

**Eendekroos als nieuw eiwit- en
zetmeelgewas**

**Haalbaarheidsstudie
november 2010**

Eindrapport

***Innostart BV
Inodia BV
Stichting Sustainable Forum***

Projecttitel:	Haalbaarheidsstudie naar de ontwikkeling van eendenkroos als een nieuw zetmeelgewas
Projectnummer:	LNv verplichtingnummer 1400005599
Opdrachtnemer:	Stichting Sustainable Forum
Uitvoerende Partners:	Innostart BV, Inodia BV
Samenwerkingspartner:	Saxion Hogeschool Enschede
Informatie:	Dr. Hans Derksen / Innostart BV T: 0485-350651 M: 0620 801276 E: h.derksen@innostart.nl
Startdatum:	1 juli 2010
Einddatum:	30 november 2010
Auteurs:	Dr. Hans Derksen (InnoStart) & Dr. Lourens Zwart (Inodia)

Inhoudsopgave

Hoofdstuk	pagina
1. Management Samenvatting	4
2. Inleiding en doelstelling	6
3. Literatuurstudie naar eendenkroos als nieuw gewas	8
4. Praktijkonderzoek naar teelt en verwerking	29
5. Literatuur	35

Voorwoord

Voor u ligt het rapport waarmee we vanuit het SUST-enable Forum en haar deelnemers willen helpen aan te tonen dat marktgerichte innovatie op basis van samenwerking een goede insteek is voor de BioBased Business. Goede keuzes maken om sneller en beter resultaat te boeken is hierin een belangrijk element.

Zoals we eigenlijk al hadden verwacht is aangetoond dat de grote aandacht die aan algen is en wordt besteed niet het enige paard is waarop men kan wedden in aquatische teelt. Bij algen is er wellicht zelfs sprake van een hype, waarbij er nog niet veel van de beloften is ingelost.

Met meer aandacht voor kroos als biomassabron is er op zijn minst een relativerend geluid te geven. De indruk die we echter ook hebben gekregen uit dit door LNV gesponsorde onderzoek is dat, zeker op korte termijn, kroos meer commercieel perspectief biedt. De technologie is veelbelovend, relatief simpel en zowel technisch als qua markt goed inpasbaar. Dit past beter bij de tijdshorizon van ondernemers...

Ook de dubbele focus, enerzijds voedsel en anderzijds grondstof, wordt niet tot een tegenstelling naar onze indruk. Een typische vorm van “kassenteelt” voor voedsel (alle Nederlandse kennis en innovatie toepasbaar: CO₂-bemesting, warmtehuishouding, LED-verlichting etc.) lijkt van toepassing, maar wat grondstof aangaat ligt de productie in de “open lucht” met inzet van “afvalstromen” meer voor de hand. “Het vierde gewas uit een waterplas” zou een motto kunnen worden.

Bovenstaande schets is slechts een voorlopige visie en bundelen van innovaties en ondernemerschap zal het een en ander duidelijker moeten gaan maken.

De voor dit project samenwerkende partijen (en toetreders) zullen bereid zijn dit project verder te dragen. Moge het idee van Samen Uit Samen Thuis daarbij ook voor de overheid gelden. De getoonde belangstelling van LNV (nu ELI) was reeds een goede stimulans, maar gedurende de voortgang van het project zal verdere beleidssteun nodig zijn.

Ook dat hebben de partijen in het bijgevoegde rapport aangegeven. Het gaat hier vooral om markttoelating van de (voedsel)componenten en een proactieve attitude ten aanzien van de facilitering van het verdere ontwikkelingstraject.

Met dank voor de reeds geboden ondersteuning,

H.A.C. Groeneveld
Voorzitter SUST-enable Forum

1. Management Samenvatting

1.1 Inleiding

Eendenkroos (of kortweg kroos) is een der snelst groeiende vormen van plantaardige biomassa, een plantje dat zichzelf (in het groeiseizoen) iedere 2-3 dagen 'verdubbelt'. Dergelijke waterplanten staan de laatste jaren sterk in de belangstelling als bron van aquatische biomassa voor zowel nieuwe voedsel als niet-voedsel toepassingen en voor energieopwekking. **De ondernemers in dit haalbaarheidsonderzoek, verenigd in het samenwerkingsverband ABC-Kroos, willen eendenkroos toepassen als bron voor natuurlijke grondstoffen.** Dit onderzoek richt zich op de haalbaarheid van teelt in Nederland van kroos alsmede de winning van zetmeel, eiwit en cellulose uit kroos plus biomethaan uit het residu. Met name de in literatuur beschreven, mogelijkheid om eendenkroos aan te zetten tot de productie van zetmeel is nieuw en wordt in dit onderzoek bekeken.

Dit verslag omvat een literatuurstudie naar eendenkroos als nieuw gewas, de teelt daarvan, inclusief ervaringen in het buitenland alsmede een inventarisatie van initiatieven in Nederland. Daarenboven is in het kader van dit haalbaarheidsonderzoek eendenkroos op kleine schaal geteeld en is onderzocht of dit via mineralendepletie aangezet kon worden tot zetmeelproductie. Op basis van de resultaten van literatuur en dit praktijkonderzoek zijn enkele scenario's van productie van zetmeel, eiwit, cellulose en biomethaan uit eendenkroos doorgerekend en zijn business cases, inclusief investeringen en rentabiliteitsprognoses, opgezet voor de commercialisering van dit concept.



1.2 Resultaten en conclusies

Eendenkroos, en dan meer specifiek de soorten *Lemna minor* en *Spirodela polyrrhiza* kunnen prima groeien in Nederland en kunnen, afhankelijk van de groeiomstandigheden 12 tot 20 ton droge stof per jaar aan biomassa opbrengen (in zuidelijkere landen zelfs tot het dubbele hiervan). De teelt is zeer eenvoudig, zeker eenvoudiger dan andere aquatische biomassa, zoals algen. Eendenkroos bevat flinke hoeveelheden eiwit (gemiddeld 35 %; range 24-49%), dat qua samenstelling sterk lijkt op sojaeiwit. Mede om deze reden wordt eendenkroos in diverse landen in Zuidoost Azië en Afrika geteeld als bron van eiwit voor (pluim-)vee- en visvoer, en ook in menselijke voeding. Het sterke vermogen om mineralen te absorberen wordt in landen als USA en Australië gebruikt in de reiniging van afvalwater.

De winning van eendenkroos inhoudsstoffen wordt nog nergens op enige schaal gedaan. Met name eendenkroos eiwit is eenvoudig te winnen en stuit veel minder op ontsluitingsproblemen dan algen. Inductie van zetmeelproductie in turions ("overwinteringsknolletjes") of in chloroplasten is op labschaal mogelijk maar heeft in deze haalbaarheidsstudie niet tot significante zetmeelstapeling geleid en lijkt vooralsnog niet commercieel perspectiefvol.

Van de doorgerekende scenario's lijkt de winning van eiwit uit geteelde *Lemna minor* en de opzuivering hiervan tot eiwitconcentraat en -isolaat (ter vervanging van sojaeiwitconcentraat en -isolaat) zeer rendabel met een Cash Rate of Return (CRR) van 26% en een terugverdientijd van 4

jaar. bij een investeringsniveau van 4.1 M€ voor een fabriek met een verwerkingscapaciteit van 10.000 ton droge stof / jaar. Een vervolg scenario is de winning van cellulose, naast eiwit, uit het biomassa residu, hetgeen een extra investering van 0.4 M€ vergt maar leidt tot een CRR van bijna 29% en een terugverdientijd van 3 jaar.

1.3 Toekomst en beleidsadviezen

Eendenkroos is een vorm van in Nederland teelbare aquatische biomassa die tot nu toe veel minder aandacht heeft weten te trekken dan microalgen, maar desalniettemin een aantal duidelijke voordelen biedt op het gebied van teelt en verwerking. Zeker als het om hoogwaardig eiwit als hoofdproduct te doen is. Gelet op het belang van het vinden van alternatieve eiwitbronnen dan sojaeiwit voor veevoeder is dit een belangrijk punt van overweging bij het stimuleren van eendenkroosteelt. Maar ook het breder beschikbaar komen van niet-dierlijke eiwitten ten behoeve van humane voedingsproducten kan een belangrijke drijvende kracht worden voor de ontwikkeling van eendenkrooseiwit.

De eendenkroos waardeketen staat in Nederland echter nog in de kinderschoenen. Om toch de potentie van dit snelst groeiende gewas ter wereld ook in Nederland te kunnen benutten is het zinvol hier meer aandacht aan te geven. Enerzijds is hierin natuurlijk een rol weggelegd voor de agroindustrie en de verwerkende industrie (chemie, voedingsmiddelenindustrie, veevoederindustrie), maar ook voor kennisinstellingen. Anderzijds kan ook de overheid een belangrijke rol spelen bij het opzetten van deze nog niet bestaande waardeketen.

Hulp van de (landelijke en regionale) overheid bij deze ontwikkeling is wenselijk bij:

- Stimuleren van ontwikkeling technologiebasis en kennisopbouw.
- Planmakers in contact brengen met financiers en stakeholders in de keten.
- Ondersteunen bij het opzetten van pilot-/demo teelt en verwerkingsplants.
- Onderzoek naar benutting van natuurlijke mineralenstromen voor voeding van eendenkroosteelt.
- Toelating van eendenkroosinhoudsstoffen op de markt; wellicht in de vorm van ontheffingen bij (kleinschalige) trials.
- Facilitering van pilotteelt en verwerking; soepelheid bij het inpassen hiervan in (bestaande) milieuvergunningen en/of toepassing van versnelde procedures.

2. Inleiding

2.1 Inkadering en doelstelling

Eendenkroos is een gewas in de categorie “aquatische biomassa” waar, in navolging van enkele buitenlandse, ook in Nederland recentelijk steeds meer onderzoek naar gedaan wordt. Redenen hiervoor zijn o.a. de hoge opbrengst per hectare, gemakkelijkere teelt en winbaarheid dan andere aquatische biomassa (met name algen) en de mogelijkheid te telen in brak en mineralenrijk afvalwater. De focus bij andere projecten in Nederland ligt in alle gevallen op de teelt van eendenkroos dat na bijvoorbeeld pelleteren integraal gebruikt kan worden als vee- of visvoer.

Echter sommige soorten eendenkroos maken ook als overwinteringsstrategie zetmeelrijke turions (“knolletjes”) aan die mogelijk als bron kunnen dienen voor het winnen van zetmeel, liefst in combinatie met de winning van hoogwaardig eiwit uit de overige plantendelen. Dit is theoretisch mogelijk, maar in de praktijk nog nergens op haalbaarheid onderzocht.

Inodia BV en Innostart BV zijn MKB bedrijven die het gebruik van kroos als bron voor natuurlijke grondstoffen ontwikkelen. Samen met (mede investerende) machinefabriek Mesys BV wordt daarvoor de benodigde pilot plant ontwikkeld en een fabriek ontworpen. Het kroos bevat de interessante stoffen eiwit en cellulose en gezien de ontdekking van het zetmeel en de nadelen die aardappelteelt met zich meebrengt en de situatie in de landbouw heeft Sustainable Forum gevraagd of onderzocht kan worden of het een haalbare kaart is om ook zetmeel te winnen. Dit is geplaatst in relatie tot het winnen van het eiwit en de cellulose.

2.2 Vraagstelling dit project

De cruciale kennisvragen die in deze haalbaarheidsstudie beantwoord moeten worden zijn:

1. Wat zijn de voorwaarden voor een gecontroleerde teelt van eendenkroos: opbrengst in zoet/brak water, mineralen behoefte, praktijkaspecten van teelt?
2. Is het mogelijk om ook in Nederland, onder Nederlandse teeltomstandigheden eendenkroos aan te zetten tot zetmeel-, c.q. turionvorming, zoals de literatuur suggereert en op labschaal is aangetoond? Liefst in meerdere cycli per jaar. Trigger bij voorkeur middels een mineralen shock ipv een koudeshock.
3. Wat zijn de gehalten aan zetmeel en eiwit in resp. turions en overige gewasdelen?
4. Wat zijn de (technische) eigenschappen en karakteristieken van dit gewas?
5. Wat is een schaalbare aanpak om turions, c.q. zetmeel te oogsten, bij voorkeur in samenhang met eiwit- en cellulosewinning?
6. Hoe ziet de business case eruit qua opbrengsten (producten, tonnen en euro's) en teelt en verwerkingskosten? Tot welk investeringsplaatje en ROI leidt dit?

2.3 Uitvoerenden

Inodia BV is gespecialiseerd op het ontwikkelen van duurzame chemisch technologische processen, o.a. in de papierindustrie. Momenteel trekt Inodia een project om ten behoeve van Waterschappen aquatische biomassa middels een mobiele verwerkingsunit aquatische biomassa uit vaarten en vijvers te oogsten en te bewerken tot cellulose voor CMC toepassingen (i.s.m. o.a. AKZO-NOBEL).

Eendenkroos als nieuw zetmeelgewas



Innostart BV is een bedrijf gericht op bio-based business development. Haar directeur, dhr. Derksen, werkt sinds 1990 aan het ontwikkelen van nieuwe toepassingen van hernieuwbare grondstoffen, aanvankelijk als directeur van de business unit Biobased Products van het toenmalige ATO (nu Wageningen UR-A&F), sinds 2005 vanuit Innostart BV en vanuit zijn rol als voorzitter van de Stichting Biobased Business. Sinds 2009 ligt de focus van Innostart op het commercialiseren van eendenkroos als nieuw aquatisch gewas in Nederland.

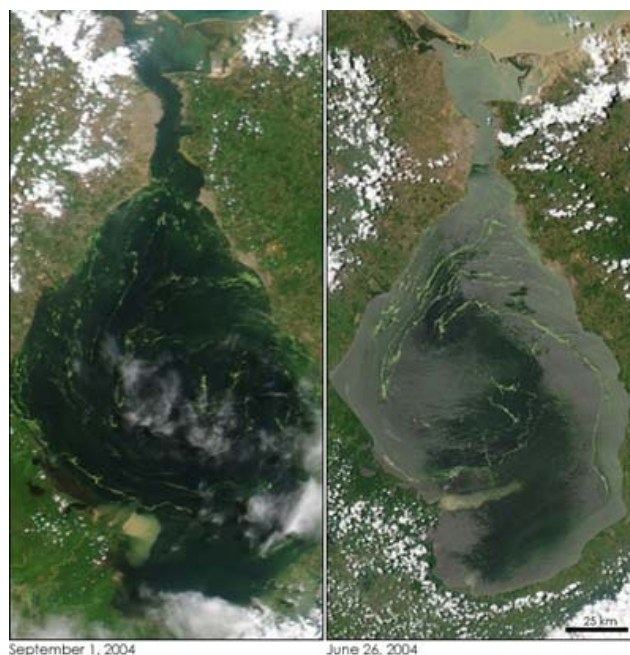
Stichting Sustainable Forum is een organisatie van ervaren ondernemers die nieuwe initiatieven op het gebied van duurzaamheid en energietransitie met raad en daad bijstaan. Binnen het Sustainable Forum is veel deskundigheid aanwezig op het gebied van duurzame technologie, business development, financiering en bestaat er een groot netwerk van en ingangen bij voor het betreffende initiatief mogelijk interessante stakeholders en overheden.



