



Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2014 – 2015

Evaluatie van single en mixed sex afmesten van beren
op gedrag, huidlesies en bevuiling

&

Optimalisatie van de soldeerboutmethode

Eline Kowalski

Promotor: Prof. dr. ir. Bart Sonck en Prof. dr. ir. Lynn Vanhaecke

Tutor: ir. Evert Heyrman

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van
Master of Science in de biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde



Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2014 – 2015

Evaluatie van single en mixed sex afmesten van beren
op gedrag, huidlesies en bevuiling

&

Optimalisatie van de soldeerboutmethode

Eline Kowalski

Promotor: Prof. dr. ir. Bart Sonck en prof. dr. ir. Lynn Vanhaecke

Tutor: ir. Evert Heyrman

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van
Master of Science in de biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde

Auteursrechtelijke bescherming

De auteur en de promotor geven de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen van de scriptie te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie.

The author and the promotor give the permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using the results from this thesis.

Gent, Juni 2015

Promotors

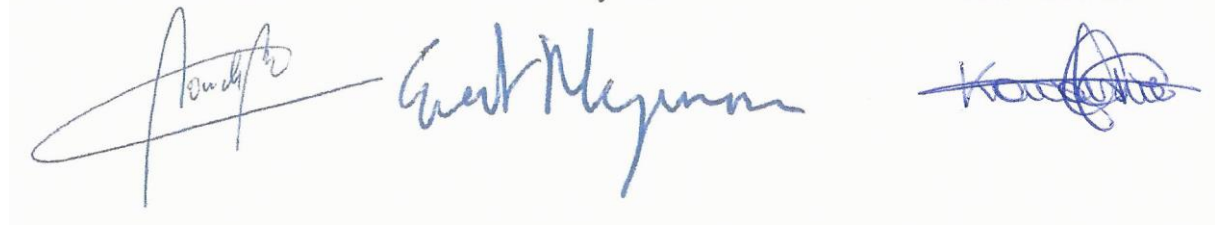
Prof. dr. Ir. Bart Sonck

Tutor

ir. Evert Heyrman

Student

Eline Kowalski



Handwritten signatures of the three individuals listed above. The first signature is for Bart Sonck, the second for Evert Heyrman, and the third for Eline Kowalski.

Prof. dr. ir. Lynn Vanhaecke



Handwritten signature of Lynn Vanhaecke.

Woord vooraf

Dit eindwerk is het sluitstuk van mijn opleiding master in de biowetenschappen. Het heeft veel van mijn tijd en energie in beslag genomen. Het schrijven van dit eindwerk was onmogelijk geweest zonder de steun en hulp van velen. Daarom wil ik voorafgaand deze mensen bedanken, die bijgedragen hebben tot de realisatie van dit eindwerk.

In de eerste plaats wil ik graag mijn promotor Prof. dr. ir. Bart Sonck en copromotor ir. Evert Heyrman bedanken. Vooreerst voor het aanbrengen van het onderwerp alsook voor de goede begeleiding die zij mij gaven tijdens het schrijven van mijn eindwerk.

In de tweede plaats wil ik graag dr. ir. Marijke Aluwé bedanken. Ik kon steeds bij haar terecht met vragen of moeilijkheden. Zij zorgde telkens voor een nieuwe insteek, zodat ik geprikkeld werd om nieuwe dingen te onderzoeken.

Als derde wil ik graag Liesbeth De Wilde en Vicky Vercruysse bedanken voor de hulp bij het praktische werk voor mijn onderzoek. Ook wil ik graag dr. Jella Wauters bedanken, bij haar kon ik steeds terecht met moeilijkheden bij mijn eindwerk en hielp mij ook nieuwe inzichten te verwerven.

Ook wil ik de instellingen ILVO en het laboratorium voor Chemische Analyse, departement Veterinaire Volksgezondheid en Voedselveiligheid (Faculteit Diergeneeskunde, Ugent) bedanken voor het beschikbaar stellen van hun laboratorium en materiaal voor het uitvoeren van het praktische gedeelte van mijn eindwerk.

Ook wil ik de twee bedrijven bedanken voor het openstellen van hun bedrijf en hun medewerking aan mijn proef. Ik was steeds welkom om de dieren te observeren en zij waren steeds bereid vragen te beantwoorden omtrent de proefopstelling.

Verder wil ik ook mijn familie en vrienden bedanken om mij bij te staan tijdens het schrijven van dit eindwerk en te zorgen voor de nodige ontspanning tijdens het schrijven.

Rest me nog alle mensen te bedanken die ik niet heb vermeld maar die toch, elk op hun manier, een belangrijke bijdrage hebben geleverd. Hun welgemeende aanmoediging, van heel dichtbij of van veraf, heeft mij erg gesteund.

Juni, 2015.

Samenvatting

Door het ondertekenen van de Europese verklaring (2010) heeft de EU zich geëngageerd om, vanaf 2018, niet meer chirurgisch te castreren. Het afmesten van intacte beren is een alternatief waarbij de prevalentie van berengeur een hindernis is.

Berengeur is de onaangename geur die vrijkomt bij verhitten van varkensvlees.

In de masterproef werd het effect van single/mixed sex huisvesting op berengeur onderzocht tijdens de afmestperiode. Daarnaast werd nagegaan of aanwezigheid van gelten in het compartiment invloed had op het gedrag van de beren.

Voor de standaardisering van de soldeerboutmethode, werden de effecten van bewaartemperatuur en -duur onderzocht, alsook de voorafgaandelijke blootstelling aan geurstrips met androstenon en skatol aan een expertenpanel.

In een single sex huisvesting waren de beren inactiever en stelden minder het gedrag “eten/drinken”, “bewegen”, “spelen” en “seksueel” dan bij mixed sex.

Naarmate de afmestperiode vorderde, nam de frequentie van de gedragingen af, en steeg inactiviteit met toenemende dierbevuiling en afnemende hokbevuiling.

Het onderzoek ter optimalisering van de soldeerboutmethode, toont bij verse stalen een hogere score bij sensorische detectie van berengeurcomponenten dan na bewaring van 1 of 2 maanden op een temperatuur van -20°C en -80°C. Verschillen in invriestijd en temperatuur hebben geen effect.

Een expertenpanel voorafgaand blootstellen aan concentraties androstenon en skatol, via het aanbieden van teststrips, is geen beïnvloedende factor bij de detectie van berengeurcomponenten.

Op basis van de uitgevoerde proeven kan geadviseerd worden om bij afmest van intacte beren te kiezen voor een single sex huisvesting en worden de sensorische proeven bij voorkeur uitgevoerd op verse stalen.

Kernwoorden:

berengeur – intacte beren – afmest - mixed en single sex - soldeerboutmethode

Abstract

By signing the European Convention (2010), surgical castration will no longer be allowed starting from 2018. A possible alternative is the fattening of entire male pigs or boars. However, the biggest hurdle is the prevalence of boar taint, an unpleasant fecal and urine-like odour, released during the heating of pork. The effect of single/mixed housing on behaviour and boar taint during the finishing period was examined in this essay. The prevalence of boar taint was determined using the hot iron method.

In order to further standardize the hot iron method as sensory detection method for boar taint, the effects of conservation temperature, conservation time and the influence of pre-exposure to an expert panel to high concentrations of androstenone and skatol were investigated.

In single sex housing the boars were more inactive and “eating/drinking”, “sexual”, “moving” and “playing” behavior appeared less than in mixed sex housing. As the finishing period progressed, an increase in animal soiling and inactivity were observable, as well as a decrease of the “eating/drinking”, “moving” and “playing” behavior and pen soiling.

The research for optimization of the hot iron method, shows a higher sensory detection of boar taint components in fresh fat samples, compared to one or two months conserved samples at a temperature of -20 °C and -80 °C. Differences in conservation temperature and conservation time after freezing were not significant.

Pre-exposure of test strips with high concentration of androstenone and skatole to an expert panel did not positively, nor negatively influence subsequent detection of boar taint components in the fat.

Generally, based on the results of this study, a single sex accommodation should be chosen for the finishing of intact boars and the sensory tests are preferably performed on fresh samples.

Keywords:

boar taint – boars - fattening period – mixed and single sex – sensory analysis

Inhoudsopgave

Auteursrechtelijke bescherming	
Woord vooraf	
Samenvatting	
Abstract	
Inhoudsopgave.....	1
Lijst met afkortingen	4
Lijst met figuren en tabellen	5
Lijst met figuren	5
Lijst met tabellen	7
Inleiding	8
1. Literatuurstudie	10
1.1. Wat is berengeur?.....	10
1.1.1. De verschillende componenten van berengeur	10
1.1.2. Reactie van de consument.....	14
1.2. Castratie en de alternatieven ter voorkoming van berengeur	15
1.2.1. Castratie	15
1.2.2. Jonger slachten.....	21
1.2.3. Managementmaatregelen	22
1.2.4. Seksen van sperma.....	29
1.2.5. Genetica.....	30
1.3. Detectiemethoden van berengeur	31
1.3.1. Sensorische methoden	32
1.3.2. Chemische methoden	38
1.4. Algemeen besluit.....	39
2. Materiaal en methoden.....	41
2.1. Proef 1 : invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren	41
2.1.1. Observaties.....	41
2.1.2. Berengeurdetectie	47
2.1.3. Dataverwerking	48
2.2. Proef 2 : stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet	49
2.2.1. Staalname.....	49
2.2.2. Chemische analyse	50
2.2.3. Sensorische analyse	53

2.2.4. Dataverwerking	53
2.3. Proef 3 : invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen	55
2.3.1. Voorbereiding stalen	55
2.3.2. Voorbereiding geurstrips	55
2.3.3. Sensorische analyse	56
3.3.4. Dataverwerking	56
3. Resultaten	57
3.1. Proef 1 : invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren	57
3.1.1. Huidlesies, dierbevuiling, hokbevuiling en gedrag “inactiviteit”, “eten/drinken”, “spelen”, “bewegen” en “seksueel”	57
3.1.2. Gedrag “oor- en/of staartbijten” en “agressie”	64
3.1.3. Proef berengeurdetectie	65
3.2. Proef 2: stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet	66
3.2.1. Sensorische proef 1: effect van tijd (2 maanden) op de bewaring van vet bij 20°C op de sensorische evaluatie van vetstalen.....	66
3.2.2. Sensorische proef 2: effect van tijd (2 maanden) op de bewaring bij -80°C op de sensorische evaluatie van de vetstalen	68
3.2.3. Sensorische proef 3: effect van 2 maanden bewaring bij -20 °C versus -80 °C op de sensorische evaluatie van de vetstalen.....	69
3.2.4. Chemische analyse 1: effect van tijd (2 maanden) op bewaring component indol, skatol en androstenon bij -20 °C	69
3.2.5. Chemische analyse 2: effect van invloed van 2 maanden bewaring bij –80 °C op de componenten indol, skatol en androstenon	71
3.2.6. Chemische analyse 3: effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van de componenten indol, skatol en androstenon	72
3.3. Proef 3: invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen	74
4. Discussie	76
4.1. Proef 1: invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren	76
4.2. Proef 2: stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet	79
4.3. Proef 3: invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen.....	81
5. Conclusie	82
5.1. Proef 1: invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren	82
5.2. Proef 2: stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet	82

5.3. Proef 3: invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen	83
6. Algemeen besluit.....	84
7. Literatuurlijst.....	86
8. Bijlagen	93

Lijst met afkortingen

LH = Luteïniserend hormoon
GnRH = Gonadotrope-releasing hormoon
GH = Groeihormoon
IGF-1 = Insuline-like growth factor 1
ACTH = Adrenocorticotroop hormoon
PUFA = Polyunsaturated fatty acids
NSAIDS = Niet-steroïdale anti- inflammatoire drugs
BSST = Beltsville Sperma Sexing Technology
3-AFC = 3-alternative forced choice test
ASTM = American Society for Testing and Materials
TSMR = Thickness shear mode resonators
HPLC = High performance liquid chromatography
GC = Gas chromatography
LC = Liquid chromatography
MS = Massaspectrometrie
KKG = Koud karkas slachtgewicht
IND = Indol
SKA = Skatol
AOEN = Androstenon
2-MID = 2 – methylindol
ADD = Androstadienedion
SPE = Solid Phase Extraction

Lijst met figuren en tabellen

Lijst met figuren

Fig. 1: Moleculaire structuur van androstenon (Boyd,2011)	10
Fig. 2: Metabolische pathway van androstenon en skatol (Zamaratskaia & Squires,2009) ...	10
Fig. 3: Moleculaire structuur van skatol (Skatol,2015)	12
Fig. 4: Biosynthese van skatol (American society for microbiology,2015).....	12
Fig. 5: Moleculaire structuur van indol (Indol,2015)	13
Fig. 6: Tijdsverloop van de ontwikkeling van de puberteit bij beren (Claus et al., 1994)	22
Fig. 7: Invloed van het seizoen op de concentratie van testosteron en oestradiol in het plasma op verschillende leeftijd (Prunier et al., 2013)	23
Fig. 8: Invloed van verrijking van de huisvesting en invloed van het seizoen op het aantal huidlesies op verschillende leeftijden (Prunier et al.,2013)	24
Fig. 9: Gehalte van steroïden in functie van de leeftijd. (Andresen,1976)	26
Fig. 10: Invulblad observaties op het bedrijf	42
Fig. 11: Hokafscheiding bedrijf A.....	43
Fig. 12: Roostervloeren bedrijf A.....	43
Fig. 13: Grondplan bedrijf A, single sex huisvesting	43
Fig. 14: Grondplan bedrijf A, mixed sex huisvesting	44
Fig. 15: Hokafscheiding bedrijf B.....	45
Fig. 16: Hokafscheiding bedrijf B.....	45
Fig. 17: Grondplan bedrijf B, single sex huisvesting	46
Fig. 18: Grondplan bedrijf B, mixed sex huisvesting	46
Fig. 19: Soldeerbout ERSR RDS 80 (D'tron, z.j.)	47
Fig. 20: Solid phase extraction (Lucci et al., 2012)	52
Fig. 21: De gemiddelde score van huidlesies bij single sex versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex), gescoord op een schaal van 0 tot 5	58
Fig. 22: De gemiddelde score van dierbevuiling bij single sex versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex), gescoord op een schaal van 0 tot 4	59
Fig. 23: De gemiddelde score hokbevuiling bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B=single sex; BZ= mixed sex), gescoord op een schaal van 0 tot 4	59
Fig. 24: Het gemiddelde percentage van gedrag "inactiviteit" bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	60
Fig. 25: Het gemiddelde percentage van gedrag "eten/drinken" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	61
Fig. 26: Het gemiddelde percentage van gedrag "spelen" bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	61
Fig. 27: Het gemiddelde percentage van gedrag "bewegen" bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	62
Fig. 28: Het gemiddelde percentage van gedrag "seksueel" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	63

Fig. 29: Het gemiddelde percentage van gedrag "oor- en/of staartbijten" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	64
Fig. 30: Het gemiddelde percentage van gedrag "agressie" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen	65
Fig. 31: Het effect van tijdstip op de bewaring bij -20 °C op de sensorische evaluatie van de vetstalen.....	66
Fig. 32: Absolute frequenties van de scores bij de sensorische proef van 10 stinkers op tijdstip 0 (vers)	67
Fig. 33: Absolute frequentie van de scores bij de sensorische proef van 10 stinkers op tijdstip 1 (na 30 dagen)	67
Fig. 34: Absolute frequentie van de scores van de sensorische proef van 10 stinkers op tijdstip 2 (na 60 dagen)	68
Fig. 35: Het effect van temperatuur op de bewaring (vers versus -80 °C) op de sensorische evaluatie van de vetstalen.....	68
Fig. 36: Het effect van 2 maand bewaring bij - 20 °C versus - 80 °C op de sensorische evaluatie van de vetstalen.....	69
Fig. 37: Het effect van de bewaarduur op de component indol.....	70
Fig. 38: Het effect van de bewaarduur op de component skatol.....	70
Fig. 39: Het effect van de bewaarduur op de component androstenon.....	70
Fig. 40: Het effect van de temperatuur (vers versus -80 °C) op de bewaring van component indol	71
Fig. 41: Het effect van de temperatuur (vers versus -80 °C) op de bewaring van component skatol	71
Fig. 42: Het effect van de temperatuur (vers versus -80 °C) op de bewaring van component androstenon.....	72
Fig. 43: Het effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van component indol	72
Fig. 44: Het effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van component skatol	73
Fig. 45: Het effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van component androstenon.....	73
Fig. 46: Invloed van strips en tijdstip op score van de panelleden bij de sensorische proef met stinkers, berengeur gescoord van 0 (geen) tot 4 (sterk afwijkend)	75
Fig. 47: Invloed van strips en tijdstip op de score van de panelleden bij de sensorische proef met blanco's, berengeur gescoord van 0 (geen) tot 4 (sterk afwijkend)	75

Lijst met tabellen

Tabel 1: Overzicht aantal observaties en gemiddeld koud karkas slachtgewicht (KKGG) intacte beren bedrijf A	44
Tabel 2: Verdeling hokken single sex huisvesting bedrijf B	46
Tabel 3: Overzicht aantal observaties en gemiddeld koud karkas slachtgewicht (KKGG) intacte beren bedrijf B	47
Tabel 4: Overzicht voor het aanmaken van de spikemengsels voor het spiken van de ijklijnpunten (IND=indol; SKA=skatol; AOEN=androstenon).....	50
Tabel 5: Ijklijnconcentraties in het vet (0-5000 µg/kg)	51
Tabel 6: Lineaire gradiënt voor de scheiding van berengeurcomponenten in een U-HPLC (Bekaert et al., 2012).....	53
Tabel 7: Parameters voor Exactive, Thermo Fisher Scientific (Bekaert et al., 2012)	53
Tabel 8: Beïnvloedende factoren statistische verwerking	54
Tabel 9 : Invloed van tijdstip en single/mixed sex huisvesting op huidlesies, dierbevuiling, hokbevuiling en gedrag “inactiviteit”, “eten/drinken”, “spelen”, “bewegen” en “seksueel” (t-test)	57
Tabel 10: Berengeurprevalentie (weergegeven in % en gemiddelde sensorische score) op praktijkbedrijf A.....	65
Tabel 11: Berengeurprevalentie (weergegeven in % en gemiddelde sensorische score) op praktijkbedrijf B.....	65
Tabel 12: Het effect van tijdstip, vers (T0), na 30 dagen (T1), na 60 dagen (T2), op bewaring van rugvet bij - 20 °C (t-test)	66
Tabel 13: Chemische analyse indol, skatol en androstenon bij vers (T0), na 30 dagen (T1), na 60 dagen (T2) (t-test).....	69
Tabel 14: effect van bewaringstemperatuur (vers versus. -80 °C) op de componenten indol, skatol en androstenon (t-test)	71
Tabel 15: Effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van componenten	72

Inleiding

De problematiek rond castratie van biggen is een hot item. De Europese verklaring, ondersteund door de varkensketen geeft aan, om vanaf 2018, te stoppen met chirurgische castratie (Europese verklaring,2010). Tegen 2018 dienen alternatieven gezocht en uitgewerkt te worden om de methodiek van chirurgische castratie te vervangen. Volgens deze verklaring dient sinds 2012 castratie uitgevoerd met pijnbestrijding (ILVO,2012).

In België worden tot op heden het grootste deel van de mannelijke biggen gecastreerd, in Vlaanderen goed voor vijf tot zes miljoen castraties per jaar (Callens,2012). Door castratie zijn de dieren meer handelbaar, vertonen ze minder agressief en seksueel gedrag en kan berengeur geëlimineerd worden.

Een mogelijk alternatief is het afmesten van intacte beren met als voornaamste probleem berengeur, wat voorkomt bij 3 à 4 % van de intacte beren volgens Vlaamse cijfers (EFSA,2004). Berengeur is onaangename feces- en urineachtige geur, die vrijkomt bij het verhitten van varkensvlees. Het is voornamelijk een probleem bij intacte beren (EFSA,2004).

De technische resultaten bij afmesten van intacte beren zijn beter dan deze van castraten en immunocastraten. Intacte beren hebben een lagere voederkost dan baren en een kleine meerwinst ten opzichte van immunocastraten. Intacte beren hebben ook een magerder karkas. Een nadeel is dat intacte beren, voornamelijk op het einde van de afmestperiode, meer agressief en seksueel gedrag vertonen (Callens,2012).

Aangezien de technische resultaten bij het afmesten van intacte beren beter zijn in vergelijking met castratie, is het belangrijk om een methode te ontwikkelen om berengeur te detecteren, zowel pre- als postmortem. Het is nog belangrijker om de prevalentie van berengeur zo laag mogelijk te houden. Dit start reeds bij het management tijdens de afmestperiode. Hiervoor is onderzoek naar de invloedsfactoren op de prevalentie van berengeur tijdens de afmestperiode noodzakelijk..

In deze masterproef wordt de invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag van de intacte beren en op de prevalentie van berengeur onderzocht. De gedragsobservaties worden tijdens de afmestperiode uitgevoerd. De prevalentie van berengeur wordt getest door een expertenpanel (soldeerboutmethode) van het ILVO na slachten. Uit eerdere studies bleek dat de aanwezigheid van zeugen/gelten bij intacte beren in de opfok de puberteit en zo het seksueel gedrag beïnvloeden, waardoor er meer kans is op berengeur (Xue et al.,1997 & Zamaratskaia et al.,1997).

Verder wordt in deze masterproef de invloed van diepgevroren bewaring op de stabiliteit van de berengeurcomponenten in het rugvet onderzocht nl. invloed van het invriezen (bij -20 °C en -80 °C) van het vet, gedurende 1 en 2 maanden op de concentratie en/of geurwaarneming van berengeur in vergelijking met verse stalen. De sensorische methode (soldeerboutmethode) werd gekoppeld aan de chemische analyse. Naast de invloed van tijdsduur van invriezen op de waarneming van berengeur, wordt ook de invloed van de temperatuur van invriezen onderzocht. Concreet wordt nagegaan of door het invriezen van de vetstalen de concentratie van androstenon, skatol en indol (componenten verantwoordelijk voor berengeur) al dan niet daalt. Aangezien het vluchtige componenten

betreft die slechts vervluchtigen door verhitting is de hypothese dat de concentratie van de componenten niet sterk beïnvloed zal worden door het invriezen.

Om berengeur te kunnen waarnemen moeten de componenten van berengeur herkend worden bij de sensorische testen. Met de tweede proefopstelling wordt nagegaan of het aanbieden van geurstrips met androstenon en skatol een invloed heeft op de geurperceptie.

1. Literatuurstudie

1.1. Wat is berengeur?

Berengeur is de onaangename geur die kan voorkomen bij het verhitten van vlees en vet van voornamelijk niet geïmprimeerde mannelijke varkens (intacte beren). Ook kan hierbij een afwijkende smaak worden vastgesteld. Deze geur wordt beschreven als urine- of fecaalachtig. De oorzaak van deze ongewenste geur is te wijten aan een opstapeling van hoofdzakelijk androstenon en skatol in het vet (EFSA,2004). Berengeur is slechts bij een beperkt aantal mannelijke karkassen aanwezig en wordt zeer zelden opgemerkt bij zeugen en baren (Babol & Squires,1995 & Xue et al.,1997).

1.1.1. De verschillende componenten van berengeur

Androstenon, skatol en in minder mate indol zijn verantwoordelijk voor de onaangename geur die geassocieerd wordt met vlees dat afkomstig is van berenkarkassen. Momenteel is er nog geen consensus welke component de meeste invloed heeft op berengeur (Bonneau et al.,1999).

Hieronder worden de verschillende componenten besproken die een oorzaak zijn van berengeur.

Androstenon

Androstenon, 5 α -androst-16-ene-3-one, is een van de belangrijkste componenten van berengeur. Het is een testiculaire steroïde, dat bij het verhitten van het vet zorgt voor een urine-achtige geur (Bonneau et al.,1999). De androstenonconcentratie wordt bepaald door genetische factoren en het stadium in de puberteit. De biosynthese van androstenon is laag bij jonge varkens en gaat geleidelijk stijgen, samen met andere testiculaire steroïden tot aan de seksuele volwassenheid

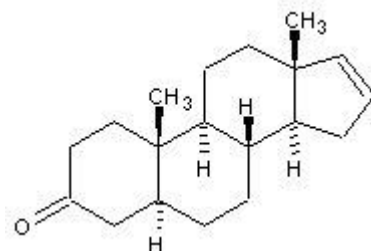


Fig. 1: Moleculaire structuur van androstenon (Boyd,2011)

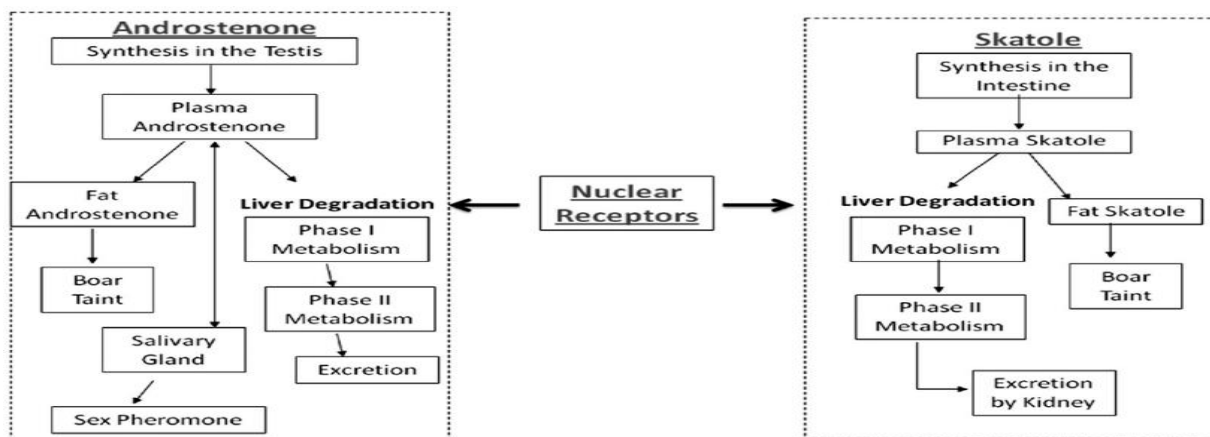


Fig. 2: Metabolische pathway van androstenon en skatol (Zamaratskaia & Squires,2009)

(Zamaratskaia & Squires, 2009 & Squires et al., 1991). Het wordt vooral een belangrijke component wanneer het dier een hoger gewicht krijgt of dicht bij de seksuele maturiteit komt (Squires et al., 1991). Androstenon heeft geen hormonale activiteit, maar werkt als een seksferomoon (Claus et al., 1993).

Androstenon wordt in de eerste plaats gesynthetiseerd in de Leydig cellen van de intacte berentestis met andere androgenen en oestrogenen en een kleinere bijdrage van synthese is afkomstig van de bijnieren (Gower, 1972 & Xue et al., 1997). Deze productie van testiculaire steroïden staat onder controle van het neuro-endocrine systeem in het bijzonder het luteïniserend hormoon (LH). Het LH staat op haar beurt onder controle van het gonadotrope-releasing hormoon (GnRH) (Zamaratskaia & Squires, 2009).

16-androstenon wordt geproduceerd in de testes en wordt vrijgegeven in de systemische circulatie via de zaadleider. Door de hydrofobe eigenschappen, wordt 16-androstenon getransporteerd naar het vetweefsel, speekselklieren en lever (Squires et al., 1991 & Xue et al., 1997). De opslag van androstenon is reversibel. Gecastreerde mannelijke varkens vertonen een geleidelijke afname van de androstenonconcentratie in serum en vet. Afhankelijk van de leeftijd, duurt de eliminatie van androstenon uit de weefsels, na castratie, 3 tot 6 weken (Claus et al., 1994). Het overige deel van androstenon uit het plasma wordt gemetaboliseerd in de lever. Daar wordt androstenon gedeeltelijk afgebroken en uitgescheiden via de urine (Zamaratskaia & Squires, 2009).

16-androstenon wordt ook getransporteerd naar de submaxillaire speekselklieren, waar het functioneert als feromoon, door binding met een specifiek eiwit. De speekselklieren van de beer bevatten hoge concentraties van 5 α -androstenon en 5 α - en 5 β - androstenolen. Wanneer een volwassen beer wordt getriggerd door de aanwezigheid van een zeug of een onbekende beer, wordt overvloedig schuimig speeksel aangemaakt. Deze speekselaanmaak zorgt voor de verspreiding van een hoeveelheid 16-androstenon in de omgeving. Deze geursteroïden, voornamelijk 5 α -androstenol en 5 α -androstenon, worden gebruikt als trigger voor de dekhouding van de zeug of als teken van dominantie tegenover een onbekende beer. Wanneer jonge beren aan deze feromonen worden blootgesteld, wordt de aanvang van de puberteit beïnvloed, waardoor deze vroeger zal aanvangen (Xue et al., 1997). Agressieve beren hebben een hogere concentratie van androstenon in de speekselklieren dan gedomineerde beren (Xue et al., 1997).

Bij zeugen en baren komt zelden berengeur voor. De component androstenon zou bij deze geslachten geproduceerd worden door de bijnierschors en de eierstokken (Gower, 1972).

Skatol

Skatol of 3-methyl indole geeft bij verhitting van vet een fecale geur af (Bonneau et al.,1999).

Skatol wordt geproduceerd in de dikke- en blindedarm door microbiële afbraak van het aminozuur tryptofaan, afkomstig van voornamelijk endogene- en in minder mate voeding-eiwitten. De biosynthese van skatol gebeurt in twee

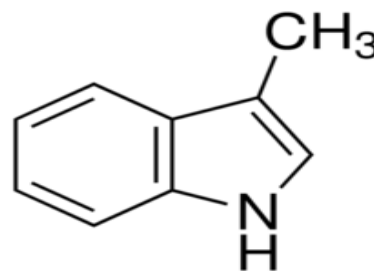


Fig. 3: Moleculaire structuur van skatol (Skatol,2015)

stappen. Eerst wordt tryptofaan omgezet in 3-indole azijnzuur, welke op zijn beurt omgezet wordt in skatol.

Escherichia coli en *Clostridium ssp.* zijn verantwoordelijk voor de productie van indole-3-azijnzuur. Vervolgens zetten *Lactobacillus* en *Clostridium* indole-3-azijnzuur om in skatol. De gevormde hoeveelheid skatol is afhankelijk van de beschikbare tryptofaan en de samenstelling en activiteit van de darmbacteriën (Zamaratskaia & Squires,2009). Ongeveer 87 % van de aanwezige skatol, geproduceerd in de darmen, wordt geabsorbeerd door de darmwand en getransporteerd via het bloed naar de lever. In de lever wordt het grootste deel afgebroken. De feces bevat slechts 13% van de totale microbiële darmproductie van skatol. De excretie van de afgebroken producten gebeurt via de urine (Fig. 4). Niet-afgebroken skatol wordt afgezet in het vet en de spieren van de beer. Een hoge concentratie van skatol in het vetweefsel kan aanleiding geven tot een onaangename geur of smaak. Uit de studie van Jensen (2006), kan besloten worden dat de hoeveelheid en het type eiwit en koolhydraat in het voeder een substantieel effect heeft op het stikstofmetabolisme. Daardoor wordt ook de vorming van skatol beïnvloed. Voeder met een eiwitbron met een lage ileale verteerbaarheid, verhoogt de skatolproductie en voeder met fermenteerbare koolhydraten, zorgen voor een verlaagde productie van skatol. De hoogste skatolconcentratie in de darm bevindt zich in het rectum (Claus,1994).

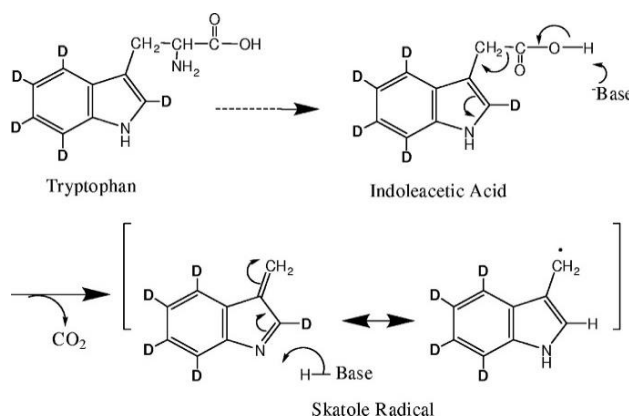


Fig. 4: Biosynthese van skatol (American society for microbiology,2015)

De skatolconcentratie in de feces zijn bij beide geslachten gelijk, maar hoge skatolconcentraties in het vetweefsel komen voornamelijk voor bij intacte beren (Zamaratskaia & Squires,2009). De redenen waarom de concentratie bij intacte beren hoger is, is nog onduidelijk. Er bestaan verschillende hypothesen. Intacte beren hebben een groter anabool potentieel, een hoger niveau van intestinale afschilfering en een remmend effect van testosteron op skatolafbraak en -absorptie (Bañón et al.,2003). Androgenen (zoals testosteron), kunnen een anabool effect uitoefenen door hun interactie met de glucocorticoïde receptor, en zo een verlaging van de degradatie van de spiereiwitten veroorzaken. Dit anti-katabolische effect gaat indirect de eiwitafzetting verbeteren. Daar tegenover gaan oestrogenen de eiwitsynthese doen stijgen door hun stimulerend effect op groeihormoon (GH) en insuline-like growth factor 1 (IGF-1) secretie (Claus et al.,1994).

