



Verbetering mest door toevoeging bacteriën

Door: J.W. Logtenberg

AGRIprom
total cow comfort

Opdrachtgever:

Aeres Hogeschool Dronten

Onderdeel:

Eindscriptie HBO Dier- en Veehouderij

Datum:

Januari 2023

Mede mogelijk gemaakt door:

Agriprom & Microferm Limited

Verbetering mest door toevoeging bacteriën

Onderzoek naar een bacterieel additief voor mest ter bevordering van een anaerobe omzetting en een beter stalklimaat.

Naam: J.W. Logtenberg

Plaats: Nieuwleusen

Datum: 13-1-2023

Opdrachtgever: Aeres Hogeschool Dronten

Voorwoord

Deze scriptie is geschreven in het kader van een wetenschappelijke beroepsopdracht. De wetenschappelijke beroepsopdracht is een onderdeel van de afstudeerfase van de opleiding dier- en veehouderij van de Aeres Hogeschool Dronten.

Dit onderzoek is gedaan in de periode mei 2022 tot en met augustus 2022 bij Agriprom in Nieuwleusen voor de afdeling Consumables. In deze scriptie is een literatuurstudie en een praktisch onderzoek beschreven over het toevoegen van bacteriën om de eigenschappen van mest te verbeteren.

Graag wil ik Pieter Douwe Albada van Agriprom bedanken voor de enthousiaste begeleiding en ondersteuning. Verder wil ik graag Henk van Bergen van Microferm Ltd. bedanken voor theoretische en praktische ondersteuning en begeleiding tijdens dit onderzoek. Arthanja Verweij wil ik graag bedanken voor de begeleiding vanuit Aeres Hogeschool Dronten. Ook wil ik graag alle boeren bedanken die mee hebben gedaan met de proef voor hun medewerking en enthousiasme. Tenslotte wil ik graag alle collega's bij Agriprom bedanken voor de leuke tijd.

Veel plezier met het lezen van mijn scriptie.

Jur Logtenberg

Balkbrug, Januari 2023

Samenvatting

Uitstoot van stikstof- en broeikasgassen door de veehouderij is een algemeen bekend probleem. De negatieve gevolgen voor het klimaat en biodiversiteit dwingt de Nederlandse overheid maatregelen te nemen. Voor het reduceren van emissies kunnen verschillende systemen of additieven toegepast worden.

Het doel van dit onderzoek is het evalueren van het mestadditief EnviMore dat ontwikkeld is door Microferm Limited in samenwerking met Agriprom. Hiervoor is de volgende onderzoeksvraag opgesteld: 'In welke mate kan het toevoegen van bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest een positieve bijdrage leveren voor een betere drijfmestkwaliteit?' De facetten waarop ingegaan wordt zijn: Microbiële samenstelling, chemische samenstelling en ammoniakuitstoot.

Om een antwoord te geven op de onderzoeksvraag zijn er bij vijf vergelijkbare melkveebedrijven en bij één witvleeskalverenbedrijf behandelingen uitgevoerd. De melkveebedrijven gebruikten hierbij een nul-meting met na een periode van zes weken behandelen een eindmeting. Bij het witvleeskalverenbedrijf werd gebruik gemaakt van een proef- en controlegroep. Resultaten zijn vervolgens verwerkt in Excel en met behulp van een T-toets kunnen significante verschillen op 95 procent betrouwbaarheid worden aangetoond.

Uit resultaten is gebleken dat een verlaging van pH bij melkveebedrijven significant aangetoond kon worden. Verdere verschillen in microbiële samenstelling, chemische samenstelling en ammoniakuitstoot konden niet significant worden aangetoond. Mogelijke verklaring voor weinig aantoonbare resultaten is de korte behandelingsperiode en externe invloeden. Suggestie voor een vervolgonderzoek is dan ook om zoveel mogelijk externe factoren weg te nemen. Een laboratoriumonderzoek zou hierin uitkomst bieden.

Summary

Nitrogen and greenhouse gas emissions from livestock husbandry are a well-known problem. Negative consequences for climate and biodiversity force the government to take measurements. Various systems or slurry additives can farmers use to reduce those emissions.

Aim of this research is to evaluate the slurry additive EnviMore, what Microferm Limited developed in co-operation with Agriprom. Therefore, the following research question has been formulated: 'To what extent can adding bacteria with an acidifying effect make a positive contribution to slurry quality?' The aspects examined in this research are: Microbiological composition, chemical composition, and ammonia emissions.

In order to answer the research question, treatments with EnviMore have been carried out on five comparable dairy farms and one white veal calf farm. For dairy farms, a zero and a final measurement were used after a treatment period of six weeks. At the white veal calf farm, a test and control group were used. The results of these tests were processed in Excel, after which significant differences could be proven by means of a T-test with a reliability level of 95 percent.

The results have shown that a reduction of pH can be proven significantly by dairy farms. Further differences in microbiological composition, chemical composition, and ammonia emissions could not be demonstrated significantly. An explanation for the few outcoming results is the brief period of treatment and external influences. The suggestion for a follow-up study is to remove as much external factors as possible. A laboratory study would offer a solution in this regard.

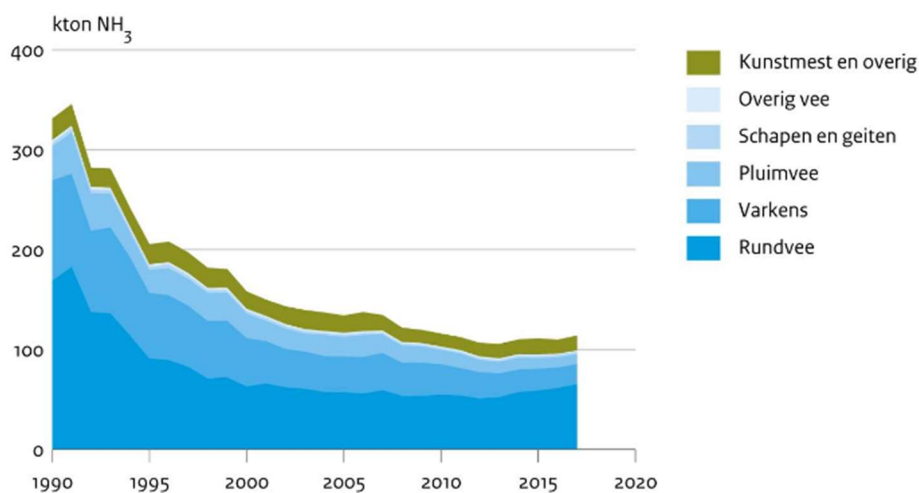
Inhoudsopgave

1. Inleiding	6
2. Materiaal & methode	11
3. Resultaten	13
3.1 Bacteriële samenstelling	13
3.2 Chemische samenstelling	14
3.3 Ammoniak analyse	14
4. Discussie	16
5. Conclusie	18
Literatuur.....	19

1. Inleiding

In Nederland bevinden zich 15.251 melkveebedrijven die samen 1.6 miljoen melk- en kalfkoeien houden (Centraal Bureau Statistiek, 2021). In totaal produceren deze bedrijven samen 13.6 miljard kilogram melk. Voor het produceren van melk zetten koeien (voor de mens) onbenutbaar eiwit om in benutbaar eiwit. Tijdens dit proces worden meerdere gassen (ammoniak, methaan en lachgas) gevormd die schadelijk zijn voor het milieu. Ook tijdens de opslag van de uitgeworpen mest vindt uitstoot van deze gassen plaats. Er zijn verschillende maatregelen om de uitstoot van deze gassen vanuit de mestkelder te reduceren. Het reduceren van deze (broeikas)gassen is nodig om de opwarming van de aarde tegen te gaan en voor het behoud van de natuur in Nederland. Te veel stikstof-depositie zorgt voor verdringing van plantensoorten en veranderde de plantensamenstelling (Centraal Bureau voor de Statistiek, 2022). De landbouwsector van Nederland heeft een groot aandeel in deze stikstofdepositie (RIVM, 2020). Het nieuwe beleid van het kabinet is erop gericht om de stikstofuitstoot door de agrarische sector te reduceren met 50 % in 2035. Veel agrarische ondernemers zijn bang dat dit ten koste zal gaan van de omvang van de Nederlandse veestapel (NOS, 2019). In figuur 1 is de uitstoot van ammoniak door de landbouwsector van 1990 tot 2017 weergegeven.

Figuur 1 Emissie ammoniak (NH_3) door landbouw per diercategorie (RIVM, 2019)



Zoals hierboven in figuur 1 is weergegeven is het de landbouwsector de afgelopen vijftientwintig jaar gelukt om ruim de helft in ammoniak te reduceren. Het beleid van de regering richt zich dan ook voornamelijk op het reduceren van dit gas (Rijksuniversiteit Groningen & De Boer, 2020). In deze scriptie is onderzoek gedaan naar knelpunten en mogelijke oplossingen tijdens drijfmestopslag om de ammoniakproductie te reduceren.

Ammoniak wordt gevormd wanneer de urine en feces bij elkaar komen. Dit gebeurt voornamelijk op de vloer en in de mestkelders. Ammoniak is een verbinding van stikstof en waterstof met als scheikundige formule NH_3 . Ammoniak is een kleurloos gas met een duidelijke penetrante geur. Biologisch gezien is het een veel voorkomend stikstofhoudend afval wat aanzienlijk bijdraagt aan de voedingsbehoeften van planten. Voor veehouders is het van belang dat de ammoniak gereduceerd wordt, waarmee de voedingsstoffen op het bedrijf blijven (Amon et al., 2006).

