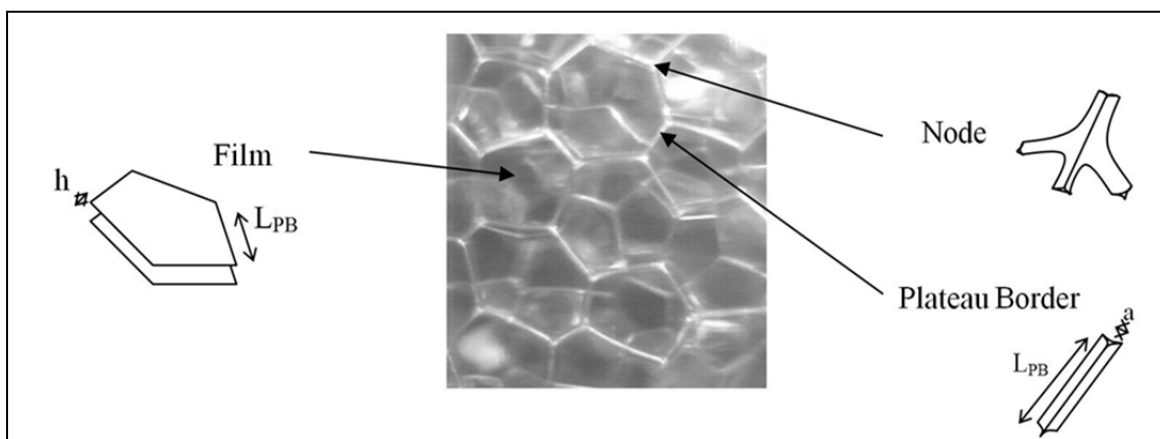


Abbildung 3.11 Schaumstruktur [Abbott (2015): Surfactant science: principles and practice]

Die Flüssigkeitsfilme, die das Äußere eines gasgefüllten Polyeders darstellen, sind zwischen 100 und 1000 nm dick und sind hinsichtlich des Wasseranteils im Schaum vernachlässigbar. $> 99,9\%$ der im Schaum vorhandenen Flüssigkeit befindet sich dort, wo drei oder mehr gasgefüllte Polyeder an den sogenannte Knotenpunkten zusammentreffen (Abbildung 3.11 "Node"). Die Bestimmung der Schaumdichte kann daher neben der Erfassung der Blasengrößen zur Bewertung der Tierbelastung eingesetzt werden.

3.1.3.3.1 Restsauerstoffgehalt

Bei der Schaummethode wurde gasförmiger Stickstoff gleichbleibender Reinheit innerhalb eines dünnen Flüssigkeitsfilms eingeschlossen. Sowohl Stickstoffgeneratoren (Reinheit des Gases zwischen 98 % und 99 %) als auch Gasflaschen (Reinheit $> 99,995\%$) stellen eine

gleichbleibende Stickstoffkonzentration bereit. Der Stickstoff wurde mit gleichbleibender Konzentration in den Schaum verbracht. Durch Bewegungen des Tieres sollten die Gaskavernen platzen und reinen Stickstoff in der unmittelbaren Umgebung des Tieres freisetzen, wodurch eine anoxische Atmosphäre entstehen sollte.

Die Ermittlung des Restsauerstoffgehalts sollte die Vergleichbarkeit der Versuchsbedingungen überprüfbar sicherstellen. Darüber hinaus stellt die Einhaltung eines maximalen Restsauerstoffgehalts von $< 1 \%$ ein entscheidendes Kriterium zur Gewährleistung einer anoxischen Atmosphäre dar (vgl. MCKEEGAN et al., 2013). Dementsprechend sollte der Restsauerstoffgehalt in Abhängigkeit von der verwendeten Stickstoffquelle im Schaum zwischen $0,5 \%$ und 1% liegen. Der Ausschluss von Sauerstoff aus der Umgebungsluft durch Aufrechterhaltung einer Mindesthöhe an Schaum über dem zu betäubenden Tier (vgl. MCKEEGAN et al., 2013) sollte in dem vorliegenden Versuch durch eine kontinuierliche Schaumzufuhr während des Betäubungsvorgangs gewährleistet werden. Eine Sicherstellung der Fließfähigkeit des Schaums sollte Lufteinschlüsse im Schaum verhindern und eine Verdrängung der Luft in der Umgebung des Tieres gewährleisten.

Die Überprüfung des Restsauerstoffgehaltes von $< 1 \%$, sowie die Messung der Temperatur im Schaum erfolgte über eine Messstation (Pacific Main Unit CIIPB, Fa. OxyGuard International A/S, DK) mit zwei entsprechenden Sensoren. Diese wurden in ca. 50 cm Höhe (ausgehend vom Boden der Versuchsbox) sowie auf Nasenhöhe des Tieres in die Versuchsbox eingehängt. Nach Angaben des Herstellers beträgt die T90-Zeit (Zeit bis zum Erreichen von 90 % des Endwertes) 20 Sekunden bei 20°C , unabhängig von der Höhe der Messsonden, jedoch in Abhängigkeit von der Temperatur (steigend bei tieferen Temperaturen). Die eingestellte Abtastrate des Gerätes betrug 10 Messungen/min. Da der Sensor des Gerätes aufgrund der kühleren Umgebungstemperaturen länger als die vom Hersteller für die T90-Zeit angegebenen 20 Sekunden zur Erreichen eines stabilen Wertes benötigte, wurden die Messwerte unmittelbar nach Einbringen des Sensors vernachlässigt, bis die Werte aus zwei Messintervallen (insgesamt 12 Sekunden) vergleichbare Werte zeigten. Aus den ermittelten Werten pro Versuchsdurchgang wurde für die Verweildauer des Tieres im Schaum ein Mittelwert über die Dauer von drei Minuten gebildet, sofern eine Verkürzung des Versuchs nicht angezeigt war.

Aufgrund der Änderung im Versuchsaufbau bezüglich der Stickstoffquelle (Austausch des Stickstoffgenerators gegen Flaschenbündel) wurden die Tiere 1-4 in den Berechnungen zum Restsauerstoffgehalt nicht berücksichtigt. Tiere, bei denen im Verlauf des Versuches ein

sekundärer Sauerstoffeintrag (Sauerstoffeintrag von außen) in die Box stattgefunden hatte (Tier 2, 4 und 24), wurden von den Berechnungen ebenfalls ausgeschlossen.

3.1.3.3.2 Temperatur

Zur Ermittlung der Temperatur im Schaum wurde der Mittelwert über dieselbe Zeitspanne ermittelt, über die auch der Restsauerstoffgehalt berechnet wurde. Die Berechnung geschah aus den Daten des Sensors, der auf Nasenhöhe des Tieres angebracht war.

3.1.3.3.3 Blasengröße

Zur Bestimmung der Blasengrößenverteilung wurde 3 Minuten nach Bedeckung des Tieres ein Foto über das in der Boxenwand eingelassene Prisma durch Teclis High-Expansion Foam Analyzer aufgenommen und später analysiert (Abbildung 3.12). Für die Erstellung des Bildes wurden 30 Sekunden bemessen, wodurch sich die Gesamtexpositionsdauer für das Tier auf 3,5 Minuten belief. Die Darstellung der Auswertung in der Software ist in (Anhang, Tabelle 12.1, S. 185) für Tier 17 beispielhaft dargestellt. Dabei stellt die Zahl in der Spalte „Area“ die Fläche der sich im Bild befindlichen Blasen in mm^2 und „Radius“ den Radius der jeweiligen Blase dar. „Ratio“ beschreibt das Verhältnis zwischen der x- und y-Achse einer ellipsoiden Blase. Der Wert „Convexity“ gibt die Annäherung der abgebildeten Oberflächenkrümmung an eine Kugel an, wobei die perfekte Kugel einen Wert von $C = 1$ besitzt. Diese Parameter wurden bei der Auswertung vernachlässigt, da sie zum einen kontrastabhängig sind und zum anderen für die Fragestellung keinerlei Relevanz besitzen. Die prozentuale Anzahl der Blasen mit Blasendurchmessern $> 1,5$ cm wurde berechnet aus dem Verhältnis zwischen Summe der Blasen mit Radien $> 7,5$ mm und der Summe der Blasen mit Radien $< 7,5$ mm.

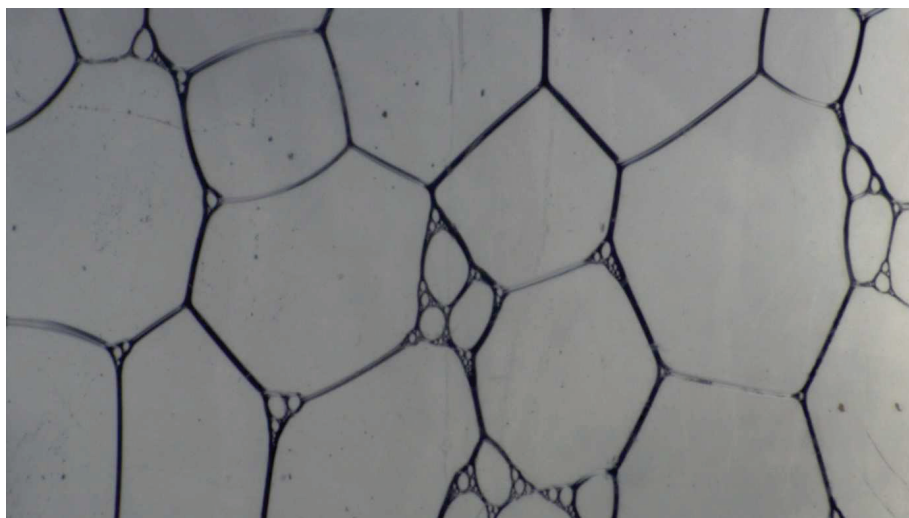


Abbildung 3.12 Foto der Spezialkamera (The Imaging Source, DFK 72AUC02) für die weitere Analyse

3.2 Beurteilung der Betäubung

3.2.1 pCO₂, pO₂ und Atemtätigkeit

Die Erhebung von transkutan erhobenen Basiswerten für pCO₂ und pO₂ sollte in diesen Versuchen dazu dienen, den Zeitpunkt des Eintretens einer Anoxie (verbunden mit einer Anoxämie) beim Tier, näher zu bestimmen. Bei den Versuchstieren erfolgte das Monitoring des CO₂- und O₂-Partialdruckes unblutig transkutan über Klebesensoren unter Einsatz des Monitoring-Systems (TCM40/4 und TCM Tosca/Combi M, Radiometer GmbH, Willich, DE). Das Gerät findet üblicherweise Einsatz in der neonatalen und pädiatrischen Intensivüberwachung und ist auf den Hautwiderstand von Menschen adaptiert. Eine Validierung des Gerätes für die Anwendung beim Schwein ist nicht erfolgt. Der ursprünglich für die Humanmedizin entwickelte Sensor besteht aus einer Goldplatte mit Wärmefunktion bis 44 °C. Durch das Aufbringen des Sensors und die geringfügige Erwärmung des darunter liegenden Hautareals oberhalb der normalen Hauttemperatur kommt es zum transkutanen Gasaustausch durch eine gesteigerte Diffusion der Blutgase hin zur Messelektrode. Der Sensor detektiert das Verhältnis der aus den Kapillaren ausströmenden CO₂- und O₂-Moleküle und stellt das Verhältnis auf dem Monitor in mmHg dar. Durch die lokale Temperaturerhöhung wird der pCO₂-Wert in Blut und Gewebe gesteigert. Zusätzlich trägt das von den Zellen der Epidermis produzierte Kohlendioxid mit einem konstanten Wert (metabolische Konstante) zum kapillaren CO₂-Wert bei (RADIOMETER, 2008). Bei dem verwendeten Gerät ist der metabolische Korrekturfaktor auf 4 mm Hg voreingestellt. Für das Schwein ist der metabolische Korrekturfaktor nicht bekannt und wurde deshalb in diesen Untersuchungen nicht berücksichtigt. Der durch die Temperaturerhöhung geförderte Hautmetabolismus mit folglich erhöhten Messwerten für pCO₂ bei der transkutanen Methode wird durch die Severinghaus-Konstante korrigiert. Auf Empfehlung des Geräteherstellers blieb die Severinghaus-Konstante für die Temperaturkorrektur der Messwerte eingeschaltet. Der Sensor ist so ausgelegt, dass er üblicherweise Messwerte von Gefäßen 1/10 mm unterhalb der Hautoberfläche erfasst. Aufgrund des Messprinzips ist es wichtig, dass der Sensor hermetisch abgedichtet auf die Haut aufgeklebt wird. Zusätzlich zur Klebefläche wurde der Ring mit Sekunden- oder Histokleber auf der Haut des Tieres fixiert. Im Falle von Sauerstoffeinschluss oder Zug auf das Elektrodenkabel mit der Folge der Loslösung der Klebeverbindung zwischen Haut und Sensor, kann es über einströmenden Luftsauerstoff zu einem Anstieg des pO₂ und damit zu einer Verfälschung der Werte kommen. Für die transkutane Erhebung der Blutgase sollte eine Stelle mit möglichst dünner Haut an einem Endstromgebiet gewählt

werden. In der Humanmedizin wird sehr häufig für entsprechende Messungen das Ohrläppchen verwendet. Eine ideale Stelle für das Schwein sollte erst im Laufe der Versuche evaluiert werden. Mit dem neueren Gerät TCM Tosca/Combi erfolgte die Erhebung an der Ohrspitze mittels Ohrclip. Die Hautstelle am Ohr bzw. am seitlichen Nacken, auf die der Sensor angebracht wurde, wurde im Vorfeld geschoren, rasiert, gereinigt und desinfiziert. Darauf wurde der Sensor (tc sensor 84 bzw. tc sensor D282) mittels eines klebenden Ohrclips (TOSCA Sensor Attachment Clips, Radiometer, Willich) oder einem dazugehörigen Klebering (Fixation kit for tc sensors D282) aufgebracht und mit einer maßgefertigten Schutzkappe aus Hartsilikon (Eigenbau) und wasserundurchlässigem Klebeband abgedichtet. Trotz ausreichender Fixierung des Sensors waren Messungen aufgrund starker Bewegungen der Tiere und einem damit verbundenen Sensorabfall nur in Einzelfällen möglich. Der Vorteil des neueren Gerätes besteht darin, dass es Messwerte alle 10 Sekunden auf einem internen Speicher ablegt, während das ältere Gerät die Messwerte lediglich minütlich speichern kann. Daher sollte ursprünglich das neuere Modell in diesen Versuchen verwendet werden, welches sich allerdings als kälteempfindlicher erwies. Deshalb war ein Ausfall der Messungen durch eine eingeschränkte Funktionsfähigkeit des Messgerätes bei geringeren Umgebungstemperaturen wie im nicht beheizbaren Versuchsraum in den Wintermonaten und trotz des Einsatzes mobiler Heizungen nicht in jedem Fall zu verhindern. Für weitere Versuche wurde das ältere Modell TCM4/40 mit kleinerem Messspeicher und einem Speicherintervall von 1 Minute verwendet. Da eine Verlängerung des Sensorkabels lediglich für das neuere Tosca-Gerät verfügbar ist, bestand bei Verwendung des älteren Gerätes erneut die erhöhte Gefahr des Eintrags von Sauerstoff durch Zug auf das Sensorkabel.

Zusätzlich zur transkutanen Blutgasanalyse wurde die Atemtätigkeit unter Einsatz eines Respirationsmoduls und des für die EEG- und EKG-Aufzeichnung genutzten Mobi4a4b-Systems (SleepSense, S.L.P. Ltd., Tel-Aviv, IL, sowie TMSi, Oldenzaal, NL) bestimmt. Der Gurt des Respirationsmoduls ist mit Piezokristallen ausgestattet und detektiert über die Dehnung des Gurtes bei der Atmung die Atemfrequenz des Tieres auf einer Zeitachse mit den EEG und EKG-Rohdaten. Der Gurt wurde über zwei integrierte Druckknöpfe mit einem die Dehnung des Gurtes aufnehmendes Modul (Type Respi V6, TMSi, Oldenzaal, NL) und dieses durch ein weiteres Kabel mit dem Mobi4a4b (TMSi, Oldenzaal, NL) verbunden. Der Mobi4a4b ist ein portables bluetoothfähiges Gerät, das die empfangenen Daten an einen Laptop in Echtzeit übermitteln oder auf einer SD-Karte speichern kann. Über die dazugehörige Software (Polybench, TMSi, Oldenzaal, NL) konnten die Daten im Versuch unmittelbar am Laptop visualisiert werden.

Vor Verbringung der Versuchstiere in den Versuchsraum wurde die Atemfrequenz aller Tiere von außerhalb der Wartebucht ausgezählt und der Mittelwert als absoluten Basiswert angenommen.

Die Dauer einer möglicherweise auftretenden Atemnot vor Beginn der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit sowie der Zeitpunkt einer Reduzierung oder Stagnation der Atemfrequenz sollte durch Einsatz dieser Messtechnik erfasst werden. Für die Auswertung wurde eine vor Schaumstart durch Auszählung (Person stand dabei immer hinter dem Tier) ermittelte Atemfrequenz (AF) für jedes Tier mit der vom Respirationsmodul ermittelten AF zur Überprüfung der Genauigkeit des Respirationsmoduls verglichen. Der Vergleich ergab, dass das Respirationsmodul als Medium zur Erhebung der AF vergleichbare Werte liefert, wie die manuelle Auszählung durch eine Person. Die Ermittlung der AF/min, erhoben durch das Respirationsmodul erfolgte durch manuelle Auszählung in der Polybench-Software (TMSi, Oldenzaal, NL) (Abbildung 3.13 und Abbildung 3.14), vor Versuchsstart, unmittelbar vor Bedeckung des Tieres und von diesem Zeitpunkt an kontinuierlich über die gesamte Zeit der Betäubung. Ein Atemzug wurde als vollständig gewertet, wenn Anfangs- und Ausgangsniveau der Amplitude etwa auf einer Höhe lagen. Dabei wurde jeweils ein AF-Wert über 10 Sekunden ermittelt. Die ausgezählten Werte pro 10-Sekundenintervall wurden in Excel (Microsoft Excel, 2007, Redmonf, USA) übertragen. Zur Ermittlung des Zeitpunktes, an dem die AF/min unterhalb eines mit einer normalen Vitalfunktion vereinbaren Wertes sinkt (subjektive Einschätzung: $\leq 3/\text{min}$), wurde die AF/min über jeweils sechs 10-Sekundenintervalle kontinuierlich berechnet. Als kritischer Wert wurden ≤ 3 Atemzüge pro Minute angenommen.

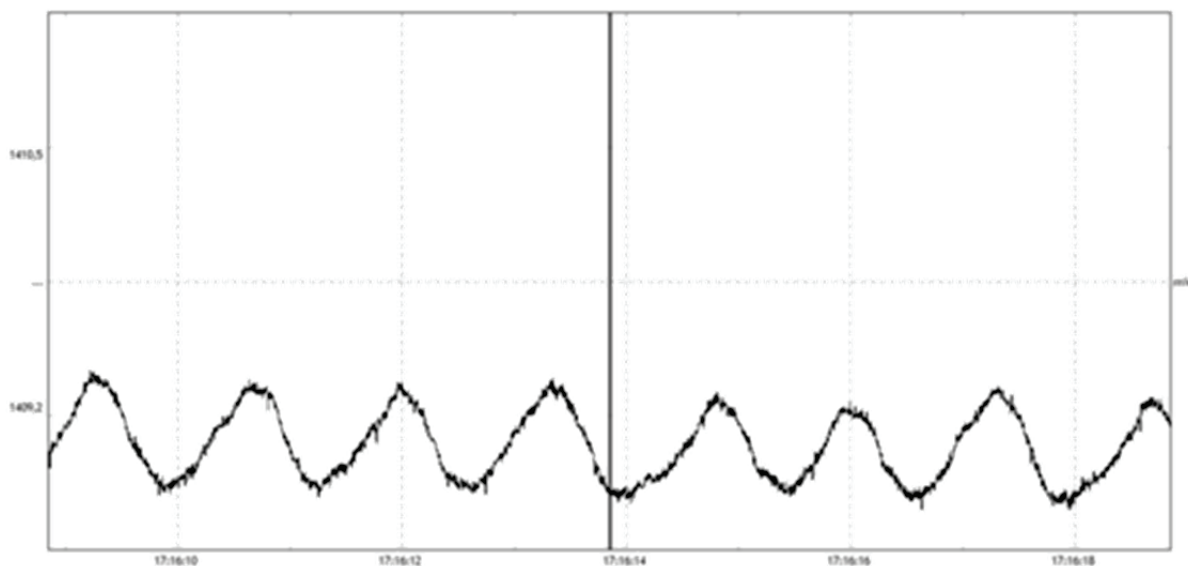


Abbildung 3.13 Ruheatmung eines Tieres (Tier 1), dargestellt mit der Polybench- Software

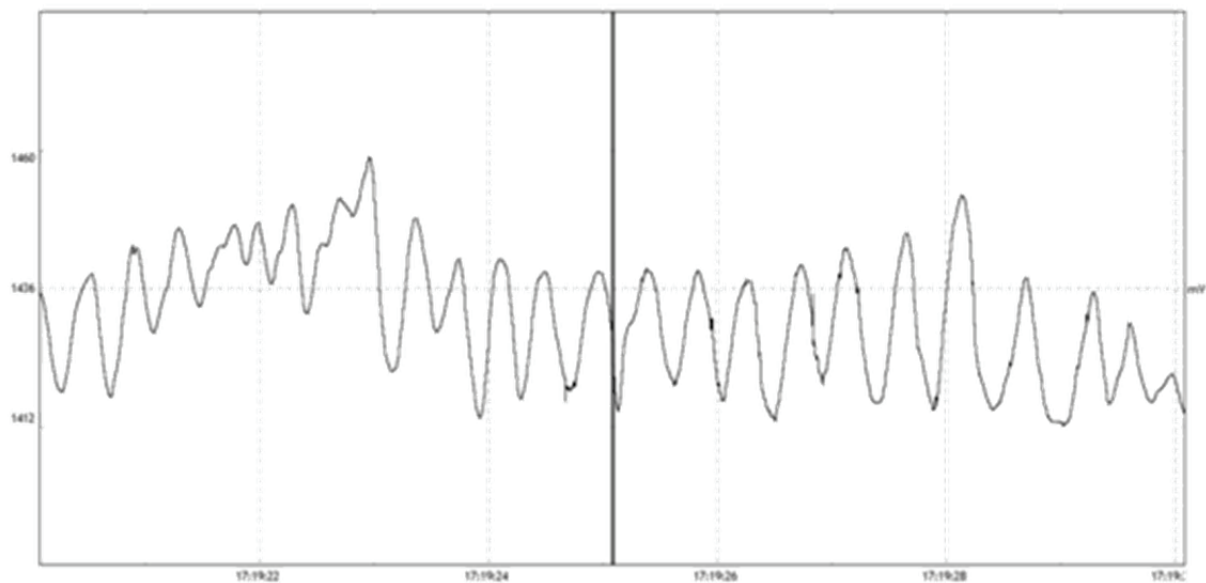


Abbildung 3.14 Hyperventilation zu einem späteren Zeitpunkt, dargestellt mit der Polybench- Software

3.2.2 Herzfrequenz

Der Herzschlag sollte Auskunft über die Aktivität des sympathischen Nervensystems als Indikator für eine individuelle Stressantwort im Tier geben und durch eine Veränderung der Reizweiterleitung im EKG den Zeitpunkt eines möglichen Myokardinfarktes eingrenzen.

Die EKG-Messung erfolgte nach Rasur und Reinigung der Haut nicht-invasiv über eine bipolare Ableitung (Mobi 4b4a, TMSi, Oldenzaal, NL) mit Klebeelektroden (Kendall ECG Electrodes, Covidien, Dublin, IE), die auf Höhe des rechten Ellbogens angebracht und durch Fixomull stretch Klebepflaster (BSN medical, DE) und wasserfestes Hansaplast Fixierpflaster (Beiersdorf, DE) fixiert wurden. Aus praktischen Gründen und die Ausstattung des Tieres von der rechten Körperseite im Anschluss an den Einbau der Hängematte erfolgte die Ableitung bei den Tieren 1-7 an der linken Körperseite, bei den Tieren 8-40 auf der rechten Körperseite.

Die Bestimmung der zur Auswertung verwendeten Bereiche ohne Artefakte erfolgte visuell (vergl. VERHOEVEN et al., 2016) mit der Polybench-Software von TMSi. Für die Auswertung wurde die Herzfrequenz pro Minute (HF/min) vor der Schaumzuführung (Abbildung 3.15) und während der Bedeckung (Abbildung 3.16) visuell am Bildschirm über jeweils 10-Sekundenintervalle ausgezählt, um Aussagen über die Belastung des Tieres durch die Bedeckung mit Schaum treffen zu können. Darüber hinaus wurde die Dauer ab dem Zeitpunkt der Bedeckung mit Schaum ermittelt, bei der Anoxieanzeichen im EKG auftraten. Dieser Zeitpunkt wurde angenommen, wenn es zu einer Umkehr der T-Welle (Abbildung

3.17), einer Erhöhung des ST-Streckenverlaufes oder der Ausbildung von ventrikulären Extrasystolen kam.

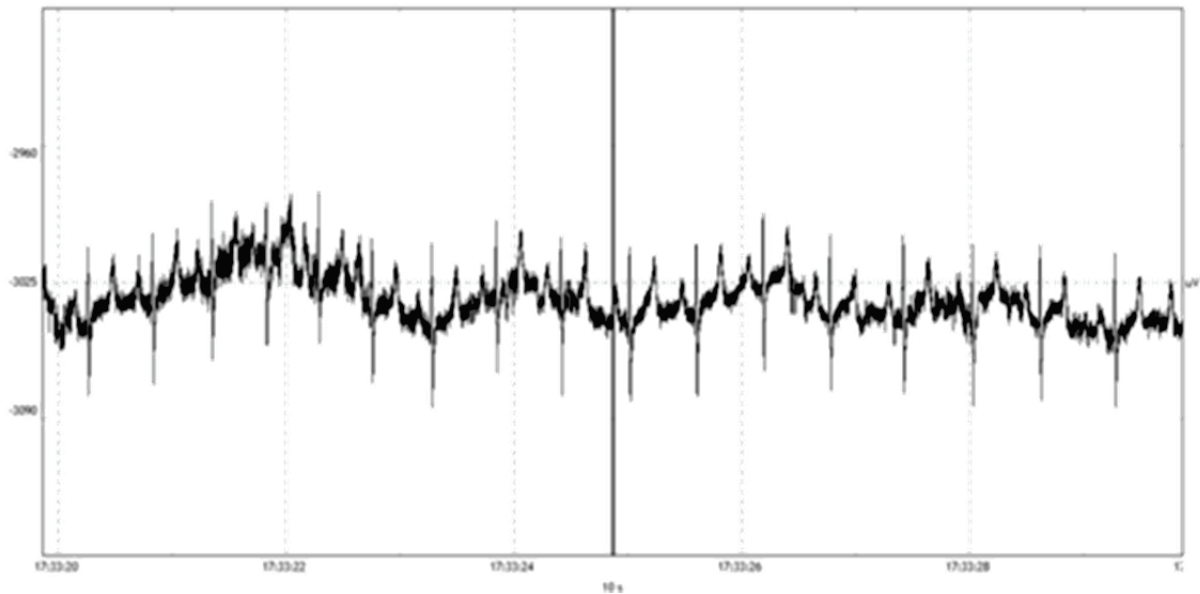


Abbildung 3.15 HF von 102 /min vor Schaumstart (Tier 37)

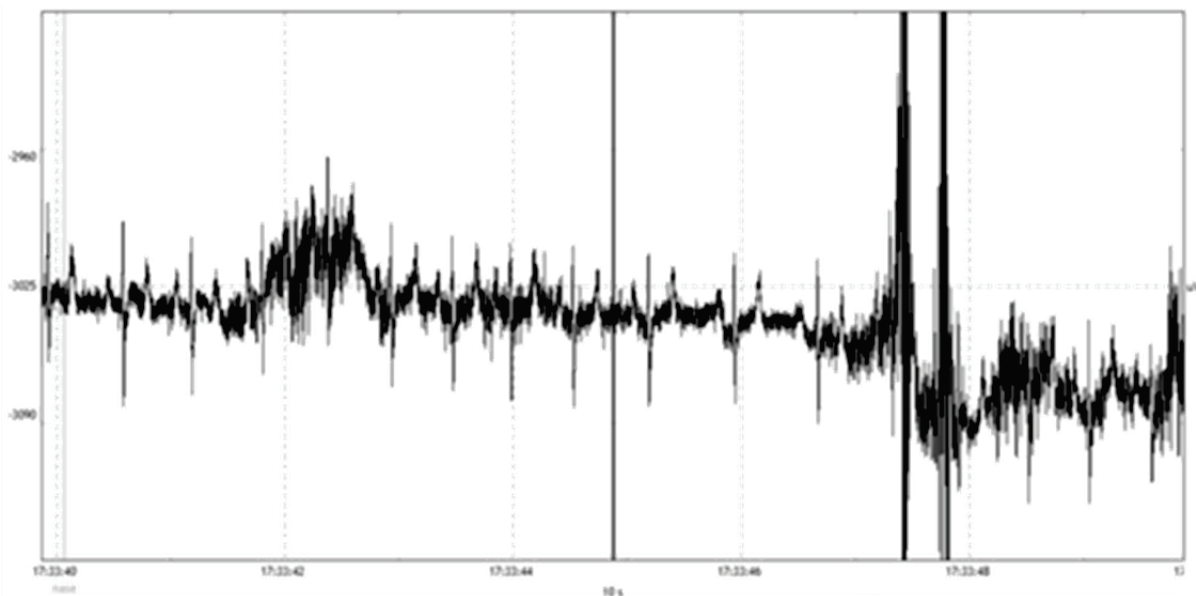


Abbildung 3.16 HF von 102 /min nach Bedeckung und beginnende Bewegungen (Tier 37)

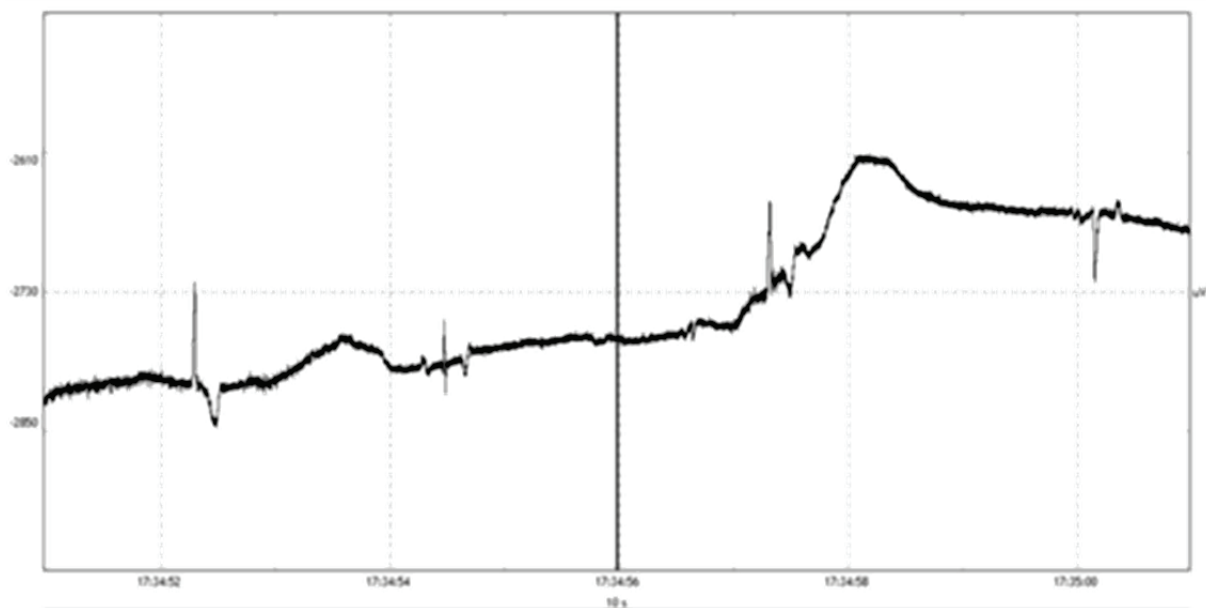


Abbildung 3.17 HF 24 /min mit Umkehr der T- Welle (Tier 37)

3.2.2.1 dichotomisierte Atem- und Herzfrequenzen

Zur Überprüfung der visuellen Einteilung der Tiere in Gruppen "ruhig" und "unruhig" für die Zeitpunkte Ausstattung, Schaumstart und Bedeckung wurde die Differenz der AF bestimmt. Um feststellen zu können, ob die Ausstattung und/oder die Bedeckung des Tieres mit Schaum für das Tier ein belastendes Ereignis darstellt, wurde die Differenz der AF vor Schaumstart zum AF-Mittelwert der Versuchstiergruppe (AF Gruppe) für jedes Einzeltier bestimmt. War die Differenz kleiner oder gleich drei wurde das Tier zum Zeitpunkt des Schaumstarts als ruhig, ansonsten als unruhig bewertet. Darüber hinaus wurde die Differenz der AF bzw. Herzfrequenz (HF) während der Bedeckung zu der AF bzw. HF vor Schaumstart berechnet. War die Differenz kleiner oder gleich drei wurde das Tier zum Zeitpunkt der Bedeckung als ruhig, ansonsten als unruhig bewertet.

3.2.3 Körpertemperatur

Die Messung der intravaginalen Körpertemperatur erfolgte durch ca. 1 cm große Knopfzellenlogger ("i-Buttons", Maxim Integrated, San Jose, USA) Abbildung 3.18. Diese wurden bereits in anderen Studien erfolgreich angewendet (LICHTENBELT et al., 2006; HILMER et al., 2010; DADGAR et al., 2012; ROZNIK, 2012; HASSELBERG, 2013). Die Messungenauigkeit der Logger wurde im Vorfeld auf 0,5 °C bestimmt. Bei den „i-Buttons“ handelt es sich um programmierbare Logger. Für diesen Versuch wurde ein Messintervall von einer Minute festgelegt. Im Anschluss an die Programmierung wurde der „i- Button“ zur Messung der Körpertemperatur in einen Schrumpfschlauch eingebracht, der dann mittels Heißluftfön

zusammengeschrumpft und mit Sattlerzwirn an einem O-Ring befestigt wurde. Mit Hilfe einer abgeschnittenen und an den Schnittkanten abgefeilten Spritze ohne scharfe Kanten wurde der Logger unter Einsatz von Glycerin intravaginal appliziert. Die Daten wurden mit Hilfe einer dazugehörigen Software (OneWireViewer, Maxim Integrated, San Jose, USA) ausgelesen und in Excel gespeichert. Aus den ermittelten Werten wurde der Zeitpunkt markiert, ab dem sich der Logger im Tier befand. Aus den Werten wurde nach Stabilisierung der Daten der Mittelwert gebildet. Die Dauer zwischen der Tötung des Tieres und der Herausnahme des Loggers wurde aus den Videos ermittelt, die während der Versuchsdurchführung aufgenommen wurden. Diese Zeitspanne könnte insofern wichtige Angaben liefern, als dass eine Erhöhung der Körpertemperatur post mortem auf ein belastendes Ereignis oder auf starke Körperbewegungen unmittelbar vor Todeseintritt hindeuten kann (ADZITEY und NURUL, 2011; VERMEULEN et al., 2015). Darüberhinaus korreliert die Körpertemperatur positiv mit der Muskelkerntemperatur, was die Wahrscheinlichkeit für eine Entwicklung von PSE-Fleisch erhöht (MONIN et al., 1995; WARRIS et al., 1995; HAMBRECHT et al., 2005; ADZITEY und NURUL, 2011).



Abbildung 3.18 "i-Button" in Schrumpfschlauch

3.2.4 Körperbeschleunigung und Körperbewegungen

Die Körperbewegungen der Tiere wurden am Computer anhand des aufgezeichneten Videomaterials ermittelt. Bewegungen des Tieres im Schaum konnten durch die Bewegung der Schaumdecke erkannt werden. Die Gesamtbewegungsdauer wurde in Sekunden erfasst und zusätzlich in kontinuierliche und sporadische Bewegungen unterteilt. Bewegungen wurden als kontinuierlich bewertet, wenn ihre zeitlichen Abstände zueinander weniger als

drei Sekunden betragen. Bewegungen wurden als sporadisch bewertet, wenn sie vereinzelt und nach einer Pause von mindestens 3 Sekunden auftraten. Der Verlust des Standvermögens sollte durch Bewegungssensoren erfolgen, die in einen dafür vorgesehenen Hohlraum unter dem Boxenboden eingebaut wurden und deren Betätigung in Echtzeit auf einem Monitor dargestellt werden sollte. Die Sensoren waren in dafür vorgesehene Löcher in den Boxenboden eingelassen und sollten durch einen Federmechanismus durch das Gewicht des Tieres ausgelöst werden. Der Monitor war über ein Kabel mit einem Schaltkasten an der Box verbunden, in dem die einzelnen Kabel der Bewegungssensoren zusammen liefen.

Zum Abgleich der Ergebnisse wurden Beschleunigungssensoren (Hobo® Pendant® G Datenlogger, Onset Computer Corporation, Bourne, USA) am Hinterbein angebracht. Im Anschluss an die Versuche wurden die Daten mittels des Softwareprogramms HOBOWare (Onset Computer Corporation, Bourne, USA) ausgelesen und in Excel übertragen. In Excel wurde der Datenbereich ausgewählt, der die Bewegungen des Tieres während des Betäubungsversuches darstellte. Die Auswahl dieses Bereiches erfolgte anhand der während der Versuche protokollierten und der im Logger gespeicherten Uhrzeit.

3.2.5 Tierverhalten während der Exposition

Die Betäubungsbox wurde während der Versuche von oben und von der Seite mittels Videokamera aufgenommen (Sony Handycam, HX CR-220, 8.9 Megapixel, Tokio, JPN). Das Verhalten der Tiere während des Schaumstarts, der Schaumbedeckung und der Schaumexposition wurde anhand des aufgezeichneten Videomaterials in ruhige Verhaltensweisen (Fressen, Schnüffeln, fehlende Lautäußerungen, geringe Körperbewegungen) und unruhige Verhaltensweisen (Fluchtversuche, Körperbewegungen, Lautäußerungen) unterteilt.

3.2.6 Reflexe und Tierreaktionen nach der Exposition

Zur Überprüfung des Bewusstseinszustandes wurden der Corneal-, der Pupillar-, der Nasenscheidewand-, der Flexorreflex überprüft. Zusätzlich wurde das Auftreten von Kopfbewegungen, spontanem Augenblinzeln und Vokalisationen sowie des Stellreflexes untersucht. Da nicht nur in der Chirurgie, sondern auch bei der Betäubung von Tieren für die Lebensmittelproduktion die Erreichung der sogenannten chirurgischen Toleranz angestrebt wird (HARTUNG et al., 2002), wurde der von WENGER et al. (2002) für die Halothananästhesie beim Saugferkel entwickelte Score verwendet, um den Bewusstseinszustand der Tiere zu ermitteln.

Tabelle 3.6 Score zur Bewertung der Reflexstärke (modifiziert nach WENGER et al., 2002)

Reflexe	Score
heftige Abwehr + starke Lautäußerungen	4
mäßige Abwehr + geringe Lautäußerungen	3
mäßige Abwehr (mehrere Extremitäten)	2
leichte Abwehr (eine Extremität bzw. Schwanz)	1
keine Reaktion (chirurgische Toleranz)	0

Der Cornealreflex wurde durch das leichte Berühren der Cornea mit der Rückseite einer anatomischen Pinzette getestet. Bei Augenblinzeln wurde dieser Reflex als positiv bewertet. Die Überprüfung des Pupillarreflexes erfolgte durch das Anleuchten der Pupille mit Hilfe einer Taschenlampe (PRO-100Z LED-Taschenlampe, uniTEC, Landau/Pfalz, DE). Bei Verkleinerung der Pupille wurde der Reflex als positiv bewertet. Zur Überprüfung des Nasenscheidewandreflexes wurde das Tier mit der Vorderseite der für den Cornealreflex verwendeten Pinzette stark in die Nasenscheidewand gekniffen. Jegliche Bewegung des Tieres als Reaktion auf diesen Reiz wurde als positive Reflexantwort gewertet. Der Flexorreflex wurde, sofern die Klauen zugänglich waren, auf gleiche Weise überprüft, mit dem Unterschied, dass mit der Pinzette ein kurzer Schmerzreiz in die Haut im Zwischenklauenbereich der Hintergliedmaße gesetzt wurde. Bei Zurückziehen der Klaue oder einer anderen Reaktion des Tieres auf diesen Reiz wurde der Reflex als positiv bewertet.

Als Ergebnis der teilweise kontroversen Diskussion über die Eignung einzelner Reflexe zur Bewertung des Verlustes des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens bei Tieren wurde ein Tier nur dann als wahrnehmungs- und empfindungslos eingestuft, wenn alle überprüften Reflexe beim ersten Versuch negativ ausfielen.

Bei Ausbleiben einer Reflexantwort aller überprüften Reflexe wurde das Tier durch Blutentzug getötet [TierSchlV, Anlage 2 zu § 12, Absatz 6]. Bei positiver Antwort eines der überprüften Reflexe wurde das Tier unter Einsatz einer elektrischen Handzange bzw. mittels eines Bolzenschussgeräts (nach entsprechendem Änderungsantrag bei der genehmigenden Behörde) nachbetäubt und danach durch Blutentzug getötet.

3.2.6.1 "stun-to-stick"-Intervall

Nach Sicherstellung des generellen Betäubungserfolges mit dieser Methode sollte die Dauer der Betäubung (Zeit von der Betäubung des Tieres bis zum Auftreten erster Anzeichen für das Wiedererwachen der Tiere bei ausbleibender Entblutung) in Hinblick auf die Definition eines maximalen "stun-to-stick"- Intervalls (Höchstdauer zwischen Betäubungsende und Entblutung) bestimmt werden. Dabei sollten die Tiere bei ersten Symptomen eines wiederkehrenden Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens, verifiziert durch regelmäßige Reflexprüfungen (Corneal,- Pupillar,- Nasenscheidewand- und Flexorreflex) und parallel verlaufenden EEG-Untersuchungen durch Einsatz einer elektrischen Handzange bzw. eines Bolzenschussgerätes betäubt und durch Blutentzug getötet werden. Da eine Betäubung nach 3,5 Minuten im gasgefüllten Schaum nicht bei jedem Tier gesichert nachgewiesen werden konnte bzw. nach dieser Gasexpositionszeit im Schaum Einzeltiere Zeichen des Wiedererwachsens bereits im Rahmen der ausführlichen Reflexprüfung zeigten, sodass unmittelbar nachbetäubt werden musste, wurde von einer weitergehenden Untersuchung der Dauer des Bewusstseinsverlustes in den vorliegenden Versuchen abgesehen.