Indol

Naast de twee belangrijkste componenten van berengeur, androstenon en skatol, heeft indol ook een invloed. Indol is net als skatol, een indolische component. Indol ontstaat net als skatol in de darmen door de afbraak van aminozuur tryptofaan door *Lactobacillus* ssp. (ILVO,z.j.). De indolconcentratie is het hoogst in het caecum (Claus et al.,1994).

De bijdrage van indol is kleiner dan de bijdrage van de twee andere componenten, ook al is de indolconcentratie in het vet soms hoger dan deze van skatol (Xue et al.,1997). Het onderzoek van Annor-Frempong et al. (1997a) toont aan dat indol een belangrijke bijdrage kan leveren tot berengeur bij een hoge indolconcentratie en een lage skatolconcentratie.

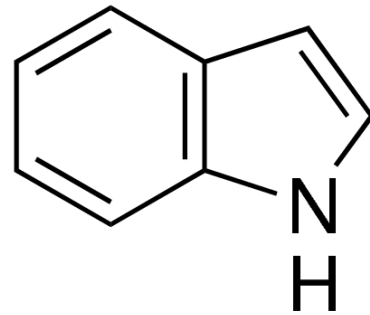


Fig. 5: Moleculaire structuur van indol (Indol,2015)

Andere componenten

Ondanks de lage concentraties van androstenon, skatol en indol kan een afwijkende smaak of geur waargenomen worden in het vlees en/of vet van varkens door de consument. Dit zou betekenen dat er nog andere componenten aanwezig zijn die aanleiding geven tot berengeur.

In de literatuur bestaat er geen consensus over de invloed van deze componenten op berengeur. De invloed van aldehyden en korte keten vetzuren wordt aangehaald (Zamaratskaia & Squires,2009). Deze kunnen mogelijk een bevorderaar zijn voor de perceptie van skatol en androstenon, of verantwoordelijk zijn voor de ontwikkeling van onsmakelijke geuren. Ook wordt 4-phenyl-3-buten-2-on als component beschreven (Zamaratskaia & Squires,2009). De publicatie van EFSA (2004), haalt ook nog andere Δ -16-steroïden aan.

1.1.2. Reactie van de consument

Vlees met berengeur wordt als minderwaardig ervaren (Andresen,1976). De detectie van berengeur bij consumptie van het vlees is afhankelijk van verschillende factoren. Volgens de review van Font-i-Furnols (2012) hangt de detectie af van het land, type van product (vers of bereid varkensvlees), locatie van de test (bij de consument thuis of in een labo), soort vleesstaal, de attributen en de gebruikte schalen, het profiel van de consument en de gevoeligheid voor androstenon. Een deel van de bevolking is ongevoelig voor de geur van androstenon, volgens Claus et al. (1994) zou dit rond de 25 % zijn. Volgens Babol & Squires (1995) is 56 % van de mannen en 92 % van de vrouwen gevoelig voor berengeur en volgens onderzoek van Xue et al. (1997) is 54 % van de mannen en 76 % van de vrouwen hiervoor gevoelig. De waarneming van androstenon is leeftijds- en geslachtsafhankelijk. Bij vrouwen werd een lagere acceptatielimiet gevonden dan bij mannen (Xue et al.,1996 & Font-i-Furnols,2012).

Uit onderzoek is gebleken dat de aanvaardbaarheid van berenvlees een grote variëteit vertoont tussen laboratorium-panels en de consument (Xue et al.,1997). Een getraind sensorisch smaakpanel in een laboratorium, onder gecontroleerde omstandigheden, kan makkelijker geur detecteren in een verwarmd vetstaal, omdat deze gevoeliger zijn voor de geur en getraind zijn. Ook worden geen maskerende substanties zoals kruiden toegevoegd aan het vlees, zowel bij gestandaardiseerde panels als thuispanels, in vergelijking met de consument. De detectielimiet voor concentraties in het vet van androstenon en skatol zijn respectievelijk 1,0 à 2,0 ppm en 0,25 ppm. Ook is gebleken dat de gevoeligheid van berengeur duidelijk verschilt tussen verschillende populaties. Uit studie van Xue et al. (1996) is gebleken dat in het algemeen de Britse, Ierse, Spaanse en Canadese consumenten minst gevoelig zijn voor berengeur, Duitse en Zweedse gevoelig zijn en de Franse consumenten zijn het meest gevoelig. Er dient opgemerkt dat in Franse studies de testpersonen op voorhand geïnformeerd werden over de proef.

1.2. Castratie en de alternatieven ter voorkoming van berengeur

Het voorkomen van de componenten van berengeur, voornamelijk androstenon en skatol, wordt bepaald door verschillende factoren. Deze factoren zijn o.a. de fysiologische conditie van het dier op het moment van slachten, hun gezondheid, de leeftijd, de seksuele activiteit, voeding, huisvesting en genetica (Bañón et al.,2003). Uit onderzoek van Xue et al. (1996) blijkt dat het voorkomen van berengeur varieert en meestal laag is. In Vlaanderen ligt de prevalentie tussen de 3 à 4 % (Varkensloket,z.j.).

Dit gedeelte van de literatuurstudie bespreekt de factoren die de ontwikkeling van berengeur kunnen verhinderen of verminderen.

1.2.1. Castratie

Uit het artikel van EFSA (2004) blijkt dat er jaarlijks 100 miljoen biggen gecastreerd worden verspreid over 25 Europese landen. Dit vertegenwoordigt meer dan 80 % van de totale mannelijke geboren biggen.

De EU-richtlijn 2001/93/EC bepaalt dat castratie, zonder verdoving, enkel mag plaatsgrijpen bij beerbiggen die jonger zijn dan 7 dagen. De castratie dient te gebeuren door een persoon met voldoende kennis van zaken, onder goede omstandigheden en met gepast materiaal. Castratie van beerbiggen ouder dan 7 dagen mag enkel uitgevoerd worden door een dierenarts waarbij er gebruik gemaakt wordt van verdoving en langdurige pijnbestrijding (Prunier et al.,2006 & Van Beirendonck et al.,2009). Het scheuren van de zaadstreng bij het castreren is verboden sinds 2003 (ILVO,2012 & Van Beirendonck et al.,2009).

In de Europese verklaring van december 2010 omtrent alternatieven voor chirurgische castratie van varkens, hebben verschillende belangrijke actoren uit de varkenssector beslist om, nog niet op wettelijke basis, vanaf 1 januari 2018 de routinematige chirurgische castratie van biggen stop te zetten en vanaf 1 januari 2012 enkel met (plaatselijke of algemene) verdoving en/of pijnbestrijding aan castratie te doen (ILVO,2012).

Uit een rondvraag aan Vlaamse varkenshouders over de verschillende castratievormen, werd onverdoofd chirurgische castreren als beste methode naar voren geschoven (Tuytens et al.,2012). Chirurgische castratie, onder algemene verdoving, werd als meest arbeidsintensief omschreven.

Onderstaand worden de algemene voor- en nadelen bij castratie omschreven en de verschillende vormen van castratie toegelicht, met telkens de belangrijkste voor- en nadelen.

1.2.1.1. Algemene voor- en nadelen bij castratie

Voordelen

Castratie geeft aanleiding tot malser vlees omdat baren meer intramusculair vet aanzetten in vergelijking met intacte baren (Van Beirendonck et al.,2009). Daarnaast daalt de androstenon- en skatolconcentratie in het vet, waardoor baren geen berengeur vertonen (Bañón et al.,2003). Daarnaast is er bij baren ook een daling in agressief en seksueel gedrag waar te nemen (Zamaratskaia & Squires, 2008; Hansson et al.,2011).

Door castratie voorkomt men het zachter worden van het vetweefsel. Zachter vetweefsel ontstaat door de aanwezigheid van een hogere concentratie aan onverzadigde vetzuren, linolzuur en linoleenzuur en lager concentratie aan palmitinezuur bij intacte baren (Babol & Squires,1995). Door het zachter zijn, zal het vlees sneller uiteenvallen wat problemen geeft bij het verpakken van het vlees. Ook is de houdbaarheid van dit vlees korter door de aanwezigheid van onverzadigde vetzuren en meer vatbaar voor oxidatie dan verzadigde vetzuren. Het vlees wordt hierdoor sneller ranzig in vergelijking met gelten en castraten. Om dit probleem te reduceren wordt in de voeding een antioxidantia toegevoegd (Babol & Squires,1995). Het toevoegen van antioxidantia gebeurt bij alle vleeswaren afkomstig van varken.

Nadelen

Baren hebben meer aanleg om vet op te stapelen in het karkas. Gemiddeld is het vleespercentage van baren 1 à 2 % lager dan dat van intacte baren. Hierdoor hebben baren ook een hogere voederconversie in vergelijking met intacte baren (Varkensloket,z.j.). Dit leidt tot meer vet in het karkas. Intacte baren hebben een karkas met 2 - 2,5 % minder vet dan baren (Babol & Squires,1995; Jaturasitha et al.,2006). Doordat de karkassen bij intacte baren magerder zijn, zal dit ook resulteren in een hogere karkas-index en een hogere vergoeding voor de boer (Babol & Squires,1995). Dit alles zorgt dat de productiekost van gecastreerde dieren hoger is dan bij intacte baren (Bañón et al.,2003; Chen et al.,2005; Babol & Squires,1995; Zamaratskaia & Squires,2008).

Ook leidt de productie van baren tot een hogere milieubelasting door de minder hoge nitraat- en fosfaatretentie, aangezien de dieren minder nitraat en fosfaat opnemen uit het voeder en zo meer nitraat (7%) en fosfaat (5%) uitscheiden (Van Beirendonck et al.,2009). Er wordt een verminderde gezondheid waargenomen doordat geslachtshormonen een directe invloed hebben op het immuunsysteem door de specifieke receptoren die aanwezig zijn in de thymus en op perifere immunocompetente cellen (Van Beirendonck et al.,2009). Ook werd door Prunier et al. (2005) aangetoond dat castratie aanleiding geeft tot stress bij de biggen. In zijn onderzoek werd bij castratie een sterke activatie van de pituitary-adrenocorticale axis bij 7 à 8 dagen oude biggen vastgesteld. Ook werd een stijging van het adrenocorticotroop hormoon (ACTH) in het plasma, 5 tot 60 minuten na castratie vastgesteld, gevolgd door een stijging in het plasma van cortisol, 15 tot 90 minuten, na castratie. De stijgingen van het gehalte ACTH en cortisol in het plasma zou gerelateerd zijn aan pijn, stress en weefselbeschadiging.

Intacte baren hebben de beste voederconversie, waardoor intacte baren efficiënter kunnen afgemest worden in vergelijking met baren en gelten. Uit het onderzoek van Jaturasitha et al. (2006) wordt ook een zeer lichte trend (niet significant) van een hogere groei zichtbaar bij intacte baren in vergelijking met baren en gelten. Dit doordat enkel intacte baren testosteron produceren, zorgt dit voor een stijging van het metabolisme en de groeisnelheid.

Het vlees van gecastreerde beren bevat een hoog gehalte aan cholesterol en verzadigde vetzuren. Waardoor het gehalte van cholesterol en low-density-lipoproteïne hoog is. Dit kan leiden tot gezondheidsproblemen bij de consument. Maar dit is afhankelijk van het vetgehalte van het vlees en dit is op zich rasgebonden. Door de aanwezigheid van een hogere concentratie verzadigde vetzuren zal er een betere vetconsistentie zijn in vergelijking met deze van intacte beren (Babol & Squires,1995).

Het eten van vlees van intacte beren is gezonder door het lager vetgehalte en een gezondere balans van vetzuren, meer poly onverzadigde vetzuren (PUFA), en hoger eiwitgehalte, waardoor dit vlees een hogere voedingswaarde heeft (Babol & Squires,1995; Zamaratskaia & Squires,1995).

1.2.1.2. Vormen van castratie

Onverdoofde chirurgische castratie

Deze vorm van castratie maakt geen gebruik van anesthesie of pijnstillers (Prunier et al.,2006) en is tot op heden de meest gebruikte methode.

Deze castratie dient binnen de eerste levensweek plaats te vinden. De castratie start met het fixeren van het dier. Daarna wordt met een steriel scalpel incisies gemaakt (ILVO,2012). De insnijding heeft ongeveer een grootte van 2 cm, afhankelijk van de grootte van de testis (Prunier et al.,2006). Een verticale incisie bevordert de afvoer van het wondvocht. Vervolgens worden de teelballen naar buiten geduwd en de zaadleiders afgesneden. Tot slot volgt de nabehandeling van de wonde. Zonder complicaties geneest de wonde na 4 dagen (ILVO,2012).

De innervatie van het scrotum en de testikels bestaan uit motorische en sensorische zenuwen en structuren die pijn kunnen detecteren. De weefselbeschadiging die optreedt bij castratie is daardoor onvermijdelijk gerelateerd aan pijn (Van Beirendonck et al.,2009). Uit het onderzoek van Rault et al. (2011) wordt besloten dat bij castratie het verwijderen van de testis en het doorsnijden van de zaadleiders de meeste pijn veroorzaakt.

Een moeilijkheid om op zeer jonge leeftijd te castreren is de verhoogde kans op een onvolledige castratie (Prunier et al,2006). Bijkomend nadeel van het jong castreren, aangehaald door ILVO (2012), is de vrees dat de opname van de biest verhinderd wordt. Dit zou minder zijn wanneer de speenvolgorde reeds is bepaald. Daarnaast zou castratie op jonge leeftijd ook een groeiachterstand teweeg brengen. In de proef van von Borell et al. (2009) werd er geen invloed van leeftijd bij castratie opgemerkt op groei gedurende de volgende dagen. Wel was er een betere wondheling bij biggen die gecastreerd werden op 4 dagen in vergelijking met een leeftijd van 7, 10 en 28 dagen bij castratie.

Rekening houdende met bovenstaande argumenten, is het aan te bevelen om te castreren tussen de derde en zevende levensdag. Op dat moment is er zekerheid dat de testis volledig zijn ingedaald. De testis zijn ook reeds groter, wat het werken vergemakkelijkt (Prunier et al.,2006).

Het voordeel van onverdoofd chirurgische castreren is dat het heel effectief is tegen het voorkomen van berengeur. De baren zullen minder agressief zijn en minder ongewenst seksueel gedrag vertonen (ILVO,2012).

De nadelen zijn de pijnlijke ingrepen zowel tijdens als na de castratie, en de tijdrovende en onaangename karwei voor de varkenshouder (ILVO,2012). Dat deze castratie veel leed aan

de dieren bezorgt, wordt opgemerkt door een aantal pijn gerelateerde gedragingen zoals uitputting, beven en stijfheid. Tevens zonderen gecastreerde biggen zich meer af in de groep (Prunier et al.,2006). Puppe et al. (2005) vermeldt dat de pijn nog tot vijf dagen na de ingreep voelbaar is. Volgens von Borell et al. (2009) werd de grootste pijn vastgesteld tijdens de castratie en de volgende uren maar de pijn nam snel af. Maar sommige gedragsveranderingen, bijvoorbeeld isolatie, kunnen een aantal dagen aanhouden. Het artikel van Van Beirendonck et al. (2009) vermeldt een proef van De Kruijf en Welling (1988) waarbij aangetoond werd dat castreren van beren een negatieve invloed had op de dierengezondheid. In die proef werden meer long- en leveraandoeningen bij baren vastgesteld en lag het percentage poot- en staartontstekingen hoger bij baren dan intacte beren. Tevens neemt de kans op infectie van de castratiewonde toe met de leeftijd waarop de castratie wordt uitgevoerd.

Verdoofde chirurgische castratie

Er zijn verschillende verdovingstechnieken voorhanden. Een algemene verdoving met bewustzijnsverlies versus een lokale of plaatselijke verdoving. De verdoving kan op verschillende manieren bereikt worden nl. door injectie, inhalatie of door middel van een neusspray (Van Beirendonck et al.,2009).

Sedatie maakt de biggen meer handelbaar gedurende de castratie, maar biedt geen oplossing voor het volledig vermijden van de pijn (Prunier et al.,2006). Dit omdat het geen oplossing biedt aan de postoperatieve pijnen (von Borell et al.,2009 & ILVO,2012).

Het voordeel van castratie onder verdoving is de vermindering van de onmiddellijke en postoperatieve pijnreacties (Van Beirendonck et al.,2009). Tevens kunnen andere behandelingen van de beerbiggen, zoals staart couperen en inenten, onder verdoving uitgevoerd worden (ILVO,2012).

De nadelen van castratie onder verdoving is de grotere tijdsinvestering en de hogere kostprijs (tussen 0,6 en 1,2 euro per beerbig) in vergelijking met chirurgische castratie zonder verdoving. De kostprijs wordt bepaald door enerzijds de extra kost voor de anesthesie en anderzijds de extra arbeid nodig tijdens castratie onder verdoving (Van Beirendonck et al.,2009). Ook dient deze castratievorm uitgevoerd te worden door een dierenarts (Prunier et al.,2006).

Lokale anesthesie

Voor de lokale anesthesie wordt 0,5, 1,0 of 2,0%-lidocaïneconcentratie gebruikt. Deze oplossing wordt in de teelbal of in de zaadstreng geïnjecteerd. Wel moet opgelet dat de lidocaïneconcentratie niet rechtstreeks in de bloedbaan terechtkomt. Bij jonge biggen kan dit tot een inadequate verdoving en zelf tot toxische verschijnselen leiden. Dit is de reden waarom deze castratievorm meestal op een oudere leeftijd plaatsvindt (Prunier et al.,2006). In Noorwegen, waar lokale anesthesie verplicht is, wordt dit toegepast op een leeftijd van ten vroegste 10 dagen, maar meestal op 2 à 3 weken (Skarstad & Borgen,2007). Na de toediening, is het product na 10 minuten in de zaadstreng aanwezig. Na een lidocaïne-injectie in de testikels daalt de ACTH- en cortisolreactie, wat wijst op een daling van de pijnbeleving (Van Beirendonck et al.,2009; Prunier et al.,2006 & Leidig et al.,2009). Wel dient opgemerkt dat een lokale verdoving voor extra werk zorgt voor de varkenshouder en stress bij het dier, omdat deze dieren tweemaal worden opgepakt. Eenmaal bij het inspuiten van het product en de tweede maal na een inwerkingstijd voor de castratie. Ook de injectie voor de verdoving is pijnlijk (Van Beirendonck et al.,2009, Ranheim & Haga,2006).

Algemene anesthesie

Injectie-methode

Bij een algemene verdoving met behulp van een injectie, uitgevoerd door een dierenarts, wordt meestal een combinatie van de producten ketamine en azaperone toegediend. Deze combinatie heeft verschillende nadelen. De mate van bewustzijnsverlies en pijnstilling is geringer dan bij narcose waardoor de dieren nog steeds afweerbewegingen maken tijdens de castratie. Deze bewegingen zijn wel geringer in vergelijking met onverdoofde castratie (Van Beirendonck et al.,2009).

Een belangrijk nadeel is de gedaalde bloeddruk. Bij de uitgewerkte verdoving kan er een verminderde coördinatie aanwezig zijn waardoor de biggen onder de zeug kunnen terecht komen en dood worden gedrukt. Azaperone heeft een werkingsduur van 2 tot 3 uren (Van Beirendonck et al.,2009 & Prunier et al.,2006), de dieren zijn dus langere tijd verdoofd.

Azaperone heeft bij de biggen enkel een sedatief effect en dus geen analgetisch effect. Het product stimuleert de ademhaling, de arteriële bloeddruk verlaagt door de vasodilatatie na een intramusculaire injectie. Door de vasodilatatie treedt een verlies van lichaamswarmte op, wat kan resulteren in een onderkoeling van de dieren (Van Beirendonck et al.,2009).

Inhalatie-methode

Een andere methode van algemene verdoving is inhalatie. Hierbij wordt een big, met behulp van een bedwelmingsgas, in een staat van bewustzijnsverlies gebracht (ILVO,2012). De methode moet volgens de wetgeving steeds uitgevoerd worden door een dierenarts (ILVO,2012). De verschillende inhalatie-anesthetica voor biggen zijn isofluraan, halothaan, sevofluraan en CO₂. Isofluraan, halothaan en sevofluraan worden niet aangeraden indien er geen systeem aanwezig is om gassen af te voeren. Ook is de kostprijs van deze gassen hoger (ILVO,2012). Deze gassen kunnen hyperthermie veroorzaken.

In Nederland en België werd verdoving met CO₂ geëvalueerd. De methode hoeft geen gasafvoersysteem en kan gemakkelijk gebruikt worden op het bedrijf (EFSA,2004). Het is een goedkope, veilige en goedwerkende methode (ILVO,2012). Voordeel van de CO₂-gasverdoving is ook dat het een snelle methode is. De bewusteloosheid wordt vrij snel geïnduceerd (na ongeveer 30 seconden) en de biggen blijven slechts 30 à 45 seconden bewusteloos. Dit is net voldoende om de ingreep uit te voeren. Bij de CO₂-methode wordt een gasmengsel gebruikt van 70 % CO₂ en 30 % O₂ (Nederland) of 100 % (België) (ILVO,2012 & Van Beirendonck et al.,2009). Doch in de wetgeving is CO₂ (nog) niet geregistreerd voor verdovingsmiddel voor biggen (noch met medicinaal, noch met technisch gas) (ILVO,2012).

Het grootste nadeel van deze methode is dat het arbeidsintensief is. Daarnaast is er de kostprijs van het toestel. Voor de praktische haalbaarheid is het wenselijk dat de verdoving en castratie door twee personen wordt uitgevoerd (ILVO,2012).

Isofluraan is in België niet gebruikelijk als bedwelmingsgas voor de castratie van biggen. Daar tegenover staat Zwitserland die isofluraan courant gebruikt als mogelijk bedwelmingsgas. Voor de pijnbestrijding bij castratie wordt in Zwitserland meestal een combinatie gebruikt van isofluraan als inhalatie-anesthesie met een pre-operatieve toediening van pijnstillers. De varkenshouder mag deze inhalatiemethode zelf toedienen indien hij in bezit is van een getuigschrift van vakbekwaamheid, anders moet deze methode uitgevoerd worden door een dierenarts. Isofluraan is gekend als een zeer goed spierontspannende middel, maar bij hoge concentraties kan het aanleiding geven tot een hyperalgetisch effect. Een nadeel is dat bij onvoldoende verluchting van de plaats van

toediening, de varkenshouder en/of dierenarts last kan krijgen van hoofdpijn en duizeligheid (Enz et al.,2013).

Volgens onderzoek in Zwitserland is het gebruik van isofluraan ook niet aangeraden om nog twee andere redenen. Ten eerste, isofluraan gaat niet alle dieren beschermen tegen postoperatieve pijn. Ten tweede, de pijn van castratie kan oplopen van 2 à 3 dagen tot een week en isofluraan biedt daarvoor geen voldoende bescherming (Schweizer,2009). Maar isofluraan wordt wel nog in Zwitserland algemeen gebruikt als inhalatie-methode.

Intranasale verdoving

Voor deze verdoving wordt een mengsel van ketamine, climazolam en azaperone toegediend. Met deze verdoving zou een kortere recoveryperiode waar te nemen zijn, maar de biggen vertoonden wel een sterkere castratiereactie (Van Beirendonck et al.,2009).

Analgetica

Analgetica worden gebruikt om de napijnen van de castratie te reduceren, al dan niet aanvullend bij anaesthesie. In België zijn verschillende niet-steroïdale anti-inflammatoire drugs (NSAIDS) toegelaten, zoals natriumsalicylaat, metamizol, flunixin, tolfenaminezuur, en meloxicam (Van Beirendonck et al.,2009). Een vaak gebruikt product is meloxicam. Bij voorkeur wordt het middel 15 à 30 minuten voor castratie toegediend via injectie. De volledige werkingsduur van meloxicam bedraagt ongeveer 24 uur (ILVO,2012).

De voordelen van het gebruik van analgetica is dat alle behandelingen minder pijnlijk zijn, zowel tijdens als na de castratie. Hierdoor zullen de biggen sneller herstellen en vlugger gaan drinken bij de zeug (Prunier et al.,2006 & ILVO,2012).

De nadelen zijn dat de biggen twee stresserende manipulaties moeten ondergaan. Enerzijds tijdens de insputing en anderzijds bij de castratie zelf. Ook is deze methode arbeidsintensief, en kostprijsverhogend (ILVO,2012).

Algemeen kan men besluiten dat een combinatie van verdoving en pijnstillers de meest effectieve methode is om de pijn te bestrijden. Doch bij deze combinatie is de kostprijs een obstakel. Zowel de indirecte als directe kosten lopen op, vraagt meer arbeidstijd van de varkenshouder en de inschakeling van een dierenarts.

Immunocastratie

Immunocastratie is een castratievorm waarbij geen chirurgische castratie dient uitgevoerd te worden. Immunocastratie bestaat uit een vaccinatie, waarbij de mannelijke varkens actief tegen het gonadotrope releasing hormoon (GnRH) worden geïmmuniseerd. De vaccinatie bestaat uit het toedienen van een gemodificeerde vorm van GnRH en zorgt voor een immuunrespons tegen het lichaamseigen GnRH, waardoor de stimulatie voor secretie van de hypofyse voor het LH zal voorkomen worden. Als gevolg hiervan zal een vermindering van de testiculaire steroïd hormoonsecretie optreden (Prunier et al.,2006 & Xue et al.,1997). Zo zal het niveau van berengeur bij deze geïmmuniseerde varkens gelijkaardig zijn aan deze van de chirurgische gecastreerde varkens (Van Beirendonck et al.,2009).

Een voorbeeld van deze vaccinatie is Improvac. Dit is het enige geregistreerde vaccin voor immunocastratie in Europa. Dit vaccin wordt tweemaal toegediend, met een tussenperiode van minstens 4 weken en hoogstens 10 weken. De eerste injectie wordt gegeven op een leeftijd van 10 à 16 weken. De tweede injectie moet ongeveer 4 à 5 weken voor het slachten

worden toegediend. Wel komt de werking van immunocastratie pas tot uiting na de tweede injectie (Prunier et al. 2006; Van Beirendonck et al., 2009 & ILVO, 2012).

De voordelen van dit soort castratie is dat mannelijke dieren zich tot aan de tweede inspuiting gedragen als beren, wat resulteert in een betere eiwitaanzet, en dit leidt tot een betere voederconversie. Ook is er een betere slachtkwaliteit en een hoger percentage vlees dan bij baren aanwezig. Deze winst compenseert de kostprijs van het vaccin (ILVO, 2012 & Batorek et al., 2012).

Correcte toepassing van het vaccin kan geëvalueerd worden in het slachthuis aan de hand van de testisgrootte, maar is ook in de stal zichtbaar door een verandering van gedrag, waarbij minder agressief en seksueel gedrag vertoond wordt (ILVO, 2012).

De nadelen zijn dat tot aan de 2^{de} vaccinatie berengedrag mogelijk blijft, zoals verhoogde onrust, meer bestijgingsgedrag, een groter risico op pootproblemen en ook een groter risico op staartbijten. Bij deze immunocastratie zal er extra arbeid nodig zijn, doordat er tweemaal geïnjecteerd moet worden, controles uitgevoerd moeten worden en biggen eventueel gesorteerd moeten worden in verband met het gescheiden afmesten van de beertjes. Een belangrijk voordeel is dat er geen chirurgische castratie moet plaatsvinden en dat de productieresultaten beter zijn in vergelijking met de baren. Deze vorm van castratie kent voorlopig echter weinig acceptatie in de markt (Prunier et al. 2006 & ILVO, 2012).

1.2.2. Jonger slachten

Het slachten van intacte beren vooraleer de seksuele rijpheid ontwikkeld is, is een andere manier om berengeur te reduceren (Babol & Squires, 1995). De intacte beren worden geslacht op een jongere leeftijd en met een lager gewicht. Maar de start van de puberteit verschilt sterk tussen de rassen maar ook tussen de beren binnen eenzelfde ras.

De androstenonconcentratie in het vet is geassocieerd met de leeftijd en het lichaamsgewicht van het dier. Het testiculaire androstenon is niet detecteerbaar bij de geboorte en zal daarna gradueel stijgen met de leeftijd en het lichaamsgewicht. De androstenonconcentratie stijgt sterk in de testis en in het vet rond de leeftijd van de puberteit en rond het gewicht van 100 - 130 kg. In deze groeiperiode stijgt de intensiteit van berengeur. Wanneer de dieren voor hun seksuele rijpheid worden geslacht, zullen er lage concentraties van androstenon in het vet aanwezig zijn. In de meeste Europese landen worden de varkens geslacht op een levend gewicht van 100 à 115 kg en hebben de beren dus reeds hun puberteit bereikt (Xue et al., 1997).

De studie van Zamaratskaia et al. (2005) toont geen significant verschil tussen het niveau van androstenonconcentratie bij varkens met een levend gewicht van 90 en 115 kg. Verder vond Chen et al. (2007) dat het androstenongehalte significant hoger was bij zwaardere varkens en niet het skatol- of indolgehalte. Aldal et al. (2005) kan niet besluiten dat een reductie van het slachtgewicht tot 75 kg een volledige garantie heeft op het voorkomen van berengeur. Volgens Babol et al. (2004), wordt ook het skatolniveau beïnvloed door de leeftijd van de varkens. Er worden stijgende concentratie van skatol in het vet vastgesteld bij zwaardere varkens met een leeftijd van 180 - 200 dagen.

De verschillende studies besluiten dat het slachten aan een lager gewicht de ontwikkeling van berengeur nooit volledig zal uitsluiten. Een verdere daling lijkt vanuit economisch standpunt niet mogelijk te zijn (Zamaratskaia & Squires, 2008 & EFSA, 2004).

1.2.3. Managementmaatregelen

De puberteitsontwikkeling, in functie van steroïde hormonen in het bloedplasma (Fig. 6), gebeurt doorgaans in twee golven. Het bereiken van het slachtgewicht valt meestal samen met de finale spurt van de puberteit. Een kleine verandering in de seksuele rijping kan zorgen voor een groot verschil in de androstenonconcentratie. Verschillen in de puberteitsontwikkeling kunnen afhankelijk zijn van de genetica van het dier maar ook van omgevingsfactoren (Claus et al.,1994 & Andresen,1976).

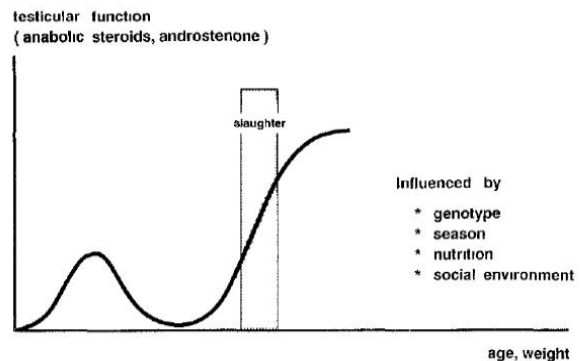


Fig. 6: Tijdsverloop van de ontwikkeling van de puberteit bij beren (Claus et al., 1994)

Onderstaand worden een aantal omgevingsfactoren beschreven.

1.2.3.1. Huisvesting en seizoensinvloeden

Bevuiling

Varkens die opgroeien in een propere omgeving hebben een lagere skatolgehalte in vergelijking met deze die opgegroeid zijn in een vuilere omgeving (Andersson et al.,1997). Hansen et al. (1994) besluit dat hygiënische omstandigheden in het hok en aldus ook de schoonmaakstrategie een invloed zal hebben op het voorkomen van berengeur. Een hypothese stelt dat skatol geabsorbeerd wordt door de huid en/of longen, voornamelijk bij hoge temperaturen (30 °C), en zo eventueel accumuleert in het vet (Hansen et al.,1994 & Andersson et al.,1997). Studies met radioactief skatol bevestigen de absorptie door de huid, met een hogere absorptie door de huid van de buik (40%) dan door de huid van de rug (6%), tevens zou indol makkelijker passeren in gasvorm dan skatol (Hansen et al.,1994).

In tegenstelling tot wat Andersson et al. (1997) en Hansen et al. (1994) besluiten vond Aluwé et al. (2011) en Wesoly et al.(2013) in hun onderzoek geen verschil in de aanwezigheid van indol en skatol tussen bevuilde en propere varkens. Een uitzondering in al de detectiemethoden was het gestandaardiseerde consumentenpanel die wel een verhoging van de concentratie van berengeur waarnam bij varkens die extra bevuild waren, maar andere detectiemethoden en serumanalyse konden dit niet bevestigen.

