Technische en economische haalbaarheid winning waardevolle stoffen uit kalvermest

Mest vol Waarden II

Luuk Gollenbeek, Nico Verdoes, Martin van Baak, Peter Boshuis

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Technische en economische haalbaarheid winning waardevolle stoffen uit kalvermest

Mest vol Waarden II

Auteurs

Luuk Gollenbeek¹, Nico Verdoes¹, Martin van Baak², Peter Boshuis²

1 Wageningen Livestock Research

2 DUCARES

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research, in opdracht van en gefinancierd door de Publiek Private Samenwerking tussen de Stichting Brancheorganisatie Kalversector, DUCARES en Topsector Agrifood.

Wageningen Livestock Research
Wageningen, december 2017

Rapport 1070

Samenvatting NL

Inzicht is verkregen van de technische en economische haalbaarheid van het winnen van hoogwaardige stoffen uit kalvermest. Aanbevolen wordt om in te zetten op de winning van humuszuren bij (an)aerobe behandeling, en het winnen van eiwitten voor cosmetica of een technologische toepassing. Een interessante richting is tevens het vinden van synergie bij de winning van de betreffende stoffen, zodat de winning van meerdere stoffen (bijvoorbeeld ook vetzuren of hormonen) mogelijk worden. Mengsels met verschillende organische stoffen met vergelijkbare eigenschappen kunnen mogelijk ook een toepassing hebben. Technologisch onderzoek zal moeten uitwijzen welke extracties mogelijk zijn en wat mogelijke toepassingen kunnen zijn. Voor het winnen van hoogwaardige stoffen zal scheiding bij de bron van faeces en urine en een snelle verwerking een pré zijn.

Summary UK

Knowledge about technical and economic feasibility of extracting high value components from veal calves manure was gained. Extraction of humic acids within the process of aerobic anaerobic treatment of manure, and extraction of proteins for cosmetic or technical purpose might be feasible. Another interesting route might be the synergy that can be found between extraction of the different compounds. Mixtures of different organic compounds with similar characteristics might also have good purposes. Technical research should reveal what is possible and for what purposes components or mixtures can be used. A separation of faeces and urine at the source and a quick treatment will facilitate the ability of extracting compounds from manure.

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/428058> of op www.wur.nl/livestock-research (onder Wageningen Livestock Research publicaties).

© 2017 Wageningen Livestock Research

Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl, www.wur.nl/livestock-research. Wageningen Livestock Research is onderdeel van Wageningen University & Research.

Wageningen Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.

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

Inhoud

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Mest benaderen als grondstof	7
	1.2 Vertrekpunt	8
	1.3 Afbakening Mest vol Waarden II	9
2	Aanpak en werkzaamheden	10
	2.1 Proces en deelvragen	10
	2.2 Aanvullende chemische analyses	10
	2.3 Deskstudie	11
	2.4 Vervolgtraject	12
3	Resultaten en interpretatie	13
	3.1 Humuszuren	13
	3.1.1 Concentratie humuszuren in kalvermest	13
	3.1.2 Initiatieven winning humuszuren	14
	3.1.3 Extractiemogelijkheden van humuszuren	15
	3.1.4 Economisch perspectief humuszuren	16
	3.1.5 Markt voor humuszuren	16
	3.1.6 Vervolgtraject	17
	3.2 Eiwitten	17
	3.2.1 Aanvullende beschouwing eiwitten	17
	3.2.2 Historische toepassingen van faeces en urine	19
	3.2.3 Gehalten eiwitten	19
	3.2.4 Extractie mogelijkheden van eiwitten	20
	3.2.5 Economisch perspectief eiwitten	20
	3.2.6 Markt voor eiwitten	21
	3.2.7 Vervolgtraject	21
	3.3 Hormonen	22
	3.3.1 Hormonen in faeces en urine	22
	3.3.2 Extractiemogelijkheden van hormonen	24
	3.3.3 Markt voor hormonen en economisch perspectief	25
	3.3.4 Vervolgtraject	26
	3.4 Vetzuren	26
	3.4.1 Concentratiebepaling	26
	3.4.2 Vetzuren potentie	27
	3.4.3 Extractiemogelijkheden vetzuren	27
	3.4.4 Vervolgtraject	27
	3.5 Totale verwaarding kalvermest	28
4	Conclusies en aanbevelingen	30
	4.1 Conclusie	30
	4.2 Aanbevelingen	31
	Literatuur	32
	Bijlage 1 Indicatie stoffen in mest (MvWI)	
	Bijlage 2 Schema extractie Humuszuren	

