

Animal Sciences Group

Kennispartner voor de toekomst



process for progress

Rapport 141

Verkenning perspectief van ureaseremmers voor beperking van ammoniakemissie uit Nederlandse melkveestallen

Juni 2008



ANIMAL SCIENCES GROUP
WAGENINGEN UR

Colofon

Uitgever

Animal Sciences Group van Wageningen UR
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Telefoon 0320 - 238238
Fax 0320 - 238050
E-mail Info.veehouderij.ASG@wur.nl
Internet <http://www.asg.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Aansprakelijkheid

Animal Sciences Group aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Liability

Animal Sciences Group does not accept any liability for damages, if any, arising from the use of the results of this study or the application of the recommendations.

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Abstract

The prospects for applying urease inhibitors in Dutch dairy cow housing were studied. NBPT and a new German urease inhibitor are identified as most promising. The effects on ammonia emissions should be quantified in real farm conditions. A reduction of ammonia emission in a range between 20 and 40% is to be expected.

Keywords: urease inhibitors, ammonia emission, dairy cattle, housing

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteurs: M.C.J. Smits en S. Bokma

Titel: TVerkenning perspectief van ureaseremmers voor beperking van ammoniakemissie uit Nederlandse melkveestallenT
Rapport 141

Samenvatting

Het perspectief van ureaseremmers voor de Nederlandse melkveehouderij is verkend. NBPT en een nieuwe, Duitse ureaseremmer lijken het meest perspectiefrijk. De ammoniakemissiereducties onder praktische stalomstandigheden moeten echter nog vastgesteld worden. Reducties van naar schatting 20 tot 40% zijn mogelijk.

Trefwoorden: ureaseremmers, ammoniakemissie, melkvee, stal



ANIMAL SCIENCES GROUP
WAGENINGEN UR

Rapport 141

Verkenning perspectief van ureaseremmers voor beperking van ammoniakemissie uit Nederlandse melkveestallen

M.C.J. Smits

S. Bokma

Juni 2008

Samenvatting

In dit rapport wordt het perspectief van ureaseremmers voor de Nederlandse melkveehouderij verkend. Dit op basis van een literatuurstudie en expert judgement. Dit onderzoek is gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit, programma Mineralen en Milieukwaliteit, thema luchtkwaliteit.

Koeien nemen via het voer stikstof op. De overmaat aan verteerde stikstof wordt door het dier grotendeels in de vorm van ureum in de urine uitgescheiden. Ureum wordt op de stalvloer en in de mestkelder met het enzym urease omgezet in ammonium. Dit ammonium wordt in de vloeistoffase deels omgezet in ammoniak. Ammoniak kan vanuit de vloeistoffase overgaan naar de gasfase en vervluchtigen. De mate waarin dit gebeurt, is afhankelijk van ondermeer ammoniakconcentratieverschillen, temperatuur en luchtsnelheid. Zolang ureum niet is omgezet tot ammonium kan er ook geen ammoniak uit gevormd worden. Normaliter is het enzym urease echter in zeer ruime mate aanwezig in urineplassen en speelt dan geen beperkende rol bij de vorming van ammonium en ammoniak. Ureaseremmers beperken de activiteit van het enzym urease of maken het enzym inactief. Vertraging van de vorming van ammonium en ammoniak op stalvloeren met een ureaseremmer is een reductieoptie die tot dusver slechts beperkte aandacht heeft gekregen.

In dit rapport worden de processen en omstandigheden die van invloed zijn op de activiteit van het enzym urease beschreven; alsook de mechanismen volgens welke een ureaseremmer kan werken. Er wordt een overzicht gegeven van onderzoek naar toepassing van ureaseremmers in zowel kunstmest als in omgevingen waar dieren worden gehouden. Beschreven wordt hoe ureaseremmers in stallen toegepast kunnen worden en hoe de toepassing gecontroleerd kan worden. Tevens wordt een inschatting van de effectiviteit van deze emissiereducerende maatregel beschreven.

Uit het onderhavige literatuuronderzoek komen twee kansrijke ureaseremmers naar voren voor toepassing in stallen. NBPT lijkt op grond van diverse onderzoeken perspectiefrijk uit emissieoogpunt en is ook kosteneffectief. Een Duitse ureaseremmer zoals gerapporteerd door Leinker (2007) lijkt eveneens perspectiefrijk en kan, zodra de specificaties bekend zijn nader onderzocht worden.

De emissiereducerende effecten op stalniveau van NBPT en de Duitse ureaseremmers onder praktische en Nederlandse omstandigheden moeten nog vastgesteld worden. Alvorens emissiemetingen op stalniveau uit te voeren, wordt aanbevolen om emissiemetingen uit te voeren op vloerdelen in stallen die door het melkvee normaal met faeces bevuild zijn en waar vervolgens verse urineplassen op worden aangebracht. In het Duitse onderzoek is al wel het effect van ureaseremmers op de ureaseactiviteit op vloerdelen in stallen gemeten. De emissie van vloerdelen onder praktische omstandigheden is echter nog niet gemeten.

Voor de kosteneffectiviteit van toepassing van ureaseremmer als emissiereducerende maatregel, zijn niet alleen de kosten van de ureaseremmer van belang, maar ook die van het mestverwijdersysteem (schuif of robot), de doseerinstallatie en de eventuele volumeverandering van de mest. Er zijn reeds doseertechnieken beschikbaar. Voor de doelmatige toepassing van ureaseremmers zal echter nog finetuning van de technieken plaats moeten vinden. Hierbij zal uiteraard het welzijn van dieren worden meegenomen. De doseermogelijkheden worden in dit rapport ook vanuit die optiek bediscussieerd. De borging/controleerbaarheid van deze emissiearme maatregel (de regelmatige en effectieve dosering van ureaseremmers) verdient nog aandacht.

Neveneffecten van ureaseremmers op het milieu en de gezondheid van de mens en dier hebben in het onderzoek aan ureaseremmers nog nauwelijks aandacht gekregen. Hoewel het slechts om geringe hoeveelheden middel (milligrammen per vierkante meter per dag) gaat, zal uitgesloten moeten worden dat schadelijke contaminaties (residuen) in melk of vlees optreden. De meeste ureaseremmers werken slechts tijdelijk en worden in de bodem afgebroken.

Er zijn voldoende aanknopingspunten om nader onderzoek te doen naar de toepassing van ureaseremmers op stalvloeren van Nederlandse melkveehouderijbedrijven. De emissiereductie die op stalniveau verkregen kan worden dient nog vastgesteld te worden. Een emissiereductie in de range van 20 tot 40% is wellicht mogelijk.

Summary

The prospects for applying urease inhibitors in Dutch dairy cow housing were studied.

This project was funded by the Dutch Ministry of Agriculture, Nature Management and Food Quality through the research program Minerals and Environmental Quality, theme Air Quality.

Most of the surplus of digested nitrogen in the cow is excreted as urinary urea.

On the floor and in the slurry pit, the urea is hydrolysed into ammonia (and CO₂) with the enzyme urease.

Normally, urease is available in abundance in urine puddles on the floor and is not a limiting factor in the breakdown of urea into ammonia. Urease inhibitors reduce the activity of the enzyme urease or block the enzyme completely. Reduction of ammonia volatilisation by applying urease inhibitors on floors in Dutch cow houses has only been studied in a few experiments more than a decade ago. In this report the processes and conditions that influence the activity of the enzyme urease are described along with the ways urease inhibitors can act.

An overview is given of research into application of urease inhibitors in fertilizers and in animal environments.

Techniques for applying urease inhibitors and how these can be checked by the government are described.

NBPT and a new German urease inhibitor are identified as most promising. The specifications of the German inhibitor will become available after its patent is assigned. The net effect on ammonia emission of applying these inhibitors in commercial farms with concrete floors should be quantified. Prior to this it is recommended to perform experiments with a dynamic box in a cow house with fresh urine on floor elements that are regularly befouled with faeces and not cleaned.

Urease activity measurements on floor elements are done according to a standard that prescribes to remove the faeces first in order to reduce variability. Urease activity in faeces however may be relevant in converting urea into ammonia and subsequent volatilisation.

Cost effectiveness of urease inhibition is determined by the costs of the scraper, the application technique, the inhibitor (kg/year) and the reduced amount of ammonia emission.

Application techniques are available. However, fine-tuning of techniques is still needed to get the best application results. For final acknowledgement of the technique, guidelines and technical checks like datalogging need to be specified in more detail.

Side effects of inhibitors on the environment and on the health of humans and animals should be excluded. It should be assured that contamination of milk and meat is not possible: there should be no residues of inhibitors. Most inhibitors are only active for a limited period of time and are easily broken down in the soil.

Further research into application of urease inhibitors on Dutch dairy farms is recommended. The effects on emissions should be quantified in real farm conditions. A reduction of ammonia emission in a range between 20 and 40% is to be expected.

Inhoudsopgave

Samenvatting

Summary

1 Inleiding	1
2 Literatuurstudie	3
2.1 Basisprincipes hydrolyse van ureum en vervluchtiging van ammoniak	3
2.2 Ureaseactiviteit op stalvloeren	3
2.3 Ureaseremmers	5
2.3.1 Toepassing ureaseremmers in kunstmest	5
2.3.2 Onderzochte ureaseremmers op stalvloeren en dierlijke mest	6
3 Toedieningstechnieken en implicaties	11
3.1 Doseersystemen voor ureaseremmers	11
3.2 Controleerbaarheid toepassing ureaseremmers	14
3.3 Inschatting potentiële emissiereductie op stalniveau	15
4 Discussie en aanbevelingen	17
Literatuur	20
Bijlagen	23
Bijlage 1 Productinformatie NBPT (commerciële naam: Agrotain)	23
Bijlage 2 Duitse patentaanvragen voor ureaseremmers	25
Bijlage 3	27

1 Inleiding

De melkveehouderij is in Nederland één van de grootste bronnen van ammoniakemissie. Melkvee wordt al decennia lang overwegend in natuurlijk geventileerde ligboxenstallen gehuisvest. Onderzoek naar vermindering van ammoniakemissie heeft zich tot dusver bij melkvee dan ook vooral op dit huisvestingssysteem geconcentreerd. Dit heeft een beperkt aantal erkende emissiearme systemen opgeleverd (Rav, 2007). Deze systemen gaven echter knelpunten op het gebied van dierenwelzijn, vooral ten aanzien van de beloopbaarheid van de vloeren (uitglij-incidenten en geremd gedrag). Dit is één van de redenen waarom emissiearme systemen tot dusver slechts op zeer beperkte schaal zijn toegepast in de melkveehouderij. Andere redenen zijn de veelal hoge kosten van de emissiearme systemen en de, in vergelijking met de varkens- en pluimveehouderij, minder sterke bedrijfsontwikkeling in de melkveehouderijsector in het laatste decennium. Ook was er minder of geen pressie door overheidsregulering: de melkveehouderijsector heeft, in samenspraak met de overheid, de afgelopen jaren vooral ingezet op emissiereductie via voedings- en managementmaatregelen. Emissiereductie via voeding en management alleen is echter in de nabije toekomst waarschijnlijk niet meer toereikend om aan de internationaal overeengekomen ammoniakplafonds (NEC richtlijn) te kunnen voldoen (Milieubalans, 2006, VROM, 2006, Smits *et al.*, 2007; Aarts *et al.*, 2008). Ook via de huisvesting zal een forse emissiereductie moeten worden bereikt. Het leeuwendeel van de ammoniakemissie uit ligboxenstallen is afkomstig uit de verse urineplassen op de loopvloeren (ca. 50 à 60%) en uit de mest in de mestkelders (ca. 40 à 50%). Veel recente ontwikkelingen zijn gericht op snelle afvoer van mest: verlaging van de emissies via aanpassing van vloeren en mestopvang (Braam *et al.*, 1997; van Dooren *et al.*, 2007). Voor bestaande stallen brengt dit echter veelal aanzienlijke aanpassingen en dito kosten met zich mee. Vertraging van de vorming van ammoniak op de stalvloeren met specifieke middelen is wellicht ook een goede reductieoptie die tot dusver echter slechts beperkte aandacht heeft gekregen.

De overmaat aan verteerde stikstof wordt door het dier in de urine uitgescheiden. Dit grotendeels in de vorm van ureum. Ureum wordt met het enzym urease omgezet in ammonium. Urease wordt gevormd door bacteriën die in overmaat aanwezig zijn in faeces en in een bacteriefilm die zich -deels ingekapseld in een ureasesteenlaagje- op bevulde stalvloeren vormt. Normaliter is het enzym dan ook in zeer ruime mate aanwezig in urineplassen en speelt dan geen beperkende rol bij de vorming van ammoniak. Ureaseremmers hebben de eigenschap de activiteit van het enzym urease te beperken of het enzym inactief te maken. Ook door de ureasevormende bacteriën te doden en/of hun ontwikkeling sterk te remmen, kan de ureaseactiviteit gereduceerd worden. Hierdoor wordt de vorming van ammoniak uit ureum vertraagd, en zal de emissie vanaf de stalvloer, en mogelijk ook uit de mestkelder worden verminderd.

Naar het gebruik van ureaseremmers op stalvloeren is recentelijk in Duitsland een experimenteel en 'semipraktijk' onderzoek uitgevoerd, met naar verluid perspectiefvolle resultaten. De (merk-) naam van de meest effectieve ureaseremmer die men in Duitsland heeft gebruikt, is nog niet beschikbaar, maar wordt waarschijnlijk in de loop van 2008 vrijgegeven. Vooruitlopend hierop en mede naar aanleiding van de gunstige verwachtingen die in het Duitse onderzoek zijn geschetst (Leinker *et al.*, 2007), wordt in de onderhavige rapportage een deskstudie beschreven waarbij de mogelijkheden voor toepassing van ureaseremmers in de Nederlandse melkveehouderij verkend zijn.

Er is een literatuurverkenning -aangevuld met eigen denkwerk- uitgevoerd naar:

- de processen en omstandigheden die van invloed zijn op de activiteit van het enzym urease;
- de mechanismen volgens welke een ureaseremmer kan werken;
- stoffen die als ureaseremmer in aanmerking komen, hun beschikbaarheid, kosten en eventuele mogelijke neveneffecten;
- de doseertechniek en het reductiepotentieel bij praktische toepassing in stallen;
- aspecten van controle & handhaafbaarheid die goed geregeld moeten worden alvorens de toepassing van ureaseremmers in de praktijk door de overheid toegelaten kan worden.