Naast ammoniakuitstoot hebben veehouders met regelmaat last van schuimvorming in de mestkelder. De vorming van schuim vermindert de opslagcapaciteit van de mestkelder wat vaak als nadelig wordt ervaren. Voor de vorming van schuim wordt vaak een te hoog aandeel bestendig zetmeel in het rantsoen aangewezen als boosdoener. Een te hoog aandeel bestendig zetmeel zorgt ervoor dat onverteerde delen droge snijmais, maismeel en/of aardappelvezels in de mestkelder terecht komen en hier vervolgens gaan gisten, wat resulteert in schuim (Mestportaal.nl, 2011).

Deze oorzaak kan in twijfel getrokken worden, omdat uit onderzoek van Van Vuuren (2011) is gebleken dat schuimvorming in mestkelders niet te sturen is via voeding. Bij schuimvorming spelen twee processen een rol: vorming van oppervlaktespanning-verlagende stoffen en vorming van gas. Oppervlaktespanning-verlagende stoffen ontstaan in mest door micro-organismen, deze micro-organismen kunnen afkomstig zijn uit het dier of zijn (onbewust) aan de mest toegevoegd. De vorming van gas neemt toe wanneer het aandeel verteerbare organische stof in de mest toeneemt. Elke mestkelder bestaat uit een andere samenstelling van micro-organismen die wél of niet voor schuimvorming kunnen zorgen (Van Vuuren, 2011).

Een ander probleem dat zich kan voordoen in de mestkelder is korstvorming. Een korst draagt bij aan minder homogene mest. Daarnaast legt de blinde bij op deze korst haar eitjes, waardoor er in de zomerperiode larven zich in de stal bevinden. Korstvorming ontstaat door droging van drijfmest (Groenestein et al., 2016). Veehouders kunnen korstvorming makkelijk voorkomen door frequent de mestkelders te mixen. In de praktijk blijkt dat het tussen melkveebedrijven verschilt hoe arbeidsintensief het mixen van de kelders is. Verder verschilt het per melkveebedrijf of het mixen van de drijfmest in de zomerperiode wel mogelijk is als gevolg een kleinere voorraad mest (Timmerman, 2016).

Voor het oplossen van de bovengenoemde problemen (ammoniak-vervluchtiging, schuim- en korstvorming) zijn er op de markt verschillende middelen beschikbaar. Op de huidige markt zijn momenteel de volgende mesttoevoegingsmiddelen beschikbaar:

- **Kopros** is een toevoegingsmiddel bestaande uit bacteriën en schimmels die de uitstoot van ammoniak reduceren (Kopros, 2021).
- **Bio-Mix** is een middel dat werkt met enzymen die de mestwaardes verbeteren en ervoor zorgen dat stikstof sneller opneembaar is voor de plant (Bio-Mix, z.d.).
- **Biomest** heeft als ingrediënten: Effectieve micro-organismen (*Lactobacillen Brevis*, - *Buchneri*), water en rietsuiker. Biomest zorgt voor verbeterde mestwaardes die sneller opneembaar zijn voor de plant (Biomest, z.d.).
- **MicroFerm & Pro-Mest** beïnvloedt de omstandigheden in drijfmest, zodat er anaerobe fermentatie ontstaat. Dit proces gebeurt als gevolg van toevoeging van anaerobe bacteriën. Dit product is vergelijkbaar met het product dat Agriprom in de markt wil gaan zetten.
- **BioAktive-MZ** werkt met aerobe bacteriën die drijfmest homogeniseren en ammoniak bindt aan de drijfmest (BioAktiv, 2021).
- **Active NS-poeder** werkt volgens het principe van het uitwisselen van negatief en positief geladen ionen. Die binden het ammonium aan de drijfmest, waardoor de hoeveelheid

ammoniakgas wordt verminderd. Actieve NS heeft ook een positief effect op de drijfmest tijdens het roeren, waardoor een homogener massa ontstaat (FCSI, z.d.).

- **AgriMestMix** is een natuurlijk mineralenmengsel. Dit mengsel bevordert de biochemische processen in drijfmest. Voornamelijk de bacteriën die organisch gebonden stikstof omzetten in ammonium stikstof worden gestimuleerd (Rinagro, 2020).

Naast de bovengenoemde producten wil Agriprom in samenwerking met Microferm Limited ter vervanging van haar huidige product genaamd Manure Pro een nieuw product in de markt zetten. Het huidige product was prijzig, waardoor het geen grote aftrek vond onder melkveehouders. Het nieuwe bacteriologische additief zal zich proberen te onderscheiden door economischer en een bredere werking te hebben in vergelijking tot het huidige aanbod. Doel van dit product is ammoniak-vervluchtiging te reduceren door verzuring te realiseren en drijfmest te homogeniseren om de korst- en schuimvorming tegen te gaan. Uit verschillende onderzoeken is al onderzocht wat het effect van een zuur is op de ammoniak-vorming.

Zo kwam uit recent onderzoek van Kavanagh et al. (2021) in Ierland naar voren dat ijzerchloride, zwavelzuur, aluin en azijnzuur buitengewoon effectief waren in het terugdringen van de uitstoot van broeikasgassen. Hierbij werden de NH_3 -emissies door deze behandeling met respectievelijk 96%, 85%, 82% en 73% verminderd. Wat methaan (CH_4) betreft, verminderden ijzerchloride, aluin, zwavelzuur en azijnzuur de uitstoot met respectievelijk 98%, 96%, 95% en 94%. De doeltreffendheid van de behandeling kan echter variëren afhankelijk van de samenstelling. In de kosten-batenanalyse werd de reductie van gasvormige emissies afgewogen tegen de netto kosten. Ijzerchloride, zwavelzuur, aluin en azijnzuur scoorden respectievelijk als beste. Hierbij kwam naar voren dat het gebruik kostenneutraal was (Kavanagh et al., 2006).

Het behandelen met zuur is echter vrij onbekend in Nederland. Al sinds de begin jaren negentig is onderzoek gedaan met hoopvolle resultaten, maar een uitwerking hiervan is nooit echt van de grond gekomen. De redenen waren dat werken met zuren niet als wenselijk werd gezien. Dit kwam vooral door de gevolgen voor het milieu en hoge kosten. Verder waren de systemen duur en was het goed mixen van het zuur een moeilijke opgave (Stevens, 2022).

In onderzoek van Bastami et al. (2021) werd geen zuur, maar 10% brouwsuiker aan drijfmest toegevoegd en gedurende 30 dagen bewaard. Dit zorgde voor een verzuring van de drijfmest van pH 7,0 naar pH 4,7. Deze verzuring werd binnen vier dagen bereikt en hield verband met de vorming van melkzuur en een vermindering van methaan- en ammoniakemissies. Tijdens het onderzoek werd ook de microbiële samenstelling in de drijfmest gemonitord. De verkregen gegevens onthulden de aanwezigheid van Lactobacillen die verantwoordelijk waren voor de productie van melkzuur. De verminderde werking van methanogenen (micro-organismen die methaan produceren) in de verzuurde drijfmest was waarschijnlijk de reden voor de verminderde methaanuitstoot. Deze resultaten bevestigen op microbiel niveau een verminderde methaanproductie door zelfverzuring gedurende de opslagperiode (Bastami et al., 2021).

Zelfverzuring kan ook bereikt worden door het toevoegen van bepaalde mestadditieven. Zo is in onderzoek van der Stelt et al. (2007) het effect van drie mestadditieven op NH_3 -vervluchtiging bij drie temperaturen (4, 20 en 35 °C) onderzocht. Daarnaast is in dit onderzoek het effect van het mengen/mixen van drijfmest op de NH_3 -vervluchtiging nog onderzocht. De vervluchtiging van ammoniak nam toe bij een hogere temperatuur en bij menging van de drijfmest. Echter bij 35 graden Celsius waren tijdens het mengen de NH_3 -emissies lager dan bij niet mengen. Een verklaring hiervoor is meer gastransport vanwege een verminderde korstweerstand als gevolg van een hogere temperatuur. Behalve bij 4 graden Celsius en geen vermenging werd een significante afname van 34% in NH_3 -

vervluchtiging waargenomen. Toen twee mestadditieven samen werden aangebracht, veranderde dit de mestkarakteristieken (pH, droge stof, N-totaal, N-mineraal, C/N en C/N-organisch) niet. Ook resulteerde dit niet in een significante afname van NH_3 -emissies (Van der Stelt et al., 2007).

Ook in onderzoek van Owusu-Twum et al. (2017) is de invloed van mestbehandeling door additieven op gasvormig emissies onderzocht. De behandelde groepen in dit onderzoek waren: drijfmest, drijfmest met zwavelzuur $\text{pH} > 6,0$, drijfmest met additief 1 en drijfmest met additief 2. De resultaten toonden bij drijfmest met zwavelzuur een remming van afbraak van organische materialen aan. Ook werd bij deze groep de NH_3 -vervluchtiging met 69% gereduceerd, andere emissies werden niet gereduceerd. Verder kwam in dit onderzoek naar voren dat drijfmestverzuring de waardes van drijfmest kan verhogen en tegelijkertijd de milieueffecten kan verminderen door een afname van NH_3 -emissie tijdens opslag. De mestadditieven hadden geen invloed op samenstelling en gasvormige emissies tijdens opslag. Dit maakt het gebruik van additieven om broeikasgassen te verminderen en de eigenschappen van de drijfmest te wijzigen twijfelachtig. (Owusu-Twum et al., 2017).