Bijlage 3	Lijst met experts
Bijlage 4	Aangetroffen eiwitten
Bijlage 5	Voorbeelden met routes eiwitten

Samenvatting

Dit project is deel 2 van het traject Mest vol Waarden, waarin wordt beoogd waardevolle stoffen uit kalvermest te winnen en toe te passen in de biobased economie. Op basis van een deskstudie (literatuur en interviews experts) en aanvullende laboratorium analyses is in dit project Mest vol Waarden II de technische en economische haalbaarheid van eerder vastgestelde potentieel waardevolle stoffen bepaald.

Humuszuren

Het winnen van humuszuren binnen een proces van an(ae)robe mestverwerking is een optie. Hiervoor kan aansluiting gezocht worden bij SMG en Darling Ingredients. Zowel technisch (filtratie of ionenwisselaar) als economisch is er een kans dat het winnen in de praktijk haalbaar is. Toepassing van de humuszuren is dan als bodemverbeteraar. Het toepassen van humuszuren als humane- of diervoeding wordt niet kansrijk geacht, aangezien hiervoor geschiktere bronnen (humuszuren gewonnen uit drinkwater of humuszuren uit bruinkool) te gebruiken zijn. De afzetmarkt wordt voldoende geacht om een deel van de kalvermest (<25%) te gebruiken om humuszuren te winnen. Zeer belangrijk is om in te zetten op een goede marketing voor humuszuren. Hiervoor is onderzoek naar de werking van de humuszuren cruciaal. Het direct winnen van humuszuren uit drijfmest door middel van zuur base extractie brengt technische problemen met zich mee en is economisch niet haalbaar.

Eiwitten

Op basis van de aangetroffen eiwitten kan niet direct een eiwit aangewezen worden door de experts waarmee een directe meerwaarde kan worden gecreëerd. Wel blijkt dat interessante eiwitten die bij het proces van uitscheiden uit de alvleesklier en wondheling een rol spelen aanwezig zijn in de faeces. Er is een kans dat het winnen van een eiwitmengsel voor cosmetisch/technologisch gebruik technisch en economisch haalbaar. Om hiertoe te komen is nog technologisch onderzoek nodig met een focus op het isoleren van bepaalde fracties en het bepalen van de functionele eigenschappen hiervan. Cruciaal in dit proces is het meekrijgen met de verwerkende industrieën en creëren van maatschappelijk draagvlak. Als we kijken naar eiwitten voor voeding dan wordt dit economisch niet rendabel geacht. Eiwitten als medicijn zijn mogelijk economisch en technisch haalbaar maar hiervoor wordt voorzien dat dergelijke eiwitten uiteindelijk niet uit kalvermest maar uit andere meer geschiktere bronnen gewonnen zullen worden.

Hormonen

Het winnen van hormonen is technisch mogelijk maar economisch wordt verwacht dat er geen voordeel te behalen is. Er is een markt voor hormonen, deze is qua omvang beperkt. Gedacht kan worden aan medisch gebruik of gebruik voor onderzoek. Uit de literatuurstudie bleek dat onder (an) aerobe condities een sterk verlies van hormonen optreedt.

Vetzuren

In de mest zijn vooral de minder interessante vetzuren C2-C5 aangetroffen in gehalten tot maximaal 1 %. Deze gehalten zijn te laag voor het economisch haalbaar winnen van deze vetzuren. Technisch zou het winnen van vetzuren wel mogelijk zijn en de toepassingsmogelijkheden van vooral de langere vetzuren zijn groot. Binnen het huidige project is tot en met C8 geanalyseerd. Een mogelijkheid is de winning van langere vetzuren die aan onverteerd organisch materiaal zitten. Verwacht wordt echter dat deze gehalten ook laag zullen zijn. Hiernaar is geen onderzoek uitgevoerd.