Above (L-R): Side and base view of *Spirodela polyrhiza*
Below (L-R): Top view of *Lemna* sp. and *Spirodela polyrhiza* duckweed

Ten behoeve van de beoogde exploitatie van eendenkroos en het winnen van hoogwaardige inhoudsstoffen daaruit is door Inodia BV, Innostart BV en Mesys BV het samenwerkingsverband ABC-Kroos (Aquatische Biomassa Chemie - Kroos) aangegaan. Mesys BV is een equipment manufacturer in Herwen

(Gld) die gespecialiseerd is op het ontwikkelen en bouwen van geavanceerde oogst- en scheidingsapparatuur, met name ten behoeve van de biomassaverwerkingsketen. ABC-Kroos beschikt ook over een proeflocatie in Pannerden (Gld).

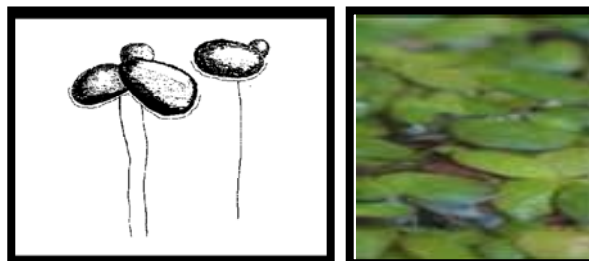


Above: NASA image of Lake Maracaibos. Duckweed (*Lemna obscura*) can be seen in large swirls across the lake surface.

3. Literatuurstudie naar eendenkroos als nieuw gewas

3.1 Samenvatting

Eendenkroos (familie Lemnaceae), ook wel kortweg kroos genoemd, zijn de kleinste plantjes (eenzaadlobbig) die nog kunnen bloeien en hebben afmetingen van 0,3 – 20 mm. De reproductie van kroos is extreem snel: het verdubbelt zijn massa in 16-48 uur bij optimale omstandigheden middels een ongeslachtelijke voortplanting. Het is een van de snelst groeiende planten.



Kroos komt over de hele wereld voor in gematigde en tropische temperatuurzones. Het groeit op open en rustig water bij temperaturen tussen de 6°C en 35°C, met een optimum bij 28°C. Het groeit eventueel ook in brak water. Het kroos neemt relatief veel stikstof, fosfor en mineralen op (reinigende werking), het is koude resistent en relatief weinig gevoelig voor ziekten en verdroging.

Kroos bevat een op soja-eiwit gelijkende eiwitsamenstelling. Van gekweekt kroos is bewezen dat ze sojaschroot kan vervangen in diervoeding. De plantjes bevatten tot 40% eiwit. In diverse landen staat kroos op het menu van dier en mens als belangrijke eiwitbron.

	% essentiële aminozuren		
	ei-wit	soja	kroos
isoleucine	6,0	4,8	3,6
leucine	8,5	8,1	6,7
lysine	6,2	6,2	4,0
methionine	3,6	1,3	0,9
phenylalanine	6,0	5,2	4,2
threonine	4,4	3,8	3,1
valine	7,0	5,0	0,9

Eendenkroos (en andere kruidachtige waterplanten) bevatten als vezels (celwand) een type cellulose met bijzondere eigenschappen volgens de beperkt beschikbare literatuur hierover. Er is daarbij sprake van specifieke soorten cellulose met hoge ketenlengtes en nauwelijks lignine (hars). Dit maakt deze cellulose geschikt voor speciale toepassingen.

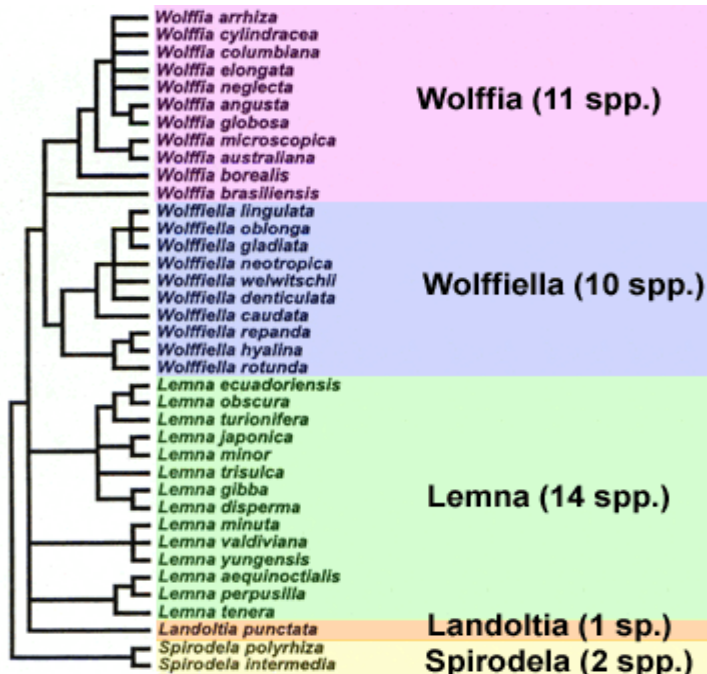
Uit de literatuur blijkt dat eendenkroos ook interessant zou kunnen zijn als bron van zetmeel: eendenkroos vormt als overwinteringstrategie knolletjes die, afhankelijk van de soort, tot 45% zetmeel kunnen bevatten (zie donkergroene bolletjes in figuur rechts; afmeting 2-4 mm). Deze zogeheten “turions” zinken als het water kouder wordt naar de bodem waarna ze in het voorjaar weer uitgroeien tot nieuw eendenkroos. Uit plantenfysiologisch onderzoek blijkt dat deze turions gevormd worden wanneer eendenkroos onder “stress” komt. Normaliter is dit gekoppeld aan het invallen van de winter, maar ook verandering in mineralensamenstelling van het water (verhouding N/P) kan leiden tot het vormen van turions.

Eendenkroos wordt in diverse landen gekweekt als voeding voor vissen (graskarpers, tilapia) en pluimvee. Daarnaast wordt het vanwege de sterke mineralenopname (vooral N en P) ook gekweekt om afvalwater uit waterzuiveringen dat nog nitraat en fosfaat bevat verder te zuiveren. In Nederland wordt eendenkroos nog niet op enige schaal gekweekt. Wel zijn er diverse projecten om uit de natuur gewonnen eendenkroos te pelletteren en als veevoer in te zetten. Het feit dat eendenkroos een hoogwaardige eiwitsamenstelling heeft (lysinerijk; overeenkomend met soja eiwit) ligt mede ten grondslag aan deze initiatieven.

3.2 Eendenkroos als gewas

Botanie

Eendenkroos is een verzamelnaam voor een familie van drijvende waterplantjes (Lemnaceae) die wordt onderverdeeld in een drietal geslachten: Lemna, Spirodela, Landoltia, Wolffia en Wolffia (zie figuur)[1]. De determinatie is vaak moeilijk omdat onderscheidende aspecten als bloei en vruchtzetting slechts zelden waargenomen worden: vermeerdering is veelal vegetatief (twee keer zo snel als andere vaatplanten). Alle soorten hebben gemeen dat ze vooral bestaan uit fotosynthetisch weefsel (bij eendenkroos vaak "fronds" of "thallus" genoemd) en weinig tot geen bladeren, niet of nauwelijks een wortelstelsel en geen stengels of ander steunweefsel hebben. Daarmee wijkt eendenkroos morfologisch sterk af van andere vaatplanten.



Turions

Hoewel eendenkroossoorten bloeiende planten zijn en ook vruchten en zaad kunnen vormen (gebeurt zelden) overwinteren de plantjes normaliter door aan het eind van het groeiseizoen, wanneer de temperatuur onder de 7 °C zakt, zetmeel aan te maken in (afhankelijk van de soort) het plantweefsel zelf (chloroplasten) of in gespecialiseerde "knolletjes" of "turions" van 1-2 mm in doorsnede (de kleine, donkergekleurde bolletjes op de foto rechts). Wanneer de winter invalt, zinken deze zetmeelrijke turions, resp. plantdelen (met een relatief hoog soortelijk gewicht) naar de bodem van de vijver en gaan in rust totdat de lente weer aanbreekt. Met het warmer worden van het water begint vervolgens het cellulair metabolisme weer op gang te komen, wordt zetmeel omgezet in suikers en drijven de kroosplantjes naar het wateroppervlak (doordat de soortelijke massa afneemt en aerenchym (luchtweefsel) gevormd wordt). De jonge plantjes groeien weer uit en vermenigvuldigen zich vegetatief (ongeslachtelijk) tot een nieuw kroosdek.



Verspreiding

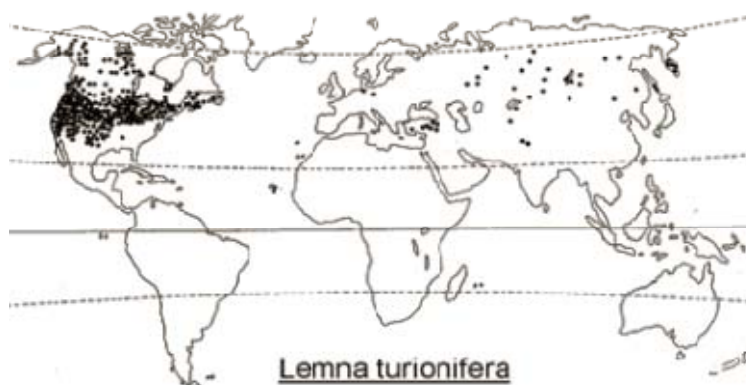
Eendenkroos soorten komen overal ter wereld voor, vooral in gematigde en subtropische gebieden.



In Nederland zijn vooral eendenkroossoorten van het geslacht *Lemna* algemeen, met name *Lemna minor* ("klein kroos"), *Lemna gibba* ("bultkroos") en *Lemna trisulca* ("puntkroos"). Daarnaast komen ook *Spirodela polyrhiza* ("veelwortelig kroos") en *Wolffia arrhiza* ("wortelloos kroos") hier voor. Gewoonlijk groeit het op niet of langzaam stromend, relatief ondiep water met veel mineralen. Naast wateren in veenweidegebieden in Noord en West Nederland treft men kroos ook in de rest van het land aan in stedelijke gebieden en lokaal op beken op zandgrond. In Limburg komt het vanwege het relatief alkalische water minder voor. In de periode mei-oktober vermenigvuldigt kroos zich zo uitbundig dat het een overlast vormt in vijvers en watergangen en het (door Waterschappen) actief verwijderd dient te worden om verstikking en atrofiering van het water te voorkomen. Hierdoor zou de biodiversiteit in deze wateren onder druk kunnen komen te staan (verspreidingskaartjes afkomstig uit [2]).

Er zijn, zoals hierboven genoemd, een (gering) aantal soorten eendenkroos die zetmeelrijke turions vormen als overlevingsstrategie voor de winter. Uit het geslacht *Lemna* is dit met name *Lemna turionifera*, welk vooral in Noord Amerika in het wild voorkomt (zie verspreidings-kaartje). Van het geslacht *Spirodela* vormt het wel in Nederland groeiende *Spirodela polyrhiza* (veelwortelig kroos) ook turions. Met name met deze laatste soort is overigens enig wetenschappelijk onderzoek gedaan naar de condities en het vóórkomen van turionvorming.

Distribution of a *Lemna* with turion production



3.3 Voorwaarden voor groei en teeltpraktijk

Uit de literatuur over eendenkroos aquacultuur [o.a. 3, 4, 5] en eigen teeltervaringen op pilotschaal [bij Innostart BV] zijn de volgende best practices voor teelt van eendenkroos gedestilleerd.

Groei

Eendenkroos groeit het best in bassins met liefst 25-50 cm waterdiepte (hoe minder water, hoe sneller het opwarmt; gunstig voor groeisnelheid). Bij veel heat stress (tijdens hittegolven of in de tropen) zouden bij voorkeur diepere bassins (tot 150 cm) gebruikt dienen te worden. Dit vanwege buffering van temperatuur en waterverdamping. Het waterniveau moet liefst constant blijven om te compenseren voor verdamping en hierdoor resulterende concentratieveranderingen van de mineralen (NPK). De meeste kroossoorten uit gematigde streken (waaronder Nederland) groeien bij watertemperaturen vanaf ca. 15 °C. Voor een optimale groei ligt de watertemperatuur bij voorkeur tussen 20 en 35 °C (voor *Spirodela*; *Lemna* mag iets lager) met een optimum van 28 °C.) Hierbij is het van belang dat de oppervlaktetemperatuur van het water beneden de 35 °C blijft om het uitdrogen van het kroosoppervlak te voorkomen (zeker bij lage luchtvochtigheid. (Desnoods sproeien met koud water.) Bij de teelt van eendenkroos is het dus ideaal als de watertemperatuur rond de 25 °C gehandhaafd kan worden met lokaal beschikbare afvalwarmte of eventueel door teelt in een kas of met plastic folie. (Een lagere watertemperatuur is overigens op zich niet erg, maar het kroos groeit dan minder snel.)

De pH van water dient bij voorkeur tussen de 6.0 en 8.0 te liggen (bij teelt te regelen door mineralen management (N & P)). Optimaal is tussen 6,5 en 7.0, omdat ammonia dan in de ammoniumvorm aanwezig is (dit is de voorkeursvorm voor stikstof voor kroos). Eendenkroos kan in principe overleven tussen pH 5 en 8.5 [6].

De bassins moeten zoveel mogelijk beschermd worden tegen wind (door wind wordt eendenkroos in een hoek gedreven, hetgeen de groei remt). Dit kan door gebruik te maken van windsingels of windschermen. Indien dit vanwege plaatselijke (ruimtelijke ordening) omstandigheden niet lukt kan ook gebruik gemaakt worden van drijvende roosters (van bamboe of plastic buizen; zie foto rechts) om het water oppervlak in vakken te verdelen. Gebruikelijk zijn vakken van 2 à 5 bij 4 à 8 meter. (Dus vakoppervlakten van 8 - 40 m²: hoe groter het totale wateroppervlakte hoe kleiner de "grid size", omdat de windsnelheid bij grotere wateroppervlakten snel groter wordt).



Het water moet zo stil mogelijk zijn: liever niet stromend. Een "Pasveersloot" zoals bij RWZI's en in algenteelt gebruikelijk is kan wel (bijvoorbeeld indien eendenkroos ingezet wordt bij afvalwaterzuivering), maar dan liefst met een zo laag mogelijke stroomsnelheid (< 0.1 m/s). In dat geval zijn dan diepere bassins nodig om (in een plug-flow systeem) het gewenste debiet te halen. Als de bassins een zandige bodem hebben moet ook gelet worden op verlies van mineralen. Beton/folie als bodembedekking is een goede optie.

Eendenkroos (liefst uit de regio zelf (uit het wild verzameld kroos is immers het best aangepast aan de lokale omstandigheden)) kan het beste in kleine bassins voorgekweekt worden tot

voldoende voorraad is om grotere bassins tot een "zaaidichtheid" van ca 500 g/m² (natgewicht) te enten (voor Spirodela; Lemna mag iets minder) [7]. In dat geval wordt een bijgroei (praktijkervaring in Bangla Desh; in Nederland zal dit lager liggen) gerealiseerd van 15 g/m²/dag, oftewel 150 kg kroos per ha per dag (drooggewicht). Als eendenkroos geënt wordt in grotere bassins is het van belang om meteen een zo dicht mogelijke mat te krijgen, omdat door de handling het vaak een week duurt voordat de kroos weer begint te groeien. Met name Spirodela is vanwege het grote aantal relatief lange wortels relatief kwetsbaar voor mechanische schade waar de plantjes eerst van moeten herstellen. Na het overbrengen van voorkweek naar bassin zweven in de praktijk ook veel losgeraakte wortels in het water. Voor Lemna (een iets robuuster plantje) speelt dit minder. De praktijk leert dat Lemna snel (binnen 1 - 2 dagen) na het overbrengen van voorkweek naar bassin begint te groeien. Een belangrijke reden om het kroosdek continu zo dicht mogelijk te houden bij de teelt is dat hierdoor, door het wegvangen van licht, de algengroei in het bassin afgeremd wordt. Dit heeft ook consequenties voor de oogststrategie (zie verder).