3.2.7 EEG

Die EEG-Aufzeichnungen sollten dazu dienen, eine Basislinie für die Gehirnaktivität vor Betäubung, die Transitionsphase sowie den Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens darzustellen.

Für die Erfassung der EEG-Messdaten wurde das Mobi-4b4a-System der Firma Twente Medical Systems international B.V. (TMSi, Oldenzaal, NL) verwendet. Bei dem Gerät handelt es sich um ein portables Messgerät mit bipolarer Verstärkung und einer hohen Eingangsimpedanz ($< 1\text{G}\Omega$), welches die Potentialdifferenz zwischen jeweils einem Elektrodenpaar verstärkt. Die Elektrodenimpedanz beträgt unter $5\text{ k}\Omega$. Die EEG-Aufzeichnungen erfolgten mit Hilfe von dreistufigen High- und Lowpassfiltern zwischen 0,5 und 30 Hz (vergl. VERHOEVEN et al., 2016). Die ungefilterten Signale wurden simultan aufgezeichnet. Nach erfolgreicher Überprüfung des störungsfreien Signalempfangs wurden Basiswerte für mehrere Minuten abgeleitet. Für die Messungen wurden drei Klebeelektroden (Kendall, Covidien, Dublin, IE) im Kopfbereich aufgeklebt (Abbildung 3.19). Die Hautstellen wurden dazu rasiert, gereinigt und desinfiziert. Die EEG-Aufzeichnungen wurden unter Einsatz der PolyBench-Software (TMSi, Oldenzaal, NL) auf einem Laptop zeitgleich zur Ableitung dargestellt und aufgezeichnet.



Abbildung 3.19 Position der EEG-Elektroden bei einer bipolaren Messung. Elektrodenpaar eines Kanals (A)(schwarz, rot, oben-unten) und Erdungselektrode (grün, Mitte)

Muskelbewegungen verursachen kurze Potentiale mit hoher Amplitude, die aussagekräftige Ereignisse im EEG maskieren können (MCKEEGAN et al., 2011; BENSON et al., 2012). Um die Auswirkungen von z.B. Bewegungen der Tiere (z.B. Exzitationen bei Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit) auf die Qualität der Messsignale zu begrenzen, wurden 36 von 40 Tieren für die Dauer der Versuche sowie zur Ausstattung mit der Messsensorik in eine frei schwebende, den gesamten Rumpf unterstützende Hängematte innerhalb der Betäubungsbox verbracht (Abbildung 3.7 und Abbildung 3.8). Eine Beruhigung der Tiere durch eine den Bauch unterstützenden Matte mit entsprechender Auflagefläche wurde bereits von MARTOFT et al. (2002) beschrieben.

3.2.8 sensorisch evozierte Potentiale

Im Versuch wurden bei 19 von 40 Tieren elektrische Impulse mittels Schwachstrom (40V, 600 μ s Dauer) durch einen Stromimpulsgenerator (DS2A Isolated Voltage Stimulator, Digitimer Ltd, Welwyn Garden City, UK) im 500 ms-Takt am linken Hinterbein verabreicht, um den Verlust der sensorisch evozierten Potentiale (SEP) bestimmen zu können (vergl. RAJ et al., 1997). Da der Stimulator selbst nur eine manuelle Triggerfunktion besitzt, wurde das Gerät mit einem Funktionsgenerator zur Einstellung der Pulsfrequenz (2Hz) verbunden (Wobbel-Funktionsgenerator mit Frequenzzähler 8202, Voltakraft, Conrad Electronic AG, Wollerau, DE).

3.2.9 Stichblut

Direkt nach dem Entblutestich wurde Stichblut aus dem ersten austretenden Blutstrahl in einem handelsüblichen Plastikbecher aufgefangen. Die Temperatur sowie der pH-Wert

wurden im Stichblut durch Doppelmessungen bestimmt (pH-Star, Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE). Das Stichblut wurde direkt nach der Entnahme und den Messungen des pH-Wertes und der Temperatur in K-EDTA- sowie Lithium-Heparin-Röhrchen (jeweils Fa. Sarstedt, Nümbrecht, DE) umgefüllt und für 15 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert (Tischzentrifuge EBA 200 und EBA 20, Hettich, Lauenau, DE). Das Plasma wurde mit Hilfe einer Pipette (Eppendorf Reference, 100-1000 µl) in geeignete Reaktionsröhrchen (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, DE) umgefüllt und für die Dauer des Versuchstages und für den Transport in einem Behälter mit einer Kühlung durch flüssigen Stickstoff (MVE Series 2001 POBLE-34) aufbewahrt. Nach dem Transport und bis zur Untersuchung der Proben wurde das Plasma bei -80°C aufbewahrt.

Im institutseigenen Labor erfolgte die Bestimmung der Parameter zur klinischen Chemie (Creatinkinase, Aspartat-Aminotransferase, Glukose, Laktat) als weiteres Kriterium zur Beurteilung der Belastungsantwort und der Ausprägung von Exzitationen in den entsprechenden Lithium-Heparin-Proben (Indiko Analysesystem für klinische Chemie, Thermo Fisher Diagnostics GmbH, Henningsdorf, DE). Die Bestimmung der Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin erfolgte in den entsprechenden K-EDTA-Proben im Institut für Verhaltensphysiologie des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie in Dummerstorf mittels High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) unter Verwendung der elektrochemischen Detektion.

3.3 Beurteilung des Schaumgehalts in den Schlachtlungen

Die Lunge der Schlachtkörper wurden ca. 45 Minuten post mortem auf Schaumrückstände hin untersucht. Dazu wurde die Lunge entlang der Trachea bis zur Bifurcation eröffnet. Von der Bifurkation ausgehend erfolgte die Eröffnung des jeweils linken und rechten Lungenlappens bis in die Spitzenlappen. Die Überprüfung auf Schaumrückstände erfolgte sowohl visuell als auch manuell. Letzteres umfasste ebenfalls das Zusammendrücken des Lungengewebes, um zu prüfen, ob sich nicht sichtbare Schaumrückstände aus den Lungenalveolen auspressen lassen. Die Einteilung der Lungen erfolgte in zwei Klassen (Schaum in der Lunge: ja oder nein). Die Menge des Schaumrückstandes wurde darüber hinaus erfasst, fand bei der Einteilung in die Klassen jedoch keine Berücksichtigung.

3.4 Beurteilung der Fleischqualität

3.4.1 pH-Wert

Zur Bestimmung des pH-Wertes im Fleisch wurde das pH-Meter „pH-Star“ (Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE) verwendet. Bei dem verwendeten Messgerät handelt es sich um ein Standardmessgerät für pH bzw. Leitfähigkeit, welches bereits in anderen Untersuchungen verwendet wurde (MÖHRLEIN et al., 2007a, MÖHRLEIN et al., 2007b). Die Messung erfolgte elektrometrisch mit einer Glaselektrode. Da der pH-Wert temperaturabhängig ist, wurde parallel mit einer Temperatursonde (Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE) die Kerntemperatur der Muskelanteile simultan zu den pH-Wert-Messungen ermittelt. Das pH-Meter wurde zu Beginn des Untersuchungstages mit Pufferlösungen kalibriert. An der Schlachtkörperhälfte wurde 45 min nach der Entblutung der pH₄₅ im Schinken (*M. semimembranosus*) und im Kotelett (*M. longissimus dorsi*) durch Doppelmessungen bestimmt. Nach einer Kühlzeit von 24 Stunden wurde der pH₂₄ auf die gleiche Weise ermittelt.

Der Vorgehensweise zur pH-Wert-Messung in der vorliegenden Studie liegt die Methode L 06.00-2 „Messung des pH-Wertes in Fleisch und Fleischerzeugnissen“ der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG zugrunde.

Entsprechend der aktuellen AVV Lebensmittelhygiene (Anlage 4, Nr.4) wird die Messelektrode zur Messung des pH-Wertes jeweils quer zur Faserrichtung im Schinken (*M. semimembranosus*) ca. 5 cm kaudal der Beckensymphyse in einem Winkel von 120° bzw. zur Messung im Kotelett (*M. longissimus dorsi*) zwischen dem 13. und 14. Dornfortsatz eingestochen.

Die ermittelten Werte wurden jeweils am Ende eines Versuchstages ausgelesen (HERMES for XX-STAR, Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE) und als Textdatei gespeichert. Aus den ermittelten Werten der Doppelmessungen wurde ein Mittelwert für jedes Tier gebildet. Dabei wichen die einzelnen Messungen in keinem Fall um mehr als 0,02 des absoluten Wertes voneinander ab. Dies entspricht einer sehr hohen Messgenauigkeit. In der AVV Lebensmittelhygiene wird die Ablesung der Daten auf zwei Kommastellen und die anschließende Mittelwertberechnung mit Rundung auf eine Kommastelle empfohlen. Aufgrund der hohen Messsicherheit wurde der Mittelwert mit zwei Kommastellen belassen und die Daten für weitere Berechnungen in Excel und das Statistikprogramm R. (Version 3.0.2) transferiert.

3.4.2 Muskelkerntemperatur

Die Kerntemperatur der Muskelanteile wurde 45 Minuten und 24 Stunden post mortem im Schinken (*M. semimembranosus*) und im Kotelett (*M. longissimus dorsi*) durch Doppelmessungen simultan zu den pH-Wert-Messungen ermittelt (pH-Star Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE). Dafür wurde die Messelektrode ca. 5 cm kaudal der Beckensymphyse in einem Winkel von 120° (*M. Semimembranosus*) bzw. zwischen dem 13. und 14. Dornfortsatz (*M. longissimus dorsi*) eingestochen.

Die ermittelten Werte wurden jeweils am Ende eines Versuchstages ausgelesen (HERMES for XX-STAR, Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE) und als Textdatei gespeichert. Aus den ermittelten Werten der Doppelmessungen wurde ein Mittelwert für jedes Tier gebildet und in Excel und das Statistikprogramm R. (Version 3.0.2) für die weitere Bearbeitung übertragen.

3.4.3 Leitfähigkeit

Die Leitfähigkeit wurde 45 Minuten (LF₄₅) und 24 Stunden (LF₂₄) post mortem im Schinken (*M. semimembranosus*) und im Kotelett (*M. longissimus dorsi*) durch Doppelmessungen bestimmt (LF-Star, Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE). Die Messungen der elektrischen Leitfähigkeit wurden entsprechend den Empfehlungen der AVV Lebensmittelhygiene Anlage 4, Nr.4 an den gleichen Messlokalisationen wie die Messungen des pH-Wertes durchgeführt. Dabei wurde von einer höheren Aussagekraft beim LF₂₄-Messwert ausgegangen.

Die ermittelten Werte wurden jeweils am Ende eines Versuchstages ausgelesen (HERMES for XX-STAR, Ingenieurbüro R. Matthäus, Nobitz/OT Klaus, DE) und als Textdatei gespeichert. Aus den ermittelten Werten der Doppelmessungen wurde ein Mittelwert für jedes Tier gebildet und in Excel und das Statistikprogramm R. (Version 3.0.2) für die weitere Bearbeitung übertragen.

3.4.4 Wasserbindung

Das Wasserbindungsvermögen bzw. die auspressbare Gewebeflüssigkeit wurde 24 Stunden post mortem im Kotelett (*M. longissimus dorsi*) durch Doppelmessungen ermittelt. Die Messungen zum Wasserbindungsvermögen erfolgten entsprechend den Kriterien in der AVV LmH (Anlage 4, Nr.5). Dafür wurde ein durchschnittlich 226 g schweres Stück Kotelett aus

dem Bereich der 13. und 14. Rippe (*M. longissimus dorsi*) der rechten Schlachtkörperhälfte entfernt und von der Schwarte und angrenzendem Bindegewebe befreit. Von dieser Probe wurden jeweils an zwei Stellen Gewebestücke ohne Fett- und Bindegewebe (jeweils ca. 2 g) für die Bestimmung des Wasserbindungsvermögens unter Einsatz der Filterpapierpressmethode entnommen. Da die Kompressorien (z.B. das Braunschweiger Gerät) nicht standardisiert sind und einer Abnutzung unterliegen, wurde die Vergleichbarkeit des Pressdrucks der einzelnen Kompressorien vor den Messungen mittels einer Referenzpressfläche überprüft.

Aus dem entnommenen Probenmaterial wurde ein etwa erbsengroßes Stück Muskulatur von ca. 0,2 g herausgeschnitten und auf die Mitte des Filterpapiers gelegt. Die obere Plexiglasscheibe wurde auf die Probe gelegt und der Pressmechanismus ausgelöst. Die Pressung erfolgte über eine Dauer von fünf Minuten. Anschließend wurden die Fleischfläche (f) und die Gesamtpressfläche (F) mit einem Stift umrissen und die Flächen den genormten Schablonen aus der AVV LmH (Anlage 4, Nr.5) zugeordnet. Der Quotient $Q = f/F$ beschreibt dabei die Wasserbindungsfähigkeit der Probe. Entsprechend der AVV Lebensmittelhygiene (Anlage 4, Nr.5) spiegeln niedrige Quotientenwerte eine geringe Wasserbindungsfähigkeit des Fleisches wider und basieren auf einer großen auspressbaren Flüssigkeitsmenge (große Gesamtpressfläche). Entsprechend hohe Quotientenwerte sprechen für eine hohe Wasserbindung und basieren auf einer reduzierten auspressbaren Flüssigkeitsmenge (kleine Gesamtpressfläche). Die präzise Kategorisierung der einzelnen Quotienten ist unter 2.5.4 Wasserbindung (S. 47) beschrieben. Aus den ermittelten Werten der Doppelmessungen wurde ein Mittelwert für jedes Tier gebildet und in Excel und das Statistikprogramm R. (Version 3.0.2) für die weitere Bearbeitung übertragen.

3.4.5 Tropfsaftverlust

Zur Bestimmung des Tropfsaftverlustes wurde das nach Entnahme der Proben zur Untersuchung der auspressbaren Gewebeflüssigkeit verbliebene Kotelettstück eingewogen, frei hängend in einer Gefriertüte positioniert und luftdicht verschlossen im Kühlhaus bei einer Temperatur von ca. 3 °C aufgehängt. Nach einer Lagerungsdauer von 24 Stunden wurde die Probe zurückgewogen. Aus der ermittelten Differenz in Gramm wurde der prozentuale Wasserverlust der Fleischprobe berechnet. Die ermittelten Werte wurden in Excel und das Statistikprogramm R. (Version 3.0.2) für die weitere Bearbeitung übertragen.

3.4.6 Fleischfarbe

Die Beurteilung der Fleischfarbe erfolgte mittels dem $L^*a^*b^*$ -System an der entnommenen Fleischprobe aus dem *M. longissimus dorsi* der rechten Schlachtkörperhälfte 24 Stunden post mortem mit dem Kugelspektralphotometer CM700d (Konica Minolta Sensing Europe B.V.). Hierbei handelt es sich um ein Spektralphotometer, welches den gesamten Wellenbereich des sichtbaren Lichtes erfassen und graphisch darstellen kann. Die Anzeige der Farbe im $L^*a^*b^*$ -System (und anderen Farbsystemen) ist möglich. Bei der Messung wurden die SCI („Specular Component Included“, Messungen unter Einschluss der gerichteten Reflexion) und SCE („Specular Component Excluded“, Messungen unter Ausschluss der gerichteten Reflexion) -Werte auf beiden Seiten der frisch angeschnittenen Fleischprobe (13./14. Dornfortsatz) ermittelt, ohne Faszien oder Blutpunkte in das Bewertungsfeld miteinzubeziehen. Durch diese Vorgehensweise sollte eine Verfälschung der Muskulaturfarbe ausgeschlossen werden. Die Daten wurden in das dazugehörige Softwareprogramm SpectraMagic NX (Konica Minolta Sensing Europe B.V.) übertragen und auch mit dieser Software ausgewertet. Aus den ermittelten Werten der Doppelmessungen wurde ein Mittelwert für jedes Tier gebildet und in Excel und das Statistikprogramm R. (Version 3.0.2) für die weitere Bearbeitung übertragen. Als Bezugsfarbwert wurde der Mittelwert aus den Doppelmessungen der mit Kohlendioxid in der CO₂-Backloader-Anlage (Butina®, Meat Processing Systems, Holbaek, DK) betäubten weiblichen Schweine derselben Genetik und Herkunft verwendet.

3.4.7 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die Untersuchung der Fleischqualität der Versuchstiere zur Betäubung mittels eines hochexpansiven, Stickstoff-gefüllten Schaums sollte dazu dienen, einen zusätzlichen Erkenntnisgewinn über die Tierbelastung bei dem zu untersuchenden Betäubungsverfahren zu erhalten. Für einen Vergleich der Fleischqualität von stickstoffschaumbetäubten Tieren und von kohlendioxidbetäubten Tieren wurden 51 weibliche Tiere der gleichen Genetik und Herkunft, mit vergleichbaren Haltungs- und Transportbedingungen wie die der Versuchstiere im selben Schlachthof unter Einsatz einer Butina Backloader-Anlage (Meat Processing Systems Germany GmbH, Holbaek, DK) bei > 90 % Kohlendioxidkonzentration betäubt und anschließend durch Blutentzug getötet. Die Untersuchungen fanden integriert in den alltäglichen Ablauf des Schlachtbetriebes statt. Es wurden hier keine tierbasierten Parameter am Einzeltier erhoben. Die Fleischuntersuchungen im Anschluss an die Betäubung und Tötung der Tiere fanden unter Einsatz der oben beschriebenen Methodik statt.

Während die unter Anwendung von Stickstoffschaum betäubten Tiere zuvor mit Messtechnik ausgestattet wurden und für diese Zeit von den Artgenossen separiert werden mussten, war bei der Betäubung mit Kohlendioxid unter kommerziellen Bedingungen ein Handling der Tiere in Gruppen möglich. Daher diente die Untersuchung von Tieren gleicher Genetik unter dem Einfluss der Kohlendioxidbetäubung lediglich der Bildung einer Vergleichsgruppe, nicht jedoch einer wirklichen Kontrollgruppe.

3.5 Statistik

3.5.1 Datenaufbereitung

Für die statistische Auswertung wurden die Daten der Messgeräte digitalisiert und auf einem Laptop (Dell GmbH, Frankfurt am Main, DE) gespeichert. Die Daten wurden in Excel (Microsoft Excel 2007, Redmond, USA) importiert und durch die deskriptive Statistik und die Anfertigung von Histogrammen auf ihre Plausibilität überprüft. Die in Excel gespeicherten Datensätze wurden in das Statistikprogramm R. (The R Foundation for Statistical Computing, Wien, AT, Version 3.0.2) eingelesen. Die statistischen Tests wurden im Statistikprogramm R programmiert und berechnet. Grafiken wurden im Statistikprogramm R oder in Excel erstellt.

3.5.2 Datenauswertung und statistische Tests

Die Daten wurden mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft. Das Signifikanzniveau betrug $\alpha = 0,05$. Um normalverteilte Daten handelt es sich bei folgenden Parametern: Körpertemperatur, Beginn von Vokalisationen, Dauer von kontinuierlichen Bewegungen, Lautstärke bei Ausstattung, Lautstärke während des Versuchs, Gesamtlautstärke, pH-Wert im Blut, Leitfähigkeit 24h post mortem im Schinken, pH-Wert 45 min. post mortem im Kotelett, Wasserbindung, L*-Wert und a*-Wert, Widerristhöhe der Tiere, Dauer bis Atemfrequenz $\geq 3/\text{min.}$, Laktatwert, Wartezeit von Ankunft der Tiere bis Verladung in den Versuchsraum, die dichotomisierten Atemfrequenzen der Tiergruppe im Vergleich zur Atemfrequenz vor Schaumstart, die dichotomisierten Atemfrequenzen der Tiere vor Schaumstart im Vergleich zur Atemfrequenz zum Zeitpunkt der Bedeckung.

Da eine Normalverteilung nur bei 17 von 55 Parametern vorlag, wurden unabhängig von der Verteilung der Daten und dem Folgen einer Normalverteilung aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit nichtparametrische Test bevorzugt und der Median zur Beschreibung des Mittelwertes angegeben. Die in den Klammern hinter dem Median angegebene Tierzahl

entspricht der Anzahl auswertbarer Daten, da aus technischen oder logistischen Gründen nicht immer alle Daten in die Berechnung einfließen konnten.

Für eine erste Datenübersicht wurden die Zusammenhänge zwischen den Parametern im Statistikprogramm R. durch Scatterplots dargestellt. Die Berechnung von Korrelationen im Anschluss an eine nach optischen Kriterien getroffene Auswahl oder entsprechend der Fragestellung erfolgte mittels Spearmans Rangkorrekationskoeffizient.

Die graphische Darstellung der Daten erfolgte über Box-Whisker-Plots im Statistikprogramm R. Die horizontale Linie innerhalb der Box zeigt den Median bzw. das zweite Quartil. Die horizontalen Begrenzungslinien der Box werden entsprechend mit Q_1 bzw. Q_3 (erstes bzw. drittes Quartil) bezeichnet. Sie zeigen das 25 -und 75 % -Perzentil. Innerhalb dieses Bereichs, welcher als Interquartilabstand (IQR) bezeichnet wird, liegen die mittleren 50 % der Daten. Die Whisker sind entsprechend der gängigen Praxis auf den 1,5 fachen Interquartilsabstand begrenzt bzw. bezogen auf die Daten, den letzten Wert, der diese Anforderung erfüllt. Dieser entspricht in etwa der doppelten Standardabweichung, so dass bei annähernd normalverteilten Daten (in diesem Fall teilt der Median die Box in zwei gleich große Hälften) ca. 95 % der Datenpunkte zwischen den beiden Whiskerenden liegen.

Als Grundlage für die Berechnung des Medians diene stets der individuell gemessene Einzelwert oder im Falle von Doppelmessungen (wie z.B. im Falle des pH-Wertes oder der Leitfähigkeit) der Durchschnitt aus diesen beiden Werten. Die Beurteilung der Ergebnisse des pO_2 und des pCO_2 wurde aufgrund sehr geringer Datenanzahl deskriptiv vorgenommen.

Die Berechnung des Medianunterschieds erfolgte für die Atemfrequenz (AF) zu den unterschiedlichen Zeitpunkten (im Wartestall, vor Schaumstart und zum Zeitpunkt der Bedeckung mit Schaum) durch den Kruskal-Wallis-Test. Es handelt sich zum Teil zwar um durch die Messwiederholung am gleichen Tier verbundene Stichproben, allerdings wurde der AF-Wert im Wartestall als mittlere Frequenz aller dort anwesenden Tiere ermittelt. Darum wurde hier ein Test für unverbundene Stichproben gewählt. Nach Verwerfung der Nullhypothese (kein Unterschied in der Atemfrequenz zu den drei Zeitpunkten), erfolgte der Vergleich von jeweils zwei Gruppen untereinander. Für den Vergleich der Atemfrequenzen der Tiergruppe im Wartestall und der Atemfrequenzen vor Schaumstart wurde der Man-Whitney-U-Test angewandt. Zum Vergleich der Atemfrequenzen der Versuchstiere vor Schaumstart und zum Zeitpunkt der Bedeckung mit Schaum fand der Wilcoxon-U-Test Anwendung, da es sich hierbei um abhängige Stichproben handelte.

Mittels Man-Whitney-U-Test wurde überprüft, ob eine Nachbetäubung von Tieren mittels Bolzenschussapparat einen Einfluss auf verschiedene Variablen hat. Für die Untersuchung der Frage, ob ein signifikanter Unterschied zwischen der Atemfrequenz von Tieren mit und ohne Vokalisationen zum Zeitpunkt der Bedeckung besteht, fand dieser Test ebenfalls Anwendung.

Für den Vergleich von Häufigkeiten (z.B. Tierreaktionen ruhig/nicht ruhig und dichotomisierte Atemfrequenzen und Herzfrequenzen) wurde der exakte Test nach Fisher durchgeführt.

Der Vergleich zwischen Daten der Versuchsgruppe und der Kohlendioxidvergleichsgruppe in Bezug auf die Daten zur Fleischbeschaffenheit wurde mittels Man-Whitney-U-Test durchgeführt.

Ergebnisse mit einer Unterschreitungswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurden als signifikant gewertet. Als weitere Signifikanzniveaus wurden $p < 0,01$ (hochsignifikant) und $p < 0,001$ (höchstsignifikant) gewählt.

4 Ergebnisse

4.1 Versuchstiergröße und Untersuchungsdauer

Die Schweine hatten im Durchschnitt eine Widerristhöhe von 71 cm (n = 39).

Die Wartezeit der Tiere vor Versuchsbeginn lag durchschnittlich bei 4,25 Stunden (n = 40) und variierte zwischen 0,5 und 8,5 Stunden. Zwischen Verladung des Tieres in die Versuchsbox und dem Ende der Ausstattung vergingen durchschnittlich 40,5 Minuten (n = 40). Die Dauer zwischen Schaumstart und Bedeckung der Tiere betrug im Mittel 3 Sekunden (n = 37). Zwischen Bedeckung und Öffnen der Versuchsbox vergingen im Durchschnitt 218 Sekunden und 38 Sekunden zwischen Öffnen der Versuchsbox (das Tier weiterhin von Schaum bedeckt) und der unmittelbar nach Entfernung des Schaums sich anschließenden Tötung des betäubten Tieres durch Entblutung nach vorangegangener Reflexprüfung (n = 34).

4.2 Versuchsbedingungen

4.2.1 Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit

Die Umgebungstemperatur, bei der sich die Schweine im Versuchsraum befanden (Zeit zwischen Ankunft im Versuchsraum und Tötung), lag bei durchschnittlich 14 °C (n = 39) und variierte unter den Schweinen zwischen 5,6 °C und 19,17 °C.

Die Luftfeuchtigkeit während dieser Zeit betrug durchschnittlich 85 % (n = 38) und variierte unter den Schweinen zwischen 55,4 % und 99,7 % (Anhang Tabelle 12.2).

4.2.2 Lautstärke

Die Lautstärke der Schaumdüsen im ansonsten ruhigen Raum lag außerhalb des Versuchs (ohne Schwein) bei 72 dB. Es war daher davon auszugehen, dass die Lautstärke während des Versuchs durch Geräusche des Tieres und die Anwesenheit mehrerer Personen oberhalb 72 dB lag.

Die Lautstärke im Versuchsraum bei der Ausstattung des Tieres mit der Messtechnik lag bei durchschnittlich 66,9 dB (n = 27). Während der Versuchsdurchführung stieg die Lautstärke auf durchschnittlich 77,55 dB an (n = 30). Die auf das Tier einwirkenden Gesamtlautstärke (Vorbereitung und Versuch) betrug durchschnittlich 74,85 dB (n = 27).

Die Lautstärke schwankte zwischen den Versuchen während der Ausstattung um 12,6 dB und um 5,5 dB während der Expositionsdauer des Tieres mit hochexpansivem, Stickstoff-

gefülltem Schaum. Die über die gesamte Zeit auf das Tier einwirkende Lautstärke schwankte zwischen den Versuchen um 10,5 dB.

Bei 52 % der Tiere zeigte sich ein Schallpegelzuwachs von mindestens 10 dB zwischen Ausstattung des Tieres mit der Messtechnik und des Betäubungsvorgangs (Anhang Tabelle 12.3).

4.2.3 Schaumbeschaffenheit

4.2.3.1 Restsauerstoffgehalt

Der Restsauerstoff auf Nasenhöhe des Tieres lag durchschnittlich bei 0,66 % O₂ (n = 34). Lediglich der Restsauerstoffgehalt von einem Tier lag mit 1,18 % O₂ (Nasenhöhe) oberhalb der geforderten 1 %.

Bis zum Versuch 19 zeigten die Werte des Sauerstoffsensors auf Bodenhöhe ähnliche Werte wie der Sauerstoffsensor auf Nasenhöhe des Tieres. Ab Tier 20 schwankten die gemessenen Restsauerstoffwerte zwischen 1,06 % und 2,96 % (Anhang Tabelle 12.4).

Der Restsauerstoffgehalt auf Nasenhöhe des Tieres hatte keinen Einfluss auf die Parameter Zeitraum mit kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen, die Dauer bis zur Reduzierung der Atemfrequenz ≤ 3 Atemzüge/min, sowie die Zeitspanne, in der vereinzelte Lautäußerungen festgestellt wurden.

4.2.3.2 Temperatur

Die durchschnittliche Temperatur im Schaum lag bei 13,27 °C (n = 39). Bei den Tieren 18-20 und 34-40 lag mit 3,7 °C bis 8,6 °C eine auffallend niedrigere Schaumtemperatur vor als bei den übrigen 30 Tieren (Anhang Tabelle 12.4, S. 188).

4.2.3.3 Blasengröße

Die durchschnittliche Anzahl an Schaumblasen mit Radien $> 7,5$ mm lag bei 94% (n = 26).

4.3 Beurteilung der Betäubung

4.3.1 pCO₂, pO₂ und Atemtätigkeit

4.3.1.1 pCO₂ und pO₂

Die transkutane Blutgasanalyse konnte bei sieben Tieren erfolgreich durchgeführt werden. Die Basiswerte für pCO₂ schwankten zwischen 32 und 55 mmHg bei einem Median von 47 mmHg (Q₁: 45 mmHg; Q₃: 51 mmHg). Die Abbildung 4.1 zeigt die transkutan gemessenen Basiswerte für pCO₂ beim Schwein.

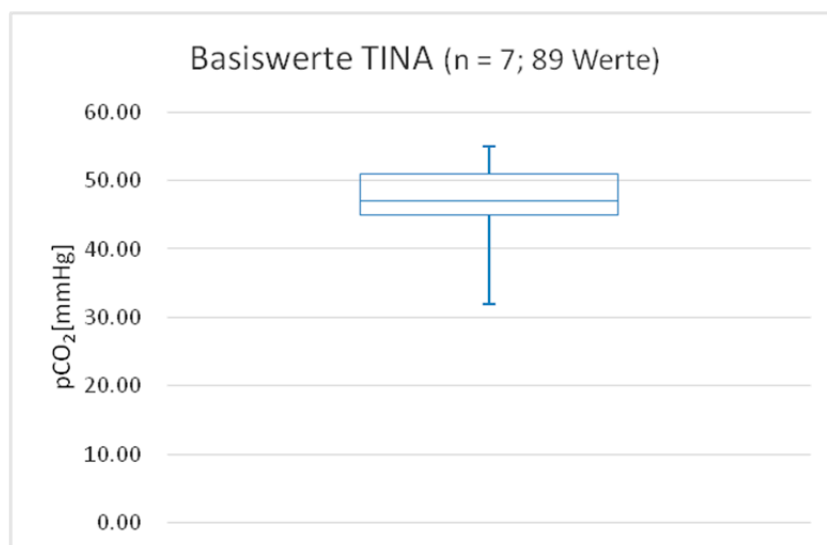
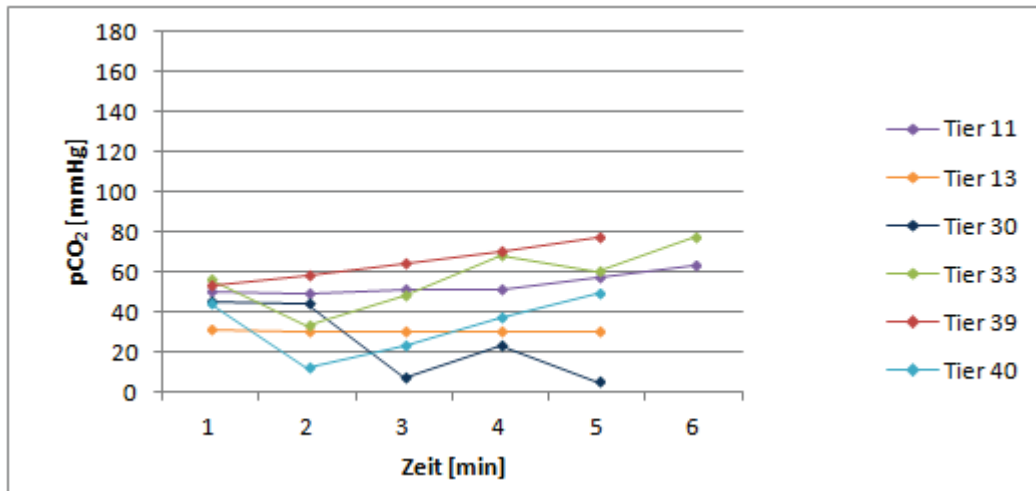
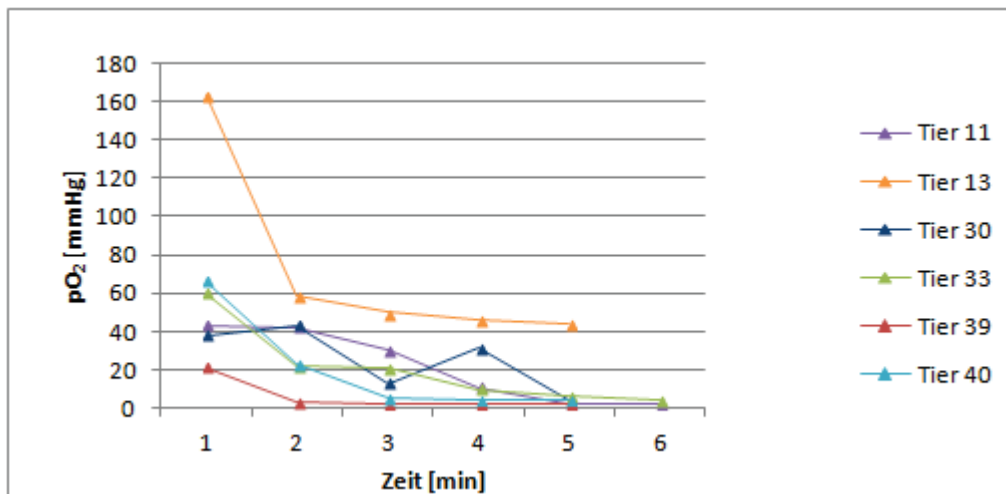


Abbildung 4.1 Basiswerte der transkutan erhobene Basiswerte für pCO₂

Die transkutane Blutgasanalyse konnte bei 6 von 7 Schweinen bis zum Ende der Betäubung ohne Verlust des Sensors und ohne störenden Sauerstoffeintrag bei Bewegungen des Tieres durchgeführt werden. Die Abbildung 4.2 und die Abbildung 4.3 zeigen den graphischen Verlauf der pCO₂ und pO₂-Messungen.

Abbildung 4.2 Verlauf der pCO₂- MessungAbbildung 4.3 Verlauf der pO₂- Messung

Eine Erhöhung um > 20 mm Hg in Kombination mit der Überschreitung eines Wertes von 60 mm Hg lag lediglich bei Tier 39 vor und geschah innerhalb der 3. Messminute ab Schaumbedeckung. Ein Sinken der AF auf einen Wert ≥ 3 Atemzüge/min lag nach 180 Sekunden ab dem Zeitpunkt der Bedeckung vor. Der endgültige Atemstillstand (AF = 0 Atemzüge/min) erfolgte für dieses Tier entsprechend der zeitgleich durchgeführten Messungen des Respirationsmoduls von TMSi 30 Sekunden vor Herausnahme des Tieres (200 Sekunden nach Bedeckung). Die transkutan erhobenen Messwerte für dieses Tier sind neben den Messwerten von Tier 11 exemplarisch dargestellt (Anhang Tabelle 12.5, S. 189).

4.3.1.2 Atemtätigkeit

Die ermittelte Atemfrequenz (AF) der Tiergruppe im Wartestall betrug im Durchschnitt 33 Atemzüge/min (Q_1 : 28 Atemzüge/min; Q_3 : 38,5 Atemzüge/min; $n = 40$). Die AF vor Schaumstart betrug durchschnittlich 36 Atemzüge/min (Q_1 : 30 Atemzüge/min; Q_3 : 48 Atemzüge/min; $n = 38$) und die AF zum Zeitpunkt der Bedeckung mit Schaum lag bei durchschnittlich 33 Atemzügen/min (Q_1 : 18 Atemzüge/min; Q_3 : 60 Atemzüge/min; $n = 18$). Die Mediane der Atemfrequenzen zu den verschiedenen Zeitpunkten unterscheiden sich nicht (Abbildung 4.4).

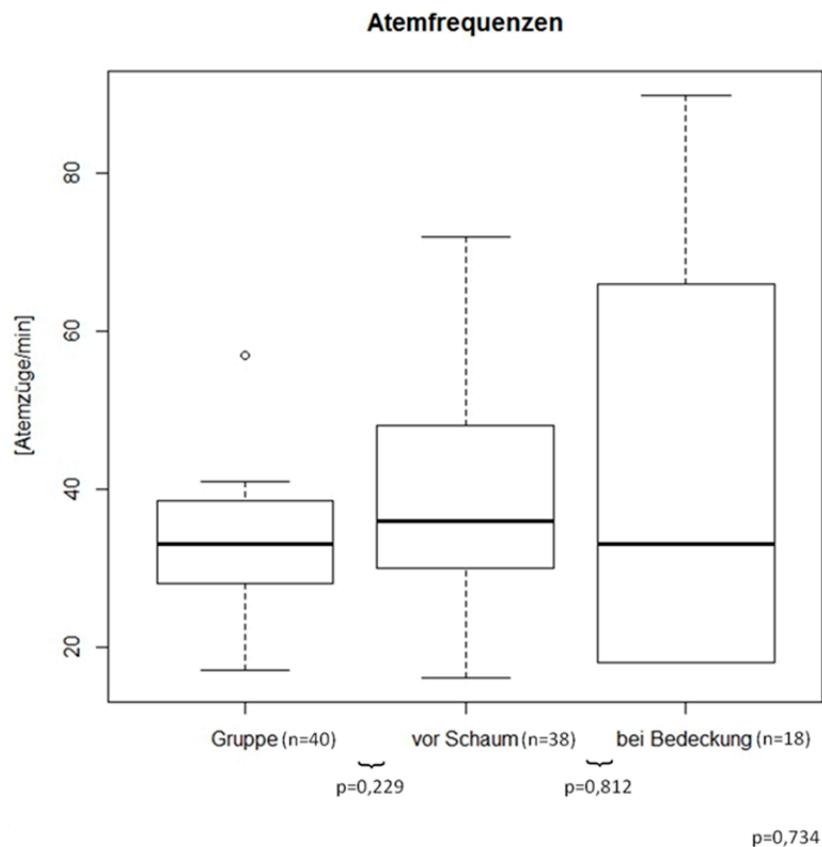


Abbildung 4.4 Atemfrequenzen Basiswert, vor Schaumstart und bei Bedeckung

Die Atemfrequenz zum Zeitpunkt der Schaumbedeckung variiert trotz der geringsten Tierzahl am stärksten. Die durchschnittliche AF von Tieren, die Vokalisationen zeigten, betrug zum Zeitpunkt der Schaumbedeckung 33 Atemzüge/min (Q_1 : 18 Atemzüge/min; Q_3 : 68 Atemzüge/min, $n = 12$). Die AF von Tieren, die keine Vokalisationen zeigten, betrug zu diesem Zeitpunkt 30 Atemzüge/min (Q_1 : 20 Atemzüge/min; Q_3 : 36 Atemzüge/min; $n = 6$). Die Mediane der Atemfrequenzen von Tieren mit und ohne Vokalisationen unterscheiden sich nicht (Abbildung 4.5).

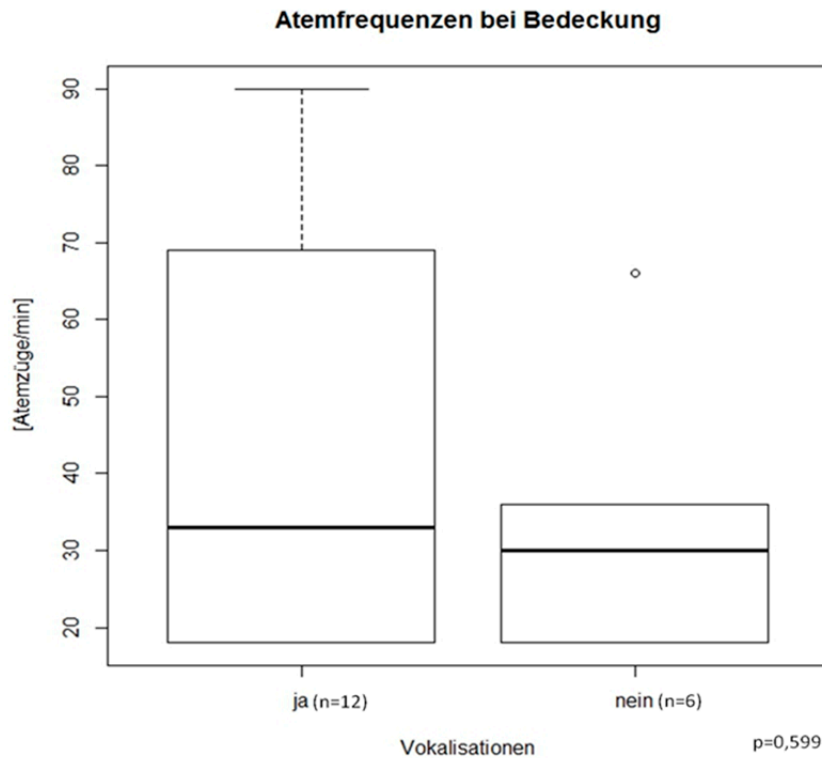


Abbildung 4.5 Atemfrequenzen der Tiere mit und ohne Vokalisationen

Zur Ermittlung eines Zustandes, in dem die Aufrechterhaltung der Vitalfunktion dauerhaft nicht gegeben ist, wurde eine kritische AF von ≤ 3 Atemzügen/min festgelegt. Das Erreichen dieses Grenzwertes erfolgte im Mittel nach 160 Sekunden (Q_1 : 130 Sekunden; Q_3 : 185 Sekunden; $n = 15$). Der endgültige Atemstillstand erfolgte im Mittel nach 200 Sekunden (Q_1 : 180 Sekunden; Q_3 : 210 Sekunden; $n = 13$). Bei zwei Tieren erfolgte der Atemstillstand vor der Herausnahme des Tieres aus der Versuchsbox nicht. Bei einem dieser Tiere betrug die AF 2 Atemzügen/min bei der Herausnahme. Zum Zeitpunkt der Tötung war keine Atemtätigkeit mehr zu verzeichnen. Bei dem anderen Tier sank die AF 20 Sekunden vor der Tötung auf 3 Atemzügen/min und lag zum Zeitpunkt der Tötung bei 1 Atemzug/min. Abbildung 4.6 zeigt den Verlauf der Atemfrequenzmessung aller Tiere ($n = 15$). Die rote Linie markiert den kritischen Grenzwert von ≤ 3 Atemzügen/min.