Oppervlakte per beer

Een lager aantal beren per hok (10 of minder) wordt geassocieerd met een lager voorkomen van berengeur (Van Wagenberg et al.,2013), voornamelijk door een lagere concentratie van skatol in het vet. Deze invloed is groter in de zomer dan in de winter (Xue et al.,1997). Een mogelijke verklaring voor dit effect is het agressief gedrag.

Giersing et al. (2000) besloot dat meer agressief gedrag kan resulteren in een verhoogd voorkomen van berengeur. Giersing et al. (2000) vergeleek het effect van de hokoppervlaktes van 1,0 m² met 0,7 - 0,8 m² per varken waarbij grotere hokoppervlaktes aanleiding geven tot lagere aanwezigheid van berengeur. Deze stelling is gelijkaardig aan de onderzoeksresultaten van Hansen et al. (1994), waarbij een verlaagde skatol- en indolconcentratie in het subcutaan vet werd aangetroffen bij beren met een hokoppervlakte tussen de 0,8 - 1,2 m² per beer in vergelijking met een hokoppervlakte van 0,6 m² per beer.

Vloertype

Vloeren en andere onderdelen van de stal minder dan vijf jaar oud, werd in het onderzoek van Van Wagenberg et al. (2013) geassocieerd met een lager voorkomen van berengeur. Mogelijks is nieuwer materiaal makkelijker schoon te maken dan ouder materiaal. Onvoldoende properheid van een hok kan resulteren in een hogere skatolconcentratie in het subcutaan vet, wat zo aanleiding geeft tot een hoger voorkomen van berengeur (Hansen et al., 1994).

Uit de proef van Hansen et al. (1994) bleek dat intacte beren op een volledige roostervloer lagere skatol- en indolconcentratie hadden in het vet in vergelijking met intacte beren op een volle, betonnen vloer (beiden onder hoge omgevingstemperatuur en hoge hokbezetting).

Seizoensinvloeden (temperatuur)

Prunier et al. (2013) onderzocht de seizoensinvloeden op berengeur (Fig. 7). In de herfst, werd op de leeftijd van 3 maanden, een hogere concentratie van testosteron (significant), oestradiol (tendens) in het plasma waargenomen dan in de lente. Maar op slachtgewicht is de concentratie van testosteron lager in de herfst. In de herfst zijn er een hoger aantal bestijgingen (tendens) en een hoger gewicht van de testes op slachtgewicht (significant) in vergelijking met de lente. De hypothese van het seizoensgebonden effect, van een dalende daglengte en kortere dagen, is de versnelde ontwikkeling van de puberteit en de verhoogde testiculaire activiteit van de beren (Prunier et al., 2013).

Seizoenen zijn gekenmerkt door een variërende lichtperiode doorheen het jaar. Deze lichtperiode heeft een regulerend effect op de testiculaire functie waardoor deze functie doorheen het jaar ook zal variëren.

De androstenonconcentratie stijgt telkens onder verkortende daglengte of bij een kunstmatig lichtprogramma dat de wintermaanden nabootst (Claus et al., 1994). Uit onderzoek van Xue et al. (1997) blijkt dat in de periode oktober tot en met december de concentratie van androstenon ongeveer vijf maal hoger is dan in de rest van het jaar. Dit seizoensgebonden patroon van androstenon is bij beren zowel zichtbaar in het bloed, vet en sperma.

Het skatolgehalte was het hoogst gedurende de zomer (hoge temperaturen), voornamelijk in de maanden maart, juni en juli. Zeker wanneer de temperatuur van de urine en feces op de vloer een hogere temperatuur hadden dan de omgevingstemperatuur (Hansen et al., 1994). Doch de skatolconcentratie in de feces van de individuele varkens werd niet beïnvloed door de verschillende temperaturen. Er is geen significant effect van de skatolconcentratie in de feces en in het subcutane vet (Hansen et al., 1994).

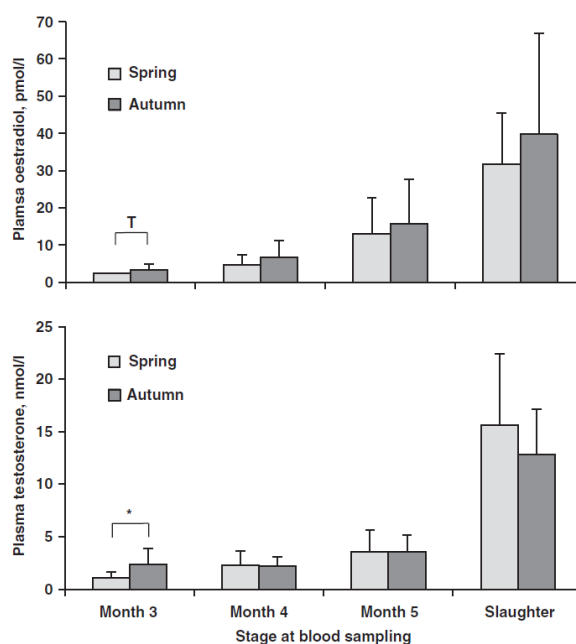


Fig. 7: Invloed van het seizoen op de concentratie van testosteron en oestradiol in het plasma op verschillende leeftijd (Prunier et al., 2013)

Hokverrijking

Uit de proef van Prunier et al. (2013) bleek dat het aantal huidlesies beïnvloed werd door de huisvesting. Het aantal huidlesies werd gereduceerd wanneer hokverrijking werd voorzien in de stal.

Bij verrijking van de hokken met stro, werd een reductie van het agressief gedrag en het aantal huidlesies, vooral bij oudere varkens, waargenomen (Fig. 8). Bij het agonistische gedrag werden enkel de zwaarste acties, zoals bijten, beïnvloed. Een nadeel van verrijking is dat het een stimulerend effect heeft op het seksueel gedrag. Er werden meer bestijgingen vastgesteld. De reden voor deze hogere activiteit is niet gekend. Dieren die veel bestegen worden, worden meer gebeten waardoor ook meer huidlesies worden opgemerkt. Daarnaast kan bestijgen ook aanleiding geven tot meer pootproblemen (Prunier et al., 2013).

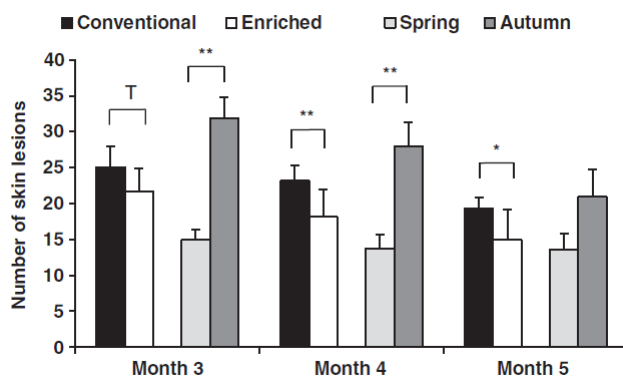


Fig. 8: Invloed van verrijking van de huisvesting en invloed van het seizoen op het aantal huidlesies op verschillende leeftijden (Prunier et al., 2013)

1.2.3.2. Voeding

De invloed van voeding op het voorkomen van berengeur is zeer uitgebreid. Hieronder worden een aantal voedingselementen die het voorkomen van berengeur kunnen reduceren of stimuleren beschreven.

Voedingsgrondstoffen

De meeste grondstoffen hebben een effect op skatol. De mogelijkheden om androstenon te reduceren via voeding zijn beperkt. Het toevoegen van energierijke grondstoffen aan het voeder zorgt voor stimulatie van de testiculaire ontwikkeling met een stijging van androstenon gehalte in het vet (Claus et al., 1994).

De verhoging van de fecale pH, door het voederen met bicarbonaat, resulteert in een verlaagde concentratie van skatol in de feces (Claus et al., 1994). Gelijktijdig daalt ook de skatolconcentratie in het vet. In de proef van Claus et al. (1994) daalde de concentratie van skatol van 132,0 tot 78,9 ng/g in het vet na één week voederen met bicarbonaat. Tevens door toevoeging van niet verteerbare fructo-oligosacchariden en inuline aan het rantsoen gedurende één week, daalde de skatolconcentratie zowel in de feces als in het vetweefsel. In een ongepubliceerde proef van Claus et al., zou de combinatie van bicarbonaat en inuline zorgen voor een daling van het gehalte aan skatol in de weefsels in twee verschillende hokken met respectievelijk 50 en 78 %.

Een rantsoen met hoge vezelgehalten stimuleert de fermentatieprocessen in de darm en veroorzaakt een stijging van de dagelijkse eliminatie van skatol en indol (Xue et al., 1997).

Antibiotica zou, volgens Xue et al. (1997), geen effect hebben op de concentratie van skatol in het vet.

Gistsuspensies van brouwerijen verhogen de skatolconcentratie in de darm en het vet. Suikerbietpulp bevat hoge concentraties aan niet-verteerbare en niet-zetmeel polysachariden. Deze zorgen voor een reductie van de concentraties van indol en skatol in het subcutaan vet en voor een verhoogde fecale output van skatol en indol (Xue et al.,1997).

Bij gebruik van wei, vindt een reductie plaats van de concentratie van skatol in het vet. Deze skatolverlaging zou te wijten zijn aan de koolhydratenfractie in wei (Andersson et al.,1997).

Wanneer gebruik gemaakt wordt van gemakkelijk fermenteerbare voedingsvezels of lactose als energiebron, worden deze bij voorkeur gemetaboliseerd door de darmmicroflora, waardoor de eiwitafbraak en vorming van skatol gereduceerd wordt (Andersson et al.,1997). Een toevoeging van hoge concentratie skatol aan het voeder laat ook de hoeveelheid skatol in het vet stijgen (Hansen et al.,1994).

Voederstrategieën

Bij ad libidum voeding zal een hogere concentratie van skatol in het vet waarneembaar zijn in vergelijking met beperkte voeding. Dieren met vrije toegang tot water of natte voeding, hebben een gereduceerde skatolconcentratie in het vetweefsel in vergelijking met droge voeding (Xue et al.,1997 & Andersson et al.,1997).

Bij beperkt voederen op het einde van de afmestperiode is er een hoger voorkomen van berengeur waarneembaar in vergelijking met ad libidum voeding of onbeperkt voederen gedurende de volledige afmestperiode. Een mogelijke verklaring is dat beperkt voederen op het einde van de afmestperiode resulteert in een verhoogd agressief gedrag met een hogere berengeur prevalentie (Van Wageningen et al.,2013).

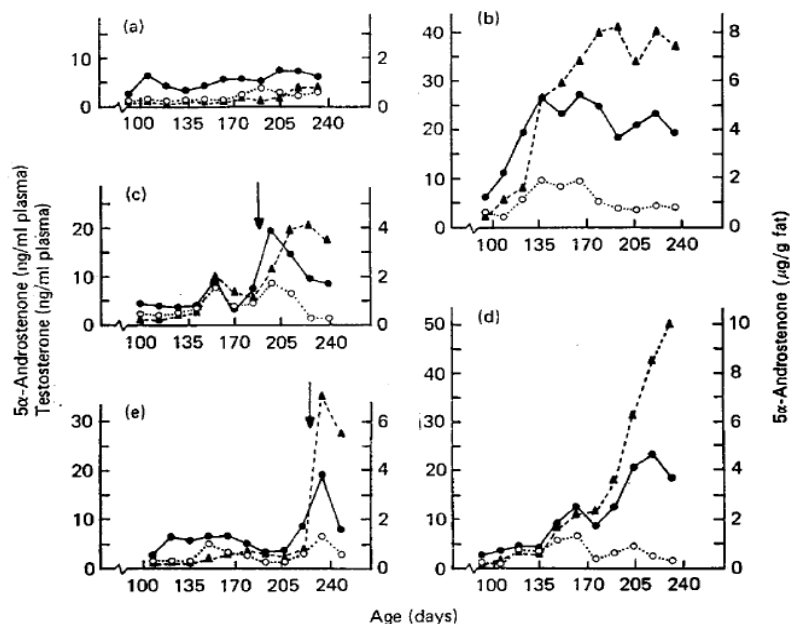
Dieren die maximum zes uren gevast hadden voor levering aan het slachthuis worden geassocieerd met een hogere prevalentie van berengeur in vergelijking met langere vasttijden. Een vastperiode gedurende meer dan twaalf uren voor het afleveren reduceert de skatolconcentratie in vergelijking met niet vasten. Dit wordt verklaard doordat een minimum tijd aan vasten noodzakelijk is vooraleer de concentraties van de componenten van berengeur dalen (Van Wageningen et al.,2013 & Andersson et al.,1997).

1.2.3.3. Sociale effecten

Seksueel gedrag

Tot een leeftijd van 100 dagen is het gehalte van steroïden laag. Bij verschillende dieren is er een stijging van het gehalte van steroïden waarneembaar in het perifere plasma vanaf een leeftijd van 100 - 130 dagen. De grafieken (Fig. 9) tonen een tendens aan van een gestage stijging van de 5 α -androstenon-concentratie in het perifere plasma en vet vanaf dag 100 tot 170.

Het gehalte van testosteron stijgt vanaf dag 100 maar daalt wanneer de beren een leeftijd bereiken van 150 - 160 dagen. Fig. 9c toont een stijging van



het steroïdgehalte in het perifeer plasma en vet op het moment dat de beren ingezet worden als fokbeer (pijl) (Andresen,1976).

Fig. 9: Gehalte van steroïden in functie van de leeftijd. Beren c en e werden gebruikt om te dekken (Andresen,1976) ● ng 5 α -androstenone/ml perifeer plasma; ○ ng testosteron/ml perifeer plasma; ▲ μ g 5 α androstenon/g vet

De paring stimuleert de secretie van testiculaire steroïden, waardoor 5 α -androstenon en testosteron enkele minuten na de paring reeds stijgen (Andresen,1976).

Uit het onderzoek van Claus et al. (1994) blijkt dat een dominante hokgenoot andere hokgenoten kan domineren waardoor de seksuele ontwikkeling van deze hokgenoten vertraagd wordt. Dit fenomeen is ook deels gerelateerd aan sociale ranking.

Stress

Externe factoren kunnen een invloed hebben op de testiculaire steroïdogenese. Stressvolle stimuli veroorzaken een daling van het LH gehalte en 5 α -androstenon in het perifeer plasma. Ook zouden corticosteroïden de activiteit van LH drukken en zo een reductie van de testiculaire steroïdogenese tot gevolg hebben (Andresen,1976).

Sociale stress kan de intestinale functie gaan beïnvloeden en zo een mogelijk effect hebben op de hoeveelheid skatolproductie (Giersing et al.,2000). Bij sociale stress is er een stijging van androstenon in het vet waarneembaar (Prunier et al.,2013).

Uit de proef van Giersing et al. (2000) werd verwacht dat de skatolproductie in de feces alsook de concentratie die geabsorbeerd wordt in het bloed, zou beïnvloed worden door stressfactoren, maar dit werd niet bevestigd in deze proef.

Uit de proef van Hansen et al. (1994) had acute en chronische stress geen invloed op het skatolgehalte in het vet.

Sociale ranking

Beren bereiken hun adolescentie op een leeftijd van 110 - 125 dagen en worden seksueel volwassen op een leeftijd van 6 à 7 maand. Het steroïde patroon volgt niet het algemene patroon tijdens deze periode. De bepalende factor is de onderlinge interactie tussen de biggen wat resulteert in een sociale hiërarchie. Er wordt aangenomen dat een hoog niveau van 5 α -androsenon in het perifeer plasma zou resulteren in een hoog niveau in het speeksel. Het feromoon mechanisme heeft een effect op de endocrine status van andere beren in de groep (Andresen,1976).

Uit de proef van Giersing et al. (2000) werd besloten dat de concentratie van androsenon in het plasma gerelateerd is aan de sociale rangorde, waarbij hoog gerangschikte beren significant meer feromonen produceren dan lager gerangschikte dieren. Er werd geen onderdrukkend effect van hoog feromoon producerende beren op de seksuele ontwikkeling en feromoon productie van de andere beren in de groep waargenomen. Hoog gerangschikte dieren, zijn ook geassocieerd met een stijging van het testosteron niveau, waardoor het verband met skatol in het plasma kleiner was en enkel significant op een latere leeftijd (vanaf 94 kg) (Giersing et al.,2000).

Er is een significante correlatie tussen huidlesies en het testosterongehalte in het plasma. De positieve invloed van mannelijke seksuele hormonen op de agressiviteit, voorziet dat beren met de hoogste niveaus van agressiviteit ook het hoogste aantal agressieve reacties terugkrijgen op hun eigen aanvallen (Prunier et al.,2013).

Varkens met een laag androsenongehalte ontvangen de meeste agressie. Het lage niveau van androsenon kan eerder toegeschreven worden aan de rangorde en minder aan agressiviteit (Giersing et al.,2000).

Agressie

Dominante varkens hebben een hoger niveau aan androsenon. Het reduceren van agressie en competitie tussen de varkens geeft aanleiding tot een daling van androsenon in het vet. De aanwezigheid van hokverrijking kan agressie en competitie doen dalen (Prunier et al., 2013). Maar deze relatie tussen agressie en het gehalte androsenon werd niet bevestigd door het onderzoek van Zamaratskaia et al. (2005).

Een hoog gehalte aan androsenon in een hok, is gerelateerd aan een hoger niveau van agressie. Het tegengestelde is niet waar,een hoog niveau van agressie in een groep kan niet geassocieerd worden met een hoger androsenongehalte. Wanneer agressie met sociale rangorde wordt geassocieerd, is de relatie tussen androsenongehalte en agressie oversteegen door een sterk rangorde-effect (Giersing et al.,2000).

Ook het testosterongehalte van de beren stijgt na contact met een andere agressieve beer. Daardoor is het denkbaar dat acute gevechten een overeenkomstige stijging kan veroorzaken van androsenon. Paren kan een oorzaak zijn van een stijging van zowel androsenon en testosteron (Giersing et al.,2000).

Volgens de proef van Hansen et al. (1994) heeft agressiviteit geen invloed op het skatolgehalte in het vet.

1.2.3.4. Mixed sex versus single sex

Het bestijgingsgedrag in een single sex huisvesting is lager dan in een gescheiden mixed sex huisvesting. Boyle & Björklund (2007), vergeleken het gedrag bij single sex (enkel beren of enkel zeugen gehuisvestigd) en mixed sex (beren en zeugen in aparte hokken maar in één gebouw samen gehuisvestigd). Uit de proef bleek meer seksueel gedrag (stoten en bestijgen) aanwezig te zijn in de gemixte groepen dan in enkel mannelijk groepen. Er was minder agonistische gedrag waarneembaar bij gemixte en vrouwelijke groepen in vergelijking met de mannelijke groep. Als het agonistisch gedrag aanzien wordt als een bron van stress, dan zal het welzijn van mannelijke dieren in single sex lager zijn dan in gemixte huisvesting. Het bestijgingsgedrag daalt vanaf een gewicht van 75 - 100 kg in gemixte huisvesting. Bij mannelijke dieren in single sex huisvesting was er een tendens om het gedrag van bestijging langer aan te houden, tot een hoger gewicht (Boyle & Björklund, 2007).

De introductie van een volwassen beer aan zeugen of een volwassen zeug aan een beer is een trigger voor de puberteit voor de zeug en respectievelijk voor de beer (Zamaratskaia et al., 2005, Giersing et al., 2000 & Vanheukelom et al., 2012). Door de synergistische actie van de beer zijn stimulerende componenten zoals zicht, geluid, voelen, door contact stijgt het circulerende oxytocine niveau van de zeugen, en dat stimuleert de uterine en oviduct contracties (Patterson et al., 2002).

De vrije oestrogeenconcentratie in het vet bij varkens van 90 kg is hoger bij varkens in een gemixte huisvesting dan in een single sex huisvesting. De aanwezigheid van vrouwelijke dieren kan dus een invloed hebben op de aanvang van de puberteit bij intacte beren, door een versnelling van de stijging van de gonadotrope steroïden (Zamaratskaia et al., 2005). Het mixen van beren met gelten gedurende de afmestperiode, kan zorgen voor een verhoging van de concentratie van androstenon in het vet bij een gewicht van 80 - 95 kg. Het aandeel beren met een verhoogde concentratie androstenon is groter bij beren die opgefokt zijn met zeugen. Mixed sex zal in bepaalde omstandigheden aanleiding geven tot een stijging van de intensiteit van berengeur in het vet. Op basis van deze bevindingen is het eerder aan te raden om de beren single sex af te mesten indien ze geslacht worden op een zwaarder gewicht (Xue et al., 1997). Jonge beren onderling zouden elkaar echter ook stimuleren tot seksuele volwassenheid (Giersing et al., 2000).

Volgens Prunier et al. (2013), zal de opfok van beren met gelten resulteren in een stijging van de concentratie van androstenon in het vet, in vergelijking met single sex. Dit effect is afhankelijk van de leeftijd en het lichaamsgewicht van de beren (enkel bij lagere gewichten, 90 kg). Dit omdat het effect van mixed sex enkel zou tussenkomen bij de versnelling van de ontwikkeling van de puberteit maar niet bij een stijging van de productie van testosteron in de testis voor een bepaald stadium in de puberteitsontwikkeling.

De proef van Patterson (1983) besluit dat intacte beren in de aanwezigheid van gelten een verschillend androstenonconcentratie hebben in vergelijking met deze die afgemest werden in single sex groepen. Deze proef werd uitgevoerd bij drie gewichtscategorieën 81 kg, 93 kg en 100 kg. Enkel bij de zwaarste dieren (100 kg) was een significant effect waarneembaar op de concentratie van androstenon. Daaruit kan besloten worden dat het afmesten van beren met gelten tot een slachtgewicht van 100 kg geen aanleiding geeft tot een stijging van managementproblemen of stijging van androstenonconcentratie (Patterson, 1983). Uit de proef van Patterson et al. (2002), was een verschil waarneembaar qua aanvang puberteit bij direct beercontact waarbij de aanvang vroeger was dan bij dieren met een hokafscheiding

De proef van Andersson et al.(1997) toont aan dat intacte beren die opgroeien met zeugen, trager groeien op het einde van de afmestperiode (vanaf 60 kg tot slachtgewicht) in vergelijking met intacte beren die afgemest werden in een single sex huisvesting. Deze waarneming werd toegeschreven aan een stijging van de seksuele activiteit van de intacte beren in deze periode. Ook werd een verlaagde skatolconcentratie bij intacte beren waargenomen opgegroeid in een mixed sex huisvesting (Andersson et al.,1997).

Intacte beren, die gehuisvestigd zijn naast gelten, hebben een hoger frequentie van drinken dan deze gehuisvestigd naast andere beren (Vanheukelom et al.,2012).

1.2.3.5. Farrow-to- finish systeem

Een farrow- to-finish systeem is een huisvesting- en managementsysteem, waarbij biggen in stabiele groepen blijven van bij de geboorte tot slacht (Frederiksen et al.,2006). Uit de proef van Frederiksen et al. (2006) bleek dat een farrow-to-finish systeem resulteert in een significant lagere androstenonconcentratie en tevens een reductie van skatol doch niet significant. Het contact met beren uit een ander nest zou de start van de puberteitsontwikkeling versnellen.

1.2.4. Seksen van sperma

Het seksen van sperma is enerzijds belangrijk voor het verbeteren van het reproductieve management. Het biedt de mogelijkheid om de dekking voor mannelijke of vrouwelijke lijnen in te plannen (Vasquez et al.,2009). Anderzijds kan het seksen van sperma ook gebruikt worden als alternatief voor castratie van mannelijke biggen waarbij zeugen enkel met X spermatozoïden geïnsemineerd worden waardoor enkel vrouwelijke biggen geboren worden (Ter Beek,2007 & Van Beirendonck et al.,2009).

De technologie die momenteel gebruikt wordt voor het seksen van het sperma is de Beltsville Sperma Sexing Technology (BSST). Deze technologie bestaat uit een flowcytometer en een celsorteerder. Het sorteren van het sperma is gebaseerd op verschillen in het DNA tussen X en Y chromosoom dragende zaadcellen. Bij varkens hebben de X-dragende zaadcellen (vrouwelijke) 3,6 % meer DNA-inhoud. Het sorteerproces omvat de verdunning van het sperma, het kleuren van de zaadcellen, het identificeren en sorteren van de X en Y chromosoom dragende zaadcellen en het winnen en opslag van de gesorteerde zaadcellen (Hofmo,2006; Vasquez et al.,2006; Ter Beek,2007 & Garcia et al.,2007).

Vooraleer het sperma door de flowcytometer gaat, wordt deze verdund en gekleurd. Daarna wordt het sperma cel per cel door de flowcytometer gestuurd, waar een UV laserstraal op de cellen wordt gestuurd. De fluorescentie wordt gedetecteerd met behulp van detectoren en de zaadcellen worden ingedeeld in een X en Y dragende groep (Hofmo,2006).

Tijdens het sorteren worden de zaadcellen sterk verdund. Zodra het sorteren beëindigd is, worden de spermacellen terug gecentrifugeerd om de dichtheid te verhogen. Dit proces beïnvloedt de levensvatbaarheid. Het vermogen van vruchtbaarheid van deze cellen begint af te nemen na 5 uur opslag (Hofmo, 2006, Vasquez et al.,2006; Garcia et al.,2007). Slechts 30 % van het oorspronkelijk aantal spermatozoa blijft behouden (Van Beirendonck et al.,2009).

Het seksen van sperma is nog niet in de praktijk toepasbaar. De bevruchting van een zeug vereist een hoog aantal spermacellen ($2 \cdot 10^9$). Het sorteren van de spermacellen kan dit aantal niet bolwerken door een snelheid van ongeveer 15 miljoen zaadcellen per uur (Vasquez et al., 2006; Hofmo, 2006).

1.2.5. Genetica

Genetica speelt tevens een belangrijke rol bij het voorkomen van berengeur. Androstenon en skatol worden beïnvloed door genetische factoren (Chen et al., 2005; Zamaratskaia & Squires, 2008; Hansen et al., 1994). De review van Robic et al. (2007) beschrijft de hoge erfelijkheidsgraad van androstenon in tegenstelling tot skatol. Skatol is meer afhankelijk van nutritionele factoren.

De skatolconcentratie van intacte beren varieert met de leeftijd van de varkens, maar de mate en het patroon van deze variaties verschilt tussen de rassen (Babol et al., 2004). Het skatolniveau is laag rond dag 180 - 190. De periode van hoge skatolconcentratie gaan door tot dag 240 - 360, afhankelijk van het ras. Uit de proef van Babol et al. (2004) blijkt, bij beren van Hampshire, de concentratie van skatol verhoogd is voor langere tijd in vergelijking met andere rassen. Dit zou gerelateerd zijn aan een vertraagde puberteit van dit ras.

Volgens Frederiksen et al. (2006), heeft Duroc een hogere androstenonconcentratie dan Landrace. Volgens Van Wagenberg et al. (2013) heeft het gebruik van Piétrain bij kruisingen aanleiding tot een hogere prevalentie van berengeur. Maar de studie van Aluwé et al. (2011) bevestigt dit niet. Aluwé et al. (2011) vond een hogere concentratie skatol in het vet bij Large White en Belgian Landrace in vergelijking met Piétrain. Hansen et al. (1994) vond de hoogste skatolconcentraties bij Deense Landras in vergelijking met Large White en Duroc.

Het onderzoek van Xue et al. (1996) toont hogere concentraties van geursteroiden aan, in zowel de speekselklieren als het vetweefsel, bij de rassen Duroc en Hampshire in vergelijking met Yorkshire en Landrace. De concentratie van skatol in het vet was lager in Landrace dan in de rassen Duroc, Yorkshire en Hampshire.

1.3. Detectiemethoden van berengeur

Om de aanwezigheid van berengeur te constateren zijn detectiemethoden noodzakelijk. De EU bepaalt dat vlees voor de humane consumptie ongeschikt is bij aanwezigheid van seksuele geuren/hormonen (Mörlein et al., 2015a). Dit is voornamelijk een economische reden, aangezien er een negatieve consumentervaring is bij vlees(waren) met berengeur.

Om het probleem van berengeur te vermijden worden momenteel, in België, de meeste mannelijke biggen gecastreerd. In België en andere Europese landen bestaat de mogelijkheid om intacte beren af te mesten en te detecteren aan de slachtlijn. Dit gebeurt voornamelijk door een sensorische analyse, de soldeerboutmethode. In Denemarken wordt in één slachthuis gebruik gemaakt van een chemische methode, namelijk de Deense colorimetrische, skatol equivalente methode. Naar de toekomst toe wordt gezocht naar de industriële toepassingen van de chemische methode. Methodes gebaseerd op massaspectrometrie, met een simultane analyse van skatol en androstenon biedt mogelijkheden (Haugen et al., 2015). Doch de hoge analysetijd en de complexiteit van de technologie vormen een probleem.

De actueel toegepaste detectiemethode omvat het verwarmen van subcutaan vetweefsel voor het vrijkomen van de geurstof. Hiervoor wordt een soldeerbout of een microgolf gebruikt. De testresultaten worden beoordeeld door één of meerdere hiervoor opgeleide personen (Squires et al., 1991 & Meier-Dinkel et al., 2015a).

De olfactorische perceptie tussen individuen is cruciaal om panelleden te selecteren op basis van hun olfactorische scherpheid. Een manier om dit te evalueren is de gouden standaard (Mörlein et al., 2015a). Hierbij wordt de individuele scores van de panelleden vergeleken en vervolgens de sensitiviteit en specificiteit van de sensorische evaluatie berekent. Sensitiviteit betekent de waarschijnlijkheid dat een panellid echt berengeur kan detecteren in begeurde karkassen welke relevant is voor de acceptatie van de consument. Specificiteit refereert naar het kunnen correct classificeren van niet-begeurde karkassen als geen berengeur aanwezig.

Voor de gouden standaard zijn er vier mogelijkheden. Eerste mogelijkheid is de chemische analyse waarbij detectielimieten voor androstenon en skatol worden bepaald. Als tweede is een sensorische evaluatie door een referentie panellid. Als derde een gemiddelde score van een sensorische evaluatie door een getraind panel en tot slot het bepalen van de consumentacceptatie limiet, waarboven het vlees van de consument niet meer aanvaard wordt (Mörlein et al., 2015a).

Bij de studie van Meier-Dinkel (2015a) was de gemiddelde sensitiviteit en specificiteit van de sensorische analyses tussen 61 - 69 % en 77 - 85 %. Dit kan aantonen dat er een zekere foutieve classificatie door het sensorische panel aanwezig was bij vergelijking met chemische analyse. Een mogelijke oorzaak is het verwarren van de typische aroma componenten in varkensvet met de geur van androstenon en skatol.

Meestal wordt de chemische analyse van androstenon en skatol beschouwd als de feitelijke toestand (gouden standaard), ook al is geweten dat er fouten bestaan bij chemische methoden. Maar de studie van Mathur et al. (2012) toont aan dat het hanteren van de scores van een sensorische panel als standaard zouden leiden tot een significant hoger aantal valse positieve en valse negatieve bij de classificatie op basis van androstenon en skatol. Deze

studie toonde een correlatie aan tussen sensorisch panel en androstenon varieerden tussen 0,25 en 0,55 en voor skatol 0,32 en 0,89.

In de studie van Xue et al. (1997) was er ook onenigheid tussen de sensorische evaluatie en de chemische. Dit werd ook opgemerkt in de studie van Meier-Dinkel (2015a) waarbij karkassen met berengeur werden geëvalueerd door enerzijds sensorische evaluaties en anderzijds chemische analyses, respectievelijk in 9 % en 44 % van de karkassen werd berengeur gevonden (Meier-Dinkel et al., 2014).

Zo kon Meier-Dinkel (2014) besluiten dat de algemene overeenkomst van sensorische evaluatie door een testpanel en de chemische analyse matig was. Ook moet vermeld worden dat de cut-off niveau en de limieten geen gefixeerde limieten zijn, maar arbitrair werden gekozen voor beide methoden, waardoor de evaluatie subjectief is.

Androstenon- en skatolconcentraties in varkensvlees corresponderen niet steeds met de sensorische perceptie van de geur, van experts, waarbij de concentratie van deze componenten, onbetrouwbaar zijn voor een indicatie van de consument (Bonneau et al., 1992 & Xue et al., 1996).

1.3.1. Sensorische methoden

De proef van de Kock et al. (2000) toont aan dat berengeur slechts een tijdelijk karakter vertoont. Dit werd aangetoond door een sensorische panel vetstalen te laten ruiken onmiddellijk na verhitting (65 °C) en vervolgens na een afkoelperiode van 10 minuten (25 °C). Dit is te verklaren door verschillen in vervluchtiging, adaptatie en retentie eigenschappen van skatol en androstenon.

De vervluchtiging ontstaat door het verhitten van het vlees waarbij de vervluchtigde stoffen worden vervoerd naar het olfactorische epitheelweefsel. De waarneming van deze verluftiging wordt beïnvloed door de concentraties en de eigenschappen van deze vluchtige stoffen. Skatol wordt als eerste waargenomen. Na afkoeling en vervluchtiging van skatol samen met waterdamp, komt de geur van androstenon naar boven. Dit wil zeggen dat bij afgekoelde stalen de classificatie van skatol minder goed gaat en van androstenon beter (Squires et al., 2011). In de proef van Squires et al. (1991) werd de tijd tussen het opwarmen en het testen voor berengeur tot 30 minuten genomen, doch de resultaten wezen uit dat het wenselijk is om direct na het opwarmen te ruiken.