Toepassing van ureaseremmers als maatregel om de ammoniakemissie uit stallen te verlagen lijkt op basis van elders uitgevoerd onderzoek een interessante mogelijkheid. Doel van deze deskstudie is om het perspectief van ureaseremmers voor de Nederlandse melkveehouderij te verkennen en hiervoor kansrijke producten te identificeren. Bij voldoende perspectief kan dit aanleiding zijn voor vervolgonderzoek om deze producten te toetsen op effectiviteit (ammoniakemissiereductie) en toepasbaarheid onder (Nederlandse) praktijkomstandigheden. Als de effectiviteit bewezen is, kan aangestuurd worden op erkenning in regelgeving en verdere introductie en toepassing in de praktijk.

Hoofdstuk 2 beschrijft het literatuuronderzoek. Hierin wordt de werking van het enzym urease beschreven en de aangrijpingsprincipes van ureaseremmers. Voorts wordt een overzicht gegeven van onderzoek naar toepassing van ureaseremmers in zowel kunstmest als in omgevingen waar dieren worden gehouden.

Hoofdstuk 3 beschrijft hoe ureaseremmers in stallen toegepast kunnen worden en hoe de toepassing gecontroleerd kan worden. Tevens wordt in hoofdstuk 3 een inschatting van de effectiviteit van deze emissiereducerende maatregel beschreven.

In hoofdstuk 4 wordt het voorgaande bediscussieerd en worden aanbevelingen gedaan voor vervolgonderzoek naar toepassing van de meest perspectiefrijke ureaseremmers.

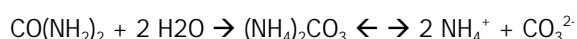
Dit onderzoek is gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit, programma Mineralen en Milieukwaliteit, thema luchtkwaliteit.

2 Literatuurstudie

De basisprincipes die ten grondslag liggen aan ammoniakemissie en de rol van urease daarbij worden in paragraaf 2.1 beschreven. In paragraaf 2.2 wordt ingezoomd op hoe en waar ureaseactiviteit op stalvloeren ontstaat. Ureaseremmers ter vermindering van ammoniakverliezen bij toediening van ureum-kunstmest zijn al uitvoerig onderzocht. Dit wordt kort beschreven in paragraaf 2.3.1 Vervolgens wordt in paragraaf 2.3.2 reeds uitgevoerd onderzoek naar toepassing van ureaseremmers op stalvloeren beschreven.

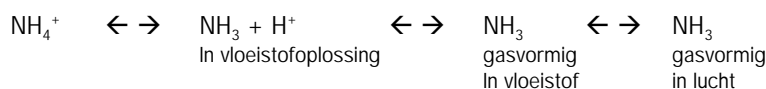
2.1 Basisprincipes hydrolyse van ureum en vervluchtiging van ammoniak

Ureum wordt gehydrolyseerd tot ammoniumcarbonaat met behulp van het enzym urease dat als katalysator van de hydrolyse fungeert. Het enzym bevindt zich in bacteriën die in grote getale voorkomen in verse faeces en in overvloed aanwezig zijn op de met mest bevuilde stalvloer zodat volledige hydrolyse van ureum op stalvloeren meestal binnen enkele uren plaatsvindt (vgl.: in de bodem binnen enkele dagen na mesttoediening op het land).



De snelheid waarmee de hydrolyse plaats vindt wordt niet alleen beïnvloed door de hoeveelheid enzymen maar ook door de temperatuur en de pH.

Voordat ammoniak kan vervluchtigen moet het ammonium omgezet worden in ammoniak:



De vervluchtigingssnelheid van ammoniak is afhankelijk van de snelheid van verwijdering (gasvormig in de lucht) en verspreiding (dispersie) van ammoniak in de atmosfeer. Hoe sneller dit gaat hoe meer het evenwicht in bovenstaande formule naar rechts verschuift. De vervluchtigingssnelheid is vooral afhankelijk van omgevingsfactoren: temperatuur, luchtsnelheid en achtergrondconcentratie van ammoniak. De hoeveelheid en concentratie van ureum in de urineplassen op de stalvloer bepalen grotendeels het emissiepotentieel (Elzing en Monteny,

1997^a en 1997^b; Monteny, 2000). Naast ureum wordt het emissiepotentieel voor een beperkt deel bepaald door andere bestanddelen in de urine die snel afgebroken kunnen worden tot ureum en ammonium, zoals bijvoorbeeld allantoine en hippuurzuur (Van Vuuren en Smits, 1997).

2.2 Ureaseactiviteit op stalvloeren

Op stalvloeren wordt het enzym urease niet alleen aangevoerd met verse faeces (Muck, 1981); ook wordt op de stalvloeren - door regelmatige bevuiling met faeces en urine - een bacteriefilm gevormd die een zeer hoge ureaseactiviteit heeft. De activiteit wordt deels ingekapseld in een mineraal neerslag (een urease steenlaag) die bestaat uit carbonaten (kalk) en fosfaten (struviet), afkomstig uit de urine en faeces (Ketelaars *et al.*, 1995; Braam *et al.*, 1997). Tussen stalvloeren bestaan grote verschillen in opbouw van ureaseactiviteit door o.a. verschillen in ruwheid (Braam en van den Hoorn, 1996; Braam *et al.*, 1997). Gladde oppervlakken (met minimale ruwheid) hebben de traagste opbouw van ureaseactiviteit maar zijn vaak minder goed beloopbaar (implicaties voor dierwelzijn) en derhalve geen adequate oplossing. Een uitzondering hierop zijn elastische materialen, zoals rubber, waarbij de grip op de vloer deels wordt verkregen door de afwerking van het oppervlak en deels door de indrukbaarheid.

Het minerale neerslag en de aan de vloer gehechte ureasevormende bacteriën kunnen door een behandeling met een zuur verwijderd worden; na een zuurbehandeling neemt de ureaseactiviteit echter weer snel (binnen enkele dagen tot een week afhankelijk van de condities) toe tot niveaus waarbij de ammoniakemissie niet meer beperkt wordt door de ureaseactiviteit van de stalvloer.

Uit experimenteel onderzoek is gebleken dat de ureaseactiviteit op stalvloeren vrij drastisch gereduceerd moet worden om een substantiële emissiereductie te verkrijgen; ter indicatie: tot minder dan 250 mg NH₃-N m².h⁻¹ bij hoge, zomerse, staltemperaturen (Ketelaars *et al.*, 1995) en tot minder dan 750 mg NH₃-N m².h⁻¹ bij lagere,

winterse staltemperaturen (Braam en van den Hoorn, 1996). De normale ureaseactiviteit van stalvloeren is ruim boven de $1000 \text{ mg NH}_3\text{-N m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$

In varkensstallen is in het verleden ook onderzocht of een gladde uitvoering van schuine wanden onder de roosters tot een lagere ureaseactiviteit en daardoor een lagere emissie leiden. De schuine wanden zijn bedoeld om de emitterende oppervlakte in de mestkelder te verkleinen. Als de oppervlakte van de wanden echter bevuild wordt, kan hier ook ammoniak van gaan vervluchtigen. De kunststof oppervlakken bleven beter schoon dan die van beton en hadden een iets lagere ureaseactiviteit; de ammoniakemissie verschilde echter niet tussen afdelingen die met betonnen of kunststof hellende putwanden waren uitgevoerd (Elzing *et al.*, 1994). Op gedeelten van een putwand die niet met faeces bevuild werden, bleef de ureaseactiviteit laag, maar op het gedeelte dat bevuild werd nam de activiteit na een behandeling met zoutzuur na een aanvankelijke drastische reductie weer snel toe tot de gebruikelijke niveaus (Elzing *et al.*, 1994).

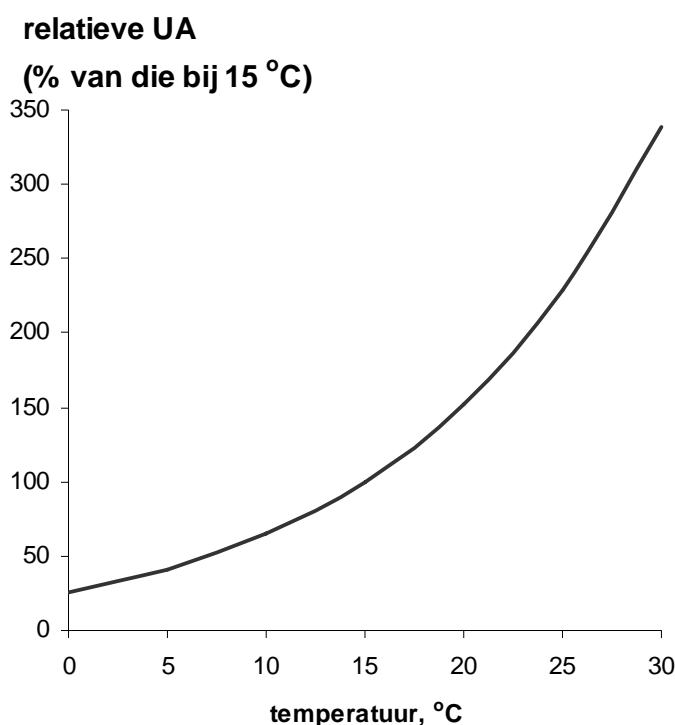
Meting ureaseactiviteit op stalvloeren

De ureaseactiviteit op stalvloeren kan worden bepaald door een ureumoplossing te incuberen op de stalvloer en de gevormde hoeveelheid ammoniak in deze oplossing -30 minuten na aanvang- te bepalen. Voorafgaand aan de bepaling wordt de mestfilm op het te bemeten vloeroppervlak verwijderd met een rubber schuifblad. Volgens een door Braam *et al.* (1996) beschreven protocol wordt 50 ml van een standaardoplossing met 10 gram ureumstikstof per liter op de vloer aangebracht in een cilinder met een oppervlakte van ca. 5000 mm^2 . Bij aanvang (t_0) en na 30 minuten (t_{30}) wordt uit de cilinder 5 ml vloeistof genomen en toegevoegd aan 1 ml 1 Mol zoutzuur. Hierin wordt later de ammoniakconcentratie bepaald. De ureaseactiviteit wordt berekend als de toename van de ammoniakhoeveelheid in de cilinders tussen t_0 en t_{30} . Het komt erop neer dat de mate waarin een overmaat ureum (vaste hoeveelheid en concentratie) op de vloer wordt gehydrolyseerd tot ammonium op een standaardwijze wordt vastgesteld. Per bepaling wordt slechts een klein vloeroppervlak gemeten. Door de bepaling nagenoeg gelijktijdig uit te voeren op diverse plaatsen verdeeld over de vloer wordt rekening gehouden met grote variaties tussen locaties binnen een stalvloer en krijgt men een indruk van de gemiddelde ureaseactiviteit van de betreffende vloer. Naarmate er meer ureum wordt afgebroken is de ureaseactiviteit op de vloer hoger. Tijdens de metingen wordt de temperatuur van de stallucht of die van de vloer bepaald. De ureaseactiviteit is namelijk ook temperatuurafhankelijk. Door verdamping wordt warmte onttrokken aan de vloer. De vloertemperatuur is daardoor normaliter één of twee graden lager dan die van de stallucht.

Temperatuurinvloeden op de momentane ureaseactiviteit en opbouw van de activiteit

De op een bepaald tijdstip gemeten ureaseactiviteit is hoger naarmate de temperatuur op dat tijdstip hoger is (figuur 1). Deze invloed moet goed onderscheiden worden van het langere termijn (lees enkele dagen tot weken) effect van de temperatuur op de snelheid van opbouw van ureaseactiviteit.

Figuur 1 Effect van staltemperatuur op de relatieve ureaseactiviteit (UA); per temperatuur de UA relatief ten opzichte van die bij 15°C ; 100% is UA bij $T=15^\circ\text{C}$ (Braam en van den Hoorn, 1996)



Uit figuur 1 kan afgeleid worden dat een meting op een koele ochtend een lagere ureaseactiviteit oplevert dan een meting tijdens de warme middag van dezelfde dag; de momentane omstandigheden (temperatuur) zijn daarvoor dus bepalend.

Uiteraard is het wel zo dat wanneer de opbouw substantieel vertraagd wordt door behandeling met een middel, de momentane omstandigheden nog steeds meebepalen wat daarbij het momentane ureaseactiviteitsniveau is. (Braum en van den Hoorn, 1996)

Belangrijke implicaties voor de effectieve inzet van ureaseremmers zijn dat in de zomer (bij hogere temperaturen) na een behandeling met een ureaseremmer de heropbouw sneller zal verlopen en dat bovendien de momentane ureaseactiviteit (zowel tijdens de opbouwfase als na herstel) beduidend hoger is dan in de winter. Wellicht kan hierop geanticipeerd worden door de doseerfrequentie of de doseerhoeveelheid (concentratie) van de ureaseremmer of beiden 's zomers te vergroten. Een rede temeer hiervoor kan zijn dat als de vloer onder zomerse omstandigheden opdroogt volgens Ketelaars *et al.* (1995) een sterke versnelling van de vorming van een ureasesteenlaag op de vloer kan plaatsvinden. Zo'n seizoens- of temperatuursafhankelijke finetuning van de dosering van ureaseremmers op stalvloeren is nog niet onderzocht.

2.3 Ureaseremmers

Ureaseremmers zijn in de literatuur voor diverse toepassingsgebieden beschreven. Binnen de landbouw is er voor bodemureaseremmers bij toediening van ureumkunstmest in de plantenteelt al belangstelling sinds de jaren 60 van de vorige eeuw. Op beperkte schaal is ook geëxperimenteerd met ureaseremmers in de diervoeding. De effecten in het dier (afbraak van ureum in de pens) zijn meestal van korte duur. Vermoedelijk past de microbiële massa in het maag-darmkanaal zich snel aan. Daarnaast kan de stofwisseling verstoord raken. In de medische wereld worden ureaseremmers ook toegepast. Daarbij gaat het vooral om hydroxamzuurderivaten. Recent is echter gebleken dat hydroxamzuurderivaten gezondheidsrisico's (neveneffecten) hebben. In de bodem worden door hydroxamzuurderivaten complexen gevormd met metaalionen waardoor de remmende werking vermindert. Om deze reden worden hydroxamzuurderivaten praktisch niet als bodemureaseremmer gebruikt. In de volgende paragrafen wordt nader ingegaan op ureaseremmers in kunstmest, op stalbodems en in dierlijke mest.

2.3.1 Toepassing ureaseremmers in kunstmest

De ammoniakemissie door toediening van ureumbevattende kunstmest is van alle soorten kunstmest (normaliter) het hoogste; tot wel 30% van de aanwezige N (Watson, 2005). Vandaar dat veel onderzoek is gedaan naar toepassing van ureaseremmers om deze verliezen te beperken.