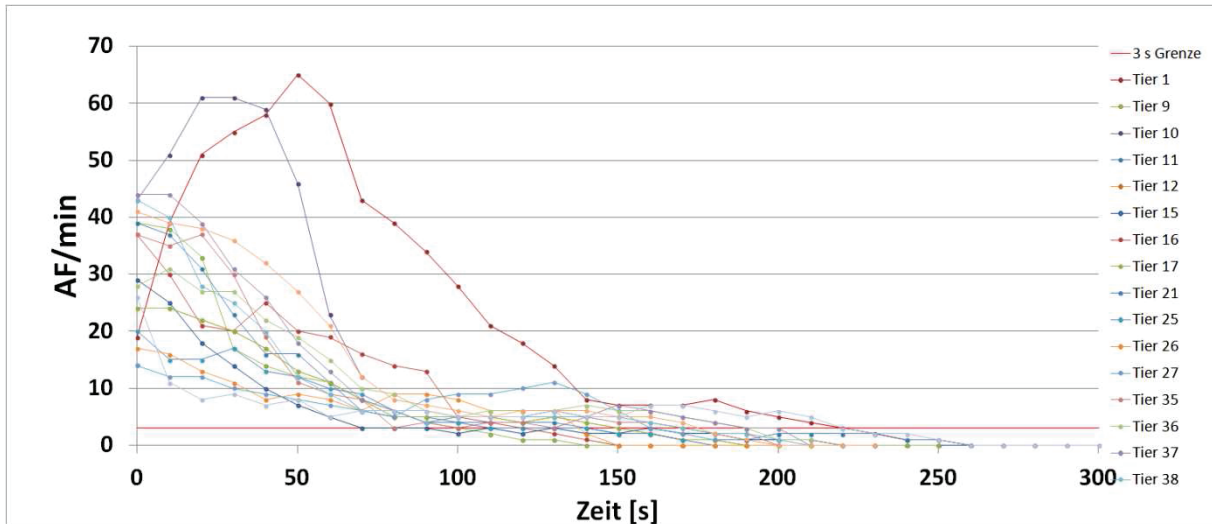


Abbildung 4.6 Darstellung der AF im 10 Sekundenintervall

4.3.2 Herzfrequenz

Die durchschnittliche Herzfrequenz (HF) vor Schaumstart lag bei 102 Schlägen/min (Q_1 : 94,5 Schläge/min; Q_3 : 102 Schläge/min; $n = 28$). Die durchschnittliche Herzfrequenz zum Zeitpunkt der Schaumbedeckung lag ebenfalls bei 102 Schlägen/min (Q_1 : 90 Schläge/min; Q_3 : 114 Schläge/min; $n = 17$). Die Mediane der Herzfrequenz vor Schaumstart und während der Schaumbedeckung unterscheiden sich nicht (Abbildung 4.7).

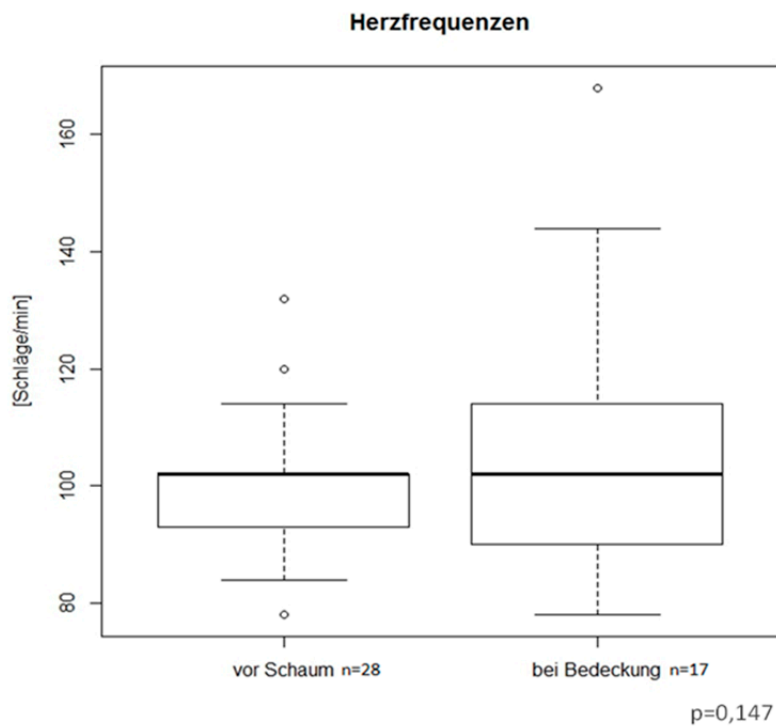


Abbildung 4.7 Herzfrequenzen vor Schaumstart und bei Bedeckung

Der nach visuellen Kriterien beurteilte Anoxieeintritt (morphologische Veränderungen im EKG im Sinne einer Umkehr der T-Welle (Abbildung 3.17), einer Erhöhung des ST-Streckenverlaufes oder der Ausbildung von ventrikulären Extrasystolen) erfolgte nach durchschnittlich 80 Sekunden (Q_1 : 75,5 Sekunden; Q_3 : 94,5 Sekunden; $n = 15$).

4.3.2.1 dichotomisierte Atem- und Herzfrequenzen:

Die Überprüfung der nach visuellen und verhaltensgestützten Kriterien getroffene Einteilung der Tiere in ruhige und unruhige Tiere zum Zeitpunkt der Ausstattung, der Schaumbedeckung und der Betäubung stimmte nicht mit der Abweichung der AF und HF von $\geq 3/\text{min}$ überein. Ein Anstieg der AF von 3 oder mehr führte nicht gleichzeitig zu einem Anstieg der HF von 3 oder mehr.

4.3.3 Körperinnentemperatur

Die durchschnittliche Körperinnentemperatur lag bei 39,25 °C (Q_1 : 38,95 °C; Q_3 : 39,56 °C; $n = 31$). Sie schwankte innerhalb eines Messintervalls um weniger als die zuvor bestimmte Messtoleranz der Datenlogger von 0,5 °C. Die Körpertemperatur der Tiere wurde weder von der Umgebungstemperatur, noch von der Schaumtemperatur beeinflusst. Ein Anstieg der Körpertemperatur nach dem Todeszeitpunkt konnte bei keinem Tier festgestellt werden.

4.3.4 Körperbeschleunigung und Körperbewegungen

Die Ergebnisse der Videoauswertung wurden durch die Auswertung der Bewegungssensoren bestätigt. Der Abgleich zwischen Beschleunigungssensoren und Videoauswertung ergab in allen Fällen eine sekundengenaue Übereinstimmung.

Die Bewegungen der Tiere (kontinuierlich und sporadisch) begannen im Anschluss an die Schaumbedeckung nach durchschnittlich 12 Sekunden (Q_1 : 9 Sekunden; Q_3 : 15 Sekunden; $n = 38$) und waren über einem Zeitraum von 68,5 Sekunden (Q_1 : 58,5 Sekunden; Q_3 : 88,5 Sekunden; $n = 33$) feststellbar.

Abbildung 4.8 stellt die vom Beschleunigungssensor aufgenommenen Daten für ein Tier exemplarisch dar.

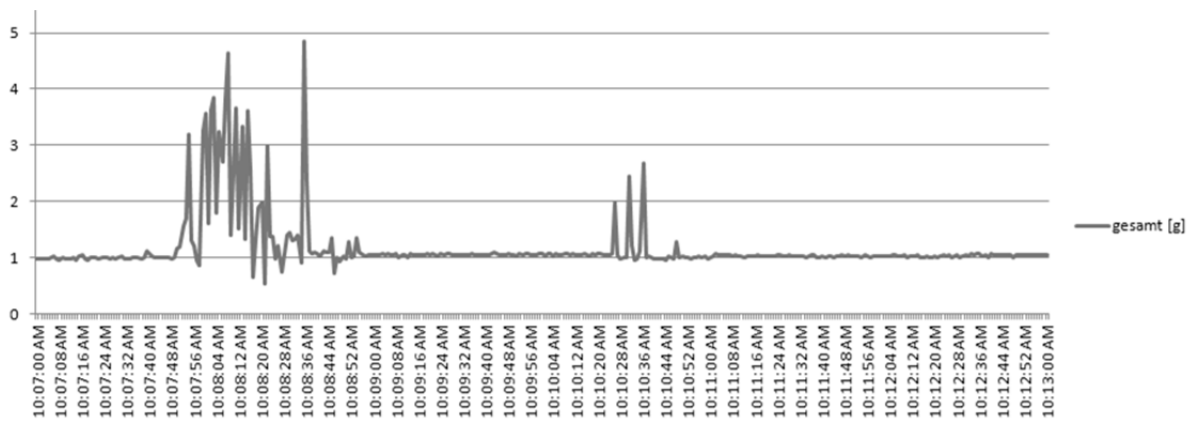


Abbildung 4.8 Bewegungen eines Tieres, gemessen in g (= Beschleunigung)

Die Videoauswertung ergab, dass der Beginn der Bewegungen bei den meisten Tieren deutlich erkennbar bei noch vorhandenem Bewusstsein und als Fluchtbewegung erfolgte. Bei einigen Tieren war diese Beurteilung nicht möglich, weil sie zu diesem Zeitpunkt bereits komplett mit Schaum bedeckt waren und die Erfassung von Bewegungen nur über die Schwingungen der Schaumdecke möglich war. Kontinuierliche Bewegungen dauerten im Durchschnitt für 41 Sekunden (Q_1 : 29 Sekunden; Q_3 : 51 Sekunden; $n = 19$) an und sporadische Bewegungen traten in einem Zeitraum von 34 Sekunden auf (Q_1 : 19,25 Sekunden; Q_3 : 52,25 Sekunden; $n = 19$). 24 von 34 Tieren (71 %) zeigten Bewegungen (kontinuierlich und sporadisch) von ≥ 60 Sekunden. Das Ende aller Bewegungen (kontinuierlich und sporadisch) nach Schaumbedeckung erfolgte im Mittel nach 84,5 Sekunden (Q_1 : 62,75 Sekunden; Q_3 : 102,25 Sekunden; $n = 33$).

Der Zeitpunkt des Standverlusts der Tiere konnte aufgrund technischer Mängel nicht sicher bestimmt werden.

4.3.5 Tierverhalten während der Exposition

Das Verhalten der Tiere bei Schaumstart und bei Bedeckung wurde bei 39 Tieren mittels Videoanalyse untersucht. Bei einem Tier kam es zum Verlust von Videomaterial.

Aus den Versuchsaufzeichnungen und mittels Videoanalyse wurden die Tiere in die Gruppen ruhig (Verhaltensweisen wie Fressen, Schnüffeln, fehlende Lautäußerungen, wenige Körperbewegungen) und unruhig (Verhaltensweisen wie Fluchtversuche, Lautäußerungen, vermehrte Körperbewegungen) eingeteilt.

Die Abbildung 4.9 zeigt das beobachtete Verhalten der Tiere während der Ausstattung, der Schaumbedeckung und der Betäubung der Tiere in Prozent.

Das Verhalten von 15 % der Tiere konnte zum Zeitpunkt der Ausstattung nicht sicher einer Gruppe zugeordnet werden, da diese Tiere sowohl ruhige als auch unruhige Verhaltensweisen zeigten. Für ebenfalls 15 % der Tiere konnte für den Betäubungsvorgang aufgrund von Versuchsabbruch oder fehlenden Videomaterials keine Einteilung erfolgen.

Von den 31 % der Tiere, die unruhiges Verhalten während der Bedeckung zeigten, trat dieses in 75 % der Fälle unmittelbar zum Zeitpunkt der Bedeckung und in 25 % mehr Sekunden im Anschluss an die Bedeckung ein.

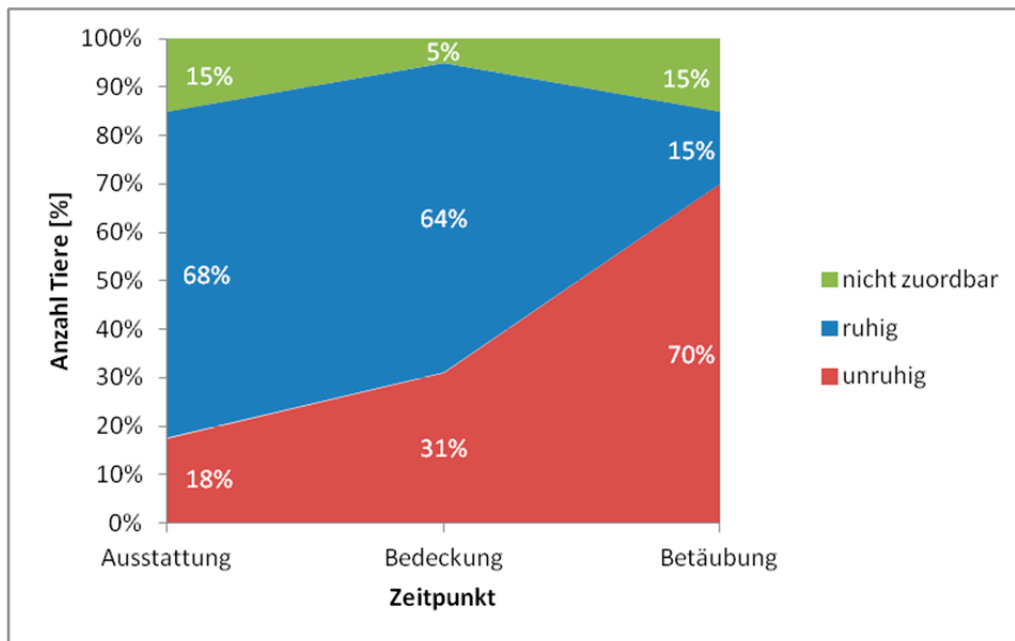


Abbildung 4.9 Tierverhalten zu verschiedenen Zeitpunkten

Lautäußerungen traten in 67 % der Fälle auf. Bei den Lauten handelte es sich fast ausschließlich um vereinzelte (nicht durchgehend abgegebene) Schreilaute, welche nicht mit Lauten verwechselt werden können, die auch ohne Bewusstsein ablaufen können (z.B. Kehlkopf- oder Atemgeräusche). Separates Grunzen der Tiere im Schaum ohne Beteiligung von Schreilauten trat nicht auf.

Die Lautäußerungen begannen im Durchschnitt 49 Sekunden nach Schaumbedeckung (Q_1 : 40 Sekunden; Q_3 : 61 Sekunden; $n = 26$) und waren durchschnittlich über einen Zeitraum von 11 Sekunden (Q_1 : 4 Sekunden; Q_3 : 27 Sekunden; $n = 24$) feststellbar. 58 % der Tiere zeigten Lautäußerungen ≥ 10 Sekunden (vergl. Tabelle 4.1). 60 % davon zeigten ebenfalls Bewegungen (kontinuierlich und sporadisch) für einen Zeitraum von ≥ 60 Sekunden. Die entsprechenden Tiere sind in Tabelle 4.1 unterstrichen.

Bei 42 % der Tieren stimmte die Längen der Zeiträume mit Auftreten von Lautäußerungen mit denen der Bewegungen überein (Unterschied < 10 Sekunden). Bei jeweils 29 % der Tiere war der Zeitraum mit Bewegungen länger bzw. kürzer als die Zeiträume mit Auftreten von Lautäußerungen. Das Ende der Lautäußerungen nach Schaumbedeckung erfolgte durchschnittlich nach 65 Sekunden (Q_1 : 52 Sekunden, Q_3 : 101 Sekunden).

Tabelle 4.1 Tiere mit Lautäußerungen ≥ 10 Sekunden Dauer (unterstrichene Tiere ebenfalls mit Bewegungsdauern ≥ 60 Sekunden)

Lautäußerungen	Versuchstiernummer
≥ 10 Sekunden	9, 11, 13, <u>17</u> , 18, <u>21</u> , <u>26</u> , <u>27</u> , <u>29</u> , <u>30</u> , <u>31</u> , <u>34</u> , 37, 38, <u>39</u>

4.3.6 Reflexe und Tierreaktionen nach der Exposition

4.3.6.1 Reflexprüfung und Nachbetäubung

5 % der Tiere zeigten direkt im Anschluss an die Exposition einen positiven Cornealreflex. Bei weiteren 10 % der Tiere war der Cornealreflex direkt im Anschluss an die Exposition nicht auslösbar, kehrte aber nach 52 bis 144 Sekunden nach dem Entblutestich (bei fortlaufenden Reflexprüfungen) zurück.

Der Nasenscheidewandreflex war in 5 % der Fälle positiv und bei weiteren 5 % fraglich positiv.

7,5 % der Tiere zeigten Kopfheben, davon in einem Fall unmittelbar nach Herausnahme und in zwei Fällen nach 25 bzw. 46 Sekunden im Anschluss an die Herausnahme.

Der Pupillarreflex war in keinem Fall auslösbar.

Der Flexorreflex, ausgelöst im Zwischenklauenspalt war durch die Position des Tieres in der Hängematte in den meisten Fällen nur eingeschränkt beurteilbar.

Alle Tiere mit positiver Reflexantwort wurden unmittelbar nachbetäubt (Anhang Tabelle 12.6, S. 189).

Eine Nachbetäubung aufgrund technischen Versagens erfolgte in 7,5 % der Fälle und in 20 % aufgrund mangelhafter Betäubungsqualität.

4.3.6.2 Gasping

12,5 % der Tiere zeigten Gasping.

Tier 10 zeigte nach Herausnahme aus der Box Gasping, jedoch keine auslösbaren Reflexe.

65 Sekunden nach der Herausnahme kehrte der Cornealreflex während kontinuierlicher Reflexprüfungen zurück.

Tier 21 zeigte im Anschluss an die Exposition Gasping mit leichten Rückwärtsbewegungen des Kopfes bei der Inspiration. Pupillar- und Cornealreflex waren nicht auslösbar. Die Überprüfung des Nasenscheidewandreflexes war durch die Lage des Tieres nicht möglich.

Tier 23 zeigte direkt im Anschluss an die 3,5 minütige Exposition im Stickstoffschaum Gasping. Auch nach wiederholter Prüfung war kein Reflex auslösbar. Nach dem Entblutestich kehrten nach 144 Sekunden und fortgesetzten Reflexprüfungen Bewegungen, sowie der Cornealreflex zurück.

Tier 28 zeigte direkt im Anschluss an die 3,5 minütige Exposition im Stickstoffschaum Gasping und einen fraglichen Nasenscheidewandreflex. Die erneute Reflexprüfung fiel negativ aus. Der Cornealreflex kehrte bei fortgesetzten Reflexprüfungen trotz massiven Blutverlustes nach 107 Sekunden zurück.

Tier 34 zeigte direkt im Anschluss an die 3,5 minütige Exposition im Stickstoffschaum Gasping und einen fraglichen Nasenscheidewandreflex. Nach 52 Sekunden kehrte der Cornealreflex während kontinuierlicher Reflexprüfungen zurück.

Alle Tiere, die Gasping zeigten (Anhang Tabelle 12.6, S. 189), wurden nachbetäubt.

4.3.6.3 "stun-to-stick"-Intervall

Da ein zuverlässiger und sicher reproduzierbarer Betäubungserfolg unter Berücksichtigung der Veränderung des Versuchsdesigns während der laufenden Versuche nicht gewährleistet werden konnte, wurde auf eine Ermittlung des "stun-to-stick"- Intervalls verzichtet.

4.3.7 EEG und sensorisch evozierte Potentiale

Die Auswertung der EEG- Messungen konnte im Rahmen dieser Arbeit aufgrund softwarebedingter Mängel nicht erfolgen.

4.3.8 Stichblut

4.3.8.1 pH-Wert und Temperatur

Der pH-Wert des Stichblutes lag durchschnittlich bei 7 (Q₁: 7; Q₃: 7; n = 36). Die Stichbluttemperatur lag durchschnittlich bei 34 °C (Q₁: 33 °C; Q₃: 35 °C; n = 35).

4.3.8.2 Katecholamine

4.3.8.2.1 Adrenalin

Der Adrenalin Gehalt lag nach der Betäubung mit Stickstoffschaum durchschnittlich bei 67,14 ng/ml (Q₁: 45,07 ng/ml; Q₃: 85,17 ng/ml; n = 39). Der Adrenalin Gehalt im Stichblut von Tieren ohne Nachbetäubung lag durchschnittlich bei 75,17 ng/ml (Q₁: 49,26 ng/ml; Q₃: 87,17 ng/ml; n = 29) und von Tieren mit erforderlicher Nachbetäubung bei 59,35 ng/ml (Q₁: 41,40 ng/ml; Q₃: 77,11 ng/ml; n = 10). Die Adrenalin Gehalte unterscheiden sich bei Tieren ohne oder mit erforderlicher Nachbetäubung nicht (Abbildung 4.10).

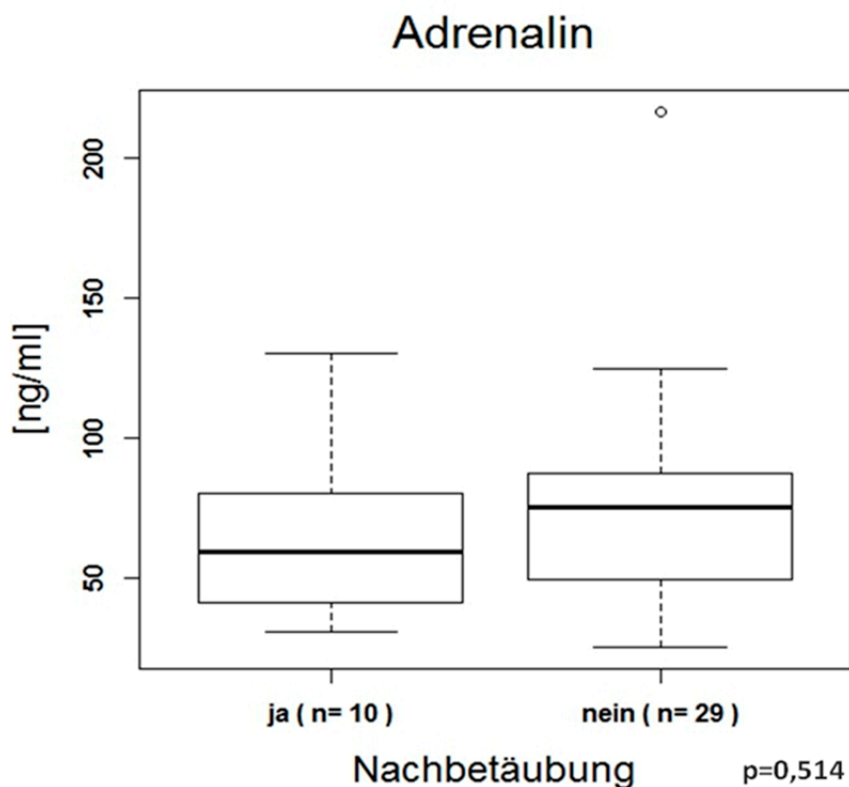


Abbildung 4.10 Adrenalin Konzentrationen von Tieren mit und ohne Nachbetäubung

4.3.8.2.2 Noradrenalin

Der Noradrenalingehalt nach der Betäubung mit Stickstoffschaum lag durchschnittlich bei 140,77 ng/ml (Q₁: 102,10 ng/ml; Q₃: 221,02 ng/ml; n= 39). Der Noradrengehalt im Stichblut von Tieren ohne Nachbetäubung lag durchschnittlich bei 164,22 ng/ml (Q₁: 102,68 ng/ml; Q₃: 221,06 ng/ml; n = 29) und von Tieren mit erforderlicher Nachbetäubung bei 138,64 ng/ml (Q₁: 96,03 ng/ml; Q₃: 144,73 ng/ml; n = 10). Die Noradrenalingehalte unterscheiden sich bei Tieren ohne oder mit erforderlicher Nachbetäubung nicht.

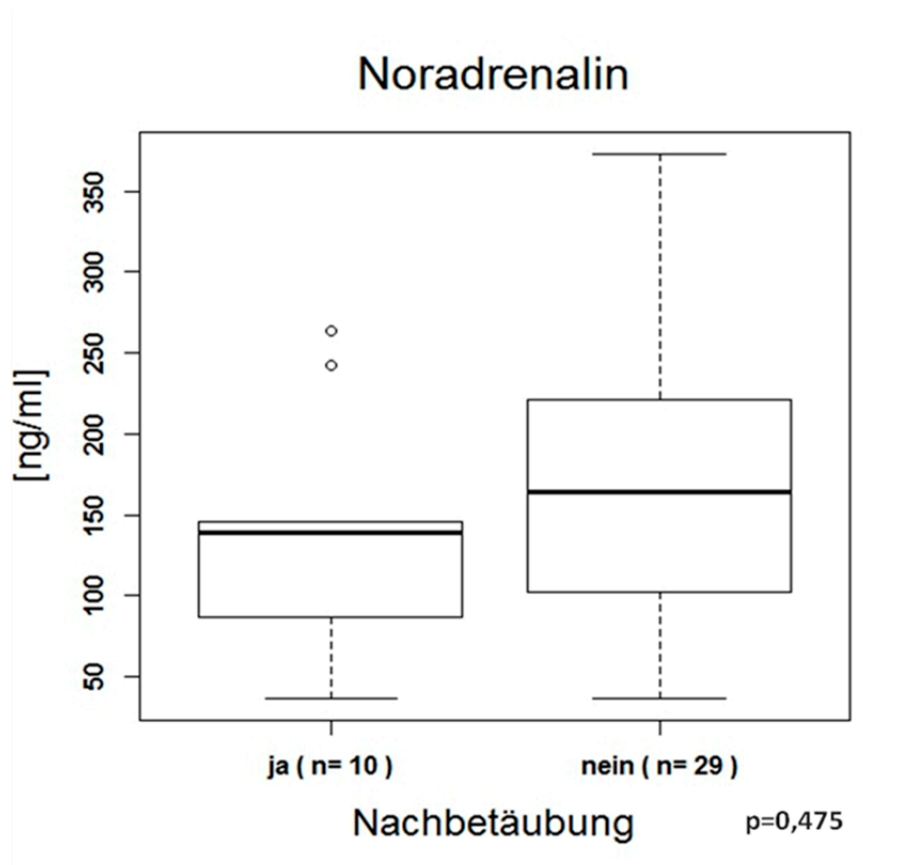


Abbildung 4.11 NoradrenalinKonzentrationen von Tieren mit und ohne Nachbetäubung

4.3.8.3 Creatinkinase, Aspartataminotransferase und CK/ASAT-Quotient

Die Aktivität des Enzyms Creatinkinase (CK) lag durchschnittlich bei 6.375 U/l (Q₁: 3.823 U/l; Q₃: 13.007 U/l; n = 39). Die Aspartataminotransferasekonzentration lag durchschnittlich bei 110,37 U/l (Q₁: 59,92 U/l; Q₃: 178,13 U/l; n = 39)

Der für das Vorliegen einer Belastungsmiopathie aussagekräftigere Quotient aus Creatinkinase (CK) und Aspartataminotransferase (ASAT) lag durchschnittlich bei 69,82 U/l (Q₁: 40,28 U/l; Q₃: 107,69 U/l; n = 39). Der CK/ASAT-Quotient im Stichblut von Tieren

ohne Nachbetäubung lag durchschnittlich bei 87,89 U/l (Q₁: 56,24 U/l; Q₃: 107,97 U/l; n = 29) und von Tieren mit erforderlicher Nachbetäubung bei 54,45 U/l (Q₁: 26,61 U/l; Q₃: 87,41 U/l; n = 10) (Abbildung 4.12). Insgesamt wiesen 28 % (n = 11) Tiere einen für eine Belastungsmyopathie sprechenden CK/ASAT-Quotienten von > 100 auf, davon fallen 23 % (n = 9) auf Tiere ohne Nachbetäubung und 5 % (n = 2) auf Tiere mit erforderlicher Nachbetäubung. Die CK/ASAT-Quotienten unterscheiden sich bei Tieren ohne oder mit erforderlicher Nachbetäubung nicht (Abbildung 4.12).

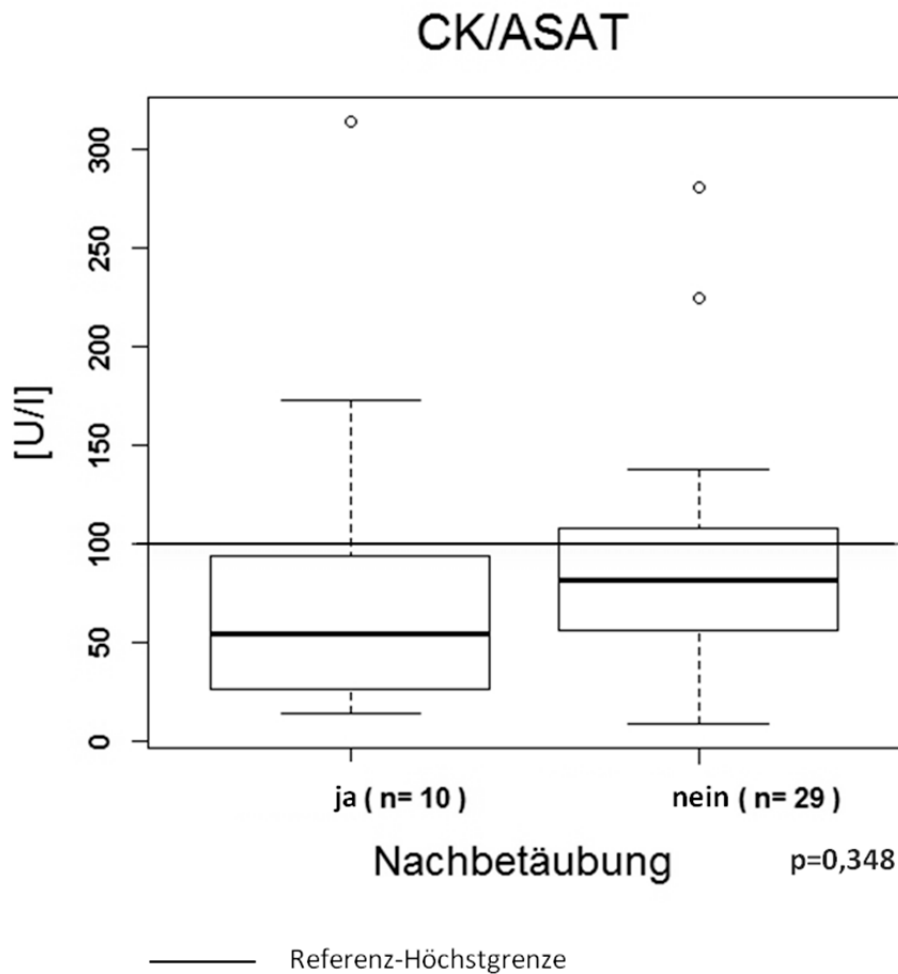


Abbildung 4.12 CK/ASAT- Quotient für Tiere mit und ohne Nachbetäubung mit eingezeichneter Referenz-Höchstgrenze

Zwischen dem Zeitraum mit kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen und dem CK/ASAT-Quotienten besteht kein Zusammenhang.

4.3.8.4 Laktat

Die Laktatwerte lagen bei durchschnittlich 14,45 mmol/l (Q_1 : 12,33 mmol/l; Q_3 : 16,76 mmol/l; $n = 39$). Die Laktatwerte im Stichblut von Tieren ohne Nachbetäubung lag durchschnittlich bei 14,45 mmol/l (Q_1 : 12,44 mmol/l; Q_3 : 17,65 mmol/l; $n = 29$) und von Tieren mit erforderlicher Nachbetäubung bei 14,83 mmol/l (Q_1 : 10,84 mmol/l; Q_3 : 16,00 mmol/l; $n = 10$). Die Laktatwerte von Tieren ohne oder mit erforderlicher Nachbetäubung unterscheiden sich nicht (Abbildung 4.13).

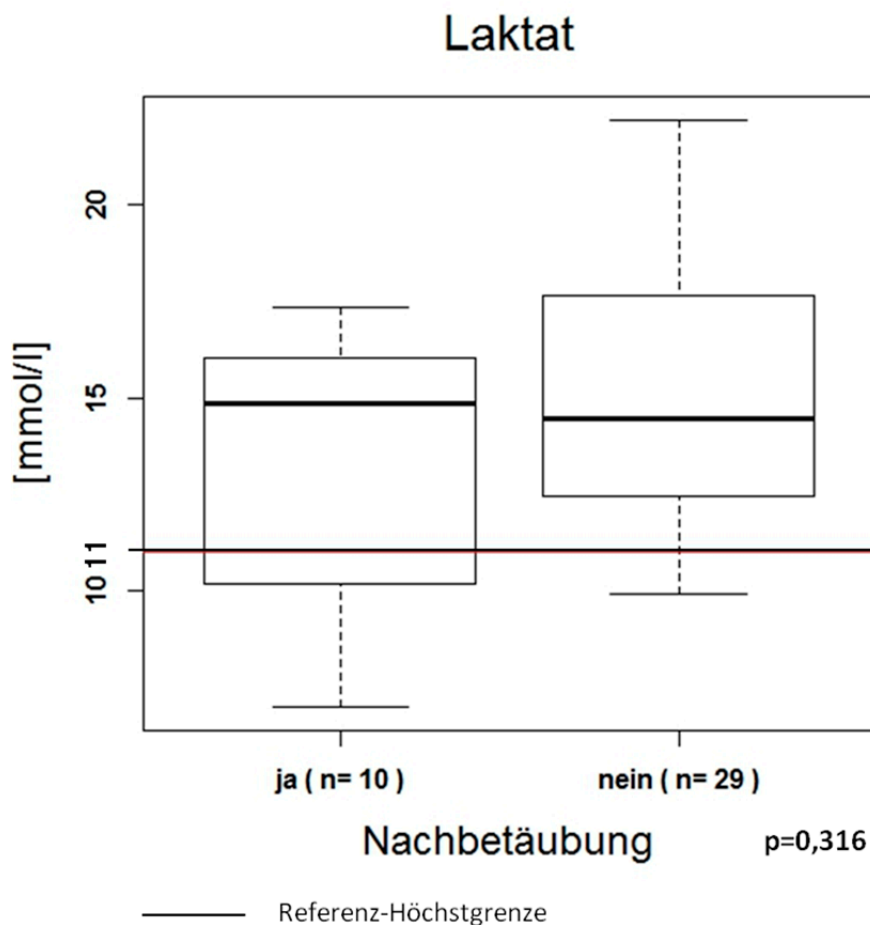


Abbildung 4.13 Einfluss der Nachbetäubung auf die Laktatkonzentration mit eingezeichneter Referenz-Höchstgrenze

Die Laktatkonzentration im Stichblut von Tieren ohne Vokalisationen lag durchschnittlich bei 14,99 mmol/l (Q_1 : 13,90 mmol/l; Q_3 : 16,93 mmol/l; $n = 13$) und von Tieren mit Vokalisationen bei 14,27 mmol/l (Q_1 : 12,23 mmol/l; Q_3 : 16,60 mmol/l; $n = 25$). Die Laktatkonzentrationen von Tieren ohne oder mit Vokalisationen unterscheiden sich nicht (Abbildung 4.14).

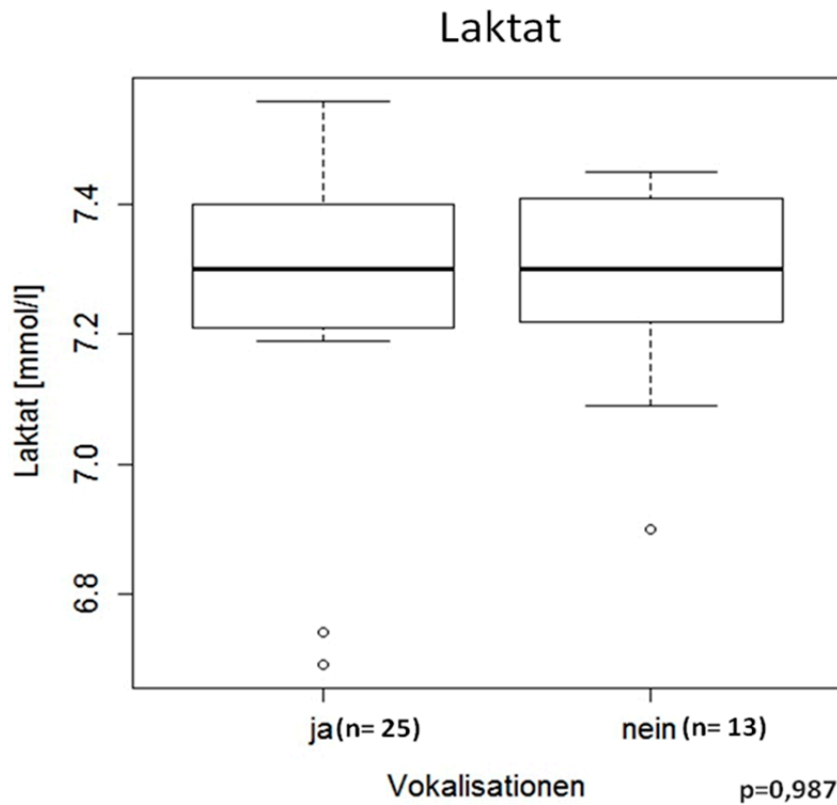


Abbildung 4.14 Einfluss von Vokalisationen auf die Laktatkonzentration

Zwischen dem Zeitraum mit kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen und der Laktatkonzentration im Stichblut, sowie zwischen der Laktatkonzentration und dem Zeitraum mit vereinzelt Vokalisationen besteht ebenfalls kein Zusammenhang.

4.3.8.5 Glukose

Der Glukosegehalt im Stichblut lag bei durchschnittlich 6,10 mmol/l (Q_1 : 5,61 mmol/l; Q_3 : 8,24 mmol/l; $n = 39$). Der Glukosegehalt im Stichblut von Tieren ohne Nachbetäubung lag durchschnittlich bei 6,04 mmol/l (Q_1 : 5,49 mmol/l; Q_3 : 7,05 mmol/l; $n = 29$) und von Tieren mit Nachbetäubung bei 8,24 mmol/l (Q_1 : 6,27 mmol/l; Q_3 : 10,10 mmol/l; $n = 10$). Die Glukosegehalte von Tieren ohne oder mit erforderlicher Nachbetäubung unterscheiden sich nicht.

Eine Korrelation zwischen Glukose und Laktat konnte in diesen Versuchen nicht nachgewiesen werden. Auch der Zeitraum, in dem Bewegungen auftraten, hatte keinen Einfluss auf den Glukosegehalt im Stichblut

4.4 Beurteilung des Schaumgehalts in den Schlachtlungen

Es wurden 29 Lungen auf Schaumrückstände untersucht. Davon wiesen 21 Lungen (72 %) Schaumrückstände, teilweise bis tief in die Spitzenlappen auf.

4.5 Beurteilung der Fleischqualität

4.5.1 pH-Wert

Der pH_{24} pegelte sich sowohl im Schinken, wie auch im Kotelett bei 5,5 ein. Die Streuung für pH_{45} und pH_{24} war im Kotelett größer als im Schinken.

Tabelle 4.2 stellt die Ergebnisse der pH-Wertmessungen 45 Minuten und 24 Stunden post mortem dar:

Tabelle 4.2 Ergebnisse der pH- Wert Messung 45min. und 24h post mortem

	pH_{45} Schinken (n=33)	pH_{45} Kotelett (n=33)	pH_{24} Schinken (n=28)	pH_{24} Kotelett (n=30)
Median	6,31	6,0	5,5	5,5
Q₁	6,16	5,75	5,46	5,44
Q₃	6,46	6,15	5,57	5,56

Der pH_{45} im Schinken lag bei Tieren ohne Nachbetäubung durchschnittlich bei 6,39 (Q₁: 6,19, Q₃: 6,46; n = 24) und bei Tieren mit Nachbetäubung bei 6,17 (Q₁: 6,16, Q₃: 6,41; n = 9). Der pH_{45} im Kotelett lag bei Tieren ohne Nachbetäubung durchschnittlich bei 6,00 (Q₁: 5,74, Q₃: 6,18; n = 24) und bei Tieren mit Nachbetäubung bei 5,97 (Q₁: 5,75, Q₃: 6,05, n = 9). Die pH_{45} -Werte im Schinken und Kotelett von Tieren ohne oder mit erforderlicher Nachbetäubung unterscheiden sich nicht (Abbildung 4.15).