Conclusies:

- Voor Nederlandse omstandigheden moet nog een goede groeisituatie en teeltpraktijk ontwikkeld worden.
- Teelt onder glas is een mogelijke optie

Nutriënten

Ten aanzien van mineralenbehoefte blijkt kalium normaliter niet limiterend te zijn, fosfaat en vooral stikstof wel. In de praktijk is een commerciële NPK-meststof geschikt. Voor optimalisering van teelt (en vooral eiwitgehalte) zie hieronder en in hoofdstuk 4 van dit rapport. Stikstof kan gegeven worden als ammoniumnitraat (heeft weinig effect op de pH), of als (verdund) salpeterzuur (als pH correctie naar beneden nodig is). Een praktijkrichtlijn (bij kweekomstandigheden zoals in Bangla Desh) is een gift van 10 kg ammoniumnitraat per hectare per dag bij een productie van 1000 kg/ha/dag. Ook een combinatie van ammoniumnitraat en ureum wordt in de praktijk gebruikt. De optimale stikstof concentratie is 20 mg ammonium N/l. Boven 60 mg N/l wordt stikstof toxisch, waarschijnlijk door aanwezigheid vrij ammonia (pH afhankelijk!). Fosfor kan gegeven worden als triple super fosfaat (TSP). Dit doet de pH licht stijgen! De optimale concentratie ligt tussen 1.5 en 6 mg P/l. Fosfor is minder snel limiterend dan stikstof. Kalium kan gegeven worden als kaliumchloride. Kalium is normaliter niet limiterend als er rottend plantmateriaal op de bodem van de bassins ligt. Echter bij teelt in betonnen / folie bassins moet wellicht toch K gegeven worden, bijvoorbeeld 5 mg KCl/l]

Door ongeraffineerd zeezout te geven worden voldoende sporenelementen toegevoegd. (ca. 9 kg/ha/dag). Eendenkroos kan overigens in principe ook op brak water groeien. Het tolereert zouten tot een opgeloste droge stof gehalte van ca. 4 g/l. (Sommige soorten tot 9 kg/l).

Table 1. Daily Fertilizer Application Matrix (kg/ha)

Fertilizer	Daily production of fresh plants per hectare					
	500kg	600kg	700kg	800kg	900kg	1,000kg
Urea	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00
TSP	2.00	2.40	2.80	3.20	3.60	4.00
Muriated Potash	2.00	2.40	2.80	3.20	3.60	4.00
Crude Sea Salt	4.50	5.40	6.30	7.20	8.10	9.00

Een ruwe indicatie of het water mineralenrijk genoeg is, is de wortellengte. Deze is omgekeerd evenredig met het eiwitgehalte en de bijgroei. Bij voorkeur moet de wortellengte kleiner zijn dan 10 mm (Lemna). Bij gebruik van afvalwater als bron van mineralen dient men er overigens bedacht op te zijn dat eendenkroos selectief metalen opneemt. In ieder geval van Cd, Ni, Cr, Zn,

Sr, Co, Fe, Mn, Cu, Pb, Al en Au is vastgesteld dat deze in de kroos biomassa accumuleren (zie ook toepassing van eendenkroos bij bioremediatie).

Conclusies:

- Voor een goede groei zullen nutriënten bijgedoseerd moeten worden.
- Het gebruik van digestaat, RWZI-/afvalwater of (drijf)mest als bron voor mineralen lijkt goed mogelijk en zou een oplossing kunnen zijn voor mineralenoverschotten in andere waardeketens.

Oogst

Oogsten kan middels "afromen" ("skimming") of zeven. Energieverslindende en dure afscheiding van de biomassa met bijvoorbeeld (continu-)centrifuges zoals bij algenteelt is vanwege de grootte van de plantjes niet nodig. Van het eendenkroos dek moet liefst niet meer dan ca. 50% tegelijk geoogst worden. Liever nog minder (20-25%). (Optimaal is 100 g/m²/dag). De reden hiervoor is dat anders door lichtinstraling in het water algenproductie op gang komt. De oogstfrequentie hangt uiteraard af van de aangroeisnelheid (afhankelijk van temperatuur, lichtinstraling en mineralen-rijkdom). In de praktijk werkt het goed om eens per 2 - 5 dagen te oogsten. Ook een volcontinu "afroom"-systeem zou hiervoor ontworpen worden, welke permanent een (instelbaar) deel van de bijgroei wegvangt [bestaat nog niet; concept in ontwikkeling bij ABC-Kroos]. Met andere woorden: het verdient aanbeveling een zo dicht mogelijk kroosdek te handhaven waarbij alleen de bijgroei geoogst wordt. Dit beperkt waterverdamping en algengroei. Bovendien beperkt dit het zuurstofgehalte in het water, waardoor nitrificerende bacteriën geremd worden. Hierdoor verschuift de stikstofbalans ook van nitraat naar ammonium, hetgeen de voorkeur geniet van kroos, en wordt hierdoor het water bovendien een tikkeltje aan de zure kant gehouden (wenselijk voor een goede groei).



Geoogst materiaal moet koel en vochtig gehouden worden (max. enkele dagen). Als het warm is kan het binnen enkele uren beginnen te fermenteren. Drogen aan de zon is een alternatief. Echter, zondrogen verlaagt het beta-caroteen gehalte (50% verlies in twee dagen in de zon [20]) en ook de voedingswaarde iets, hetgeen voor veevoedingstoepassingen (vooral voor pluimvee) nadelig kan zijn.

Bij ABC-Kroos wordt momenteel onderzocht of silage (inkuiling) bruikbaar is als methode om eendenkroos tot het moment van processing te conserveren. Hierdoor zou een microbiologische voorbehandeling van de eendenkroos biomassa gecombineerd kunnen worden met het vermijden van campagne verwerking. Voor sommige producten kan de microbiologische voorbewerking technische voordelen opleveren, terwijl de conservering een positief effect heeft op de economie van de business case.



Conclusies:

- Een afroomsysteem lijkt het handigst. Er is ervaring met mechanische zeefsystemen in agroketens (bij Mesys BV).
- Alternatief is automatische oogst, gebaseerd op een aangepast (door zonneenergie aangedreven) krooswiel, zoals ontwikkeld door de fa. BOM Aqua BV (zie foto).
- Voor tijdelijke opslag van vers kroos is het nodig een silagesysteem of andere conserveringsmethode verder uit te werken.

Opbrengst en samenstelling

Opbrengst

De opbrengst van eendenkroos varieert sterk met de groeicondities. Van ca. 10 ton droge stof per hectare per jaar bij in het wild groeiend kroos in onze streken tot ca. 38 ton droge stof per hectare per jaar onder optimale condities in praktijkteelt in Bangla Desh (Mirzapur [8]). Zich baserend op op diverse bronnen geeft [3] het onderstaande overzicht van opbrengsten. NB: Opgemerkt dient te worden dat de 182.5 ton ds/ha/jr in dit overzicht de auteurs van dit rapport [HD, LZ] wel erg optimistisch lijkt en mogelijk op een foute berekening zou kunnen berusten? In de meeste studies wordt een plafond van 40 ton ds/ha/jr aangegeven.

	Ruw eiwit g/kg ds	Ruw eiwit %	Opbrengst ton ds/ha/jr	Eiwitproductie ton/ha/jr
Kroos-pilot*	218	22		
Kroos-literatuur [Bron I]	486	49	bijna optimale omstandigheden: wereldwijd: 20-182,5	9,8-89
			suboptimale omstandigheden: wereldwijd: 5-27	2,5-13
Kroos [Bron R]		>40%	10-30**	
Sojaschroot	353-370	35-37%		

Het vochtgehalte van eendenkroos is met 92 - 95 % aanmerkelijk hoger dan dat van landplanten [20]. De hoofdcomponenten van eendenkroos droge stof worden hieronder besproken.

Vezel en cellulose

Eendenkroos bevat relatief weinig vezel (van ca. 5% in gekweekte plantjes tot 15% in wilde planten) omdat ze vanwege hun groeiwijze geen steunweefsel nodig hebben. Daardoor is vrijwel al het weefsel metabool actief en nuttig als voeder/voedselgewas. Dit contrasteert gunstig met landgebonden gewassen als soja, mais, of rijst, van welke het grootste deel van de biomassa onbenut achterblijft nadat de nuttige plantendelen (zaden, vruchten, etc.) zijn geoogst [8]. Opmerkelijk is dat vezels en eiwitgehaltes omgekeerd gecorreleerd zijn, afhankelijk van de groei omstandigheden: bij mineralenrijk water stijgt het eiwitgehalte en daalt het vezelgehalte terwijl onder arme groeicondities het eiwitgehalte daalt en het vezelgehalte (maar tot op zekere hoogte ook het zetmeelgehalte) stijgt.

Amino acid composition of duckweed protein concentrate

	Lemna gibba	Spirodella polyrhiza	Spirodella punctata	Wolffia columbiana
	g/100 g of crude protein			
Alanine	4,59	4,48	4,79	3,75
Arginine	4,29	5,25	4,86	3,78
Aspartic	7,12	7,55	7,38	5,63
Glutamic	7,60	8,00	7,60	5,76
Glycine	3,79	3,95	3,93	3,04
Histidine	1,89	2,15	1,90	1,18
Isoleucine	3,87	3,75	3,76	3,06
Leucine	7,15	6,85	6,88	5,83
Lysine	4,13	4,30	4,26	3,37
Methionine	0,83	0,83	1,07	0,87
Phenylalanine	4,45	4,20	4,38	3,60
Proline	2,93	3,28	2,95	2,41
Serine	2,61	2,80	2,83	2,28
Threonine	3,20	3,45	3,31	2,55
Tyrosine	2,91	3,05	3,14	2,17
Valine	4,96	4,40	4,71	3,49
True protein	66,32	68,29	67,75	52,77

Any tryptophan present would be destroyed by the acid hydrolysis.

Eiwit

Er is veel onderzoek gedaan naar de eiwitsamenstelling van eendenkroos, met name met het oog op toepassing in vee- en visvoer. Afhankelijk van de soort, herkomst en kweek omstandigheden worden eiwitgehaltenes van 20 - 45% gerapporteerd [3, 9].

De aminozuursamenstelling lijkt erg op sojaeiwit met hogere concentraties van de essentiële aminozuren lysine en methionine dan de meeste plantaardige eiwitten (zie tabel voor samenstelling *Lemna minor*) [9, 10].

Qua opbrengst is het nuttig te melden dat de productiviteit van eendenkrooseiwit per hectare bijna een factor 10 hoger ligt dan dat van sojaeiwit [4].

<i>Plant/Crop</i>	<i>Yield (t dry wt/ha·y)</i>	<i>Crude Protein (% dry wt)</i>	<i>Relative protein production*</i>
Duckweed	17.6	37	100
Soybean	1.59	41.7	10.2
Alfalfa hay	4.37-15.69	15.9-17	11.4-38.3
Peanuts	1.6-3.12	23.6	5.7-11.3
Cottonseed	0.76	24.9	2.9

*Relative protein production: duckweed set at 100 units = 6.51 t dry wt/ha·y

Zetmeel

Normaliter is de hoeveelheid zetmeel in eendenkroos beperkt. Pas tegen het eind van het groeiseizoen wordt zetmeel als reservevoedsel geaccumuleerd (tot wel 75% d.s. [11]). Er is in de literatuur weinig informatie beschikbaar over de karakteristieken van dit zetmeel. Indicatief is een studie van Pankey et al., die gekeken hebben naar zetmeel in *Spirodela polyrhiza* en vaststelden dat de zetmeelkorrels in de chloroplasten een doorsnede hebben van 3.85 µm (range 1 - 8 µm) met een amylose gehalte van 21% en een gelatinisatie temperatuur van 94-98 °C [12].

Olie

Er zijn geen oliehoudende eendenkroossoorten bekend. De ca. 2 - 5 % lipiden in kroos zijn grotendeels aanwezig in de vorm van celmembraanlipiden (fosfolipiden).

Overige inhoudsstoffen

Naast mineralen accumuleert eendenkroos ook sporenelementen en bevat het hoge concentraties pigmenten, zoals b-caroteen en xanthophyl. Het totaal aan carotenoïden lijkt ca 10 x hoger te liggen dan dat van landgebonden planten terwijl ook de xanthophyl concentratie met 1000 ppm hoog ligt [20] Dit maakt eendenkroos in het bijzonder geschikt voor pluimvee voeding, vanwege de relatief hoge kosten van het pigment supplement in pluimvee voeding.

Conclusies

- In kweeksituaties moet 20 ton/ha/jr haalbaar zijn onder Nederlandse klimatologische omstandigheden.
- Wanneer gebruik gemaakt wordt van afvalwarmte en het kweekwater op de optimale temperatuur van ca. 28 °C gehouden kan worden kan de opbrengst waarschijnlijk verhoogd worden.
- Ook in kasbouw is een kroosopbrengst van waarschijnlijk maximaal ca. 40 ton/ha/jr haalbaar.
- Het eiwitgehalte bij optimale teelt ligt rond de 37%. Mogelijk iets hoger bij extra stikstof gift.

Turioninductie

Zoals hierboven al genoemd, produceren enkele eendenkroossoorten als overwinteringstrategie kleine, zetmeelrijke (>40% d.w.) korreltjes ("turions") als reactie op invallende kou in de herfst.



Deze turions laten los van de fronds en zakken door de hogere soortelijke dichtheid en de afwezigheid van luchtblaasjes (aerenchym) naar de bodem van de vijver of sloot. Tijdens de overwintering en aan het begin van het nieuwe groeiseizoen wordt het zetmeel als reservekoolstofbron gebruikt. Indien zetmeel accumulatie en turionvorming kunstmatig geïnduceerd kan worden (lieft meerdere keren per jaar) en deze plantdelen oogstbaar zijn, kunnen deze turions mogelijk interessant zijn als nieuwe bron van industrieel zetmeel. De normale inductie door koude behandeling is helaas voor de winning van zetmeel uit

eendenkroos niet praktisch. In de literatuur is echter beschreven dat ook andere stressoren tot de inductie van turions kan leiden [13, 14]. Aangevoerd is dat plantenhormonen als abscisinezuur [13] en ook mineralengebrek de kroosplantjes aanzet hun overlevingsstrategie te starten [14]. Met name manipulatie van de mineralenhuishouding van het kweekwater biedt in principe aanknopingspunten voor turioninductie, hetzij door de instroom van mineralen in het kweekbassin te veranderen, hetzij door de plantjes over te brengen naar andere bassins met de voor turioninductie gewenste mineralen samenstelling.

Results: Specific Turion Yield

- Either low phosphate or low temperature stimulates high turion yield

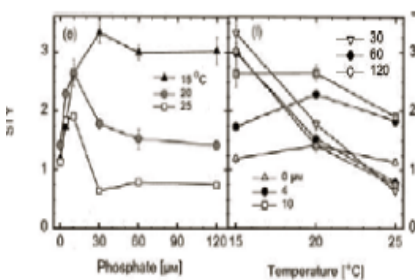


Figure 1. Influence of initial phosphate concentration and temperature on different yield parameters of *Spirodela polyrrhiza* under autotrophic conditions. (a, b), Frond number per flask; (c, d), turion number per flask; (e, f), turion number divided by frond number. After pre-cultivation (see Materials and methods) plants were kept in continuous white light and number of fronds and turions were evaluated 28 d after transfer to the conditions indicated. Both mature and immature turions were considered.