Vervolg

Aanbevolen wordt om het vervolg van het project een technologische insteek te geven. Kansen worden gezien voor de winning van humuszuren bij (an)aerobe behandeling. Het vervolgtraject voor humuszuren is globaal:

- Aansluiting zoeken bij (an)earobe kalvergierzuivering, bijvoorbeeld SMG of Darling Ingredients.
- Vaststellen welke gehalten aan humuszuren gewonnen kunnen worden binnen het proces van kalvergierbehandeling en hoe de winning binnen dit proces het beste kan plaatsvinden.

-
- Vaststellen hoe groot het positieve effect is op de bodemvruchtbaarheid.
 - Afzetmarkt creëren in samenwerking met bijvoorbeeld Triferto.

Voor het winnen van eiwitten voor cosmetica of een technologische toepassing worden ook kansen gezien. Het vervolgtraject is globaal:

- Uitvoeren van extracties/filtraties waarbij verschillende fracties ontstaan.
- Het bepalen van de functionele eigenschappen van deze fracties en het vinden van een cosmetische of technische toepassing hiervoor.
- Afzetmarkt creëren in samenwerking met verwerkende industrie (bijvoorbeeld DSM, Henkel).

Een nog niet onderzochte richting is het winnen van langere vetzuurketens. Wel is ingeschat dat de kans van slagen laag is vanwege verwachte lage gehalten aan langere vetzuurketens.

De winning van de stoffen (humuszuren, eiwitten, hormonen en vetzuren) zal door middel van een aantal extractie en filtratie stappen plaats kunnen vinden, eventueel aangevuld met chromatografie. Onderzocht zal moeten worden of synergie of mogelijke beperkingen voor de winning van de verschillende stoffen spelen.

Over het algemeen is het bij de bron scheiden van faeces en urine een pré voor het winnen van waardevolle stoffen en zal het snel verwerken van de mest leiden tot hogere opbrengsten. Voor het winnen van humuszuren is dit niet het geval.

1 Inleiding

1.1 Mest benaderen als grondstof

De kalversector in Nederland, georganiseerd in de Stichting Brancheorganisatie Kalversector (SBK), DUCARES en Wageningen Livestock Research hebben op basis van technische, economische en organisatorische aspecten de haalbaarheid verkend van het winnen van hoogwaardige stoffen uit kalvermest. Het project is gefinancierd door de Publiek Private Samenwerking tussen de Stichting Brancheorganisatie Kalversector, DUCARES en Topsector Agrifood. Het voorliggende onderzoeksrapport is een vervolg op het project Mest vol Waarden I dat is uitgevoerd in 2015. Het doel van het huidige project is het aantonen van de haalbaarheid van het winnen van hoogwaardige stoffen uit kalvermest, anders dan fosfaten, stikstof of energie. Het beoogt zo meer waarde te halen uit kalvermest waardoor mest een waardevolle grondstof wordt voor de bio-based industrie.

De kalversector in Nederland bestaat uit ongeveer 1.850 bedrijven met circa 950 duizend vleeskalveren, waarvan ongeveer 38% rosekalveren en 62% blankvleeskalveren (CBS, 2016). Het geslacht gewicht was in 2015 circa 225 duizend ton terwijl ongeveer 3,3 miljoen ton mest werd geproduceerd (CBS, 2016). Qua gewicht en volume is de mest die geproduceerd wordt dus een belangrijke output. In 2013 werd circa 1,8 miljoen ton vleeskalvermest getransporteerd (RVO, 2013). Een deel hiervan werd aangewend op landbouwbedrijven en een deel werd naar mestverwerkers getransporteerd. Mest wordt centraal verzameld en verwerkt door Stichting Mestverwerking Gelderland (SMG). SMG heeft de capaciteit om jaarlijks 0,78 miljoen ton kalvermest te behandelen (ca. 1/4 van productie) en is hiermee de grootste kalvermestverwerker.