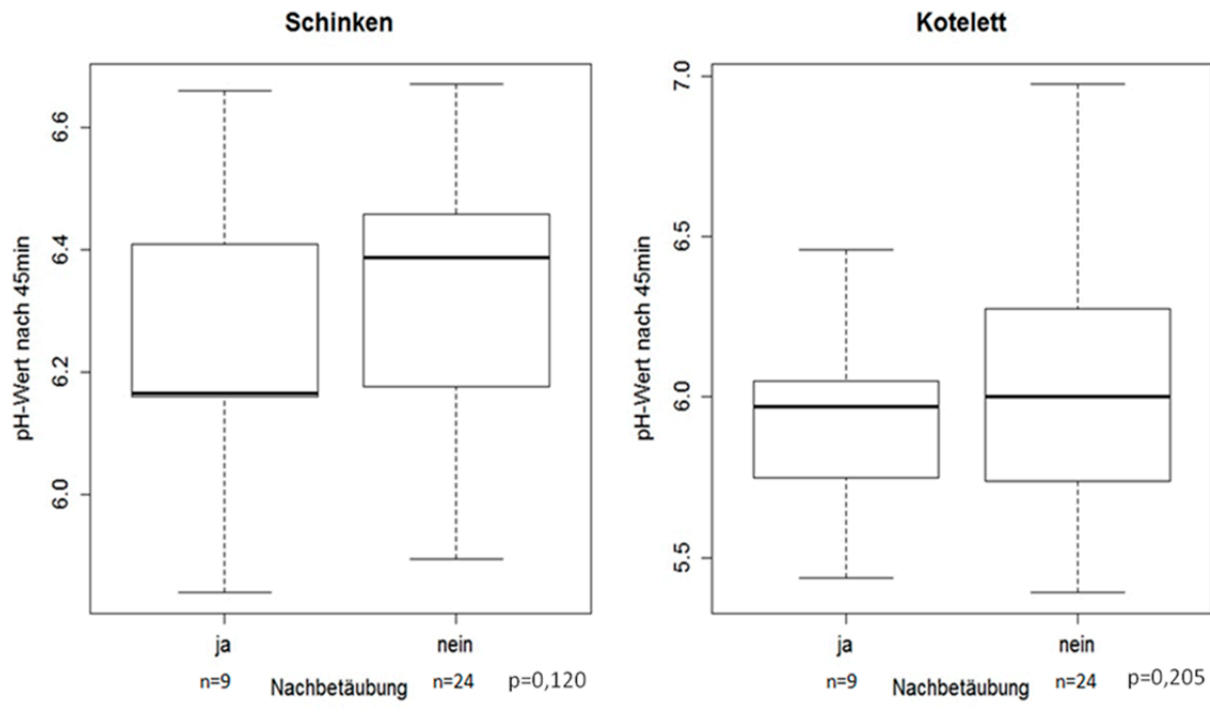


Abbildung 4.15 Zusammenhang zwischen pH_{45} im Schinken bzw. Kotelett und Nachbetäubung

Der pH_{45} im Schinken und die Stichblutlaktatwerte korrelieren nicht. Zwischen dem pH_{45} im Kotelett und den Stichblutlaktatwerten zeigte sich jedoch eine hochsignifikanter Korrelation. Zwischen dem Zeitraum, in dem Bewegungen auftraten und dem pH_{45} im Schinken oder im Kotelett besteht kein Zusammenhang. Abbildung 4.16 zeigt den Zusammenhang zwischen pH_{45} und dem Zeitraum, in dem Bewegungen auftraten, mit zusätzlicher Einteilung der Tiere in die drei Kategorien "ruhig während der Ausstattung", "ruhig während der Schaumbedeckung" und "ruhig während der Betäubung". Im Schinken wies kein Tier einen $\text{pH}_{45} < 5,8$ auf. Im Kotelett lagen die Teilstücke von sieben Tieren unterhalb des kritischen Grenzwertes von 5,6 für PSE- Fleisch, unabhängig davon, ob die Tiere ruhig oder unruhig waren.

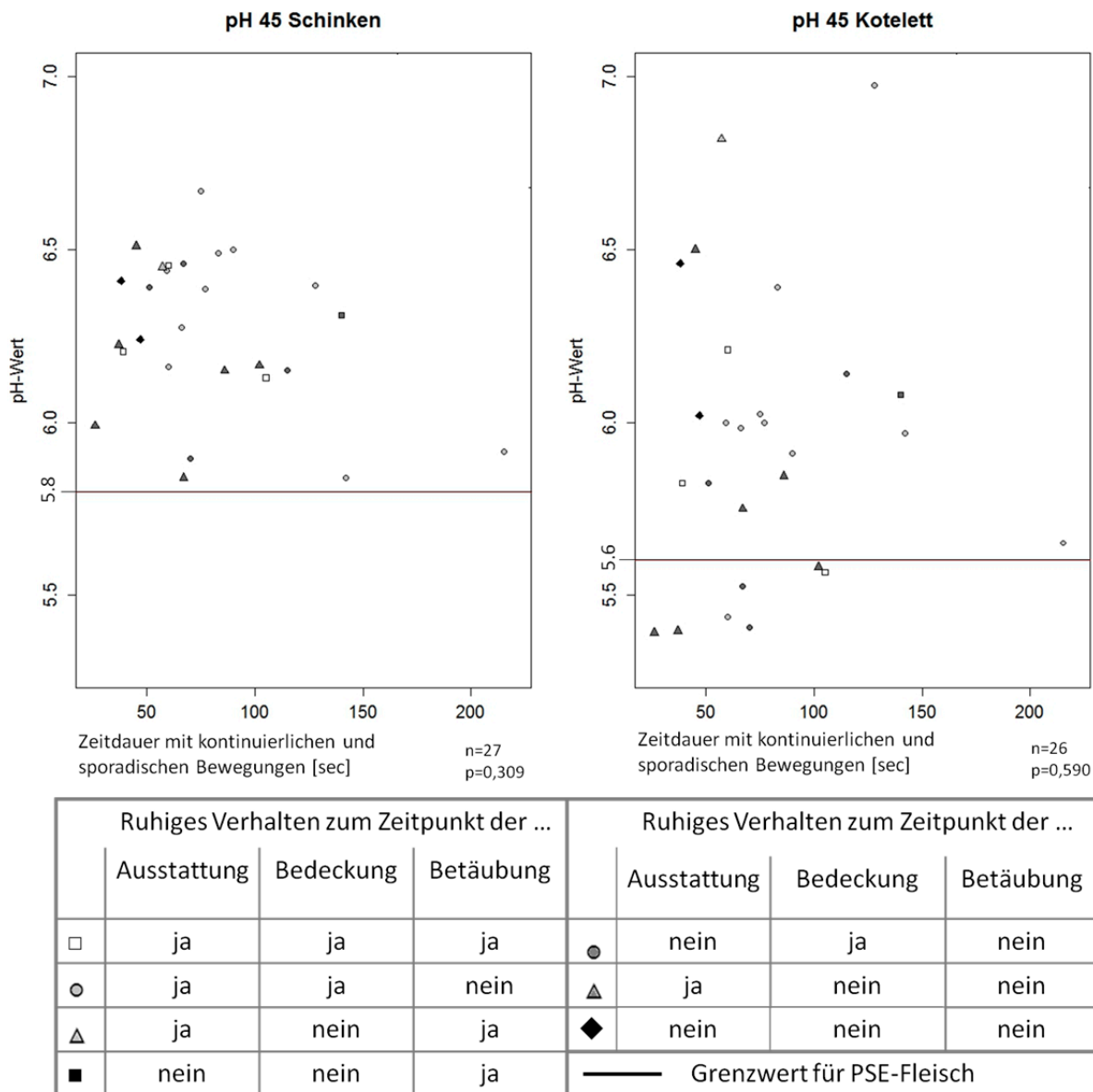


Abbildung 4.16 Zusammenhang zwischen pH₄₅ und Zeitdauer der kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen mit Grenzwert für PSE- Fleisch

Die Körperkerntemperatur der Tiere, die Wartezeit der Tiere zwischen Ankunft auf dem Schlachthof und der Verbringung in die Versuchsbox, sowie die Wartezeit bis zum Beginn des Versuches korrelieren nicht mit dem pH₄₅ in Schinken oder Kotelett.

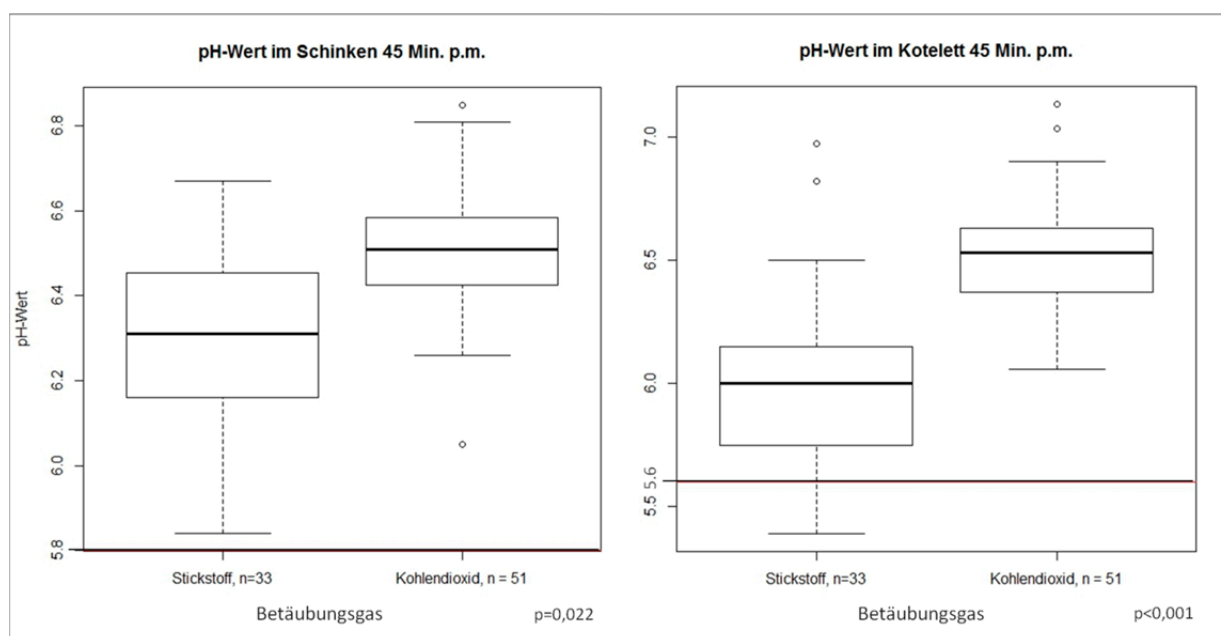
4.5.1.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Tabelle 4.3 stellt die Ergebnisse der pH-Wertmessungen der Kohlendioxidvergleichsgruppe 45 Minuten und 24 Stunden post mortem dar:

**Tabelle 4.3 Ergebnisse der pH- Wert Messung
der Kohlendioxidvergleichsgruppe 45min. und 24h post mortem**

	pH ₄₅ Schinken (n=51)	pH ₄₅ Kotelett (n=51)	pH ₂₄ Schinken (n=41)	pH ₂₄ Kotelett (n=41)
Median	6,45	6,53	5,56	5,53
Q₁	6,38	6,37	5,45	5,4
Q₃	6,61	6,63	5,72	5,66

Während der pH₄₅-Wert im Schinken signifikant und im Kotelett nach der Betäubung mit Kohlendioxid höchstsignifikant höher war als nach der Betäubung mit Stickstoffschaum (Abbildung 4.17), war dieser Unterschied in den pH-Werten 24 Stunden post mortem nicht mehr nachweisbar. Ausgehend von den nach 24 Stunden gemessenen Werten war bei einem Tier nach Betäubung mit Stickstoffschaum sowie bei zwei Tieren nach CO₂-Betäubung jeweils im Schinken eine verzögerte Glykolyse nachweisbar.



— Grenzwert für PSE-Fleisch

Abbildung 4.17 Vergleich von pH₄₅ nach Stickstoffschaum- und Kohlendioxidbetäubung

4.5.2 Muskelkerntemperatur

Die Muskelkerntemperatur lag 45 Minuten nach Betäubung mit Stickstoffschaum im Schinken durchschnittlich bei 36 °C (Q_1 : 34 °C; Q_3 : 36,5 °C; $n = 33$) und im Kotelett bei 35 °C (Q_1 : 31,5 °C; Q_3 : 36 °C; $n = 33$).

Es besteht kein Zusammenhang zwischen der Muskelkerntemperatur und dem pH_{45} im Schinken. Dahingegen besteht eine Korrelation zwischen der Muskelkerntemperatur und dem pH_{45} im Kotelett ($p < 0,05$). Tiere mit PSE-Entwicklung im Kotelett zeigten im Vergleich zu Tieren ohne PSE-Entwicklung keine höheren Muskelkerntemperaturen.

4.5.2.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die Muskelkerntemperatur lag 45 Minuten nach CO_2 -Betäubung im Schinken durchschnittlich bei 34,5 °C (Q_1 : 34 °C; Q_3 : 35 °C; $n = 51$) und im Kotelett bei 34,5 °C (Q_1 : 32,25 °C; Q_3 : 35,5 °C; $n = 51$).

Nach CO_2 -Betäubung waren 45 Minuten post mortem im Schinken signifikant niedrigere Muskelkerntemperaturen nachweisbar als nach Betäubung mit Stickstoffschaum. Die Muskelkerntemperaturen 45 Minuten post mortem im Kotelett unterscheiden sich nicht.

4.5.3 Leitfähigkeit

Die LF_{24} lag im Schinken durchschnittlich bei 8,2 mS/cm (Q_1 : 6,73 mS/cm; Q_3 : 10,53 mS/cm; $n = 27$) und im Kotelett bei 5,3 mS/cm (Q_1 : 4,13 mS/cm; Q_3 : 8,2 mS/cm; $n = 30$).

Im Schinken wiesen 11 % der Tiere eine LF_{24} von weniger als 5 mS/cm auf. Im Kotelett wiesen 40 % der Tiere eine LF_{24} von weniger als 5 mS/cm auf. Eine Nachbetäubung von Schweinen im Anschluss an die Exposition im Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum führte zu keiner erhöhten LF_{24} im Schinken oder Kotelett.

4.5.3.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die LF_{24} nach CO_2 -Betäubung lag im Schinken bei 5,7 mS/cm (Q_1 : 4,9 mS/cm; Q_3 : 6,75 mS/cm; $n = 41$) und im Kotelett bei 3,5 mS/cm (Q_1 : 2,95 mS/cm; Q_3 : 4,1 mS/cm; $n = 41$).

Die Messwerte nach CO_2 -Betäubung ergaben für den Parameter LF_{24} höchstsignifikant niedrigere Werte im Schinken und im Kotelett im Vergleich zur Betäubung mit Stickstoffschaum.

4.5.4 Wasserbindung

Entsprechend den Kriterien der AVV LmH (Tabelle 2.6, S. 49) wiesen 43,3 % der Koteletts (n = 13) 24 Stunden post mortem eine gute Wasserbindung auf. Weitere 43,3 % der Koteletts (n = 13) wiesen eine mäßig erhöhte Wasserbindung und 13,3 % der Koteletts (n = 4) wiesen eine hochgradig erhöhte Wasserbindung auf.

Ein Versuchstier wies eine rötliche Färbung der auspressbaren Gewebsflüssigkeit auf (Abbildung 4.18). Drei weitere Versuchstiere wiesen eine geringfügigere rötliche Färbung der auspressbaren Gewebsflüssigkeit auf.

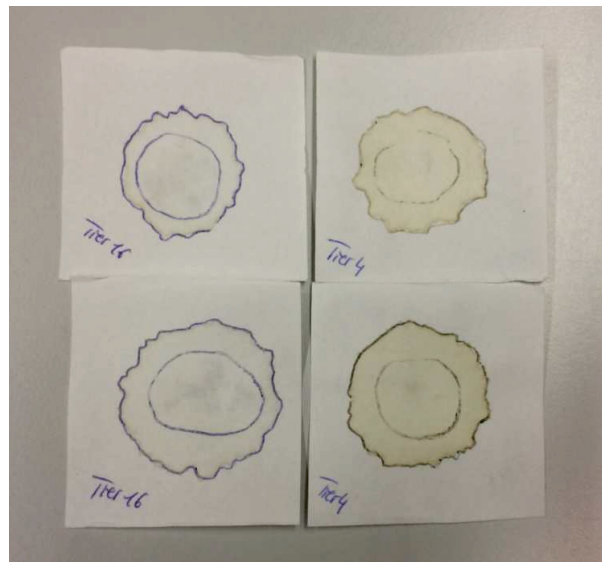


Abbildung 4.18 Farbe der Wasserbindungsproben von zwei Tieren im Vergleich

Es wurde eine Korrelation zwischen dem Wasserbindungsvermögen und dem Leitfähigkeitsmesswert 24 Stunden post mortem im Kotelett nachgewiesen ($p < 0,05$) (Abbildung 4.19).

Die durchschnittliche LF_{24} im Kotelett für die Bewertung "gut" lag bei 4,7 mS/cm (Q_1 : 3,45 mS/cm; Q_3 : 5,80 mS/cm), für die Bewertung "mäßig erhöht" bei 5,30 mS/cm (Q_1 : 4,35 mS/cm; Q_3 : 10,30 mS/cm) und für die Bewertung "hochgradig erhöht" bei 8,35 mS/cm (Q_1 : 8,28 mS/cm; Q_3 : 10,73 mS/cm).

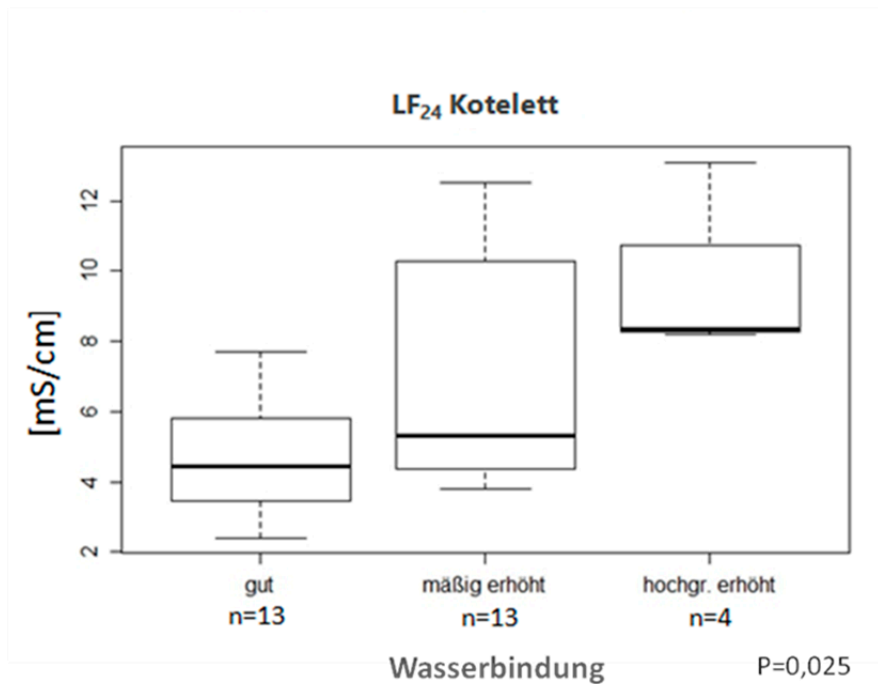


Abbildung 4.19 Zusammenhang zwischen Wasserbindung und LF₂₄

4.5.4.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die Koteletts nach CO₂-Betäubung wiesen in 90,2 % (n = 37) ein hochgradig erhöhtes Wasserbindungsvermögen, in 7,3 % (n = 3) ein mäßig erhöhtes Wasserbindungsvermögen und in 2,4 % (n = 1) ein gutes Wasserbindungsvermögen auf.

Das Wasserbindungsvermögen nach CO₂-Betäubung war höchstsignifikant höher im Vergleich zur Betäubung mit Stickstoffschaum (Abbildung 4.20).

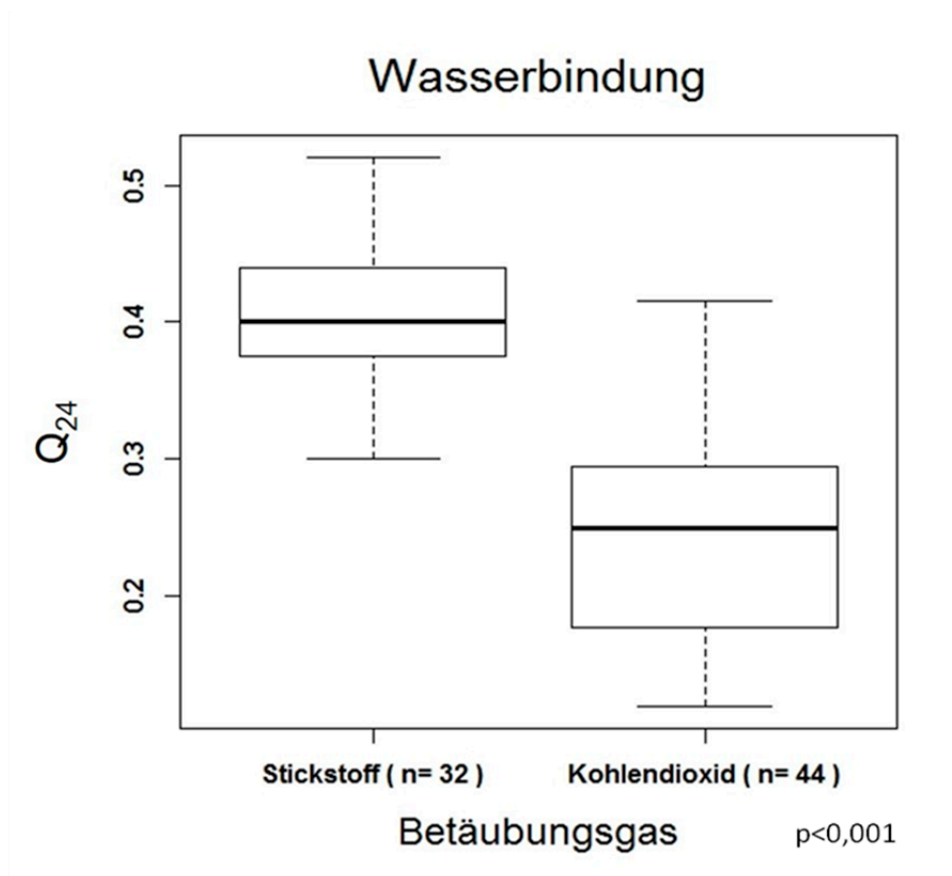


Abbildung 4.20 Vergleich der Wasserbindung nach Stickstoffschaum- und Kohlendioxidbetäubung

4.5.5 Tropfsaftverlust

Der Tropfsaftverlust im Kotelett lag durchschnittlich bei 4,43 % (Q₁: 2,64 %; Q₃: 5,93 %; n = 31). Die Koteletts von 5 Schweinen (16 %) wiesen einen Tropfsaftverlust von mehr als 7 % auf. Zwei davon zählen in die Gruppe der sieben Tiere, die entsprechend des pH₄₅ im Kotelett PSE-Fleisch entwickelten. Die Korrelation zwischen Tropfsaftverlust und Wasserbindung ist stark negativ (p < 0,001) (Abbildung 4.21).

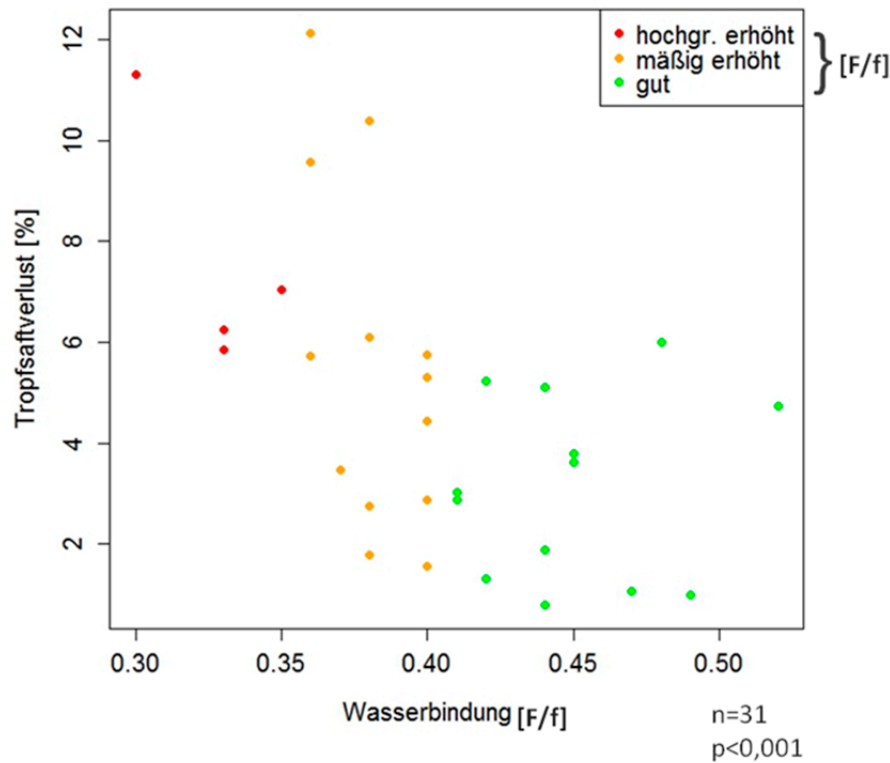


Abbildung 4.21 Zusammenhang zwischen Tropfsaft und Wasserbindung

Es besteht keine Korrelation zwischen Tropfsaftverlust und LF_{45} im Schinken und im Kotelett. Dahingegen besteht eine signifikante Korrelation zwischen Tropfsaftverlust und LF_{24} im Schinken, sowie eine höchstsignifikante Korrelation zwischen Tropfsaftverlust und LF_{24} im Kotelett.

Tabelle 4.4 stellt die Ergebnisse zum Tropfsaftverlust, der Wasserbindung und LF_{24} , sowie dem pH_{45} im Kotelett für die Tiere mit einem Tropfsaftverlust von mehr als 7 % dar.

Tabelle 4.4 Zusammenhang zwischen Tropfsaftverlust, Wasserbindung, LF_{24} und pH_{45}

Tier Nr.	Tropfsaftverlust (%)	Wasserbindung	LF_{24} Kotelett (mS/cm)	pH_{45} Kotelett
23	9,56	mäßig erhöht	8,2	5,44
24	12,14	mäßig erhöht	5,25	5,65
26	7,05	hochgrd. erhöht	8,35	5,85
27	11,3	hochgrd. erhöht	13,1	n.A.
36	10,39	mäßig erhöht	12,25	5,41

4.5.5.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Der Tropfsaftverlust nach CO₂-Betäubung lag durchschnittlich bei 4,01 % (Q₁: 3,41 %; Q₃: 5,0 %; n = 40).

Die Tropfsaftverluste nach Betäubung mit Stickstoffschaum und nach CO₂-Betäubung unterscheiden sich nicht.

4.5.6 Fleischfarbe

Der durchschnittliche Helligkeitswert (L*-Wert) für die SCI-Bewertung lag bei 56,87 (Q₁: 55,13; Q₃: 59,06; n = 30) und für die SCE-Bewertung bei 56,86 (Q₁: 55,14; Q₃: 59,05; n = 30).

Der durchschnittliche Gelbwert (b*-Wert) für die SCI-Bewertung lag bei 11,54 (Q₁: 10,54; Q₃: 12,83; n = 30) und für die SCE-Bewertung bei 11,78 (Q₁: 10,71; Q₃: 12,93; n = 30).

Die L*-Werte von neun Tieren lagen unterhalb des Grenzwertes von 56 für normalfarbiges Fleisch. Kein b*-Wert lag unterhalb des Grenzwertes von 5 für normalfarbiges Fleisch (Tabelle 4.5).

Tabelle 4.5 Bewertung der Farbmessung

	L* < 56 (kein PSE)	b* < 5 (kein PSE)
Anzahl Tiere	9	-/-

Abbildung 4.22 und Abbildung 4.23 stellen die L*- und b*-Messwerte graphisch dar. Die höhere Anzahl an Datenpunkten als gemessenen Kotelettstücken ergibt sich durch die Durchführung von Doppelmessungen pro Teilstück.

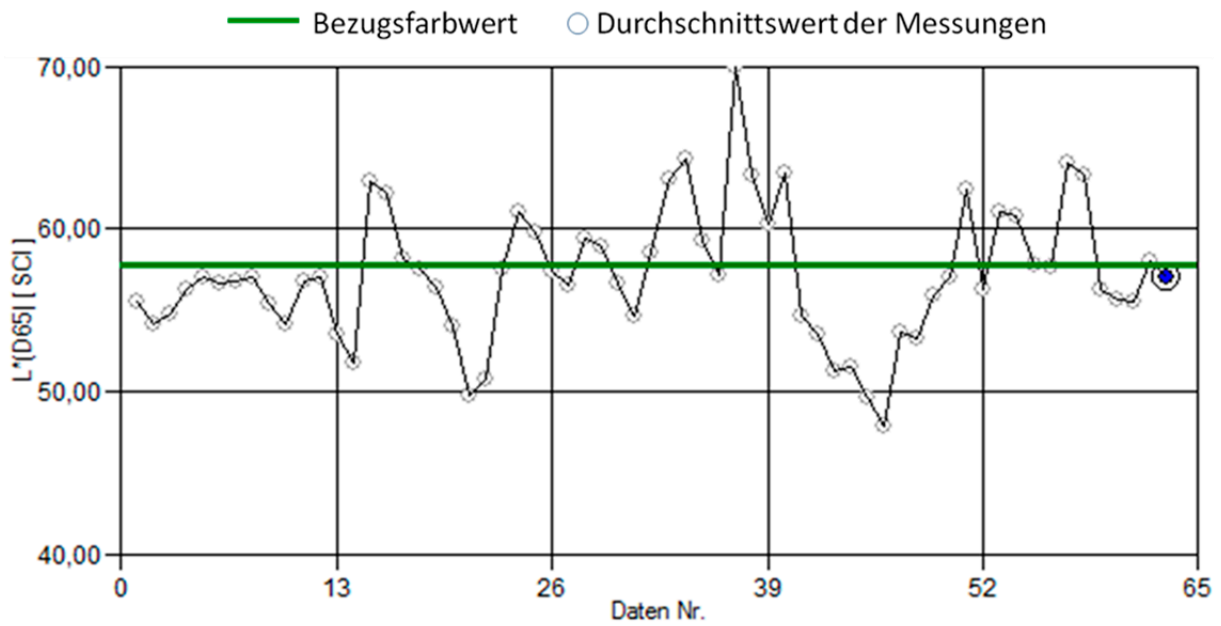


Abbildung 4.22 Darstellung der L*-Werte in dem Softwareprogramm "SpectraMagic NX"

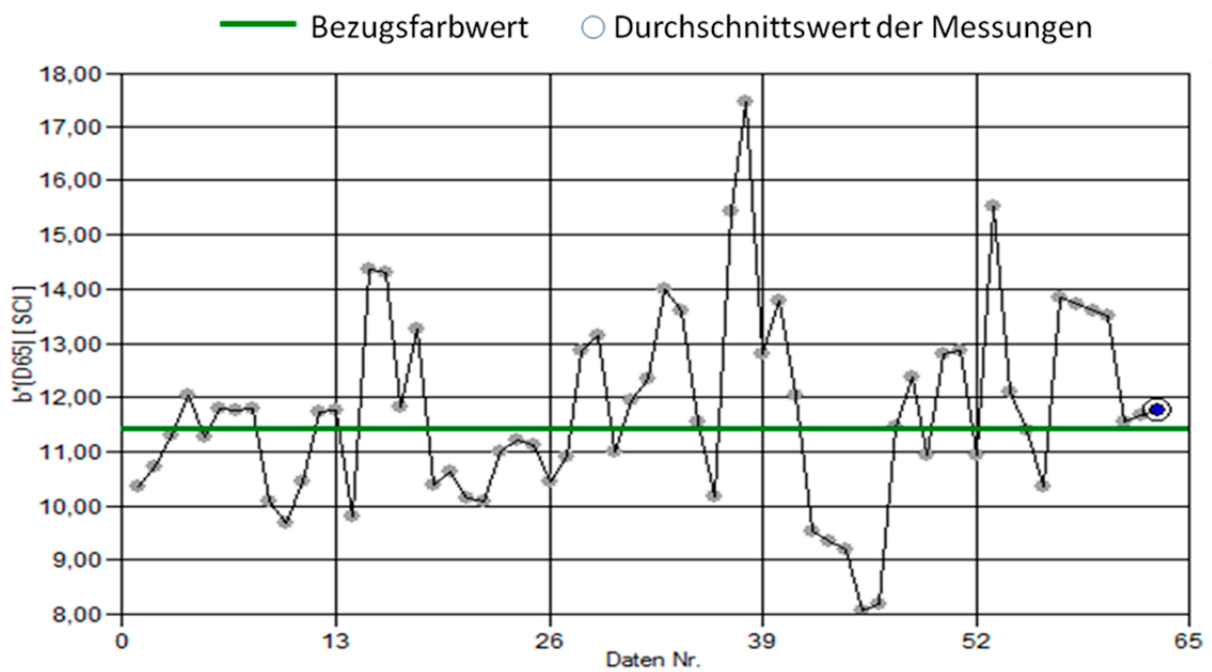


Abbildung 4.23 Darstellung der b*-Werte in dem Softwareprogramm "SpectraMagic NX"

4.5.6.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Der durchschnittliche Helligkeitswert (L^* -Wert) für die SCI-Bewertung nach CO_2 -Betäubung lag bei 57,05 (Q_1 : 55,05; Q_3 : 59,26; $n = 30$) und für die SCE Bewertung bei 57,09 (Q_1 : 55,16; Q_3 : 59,31; $n = 40$).

Der durchschnittliche Gelbwert (b^*) für die SCI-Bewertung nach CO_2 -Betäubung lag bei 11,69 (Q_1 : 10,91; Q_3 : 12,46; $n = 40$) und für die SCE Bewertung bei 11,78 (Q_1 : 11,08; Q_3 : 12,67; $n = 40$).

Die L^* -Werte und b^* -Werte nach Betäubung mit Stickstoffschaum und nach CO_2 -Betäubung unterscheiden sich nicht.

Die Ausprägung der Farbabweichung der beiden Betäubungsgruppen ist für die Helligkeit stärker als für die Gelbheit. Die Einstufung entsprechend der Bewertungsskala für Farbunterschiede (gemäß DIN EN ISO 3668) ist in Tabelle 4.6 dargestellt.

Tabelle 4.6 Ausprägung der Farbabweichung zwischen den beiden Betäubungsgruppen

Größe des Unterschieds	Bewertung	Versuchstiernummer
0	kein wahrnehmbarer Unterschied	3, 40
1	sehr kleiner, gerade wahrnehmbarer Unterschied	12
2	kleiner aber deutlich wahrnehmbarer Unterschied	24, 28, 36, 38, 39
3	mäßiger Unterschied	<u>36</u> , 11
4	beträchtlicher Unterschied	<u>11</u> , <u>28</u>
5	sehr großer Unterschied	<u>24</u> , <u>27</u> , <u>38</u> , 27

Versuchstiere mit gelberem Kotelett als Bezugsfarbwert (Durchschnittswert der Kohlendioxidvergleichsgruppe)

Versuchstiere mit hellerem Kotelett als Bezugsfarbwert (Durchschnittswert der Kohlendioxidvergleichsgruppe)

5 Diskussion

5.1 Methodenkritik und Statistik

5.1.1 Methodenkritik

Die Versuche waren von Beginn der Planung als Machbarkeitsstudie angelegt, weshalb die Praktikabilität und realistische Durchführbarkeit in der Praxis als Entscheidungskriterium für weitere mögliche Folgestudien dienen sollte. Die aus dieser Feldstudie resultierenden Ergebnisse beinhalten durch äußere Einflüsse verursachte Variationen. Einige dieser äußeren Einflüsse waren im Vorfeld nicht eliminierbar. So führten die baulichen Gegebenheiten auf dem Schlachthof zu einer erhöhten Fehlertoleranz. Durch das Fehlen einer direkten und eben-erdigen Strecke zwischen Wartestall und Versuchsraum musste das Tier in der Box mittels Gabelstapler über die ca. 5 m Luftlinie transportiert werden. Darüber hinaus musste sich an den täglichen Abläufen im Versuchsschlachthof orientiert werden, wodurch geringfügige Abweichungen in den Versuchsabläufen (z.B. die Dauer zwischen Tötung und Fleischuntersuchung) zwischen den einzelnen Versuchen entstanden sind.

Auch die Anpassungen der technischen Einheit zwischen den einzelnen Versuchen führten zu einer eingeschränkten Vergleichbarkeit. Ein Platzen der mit Stickstoff-gefüllten Schaumblasen mit Entstehung eines Stickstoffgas-gefüllten Hohlraumes um das Tier fand in dem geplanten Ausmaße nicht statt. Durch die Bewegungen des Tieres wurde der Schaum zerschlagen und die erwartete Mindesthöhe von ca. 50 cm Schaum über dem Tier konnte nicht immer eingehalten werden. Das erforderte die Fixation der Tiere während der Versuche und machte eine Beschäumung von vorne erforderlich. Die Fixation der Tiere in einer Hängematte wurde in diesen Versuchen, anders als von MARTOFT et al. (2002) beschrieben, nicht als Entlastung für das Tier empfunden. Da einige Tiere nach Verbringung in die Hängematte Fluchtversuche zeigten, wird angenommen, dass die Fixation in der Hängematte nicht von allen Tieren als angenehmes Ereignis empfunden wurde, zumal damit ebenfalls ein vermehrtes Handling verbunden war. Eine dadurch höhere Stressbelastung für das Tier im Vergleich zu den ersten vier Versuchen ohne Hängematte konnte anhand der Versuchsdaten jedoch nicht festgestellt werden.

Technische Versuche im Anschluss an die ersten Betäubungsversuche legten offen, dass sich bei längeren Laufzeiten der Düsen zunehmend Flüssigkeit auf dem 1. Gitter absetzt (Abbildung 3.3; S. 56). Dadurch veränderte sich die Schaumqualität spontan zur Entstehung eines kleinblasigen Schaums (< 1,5 cm).

Die Schaffung eines Raumes zur Vorproduktion einer ausreichenden Menge an Schaum führte dazu, dass im Anschluss an den Versuch mehrere Sekunden vergingen, bevor der Zugang zum Tier möglich war, da die Ziehharmonikakonstruktion abgehoben werden musste.

Insgesamt führten die technischen Anpassungen während der Versuche zumindestens für das Versuchspersonal zu einer praxisuntauglichen Handhabung. Einige Anpassungen, wie der Ausbau der T-Stücke nach Feststellung eines Zeitverlustes bei der Schaumproduktion durch das aufeinander zufließen des Schaums hätten im Vorfeld besser eruiert werden können.

Die Sicht auf das Tier und dessen Verhaltensweisen während der Versuchsdurchführung wurde durch die Intransparenz des Schaumes verhindert. Einige für die Bewertung dieser Betäubungsmethode erforderlichen Parameter konnten dadurch nicht ausreichend evaluiert werden. Durch die Feuchtigkeit des Schaumes und die teils massiven Bewegungen der Tiere kam es während der Versuche trotz der gründlichen Hautvorbereitung und Fixierung der Klebeelektroden mit zusätzlichem Kleber und wasserfestem Pflaster bei einigen Tieren zu einem Abriss der Sensoren mit folglichem Datenverlust. Aufgrund der Störanfälligkeit des EEG-Gerätes und technischer Probleme (EEG und transkutane Blutgasanalyse) konnte der Zeitpunkt des Eintretens der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nicht festgestellt werden. Aufgrund der nicht gesicherten Betäubung aller Versuchstiere nach 3,5 Minuten wurde darauf verzichtet, das maximale "stun-to-stick"-Intervall in diesen Versuchen zu erheben.

5.1.2 Statistik

Aufgrund der Verwendung einer anderen Stickstoffquelle bei den Versuchen 1-4 hätte man die aus ihnen gewonnenen Daten aus den Berechnungen konsequent ausschließen können. Im Rahmen der als Orientierungsstudie geplanten Versuche waren bei gleichbleibender Fragestellung aufgrund der Erstanwendung des Schaumverfahrens zur Betäubung von Mastschweinen während der Versuchslaufzeit größere technische Anpassungen notwendig. Diese führten zu einer Reduzierung der Homogenität der auf eine Orientierungsstudie ausgelegten kleinen Stichprobe. Eine andere Möglichkeit wäre der Ausschluss nachbetäubter Tiere aus der statistischen Berechnung gewesen. Dies hätte allerdings zu einer Verzerrung der Ergebnisse geführt, da das Verhalten der nicht erfolgreich betäubten Tiere einen nicht zu vernachlässigenden Beitrag zur Beurteilung dieser Betäubungsmethode liefert. Darüber hinaus hätte sich die Anzahl der Tiere für eine statistische Auswertung bei Ausschluss der Versuchstiere 1-4 und der nicht erfolgreich betäubten Tiere, unter weiterer Berücksichtigung

der fehlenden Schlachtkörper von erfolgreich betäubten Tieren auf 22 reduziert. Auch unter Einbeziehung der nicht ausreichend durch den Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum betäubten Tiere fand die statistische Auswertung anhand einer sehr geringen Datenzahl statt, wodurch sich die Aussagekraft der statistischen Tests (= Teststärke) verringert. Für eine weiterführende Bewertung des Betäubungsverfahrens wären umfassende Folgeuntersuchungen unter standardisierten technischen Bedingungen notwendig.

5.2 Versuchsbedingungen

5.2.1 Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit

Die Umgebungstemperatur war für jedes Einzeltier im Versuchsdurchlauf konstant, sodass keine zusätzliche Belastung durch wechselnde Umgebungstemperaturen entstand. Die durchschnittlichen Temperaturen lagen zwischen 5,6 °C und 19,17 °C. Eine Veränderung der Außentemperatur hatte keinen Einfluss auf die Temperatur im Schaum oder auf die Körpertemperatur der Tiere.

Die Luftfeuchtigkeit während der einzelnen Versuche unterlag hingegen großen Schwankungen und variierte zwischen 55,4 % und 99,7 %. Obwohl diese Schwankungen nicht nur zwischen den Einzeltierversuchen, sondern auch während eines Versuchsdurchgangs auftraten, sind die Versuchsbedingungen für die Tiere untereinander dennoch vergleichbar. Die hohen Schwankungen des Luftfeuchtigkeitsgehalts sowie die teilweise sehr hohen Werte sind wahrscheinlich auf den Einsatz des Schaums an sich sowie den Gebrauch eines vor Ort vorhandenen Warmwasserschlauches zur Entfernung des Schaums vom Tier und zur Reinigung des Raumes nach Versuchsende zurückzuführen.

5.2.2 Lautstärke

Das akustische Umfeld kann als belastender Faktor auf das Tier einwirken. Die auf das Einzeltier einwirkende Lautstärke während der Vorbereitungen (z.B. Ausstattung mit Sensoren) wies einen Schwankungsbereich um 12,6 dB zwischen den Einzeltierversuchen und um 5,5 dB während der Versuche auf. Die über die gesamte Zeit auf das Tier einwirkende Lautstärke schwankte um 10,5 dB zwischen den Versuchen. Eine Schwankung der auf die Tiere während der Ausstattung einwirkende Lärmbelastung ist damit durchaus präsent, während die Schwankung der Lärmbelastung für das Tier während der Versuche als gering einzustufen ist.

SCHÄFFER und BORELL (2005) ermittelten unter Praxisbedingungen eine durch Lautäußerungen verursachte Erhöhung des Lärmpegels um 10 dB bei wartenden und zusammengedrängten Schweinen, sowie um 20 dB beim Treiben der Tiere in Richtung Betäubungsanlage.