Results: Time Until Turion Production

- Turions formed earlier at low phosphate and at low temperature
- 1-4 day difference

Turion induction in *Spirodela polyrrhiza* 1003

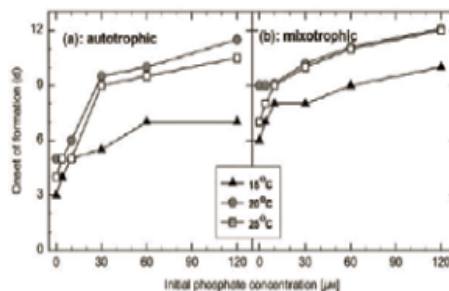


Figure 2. Influence of initial phosphate concentration on the onset of turion formation in *Spirodela polyrrhiza*. Turions were counted in immatures when still connected with the mother plants. No errors were given because parallel samples formed first visible turions normally on the same day.

Tijdens onderzoek naar turionvorming is op laboratoriumschaal aangetoond dat met name een laag fosfaat gehalte van het kweekmedium turionvorming induceert in *Spirodela polyrrhiza* [14, 15, 16, 17]. Hiertoe dient de fosfaat concentratie beneden de 60 µM te dalen [16, 17]. Hoewel een synergistisch effect met verlaagde omgevingstemperatuur (bij voorkeur < 20 °C) wordt waargenomen is een lagere temperatuur minder kritisch dan een verlaagd fosfaatgehalte. Indien, zoals in de natuurlijke leefomstandigheden bij mineralenrijk water, het fosfaatgehalte relatief hoog blijft, zal de temperatuur de rol van kritische omgevingsvariabele overnemen [figuren afkomstig uit 16]. Turion vorming komt op gang na ca. 6 dagen bij verlaagd fosfaatconcentratie [16]. In de praktijk blijkt eendenkroos zeer effectief te zijn in het accumuleren van fosfaat en nog lang nadat fosfaat uit het groeimedum verdwenen is op de eigen voorraad te kunnen teren [5]. Dit kan een

probleem geven bij het snel wisselen van het medium wanneer men meerdere keren turionvorming per jaar zou nastreven. Overigens geeft Jungnickel aan dat tijdens de inductie van turions de aanwas van biomassa halveert ten opzichte van groei in het controle medium [17].

Fujita et al. bestudeerden de productie van turions en zetmeel in *Wolffia arrhiza* kroos. Zij vonden de beste resultaten bij lage mineralenconcentraties in het water en hoge plantdichtheid. Zij rapporteren de vorming van turions met 40% zetmeel in een productie snelheid van 6 g zetmeel/m²/d [18].

Interessant is dat Reid & Bielecki hebben aangetoond dat in *Spirodela oligorhiza* onder invloed van fosfaattekort zetmeel vooral accumuleert in de chloroplasten van de *Spirodela* fronds in plaats van in turions. Zij namen waar dat bij laag fosfaat de groei afnam en stopte na 25 dagen, de fronds geel werden en de wortels langer werden. Na drie weken bij laag fosfaat vonden zij 25% zetmeel in de plant biomassa (op basis van drooggewicht). In aanwezigheid van glucose (1%) nam het zetmeelgehalte toe tot 75%! Voor commerciële benutting van dit effect ten behoeve van zetmeelproductie is wel nadelig dat bleek dat tegelijkertijd het eiwitgehalte in het plantweefsel sterk verminderde. (Waarschijnlijk door de afbraak van bij de fotosynthese betrokken enzymen (met name Rubisco) HD). [11]. Of en in hoeverre deze zetmeelaccumulatie ook in chloroplasten van *Spirodela polyrhiza* plaatsvindt is niet bekend.

Conclusies:

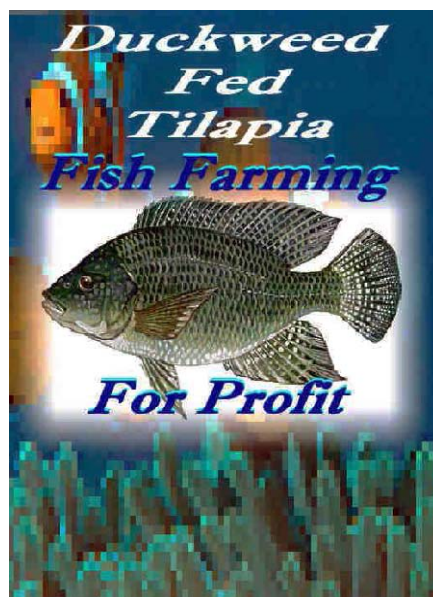
- Voor turionvorming is het nodig dat de kroosplantjes door lage temperatuur of arm medium zodanig gestressed worden dat ze in een "overlevingsmodus" gaan.
- Ook in de fronds ("blaadjes") kan zetmeel ontstaan, wat er in kan resulteren dat deze naar de bodem zinken totdat zich betere groeiomstandigheden aandienen.
- Zetmeelbevattende fronds zouden wellicht gebruikt kunnen worden als bron van zowel eiwit als zetmeel, waarbij het nodig is het kroos te oogsten voordat het naar de bodem zinkt.
- Zetmeelproductie gaat ten koste van biomassagroei en eiwitgehalte.

3.3 Enkele toepassingen van eendenkroosteelt

Eendenkroos is een snelgroeiend gewas dat in deze tijd van meer en betere benutting van biomassa ingezet kan worden in verschillende toepassingen en waardeketens, waarbij de interesse uit kan gaan naar de winning van energie, naar ingrediënten voor diervoeder of menselijke voeding of naar chemische grondstoffen. Het InnovatieNetwerk van het Ministerie van Landbouw heeft in 2009 enkele mogelijke waardeketens beschreven [3]. Hieronder wordt ingegaan op enkele interessante benuttingen waar wereldwijd op praktijkschaal al ervaring mee is opgebouwd. Voor een goed overzicht van eendenkroostoepassingen zie ook [2].

Visteelt

Voorals in Zuidoost Azië is veel ervaring met het kweken van eendenkroos ten behoeve van en in combinatie met visteelt. Vooral herbivore zoetwatersoorten als (gras-)karpers en tilapia lijken het erg goed te doen op kroos. Bij een combinatie van eendenkroos- en karperteelt in Mirzapur (Bangladesh; project van de Wereld Bank) wordt eendenkroos als enige voedselbron ingezet in een vispolycultuur (verschillende vissoorten in een vijver: "topfeeders", "middle feeders" en "bottom feeders"). De duurzaam haalbare productiviteit in Mirzapur ligt op 10-15 ton vis/ha/jr bij een "stocking density" van 30.000 vissen per ha en een regelmatig vangen van de grootste (75-100



percentiel) vissen. De praktijkervaring daar geeft ook aan dat ca. 10-12 kg vers kroos wordt omgezet in ca. 1 kg vis [8, 19] [NB: dit zou, terugrekenend naar droge stof, betekenen dat 0.5 kg droog eendenkroos omgezet wordt in 0.25 kg droge vis oftewel een rendement van 50%].

Op dezelfde locatie in Mirzapur is ook ervaring opgedaan met *Tilapia monocultuur* teelt. Met name de Nijltilapia (*Oreochromis niloticus*) bleek bij uitstek geschikt voor eendenkroos-gebaseerde visteelt. Deze soort bleek extreem flexibel in voedingsgewoonte en lustte allerlei soorten *Lemna* en *Wolffia* kroos. Ook de morfologie van deze vis (maalplaten in de slokdarm, een zeer zure maaginhoud en een lange darm) maakt deze soort zeer geschikt om gevoed te worden met kroos als enige eiwitbron. In een demonstratieproject is in een 0.6 ha kweekvijver een productie



Photograph 23: Groundwater/chemical fertiliser-based duckweed cultivation of PRISM Bangladesh at Mirzapur demo farm complex. Duckweed ponds with floating bamboo grids and co-crops on the embankments in the foreground, and main fish production pond in the background.

gerealiseerd van 4.5 ton tilapia in één jaar. Men gaat er van uit dat een gemiddelde productie van 10 ton/ha/jr aan Tilapia haalbaar moet zijn [8].

Ook in Afrika (Niger) is ervaring opgedaan met het kweken van eendenkroos als eiwitbron voor Tilapia visteelt. Het concept daar was dat kroos apart van de vis werd gekweekt in met mineralenrijk afvalwater gevulde vijvers die drie keer per week geoogst werden, waarna het kroos overgebracht werd in een Tilapia kweekvijver. Onder de geteste omstandigheden werd een kroosproductiviteit gemeten van 25 ton/ha/maand (versgewicht) en een

daaruit resulterende Tilapia opbrengst van 475 kg vis/ha/maand. De praktijkervaring was dat per kg vis ca. 0.5 kg vers kroosvoeding per dag nodig was, welke de vissen binnen enkele uren opgegeten hadden [20]. [Zie ook <http://www.youtube.com/watch?v=ZltwrntZuIl&feature=related>]



Photograph 21: Harvesting of various carp species fed exclusively on duckweed. The vigorously jumping fish indicate healthy fish and good pond water quality. (Photograph: PRISM).

Diervoeding

Op diverse plekken ter wereld wordt al dan niet gedroogd eendenkroos gebruikt als ingrediënt in veevoeding, zowel voor varkens en herkauwers als voor pluimvee [4, 5].

Voor pluimvee is vastgesteld dat Lemna tot ca 25% in de voeding bijgemengd kan worden. De eierproductie is dan gelijk aan die bij het (sojarijke) controle dieet terwijl het voedingsomzettingsrendement iets beter is en de kippen ook meer in gewicht toenemen dan bij het controle dieet. Toename van de bijmenging tot 40%, waardoor alle soja en vismeel vervangen werd door Lemna, had niet direct effect op de eierproductie, maar wel op het gewicht van de kippen (zie tabel). De smaak van de eieren leek in die studie verbeterd te zijn, terwijl ook de kleur van de dooier dieper was [5]. Ook eenden lijken eendenkroos te waarderen (uiteraard?) en kunnen

in commerciële eendenfarms gevoed worden met een toevoeging van maximaal 45% kroos op eiwitbasis [5, 19].

	Diet		
	Control	Lemna	Lemna
		(25%)	40%) **
Egg Production (eggs/week)	5.9	5.9	5.5
Feed consumed (g/d)	131	131	125
Feed conversion efficiency (g/g)*	2.4	2.5	2.5
Liveweight change (g/18 weeks)	46	114	-118



Door Wageningen UR (Lelystad) is in de periode 2007 - 2009 in een consortium met Maatschap De Vor uitgebreid onderzoek gedaan naar de mogelijkheid eendenkroos toe te voegen aan mengvoer voor herkauwers. Aangetoond werd dat kroos in verschillende hoeveelheden (tot zelfs 96% (+ 4% melasse als bindmiddel)) als grondstof voor krachtvoerbrokken gebruikt kon worden. In deze studie had het kroos een eiwitgehalte van 27%, vergelijkbaar met bierbostel, een andere veevoedingsgrondstof. Schadelijke ziektekiemen, zware metalen of andere schadelijke stoffen in een mate die riskant is voor de (volks) gezondheid werden niet



aangetroffen.

Omdat het kroos "in het wild" werd geoogst werd in de conclusies van deze studie wel aangegeven dat een risicoanalyse uit moest wijzen of, hoe, waar en wanneer kroos geoogst zou mogen worden (of als alternatief zou teelt onder geconditioneerde omstandigheden beter zijn). Ook bleek er in de praktijk behoefte aan een methode om kroos na oogst te stabiliseren [21].

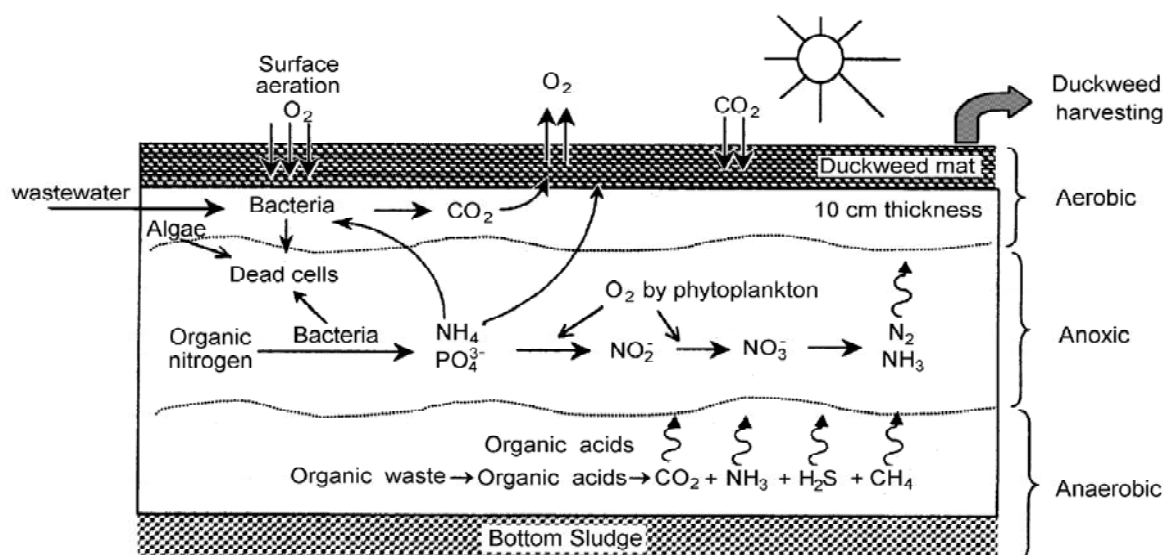


Waterzuivering / bioremediatie

Door de hoge opnamecapaciteit van eendenkroos voor fosfaat, stikstof en metalen is het reinigen van afvalwater met kroosvijvers op diverse plaatsen ter wereld onderzocht (USA, Australië, Oost Azië). Bij aquacultuur van eendenkroos in Oost Aziatische landen wordt bij eendenkroos als voer voor visteelt of veevoer afvalwater met daarin ook menselijke fecaliën gebruikt als bron van mineralen [8, 22, 23, 24]. Deze praktijk is in Europa niet toegestaan, mede vanwege het vermijden van de verspreiding van menselijke en dierlijke pathogenen. Teelt van kroos puur ten behoeve van het (na-) reinigen van afvalwater bij rioolwaterzuiveringsinstallaties of industriële afvalwaterstromen is een andere kwestie en wordt ook in de USA volop toegepast tot op een schaal van 38.000 m³ afvalwater / dag [20]. Van belang hierbij is een voldoende lage lineaire stroomsnelheid te handhaven in een "plug-flow" systeem in Pasveersloten (zie foto) en tegelijkertijd ook betonnen of kunststof bassins te gebruiken om lekkage van afvalwater naar de ondergrond te vermijden. Als laatste stap in het "polishen" van afvalwater nageschakeld na een RWZI is eendenkroos bij uitstek geschikt. Als het NPK gehalte van het water laag is ontwikkelen eendenkroosplantjes lange wortels en grotere, soms wat verkleurde fronds en daalt het eiwitgehalte tot beneden de 20%. De kroosplantjes gaan dan enorme hoeveelheden water verwerken in hun zoektocht naar mineralen en absorberen zowat alles wat in een RWZI niet verwijderd wordt, dus ook zware metalen [8].