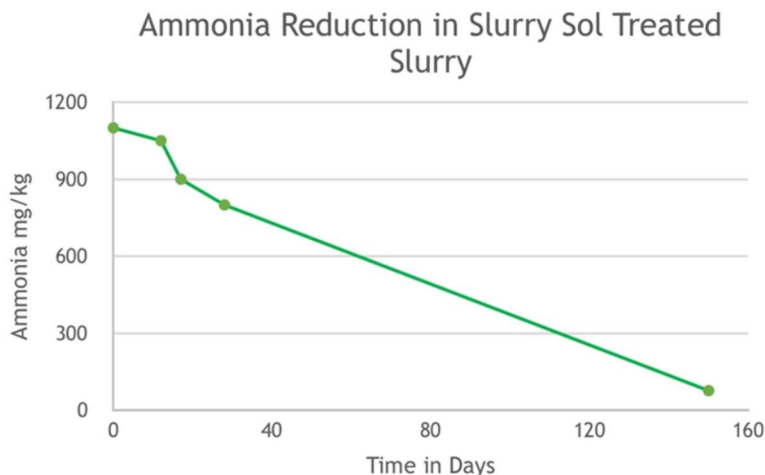
De NH_3 -emissies van drijfmest zijn vaker onderzocht onder verschillende omstandigheden. Zo ook in het onderzoek van Amon et al. (2006). Dit onderzoek was mede gericht op het kwantificeren van emissies uit drijfmestopslag en aanwending. De invloed van de mestverwerkingsopties: “geen behandeling”, “mestscheiding”, “anaerobe vergisting”, “mestbeluchting” en “strobedekking” werden hierbij onderzocht. Zo werd voor dit onderzoek verschillend behandelde drijfmest opgeslagen in drijfmesttanks ter grootte van 10 m^3 . De emissies werden gevolgd gedurende 80 dagen. Na de bewaarperiode werd de drijfmest aangebracht op blijvend grasland. Resultaat was dat methaanemissie vooral plaats vond tijdens opslag en ammoniak- en lachgasemissie na aanwending van de drijfmest. Verder resultaten van dit onderzoek waren:

- Onbehandelde drijfmest stootte $226,8 \text{ g NH}_3 \text{ m}^{-3}$ en $92,4 \text{ kg CO}_2\text{-eq. m}^{-3}$ (opslag en veldtoepassing).
- Drijfmestscheiding (vloeibare fractie en compostering van de dikke fractie) resulteerde in NH_3 -verliezen van $402,9 \text{ g m}^{-3}$ en broeikasgas-verliezen van $58,5 \text{ kg CO}_2\text{-eq. m}^{-3}$.
- Anaerobe vergisting was een zeer effectief middel om de uitstoot van broeikasgassen te verminderen. $37,9 \text{ kg CO}_2\text{-eq. m}^{-3}$ gingen verloren.
- De NH_3 -emissie was vergelijkbaar met die van onbehandelde drijfmest.
- Door de drijfmestopslag af te dekken met een laag gehakseld stro in plaats van een houten afdekking, nam de NH_3 -emissie toe tot $320,4 \text{ g m}^{-3}$ en de broeikasgasemissie tot $119,7 \text{ kg CO}_2\text{-eq. m}^{-3}$.
- Drijfmest beluchting verdubbelde bijna de NH_3 -emissie in vergelijking met onbehandelde mest. De uitstoot van broeikasgassen werd teruggebracht tot $53,3 \text{ kg CO}_2\text{-eq. m}^{-3}$ (Amon et al., 2006)

Naast de hierboven genoemde onderzoeken heeft Wageningen Livestock (Ogink & Melse, 2020) van het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit opdracht gekregen verschillende maatregelen voor ammoniakemissiereductie uit stallen te evalueren. Eén van deze maatregelen was de mestopslag onder de roostervloer dagelijks besproeien met AgriMestMix. Dit additief was een mengsel van mineralen en bacteriën. Uit de resultaten bleek dat het additief geen vermindering van ammoniakemissie gaf. Toch gaf het uitgevoerde emissieonderzoek geen uitspraak over het effect van toevoeging van AgriMestMix, omdat de behandelings- en locatie-effecten met elkaar waren verweven. Op basis van de beschikbare informatie werd geconcludeerd dat er onvoldoende bewijs was om te concluderen dat het gebruik van de AgriMestMix leidt tot een vermindering van ammoniakemissie (Ogink & Melse, 2020).

De eerdergenoemde onderzoeken tonen aan dat verzuring een reducerend effect heeft op emissies van drijfmest gedurende opslag. Ook gaven de onderzoeken aan dat van mestadditieven geen significante werking is aangetoond. Het product van Microferm Limited genaamd EnviMore, wat Agriprom in de markt wil gaan zetten, zou mogelijk wel een werking kunnen aantonen. Hierom is ook dit onderzoek gedaan. EnviMore is onder Nederlandse omstandigheden nog niet onderzocht. In Engeland en Ierland is de werking van een zeer vergelijkbaar product (Slurry Sol) van Microferm Limited wel aangetoond. In figuur 2 zijn de resultaten van dat onderzoek weergegeven.

Figuur 2 Ammoniakreductie door Slurry Sol behandelde drijfmest (Microferm Ltd., z.d.)



Het bovenstaande proefresultaat toont de vermindering van ammoniak gedurende een 150 dagen behandeling. Het resulteert in een toename van vastgehouden stikstof in de mest (Microferm Ltd., z.d.). Het onderzoek is niet onafhankelijk uitgevoerd en daarom niet betrouwbaar. Voor het nieuwe product in Nederland is een vergelijkbaar onderzoek opgesteld.

De hoofdvraag voor dit onderzoek is als volgt:

“In welke mate heeft het toevoegen van bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest een positieve bijdrage leveren voor een betere drijfmestkwaliteit?”.

De deelvragen die zijn opgesteld om de hoofdvraag te kunnen beantwoorden zijn:

Deelvraag 1: *“In welke mate verandert het bacterieprofiel (Lactobacillen, Coliform en Clostridia) van de drijfmest als bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest worden toegevoegd?”.*

Deelvraag 2: *“In welke mate verandert de chemische samenstelling (pH, DS, OM, totaal-N, organisch N, mineraal N) van de drijfmest als bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest worden toegevoegd?”.*

Deelvraag 3: *“In welke mate heeft het toevoegen van mest verzurende bacteriën aan drijfmest invloed op het stalklimaat, waarbij dit bepaald wordt op basis van ammoniakmetingen?”.*

Het doel van dit onderzoek is de mogelijke werking aantonen van toevoeging van verzurende bacteriën die een anaerobe omzetting stimuleren. De verwachting is dat deze bacteriën zorgen voor een beter stalklimaat en meer waarde uit drijfmest.

2. Materiaal & methode

Het doel van dit onderzoek is het mogelijk aantonen van meerwaarde uit mest door toevoeging van verzurende bacteriën die een anaerobe omzetting stimuleren. In dit hoofdstuk wordt eerst uitgelegd bij welke bedrijven en hoe de proef is opgezet. Vervolgens wordt per deelvraag uitgelegd met welke middelen en methodes de proef is opgezet. Tenslotte wordt de verwerking van de verkregen gegevens toegelicht.

Om te bepalen of het nieuwe product (in het vervolg EnviMore genoemd) de werking heeft die is beloofd, wordt een kwantitatief onderzoek uitgevoerd waarbij gebruikt is gemaakt van fieldresearch. Voor dit onderzoek zijn er bij vijf melkveebedrijven en één witveeskalverenbedrijf behandelingen met EnviMore uitgevoerd (zie bijlage 1). Dit product werd aangeleverd in verpakkingen van 1 kg. Afhankelijk van de grootte van de stal werd een deel van de verpakking afgewogen. De gebruikte dosering tijdens de proef was 0,5 gram/m² met een behandeling elke zeven dagen. De melkveebedrijven die meededen aan dit onderzoek hielden ongeveer 120 Holstein-Friesian koeien, hadden als grondsoort veen, deden aan weidegang en het rantsoen bestond voor meer dan 50 procent uit kuil- en weidegras. Bij de melkveebedrijven is tevoren het toevoegen van het product een nulmeting gedaan. Bij het witveeskalverenbedrijf is gebruikt gemaakt van een proef- en controlegroep. De proef- en controlegroep bestonden uit twee identieke stallen welke gelegen waren naast elkaar op één bedrijf. Het onderscheid is gemaakt, doordat deze twee stallen identiek en toch gescheiden van elkaar waren. Het onderzoek is valide, omdat het bij vijf vergelijkbare bedrijven in een klein gebied is uitgevoerd. In deze periode zijn het nemen van de monsters uitgevoerd door één dezelfde persoon met altijd dezelfde werkwijze. In bijlage 1 bevinden zich protocollen waarin preciezer beschreven staat hoe het onderzoek heeft plaats gevonden. Het onderzoek is betrouwbaar, omdat de monsters te allen tijde op dezelfde wijze zijn genomen en door gespecialiseerde laboratoria zijn onderzocht.