De kalversector is innovatief en wil zich graag verder ontwikkelen. Voor mestverwaarding worden op hoofdlijnen drie stromingen gezien (zie figuur 1.1). Mest vol Waarden richt zich op verwaarding van hoogwaardige stoffen. Dit betekent het winnen van stoffen, met een hoge toegevoegde waarde maar een relatief laag volume. Het project Mest vol Waarden II beoogt het concept voor de valorisatie van faeces en/of urine van kalveren door te ontwikkelen voor een biobased economie; in aanvulling op de gebruikelijke initiatieven rondom terugwinning van mineralen en energie. Hierbij wordt gehoopt een positieve waarde te creëren, waardoor de huidige hoge afzetkosten van de mest voor de kalversector ingeperkt worden en de gebruiker van deze biobased producten van een nieuwe grondstofstroom wordt voorzien. Deze vorm van mestverwaarding zal geen directe oplossing bieden voor het overschot aan mest, omdat het volume mest niet noemenswaardig zal afnemen.

Figuur 1.1 Pyramide mestverwaarden

1.2 Vertrekpunt

Het project Mest vol Waarden is een traject dat opgedeeld is in meerdere fases om uiteindelijk verwaarding van kalvermest (zowel faeces als urine) te realiseren, zie tabel 1. De huidige studie is het vervolg op Mest vol Waarden I (Andeweg et al. 2015) en geeft eerste inzichten in de kansen van kalvermestverwaarding. De eindresultaten van het eerste deel leiden, indien positief, tot een vervolg met het uiteindelijke doel om hoogwaardige stoffen uit kalvermest te winnen en te vermarkten. Het totale traject van Mest vol Waarden bestaat uit 5 fases:

Tabel 1.1 De vijf fases van het Mest vol Waarden Traject.

Fases Mest vol Waarden	Doel
1. Quick scan & expert views	Door middel van internationale literatuurstudies en expertkennis de fijn chemische samenstelling van mest in kaart brengen. Eventueel aangevuld met lab-studies.
2. Haalbaarheidsstudie	Technische mogelijkheden voor het (al dan niet zuiver) winnen van fijn chemische stoffen. Markt potentieel bepalen.
3. Ontwerpopstelling	Op semipraktijkschaal de gewenste stoffen isoleren en het residu verwerken. Business model ontwikkelen.
4. Demo	De opstelling is op demo schaal technisch beproefd en de marktpartijen hebben de ingrediënten beproefd op hun geschiktheid. Er is een volledige business case voor de praktijkexploitatie ontwikkeld.
5. Praktijkexploitatie	De opgedane ervaringen worden in de uiteindelijke praktijkexploitatie geïmplementeerd. De opstelling(en) en exploitatie geeft een economisch en maatschappelijk verantwoord antwoord op de vragen vanuit de kringloopgedachte.

Fase 1 Quick scan & expert interviews is in 2015 uitgevoerd (Andeweg et al. 2015) onder de naam 'Mest vol Waarden I'. Het huidige onderzoek volgt hierop. In onderstaande paragraaf is een korte samenvatting gegeven van het project Mest vol Waarden I. Dit betrof het vertrekpunt voor Mest vol Waarden II.

In Mest vol Waarden I is gedefinieerd dat waardevolle stoffen moeten voldoen aan de volgende voorwaarden:

- niet of lastig synthetisch te maken zijn,
- toepassing hebben die geaccepteerd zijn,
- toepassingen hebben die van waarde zijn,
- voldoende geconcentreerd aanwezig zijn,
- en extraheerbaar zijn

Op basis van een deskstudie aangevuld met een aantal analyses is bepaald welke stoffen aanwezig zijn in mest (anders dan macro en micro nutriënten). In bijlage 1 is een tabel weergegeven met de beschrijving van de aangetroffen stoffen. De kennis van deze stoffen loopt uiteen van "verwachting dat de stof in mest zit" tot "daadwerkelijke onderbouwing door middel van analyses". Op basis van een eerste screening is bepaald dat een aantal stofgroepen interessant zijn om verder te onderzoeken (Humuszuren, Eiwitten, Mucine en Hormonen). Naar aanleiding van de rapportage van Mest vol Waarden I is gediscussieerd over de winbaarheid van andere stofgroepen, hierbij werden de Vetzuren nog aangemerkt als potentiële stofgroep.