Photograph 2: Duckweed-covered serpentine plug-flow lagoon in the USA for tertiary treatment of effluent from three facultative lagoons followed by a wetland buffer. Design flow is reported at 19,000 m³/d, with peak flows reaching 38,000 m³/d. (Photograph: Lemna Corp. 1994).



Biological Processes in Duckweed-Based Wastewater treatment

<http://www.mobot.org/jwcross/duckweed/graphics/Dwwt.gif> [18-6-2010 11:26:51]



In de Verenigde Staten heeft bijvoorbeeld de Lemna corporation uit Minneapolis [www.lemnacorp.com] langjarige ervaring (sinds 1983) met het opzetten van eendenkroos-gebaseerde afvalwaterzuivering en polishing installaties voor RWZI's, al dan niet gekoppeld met biogas productie. Ook het Australische bedrijf BTWM (Bio-tech Waste Management) biedt complete oplossingen op dit gebied.

De benutting van de op basis van te reinigen afvalwater geproduceerde biomassa voor voedingstoepassingen kan, zoals gezegd, een probleem zijn qua toelaatbaarheid en regelgeving. Van belang is of en in hoeverre er ongewenste componenten (zware metalen of andere giftige bestanddelen in het voedingswater zitten en of deze in het kroos accumuleren. Dit is een reden dat voor de toepassing van kroos aldus gekweekt in de studie van het innovatienetwerk er van uitgegaan wordt dat deze dient als grondstof voor het produceren van bio-energie (bijvoorbeeld door co-vergisting tot biomethaan). In deze studie wordt gerekend met een productie van 176 m³ biogas per ton Lemna en een vergistingstijd van 42 dagen [3]. Dit is een goede, zij het niet zo hoogwaardige optie. Ook de benutting van het digestaat als meststof kan een probleem zijn als het kroos bijvoorbeeld verrijkt is met zware metalen door de keuze van het te zuiveren afvalwater. Een alternatieve optie kan zijn deze biomassa in te zetten voor het winnen van chemicaliën, zoals het ABC-kroos consortium dat voor staat [25]. Ook dan is er geen probleem met het in de voedselketen belanden van ongewenste stoffen.

Humane voeding

Eendenkroos wordt als gehele plantjes al sinds jaar en dag in Aziatische landen gebruikt voor humane voeding in gerechten als salades (vergelijkbaar met tuinkers of alfalfa). Met name in Thailand, Laos en Myanmar is de soort *Wolffia arrhiza* populair vanwege het lage gehalte aan het bittere Ca-oxalaat [4].

Ook in Israel is uitgebreid gekeken naar de aquacultuur en eetbaarheid van diverse soorten kroos. Een voor humane voedingstoepassingen geschikt aquacultuur systeem is gepatenteerd en onderzoek is gedaan naar geschikte (smakelijke) soorten kroos [26]. Door deze auteurs werd de voorkeur gegeven aan Lemna gibba: deze soort werd door het testpanel "lekker knapperig" gevonden vanwege het in deze soort volop aanwezige aerenchym (luchtweefsel). Ook bevat deze soort in tegenstelling tot sommige andere eendenkroos soorten weinig oxaalzuur, hetgeen een bittere smaak kan opleveren. Overigens bevat dit patent ook diverse recepten voor eendenkroos (Lemna gibba), van kaastaart tot loempia en stampot. In geen enkele beschikbare studie zijn overigens aanwijzingen gevonden dat eendenkroos toxische componenten of antinutritionele factoren bevat.

In Nederland is in 2000 door een Limburgse ondernemer (dhr. Van Soest van de firma Majavito uit Baarlo) onder de merknaam "Levita" eendenkroos als groente op de markt gebracht (zie bijgaand

krantenbericht uit het Algemeen Dagblad van 12 mei 2000). Hij is echter in 2001 door mevr. Borst (toenmalig minister van Volksgezondheid) teruggefloten en de zakjes kroos zijn door de Keuringsdienst van Waren in beslag genomen. Borst stelde dat eerst de Gezondheidsraad hiernaar zou moeten kijken. Wegens gebrek aan middelen van de ondernemer voor juridische ondersteuning en eventueel noodzakelijk laboratorium-/voedselveiligheidsonderzoek is hier voor zover bekend geen vervolg meer aan gegeven [27].



Toepassing van geïsoleerde eendenkroos ingrediënten, zoals zetmeel of eiwit, in humane voedingstoepassingen, c.q. voor samengestelde producten, zijn nog nergens beschreven, ook niet in de octrooiliteratuur.

Bioethanol

Het bedrijf Aquatic Biofuels in de Verenigde Staten richt zich op de productie van bioethanol uit eendenkroos [www.aquaticbiofuel.com]. Het bedrijf claimt uit te gaan van *Spirodela polyrhiza*, dat in hun handen naar verluidt 46% zetmeel bevat wanneer dit anaeroob geteelt wordt. Niet vermeld wordt hoe dit bewerkstelligd wordt, aangezien het metabool zeer actieve kroos zelf volop zuurstof produceert. Een eerste 380 acre terrein even ten westen van New Orleans moet de eerste installatie gaan herbergen met een capaciteit van 14 m³ ethanol per dag. Ter plekke wordt ook het residu van de fermentatie (high protein distillers byproduct) gemengd worden met rijstvliesen afkomstig van een naburige rijstverwerkingsfabriek om veevoedingspellets te maken als nevenproduct (14 kton per jaar) [www.louisianabiofuels.com].

Ook op de universiteit van North Carolina loopt een onderzoeksproject om ethanol te maken uit eendenkroos dat groeit op drijfmest als mineralenbron [28]. Deze universiteit claimt 15 ton eendenkroos per hectare te kunnen telen met tot 25% zetmeel en dit te kunnen omzetten naar 2^e generatie bioethanol. Door dezelfde groep is gemeld dat, door gebruik te maken van een temperatuurschok van 25 °C naar 5 °C, het kroos binnen 4 dagen zetmeel accumuleerde tot een gehalte van 59.3 % d.w. [28]. Sinds de start van dit project in april 2009 is geen nieuwe informatie verschenen over het al dan niet daadwerkelijk geproduceerd hebben van ethanol uit kroos.

Farmaceutica

Een "high tech" toepassing van eendenkroos heeft de firma Biolex in Pittsboro NC (USA) ontwikkeld. Deze spin-off van North Carolina State University gebruikt *Lemna gibba* en *Lemna minor* als recombinant eiwitplatforms voor de productie van farmaceutisch interessante eiwitten zoals insuline [www.biolex.com]. Ook in de octrooiliteratuur zijn veel patenten te vinden die te maken hebben met genetische transformatie van eendenkroos soorten ten behoeve van farmaceutische producties, c.q. de expressie van biologisch actieve polypeptiden.

Conclusies

- *De meest verbreide toepassing van eendenkroos is in vis- en veevoer.*
- *Ook op het gebied van afvalwaterzuivering en bioremediatie wordt eendenkroos op diverse plekken ter wereld al op praktijkschaal ingezet.*
- *Toepassing van eendenkroos in humane voeding is, getuige de praktijk in bijvoorbeeld Zuidoost Azië, goed mogelijk maar stuit in Europa op belemmeringen t.a.v. regelgeving en toelating.*
- *Benutting van eendenkroosinhaltsstoffen als eiwit, cellulose of zetmeel vindt nog nergens plaats.*

3.4 Lopende initiatieven in Nederland

Maatschap de Vor

Melkveehouder Rick de Vor uit Snelrewaard onderzoekt sinds 2007 in samenwerking met Wageningen UR en Waterschap Vallei en Eem de haalbaarheid van eendenkroos voor veevoedingstoepassingen. Kroos wordt uit natuurlijke vaarten geschept, gedroogd en toegevoegd aan mengvoeder. Inmiddels zijn door dit consortium diverse analyses op het kroos verricht (zie tabel). De eiwitsamenstelling van eendenkroos eiwit komt overeen met die van soja eiwit terwijl men in herkauwers een verteerbaarheid van het ruwe kroos vindt van ca. 80%. Men is optimistisch over de haalbaarheid van deze keten [29].

Voederwaarde van eendenkroos

Algemeen:

Droge stof oogst 10-30 ton droge stof/ha per jaar
Droge stofgehalte 5-10%
Ruw eiwit 15-45%
In vitro verteerbaarheid organische stof 65-70%
Verteerbaarheid eiwit 80%
Kroos bevat een aantrekkelijk aminozurenprofiel

Behaalde resultaten: (Samenvatting)

	Snelrewaard Buitengebied	Bunschoten stedelijk gebied
Ruw eiwit	268	211
Ruw vet	28.9	17.9
Ruwe celstof	105	127
Ras	173	234
Droge stof	886	919
Vern	729	826
Dve	118	90
Oeb	85	55
Calcium	15.2	23.3
Fosfor	8.4	6.2



De technieken om eendenkroos uit de sloten te scheppen zijn nog beperkt.

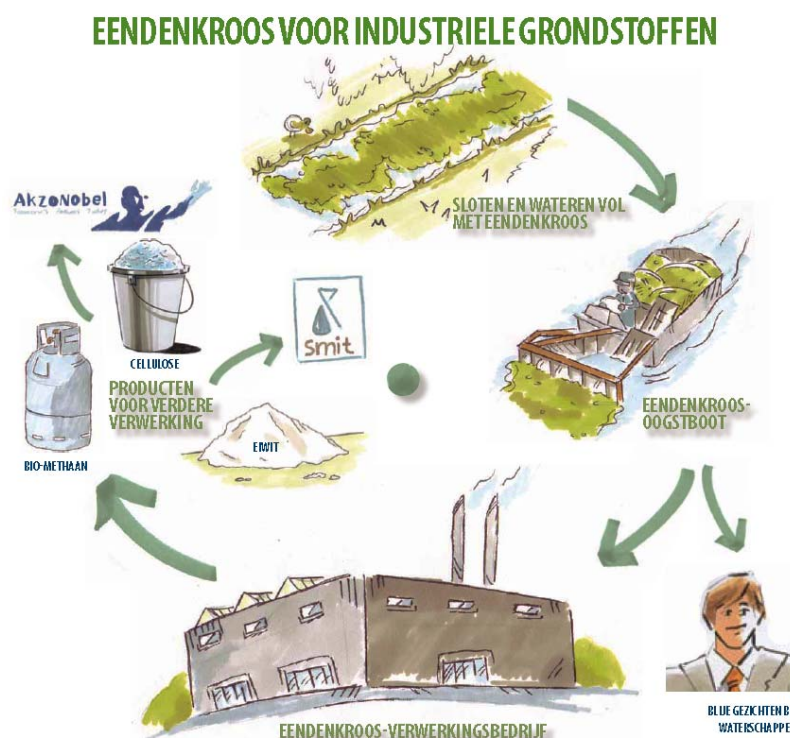
Groot Zevert

In de Gelderse Achterhoek werkt het consortium EDV (Eendenkroos Digestaat Veevoer), bestaande uit Groot Zevert Mestvergisting, Thecogas en CCAdvies sinds 2009 aan het benutten van digestaat uit lokale mestvergistingsinstallaties als mineralenbron voor de teelt van eendenkroos. Dit kroos wordt vervolgens gedroogd en door ForFarmers tot veevoer verwerkt [30]. Hoe het gebruik van digestaat als restproduct van mest (co-)vergisting als mineralenbron (een "afvalstroom") qua Nederlandse regelgeving uitpakt voor de toelaatbaarheid van eendenkroos als veevoedingsgrondstof is nog niet zeker, maar is wel een interessante test case.



ABC-Kroos

Het consortium ABC-Kroos (Aquatische Biomassa Chemie - Kroos), een samenwerkingsverband van de ondernemingen Inodia, Innostart en Mesys, onderzoekt sinds 2009 de haalbaarheid van het verwerken van "in het wild" (in natuurlijke watergangen), groeiend kroos tot grondstoffen voor industriële, niet-voedsel toepassingen. Volgens dit concept wordt kroos geoogst door Waterschappen. Dit wordt vanwege eutrofiëringsproblematiek al verwijderd en tegen hoge kosten afgevoerd naar composteerders of het blijft op de oever liggen tot het verrot. Door het consortium is hiervoor een oogstmachine ontworpen die tegelijkertijd een zuiverings- en compacteringsstap uitvoert. Uit het gecompacteerd kroos wordt cellulose gewonnen als grondstof voor CMC (Carboxymethylcellulose; i.s.m. AKZO-NOBEL), technisch eiwit en een reststroom voor co-vergisting ten behoeve van methaanproductie. Ook de omzetting van kroos tot melkzuur ten behoeve van de productie van bioplastic (polymelkzuur) behoort tot de mogelijkheden. In 2011 worden hier de eerste praktijkresultaten van verwacht [25].



Daarnaast onderzoekt ABC-Kroos momenteel de haalbaarheid van verwerking van eendenkroos tot zetmeel en eiwit (ten dele deze studie) als component voor samengestelde (vee-/vis-) voedingsproducten en ter vervanging van sojaeiwit in technische toepassingen (lijmen, coatings, bindmiddelen, etc.) [www.abc-kroos.nl]. Afhankelijk van de toepassing kan dit op basis van (zelf) onder GMP-condities ("Good Manufacturing Practice") geteelde eendenkroos of op basis van uit natuurlijke waterwegen gewonnen kroos.

Conclusies

- In Nederland bestaan nog slechts een handjevol initiatieven op het gebied van de benutting en commercialisering van eendenkroos.
- De meeste initiatieven in Nederland zijn gericht op de benutting van eendenkroos als geheel gewas voor veevoedingstoepassingen.

3.5 Regelgeving betreffende toepassing van eendenkroos en -inhoudsstoffen

Een verkenning van de mogelijkheden van het op de markt brengen van eendenkroos eiwit en de daarmee samenhangende ontwikkelingsaspecten heeft de volgende inzichten opgeleverd:

Voor toepassing van eendenkrooseiwit in niet-voedsel producten waar nu sojaeiwit gebruikt wordt, zoals in lijmen, coatings, verdikkingsmiddelen, leerbehandelingsmiddelen, etc., hoeft niet aan veel regelgeving voldaan te worden. In deze markt is het het belangrijkste dat eiwit met constante specificaties (en tegen een lagere prijs dan sojaeiwit) geleverd kan worden. Twee sojaeiwit

producten zouden in deze markt vervangen kunnen worden, nl sojaeiwit concentraat (eiwitgehalte van 60%) en sojaeiwit isolaat (eiwitgehalte van 90+%). Van belang voor deze markt is dat het eiwit als natief eiwit (dus niet gedenatureerd) gewonnen wordt, omdat de functionele eigenschappen (filmvorming, schuimvorming, waterbindend vermogen, etc.) voor de meeste technische toepassingen behouden moeten blijven. Dit betekent dat de winning van eiwit zorgvuldig moet gebeuren (bijvoorbeeld vermijden van hoge temperaturen of extreme pH's in het proces).