In den Betäubungsversuchen mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansiven Schaum kam es im Vergleich zur vorangegangenen Vorbereitungsphase zu einem durchschnittlichen Schallpegelanstieg um ca. 10 dB. Ein Teil des Lautstärkezuwachses ist durch das Einschalten der Schaumapparatur zu erklären. Diese erzeugte eine Lautstärke von ca. 72 dB. Die von 72 dB bis 77,55 dB (Lautstärke während der Exposition) fehlenden 5,55 dB sind durch anwesende Personen oder durch vom Tier ausgehende Geräusche zu erklären.

Eine Unterhaltung in einem sonst ruhigen Raum mit demselben Messgerät führte zu einem Schallpegelanstieg von ca. 20 dB (28 %). Damit ist der durchschnittliche Schallpegelzuwachs von 5,55 dB (7 %) zwischen Vorbereitung und Betäubung als vernachlässigbar einzustufen.

Das Schallpegelmaximum in diesen Versuchen lag bei 80,9 dB und damit deutlich unterhalb des von MACHTOLF et al. (2013) ermittelten maximalen Wertes (105,8 dB) bei einer Kohlendioxidbetäubung. Bei der Kohlendioxidbetäubung findet die Betäubung mehrerer Tiere gleichzeitig statt, wodurch ein insgesamt höherer Schallpegel durch auftretende Lautäußerungen zu erwarten ist. Dennoch spricht die deutliche Überschreitung von 85 dB als maximal tolerierbarer Dauerschallpegel im Schweinestall [TierSchNutzV] für einen belastenden Faktor bei der Kohlendioxidbetäubung.

5.2.3 Schaumbeschaffenheit

5.2.3.1 Restsauerstoffgehalt

Der Restsauerstoff auf Nasenhöhe der Tiere lag bei 97 % der Versuche < 1 %. Lediglich bei einem Tier lag der Restsauerstoffgehalt mit 1,18 % über 1 %. Die im Vorfeld definierten Anforderungen bezüglich des Restsauerstoffgehalts wurden damit erfüllt. Als Grund für den erhöhten Restsauerstoffgehalt (auf Nasenhöhe) bei diesem einem Tier wird ein sekundärer Sauerstoffeintrag in die Box angenommen.

Dass Restsauerstoffgehalte > 1 % problematisch für die sichere Herbeiführung von Anoxie beim Tier sind und entgegen den Anforderungen für eine tierschutzgerechte Betäubung stehen (SUTHERLAND, 2011), zeigt sich daran, dass im vorliegenden Versuch drei Tiere mit gesichertem sekundären Sauerstoffeintrag in die Box nachbetäubt werden mussten. Bei einem

Tier erfolgte der sekundäre Sauerstoffeintrag über ein bei Bewegungen des Tieres entstandenes Loch in einer mit Panzertape abgedichteten Halterung einer ursprünglichen Düseneinfassung und bei zwei weiteren Tieren durch ein in der Videoauswertung ersichtlich gewordenes zeitgleiches Platzen mehrerer Schaumblasen, wodurch ein Sauerstoffeintrag von oben zum Tier möglich war. Im Versuch wurde beobachtet, dass der Zugang der Tiere zu sauerstoffreicherer Umgebungsluft innerhalb von Sekunden zu Anzeichen einer Wiederkehr des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens bei den Tieren führen kann, wobei sich diese sehr wahrscheinlich noch in der Übergangsphase zur Erlangung einer Betäubung befanden. Bei Fortführung ähnlicher Versuche müsste dringend sichergestellt werden, dass ein Sauerstoffeintrag von außen in die Box nicht möglich ist. Um Fehlerquellen zu minimieren wäre es nötig, ein geschlossenes System zu konstruieren. Die Verwendung des Schaums als Trägermedium für Gas schien jedoch deshalb erstrebenswert, weil dadurch eine Betäubung im offenen System möglich wird. Die Intransparenz des Schaums wiederum limitiert diesen Vorteil jedoch erheblich, weil durch sie die Beobachtung des Tieres zum Zeitpunkt der eintretenden Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit behindert wird.

Die Diskrepanz des Restsauerstoffgehalts zwischen dem Sensor auf Nasen- und Bodenhöhe ab Versuch 20 ist durch die Korrosion der Membran des bodennahen Sensors zu erklären. Die erhöhten Restsauerstoffgehalte des bodennahen Sensors durch einen sekundären Sauerstoffeintrag können ausgeschlossen werden, da der Stickstoff-gefüllte, hochexpansive Schaum aufgrund seiner Wasserkomponente schwerer ist als Luft, damit nach unten floss und kontinuierlich nachproduziert wurde. Die Herstellerangabe der OxyGuard Main Unit zur Erneuerung des sich im Sensor befindlichen Elektrolyts von 10 Jahren bezieht sich auf eine Verwendung in Aquakulturen und ist höchstwahrscheinlich nicht auf die Verwendung in einer Seifenlösung übertragbar. Es wird daher angenommen, dass es durch den Zusatz von HTF-1000 zu einer beschleunigten Korrosion der Membranen gekommen ist, auch wenn diese noch keinen Einfluss auf die Kalibrierung des Sensors zeigte, die vor jedem Versuchstag durchgeführt wurde. Während der Versuche war auch der andere der zwei Sensoren wegen sichtbarer Korrosion und wegen Kalibrierfehlern aufgefallen und zum entsprechenden Zeitpunkt ersetzt worden. Während der Kontrollen des Restsauerstoffgehalts im laufenden Versuch wurde sich an diesem Sensor auf Nasenhöhe orientiert, da dieser aus tierschutzfachlicher Sicht an der entscheidenden Messlokalisierung angebracht war.

Aufgrund des Fehlens von offensichtlichen, aversiven Reaktionen wie Schnappatmung und Kopfschütteln der Tiere auf den hochexpansiven, mit Stickstoff-gefüllten Schaum in Versuchen mit Geflügel (McKEEGAN, 2013) wäre der Einsatz eines solchen oder ähnlichen

alternativen Verfahrens zur Betäubung von Schlachttieren unter Vorbehalt einer positiven Prüfung auf Tierschutzgerechtigkeit von großem Vorteil, da die Tiere vor dem Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit weniger "Schmerzen" und "Leiden" [Tierschutzgesetz §1 und §2, EU VO (EG) Nr. 1099/2009, Erwägungsgrund 2] ausgesetzt wären. Ein Alternativverfahren mit erheblich geringerer Belastung als bei der Kohlendioxidbetäubung bei gleichzeitigem Erhalt eines Gruppenzutriebs für Schlachttiere wäre den konventionell eingesetzten Betäubungsmethoden vorzuziehen, auch wenn dafür eine längere Einleitungsphase erforderlich wäre.

5.2.3.2 Temperatur

Da die Versuche zu unterschiedlichen saisonalen Gegebenheiten stattfanden, die Schaumtemperatur von saisonalen Schwankungen bzw. der Umgebungstemperatur jedoch unbeeinflusst blieb, ist davon auszugehen, dass die Temperatur des Schaums durch die Temperatur des verwendeten Wassers oder Gases beeinflusst wird. Die niedrigere Schaumtemperatur bei 10 der 40 Versuchstiere wird auf diese Weise erklärbar.

5.2.3.3 Blasengröße

Um die Inhalation des Schaumes und die damit verbundenen möglichen Irritationen aufgrund eines Fremdkörpergefühls bzw. sogar eine Verlegung der Atemwege zu verhindern, sollten > 90 % der Schaumblasen entsprechend des vorgelegten Lastenhefts einen Mindestdurchmesser von 1,5 cm aufweisen. Dies war bei durchschnittlich 94 % der Schaumblasen der Fall. Die im Vorfeld definierten Anforderungen bezüglich der Blasengröße wurden damit erfüllt.

Während der Versuche stellte sich als problematisch dar, dass der Schaum zunächst nicht die erforderliche Stabilität für den Einsatz bei Mastschweinen aufwies und durch die Bewegungen der Tiere sehr schnell zerstört wurde. Damit war bis zur Realisierung technischer Anpassungen ein durchgehender Verbleib der Tiere in der anoxischen Gasatmosphäre aufgrund des Zugangs zur sauerstoffreicheren Umgebungsluft bei Aufbrechen der Schaumbedeckung nicht mehr gewährleistet (vgl. MCKEEGAN, 2013).

Für die Betäubung von Schlachtschweinen muss außerdem bedacht werden, dass die Tiere und damit auch ihre Atemwege bedeutend größer sind als die von Geflügel. Durch die Festlegung einer Mindestblasengröße sollte gewährleistet werden, dass die Tiere lediglich das in den Blasen enthaltene Gas einatmen, wenn diese zerplatzen, nicht jedoch ganze Blasen. Die Festlegung einer Mindestblasengröße ist aus den Veröffentlichungen über die Betäubung von

Geflügel mit hochexpansiven, Stickstoff-gefüllten Schäumen nicht ersichtlich. Die hier genannten Anforderungen beschränken sich auf die Gewährleistung von Expansionsraten $> 1:250$ und den Ausschluss von Sauerstoff aus der Umgebungsluft durch Aufrechterhaltung einer Mindesthöhe an Schaum über dem zu betäubenden Tier (MCKEEGAN et al., 2013). Zusätzlich zur Bestimmung einer minimalen Blasengröße und der Untersuchung der Blasengrößenverteilung ist eine Drainage des Schaumes erforderlich, durch die überschüssige Flüssigkeit aus dem Schaum entfernt wird und dafür sorgt, dass die Blasen beim ersten Hautkontakt platzen. Gleichzeitig muss eine gewisse Fließfähigkeit des Schaums Lufteinschlüsse im Schaum verhindern und eine Verdrängung der Luft in der Umgebung des Tieres sicherstellen. In der vorliegenden Studie hat eine zu lange Drainagezeit mit der Folge einer verringerten Fließfähigkeit bei der ursprünglichen Schaumzuführung zu einem Verlust der Stabilität des Schaums geführt, die für den Einsatz bei Mastschweinen vor dem Hintergrund der im Vergleich zu Geflügel ausgeprägteren Bewegungen nicht mehr geeignet war. Infolge der Verkürzung der Drainagezeit durch eine Schaumzuführung zum Tier von vorne, konnte bei ausreichender Nachproduktion des Schaums über die höhere Stabilität und gesteigerte Fließfähigkeit eine durchgehende Bedeckung des Tieres während der Versuche sichergestellt werden.

Bei Anwendung eines solchen Schaumes zur Betäubung von Schlachtschweinen wäre dieser zur Überprüfung der Reflexe als Nachweis eines Verlustes des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens und vor weiteren Prozessschritten (z.B. Entblutung, Entborsten, Abflammen) durch Wasser oder Luft vom Tierkörper zu entfernen. Die Zerfallsrate des Schaumes durch Wasser oder Luft ist zusätzlich auch vor dem Hintergrund der täglichen Reinigung der Betäubungsanlagen im Schlachthof als Faktor zu berücksichtigen. Weiterhin wäre der Einsatz des Schaums auch bei rein äußerlicher Anwendung aus Sicht des Lebensmittelrechts zu überprüfen.

5.3 Beurteilung der Betäubung

5.3.1 pO_2 , pCO_2 und Atemtätigkeit

5.3.1.1 pO_2 und pCO_2

Alle transkutan erhobenen Basiswerte für pCO_2 und pO_2 liegen im aus der Literatur bekannten Referenzbereich für die Blutgasanalyse beim Schwein (Tabelle 2.1, S. 17). Diese Ergebnisse zeigen, dass die transkutane Form der Blutgasanalyse vergleichbare Werte wie die Messung im arteriellen Blut liefert. Um eine Verfälschung der transkutan erhobenen Werte zu

verhindern, wurde der für Menschen im Gerät eingestellte metabolische Faktor ausgeschaltet. Dass die Vernachlässigung dieses Faktors vermutlich zumindestens für Messungen am Schwein keine entscheidende Rolle spielt und transkutan erhobene Werte vergleichbar mit denen einer blutigen Messung sind, konnte durch diese Versuche gezeigt werden.

Dass der $p\text{CO}_2$ nicht bei allen Messungen kontinuierlich ansteigt, ist vermutlich durch einen Messfehler zu erklären. Bei einem korrekten Sitz des Sensors wäre bei konstantem Sauerstoffabfall im Gewebe gleichzeitig eine kontinuierliche Steigung der $p\text{CO}_2$ -Kurve zu erwarten gewesen. Der $p\text{O}_2$ -Wert würde dazu kontinuierlich fallen. Beide Verläufe treffen gleichzeitig nur bei zwei Tieren in dieser Weise zu (Abbildung 4.2 und Abbildung 4.3, S. 95). Bei zwei weiteren Tieren zeigte sich zwar ein kontinuierlich sinkender $p\text{O}_2$, der $p\text{CO}_2$ blieb bei einem Tier jedoch konstant und stieg bei einem weiteren Tier erst nach einem vorausgegangenem $p\text{CO}_2$ -Abfall, weshalb in diesen Fällen von keinen validen Messungen ausgegangen werden kann.

In einer der Erdatmosphäre entsprechenden Umgebung hätte der Abfall der $p\text{O}_2$ -Kurve auf einen Sauerstoffmangel im Blut hingedeutet. Jeglicher Anstieg der Kurve wäre dann auf den Abriss des Sensors und einen Sauerstoffeintrag zurückzuführen gewesen. Unter Verwendung im Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum war auch bei Abriss des Sensors kein Anstieg der $p\text{O}_2$ -Kurve zu verzeichnen, da sich der Sensor nach Abriss in einer anoxischen Umgebungsatmosphäre befand. Die Validität der einzelnen Messungen konnte daher lediglich aus der $p\text{CO}_2$ -Kurve geschlussfolgert werden.

Weiterer Kritikpunkt an der in diesen Versuchen eingesetzten transkutanen Blutgasanalyse ist, dass die Messwertspeicherung im Gerät lediglich einmal pro Minute erfolgte. Der abgespeicherte Wert ist der Mittelwert aus allen innerhalb des Messintervalls von 1 Minute ermittelten Werten. Die Bestimmung des exakten Zeitpunktes, an dem der $p\text{CO}_2$ sank, ist mit diesem Gerät folglich nicht möglich. Die Messergebnisse können daher für die Mehrheit der Messungen lediglich als Trendkurven gewertet werden.

Die Erhöhung um mehr als 20 mmHg, ausgehend von der Basislinie und ein $p\text{CO}_2 \geq 60$ mmHg ohne respiratorische Tätigkeit, sind ein Hinweis für das Aussetzen der Spontanatmung (Richtlinie zur Feststellung des Todes, Bundesärztekammer, 2015; NAKAGAWA et al., 2011). Bei einem Tier trat Anoxie dementsprechend in der 3. Minute nach Bedeckung des Tieres mit Schaum ein (Anhang Tabelle 12.5, S. 189). Entsprechend der Aufzeichnungen des Respirationsmoduls sank die Atemfrequenz dieses Tieres in der Sekunde 180 nach Bedeckung auf $< 3/\text{min}$ und erlosch in Sekunde 200 ab Bedeckung vollständig. Ein ähnlicher Verlauf könnte ebenfalls bei Tier 11 vorgelegen haben und durch die Mittelung der Messwerte im

Gerät maskiert worden sein (Tabelle 12.5, S. 189). Der Eintritt des Atemstillstandes zu einem derart späten Zeitpunkt ist aus tierschutzfachlicher Sicht keinesfalls akzeptabel.

5.3.1.2 Atemtätigkeit

Das Aussetzen der Spontanatmung stellt nach AVMA (2013) einen Indikator für den Hirntod dar. Die visuelle Betrachtung und physiologische Untersuchung der Atemtätigkeit der Tiere war durch ihre Verbringung in die Schaumatmosphäre und durch dessen Blickdichte nicht möglich. Die visuelle Erhebung der Atemfrequenz (AF) wurde daher im Vorfeld mit dem im Versuch verwendeten Respirationsmodul (TMSI, Oldenzaal, NL) auf Übereinstimmung getestet. Das für diese Versuche festgelegte Kriterium von ≤ 3 Atemzügen/min als Kriterium für die Reduktion der Vitalfunktion stellt einen realistischen Wert dar. Dies wurde durch die Übereinstimmung mit dem Ergebnis der transkutanen Blutgasanalyse für Tier 39 dargelegt.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der Atemfrequenzanalyse ist zu berücksichtigen, dass der Bezugsruhewert (AF Gruppe im Wartestall) auf dem Schlachthof sehr wahrscheinlich nicht einer tatsächlichen Ruheatmung entsprach, auch wenn die Erhebung mit zeitlicher Pause nach Transport und Verladung der Tiere sowie nach einem Aufenthalt der Tiere in der für sie neuen Umgebung des Wartestalls erfolgte. Ausgehend von der AF der Gruppe im Wartestall wurde ein Anstieg der Atemfrequenz nach einem bestimmten Reiz oder Ereignis als Anzeichen für ein belastendes Ereignis beim Tier gewertet. Der Medianvergleich Atemfrequenzen zu den verschiedenen Zeitpunkten deutet darauf hin, dass weder die Ausstattung des Tieres, noch die Bedeckung mit Schaum ein belastendes Ereignis für die Tiere darstellt (Abbildung 4.4, S. 96).

Während der Versuche gab es mehrfache technische Ausfälle der die Atmungstätigkeit aufzeichnenden Respirationsmoduls, weshalb die Bestimmung des Zeitpunktes einer sinkenden Atemfrequenz auf ≤ 3 Atemzüge/min nicht in jedem Versuchsdurchgang bzw. bei jedem Versuchstier erfolgen konnte. Für die Tiere, deren AF kontinuierlich bestimmt werden konnte, wurde ein stetig fallender Frequenzverlauf beobachtet. Es kann folglich davon ausgegangen werden, dass der durch die Bewegungen zerstörte und kleinblasige Schaum, der bei der Mehrheit der Tiere in der Lunge zu finden war, zu keinen Erstickungssymptomen durch Atemwegsverlegung geführt hat. Eine massive Steigerung der Atemfrequenz, wie man sie bei einem vom Schwein wahrgenommenen Erstickungsgefühl erwarten würde, war in diesen Versuchen nicht feststellbar. Das Sinken der AF auf ≤ 3 Atemzüge/min geschah im Durchschnitt allerdings erst nach 160 Sekunden. Dieses Ergebnis ist aus tierschutzfachlicher Sicht nicht akzeptabel.

5.3.2 Herzfrequenz

Die Auswertung der Herzfrequenzen erfolgte visuell. Dadurch können durch Tierbewegungen verursachte Artefakte besser erkannt und interpretiert werden. Derartige Artefakte können für gerichtete Bewegungen oder terminale Konvulsionen stehen (BENSON et al., 2012). Deshalb wurden sie insbesondere darauf hin ausgewertet, wann sie enden und wann im Anschluss daran eine arrhythmische Herzaktivität begann. Der nach visuellen Kriterien beurteilte Anoxieeintritt im EKG erfolgte mit durchschnittlich 80 Sekunden ($n = 15$) deutlich früher als die Ergebnisse der Atemfrequenzanalyse zugrunde legen. Das Einsetzen eines Sauerstoffmangels im Myokard mit den Folgen einer arrhythmischen Herzaktivität zu diesem Zeitpunkt ist denkbar, führt jedoch nicht zwangsläufig zu einer unmittelbar einsetzenden und gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beim Tier. Wie bereits im Vorfeld angenommen, eignet sich die Bestimmung der Herzfrequenz daher nicht für die Bestimmung des Todeszeitpunktes, da auch nach Eintritt des Atemstillstands noch Herzaktivitäten zu verzeichnen waren. Es ist bekannt, dass die elektrischen Impulse über das autonome Nervensystem auch nach Eintritt des Hirntodes andauern können (BENSON et al., 2012; Jan Peuscher, TMSi, persönliche Mitteilung, 2016). Da die arrhythmische Herzaktivität und das Eintreten der Atemstillstandes beim Tier nicht übereinstimmen, stellt sich die Frage, inwieweit das Tier die Folgen eines Sauerstoffmangels im Myokard möglicherweise bewusst erlebt.

Da die Herzfrequenzen (HF) vor Schaumstart und bei Bedeckung keine signifikanten Unterschiede zeigen, kann davon ausgegangen werden, dass die Bedeckung mit Schaum kein belastendes Ereignis für das Tier darstellt. Eine weitere Möglichkeit ist, dass das bereits vor der ersten Messung stattgefundene Handling der Tiere (Transport, Ausstattung) zu einem Anstieg der HF führte, sodass kein zusätzlicher Anstieg der HF zu verzeichnen war. Ähnliche Ergebnisse legte die Auswertung der Atemfrequenz der Tiere dar. Möglicherweise entwickeln belastete Tiere mit dem Erreichen eines gewissen Schweregrades keine Zunahme der HF und AF bei weiterem Anstieg von Belastungsreizen.

Die beobachteten Veränderungen an der ST-Strecke, der T-Welle oder des QRS-Komplexes wurden ausgehend von den Erkenntnissen aus der Kleintiermedizin beschrieben (BERNAL, 2011) und sind daher möglicherweise nicht uneingeschränkt auf die Beobachtungen am Schwein übertragbar.

5.3.2.1 dichotomisierte Atem- und Herzfrequenzen

Die auf verhaltensbasierten Parametern erfolgte Einteilung der Tiere in die Gruppen "ruhig" oder "unruhig" während der Ausstattung, der Schaumbedeckung oder der Betäubung stimmte nicht überein mit den objektiven Parametern AF und HF. Das bedeutet, dass bei einem Tier, das entsprechend der Beobachtung als ruhig eingestuft wurde, trotzdem ein Anstieg der AF oder/und HF von 3/min oder mehr zu verzeichnen gewesen sein kann. D.h. bei einem Tier, das während der Ausstattung als unruhig eingestuft wurde, war nicht zwangsläufig ein Anstieg der AF oder/und HF von ≥ 3 zu verzeichnen. Dieses Ergebnis setzt voraus, dass der Anstieg der AF und HF um 3/min oder mehr eine realistische Einschätzung ist. Dass HF und AF sich nicht simultan verhalten deutet darauf hin, dass AF und HF entweder nicht gleichermaßen sensitiv auf eine Belastung der Tiere reagieren oder die Einteilung in Gruppen durch eine Abweichung von 3/min oder mehr keine realistische Grenze darstellt.

5.3.3 Körpertemperatur

Die Körpertemperaturen der Versuchstiere lagen innerhalb des aus der Literatur bekannten Referenzbereichs von 38,0 °C bis 40,0 °C (JESSEN, 2000; BICKHARDT, 2004). Eine längere Zeitspanne mit dem Auftreten von kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen während der Betäubung führte folglich nicht zu einem Anstieg der Körpertemperatur. Auch ein Körpertemperaturanstieg im Anschluss an den Eintritt des Todes als Folge einer Wärmeentwicklung durch einen höheren Energieumsatz unter den vorliegenden Belastungsbedingungen mit möglichen Auswirkungen auf die Fleischbeschaffenheit wurde nicht festgestellt. Die Körpertemperatur ist damit zur Beurteilung des Belastungsgrades für diese Versuche nicht geeignet.

5.3.4 Körperbeschleunigung und Körperbewegungen

Ein morphologischer Unterschied zwischen Fluchtbewegungen und neuromuskulären Exzitationsbewegungen konnte durch die grafischen Aufzeichnungen des Beschleunigungssensors am rechten Hinterbein nicht festgestellt werden. Die Videoanalyse legte jedoch offen, dass zumindest der Beginn der Bewegungen bei einigen Tieren deutlich erkennbar bei noch vorhandenem Bewusstsein als Fluchtbewegung erfolgte. Die Dauer der neuromuskulären Exzitationsphase ist ein tierschutzrelevanter Parameter bei jeder Gasbetäubung. Ihre Ausprägung scheint bei Gasen und Gasmischungen mit einem sehr hohen Anteil CO₂ sowie bei Gasen, die Anoxie erzeugen, zuzunehmen (RAJ et al., 2006). In diesen Untersuchungen

zeigten 24 von 34 Tieren (71 %) Bewegungen (sporadisch und kontinuierlich) in einem Zeitraum von ≥ 60 Sekunden, was diese Annahme unterstützt.

Ein Verlust des Standvermögens (LOP) wird in der Literatur als Zeitpunkt eines einsetzenden Verlustes des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens angenommen (ZELLER et al., 1988; ANTOGNINI et al., 2005; VELARDE et al., 2007). Die Ermittlung des Zeitpunkts des Positionsverlusts sollte daher in dieser Studie zunächst über im Boxenboden eingelassene Drucksensoren erfasst werden. Bei den Versuchen 1-4 wurden diese jedoch nicht sicher ausgelöst, wenn das Tier darauf stand. Die Sensoren ragten lediglich 5 mm über den Boxenboden hinaus, da das Tier bequem in der Box stehen sollte. Lag das Tier, verteilte sich das Gewicht des Tieres vermutlich sehr gleichmäßig und das Fett im Bauchbereich war nicht hart genug, um den Federmechanismus des Sensors zu betätigen. Lediglich das Herunterdrücken des Sensors mit den harten Klauen der Tiere führte zu einem sicheren Auslösen des Sensors

Nach Einsatz der Hängematte war eine Ermittlung des Zeitpunktes einer eintretenden Standunfähigkeit nicht mehr gegeben. Während der Versuche wurde mehrfach beobachtet, dass einige Tiere in liegender Position positive Reflexantworten zeigten, gleichzeitig jedoch unfähig waren sich aufzurichten. Aus diesem Grund kann zumindest bei bereits bestehender Seitenlage mit Standunfähigkeit nicht zwingend von einer Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ausgegangen werden. Ob die Tiere zum Zeitpunkt des Standverlustes wahrnehmungs- und empfindungslos waren und ihr Reaktionsvermögen bei erhaltenem Standunvermögen erst anschließend zurück erlangten oder ob sie die Position aufgrund körperlichen Versagens verloren obwohl sie noch wahrnehmungs- und empfindungsfähig waren, kann abschließend nicht geklärt werden.

Nach GREGORY (2008) verursacht eine effektive Betäubung einen Verlust des Standvermögens mit einer über einige Sekunden andauernden tetanischen Spasmodik und einer zunehmend schneller werdenden Bewegung der Hinterbeine, den sogenannten Exzitationen. Häufig erfolgt jedoch der Verlust des Standvermögens (LOP) zeitgleich mit dem Einsetzen der Exzitationen, so dass beide Indikatoren mit unterschiedlicher tierschutzrelevanter Interpretation nicht voneinander getrennt werden können. Durch die Zerstörung der Schaumdecke in Versuchsdurchgang 4 wurde etwa 24 Sekunden im Anschluss an die vollständige Bedeckung des Tieres die Sicht auf das zuvor vom Schaum bedeckte und zu diesem Zeitpunkt in der Studie noch nicht mit einer Hängematte fixierte Tier frei. Dieses lag mit geschlossenen Augen und geöffnetem Maul auf der rechten Körperseite und führte rhythmische Ruder-

bewegungen mit allen vier Gliedmaßen durch. Zu diesem Zeitpunkt lagen, entsprechend visueller Beurteilung, keine Anzeichen für ein vorhandenes Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen beim Tier vor. Durch die Zerstörung der sich über dem Tier befindlichen Schaumdecke erhielt dieses Zugang zur atmosphärischen Umgebungsluft. Nach einigen Sekunden in atmosphärischer Umgebungsluft öffnete es die Augen und führte bei Erhalt der Ruderbewegungen eine Lautäußerung durch. Die Ruderbewegungen ließen daraufhin sofort nach. Das Tier wurde unmittelbar nachbetäubt und per Blutentzug getötet. Zur Sicherstellung einer durchgehenden Bedeckung der Tiere mit Schaum wurden danach technische Anpassungen z.B. zur Erhöhung der Schaumstabilität umgesetzt (Kaptiel 3.1.2.3, S. 61)

RAJ (1999) geht davon aus, dass Lautäußerungen die im Anschluss an LOP auftreten nicht als Anzeichen von Aversion gewertet werden können und auftreten, wenn die Tiere wahrnehmungs- und empfindungslos sind. In der Studie von LLONCH et al. (2012a) traten Lautäußerungen lediglich vor dem Eintreten von LOP ein. Die Lautäußerung bei einem Tier im vorliegenden Versuch erfolgte bei geöffneten Augen und mit hoher Wahrscheinlichkeit bei vorhandenem Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen. Auch im Anschluss an das Nachlassen der Ruderbewegungen unmittelbar vor der Nachbetäubung war das Tier nicht in der Lage sich zurück in eine aufrechte Position zu bringen (LORR). LOP und LORR sollten nicht gleichgesetzt werden, da LOP häufig als Anzeichen für das Eintreten in die Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit gilt (ZELLER et al., 1988; RAJ & GREGORY, 1996; ANTOGNINI et al., 2005; VELARDE et al., 2007; LLONCH et al., 2012a; LLONCH et al., 2012b), das Fehlen von LORR jedoch auch nach Rückerlangung von Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit weiter bestehen kann. Auch wenn es sich bei dieser Beobachtung um einen Einzelfall handelt, kann davon ausgegangen werden, dass mit Gasen betäubte Tiere die auf der Seite liegen und Ruderbewegungen durchführen nicht bei Bewusstsein sind. Der Erhalt der Ruderbewegungen über wenige Sekunden nach Einsetzen der Lautäußerung zeigt jedoch, dass bewusste Verhaltensweisen auch bei Vorhandensein von Exzitationen möglich sind.

Diese Beobachtung ist ein Anzeichen dafür, dass Stress und Konvulsionen vom Tier bewusst erlebt werden können. Zu diesem Ergebnis führten auch die Untersuchungen von SUTHERLAND (2011), bei denen ein Restsauerstoffgehalt von 10 % in einem Gasgemisch im Anschluss an das Einsetzen von Exzitationen zu gerichteten Verhaltensweisen (Fluchtversuche, Vokalisationen) führte. Jegliche Erfahrungen dieser Art, stellen für das Tier enorme Stressbelastungen dar und sind durch die intensiven Bewegungen stets mit einer potentiellen

Verletzung und Schmerzzufuhr verbunden. Die Beobachtungen in diesen Versuchen führen insgesamt zu der Annahme, dass eine nur kurze Gasexpositionsdauer die Zeit bis zur Rück-erlangung des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens nicht nur unter Verwendung von Helium, Argon und Kohlendioxid, sondern auch unter Verwendung von Stickstoff erheblich verkürzt.

5.3.5 Tierverhalten während der Exposition

Bei der Ausstattung der Tiere und der Schaumbedeckung zeigte die Mehrheit der Tiere ein ruhiges Verhalten. Die Anzahl der ruhigen Tiere zwischen Ausstattung und Schaumbedeckung sinkt lediglich um vier Prozentpunkte. Deckend mit den Ergebnissen zur AF und HF stellt die Bedeckung des Tieres durch den Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum demzufolge für das Tier keine erkennbar große Belastung dar. Während des Betäubungsvorgangs hingegen nahm die Anzahl der ruhigen Tiere um 49 Prozentpunkte auf 15 % ab, während die Anzahl der unruhigen Tiere um 39 Prozentpunkte auf 70 % anstieg. Dies spricht dafür, dass die Betäubung mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansiven Schaum für die Tiere insgesamt ein belastendes Ereignis darstellt.

Lautäußerungen wurden in den vorliegenden Versuchen als ein Zeichen vorhandener Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit gewertet. Im Kontext der Betäubung und Tötung mit Gasen können Lautäußerungen als Anzeichen für Stressbelastung, Schmerzen oder Aversion gewertet werden (RAJ & GREGORY, 1996; RAJ et al., 1997; VELARDE et al., 2007; RODRIGUEZ et al., 2008). In den Versuchen mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansivem Schaum zeigten 67 % der Tiere Lautäußerungen. In Versuchen von GREGORY et al. (1987) zeigten 95 % der Tiere Lautäußerungen während einer Betäubung mit 86 % Kohlendioxid. Sie unterschieden zwischen physiologischen und nicht physiologischen Lauten. Was die Autoren unter physiologischen Lauten verstehen, wurde nicht näher definiert. Im Anschluss an diese physiologischen Laute, welche bei 59 % der Tiere auftraten, folgten nicht physiologische Laute bei 86 % der Tiere. Diese wurden als Stöhnen, Brüllen, oder Jammern beschrieben. Physiologische Laute dauerten zwischen 2 und 38 Sekunden (durchschnittlich 10 Sekunden) und endeten 15 bis 44 Sekunden (durchschnittlich 30 Sekunden) nach Betäubungsstart. Nicht physiologische Laute begannen 22 bis 57 Sekunden (durchschnittlich 39 Sekunden) nach Betäubungsbeginn. Ihre Dauer wurde in der Studie von GREGORY et al. (1987) nicht angegeben, da sie annahmen, dass mit ihnen das Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beginnt. Die Größe der Versuchsgruppe aus den Versuchen von GREGORY et al. (1987) und den Versuchen mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansivem

Schaum sind mit 44 bzw. 40 Tieren vergleichbar. Im direkten Vergleich zeigt eine deutlich höhere Anzahl an Tieren Lautäußerungen im Anschluss an eine Kohlendioxidbetäubung als nach Stickstoffschaumbetäubung. Das bei GREGORY et al. (1987) angewandte Kriterium zur Bestimmung einer einsetzenden Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch Lautäußerungen ist nicht nachvollziehbar. Bei der Mehrheit der Versuchstiere (42 %) in den Betäubungsversuchen mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansiven Schaum stimmten Bewegungsdauer und Lautäußerungsdauer überein, bei 29 % der Tiere dauerten die Lautäußerungen länger an als die Bewegungsdauer. Demzufolge waren 71 % der Schweine über eine Dauer von bis zu 147 Sekunden nach Schaumbedeckung bei Bewusstsein. Diese Ergebnisse widerlegen die Annahme von GREGORY et al., (1987), dass mit den Lautäußerungen der Eintritt in die Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beginnt. Insbesondere Lautäußerungen wie Stöhnen, Brüllen oder Jammern (nach Definition der Autoren nicht physiologische Laute) werden in der Literatur als Anzeichen für Aversion gewertet und stellen neben Körperbewegungen ein entscheidendes Kriterium zur Bewertung der Tierbelastung dar (SCHÄFFER und BORELL, 2005; DALMAU, 2010b; LLONCH et al., 2012a; LLONCH et al., 2012b). So beschreibt GRANDIN (1994) dass nach erfolgter Betäubung keine weiteren Lautäußerungen mehr erfolgen sollten. Die Abwesenheit von Lautäußerungen ist allerdings kein sicheres Zeichen für Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit. WARRIS et al. (1994) fanden heraus, dass die Intensität von Lautäußerungen während des Zutriebs mit den im Blut messbaren physiologischen Belastungsindikatoren Laktat und Creatinkinase korreliert. Anhand der Laktatwerte lassen sich in diesen Versuchen keine Unterschiede feststellen. Zwischen dem Vorhandensein von Vokalisationen und der Höhe der CK-Werte besteht in den vorliegenden Versuchen ebenfalls keinerlei Zusammenhang. Insgesamt kann das Vorhandensein von Lautäußerungen sicher als Belastungsparameter gewertet werden, das Fehlen von Lautäußerungen schließt jedoch das Vorhandensein von Stress, Schmerz oder Aversion beim Tier nicht grundsätzlich aus.

Die Einleitung der Betäubung unter Anwendung des Stickstoff-gefüllten Schaums ist im Vergleich zu Kohlendioxid auf Basis der vorhandenen Beobachtungen erheblich verlängert, was sich beispielsweise durch aversiv zu bewertende Lautäußerungen der Tiere zeigte. Dass vermutlich nicht der Schaum als Medium selbst diese Aversion hervorruft zeigt sich dadurch, dass kein Tier zeitgleich mit der Bedeckung Lautäußerungen zeigte. Denkbar ist jedoch auch, dass die Lautäußerungen der Tiere als Reaktion auf die sich nach der vollständigen Schaumbedeckung einstellende Umgebungsänderung (blickdichte und feuchte Schaumatmosphäre) erfolgten.

5.3.6 Reflexe und Tierreaktionen nach der Exposition

5.3.6.1 Reflexprüfung und Nachbetäubung

Die Reflexantworten der Schweine konnten in den vorliegenden Versuchen erst im Anschluss an die Exposition im Schaum ermittelt werden, da die Tiere währenddessen nicht zugänglich waren. Dadurch lassen sich lediglich Aussagen über die Betäubungsqualität, nicht jedoch über den Zeitpunkt des Eintretens der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit treffen.

Keines der Versuchstiere zeigte einen positiven Pupillarreflex. Es wird daher davon ausgegangen, dass der Pupillarreflex keine sehr sensitive Methode für die Verifizierung des Bewusstseinszustandes darstellt. Das Kopfhoben von Tieren, sowie ein positiver Drohreflex durch Schließen der Augen oder eine Rückzugsbewegung des Kopfes sollten als Anhaltspunkt für eine sofortige Nachbetäubung ohne weitere Reflextests angewendet werden. Ein positiver Cornealreflex erwies sich in diesen Versuchen als ein zuverlässiger Indikator für eine bestehende Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit der Tiere. Dies stimmt mit den Beschreibungen aus der Literatur überein. So zeigten 16 % der Tiere im Anschluss an eine Kohlendioxidbetäubung (86 %) einen positiven Cornealreflex, während es nur 5 % beim Flexorreflex waren (GREGORY et al., 1987). Aus der Literatur ist bekannt, dass der Cornealreflex im Anschluss an eine Elektrobetäubung positiv ausfallen kann (ANIL, 1991; VERHOEVEN et al., 2015), insbesondere wenn der Test früher als 20-30 Sekunden im Anschluss an die Betäubung durchgeführt wird, weil es in dieser Zeitspanne zu starken epileptiformen Anfällen kommt (GRANDIN, 1994). Das Vorkommen eines solchen falsch positiven Reflextests ist für die Gasbetäubung nicht beschrieben und wurde in diesen Versuchen ebenfalls nicht beobachtet. Das Vorhandensein eines positiven Cornealreflexes im Anschluss an eine Gasbetäubung gilt daher als sicheres Kriterium für eine unverzüglich zu erfolgende Nachbetäubung der Tiere. Neben dem Cornealreflex erwies sich der Nasenscheidewandreflex als eine zuverlässige und praktikable Reflexprüfung, welche auch unter Praxisbedingungen im Schlachthof einfach umsetzbar ist. Die Klauen waren für die Durchführung des Flexorreflexes in diesen Versuchen häufig nicht unmittelbar zugänglich. Die äquivalente Durchführung wie beim Nasenscheidewandreflex und der auf gleichen Grundlagen verlaufende Reflexbogen sprechen dafür, dass der Flexorreflex eine vergleichbar sensitive Methode darstellt. Oftmals sind die Klauen der Tiere im Anschluss an eine Gruppenbetäubung mit Gas durch das Aufeinanderliegen der Tiere nicht so gut zugänglich wie die Rüsselscheibe, was diese Reflextestung unter Praxisbedingungen erschwert. Neuromuskuläre Exzitationen durch restliche Hirnstammaktivität können darüberhinaus dazu

führen, dass sich die Gliedmaßen der Tiere unkontrolliert bewegen. Dadurch besteht ein erhöhtes Verletzungspotential für die den Flexorreflextest durchführende Person. Darüberhinaus ist die Nasenscheidewand im Gegensatz zum Zwischenklauenspalt nicht mit verhorntem Epithel, sondern lediglich mit Schleimhaut ausgekleidet, wodurch das Ansprechen auf einen schmerzhaften Reiz möglicherweise früher erfolgt.

Im Laufe der Versuche wurde beobachtet, dass Tiere, die mit Bolzenschussgerät nachbetäubt wurden, teilweise starke Exzitationen zeigten. Ein Tier zog im Anschluss an die Betäubung mittels Bolzenschussapparat die Hinterläufe aus der Matte und führte anschließend weitere Bewegungen am Boden durch. Es sah für den Betrachter aus, als wenn diese Bewegungen kontrolliert erfolgten. Der korrekte Sitz des Bolzens und die Zerstörung überlebenswichtiger Hirnareale wurde am Schlachtkörper am geteilten Schädel kontrolliert. Diese Beobachtung könnte durch die von MERKER (2007) und ANTOGNINI et al. (2007) beschriebenen neuronalen Kurzschlüsse auf Hirnstamm- oder Rückenmarksebene zu erklären sein, die dazu führen können, dass ein zweck- und zielgerichtetes Verhalten von Säugetieren auch ohne die Verbindung zum Cortex bzw. bei dessen Fehlen erhalten bleibt. GRANDIN (1994) beschreibt, dass Schweine im Anschluss an eine Bolzenschussbetäubung bedrohlich wirkende, starke neuromuskuläre Exzitationen zeigen können, auch wenn Gehirnteile und Rückenmark zerstört wurden.

In diesen Versuchen wurde jede Reaktion des Tieres auf einen Reiz als positive Reflexantwort bewertet. Doch auch durch Nozizeption kann es theoretisch zu einer Reaktion (MEYER et al., 2015) und somit zu einer falsch positive Reflexantwort kommen. Daher könnte eine auf einen Schmerzreiz, wie den Nasenscheidewandkniff resultierende Bewegungen auch ohne Bewusstsein erfolgen. Die Reaktion müsste bei vorhandenem Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen reproduzierbar sein (VERHOEVEN et al., 2015). Bei einem Versuchstier war das Kopfhoben und bei einem Tier Gaspings ohne das Auftreten weiterer Reflexe vorhanden. Auch im Anschluss an die Betäubung mittels Bolzenschussapparat erfolgten weitere fragliche Bewusstseinsanzeichen. In diesen zwei Fällen besteht daher die Möglichkeit, dass eine Nachbetäubung erfolgte, obwohl bei den Tieren zu diesem Zeitpunkt eine Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit vorlag. Die anderen sechs nachbetäubten Tiere, bei denen es nicht zu einem Versuchsabbruch kam, zeigten mindestens zwei Indikatoren für erhaltene oder zurückerlangte Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit. In der Praxis bietet sich eine zweite, unmittelbar auf die erste folgende Überprüfung auch aufgrund des erhöhten Aufwandes für eine Nachbetäubung an. Doch insbesondere bei den unter Praxisbedingungen verwendeten hohen Kohlendioxidkonzentrationen von meist > 90 %

und häufig verlängerter Anwendungsdauer sollte wie in diesen Versuchen jede fragliche Reaktion des Tieres als Indikator für eine sofortige Nachbetäubung verwendet werden. Das Vorhandensein von Anzeichen für erhaltene oder zurückerlangte Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit bei acht von 37 Tieren (22 %) mit voller Expositionsdauer führt zum Ergebnis, dass die Betäubung mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansiven Schaum mit der in diesen Versuchen verwendeten Technik aus tierschutzfachlicher Sicht nicht zu empfehlen ist.