1.3 Afbakening Mest vol Waarden II

Doel

Het doel van het project is het vaststellen of de in Mest vol Waarden I vastgestelde potentieel kansrijke stoffen technisch gewonnen kunnen worden en of dit economisch rendabel is en marktpotentieel heeft.

Het onderzoek richt zich op de volgende stofgroepen:

- Humuszuren
- Eiwitten (inclusief Mucine)
- Hormonen
- Vetzuren.

Onderzoeksvraag

De centrale onderzoeksvraag is: welke stoffen of stofgroepen zijn potentieel winbaar zowel qua technische haalbaarheid als qua economische haalbaarheid? En welk vervolgtraject is daarvoor nodig? Per stofgroep zijn separate onderzoeksvragen vastgesteld (mede omdat het kennisniveau en de kennisvraag per stofgroep verschilt). Deze onderzoeksvragen zijn in hoofdstuk 2 verwoord.

Beoogd resultaat

Met het onderzoek moet het kennisniveau van de verschillende stofgroepen vergroot worden waardoor de vervolgstrategie bepaald kan worden om richting een pilot of verdere technologische uitwerking te gaan. Concreet zijn er een aantal resultaten beoogd:

- Een overzicht van terug te winnen hoogwaardige stoffen (samenstelling en hoeveelheid) in kalvermest.
- Een overzicht van de technische mogelijkheden en uitdagingen voor het zuiver terugwinnen van deze stoffen (inclusief eventueel nieuw te ontwikkelen technologieën).
- De toepassingsmogelijkheden van deze stoffen voor de kalversector en/of de industrie.
- De marktpotentie en haalbaarheid voor het verwaarden van deze hoogwaardige stoffen.

Scope

Het winnen van de waardevolle stoffen op lab- en vervolgens semi-praktijkschaal wordt uitgewerkt in het vervolgtraject (Ontwerpopstelling). DUCARES heeft voor het winnen van hormonen op laboratoriumschaal een opstelling bedacht. Vooralsnog is hier nog geen praktijktest uitgevoerd en is eerst een deskstudie uitgevoerd.

Het project richt zich op kalvermest, daar de kalversector, inclusief de verzameling en verwerking van kalvermest, goed en centraal georganiseerd (kalvergierzuiveringen) is en dit derhalve de praktische haalbaarheid voor het verwaarden van stoffen vergroot.

Het optimaliseren van de verwerking van het residu (voor bijvoorbeeld mineralen en energie) vallen buiten dit project. Wel wordt er rekening mee gehouden dat het restproduct van de mest op de gebruikelijke wijze be- en verwerkt moeten kunnen worden voor energie en mineralen terugwinning.

2 Aanpak en werkzaamheden

2.1 Proces en deelvragen

Het onderzoek is ingedeeld in twee sporen: technologisch en organisatorisch/markt. Beide sporen zijn simultaan uitgevoerd.

Gestart is met de inventarisatie van de kennisleemten per stofgroep vanaf het startpunt Mest vol Waarden I, op basis van de leemten zijn de onderzoeksvragen bepaald.

Humuszuren:

- Welke gehalten aan humuszuren zijn aanwezig in kalvermest?
- Welke extractiemogelijkheden zijn voor humuszuren uit kalvermest mogelijk?
- Welke initiatieven voor de winning van humuszuren zijn er en bieden deze kansen voor kalvermest?
- Wat zijn de te verwachten kosten en opbrengsten?

Eiwitten (inclusief Mucine)

- In Mest vol Waarden is vastgesteld dat een groot aantal eiwitten aanwezig zijn in de kalvermest. Wat is de functie van deze eiwitten en waar zijn deze voor te gebruiken?
- Welke extractiemogelijkheden zijn er voor de extractie van eiwitten uit kalvermest?
- Welke marktpartijen zijn geïnteresseerd in eiwitten uit mest?
- Wat zijn de te verwachten kosten en opbrengsten?

Hormonen

- Welke gehalten aan hormonen zijn aanwezig in faeces in urine?
- Welke extractiemogelijkheden zijn er voor hormonen uit kalvermest of urine?
- Welke marktpartijen zijn geïnteresseerd in hormonen uit mest?
- Wat zijn de te verwachten kosten en opbrengsten?