Microbiologie en chemische analyse

Op vijf melkveebedrijven en één witveeskalverenbedrijf is onderzoek gedaan naar mest microbiologie en mest chemische analyse. Voor mest microbiologie analyse zijn in de stal drie, op verschillende plaatsen, monsters genomen (bijvoorbeeld bij een waterbak en twee in gangpaden) die in analysezakken werden verzameld. De bacteriologische monsters zijn verzameld met behulp van een bak die 0,1 m² afbakende waarna met behulp van een spons alle mest in dit gebied in een zak werd gedaan. Per bedrijf zijn er twee keer drie bacteriologische monsters genomen. De monsters werden door eigen vervoer binnen 12 uur naar het laboratorium vervoerd voor analyse. De verkregen variabelen voor analyse zijn: aantallen Lactobacillen, Coliform en Clostridia.

Bemonstering voor chemische analyse vond altijd plaats na menging. Als het bedrijf niet beschikte over een rondpompsysteem, was het van belang alle monsters op dezelfde manier te nemen. Praktisch was dan om met een emmer in de bovenste halve meter na roeren een monster te nemen. Van iedere put zijn drie monsters genomen die werden samengevoegd tot 1 verzamelmonster en vervolgens opgestuurd naar Eurofins. De verkregen meetwaarden voor analyse zijn: pH, DS, OM, totaal-N, organisch gebonden N en ammoniak gebonden N. Het nemen van alle monsters gebeurde bij de lacterende dieren. De tijdlijn van bemonstering voor de melkveebedrijven was:

- Voor aanvang proef: mest chemische analyse en mest microbiologie
- Na 8 weken behandeling: mest chemische analyse en mest microbiologie

Bij één witveeskalverenbedrijf is bij twee identieke kalverstallen die opgestart zijn rond 1 maart ook onderzoek gedaan naar mest microbiologie en mest chemische analyse. De tijdlijn bij dit bedrijf was:

- Na 8 weken behandeling: mest chemische analyse en mest microbiologie bij controle- en proefgroep

Ammoniak

Voor de data-analyse zijn metingen gedaan met Gradko-diffusiebuisjes voor een tijds gewogen ammoniakmeting (2 weken). Per stal werden drie buisjes verdeeld over verschillende plaatsen in de stal (bijvoorbeeld een stal van 40 meter lang op 10, 20 en 30 meter), bij voorkeur in de omgeving van het dier op neushoogte. Na twee weken zijn de buisjes verzameld en opgestuurd naar Gradko laboratorium. Er is voor drie van de vijf melkveebedrijven gekozen, omdat twee melkveebedrijven minder geschikt waren voor ammoniakmeting. Bij deze bedrijven liepen de koeien de gehele dag buiten, waardoor het meten in de stal minder betrouwbaar was. Voor de melkveebedrijven is de volgende tijdlijn gemaakt:

- 2 weken voor aanvang proef: Gradko diffusie buisjes plaatsen
- Aanvang proef: Gradko diffusie buisjes ophalen
- Na 6 weken behandeling: Gradko diffusie buisjes plaatsen
- Na 8 weken behandeling: Gradko diffusie buisjes ophalen

Ammoniakmeting bij het witvleeskalverenbedrijf vond plaats bij proef- en controlegroep zes weken na eerste behandeling. Bij de proef- en controlegroep werd hiermee over twee weken gemeten hoeveel ammoniak er gemiddeld aanwezig was in deze periode in de stallen. De tijdlijn voor dit bedrijf was:

- Na 6 weken behandeling: Gradko diffusie buisjes plaatsen (proef- en controlegroep)
- Na 8 weken behandeling: Gradko diffusie buisjes ophalen (proef- en controlegroep)

Verwerking gegevens

De data van de bacteriologische monsters werd ontvangen van het laboratorium en genoteerd in Excel. De data van de ammoniak meting ontvangen van Gradko en van Eurofins werden ook in Excel gezet en geanalyseerd op fouten en/ of onbruikbare data. Vervolgens worden gegevens overgezet in een JASP-programma. Met behulp van een gepaarde t-toets voor de melkveebedrijven en een onafhankelijke t-toets voor het witvleeskalverenbedrijf kan met een betrouwbaarheid van 95 % een significant verschil worden aangetoond. De variabelen aangeleverd door Eurofins zijn: Droge stof, ruw as, organische stof, stikstof, stikstof-ammoniak, fosfaat, kali, magnesium, natron en C/N ratio. Vanuit Gradko werd per aangeleverd buisje de ammoniakconcentratie in PPM gegeven.

3. Resultaten

De resultaten van dit onderzoek bestaat uit drie onderdelen: bacteriële samenstelling, chemische samenstelling en ammoniak analyse. Om de bacteriële samenstelling te vergelijken zijn van drie bacteriegroepen de aantallen geanalyseerd. Voor chemische samenstelling is een vergelijking gedaan op het gebied van ammoniak- en organisch gebonden stikstof. Voor ammoniak analyse is een vergelijking gedaan met meetgegevens.

3.1 Bacteriële samenstelling

In onderstaande tabel is voor elk bedrijf weergegeven in welke maten bepaalde bacteriën op het bedrijf aanwezig waren. Voor de proeven zijn per bedrijf vier steekmonsters genomen. Dit gebeurde bij aanvang van de proef op 25 maart 2022 (moment 0) en bij afloop op 21 juli 2022 (moment 1). Tijdens beide momenten zijn er twintig monsters genomen. In tabel 1 zijn de gegevens van de microbiologie van de melkveebedrijven weergegeven.

Tabel 1 Gemiddelde met de standaardafwijking (SD*) van de bacteriegroepen en pH op de bedrijven (n=5) tussen moment 0 en 1.

	Moment 0	Moment 1
Lactobacillen	$2.156 \times 10^{+6} \pm 3.263 \times 10^{+6} \text{ a}$	$2.083^{+6} \pm 4.935 \times 10^{+6} \text{ a}$
Coliform	$1.172 \times 10^{+5} \pm 1.389 \times 10^{+5} \text{ a}$	$5.750 \times 10^{+4} \pm 6.408 \times 10^{+4} \text{ a}$
Clostridia	$1.944 \times 10^{+6} \pm 3.015 \times 10^{+6} \text{ a}$	$2.261 \times 10^{+6} \pm 3.100 \times 10^{+6} \text{ a}$
pH	$6.900 \pm 0.229^{\text{a}}$	$6.735 \pm 0.208^{\text{b}}$

*Er is een significant verschil als de letters onderling van elkaar verschillen tussen meting 0 en 1 ($P > 0,05$).

Het gemiddelde aantal Lactobacillen van moment 0 was $2.156 \times 10^{+6}$ en van moment 1 was $2.083 \times 10^{+6}$, echter was er geen significant verschil tussen moment 0 en 1 ($P = 0.995$). Het gemiddelde aantal Coliform van moment 0 ($1.172 \times 10^{+5}$) was hoger dan die bij moment 1 ($5.750 \times 10^{+4}$). Dit verschil was niet significant ($P = 0.116$). Het gemiddelde aantal Clostridia van moment 0 was $1.944 \times 10^{+6}$ en bij moment 1 was $2.261 \times 10^{+6}$. Ook hier kon tussen moment 0 en 1 geen significant verschil aangetoond worden ($P = 0.724$). De gemiddelde pH van moment 0 (6.900) was hoger dan moment 1 (6.735). Dit was een sterk significant verschil ($P < 0.001$).

Op 21 juli 2022 zijn bij de proef- en controlegroep op het witveeskalverenbedrijf monsters genomen. De resultaten hiervan zijn in tabel 2 weergegeven.

Tabel 2 Gemiddelde met de standaardafwijking (SD*) van de bacteriegroepen en pH op het witveeskalverenbedrijf tussen proef- en controlegroep

	Proefgroep	Controlegroep
Lactobacillen	$4.0 \times 10^{+5} \pm 4.935 \times 10^{+6} \text{ a}$	$1.6 \times 10^{+6} \pm 3.263 \times 10^{+6} \text{ a}$
Coliform	$8.0 \times 10^{+4} \pm 1.213 \times 10^{+5} \text{ a}$	$1.3 \times 10^{+5} \pm 1.135 \times 10^{+5} \text{ a}$
Clostridia	$5.6 \times 10^{+5} \pm 3.271 \times 10^{+5} \text{ a}$	$2.0 \times 10^{+6} \pm 1.329 \times 10^{+6} \text{ a}$
pH	$6.3 \pm 0.208^{\text{a}}$	$6.4 \pm 0.100^{\text{a}}$

*Er is een significant verschil als de letters onderling van elkaar verschillen tussen meting 0 en 1 ($P > 0,05$).

Het gemiddelde aantal Lactobacillen van de proefgroep ($4.0 \times 10^{+5}$) was lager dan de controlegroep ($1.6 \times 10^{+6}$). Dit was verschil was niet significant ($P = 0.126$). Het gemiddelde aantal Coliform van de proefgroep was $8.0 \times 10^{+4}$ en bij de controlegroep was $1.3 \times 10^{+5}$, echter was er geen significant verschil ($P = 0.612$). Het gemiddelde aantal Clostridia van de proefgroep ($5.6 \times 10^{+5}$) was lager dan de controlegroep ($2.0 \times 10^{+6}$). Dit was verschil was ook niet significant ($P = 0.138$). De gemiddelde pH van moment de proefgroep as 6.3 en van de controlegroep was 6.4. Ook hier kon geen significant verschil worden aangetoond ($P = 0.643$).

3.2 Chemische samenstelling

In tabel 3 zijn de resultaten van de chemische analyse voor behandeling (moment 0) en na behandeling met EnviMore (moment 1) weergegeven.

Tabel 3 Gemiddelde met de standaardafwijking (SD*) van de ammoniak en stikstof gebonden stikstof op de bedrijven (n=5) tussen moment 0 en 1.