5.3.6.2 Gaspung

Gaspungreflexe können zumindest bei der Verwendung eines Bolzenschussgerätes und nach Elektrobetäubung akzeptabel sein, weil diese als Anzeichen einer nachlassenden Hirnfunktion gewertet werden (GRANDIN, 1994). 75 % der Tiere zeigten nach Kohlendioxidbetäubung mit 86 % in den Versuchen von GREGORY et al. (1987) "Gagging", welches mit "Gaspung" gleichgesetzt werden kann. Sein Vorkommen wird als Restfunktionalität des Hirnstamms beschrieben (GREGORY et al., 1987, RAJ & GREGORY, 1996; LAMBOOIJ et al., 1999). Weder gerichtete Bewegungen noch gleichmäßiges Atmen waren in den Versuchen von GREGORY et al. (1987) dabei zu beobachten. Im Vergleich zu den 75 % der Tiere mit Gaspung nach Kohlendioxidbetäubung trat Gaspung nach Betäubung mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansiven Schaum mit lediglich 12,5 % der Tiere deutlich seltener auf.

VELARDE et al. (2007) beschrieben Gaspung dagegen als einen sehr tiefen Atemzug mit weit geöffnetem Maul, welcher mit einem Strecken des Nackens einhergehen kann. Es wurde als ein Indikator für Atemnot angenommen (LAMBOOIJ et al., 1999). Obwohl es nicht als Anzeichen für Aversion angesehen wird, besteht die Möglichkeit für eine Tierschutzrelevanz (VELARDE et al., 2007). In den Versuchen von VELARDE et al. (2007) trat Gaspung ein, bevor die Tiere ihr Standvermögen verloren. Der Verlust des Standvermögens gilt wie beschrieben als Indikator für das Einsetzen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit (ZELLER et al., 1988; RAJ & GREGORY, 1996; ANTOGNINI et al., 2005; VELARDE et al., 2007), womit möglicherweise eine durch Gaspung angezeigte Atemnot bewusst erlebt wird und wie von LLONCH et al., 2012a und LLONCH et al., 2012b beschrieben, als Anzeichen für aversives Verhalten beim Schwein nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden kann.

Die Annahme einer möglichen Tierschutzrelevanz von Gaspung durch VELARDE et al. (2007), LLONCH et al. (2012a) und LLONCH et al. (2012b) kann durch die Beobachtungen in der vorliegenden Studie möglicherweise bestätigt werden. GRANDINs (1994) Erkenntnisse für das Auftreten von Gaspung bei der Betäubung mittels Bolzenschussapparat

und Elektrozange wären somit nicht auf die Gasbetäubung übertragbar. Von den mit Stickstoffschaum betäubten Tieren zeigten fünf Tiere Gaspung. Vier von ihnen zeigten im Rahmen der fortgesetzten Reflexprüfungen während der Entblutung nach 52, 65, 107 und 144 Sekunden Anzeichen wiederkehrenden Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens in Form eines positiven Cornealreflexes. Gaspung sollte daher als kritischer Anhaltspunkt für eine Nachbetäubung von Tieren nach Gasbetäubung verwendet werden, um eine mögliche Rückkehr des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens vor dem Setzen des Entblutestichs zu verhindern. Rhythmische Atmung sollte im Anschluss an eine Betäubung niemals vorhanden sein (GRANDIN, 1994, VERHOEVEN et al., 2015). Gaspung trat in diesen Untersuchungen grundsätzlich in regelmäßigen Abständen auf und ging bei einem Tier in rhythmische Atmung über.

5.3.6.3 "stun-to-stick"-Intervall

Die Ermittlung einer Empfehlung über das notwendige "stun-to-stick"-Intervall im Anschluss an die Betäubung mittels Stickstoff-gefülltem, hochexpansivem Schaum konnte in diesen Versuchen nicht erfolgen. Grund hierfür war das Fehlen einer für diese Ermittlung vorausgesetzten Gewährleistung einer tiefen Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit der Tiere.

5.3.7 EEG und sensorisch evozierte Potentiale

Die Auswertung der EEG-Messungen konnte im Rahmen dieser Arbeit aufgrund softwarebedingter Mängel nicht erfolgen.

Die entsprechende Software zum Auswerten der Daten, sowie die Bestimmung des Verlustes der sensorisch evozierten Potentiale wird derzeit überarbeitet und ist in der momentan vorliegenden Version nicht praxistauglich.

Eine Studie an Menschen (KASKINORO et al., 2015) zeigte, dass sich die EEG-Kurven zum Zeitpunkt des Verlustes der Reaktionsfähigkeit auf mündliche Ansprache bei Einsatz verschiedener Anästhetika (Dexmedetomidine, Propofol and Sevofluran) substantiell unterscheiden. Auch unter Verwendung des in der Humanmedizin etablierten Bispektralindex (BIS), der Rückschlüsse auf den bestehenden Bewusstseinszustand zulässt (GALANTE et al., 2015; RINTISCH, 2010), wurde eine Substanzabhängigkeit beobachtet (BAARS et al., 2013; RINTISCH, 2010; GALANTE et al., 2015). Dies lässt auf ein substanzabhängiges Aussehen der EEG-Kurven schließen, welches für Stickstoff bisher nicht bekannt ist und in diesen Versuchen auch nicht sicher analysiert werden konnte. Bei Betäubungs-

versuchen an Schweinen mit Kohlendioxid (80-90 %) traten trotz offensichtlicher Betäubung bei den Tieren keine niederfrequenten Wellen, sondern lediglich hohe Frequenzen mit geringer Amplitude (Suppression) auf (RAJ et al., 1997). Als Ursache hierfür wurde genannt, dass Hyperkapnie kortikale Aktivität erzeugt, welche die Synchronisation der elektrischen Signale hemmt (MOUNTCASTLE, 1980 zitiert nach RAJ et al., 1997). In der Studie von MARTOFT (2002) wurde ein solches Phänomen nicht genannt, sondern die Verschiebung zu niederfrequenten Wellen unmittelbar während der Einleitung und einem Maximum 120 Sekunden nach Expositionsstart beschrieben. Möglicherweise sind diese unterschiedlichen Ergebnisse das Resultat verschiedener Ableitetechniken und Gerätschaften, was die große Variabilität bei der Interpretation von EEG-Daten verdeutlicht.

Die innerhalb dieses Versuches abgeleiteten EEGs wurden unter Feldbedingungen aufgenommen. Alle bisher in der Literatur durchgeführten EEGs am Tier fanden am schlafenden Tier oder unter Laborbedingungen statt. Messungen am wachen Tier sind zusätzlich anspruchsvoller in der Durchführung, da bereits durch kleinste Bewegungen eine artefaktbehaftete Aufnahme entsteht (HARTUNG et al., 2002; MCKEEGAN et al., 2011; BENSON et al., 2012). Der Einsatz einer Hängematte wie in den Versuchen von MARTOFT et al. (2002) zur Reduktion der Tierbewegungen erwies sich diesbezüglich als nicht ausreichend, da bereits Mikrozittern der Muskulatur zu Artefakten in der Aufnahme führen, welche anschließend dann nicht mehr ausgewertet werden kann. SUTHERLAND (2011) beschreibt, dass dieses Mikrozittern grundsätzlich bei transkutanen Ableitungen aufzufinden ist, weil das elektrische Signal durch die Schädeldecke attenuiert wird. Im Eigenversuch am Menschen stellte sich heraus, dass bereits ein Wimpernschlag zu massiven Artefakten im transkutan abgeleiteten EEG mit der im Versuch verwendeten Messtechnik führt. Für die Aufzeichnung qualitativ verwertbarer und störfrequenzarmer Aufzeichnungen sollte daher insbesondere bei Aufzeichnungen am wachen Tier die invasive Ableitung mittels Nadel- elektroden oder implantierten Elektroden erfolgen. Dass dies die Methode der Wahl ist, war zwar im Vorfeld der Versuche bereits bekannt, eine Operation der Tiere im Vorfeld schloss sich aufgrund der Fragestellung und der durch einen solchen Eingriff massiv erhöhten Tierbelastung jedoch aus.

Bisher gibt es keine Standardverfahren zum Anbringen der Elektroden oder zur Auswertung der Aufnahmen. Dadurch ist eine vollständige Objektivierung und Validierung über den exakten Zeitpunkt des Einsetzens der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit durch EEG-Ableitungen derzeit noch nicht gegeben. Die Verwendung des EEGs als "Goldstandard" zur Beurteilung von Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beim Tier (EFSA, 2013; EFSA,

2014; VERHOEVEN et al., 2015 und 2016) ist daher zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht erreicht.

5.3.8 Stichblut

Ein Teil der Blutproben wies nach der Zentrifugation Hämolyse unterschiedlichen Grades auf. Erklärungsansätze, durch die es zu einer Zerstörung roter Blutkörperchen kommen kann, sind die Gewinnung des Stichblutes mit Verletzung der Gefäßwände und auftretenden Scherkräften, die anschließende Behandlung des Blutes, sowie eine unkontrollierte Erwärmung der Proben (KRAFT & DÜRR, 2005). Der teilweise erforderliche Transportweg in die entsprechenden Referenzlabore kann einen graduellen Anstieg der Temperatur dieser Proben ermöglicht und so Enzymaktivitäten in Gang gesetzt haben. Dadurch kann es zu einer Metabolisierung bestimmter labordiagnostischer Parameter und einer Verfälschung von Messwerten gekommen sein. Zur Begrenzung der Manipulationen am Tier wurde auf die Entnahme einer Blutprobe (Vergleichsprobe) vor Ausstattung mit der Messtechnik abgesehen und eine Untersuchung der blutgetragenen Belastungsindikatoren auf das Stichblut begrenzt. Verlaufsuntersuchungen für einen weitestgehend optimierten Vergleich der Blutparameter vor und nach Versuch wären nur unter Einsatz eines Venenverweilkatheters realisierbar und waren in der vorgegebenen Versuchsumgebung auch in Hinblick auf die längere Verweilzeit der Tiere im Versuch und eine damit verbundene Erhöhung der Tierbelastung nicht möglich.

5.3.8.1 pH- Wert und Temperatur

Die Messung des Blut-pH-Wertes erfolgte im Stichblut, weshalb es sich dabei höchstwahrscheinlich um arteriovenöses Blut handelte. Nach MALATESHA et al. (2007) und KELLY et al. (2001) sind die Werte aus arteriell und venös gewonnenem Blut vergleichbar. Die pH-Werte im Stichblut lagen im physiologischen Bereich (7,2-7,4) und geben daher keine Anhaltspunkte für das Vorliegen einer Azidose.

Die Stichbluttemperaturen waren bei allen Tieren vergleichbar und liegen mit durchschnittlich 34 °C deutlich unterhalb den von TROEGER et al. (2003) ermittelten Stichbluttemperaturen nach Argonbetäubung (Median: 38,8 °C) oder CO₂-Betäubung (Median: 39,1 °C).

5.3.8.2 Katecholamine

Der Mittelwert der AdrenalinKonzentration im Stichblut von Stickstoffschaum betäubten Tieren liegt innerhalb der aus der Literatur bekannten Referenzwerte für das Schwein (Tabelle 2.2, S. 27). Der höchste gemessene Wert liegt 70 ng/ml oberhalb des aus der Literatur

bekanntes höchsten Referenzwertes, jedoch mehr als das 1.500-fache unterhalb der aus der Literatur bekannten Adrenalinwerte im Anschluss an eine Kohlendioxidbetäubung. Auch der Mittelwert der NoradrenalinKonzentration von Stickstoffschaum betäubten Tieren liegt innerhalb der aus der Literatur bekannten Referenzwerte für das Schwein (Tabelle 2.2, S. 27). Der höchste gemessene Wert liegt 23 ng/ml unterhalb des aus der Literatur bekannten höchsten Referenzwertes und mehr als das 600-fache unterhalb der aus der Literatur bekannten Noradrenalinwerte im Anschluss an eine Kohlendioxidbetäubung.

Im Vergleich zur Heliumbetäubung wiesen Schlachtschweine nach Kohlendioxidbetäubung einen um das Doppelte erhöhten Adrenalin- und Noradrenalinwert auf (MACHTOLF et al., 2013, $p < 0,001$). Die in der vorliegenden Studie ermittelten durchschnittlichen Noradrenalin- und AdrenalinKonzentrationen nach Betäubung mit dem Inertgas Stickstoff waren mit den Ergebnissen von MACHTOLF et al. (2013) nach Betäubung mit dem Edelgas Helium vergleichbar (Tabelle 5.1).

Tabelle 5.1 Konzentrationen der Katecholamine (Noradrenalin und Adrenalin) nach Betäubung mit Stickstoffschaum im Vergleich zu den Ergebnissen von MACHTOLF et al. (2013)

Betäubung	Adrenalin [ng/ml]	Noradrenalin [ng/ml]
Stickstoffschaum	67,14	140,77
98,5 % Helium (MACHTOLF et al., 2013)	75,58	159,57
90 % Kohlendioxid (MACHTOLF et al., 2013)	121,63	393,20

Da der Zeitpunkt des Atemstillstandes für die Tiere mit höheren Katecholamingehältern aufgrund technischer Mängel nicht erfasst werden konnte, kann ein möglicher Zusammenhang nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Zumal jedoch bei anderen Tieren der Atemstillstand erst kurz vor dem Entblutestich eintrat und diese keine erhöhten Katecholaminkonzentrationen im Stichblut aufwiesen, ist ein Zusammenhang diesbezüglich unwahrscheinlich.

Eine erforderliche Nachbetäubung hatte keine Auswirkungen auf die KatecholaminKonzentrationen der Versuchstiere.

HONIKEL & KIM (1986) beschrieben, dass die Ausschüttung von Stresshormonen zu einer beschleunigten Fleischreifung führt. Auch TROEGER & WOLTERS DORF (1988) beschrieben, dass sich bei Tieren mit guter Fleischqualität im Allgemeinen keine erhöhten

Katecholamingehalte feststellen lassen. Im Umkehrschluss seien niedrige Katecholamingehalte jedoch kein Beweis für eine gute Fleischqualität. Von den Tieren mit höheren Katecholamingehalten im Stichblut ($n = 8$) fällt nur eines in die Gruppe der Tiere mit PSE-Fleisch. Ein weiteres Tier hatte lediglich einen erhöhten Tropfsaftverlust. Die Fleischqualität der anderen sechs Tiere ließ keine Auffälligkeit in den untersuchten Fleischparametern erkennen. Insbesondere die Fleischqualität des Versuchstieres Nr. 10, welches neben einem erhöhten CK-Wert auch höhere Katecholamingehalte aufwies als der Durchschnitt fällt durch gute Qualitätsmerkmale bezüglich des pH_{45} , der LF_{24} im Kotelett, dem Helligkeitsfarbwert, sowie dem Tropfsaftverlust auf. Damit lässt sich in diesen Versuche eine Korrelation zwischen guter Fleischqualität und niedrigen Katecholaminwerten nicht feststellen.

5.3.8.3 Creatinkinase und CK/ASAT-Quotient

Die durchschnittliche Creatinkinasekonzentration von mit Stickstoffschaum betäubten Tieren lag mit 3375 U/l über dem von KRAFT & DÜRR (2005) angegebenen Referenzwert für das Schwein von 2.000 U/l (Tabelle 2.2, S. 27).

Das Enzym Creatinkinase (CK) kommt vermehrt in der Muskulatur vor und kann durch die Verletzung der Halsmuskulatur ins Stichblut übertreten. Dadurch können fälschlicherweise höhere CK-Werte und ein höheres CK/ASAT-Verhältnis zustande kommen als nach einer gefäßgebundenen Blutentnahme. Die CK kann als Belastungsindikator verwendet werden (WARRIS et al., 1994). WARRIS et al. (1998) beschrieben, dass die CK-Werte stark abhängig von der genetisch bedingten Stressanfälligkeit verschiedener Schweinerassen sind. Eine genotypbedingte Variabilität der CK-Werte sollte in diesen Versuchen durch den Einsatz weiblicher Tiere derselben Genetik auf ein Minimum reduziert werden. Die individuelle Adaptation der Tiere an unterschiedliche Belastungsreize während ihrer Entwicklungsphase bleibt als Einflussfaktor auf die CK-Werte allerdings weiterhin bestehen.

Elf Tiere wiesen einen CK/ASAT- Quotienten von > 100 U/l auf. Bei diesen Tieren kann entsprechend BICKHARDT (2004) vom Vorliegen einer Belastungsmyopathie ausgegangen werden.

7 von elf Tieren (63 %) mit einem CK/ASAT- Quotienten > 100 zeigten Bewegungen (kontinuierlich und sporadisch) über einen Zeitraum von ≥ 60 Sekunden. Ein Zusammenhang zwischen einem verlängerten Bewegungszeitraum und dem Entstehen einer Belastungsmyopathie war damit in diesen Versuchen nicht gegeben.

Von den Tieren, die eine Nachbetäubung erfahren haben, hatten lediglich zwei Tiere einen CK/ASAT- Quotienten > 100 . Der Faktor Nachbetäubung hatte in diesen Versuchen keinen ursächlichen Einfluss auf die Entwicklung einer Belastungsmiopathie.

Zwei Tiere mit mehr als um das zwanzigfach erhöhten CK-Werten und einem CK-/ASAT-Quotienten > 100 U/l (Tier 10 und Tier 31) zeigten während der Ausstattung ruhiges Verhalten. Die Zeiträume mit Bewegungen (kontinuierlich und sporadisch) lagen mit 142 Sekunden und 105 Sekunden deutlich über dem Gruppenschnitt von 77 Sekunden. Dabei dauerten die kontinuierliche Bewegungen 52 und 63 Sekunden (Gruppenschnitt: 40 Sekunden). Vokalisationen bzw. die Notwendigkeit zur Durchführung einer Nachbetäubung waren bei jeweils einem der Tiere gegeben. Schaum in der Lunge war bei einem Tier in geringgradigem Maße und bei dem anderen nicht nachweisbar. Neben einem möglichen Übertritt des Enzyms von der Muskulatur in die beim Entblutestich entnommene Stichblutprobe oder eines individuell sensibleren Stressempfindens dieser Tiere können auch Bewegungsdauer und/oder Stärke der Bewegungen zu den erhöhten CK-Werten bei diesen Tieren beigetragen haben, auch wenn längere Zeiträume mit dem Auftreten von kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen in diesen Versuchen nicht grundsätzlich zu erhöhten CK-Werten bzw. zu einer Belastungsmiopathie geführt haben.

5.3.8.4 Laktat

Insgesamt waren die Laktatwerte sehr homogen zwischen allen Versuchstieren und lagen mit durchschnittlich 14,45 mmol/l über dem aus der Literatur bekannten Referenzwert von 11 mmol/l (BICKHARDT, 1992, Tabelle 2.2, S. 27). Sie sind damit höher als die aus der Literatur bekannten Laktatwerte im Anschluss an eine Kohlendioxidexposition (bis 10,8 mmol/l bei HARTUNG et al., 2002, Tabelle 2.2, S. 27). Eine vermehrte Produktion von Laktat erfolgt bei besonderer motorischer und emotionaler Belastung des Organismus und stellt einen sensiblen Parameter für eine Gewebsanoxie dar (KRAFT & DÜRR, 2005). Die erhöhten Laktatspiegel in der vorliegenden Studie sprechen für eine erhebliche motorische Belastung durch ausgeprägte Exzitationen. Diese Schlussfolgerung wird durch die Auswertungen der Videoanalyse und der Beschleunigungssensoren bestätigt, auch wenn statistisch keine Korrelationen zwischen den Laktatwerten und den Zeitspannen zum Auftreten von kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen erkennbar sind. Gleichzeitig können die massiv erhöhten Laktatwerte durch die bei dieser Methode zur Anwendung gekommenen Betäubungsmethode mit einhergehender Hypoxie/Anoxie zurückzuführen sein, da respiratorische und metabolische Oxidationsprozesse zum Erliegen kommen.

Erhöhte Laktatwerte können auch als Folge eines erhöhten Noradrenalinpiegels auftreten, da die Ausschüttung von Katecholaminen zu einer Erhöhung der Herzfrequenz führt, den pH-Wert im Blut senkt und zu einer Akkumulation von Laktat führt (HAMBRECHT et al., 2004). Für lediglich zwei Tiere mit einem erhöhten Noradrenalinpiegel liegen in diesen Untersuchungen die Werte für die Herzfrequenz (HF) vor Schaumstart und zum Zeitpunkt der Schaumbedeckung vor. Bei diesen Tieren sind die Herzfrequenzen zu beiden Zeitpunkten identisch. Aufgrund der geringen Anzahl an Tieren kann ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Katecholaminausschüttung und einer Steigerung der HF mit möglicher Laktatakkumulation nicht ausreichend verifiziert werden.

Der Faktor Nachbetäubung oder das Auftreten von Vokalisationen stehen in diesen Versuchen in keinem Zusammenhang zur Laktatkonzentration.

5.3.8.5 Glukose

Die Glukosewerte liegen mit durchschnittlich 6,10 mmol/l ($n = 39$) innerhalb der aus der Literatur bekannten Referenzwerte für das Schwein (bis 6,4 mmol/l, Tabelle 2.2, S. 27). Sie sind geringer als die aus der Literatur bekannten Glukosewerten von ca. 11 mmol/l im Anschluss an eine Kohlendioxidexposition.

Da eine enorme Stressbelastung zum Verbrauch von Energiereserven und damit zu einem erhöhten Anstieg der Glukoneogenese führt, deren Produkt neben Glukose auch Laktat ist, wurde die Korrelation dieser beiden blutgebundenen Stressparameter untersucht. Eine Korrelation zwischen Glukose und Laktat konnte in diesen Versuchen nicht nachgewiesen werden. Entgegen der Erwartungen hatte auch die Länge des Zeitraums mit kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen keinen Einfluss auf die Glukosekonzentration im Stichblut.

Nach BECERRIL-HERRERA et al. (2009) stehen erhöhte Glukosewerte für einen Anstieg der katecholaminvermittelten Glukoneogenese unter Belastungsbedingungen und können somit als Belastungsindikator gewertet werden. Von siebzehn Tieren mit einer Erhöhung des Glukosewertes im Stichblut war in 41 % eine Nachbetäubung erforderlich. Bei 52 % war die Länge der Zeiträume mit kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen ≥ 60 Sekunden. Bei 64 % der Tiere mit einer Erhöhung des Glukosewertes im Stichblut waren vereinzelt Vokalisationen während der Versuche ermittelt worden und bei 35 % lagen die Werte für Adrenalin und Noradrenalin oberhalb des Referenzbereichs. Obgleich sich statistisch keine signifikanten Zusammenhänge ergaben, deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass die Ursache für die erhöhten Glukosekonzentrationen im Blutplasma in der Stressbelastung der Tiere zu

suchen ist. Das Vorkommen von erhöhten Glukosewerten bei sieben Versuchstieren mit Nachbetäubung könnte dafür sprechen, dass eine nicht ausreichende Betäubung mit der Notwendigkeit zur Durchführung einer Nachbetäubung trotz der hier nicht erhöhten Katecholaminkonzentrationen in einer Aktivierung der Glukoneogenese resultiert, auch wenn sich rechnerisch hierfür kein Zusammenhang ergibt. Da jedoch auch Körperbewegungen und Exzitationen, die nach Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit eintreten, zu einem Anstieg der Glukose im Plasma führen können (MEYER, 2015), könnte die tatsächlich auf das Tier einwirkende Stressbelastung bis Bewusstseinsverlust geringer als angenommen sein.

5.4 Beurteilung des Schaumgehalts in den Schlachtlungen

Von 29 untersuchten Schlachtlungen, waren in 21 Fällen (72 %) kleinblasige Schaumrückstände in den Lungen nachweisbar. In den fünf Fällen, bei denen Gasping beobachtet wurde, könnte das Vorhandensein von Schaum in der Lunge durch die mit dem Gasping verbundene Schnappatmung zu erklären sein. Gasping wurde von GRANDIN (1994) als ein Anzeichen für das Nachlassen der Hirnfunktion beschrieben und könnte somit auch beim bereits wahrnehmungs- und empfindungslosen Tier auftreten. Dadurch wäre der Schaum erst bei verlorenem Bewusstsein der Tiere in die Lungen gelangt. In den anderen 16 Fällen könnte der Schaum durch Zerschlagung aufgrund von Körperbewegungen durch die auch nach Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit weiter bestehende Atemtätigkeit in die Lunge gelangt sein. Da der genaue Zeitpunkt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit im Rahmen dieser Versuche nicht ermittelt werden konnte, kann nach derzeitigem Kenntnisstand bisher nicht ausgeschlossen werden, dass der Schaum auch bei vorliegender Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit in die Lungen der Tiere gelangt ist.

Auch in den Versuchen von MCKEEGAN (2013) und RAJ et al. (2008) war Schaum in den Lungen der Vögel nachweisbar, was sich bei der späteren Sektion der Tiere zeigte. Während des anoxischen Tods schlugen die Tiere mit den Flügeln, was dazu führte, dass der Schaum in ihrer direkten Umgebung sehr kleinblasig wurde. Dieser kleinblasige Schaum kann dann unter Umständen eingatmet worden sein. Ein Ersticken infolge einer Verlegung der Atemwege durch den kleinblasigen Schaum konnte ausgeschlossen werden, da eine Kontrollgruppe mit Tieren bei Exposition gegenüber einem hochexpansiven und mit Luft gefülltem Schaum bis an das Ende der jeweiligen Exposition (bis zu 5 Minuten) überlebten (RAJ et al., 2008; MCKEEGAN et al., 2013). MCKEEGAN (2013) schlussfolgerte daraus, dass für die Betäubung mit hochexpansivem, Stickstoff-gefülltem Schaum sichergestellt werden muss,

dass die Schaumhöhe über den Tieren groß genug ist bzw. die Produktion schneller erfolgen muss, als der Schaum durch die Bewegungen des Tieres zerstört werden kann. Diese von MCKEEGAN (2013) aufgestellte Schlussfolgerung ist dahingehend problematisch, dass eine höhere Schaumdecke über dem Tier allein eine Zerschlagung und Einatmung des kleinblasigen Schaumes nicht verhindert. Auch wenn ein Ersticken der Tiere durch den kleinblasigen Schaum ausgeschlossen werden kann, ist seine Einatmung, sofern das Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen weiterhin erhalten ist, mit einer möglichen Belastung für die Tiere verbunden und damit nicht tierschutzkonform.

5.5 Beurteilung der Fleischqualität

Insgesamt ist die Fleischqualität stark abhängig von Rasse, Alter, Geschlecht, Haltungs- und Fütterungsbedingungen (HONIKEL, 2000). Um diese Einflüsse so gering wie möglich zu halten, wurden in diese Versuchen nur weibliche Tiere aus einer begrenzten Anzahl an Betrieben mit vergleichbaren Haltungs- und Fütterungsbedingungen integriert.

5.5.1 pH- Wert

Der pH_{45} und der pH_{24} der Versuchstiere lagen im Bereich einer normalen Säuerung. Die Streuung für pH_{45} und pH_{24} ist im Kotelett größer als im Schinken. Tier 1 stellt mit einem pH_{24} von 6,58 einen Ausreißer dar und liegt im Bereich einer verzögerten Glykolyse (DFD-Fleisch). Dieses Tier fiel bereits bei der Ausstattung durch eine enorme Ruhe auf. Dass diese Ruhe einem erhöhten Erschöpfungszustand zuschulden ist, wird im Nachhinein angenommen. Ob diesem Erschöpfungszustand Haltungs-, Transport-, Wetter- oder die Versuchsbedingungen (oder eine Kombination daraus) zugrunde liegen, lässt sich abschließend nicht klären.

Kein Versuchstier entwickelte PSE im Schinken, während insgesamt sieben Tiere PSE im Kotelettmuskel entwickelten.

Der pH_{45} im Schinken und die Stichblutlaktatwerte korrelieren nicht. Zwischen dem pH_{45} im Kotelett und den Stichblutlaktatwerten zeigt sich jedoch eine hochsignifikanter Korrelation. Nach BINKE (2003) führt eine starke Beanspruchung der Muskulatur zu einem Sauerstoffmangel im Gewebe mit der folglich Bildung von Milchsäure (Laktat und H^+ - Ionen), was zu einem stärkeren pH-Wert-Abfall und damit zur Entstehung von PSE-Fleisch führen kann. Der dadurch beschriebene nachteilige Effekt auf die Fleischqualität mit der Entstehung von PSE-Fleisch konnte in diesen Versuchen nicht beobachtet werden.

Wie bereits für Laktat (Kapitel 5.3.8.4) erwähnt, könnte die Korrelation zwischen dem pH₄₅ und den Stichblutlaktatwerten den erhöhten Laktatwerten geschuldet sein, welche möglicherweise durch die bei dieser Methode zur Anwendung gekommenen Betäubungsmethode mit einhergehender Hypoxie/Anoxie zurückzuführen sein können.

Die Auswertungen zur Körpertemperatur, der Wartezeit, der Zeitspannen mit Bewegungen (kontinuierliche und sporadische Bewegungen) und einer erfolgten Nachbetäubung ergaben keinen Zusammenhang zur Entwicklung von PSE-Fleisch bei den Versuchstieren in den untersuchten Teilstücken. Damit kann der pH₄₅ in diesen Versuchen nicht als Belastungsindikator für das Tierwohl angewendet werden. Wohl aber stellt der pH₄₅ Wert den wohl zuverlässigsten Indikator zur Erkennung von PSE-belastetem Fleisch dar.

5.5.1.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die durchschnittlichen pH-Werte von Versuchstieren und kohlendioxidbetäubten Tieren gleicher Genetik im selben Schlachthof ergaben für den Parameter pH₄₅ im Schinken einen signifikanten Unterschied und für den Parameter pH₄₅ im Kotelett einen höchstsignifikanten Unterschied, liegen jedoch bei beiden Gruppen im Bereich der normalen Säuerung.

Die pH₂₄-Werte ergaben für den Vergleich der beiden Betäubungsgruppen keine signifikanten Unterschiede und liegen bei beiden Gruppen im Bereich der normalen Säuerung.

5.5.2 Muskelkerntemperatur

Dass die Muskelkerntemperaturen bei der Entwicklung von PSE-Fleisch eine entscheidende Rolle spielen (HONIKEL & KIM, 1985) und hohe Muskeltemperaturen die Entstehung von PSE-Fleisch begünstigen wurde von mehreren Autoren beschrieben (HONIKEL & KIM, 1986; MONIN et al., 1995; HAMBRECHT et al., 2005; ADZITEY und NURUL, 2011). In den vorliegenden Versuchen zeigten Tiere mit PSE-Entwicklung im Kotelett entgegen der Erwartung keine erhöhten Muskelkerntemperaturen. Demzufolge hatte die Muskelkerntemperatur in diesen Versuchen keinen Einfluss auf die Entwicklung von PSE-Fleisch.

5.5.2.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Der Vergleich der Muskeltemperaturen im Schinken 45 Minuten post mortem zwischen der Versuchsgruppe und der Kohlendioxidvergleichsgruppe ergibt signifikant geringere Werte nach Kohlendioxidbetäubung. Die Muskeltemperaturen 45 Minuten post mortem im Kotelett unterscheiden sich nicht.

Sowohl ein möglicherweise höheres Schlachtkörpergewicht der Versuchstiere, welches zu einer längeren Wärmespeicherung führt (MÖHRLEIN et al., 2007a) als auch die im Vergleich zur Kohlendioxidbetäubung um ca. 90 Sekunden verlängerte Expositionsdauer könnten ein möglicher Erklärung hierfür sein. Da sich eine von TROEGER et al. (2003) beschriebene erhöhte Muskelkerntemperatur bei verlängerter Gasexpositionsdauer auf den Einsatz von nur eines Betäubungsgases bezieht, wäre die generelle Übertragbarkeit auf den Vergleich zwischen zwei unterschiedlichen Betäubungsgasen jedoch erst noch zu prüfen.

5.5.3 Leitfähigkeit

Die LF_{24} im Schinken liegt im Bereich von PSE-Fleisch (> 7 mS/cm). Die LF_{24} im Kotelett liegt im Bereich eines Verdachts für eine krankhafte Abweichung (5-7 mS/cm).

Die Leitfähigkeitsmessung stellt in diesen Versuchen keinen sehr sensitiven Parameter zur Beurteilung von Belastungen beim Tier und zur Beurteilung des Vorliegens von PSE-verdächtigem Fleisch dar. LEE et al. (2000) beschrieben, dass die Bewertung und Vergleichbarkeit von Leitfähigkeitswerten grundsätzlich abhängig von dem verwendeten Messgerät und dessen Voreinstellungen ist. Die im Versuch verwendeten Elektroden für die Leitfähigkeitsmessung zeigten starke Schwankungen zwischen den jeweiligen Doppelmessungen, was durch Bewegung der Elektroden im Fleisch bzw. eine geringgradig abweichende Einstichstelle zustande kam. Die höhere Sensibilität im Vergleich zu den pH-Elektroden wurde ebenfalls in den Untersuchungen von MÖHRLEIN et al. (2007b) beobachtet, welche mit derselben Messtechnik durchgeführt wurden. Trotz der Schwankungen zwischen den Doppelmessungen konnte eine positive Korrelation zwischen den Leitfähigkeitsmesswerten 24 Stunden post mortem und der Wasserbindung in diesen Versuchen nachgewiesen werden. Dies spricht für einen starken Zusammenhang, der auch bei kleineren Variationen der Messwerte signifikant bleibt.

5.5.3.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die LF_{45} im Schinken und im Kotelett zwischen der Versuchsgruppe und der Kohlendioxidvergleichsgruppe ist höchstsignifikant unterschiedlich. Sie liegt im Kotelett im Normalbereich und im Schinken im Bereich eines Verdachts für eine krankhafte Abweichung (5-7 mS/cm).

Die nach Kohlendioxidbetäubung ermittelten Leitfähigkeitswerte 24 Stunden post mortem sind niedriger und gleichzeitig schwankungsresistenter als nach der Betäubung mit Stickstoffgefülltem, hochexpansivem Schaum. Es wird nicht davon ausgegangen, dass die Stickstoffschaumbetäubung zu einer innerhalb eines Teilstückes stark variierenden Leitfähigkeit führt,

weshalb die größeren Schwankungen zwischen zwei Doppelmessungen bei dieser Methode vermutlich durch die hohe Sensibilität der Messelektroden und eine gleichzeitig geringere Bewegung der Messelektroden im Teilstück während den Messungen zustande kam.

5.5.4 Wasserbindung

Jeweils 43,3 % der Koteletts der Versuchstiere wiesen eine gute bzw. mäßig erhöhte Wasserbindung auf. Viele der mäßig erhöhten Proben befanden sich an der Grenze zur Einteilung in die Kategorie "gute Wasserbindung" (Tabelle 2.6, S. 49). Die Tendenz zu PSE-Fleisch, gemessen an dem Wasserbindungsvermögen der Fleischproben ist daher in diesen Versuchen als gering einzustufen. Der signifikante Zusammenhang zwischen Wasserbindung und LF₂₄ im Kotelett ergibt sich durch eine Zunahme an freien Ladungsträgern im Fleisch infolge eines vermehrten Austauschs von inter- und intrazellulärer Flüssigkeit bei abnehmender Wasserbindungsfähigkeit.

Wasserbindung und Tropfsaftverlust stellen zwei unterschiedliche Messverfahren für den gleichen Fleischbeschaffenheitsparameter dar. Je größer der Tropfsaftverlust eines Teilstückes ist, desto geringer ist seine Wasserbindungsfähigkeit. Aus diesem Zusammenhang ergibt sich die stark negative Korrelation zwischen Wasserbindung und Tropfsaftverlust.

Die auspressbare Gewebsflüssigkeit von Versuchstier 4 wies Anzeichen für Hämolyse auf. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die durch starke Ruderbewegungen zerstörte Schaumdecke im Tierversuch dazu führte, dass das Tier Zugang zur atmosphärischen Luft erhielt und nachbetäubt werden musste, könnte die Hämolyse ein Anzeichen für eine erhöhte Belastung bei diesem Tier darstellen. Die auspressbare Gewebsflüssigkeit der Versuchstiere 1, 6, und 7 wies einen geringeren Hämolysegrad auf. Tier 1 zeigte gleichzeitig dazu DFD-verdächtigtes Fleisch, welches auf eine für mehrere Stunden auf das Tier einwirkende Stressbelastung hindeuten kann. Tier 6 gehörte zu den Tieren, die nachbetäubt werden mussten. Eine rötliche Färbung von auspressbarer Gewebsflüssigkeit könnte daher als Anhaltspunkt für eine kritische Betrachtung der Handlings- und Betäubungsumstände dienen.

Als weitere Erklärung für die rötliche Färbung der auspressbaren Gewebsflüssigkeit kommt eine mangelhafte Ausblutung der Schlachtkörper in Betracht.

5.5.4.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die Wasserbindung der Koteletts der mit Kohlendioxid betäubten Tiere war in 90,2 % der Fälle hochgradig erhöht und ergab im Vergleich zu den mit Stickstoffschaum betäubten Tieren einen höchstsignifikanten Unterschied.

Die Ermittlung der Wasserbindung für die mit Kohlendioxid betäubten Tiere wurde, anders als die Bestimmung der Wasserbindung bei den Versuchen mit Stickstoffschaum, nicht nur durch eine einzige Person sondern durch drei Personen nach entsprechendem Vergleich des individuellen Pressdrucks durch Einsatz der Referenzpressfläche durchgeführt. Bei der Prüfung auf Korrelation zwischen Wasserbindung und Tropfsaftverlust ergab sich für die kohlendioxidbetäubten Tiere kein Zusammenhang. Dadurch wird ersichtlich, dass die Untersuchungen zum Wasserbindungsvermögen mittels der Filterpapierpressmethode bei den kohlendioxidbetäubten Tieren trotz Abgleich des Pressdrucks bei der Durchführung durch mehrere Personen nur eingeschränkt vergleichbar sind. Daher ist zur Eingrenzung des Einflusses des Untersuchers und aufgrund der einfacheren Durchführbarkeit unter Feldbedingungen die Untersuchung des Tropfsaftverlustes vorzuziehen.

5.5.5 Tropfsaftverlust

Der Tropfsaftverlust lag mit durchschnittlich 4,43 % innerhalb des von MÖHRLEIN et al. (2007a) und MÖHRLEIN et al. (2007b) festgelegten Referenzbereiches für nicht PSE-verdächtiges Fleisch von < 7 %. Die Zusammenhänge für das Vorliegen einer starken Korrelation zwischen Tropfsaftverlust, Wasserbindung und LF_{24} wurden bereits im vorausgegangenen Kapitel (5.5.4, S. 150) erläutert.

Wie von MÖHRLEIN et al. (2007a) und MÖHRLEIN et al. (2007b) beschrieben, korreliert der Tropfsaftverlust am stärksten mit der LF_{24} . Ein stärkerer Zusammenhang zwischen Tropfsaftverlust und der LF_{45} im Kotelett im Vergleich zum Tropfsaftverlust und der LF_{45} im Schinken ist dadurch erklärbar, dass der Tropfsaftverlust anhand des Kotelettstücks und nicht anhand des Schinkens bestimmt wurde. Insgesamt besteht eine stärkere Korrelation zwischen Tropfsaftverlust und der LF_{24} als zwischen Tropfsaftverlust und der LF_{45} , unabhängig von der Lokalisation der Leitfähigkeitsmessung (MÖHRLEIN et al., 2007a). Die Ergebnisse des Tropfsaftverlustes in Verbindung mit der Auswertung der Verhaltens- und Belastungsindikatoren der Tiere stellen dar, dass der Tropfsaftverlust als ein zuverlässiges Kriterium zur Ermittlung von PSE-Fleisch verwendet werden kann, wenn es in Zusammenhang mit einem weiteren für PSE charakteristischen Merkmal, wie z.B. pH_{45} oder Fleischfarbe auftritt.

5.5.5.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die Tropfsaftverluste der Versuchsgruppe und der Kohlendioxidvergleichsgruppe unterscheiden sich nicht.

5.5.6 Fleischfarbe

Die L*-Werte von lediglich neun von 30 Tieren lagen unterhalb des Grenzwertes von 56 für normalfarbiges Fleisch. Kein b*-Wert lag unterhalb des Grenzwertes von 5 für normalfarbiges Fleisch. Entsprechend des Parameters Farbe ist die Fleischqualität der Versuchstiere als mangelhaft zu bewerten.

Versuchstiere, bei denen aufgrund unzureichender Betäubung oder Versuchsabbruchs eine Nachbetäubung erfolgte, zeigten keine schlechteren Werte bei der Farbanalyse.

5.5.6.1 Kohlendioxidvergleichsgruppe

Die L*-Werte und b*-Werte der mit Stickstoffschaum betäubten Tiere und der mit Kohlendioxid betäubten Tiere unterscheiden sich rechnerisch nicht. Die detaillierte Auswertung dieses Parameters deutet insgesamt jedoch auf bessere Farbeigenschaften bei den mit Stickstoffschaum betäubten Tieren hin.

Die nach Betäubung mit Kohlendioxid untersuchten Kotelettstücke sind insgesamt heller als nach Betäubung mit Stickstoffschaum. Die b*-Werte der Koteletts nach Kohlendioxidbetäubung und Stickstoffschaumbetäubung sind vergleichbar. Die b*-Werte beider Gruppen lagen mehr als das Doppelte oberhalb des von HONIKEL (1995) festgelegten Referenzwertes für PSE-verdächtiges Fleisch.

Von 30 nach der Betäubung mit Stickstoffschaum untersuchten Kotelettstücken wiesen im Vergleich zu den mit Kohlendioxid betäubten Tieren lediglich sechs eine hellere, d.h. PSE-verdächtigere Farbe auf. Bis auf ein Tier (als einziges mit Nachbetäubung) wiesen alle diese Tiere ebenfalls PSE-Anzeichen anhand des pH₄₅ im Kotelett und/oder des Tropfsaftverlustes auf.