Vetzuren

- Welke gehalten aan vetzuren zitten er in kalvermest?
- Zijn er marktpartijen geïnteresseerd in de extractie van vetzuren uit kalvermest?

Door middel van aanvullende chemische analyses, en een deskstudie bestaande uit literatuuronderzoek en expert/marktconsultatie zijn deze onderzoeksvragen beantwoord.

2.2 Aanvullende chemische analyses

Om te bepalen of stoffen winbaar zijn is het van belang om inzicht te hebben in de aanwezige gehalten van deze stoffen in de kalvermest. Voor humuszuren, vetzuren, eiwitten en hormonen zijn daarom aanvullende chemische analyses uitgevoerd. In onderstaande paragrafen zijn monsternamen en de uitgevoerde analyses kort beschreven.

Monsternamen voor humuszuren, vetzuren en eiwitbepalingen

Voor de analyse van kalverfaeces zijn op vier verschillende bedrijven monsters genomen op 17 augustus 2016. In tabel 2.1 staan de gegevens van de monsters weergegeven. Voor het bepalen van de gehalten aan vetzuren zijn alleen verse rectale faecesmonsters genomen omdat vetzuren relatief snel afbreken. Voor het bepalen van het gehalte aan humuszuren zijn zowel verse rectale faecesmonsters als monsters uit de mestkelder genomen. De monsters zijn gekoeld getransporteerd en zijn gekoeld bewaard tot aan analyse. Zowel blank- als rosékalvermest is bemonsterd.

Tabel 2.1 Bedrijfslocaties en faecesmonsters

Adres	Plaats	Vlees- kalveren	Leeftijd (wk)	Humus- zuren	nr.	Vetzuren	nr.
Wolfsdijk 4	Ede	Blank	5	Verse faeces	11B	Verse faeces	11A
Zuiderkade 36	Ede	Blank	11	Mestkelder	22	Verse faeces	21
Parallelweg 42	Overberg	Rosé	15	Verse faeces	31B	Verse faeces	31A
Noordereind 5	Kerk- Avezaath	Rosé	41	Mestkelder	42	Verse faeces	41

Humuszuren

De bepaling van de humuszuur gehalten in kalvermest is uitgevoerd door het Chemische Biologisch Laboratorium Bodem (CBLB, Wageningen Universiteit) conform de fractioneringsmethode ISO-12782-4 (vaste stof/grondmonsters). In bijlage 2 is een schema weergegeven waarin deze methode visueel is uitgelegd. Door middel van een aantal stappen (aanzuren, aanloggen, centrifugeren en filtratie) is een onderscheid gemaakt in fulvozuren (FA), humuszuren (HA), hydrofiele (Hy) en hydrofobe organische (HON) stoffen.

N-organisch

De hoeveelheid organisch stikstof in kalvermest is bepaald door het CBLB door middel van een extractie met KCl, hiermee wordt de hoeveelheid N mineraal (N-NO₃ en N-NH₄) gemeten. Daarnaast is een destructie gedaan waarna totaal N wordt gemeten (N organisch = N totaal - N mineraal). Op basis van N-organisch kan indicatief het gehalte aan eiwit bepaald worden door te vermenigvuldigen met een factor 4 (zie paragraaf 3.2.4 voor en verdere beschrijving).

Hormonen

Voor het winnen van hormonen is door DUCARES een praktijkopstelling bedacht. Vooralsnog zijn nog geen testen uitgevoerd maar is eerst een deskstudie uitgevoerd.

Vetzuren

De kalvermestmonsters zijn geanalyseerd op vetzuren door st. LeAF (Stichting Lettinga Associates, verbonden aan Wageningen Universiteit). Hiervoor zijn de mestmonsters met formic acid geschud. In het extract zijn met een GC (HP 5890 GC) de gehalten aan vluchtige vetzuren (C2, C3, i-C4, n-C4, b-C5, n-C5, i-C6, n-C6, i-C7, n-C7, n-C8) gemeten.

2.3 Deskstudie

De deskstudie bestond uit een literatuuronderzoek en het verzamelen van informatie door middel van interviews met experts/marktconsultaties. De resultaten van deze deskstudie zijn verwerkt in hoofdstuk 3.