De Kock et al. (2000) verklaart het verschil in verspreiding door het lipofieler karakter van androstenon, het hoger moleculair gewicht heeft (androstenon: 272,4 g/mol; skatol: 131,2 g/mol) en het hoger smelt - en kookpunt in vergelijking met skatol. Door deze eigenschappen zal androstenon langzamer vrijkomen dan skatol en heeft androstenon een lager maar meer slepende geurimpact. Dit is te verklaren door een langere absorptietijd en door de lagere geurdrempel van androstenon. Androstenon is ook traag wateroplosbaar en dus meer polair. Androstenon zal dus gemakkelijk partikels vrijmaken in waterige fase dan gasfase. Dit zal bij het kauwen van vlees, in contact met waterig speeksel, zorgen voor een toename van vervluchtiging.

Anderzijds wordt de geur ook beïnvloed door het geursynergisme tussen skatol en androstenon. Hoe hoger de androstenonconcentratie, hoe intenser skatol zal beschreven

worden. Maar het synergisme tussen skatol en androstenon is maar een partieel synergisme. Dit wordt aangetoond doordat de intensiteit van de geur verandert, maar niet het karakter van beide componenten (Annor-Frempong et al.,1996). Uit de proef van Meier-Dinkel (2015b), is te besluiten dat hogere concentraties van skatol beter detecteerbaar zijn dan hoge androstenonconcentraties.

Studie van Xue et al. (1996), toont een aanzienlijke onenigheid aan tussen de sensorische evaluatie en het aandeel van karkassen die de drempel overschrijden voor skatol (0,25 ppm) en androstenon (1,5 ppm). Bepaalde karkassen met 16-androstenon worden zeer sterk gerelateerd aan berengeur. Doch bepaalde karkassen boven de drempelwaarde, worden niet geïdentificeerd door het sensorisch panel.

Meestal is de accuraatheid van een individuele beoordeling van de sensorische proeven te beperkt, doch wordt (in de praktijk) de kwaliteitscontrole uitgevoerd door een individuele persoon (Meier-Dinkel et al.,2014). Uit de proef van Meier- Dinkel et al. (2014) kan besloten worden dat het belangrijk is om meer dan één panellid te gebruiken, aangezien de score van vijf panelleden beter was dan van één. Dit werd aangetoond in de proef waarbij een hoge interindividuele variabiliteit werd geobserveerd 0,75 - 0,96 voor sensitiviteit en 0,50 - 0,86 voor specificiteit bij vergelijking met de gemiddelde panelscore.

Meier-Dinkel et al. (2014) merkte op, dat de sensorische detectielimiet, niet mag gegeneraliseerd worden voor verschillende groepen van mensen over verschillende periodes. Het succes van detectie van een bepaalde stof, onder bepaalde omstandigheden, zal afhangen van de individuele, tijdelijke gevoeligheid voor die stof. Tevens is de drempelwaarde niet statisch en kan veranderen in de tijd. De verschillen van presentatie van de stalen zoals temperatuur, het verschil in tijd tussen het opwarmen van de stalen en de effectieve evaluatie van de stalen hebben een effect op de intensiteit en de drempelwaarden. Daarnaast kunnen ook andere componenten die aanwezig zijn in het vetweefsel de geurwaarneming beïnvloeden.

Mörlein et al. (2015), heeft het effect van herhaalde blootstelling van berengeur onderzocht. Uit deze studie blijkt dat het op voorhand blootstellen van hoge concentraties van skatol en androstenon aan de testpersoon, geen invloed heeft op de perceptie van berengeur op de volgende test. Maar uit eerder onderzoek van Mörlein et al. (2013), werd besloten dat een herhaalde blootstelling van androstenon de sensitiviteit voor androstenon gedurende zes weken doet toenemen.

Matthes (1986), besloot uit zijn onderzoek dat het tijdstip van sensorische evaluatie tijdens de dag de score van de panelleden kan beïnvloeden. Uit het onderzoek kwam naar voor dat het beste moment voor sensorische evaluatie tussen 10 uur 's morgens en de middag was, voor mensen met een normaal dagritme. Wanneer de sensorische evaluaties toch op een ander tijdstip moet plaatsvinden, was het belangrijk dat de evaluatie pas plaatsvond minimum twee uur na een hoofdmaaltijd.

1.3.1.1. Testpanel/expertenpanel

Een expertenpanel, bestaat uit een reeks personen die geselecteerd en getraind zijn om verschil tussen de componenten skatol en androstenon te herkennen, en ook verschillende concentraties hiervan te detecteren (Dijksterhuis et al.,1999).

Selectie is nodig om een accurate waarneming te verkrijgen waarbij gezocht wordt naar personen met hoge sensitiviteit en specificiteit.

De selectie gebeurt aan de hand van driehoekstesten (Dijksterhuis et al.,1999; Aluwé et al.,2009; Meier-Dinkel et al.,2014). Er worden hiervoor verschillende methodes gebruikt.

De eerste vorm maakt gebruik van verschillende concentraties van skatol- en androstenon oplossingen in water waarbij het afwijkende staal wordt aangeduid ten opzichte van de niet-afwijkende stalen. Deze test kan ook gebruik maken van geurstrips met een gekende concentratie skatol of/en androstenon (Meier-Dinkel et al.,2014). Een tweede vorm is de ASTM practice E 679-91, dit is een testprotocol gedefinieerd door het American Society for Testing and Materials (ASTM). Hier wordt er een set van drie stalen gebruikt, telkens twee lege oliestalen en een oliestaal verrijkt met skatol en androstenon.

De doelstelling van beide testen is een selectie te maken van de personen, die zowel androstenon en skatol kunnen detecteren (Meier-Dinkel et al., 2014 & Dijksterhuis et al., 1999). In de studie van Meier-Dinkel et al.(2014) werd hiervoor een concentratie van 0,5 ppm androstenon en 0,2 ppm skatol gebruikt. Na de selectie worden ze verder getraind om androstenon en skatol te kunnen herkennen en onderscheid te kunnen maken tussen de verschillende concentraties.

De groepslimiet wordt bepaald wanneer 50 % van de panelleden de geur konden detecteren (Annor-Frempong et al.,1996). In de proef van Annor-Frempong et al. (1996) was de groepslimiet voor androstenon 0,426 µg/g en voor skatol 0,026 µg/g. Om de groepslimiet te bepalen werd gebruikt gemaakt van de Ascending methode of limits met een 3-AFC (Meier-Dinkel et al., 2014). Om de limieten te bepalen werd een grotere variatie waargenomen bij androstenon dan bij skatol. De kleinere variatie van skatol, wordt verklaard door het lager smeltpunt. Doordat skatol een intense eerste impact heeft bij opwarmen van een vetstaal, kan er een overschatting van de concentratie waargenomen worden.

De studie van Annor-Frempong et al. (1997a), toonde aan dat een sensorisch panel een significant onderscheid kan maken tussen indol en androstenon, maar niet tussen skatol en indol of een indol en een mengsel van skatol en androstenon. Uit deze studie bleek ook dat de aanwezigheid van beide componenten, androstenon en skatol, belangrijk waren voor de classificatie van berengeur. Androstenon was belangrijk voor de detectielimiet terwijl skatol voor de acceptatielimiet. Waardoor skatol beter geschikt is als parameter voor kwaliteitscontrole. Dit doordat verandering van intensiteit van skatol afhankelijk is van de aanwezigheid van androstenon en niet omgekeerd.

Het vetstaal dat wordt gebruikt voor sensorische evaluatie is meestal afkomstig van op de nek of de zone boven de lange rugspier (*Longissimus dorsi*). Deze wordt in het slachthuis van het karkas gesneden. Om de stalen te bewaren worden ze diepgevroren. Het proces van diepvriezen en ontdooien vertoont een grote variatie in de literatuur. Dijksterhuis et al. (1999), laat de stalen (vleesstaal met huid eraan) vacuüm verpakken, diepvriezen op -20 °C, en ontdooien door 3 tot 4 uren op voorhand om op een kamertemperatuur van 18 - 25 °C te brengen. Bij Squires et al. (1991), worden de vetstalen ontdooit gedurende 24 uren. De Kock et al. (2000), verpakte de vetstalen in een ondoordringbare nylon/polyethyleen zak voor het invriezen en het ontdooien gebeurt door het staal gedurende 30 minuten op kamertemperatuur (18 °C) te brengen.

Bij de sensorische evaluatie worden de stalen verwarmd. In de literatuur worden verschillende methodes en temperaturen beschreven. De Kock et al. (2000), verwarmt de stalen (kubussen van 10x10x10 mm) tot een temperatuur van 65 °C en laat ze vervolgens afkoelen gedurende 10 minuten tot 25 °C om het verschil in vervluchtiging te beschrijven. Om de stalen warm te houden wordt gebruik gemaakt van een zandbad dat reeds voorverwarmd is in de oven op 180 °C gedurende 45 minuten. Op het ILVO wordt het vetstaal in een microgolf gedurende 50 seconden op 700 W opgewarmd (Aluwé et al., 2009). Bij de proef van Squires et al. (1991), werden de vetstalen in kubussen van 1,2 cm gesneden. Deze stalen werden eerst op een interne temperatuur van 40 °C gebracht en daarna verwarmd tot een interne temperatuur van 70 °C. Meier-Dinkel et al. (2014), maakt gebruik van 3 g vet. Deze werd verwarmd in een beker, in een microgolf op 450 W gedurende 90 seconden, zodat een oppervlaktetemperatuur van 75 °C werd verkregen. Bij de testen van Meier-Dinkel et al. (2014) kregen de panelleden een geurstrip met vier referentiewaarden met gedefinieerde hoeveelheden van androstenon en skatol. Deze referenties werden door de leden tijdens de training gekozen om de geurkwaliteit te illustreren van androstenon en skatol bij hoge en lage intensiteiten.

Over het effect van bewaringstemperatuur en de bewaartijd is er nog geen onderzoek verricht. Maar Haugen et al. (2012), neemt aan dat de bewaarcondities maar een klein effect kan hebben op de concentraties van androstenon en skatol door de relatieve stabiliteit van androstenon en skatol.

De sensorische evaluatie vindt meestal plaats in sensorische laboratoria. Deze zijn, zo veel als mogelijk, gestandaardiseerd (Dijksterhuis et al., 1999). De panelleden bevinden zich in individuele cabines, waarbij de vetstalen worden geëvalueerd onder rood licht, bij een kamertemperatuur van 18 - 25 °C en gecontroleerde ventilatie.

Bij de smaakproeven wordt de mond van de panelleden tussen twee stalen gereinigd, dit met behulp van niet-chloor bevattend water op kamertemperatuur en crackers. Het is belangrijk dat de consumptie van het water en de crackers ook gebeurt voor de eerste smaakproef, om het eerst-monster effect te minimaliseren (Dijksterhuis et al., 1999).

De evaluatie van de vetstalen gebeurt aan de hand van de lijnschaal-methode. De waargenomen concentratie wordt uitgezet op een ordinale schaal, waarbij de panelleden een cijfer scoren over de waargenomen concentratie van berengeur. Deze schaal varieert van 0 (geen geur) tot 4 - 5 (sterke berengeur) (Mörlein et al., 2015a). Voor de verwerking worden de gemiddelde scores van de panelleden (schaal van 0 - 5) omgezet in een binaire variabele. Berengeur is aanwezig bij een score hoger of gelijk aan twee. Een score lager dan twee is er geen geur op te merken (Meier-Dinkel et al., 2014). Bij de proef van Mathur et al. (2012) en Aluwé et al. (2009), werden de data statistisch geanalyseerd respectievelijk door een transformatie naar een logaritmische transformatie en een indepent t-test.

Om de vleesstalen te evalueren wordt een score aan het vlees gegeven. Enerzijds een score voor de smakelijkheid van 1 (heel goed) tot 6 (heel slecht). En ook een score voor geur, smaak en malsheid van 1 (heel goed) en 5 (heel slecht). Tussen het evalueren van de stalen moest minstens 2 à 3 minuten pauze zijn (Aluwé et al., 2009). Voor de vleesstalen te bereiden werd bij Aluwé et al. (2009) het vlees 3 minuten in een oven op grill gezet, op 1800 Watt, zodat een interne temperatuur van 74 °C werd verkregen.

1.3.1.2. Elektronische neus

Het is niet meer haalbaar om de classificatie van karkassen, met betrekking tot berengeur, toe te vertrouwen aan sensorische panels. Voor een goede accuraatheid dient de classificatie door meerdere testpersonen te worden uitgevoerd dat zal resulteren in een hoge kostprijs per karkas. Het is bovendien een arbeidsintensieve methode. Er dient tevens rekening gehouden worden met eventuele gewinning aan de geur. Een instrument dient ontwikkeld om een sensorische panel te simuleren. Een mogelijke ontwikkeling is de elektronische neus (Annor-Frempong et al.,1997b).

Gassensoren hebben het potentieel om verschillende componenten, in gasfase, te detecteren die gerelateerd zijn aan berengeur (Haugen,2006). Deze gassensoren zijn gebaseerd op fysische en chemische absorptie en desorptie, optische absorptie en chemische reacties van een analyt. In de literatuur werden reeds verschillende soorten sensoren besproken waaronder de geleidende polymere sensoren, de metaaloxidesensoren (Annor-Frempong et al.,1997b), en de Thickness Shear Mode Resonator (TSMR) (Di Natale et al.,2003).

De elektronische neus of e-nose kan bestaan uit geleidende polymere sensoren (Annor-Frempong et al.,1997b). Deze bestaan uit een reeks van twaalf geleidende polymere sensoren die gecombineerd worden met een herkenningsspatroon. Zo kan men variërende intensiteiten van berengeur meten. De antwoorden van de e-nose, met betrekking tot berengeur, zijn gekalibreerd tegenover de antwoorden van een getraind sensorisch panel

Het is de bedoeling dat de e-nose de stalen kan classificeren in drie klassen: normaal (laag in geur), twijfelachtig, en abnormale (hoog in geur). De tweede groep, twijfelachtig, is een gebied waar er flexibiliteit kan gebruikt worden door het veranderen van de cut-off waarden van de verschillende populaties. Uit de proef van Annor-Frempong et al. (1997b), werd vastgesteld dat de e-nose alle abnormale stalen correct geklasseerd en 16 % van de normale stalen werden als abnormaal geclassificeerd. Hieruit kan besloten worden dat de e-nose stalen met en zonder berengeur kan onderscheiden.

Geleidende polymeren, zijn gekend om het vertonen van drift. Maar het grote voordeel van geleidende polymeren is dat er een snelle absorptie-desorptie is bij omgevingstemperatuur.

Metaaloxiden sensoren, worden gebruikt voor het efficiënt meten van androstenon in varkensvet. Uit de proef van Bourrounet et al. (1995), kan besloten worden dat deze sensoren een onderscheid kunnen maken tussen vetstalen met een hoge en lage androstenonconcentratie, aangezien in de proef 84,2 % van de stalen in de juiste klasse geclassificeerd werden. De aangehaalde aanvaardbare grens voor androstenon is 0,5 – 1,0 µg/g en voor skatol 0,2 µg/g (Annor-Frempong et al.,1997b).

De laatste sensor die in de literatuur terug te vinden is, is de thickness shear mode resonators (TSMR). Deze sensoren bestaan uit een dunne schijf kwarts gecoat met metalloporfyrienen. Deze sensor is gebaseerd op chemische sensorentechnologie om de aanwezigheid van het vluchtige deel van androstenon te meten. Met deze sensoren kan een hoge sensitiviteit voor lage androstenonconcentraties bekomen worden. De interactie tussen de sensoren en androstenon-moleculen is tweeledig, enerzijds de interactie met de porfirineren en anderzijds door de holle interacties met de alkyl ketens (Di Natale et al., 2003).

De e-nose is momenteel nog niet in de praktijk toepasbaar omdat in sommige gevallen het identificeren van de chemische componenten, androstenon en skatol, kan mislukken. Dit kan een gevolg zijn van anosmie, lage geur detectiewaarden van de componenten of een foute classificatie van de componenten door een interferentie met andere componenten die niet gerelateerd zijn aan berengeur (bv. ranzigheid). Deze methode is arbeidsintensief en heeft een hoge kostprijs (Haugen,2006).

1.3.1.3. Heet-ijzer test/hot-iron test

De Heet-ijzer test, de de soldeerboutmethode, is een veel gebruikte methode in slachthuizen. Het is een snelle, eenvoudige en goedkope detectiemethode (Squires et al.,1991 & Aluwé et al.,2009). Het subcutaan vetweefsel wordt verwarmd met behulp van een soldeerbout. Door de verhitting van het vet komen er geuren vrij, die beoordeeld worden door één of meerdere opgeleide personen (Squires et al.,1991). Deze vrijgekomen geuren worden gescoord op een schaal. Een voorbeeld is een schaal van 1 (neutraal) tot 4 (slecht) (Aluwé et al., 2009).

Volgens Aluwé et al.(2012) geeft de soldeerboutmethode in het slachthuis vergelijkbare of zelfs beter resultaten dan een deskundig panel. Doch de betrouwbaarheid van deze methode is afhankelijk van de training en betrouwbaarheid van één of twee beoordelaars (Aluwé et al.,2012 & Squires et al.,1991). Doch kan de subjectiviteit en betrouwbaarheid van de beoordelaars in vraag worden gesteld (Aluwé et al., 2012).

1.3.1.4. Consumentenpanel

Een consumentpanel is vergelijkbaar met een expertenpanel. Ze evalueren beide de stalen doch het consumentpanel worden niet vooraf ingelicht over de proef in tegenstelling dat het expertenpanel waardoor er geen beïnvloeding is. Deze personen zijn ad random gekozen om een representatieve populatie voor te stellen. Zij zijn niet opgeleid om de componenten van berengeur te onderscheiden.

De stalen worden tevens geëvalueerd aan de hand van scores. Een mogelijkheid van scores is een variatie van 1 (heel goed) tot 6 (heel slecht) (Aluwé et al.,2009). Uit het onderzoek van Xue et al. (1997) bleek dat een stijgende concentratie van de componenten leidt tot een grotere afkeer, maar de negatieve reacties zijn minder uitgesproken dan bij een getraind panel.

Bij de evaluatie worden de personen voorzien van mineraalwater en wit brood (Aluwé et al.,2009). De nationaliteitsverschillen in een consumentpanel (verschillende culturen en gewoontes) en de verschillende gevoeligheden voor androstenon dienen in rekening worden gebracht (Xue et al.,1997). Dit kan een verschillende beeld geven bij proeven tussen verschillende landen, zo zouden de Franse consumenten meest gevoelig zijn voor berengeur en de Britse, Ierse, Spaanse en Canadese consumenten het minst (Xue et al.,1997).

1.3.2. Chemische methoden

In de Review van Haugen et al., (2012), wordt onderscheid gemaakt tussen vier analytische methoden: (1) de chromatografische methode met de gaschromatografie en vloeistofchromatografie; (2) de massaspectrometrie; (3) spectrofotometrie en (4) de immunologische methode.

De **chromatografische methode** is gebaseerd op HPLC- of GC technieken om androstenon en skatol in het vetweefsel te bepalen. Door de complexiteit van het vetmatrix mist deze methode selectiviteit (Haugen et al.,2012). De gaschromatografie was de eerste techniek om de concentratie van androstenon in het vetweefsel te bepalen. Het nadeel van deze methode is de hoge materiaalkost en de lange analysetijd voor androstenon. Voor skatol is deze relatief kort (12 minuten). De vloeistofchromatografie wordt gebruikt om skatol- en indolconcentraties te bepalen (Haugen et al.,2012).

De **massaspectrometrie** is een combinatie van scheidingstechnieken als LC en GC. Deze methode maakt gebruik van de combinatie van de efficiëntie van chromatografie met detectie van MS om de componenten te scheiden (Haugen et al.,2012).

De **spectrofotometrie** is gebaseerd op het gebruik van een specifiek kleurreagens. Het voordeel van deze methode is de korte analysetijd (15 - 20 minuten), waardoor dit systeem kan geautomatiseerd worden. Dit systeem wordt gebruikt in één Deens slachthuis. Het nadeel van deze methode is de lage specificiteit aangezien de kleurreagens geen onderscheid maakt tussen de indolische componenten (Haugen et al.,2012).

De **immunologische methode** maakt gebruik van een reactie van een analyt en een complementair antilichaam. De reactie wordt zichtbaar door het detecteren van de gelabelde units zoals radioactieve isotopen. Deze gelabelde antigen/antilichaam wordt gedetecteerd. Deze methode heeft een goede sensitiviteit en een goede accuraatheid. Een nadeel bij deze methode is de moeilijkheid van het gebruik van radio-isotopen en een lage selectiviteit. Ook is de analyse van skatol minder goed door het lager moleculair gewicht van het antigen en onbeschikbaarheid van specifieke antilichamen (Haugen et al.,2012).

Een voordeel van chemische methoden is de exacte en objectieve bepaling van de concentratie van skatol, indol en androstenon in het vet en/of vlees (Aluwé et al.,2012). Volgens Haugen et al. (2012) is het moeilijk om de resultaten tussen de chemische methoden te vergelijken door de verschillen in de methodes, in de stockage en in de voorbereiding van de stalen. Een bijkomend nadeel is de tijdsintensiviteit, voorbereidingstijd vragen en een hoge kostprijs hebben.

Momenteel beschikt Europa nog niet over een geharmoniseerde methode voor het detecteren van berengeur met behulp van chemische methoden. Maar de eerste stappen naar een geharmoniseerde methode zijn gezet met de reference methode (Buttinger et al., 2014). Bij deze methode worden drie componenten van berengeur (skatol, androstenon en indol) gekwantificeerd in varkensvet door middel van een isotope verdunde vloeistofchromatografie gekoppeld aan een massa-spectrometrie (LC-MS/MS).

1.4. Algemeen besluit

Aangezien men vanaf 2018 chirurgische castratie van biggen zonder verdoving wil afschaffen, dringt zich een goed alternatief op om het probleem van berengeur in te dijken. Uit bovenstaande literatuurstudie kan besloten worden dat berengeur een complex gegeven is.

De drie belangrijkste componenten van berengeur zijn androstenon, skatol en indol. Deze componenten komen vrij bij het verhitten van vlees en/of vet van voornamelijk intacte beren, en zorgen voor een afwijkende geur (urine- en fecesachtig) die als onaangenaam wordt ervaren door de consument.

Het afmesten van intacte beren wordt, in de literatuur, als goed alternatief naar voren geschoven. De voordelen van intacte beren ten opzichte van immunocastraten, en zeker tegenover baren, zijn groter tijdens het afmesten. Voordelen zijn de lagere voederconversie en dus ook de lagere voederkost, de lagere milieubelasting, stopzetting van de castratie en de lage arbeidskosten. Belangrijke nadelen zijn de prevalentie van berengeur, welke in Vlaanderen tussen 3 en 4 % zou liggen, en de verhoogde kans op agressief en seksueel gedrag.

De literatuurstudie maakt duidelijk dat de prevalentie van berengeur door vele invloedsfactoren wordt bepaald. Factoren als huisvesting, genetica, voeding, leeftijd, seksuele activiteit, gezondheid en fysiologische conditie van het dier op het slachtmoment. Het is een streven om tegen 2018 de invloedsfactoren in kaart te brengen waarbij de varkenshouders in kennis worden gesteld hoe in optimale omstandigheden de afmesting kan gebeuren om de prevalentie van berengeur te beperken.

Invloedsfactoren berengeur

Er is heel wat onderzoek verricht naar managementmaatregelen om de prevalentie van berengeur te beperken. Over de bevuiling van het dier is nog geen consensus tussen de onderzoekers. Sommige concluderen dat een propere omgeving voor een lagere skatol gehalte zorgt in het vet. Andere onderzoekers zien geen verband. Verder werd de invloed van de hokoppervlakte per dier onderzocht waarbij er algemene consensus over bestaat. Namelijk een lager aantal beren per hok zal zorgen voor een lagere prevalentie van berengeur, voornamelijk door een lagere concentratie van skatol. Verschillende studies tonen een duidelijk verband met de seizoensinvloeden. In de herfst is hogere prevalentie van berengeur aanwezig in vergelijking met de lente. Dit is te verklaren door een versnelde ontwikkeling van de puberteit en verhoogde testiculaire activiteit van beren bij dalende daglengte en korte dagen.

De invloed van voeding op de prevalentie van berengeur is zeer uitgebreid en complex. Er kan besloten worden dat de verschillende voedingsgrondstoffen een invloed hebben op de productie van skatol. Wel zou natte voeding een gereduceerde skatol concentratie in het vetweefsel teweegbrengen in vergelijking met droge voeding. Ook zou een lagere berengeurprevalentie aanwezig zijn bij meer dan 6 uur vasten voor het slachten. Ook hebben sociale effecten, waaronder het seksueel gedrag van het dier, een invloed op de prevalentie van berengeur. Uit de onderzoeken blijkt dat bij aanvang van de puberteit een stijging van androstenon in het plasma waarneembaar is en tevens een stijging van het seksueel gedrag. Deze stijging is zeer duidelijk aantoonbaar bij inzet van de beren als fokbeer.

Daarnaast zou stress ook een invloed hebben op de berengeurcomponenten. In de literatuur wordt nog geen algemene consensus naar voren geschoven.

De invloed van sociale ranking wordt wel door de literatuur bevestigd. Hoe hoger de sociale rangorde, hoe hoger de concentratie van androstenon en testosteron in het plasma. Er is geen invloed op skatol teruggevonden. Wanneer agressie daalt, kan het androstenon gehalte gaan dalen. Doch de relatie met sociale ranking is meer bepalend dan met agressie.

Vergelijkende studies, omtrent de hokindeling van mixed sex versus single sex, tonen meer bestijgingsgedrag, meer seksueel gedrag en minder agonistisch gedrag bij mixed sex huisvesting. De aanwezigheid van een varken van een ander geslacht kan zorgen voor een vervroegde puberteit. Onderzoek toont een hogere androstenonconcentratie bij mixed sex en aldus een hogere prevalentie van berengeur .

Naast de managementmaatregelen heeft genetica en ras een invloed op de prevalentie van berengeur. Androstenon en skatol worden beïnvloed door genetische componenten. Doch er is nog geen volledige consensus over de invloed van het ras op de prevalentie. Verschillende studies tonen aan dat het Duroc-ras een verhoogde prevalentie heeft.

Detectie berengeur

Aangezien de prevalentie van berengeur in Vlaanderen niet hoog ligt (3 à 4 %) is het ontwikkelen van een methode om berengeur te kunnen detecteren, pre- of post mortem, meer aangewezen dan het castreren van alle mannelijke biggen. In Europa wordt in sommige slachthuizen gebruik gemaakt van detectiesystemen nl. de soldeerboutmethode. De detectie is nodig aangezien de Europese Unie vlees met aanwezigheid van seksuele geuren/hormonen (berengeur) niet geschikt acht voor de humane consumptie.

De huidige sensorische testen zijn onvoldoende efficiënt door een lage accuraatheid. Bovendien is er geen internationale geaccepteerde grenswaarde en geen algemeen aanvaarde sensorische methode voor berengeur. Verder onderzoek is noodzakelijk om de ontwikkeling van een snel en sensitieve methode voor systemische analyse van berenkarkassen. Ook is het belangrijk om sensorische detectielimieten met het zicht op de acceptatie van de consument en berengeur afkeuring van karkassen aan de slachtlijn te onderzoeken

De chemische methoden zijn momenteel niet bruikbaar aan de slachtlijn omwille van de ingewikkelde staalvoorbereiding en het intensief labowerk. Doch zorgen de chemische methoden voor kwantificatie van de componenten van berengeur wat essentieel is voor onderzoek. Momenteel beschikt Europa nog over geen geharmoniseerde methode voor het detecteren van berengeur met behulp van chemische methoden, hoewel de eerste stappen in de richting van een geharmoniseerde referentiemethode zijn gezet (Buttinger et al., 2014).

Het literatuuronderzoek toont de noodzaak van verder onderzoek op verschillende domeinen aan. Studies omtrent daling van prevalentie van berengeur in het afmestingsproces en onderzoek naar een accurate en snelle methodiek voor de detectie van berengeur aan de slachtlijn zijn noodzakelijk.

2. Materiaal en methoden

2.1. Proef 1 : invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren

In deze proef werd nagegaan of er verschillen zijn in gedrag en prevalentie van berengeur tussen intacte beren met (mixed sex) of zonder (single sex) aanwezigheid van gelten tijdens de afmesting in de stal. Om deze hypothese te onderzoeken werden, op twee bedrijven, twee groepen intacte beren opgevolgd. De ene groep bevond zich in een compartiment met enkel intacte beren en de andere groep in een compartiment samen met gelten. Tijdens de afmestperiode werd het gedrag van de intacte beren tweewekelijks geobserveerd. Daarnaast werd van alle intacte beren vetstalen verzameld en vervolgens berengeur gescoord door het sensorische geurpaneel van het ILVO met behulp van de soldeerboutmethode.

2.1.1. Observaties

Op twee bedrijven, bedrijf A uit Lendeledede en bedrijf B uit Gistel, werden intacte beren tweewekelijks geobserveerd vanaf de start van de afmestperiode tot de week voor slacht. De observaties startten op beide bedrijven eind november 2014 en liepen tot begin maart 2015.

Bij elk bedrijf werd er gedurende 15 weken geobserveerd. De tussentijd van de observaties liepen bij beide bedrijven gelijk tot week 12. Daarna werd er op bedrijf A in week 13 en 15 geobserveerd, op bedrijf B in week 14 en 15.

De observaties werden telkens in de voormiddag uitgevoerd, vanaf 8.30 à 9 uur. De scoring gebeurde volgens van een voorafbepaald protocol (Bijlage 1). Het protocol omschrijft elke score en verduidelijkt met een foto.. De observaties werden op het scoreblad (Fig. 10) genoteerd .

Voor elke parameters werd telkens één score per dier gegeven, met uitzondering voor de parameter hokbevuiling. Voor de huidlesies, werd het lichaam als één geheel beoordeeld en gescoord van 0 (geen lesies) tot 5 (zéér ernstige lesies). De verse krassen en wonden werden enkel in rekening gebracht. Per klasse huidlesies werd het aantal varkens genoteerd. Voor de dierbevuiling werd elk dier gescoord op een schaal van 0 (proper) tot 4 (meer dan 75% bevuiling van het varken). Per klasse dierbevuiling werd het aantal varkens genoteerd.

De hokbevuiling werd gescoord per hok op een schaal van 0 (proper) tot 4 (meer dan 75% bevuiling van het vloeroppervlak).

Vervolgens werden de gedragsobservaties uitgevoerd over tien mogelijke gedragingen: inactief, eten en/of drinken, bewegen, interactie met elkaar, manipuleren, spelen, oor- en staartbijten, agressie, (poging) bestijgen en anogenitaal snuffelen. Er werd 10 maal langsheen ieder hok gegaan. Tijdens deze momentopnames werd het aantal dieren genoteerd die het soort gedrag stelden. (Fig. 10).

Bedrijf:
Afdeling vleesvarkenstal:
Datum:
Starttijd gedragsobservaties:
Eindtijd gedragsobservaties:

Hok:	Aantal:	#	Kreupelscore	#	Dier	#	Hok	Gedrag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Huidscore	#	Staatbijten	#															
Geen		Geen		Normaal		Proper		Proper										
Zeër licht		Geïrriteerd		Mank		Zeër licht		Zeër licht										
Licht		Bloedend		Kreupel		Licht		Licht										
Matig		Ontstoken				Matig		Matig										
Ernstig		Stoepke				Sterk		Sterk										
Zéér																		
Ernstig																		
Totaal																		

Hok:	Aantal:	#	Kreupelscore	#	Dier	#	Hok	Gedrag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Huidscore	#	Staatbijten	#															
Geen		Geen		Normaal		Proper		Proper										
Zeër licht		Geïrriteerd		Mank		Zeër licht		Zeër licht										
Licht		Bloedend		Kreupel		Licht		Licht										
Matig		Ontstoken				Matig		Matig										
Ernstig		Stoepke				Sterk		Sterk										
Zéér																		
Ernstig																		
Totaal																		

Fig. 10: Invulblad observaties op het bedrijf

Praktijkbedrijf A

Het **eerste bedrijf** waarbij observaties worden uitgevoerd is het bedrijf A gelegen te Lendeledede. De proef werd opgezet in twee afzonderlijke compartimenten.

De beren waren een kruising van Piétrain beer en een Topigs zeug. Bij beide compartimenten kregen de dieren kruimel en werd het voeder gedoseerd per halve dag. In ieder hok was telkens één waternippel en één voederbak aanwezig. De voederbak was een droogvoerbak.