In Nederland wordt ureum niet op grote schaal als kunstmest toegepast. Elders in de wereld echter wel. De onderzochte ureaseremmers bij kunstmesttoediening aan de bodem en de daarbij verkregen inzichten kunnen nuttig zijn bij het zoeken naar effectieve ureaseremmers op stalvloeren.

Er zijn al heel veel chemicaliën geëvalueerd als bodemureaseremmers. Deze stoffen kunnen geclassificeerd worden naar structuur en naar hoe ze uitwerken/aangrijpen op urease. Ze interacteren ofwel op de actieve locatie(s) van het enzym ofwel op of aan een sleutelpositie of sleutelgroep elders in het molecuul waardoor de structuur (conformatie) van de actieve locaties veranderd wordt zodat de hydrolyse van ureum wordt voorkomen (Watson, 2005).

Slechts weinig stoffen voldoen aan alle vereisten voor praktische toepassing van (bodem-) ureaseremmers: effectiviteit bij lage concentraties, niet toxisch, stabiel, goedkoop en compatibel met ureum (compatibel in de zin dat het ureum zijn waarde als meststof uiteraard wel moet behouden).

Recentelijk is er veel aandacht ontstaan voor organo-fosforige remmers, met name fosfordiamidaten, fosfortriamides en thiofosfortriamides. Deze verbindingen zijn qua structuur vergelijkbaar met ureum en behoren tot de meest effectieve remmers van bodem ureaseactiviteit omdat ze het actieve deel van het urease-enzym blokkeren.

De meest perspectiefrijke en op grote schaal geteste bodem ureaseremmer is N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (nBTPT, ook wel afgekort als NBPT), waarvan de ureaseremmende werking samenhangt met de vorming van haar zuurstofanalogoos (Hendrickson & Douglas, 1995; Watson, 2005): N-(n-butyl) fosforig triamide (BNPO). nBTPT is al bij lage concentraties in hoge mate effectief in de bodem. In veldproeven met diverse gewassen is, ten opzichte van toedieningen van niet behandelde ureumkunstmest, zowel reductie van ammoniakemissie als toename van de gewasopbrengst en N-opname vastgesteld (Singh *et al.*, 2004; Watson, 2005; Zaman *et al.*, 2007). nBTPT heeft ook veel potentie om de ammoniakemissie uit dierlijke mest te reduceren (Watson, 2005).

Di- en triamide ureaseremmers zijn niet toxisch voor dieren, hebben geen antibacteriële werking en er zijn geen milieuproblemen bekend bij de concentraties die de ureaseactiviteit effectief remmen.

nBTPT is ook bij in vitro verteringsproeven (kortdurend) getest om het vrijkomen van ammoniak te beperken uit technisch ureum (als voedermiddel) en heeft dus potentieel om de benutting van niet-eiwit-stikstof in herkauwers te verbeteren. De effectiviteit op langere termijn is daar vanwege het aanpassingsvermogen van de microben in het maagdarkanaal nog wel een kritisch aandachtspunt.

Naast nBTPT (commerciële productnaam Agrotain, zie bijlage 1) is er nog één andere ureaseremmer op de kunstmestmarkt genaamd 'Neem' gecoate ureum. Dit laatste product wordt alleen in India gebruikt. Neem is de press cake (schroot) die bij de productie van neem olie ontstaat; afkomstig van de Indiase neem-boom (*Azadirachta indica*). De neem gecoate ureum schijnt niet altijd betrouwbaar te werken (Watson, 2005). Agrotain is toegelaten in de Verenigde Staten (US markt) sinds 1996 en Agrotainbevattende producten worden in meer dan 50 landen vermarkt. Agrotain is o.a. ook toegelaten in Ierland. Yara (voorheen Hydro Agri) heeft de exclusieve licentierechten voor Europa en probeert onder de merknaam Amiplus registratie als EU kunstmest te verkrijgen.

Een vloeibare combinatie van Agrotain en een nitrificatieremmer wordt vermarkt onder de naam Super-N als een additief voor dierlijke mest en ureumammoniumnitraat (UAN) dat N-verliezen bij toediening van mest kan tegengaan.

Ervaringen met Agrotain hebben geleerd dat de ontwikkeling en marktintroductie van nieuwe, effectieve, goedkope en niet-toxische ureaseremmers een veel tijd en geduld vergend proces is dat jaren van dataverzameling vereist om een registratie te verkrijgen. De eventuele toepassing als ureaseremmer in mest of op stalvloeren is in Nederland niet zondermeer toegestaan.

2.3.2 Onderzochte ureaseremmers op stalvloeren en dierlijke mest

Er is een beperkt aantal onderzoeksgroepen dat tot heden onderzoek heeft uitgevoerd aan ureaseremmers voor beperking van de stalemissie van ammoniak. Hierna worden de gebruikte remmers, de wijze waarop die getest zijn en de gerapporteerde effecten kort beschreven. In de meeste gevallen zijn alleen kortdurende proeven met mestmonsters in een laboratorium of op kleine vloeroppervlaktes uitgevoerd. Dit als eerste verkenning van het potentieel van een middel. In de meeste gevallen is geen netto-effect op stalemissies vastgesteld maar alleen de lokale ureaseactiviteit of de emissie in laboratoriumproeven met mestmonsters met of zonder toepassing van het middel bepaald. In tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de uitgevoerde onderzoeken.

Zoutzuur en azijnzuur

Ketelaars en Rap (1994) en Ketelaars *et al.*, (1995) verwijderden de vloergebonden ureaseactiviteit in enkele melkveestallen (Droevendaal, Duiven, Hengelo) door de vloer (eenmalig) te behandelen met een zoutzuuroplossing en reduceerden daarmee de ammoniakemissie tot zeer lage niveaus. Het effect was tijdelijk. Azijnzuur bleek minder succesvol. Door regelmatig een sterk zuur te gebruiken, kan de toplaag van de vloer aangetast worden. Na een startbehandeling is het wellicht afdoende om daarna regelmatig met een veel sterker verdunde zuuroplossing of een ander middel de ureaseactiviteit van de vloer op een laag niveau te houden.

Formaldehyde

Door in een onderzoeksafdeling met melkvee de roostervloer regelmatig (elke 2 uur) schoon te schuiven met een mestschuif en dit te combineren met het schoonspoelen (met per koe 20 liter spoelwater per dag ofwel ca. 6 liter per m² vloeroppervlak) van de vloer al dan niet met een formaldehyde-oplossing (4 g formaldehyde per liter water) werd een ammoniakemissiereductie bereikt van 50% met formaldehyde en 14% met water zonder formaldehyde ten opzichte van een referentieafdeling met roostervloer zonder schuif en spoelsysteem (Bleijenberg *et al.*, 1995; Ogink en Kroodsmá, 1996). Ook op een V-vormige, dichte vloer met prefab betonnen vloerelementen en giergoot die ieder uur werd geschoven en gespoeld, werd het effect van toevoeging van formaldehyde aan het spoelwater onderzocht. Toevoeging van formaldehyde aan het spoelwater (per koe 34 liter spoelwater per dag en 4 g formaldehyde per liter water) leverde hier ten opzichte van spoelen met alleen water een reductie van 39%. Ten opzichte van de hiervoor vermelde referentieafdeling met roostervloer bedroeg de emissiereductie bij toepassing van de formaldehydeoplossing 87%.

Uit indicatieve metingen bleek echter dat op de hellende dichte vloer de WHO-norm van 0,3 mg formaldehyde per m³ ventilatielucht (gemeten in de uitworp) werd overschreden. Nawerkingseffecten op de emissie van het spoelen met formaldehyde waren echter wel dusdanig dat een beduidend zuiniger en doelmatiger gebruik mogelijk zou zijn. Nadere bestudering van mogelijke gezondheidseffecten en optimalisatie van het middelgebruik werden daarom aanbevolen. De nadere bestudering heeft tot op heden niet plaatsgevonden.

Tabel 1 Overzicht van onderzochte middelen: ureaseremmers (categorie UR) en enkele andere (potentieel) emissiereducerende additieven (categorie Ad); de schaal waarop de middelen zijn onderzocht en de parameter die vastgesteld is

Middel**	Cat	Onderzoekschaal	Parameter	Referentie
Formaldehyde-oplossing	Ad	Onderzoekstalafdelingen met roostervloer en dichte vloer	Ammoniakemissie stal	Bleijenberg <i>et al.</i> , 1995; Ogink en Kroodsmas, 1996
Zoutzuur-oplossing	Ad	2 Melkveestallen (Droevendaal en De Marke)	UA stalvloer	Ketelaar & Rap, 1994; Ketelaar <i>et al.</i> , 1995
Zoutzuur-oplossing	Ad	1 melkveestal met 34 mk (Duiven)	UA stalvloer en ammoniakemissie stal	Braam & van den Hoorn., 1996
4 ureaseremmers*	UR	Lab en stalvloer	UA lab en UA stalvloer	Leinker <i>et al.</i> , 2007 a en b
NBPT CHPT	UR	2 feedlot hokken per behandeling (6 x 70 vleesrunderen)	Ureumgehalte feedlot-mest (retentie)	Varel <i>et al.</i> , 1999
NBPT & thymol	UR	Lab proef	Ureumgehalte in feedlot mest (retentie)	Varel <i>et al.</i> , 2007b
NBPT & Linalool extract	UR	3 feedlot hokken per behandeling (6 x 70 vleesrunderen)	Ureumgehalte in feedlot mest; alsook gehalten aan VFA, coliformen, pH,	Varel <i>et al.</i> , 2007a
	UR	3 feedlot hokken per behandeling (6 x 70 vleesrunderen)	Ureumgehalte feedlot mest (retentie)	Varel <i>et al.</i> , 2007a
NBPT & Pine oil extract $Al_2(SO_4)_3$ 0,45 vs 0,90 kg/m ²	Ad	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
	Ad	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
CP 0,0375 vs 0,075 kg/m ² $CaCl_2$ 0,45 vs 0,90 kg/m ²	Ad	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
	Ad	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
Brown humate 0,90 kg/m ²	Ad	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
Black humate 0,90 kg/m ²	Ad	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
NBPT 0,1 vs 0,2 g/m ²	UR	Lab (pottenproef)	Ammoniakemissie	Shi <i>et al.</i> , 2001
NBPT 0 vs 0,1 vs 0,2 g/m ²	UR	Lab	Ammoniakemissie	Parker <i>et al.</i> , 2005a
Per 8, 16 of 32 dagen NBPT 0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,8 en 4 g/m ²	UR	Stal; fluxkamer (zoals Lindvalldoos)	Ammoniakemissie	Parker <i>et al.</i> , 2005b
Vet	Ad			Cole <i>et al.</i> , 2007
Zeoliet	Ad			Cole <i>et al.</i> , 2007
NBPT	UR	Betonnen uitloop		Misselbrook <i>et al.</i> , 2006

UA = ureaseactiviteit

NBPT = N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (commerciële naam: Agrotain, zie bijlage 1)

BNPO = N-(n-butyl) phosphoric triamide

CBPT = cyclohexyl-fosforig-triamide

CP = commercieel product 'Ammonia Hold', Lonoke Arkansas (geen nadere gegevens bekend)

* de namen van de ureaseremmers van Leinker *et al.* zijn nog niet bekend; Duits proefschrift verschijnt binnenkort.

** Doseringen zijn hier uitgedrukt per m² vloeroppervlakte omdat dit een bruikbare eenheid is voor Nederlandse stallen. In de oorspronkelijke artikelen werd dit voor de grootschalige vleesveehouderijen in de USA uitgedrukt per ha.

$Al_2(SO_4)_3$ en $CaCl_2$ zijn ammoniakemissiereducerende additieven die in onderzoek van Shi *et al.* (2001) werden vergeleken met ureaseremmers en daarom in deze tabel opgenomen

Brown Humate en Black humate zijn additieven van HumaTech Inc., Houston, Texas

Recent Duits onderzoek ureaseremmers

In Duitsland zijn recentelijk nieuwe ureaseremmers ontwikkeld (Niclas, 2003). In eerste instantie heeft Niclas zich gericht op het ontwikkelen en testen van ureaseremmers ter vermindering van emissies na toediening van ureum in de bodem. Op enkele ureaseremmers is patent aangevraagd (zie bijlage 2). Voor toepassing in stallen is de werking van enkele nieuw ontwikkelde, veelbelovende ureaseremmers door Leinker (2007) vergeleken met NBPT. Leinker *et al.* (2007) en Leinker (2007) hebben recent onderzoeken gepubliceerd die qua aanpak voortborduren op het Nederlandse onderzoek naar de ureaseactiviteit op stalvloeren van Braam *et al.* (1997). De wijze waarop de ureaseactiviteit op vloeroppervlakken bepaald werd, is –inclusief een deel van de ‘hardware’- overgenomen van de Nederlandse onderzoekers. De ureaseactiviteit werd door Leinker (2007) eerst bepaald in potten met mengmest en daarna op kleine oppervlakken in een laboratorium: per ureaseactiviteitsbepaling ging het om een cirkelvormig oppervlak met een doorsnede van 72 mm. In potten en met dynamische boxmetingen (box met emitterende oppervlakte 0,26 m²; box qua opbouw vergelijkbaar met eerdere IMAG stalsimulator en Lindvallbox) zijn testen uitgevoerd met verschillende ureaseremmers onder gecontroleerde omstandigheden. De specificaties van de geteste remmers zijn echter nog niet prijsgegeven (commerciële middelen, waarop patent is aangevraagd).

In de verkennende laboratoriumproeven met mengmest (opstelling vergelijkbaar met pottenproeven in Nederland) werd gevonden dat het beste resultaat werd verkregen bij een ureaseremmerconcentratie van 0,1% van de Totale hoeveelheid Stikstof (Kjeldahl N) in de mengmest die in de pottenproef werd toegepast. Dit zou neerkomen op 25 mg ureaseremmer per m². Praktische doorvertaling van dit labresultaat is overigens niet direct mogelijk naar toepassing van ureaseremmers op stalvloeren aangezien dit laatste primair op verse urineplassen (dus niet op mengmest) gericht is. Met een nieuw type ureaseremmer werd in de labopstelling met rundveemest een emissiereductie van 82 tot 88% gemeten en met varkensmest 60 tot 100%. De nieuwe ureaseremmer presteerde beter dan het eveneens geteste NBPT.