Voor toepassing van eendenkroos in producten voor humane of dier voeding ligt de regelgeving ingewikkelder. Allereerst moet aangetoond worden dat het product veilig is, zowel microbiologisch (geen pathogenen) alsook niet toxisch. Voor toepassing van het gewas als geheel gewas, als groente voor mensen of als component in brokken voor dieren, moet het bovendien eetbaar zijn qua smaak en verteerbaar. Om dit aan te tonen is het een en ander aan laboratoriumonderzoek en praktijkonderzoek nodig. Ook moet de productie op reproduceerbare wijze (onder gecontroleerde condities) en volgens kwaliteitszorgsystemen (GMP, ISO, HACCP) plaatsvinden. Dit geldt naar verwachting voor zowel de teelt als de productie. Onduidelijk is nog hoe in lopende pilotexperimenten naar de benutting van uit waterwegen gewonnen kroos voor veevoedingstoepassing strookt met de afvalregelgeving. Voorlopige informatie op dit gebied leert dat zolang kroos gewonnen wordt uit eigen vaarten ten behoeve van de voeding van eigen vee de afvalwetgeving geen probleem geeft. Als kroos echter verwijderd wordt door bijvoorbeeld een waterschap, omdat het hinder geeft op deze watergangen wordt het kroos onder de huidige regelgeving geclassificeerd als afval en mag het niet meer de humane of veevoedingsketen in. Echter, momenteel is zowel de afvalregelgeving als de voor dit onderwerp ook relevante mineralenwetgeving onder invloed van nieuwe Brusselse richtlijnen aan veranderingen onderhevig. Hoe dit uitpakt voor de toelating van kroos als nieuw gewas is nog niet duidelijk.

Ook de productie van eendenkrooseiwit als grondstof voor samengestelde producten is onderhavig aan bovengenoemde voedselveiligheidsaspecten en regelgeving. Wel is het zo dat, doordat het eiwit uit het kroos geïsoleerd wordt, inhoudsstoffen die bij sommige kroossoorten (oxaalzuur!) voor een negatieve smaakbeleving kunnen zorgen veel gemakkelijker geëlimineerd kunnen worden. Daar staat tegenover dat de winning van eiwit een relatief dure processtap toevoegt welke door een grotere marge op het eindproduct opgevangen dient te worden (zie ook de business cases in hoofdstuk 6).

3.6 Vergelijking van eendenkroos met andere aquatische biomassa

Op het gebied van aquatische biomassa is de laatste tijd vooral veel onderzoek gedaan naar algen. Hierbij heeft met name onderzoek naar optimalisatie van de teelt veel aandacht en kapitaal weten te verwerven. Drijvende kracht hierachter was de belofte van hoge opbrengsten per hectare, ook van als biobrandstof bruikbare olie alsook het vermijden van de noodzaak van het gebruik van waardevol agrarisch land voor biomassa productie. Omdat eendenkroos en algen op vergelijkbare wijze gekweekt kunnen worden, in bassins, is het interessant deze twee vormen van aquatische biomassa met elkaar te vergelijken.

Teelt

Er zijn twee soorten teeltsystemen voor algen, open bassins en gesloten systemen. Gesloten systemen zijn vooral van belang als onder gecontroleerde omstandigheden geteeld wordt of wanneer het algensoorten betreft, zoals de mariene soort *Nannochloropsis*, die in open bassins snel overgroeid zou kunnen worden door in Nederland normaal voorkomende (wilde) algen soorten. Qua investering is een gesloten systeem



beduidend kostbaarder dan een open bassin systeem. Voor beide systemen zijn pompen nodig om het algenhoudend water rond te pompen, aangezien door de geringe doordringdiepte van licht in een met algen gevuld systeem een goede menging nodig is om een hoge productiviteit te handhaven. In feite maakt de pompenergie het grootste deel uit van de operationele kosten van de



Her Majesty Queen Beatrix visits the outdoor algal ponds of AquaPhyto BV in Zeewolde.

algenproductie. De opbrengst van algen in een geoptimaliseerd kweekstelsel ligt in de praktijk voor een gesloten systeem tussen de 27 en 40 ton/ha/jr en voor een open systeem tussen de 14 en 27 ton/ha/jr [31].

De opbrengst van eendenkroos is ongeveer gelijk aan die van algen en ook in praktijksituaties gedemonstreerd. Ook eendenkroos wordt gekweekt in open bassins. Er is in de literatuur niets beschreven over kweek in gesloten systemen, dit ligt gezien de

morfologie en groeiwijze van het kroosplantje ook niet voor de hand. Wel wordt bij sommige producenten in kassen gekweekt of met gaas over de bassins om contaminatie met insecten en andere dieren te voorkomen. Doordat kroos op het water drijft kan het veel efficiënter dan algen zonlicht ontvangen en hoeft het water ook niet gemengd te worden. In tegendeel, rondpompen remt de groei van kroos. Er zijn bij de teelt van kroos dus geen rondpompinstallaties nodig hetgeen de energiekosten van de productie reduceert.

In de vrije natuur groeiend eendenkroos is voor Waterschappen vaak een plaag en wordt tegen hoge kosten verwijderd. Deze verwijderde aquatische biomassa wordt (nog) niet als grondstof voor chemie o.i.d. gebruikt maar deels afgevoerd naar composteringsinstallaties en deels op de oever gedeponeerd waar het onder vrijkomen van methaan (broeikasgas) wegtrot. ABC-Kroos is een initiatief gestart om deze biomassa, waarvan jaarlijks in Nederland reeds 200 kton geoogst en afgevoerd wordt, te benutten voor hoogwaardige producten (zie ook dit rapport 3.4). In de vrije natuur groeiende algen worden niet gewonnen of gebruikt.

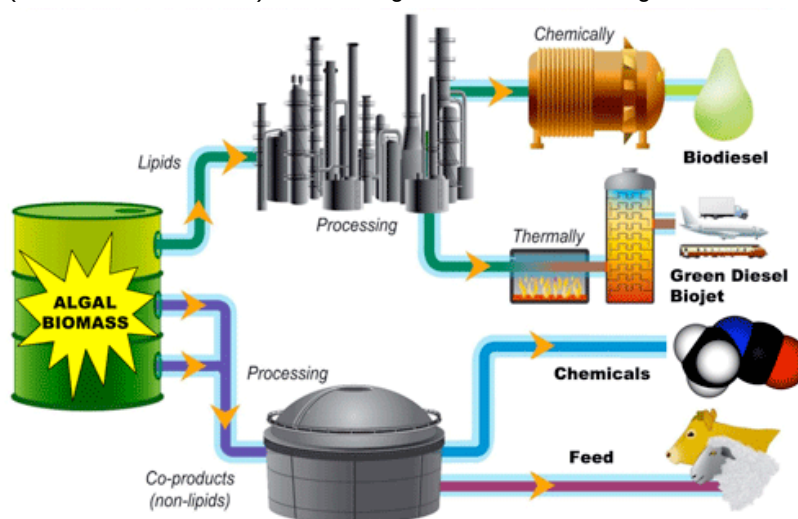
Commodity	Crude Protein	Carbohydrates	Lipids
Meat	43	1	34
Fish	55		38
Egg	49	3	45
Milk	26	38	28
Rice	8	77	2
Soybean	37	30	20
Corn	10	85	4
Wheat	14	84	2
Fish-meal	60-72		6-10
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Arthrospira maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21
<i>Synechococcus</i> sp.	73	15	11
<i>Tetraselmis suecica</i>	41		
<i>Isochrysis galbana</i>	39		
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	54		
<i>Chlorella stigmatophora</i>	39		

Inhoudsstoffen

De eiwitsamenstelling van eendenkroos en algen is in grote lijnen gelijk. Beide leveren eiwit met een hoogwaardige aminozuursamenstelling. De eiwitopbrengst per kilo drooggewicht van algen ligt, afhankelijk van de soort iets hoger dan die van eendenkroos (bijvoorbeeld Chlorella tot 60% eiwit vs. Lemna tot 49% eiwit). Zowel algen als eendenkroos hebben relatief lage (< 10%) hoeveelheden vezel en koolhydraten en zijn ook in dat opzicht goed vergelijkbaar. Een belangrijk verschil is dat algen relatief grote hoeveelheden olie kunnen bevatten (bijv. Chlorella tot 16%), terwijl in eendenkroos vrijwel geen olie voorkomt. Met name mariene (op zout water groeiende) algensoorten als Nannochloropsis bevatten hoge concentraties langketenige, zgn. omega-3 vetzuren (Docosahexaeenzuur; DHA; C22:6 en Eicosapentaeneenzuur; EPA; C20:5). Deze vetzuren zijn als alternatief voor dezelfde vetzuren uit visolie zeer waardevol als voedingssupplement en kunnen een belangrijke economische pijler zijn voor algenteelt. Een probleem kan zijn dat deze oliën als voedingssupplement onder de Europese Novel Foods wetgeving vallen, hetgeen voor nieuwe toetreders in de markt met kostbare registratieprocedures gepaard gaat. Dat heeft als gevolg dat deze olie uit een veelgebruikte mariene alg als Nannochloropsis (nog) niet in Nederland verhandeld mag worden (deze soort staat nog niet op de positief lijst). Een andere veelgebruikte alg als Chlorella mag al wel verhandeld worden. Ook deze bevat een olie met qua voedingswaarde interessante vetzuursamenstelling (hoog onverzadigd) maar helaas geen DHA en EPA. [Zie voor de samenstelling van Chlorella en Nannochloropsis bijvoorbeeld 32 en 33].

Verwerking

De winning van algen uit het tamelijk verdunde kweekmedium (<1% droge stof) is vanwege de kleine doorsnede van de microalgen (enkele micrometers) relatief ingewikkeld en benodigt continucentrifuges en eventueel de toevoeging van vlokmiddelen. Ook voor het ontsluiten van de algen in de ingedikte biomassa is vanwege de robuuste celwand veel energie en dure apparatuur nodig. De winning van eendenkroos uit het kweekmedium is daarentegen vanwege de veel grotere afmeting van de kroosplantjes (minstens enkele millimeters: > 1000 x zo groot als algen) erg eenvoudig: zeven volstaat. Ook het ontsluiten van de biomassa ten behoeve van het winnen van de inhoudsstoffen is erg eenvoudig: de celwand is een stuk fragieler dan die van algen. Raspen, persen of malen volstaat. Op kleine schaal is bijvoorbeeld een simpele huishoud sapcentrifuge al voldoende om het eiwitrijke sap te winnen.



Conclusies

- Qua opbrengst per hectare per jaar doen eendenkroos en algen niet voor elkaar onder.
- Qua teelt wint eendenkroos het van algen vanwege de eenvoudigere bassinopzet. Als vanwege regelgeving voor specifieke toepassingen een gesloten systeem nodig is, genieten algen de voorkeur (hoewel de productiekosten daarbij sterk toenemen). Eendenkroos is echter ook goed mogelijk in kassen, desgewenst aangevuld met verlichting om het groeiseizoen te verlengen.
- Qua samenstelling zijn algen en eendenkroos vergelijkbaar, behalve voor wat betreft olie. Als het doel is om olie te winnen dan genieten algen de voorkeur.
- Qua processing is eendenkroos veel eenvoudiger en goedkoper te verwerken dan algen.

Naschrift

Een zeer recent rapport (oktober 2010) van de UC Berkeley [34] en geciteerd door de Nederlandse Energieraad [35], geeft in een uitgebreide assessment van productiescenario's aan dat de



ontwikkeling van algenolie als biobrandstof nog enorm veel onderzoek en investeringen zal moeten vergen en op zijn vroegst over 10 jaar marktrijp zal zijn en enige (bescheiden) impact op het oliegebruik zal hebben. De kostprijs van de algenolie wordt gezien de doorgerekende investering ingeschat op een break even van ca. 240 \$/barrel (huidige dollars). Hierbij wordt overigens uitgegaan van de aanname dat op termijn een productie van 80 ton/ha/jr mogelijk zal zijn met een opbrengst van 20 m³ olie /ha/jr. (Een aanname die door velen als onrealistisch wordt gezien, o.a. vanwege

bependingen in lichtbenutting; de theoretisch maximale opbrengst van biomassa als alle ingestraalde lichtquanten benut worden is immers slechts 135 ton/ha/jr [31].)

3.7 Toekomst

In het geweld van de miljoeneninvesteringen in de ontwikkeling van algenwaardeketens is in Nederland de aandacht voor andere vormen van aquatische biomassa verloren geraakt. Dit is jammer omdat algen voor lang niet alle waardeketens geschikte biomassa grondstoffen zijn. Recentelijk is wat meer (overheids-)aandacht gekomen voor zeewier (macroalgen) [36] en is bijvoorbeeld een jong bedrijf, Porifarma, de mogelijkheden van sponzenteelt aan het bestuderen.

Gezien de positieve eigenschappen van eendenkroos, ook ten opzichte van andere aquatische biomassa ten aanzien van opbrengst, inhoudsstoffen, verwerking etc., zoals hierboven genoemd, is het aan te bevelen om ook in Nederland meer aandacht te geven aan de teelt en verwerking van eendenkroos. Het is aan de kennisinfrastructuur en de industrie in Nederland om de mogelijkheden te signaleren en ook als innovatieve ontwikkelingen in de markt te zetten, maar bij het opbouwen van deze keten is wel degelijk een stimulerende rol van de overheid van belang. Dit omdat er een kip-ei situatie ontstaat: investeerders en marktpartijen zijn geïnteresseerd om hierin mee te gaan, mits proof-of-concept is aangetoond, bijvoorbeeld door pilotproducties kroos of -inhoudsstoffen in de markt uit te zetten en op bruikbaarheid en waarde te onderzoeken. Dit proof-of-concept kan echter alleen bereikt worden als daar ook personele en financiële middelen voor beschikbaar zijn.

Hulp van de (landelijke en regionale) overheid bij deze ontwikkeling is wenselijk bij:

- Stimuleren van ontwikkeling technologiebasis en kennisopbouw.
- Planmakers in contact brengen met financiers en stakeholders in de keten.
- Ondersteunen bij het opzetten van pilot-/demo teelt en verwerkingsplants.
- Onderzoek naar benutting van natuurlijke mineralenstromen voor voeding van eendenkroosteelt.
- Toelating van eendenkroosinhoudsstoffen op de markt; wellicht in de vorm van ontheffingen bij (kleinschalige) trials.
- Facilitering van pilotteelt en verwerking; soepelheid bij het inpassen hiervan in (bestaande) milieuvergunningen en/of toepassing van versnelde procedures.

4. Experimenteel onderzoek naar teelt en verwerking

4.1 Concept

ABC-kroos heeft de ambitie om eendenkroos naast eiwitbron ook als nieuw zetmeelgewas te ontwikkelen. Het concept dat haar daarbij voor ogen staat is als volgt:

- Zetmeel producerende eendenkroossoorten worden gekweekt in ondiepe (max 50 cm diepe) bassins/vijvers. Mag zoet water zijn maar ook brak water (groeit eendenkroos ook in), en in ieder geval met hoog gehalte aan mineralen (vooral N (lieft als ammoniak) en P; K is minder kritisch) en zo mogelijk ook restwarmte. Dit omdat eendenkroos vooral in een voedselrijk milieu het goed doet. Toevoeging van CO₂ is niet kritisch, omdat eendenkroosbladmassa i.t.t. algen aan de wateroppervlakte drijft en uit de lucht de CO₂ opneemt. Ook pompenergie, zoals bij de kweek van algen, is niet nodig, omdat eendenkroos het best gedijt in stilstaand water.
- Zodra een gesloten dek van eendenkroos ontstaan is, wordt het gewas onder stress gezet door de N/P verhouding in het bassin te wijzigen, c.q. op fosfaatvrij water door te kweken. Volgens de literatuur (zie hoofdstuk 3.2) moet dit de kroosplantjes aanzetten zetmeel te accumuleren en/of zetmeelrijke turions te vormen (voor de plantjes zelf als overlevingsstrategie), welke vervolgens naar de bodem van de bassins zinken. De optimale condities om o.i.v. een “mineralenshock” de productie van turions te initiëren is nog onontgonnen terrein en moet onderzocht worden.
- Het aan de wateroppervlakte achterblijvende kroos is vanwege haar hoogwaardige eiwitsamenstelling “af te romen” en te gebruiken als (pluim)vee- of visvoer of als grondstof voor de productie van hoogwaardige technische of voedingseiwitten. Dit is analoog aan de al lopende projecten in o.a. Nederland en de bestaande praktijk in bijvoorbeeld Bangladesh.
- Door netten/gaas op de bodem van het bassin worden de turions opgevangen en geoogst. Optimale technologie hiervoor moet ook uitgezocht worden. Deze aanpak is op labschaal al benut om turions te verzamelen.
- De turions worden via bestaande technologie zoals ook voor aardappelzetmeelwinning benut wordt verwerkt tot zetmeel, met dien verstande dat het voor aardappels noodzakelijke fijnmalen achterwege kan blijven.