Bij beide compartimenten was er aanwezigheid van natuurlijk licht gecombineerd met kunstlicht. Het lichtschema voorziet kunstlicht van 8 uur 's morgens tot 17 uur 's avonds. Dit kunstlicht werd handmatig aan- en afgezet. In beide compartimenten werden de dieren gehuisvestigd op vlakke volroostervloeren (Fig. 12). In beide stallen was er ook manipuleerbaar materiaal aanwezig onder de vorm van kettingen. De hokafscheiding bestond uit beton met ventilatieopeningen (Fig. 13), behalve waar de voeder- en drinkbak aanwezig was.



Fig. 11: Hokafscheiding bedrijf A



Fig. 12: Roostervloeren bedrijf A

Het ene compartiment bestond uit 8 hokken, waarvan alle hokken bezet waren met intacte beren. Er waren 7 hokken met 11 beren en één hok met 10 beren. De oppervlakte van het hok was gemiddeld 7,36 m² (Fig. 13). Bij het begin van de proef waren 87 beren aanwezig. Op het einde waren er nog 85 beren aanwezig. 2 dieren vielen uit in de loop van de afmestperiode. De ventilatie bestond uit plafondventilatie waarbij de lucht binnenkomt via het plafond en achteraan in de stal wordt afgezogen. De voederbak is onderverdeeld in drie voederplaatsen.

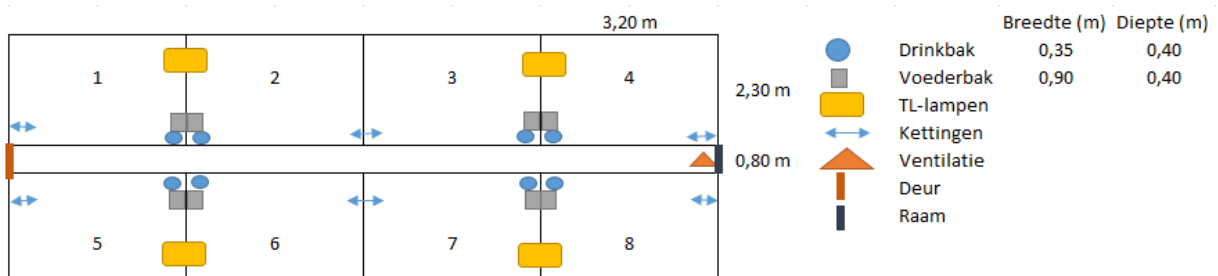


Fig. 13: Grondplan bedrijf A, single sex huisvesting

Het andere compartiment bestond ook uit 8 hokken (Fig. 14). Hierbij waren er vier hokken gevuld met intacte beren en vier met zeugen. De beren en zeugen werden zoveel mogelijk met elkaar in contact gebracht door de dieren te rangschikken zoals aangegeven (Fig. 14). Bij het begin van de proef werd gestart met 48 intacte beren. Tegen het einde van de proef waren er nog 46 over. In dit compartiment vielen dus 2 intacte beren uit. De verhouding gelten/beren was gelijk aan 50 %. De ventilatie in deze afdeling bestond uit deurventilatie. Hierbij kwam de verse lucht via de onderkant van de deur binnen en werd dan aan de andere kant van de compartiment afgezogen door een ventilator. De voederbak was onderverdeeld in twee voederplaatsen.

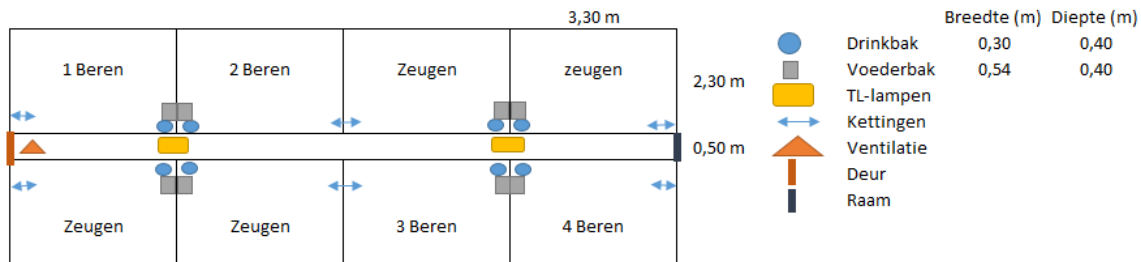


Fig. 14: Grondplan bedrijf A, mixed sex huisvesting

De observaties startten op 24 november 2014 en liepen tot 9 maart 2015. Deze varkens werden op 10 augustus 2014 geboren en de observatie startte op de leeftijd van 15 weken en liep door tot een leeftijd van 31 weken. In Tabel 1 bevindt zich een overzicht van het aantal geobserveerde intacte beren en het aantal beren die bij slacht bemonsterd werden voor de sensorische analyse van berengeur samen met hun slachtgewicht.

Tabel 1: Overzicht aantal observaties en gemiddeld koud karkas slachtgewicht (KKGG) intacte beren bedrijf A

	Praktijkbedrijf A	
	Mixed sex	Single sex
Aantal beren geobserveerd	46	85
Aantal beren geslacht	45	84
Het gemiddeld KKGG (kg)	99,51	94,10

Praktijkbedrijf B

Het **tweede** bedrijf waar observaties werden uitgevoerd was het bedrijf B gelegen te Gistel. De beren hadden een verschillende vaderlijn, waarbij 10 % een Piétrain als vaderbeer en 90 % groeiberen als vaderbeer. Deze groeiberen waren eigen productie en kunnen uit drie mogelijke kruisingen bestaan. Ten eerste 38 % Piétrain, 50 % talent en 12 % Large White, ten tweede 62,5 % uit Piétrain met 37,5 % talent en als laatste 37,5 % Piétrain met 62,5 % talent

De dieren kregen meer dan ad libitum werd gegeven. De dieren hadden per hok één voederbak, met twee voederplaatsen en één drinkbak. De voederbak was een droogvoerbak. Ook was in beide compartimenten manipuleerbaar materiaal aanwezig, namelijk kettingen.

Op dit bedrijf werd enkel gebruik gemaakt van kunstmatig licht. Dit lichtpatroon werd automatisch aangestuurd en startte om 8 uur 's morgens tot 17 uur 's avonds. Tijdens de observatieperiode was de automatische verlichting regelmatig stuk, waardoor de dieren geen licht kregen. De dieren zaten in beide compartimenten op vlakke volroostervloeren (Fig. 16). De ventilatie in beide stallen was klepventilatie. De hokafscheiding bestond uit beton met ventilatieopeningen (Fig. 15), in de volledige lengte behalve waar de voeder- en drinkbak staat. De gemiddelde oppervlakte per hok was 6,6 m².

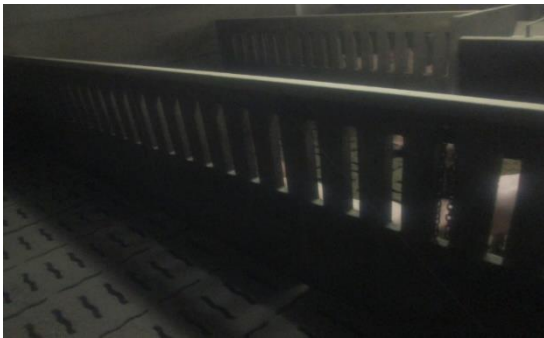


Fig. 15: Hokafscheiding bedrijf B



Fig. 16: Hokafscheiding bedrijf B

Eén compartiment werd ingevuld als single sex huisvesting (Fig. 17). Dit compartiment bestond uit 36 hokken, waarvan 33 gevuld. Over deze 33 hokken werden 341 beren verdeeld met een variabel aantal varkens per hok (Tabel 2) en één hok wordt gebruikt als ziekenboeg (deze met twee dieren). Twee dieren vielen uit in de loop van de afmestperiode.

Tabel 2: Verdeling hokken single sex huisvesting bedrijf B

Single sex huisvesting			
Start		Einde	
Aantal hokken	Aantal dieren	Aantal hokken	Aantal dieren
1	2	1	2
1	5	1	5
1	7	1	6
1	8	1	8
6	10	7	10
20	11	19	11
1	12	1	12
1	13	1	13
1	14	1	14
33	341	33	399

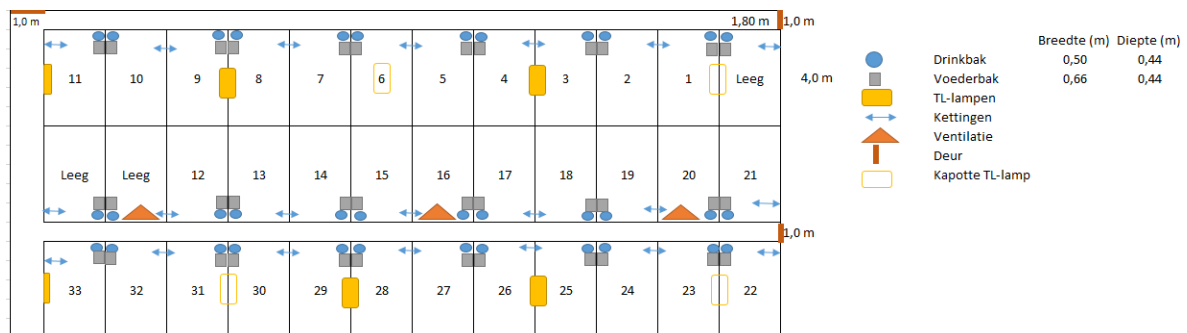


Fig. 17: Grondplan bedrijf B, single sex huisvesting

Het tweede compartiment werd als mixed sex groep ingevuld (Fig. 18). Dit compartiment bestond uit 40 hokken waarvan 38 gevuld. 9 daarvan werden ingevuld met intacte beren. De andere hokken waren gevuld met zeugen. Bij de start waren 7 hokken gevuld met 10 beren en twee hokken met 11 beren. Bij de start waren 92 intacte beren aanwezig, op het einde van de afmestperiode 91. Er was dus uitval van één varken. De verhouding van intacte beren versus gelten is 28 %.

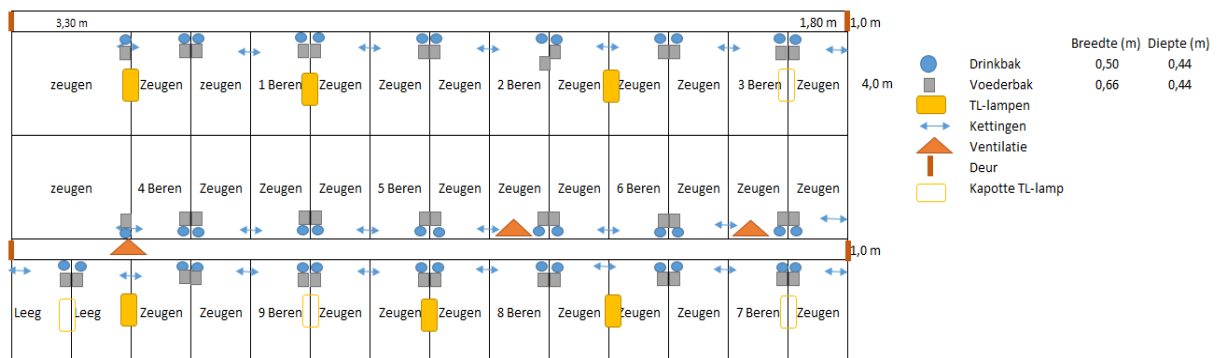


Fig. 18: Grondplan bedrijf B, mixed sex huisvesting

De observaties startten op 17 november 2014 en liepen tot 2 maart 2015. Bij de start werd enkel het mixed sex compartiment opgestart. De observaties van het single sex compartiment startten pas 4 weken later, op 14 december 2014. De varkens werden geboren in de week van 31 juli 2014 en de observatie startte op de leeftijd van 16 weken en liep door tot een leeftijd van 30 à 32 weken. In Tabel 3 bevindt zich een overzicht van het aantal

geobserveerde intacte beren en het aantal beren die bij de slacht bemonsterd werden voor de sensorische analyse van berengeur samen met het slachtgewicht.

Tabel 3: Overzicht aantal observaties en gemiddeld koud karkas slachtgewicht (KKGG) intacte beren bedrijf B

	Praktijkbedrijf B	
	Mixed sex	Single sex
Aantal beren geobserveerd	92	339
Aantal beren geslacht	83	273
Het gemiddeld KKGG (kg)	91,68	89,61

2.1.2. Berengeurdetectie

2.1.2.1. Staalname vet

De beren kregen, per behandelingsgroep, bij het laden een extra kloppnummer om de link met de behandelingsgroep mogelijk te maken. In de slachtlijn werd vervolgens van elke karkas ter hoogte van de nekregio een vetstaal afgesneden, juist voordat de karkassen in de koeling gingen. De dieren waren ondertussen gereinigd, onthaard, doormidden gesneden en de ingewanden eruit gehaald. Dit vetstaal werd, inclusief huid, afgesneden met behulp van een slagersmes. Deze stukken waren ongeveer 8 op 4 cm groot en wogen gemiddeld 31 à 32 gram. Bij de staalnames werd erop gelet dat de volledige diepte van de vetlaag aanwezig was in het staal. De stalen werden in slachtvolgorde verzameld in een bak met 48 individueel genummerde vakjes.

2.1.2.2. Sensorische analyse

De sensorische analyse van de vetstalen vond zo snel mogelijk na de staalname plaats, meestal binnen de 24 uur. Deze analyse werd uitgevoerd door experts, die geselecteerd en getraind zijn om berengeur te detecteren. Elk staal werd minimum door drie experts geëvalueerd om individuele variaties te beperken. Voor de sensorische analyse werd de soldeerboutmethode gebruikt.

De proef maakte gebruik van de soldeerbout Ersa RDS 80 en werd ingesteld op een temperatuur van 350 °C. De soldeerbout werd voor het schroeien van een stuk vet telkens gereinigd met een oplossing van ethanol (99,8 %).

De experts roken, elk afzonderlijk, elk vetstaal door het vet te schroeien (paar seconden) met behulp van de soldeerbout. Er moet rekening gehouden worden, dat best enkel het vet geschroeid werd en niet de huid of eventueel het aanwezige vlees, want dit zorgt voor een afwijkende geur. De expert gaf het vetstaal een score van 0 tot 4. Score 0 werd gegeven wanneer geen afwijkende geur waar te nemen was, score 1 voor een licht afwijkende geur, score 2 matige afwijkende geur, score 3 sterk afwijkende geur en score 4 bij waarnemingen met een zeer sterk afwijkende geur. Bij waarnemingen van een afwijkende geur niet direct definieerbaar als berengeur, werd de score X ingevuld.



Fig. 19: Soldeerbout Ersa RDS 80 (D'tron, z.j.)

2.1.3. Dataverwerking

De verzamelde data met betrekking tot huidlesies, dierbevuiling, hokbevuiling, en het gedrag “inactiviteit”, “eten en/of drinken”, “spelen”, “seksueel” en “bewegen” tijdens de bedrijfsobservaties werd statistisch verwerkt met SPSS Statistics 22 en R 310. Het gedrag “spelen” is een clustering van de gedragingen “spelen”, “manipuleren” en “interactie”. En het gedrag “seksueel” is een cluster van het gedrag “bestijgen” en “anogenitaal snuffelen”.

Als model werd gekozen voor het lineair mixed model. Dit model werd doorlopen, waarbij de verzamelde score als afhankelijke variabele werden gebruikt. Bij dit model waren de beïnvloedende variabelen het tijdstip (verschillende weken), het bedrijf (praktijkbedrijf A & B), hok en groep (mixed sex of single sex). De beïnvloedende factoren werden verdeeld in gefixeerde en random factoren. Het tijdstip en de groep waren de fixed factoren, bedrijf en hok de random factoren.

Het bovenstaande model mag enkel toegepast worden indien de residuen normaal verdeeld zijn en er een gelijkheid van varianties is. Er werd aangenomen dat bij de statistische verwerking van deze proeven aan de homoscedastisiteit werd voldaan. De gelijkheid van varianties werd getest met behulp van de Levene's test. De normaliteit werd nagegaan door gebruik te maken van een QQ-plot en daarbij horend histogram.

Tussen bedrijf A en B was er een niet volledig synchroon verloop van de observaties, nl. bij bedrijf A werd op week 13 geobserveerd en bij bedrijf B op week 14. Bij de presentatie van de resultaten zullen de observaties van bedrijf A op week 13 gecombineerd worden met deze van week 14 op bedrijf B. Op de grafieken zal dit als week 14 benoemd worden.

Verder waren bij bedrijf B, tijdens observatieweken 0, 2 en 15 geen beren bij de single sex huisvesting aanwezig. Bij de resultaatsverwerking werden enkel de observaties vanaf week 4 tot en met week 14 in rekening gebracht. Door deze werkwijze werden steeds dezelfde beren in de resultaten verwerkt.

De overige observaties van de gedragingen die niet voldeden aan de homoscedasticiteit werden niet statistisch verwerkt, maar wel beschrijvend weergegeven.

De verwondingen van de staart werden noch statistisch noch beschrijvend verwerkt. Tijdens de observaties was men slechts in de mogelijkheid om minder dan 50 % van de staarten te observeren. Het was niet aangewezen om de dieren telkens te doen rechtstaan, omdat dit aanleiding kan geven tot stress, wat een verhoogde kans op sterfte met zich meebrengt.

Voor het verwerken van de sensorische gegevens, werd onderscheid gemaakt tussen een lichte en sterke aanwezigheid van berengeur (=stinker). Een observatie van een lichte stinker kreeg score 1, vanaf score 2 tot 4 worden sterke stinkers gescoord. Om de individuele variatie per staal te beperken werd de mediaan van de scores van de verschillende testpersonen genomen. Wanneer de mediaan minstens “2” bedroeg, werd er aangenomen dat er berengeur waarneembaar was.

2.2. Proef 2 : stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet

In deze proef werd de invloed van bewaring op de berengeurcomponenten (indol, skatol en androstenon) bestudeerd. Zowel de temperatuur van bewaring als de duur van bewaring werden onderzocht. Deze proef maakt deel uit van een langdurig experiment (2 jaar) omtrent de invloed van bewaring. Tot op heden is de invloed van bewaring bij -20 °C en -80 °C op zowel berengeurcomponenten als sensorische score nog niet beschreven.

Berengeur werd zowel via chemische analyse, alsook via sensorische analyse bepaald. De concentraties van de componenten werden via ultra hoge performantie vloeistof chromatografie met hoge resolutie - massaspectrometrische detectie bepaald (Bekaert et al., 2012). Voor de sensorische analyse werd de soldeerboutmethode gebruikt.

Enerzijds werd de invloed van de bewaartijd op berengeur onderzocht. Anderzijds werd nagegaan wat de invloed van de bewaartemperatuur op de berengeurcomponenten was, namelijk bij -20 °C en -80 °C. Deze gehele proef vond plaats gedurende een tijdsspanne van twee maanden. De analyses werden uitgevoerd op 3 tijdstippen: (1) bij verwijdering van het vet van het karkas (vers vet), (2) na één maand invriezen bij -20 °C en (3) na twee maanden invriezen bij een temperatuur van -20 °C en -80 °C.

Het uiteindelijke doel van deze proef is om na te gaan hoelang en onder welke condities (vriestemperatuur) vetstalen kunnen bewaard worden zonder een significante verandering in de concentraties aan berengeurcomponenten en sensorische evaluatie van berengeur.

2.2.1. Staalname

De stalen werden verkregen via slachthuis VION (Boxtel, Nederland). In het slachthuis werden karkassen geëvalueerd op de aanwezigheid van berengeur via de soldeerboutmethode. De volgende dag, werd een selectie van deze stalen opnieuw sensorisch gescoord in het laboratorium (ILVO) door experts (werkwijze zie proef 1 (2.1.2.2.)). Vervolgens werden in totaal 40 stalen uitgekozen voor chemische analyse waarvan 10 duidelijk positief voor berengeur ("stinkers") en 30 blanco's (gelten).

Deze 40 stalen werden onthuid en in evenredige stukken verdeeld, gelabeld en vacuüm verpakt. De verschillende stalen werden in plastic zakjes van (120*200 mm) verpakt en onder vacuüm gezogen. In het kader van deze masterproef, werden vier van deze stukken weerhouden: één stuk om vers te analyseren, één om na één maand diepgevroren bij -20 °C te analyseren en twee stukjes om na twee maanden invriezen bij -20 °C en bij - 80 °C te analyseren. De overige stukken werden bewaard om deze proef gedurende twee jaar verder te kunnen uitvoeren.

2.2.2. Chemische analyse

2.2.2.1. Staalvoorbereiding

De chemische analyse vond op drie verschillende tijdstippen plaats. Eenmaal bij vers vet (02/02/2015), eenmaal na één maand invriezen (03/03/2015) en de laatste maal na twee maand invriezen (09/04/2015). Bij de eerste analyse werden alle 40 stalen onderzocht. Bij de tweede en derde analyse werden enkel de effectieve stinkers geanalyseerd.

Daags voor extractie werden de vetstalen versneden in kleine stukjes. Van elk staal werd 2 gram afgewogen, met een afwijking van 0,05 gram, in een soviraalflesje. De werkwijze van de extractie was steeds dezelfde voor de drie tijdstippen met als enige verschilpunt het bewaren van het versneden vet aan 4 °C voor tijdstip 1, terwijl dit aan respectievelijk -20 °C of -80 °C gebeurde voor tijdstippen 2 en 3. Bij de versnijding van het vet, werd ervoor gezorgd dat de stalen zo weinig mogelijk ontdooiden door ze op ijs te bewaren. Pas voor extractie van de stalen, werden de ingevroren staaltjes ontdooid.

2.2.2.2. Aanmaak van stockoplossingen voor spikeoplossingen en interne standaard (IS)

Om berengeurcomponenten in vet te kwantificeren, is het nodig een ijklijn op te stellen. Hiervoor werd blanco vet (van gelten) gespiked met een mengsel van skatol, androstenon en indol (spikemengsel). In totaal werden er 13 verschillende concentraties gespiked voor het maken van een ijklijn van 14 punten, het eerste ijklijnpunt is immers altijd een blanco. De spikemengsels voor de ijklijn werden gemaakt zoals weergegeven in onderstaande Tabel 4. Er werd gestart van een stockoplossing van skatol, indol en androstenon van telkens 2 mg/ml.

Tabel 4: Overzicht voor het aanmaken van de spikemengsels voor het spiken van de ijklijnpunten (IND=indol; SKA=skatol; AOEN=androstenon)

Ijklijnpunt	Eindconcentratie spike (ng/μl)	Volume IND stock-oplossing (μl)	Volume SKA stock-oplossing (μl)	Volume AOEN stock-oplossing (μl)	Concentratie tussenoplossing van IND + SKA en AOEN (ng/μl)	Volume tussenoplossing van IND + SKA en AOEN (μl)	Volume MeOH (μl)	Totaal volume (ml)
N	500	500	500	500			500	1
M	400	200	200	200			600	2
L	300	150	150	150			550	1
K	200	100	100	100			700	1
J	100				500	400	1600	2
I	75				500	150	850	1
H	50				500	100	900	1
G	25				100	500	1500	2
F	10				100	100	900	1
E	7,5				25	300	700	1
D	5				25	200	800	1
C	2,5				25	100	900	1
B	1				10	100	900	1

Tabel 5 beschrijft de concentratie van de drie componenten in het vet wanneer 20 µl van het ijklijn punt gespiked wordt.

Tabel 5: Ijklijnconcentraties in het vet (0-5000 µg/kg)

Ijklijn punt	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
C Stock (ng/µl)		1	2,5	5	7,5	10	25	50	75	100	200	300	400	500
V (µl)		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
C in vet (µg/kg)		10	25	50	75	100	250	500	750	1000	2000	3000	4000	5000

2.2.2.3. Werkwijze extractie

De staalextractie gebeurde doorgaans in reeksen van 10 stalen, waarbij er werd op toegezien dat voor elk staal eenzelfde tijdsspanne werd voorzien waarbinnen vet en toegevoegde oplossingen aan berengeur- en interne standaarden kunnen interageren alvorens de extractie verder te zetten.

Voorts is de extractie identiek voor onderzoeks- en ijklijn stalen, met dat verschil dat de ijklijn stalen uiteraard eerst gespiked moeten worden met de respectievelijke ijklijnconcentraties aan berengeur.

Tijdens het spiken van deze blanco stalen werden de spikes zo goed mogelijk onder het vet vermengd met de pipetpunt.

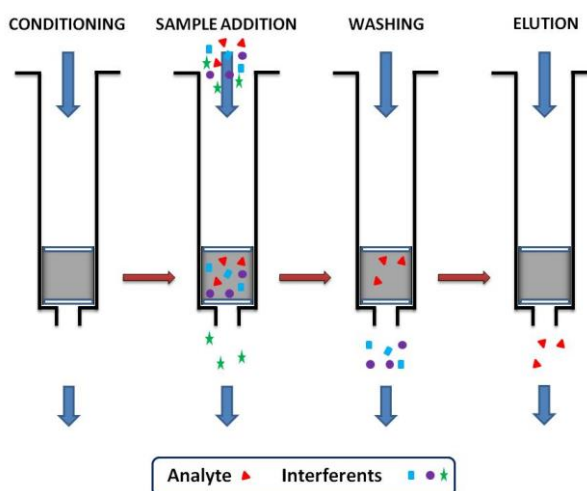
Er werd daarbij bijzondere aandacht besteed aan het wisselen van pipettips om contaminatie van stock- en werkoplossingen (van berengeur- en interne standaarden), alsook fouten bij het spiken van de vetstalen, te vermijden. Vervolgens werden alle stalen, inclusief de onderzoekstalen, gesupplementeerd, en grondig ingemengd, met de interne standaarden (IS). Deze interne standaarden zijn 2-methylindol (2-MID) (voor indol en skatol) en androstadienedion (1,4-androstadiene-3,17-dione (ADD)) (voor androstenon). Er werd telkens 20 µl van een combinatie-oplossing van 50 ng/µl 2-MID en 50 ng/µl ADD gespiked. Voor het maken van deze oplossing werd 250 µl 2-MID en 250 µl ADD uit een stockoplossing van 1 mg/ml aangelengd tot 5 ml met methanol (4500 µl). De reden waarom deze interne standaarden werden toegevoegd aan de stalen is om te corrigeren voor eventuele fouten of variaties die kunnen optreden tijdens extractie maar ook bij de vloeistofchromatografische en massaspectrometrische analyse. De interne standaard bevat immers componenten die qua chemische eigenschappen goed gelijken op de te analyseren componenten, waardoor evenveel component als IS verloren gaat. De analyten worden dan ook geïdentificeerd op basis van hun retentietijd en area relatief tegenover deze van de interne standaard naast hun accurate gewicht.

Daarna werden de stalen gevortext, om de eventuele spike en de IS nog meer te verdelen over het vet en tevens het vet te concentreren tot hoopvorming om het smeltproces te standaardiseren. Om het vet te smelten, werd het soviraalflesje in een microgolfoven (Samsung grill GE82V, TDS triple distribution sytem, 100 - 800W) geplaatst gedurende 2 minuten 30 sec op 300 W. Vervolgens werd het flesje geschud en opnieuw, gedurende 30 seconden, in de microgolfoven geplaatst. Dit laatste werd indien nodig herhaald tot er 150 µl vloeibaar vet aanwezig was. Dit vloeibaar vet werd eerst goed vermengd in het flesje alvorens 150 µl op te pipetteren en in een epje te brengen met daarin 750 µl methanol. Om de oplossing goed te mengen werd het epje goed geschud. Daarna werden de epjes in een warmwaterbad gebracht van 60 °C gedurende 60 minuten. Na 30 minuten werden de epjes

nog eens geschud. Dit warmwaterbad bevordert de overgang van de componenten uit het vet naar het solvent (methanol).

Na de 60 minuten in het warmwaterbad, werden de epjes gedurende minstens 60 minuten in de diepvries geplaatst bij - 20 °C. Dit proces zorgt voor het ophelderen van het supernatans. Nadien, werden de stalen gecentrifugeerd zonder te laten ontdooien aan 17.000 g gedurende 5 minuten bij 4 °C in een eppendorfcentrifuge (Thermo Scientific). Van het supernatans in het epje werd 500 µl afgenomen. Hierbij werd contact met het sediment in het epje vermeden. Dit supernatans werd in een plastic reageerbuis gepipetteerd (15 ml nunc buis), daarbij werd 9,5 ml ultra puur water toegevoegd.

Hierna werd Solid Phase Extraction (SPE) (Oasis HLB 3cm³ (60 mg)) uitgevoerd (Fig. 20), voor het verder opzuiveren van de componenten in de vloeistof. Eerst werd de cartridge geconditioneerd en geëquilibreerd met respectievelijk 2 ml methanol (100%) en 2 ml methanol (5%). Daarna werd het staal geladen (10 ml). Dit proces werd versneld door gebruik te maken van een vacuümpomp, doch de cartridge mocht hierbij niet uitdrogen. Na het laden werd de cartridge



gewassen met 2 ml methanol (20%). Fig. 20: Solid phase extraction (Lucci et al., 2012)

En als laatste vond de elutie plaats. Dit gebeurde met 1 ml methanol (100%), waarbij de vloeistof die doorheen de cartridge sijpelde, opgevangen werd in afzonderlijke buisjes.

Van dit opgevangen extract werd er 100 µl gepipeteerd en overgebracht in een plastic LC-MS vial, daarbij werd 100 µl 0,05 % mierenzuur (HCOOH) toegevoegd. Dit werd nog eens gevortext.

Nu zijn de componenten van berengeur aanwezig in de plastic LC-MS vial. En kan men deze gaan analyseren met behulp van ultra-high performance vloeistof chromatografie gekoppeld aan een hoge resolutie massaspectrometer (Exactive, Thermo Fisher Scientific) (Bekaert et al., 2012).

2.2.2.4. Instelparameters toestel

Het U-HPLC systeem bestaat uit een Thermo Fisher Scientific (San José, CA, USA) Accela U-HPLC pomp systeem gekoppeld aan een Accela Autosampler en Degasser. De scheiding van de berengeurcomponenten is uitgevoerd door een Hypersil Gold kolom (1,9 µm, 50 mm x 2,1 mm ID) (Thermo Fisher Scientific). De mobiele fase is een mix van methanol en 0,05 % mierenzuur, gepompt aan een snelheid van 0,3 mL/min. De optimale scheiding van de berengeurcomponenten vindt plaats volgens de gradiënt weergegeven in Tabel 6.

Tabel 6: Lineaire gradiënt voor de scheiding van berengeurcomponenten in een U-HPLC (Bekaert et al., 2012)

Tijd	% 0,05 Mierenzuur	% Methanol
0,00	50	50
0,01	53	47
2,57	50	50
3,00	5	95
6,00	0	100
8,00	0	100
8,01	50	50
10,00	50	50

De in te stellen parameters voor het toestel bevinden zich in Tabel 7.

Tabel 7: Parameters voor Exactive, Thermo Fisher Scientific (Bekaert et al., 2012)

Spray voltage (kV)	5
Sheat gas flow rate (arbitrary units, au)	40
Sweep gas flow rate (au)	2
Auxiliary gas flow rate (au)	10
Capillary temperature (°C)	270
Heater temperature (°C)	250
Capillary voltage (V)	70
Tube lens voltage (V)	90
Skimmer voltage (V)	20

2.2.3. Sensorische analyse

De sensorische analyse gebeurde door vier testpersonen (2 vrouwen en 2 mannen) van het ILVO met behulp van de soldeerboutmethode. De stalen van de stinkers en blanco's werden in een random volgorde aangeboden, en de proef liep telkens met 2 herhalingen (uitzondering was de eerste analyse waarbij maar in één herhaling werd gewerkt). Voor de werking van de soldeerboutmethode wordt verwezen naar proef 1 (2.1.2.2.).

Het sensorisch onderzoek omvatte drie dagen, waarop telkens dezelfde proef volgens hetzelfde concept zoals hoger beschreven werd uitgevoerd.

2.2.4. Dataverwerking

2.2.4.1. Sensorische analyse

De data van het sensorische onderzoek werd verwerkt met SPSS Statistics 22 en R 310. Als model werd gekozen voor het lineair mixed model. Voor de eerste en tweede sensorische test waren de scores van de panelleden de afhankelijke variabelen. Voor de derde sensorische test waren de scores van de panelleden tevens de afhankelijke variabelen. De beïnvloedende factoren voor beiden proeven bevinden zich in Tabel 8. Deze factoren werden onderverdeeld in gefixeerde factoren en random factoren. Verder werd een multiple comparison of mean (t-test) met correctie voor meervoudige vergelijking (t-) toegepast.

Tabel 8: Beïnvloedende factoren statistische verwerking

	Fixed factor	Random factor
Proef 1 & 2	Tijdstip	Stalen
		Panelleden
Proef 3	Temperatuur	Stalen
		Panelleden

De score van de sensorische analyse werd uitgezet op een ordinale schaal van 0 tot 4. Bij waarneming van een afwijkende geur, niet definieerbaar als berengeur, werd de score X ingevuld. Bij de verwerking werd aan X-score een waarde 0,5 toegekend.