In experimenten in een dynamische box met een emitterend oppervlak als gevolg van een dunne laag aangebrachte faeces werd vastgesteld dat behandeling met ca. een factor 10 lagere concentratie dan in de pottenproef, namelijk 2,5 mg ureaseremmer per m², een emissiereductie opleverde van gemiddeld 46% (17 tot 87%) terwijl de (momentane) ammonium (NH₄⁺) vorming (door hydrolyse van ureum) gemiddeld met 76% verminderd was (16 tot 94%). De grote spreiding rond de gemiddelden is waarschijnlijk een gevolg van onvermijdelijke variaties in de handmatige uitvoering, de aanhechting van faeces, de ontwikkeling van bacteriën en de enzymactiviteit.

Op vloerdelen in een melkveestal werd bij drie keer in vier dagen behandelen met 2,5 mg ureaseremmer per m² een reductie van de ureaseactiviteit gevonden van gemiddeld 71% (variërend van 61 tot 88%; dit bij ureaseactiviteiten variërend van 120 tot 390 mg NH₄N m⁻² h⁻¹ ten opzichte van een referentie met gemiddeld ruim 1000 mg NH₄N m⁻² h⁻¹).

Nadrukkelijk moet hierbij worden gemeld dat de ammoniakemissie vanaf de onderzochte stalvloerdelen door Leinker *et al.* niet in een praktijkstal is onderzocht en evenmin is de ammoniakemissie van een stal als geheel gemeten. Op basis van dynamische boxmetingen werd door Leinker *et al.* ingeschat dat de ammoniakemissie onder praktijkomstandigheden met 40 tot 50% gereduceerd zou kunnen worden. Bij 5 m² stalvloeroppervlakte en dagelijkse behandeling met 2,5 mg ureaseremmer per m² zou op jaarbasis per dier 4,56 gram ureaseremmer nodig zijn en 0,365 m³ water (per koe 1 liter water per dag) om het middel toe te dienen. Deze 0,365 m³ toevoeging van water zou een lichte toename van het mestvolume betekenen. De extra kosten van mestopslag en toediening of afvoer van dit extra mestvolume blijven beperkt. Door toepassing van mestscheidingstechnieken of hergebruik van (na)spoolwater van de melkinstallatie kan eventueel de toename van het mestvolume voorkomen worden.

Gezien de lage dosering is een goede doseertechniek een kritische succesfactor voor dit systeem. Gezien het geringe middelverbruik zullen de kosten van een goede doseerinstallatie naar verwachting hoger zijn dan de kosten van het middel. De kosten worden in hoofdstuk 3 nader beschouwd.

Opmerkelijk resultaat van Leinker (2007) was de licht hogere ureaseactiviteit op een vloergedeelte met een rubber toplaag in vergelijking met een ‘kale’ betonnen vloer. Eerder vonden Smits *et al.* (1996) en Ruis-Heutinck *et al.* (1998) een lagere ureaseactiviteit op een onbehandelde vloer met een rubber toplaag en een geringere toename van de ureaseactiviteit op de rubber toplaag bij hogere temperaturen dan op een onbehandeld betonnen vloeroppervlak. De discrepantie kan wellicht verklaard worden door een verschil in profilerings van de rubber toplaag. In het onderzoek van Leinker (2007) had het loopvlak van de rubber toplaag een veel grover profiel. Daarin kan meer mest vastgehouden worden en aankoeken en daarin zou de hogere ureaseactiviteit kunnen ontstaan.

Onderzoek in de UK

Door Misselbrook et al (2006) is het effect van NBPT getest in uitlopen (wachtruimtes buiten de stal) van beton voor melkkoeien en schapen in Engeland. Dit als klein onderdeel van een groter onderzoek ter nadere onderbouwing van emissieniveaus en reductiemaatregelen. Met een rugspuit werd 100 g/m² van de ureaseremmer gedoseerd. Hiermee werd in de winter gemiddeld 74% en in de zomer gemiddeld 46% reductie gevonden. Er was echter veel variatie rond de gemiddelden en daardoor geen statistisch significant effect.

Amerikaans onderzoek bij vleesvee in feedlots en feedyards

De onderzoeksgroep 'Varel' (Varel 1996, Varel *et al.* 1997, ...2007) heeft reeds diverse onderzoeken gerapporteerd naar effecten van ureaseremmers gericht op toepassing in Amerikaanse vleesveehouderijen (zogenaamde feedlots met onverharde bodem: aarde vermengd met opdrogende faeces en urine). De ureaseremmers die onderzocht werden, waren eerder al elders toegepast in onderzoek naar emissiereductie bij toediening op het land van industrieel geproduceerde ureumkunstmest.

Varel (1996) en Varel *et al.* (1997) deden labtesten met phenylphosphorodiamidate (PPDA), cyclohexylphosphoric triamide (CHPT) and N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) om de hydrolyse van ureum en de ammoniakemissie van monsters rundveemest en van bodems van feedlots te reduceren. Ze pasten de volgende doseringen toe: 10 mg per liter werd toegevoegd aan rundveemest en 20 mg per liter bij oppervlakkige toediening over feedlot mest. Zij concludeerden dat deze ureaseremmers de conversie van ureum effectief zouden kunnen vertragen als ze herhaald in de tijd zouden worden toegepast. In een praktijkproef (Varel *et al.*, 1999) werd het vasthouden van ureum-N in feedlot mest onderzocht bij een eenmalige dosering in de hokken van 20 mg ureaseremmer per kg gedroogde mest. Na 2 dagen was bij de CHPT behandeling nog 2 g ureum per kg mest aanwezig. Na 11 dagen was bij deze behandeling alle ureum uit de mest verdwenen. Bij NBPT duurde dit 14 dagen en was na 4 en 9 dagen nog respectievelijk 3 en 3,5 g ureum per kg mest aanwezig. In een vervolgonderzoek werd gedurende 6 weken wekelijks NBPT in de hokken verspreid. Ureum accumuleerde in de mest tot een piekconcentratie van 17 g ureum/kg mest. Na beëindiging van de behandeling begon de ureumconcentratie in de mest weer te dalen als gevolg van omzetting en vervluchtiging.

Varel *et al.*, 2007^a rapporteerden vergelijkbare experimenten waarbij een combinatie van NBPT (40 ppm) en een linalool extract (LE, 4000 ppm) wekelijks werden gesproeid gedurende 4 weken in 3 hokken met 70 runderen van ca. 300 kg en vergeleken met 3 onbehandelde hokken. Ook werd NBPT gecombineerd met een pine oil extract (POE) onderzocht. LE en POE zijn biologisch afbreekbare plantenoliën die coliforme bacteriën kunnen elimineren. Door de NBPT met POE of LE nam de ureumconcentratie in de feedlostmest (N-retentie) toe met 1 tot 6 g/kg. Naast het vastleggen van ureum droegen de behandelingen bij aan vermindering van coliforme bacteriën (pathogenen) in de mest. Ook de vluchtige vetzurenconcentraties in de mest (belangrijke geurcomponent in mest) tenderde naar lagere waarden. Bij NBPT+POE tenderde ook de pH van de mest naar lagere waarden. Resultaten waren variabel en sterk afhankelijk van het drogestofgehalte van de mest.

Varel *et al.*, 2007^b rapporteerden een lab experiment waarin NBPT gecombineerd werd met thymol. Thymol is net als POE en LE een plantenzie. Toevoeging van thymol bleek de duur van het ureaseremmende effect van NBPT te vergroten en daarmee de N retentie in de mest te vergroten. Thymol is echter duur (10 US dollar per kg) in vergelijking met POE en LE (indicatie 2 US Dollar per kg). Vandaar dat POE en LE in de hiervoor beschreven praktijkproef wel werden getest en thymol niet.

Hoewel Varel *et al.* de ureaseremmers niet op in Nederland gangbare betonnen stalvloeren hebben getest en ook niet bij de diercategorie melkvee, zijn de gebruikte ureaseremmers en de daarbij gerapporteerde resultaten wellicht toch bruikbaar en wellicht zijn de perspectieven hier zelfs gunstiger. Dit omdat de omstandigheden in grotendeels dichte melkveestallen in Nederland beter beheersbaar zijn dan die in de open Amerikaanse feedlots: geen risico van uitspoeling, minder invloed van zonnestraling en wind.

Shi *et al.* (2001) rapporteerden een labtest waarin de ammoniakemissies van diverse middelen werden vergeleken. Ook de kosten van de middelen (exclusief kosten van het doseersysteem en exclusief evt. extra arbeid) bij verschillende doseringen per toediening werden vermeld. Per afmestronde van 120 dagen (vleesvee) zou volgens Shi *et al.* uitgegaan kunnen worden van 6 toedieningen (eens per drie weken). Daar het hier een labtest betrof, moeten de gepresenteerde cijfers als zeer ruwe indicaties beschouwd worden.

Tabel 2 Kosten van ammoniakemissiereducerende middelen bij verschillende doseringen; ranking op basis van emissiereductie (effectiviteit) en de kosteneffectiviteit (Naar Shi *et al.*, 2001). Bij de kosteneffectiviteit is het emissiereducerende effect van het middel vertaald in daarmee te besparen kosten aan ammoniumkunstmest (uitgaande van een prijs van die kunstmest van 0,19 \$/kg).

	Kosten per toediening** US \$ per dier	Ranking* effectiviteit	Kosteneffectiviteit effect : kosten ratio
Al ₂ (SO ₄) ₃ 0,45 vs 0,90 kg/m ²	1,81 resp 3,82	2 resp 1	0,165 resp 0,089
CP 0,0375 vs 0,075 kg/m ²	0,72 resp 1,44	10 resp 9	0,120 resp 0,072
CaCl ₂ 0,45 vs 0,90 kg/m ²	1,48 resp 2,96	4 resp 3	0,157 resp 0,085
Brown humate 0,90 kg/m ²	5,53	5	0,040
Black humate 0,90 kg/m ²	5,53	8	0,036
NBPT 0,1 vs 0,2 g/m ²	0,12 resp 0,24	7 resp 6	1,75 resp 0,89

* Ranking 1 is hoogste effectiviteit d.w.z. laagste ammoniakemissie

** Bij 6 toedieningen per mestronde moeten de vermelde kosten (uitgedrukt per toediening) met 6 vermenigvuldigd worden

Alleen NBPT in de laagste dosering gaf volgens Shi *et al.* een gunstige kosteneffectiviteit. Een nog lagere dosering (kg/m²) van NBPT zou wellicht nog kosteneffectiever zijn.

Toepassing van aluminiumsulfaat kan leiden tot een te hoge zwavel- en metaalbelasting van de bodem. Sommige middelen leiden tot hogere of lagere nitraatconcentraties in de pottenproefmest ten opzichte van een niet behandelde controle. NBPT gaf geen verandering van de nitraatconcentratie ten opzichte van de controle. Calciumchloride en aluminiumsulfaat zijn geen ureaseremmers maar verlagen de ammoniakemissie door verlaging van de pH en door kationenuitwisseling. Door hydrolyse van het Al³⁺ ion in aluminiumsulfaat komen 3 H⁺ ionen vrij die de pH verlagen en daardoor de ammoniakemissie reduceren. Door kationenuitwisseling komen waterstofionen vrij en worden vervangen door aluminium- of calciumionen hetgeen wederom resulteert in een afname van de pH en reductie van de ammoniakemissie. Door Shi *et al.* wordt gerefereerd aan eerder onderzoek waarin bleek dat toevoegingen van calciumsulfaat en magnesiumsulfaat geen effectieve emissiereductie veroorzaakten terwijl calciumchloride en aluminiumsulfaat dat wel deden.

Parker *et al.* 2005 deden onderzoek naar verschillende doseringen van NBPT in een pottenproef (Parker *et al.* 2005a,b) en daarna in enkele hokken van een open-lot feedyard. Tussen hokken werden grote verschillen in emissies gevonden en daardoor geen significante verschillen tussen NBPT dosis (g/m²) en respons (ammoniakemissie).

Cole *et al.*, 2007 testen in een pottenproef (opstelling zoals Shi *et al.*, 2001) het effect op de ammoniakemissie van toevoegingen aan feedyard-mest van maisolie, aluminiumsulfaat, NBPT en Kaliumzeoliet. Zeoliet en vettoevoeging resulteerden in emissiereducties van 51 tot 86%. Daarna werden aan rantsoenen voor vleesvee vet of zeoliet toegevoegd en mest en urine in voerproeven opgevangen; daarvan werd in pottenproeven (in vitro) wederom de ammoniakemissies vergeleken. Zeoliet toevoeging aan het rantsoen gaf geen significant effect op de emissie; zonder vettoevoeging was de in vitro ammoniakemissie echter wel significant hoger dan met toevoeging van vet aan rantsoenen. Bij melkvee zijn de mogelijkheden om vet/olie aan het voer toe te voegen beperkt. In het krachtvoer worden wel beperkte hoeveelheden vet/olie opgenomen. Bij grotere hoeveelheden neemt de passagesnelheid van voer in de pens teveel toe; de verteerbaarheid en benutting nemen dan teveel af.

3 Toedieningstechnieken en implicaties

3.1 Doseersystemen voor ureaseremmers

De volgende technieken voor het doseren van ureaseremmer op de stalvloer zijn mogelijk:

- handmatig (met gieter o.i.d.)
- geïntegreerd in een mestschuif (sproeischuif/spoelschuif)
- robotje (al dan niet gecombineerd met mestrobot; bijvullen met ureaseremmer op een soort dockingstation waar ook batterij bijgeladen kan worden)
- met buizen en sproeidoppen aan boxranden en onderkant voerhek (schets zie bijlage 3)
- sprinkler-achtige druppel- of vernevelingsinstallatie ruim boven de mestgangen

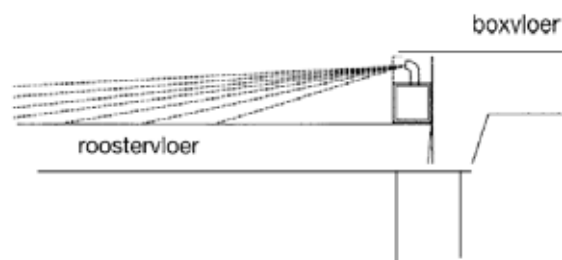
Systeem a is wellicht als startbehandeling met een agressief middel (door een gespecialiseerd bedrijf) acceptabel; voor routinematige regelmatige dosering van een middel is dit uiteraard geen betrouwbare werkwijze. Systemen in het bereik van de dieren (b, c en d) moeten zeer robuust (en daardoor zwaar en duur) zijn om risico's van kapot stoten e.d. te minimaliseren. Bij deze systemen op de mestgang is er ook een groter risico van verstopping van de sproei/spuit/doseeropeningen door mestdeeltjes, strooiselmateriaal of stof.