4.2 Experimenteel onderzoek

In het kader van deze haalbaarheidsstudie zijn, naast de desk research ook een aantal praktijkexperimenten uitgevoerd om ervaring met de kweek van eendenkroos in de praktijk te krijgen, om optimale teelt- en hanteercondities vast te stellen en om proof of concept te genereren voor de productie van zetmeel en eiwit. Daarbij is vooral naar de meest cruciale parameters gekeken, zoals mediumsamenstelling, licht en temperatuur. Ook is gefocust op het uitzoeken van condities waarbij turions en zetmeel productie geïnduceerd kon worden.

Materiaal en methoden

Enthoeveelheden van *Lemna minor* werden verzameld in een vijver in Noord Limburg. *Spirodela polyrhiza* werd gekocht bij een Duitse leverancier van vijverplanten (Baum, Leonberg, Duitsland).

Eendenkroos werd gekweekt in plastic bakken van 0.15 m² elk, in 10 liter kraanwater (sommige vijverwater) per bak, en verrijkt met commerciële NPK meststof. Twee commerciële soorten meststof werden tijdens de experimenten gebruikt:

A. Pokon universeel plantenvoedsel (vloeibaar, speciaal voor hydrocultuur; NPK= 7+3+7 plus

micronutriënten),

- B. Universeel Gazon- en tuinmest (korrels; NPK = 12+10+18), beide betrokken bij een lokaal tuincentrum.
- C. Voor specifieke medium studies werd een eigen mineralenmengsel samengesteld zonder fosfaat ("P-": 1.5 g ammoniumnitraat, 1.5 g ureum, 1.5 g kaliumchloride en 0.1 g magnesiumchloride) en met fosfaat ("P+" = "P-" plus 1 g natriumdiwaterstoffosfaat). Alles per 10 l water. Chemicaliën "zeer zuiver"; afkomstig van Boom BV, Meppel.

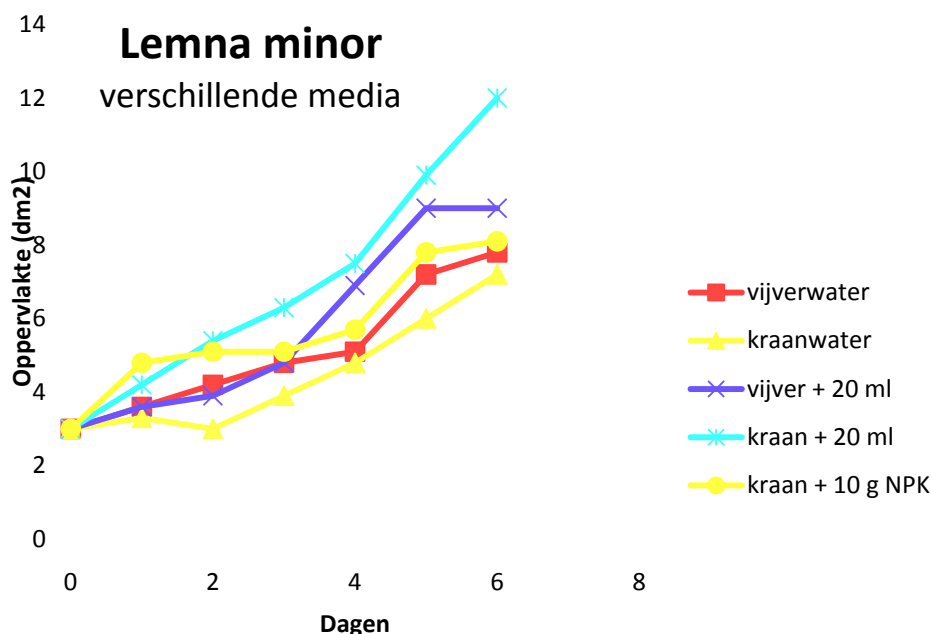
Per experiment werden hoeveelheden van 3 dm² kroos geënt per bak (= 20% bedekkingsgraad). Aangroei werd bepaald door op gezette tijden met een schuimplastic balkje het kroos bij elkaar te vegen tot een gesloten oppervlakte ontstond en daar de oppervlakte van te meten. Bij elke meting werden ook pH en temperatuur bepaald. Voor experimenten met verhoogde temperatuur werd gebruik gemaakt van een 75W aquariumverwarmingselement.

Eendenkroos werd geoogst met een zeef, waarna het aanhangende water zoveel mogelijk werd verwijderd. Droge stof gehalte werd bepaald door kroos nat te wegen en vervolgens opnieuw te wegen nadat het in een hete lucht oven tot constant gewicht was gedroogd.

Chemische analyses op kroosmonsters werden gedaan door Dr. T. Lemmens c.s. van Saxion Hogeschool te Enschede. Bepaald werden het eiwitgehalte (via totaal stikstofbepaling volgens Kjeldahl), zetmeel (anthronmethode) en massabalans. Voor de bepalingen werden ingevroren monsters gehomogeniseerd door ze in een mortier fijn te wrijven met droog ijs (vast CO₂). Extraheerbaar eiwit werd bepaald door scheiding van vloeistof en vaste fase in een tafel centrifuge (5000 rpm, 10 min).

Resultaten

Voor het optimaliseren van het kweekmedium zijn diverse kweekproeven uitgevoerd met zowel *Lemna minor* als *Spirodela polyrhiza*. Een representatieve serie experimenten staat in Figuur 1. Zoals te verwachten geeft vijverwater een iets sterkere groei dan kraanwater, waarschijnlijk vanwege het hogere gehalte aan voedingsstoffen. Toevoeging van 10 g NPK meststof (meststof B, zie M&M) korrels per 10 l water versnelt de groei, evenals toevoeging van 20 ml vloeibare meststof A, mogelijk vanwege de aanwezigheid van micronutriënten in het mengsel. Met deze meststof A



Figuur 1

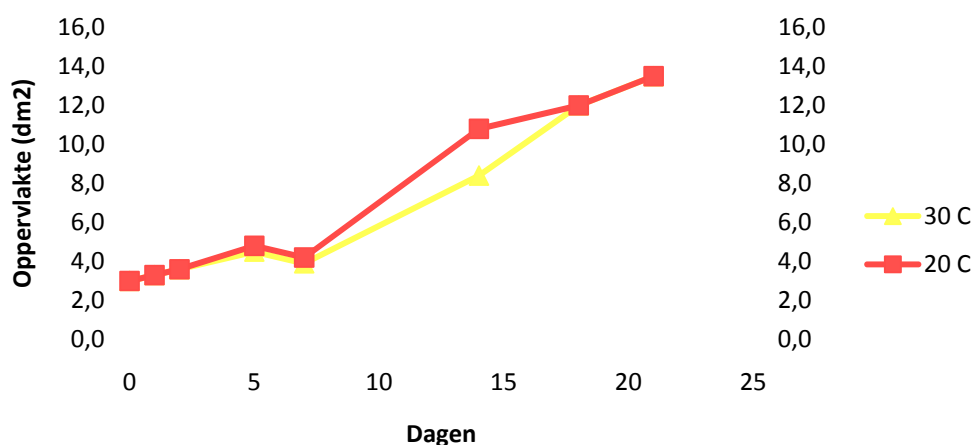
groeide de Lemna in kraanwater nog sneller dan met vijverwater als basis. De hoogst gerealiseerde groeisnelheid onder deze condities gaf een biomassa verdubbelingstempo van iets minder dan 3 dagen. Dit leidde tot een dicht kroosdek met een versgewicht aan kroos van ca. 0.7 kg/m².

Het effect van kweektemperatuur is onderzocht bij *Spirodela polyrhiza*. Figuur 2 illustreert een experiment waarbij *Spirodela* bij 20 °C en bij 30 °C is gekweekt. Opmerkelijk is dat de temperatuur geen verschil uit lijkt te maken, dit in tegenstelling tot ervaringen elders. De oorzaak hiervoor kan zijn dat, om praktische overwegingen, de kweekbakken binnenshuis zijn geplaatst. Ondanks dat dit weliswaar voor een op het zuiden georiënteerd raam was, is het toch mogelijk dat de lichthoeveelheid beperkend was.

Wat in figuur 2 is ook opvalt (en wat ook als patroon bij andere kweekexperimenten opgevallen is) is dat de groei van *Spirodela polyrhiza* pas na een week op gang komt. Dit komt overeen met ervaringen elders en in tegenstelling tot het groeigedrag van *Lemna minor*. Hoewel daar in de literatuur geen verklaring voor gegeven wordt, lijkt het uit observatie van de plantjes niet uitgesloten dat dit veroorzaakt wordt door beschadiging van het wortelstelsel bij het enten. Waargenomen is dat de relatief vele wortels bij *S. polyrhiza* (5-8 per plantje) tamelijk kwetsbaar zijn. Na overenten vanuit de voorkweek naar de experimentele bakken is te zien dat er nog erg veel losse wortels in de voorkweekbak drijven. Mogelijk is de opstartperiode in de eerste week van de kweek toe te schrijven aan het zich herstellen van het wortelstelsel. Het verdient dus aanbeveling deze soort voorzichtig te behandelen bij het enten.

Spirodela polyrhiza.

Effect van temperatuur.



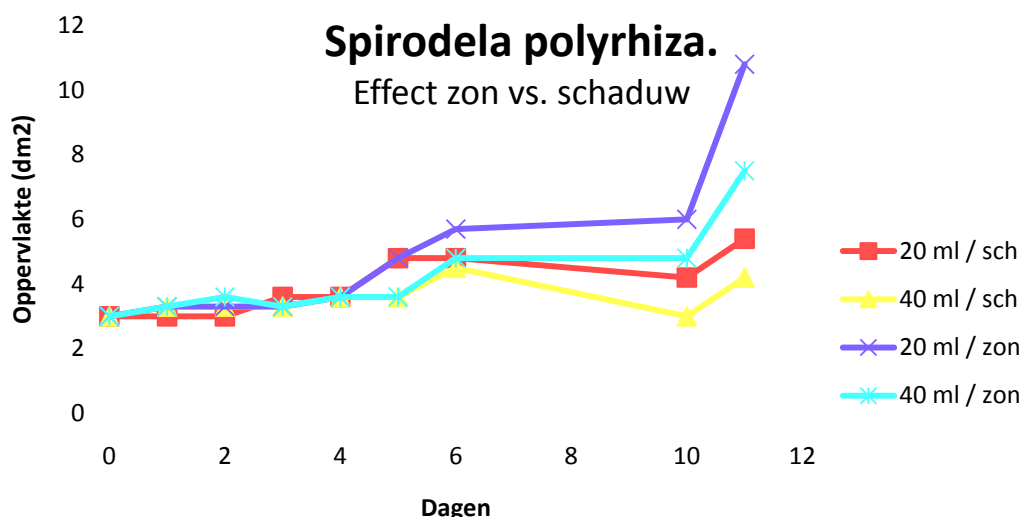
Figuur 2

De verdubbelingsnelheid van *S. polyrhiza* zoals in dit experiment blijkt, vanaf het moment dat de groei start na de initiële lag fase ligt op ca. 1 week. Dit is ca. 2 x zo lang dan wat elders gerapporteerd wordt.

Figuur 3 geeft het verschil tussen kweken van *S. polyrhiza* in de zon (gehele dag zonlicht beschikbaar) en schaduw (slechts 1 uur in de ochtend zon, daarna schaduw). Zoals te verwachten was groeit eendenkroos sneller met meer beschikbaar licht. De dip in de groeicurve bij 10 dagen is naar alle waarschijnlijkheid veroorzaakt doordat in dat tijdvenster enkele hevige regenbuien plaats vonden waardoor wat kroos uit de kweekbak is gespoeld. Ook hier kan, met inachtneming van de ook hier weer zichtbare lag periode van 1 week vastgesteld worden dat de biomassa

verdubbelingstijd voor *S. polyrhiza* in de zon op hooguit 5 dagen ligt en in de schaduw op ca. 1 week.

In het experiment in figuur 3 is tevens gekeken naar het nog verder verhogen van de mineralen hoeveelheid door een verdubbeling van de hoeveelheid mest (40 ml versus 20 ml meststof A per 10 l). Zowel in de schaduw als in de zon versnelt extra mest de groei niet (eerder in tegendeel), hetgeen aangeeft dat onder deze condities niet het mineralengehalte van het kweekmedium beperkend is.



Figuur 3

Een drietal experimenten zijn ingezet om *Spirodela polyrhiza*, een soort die volgens de literatuur turionvormend is, aan te zetten tot de productie van zetmeel, c.q. turions. Hierbij zijn zowel kweekcondities ingezet in gedefinieerde media met en zonder fosfaat alsook in kraanwater zonder enige toegevoegde mineralen. Ook de combinatie van medium zonder fosfaat en lagere temperatuur ($<15^{\circ}\text{C}$) is onderzocht. Echter in geen van de kweken is turionvorming waargenomen, zelfs niet na 4 weken kweek bij laag fosfaat medium. Dit is in tegenspraak met literatuurgegevens waarin, soms weliswaar na enkele weken, onder deze condities wel turionvorming optreedt. De in de literatuur beschreven resultaten zijn echter allemaal gebaseerd op lab-schaal proefjes (onder geconditioneerde omstandigheden, in flesjes met hooguit enkele cm^2 's eendenkroos, terwijl de hier beschreven experimenten iets grootschaliger waren en ook in buitenkweek (meer afgestemd op de praktijk).

Het feit dat er geen turionproductie plaats vond kan te maken hebben met enkele overwegingen:

Ten eerste is de aanleiding voor kroos om zetmeel, c.q. turions te vormen een overwinteringstrategie, als reactie op slechte groeiomstandigheden. In de literatuur is echter beschreven dat eendenkroos bij uitstek in staat is tot het accumuleren van mineralen. Het is dus goed mogelijk dat de interne, gestapelde mineralen (fosfaat) hoeveelheid ruim voldoende is om nog enkele weken door te groeien. Ook het feit dat eendenkroos op mineralenvrij kraanwater gezond bleef en (weliswaar beperkt) groeide wijst hierop. Opmerkelijk is overigens wel dat in dit laatste geval, dus groei op kraanwater, de *Spirodela* plantjes extreem lange wortels ontwikkelden ($> 20 \text{ mm}$, tegen $<10 \text{ mm}$ normaal). Dit geeft aan dat de plantjes wel degelijk moesten "vechten" voor mineralen. Desalniettemin zijn de kroosplantjes dus klaarblijkelijk niet in een "overwinteringsmodus" gegaan.

Ten tweede heeft deze kweek plaatsgevonden onder min of meer praktijkcondities in de openlucht. Dit betekent dat niet uit te sluiten is dat stof en/of ongerechtigeden in de kweekbakken kunnen vallen en hierdoor toch iets aan mineralen (fosfaat) aan het medium toevoegen, waardoor het effect van fosfaatarm medium deels verloren gaat.