Het bovenstaande model mag enkel toegepast worden indien de residuen normaal verdeeld zijn en er een gelijkheid van varianties is. Er werd aangenomen dat bij de statistische verwerking van deze proeven aan de homoscedasticiteit werd voldaan. De gelijkheid van varianties werd getest met behulp van de Levene's test. De normaliteit werd nagegaan door gebruik te maken van een QQ-plot en daarbij horend histogram.

2.2.4.2. Chemische analyse

Identificeren van de pieken en berekenen van de concentraties indol, skatol en androstenon gebeurde met het programma Xcalibur v 1.2.1 (Thermo Fisher Scientific, USA). Er werd een massa tolerantie van 5 µg/kg ingesteld. Bij het processen van de data werd de ijklijn standaard in twee gesplitst: een ijklijn van 0-100 µg/kg en één van 0-100-5000 µg/kg. Stalen werden geanalyseerd op basis van de ijklijn met de meest geschikte range (geen extrapolatie).

De toegepaste chemische methode voor simultane bepaling van de drie berengeurcomponenten in vet werd in het verleden gevalideerd tot ijklijnpunt 2000 µg/kg. De techniek werd echter 2 jaar geleden uitgebreid met analyses in het lineaire gebied tot 5000 µg/kg. Waarden boven deze grens mogen niet als betrouwbaar beschouwd worden.

De data van het chemische onderzoek werd ook verwerkt met SPSS Statistics 22 en R 310. Als model werd gekozen voor het lineair mixed model. Voor de test was de concentratie van de berengeurcomponenten de afhankelijke variabele. De beïnvloedende factoren waren het tijdstip van scoring (vers, na één maand of na twee maanden) en de verschillende stalen. De beïnvloedende factoren werden verdeeld in gefixeerde en random factoren. Het tijdstip van scoring was de gefixeerde factor, de stalen de random factoren. Verder werd een multiple comparison of mean (t-test) met correctie voor meervoudige vergelijking (tukey) toegepast.

Het bovenstaande model mag enkel toegepast worden indien de residuen normaal verdeeld zijn en er een gelijkheid van varianties is. Er werd aangenomen dat bij de statistische verwerking van deze proeven aan de homoscedastisiteit werd voldaan. De gelijkheid van varianties werd getest met behulp van de Levene's test. De normaliteit werd nagegaan door gebruik te maken van een QQ-plot en daarbij horend histogram.

2.3. Proef 3 : invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen

In deze proef werd onderzocht of een voorafgaandelijke blootstelling aan de componenten skatol en androstenon een invloed (positief of negatief) had op de detectie van berengeur. Een eerdere studie, uitgevoerd op het ILVO, gaf immers aan dat personen die niet getraind waren voor berengeurdetectie, maar in het verleden reeds in contact geweest waren met de componenten van berengeur met een hogere betrouwbaarheid scoorden in vergelijking met personen die geen ervaring hadden met berengeur.

Dit werd onderzocht door de testpersonen geurstrips met hoge concentraties skatol en androstenon te laten ruiken voorafgaand aan het ruiken van de vetstalen. De sensorische analyse werd uitgevoerd volgens de soldeerboutmethode. Deze proef werd uitgevoerd in twee herhalingen en op twee verschillende testdagen. Op een testdag werd zowel de analyse gedaan met als zonder strips. De eerste dag werd enkel in de namiddag strips gebruikt. De tweede dag werden enkel in de voormiddag strips gebruikt.

2.3.1. Voorbereiding stalen

De test werd uitgevoerd met 60 stalen, waarvan twee herhalingen van 10 stinkers (20 stalen). De overige 40 stalen waren afkomstig van ad random gekozen geltenstalen en waren niet steeds afkomstig van hetzelfde dier.

Deze stalen waren afkomstig van slachthuis VION (Boxtel, Nederland) en werden vacuüm verpakt en bewaard op -20 °C. De stalen die gebruikt werden voor de test, werden uit de vacuüm plastic verpakking gehaald en verdeeld over twee testdozen aangezien de proef over twee dagen verliep. Telkens 10 stinkers en 20 stalen van gelten per doos. De 10 stinkers werden in verschillende volgorde geplaatst over de twee sessies (2 dagen) heen. Gedurende de dag werd ook de plaats van de stinkers gewijzigd tussen de voor- en namiddagsessie, om dezelfde reden. Van de 10 stinkers was de chemische concentratie gekend van indol, skatol en androstenon.

Na de voorbereiding van de proef werden de twee dozen met elk 30 stalen terug in de diepvries op - 20 °C geplaatst. De dag voor de sensorische analyse werd de doos uit de diepvries gehaald en in de koelkast geplaatst op een temperatuur van 5 °C om langzaam te ontdooien.

2.3.2. Voorbereiding geurstrips

Er werden twee geurstrips klaargemaakt met een concentratie van 50 µg/g, één met androstenon en één met skatol. Met een pipet werd 20 µl opgezogen van een oplossing van 50 µg/g en op één uiteinde van de papieren geurstrips geabsorbeerd. Vervolgens werden de geurstrips in plastic reageerbuizen geplaatst en met een dop afgesloten. Bij de gehanteerde concentraties is er zekerheid dat het testpanel in de mogelijkheid is om de componenten waar te nemen.

2.3.3. Sensorische analyse

De proef verliep over twee dagen met telkens dezelfde 5 testpersonen (2 vrouwen en 3 mannen). Deze testpersonen zijn getraind voor de detectie van berengeur met de soldeerboutmethode. De stalen werden geroken met behulp van de soldeerboutmethode, zoals beschreven in proef 1 (2.1.2.2). Om het vetstaal op gelijke temperatuur aan te bieden aan de verschillende testpersonen werd na elke testpersoon de vetstalen in de koelkast geplaatst, zodat de temperatuur van iedere vetstaal voor elke testpersoon identiek was. In het namiddag gedeelte werd de volgorde van de stinkers veranderd. Tevens werd bij elk vetstaal de reeds verschroeide plaatsen weggesneden met een slagmes om beïnvloeding van schroeien te vermijden.

In de voormiddag werden de stalen gescoord zonder voorafgaand aan de strips te ruiken. In de namiddag kende de proef een identiek verloop doch bijkomend diende het testpanel voorafgaand te ruiken aan de twee geurstrips. Vooreerst werd skatol aangeboden en vervolgens androstenon.

De tweede dag kende een identiek verloop als de eerste proefdag doch de geurstrips werden in het voormiddag gedeelte aangeboden en niet in de namiddag. Door deze wissel werden de effecten die verschillen in het ruiken tussen het voormiddag- en namiddag gedeelte uitgesloten.

De proef ging in de voormiddag van start om 10.00 uur en liep tot 11.30 uur. In de namiddag werd de proef hernomen om 14.00 uur en liep tot 15.00 uur. De proef werd op 2 dagen uitgevoerd in dezelfde week.

3.3.4. Dataverwerking

De data werd verwerkt met SPSS Statistics 22. Als model werd gekozen voor het lineair mixed model. De scores van de panelleden zijn de afhankelijke variabelen. Deze werd drie maal doorlopen, de eerste keer met de score van alle stalen, de tweede keer met de score van de stinkers en de laatste keer met de score van de blanco's. De beïnvloedende factoren zijn de verschillende stalen, de panelleden, het tijdstip van scoring (voor-of namiddag) en het al dan niet gebruik van geurstrips. De beïnvloedende factoren werden verdeeld in gefixeerde en random factoren. Het tijdstip van scoring en het gebruik van geurstrips zijn gefixeerde factoren, de stalen en panelleden als random factoren.

De score van de sensorische analyse werd uitgezet op een ordinale schaal van 0 tot 4. Bij waarneming van een afwijkende geur, niet direct definieerbaar als berengeur werd de score X ingevuld. Bij de verwerking werd aan X-score een waarde 0,5 toegekend.

Het bovenstaande model mag enkel toegepast worden indien de residuen normaal verdeeld zijn en er een gelijkheid is van varianties. Er werd aangenomen dat bij de statistische verwerking van deze proeven aan de homoscedasticiteit werd voldaan. De gelijkheid van varianties werd getest met behulp van de Levene's test. De normaliteit van de residuen werd nagegaan door gebruik te maken van een QQ-plot en daarbij horend histogram.

3. Resultaten

3.1. Proef 1 : invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren

3.1.1. Huidlesies, dierbevuiling, hokbevuiling en gedrag "inactiviteit", "eten/drinken", "spelen", "bewegen" en "seksueel"

Uit de data van de afmestperiode werden elf observaties statistisch verwerkt: de aanwezigheid van huidlesies, de dierbevuiling, de hokbevuiling, het gedrag "inactiviteit", "eten/drinken", "spelen", "bewegen" en "seksueel". Spelen is een clustering van de gedragingen spelen, interactie en manipuleren. Seksueel gedrag is een clustering van de gedragingen manipuleren en anogenitaal snuffelen.

Er werd een onderscheid gemaakt voor het tijdstip (de verschillende weken van observatie) en de groep (single of mixed sex huisvesting).

De observaties gingen van start op week 4 van de afmestperiode (leeftijd= $\pm$ 133 dagen;19 weken) en liepen tot week 14 van de afmestperiode (leeftijd = $\pm$ 203 dagen;29 weken).

Tabel 9 : Invloed van tijdstip en single/mixed sex huisvesting op huidlesies, dierbevuiling, hokbevuiling en gedrag "inactiviteit", "eten/drinken", "spelen", "bewegen" en "seksueel" (t-test)

Afhankelijke variabele	Fixed factor	p-waarde
Score huidlesies	Tijdstip	0,119
Score huidlesies	Groep	0,439
Score dierbevuiling	Tijdstip	0,000
Score dierbevuiling	Groep	0,118
Score hokbevuiling	Tijdstip	0,000
Score hokbevuiling	Groep	0,692
Gedrag "inactiviteit"	Tijdstip	0,000
Gedrag "inactiviteit"	Groep	0,000
Gedrag "eten/drinken"	Tijdstip	0,000
Gedrag "eten/drinken"	Groep	0,002
Gedrag "spelen"	Tijdstip	0,000
Gedrag "spelen"	Groep	0,027
Gedrag "bewegen"	Tijdstip	0,000
Gedrag "bewegen"	Groep	0,027
Gedrag "seksueel"	Tijdstip	0,057
Gedrag "seksueel"	Groep	0,001

3.1.1.1. Huidlesies

Het aantal geobserveerde huidlesies bleven over de gehele afmestperiode vrij constant zowel voor de single als mixed sex (Fig. 21, Tabel 9).

De gemiddelde scores van de mixed sex liggen gedurende de gehele periode iets hoger dan de single sex, respectievelijk 1,77 en 1,64. Dit verschil kan echter niet statistisch worden aangetoond (Tabel 9).

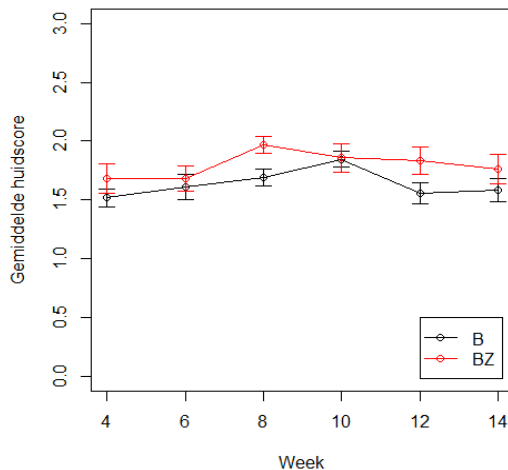


Fig. 21: De gemiddelde score van huidlesies bij single sex versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex), gescoord op een schaal van 0 tot 5

3.1.1.2. Dierbevuiling

De dierbevuiling stijgt licht naar het einde van de afmestperiode zowel voor single als mixed sex (Fig. 22, Tabel 9).

Rond week 8 (leeftijd=± 161 dagen; 23 weken) is er een sterke daling waarneembaar bij single sex (1,77). Dit is minder waarneembaar bij de mixed sex. De verschillen tussen de single (gemiddeld 2,1) en mixed sex (gemiddeld 2,21), voor de observaties van dierbevuiling, kunnen niet significant worden bevestigd (Tabel 9).

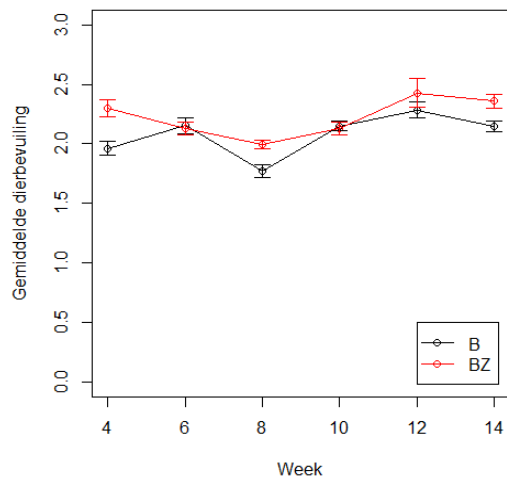


Fig. 22: De gemiddelde score van dierbevuiling bij single sex versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex), gescoord op een schaal van 0 tot 4

3.1.1.3. Hokbevuiling

De hokbevuiling daalt significant naar het einde van de afmestperiode zowel voor single als mixed sex (Fig. 23, Tabel 9).

De gemiddelde score voor hokbevuiling was 0,42 bij single sex en 0,51 voor mixed sex huisvesting. De scores voor hokbevuiling liggen numeriek lager bij de mixed sex dan bij de single sex huisvesting met uitzondering van week 4 en 14. Dit werd niet significant aangetoond (Tabel 9).

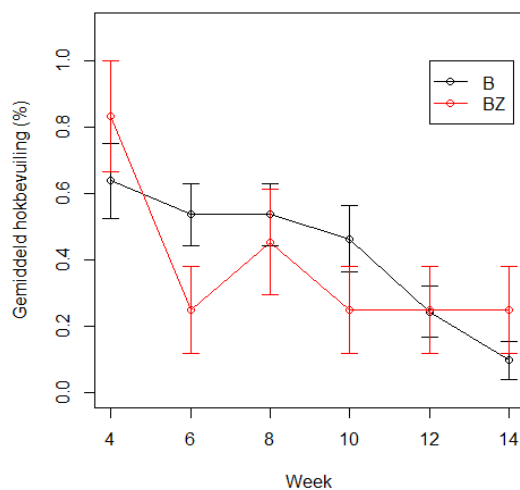


Fig. 23: De gemiddelde score hokbevuiling bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B=single sex; BZ= mixed sex), gescoord op een schaal van 0 tot 4

3.1.1.4. Gedrag "inactiviteit"

Het gedrag "inactiviteit" kent een significante stijging tegen het einde van de afmestperiode (Fig. 24, Tabel 9).

Rond week 8 (leeftijd=± 161 dagen; 23 weken) is er een duidelijke stijging waarneembaar bij zowel de single (81,5 %) als mixed sex (65,4 %).

De inactiviteitsgraad ligt gedurende de gehele afmestperiode significant hoger bij de single sex in vergelijking bij de mixed sex (Tabel 9). Het gemiddeld waargenomen percentage van het gedrag "inactiviteit" van de single sex is 72,16 % en bij mixed sex 58,64 % t.o.v. de totaal aantal waargenomen gedragingen.

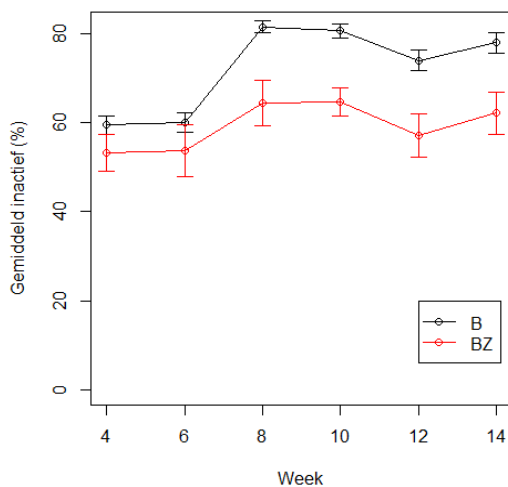


Fig. 24: Het gemiddelde percentage van gedrag "inactiviteit" bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.1.5. Gedrag "eten/drinken"

Het gedrag "eten/drinken" kent een daling tot week 8 (leeftijd= ± 161 dagen; 23 weken) bij zowel de single als mixed sex (Fig. 25). Na week 8 wordt een toename van het gedrag "eten/drinken" waargenomen, maar het blijft lager dan tijdens de 1^{ste} weken van de afmestperiode. Deze daling is significant (Tabel 9).

Tijdens de ganse afmestperiode, met uitzondering van week 6, was het gedrag "eten/drinken" significant meer aanwezig bij mixed sex dan single sex (Tabel 9).

Bij mixed sex toonden de beren gemiddeld 9,7 % van de tijd eet- en drinkgedrag, voor de single sex beren was dit 8,1 %.

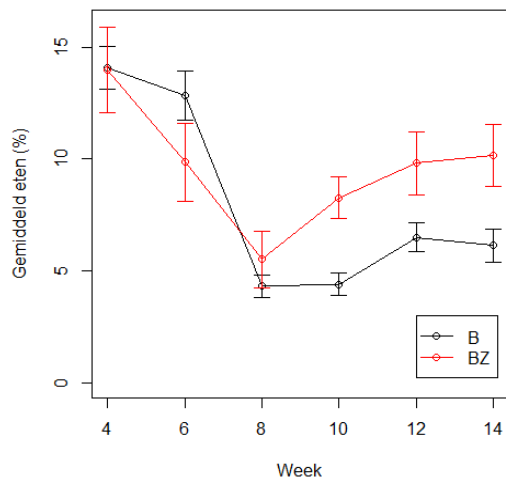


Fig. 25: Het gemiddelde percentage van gedrag "eten/drinken" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.1.6. Gedrag "spelen"

Het gedrag "spelen" is een cluster van de gedragingen "spelen", "interactie" en "manipuleren" (Fig. 26). De waarnemingen van het gedrag "spelen" dalen gedurende de afmestperiode significant (Tabel 9). Er is een forse daling in week 8 (leeftijd=± 161 dagen; 23 weken) waarneembaar bij zowel de single als mixed sex.

Er is een duidelijk verschil waarneembaar van het gedrag "spelen" tussen de single en mixed sex waarbij het gedrag "spelen" significant minder aanwezig is bij de single (16,0 %) dan bij mixed sex beren (26,2%) (Tabel 9).

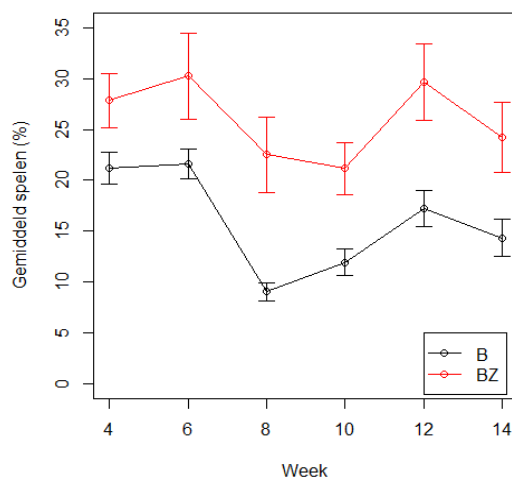


Fig. 26: Het gemiddelde percentage van gedrag "spelen" bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.1.7. Bewegen

De waarnemingen van het gedrag “bewegen” dalen gedurende de afmestperiode significant (Fig. 27, Tabel 9).

Er is ook een duidelijk verschil waarneembaar van het gedrag “bewegen” tussen de single en mixed sex waarbij het gedrag “bewegen” significant minder aanwezig was bij single sex (2,0 %) dan bij mixed sex beren (3,0 %) (Tabel 9).

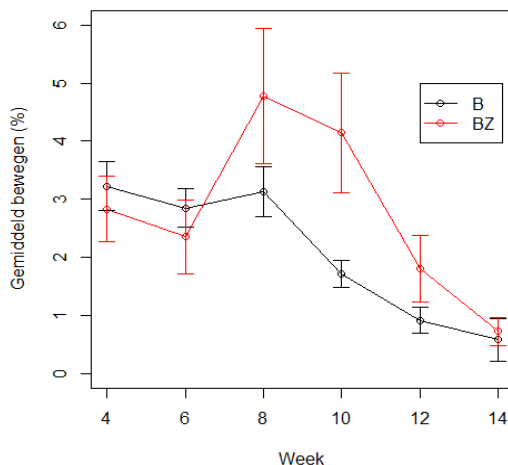


Fig. 27: Het gemiddelde percentage van gedrag "bewegen" bij single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.1.8. Gedrag “seksueel”

Het gedrag “seksueel” is een cluster van de gedragingen “bestijgen” en “anogenitaal snuffelen”.

De waarnemingen van het gedrag “seksueel” vertonen naar het einde van de afmestperiode een daling, met uitzondering in week 14 (leeftijd= ± 203 dagen; 29 weken) bij de mixed sex huisvesting (Fig. 28). Deze daling is niet significant (Tabel 9).

Er is ook een duidelijk verschil waarneembaar van het gedrag “seksueel” tussen de single en mixed sex waarbij het gedrag “seksueel” significant minder aanwezig was bij single sex (0,9 %) dan bij mixed sex beren (1,6 %) (Tabel 9).

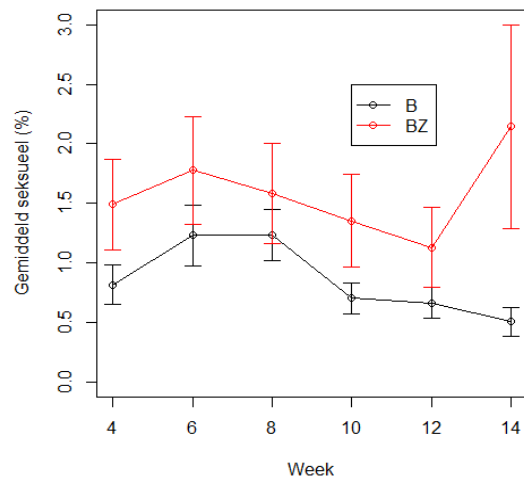


Fig. 28: Het gemiddelde percentage van gedrag "seksueel" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.2 Gedrag “oor- en/of staartbijten” en “agressie”

De onderstaande observaties voldeden niet aan de voorwaarden van normaliteit van de residuen voor verdere statistische verwerking. De resultaten worden daarom beschrijvend weergegeven.

3.1.2.1. Gedrag “oor- en/of staartbijten”

Het aantal geobserveerde gedragingen zijn heel gering, wat een besluitvorming verhindert (Fig. 29).

Het gemiddelde percentage van “oor- en/of staartbijten” is bij single en mixed sex respectievelijk 0,4 % en 0,3 % t.o.v. het totaal aantal gedragingen.

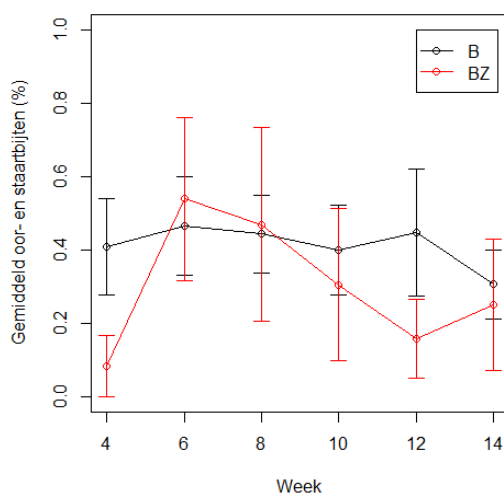


Fig. 29: Het gemiddelde percentage van gedrag "oor- en/of staartbijten" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.2.2. Gedrag “agressie”

Het gedrag “agressie” wordt in beperkte mate geobserveerd waardoor fluctuaties voorzichtig dienen geïnterpreteerd te worden. Er is een stijging van gedrag “agressie” waarneembaar tot week 6 (leeftijd= ± 147 dagen; 21 weken), maar een daling tot week 10 (leeftijd= ± 175 dagen; 25 weken) om vervolgens te stagneren tot het einde van de afmestperiode (Fig. 30).

Het gemiddeld percentage van agressief gedrag t.o.v. het totaal aantal gedragingen is 0,50% bij single sex en 0,60% bij mixed sex .

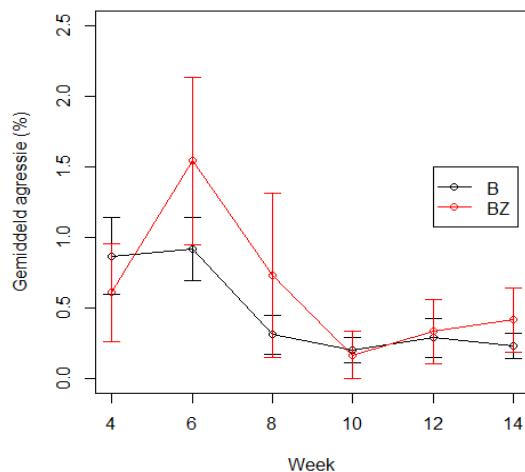


Fig. 30: Het gemiddelde percentage van gedrag "agressie" single versus mixed sex gedurende de afmestperiode (B= single sex; BZ= mixed sex) tegenover totaal aantal gedragswaarnemingen

3.1.3. Proef berengeurdetectie

Uit Tabellen 10 en 11 kan besloten worden dat bij bedrijf A een hogere berengeurprevalentie waar te nemen was bij single sex huisvesting en bij bedrijf B was die prevalentie hoger bij mixed sex. Door de tegenstrijdige resultaten tussen de twee bedrijven kan geen besluit genomen worden.

Tabel 10: Berengeurprevalentie (weergegeven in % en gemiddelde sensorische score) op praktijkbedrijf A

	Praktijkbedrijf A	
	Mixed sex (45 beren)	Single sex (84 beren)
Score >2	4,40%	6,00%
	2,00 ± 0,00	2,17 ± 0,49

Tabel 11: Berengeurprevalentie (weergegeven in % en gemiddelde sensorische score) op praktijkbedrijf B

	Praktijkbedrijf B	
	Mixed sex (83 beren)	Single sex (272 beren)
Score >2	8,40%	3,70%
	2,00 ± 0,49	2,18 ± 0,83

3.2. Proef 2: stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet

3.2.1. Sensorische proef 1: effect van tijd (2 maanden) op de bewaring van vet bij -20°C op de sensorische evaluatie van vetstalen

De analyse toont significante verschillen bij de sensorische evaluatie van het aangeboden vet in verse toestand en na 30 dagen bewaartijd op een temperatuur van -20 °C bij vacuüm bewaarde stalen, waarbij er een daling is in de sensorische waarneming van de berengeurcomponenten. Dit significant verschil wordt ook waargenomen na een invriestijd van 60 dagen bij een identieke invriestemperatuur versus de verse toestand van het vet (Tabel 12).

Tussen de 30 en 60 dagen invriestijd wordt een verdere beperkte daling waargenomen doch statistisch niet significant (figuur 31)

Tabel 12: Het effect van tijdstip, vers (T0), na 30 dagen (T1), na 60 dagen (T2), op bewaring van rugvet bij - 20 °C (t-test)

Tijdstip	p-waarde
T0-T1	0,000
T0-T2	0,000
T1-T2	0,495

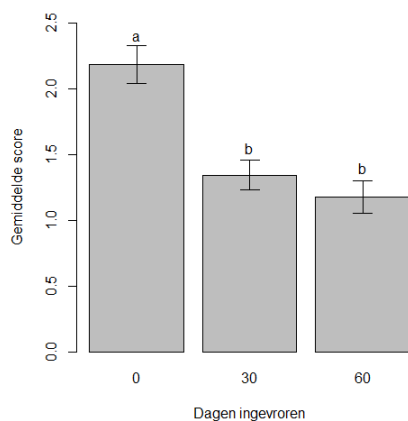


Fig. 31: Het effect van tijdstip op de bewaring bij -20 °C op de sensorische evaluatie van de vetstalen

De beschrijvende figuren 32, 33 en 34 tonen de absolute verdeling van de scores van de sensorische proef. De daling van de sterk afwijkende stalen (score >2) en de stijging van de meer matig afwijkende stalen is opvallend tussen het vers scoren en na 1 maand bewaring.

De resultaten tonen aan dat het invriezen en het bewaren van vet een duidelijke vermindering heeft op de detectie van berengeurcomponenten zowel op de sterk afwijkende als matig afwijkende stalen.

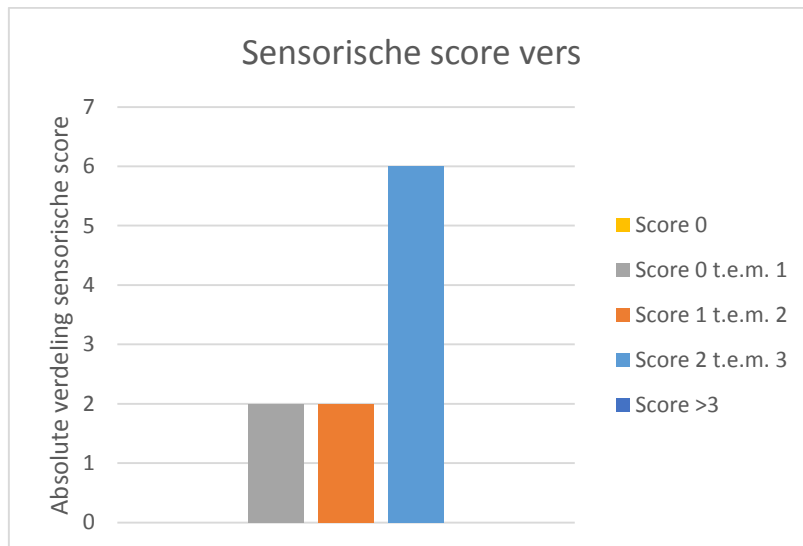


Fig. 32: Absolute frequenties van de scores bij de sensorische proef van 10 stinkers op tijdstip 0 (vers)

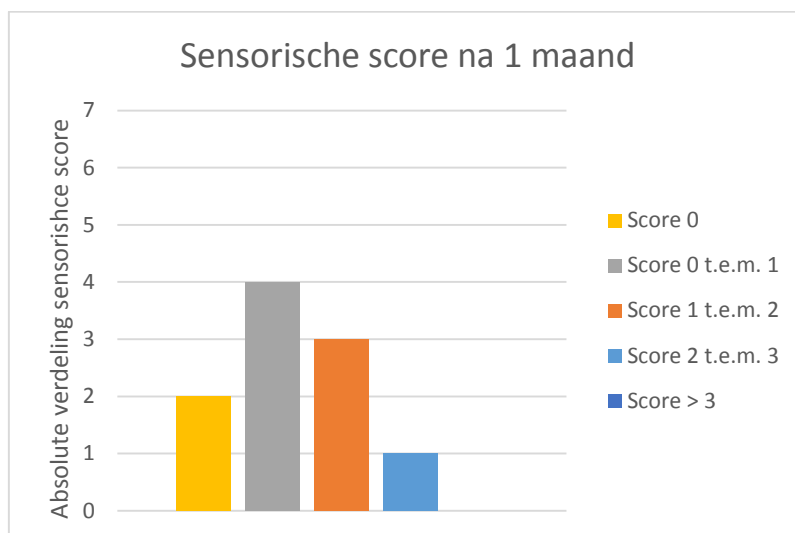


Fig. 33: Absolute frequentie van de scores bij de sensorische proef van 10 stinkers op tijdstip 1 (na 30 dagen)

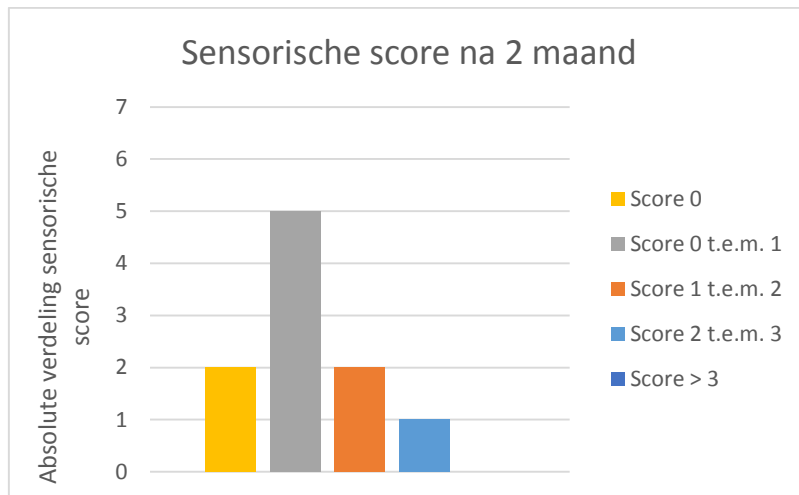


Fig. 34: Absolute frequentie van de scores van de sensorische proef van 10 stinkers op tijdstip 2 (na 60 dagen)

3.2.2. Sensorische proef 2: effect van tijd (2 maanden) op de bewaring bij -80°C op de sensorische evaluatie van de vetstalen

Wanneer de vetstalen ingevroren werden op een temperatuur van -80 °C, is er ook een daling waarneembaar van de gemiddelde scores in vergelijking met verse stalen (Fig. 35).