Voorbeeld handbediende mestschuif



Voorbeeld mestrobot



Detail van buizen en sproeidoppen aan boxranden en onderkant voerhek

Statische systemen (d en e) zijn minder storingsgevoelig dan bewegende systemen (b en c). Statische dosering vanaf grotere hoogte boven de koeien heeft het voordeel dat de installatie wat minder robuust hoeft te worden uitgevoerd en minder storingsgevoelig is dan de meeste andere doseerprincipes. Het gericht doseren van ureaseremmers over de gehele vloer vanaf een grotere hoogte vereist wel een goede doseertechniek. Enerzijds is vanwege de kosten van het middel een minimale verspilling gewenst. Anderzijds moet de ureaseremmer gelijkmatig aangebracht worden over de gehele vloeroppervlakte om over de gehele vloeroppervlakte het beoogde emissiereducerende effect te bewerkstelligen. Ook de aanwezigheid van koeien op de mestgang zou een goede gelijkmatige bevochtiging kunnen verstoren. Het risico bestaat dat bij hogere luchtsnelheden en dosering vanaf grotere hoogte het middel deels verwaait voor het de stalvloer bereikt. Het

verwaarde deel kan dan terecht komen in de ligboxen, op de voergang, op de koeien of buiten de stal. Uiteraard zal de ureaseactiviteit op de stalvloer dan minder effectief gereduceerd worden. Om dit te voorkomen zal ofwel de doseertechniek geoptimaliseerd moeten worden ofwel de windinvloeden tijdens dosering van het middel worden beperkt (bijvoorbeeld door de luchtinlaat te beperken middels gordijnen in de wanden en daarmee automatisch gecontroleerde natuurlijke ventilatie).

Bij de gewasbescherming is er veel onderzoek gedaan naar het gericht toedienen van middelen vanuit sproeibomen met diverse configuraties nippels, druk e.d. Wellicht kunnen hier adequate configuraties van het doseersysteem uit worden afgeleid. Op de Waiboerhoeve is recentelijk ervaring opgedaan met een eenvoudige doseerinstallatie voor het verspreiden door de gehele stal van een vliegenbestrijdingsmiddel (flybuster). Het gaat hier om een zeer fijne nevel.



Impressie vernevelingsinstallatie flybuster op de Waiboerhoeve in Lelystad

Kosten

Door Leinker (2007) zijn de kosten geschat van ureasetoediening bij drie mestverwijderingstechnieken gecombineerd met daarbij passende ureasedoseerinstallaties, namelijk

- een kabel of ketting aangedreven mestschuif per mestgang in combinatie met doseersysteem 'd' (buizen met sproeidoppen aan de ligboxranden en aan de onderkant van het voerhek die met hoge druk spuiten gericht op stalvloer); elektriciteitsverbruik schuif en doseerpomp resp. 365 en 482 kWh/jaar
- een robotschuif voor alle mestgangen met een geïntegreerd sproeisysteem; elektriciteitsverbruik schuif en doseerpomp resp. 365 en 146 kWh/jaar
- een handbediende (bemenste) schuif (werkbreedte 75 cm) met een geïntegreerd sproeisysteem elektriciteitsverbruik schuif en doseerpomp resp. 51 en 32 kWh/jaar (ervan uitgaande dat achter de schuif wordt gelopen; als men zittend op de schuif zou werken, is het elektriciteitsverbruik uiteraard hoger)

Voor de kosten van de ureaseremmer heeft Leinker 4 prijsniveaus aangenomen:

- 1) prijs voor zuivere NBPT (laboratoriumkwaliteit): €15.000 per kg ureaseremmer
- 2) aangenomen prijs van 0,50 Eurocent per kg melk
- 3) aangenomen prijs van 0,25 Eurocent per kg melk
- 4) marktprijs van NBPT in de USA (zoals toegepast in kunstmest): € 45,29 per kg ureaseremmer

Niveau 1 (laboratoriumkwaliteit) is een extreem dure variant; niveau 4 is de goedkoopste door Leinker doorgerekende variant. Naast de ureaseremmer zijn afschrijving (lineair in 10 jaar), onderhoud en rente van de technische installaties (mestschuif en doseerinstallatie) belangrijke kostenposten. Op bedrijven waar reeds een mestschuif geïnstalleerd is in de mestgang, zijn de bijkomende jaarkosten uiteraard lager.

Uitgaande van het laagste prijsniveau zijn de kosten van het middel minder dan 1% van de totale kosten.

Tabel 3 Geschatte integrale jaarkosten (Euro per dierplaats per jaar) van toepassing van een ureaseremmer bij 3 mestverwijderingstechnieken (inclusief doseringssysteem), bij 4 niveaus van kosten van de ureaseremmer (naar Leinker, 2007). Tussen haakjes is het percentage vermeld dat de ureaseremmerverbruik uitmaakt van de totale kosten.

Mestverwijderings- en doseertechniek	Berekende totale kosten (€ per dierplaats per jaar) bij geschatte kostenniveau ureaseremmer			
	€ 15.000/kg UR	€ 0,005/kg melk	€ 0,0025/kg melk	€ 45/kg UR
Mestschuifinstallatie & sproeibuizen ¹⁾	186 (37%)	148 (25%)	133 (14%)	118 (0,2%)
Robotschuif & geïntegreerd sproeisysteem	141 (49%)	103 (36%)	88 (21%)	73 (0,3%)
Handbediende schuif met geïntegreerd sproeisysteem	104 (66%)	65 (58%)	50 (38%)	35 (0,6%)

¹⁾ bij de mestschuifinstallatie met sproeibuizen is aangenomen dat er drie mestgangen zijn en dat er voor elke mestgang een mestschuif (investering ca. € 7500 per stuk) en sproeibuizen benodigd is; de investeringskosten van het sproeisysteem werden geschat op ca. € 13000 (inclusief pomp, filters, reservoir en hogedrukleiding met spuitdoppen); bij de robotschuif (investering € 17500 + 25% voor de geïntegreerde sproei-installatie) en de handbediende schuif (investering € 2000 + 50% voor de geïntegreerde sproei-installatie) is in beide gevallen aangenomen dat er slechts 1 exemplaar nodig is om de drie mestgangen te bewerken

Veronderstellingen bij de geschatte jaarkosten in tabel 3:

- 5 m² roostervloer per koe; stal met 65 koeien; 325 m² stalvloeroppervlakte
- toediening 1x per dag; 2,5 mg ureaseremmer per m² per dag; ofwel 0,913 g m² jaar⁻¹
- 0,2 l water per m² per dag ofwel 73 l per m² per jaar ofwel gehele stal 23,7 m³/jaar; meerkosten extra volume mesttoediening € 0,6/m³ mest
- Extra arbeid (alle systemen): 1 uur per week ofwel 52 uur per jaar à €15/uur.
- Extra arbeid bij handbediend schuiven: 63 uur per jaar à € 15/uur.
- Lineaire afschrijving in 10 jaar; rente: 6%; onderhoud 3% en verzekering 0,02% van de investeringen

De jaarkosten (rente, afschrijving en onderhoud) van een traditionele ligboxenstal met roostervloer, zonder emissiebeperkende maatregelen zijn ca. € 550 per dierplaats per jaar.

Bij de aannames van Leinker kunnen enkele kanttekeningen gemaakt worden:

De zelfaangedreven mestschuiven op roostervloeren zullen in de praktijk niet alleen benut worden in een werkgang voor dosering van de ureaseremmer, maar waarschijnlijk elke 2 of drie uur om de vloer schoon en goed beloopbaar te houden, tenzij hierdoor de ureaseremmende werking van het middel op de vloer sterk zou afnemen.

Er is voor de schatting van de integrale kosten bij het eerste systeem in tabel 3 uitgegaan van 3 mestgangen met mestschuiven voor 65 koeien ofwel ca. 32 koeien per mestgang. Door meer koeien per mestgang en mestschuif te houden, kunnen de kosten enigszins beperkt worden.

De inzet van een handbediende schuif lijkt uit oogpunt van controleerbaarheid en handhaafbaarheid minder gewenst; de dagelijkse werkgang zal op veel melkveebedrijven moeilijk in te passen zijn in het dagelijkse werkschema en kan tijdens drukke werkzaamheden op het bedrijf een lage prioriteit krijgen. Bovendien is de kans reëel dat niet het gehele vloeroppervlak wordt bereikt bij een handmatige uitvoering; dit vooral als de koeien in dezelfde ruimte verblijven tijdens de werkgang. Overigens zouden de bedrijfstijden van dit systeem wel met een datalogger geregistreerd kunnen worden.

De kosten per kg gereduceerde ammoniak worden verkregen door de in tabel 3 vermelde kosten per dierplaats per jaar te delen door het aantal kg ammoniak per dierplaats per jaar dat door toepassing van de ureaseremmer wordt vermeden.

Wordt uitgegaan van een reductie van de vloeremissie van 40% door toepassing van de ureaseremmer en een gelijkblijvende kelderemissie en veronderstellen we dat de bijdrage van de vloer aan de stalemissie 55% is dan zou de stalemissie met 40% van 55% ofwel 22% gereduceerd worden. Uitgaande van een stalemissie van 9,5 kg per dierplaats per jaar zou dit neerkomen op een reductie van ca. 2 kg per jaar en moeten de kosten in tabel 3 dus door 2 gedeeld worden om de kosten per kg gereduceerde ammoniak uit te drukken.

Wordt uitgegaan van een dubbel zo groot effect van de ureaseremmer van 4 kg gereduceerde ammoniak per jaar dan moeten de kosten in tabel 3 door 4 gedeeld worden om de kosten per kg gereduceerde ammoniak uit te drukken. In tabel 4 zijn de aldus berekende kosten per kg gereduceerde ammoniak weergegeven.

Tabel 4 Berekende kosten per kg gereduceerde NH₃ (€) uitgaande van een emissiereductie per dierplaats per jaar in de range van 2 tot 4 kg ammoniak. Bij 2 kg reductie moet het hoogste bedrag van de vermelde range genomen worden; bij 4 kg reductie het laagste bedrag.

Mestverwijderings- en doseertechniek	Berekende kosten per kg gereduceerde NH ₃ (€) bij een kostenniveau van de ureaseremmer			
	€ 15.000/kg UR	€ 0,005/kg melk	€ 0,0025/kg melk	€ 45/kg UR
Mestschuifinstallatie & sproeihuizen ¹⁾	47 - 93	37 - 74	34 - 67	30 - 59
Robotschuif & geïntegreerd sproeisysteem	36 - 71	26 - 52	22 - 44	18 - 37
Handbediende schuif met geïntegreerd sproeisysteem	26 - 52	16 - 33	13 - 25	9 - 18

Ter vergelijking: de kosten per kg gereduceerde ammoniak van het sleufvloersysteem (Rav code A 1.5) bedragen ca. € 25 per kg gereduceerde ammoniak en die voor de hellende, dichte vloer met giergoot en een spoelsysteem ter voorkoming van een opdrogende en daarna gladde vloer (Rav code A 1.2): ca. € 40 per kg gereduceerde ammoniak

(gebaseerd op kostenberekeningen voor de Maatlat Duurzame Veehouderij in 2006).

Om te concurreren met andere emissiereducerende maatregelen zal het prijsniveau van de ureaseremmer niet veel hoger mogen zijn dan dat van NBPT in kunstmest (€45/kg). De prijs van het middel in laboratoriumkwaliteit (€15000/kg) is te hoog voor toepassing als emissiereducerende maatregel.

3.2 Controleerbaarheid toepassing ureaseremmers

De controleerbaarheid van de effectieve toepassing van ureaseremmers kan op verschillende niveaus plaatsvinden:

- aanschafbonnen van middelen (administratie bij controlebezoek, accountantsverklaring achteraf)
- investering doseerinstallatie en regelapparatuur voor verdunning middel en dosering
- klok met gerealiseerde sproeitijden evt. met logger
- abonnement voor jaarlijks onderhoud van de installatie

Tijdens een bedrijfsbezoek zou ook de ureaseactiviteit op de vloer gemeten kunnen worden. Dit is echter een zeer arbeidsintensieve meetmethode die eigenlijk alleen voor onderzoeksdoeleinden geschikt is. De variatie in ureaseactiviteit is bovendien zeer groot. Herhaalde metingen zullen noodzakelijk zijn om een juridisch houdbare uitspraak te doen.

Als een veehouder geïnvesteerd heeft in een doseerinstallatie en een voorraad van het middel heeft aangeschaft, ligt het niet voor de hand om dit niet toe te passen. Dit zou gepaard gaan met verlies van minerale N in de mest. Daardoor zal meer kunstmest aangekocht moeten worden of de opbrengst van grasland uit dierlijke mest zal nadelig beïnvloed worden, tenzij de veehouder een mineralenoverschot heeft en dit moet afvoeren.

Administratieve controle en het vaststellen van de fysieke aanwezigheid van installatie en middelen zouden dus voldoende kunnen zijn, tenzij er een overschot aan mineralen ontstaat waar de veehouder op wordt afgerekend. Een datalogger die de werkgangen van het ureasedoseersysteem en de werktijden van de doseerpomp registreert, kan een goede aanvulling zijn. Bij twijfels over de technische staat van de installatie zou een handmatige start van het systeem tijdens een controle- bedrijfsbezoek uitgevoerd kunnen worden. Indien het systeem op een bedrijf defect raakt, zou de veehouder gevraagd kunnen worden om dit en de geplande reparatiedatum (door een erkende installateur) bijvoorbeeld te melden bij de gemeente (deze is immers handhaver van de milieuvergunning) via internet of een telefoonmenu.

3.3 Inschatting potentiële emissiereductie op stalniveau

Vloergebonden ureaseactiviteit versus ureaseactiviteit in faeces

Nadat een vloer behandeld is met ureaseremmer is de ureaseactiviteit van de vloer in principe laag. Met verse faeces worden echter grote hoeveelheden ureasevormende bacteriën aangevoerd (Muck, 1981). Op plaatsen waar koeien urine lozen zal de eerder op dit vloerdeel uitgescheiden faeces grotendeels weggespoeld worden. In de kern van de urineplas zal dit er waarschijnlijk toe leiden dat de faeces en de daarin aanwezige ureasevormende bacteriën volledig worden weggespoeld. Aan de rand van de urineplas zullen waarschijnlijk faecesdeeltjes met ureasevormende bacteriën achterblijven. Het lijkt dus aannemelijk dat in de buitenste zone van een verse urineplas wel ureaseactiviteit aanwezig is. Dit impliceert dat er zelfs bij een zeer drastische remming van de vloergebonden ureaseactiviteit nog een deel van de ureum in de urineplassen (gradiënt van de buitenrand van de plas naar het centrum) op de stalvloer zal worden omgezet in ammonium en als ammoniak kan vervluchtigen. De mate waarin dit gebeurt, hangt waarschijnlijk ondermeer af van vloertype, vloeroppervlakte, mestafvoer en urineafvoer en de frequentie waarmee ureaseremmers gedoseerd worden. De snelheid waarmee ureum wordt afgebroken en ammoniak emitteert hangt hier verder uiteraard ook af van omgevingscondities zoals temperatuur en lichtsnelheid.