Ondanks het uitblijven van turionproductie is het toch mogelijk dat zetmeel gevormd wordt, maar dan in de chloroplasten, zoals dit ook door Reid voor *Spirodela oligorhiza* beschreven is [11]. Daarom werden toch *Spirodela polyrhiza* oogstmonsters uit de kweken zonder fosfaat op zetmeel getest.

Uit de analyses door Saxion van bleek dat, ondanks het feit dat geen turions waarneembaar waren, in de oogstmonsters van *Spirodela* die gekweekt waren op fosfaatvrij medium wel degelijk zetmeel aantoonbaar was. Echter slechts in minimale hoeveelheden van 0.2 - 0.5 % (w/w). In *Spirodela* monsters die op volledig medium gekweekt water en in *Lemna* monsters werd geen zetmeel aangetroffen. Dit betekent dat fosfaatdepletie inderdaad inductie van zetmeelvorming veroorzaakt in *Spirodela polyrhiza*, maar onder deze condities slechts in marginale hoeveelheden die voor de in deze haalbaarheidstudie beoogde doeleinden -commercieel- niet interessant zijn.

Spirodela polyrhiza en *Lemna minor* oogstmonsters werden door Saxion ook onderzocht op eiwitgehalte en eiwit extraheerbaarheid. In de geteste *Lemna* monsters werd gemiddeld 24.9% eiwit aangetroffen, terwijl in de *Spirodela* monsters gemiddeld 21.7% eiwit gevonden werd. Dit komt overeen met literatuurwaarden voor eendenkroos geteeld in onze breedtegraden bij niet optimale omstandigheden. Gezien de gehanteerde kweekomstandigheden lijkt het het meest waarschijnlijk dat temperatuur en lichtinval het meest beperkend waren.

De extraheerbaarheid van eendenkrooseiwit uit de biomassa werd onderzocht door kroosmonsters fijn te malen en vervolgens te centrifugeren en vervolgens het eiwitgehalte in het supernatans en het pellet te meten. Onder deze eenvoudige extractiecondities bleek dat bij *Lemna* 74% van het aanwezige eiwit met het "sap" extraheerbaar was en in *Spirodela* 42%. Het verschil in extraheerbaarheid tussen *Lemna* en *Spirodela* komt mogelijk door óf een verschil in eiwitsamenstelling c.q. -eigenschappen, óf door fysische effecten, doordat *Spirodela* iets grotere en robuustere fronds heeft dan *Lemna*. De tweede verklaring lijkt de meest waarschijnlijke, aangezien de eiwitsamenstelling van *Lemna* en *Spirodela* sterk overeenkomt. Door de extractiecondities verder te optimaliseren (maalgraad, pH en zoutgehalte; met inachtneming van industriële toepasbaarheid) is de extractie efficiency zonder twijfel nog verder op te voeren.

4.3 Conclusies

Uit het experimentele gedeelte van dit haalbaarheidsonderzoek blijkt dat eendenkroos, zowel *Lemna minor* als *Spirodela polyrhiza*, onder Nederlandse omstandigheden eenvoudig, zonder veel hardware of installaties en met acceptabele groeisnelheden te kweken is. Ook de oogst van het geproduceerde kroos door zeven is eenvoudig te doen, zonder dat hier ingewikkelde of kostbare apparatuur voor nodig is.

Onder de gehanteerde kweekcondities werden biomassa verdubbelingstijden waargenomen van ca. 3 en 6 dagen voor respectievelijk *Lemna* en *Spirodela*. In de praktijk betekent dit dat per hectare kweekvijver een halve hectare geoogst kan worden per respectievelijk 3 en 6 dagen. Bij een groeiseizoen in Nederland van 26 weken (april - oktober) en een gemiddeld gewicht van ca. 0.7 kg (nat)/m² aan kroos bij een dichtgegroeid kroosdek (praktijkmeting in deze studie) betekent dit een productiviteit van 215 ton/ha/jr nat oftewel 12.8 ton droog kroos/ha/jr voor *Lemna minor* en 106 ton/ha/jr nat oftewel 6.4 ton droog kroos/ha/jr voor *Spirodela polyrhiza*. Het verschil in productiviteit tussen *Lemna* en *Spirodela* zit hem dus puur in de groeisnelheid onder de gehanteerde condities. Bij verdere optimalisaties van de eendenkroos kweek zal deze

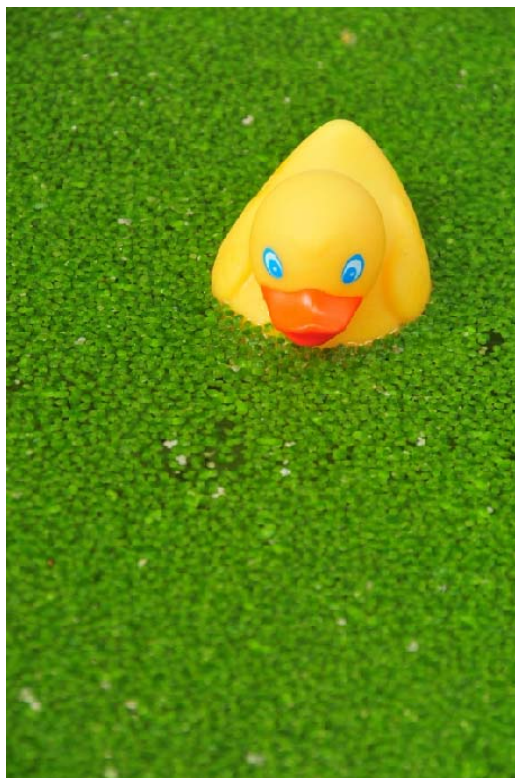
productiviteit, voor beide soorten, ongetwijfeld omhoog gaan.

Uitgaande van de gemeten eiwitgehaltenes van respectievelijk 24.9 en 21.7% betekent bovenstaande een geëxtrapoleerde eiwitproductie voor Lemna van 3.2 ton eiwit/ha/jr en voor Spirodela van 1.4 ton eiwit/ha/jr.

De extractie van eiwit uit de biomassa door winning van sap (malen en persen of centrifugeren) is technisch eenvoudig. Zelfs een stuk eenvoudiger dan de winning van eiwit uit nieuwe eiwitbronnen als gras, hetwelk door het hoge vezelgehalte veel moeilijker efficiënt te persen is **en zeker eenvoudiger dan de winning van eiwit uit algen, die moeilijker droog te winnen zijn en ook moeilijker te homogeniseren.**

Teleurstellend voor deze studie is dat geen turions en nauwelijks zetmeel aangetoond kon worden onder praktijkomstandigheden. Dit betekent dat het oorspronkelijke concept van een combinatie van zetmeel en eiwit winning niet haalbaar is. Op basis van de literatuur en eigen waarnemingen zou het wellicht mogelijk kunnen zijn het zetmeel gehalte te verhogen, echter het lijkt er op dat dit ten koste zal gaan van de productie van de totale eendenkroos biomassa per hectare per jaar omdat tijdens de zetmeelproductie de bijgroei stilvalt. Hierdoor zal de opbrengst van het gewas als geheel lager worden, zeker als eiwit één van de belangrijkste, zo niet de belangrijkste, economische drager zou zijn van dit gewas.

De waargenomen eiwitproductie ligt weliswaar lager dan in de literatuur geciteerde waarden, (echter gerealiseerd onder subtropische groeiomstandigheden in Zuidoost Azië). Desondanks is deze dusdanig hoog, bijna 10 x hoger dan de opbrengst van sojaeiwit per hectare per jaar, dat dit commercieel buitengewoon interessant is. Daarnaast is bovendien de aminozuursamenstelling van dit eiwit uit voedingsoogpunt zeer waardevol, terwijl mogelijk ook de functionele eigenschappen van het natieve eiwit zeer bruikbaar kunnen zijn. Ook de eenvoud van winning van dit eiwit biedt veel voordelen ten opzichte van andere nieuwe eiwitgewassen, c.q. andere aquatische biomassa zoals algen.



5. Literatuur

1. The Lemnaceae (Duckweed family) (2010). <http://waynesword.palomar.edu/1wayindx.htm>
2. Cross, J.W. (2002) The Charms of Duckweed. Practical duckweed applications. http://www.mobot.org/jwcross/duckweed/practical_duckweed.htm
3. LNV InnovatieNetwerk (2009) Naar nieuwe ketens voor het benutten van eendenkroos. Rapportnr. 09.2.205. http://www.innovatienetwerk.org/sitemanager/downloadattachment.php?id=33ThaaO_qAu21SW7C3EqT0
4. Iqbal, S. (1999). Duckweed Aquaculture. Sandec report 6/99. Sandec, Duebendorff, Switzerland.
5. Leng, R.A. (1999) Duckweed: a tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment. FAO, Rome, Italy. <http://www.fao.org/ag/aginfo/resources/documents/DW/Dw2.htm>
6. Hicks, L.E. (1932). Ranges of pH tolerance of the Lemnaceae. https://kb.osu.edu/dspace/bitstream/1811/2569/1/V32N03_237.pdf
7. Said, M.Z.M., Culley, D.D., Standifer, L.C., Epps, E.A., Myers, R.W. and Boney, S.A. (1979). Effect of harvest rate, waste loading and stocking density on the yield of duckweed. Proc. World Maricult. Soc. 10: 769-780.
8. Skillicorn, P., Spira, W. and Journey, W. (1993). Duckweed Aquaculture. Agricultural Division of the World Bank, Washington, USA. <http://www.p2pays.org/ref/09/08875.htm>
9. Rusoff, L.L., Blakeney, E.W. and Culley, D.D. (1980) Duckweeds (Lemnaceae family): A potential source of proteins and amino acids. J. Agric. Food Chem. 28: 848-850
10. Yilmaz, E., Akyurt, I. and Günal, G., (2004). Use of Duckweed, *Lemna minor*, as a protein feedstuff in practical diets for common carp, *Cyprinus carpio*. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 4:105-109
11. Reid, M.S. and Bielecki R.L. (1970). Response of *Spirodela oligorhiza* to phosphorus deficiency. Plant Physiol. 46: 609-613.
12. Pankey, R.D., Raudt, H.N. and Desrosier, N.W. (1965). Characterization of the starch of *Spirodela polyrrhiza*. J. Food. Sci. 30: 627-631.
13. Perry, T.O. and Byrne, O.R. (1969). Turion induction in *S. polyrrhiza* by abscisic acid. Plant Physiol. 44: 784-785.
14. Appenroth, K.J. and Nickel, G. (2010). Turion formation in *Spirodela polyrrhiza*: The environmental signals that induce the developmental process in nature. Physiologia Plantarum 138: 312-320.
15. Appenroth, K.-J. (2002). Co-action of temperature and phosphate in inducing turion formation in *Spirodela polyrrhiza* (Great duckweed). Plant Cell & Environment 25: 1079-1085.
16. Macrophyte flight (2010). <http://www.bios.niu.edu/bujarski/bios761/lederhouse.pdf>
17. Jungnickel, F. (1986). Turion formation and behaviour in *Spirodela polyrrhiza* at two levels of phosphate supply. Biologia Plantarum 28: 168-173
18. Fujita, M., Mori, K. and Kodera, T. (1999). Nutrient removal and starch production through cultivation of *Wolffia arrhiza*. J. Biosci. Bioeng. 87: 194-198.
19. Leng, R.A., Stambolie, J.H. and Bell, R. (1995). Duckweed - a potential high-protein feed resource for domestic animals and fish. Livestock Res. Rural Development 7: 1
20. Seidl, M., Laouali, S. Idder, T. and Mouchel, J.M. (2002?) Duckweed - Tilapia system: a possible way of ecological sanitation for developing countries. Seminario internacional sobre Métodos Naturales para el Tratamiento de Aguas Residuales.

http://www.pseau.org/epa/gdda/Actions/Action_A10/2003_Agua2003_SEIDL.pdf

21. Holshof, G., Hoving, I.E., and Peeters, E.T.H.M. (2009). Eendenkroos: van afval tot veevoer. Wageningen UR rapport 306.

22. Ansari, A.A., and Khan, F.A. (2009). Remediation of eutrophied water using *Spirodela polyrhiza* L. Shleid in controlled environment. Pan-Amercian J. Aquat. Sci. 4:52-54.

23. Ansal, M.D., Dhawan, A. and Kaur, V.I. (2010). Duckweed based bio-remediation of village ponds: An ecologically and economically viable integrated approach for rural development through aquaculture. Livestock Res. Rural Development 22:7

24. Culley, D.D., Rejmankova, E., Kvet, J. and Frye, J.B. (1981) Production, chemical quality and use of duckweeds (Lemnaceae) in aquaculture, waste management and animal feeds. J. World Maricul. Soc. 12: 27-49.

25. http://www.sinternovem.nl/mmfiles/Mobile%20verwerking%20eendenkroos_tcm24-330184.pdf

26. Porath, D, (assignee: Kibbutz Tzora Israel)(1993) Aquaculture production of duckweed for human consumption. US Patent 5,269,819 - 14-12-1993

27. Eendenkroos voorlopig niet op de menukaart (2001). <http://www.refdag.nl/oud/bin/010622bin08.html>

28. Stomp, A.-M. (2009) Growing duckweed on swine wastewater for ethanol production. North Carolina State University at Raleigh

<http://www.biofuelscenter.org/index.cfm?page=content&scid1=90&CategoryID=25&SubSubSCID1=66> en een recentere abstract met voorlopige resultaten op <http://asae.frymulti.com/abstract.asp?aid=29907&t=2>

29. <http://www.wve.nl/aspx/download.aspx?File=/contents/pages/64577/eendekroosproject.pdf> ;

http://www.sinternovem.nl/mmfiles/Eendenkroos%20als%20veevoer_tcm24-260521.pdf ;

http://www.wur.nl/NR/rdonlyres/28742AFA-190E-4CD0-ABEB-66BEC01668EC/81650/VFocus_Eendenkroos.pdf

<http://www.verantwoordeveehouderij.nl/producten/Innovatie/MultifunctioneleBedrijfssystemen/KoeEnCultuur/Eendenkroos/AlternatiefSoja.pdf>

30. <http://www.groot-zevert.nl/kroos> ;

http://www.webpaper.nl/scripts/edoris/edoris.dll?tem=W_GG_TEXT_VIEW&doc_id=363915 ;

http://www.sinternovem.nl/mmfiles/Eendenkroos%20als%20voeding_tcm24-330177.pdf

31. Hazewinkel, S. (2008) Presentatie LGem. http://www.fact-foundation.com/media_en/Presentation_Sander_Hazewinkel

32. Chlorella-Africa.com. On-line shop voor gedroogde Chlorella. <http://www.chlorella-africa.com/chlorellacomp.html>

33. Teshima, S., Yamasaki, S., Kanazawa, A. Koshio, S., Mukai, H. and Hirata, H. (1991). Fatty acid composition of Malaysian Marine Chlorella. Nippon Suisan Gakkaishi 57: 1985

34. Lundquist, T.J., Woertz, I.C., Quinn, N.W.T., and Benemann, J.R. (2010). A realistic technology and engineering assessment of algae biofuel production. Energy Biosciences Institute, University of Berkely, California, USA.

35. Persbericht Energieraad 6 november 2010. Biobrandstof uit algen pas over 10 jaar concurrerend. <http://www.energieraad.nl/newsitem.asp?pageid=27512>

36. (2009). SBIR Zeewieren http://www.sinternovem.nl/mmfiles/Presentatie%20SBIR%20Zeewieren_tcm24-318717.pdf