De scores van de sensorische evaluatie waren significant ($p \leq 0,001$) lager na het invriezen op -80 °C gedurende 2 maanden.

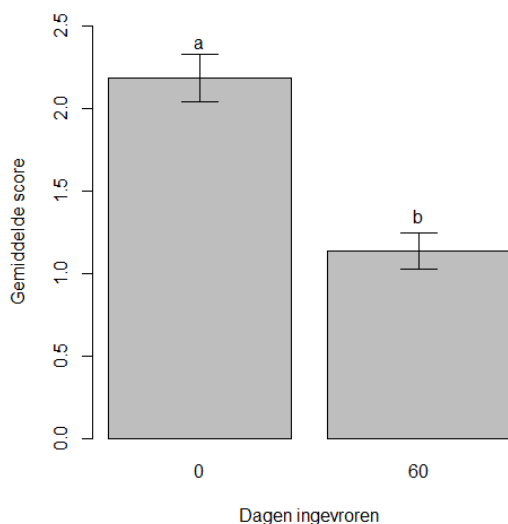


Fig. 35: Het effect van temperatuur op de bewaring (vers versus -80 °C) op de sensorische evaluatie van de vetstalen

3.2.3. Sensorische proef 3: effect van 2 maanden bewaring bij -20 °C versus -80 °C op de sensorische evaluatie van de vetstalen

Wanneer een vergelijking gemaakt werd tussen de twee bewaringstemperaturen respectievelijk -20 °C en -80 °C is er geen verschil waarneembaar in de gemiddelde scores van het sensorische panel (Fig. 36). Dit werd ook statistisch bevestigd ($p=0,737$).

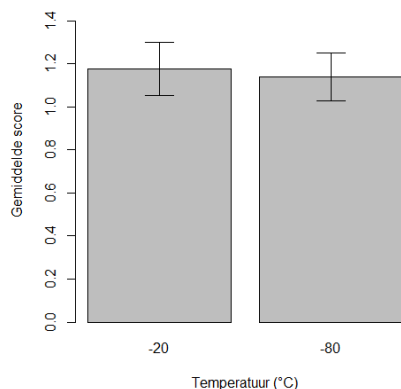


Fig. 36: Het effect van 2 maand bewaring bij -20 °C versus -80 °C op de sensorische evaluatie van de vetstalen

3.2.4. Chemische analyse 1: effect van tijd (2 maanden) op bewaring component indol, skatol en androstenon bij -20 °C

Het effect van tijd werd onderzocht gedurende 2 maanden. De chemische analyse vonden plaats bij vers vet (T0), na 1 maand invriezen (T1) en na 2 maanden invriezen (T2).

Tabel 13: Chemische analyse indol, skatol en androstenon bij vers (T0), na 30 dagen (T1), na 60 dagen (T2) (t-test)

Component	Tijdstip	p-waarde
Indol	T0-T1	0,002
Indol	T0-T2	0,001
Indol	T1-T2	0,987
Skatol	T0-T1	0,074
Skatol	T0-T2	0,008
Skatol	T1-T2	0,527
Androstenon	T0-T1	0,307
Androstenon	T0-T2	0,007
Androstenon	T1-T2	0,001

Na invriezen steeg de concentratie van indol in vergelijking met tijdstip 0 (vers) (Fig. 37). Tussen 30 en 60 dagen invriezen was er bijna geen verschil in concentratie van indol op te merken. Statistisch werd dit ook bevestigd (Tabel 13), waar er significant hoger indol concentraties werd vastgesteld bij invriezen van de stalen in vergelijking met vers vet.

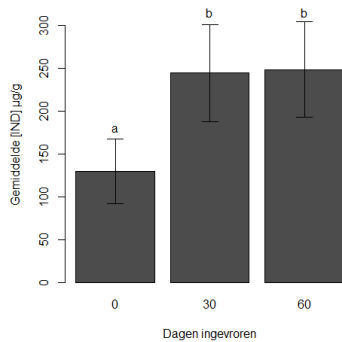


Fig. 37: Het effect van de bewaarduur op de component indol

De gemiddelde skatolconcentratie steeg gedurende de bewaarperiode significant tussen de verse stalen en na 2 maanden bewaring (Fig. 38, Tabel 13).

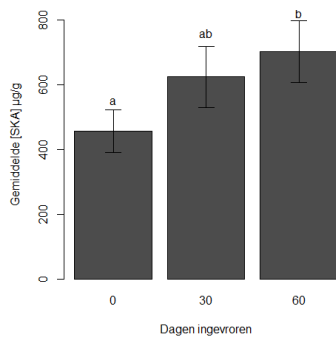


Fig. 38: Het effect van de bewaarduur op de component skatol

De concentratie van androstenon, vertoonde een niet significante daling na 1 maand invriezen (T1) in vergelijking met tijdstip T0 (Fig. 39). De concentratie van androstenon op tijdstip T2 was significant hoger in vergelijking met tijdstip T0 en T1 (Tabel 13).

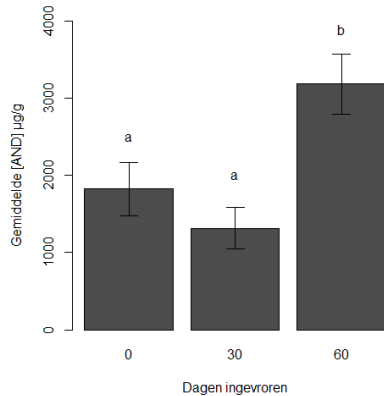


Fig. 39: Het effect van de bewaarduur op de component androstenon

3.2.5. Chemische analyse 2: effect van invloed van 2 maanden bewaring bij –80 °C op de componenten indol, skatol en androstenon

Bij de concentraties van indol, skatol en androstenon is er een significante stijging waarneembaar na in het invriezen op -80 °C gedurende twee maanden (Fig. 40, 41, 42). De stijging van de concentraties van de 3 componenten was significant verschillend (Tabel 14).

Tabel 14: effect van bewaringstemperatuur (vers versus. -80 °C) op de componenten indol, skatol en androstenon (t-test)

Component	Temperatuur	p-waarde
Indol	vers vs. -80 °C	0,002
Skatol	vers vs. -80 °C	0,002
Androstenon	vers vs. -80 °C	0,045

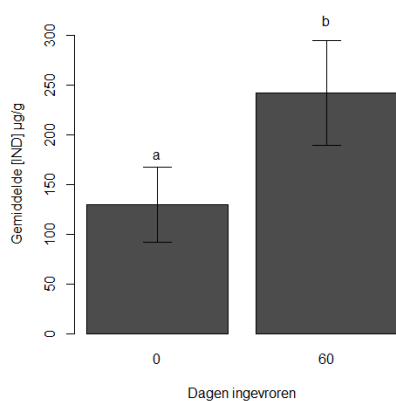


Fig. 40: Het effect van de temperatuur (vers versus –80 °C) op de bewaring van component indol

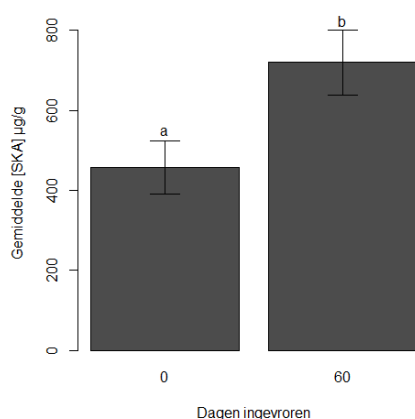


Fig. 41: Het effect van de temperatuur (vers versus -80 °C) op de bewaring van component skatol

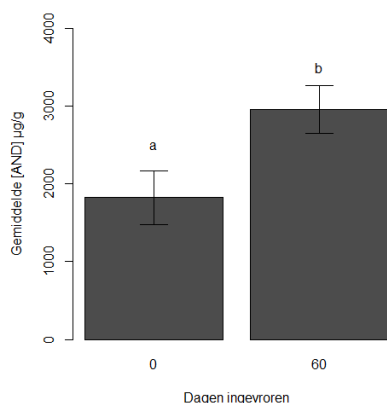


Fig. 42: Het effect van de temperatuur (vers versus -80 °C) op de bewaring van component androstenon

3.2.6. Chemische analyse 3: effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van de componenten indol, skatol en androstenon

Tot slot werd ook nagegaan of er verschil is in de chemische analyseresultaten van indol, skatol en androstenon tussen de bewaring van vetstalen bij -20 °C en -80 °C gedurende twee maanden (Fig. 43, 44, 45). Voor geen van deze componenten werden significante verschillen gevonden (Tabel 15).

Tabel 15: Effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van componenten

Component	Temperatuur	p-waarde
Indol	-20 °C vs. -80 °C	0,832
Skatol	-20 °C vs. -80 °C	0,799
Androstenon	-20 °C vs. -80 °C	0,211

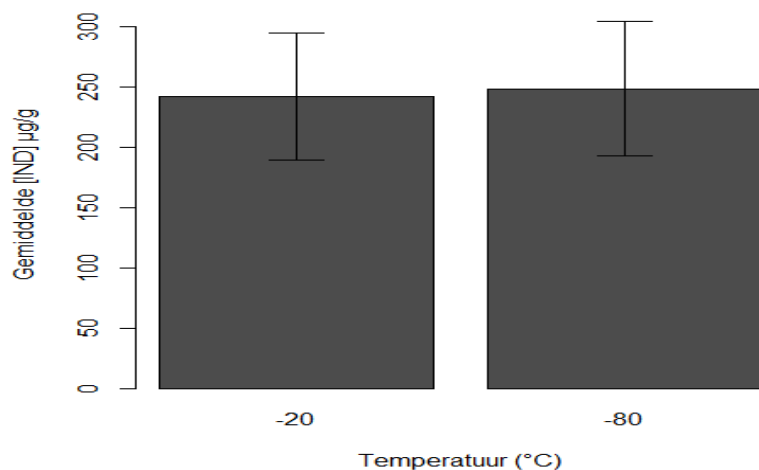


Fig. 43: Het effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van component indol

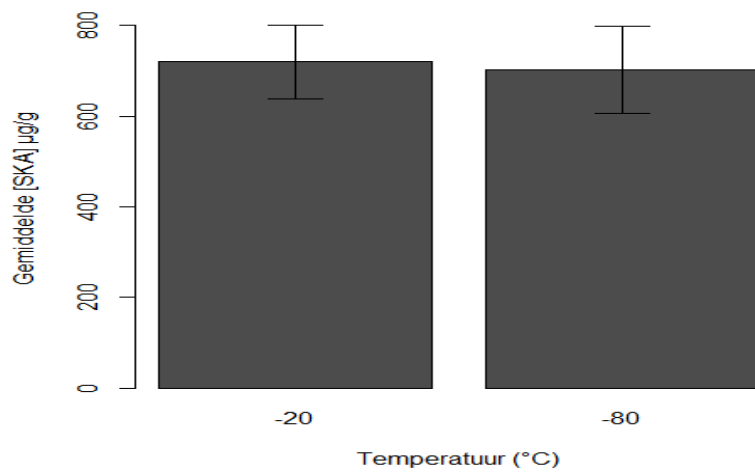


Fig. 44: Het effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van component skatol

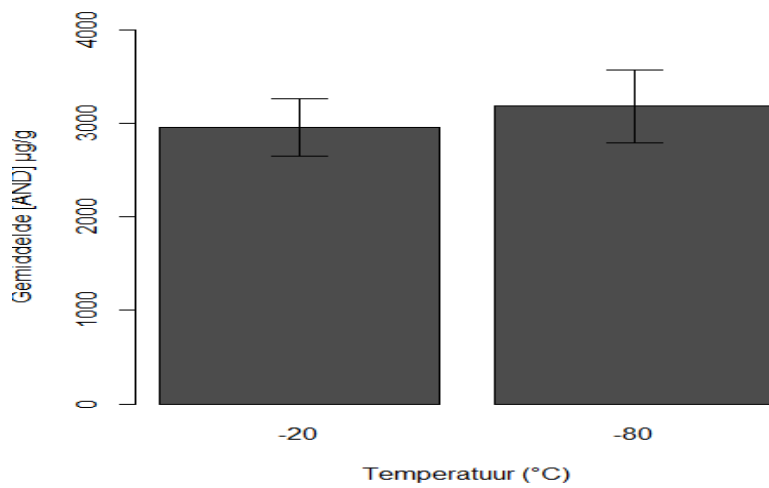


Fig. 45: Het effect van temperatuur (-20 °C versus -80 °C) op de bewaring van component androstenon

3.3. Proef 3: invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen

In deze proef werd nagegaan wat de invloed is van het al dan niet aanbieden van geurstrips met de zuivere berengeurcomponenten op de sensorische detectie van berengeur. Op basis van de resultaten kan besloten worden dat de score van de panelleden niet significant beïnvloed werd door de factoren strip (aan- of afwezigheid) en tijdstip (voor- of namiddag). Zowel bij stinkers alleen, blanco's alleen en alle scores samen. Wel kan besloten worden dat tijdstip meer invloed heeft op de score dan strip, maar niet significant. Er zijn dus geen verschillen aantoonbaar (Tabel 16).

Tabel 16: Invloed van blootstelling van componenten van berengeur op de detectie van berengeur (t-test)

	Factor	p-waarde
Stinker	Strip	0,918
Stinker	Tijdstip	0,121
Blanco	Strip	0,735
Blanco	Tijdstip	0,125
Stinker + blanco	Strip	0,476
Stinker + blanco	Tijdstip	0,389

Fig. 46 zet de scores van de panelleden uit ten opzichte van het tijdstip (voor- of namiddag) en het al dan niet gebruik van geurstrips. De scores van de panelleden zijn enkel afkomstig van de 10 stinkers die op voorhand werden bepaald. Bij de stinkers werd duidelijk een hogere score gegeven dan bij de niet stinkers.

In de voormiddag (met of zonder strips) worden telkens 50 % van de stinkers geïdentificeerd, in de namiddag is dit slechts 40 %. Bij de blanco's werden er geen scores boven score 1 waargenomen. De invloed van het tijdstip was groter dan de invloed van het gebruik van de geurstrips. Fig. 46 geeft hetzelfde weer als in Fig. 47 maar met de blanco stalen. Hier is de score in de voormiddag ook telkens hoger dan in de namiddag.

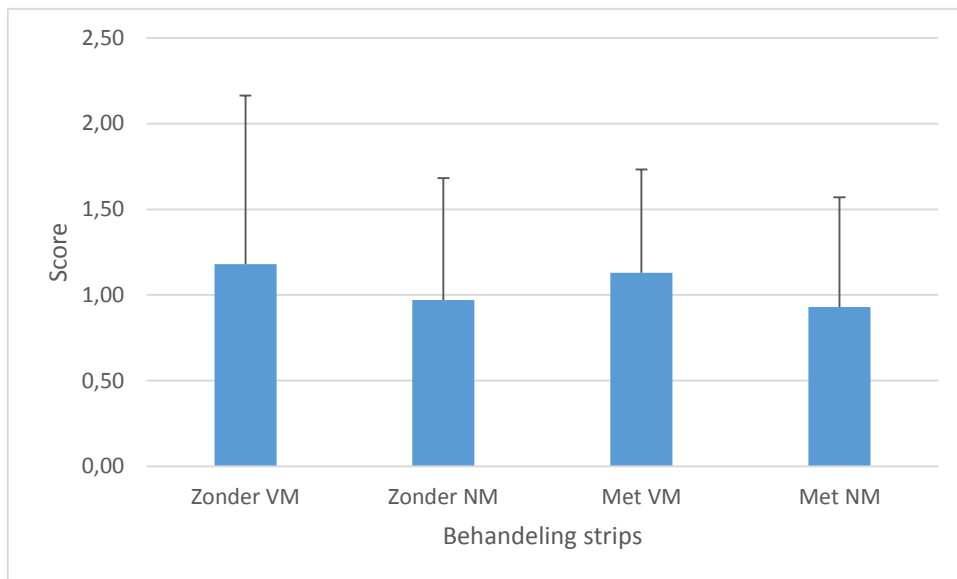


Fig. 46: Invloed van strips en tijdstip op score van de panelleden bij de sensorische proef met stinkers, berengeur gescoord van 0 (geen) tot 4 (sterk afwijkend)

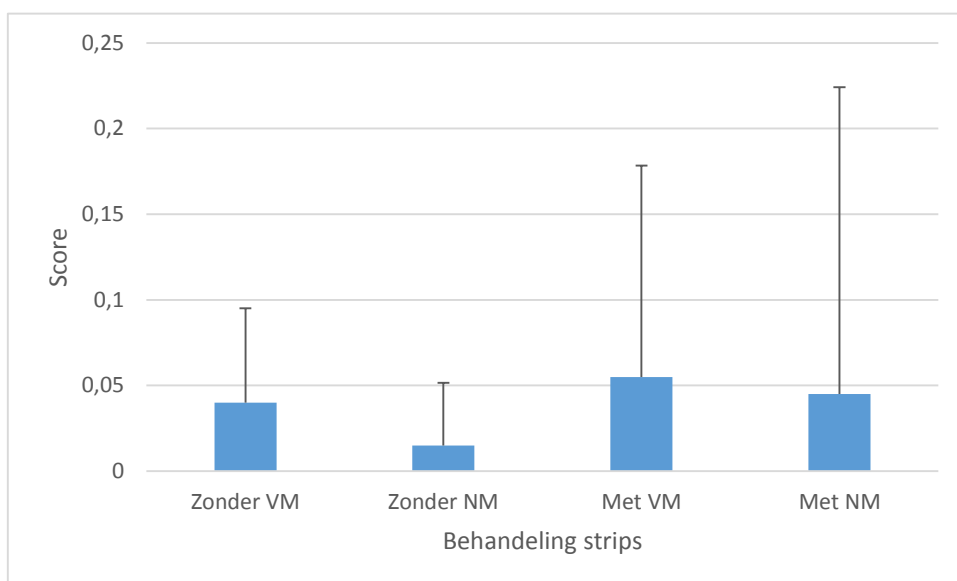


Fig. 47: Invloed van strips en tijdstip op de score van de panelleden bij de sensorische proef met blanco's, berengeur gescoord van 0 (geen) tot 4 (sterk afwijkend)

4. Discussie

4.1. Proef 1: invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren

Andresen (1976) bestudeerde het steroïd gehalte in functie van de leeftijd waarbij het steroïdgehalte (androstenon en testosteron) tot een leeftijd van 100 dagen laag bleef. Nadien was er een stijging waarneembaar tot een leeftijd van 160 dagen. Na de leeftijd van 160 dagen daalde het steroïdgehalte terug. Het voorliggende onderzoek toont een daling van het seksueel gedrag rond de 8ste week van observatie (leeftijd 160 dagen). Deze daling kan te verklaren zijn door de bevindingen van Andresen (1976).

Het voorkomen van het seksueel gedrag, bestijgen en anogenitaal snuffelen, was significant hoger bij de mixed sex huisvesting. Dit zou het gevolg kunnen zijn van de aanwezigheid van gelten in de huisvesting. Dit werd bevestigd door de proef van Boyle & Björklund (2007) waar er meer seksueel gedrag aanwezig was bij mixed sex huisvesting dan bij single sex huisvesting. Volgens Andresen (1976) verhoogt het inzetten van een beer als fokbeer het gehalte aan steroïden in het perifeer plasma en vet. In dit onderzoek werd het steroïdgehalte niet onderzocht. Het lijkt aangewezen om in toekomstig onderzoek het steroïdgehalte in het bloed te bepalen gedurende de opfok. Doorheen de afmestperiode was er geen significant tijdsverschil op te merken van het seksueel gedrag.

De bovenstaande theorie van Andresen (1976) kan ook toegepast worden op het gedrag "agressie". In dit voorliggend onderzoek werd er gemiddeld meer agressief gedrag waargenomen bij de mixed sex dan de single sex, doch de observaties voldeden niet aan de voorwaarden voor statistische verwerking. Een mogelijke verklaring voor de verhoogde agressiviteit, werd gevonden in de literatuur (Prunier et al., 2013; Zamaratskaia et al., 2005; Giersing et al., 2000) waaruit blijkt dat een hoog gehalte aan androstenon in het plasma in een hok, gerelateerd is met een hoger niveau van agressie. Doch het tegengestelde kan niet worden bevestigd. Een hoog niveau van agressie in een groep kan niet geassocieerd worden met een hoger androstenon gehalte.

In het onderzoek had het tijdstip van observatie een significante invloed op het gedrag "inactiviteit". Namelijk vanaf week 8 in de afmest is er een stijging van het gedrag "inactiviteit" aanwezig. Dit kan terug gekoppeld worden aan de theorie van Andresen (1976). Door een daling van de steroïd gehalten vanaf week 8 in de afmest zullen de dieren minder seksueel en agressief gedrag vertonen.

Dit onderzoek toont aan dat beren in een single sex huisvesting inactiever (significant) zijn dan deze in een mixed sex huisvesting. Een mogelijke verklaring is dat de beren gehuisvest in mixed sex meer agressiviteit en gedragingen "seksueel", "bewegen", "spelen", "eten/drinken" vertonen door de aanwezigheid van de gelten.

Een andere verklaring voor de grotere inactiviteit bij de single sex is de invloed van de observaties van het praktijkbedrijf B. Dit bedrijf omvatte $\pm 80\%$ van de observaties van de single sex huisvesting en $\pm 70\%$ van de mixed sex, en heeft zo een grotere invloed op de waarnemingsresultaten. Bij dit bedrijf was er een probleem met de automatische verlichting waardoor deze beren tijdens de afmestperiode gedurende geruime in het donker verbleven. Bij start van de opmeting van de observaties werd de verlichting manueel aangestoken en

werd veel beweging waargenomen, waarschijnlijk een reactie op het licht. De mixed sex werd eerst geobserveerd en vervolgens de single sex. Doordat de single sex reeds een uur konden wennen aan het licht, en mogelijks hierdoor rustiger waren, kan dit een effect op de onderzoeksresultaten hebben gehad. Dit vertekent mogelijks de resultaten van het gedrag "inactiviteit".

Het gedrag "eten/drinken" kwam significant meer voor bij mixed sex huisvesting dan bij de single sex huisvesting.. Deze resultaten werden ook teruggevonden in het onderzoek van Vanheukelom et al. (2012) waarbij een verhoogd drinkpatroon werd vastgesteld bij een mixed sex in vergelijking met single sex huisvesting. Aangezien er in voorliggend onderzoek geen onderscheid werd gemaakt in eet- en drinkgedrag kan de de stelling van Vanheukelom et al. (2012) maar gedeeltelijk worden bevestigd.

De cluster "spelen", "manipuleren" en "interactie" en "bewegen" lagen significant hoger bij de mixed sex huisvesting. Een mogelijke verklaring is dat dieren in mixed sex meer contact zoeken met andere varkens. Door de aanwezigheid van gelten in de stal zullen de varkens meer gaan manipuleren, om de gelten te kunnen waarnemen (geur, zicht). De single sex beren zullen hiertoe minder getriggerd worden. Algemeen is er wel een daling waargenomen naar het einde van de afmestperiode. Een mogelijke verklaring hiervoor is de gewichtstoename met grotere inactiviteitsgraad als gevolg.

Andersson et al. (1997) en Hansen et al. (1994) constateerden bij opgroeiende varkens in een propere omgeving, een lagere prevalentie van berengeur dan bij varkens opgegroeid in een vuilere omgeving. Dit resultaat werd niet bevestigd door recente studies van Aluwé et al. (2011) en Wesoly et al. (2013). In voorliggende onderzoek kent de hokbevuiling een significante daling tijdens de afmestperiode doch werd geen significant verschil teruggevonden tussen een single en mixed sex huisvesting. Er dient toch opgemerkt dat op de twee praktijkbedrijven de dieren in propere hokken waren gehuisvest. Hierdoor waren de scores voor hokbevuiling laag. Een of enkele vervuilde hokken zullen zwaar doorwegen op de resultaten en zo pieken veroorzaken in de grafieken.

De stelling van Van Wageningen et al. (2013) waarbij een lager aantal beren per hok geassocieerd wordt met een lager voorkomen van berengeur, kon in voorliggende proef niet worden onderzocht. Dit is in lijn met het onderzoek van Giersing et al. (2000), die besloot dat een hogere hokdichtheid resulteert in meer agressief gedrag en met een verhoogd voorkomen van berengeur. De gemiddelde hokoppervlakte per dier was op beide praktijkbedrijven identiek, namelijk 0,60 m². Indien er verder onderzoek dient verricht in functie van hokgrootte, dient vergelijkend onderzoek opgezet te worden waarbij de omstandigheden identiek zijn met uitzondering van de hokoppervlakte.

Vorige onderzoeken (Zamaratskaia et al.,2007;Giersing et al.,2000, Vanheukelom et al., 2012 en Xue et al.,1997), bevestigen dat de aanwezigheid van gelten een invloed had op de aanvang van de puberteit van intacte beren, door een versnelling van de gonadotrope steroïden. Hierdoor kan het mixen van beren met gelten gedurende de mestperiode zorgen voor een verhoging van de concentratie van androstenon in het vet, waardoor dit aanleiding geeft tot een stijging van de intensiteit van berengeur in het vet.

Gezien de berengeurprevalentie tegenstrijdige resultaten gaf tussen de beide bedrijven konden de omgevingsfactoren niet worden gecorreleerd aan het voorkomen van berengeur.

Mogelijks zijn er ook andere beïnvloedende factoren, die momenteel niet in kaart werden gebracht, die berengneur beïnvloeden. Verder onderzoek met meer herhalingen is wenselijk. Bij het uitvoeren van de poweranalyse van Lenth (2006), met standaardafwijking van 2,3, verschil van 1% en een power van 0,8, zou deze proef herhaald moeten worden met een 44-tal bedrijven.

Het gedrag “oor- en/of staartbijten” werd zeer beperkt geobserveerd zowel bij de single en mixed sex respectievelijk 0,4 en 0,3 % waargenomen. De beperkte observaties van het gedrag oor- en/of staartbijten worden ook in de literatuur teruggevonden. Bracke et al.(2013) vond een gemiddeld voorkomen van 1 à 2 %

De aanwezigheid van huidlesies zijn niet significant verschillend tussen de single en mixed sex huisvesting. Ook is er geen significant verschil waarneembaar tussen het tijdstip van observaties.

Uit het onderzoek blijkt dat dierbevuiling niet significant werd beïnvloed door de groep (mixed versus single sex), maar wel significant door het tijdstip. De dierbevuiling stijgt tegen het einde van de afmestperiode.

Over het vloertype, seizoen, hokverrijking, voeding en voederstrategie, kan weinig besloten worden in deze proefopstelling, aangezien bij beide praktijkbedrijven deze factoren zeer gelijklopend zijn. Maar aangezien deze factoren in de literatuur wel als mogelijke invloedsfactoren worden aangehaald, is het nuttig om in de toekomst hierrond verder experimenteel onderzoek te verrichten.

Rond weken 8 en 10 vertoonde het gedrag “ inactief” een hogere stijging dan de weken ervoor en erna. Bij de gedragingen “eten/drinken” en “spelen” is er een grotere daling waarneembaar dan de weken ervoor en erna. En bij het gedrag “bewegen” is er een abnormale stijging waarneembaar. Deze stijgingen of dalingen, kunnen verklaard worden door het feit dat uitzonderlijk in deze weken een ander persoon scoorde.

De conclusies omtrent de observaties in dit onderzoek zijn gebaseerd op twee bedrijven. Deze resultaten dienen met enige voorzichtigheid geïnterpreteerd te worden gezien het beperkt aantal betrokken bedrijven. De resultaten kunnen niet als representatief worden geïnterpreteerd voor de totale varkenssector. Desalniettemin kunnen de resultaten wel een indicatie zijn voor verder onderzoek.

4.2. Proef 2: stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet

Over het effect van bewaringstemperatuur en de bewaarduur op de berengeurcomponenten is er nog geen specifiek onderzoek verricht. Haugen et al. (2012), nam aan dat bewaarcondities slechts een klein effect hebben op de concentraties van androstenon en skatol door de relatieve stabiliteit. In het laboratorium van Chemische Analyse, departement Veterinaire Volksgezondheid en Voedselveiligheid (Faculteit Diergeneeskunde, UGent), werd daarentegen opgemerkt dat berengeurcomponenten niet stabiel zijn, vooral niet eens geëxtraheerd (ongepubliceerd). Er werden frappante verliezen in signaal (reeds na één nacht) opgemerkt wanneer de componenten niet onmiddellijk werden geanalyseerd. Vermoedelijk is de stabiliteit in vet beter.

De eerste sensorische test bevestigt dat het invriezen van stalen een significant effect heeft op de sensorische detectie van de berengeurcomponenten. Verse stalen, scoorden significant hoger dan ingevroren stalen zowel na 1 als na 2 maanden bewaring en dit gold voor zowel de sterk afwijkende als de matig afwijkende stalen. De duurtijd van het invriezen had, binnen het bestudeerde tijdsbestek, geen significant verschil doch er is een dalende trend waarneembaar. Om verder inzicht te verwerven in deze dalende trend zijn experimenten met een langer en korter tijdspad noodzakelijk. Deze waarneming is belangrijk in functie van toekomstig onderzoek waarbij het noodzakelijk is om stalen steeds onder dezelfde omstandigheden te bestuderen om de invloeden van de bewaringstemperatuur en – termijn uit te sluiten bij onderzoeksresultaten. Echter de daling in sensorische score geeft aan dat evaluatie op verse stalen wenselijk is.

De tweede sensorische proef toont aan dat de temperatuur van de aangeboden stalen (vers versus $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) een significant effect heeft op de sensorische detectie van de berengeurcomponenten. Hiermee wordt het effect van bewaring op de berengeurcomponenten nogmaals bevestigd. Bij verse stalen, werd een significante hogere score teruggevonden dan bij bewaarde stalen bij een temperatuur van $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uit de twee bovenstaande proeven kan besloten worden dat het effect van bewaring aantoonbaar is bij zowel de bewaringstemperatuur $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ als $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

De invriestemperatuur ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ versus $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) gaf echter geen significante verschillen.

Uit de bovenstaande proeven blijkt dat het invriezen van stalen toch een significant effect zou hebben op de aanwezigheid van berengeur. Er is momenteel geen vergelijkend onderzoek voorhanden naar het effect van bewaring. Het is raadzaam om in de toekomst verder onderzoek te verrichten. Het standaardiseren van de sensorische analysemethode kan de betrouwbaarheid van de onderzoeksresultaten ten goede komen.

De testresultaten van de sensorische analyse zijn niet gelijklopend met deze van de chemische analyse met duidelijke discrepanties.

Bij de chemische analyse was de geobserveerde stijging van de analytische concentratie aan skatol en indol ver afwijkend van de verwachte resultaten. Een mogelijke hypothese voor deze stijging kan vochtverlies zijn tijdens het dooiproces, waardoor relatief meer vetweefsel werd afgewogen voor analyse t.o.v. vers vet. De componenten indol en skatol zijn beide meer lipofiel dan hydrofiel, waardoor zij bij vochtverlies eerder in concentratie toenemen. Als deze hypothese gevolgd wordt, zou de concentratie aan indol en skatol, over de twee laatste

proeven min of meer gelijk moeten blijven wat grotendeels het geval is (geen significant verschil tussen tijdstip T1 en T2).

Het verloop van androstenon was niet te verklaren, bij een invriesproef werd een stijging of een daling verwacht van de concentratie maar geen daling gevolgd door een stijging van de concentratie. Ook werd bij de laatste analyse van androstenon voor vier van de tien stalen een waarde boven de 5000 µg/kg gevonden, terwijl een dergelijke concentratie in geen van de vorige analyses teruggevonden kon worden. Het is onduidelijk aan welk fenomeen deze variaties kunnen worden toegeschreven, maar verschillende potentiële oorzaken kunnen mogelijks deze resultaten verklaren. Vooreerst was het vet afkomstig van een groter stuk dat verdeeld werd in verschillende delen. Tussen de delen kan er variatie zijn van de componenten. Dit kan bij volgende experimenten verhinderd worden door deze vetstalen op voorhand te versnijden in kleinere stukken, te mengen en dan pas te verdelen. Hierdoor zal bij elke analyse, vet van het volledige stuk vet aanwezig zijn. Ten tweede werd er door verschillende personen melding gemaakt van het atypisch functioneren van het MS toestel (o.a. sterke signaalafname bij standaardinjectie voor androstenon van begin tot einde tijdens tweede analyse). Tussen de verschillende analyses door hebben meerdere herstellingen plaatsgevonden (o.a. vervanging pre-amplifier tussen tweede en derde analyse), wellicht zijn deze verantwoordelijk voor verschillen tussen analyses. De pre-amplifier was waarschijnlijk nog niet stuk bij de eerste analyse maar wel bij de tweede. Bij de laatste analyse werd er melding gemaakt van een foutmelding door het vloeistof chromatografisch systeem. Uit onderzoek van de foutmeldingen is gebleken dat de proef niet steeds met dezelfde APCI (atmospheric pressure chemical ionization) werd gewerkt. Bovendien werd na afloop van de experimenten aangetoond dat de APCI van het gebruikte toestel (Exactive) specifiek voor androstenon een instabiel signaal opwekte, in tegenstelling tot de APCI behorend tot een andere massaspectrometer op het labo aanwezig. Dit kan toe te schrijven zijn aan de aanwezigheid van een sterk vervuilde plaats op het verloop van de APCI, die specifiek meer reageert met androstenon dan met de andere componenten, waardoor variërende hoeveelheden van androstenon de detector niet bereiken. Dit kan een verklaring zijn voor de grote concentratieverschillen tussen de analyses van androstenon. Er wordt momenteel achterhaald of de betrokken foutmeldingen en herstellingen een invloed kunnen gehad hebben op deze (alsook andere) resultaten. Ten derde werden de analyses door mijzelf gedaan, ik was daar niet perfect in getraind, waardoor er onbewuste fouten kunnen gebeurd zijn tijdens de analyse. De extractie van berengeur omvat een extractietechniek die zo gestandaardiseerd mogelijk dient te gebeuren en enige ervaring vereist.