Vanwege de ureaseactiviteit in verse faeces moet rekening worden gehouden met een kleiner effect op de stalemissie dan wanneer alleen de vloergebonden ureaseactiviteit een rol zou spelen.

In tabel 5 is voor een stal met een roostervloer een schatting gemaakt van de te verwachten emissiereductie bij drie niveaus van beïnvloeding door de ureaseactiviteit van verse faeces (schatting gebaseerd op eigen berekeningen van de auteurs van deze rapportage).

Tabel 5 Inschatting effect van aanvoer van urease via verse faeces op de emissie bij toepassing van een ureaseremmer op de stalvloer en aannemende dat 45% van de stalemissie afkomstig is uit de mestkelder en 55% vanaf de stalvloer. De stalvloer- en kelderemissies zijn steeds uitgedrukt in procenten van de totale stalemissie zonder gebruik van een ureaseremmer.

	Beïnvloed urinevolume op de stalvloer	Stalvloer emissie	Stal emissie	Stalemissie- reductie
Zonder ureaseremmer	100%	55%	100%	0%
<i>Faecesinvloed</i>				
Nihil	0%	0-32%	45-77%	39 (23-55)%
Klein	33%	18-43%	63-87%	25 (13-37)%
Middelgroot	66%	36-55%	81-100%	10 (0-19)%

In tabel 5 is er van uitgegaan dat de ureaseremmer geen na-effect heeft op de emissie vanuit de toplaag in de mestkelder. Waarschijnlijk is er wel een na-effect. Enerzijds doordat de ureaseremmer zelf deels direct bij het doseren in de kelder druppelt, maar in tweede instantie ook daarna met verse urine en faeces door de spleten in de roosters kan meestromen. Anderzijds doordat de urine die in de kelder valt gemiddeld een lagere pH zal hebben als een kleiner deel van de ureum in die urine is afgebroken. Door de lagere pH zal de er in mindere mate dissociatie van ammonium (NH₄⁺) naar ammoniak (NH₃) plaatsvinden. In tabel 6 is vooreen stal met een roostervloer een inschatting gemaakt rekening houdend met een na-effect in de mestkelder.

Tabel 6 Inschatting effect van aanvoer van urease via verse faeces op de emissie bij toepassing van een ureaseremmer op de stalvloer. De stalvloer- en kelderemissies zijn steeds uitgedrukt in procenten van de totale stalemissie zonder gebruik van een ureaseremmer.

	Beïnvloed urinevolume op de stalvloer	Stalvloer emissie	Kelder emissie	Stalemissie- reductie
Zonder ureaseremmer	100%	55%	45%	0%
<i>Faecesinvloed</i>				
..Nihil	0%	0-32%	35%	45 (33-65)%
..Klein	33%	18-43%	38%	30 (20-40)%
..Middelgroot	66%	36-55%	40%	15 (5-25)%

Naar verwachting zal de faecesinvloed op de ureaseactiviteit van de roostervloer klein tot middelgroot zijn en zou dus op basis van tabel 6 een stalemissiereductie van 15 à 30% gerealiseerd kunnen worden.

Vlakke versus hellende dichte vloeren

Bij een vlakke dichte vloer zonder helling(en) zal de urine min of meer omsloten worden door de faeces waartussen het terecht komt; zonder af te stromen. Daardoor zal op een vlakke vloer het effect van reductie van de vloergebonden ureasereactiviteit naar verwachting beperkt zijn, tenzij er zeer hoogfrequent ureaseremmers gedoseerd worden.

Bij een vloer met een eenzijdige helling is eerder vastgesteld dat een verse plas over een grote oppervlakte wordt verspreid (Braam & van den Hoorn, 2006). Door het vergrote emitterende oppervlak is dit geen doeltreffende emissiebeperkende maatregel. Ook bij het toepassen van een ureaseremmer op een eenzijdig hellende dichte vloer zal de verse urine naar verwachting veel in aanraking komen met aangrenzende faeces en de daarin aanwezige verse urease. Bij een tweezijdig hellende dichte vloer is minder sprake van een grotere emitterende oppervlakte dan bij een roostervloer en lijkt het toepassen van ureaseremmers dus wel perspectiefrijk.

4 Discussie en aanbevelingen

Perspectievolle ureaseremmers

Uit het onderhavige literatuuronderzoek komen twee kansrijke ureaseremmers naar voren voor toepassing in stallen bij drijfmestsystemen.

NBPT lijkt op grond van diverse onderzoeken perspectiefrijk uit emissieoogpunt en ook kosteneffectief. Onderzoek op stalvloeren onder NL omstandigheden heeft nog niet plaatsgevonden. Door ureaseactiviteiten bij verschillende omgevingscondities vast te stellen op verschillende stalvloeren met en zonder dit middel en bij verschillende doseringen (hoeveelheid, frequentie) kan de toepasbaarheid en effectiviteit voor Nederlandse stallen nader verkend worden. Daarnaast zijn emissiemetingen op vloerdelen (meetbox van ca. 1 m²) met en zonder deze ureaseremmer wenselijk. Het is daarbij speciaal interessant om te meten aan verse urineplassen zoals die normaliter in de stal voorkomen; dus op de door koeien normaal bevuilde vloer (met faeces en oudere urineplassen rondom de verse urineplas). In het onderzoek tot nu toe is de ureaseactiviteit meestal op een gestandaardiseerde wijze gemeten nadat de vloer met een rubberstrip ter plaatse van de activiteitsmeting werd schoongeschoven en vervolgens ter plaatse een standaard ureumoplossing werd gedoseerd. Voordeel hiervan is dat bij meer gestandaardiseerde omstandigheden gemeten kan worden; variaties worden deels uitgeschakeld. Nadeel is dat de omzetting op een niet schoon geschoven oppervlak aanzienlijk kan verschillen; vooral als de verse urineplas omgeven wordt door faeces met veel ureaseactiviteit kan de vloergebonden ureaseactiviteit minder relevant zijn en geeft de gestandaardiseerde ureaseactiviteitsbepaling waarschijnlijk dus een onderschatting van het emissiepotentieel. Er moet rekening mee worden gehouden dat het gunstige effect van een ureaseremmer op de vloergebonden ureaseactiviteit deels verloren gaat als verse urine op de stalvloer ook in contact komt met een laagje verse faeces waarin de ureaseactiviteit niet geremd is. Daarom zijn emissiemetingen op stalniveau noodzakelijk.

De Duitse ureaseremmers zoals gerapporteerd door Leinker (2007) lijken eveneens perspectiefrijk en kunnen, zodra de specificaties bekend zijn op een vergelijkbare manier nader onderzocht worden als hiervoor voor NBPT beschreven. Deels zijn de mogelijkheden in Duits onderzoek al verkend. De emissiereducerende effecten onder praktische omstandigheden op stalniveau moeten echter nog vastgesteld te worden. Dit zou simultaan met de NBPT kunnen gebeuren mits de nieuwe Duitse ureaseremmer(s) tijdig beschikbaar komen. Naar het zich laat aanzien pakt een commerciële partij, samen met een aantal Nederlandse veehouders, het traject op van het aanvragen van een proefstalstatus, gevolgd door het uitvoeren van officiële metingen.

In tabel 7 is een beoordeling van potentieel interessante ureaseremmers gegeven op basis van te verwachten effectiviteit, beschikbaarheid, toepasbaarheid en kosten.

Tabel 7 Beoordeling perspectief van potentieel interessante ureaseremmers

Stof	UA gemeten	Stalemissie gemeten	Verwachte effectiviteit	Beschikbaarheid	Kosten-effectiviteit	Toepasbaarheid	Ranking
Formaline	ja	ja	+	+	+	----	4
Zoutzuuroplossing	ja	ja	++	+	++	---	3
n-BNPT	ja	nee	+++	+	+++	+	2 of 1
Nieuwe Duitse ureaseremmer	ja	nee	++++	?	++ of +++	+	1 of 2

Kosteneffectiviteit

Naast de technische effectiviteit (emissiereductie) is ook de kosteneffectiviteit van groot belang voor het succes van emissiereducerende technieken in de praktijk. Hierbij zijn niet alleen de kosten van de ureaseremmer van belang, maar ook die van het mestverwijdersysteem (schuif of robot) en de doseerinstallatie. Bij de geringe hoeveelheid middel die behoeft te worden toegediend zijn de meerkosten van extra mestopslag en mesttoediening of mestafvoer beperkt. Dit is een belangrijk voordeel ten opzichte van eerder onderzochte spoelsystemen die gepaard gingen met een aanzienlijke toename van het mestvolume.

Controleerbaarheid en handhaafbaarheid

Naast emissiemetingen aan perspectiefrijke ureaseremmers behoeft ook de borging/controleerbaarheid van de maatregel (regelmatige en effectieve dosering van ureaseremmers) nog aandacht. Technisch zijn er diverse opties; vanuit het beleid zullen de vrijheidsgraden bepaald moeten worden. Daarbij zal aangesloten moeten

worden bij de systematiek van de RAV (systeembeschrijving) en de controlemogelijkheden die de handhaver (in dit geval de gemeente) kunnen worden aangereikt.

Technische aandachtspunten die voor implementatie in de praktijk speciale aandacht vragen, zijn

- de stabiliteit van het middel en de werkzaamheid na opslag. Geleidelijke chemische of biologische afbraak van middelen in opslag is denkbaar; vermelding van een correcte houdbaarheidsdatum is dan essentieel.
- mogelijke ontmenging na verdunning; dit zou eventueel met een automatische roer- of mixunit ondervangen kunnen worden.

Combinatie behandelingen

Bij een verdere optimalisatie van toepassing van ureaseremmers kan gedacht worden aan mogelijke combinatie van een eenmalige startbehandeling met een sterk zuur en daarna regelmatige (wekelijks, dagelijks of meerdere keren per dag bijvoorbeeld rond de melktijden als de dieren in een wachtruimte staan; de wachtruimte kan eventueel steeds voorafgaand worden behandeld) behandeling met een minder agressief middel; ook i.v.m. slijtage van de vloer (oplossen kalk) en mogelijke aantasting/irritatie van de dierhuid is routinematige inzet van sterke zuren en andere agressieve middelen ongewenst.

In plaats van formaldehyde zou het gebruik van andere desinfecterende middelen overwogen kunnen worden. De effectiviteit van deze middelen zou –analoog aan eerdere onderzoeksprojecten in de US en in Europa- eerst in korte experimenten gescreend kunnen worden door ammoniakfluxmeting met urine/faeces mengsels (met en zonder additief) in een pottenproef en ureaseactiviteitsbepalingen uit te voeren in een labopstelling met bevulde vloerelementen.

Uiteindelijk zal ook de effectiviteit op stalniveau vastgesteld moeten worden in termen van een langdurig emissiereducerend effect op stalniveau. Gezien de huidige restricties aan het gebruik van antibiotica moet ook bij desinfectantia rekening worden gehouden met risico's van resistentievorming. Daarnaast zal in het algemeen de toelaatbaarheid van grootschalige inzet van desinfecterende middelen als ureaseremmer getoetst moeten worden (diergezondheid, humane gezondheid van medewerkers in de stal, residuen in melk of vlees).

Neveneffecten

Veel van het in de literatuur beschreven onderzoek was tot nu toe gericht op experimenten waarin de effectiviteit van middelen (hoeveelheid N vastgelegd of hoeveelheid ammoniak vervluchtigd) is getest (proof of principle) of vergeleken tussen middelen en soms de dosis-effect relatie. Naar overige effecten op het milieu en de gezondheid van de mens en dier is in de meeste gevallen (nog) geen aandacht besteed.

Als er door toepassing van een ureaseremmer minder ammoniak uit de stal vervluchtigt, zal er in principe meer stikstof in de mest beschikbaar blijven. Veelal zal de binding van de ureaseremmer op het enzym urease van tijdelijke aard zijn (Niclas, 2003) en zal het ureum dus op een later tijdstip tijdens de opslag of na toediening in de bodem alsnog gehydrolyseerd worden. De mengmest zal dan vergelijkbare eigenschappen hebben als die van mengmest uit stallen waar andere emissiebeperkende maatregelen zijn toegepast. De uitspoeling van nitraat, vorming van lachgas en de ontwikkeling van geur na mesttoediening zullen dan naar verwachting ook niet wezenlijk verschillen. Als de ureaseremmer het enzym urease blijvend inactief maakt zal ureum deels pas na mesttoediening in de bodem afgebroken worden door daar aanwezige bodemurease. De emissie bij toediening zal in dat geval naar verwachting ook lager zijn.

In het Duitse onderzoek van Niclas (2003) is bij bodemureaseremmers onderzoek gedaan naar de benutting van toegediende mest met en zonder ureaseremmers en gebleken dat door toepassing van ureaseremmers een groter deel van de N in de plantengroei werd vastgelegd. In hoeverre hierbij dezelfde ureaseremmers zijn toegepast als in het latere onderzoek van Leinker (2007) is vooralsnog niet bekend.

Veiligheid

Voordat ureaseremmers in de praktijk toegepast kunnen worden, zal de veiligheid van de middelen goed gedocumenteerd moeten zijn. Hoewel het slechts om geringe hoeveelheden (milligrammen per vierkante meter per dag) gaat, zal uitgesloten moeten worden dat schadelijke contaminaties (residuen) in melk of vlees optreden. Ook voor het vee, de veehouders en diervverzorgers die dagelijks in de stallen aanwezig zijn, dient het middel geen nadelige effecten te hebben.

Bij toediening van mest waaraan een ureaseremmer is toegevoegd, dient aangetoond te zijn dat er geen nadelige effecten op grondwaterkwaliteit e.d. zijn. De biologische afbreekbaarheid van middelen en het niet accumuleren van de middelen of afbraakproducten ervan in bodem of grondwater zijn essentieel.

Over bovengenoemde gezondheid- en veiligheidsaspecten van ureaseremmers is in de regel nog maar weinig bekend. Bij gebleken effectiviteit t.a.v. ammoniakreductie is dit een nadrukkelijk punt van aandacht.