	Moment 0	Moment 1
Ammoniak gebonden stikstof (g NH₃-N/kg)	1.540 ± 0.498 ^a	1.440 ± 0.167 ^a
Organisch gebonden stikstof (g N-org/kg)	2.020 ± 0.763 ^a	1.660 ± 0.573 ^a

*Er is een significant verschil als de letters onderling van elkaar verschillen tussen meting 0 en 1 (P>0,05).

De gemiddelde ammoniak gebonden stikstof van moment 0 (1.540) was hoger dan moment 1 (1.440). Dit verschil was niet significant (P=0.651). De gemiddelde organisch gebonden stikstof van moment 0 was 2.020 en van moment 1 was 1.660, echter kon dit verschil niet significant aangetoond worden (P=0.247). Voor het witveeskalverenbedrijf zijn de gemiddelden in tabel 4 weergegeven.

Tabel 4 Gemiddelde van de ammoniak en stikstof gebonden stikstof op het witveeskalverenbedrijf tussen proef- en controlegroep.

	Proefgroep	Controlegroep
Ammoniak gebonden stikstof (g NH₃-N/kg)	3	2,7
Organisch gebonden stikstof (g N-org/kg)	2,8	2,2

Zoals in tabel 4 is weer is te zien is er een daling van zowel ammoniak als organisch gebonden stikstof. Over de resultaten uit tabel 4 is geen statistische toets uitgevoerd.

3.3 Ammoniak analyse

Voor de meting van ammoniak zijn er met behulp van diffusiebuisjes gegevens verkregen. De eerste meting was van 11 tot 25 mei en de tweede meting was van 7 tot 21 juni. Tussen deze twee meetmomenten zat een verschil in temperatuur en luchtvochtigheid. Deze twee variabelen hebben een sterke invloed op vorming van ammoniak. Daarom is aan de hand van een berekening (bijlage 4) een correctie gemaakt bij de eerste meting (moment 0) ten opzichte van de laatste meting (moment 1). De verkregen meetgegevens zijn in tabel 5 weergegeven.

Tabel 5 Gemiddelde met de standaardafwijking (SD*) van de ammoniak analyse op de bedrijven tussen moment 0 en moment 1.

Ammoniak (NH₃ PPM)	
Moment 0	2.195 ± 0.896 ^a
Moment 1	2.260 ± 0.911 ^a

*Er is een significant verschil als de letters onderling van elkaar verschillen tussen meting 0 en 1 (P>0,05).

Zoals hierboven in tabel 5 is weergegeven, is de gemiddelde uitstoot van ammoniak van moment 0 (2.195) hoger dan van moment 1 (2.260) hoger, echter was er geen significant verschil (P=0.845).

Bij het witvleeskalverenbedrijf zijn van 6 tot 21 juni bij de proef- en controlegroep ook ammoniakmetingen gedaan. Bij de controlegroep zijn twee metingen meer gedaan dan bij de proefgroep, omdat de controlegroep uit meerdere stallen bestond. De gemiddelde waardes per groep zijn in tabel 6 weergegeven.

Tabel 6 Gemiddelde met de standaardafwijking (SD) van de ammoniak analyse op het witvleeskalverenbedrijf tussen proef- en controlegroep*

Ammoniak (NH ₃ PPM)	
Proefgroep	12.14846 ± 2.091 ^a
Controlegroep	7.936937 ± 1.922 ^a

*Er is een significant verschil als de letters onderling van elkaar verschillen tussen meting 0 en 1 ($P > 0,05$).

Het verschil in gemiddelde uitstoot van ammoniak van de controlegroep (7.937) en de proefgroep (12.148) was niet significant ($P = 0.069$).

4. Discussie

Het doel van dit onderzoek was het evalueren van werking van het mestadditief EnviMore. Het uitgevoerde onderzoek is valide, omdat er concreet gemeten is waarnaar in de deelvragen werd gevraagd. Het nemen van de monsters liep volgens protocol en waren identiek aan elkaar. Eén bacterieel monster in periode nul was niet bruikbaar voor het onderzoekslaboratorium. Mogelijke beperkingen aan de onderzoeksmethode voor de melkveebedrijven en het witvleeskalverenbedrijf waren het lage aantal metingen per bedrijf gezien de waardes onderling sterk van elkaar verschilden. Met meer metingen zou een hogere betrouwbaarheid bereikt kunnen worden. Daarnaast zouden meer deelnemende bedrijven en een langere behandelingsperiode een betrouwbaarder beeld kunnen geven.

De resultaten van de bacteriële samenstelling gaven geen verschil in aantallen Lactobacillen, Coliform en Clostridia bij de melkveebedrijven. De daling van pH kon bij de melkveebedrijven significant worden aangetoond. Bij het witvleeskalverenbedrijf konden veranderingen in bacteriesamenstelling of pH evenmin significant worden aangetoond. Verwacht werd dat het behandelen met EnviMore de bacteriële samenstelling van mest significant moest doen veranderen. Volgens onderzoek van van Bruggen et al. is er over bacteriële samenstelling van drijfmest weinig bekend (2008). Verder toonde dit onderzoek aan dat de bacteriële samenstelling van drijfmest tussen bedrijven sterk kan verschillen (van Bruggen et al., 2008). Daarnaast was de vloer bij het witvleeskalverenbedrijf van de proefgroep van hout en bij de controlegroep van rubber. De verschillende vloeren hebben mogelijk invloed gehad op de resultaten. De significante daling van pH bij de melkveebedrijven werd verwacht bij behandeling met EnviMore.

Uit de vergelijking chemische samenstelling konden geen verschillen worden aangetoond. Het verwachte resultaat was een lager aandeel ammoniak gebonden stikstof en een hoger aandeel organisch gebonden stikstof. EnviMore probeert de omzetting van organisch gebonden stikstof naar ammoniak gebonden stikstof te verminderen door toevoeging van Lactobacillen. Volgens onderzoek brengt toevoeging van Lactobacillen een daling in pH waardoor de ammoniakemissie afneemt (van der Stelt et al., 2007). Mogelijk was behandelingsperiode (8 weken) voor Lactobacillen te kort om de pH van de drijfmest voldoende te laten dalen. Daarnaast kan het nemen van de monsters een oorzaak zijn, omdat in de periode de hoeveelheid mest in opslag laag was. Hierdoor kon de drijfmest, maar bij twee melkveebedrijven gemiddeld worden. Verder voegden enkele bedrijven voor- of in tussentijd water toe aan de drijfmest wat een vertekend beeld kan geven. Bij het witvleeskalverenbedrijf zijn de monsters wel op identieke wijze genomen, maar werden de drijfmestopslagplekken ook niet gemengd. De beperking hier was het lage aantal genomen monsters (één per groep), waardoor er geen onafhankelijke t-toets kon worden afgenomen. Om te kijken of de gemiddelde waardes van de gewonnen monsters vergelijkbaar zijn met de waardes van de gemiddelde partijen van 2017 tot 2021 is er in tabel 7 een vergelijking weergegeven.

Tabel 7 Vergelijking drijfmesteigenschappen met landelijk gemiddelde (Koch Eurolab, z.d.)

	Gemiddelde genomen monsters	Gemiddelde landelijk (Koch Eurolab, z.d.)
Ammoniak gebonden stikstof (g NH₃-N/kg) in rundveedrijfmest	1.48	1.9
Organisch gebonden stikstof (g N-org/kg) in rundveedrijfmest	1.840	2.1
Ammoniak gebonden stikstof (g NH₃-N/kg) in witvleeskalverendrijfmest	2.9	2.1
Organisch gebonden stikstof (g N-org/kg) in witvleeskalverendrijfmest	2.6	0.5

Zoals in tabel 7 is weer te zien, verschillen de resultaten van het onderzoek met de gemiddelde drijfmesteigenschappen. Mogelijk speelt mee dat het landelijke gemiddelde voornamelijk monsters betreft die in het voorjaar genomen worden na een lange periode van opslag. In de proef waren de monsters van de rundveedrijfmest 8 weken oud en van de witvleeskalverendrijfmest 3 maanden oud. Gedurende opslag vindt fermentatie plaats waarbij organisch gebonden stikstof wordt omgezet in ammoniak gebonden stikstof. Daarnaast is het mogelijk dat drijfmestmonsters onderling sterk van elkaar kunnen verschillen (Koch Eurolab, z.d.).

Uit de vergelijking van ammoniak analyse bij de melkveebedrijven kwam geen verschil. Mogelijke verklaring hiervoor is dat vorming van ammoniak beïnvloed wordt door een groot aantal factoren (Van de Bogaert & Boussery, 2020) die niet mee zijn genomen in de correctieberekening. Bij het witvleeskalverenbedrijf was ook geen verschil in ammoniak uitstoot. Dit was conform verwachting wat een lagere uitstoot bij de proefgroep voorspelde. De omstandigheden bij het witvleeskalverenbedrijf waren grotendeels gelijk aan elkaar. Mogelijk speelt het verschil in vloer (rubber en hout) een rol bij de emissies. Daarnaast zouden groeiverschillen tussen de groepen invloed kunnen op de uitscheiding van stikstof bij hetzelfde rantsoen. De resultaten uit dit onderzoek komen overeen met een onderzoek van Ogink & Melse (2020) waarin met het dagelijks besproeien van een mestadditief op basis van mineralen en bacteriën de ammoniak reducerende werking werd onderzocht. Hieruit kwam naar voren dat het toevoegen van het additief niet leidde tot een vermindering van ammoniakemissie.