Voor toekomstige experimenten, zijn goede homogene stalen noodzakelijk. De variaties in de resultaten afkomstig van het toestel worden normaal opgevangen door gebruik van de interne standaarden, maar ernstige systeemverstoringen of defecten, met een specifieke impact op componentniveau, kunnen aanleiding geven tot atypische resultaten. Dergelijke problemen zijn echter niet altijd op te vangen, vooral niet in het kader van stabiliteitsstudies waarbij het herlopen van (eerdere) stalen op een later tijdstip geen optie is.

Uit bovenstaande experimenten bleek dat berengeur soms ook bij geltenvet waarneembaar is. Dit werd enerzijds bevestigd bij de chemische analyse door de overschrijding de drempelwaarden indol, en skatol (200 µg/kg) bij 7 van de 30 blanco stalen. De overschrijding van indol was aanwezig bij de 7 stalen, met concentratie tussen 96 en 240 µg/kg. Voor skatol was er één staal met een concentratie van 229 µg/kg. Anderzijds toonde de sensorische analyse aan dat een aantal panelleden score 1 (lichte berengeur) en zelden een score 2 (sterkere berengeur) scoorden aan geltenvet (=blanco's).

De vastgestelde waarnemingen zijn relevante observaties om mee te nemen in verder onderzoek. Een voorbeeld is dat bij de sensorische analyse stalen geltenvet (=blanco's) aangeboden worden in combinatie met 1 of meerder stinkers. Er wordt verondersteld dat de panelleden de stalen van stinkers kunnen detecteren. Doch aangezien de stalen van geltenvet tevens berengeur kunnen vertonen, kunnen de testresultaten vertekend worden. Op het ILVO worden voor testproeven altijd vet van gelten gebruikt die reeds chemische geanalyseerd werden en voorafgaand als blanco gescoord werden. Bij de chemische methode wordt geltenvet gebruikt voor de ijklijn. Indien een stuk geltenvet hoge concentraties van indol en skatol bevat, kan dit voor een foutieve analytische analyse zorgen.

4.3. Proef 3: invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen

Uit de test kan worden geconcludeerd dat het blootstellen van componenten van berengeur (skatol en androstenon) geen significante invloed heeft op de detectie van berengeur in vetstalen. Over dit type testen is nog niet veel beschreven in de literatuur. Mörlein et al. (2015) onderzocht het effect van herhaalde blootstelling van berengeur. De bevindingen in het laatste onderzoek van Mörlein et al (2015). kwamen overeen met de testresultaten, waarbij geen effect van herhaalde blootstelling werd teruggevonden.

De invloed van het tijdstip had tevens geen significante invloed op de detectie van berengeur in de vetstalen. De scores liggen echter numeriek hoger bij de sensorische analyse in de voormiddag dan in de namiddag. Deze resultaten komen overeen met de literatuur. De studie van Matthes (1986) geeft aan dat het beste moment voor sensorische analyse tussen 10 uur 's morgens en 12 uur is en dat er best niet gescoord wordt gedurende 2 uur na een hoofdmaaltijd. Dit was ook zichtbaar in bovenstaand experiment, in de voormiddag werden 50 % van de stinkers eruit gehaald en in de namiddag 40 % onafhankelijk van het gebruik van strips. Bij dit experiment werd zowel in de voor- als namiddag gescoord, waardoor er een bv. invloed kan zijn van de scoring in de voormiddag op de scoring in de namiddag. Om dit effect uit te sluiten kan er in toekomstige experimenten het onderzoek over vier dagen worden verspreid waarbij twee dagen in de voormiddag en twee dagen in de namiddag wordt gescoord. Hierdoor wordt de invloed van een eerdere analyse gedurende de dag uitgesloten. Dit is bruikbaar in studies omtrent het effect van tijdstip. Daarom lijkt het aanbevolen om de proefopzet verder te optimaliseren om de effecten van tijdstip verder te kwantificeren.

5. Conclusie

5.1. Proef 1: invloed van de aanwezigheid van gelten op het gedrag en de prevalentie van berengeur bij intacte beren

Uit het onderzoek kan besloten worden dat de aanwezigheid van gelten een significante invloed heeft op de frequentie van een aantal (gedrags)observaties. Binnen de single sex huisvesting waren de intacte beren significant minder actief en kwamen de gedragingen “eten/drinken”, “spelen”, “bewegen” en “seksueel” minder voor dan in een gescheiden mixed sex huisvesting.

Dezelfde resultaten werden tevens teruggevonden tijdens de afmestperiode voor de totale groep van intacte beren waarbij bovenstaande gedragingen, met uitzondering gedrag “seksueel”, afnamen tegen het einde van de afmestperiode.

Een significante verminderde hokbevuiling en een gestegen dierbevuiling wordt in het onderzoek teruggevonden tijdens de afmestperiode. De aanwezigheid van gelten heeft geen significante invloed op deze observaties.

De aanwezigheid van gelten heeft tevens geen invloed op de prevalentie van huidlesies bij de intacte beren alsook blijven de huidlesies constant gedurende gans de afmestperiode.

Het effect van single en mixed sex huisvesting op de prevalentie van berengeur kon niet besloten worden wegens tegenstrijdige resultaten tussen de twee praktijkbedrijven. Daarom wordt deze proef best hernomen op een grotere schaal (44 bedrijven).

5.2. Proef 2: stabiliteit van berengeurcomponenten in rugvet

Uit dit onderzoek kan besloten worden dat de bewaring (-20 °C en -80 °C) een significante invloed heeft op de sensorische scoring van berengeurcomponenten in vetstalen waarbij vacuüm verpakte bewaarde (2 maand) stalen lager scoren dan verse stalen.

Er is geen significant verschil tussen de bewaringstemperaturen van bij -20 °C en - 80 °C.

Dit zijn nieuwe, belangrijke elementen bij sensorische analyse, waardoor variatie tussen experimenten kunnen vermeden worden. Het is dus wenselijk om sensorische evaluatie van berengeur uit te voeren op verse vetstalen. Verder onderzoek naar het effect op kortere en langere termijn op sensorische en chemische detectie is noodzakelijk.

5.3. Proef 3: invloed van blootstelling van componenten van berengeur (skatol en androstenon) op de detectie van berengeur uit vetstalen

Uit dit onderzoek kan besloten worden dat, bij sensorische analyse, het voorafgaand prikkelen van de getrainde panelleden met hoge concentraties van berengeur (skatol en androstenon), door middel van geurstrips, noch positieve, noch negatieve invloed heeft op de scores van de panelleden. Tevens kan besloten worden dat het tijdstip (voor- of namiddag) van sensorische analyse geen significante invloed heeft.

6. Algemeen besluit

Door de ondertekening van de Europese verklaring over de alternatieven voor chirurgisch castreren van varkens (2010), heeft de EU zich geëngageerd om geen enkel mannelijke big nog chirurgisch te castreren vanaf 2018. Hierdoor is de varkenssector op zoek naar alternatieven. Deze masterproef gaat dieper in op één van de mogelijke alternatieven voor de chirurgische castratie namelijk het afmesten van intacte beren. Het grootste nadeel bij het afmesten van intacte beren, is de kans (3 tot 4 % voor Vlaanderen) op het voorkomen van berengeur. Berengeur is een onaangename feces- en urineachtige geur, die vrijkomt bij het verhitten van varkensvlees.

Omdat intacte beren betere technische resultaten halen bij het afmesten dan castraten en immunocastraten is dit een goed alternatief indien de prevalentie van berengeur zo laag mogelijk kan gehouden worden. Hieromtrent lopen verschillende onderzoeken.

In deze masterproef werd het verschil tussen mixed en single sex huisvesting van intacte beren of met andere woorden de al dan niet aanwezigheid van gelten in het compartiment van de beren onderzocht aan de hand van observaties gedurende de afmestperiode op twee praktijkbedrijven.

Nadien werd de prevalentie van deze intacte beren post-mortem bepaald, gebruik makend van de soldeerboutmethode. Deze methode is echter niet volledig gestandaardiseerd waardoor onderzoekers deels zelf hun proefopzet bepalen. Hierdoor kan er variatie ontstaan bij de resultaten tussen de onderzoekers.

Daarom werd in deze masterproef ook twee experimenten uitgevoerd ter optimalisatie van de soldeerboutmethode. De effecten van voorafgaandelijke blootstelling aan de componenten van berengeur (skatol en androstenon) en de invloed van de bewaringsduur en- temperatuur op de detectie van berengeurcomponenten in varkensvet met de soldeerboutmethode.

Tijdens de duur van de afmestperiode werden significante verschillen waargenomen waarbij de beren inactiever werden naar het einde van de afmestperiode alsook de dierbevuiling toenam. De hokbevuiling en het gedrag “eten/drinken en “spelen” en “bewegen” nam af tegen het einde van de afmestperiode.

Uit de observaties kon er besloten worden dat beren die alleen werden gehuisvest (single sex) inactiever waren dan deze gehuisvest met gelten (mixed sex). Verder werd het gedrag “eten/drinken”, “spelen”, “bewegen” en “seksueel” minder waargenomen bij de single sex huisvesting. De aanwezigheid van gelten kan dus nadelig zijn voor de rust in de stal. De varkenshouders worden aangeraden om intacte beren af te mesten in compartimenten waar geen gelten aanwezig zijn.

Over berengeurprevalentie kon er geen besluit getrokken worden doordat de observaties op de twee praktijkbedrijven tegenstrijdige resultaten gevonden werden. Aangezien berengeurprevalentie een belangrijke factor is voor het eventueel afmesten van intacte beren is het zeker nodig om deze proef op grotere schaal (44 bedrijven) te laten verlopen.

Voor het standaardiseren van de soldeerboutmethode voor detectie berengeurcomponenten werd de bewaarduur en –temperatuur van de stalen vergeleken. Uit de proeven kon besloten worden dat de sensorische score significant lager lag bij stalen die vacuüm verpakt en bewaard werden bij –20 °C en –80 °C. Hierdoor is het wenselijk om in verder onderzoek gebruik te maken van verse stalen. Wanneer de stalen voor korte tijd (1 tot 2 maanden) ingevroren werden, had de bewaar temperatuur (-20 °C of -80 °C) geen effect op de sensorische evaluatie van berengeur. Deze resultaten zijn belangrijke nieuwe kennis, want tot op heden werd er verondersteld dat bewaring geen problemen vormde. Daarom is verder onderzoek naar bewaringsduur en –temperatuur belangrijk.

Tevens heeft het blootstellen van hoge concentraties androstenon en skatol (berengeurcomponenten) door middel van geurstrips, aan getrainde panelleden noch positieve, noch negatieve invloed op de detectie van berengeur.

Zowel bij de observaties in de praktijkbedrijven als bij het standaardiseren van de soldeerboutmethode, zijn er nog veel bijkomende invloedsfactoren te onderzoeken. Het in kaart brengen van alle invloedsfactoren is noodzakelijk om, tegen 2018, een plan uit te werken om het alternatief intacte beren te kunnen toepassen met een zo laag mogelijke berengeurprevalentie en een betrouwbare detectie van berengeur.

7. Literatuurlijst

Aldal, L., Andresen, O., Egeli, A.K., Haugen, J.E., Grodum, A., Fjetland, O. & Eikaas, J.L.H. (2005). Levels of androstenone and skatole and the occurrence of boar taint in fat from young boars. *Livestock Production Science*, 95, pp. 121-129.

Aluwé, M., Millet, S., Nijs, G., Tuytens, F.A.M., Verheyden, K., De Brabander, H.F., De Brabander, D.L. & Van Oeckel, M.J. (2009). Absence of an effect of dietary fibre or clinoptilolite on boar taint in entire male pigs fed practical diets. *Meat science*, 82, pp. 346-352.

Aluwé, M., Bekaert, K.M., Tuytens, F.A.M., Vanhaecke, L., De Smet, S., De Brabander, H.F., De Brabander, D.L. & Millet, S. (2011). Influence of soiling on boar taint in boars. *Meat Science*, 87, pp.175-179.

Aluwé, M., Tuytens, F.A., Bekaert, K.M., De Smet, S., De Brabander, D.L. & Millet, S. (2012). Evaluation of various boar taint detection methods. *Animal*, 6, pp. 1868-1877.

Aluwé, Meirlaen, van Meensel, Millet, Tuytens (2012). Alternatieven voor onverdoofd chirurgische castreren [Brochure]. ILVO.

American society for microbiology (2015). Geraadpleegd op 17 februari 2015 via <http://aem.asm.org/content/74/6/1950/F4.expansion.html>

Andersson, K., Schaub, A., Andersson, K., Lunström, K., Thomke, S. & Hansson I. (1997). The effect of feeding system, lysine level and gilt contact on performance, skatole levels and economy of entire male pigs. *Livestock Production Science*, 51, pp. 131-140.

Andresen, O. (1976). Concentrations of fat and plasma 5 α -androstenone and plasma testosterone in boars selected for rate of body weight gain and thickness of back fat during growth, sexual maturation and after mating. *Journal of Reproduction and fertility*, 48, pp. 51-59.

Annor-Frempong, I.E., Nute, G.R., Whittington, F.W. & Wood, J.D. (1966). The Problem of Taint in Pork: I. Detection Thresholds and Odour Profiles of Androstenone and Skatole in a Model System. *Meat Science*, 46, pp. 45-55.

Annor-Frempong, I.E., Nute, G.R., Whittington, F.W. & Wood, J.D. (1997a). The Problem of Taint in Pork-II. The Influence of Skatole, Androstenone and Indole, Presented Individually and in Combination in a Model Lipid Base, on Odour Perception. *Meat Science*, 47, pp. 46-61.

Annor-Frempong, I.E., Nute, G.R., Wood, J.D., Whittington, F.W. & West A. (1997b). The measurement of the responses to different odour intensities of 'boar taint' using a sensory panel and an electronic nose. *Meat Science*, 50, pp. 139-151.

Babol, J. & Squires, E.J. (1995). Quality of meat from entire male pigs. *Food Research International*, 28, pp. 201-212.

- Babol, J., Zamaratskaia, G., Juneja, R.K. & Lundström, K. (2004). The effect of age on distribution of skatole and indole levels in entire male pigs in four breeds: Yorkshire, Landrace, Hampshire and Duroc. *Meat science*, 67, pp. 351-358.
- Bañón, S., Costa, E., Gil, M.D. & Garrido M.D. (2003). A comparative study of boar taint in cooked and dry-cured meat. *Meat Science*, 63, pp. 381-388.
- Batorek, N., Cande-Potokar, M. & Bonneau, M. (2012). Meta-analysis of the effect of immunocastration on production performance, reproductive organs and boar taint compounds in pigs. *Animal*, 6, pp. 1330-1338.
- Bekaert, K.M., Vanden Bussche, J., François, S., Tuytens, F.A.M., De Brabander, H.F., Vandendriessche, F. & Vanhaecke, L. (2012). A validated ultra-high performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry analysis for the simultaneous quantification of the three known boar taint compounds. *Journal of Chromatography A*, 1239, pp. 49-55.
- Bonneau, M., Kempster, A.J., Claus, R., Claudi-Magnussen, C., Diestre, A., Tornberg, E., Walstra, P., Chevillon, P., Weile, r U. & Cook, G.L. (1999). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: I. Presentation of the programme and measurement of boar taint compounds with different analytical procedures. *Meat Science*, 54, pp. 251-259.
- Bourrounet, B., Talou, T. & Gaset A. (1995). Application of a multi-gas-sensor device in the meat industry for boar-taint detection. *Sensors and Actuators, B* 26-27, pp. 250-254.
- Boyd, M. (2011). Human pheromones-Androstenone. Geraadpleegd op 17 februari 2015 via <http://pherolibrary.com/androstenone/421>
- Boyle, L.A. & Björklund, L. (2007). Effects of fattening boars in mixed or single sex groups and split marketing on pig welfare. *Animale Welfare*, 16, pp. 259-262.
- Bracke, M.B.M., De Lauwere, C.C., Wind, S.M.M., and Zonderland, J.J. (2013). Attitudes of Dutch Pig Farmers Towards Tail Biting and Tail Docking. *J. Agric. Environ. Ethics*. 26, 847-868.
- Buttinger, G., Karasek, L., Verlinde, P. & Wenzl, T. (2014). In house validation of a reference method for the determination of boar taint compounds by LC-MSMS. Geraadpleegd op 9 mei 2015 via https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/jrc_val_meth_rep_boar_taint_lc_fin.pdf
- Callens, K. (2012). Gedachtewisseling over de 'Vergelijkende studie op praktijkbedrijven van alternatieven voor onverdoofde castratie van beerbiggen' van het Instituut voor Landbouw – en Visserijonderzoek (ILVO). [verslag]. ILVO.
- Chen, G., Zamaratskaia, G., Madej, A. & Lundström K. (2005). Effect of hCG administration on the relationship between testicular steroids and indolic compounds in fat and plasma in entire male pigs. *Meat Science*, 72, pp. 339-347.

Claus, R., Weiler, U. & Herzog A. (1994). Physiological -aspects of androstenone and skatole formation in the boar- A review with experimental-data. *Meat Science*, 38, pp. 289-305.

De Kock, H.L., Heinze, P.H., Potgieter, C.M., Dijksterhuis, G.B. & Minnaar, A. (2000). Temporal aspects related to the perception of skatole and androstenone, the major boar odour compounds. *Meat Science*, 57, pp. 61-70.

Di Natale, C., Pennazza, G., Macagnano, A., Martinelli, E., Paolesse, R. & D'Amico A. (2003). Thickness shear mode resonator sensors for the detection of androstenone in pork fat. *Sensors and Actuators*, B91, pp. 169-174.

Dijksterhuis, G.B., Engel, B., Walstra, P., Font i Furnols, M., Agerhem, H., Fischer, K., Oliver, M.A., Claudi-Magnussen, C., Siret, F., Béague, M.P., Homer, D.B. & Bonneau, M. (1999). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: II. Sensory evaluation by trained panels in seven European countries. *Meat Science*, 54, pp. 261-269.

D'tron (z.j.). Geraadpleegd op 28 februari 2015 via <http://www.dtron.be/index.html>

EFSA (2004). Welfare aspects of the castration of piglets: Scientific Report of the Scientific Panel for Animal Health and Welfare on a request from Commission related to welfare aspects of the castration of Piglets. *The EFSA Journal*, 91, pp. 1-18.

Enz, A., Schüpbach-Regula, G., Bettschart, R., Fuschini, E. & Sidler, X. (2013). Erfahrungen zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration in der Schweiz Teil 1: Inhalationsanästhesie. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 12, pp. 1-9.

Europese verklaring (2010). Geraadpleegd op 21 mei 2015 via http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/farm/docs/castration_pigs_declaration_nl.pdf

Font-i-Furnols, M. (2012). Consumer studies on sensory acceptability of boar taint: A review. *Meat Science*, 92, pp. 319-329.

Frederiksen, B., Lium, B.M., Marka, C.H., Heier, B.T., Dahl, E., Choinski, J.U. & Nafstad, O. (2006). Entire male pigs in a farrow- to -finish system. Effects on androstenone and skatole. *Livestock Science*, 102, pp. 146-154.

Garcia, E.M., Vazquez, J.M., Parrilla, I., Calvete, J.J., Sanz, L., Caballero, I., Roca, J., Vazquez, J.L. & Martinez, E.A. (2007). Improving the fertilizing ability of sex sorted boar spermatozoa. *Theriogenology*, 68, pp. 771-778.

Giersing, M., Lundström, K. & Andersson, A. (2000). Social effects and boar taint: Significance for production of slaughter boars (*Sus scrofa*). *Journal of Animal Science*, 78, pp. 296-305.

Gower, D. B. (1972). 16-unsaturated C19 steroids – Review of their chemistry biochemistry and possible physiological role. *Journal of Steroid Biochemistry*, 3, pp. 45.

- Hansen, L.L., Larsen, A.E., Jensen, B.B., Hansen-Moller, J. & Barton-Gade, P. (1994). Influence of stocking rate and faeces deposition in the pen at different temperatures on skatole concentration (boar taint) in subcutaneous fat. *Animal Production*, 59, pp. 99-110.
- Haugen J.E. (2006). The use of chemical sensor array technology, the electronic nose, for detection of boar taint. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48, S15.
- Haugen, J.E., Brunius, C. & Zamaratskaia, G. (2012). Review of analytic methods to measure boar taint compounds in porcine adipose tissue: The need for harmonized methods. *Meat Science*, 90, pp. 9-19.
- Haugen, J.E., Wagenberg, C., Nielsen, B.E., Borgaard, C., Panella, N., Aluwé, M., Bonneau, M., Morlèin, D., & Doran, O. (2015). Rapid boar taint detection methods used or being developed at slaughter plants in the European Union. Workshop on alternatives to pig castration, DG SANCO, Brussels.
- Hansson, M., Lundelheim, N. & Nyman, G. (2011). Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53, pp. 34-33.
- Hofmo, P.O. (2006). Sperm sorting and low-dose insemination in the pig- an update. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48, S11.
- ILVO (z.j.). Dossier berengeur. Vroegtijdige en betrouwbare detectie van berengeur aan de hand van agressief en seksueel gedrag. pp. 1-3.
- ILVO (2012). Geraadpleegd op 18 februari 2015 via http://www.varkensloket.be/Portals/63/Documents/Technische_brochure_Alternatieven_onverdoofde_chirurgische_castratie.pdf
- Indol. (2015).Geraadpleegd op 18 februari 2015 via <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/i3408?lang=es®ion=AD>
- Jaturasitha, S., Kamopas, S., Suppadit, T., Khiaosa-ard, R. & Kreuzer, M. (2006). The effect of Gender of Finishing pigs slaughtered at 110 kilograms on performance, and carcass and meat quality. *ScienceAsia*, 32, pp. 297-305.
- Jensen, B.B. (2006). Prevention of boar taint in pig production. Factors affecting the level of skatole. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48, S6.
- Leidig, M.S., Hertrampf, B. & Failing, K. (2009). Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalization and defense behavior. *Appl Anim Behav Sci*, 116,pp. 174-178.
- Lenth, R. V. (2006-9). Java Applets for Power and Sample Size [Computer software]. Retrieved month day, year, from <http://www.stat.uiowa.edu/~rlenth/Power>.

Lucci, P., Pacetti, D., Numez, O. & Frega, N.G. (2012). Current Trends in Sample Treatment Techniques for Environmental and Food Analysis. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/40405.pdf>

Mathur, P.K., Napel, J.T., Bloemhof, S., Heres, L., Knol, E.F. & Mulder, H.A. (2012). A humane nose scoring system for boar taint and its relationship with androstenone and skatole. *Meat Science*, 91, pp. 414-422.

Matthes, R.D. (1986). "Effects of health disorders and poor nutritional status on gustatory function". *Journal of Sensory Studies*, 1, pp. 225.

Meier-Dinkel, L., Gertheiss, J., Müller, S., Wesoly, R. & Mörlein D. (2014). Evaluating the performance of sensory quality control: The case of boar taint. *Meat Science*, 100, pp. 73-84.

Meier-Dinkel, L., Sharifi, A.R., Tholen, E., Frieden, L., Bücking, M., Wicke, M. & Mörlein, D. (2013). Sensory evaluation of boar loins: Trained assessors' olfactory acuity affects the perception of boar taint compounds. *Meat Science*, 94, pp. 19-26.

Mörlein, D., Christenen, R.H. B., Gertheiss, J. (2015 a). Validation of boar taint detection by sensory quality control: Relationship between sample size and uncertainty of performance indicators. *Meat Science*, 100, pp. 232-236.

Mörlein, D., Schiermann, C., Meier-Dinkel, L., Trautmann, J., Wigger, R., Buttinger, G. & Wicke, M. (2015b). Effects of context and repeated exposure on food liking: The case of boar taint. *Food research international*, 67, pp. 390-399.

Mörlein, D., Meier-Dinkel, L., Mortiz, J., Sharifi, A.R. & Knorr, C. (2013). Learning to smell: Repeated exposure increases sensitivity to androstenone, a major component of boar taint. *Meat Science*, 94, pp. 425-431.

Patterson, R.L.S. (1984). Effect of sex grouping during growth on 5 α -androstenone development in boars at three commercial slaughter weights. *Meat Science*, 10, pp. 253-263.

Prunier, A., Bonneau, M., von Borell, E.H., Cinotti, S., Gunn, M., Fredriksen, B., Giersing, M., Morton, D.B., Tuytens, F.A.M. & Velarde A. (2006). A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Animal Welfare*, 15, pp. 277-289.

Prunier, A., Brillouët, A., Merlot, E., Meunier-Salaün, M.C. & Tallet C. (2013). Influence of housing and season on pubertal development, boar taint compounds and skin lesions of male pigs. *Animal*, pp. 1-9.

Prunier, A., Mounier, A.M. & Hay, M. (2005). Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. *Journal of Animal Science*, 83, pp. 216-222.

Puppe, B., Schon, P.C. & Tuchscherer, A. (2005). Castration-induced vocalization in domestic piglets, *sus scrofa*: complex and specific alteration of the vocal quality. *Appl Anim Behav Sci*, 95, pp. 67-78.

Ranheim, B. & Haga, H.A. (2006). Local anaesthesia for pigs subject to castration. *Acta veterinaria Scandinavica*, 48, S13.

Rault, J.L., Lay, D.C., Marchant-Forde, J.N. (2011). Castration induced pain in pigs and other livestock. *Anim Behav Sci*, 135, pp. 214-225.

Robic, A., Larzul, C. & Bonneau M. (2007). Genetic and metabolic aspects of androstenone and skatole deposition in pig adipose tissue: A review. *Genetics Selection Evolution* 40, pp. 129-143.

Schweizer, R.J. (2009). Export Report on the issue of the compatibility of the surgical castration of piglets using isoflurane inhalation anaesthesia with animal protection law. Universität St. Gallen.

Skarstad, G.A. & Borgen, S. (2007). Norwegian pig producers' view on animal welfare, discussion paper 2007-1, NILF, Oslo, available at: <file:///C:/Users/UGent/Downloads/DP-2007-01.pdf>

Skatol. (2015). Geraadpleegd op 17 februari 2015 via <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w301906?lang=es®ion=AD>

Squires, E.J., Gullett, E.A., Fisher, K.R. & Partlow G.D. (1991). Comparison of androst-16-ene steroid-levels determined by a colorimetric assay with boar taint estimated by a trained sensory panel. *Journal of Animal Science* ,69, pp. 1092-1100.

Ter Beek, V. (2007). Sex sorting technology could save time and money. *Pig Progress*, 23, pp. 22-23.

Tuytens, F.A.M., Vanhonacker, F. & Verhille, B. (2012). Pig producer attitude towards castration of piglets without anaesthesia versus alternative strategies. *Vet Sci*, 92, pp. 524-530.

Xue, J., Dial, G.D., Holton, E.E., Vickers, Z., Squires, E.J., Lou, Y., Godbout, D. & Morel N. (1996). Breed differences in boar taint: relationship between tissue levels boar taint compounds and sensory analysis of taint. *Journal of animal Science*, 74, pp. 2170-2177.

Xue, J.L., Dial, G.D. & Morrison, R.B. (1996). Comparison of the accuracies of chemical and sensory tests for detecting taint in pork. *Livestock Production Science*, 46, pp. 203-211.

Xue J.L. & Dial G.D. (1997). Raising intact male pigs for meat: Detecting and preventing boar taint. *Swine Health and Production*, 5, pp. 151-158.

Vanheukelom, V., Van Beirendonck, S., Van Thielen, J. & Driessen, B. (2012). Behaviour, production results and meat quality of intact boars and gilts housed in unmixed groups: A comparative study. *Applied Animal Behavior Science*, 142, pp. 154-159.

Van Beirendonck, S., Driessen, B. & Geers R. (2009). Biggencastratie onder verdoving. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 78, pp. 239-248.

Van Wagenberg, C.P.A., Snoek, H.M., van der Fels, J.B., van der Peet- Schwing, C.M.C., Vermeer, H.M. & Heres, L. (2013). Farm and management characteristics associated with boar taint. *Animal* 7, pp. 1841-1848.

Varkensloket.(z.j.) Nieuwsbrief: afmesten van intacte beren en immunocastraten.

Vazquez, J.M., Parrilla, I., Roca, J., Gil, M.A., Cuello, C., Vazquez, J.L. & Martinez, E.A. (2009). Sex- sorting sperm by flow cytometry in pigs: Issues and perspectives. *Theriogenology*, 71, pp. 80-88.

Von Borell, E., Baumgartner, J., Giersing, M., Jäggli, N., Prunier, A., Tuytens, F.A.M. & Edwards, S.A. (2009). Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal*, 3:11, pp. 1488-1496.

Wesoly, R., Stefanski, V. & Weiler, U. (2013). Influence of sampling procedure, sampling location and skin contamination on skatole concentrations in adipose tissue of pigs. Institute of Animal Husbandry and Animal Breeding. Department of Behavioral Physiology of Farm Animals university of Hohenheim. Gepresenteerd op het EAAP congress van 2013 in Nantes.

Zamaratskaia, G., Rydhmer, L., Chen, G., Madej, A., Andersson, H.K. & Lundström, K. (2005). Boar taint is related to endocrine and anatomical changes at puberty but not to aggressive behavior in entire male pigs. *Reproduction in Domestic Animals*, 40, pp.500-506.
Zamaratskaia, G. & Squires, E.J. (2009). Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal*, 3, pp. 1508-1521.

8. Bijlagen

Bijlage 1: protocol scores observaties

Protocol huidscore bij vleesvarkens

Klasse huidbeschadiging	Score	Definitie			
Geen	0	Geen krassen of andere verwondingen			
Zeer licht	1	1-3 krassen <5 cm , 1-2 van 5-15 cm, geen andere verwondingen			
Licht	2	4-6 krassen <5cm, 3- 4 van 5-15 cm, of 1-2 >15 cm en geen andere verwondingen			
Matig	3	>6 krassen <5cm, >4 van 5-15 cm, >3 krassen >15 cm of andere verwondingen			
Ernstig	4	Meerdere ernstige verwondingen op deel van lichaam			
Zéér ernstig	5	Meerdere ernstige verwondingen over geheel lichaam			

Protocol dierbevuiling vleesvarkens

Klasse dierbevuiling	Score	Definitie	
Proper	0	Het varken is proper	
Zeer licht	1	Tot 25% van het varken is bevuild	
Licht	2	25 tot 50% van het varken is bevuild	
Matig	3	50 tot 75% van het varken is bevuild	
Sterk	4	Meer dan 75% van het varken is bevuild	

Protocol hokbevuiling vleesvarkens

Klasse hokbevuiling	Score	Definitie	
Proper	0	Het vloeroppervlak is proper	
Zeer licht	1	Tot 25% van het vloeroppervlak is bevuild	
Licht	2	25 tot 50% van het vloeroppervlak is bevuild	
Matig	3	50 tot 75% van het vloeroppervlak is bevuild	
Sterk	4	Meer dan 75% van het vloeroppervlak is bevuild	

Protocol gedragsobservaties bij vleesvarkens

Soort gedrag	Definitie
Inactief	Varken slaapt of ligt neer
Eten / drinken	Varken eet of drinkt
Bewegen	Varken beweegt in het hok
Interactie met elkaar	Varken snuffelt aan ander varken zonder agressief gedrag te vertonen
Manipuleren	Varken bijt aan afleidmateriaal, voederbak, scheidingswanden, ...
Spelen	varken speelt door bijvoorbeeld rond te lopen zonder agressief gedrag te vertonen
Oor-& staartbijten	Varken bijt aan oor of staart van ander varken
Agressie	Varken dreigt, valt uit, duwt, bijt, heft ander varken op
Bestijgen	Varken (probeert) voorpoten over voor- of achterhand van ander varken te leggen en (probeert) te copuleren
Anogenitaal snuffelen	Neus varken dichterbij dan 5 cm van anogenitale zone van ander varken