Effecten op dierenwelzijn

Toediening van een ureaseremmer in de stal kan met behulp van verschillende doseertechnieken. Voor het doelmatig toepassen van de ureaseremmer op de stalvloer is het verwijderen van de mest en urine wenselijk. Het gebruik van een mestschuif kan enige hinder voor dieren veroorzaken maar zal de hygiëne (klauw- en uiergezondheid) ten goede komen. Op veel bedrijven wordt al een mestschuif toegepast. Het doseren van de ureaseremmer kan in stallen met een wachtruimte voor de melkstal geschieden als de dieren in de wachtruimte staan en na het melken in de lege wachtruimte zodat de dieren niet direct aan het middel blootgesteld worden. Een ander mogelijkheid om direct diercontact met het middel te voorkomen is door het middel te doseren onder een afgeschermd kap, die "geïntegreerd" wordt direct achter een mestschuif (ketting- of kabelschuif, mestrobot of handgestuurde schuif). Voor een doeltreffende dosering is naar verwachting een zodanige druppelgrootte gewenst dat er geen nevel in de stal zal ontstaan.

Als het middel boven dierniveau in de stal wordt verneveld, moet duidelijk zijn dat het geen nadelige effecten op de dieren mag hebben. Bovendien is het risico op verlies van middel groter (verwaaien, in de boxen terecht komen), waardoor een hogere dosering nodig zal zijn om eenzelfde effect te behouden. Bovendien geldt dan als voorwaarde dat het middel in vrij geconcentreerde vorm verneveld moet kunnen worden (en effectief zijn) om een hoge vochtbelasting van de stal te voorkomen.

Mogelijke reductie kelderemissie door ureaseremmers

Ureaseremmers die vanaf de stalvloer in de toplaag van de mengmest terecht komen kunnen daar ook nog een emissiereducerend effect hebben.

Ureaseremmers zouden in beginsel ook systematisch in de mengmest toegepast kunnen worden. Vooral als hiermee gestart wordt in een lege, schone kelder is dit wellicht interessant. Dit omdat dan naar verwachting een lagere pH in de mest gehandhaafd kan worden zodat de dissociatie van ammonium beperkt wordt. Door zowel op de stalvloer als vanuit de mestkelder de emissie te reduceren kan wellicht een aanzienlijk hogere emissiereductie bewerkstelligd worden.

In deze rapportage is vooral gefocust op toepassing in stallen met roostervloeren. Voor toepassing van ureaseremmers in potstallen en vrijloopstallen lijken op basis van Amerikaanse onderzoeken van Varel, Shi en Parker ook goede perspectieven te zijn. Bij een grootschaliger toepassing van dit type stallen in Nederland zou de effectiviteit ook onder Nederlandse omstandigheden nader onderzocht kunnen worden.

Literatuur

- Aarts, H.F.M., G.J. Hilhorst, L. Sebek, M.C.J Smits en J. Oenema, 2008. De ammoniakemissie van de Nederlandse melkveehouderij bij een management gelijk aan dat van de deelnemers aan 'Koeien & Kansen'. WO-rapport 63
- Agrotain (NBPT) zie www.agrotain.com
- Bleijenberg, R., W. Kroodsma & N.W.M. Ogink, 1995. Techniques for the reduction of ammonia emission from a cubicle house with slatted floor (In Dutch). Report 94-35, Institute of Agricultural and Environmental Engineering, Wageningen, 34 pp.
- Braam, C. R., and C. J. Van den Hoorn. 1996. Betonnen stalvloeren met lage ammoniakemissie *IMAD-DLO Rapport 96-12*. Wageningen, Nederland, 207 pp.
- Braam C.R., J.M.H. Ketelaars & M.C.J. Smits, 1997^a. Effects of floor design and floor cleaning on ammonia emission from cubicle houses for dairy cows. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 45, 49-64
- Braam, C.R., Smits, M.C.J., Gunnink, H. & Swierstra, D., 1997^b. Ammonia emission from a double-sloped solid floor in a cubicle house for dairy cows. In: *J. Agric. Engng. Res. No. 68*, p. 375 - 386
- Braam, C.R. and D. Swierstra, 1998. Volatilization of ammonia from dairy housing floors with different surface characteristics. *Journal of Agricultural Engineering Research* 72: 59-69
- Cole, N.A., R.W. Todd and D.B. Parker, 2007. Use of Fat and Zeolite to Reduce Ammonia Emissions from Beef Cattle Feedyards. In: *Proceedings of the International Symposium on Air Quality and Waste Management for Agriculture Broomfield, Colorado, USA September 15-19, 2007*. ASABE Pub Nr 701P0907cd.
- Dooren, H.J.C. van en M.C.J. Smits. 2007. Reductieopties voor ammoniak en methaanemissie uit huisvesting voor melkvee. ASG rapport 80, 70 pp.
- Elzing, A., A.C.H.M. Commissaris, J. Oosthoek en C.M. Groenestein, 1994. De invloed van vloerbevulling op de ammoniakemissie vanuit varkensstallen met vloeren onder de roosters. Wageningen, IMAG-DLO rapport P 94-31, 38 pp
- Elzing, A. and G.J. Monteny, 1997a. Ammonia emission from a scale model of a dairy-cow house. *Transactions of the ASAE* 40: 713-720.
- Elzing, A. and G.J. Monteny, 1997b. Modeling and experimental determination of ammonia emission rates from a scale model dairy-cow house. *Transactions of the ASAE* 40: 721-726.
- Hendrickson, L. L. & Douglass, E. A., 1993. Metabolism of the urease inhibitor n-(n-butyl)thiophosphoric triamide (NBPT) in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 25 (11): 1613-1618
- Ketelaars, J.J.M.H. and H. Rap, 1994. Ammonia volatilization from urine applied to the floor of a dairy cow barn. In: L. 't Mannetje and J. Frame (Eds.), *Grassland and Society*. Wageningen Press, Wageningen, pp. 413-417
- Ketelaars *et al.*, 1995. Beperking ureaseactiviteit van stalvloeren: ontwikkeling van een brongerichte aanpak ter vermindering van de ammoniakemissie uit rundveestallen. *Vertrouwelijke rapportage AB-DLO*, Wageningen, 95 pp.
- Leinker, M., A. Rheinhardt-Hanisch, E. Von Borell & E. Hartung, 2007. Application of urease inhibitors in dairy facilities to reduce ammonia volatilization. In: Monteny, G.J. & E. Hartung, (Eds): *Ammonia emissions in Agriculture: International Conference on Ammonia in Agriculture: Policy, Science, Control and Implementation*, Ede, The Netherlands, 19-21 March 2007. Wageningen Academic Publishers, p 105-107
- Leinker, M., A. Rheinhardt-Hanisch, E. Von Borell & E. Hartung, 2007. Applikation von Ureaseinhibitoren in der Milchviehhaltung zur Minderung von Ammoniakemissionen. In: *Tagungsband. 8. Tagung Bau, Technik und Umwelt in der landw. Nutztierhaltung*. Hrsg.: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V., Münster-Hiltrup: KTBL-Schriftenvertrieb im Landwirtschaftsverlag GmbH, 2007, p 27-32

Leinker, 2007. Entwicklung einer Prinziplösung zur Senkung von Ammoniakemissionen aus Nutztierställen mit Hilfe von Ureaseinhibitoren. Dissertation Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Forschungsbericht Agrartechnik der VDI-MEG Nr. 462, 237 pp.

Milieubalans, 2006. MNP Rapportnr. 500081001, 199 p NL zie <http://www.mnp.nl/bibliotheek/rapporten/500081001.pdf> zie ook www.milieucompendium.nl

Misselbrook, T.H., J. Webb and S.L. Gilhespy, 2006. Ammonia emissions from outdoor concrete yards used by livestock; quantification and mitigation. Atmospheric Environment, Volume 40: 6752-6763

Muck, R.E., 1981. Urease activity in bovine feces. Journal of Dairy Science Vol. 65(11): 2157-2163

Monteny, GJ and JW Erisman, 1998. Ammonia emission from dairy cow buildings: a review of measurement techniques, influencing factors and possibilities for reduction. Netherlands Journal of Agricultural Science 46: 225-247

Monteny, G.J., 2000. Modelling of ammonia emissions from dairy cow houses. IMAG-report 2000-11, PhD-thesis, Wageningen University, the Netherlands, 155 p.

Niclas, 2003. Ureaseinhibitoren zur Senkung der Ammoniakemissionen in der Landwirtschaft. Schlussbericht Verbundproject Projektphase I, 30 pp

Ogink N.W.M.; Kroodsma W., 1996. Reduction of Ammonia Emission from a Cow Cubicle House by Flushing with Water or a Formalin Solution. Journal of Agricultural Engineering Research 63: 197-204

Parker, D.B., S. Pandrangi, L.W. Greene, L.K. Almas, N.A. Cole, M.B. Rhoades, J. A. Koziel. 2005. Rate and frequency of urease inhibitor application for minimizing ammonia emissions from beef cattle feedyards. Transactions of the ASAE. Vol 48(2): 787-793.

Parker, D.B., Cole, N.A., Baek, B.H., Koziel, J.A., Rhoades, M.B., Perschbacher-Buser, Z., Greene, L.W., Sambana, P., 2005. Abatement measures to reduce ammonia emissions from open-lot feedyards and dairies. In: State of the Science Animal Manure and Waste Management, January 4-7, 2005, San Antonio, Texas.

Parker, D.B., M.B. Rhoades, Z.L. Perschbacher-Buser, P. Sambana, J. Koziel, and B.H. Baek., 2005. Field evaluation of urease inhibitors for reduction of ammonia emissions from open-lot feedyards. Paper #1114, In proceedings of the Air and Waste Management Association Symposium, Minneapolis, MN.

Rav, 2007. De Regeling ammoniak en veehouderij (Rav): een op de Wet ammoniak en veehouderij gebaseerde ministeriële regeling. De Rav bevat een lijst met de verschillende stalsystemen per diercategorie en de daarbij behorende emissiefactoren. Zie www.infomil.nl kies landbouw; ammoniak

Reinhard-Hanisch, Annett, Martin Leinker, Eberhard Hartung & Eberhard Von Borell, 2005. Wirksamkeit von Ureaseinhibitoren in der Milchviehhaltung Effectiveness of urease inhibitors in dairy barns. KTBL Tagung Bau, Technik und Umwelt 2005 in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung, 301-306

Ruis-Heutinck, L.F.M., M.C.J. Smits, A.C. Smits, P.P.H. Kant & J.J. Heeres-van der Tol. 1999. Vloertype en oppervlakte bij vleesstieren. Effect op gedrag, gezondheid, milieu en technische prestaties. Lelystad, PR publicatie 140, 59 pp.

Shi, Y., Parker, D. B., Cole, N. A., Auvermann, B. W., Mehlhorn, J. E., 2001. Surface amendments to minimize ammonia emissions from beef cattle feedlots. Transactions of the ASAE Vol: 44(3): 677-682

Singh, J., S. Saggari and N.S. Bolan, 2004. Mitigating gaseous losses of nitrogen from pasture soil with urease and nitrification inhibitors. In: Supersoil 2004: Proceedings of the 3rd Australian New Zealand Soils Conference, University of Sydney, Australia, 5 - 9 December 2004

Smits, M.C.J., H. Gunnink & A. C. Smits, 1996. Ammoniakemissie uit een vleesstierenstal: invloed van vloertype, vloeroppervlakte en urease-activiteit. IMAG rapport 96-13, 43 pp.

Smits, M.C.J. en J.W.H. Huis in 't Veld, 2006. Ammoniakemissie uit melkveestallen van Koeien & Kansen-bedrijven en De Marke; resultaten van diverse, korte meetsessies. Koeien&Kansen rapport 35

Van Vuuren, A.M. and M.C.J. Smits. 1997. Effect of nitrogen and sodium chloride intake on production and composition of urine in dairy cows. Pages 95-99 *in* Gaseous Nitrogen Emissions from Grasslands. CAB International 1997. Oxon

Varel, V.H., 1996. Effect of urease inhibitors on reducing ammonia emissions in cattle waste. In: A. Heber (Ed.), Proceedings of the International Conference on Air Pollution from Agricultural Operations. Midwest Plan Service, Ames, pp. 459-465.

Varel, V.H., J.A. Nienaber and B.H. Byrnes, 1997. Urease inhibitors reduce ammonia emissions from cattle manure. In: J.A.M. Voermans and G.J. Monteny (Eds.) Ammonia and Odour Control from Animal Production Facilities. Research Institute for Pig Husbandry (PV), Rosmalen, pp 721-728.

Varel, V.H., J. A. Nienaber and H. C. Freetly, 1999. Conservation of nitrogen in cattle feedlot waste with urease inhibitors. *Journal of Animal Science*, Vol 77, Issue 5 1162-1168

Varel, V.H., Wells, J., Berry, E.D. 2007. Effect of N-(n-butyl) Phosphoric Triamide (NPBT) and a Linalool Extract or Pine Oil Extract on Urea Concentration, Odorants, and Coliform Bacteria when these Additives are Applied to a Cattle Feedlot Surface. In CDRom proceedings: American Society of Agri Engineers Special Meetings, Sept. 15-19, 2007, Broomfield, CO. CDRom 701P0907c

VROM, 2006. Brief aan 2^{de} Kamer, kenmerk Kvl2006324341, en bijlage 'NEC-rapportage 2006: Uitvoeringsnotitie emissieplafonds verzuring en grootschalige luchtverontreiniging 2006.

Watson, C.J., 2005. Urease inhibitors. In: IFA Int. Workshop on enhanced-efficiency fertilizers. Frankfurt, Germany, June 2005, 8 pp.

Zaman, M. Nguyen, M., Blennerhassett, J., Quin, B., 2007. Reducing NH₃, N₂O and -N losses from a pasture soil with urease or nitrification inhibitors and elemental S-amended nitrogenous fertilizers. *Biology and Fertility of Soils* (in press; online available).

Bijlagen

Bijlage 1 Productinformatie NBPT (commerciële naam: Agrotain)

Bron: www.agrotain.com

About AGROTAIN International, L.C.C.

Agrotain International, Stabilized Nitrogen Technology (SNT) family of products are specifically designed to improve Nitrogen efficiency in urea based fertilizer products. This family of products include AGROTAIN, AGROTAIN Plus and SuperU.

The agriculture industry is ever changing. Improvements in equipment, seed, pesticides and fertilizers are helping producers meet the high demands and improve the quality of the products. The SNT family of products contains an outstanding and innovative technology that minimizes ammonia volatilization to ensure the nitrogen applied is used by the crop instead of lost in the atmosphere. These products are Nitrogen specific not crop specific so they are well suited for a variety of crops and climates. The versatility of these products makes them a great fit for many application methods as well. Check out the individual SNT products to learn how they provide agronomic, economic and AGROTAIN is a nitrogen stabilizer that reduces volatilization and allows for custom application to dry bulk urea (46-0-0) and urea-ammonium nitrate (UAN) solutions at various rates.