5. Conclusie

In dit onderzoek is gezocht naar antwoord op de vraag: *‘In welke mate heeft het toevoegen van bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest een positieve bijdrage leveren voor een betere drijfmestkwaliteit?’* Hiervoor is een kwantitatief onderzoek uitgevoerd naar de werking van het product EnviMore. De deelvragen die opgesteld waren om de hoofdvraag te kunnen beantwoorden, zijn:

Deelvraag 1: *“In welke mate verandert het bacterieprofiel (Lactobacillen, Coliform en Clostridia) van de drijfmest als bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest worden toegevoegd?”*.

Uit de resultaten kon geen verandering in bacterieprofiel vastgesteld worden. Verschillen konden hierin niet significant worden aangetoond. Wat wel significant aangetoond kon worden was een verlaging in pH na zes weken van behandeling bij de melkveebedrijven.

Deelvraag 2: *“In welke mate verandert de chemische samenstelling (pH, DS, OM, totaal-N, organisch N, mineraal N) van de drijfmest als bacteriën met een verzurende werking aan drijfmest worden toegevoegd?”*.

Een verandering in chemische samenstelling kon niet statistisch aangetoond worden. Mogelijke oorzaak hiervoor is de korte behandelingsperiode, wat de pH niet voldoende heeft laten dalen. Bij de vergelijking van de chemische samenstelling van de drijfmest tussen de proef- en controlegroep op het witvleeskalverenbedrijf veranderde de mestsamenstelling. De drijfmest van de proefgroep bevatte meer organisch gebonden stikstof bij een vergelijkbaar rantsoen. Dit verschil kon niet significant worden aangetoond omdat er per groep maar één monster was genomen.

Deelvraag 3: *“In welke mate heeft het toevoegen van mest verzurende bacteriën aan drijfmest invloed op het stalklimaat, waarbij dit bepaald wordt op basis van ammoniakmetingen?”*.

Ook basis van ammoniakmetingen kunnen er geen significante verschillen aangetoond worden. Mogelijke oorzaak hiervoor zijn de vele factoren die invloed hebben op de vorming van ammoniak. In vergelijkbare onderzoeken was het meten van ammoniakemissie tussen twee momenten vaak ook niet betrouwbaar.

Het aanbrengen van EnviMore heeft een verzurende werking op de mest maar statistisch kan niet worden aangetoond dat dit een positieve bijdrage levert aan een betere drijfmestkwaliteit. Hiervoor is verder onderzoek gewenst. Een vervolgonderzoek dat meer duidelijkheid kan geven is Laboratories onderzoek naar de werking van EnviMore. Dit kan met behulp van een proef- en controlegroep en wanneer er dezelfde aspecten als in dit onderzoek gemeten worden. Met een Laboratories onderzoek kunnen externe factoren/ invloeden, zoals temperatuur, luchtvochtigheid en luchtverversing, weggenomen worden voor een betrouwbaarder resultaat. Een aanbeveling voor veehouders is verder onderzoek afwachten over de werking van EnviMore voordat ze het in gebruik nemen.

Literatuur

Amon, B., Kryvoruchko, V., Amon, T. & Zechmeister-Boltenstern, S. (2006). Methane, nitrous oxide and ammonia emissions during storage and after application of dairy cattle slurry and influence of slurry treatment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 112(2–3), 153–162.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.08.030>

Arogo, J., Westerman, P. W. & Liang, Z. S. (2003). Comparing ammonium ion dissociation constant in swine anaerobic lagoon liquid and deionized water. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 46(5), 1415–1419. <https://doi.org/10.13031/2013.15441>

Bastami, M. S., Jones, D. L. & Chadwick, D. R. (2007). Microbial diversity dynamics during the self-acidification of dairy slurry. *Environmental technology*, 42(16), 2562–2572.

<https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1706644>

BioAktiv. (2021, 27 september). *Drijfmest*. Geraadpleegd op 31 maart 2022, van <https://bioaktiv.nl/mest/drijfmest/>

Biomest. (z.d.). *BioMest natuurlijke grond en mest verbeteraar*. Geraadpleegd op 31 maart 2022, van <https://www.biomest.eu/vragen>

Bio-Mix. (z.d.). *Biomix*. Geraadpleegd op 31 maart 2022, van <https://www.bio-mix.nl/index.php?route=common/home>

Centraal Bureau Statistiek. (2022, 30 juni). *Landbouw; gewassen, dieren en grondgebruik naar regio*. Geraadpleegd op 14 april 2022, van <https://opendata.cbs.nl/statline/#/CBS/nl/dataset/80780ned/table?dl=57862>

Centraal Bureau voor de Statistiek. (2022a, juni 22). *Introductie stikstofdossier*. Geraadpleegd op 15 april 2022, van <https://www.cbs.nl/nl-nl/dossier/dossier-stikstof/introductie-stikstofdossier>

Centraal Bureau voor de Statistiek. (2022b, oktober 25). *Welke sectoren stoten broeikasgassen uit?* Geraadpleegd op 16 april 2022, van <https://www.cbs.nl/nl-nl/dossier/dossier-broeikasgassen/welke-sectoren-stoten-broeikasgassen-uit>

FCSI. (z.d.). *Active NS – Minder geur – Meer stikstof*. activen. Geraadpleegd op 1 april 2022, van <https://www.activen.nl/>

Groenestein, C. M., Mosquere, J. & Melkse, R. W. (2016). *Methaanemmissie uit mest: schatters voor biochemisch methaan potentieel (BMP) en methaanconversiefactor (MCG (Nr. 961.))* Wageningen Livestock Research. <https://dio.org/10.18174/401705>

Kavanagh, I., Fenton, O., Healy, M. G., Burchill, W., Lanigan, G. J. & Krol, D. J. (2021). Mitigation ammonia and greenhouse gas emissions from stored cattle slurry using agricultural waste, commercially available products and a chemical acidifier. *Journal of Cleaner Production*, 294(126251). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126251>

Koch Eurolab. (z.d.). *Tabel samenstelling organische meststoffen*. eurolab.nl. Geraadpleegd op 4 januari 2023, van <https://www.eurolab.nl/meststof-organisch-v.htm>

Kopros. (2021, 2 september). *Toepassing*. Geraadpleegd op 2 april 2022, van <https://kopros.nl/werkwijze/>

Lupis, S. G., Davis, J. G., & Embertson, N. (2012). Best management practices for reducing ammonia emissions: manure application. *Fact sheet (Colorado State University. Extension). Livestock series; no. 1.631 D.v*

Mestportaal.nl. (2011, 11 april). *Schuimvorming op mest*. Geraadpleegd op 19 maart 2022, van <https://www.mestportaal.nl/2011/schuimvorming-op-mest/#:%7E:text=Schuimvorming%20op%20de%20mest%20kan%20veroorzaakt%20worden%20door,mestkelder%20terecht%20komt.%20De%20mest%20gaat%20daardoor%20gisten.>

NOS. (2019, 1 oktober). *Deze boeren leggen uit waarom ze demonstreren: "Ik zit muurvast door dit beleid"*. Geraadpleegd op 16 juni 2022, van <https://nos.nl/collectie/13799/artikel/2304207-deze-boeren-leggen-uit-waarom-ze-demonstreren-ik-zit-muurvast-door-dit-beleid>

Ogink, N. W. M. & Melse, R. W. (2020). *Beoordeling mogelijke PAS maatregelen: plausibiliteit van werking AgriMestMix systeem* (Nr. 1233). Wageningen Livestock Research. <https://dio.org/10.18174/514812>

Owusu-Twum, M. Y., Polastre, A., Subedi, R., Santos, A. S., Mendes Ferreira, L. M., Coutinho, J. & Trindade, H. (2017). Gaseous emissions and modification of slurry composition during storage and after field application: Effect of slurry additives and mechanical separation. *Journal of Environmental Management*, 200, 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.06.004>

De Boer, I. (2020). *Het stikstofprobleem in Nederland*. Rijksuniversiteit Groningen.
<https://frw.studenttheses.ub.rug.nl/3364/1/Thesis%20Master%20EIP-Ivan%20de%20Boer-28-08-2020.pdf>

Rinagro. (2020, 9 september). *AgriMestMix*. Geraadpleegd op 2 september 2022, van
<https://rinagro-smart-farming.nl/agrimestmix/>

RIVM. (2019). *Stikstof - Ammoniak (NH₃)*. Geraadpleegd op 22 juni 2022, van
<https://www.rivm.nl/stikstof/ammoniak>

RIVM. (2020). *Stikstof | RIVM*. Geraadpleegd op 22 juni 2022, van
<https://www.rivm.nl/stikstof>. <https://www.rivm.nl/stikstof>

Microferm (z.d.). *slurry sol*. Geraadpleegd op 6 oktober 2022, van
<https://www.microferm.co.uk/slurry-sol/>

Stevens, R. (2022, 12 juli). *Mogelijk nieuwe kansen voor aanzuren van mest*. Melkvee100Plus. Geraadpleegd op 30 juni 2022. Van
<https://www.melkvee100plus.nl/Artikelen/Binnenland/2022/7/Mogelijk-nieuwe-kansen-voor-aanzuren-van-mest-44928E/?intcmp=overview>

Timmerman, M. (2016). *Mestgassen uit melkveemest : jaarrond metingen van H₂S-concentraties*. (Livestock Research rapport; No. 1002). Wageningen Livestock Research. <https://doi.org/10.18174/401764>

Van de Bogaert, T. & Boussery, K. (2020). Ammoniakemissiereductie in rundveestallen. In *rundveeloket.be* (D/2020/3241/219). Departement Landbouw en Visserij Vlaanderen. Geraadpleegd op 3 januari 2023, van <https://www.rundveeloket.be/sites/default/files/inline-files/ammoniakemissiereductieinrundveestallen.pdf>

Van Bruggen, A. H. C., Blok, W. J., de Vos, Volker, D. & Diepen, G. (2008). *EM: effectieve microben of effectieve magie?: Een onderzoek naar de effectiviteit van Effectieve Micro-organismen (EM)* (Nr. 245). Wageningen University Research. Geraadpleegd op 6 januari 2023, van <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/24562>

Van de Stelt, B., Temminghoff, E. J. M., Van Vliet, P. C. J. & Van Riemsdijk, W. H. (2007, 1 december). *Volatilization of ammonia from manure as affected by manure additives, temperature and mixing*. Wageningen University Research. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.004>

Van Vuuren, A. M. (2012). Schuimvorming in mestkelders van rundveestallen niet te sturen via voeding. *Koeien & Kansen Nieuwsbrief*, 2012(217). <https://edepot.wur.nl/244854>

Bijlage 1 protocol

Praktijkproef mestadditief Nederland

Het te testen product is gericht op het verbeteren van de stalomgeving door middel van inbreng van positieve bacteriën. Het product wordt aangeleverd in poedervorm.