Ein Drittel der Kotelettstücke der mit Stickstoffschaum betäubten Tiere wies eine gelbere, d.h. PSE-verdächtigere Farbe auf als die Koteletts der mit Kohlendioxid betäubten Tiere. Drei dieser Tiere gehörten zu den sieben Tieren mit einem PSE-verdächtigen pH₄₅ im Kotelett. Zwei weitere und eines dieser drei Tiere gehörten zu den fünf Tieren mit erhöhtem Tropfsaftverlust. Zwei Tiere gehörten zu den elf Tieren, die nachbetäubt werden mussten.

Die Auswertungen zur Fleischfarbe zeigen, dass zwei Drittel (den b^* -Wert betreffend) bzw. vier Fünftel (den L^* -Wert betreffend) der Versuchstiere eine geringere Inzidenz für PSE-Fleisch aufwiesen als Tiere gleicher Genetik nach Kohlendioxidbetäubung.

6 Schlussfolgerung

6.1 Betäubungsverfahren

Eine unmittelbar einsetzende Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bei der Betäubung von Tieren gilt als eines der wichtigsten Kriterien für eine gute und belastungsarme Betäubungsmethode. Bisher steht aufgrund des Auftretens von Anflutungsphasen keine wirksame Gasbetäubungsmethode zur Verfügung, die zeitgleich mit Expositionsbeginn zu einer unmittelbaren Bewusstlosigkeit führt. Aus tierschutzfachlicher Sicht sollte, unabhängig von der Dauer des Wirkungseintritts einer Gasbetäubungsmethode, einer Methode mit längerer Anflutungsphase der Vorrang gegeben werden, sofern diese mit weniger aversivem Verhalten und Unwohlsein der Tiere verbunden ist.

Die Ergebnisse zu den Adrenalin und Noradrenalinwerten deuten darauf hin, dass die Kohlendioxidbetäubung für die Tiere insgesamt belastender ist als die Betäubung mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansivem Schaum. Die aus der Literatur bekannten Glukosewerte nach Kohlendioxidbetäubung sind im Vergleich zur Betäubung mit Stickstoffschaum ebenfalls erhöht. Laktat als Produkt der Glukoneogenese hingegen ist nach Kohlendioxidbetäubung geringer als nach der Betäubung mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansivem Schaum. Die erhöhten Laktatwerte können hier jedoch –insbesondere unter Berücksichtigung anderer, im Vergleich zur Kohlendioxidbetäubung erniedrigten blutgetragenen Belastungsparameter- auf die in den Versuchen angewendete Anoxiemethode zurückzuführen sein, da auch eine Gewebsanoxie zur Überproduktion von Laktat führt.

Entsprechend der Analyse der Atem- und Herzfrequenzen stellen Schaumstart und die Bedeckung des Tieres mit Schaum keine oder nur geringgradige Belastungen für das Tier dar. Die Mehrheit der Tiere zeigte jedoch Lautäußerungen, die als Indikatoren für eine zumindestens emotionelle Belastung zu werten sind. Darüber hinaus zeigte sich, dass der Beginn von Bewegungsäußerungen bei den meisten Tieren deutlich erkennbar bei noch vorhandenem Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen erfolgte und als Fluchtintention zu werten ist. Dass die Mehrheit der Tiere Zeiträume mit Bewegungen von ≥ 60 Sekunden (kontinuierliche und sporadische Bewegungen) zeigte, gilt als Anzeichen dafür, dass Stress, Konvulsionen und dadurch entstehender potentieller Schmerz bei Anwendung dieser Betäubungsmethode bewusst erlebt werden. Zwischen Abwehrverhalten und neuromuskulären Exzitationen konnte in dieser Studie nicht unterschieden werden.

Lautäußerungen traten auch bei Erhalt von Ruderbewegungen auf, welche eindeutige Bewusstseinsanzeichen darstellen. Deshalb kann das Eintreten in die Exzitationsphase bei der Betäubung nicht grundsätzlich mit dem Zeitpunkt des Einsetzens der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit gleichgesetzt werden.

Eine objektive Bestimmung des Eintretens einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ab dem Zeitpunkt der Bedeckung des Tieres war in diesen Versuchen nicht möglich. Der nach visuellen Kriterien beurteilte Anoxieeintritt im EKG erfolgte nach durchschnittlich 80 Sekunden. Das Einsetzen eines Sauerstoffmangels im Myokard mit den Folgen einer arrhythmischen Herzaktivität zu diesem Zeitpunkt ist denkbar, führt jedoch nicht zwangsläufig zu einer unmittelbar einsetzenden und gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beim Tier.

Der Atemstillstand wird als zuverlässigeres Kriterium gewertet. Dieser erfolgte bei Exposition im Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum nach durchschnittlich 195 Sekunden. Dieses Ergebnis wird unterstützt durch das Ergebnis der transkutanen Blutgasanalyse eines Tieres, wonach der $p\text{CO}_2$ in der dritten Betäubungsminute um 20 mmHg ansteigt und die für Anoxie geltende Grenze von 60 mmHg überschreitet. Die Zusammenführung der Daten der transkutanen Blutgasanalyse und des Respirationsmoduls eines Tieres ergab einen Anoxieeintritt und ein Sinken der Atemfrequenz unter 3 Atemzüge/Minute nach ca. 180 Sekunden und einen 20 Sekunden im Anschluss daran folgenden Atemstillstand.

Die Beobachtungen in diesen Untersuchungen führen insgesamt zu der Annahme, dass eine kurze Gasexpositionsdauer die Zeit bis zur Rückerlangung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nicht nur unter Verwendung von Helium, Argon und Kohlendioxid, sondern auch unter Verwendung von Stickstoff massiv verkürzt. Auch eine Expositionsdauer von 3,5 Minuten der Schlachtschweine in dieser Atmosphäre konnte nicht in jedem Fall die Herbeiführung einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit gewährleisten. Insbesondere Tiere, die Gaspig zeigten, erlangten ihr Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen frühzeitig zurück und mussten nachbetäubt werden. Während des ersten Auftretens von Gaspig können die Tiere zwar wahrnehmungs- und empfindungslos sein, mit der kurzfristigen Rückerlangung des Bewusstseins kehrt jedoch auch das Schmerzempfinden zurück. In diesem Zustand dürfen die Tiere keinesfalls gestochen werden.

Bei der Mehrheit der Tiere (72 %) ließen sich im Anschluss an die Betäubung Schaumrückstände in der Lunge nachweisen. Diese führten jedoch zu keinen Erstickungsanzeichen mit Atemfrequenzsteigerung oder Fremdkörperreaktionen mit Husten. Da jedoch in dieser Untersuchung nicht geklärt werden konnte, ob Schaumrückstände vor oder nach Eintritt in die

Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit in die Lunge gelangt sind, muss davon ausgegangen werden, dass es sich hierbei um einen tierschutzrelevanten Kritikpunkt an dieser Methode handelt.

Insgesamt ist mit dem Stickstoff-gefüllten, hochexpansivem Schaum die Erreichung einer Stickstoffkonzentration von mehr als 98 % im offenen System möglich. Dass Restsauerstoffgehalte von mehr als 1 % problematisch für die sichere Herbeiführung von Anoxie beim Tier sind und entgegen den Anforderungen für eine tierschutzgerechte Betäubung stehen, zeigt sich daran, dass von vier Tieren mit einem erhöhten Restsauerstoffgehalt im Schaum drei Tiere nachbetäubt werden mussten. Folglich kann die Betäubungsmethode mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansivem Schaum unter Verwendung der in diesem Versuch eingesetzten Technik, ausgehend von den am Tier erhobenen Parametern, nicht als tierschonende Alternative zur Betäubung mit Kohlendioxid gewertet werden. Ob das Misslingen dieser Methode auf das Gas oder auf den Schaum als verwendetes Trägermedium zurückzuführen ist, kann abschließend nicht ergründet werden. Bisherige Versuche mit Stickstoff (auch in Kombination mit anderen Gasen wie Kohlendioxid) legen jedoch nahe, dass die in diesem Versuch verwendete Technik in Kombination mit dem hochexpansiven Schaum die Ursache darstellt. Versuche mit Stickstoff in Reinform könnten also weiterhin eine Möglichkeit für eine tierschonendere Betäubung als mit Kohlendioxid darstellen, insbesondere, wenn Auftreten und Ausmaß von Exzitationen und Konvulsionen zu reduzieren sind. Auch unter Berücksichtigung der kostengünstigeren Bereitstellung von Stickstoff im Vergleich zu der von Kohlendioxid und der hohen Repräsentanz von Stickstoff in der atmosphärischen Luft sollten Möglichkeiten gefunden werden, die Betäubungsversuche mit Stickstoff in Gasform durch Anoxie zukünftig zu realisieren.

6.2 Fleischqualität

Die Parameter pH_{45} und Tropfsaftverlust stellen ein gutes Bewertungskriterium für PSE-Fleisch dar. Auch die Fleischfarbe kann als Bewertungskriterium herangezogen werden. Der L^* -Wert scheint dabei einen zuverlässigeren Farbwert darzustellen als der b^* -Wert. Einer dieser drei Parameter allein mag wichtige Anhaltspunkte für das Vorliegen von PSE-Fleisch liefern, zuverlässige Ergebnisse ergeben sich jedoch erst dann, wenn mindestens zwei der Parameter innerhalb der für PSE sprechenden Grenzbereiche liegen. Die Leitfähigkeitsmessung 24 Stunden post mortem und die Wasserbindung haben sich in diesen Untersuchungen als keine sehr sensitiven Parameter zur Erkennung von PSE-Fleisch erwiesen.

Bereits bei den Messungen der Leitfähigkeit fiel auf, dass die Messgeräte schnell abweichende Werte anzeigten, sobald man die Elektrode in eine andere Richtung bewegte oder sie einige Zentimeter weiter entfernt von der ersten Einstichstelle einstach. Die Wasserbindung stellt aufgrund der manuellen Kalibrierung mittels Pressfläche, einem manuell einwirkenden Druck und der Auswahl einer Schablone nach visuellen Kriterien keine vergleichbar sichere Methode dar wie der Tropfsaftverlust. Da beide Methoden stark miteinander korrelieren, kann der Tropfsaft als alleiniges Bewertungskriterium herangezogen werden.

Die pH-Werte 45 Minuten p.m. und 24 Stunden p.m. und der Tropfsaftverlust nach Stickstoffschaumbetäubung und Kohlendioxidbetäubung sind vergleichbar. Die Leitfähigkeitsmesswerte 45 Minuten p.m. und 24 Stunden p.m. sind schlechter nach Stickstoffschaumbetäubung als nach Kohlendioxidbetäubung. Schlachtkörperqualitätsmängel in Form von Blutpunkten traten bei stickstoffbetäubten Tieren nicht auf. Bezüglich der Farbmessung liefert die Betäubung mit Stickstoff-gefülltem, hochexpansiven Schaum besserer Ergebnisse als nach einer Kohlendioxidbetäubung. Damit scheint die Fleischqualität stickstoffschaumbetäubter Tiere insgesamt vergleichbar mit der Fleischqualität kohlendioxidbetäubter Tiere zu sein.

Insgesamt wiesen in diesen Untersuchungen sechs Tiere PSE auf. Dies äußerte sich durch das Vorhandensein von PSE anhand der Parameter pH_{45} , Tropfsaftverlust und Fleischfarbe. Überdies wiesen alle sechs Tiere erhöhte LF_{24} -Werte in Schinken und Kotelett, sowie eine verringerte Wasserbindung auf.

Die ursächlichen Auslöser für das Vorhandensein von PSE bei diesen Tieren lässt sich unmöglich auf einen bestimmten Stressor zurückverfolgen. Sicherlich stellen das Handling der Tiere, die Art der Betäubung und die Umstände der Betäubung eine enorme Rolle bei der Entwicklung der Fleischqualität dar. Doch auch neben den in dieser Arbeit berücksichtigten Faktoren können die Haltungsbedingungen auf dem Herkunftsbetrieb, die Dauer und die Bedingungen des Transports zum Schlachthof, sowie die individuelle Stressadaptation der Tiere an bestimmte auf sie einwirkende Belastungen nicht zu vernachlässigende Kenngrößen darstellen. Klar scheint, dass die resultierende Fleischbeschaffenheit selten durch einen einzelnen Stressor ausgelöst wird und wenn doch, dieser schwer zu ermitteln ist. Deshalb sollte auf alle innerhalb der Lebensmittelkette ablaufenden Prozesse, die das lebende Tier betreffen, ein hochsensibles Augenmerk bezüglich eines belastungsarmen Umgangs und vorallem auch auf die Entwicklung einer tierschonenderen Betäubung gelegt werden.

7 Zusammenfassung

Pöhlmann, Valeska:

Untersuchung zur alternativen Betäubung von Schlachtschweinen mit einem hochexpansiven, Stickstoff-gefüllten Schaum unter Tierschutz- und Fleischqualitätsaspekten

Ziel dieser Orientierungsstudie war es, erstmalig eine Betäubung von Schlachtschweinen unter Herbeiführung von Anoxie durch den Einsatz eines mit Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaumes im offenen System durchzuführen und so einen Beitrag zur Erforschung einer tierschutzgerechten Alternativbetäubung von Schlachtschweinen zu liefern. Dabei sollte die Methode insbesondere hinsichtlich möglicher Belastungen für das Tier aufgrund des verwendeten Gases oder des als Trägermedium verwendeten Schaums untersucht sowie auf ihre Praxistauglichkeit auf dem Schlachthof getestet werden. Die Wirksamkeit dieser Methode sollte anhand der Dauer und Effektivität der Einleitung einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beurteilt werden. Bei Tauglichkeit des Betäubungsverfahrens sollte das maximale "stun-to-stick"-Intervall bestimmt und Schlüsselparameter entsprechend der EU VO (EG) Nr. 1099/2009 für die Überprüfung einer tierschutzgerechten Betäubung genannt werden.

Zur Untersuchung der Qualität der Betäubungsmethode wurden 40 Schlachtschweine der Genetik DanZucht mittels Sensoren zur Kontrolle verschiedener tierbasierter Parameter ausgestattet (EEG, EKG, transkutane Blutgasanalyse, Respirationsmodul, Beschleunigungssensoren, Sensoren zur Messung der Körpertemperatur). Zur Betäubung der Tiere wurde ein mit Stickstoff-gefüllter, hochexpansiver Schaum (3 % HTF-1000 in Wasser) mit einem gewünschten Restsauerstoffgehalt von < 1 % verwendet. Die Betäubungsdauer ab dem Zeitpunkt der Bedeckung der Rüsselscheibe des Tieres betrug 3,5 Minuten. Nach Herausnahme des Tieres aus der Betäubungsbox erfolgten Reflexprüfungen (Cornealreflex, Pupillarreflex, Nasenscheidewandreflex). Im Falle einer eindeutig negativen Reflexprüfung erfolgte die Tötung des Tieres durch Blutentzug. Das Stichblut der Tiere wurde auf die blutgestützten Belastungsindikatoren Adrenalin und Noradrenalin, Creatinkinase und Aspartataminotransferase-Quotient, Laktat und Glukose untersucht. Hinzukommend wurde

die Fleischbeschaffenheit der Schlachtkörper untersucht (pH-Wert und Leitfähigkeit jeweils 45 Minuten und 24 Stunden post mortem, Wasserbindungsvermögen, Tropfsaftverlust, Fleischfarbe), um weitere Anhaltspunkte für die Belastung des Tieres ante mortem und -unter Voraussetzung der Wirksamkeit des Verfahrens- Aussagen über die Güte der Fleischqualität treffen zu können.

Die Untersuchungen zeigten, dass die transkutan erhobenen EEG-Rohdaten aufgrund der hohen Störanfälligkeit und Artefaktbelastung nicht geeignet sind, um den Zeitpunkt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit zu bestimmen. Der nach visuellen Kriterien beurteilte Anoxieeintritt im EKG (80 Sekunden nach Betäubungsstart) ist nicht belastbar, da entsprechend der Aufzeichnungen des Respirationsmoduls der Atemstillstand erst nach 195 Sekunden erfolgte. Auch die hohe Nachbetäubungsrate von 22 % zeigt, dass eine Expositionsdauer von 3,5 Minuten nicht ausreichend ist, um die Herbeiführung einer gesicherten Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit zu gewährleisten. Insbesondere Tiere, die Gaspung zeigten, erlangten ihr Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögen frühzeitig zurück.

Die Katecholamingehalte im Stichblut waren geringer als nach einer Kohlendioxidbetäubung und auch die Glukosewerte ließen nicht auf das Vorliegen einer massiven Stressbelastung schließen. Allerdings lag bei 28 % der Tiere entsprechend des CK/ASAT-Quotienten eine Belastungsmypopathie vor und die Laktatwerte als sensibler Belastungsparameter waren ebenfalls erhöht. Das Verhalten der Tiere kann zumindestens in Teilaspekten als aversiv gewertet werden. Fluchtversuche der Tiere, beginnend nach 14 Sekunden, Zeiträume mit kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen über 77 Sekunden und Lautäußerungen in 67 % der Fälle mit einem Beginn nach 51 Sekunden und über einen Zeitraum von 27 Sekunden zeigten, dass die Einleitung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nicht unmittelbar erfolgte. Auch das Vorhandensein von Schaumrückständen in 72 % der Schlachtungen besitzt eine Tierschutzrelevanz.

Die Ergebnisse der Fleischbewertung zeigten, dass das Fleisch von stickstoffschaumbetäubten Tieren eine vergleichbare Qualität wie nach Kohlendioxidbetäubung besitzt oder sogar besser ist.

8 Summary

Pöhlmann, Valeska:

Study on the stunning of slaughter pigs with a nitrogen-filled, high-expansion foam focussing on the aspects of animal welfare and meat quality

The aim of this proof of concept was to conduct the stunning of slaughter pigs by inducing an anoxia by means of a nitrogen-filled highly-expansive foam in an open system for the first time and thereby provide a contribution towards the research of an animal-welfare alternative stunning method on slaughter pigs. In doing so the method was analysed particularly with regard to possible stress for the animal caused by the used gas or the foam used as a carrier medium, as well as being practice-compliant in the slaughterhouse. The potency of the method was assessed by the duration and effectivity of inducing a secured unconsciousness and insensibility. If the method had been proven suitable for stunning the maximal “stun-to-stick”-interval had to be determined and key parameters, according to Council Regulation (EC) No. 1099/2009 had to be named.

For the investigation on the quality of the stunning method 40 slaughter pigs of the “DanBred” genetics were equipped with sensors to check several animal-based parameters (EEG, ECG, transcutane blood gas analysis, respiration belt, acceleration sensors, sensors to check to body internal temperature). For stunning of the animals a nitrogen-filled, highly-expansive foam (3 % HTF-1000 in water) with a desired rest oxygen content of < 1 % was used. The duration of stunning after the covering of the animal’s rostral was 3.5 minutes. After taking the animal out of the stunning box reflex tests were carried out (corneal reflex, pupil reflex, nasal cartilage reflex). On distinctly negative reflex tests killing of the animal was done by blood withdrawal. The sticking blood was examined regarding the blood-supported stress indicators adrenalin and noradrenalin, the quotient between creatine kinase and aspartate aminotransferase, lactate and glucose. Additionally the meat quality of the carcasses was analysed (pH-value and conductivity 45 minutes resp. 24 hours post mortem, water-binding capability, drip loss, meat colour) to get further evidence for the animals’ stress ante mortem and – provided the method was efficient - on the meat quality.

The research showed that the raw EEG data obtained by transcutane measuring was not suitable to determine the particular time of unconsciousness and insensibility due to high interference liability and artefact load. The start of anoxy in the ECG (80 seconds after start of stunning) assessed by visual criteria is not authoritative because regarding the recordings of the respiration belt, the breathing arrest only happened after 195 seconds. Also the high rate of follow-up stunning (22%) showed that an exposition time of 3.5 minutes was not sufficient to assure a secured unconsciousness and insensibility. Animals were seen gasping, regaining their consciousness and sensibility at an early stage.

The catecholamin contents of the sticking blood were less compared to a carbondioxyde stunning and also the glucose values did not suggest a massive stress burden.

However 28 % of the animals showed a stress myopathy (according to the CK/ASAT-quotient) and the lactate values as a sensitive parameter were increased as well. The behaviour of the animals can be judged as aversive at least in parts. Attempts to escape, starting after 14 seconds, motional durations of 77 seconds and sound manifestations in 67 % of all cases with start after 51 seconds and duration of 27 seconds showed that the commencement of unconsciousness and insensibility did not start immediately. Also the existence of foam residues in 72 % of the slaughtered pigs' lungs had a relevance to animal welfare.

The result of meat condition assessment showed that the meat of nitrogen-foam stunned animals had a similar or even better quality compared to the carbondioxide stunning.

9 Literaturverzeichnis

- Adzitey, F., H. Nurul (2011): Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: Causes and measures to reduce these incidences — A mini review. *International Food Research Journal* 18, 11–20.
- Altmann, M., U. Kirchheim, L. Schöberlein, M. Wähler, M. Wicke, K. Fischer (2005): PSE-Status bei marktkonformen Schweinen. Ergebnisse eines Monitorings in verschiedenen Schlachtbetrieben Deutschlands. *Fleischforschung und Entwicklung. Fleischwirtschaft* 7, 101-105.
- Anastasov, M. I., S. B. Wotton (2012): Survey of the incidence of post-stun behavioural reflexes in electrically stunned broilers in commercial conditions and the relationship of their incidence with the applied water-bath electrical parameters. *Animal Welfare* 21, 247-256.
- Anil, M. H. (1991): Studies on the Return of Physical Reflexes in Pigs following Electrical Stunning. *Meat Science* 30, 13-21.
- Antognini, J. F., L. Barter, E. Carstens (2005): Movement as an index of anesthetic depth in humans and experimental animals. *Comparative Medicine* 55 (5), 413-418.
- Aphin, R. L., M. K. Rankin, K.J. Johnson, E.R. Benson (2010): Comparison of water-based foam and inert-gas mass emergency depopulation methods. *Avian Diseases* 54, 757-762.
- Armero E., M. Flores, F. Toldrá, J.-A. Barbosa, J. Olivet, M. Pla, M. Baselga (1999): Effects of pig sire type and sex on carcass traits, meat quality and sensory quality of dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1147-1154.
- AVMA - American Veterinary Medical Association (2013): AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition.
<https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>, aberufen am 29.05.2017.
- Bear, L. R., L. K. Cheng, I. J. Le Grice, G. B. Sands, L. A. Lever, D. J. Paterson, B. H. Smaill (2015): Forward problem of electrocardiography. Is it solved?. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology* 8 (3), 677-684.
- Becerril-Herrera, M., M. Alonso-Spilsbury, C. Lemus-Flores, I. Guerrero-Legarreta, A. Olmos-Hernández, R. Ramírez-Necochea, D. Mota-Rojas (2009): CO₂ stunning may compromise swine welfare compared with electrical stunning. *Meat Science* 81, 233-237.

- Belenkiy, S., K. M. Ivey, A. I. Batchinsky, T. Langer, C. Necsoiu, W. Baker, J. Salinas, L.C. Cancio (2013): Noninvasive carbon dioxide monitoring in a porcine model of acute lung injury due to smoke inhalation and burns. *SHOCK* 39 (6), 495-500.
- Benson, E. R., G. W. Malone, R. L. Alphin, M. D. Dawson, C. R. Pope, G.L. Van Wicklen (2007): Foam-based mass emergency depopulation of floor-reared meat-type poultry operations. *Poultry Science* 86, 219-224.
- Benson, E. R., R. L. Alphin, M. D. Dawson, G. W. Malone (2009): Use of water-based foam to depopulate ducks and other species. *Poultry Science* 88, 904-910.
- Benson, E. R., R. L. Alphin, M. K. Rankin, M. P. Caputo, A. L. Johnson (2012a): Electroencephalogram-Based Methodology for Determining Unconsciousness During Depopulation. *Avian Diseases* 56, 884-890.
- Benson, E. R., R. L. Alphin, M. K. Rankin, M. P. Caputo, D. P. Hougentogler, A. L. Johnson (2012b): Mass Emergency Water- Based Foam Depopulation of Poultry. *Avian Diseases* 56, 891-896.
- Bermal, J. (2011): EKG-Interpretation in der Kleintierpraxis. Schlütersche, Hannover.
- Bickhardt, K. (1992): Kompendium der Allgemeinen Inneren Medizin und Pathophysiologie für Tierärzte. Pareys Studentexte 69. Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Bickhardt, K. (2004): Muskelerkrankungen. In: Waldmann, K.-H., M. Wendt (Hrsg.): Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Parey, Berlin und Hamburg, 4. Auflage, 239-259.
- Bickhardt, K., A. Wirtz (1978): Der Einfluss von Anbindestress und Fütterung auf Blutmeßwerte des Schweines. *Dtsch. tierärztl. Wochenschrift* 85, 457- 462.
- Binke, R. (2003): Vom Muskel zum Fleisch. *Mitteilungsblatt BAFF* 42 (162), 347-354.
- Blanchard, P. J., C. C. Warkup, M. Ellis, M. B Willis, P. Avery (1999): The influence of the proportion of Duroc genes on growth, carcass and pork eating quality characteristics. *Animal Science* 68 (3), 495–501.
- Brian, J. E. (1998): Carbon dioxide and the cerebral circulation. *Anaesthesiology* 88, 1365-86
- Brooks, J. C., L. Zambreau, A. Godinez, A. D. Craig, I. Tracey (2005): Somatotopic organisation of the human insula to painful heat studied with high resolution functional imaging. *Neuroimage* 27 (1), 201-209.
- Broom, D. M., H. Sena, L. Moynihan (2009): Pigs learn what a mirror image represents and use it to obtain information. *Animal Behaviour* 78, 1037-1041.

- Cantieni, J. (1977): Ein Beitrag zur CO₂-Betäubung von Schlachtschweinen. Schweiz. Arch. Tierheilk. 119, 355-375.
- Channon, H. A., A. M. Payne, R. Warner (2003): 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 65, 1325-1.
- Craig, A. D. (2003): Interoception: The sense of the physiological condition of the body. Current Opinion in Neurobiology 13 (4), 500-505.
- Dadgar, S., T. G. Crowe, H. L. Classen, J. M. Watts, P. J. Shand (2012): Broiler chicken thigh and breast muscle responses to cold stress during simulated transport before slaughter. Poultry Science 91, 1454-1464.
- Dalmau, A., J. Pallisera, C. Pedernera, R. Carreras, N. Casal, E. Mainau, P. Rodriguez, A. Velarde (2016): Use of high concentrations of carbon dioxide for stunning rabbits reared for meat production. World Rabbit Science 24, 1-13.
- Dalmau, A., P. Llonch, P. Rodriguez, J. L. Ruíz- de la- Torre, X. Manteca, A. Velarde (2010a): Stunning pigs with different gas mixtures: gas stability. Animal Welfare 19, 315-325.
- Dalmau, A., P. Rodriguez, P. Llonch, A. Velarde (2010b): Stunning pigs with different gas mixtures: aversion in pigs. Animal Welfare 19, 325-333.
- Dawson, M. D., E. R. Benson, G. W. Malone, R. L. Alphin, I. Estevez, G.L. Van Wicklen (2006): Evaluation of foam-based mass depopulation methodology for floor-reared meat-type poultry operations. Applied Engineering in Agriculture 22 (5), 787-794.
- Dodman, N. H. (1977): Observations on the use of the Wernberg dip-lift carbon dioxide apparatus for pre-slaughter anaesthesia of pigs. British Veterinary Journal 133, 71-80.
- Dudgale, A. (2010): Veterinary Anaesthesia: Principles to Practice. Wiley-Blackwell, Oxford, 2010.
- Eisle, J. H., E.I. Egner, M. Muallem (1967): Narcotic properties of carbon dioxide in the dog. Anaesthesiology 28, 856-865.
- Ernsting, J. (1965): The Effects of Anoxia on the Central Nervous System. In: Gillies, J. A. (Hrsg.): A Textbook of Aviation Physiology, Pergamon Press, Oxford.
- Feldhusen, F. (1994): Influence on postmortem colour changes of pork surface. Fleischwirtschaft 74 (9), 989-991.

- Feldhusen, F., D. Neumann-Fuhrmann, O. Haeger, S. Wenzel (1987). Farbmessungen im Rahmen der Fleischqualitätsprüfung mit dem Minolta Chromameter. *Züchtungskunde* 146-157.
- Fischer, K. (2007): Drip loss in pork: influencing factors and relation to further meat quality traits. *J. Anim. Breed. Genet.* 124 (1), 12-18.
- Fischer, K., J.P. Lindner, P. Freudenreich, M. Judas, R. Höreth (2006): Schlachtkörperzusammensetzung und Gewebebeschaffenheit von schweren Schweinen II. Merkmale der Fleisch- und Fettqualität. *Archiv für Tierzucht* 49, 279-292
- Forslid, A. (1987): Transient neocortical, hippocampal and amygdaloid EEG silence induced by one minute inhalation of high concentration CO₂ in swine. *Acta Physiologica Scandinavica* 130, 1-10.
- Forslid, A. (1992): Muscle spasms during pre-slaughter CO₂-anaesthesia in pigs. *Fleischwirtschaft* 72, 167-168.
- Forslid, A., Augustinsson, O. (1988): Acidosis, hypoxia and stress hormone release in response to one minute inhalation of 80% CO₂ in swine. *Acta Physiologica Scandinavica* 132, 222-231.
- Fries, R., G. Rindermann, C. Siegling-Vlitakis, N. Bandick, L. Bräutigam, A. Buschulte, H. Irsigler (2013): Blood parameters and corneal- reflex of finishing pigs with and without lung affections observed post mortem in two abbatoirs stunning with CO₂. *Research in Veterinary Science* 94, 186-190.
- Galante, D., D. Fortarezza, M. Caggiano, G. de Francisci, G. Pedrotti, M. Caruselli (2015): Correlation of bispectral index (BIS) monitoring and end-tidal sevoflurane concentration in a patient with lobar holoprosencephaly. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 65 (5), 379-383.
- Garrido, M. D., K. O. Honikel (1995): Beziehungen zwischen Qualitätsmerkmalen von Schweinefleisch kurz nach dem Schlachten und nach Beendigung der Kühlung. *Fleischwirtschaft* 75, 1437-1440.
- Gerritzen, M. A., J. Sparrey (2008): A pilot study to assess whether high expansion CO₂-enriched foam is acceptable for on-farm emergency killing of poultry. *Animal Welfare* 17, 285-288.

- Gerritzen, M. A., M. T. W. Verhoeven, V. A. Hindle (2015): Progress report validation of parameters to determine unconsciousness during slaughter of veal calves. Wageningen UR Livestock Research. Livestock Research Report 405.
- Gerritzen, M. A., V. A. Hindle (2009): Indicatoren voor Bewusteloosheid. Indicators for unconsciousness. Wageningen UR Livestock Research. Rapport 260.
- Gerritzen, M., E. Lambooi, H. Reimert, A. Stegeman, B. Spruijt (2007): A note on behaviour of poultry exposed to increasing carbon dioxide concentrations. *Applied Animal Behaviour Science* 108, 179-185.
- Gerritzen, M., E. Lambooi, S. Hillebrand, J. Lankhaar, and C. Pieterse (2000): Behavioural responses of broilers to different gaseous atmospheres. *Poultry Science* 79, 928-933.
- Gieling, E. T., E. Mijdam, F. J. van der Staay, R. E. Nordquist (2014): Lack of mirror use by pigs to locate food. *Applied Animal Behaviour Science* 154 (2014), 22-29.
- Grandin, T. (1994): Euthanasia and slaughter of livestock. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 204 (9), 1354-1360.
- Gregor, R. (2003): Membranpotenzial. In: Klinke R., S. Silbernagel (Hrsg.): *Lehrbuch der Physiologie*, Kapitel 4, S. 49-80.
- Gregory, N. G. (2008): Animal welfare at markets and during transport and slaughter. *Meat Science* 80, 2-11.
- Gregory, N. G., A. B. M. Raj, A. R. S. Audsley, C. C. Daly (1990): Effects of carbon dioxide on man. *Fleischwirtschaft* 70, 1173-1174.
- Gregory, N. G., B. W. Moss, R. H. Leeson (1987): Assessment of carbon dioxide stunning in pigs. *Veterinary Record* 121, 517-518.
- Griffin, D. R., G. B. Speck (2004): New evidence of animal consciousness. *Anim. Cogn.* 7 (5), 5-18.
- Gros, G. (2005): Atmung. In: von Engelhardt, W., G. Breves (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. Enke, Stuttgart, 2., völlig neu bearbeitete Auflage, Kapitel 11, 230-264.
- Güntürkün, O. (2014): Is dolphin cognition special? *Brain Behav. Evol.* 83, 177-180.
- GV-SOLAS, Gesellschaft für Versuchstierkunde-Society for Laboratory Animal Science (2010): Empfehlung Schmerztherapie bei Versuchstieren. Ausschuss für Anästhesie, Analgesie und Schmerzprophylaxe, 1-74.

- Haberstroh J, J. Henke (2012): Sauerstoffstatus. In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.): Anästhesie & Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen. Schattauer, Stuttgart, Kapitel 6, 227-231.
- Haldane. J. S. (1922): "The Effects of want of Oxygen". In: Respiration. London. Yale University Press, Kapitel 6, 108-131.
- Haldane. J. S. (1922): "The Causes of Anoxaemia". In: Respiration. Yale University Press, London, Kapitel 4, 59-83.
- Haldane. J. S. (1922): "The Causes of Anoxaemia". In: Respiration. Yale University Press, London, Kapitel 7, 132-170.
- Hambrecht, E., J. J. Eissen, D. J. Newman, C. H. M. Smits, M. W. A. Verstegen, L. A. den Hartog (2005): Preslaughter handling effects on pork quality and glycolytic potential in two muscles differing in fiber type composition. *Journal of Animal Science* 83, 900-907.
- Hambrecht, E., J. J. Eissen, W. J. H. De Klein, B. J. Ducro, C. J. M. Smits, D. J. Newman, C. H. M. Smits, M. W. A. Verstegen (2004): Preslaughter stress and muscle energy largely determine pork quality at two commercial processing plants. *Journal of animal science* 82 (5), 1401-1409.
- Hamm, R. (1981): Funktion und Struktur des Muskels In: Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Fleischforschung Beiträge zur Chemie und Physik des Fleisches. Kulmbacher Reihe, Band 2, 57-73.
- Hannon, J. P., C. A. Bossone, C.E. Wade (1990). Normal Physiological Values for Conscious Pigs Used in Biomedical Research. *Laboratory Animal Science*. 40 , 293-299.
- Harris, P.D., R. Barnes (2008): The uses of helium and xenon in current clinical practice. *Anaesthesia* 63, 284-293.
- Hartung, J., B. Nowak, K. H. Waldmann, S. Ellerbrock (2002): CO₂-Betäubung von Schlachtschweinen: Einfluss auf EEG, Katecholaminausschüttung und klinische Reflexe. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 109 (3), 81-144.
- Hasselberg, Michael J., James McMahon, Kathy Parker (2013): The validity, reliability, and utility of the iButton for measurement of body temperature circadian rhythms in sleep/wake research. *Sleep Medicine* 14, 5-11.

- Henke, J., S. Tacke, W. Erhardt (2012): Analgesie. In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie bei Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen. Schattauer, Stuttgart, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Kapitel 11, 383-431.
- Hilmer, S., D. Algar, D. Neck, E. Schleucher (2010): Remote sensing of physiological data: Impact of long term captivity on body temperature variation of the feral cat (*Felis catus*) in Australia, recorded via ThermoChron iButtons. *Journal of Thermal Biology* 35, 205-210.
- Hinkelbein, J. F. Floss, C. Denz, H. Krieter (2008): Accuracy and precision of three different methods to determine PCO₂ (PaCO₂ vs. PetCO₂ vs. PtcCO₂) during interhospital ground transport of critically ill and ventilated adults. *Journal of trauma-injury and critical care* 65 (1), 10-18.
- Honikel, K. O. (1987): Wasserbindungsvermögen von Fleisch. *Fleischwirtschaft* 67 (4), 418-428.
- Honikel, K. O. (1987): Water binding capacity of meat. *Fleischwirtschaft* 67 (4), 418-428.
- Honikel, K. O. (1998): Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science* 49 (4), 447-457.
- Honikel, K. O. (2000): Standardisierung physikalischer Messverfahren bei Fleisch. *Fleischwirtschaft* 7, 75-81.
- Honikel, K. O., C. J. Kim (1985): Über die Ursachen von PSE-Schweinefleisch. *Fleischw.* 65, 1125-1131.
- Honikel, K. O., C. J. Kim (1986): Causes of the development of PSE Pork. *Fleischwirtschaft* 66 (3), 349-353.
- Huch, A. (1995): Transcutaneous blood gas monitoring. *Acta Anaesthesiologica Scandinavia* 39 (107), 87-90.
- Huch, R., D. W. Lübbers, A. Huch (1974): Reliability of transcutaneous monitoring of arterial PO₂ in newborn infants. *Archives of Disease in Childhood* 49, 213.
- IASP, International Association for the Study of Pain (1994): Pain Terms. A Current List with Definitions and Notes on Usage. In: Merskey, H., N. Bogduk (Hrsg.): *Classification of Chronic Pain*. IASP Press, Seattle, Second Edition, Part III, 209-214.
- Jahnel, R. (2015): Untersuchungen zum molekularen Mechanismus der Schmerzrezeption, insbesondere biochemische Charakterisierung der thermosensitiven Vanilloid-Rezeptoren

TRPV1 und TRPV2. Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Inaugural Dissertation.

Jeneskog, T. (1991): Prevention of pain and suffering. *Scandinavian journal of laboratory animal science* 15, 121-164.

Jeremiah, L. E., J. P. Gibson, L. L. Gibson, R. O. Ball, C. Aker, A. Fortin (1999): The influence of breed, gender, and PSS (Halothane) genotype on meat quality, cooking loss, and palatability of pork. *Food Research International* 32, 59-71.

Jessen, C. (2000): Wärmebilanz und Temperaturregulation. In: Engelhardt, W., Breves, G. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. Enke, Stuttgart, 2., völlig neu bearbeitete Aufl. Kapitel 18, 446-459.

Kanovsky, J., P. Kala, T. Novotny, K. Benesova, M. Holicka, J. Jarkovsky, L. Koc, M. Mikolaskova, T. Ondrus, M. Malik (2016): Association of the right ventricle impairment with electrocardiographic localization and related artery in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Journal of Electrocardiology* 49, 907–910.

Kaskinoro, K., A. Maksimow, S. Georgiadis, J. Långsjö, H. Scheinin, P. Karjalainen, S. K. Jääskeläinen (2015): Electroencephalogram reactivity to verbal command after dexmedetomidine, propofol and sevoflurane- induced unresponsiveness. *Anaesthesia* 70, 190-204.

Kelly, A. M, R. McAlpine, E. Kyle (2001): Venous pH can safely replace arterial pH in the initial evaluation of patients in the emergency department. *Emergency Med. J.* 18, 340-342.

Kitchell, R. L., M. J. Guinan (1990): The nature of pain in animals. In: Rollin, B. E., Kesel M. S. (Hrsg.): *The experimental animal in biomedical research*. CRC Press, Boston, 1990 (85), 185-203

Klettner, P. G., A. Stiebing (1980): Beitrag zur Bestimmung der Farbe bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. 1. Einführung in die Grundlagen der Farbmessung. *Fleischwirtschaft* 60 (11), 1970-1976.

Kraft, W., U. M. Dürr (2005): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer, Stuttgart, 5. überarbeitete und erweiterte Auflage.

Lahrman, K. H, J. Baars, U. Rintisch (2014): Perioperative intensivmedizinische Untersuchungen zur Verträglichkeit der Ketamin-Azaperon-Allgemeinanästhesie beim Schwein. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 127, 3-11.

- Lambooj E., J. T. N. van der Werf, H. G. M. Reimert, V. A. Hindle (2012): Restraining and neck cutting or stunning and neck cutting of veal calves. *Meat Science* 91, 22-28.
- Lambooj E., M. A. Gerritzen, B. Engel, S. J. W. Hillebrand, J. Lankhaar, C. Pieterse (1999): Behavioural responses during exposure of broiler chickens to different gas mixtures. *Applied Animal Behaviour Science* 62, 255-265.
- Larsen, R. (2012): *Anästhesie und Intensivmedizin für die Fachpflege*. Springer, Berlin, Heidelberg, 8.Auflage.
- Lee, S., J. M. Norman, S. Gunasekaran, R. L. J. M. van Laack, B. C. Kim, R. G. Kauffman (2000): Use of electrical conductivity to predict water-holding capacity in post-rigor pork. *Meat Science* 55, 385-389.
- Lendl, C. (1991): Zur nichtinvasiven patientenüberwachung anhand von Pulsfrequenz und arterieller Sauerstoffmessung mit der Pulyoxymetrie. Ludwig-Maximilians Universität, München, Inaugural Dissertation.
- Lichtenbelt van Marken W. D., H. A. M. Daanen, L. Wouters, R. Fronczek, Roy J. E. Raymann, M. N. M. W. Severens, E. J. W. Van Someren (2006): Evaluation of wireless determination of skin temperature using iButtons. *Physiology & Behavior* 88, 489-497.
- Liebig, J. (1855): *Letters on Chemistry*. London, Third English Edition, 314.
- Llonch P., P. Rodriguez, M. Jospin, A. Dalmau, X. Manteca, A. Velarde (2013): Assessment of unconsciousness in pigs during exposure to nitrogen and carbon dioxide mixtures. *Animal* 7 (3), 492-498.
- Llonch, P., A. Dalmau, P. Rodriguez, X. Manteca, A. Velarde (2012a): Aversion to nitrogen and carbon dioxide mixtures for stunning pigs. *Animal Welfare* 21 (1), 33-39.
- Llonch, P., P. Rodriguez, M. Gispert, A. Dalmau, X. Manteca, A. Velarde (2012b): Stunning pigs with nitrogen and carbon dioxide mixtures: effects on animal welfare and meat quality. *Animal* 6 (4), 668-675.
- Machold, U., K. Troeger, M. Moje (2003a): Betäubung von Schweinen mit Kohlendioxid (CO₂) bzw. Argon. Vergleichende Verhaltensstudie und Bestimmung humoraler Stressparameter. *Fleischwirtschaft* 83 (9), 139-142.
- Machold, U., K. Troeger, M. Moje (2003b): Gasbetäubung von Schweinen. Ein Vergleich von Kohlendioxid, Argon, einer Stickstoff-Argon-Mischung und Argon/Kohlendioxid (2-stufig) unter Tierschutzaspekten. *Fleischwirtschaft* 83 (10), 109-114.