AGROTAIN Nitrogen Stabilizer . . .

- Prevents nitrogen loss caused by volatilization.
- Can be easily added to UAN solution as part of the tank mix or blended onto solid urea.
- Gives reduced-til farmers more options and greater flexibility than other nitrogen fertilizers.
- Helps maximize economic yield, lower nitrogen costs and reduce passes across the same field.
- Is cost-effective when used with tillage systems that require surface-applied nitrogen, or when timely incorporation is questionable.
- Gives growers a longer window of opportunity for nitrogen application.
- Is recommended for use on virtually any crop where volatilization is a factor.
- Reduces biological immobilization in high residue environments such as no tillage and other conservation tillage fields.

What is the cost per acre?

The cost is related to the amount of nitrogen being applied, and your region of the world. For instance \$3.50 - \$7.00 for corn and \$3.00 - \$5.00 for wheat would be reasonable estimates when using Urea. For UAN, \$2.50 for corn and \$2.50 for wheat.

Is it safe to the environment?

Yes. AGROTAIN doesn't kill anything; it simply retards urease's ability to hydrolyze urea. The AGROTAIN compound contains the plant nutrients, nitrogen, phosphorus and sulfur. The degradation process results in these nutrients being available to crops.

AGROTAIN PLUS is a dry concentrate formulation for surface applications of UAN. It contains the active ingredient in AGROTAIN, plus an additional nitrogen stabilizing agent which keeps nitrogen in the ammonium form for a longer period of time. AGROTAIN PLUS reduces volatilization, denitrification and leaching losses and is ideally suited for broadcast or surface dribble-banded application of UAN.

Vervolg bijlage 1 NPBT Agrotain: Amiplus registration as an EU fertilizer

AGROTAIN International, L.L.C. licenses product to YARA International ASA

March 10, 2005, St. Louis, Ill – AGROTAIN International, L.L.C. has licensed the AGROTAIN technology to YARA International ASA for urea and UAN incorporation at the manufacturing level for agricultural markets in Europe. Details of the agreement are unspecified, except that YARA will be the exclusive manufacturer of Urea and UAN products containing AGROTAIN Nitrogen Stabilizer for Europe. Adding AGROTAIN to either Urea or UAN produces a *StablizedNitrogen*™ product which prevents nitrogen losses from volatilization.

“YARA International (formerly Hydro AGRI) has been a leader in the fertilizer industry for the past century,” says Michael D. Stegmann, President of AGROTAIN International, L.L.C. “The founders of YARA invented nitrogen fertilizer and spurred a revolution in agriculture. Today, YARA is a global leader in nitrogen, with specialization in fluid bed granulation urea manufacturing. It seemed a natural fit to bring them on board as the manufacturer in the European market for our product.”

The agreement, which was negotiated through YARA's European offices in Norway and Belgium, reflects AGROTAIN International's plan to partner with Urea and UAN producers, and channel distributors, outside of the United States.

“We are pleased to be able to partner with AGROTAIN International to bring new and exciting product development opportunities to the European market,” states Mike Anderson, YARA European Marketing. “Formal registration of Amiplus as an EC-Fertilizer is actively being sought through the European Union. This will ensure Yara maintain their reputation as a supplier of products of proven quality and performance”

AGROTAIN International, L.L.C. manufactures and markets nitrogen fertilizers containing AGROTAIN, a patented nitrogen stabilizer that reduces urea and urea-ammonium nitrate losses in Agricultural and Turf & Ornamental market segments.

YARA International ASA is the world's leading provider of mineral fertilizers, with operations in 50 countries on five continents.

Bijlage 2 Duitse patentaanvragen voor ureaseremmers

Patent aanvragen voor ureaseremmers door SKW Piesteritz (Duitsland en EU), 2002 (volgens Niclas, 2003):

- Heterocyclisch-substitueerde (Thio-)Phosphorsäuretriamide
- 1,1,1,3,3,3-Hexaaminodiphosphazanium-salze
- Tetraaminophosphoniumsalze
- 1,3,4-Oxa und 1,3,4-Thiadiazol-2-yl(thio)phosphorsäuretriamide

WIPO Patent aanvraag registratie van SKW Piesteritz (Duitsland en EU), 2005:

- 1,2,4- Thiadiazol-5-thio compounds and the derivatives thereof, methods for the production thereof and use thereof as urease and nitrification inhibitors (WO/2005/007636) zie <http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?wo=2005007636> en zie <http://www.wipo.int/ipdl/IPDL-IMAGES/PCT-PAGES/2005/042005/05007636/05007636.pdf>

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. Januar 2005 (27.01.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/007636 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07D 285/08

GMBH [DE/DE]; Möllensdorfer Strasse 13, 06886 Lutherstadt Wittenberg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/006269

(22) Internationales Anmeldedatum:
9. Juni 2004 (09.06.2004)

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PALMER, Thomas [DE/DE]; Dorfplatz 2d, 04205 Leipzig (DE). NICLAS, Hans-Joachim [DE/DE]; Rethelstrasse 8, 12435 Berlin (DE). SCHUSTER, Carola [DE/DE]; Vogelweide 30, 06130 Halle/Saale (DE). MICHEL, Hans-Jürgen [DE/DE]; Am Schlossblick 34, 04827 Machern (DE). GRABARSE, Margrit [DE/DE]; Seelingstädt, Trebsener Strasse 58, 04687 Trebsen (DE). HUCKE, André [DE/DE]; Merkurweg 8, 06898 Reinsdorf (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

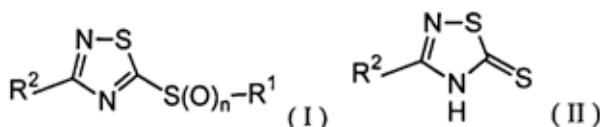
(30) Angaben zur Priorität:
103 32 288.4 16. Juli 2003 (16.07.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SKW STICKSTOFFWERKE PIESTERITZ

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: 1,2,4- THIADIAZOL-5-THIO COMPOUNDS AND THE DERIVATIVES THEREOF, METHODS FOR THE PRODUCTION THEREOF AND USE THEREOF AS UREASE AND NITRIFICATION INHIBITORS

(54) Bezeichnung: 1,2,4- THIADIAZOL-5-THIOVERBINDUNGEN UND DEREN DERIVATE, VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG UND IHRE VERWENDUNG ALS UREASE- UND NITRIFIKATIONSINHIBITOREN



(57) Abstract: The invention relates to methods for the production and use of novel 1,2,4-thiadiazols of general formulae (I) or (II) as agents for regulating the inhibition of enzymatic urea hydrolysis, wherein R¹ = hydrogen, C₁-C₈-alkyl or C₆-C₁₀-aryl and R² = hydrogen, C₁-C₈- alkyl/heteroalkyl, C₂-C₈

-alkenyl/heteroalkenyl, C₂-C₈ -alkinyl/heteroalkinyl, C₃-C₈- cycloalkyl/heterocycloalkyl, C₃-C₈ -cycloalkenyl/heterocycloalkenyl, C₆-C₁₀ -aryl/heteroaryl, aralkyl, heteroarylalkyl, alkaryl, akheteroaryl, alkoxy, aryloxy, hetaryloxy, alkylthio, arylthio, hetarylthio, acyl, aroyl, hetaroyl, acyloxy, aroyloxy, hetaroyloxy, alkoxy-carbonyl, aryloxy-carbonyl, hetaryloxy-carbonyl, amino, alkylamino, dialkylamino, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, fluorine, chlorine, bromine, iodine, hydroxy, cyano, nitro, sulfo, carbonyl, carboxy, carbamoyl, sulfamoyl, the radicals R¹ and/or R² can, optionally, be per se and individually substituted by one or several of the above-mentioned groups. With a limited spectrum of substituents in R², said compounds can be claimed as nitrification inhibitors. The inventive 1,2,4-thiadiazols thus used are effective urease inhibitors and have a good resistance to hydrolysis and can be produced according to known methods. They are also effective nitrification inhibitors and can delay transformation of ammonia. They are the first inhibitors which effectively eliminate the two main sources of loss during the application of manure, i.e. urease-catalyzed urea hydrolysis and nitrification of ammonia nitrogen. The inventive compounds can also be combined with more potent nitrification inhibitors, whereby nitrogen losses can also be reduced, without any problem.

WO 2005/007636 A1

(57) Zusammenfassung: Es werden Verfahren zur Herstellung und die Verwendung neuer 1,2,4-Thiadiazole der allgemeinen Formel (I) oder (II) als Mittel zur Regulierung bzw. Hemmung der enzymatischen Harnstoff-Hydrolyse beschrieben, in der R¹ = Wasserstoff, C₁-C₈-Alkyl oder C₆-C₁₀-Aryl und R² = Wasserstoff, C₁-C₈- Alkyl/Heteroalkyl, C₂-C₈ Alkenyl/Heteroalkenyl, C₂-C₈ -Alkinyl/Heteroalkinyl, C₃-C₈- Cycloalkyl/Heterocycloalkyl, C₃-C₈ Cycloalkenyl/Heterocycloalkenyl, C₆-C₁₀ -Aryl/Heteroaryl, Aralkyl, Heteroarylalkyl, Alkaryl, Alkheteroaryl, Alkoxy, Aryloxy, Hetaryloxy, Alkylthio, Arylthio, Hetarylthio, Acyl, Aroyl, Hetaroyl, Acyloxy, Aroyloxy, Hetaroyloxy, Alkoxy-carbonyl, Aryloxy-carbonyl, Hetaryloxy-carbonyl, Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Alkylsulfonyl, Arylsulfonyl, Fluor, Chlor, Brom, Iod, Hydroxy, Cyano, Nitro, Sulfo, Carbonyl, Carboxy, Carbamoyl, Sulfamoyl bedeuten, wobei die Reste R¹ und/oder R² gegebenenfalls selber und unabhängig voneinander mit einer oder mehreren der oben genannten Gruppen substituiert sein können. Mit eingeschränktem Substituentenspektrum in R² werden die Verbindungen als Nitrifikationsinhibitoren beansprucht. Die erfindungsgemäß eingesetzten 1,2,4-Thiadiazole stellen effektive Ureaseinhibitoren mit einer guten Hydrolysebeständigkeit dar und können nach bekannten Verfahren hergestellt werden. Sie wirken ebenfalls als Nitrifikationsinhibitoren und können die Ammoniumumwandlung verzögern. Sie sind somit die ersten Inhibitoren, die die beiden Hauptverlustquellen bei der Düngermanwendung,

Bijlage 3

Bovenste tekening: Buizen en sproeidoppen aan boxranden en onderkant voerhek
 Onderste tekening: Doseersysteem voor toediening van een formalineoplossing
 Bron: Ogink en Kroodsmma, 1996

In plaats van formaline zou via 'vat' 2 ook een ureaseremmeroplossing met dit systeem gedoseerd kunnen worden.

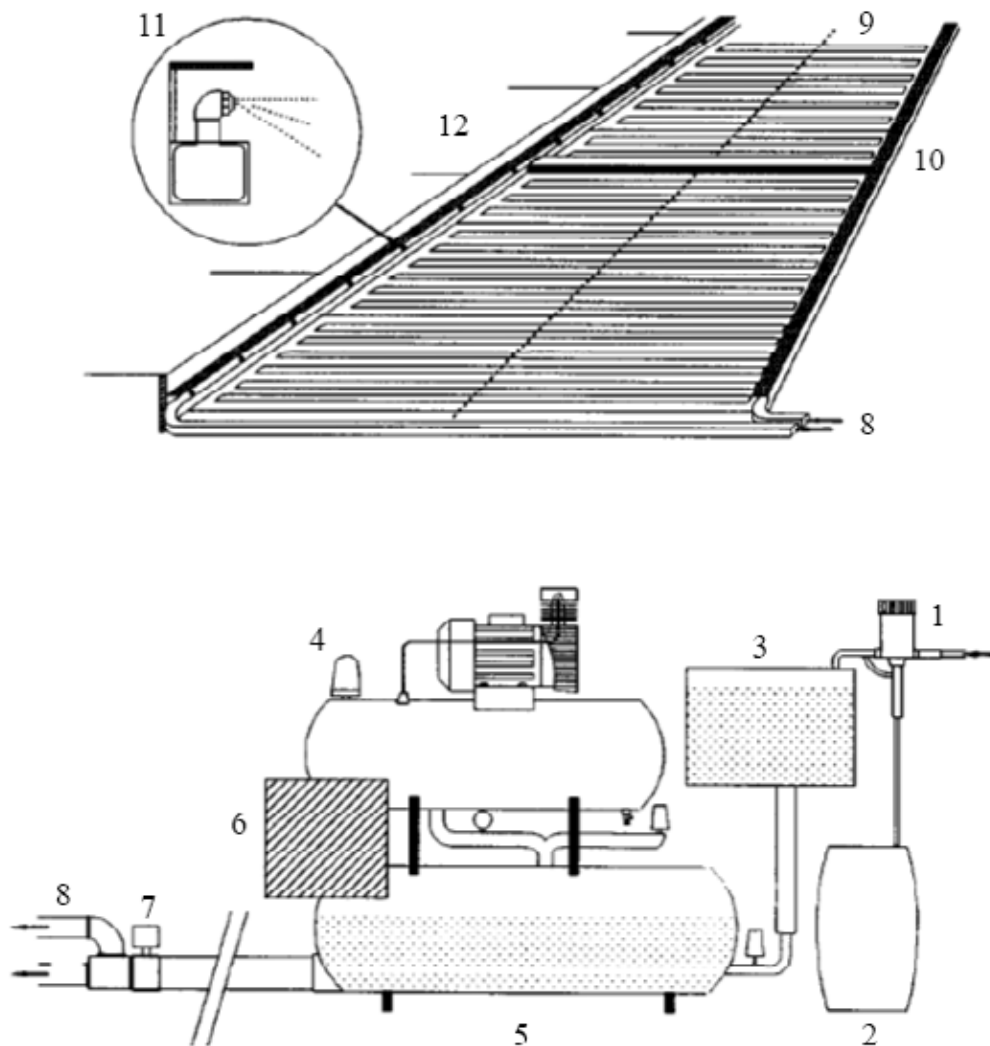


Fig. 2. Equipment for scraping and flushing of the floor and dosage installation for formalin; (1) dosage unit, (2) formalin solution, (3) tank with diluted formalin, (4) compressor, (5) pressure tank, (6) control equipment, (7) pneumatic valve, (8) flushing pipes with nozzles, (9) slats, (10) scraper, (11) cross section of flushing pipe with nozzle, (12) cubicle area