Veehouderij is het aandachtsgebied voor de proef, aangezien rundvee doorgaans in open stallen worden gehouden. Een verschuiving in het microbiom van de stal kan niet alleen leiden tot meer positieve bacteriën en daardoor minder negatieve bacteriën, maar ook tot een verminderde ammoniakemissie met een positief effect op gezondheid van dieren.

Materiaal

Het te testen product wordt aangeleverd in verpakkingen van 1 kg. Afhankelijk van de grootte van de stal wordt een deel van de verpakking afgewogen.

Bijvoorbeeld 500 gr/500 m², oplossen in 10 liter drinkwater (bij dosering van 0,5 ltr/min). 10 liter sproeien met rugspruit over 500 m² besmeurd oppervlak (waar mest en vocht bij elkaar komen).

Methode

1) Ammoniakmeting met Gradko-diffusiebuisjes - tijdgewogen ammoniakmeting (2 weken).

De buisjes worden op 3 verschillende plaatsen in de stal worden geplaatst (bijvoorbeeld stal 40 meter lang op 10, 20 en 30 meter). Bij voorkeur in de omgeving van het dier op neushoogte.

Na 2 weken buisjes verzamelen en opsturen naar Gradko laboratorium.

2) Mest microbiologie (pH en Coliforms/Clostridia/Lactobacilli).

In de stal worden 4, op verschillende plaatsen, monsters gestoken/genomen die in analysezakken worden verzameld (waterbak, veeborstel, 2 gangpaden). Voor monsternamen worden analysezakken beschikbaar gesteld, een rvs-deegsteker en alcoholdoekjes voor desinfectie. Monsters worden door ophaaldienst Miedema binnen 12 uur naar het laboratorium vervoerd voor analyse

3) Mest chemische analyse (pH, DS, OM, totaal-N, organisch N, mineraal N).

Iedere bemonstering vindt plaats na menging. Als het bedrijf niet beschikt over een rondpompsysteem, is het van belang alle monsters op dezelfde manier te nemen (bijvoorbeeld met emmer in bovenste halve meter na roeren). Van iedere put worden drie monsters genomen die worden samengevoegd tot 1 verzamelmonster dat wordt opgestuurd naar Eurofins.

Testlocaties:

Melkveebedrijf (mest microbiologie, mest chemische analyse, ammoniak meting)

Melkgevende dieren

- Voor aanvang proef: mest chemische analyse en mest microbiologie
- Na 6 weken behandeling: Ammoniakmetingen starten
- Na 8 weken behandeling: buisjes ophalen en mest chemische analyse en mest microbiologie

Vleeskalverhouderij (Ammoniakmeting, mest microbiologie, mest chemische analyse)

Identieke kalverstallen die opgestart zijn rond 1 maart

- Voor aanvang van de proef: mest chemische analyse en mest microbiologie
- Na 6 weken behandeling: Ammoniakmetingen starten
- Na 8 weken behandeling: buisjes ophalen en mest chemische analyse en mest microbiologie

Mocht het mogelijk zo zijn dat weersomstandigheden goed (warm en droog) zijn voor start van de proef dan zou een ammoniak meting voor de proef en na 6 weken behandeling te overwegen zijn.

Chronologie acties proef:

Melkveebedrijf (mest microbiologie, mest chemische analyse, ammoniak meting)

Melkgevende dieren (robotbedrijven en niet robot bedrijven)

- Week -2: Gradko Diffusiebuisjes plaatsen 3 stuks (alleen robotbedrijven)
- Week 0: Mest monsters nemen uit put voor chemische analyse
Mest monsters nemen in stal voor microbiologie
Gradko diffusiebuisjes ophalen en opsturen (alleen robotbedrijven)
Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m²
- Week 1: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m²
- Week 2, 3, 4, 5: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m²
- Week 6: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m²
Gradko Diffusiebuisjes plaatsen 3 stuks (alleen robotbedrijven)
- Week 7: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m²
- Week 8: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m²
Gradko diffusiebuisjes ophalen en opsturen (alleen robotbedrijven)
Mest monsters nemen uit put voor chemische analyse
Mest monsters nemen in stal voor microbiologie

Vleeskalverhouderij (Ammoniakmeting, mest microbiologie, mest chemische analyse)

Identieke kalverstallen die opgestart zijn rond 1 maart

- Week 0: Mest monsters nemen uit put voor chemische analyse beide stallen
Mest monsters nemen in stal voor microbiologie beide stallen
Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m² (de te behandelen stal)
- Week 1: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m² (de te behandelen stal)
- Week 2, 3, 4, 5: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m² (de te behandelen stal)
- Week 6: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m² (de te behandelen stal)
Gradko Diffusiebuisjes plaatsen 3 stuks ((behandelde stal)
Gradko Diffusiebuisjes plaatsen 3 stuks ((onbehandelde stal)
- Week 7: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m² (de te behandelen stal)
- Week 8: Behandeling met EnviMORE 0,5 g/m² (de te behandelen stal)
Gradko diffusiebuisjes ophalen en opsturen (beide stallen)
Mest monsters nemen uit put voor chemische analyse beide stallen
Mest monsters nemen in stal voor microbiologie beide stallen

Bijlage 2 uitslagen Jasp-programma

Lactobacillen

	Valid	Missing	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
22-me	19	1	2.156×10^6	3.263×10^6	150000.000	9.000×10^6
21-jul	20	0	2.083×10^6	4.935×10^6	140000.000	2.200×10^7

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
22-me	- 21-jul	0.006	18	0.995

Coliform

	Valid	Missing	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
22-me	19	1	117210.526	138908.275	11000.000	420000.000
21-jul	20	0	57500.000	64085.880	10000.000	210000.000

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
22-mei	- 21-jul	1.649	18	0.116

Clostridia

	Valid	Missing	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
22-mei	19	1	1.944×10 ⁺⁶	3.015×10 ⁺⁶	300000.000	1.000×10 ⁺⁷
21-jul	20	0	2.261×10 ⁺⁶	3.100×10 ⁺⁶	210000.000	1.000×10 ⁺⁷

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
22-mei	- 21-jul	-0.359	18	0.724

Note. Student's t-test.

Ph

	Valid	Missing	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
22-mei	19	1	6.900	0.229	6.500	7.200
21-jul	20	0	6.735	0.208	6.300	7.000

Valid d	Missin g	Mean	Std. Deviation	Minimu m	Maximu m
------------	-------------	------	-------------------	-------------	-------------

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
22-mei	- 21-jul	4. 49 1	18	< .001

Chemische waarden

Descriptive Statistics

	Ammoniak-stikstof voor	Ammoniak-stikstof na
Valid	5	5
Missing	0	0
Mean	1.540	1.440
Std. Deviation	0.498	0.167
Minimum	0.800	1.200
Maximum	2.200	1.600

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
Ammoniak-stikstof voor	- Ammoniak-stikstof na	0.48 8	4 1	0.65 1

Kalverstal

Descriptive Statistics

	Lactobacillen		Clostridia		Coliform		pH	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Valid	3	3	3	3	3	3	3	3
Missing	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean	1.627×10 ⁺⁶	396666.667	2.017×10 ⁺⁶	556666.667	132666.667	79900.000	6.400	6.333
Std. Deviation	1.013×10 ⁺⁶	438216.081	1.329×10 ⁺⁶	327159.492	113495.962	121335.609	0.100	0.208
Minimum	480000.000	100000.000	750000.000	210000.000	8000.000	8700.000	6.300	6.100
Maximum	2.400×10 ⁺⁶	900000.000	3.400×10 ⁺⁶	860000.000	230000.000	220000.000	6.500	6.500

Descriptive Statistics

	Organische-stikstof voor	Organische-stikstof na
Valid	5	5
Missing	0	0
Mean	2.020	1.660
Std. Deviation	0.763	0.573
Minimum	0.900	1.000
Maximum	3.000	2.400

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
Organische-stikstof voor	- Organische-stikstof na	1.35 5	4	0.24 7

Ammoniak

Descriptive Statistics

	melkvee gecorriceerd	melkvee laatste meting
Valid	9	8
Missing	0	1
Mean	2.195	2.260
Std. Deviation	0.896	0.911
Minimum	0.981	1.058
Maximum	3.684	3.268

Paired Samples T-Test

Measure 1	Measure 2	t	df	p
melkvee gecorriceerd	- melkvee laatste meting	0.202	7	0.845

Descriptive Statistics

	HZN	
	1	2
Valid	4	2
Missing	0	0
Mean	7.937	12.148
Std. Deviation	1.922	2.091
Minimum	5.476	10.670
Maximum	9.481	13.627

Independent Samples T-Test

	t	df	p
HZN	-2.474	4	0.069

Note. Student's t-test.