- Machtolf, M., M. Moje, K. Troeger, M. Bülte (2013a): Stunning slaughter pigs with helium. *Mitteilungsblatt Fleischforschung Kulmbach* 52 (202), 203-214.
- Machtolf, M., M. Moje, K. Troeger, M. Bülte (2013b): Die Betäubung von Schlachtschweinen mit Helium und Kohlendioxid im Vergleich- Auswirkungen auf das Tierwohl sowie die Schlachtkörper- und Fleischqualität. *Fleischwirtschaft* 93, 118-124.
- Mackowiak, B. (2011): Die Quellen des Kältetreibstoffs Helium versiegen. *Zeit Online*, 27. Oktober 2011. Adresse: <http://www.zeit.de/wissen/2011-10/edelgas-helium/komplettansicht>, abgerufen am 22.05.2017.
- Malatesha, G., N. K. Singh, A. Bharija, B. Rehani, A. Goel (2007): Comparison of arterial and venous pH, bicarbonate, PCO₂ and PO₂ in initial emergency department assessment. *Emergency Medicine Journal* 24, 569-571.
- Martin, J. E., K. Christensen, Y. Vizzier-Thaxton, M. A. Mitchell, D. E. McKeegan (2016): Behavioural, brain and cardiac responses to hypobaric hypoxia in broiler chickens. *Physiology & Behavior* 163, 25-36.
- Martoft, L. (2001): Neurophysiological effects of high concentration CO₂- inhalation in swine. Ph.D. thesis. Department of Anatomy and Physiology, Royal Veterinary and Agricultural University Frederiksberg, Copenhagen, Denmark.
- Martoft, L., L. Lomholt, C. Kolthoff, B. E. Rodriguez, E. W. Jensen, P. F. Jørgensen, H. D. Pedersen, A. Forslid (2002): Effects of CO₂ anaesthesia on central nervous system activity in swine. *Laboratory Animals* 36, 115-126.
- Matsushita, S., S. Oda, K. Otaki, M. Nukane, K. Kawamae (2015): Change in auditory evoked potential index and bispectral index during induction of anesthesia with anesthetic drugs. *Journal of Clinical Monitoring and Computing* 29, 621-626.
- McKeegan, D. E. F., D. A. Sandercock, M. A. Gerritzen (2013): Physiological responses to low atmospheric pressure stunning and the implications for welfare. *Poultry Science* 92, 858-868.
- McKeegan, D. E. F., H. G. M. Reimert, V. A. Hindle, P. Boulcott, J. M. Sparrey, C. M. Wathes, T. G. M. Demmers, M. A. Gerritzen (2013): Physiological and behavioral responses of poultry exposed to gas-filled high expansion foam. *Poultry Science* 92, 1145-1154.

- McKeegan, D. E. F., N. H. C. Sparks, V. Sandilands, T. G. M. Demmers, P. Boulcott, C. M. Wathes (2011): Physiological responses of laying hens during whole-house killing with carbon dioxide. *British Poultry Science* 52 (6), 645-657.
- Merker, B. (2007): Consciousness without a cerebral cortex: A challenge for neuroscience and medicine. *Behavioral and Brain Sciences* 30, 63-134.
- Meyer, R. E. (2015): Physiologic Measures of Animal stress during Transitional States of Consciousness. *Animals* 5, 702-7016.
- Meyer, R., J. T. Whitley, W. E. M. Morrow, L. F. Stikeleather, C. L. Baird, J. M. Rice, B. V. Halbert, D. K. Styles, C. S. Whisnant (2013): Effect of physical and inhaled euthanasia methods on hormonal measures of stress in pigs. *Journal of Swine Health and Production* 21 (5), 261-269.
- Minton, J., E. (1994): Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *Journal of Animal Science* 72 (7), 1891-1898.
- Möhrlein, D., G. Link, C. Werner, M. Wicke (2007a): Suitability of three commercially produced pig breeds in Germany for a meat quality program with emphasis on drip loss and eating quality. *Meat Science* 77, 504-5011.
- Möhrlein, D., G. Link, E. Murani, K. Wimmers, M. Wicke (2007b): Evaluation of three pig crossbreed types with respect to strategies to improve the meat quality: MHS genotype rather than crossbreed type influences drip loss. *Archiv für Tierzucht* 50 (6), 605-618.
- Monin, G., E. Lambooy, R. Klont (1995): Influence of temperature variation on the metabolism of pig muscle in situ and after excision. *Meat Science* 40 (2), 149-158.
- Mörlein D., G. Link, C. Werner, M. Wicke (2007): Suitability of three commercially produced pig breeds in Germany for a meat quality program in consideration of drip loss and eating quality. *Meat Science* 77 (4), 504-511.
- Morton, D. B., P. H. M. Griffiths (1985): Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Veterinary Record* 116, 431-436.
- Mota-Rojas, D., D. Bolanos-Lopez, M. Conception-Mendez, J. Ramirez-Telles, P. Roldan-Santiago, S. Flores-Peinado, P. Mora-Medina (2012): Stunning swine with CO₂ gas:

Controversies related to animal welfare. *International Journal of Pharmacology* 8 (3), 141-151.

Murrell J. C., C. B. Johnson (2006): Neurophysiological techniques to assess pain in animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29, 325–335.

Mussmann, T., F. Schmitt, H. Jüngst, E. Tholen, K.-H. Scherpers (1994). Vergleichende Untersuchungen zur Methodik der Helligkeits- und Farbmessung bei Schweinefleisch. *Züchtungskunde* 66 (5), 359-372.

Nakagawa, T. A, S. Ashwal, M. Mathur, M. Mysore, the Society of Critical Care Medicine, Section on Critical Care and Section on Neurology of the American Academy of Pediatrics, and the Child Neurology Society (2011): Clinical Report—Guidelines for the Determination of Brain Death in Infants and Children: An Update of the 1987 Task Force Recommendations. *Pediatrics* 128, e720-e740.

Nelson, R., C. G. Couto (Hrsg.) (2006): Kardiovaskuläre Erkrankungen. In: *Innere Medizin der Kleintiere*. Elsevier/Urban & Fischer, München, Kapitel 1, 1-216.

Nerbas, E. (2008): Aktualisierung von Blutparametern beim Schwein. Tierärztliche Hochschule Hannover, Inaugural Dissertation.

Newhook J. C., D. K. Blackmore (1982): Electroencephalographic studies of stunning and slaughter of sheep and calves: Part 1- The onset of permanent insensibility in sheep during slaughter. *Meat Science*, 6: 221-233.

Nowak, B., T. V. Mueffling, J. Hartung (2007): Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs: Impact on animal welfare and meat quality. *Meat Science* 75, 290-298.

Orr, J. E, A. Malhotra, S. A. Sands (2017): Pathogenesis of central and complex sleep apnoea, *Respirology* 22, 43-52.

Parotat, S., K. von Holleben, S. Arnold, K. Troeger, E. Luecker (2015): Hot-water spraying is a sensitive test for signs of life before dressing and scalding in pig abattoirs with carbon dioxide (CO₂) stunning. *Animal* 10, 326-332.

Peppel P., F. Anton (1993): Responses of Rat Medullary Dorsal Horn Neurons Following Intranasal Noxious Chemical Stimulation: Effects of Stimulus Intensity, Duration, and Interstimulus Interval. *Journal of Neurophysiology* 70, 2260-2275.

- Petrie, A., P. Watson (2013): *Statistics for Veterinary and Animal Science*. Wiley-Blackwell, London. 3rd edition.
- Pollard, J. C., R. P. Littlejohn, G. W. Asher, A. J. T. Pearse, J. M. Stevenson-Barry, S. K. McGregor (2002): A comparison of biochemical and meat quality variables in red deer (*Cervus elaphus*) following either slaughter plants. *Meat Science* 60, 85-94.
- Poole G. H, D. L. Fletcher (1995): A comparison of argon, carbon dioxide, and nitrogen in a broiler killing system. *Poultry Science* 74, 1218-1223.
- Potthast, K. (1987): Meat color, color stability and reddening. *Fleischwirtschaft* 67 (1), 50-55.
- Radiometer (2008): *TOSCA 500 Bedienungshandbuch*. Radiometer Basel AG, Basel, Ausgabe April 2008.
- Raj, A. B. M, S. P. Johnson, S. B. Wotton, J. L. McInstry (1997): Welfare Implications of Gas Stunning Pigs: 3. The Time to Loss of Somatosensory Evoked Potentials and Spontaneous Electrocorticogram of Pigs During Exposure to Gases. *The Veterinary Journal* 159, 329-340.
- Raj, A. B. M. (1999): Behaviour of pigs exposed to mixtures of gases and the time required to stun and kill them: welfare implications. *Veterinary Record* 144, 165-168.
- Raj, A. B. M., N. G. Gregory (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.
- Raj, A. B. M., N. G. Gregory (1996): Welfare implications of the gas stunning of pigs 2. Stress of induction of anaesthesia. *Animal Welfare* 5, 71-78.
- Raj, A. B. M., V. Sandilands, N. H. C. Sparks (2006): Review of gaseous methods of killing poultry on-farm for disease control purposes. *Veterinary Record* 159,229-235.
- Raj, A.B.M., C. Smith und G. Hickman (2008): Novel method for killing poultry in houses with dry foam created using nitrogen. *Veterinary Record* 162, 722-723.
- Rauw W. M., L. Varona, L. G. Raya, J. L. Noguera (online: 2003): Meat production using four terminal pig lines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 1504–1510.
- Ring, C., W. Erhardt, H. Kraft, A. Schmid, H.W. Weinmann, H. Berner (1988): Zur Betäubung von Schlachtschweinen mittels CO₂. *Fleischwirtschaft* 68 (10), 1304- 1307.
- Rintisch, U. (2010): Analgesiemonitoring bei der Ketamin-Azaperon-Allgemeinanästhesie der Schweine unter besonderer Berücksichtigung des Nozizeptiven Flexorreflexes (bzw. RIII-

Reflex). Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Inaugural Dissertation, Journal- Nr. 3389.

Rodriguez, P., A. Dalmau, J. L. Ruiz-de-la-Torre, X. Manteca, E. W. Jensen, B. Rodriguez, H. Litvan, A. Velarde (2008): Assessment of unconsciousness during carbon dioxide stunning in pigs. *Animal Welfare* 17, 341 – 349.

Rodriguez, P., A. Dalmau, X. Manteca, H. Litvan, E. W. Jensen, A. Velarde (2016):. Assessment of aversion and unconsciousness during exposure to carbon dioxide at high concentration in lambs. *Animal Welfare* 25, 73-82.

Roznik, E. A., R. A. Alford (2012): Does waterproofing ThermoChron iButton dataloggers influence temperature readings?. *Journal of Thermal Biology* 37 (4), 260–264.

Ruiz, Y., E. Farrero, A. Córdoba, N. Gondález, J. Dorca, E. Prats (2016): Transcutaneous carbon dioxide monitoring in subjects with acute respiratory failure and severe hypercapnia. *Respiratory Care* 61 (4), 428-433.

Saers, A. S. (2005): Anwendbarkeit und Dosisfindung des Anästhetikums Thiopental für die Narkose des Schweins nach vorhergehender Neuroleptanalgesie mit Ketamin und Azaperon. Ludwig-Maximilians Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, München, Inaugural Dissertation.

Sandercock, D. A., A. Auckburally, D. Flaherty, V. Sandilands, D. E. McKeegan (2014): Avian reflex and electroencephalogram responses in different states of consciousness. *Physiol. Behav.* 133, 252-259.

Schäffer, D., E. Borell (2005): Vokalisation von Schlachtschweinen. *Fleischwirtschaft* 9, 37-44.

Schmidt, A., G. Harbauer, K. Hutschenreuter, A. Zeller (1966): Zur Anoxietoleranz des Hundes unter Neuroleptanalgesie. In: Gemperle (Hrsg.): Fortschritte der Neuroleptanalgesie. Anaesthesiologie und Intensivmedizin. Anaesthesiology and Intensive Care Medicine. Vorträge und Diskussionen an der Gemeinsamen Tagung der Deutschen Gesellschaft für Anaesthesie, der Österreichischen Gesellschaft für Anaesthesiologie und der Schweizerischen Gesellschaft für Anaesthesiologie vom 16. bis 18. September 1965 in Zürich, 8-16.

Schrader, J. (2003): Das Herz. In: Klinker R., S. Silbernagel (Hrsg.): Lehrbuch der Physiologie. Thieme, Stuttgart, Kapitel 7, 109- 143.

- Schwennen, C. (2015): Untersuchungen zur Anwendbarkeit der Isoflurannarkose bei der Ferkelkastration sowie deren Auswirkung auf Produktionsparameter in der Ferkelerzeugung unter konventionellen Produktionsbedingungen. Tierärztliche Hochschule Hannover, Inaugural Dissertation.
- Seideman, S. C., H. R. Cross, G. C. Smith, P. R. Durland (1984): Factors affecting fresh meat colour: a review. *Journal of Food Quality* 6 (3), 211-237.
- Shaw, F. D., G. R. Trout (1995): Plasma and Muscle Cortisol Measurements as Indicators of Meat Quality and Stress in Pigs. *Meat Science* 39, 237-246.
- Shaw, F. D., R. K. Tume (1992): The assessment of pre-slaughter and slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents—A review of recent work. *Meat Science* 32, 311-329.
- Silva, A., L. Antunes (2012): Electroencephalogram-based anaesthetic depth monitoring in laboratory animals, *Laboratory Animals* 46, 85-94.
- Sparrey, J., D. McKeegan, M. Gerritzen, F. Withoos (2012): Delivering nitrogen gas to poultry sheds for emergency killing using high expansion foam. *Animal Welfare* 21, 155.
- Striebel, H. W. (2003): *Die Anästhesie. Grundlagen und Praxis*. Schattauer, Stuttgart, 3. Aufl., 93-112.
- Spencer, G. S. G. (1979): Circadian Variation of Somatomedin and Cortisol in Pigs. *Horm. Metabolic Research* 11, 586-587.
- Sutherland, M. (2011): The use of different gases and gas combinations to humanely euthanize young suckling pigs. Research report. Animal welfare, National Pork Board, Des Moines, Iowa, USA.
- Sykes, W. S., R. C. Lawrence (1938): Helium in anaesthesia. *The British Medical Journal* 2, 448-449.
- Tilley, L. P. (1992): *Essentials of Canine and Feline Electroencephalography. Interpretation and Treatment*. Lea & Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 3rd edition, 1-95.
- Troeger K, U. Machold, M. Moje (2005): Gas stunning of pigs - A comparison of carbon dioxide, argon, a nitrogen-argon-mixture and argon/carbon dioxide under meat quality aspects 3. Summary and discussion of results; conclusions. *Fleischwirtschaft* 85 (2), 109-111.
- Troeger, K. (2008): Tierschutzgerechtes Schlachten von Schweinen: Defizite und Lösungsansätze. *Tierärztliche Praxis* 36 (1), 34-S38.

- Troeger, K. (2011): Kontrolle des Entbluteerfolges bei der Schweineschlachtung mit Hilfe einer Wärmebildkamera. *Fleischwirtschaft* 9, 119-122.
- Troeger, K., U. Machold, M. Moje (2004a): Gasbetäubung von Schweinen: Ein Vergleich von Kohlendioxid, Argon und einer Stickstoff-Argon-Mischung bezüglich der Schlachtkörper- und Fleischqualität – 1. Problemstellung, Material und Methodik. *Fleischwirtschaft* 84 (10), 104-106.
- Troeger K., U. Machold, M. Moje, M. Behrschmidt (2004b): Gasbetäubung von Schweinen: Ein Vergleich von Kohlendioxid, Argon und einer Stickstoff-Argon-Mischung bezüglich der Schlachtkörper- und Fleischqualität – 2. Ergebnisse. *Fleischwirtschaft* 84 (11), 117-121.
- Troeger, K., U. Machold, M. Moje, M. Behrschmidt (2003): Betäubung von Schlachtschweinen mit Kohlendioxid, Argon, Stickstoff-Argon-Gemisch oder Argon/Kohlendioxid (2-stufig)- Schlachtkörper- und Fleischqualität. 2. Schlachttechnologie-Workshop, BAFF, Kulmbach, 27-40.
- Troeger, K., W. Woltersdorf (1988): Die Messung der Stressbelastung des Schweines während der Schlachtung. *Fleischwirtschaft* 68 (3), 249-254.
- Troeger, K., W. Woltersdorf (1991): Gas anaesthesia of slaughter pigs: 1. Stunning experiments under laboratory conditions with fat pigs of known halothane reaction type: meat quality, animal protection. *Fleischwirtschaft* 71 (9), 1063-1068.
- Velarde A., M. Gispert, L. Faucitano, P. Alonso, X. Manteca, A. Diestre (2001): Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. *Meat Science* 58, 313-319.
- Velarde A., M. Gispert, L. Faucitano, X. Manteca, A. Diestre (2000a): Effect of stunning method on the incidence of PSE meat and haemorrhages in pork carcasses. *Meat Science* 55: 309-314.
- Velarde A., M. Gispert, L. Faucitano, X. Manteca, A. Diestre (2000b): Survey of the effectiveness of stunning procedures used in Spanish pig abattoirs. *Veterinary Record* 146, 65-68.
- Velarde, A., J. Cruz, M. Gispert, D. Carrion, J. L. Ruiz de la Torre, A. Diestre, X. Manteca (2007): Aversion to carbon dioxide stunning in pigs: effect of carbon dioxide concentration and halothane genotype. *Animal Welfare* 16, 513-522.

- Verhoeven M. T. W., M. A. Gerritzen, L. J. Hellbrekers, B. Kemp (2015): Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: a review. *Animal* 9 (2), 320-330.
- Verhoeven, M. T. W., M. A. Gerritzen, L. J. Hellebrekers, B. Kemp (2016): Validation of indicators used to assess unconsciousness in veal calves at slaughter. *Animal*, 1-9.
- Vermeulen L., V. Van de Perre, L. Permentier, S. De Bie, R. Geers (2015): Pre-slaughter rectal temperature as an indicator of pork meat quality. *Meat Science* 105, 53-56.
- Warris, P. D., S. N. Brown, G. R. Nute, P. Barton Gade, C. Santos, L. Nanni Costa, E. Lambooij, R. Geers (1998): An Analysis of data relating to pig carcass quality and indices of stress collected in the European union. *Meat Science* 49 (2), 137-144.
- Warris, P. D., S. N. Brown, G. R. Nute, T. G. Knowles, J. E. Edwards, A. M. Perry, S. P. Johnson (1995): Potential interaction Between the Effects of Preslaughter Stress and Post-Mortem Electrical Stimulation of the Carcasses on Meat Quality in Pigs. *Meat Science* 41 (1), 55-68.
- Warris, P. D., S. N. Brown, J. M. Adams (1994): Relationships between Subjective and Objective Assessment of Stress at Slaughter and Meat Quality in Pigs. *Meat Science* 38, 329-340.
- Weiskopf, R. B., M. A. Holmes, E. I. Eger II, N. Yasuda, I. J. Rampil, B. H. Johnson, A. G. Targ, I. A. Reid, L. C. Keil (1992): Use of Swine in the Study of Anesthetics. In: Swindle, M. M, D. C. Moody, L. D. Phillips (Hrsg.): *Swine as Models in Biomedical Research*. Iowa State University Press, Iowa City, Iowa, USA, 96-117.
- Wenger, S. N. Jäggin, M. Doherr, U. Schatzmann (2002): Die Halothananästhesie zur Kastration des Saugferkels. Machbarkeitsstudie und Kosten-Nutzen-Analyse. *Tierärztl. Praxis* 30, 164-170.
- Wilhelm, W., J. Bruhn, S. Kreuer (Hrsg.) (2006): *Überwachung der Narkosetiefe. Grundlagen und klinische Praxis*. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 2. Aufl.
- Woodbury, D. M., R. Karler (1960): The role of carbon dioxide in the nervous system. *Anesthesiology* 21, 686-703.
- Wotton, S. B., N. G. Gregory (1986): Pig slaughtering procedures: time to loss of brain responsiveness after exsanguination or cardiac arrest. *Research in Veterinary Science* 40, 148-151.

Zeller, W., D. Mettler, U. Schatzmann (1988): Untersuchungen zur Betäubung des Schlachtgeflügels mit Argon. Fleischwirtschaft 68 (10), 1308-1312.

Gesetze, Verordnungen, Sicherheitsdatenblätter

Allgemeine Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung der Einhaltung von Hygienevorschriften für Lebensmittel und zum Verfahren zur Prüfung von Leitlinien für eine gute Verfahrenspraxis (AVV Lebensmittelhygiene - AVV LmH) vom 9. November 2009, zuletzt geändert durch Verwaltungsvorschrift vom 20.10.2014; Anlage 4.

Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz (LMBG) vom 9. September 1997, BGBl. I S. 2296, zuletzt geändert durch Artikel 2 des Gesetzes vom 8. August 2002, BGBl. I S. 3116.

EFSA, European Food Safety Authority (2004): Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related to welfare aspects of the main systems of stunning and killing the main commercial species of animals. The EFSA Journal 45, 1-29.

EFSA, European Food Safety Authority (2013): Guidance on the assessment criteria for studies evaluating the effectiveness of stunning interventions regarding animal protection at the time of killing. EFSA Journal 11 (12), 3486.

EG-Sicherheitsdatenblatt (2013): Helium, verdichtet. Version 7.3, Linde Group.

Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere.

Richtlinie gemäß §16 Abs. 1 S. 1 Nr. 1 TPG für die Regeln zur Feststellung des Todes nach §3 Abs. 1 S. 1 Nr.2 TPG und die Verfahrensregeln zur Feststellung des endgültigen, nicht gehebbaren Ausfalls der Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstamms nach §3 Abs. 2 Nr. 2 TPG, Vierte Fortschreibung.

Verordnung zum Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere und anderer zur Erzeugung tierischer Produkte gehaltener Tiere bei ihrer Haltung (Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung - TierSchNutzV) vom 25.10.2001.

Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 des Rates vom 24. September 2009 über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Tötung.

Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung und zur Durchführung der VO (EG) Nr. 1099/2009 des Rates (Tierschutz-Schlachtverordnung - TierSchlV) vom 20. Dezember 2012.

Internetseiten

BG RCI (Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie): Welche Gase sind leichter als Luft? <http://www.bgrci.de/exinfode/ex-schutz-wissen/expertenwissen/mess-und-warngerate/31-welche-gase-sind-leichter-als-luft/>; abgerufen am 29.05.2017.

Dambeck, H. (2010): Nobelpreisträger warnt vor weltweitem Helium-Mangel. Spiegel Online 24. <http://www.spiegel.de/wissenschaft/natur/edelgas-nobelpreistraeger-warnt-vor-weltweitem-helium-mangel-a-713535.html>, abgerufen am 13.02.2017.

R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/Wirtschaftsbereiche/LandForstwirtschaftFischerei/Tiereund-tierischeErzeugung/Tabellen/GewerbSchlachtJahr.html, abgerufen am 29.05.2017

www.kostenlose-ausmalbilder.de/Tiere/Schweine/1/Schwein.jpg, abgerufen am 31.01.2018

www.vetmed.uni-leipzig.de/ik/wmedizin/labor/diagnostik/referenzwerte/schwein.htm, abgerufen am 29.05.2017

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 QRS- Komplex und ventrikuläre Extrasystole (modifiziert nach Schrader, 2003).....	19
Abbildung 2.2 T- Wellen (Bernal, 2011).....	20
Abbildung 2.3 CO ₂ - Betäubungsanlagen in der Praxis	31
Abbildung 2.4 Braunschweiger Gerät mit Wasserbindungsprobe	48
Abbildung 3.1 Ablaufschema für die Betäubungsversuche mit einem Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum.....	53
Abbildung 3.2 Schematische Darstellung der Ausstattung des Tieres mit Messtechnik	54
Abbildung 3.3 Schaumgenerator zur Erzeugung des Stickstoff- gefüllten, hochexpansiven Schaums	56
Abbildung 3.4 Schaltverbindung zur Steuerung der neun Schaumgeneratoren	58
Abbildung 3.5 Schaumgeneratoren (Vorderansicht).....	58
Abbildung 3.6 Bestimmung der Blasengröße im mit Stickstoff-gefüllten, hochexpansiven Schaum.....	64
Abbildung 3.7 Maße der Hängematte	65
Abbildung 3.8 Hängematte	66
Abbildung 3.9 Schürze	67
Abbildung 3.10 Ziehharmonikakonstruktion.....	68
Abbildung 3.11 Schaumstruktur [Abbott (2015): Surfactant science: principles and practice].....	70
Abbildung 3.12 Foto der Spezialkamera (The Imaging Source, DFK 72AUC02) für die weitere Analyse.....	72
Abbildung 3.13 Ruheatmung eines Tieres (Tier 1), dargestellt mit der Polybench- Software.....	75
Abbildung 3.14 Hyperventilation zu einem späteren Zeitpunkt, dargestellt mit der Polybench- Software.....	76
Abbildung 3.15 HF von 102 /min vor Schaumstart (Tier 37).....	77

Abbildung 3.16 HF von 102 /min nach Bedeckung und beginnende Bewegungen (Tier 37).....	77
Abbildung 3.17 HF 24 /min mit Umkehr der T- Welle (Tier 37)	78
Abbildung 3.18 "i-Button“ in Schrumpfschlauch	79
Abbildung 3.19 Position der EEG-Elektroden bei einer bipolaren Messung. Elektrodenpaar eines Kanals (A)(schwarz, rot, oben-unten) und Erdungselektrode (grün, Mitte).....	83
Abbildung 4.1 Basiswerte der transkutan erhobene Basiswerte für pCO ₂	94
Abbildung 4.2 Verlauf der pCO ₂ - Messung.....	95
Abbildung 4.3 Verlauf der pO ₂ - Messung	95
Abbildung 4.4 Atemfrequenzen Basiswert, vor Schaumstart und bei Bedeckung	96
Abbildung 4.5 Atemfrequenzen der Tiere mit und ohne Vokalisationen.....	97
Abbildung 4.6 Darstellung der AF im 10 Sekundenintervall	98
Abbildung 4.7 Herzfrequenzen vor Schaumstart und bei Bedeckung	98
Abbildung 4.8 Bewegungen eines Tieres, gemessen in g (= Beschleunigung).....	100
Abbildung 4.9 Tierverhalten zu verschiedenen Zeitpunkten.....	101
Abbildung 4.10 Adrenalinkonzentrationen von Tieren mit und ohne Nachbetäubung.....	104
Abbildung 4.11 Noradrenalinkonzentrationen von Tieren mit und ohne Nachbetäubung.....	105
Abbildung 4.12 CK/ASAT- Quotient für Tiere mit und ohne Nachbetäubung mit eingezeichneter Referenz-Höchstgrenze	106
Abbildung 4.13 Einfluss der Nachbetäubung auf die Laktatkonzentration mit eingezeichneter Referenz-Höchstgrenze	107
Abbildung 4.14 Einfluss von Vokalisationen auf die Laktatkonzentration.....	108
Abbildung 4.15 Zusammenhang zwischen pH ₄₅ im Schinken bzw. Kotelett und Nachbetäubung.....	110
Abbildung 4.16 Zusammenhang zwischen pH ₄₅ und Zeitdauer der kontinuierlichen und sporadischen Bewegungen mit Grenzwert für PSE- Fleisch	111
Abbildung 4.17 Vergleich von pH ₄₅ nach Stickstoffschaum- und Kohlendioxidbetäubung ..	112

Abbildung 4.18 Farbe der Wasserbindungsproben von zwei Tieren im Vergleich.....	114
Abbildung 4.19 Zusammenhang zwischen Wasserbindung und LF ₂₄	115
Abbildung 4.20 Vergleich der Wasserbindung nach Stickstoffschaum- und Kohlendioxidbetäubung.....	116
Abbildung 4.21 Zusammenhang zwischen Tropfsaft und Wasserbindung	117
Abbildung 4.22 Darstellung der L*-Werte in dem Softwareprogramm "SpectraMagic NX"	119
Abbildung 4.23 Darstellung der b*-Werte in dem Softwareprogramm "SpectraMagic NX"	119

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1 Physiologische Werte beim Mastschwein für den pCO ₂ und pO ₂ (jeweils arteriell, sofern nicht anders beschrieben).....	17
Tabelle 2.2 Basisblutwerte und Stresswerte nach Kohlendioxidbetäubung	27
Tabelle 2.3: Kriterien für die Betäubung mit unterschiedlichen Gasen/Gasmischungen.....	42
Tabelle 2.4 Ergebnisse und Bewertung	46
Tabelle 2.5 Leitfähigkeitswerte.....	47
Tabelle 2.6 Wasserbindungsvermögen.....	49
Tabelle 2.7 Grenzwerte Fleischfarbe.....	52
Tabelle 3.1 Einstellungen der einzelnen Schaumgeneratoren	59
Tabelle 3.2 Hersteller- bzw. Lieferantenaufistung für die einzelnen Bauteile	60
Tabelle 3.3 Anteil der Blasen mit Radius >7,5mm (gemessen mit Teclis Instruments High-Expansion Foam Analyzer)	62
Tabelle 3.4 Expansionsrate nach ca. 50 cm Wegstecke	63
Tabelle 3.5 technische Anpassungen während der Versuche.	68
Tabelle 3.6 Score zur Bewertung der Reflexstärke (modifiziert nach WENGER et al., 2002).....	81
Tabelle 4.1 Tiere mit Lautäußerungen ≥ 10 Sekunden Dauer (unterstrichene Tiere ebenfalls mit Bewegungsdauern ≥ 60 Sekunden).....	102
Tabelle 4.2 Ergebnisse der pH- Wert Messung 45min. und 24h post mortem.....	109

Tabelle 4.3 Ergebnisse der pH- Wert Messung der Kohlendioxidvergleichsgruppe 45min. und 24h post mortem.....	112
Tabelle 4.4 Zusammenhang zwischen Tropfsaftverlust, Wasserbindung, LF ₂₄ und pH ₄₅	117
Tabelle 4.5 Bewertung der Farbmessung	118
Tabelle 4.6 Ausprägung der Farbabweichung zwischen den beiden Betäubungsgruppen.....	120
Tabelle 5.1 Konzentrationen der Katecholamine (Noradrenalin und Adrenalin) nach Betäubung mit Stickstoffschaum im Vergleich zu den Ergebnissen von MACHTOLF et al. (2013).....	142
Tabelle 12.1 Berechnung der Blasengrößen durch das Bildanalyseprogramm CSA (Cell Size Analysis, Teclis Instruments, FR)	185
Tabelle 12.2 Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit.....	186
Tabelle 12.3 Lautstärke vor Versuchsdurchführung, während Versuchsdurchführung und Gesamtlautstärke	187
Tabelle 12.4 Restsauerstoff und Temperatur im Schaum.....	188
Tabelle 12.5 transkutan erhobene Werte für pCO ₂ und pO ₂ bei zwei Schlachtschweinen während der Betäubung mit Stickstoffschaum	189
Tabelle 12.6 positive Reflexantworten bei den Versuchstieren.....	189

12 Anhang

Tabelle 12.1 Berechnung der Blasengrößen durch das Bildanalyseprogramm CSA
(Cell Size Analysis, Teclis Instruments, FR)

Area [mm ²]	Ratio	Convexity	Radius [mm]			
0,87059	0,89	1,179	0,526	Average	6,088818	
0,906228	0,75	1,141	0,537	Std Dev	6,010311	
0,997869	0,97	1,067	0,564			
1,058963	0,63	1,053	0,581	AreaFractionCellsBigger7.5mm	0,946208	
1,155695	0,73	1,106	0,607			
1,216789	0,65	1,092	0,622			
1,919371	1	1,054	0,782			
2,051741	0,79	1,056	0,808			
4,958798	0,84	1,052	1,256			
5,101351	0,24	1,128	1,274			
10,691455	0,38	1,032	1,845			
12,295173	1,03	1,033	1,978			
13,781794	0,24	1,08	2,094			
15,482244	0,69	1,026	2,22			
33,301334	0,72	1,026	3,256			
42,434891	0,67	1,024	3,675			
44,929565	0,65	1,027	3,782			
46,589287	0,45	1,018	3,851			
48,915951	0,83	1,019	3,946			
53,783108	0,45	1,061	4,138			
59,658318	0,37	1,019	4,358			
244,309921	0,41	1,031	8,819			
273,421234	0,35	1,024	9,329			
344,112091	0,74	1,043	10,466			
347,655548	0,43	1,056	10,52			
363,616364	0,63	1,041	10,758			
486,883759	1,02	1,021	12,449			
504,509369	1,01	1,02	12,672			
545,84967	0,54	1,028	13,181			
649,846985	1,04	1,07	14,382			
853,722839	0,76	1,048	16,485			
885,710632	0,91	1,036	16,791			
1573,344238	0,69	1,177	22,379			

Tabelle 12.2 Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit

Tier Nr.	Temperatur_Median [°C]	Luftfeuchtigkeit_Median [%]
1	15,96	83,7
2	18,31	72,3
3	17,26	65,4
4	19,07	54,6
5	NA	NA
6	17,14	82,9
7	18,42	88,6
8	15,63	92,1
9	16,52	86,4
10	13,01	84,4
11	14,48	Messfehler
12	13,37	83
13	15,29	90,9
14	14,40	80,8
15	12,43	89,9
16	13,24	85,7
17	13,99	86
18	6,87	72,4
19	8,45	82,5
20	10,12	76,7
21	12,81	92,2
22	15,41	83,5
23	14,37	85,2
24	12,96	95,1
25	15,52	91,2
26	17,86	100
27	17,70	90,4
28	12,00	85,1
29	13,84	88,9
30	15,20	85,8
31	15,84	81,8
32	11,70	85,7
33	13,28	99,1
34	5,72	78,8
35	6,63	86
36	6,80	78
37	6,50	80,7
38	6,61	94,6
39	9,92	90,9
40	11,20	81,7

Tabelle 12.3 Lautstärke vor Versuchsdurchführung, während Versuchsdurchführung und Gesamtlautstärke

Tier Nr.	Lautstärke Vorbereitung [dB]	Lautstärke Versuch [dB]	Lautstärke Gesamt [dB]
1	67,7	71,6	69,7
2	68	75,5	73,2
3	70,4	74,7	72,5
4	69,4	80,4	76,8
5	74	75,7	74,1
6	70,6	76,1	71
7	70,1	75	71,6
8	NA	NA	NA
9	NA	NA	NA
10	70,9	78,5	73,7
11	NA	NA	NA
12	66,3	78,2	74,6
13	65,3	78	71,8
14	70,3	77,9	77,3
15	68,1	77,6	75
16	64,6	76	74,8
17	66,7	75,5	74,3
18	67	78,9	73,8
19	66,8	79,2	75,7
20	NA	NA	NA
21	NA	NA	NA
22	NA	NA	NA
23	NA	NA	NA
24	NA	NA	NA
25	61,5	77,2	75,3
26	67,6	76,3	74,9
27	NA	77,5	NA
28	65,1	80,9	76,6
29	66,1	75,5	74,4
30	NA	NA	NA
31	NA	NA	NA
32	64,3	76,8	75,2
33	61,4	77,4	76,3
34	65,7	80,5	79
35	NA	78,7	NA
36	66,3	78,3	78,1
37	64,9	79,3	77
38	73,9	80,5	80,2
39	NA	76	NA
40	NA	NA	NA

Tabelle 12.4 Restsauerstoff und Temperatur im Schaum

Tier Nr.	O ₂ _Nasenhöhe [%]	O ₂ _Boden [%]	Temperatur_Schaum [%]
1	2,6	3,4	15,86
2	1,6	1,8	14,86
3	1,75	1,9	13,5
4	1,4	1,9	13,85
5	NA	NA	NA
6	0,89	NA	16,28
7	0,44	2,59	16,74
8	0,52	NA	15,61
9	0,39	0,67	16,67
10	0,61	0,77	12,91
11	0,66	0,78	13,48
12	0,67	0,79	12,62
13	0,75	0,79	13,58
14	0,81	0,75	13,81
15	0,66	0,9	13,27
16	0,77	0,91	13,83
17	0,51	0,97	10,76
18	0,58	0,95	6,89
19	0,8	0,97	7,94
20	0,67	1,20	8,56
21	0,55	1,22	11,46
22	0,63	1,36	11,84
23	0,88	1,06	13,12
24	Messfehler	Messfehler	15,85
25	0,59	2,09	14,13
26	0,56	2,96	16,67
27	0,92	2,82	16,13
28	0,59	2,14	11,87
29	1,18	2,77	13,19
30	0,91	2,22	14,72
31	0,48	2,45	14,97
32	0,76	2,05	11,15
33	0,59	1,69	13,68
34	0,38	2,08	5,85
35	0,66	2,8	5,92
36	0,7	2,46	5,07
37	0,48	2,51	6,03
38	0,55	2,66	3,72
39	0,53	2,68	6,32
40	0,46	1,77	8,07

Tabelle 12.5 transkutan erhobene Werte für pCO₂ und pO₂ bei zwei Schlachtschweinen während der Betäubung mit Stickstoffschaum

			Tier 11	
Ereignis	Uhrzeit	Minute	tc pCO ₂	tc pO ₂
Bedeckung	16:49	1	50	43
	16:50	2	49	42
	16:51	3	51	30
	16:52	4	51	11
	16:53	5	57	2
Herausnahme	16:54	6	63	2
Tötung	16:55	7	69	5
			Tier 39	
Ereignis	Uhrzeit	Minute	tc pCO ₂	tc pO ₂
	11:38	1	53	21
Bedeckung	11:39	2	58	3
	11:40	3	64	2
	11:41	4	70	2
Herausnahme	11:42	5	77	2
Tötung	11:43	6	85	29

(Der Wert von 29 mmHg für pO₂ in der Minute der Tötung bei Tier 39 ist durch Sauerstoffkontakt mit dem Sensor nach dessen Abnahme, sowie durch die Mittelung aller Messwerte pro Minute durch das Gerät zu erklären.)

Tabelle 12.6 positive Reflexantworten bei den Versuchstieren

Tier Nr.	Cornealreflex	wiederkehrend [s]	Nasenscheidewandreflex	Kopfheben	wiederkehrend [s]	Gaspung
2	x	-/-	x	-/-	-/-	-/-
3	x	-/-	x	-/-	-/-	-/-
4	Abbruch	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
5	Abbruch	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
6	-/-	-/-	-/-	x	-/-	-/-
8	Abbruch	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
10	-/-	65	-/-	-/-	46	x
21	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	x
23	-/-	144	-/-	-/-	-/-	x
28	-/-	107	(x)	-/-	25	x
34	-/-	52	(x)	-/-	-/-	x

13 Publikationsverzeichnis

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen folgender Kongresse vorgestellt:

Marahrens, M., Pöhlmann, V., Balzer, K., Stehle, E., El Amarti, A., von Frantzius, I., Piotrowski, D., Kiezebrink, H. and Schwarzlose, I. (2017): Stunning of slaughter pigs and non-viable piglets with nitrogen gas filled high expansive foam – first results of a proof of concept. In: Proceedings “Welfare Impacts of Controlled Atmosphere Methods for Stunning or Killing Animals” (Universities Federation for Animal Welfare and Humane Slaughter Association), 29.-30. Juni 2017, APHA Weybridge, Surrey, United Kingdom.

V. Pöhlmann, M. Marahrens, I. Schwarzlose, E. Stehle, A. El Amarti, L. Schrader, K. H. Lahrman (2017): Untersuchungen zur Betäubung von Schlachtschweinen mit einem Stickstoff- gefüllten, hochexpansiven Schaum unter Tierschutz- und Fleischqualitätsaspekten. In: Lange Nacht der Wissenschaften. Das Programm der freien Universität Berlin und weiterer Einrichtungen in Dahlem und Steglitz, 24. Juni 2017, (Poster), Freie Universität Berlin, Berlin.

14 Danksagung

Als erstes danke ich Herrn Dr. Michael Marahrens und Frau Dr. Inga Schwarzlose vom Friedrich-Loeffler-Institut für die Überlassung dieses wichtigen und tierschutzrelevanten Themas sowie für die fachliche Unterstützung und Beratung. Der Tönnies Forschung möchte ich besonders für die Finanzierung des Projektes danken.

Herrn Prof. Dr. Karl-Heinz Lahrmann vom Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin danke ich herzlich für die Betreuung der Promotion sowie für seine stets konstruktive und hilfreiche Unterstützung bei der Planung und Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Abdel Armati vom Friedrich-Loeffler-Institut danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche. Ohne seine schnelle Auffassungsgabe und sein vorausschauendes Denken wäre die Vollendung der Versuche in dieser kurzen Zeit nicht umsetzbar gewesen. Auch Daniel Piotrowski und Ines von Franzius danke ich für Ihre Unterstützung bei der Projektdurchführung. Ein besonderer Dank geht an Eva Stehle vom Friedrich-Loeffler-Institut für die Einführung in das Statistikprogramm und die Begleitung während der statistischen Auswertung, sowie an Dr. Michiel van Mil von der Firma Anoxia Europe für die Auswertungen zur Schaumbeschaffenheit. Harm Kiezebrink und Christian Pabst von AVT danke ich für die Hilfe bei der technischen Versuchsdurchführung.

Herrn Hans-Jörg Eynck und Herrn Paul Vacker von der Tönnies Lebensmittel GmbH & Co. KG danke ich für ihr Organisationstalent und ihre Zuverlässigkeit. Bei technischen Problemen waren sie immer sofort zur Stelle, um schnellstmöglich eine Lösung zu finden. Auch allen anderen, vielzähligen an dem Projekt direkt und indirekt beteiligten Personen wie den Schlachtmeistern, Stallmeistern Technikern und Fachassistenten gilt mein allergrößter Dank für das Gelingen der Versuche.

Darüber hinaus danke ich Herrn Wilko Jakobs von der Josef Pulsfort GmbH & Co. KG für die konstruktiven und durchdachten Ideen zu einem ihm völlig fremden Fachgebiet sowie seinem unerschöpfbaren Ehrgeiz und seiner Kreativität.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie für das Netz und den doppelten Boden auf meinem bisherigen Weg, sowie für die Ermöglichung von Studium und Promotion. Meinen Freunden möchte ich danken für ihr stets offenes Ohr und die schönen, schwerelosen Momente. Ein riesengroßer Dank geht an Robert Mertin für diese schöne Liebe, seinen Halt und seine Zuversicht, sowie seine vielfältige Unterstützung in allen Lebenslagen.

15 Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Literatur eigenständig erstellt habe.

Berlin, den 19.02.2018

Valeska Pöhlmann



mbvberlin | mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-86387-883-2