Bijlage 3 tabellen ter indicatie

Microbiologie melkveebedrijven 25 maart 2022 (Eigen ontwerp, Z.d.)

monster 25-5-2022	Lactobacillen	Coliform	Clostridia	pH
VDB1	1,7E+06	3,1E+05	9,0E+05	7,1
VDB2	1,0E+06	3,9E+05	6,0E+05	7,2
VDB3	4,2E+05	1,6E+05	8,0E+05	7,1
VDB4	2,5E+05	2,4E+04	4,0E+05	7,2
	8,4E+05	2,2E+05	6,8E+05	7,1
AK1	4,0E+05	2,4E+04	1,0E+07	7,2
AK2	1,5E+05	2,4E+04	6,4E+05	6,7
AK3	1,5E+05	3,0E+04	7,0E+05	6,8
AK4	1,0E+06	2,5E+04	1,4E+06	7,0
	4,3E+05	2,6E+04	3,2E+06	6,9
VDM2	8,0E+06	2,8E+05	1,4E+06	6,7
VDM3	7,0E+05	2,4E+04	6,0E+05	6,6
VDM4	2,5E+05	1,5E+04	3,0E+05	6,5
	3,0E+06	1,1E+05	7,7E+05	6,6
JDJ1	2,1E+05	3,6E+04	8,0E+05	6,9
JDJ2	3,7E+05	1,8E+05	3,9E+05	6,7
JDJ3	1,5E+05	2,4E+04	8,0E+05	7,0
JDJ4	8,0E+06	4,2E+05	5,0E+06	7,2
	2,2E+06	1,7E+05	1,7E+06	7,0
GS1	9,0E+06	2,0E+05	6,0E+05	6,7
GS2	8,0E+06	1,1E+04	1,0E+07	7,0
GS3	3,1E+05	3,0E+04	6,0E+05	6,7
GS4	9,0E+05	2,0E+04	1,0E+06	6,8
	4,6E+06	6,5E+04	3,1E+06	6,8

Tabel Microbiologie melkveebedrijven 21 juli 2022 (Eigen ontwerp, Z.d.)

Monster 21-7-2022	Lactobacillen	Coliform	Clostridia	pH
VDB1	3,6E+05	1,9E+04	2,1E+05	7,0
VDB2	1,5E+06	2,0E+05	1,0E+06	7,0
VDB3	3,0E+05	1,7E+04	1,0E+07	6,9
VDB4	2,5E+05	4,0E+04	3,1E+05	7,0
	6,0E+05	6,9E+04	2,9E+06	7,0
AK1	2,2E+07	8,8E+04	6,0E+05	6,9
AK2	7,4E+05	3,3E+04	5,8E+05	6,8
AK3	8,9E+05	2,8E+04	8,1E+05	6,8
AK4	1,0E+06	1,0E+04	1,2E+06	6,8
	6,2E+06	4,0E+04	8,0E+05	6,8
VDM1	1,4E+05	2,4E+04	4,3E+05	6,5
VDM2	2,6E+06	2,1E+05	8,0E+05	6,5
VDM3	4,9E+05	2,8E+04	4,0E+06	6,3
VDM4	3,3E+05	2,3E+04	2,7E+05	6,5
	1,1E+06	8,7E+04	1,7E+06	6,4
JDJ1	1,4E+05	2,8E+04	6,3E+06	6,6
JDJ2	3,5E+05	2,1E+04	1,0E+07	6,6
JDJ3	4,9E+05	4,2E+04	6,4E+05	6,8
JDJ4	4,1E+05	3,2E+04	1,4E+06	6,9
	3,5E+05	3,1E+04	4,6E+06	6,7
GS1	5,0E+05	1,7E+04	5,4E+05	6,8
GS2	7,1E+06	7,0E+04	4,5E+06	6,4
GS3	1,2E+06	1,9E+05	9,8E+05	6,8
GS4	8,6E+05	3,0E+04	6,5E+05	6,8
	2,4E+06	7,7E+04	1,7E+06	6,7

Tabel Chemische samenstelling drijfmest melkveebedrijven vòòr behandeling (met EnviMore) (Eurofins, 2022)

	GS	JDJ	AK	VDM	VDB
Droge stof (g ds/kg)	101	73	84	98	34
Ruw as (g RAS/kg)	17	17	22	18	8
Organische stof (g os/kg)	84	56	62	80	26
Stikstof (g N/kg)	3,82	3,38	4,37	4,46	1,72
C/N-ratio	10	7	6	8	7

Ammoniak-stikstof (g NH₃-N/kg)	1,6	1,6	2,2	1,5	0,8
Organische stikstof (g N-org/kg)	2,2	1,8	2,2	3	0,9
Fosfaat (g P₂O₅/kg)	1,47	1,58	1,49	1,47	0,6
Kali (g K₂O/kg)	5,3	5,2	6,9	4,9	2,7
Magnesium (g Mg/kg)	1,3	1,3	1,2	1	0,7
Natron (g Na₂O/kg)	0,5	0,7	0,9	0,8	0,5

Tabel Chemische samenstelling drijfmest melkveebedrijven ná 6 weken behandelen (Eurofins, 2022)

	GS	JDJ	AK	VDM	VDB
Droge stof (g ds/kg)	47	67	86	96	59
Ruw as (g RAS/kg)	11	16	19	20	16
Organische stof (g os/kg)	36	51	67	76	43
Stikstof (g N/kg)	2,4	3,29	4,02	3,36	3,17
C/N-ratio	7	7	8	10	6
Ammoniak-stikstof (g NH₃-N/kg)	1,2	1,6	1,6	1,4	1,4
Organische stikstof (g N-org/kg)	1,2	1,7	2,4	2	1,
Fosfaat (g P₂O₅/kg)	0,89	1,4	1,65	1,08	1,05
Kali (g K₂O/kg)	4,5	5,5	5,1	5,2	5,4
Magnesium (g Mg/kg)	0,5	0,8	1,8	0,7	0,7
Natron (g Na₂O/kg)	< 0,6	0,7	0,5	1,1	1,1

Bijlage 4 berekening correctie ammoniak

Table 9. Means, least squares means (LSM), and a regression model of NH₃ emission rate (g d⁻¹ animal⁻¹) from free-stall/tie-stall dairy barns by dietary crude protein (CP) content and air temperature (T)^a

	14% ≤ CP < 16%	16% ≤ CP < 18%	18% ≤ CP < 20%	20% ≤ CP < 22%	LSM
Natural ventilation					
5°C ≤ T < 10°C	46.7 (2)	41.6 (3)	(0)	(0)	56.2 ±15.1
10°C ≤ T < 15°C	(0)	45.9 (3)	(0)	(0)	70.3 ±15.9
15°C ≤ T < 20°C	32.1 (4)	52.8 (6)	85.0 (4)	(0)	94.3 ±14.5
20°C ≤ T < 25°C	36.8 (4)	59.0 (7)	59.7 (2)	(0)	97.1 ±14.6
25°C ≤ T < 30°C	77.2 (2)	109.8 (1)	138.8 (1)	181.0 (1)	97.6 ±17.7
LSM	49.5 ±14.5	64.5 ±14.1	87.6 ±14.4	143.0 ±18.0	
Mechanical ventilation					
5°C ≤ T < 10°C	5.5 (1)	(0)	(0)	(0)	22.9 ±11.9
10°C ≤ T < 15°C	(0)	9.8 (2)	6.5 (3)	(0)	23.3 ±6.4
15°C ≤ T < 20°C	(0)	27.4 (4)	30.9 (3)	(0)	34.4 ±8.1
20°C ≤ T < 25°C	(0)	49.6 (3)	18.2 (1)	19.8 (1)	36.1 ±6.6
25°C ≤ T < 30°C	(0)	8.2 (1)	8.5 (3)	(0)	34.8 ±7.6
LSM	14.8 ±10.6	23.9 ±9.2	28.9 ±9.2	37.7 ±9.7	38.8 ±10.1

^a Linear regression equation for barns with natural ventilation: ER = -144.7 + 2.66T + 1040 × CP, where ER is NH₃ emission rate (g d⁻¹ animal⁻¹), T is air temperature (°C), and CP is crude protein content of feed. For natural ventilation, p < 0.01 for the effects of both T and CP. For mechanical ventilation, neither T nor CP was significant (p = 0.65 for the effect of T; p = 0.50 for the effect of CP). Values in parentheses are the number of data points in each category.

VARIATIONS OF AMMONIA EMISSIONS FROM CATTLE
OPERATIONS: EFFECTS OF AIR TEMPERATURE
AND DIETARY CRUDE PROTEIN CONTENT

Z. Liu, Y. Liu, X. Shi, J. P. Murphy, R. Maghirang

Vol. 60(1): 215-227 © 2017 American Society of Agricultural and Biological Engineers

2,5	41,6
7,5	45,9
12,5	52,8
17,5	59
22,5	109,8
27,5	106