Het literatuuronderzoek bestond enerzijds uit het op stofniveau zoeken naar relevante wetenschappelijke literatuur en anderzijds naar het zoeken naar bruikbare informatie op het internet (bijvoorbeeld bedrijven, initiatieven kalvermest of winning op andere gebieden). Het doel van de wetenschappelijke literatuurstudie was om de technische kennis op stofniveau te vergroten en het doel van de algemene internet zoektocht was om te bepalen welke initiatieven lopen en welke mogelijk interessante marktpartijen er zijn.

Twee databases (global search en scopus) zijn gebruikt om wetenschappelijke literatuur te zoeken. De volgende zoektermen zijn in verschillende combinaties gebruikt:

- Veal calves, calves, cattle manure, mest, kalveren, vleeskalveren
- Vetzuren, vet, fatty acids, fat, triglyceride
- Humuszuren, humic acids, fulvic acids
- Eiwitten, proteïne, proteïne.

De algemene zoektocht op internet is uitgevoerd met google.nl. Hierbij zijn soortgelijke zoektermen gebruikt. Daarnaast heeft DUCARES specifieke informatie opgezocht over hormonen in kalvermest. Om op korte termijn meer te weten over gehalten in faeces en over anaerobe en aerobe invloeden op hormonen. Het verwaarden van mest zoals bedoeld in het huidige onderzoek staat nog in de kinderschoenen. Daarom is informatie vaak nog niet te vinden in wetenschappelijke literatuur. Door middel van interviews is getracht om een zo goed mogelijk beeld te krijgen van het niveau waarop het verwaarden van mest is en welke andere bronnen aangesproken worden voor het winnen van waardevolle stoffen uit reststromen. Bedrijven die op dit gebied onderzoek doen kunnen conservatief zijn in het delen van informatie. Het kan dus zijn dat het bedrijfsleven al verder is met onderzoek naar mestverwaarding dan het doet voorkomen. Een lijst met geïnterviewde experts vindt u in Bijlage 3.

2.4 Vervolgtraject

Aan het eind van de paragrafen in hoofdstuk 3 is een overall beoordeling gegeven in tabelvorm waarin aangegeven is of een vervolgtraject kansrijk is (tabellen 3.5, 3.11, 3.17, 3.19,). Bij deze beoordeling is het flowschema zoals weergegeven in figuur 2.1 gebruikt. Voor de factoren technische, economische en 'voordeel kalvermest' is de kans van slagen geschat in percentages. Op basis van de geschatte percentages van de drie factoren is een totaal berekend. Dit betreft een gemiddelde, maar indien bij ten minste een van de factoren 0% is ingeschat dan is het eindoordeel ook 0%.

Figuur 2.1 Stroomschema beoordeling haalbaarheid verwaarden kalvermest door middel van winning hoogwaardige stoffen

3 Resultaten en interpretatie

In dit hoofdstuk zijn de resultaten per stofgroep weergegeven en besproken. De analyseresultaten en de resultaten van de deskstudie zijn hierbij geïntegreerd.

3.1 Humuszuren

De bodem bestaat uit een minerale fractie, organische fractie en water en lucht. Bodemkundigen hebben een specifieke groep organische verbindingen als humuszuren aangeduid. Deze groep wordt vastgesteld door middel van een extractiemethode met zuur en basen en filtratie. De extractie methode is dus bepalend (Van Zomeren en Comans 2007). Aan deze humuszuren wordt toebedeeld dat het complexe organische stoffen zijn, met veel aromatische structuren en humuszuren breken minder snel af dan andere organische fracties in de bodem. Het ontstaan van deze humuszuren in de bodem is door Lehmann en Kleber (2015) in twijfel getrokken (Lehmann en Kleber 2015). Het zou een artefact kunnen zijn van de extractie methode zelf (het gebruik van sterke base). In de literatuur is nog geen sterk tegengeluid op het artikel van Lehmann en Kleber (2015) aangetroffen, echter wel duidelijk is dat als humuszuren in hogere gehalten worden gemeten, de bodem over het algemeen positieve eigenschappen bezit (hoge CEC, stabiel organische stof en minder uitspoeling van nutriënten).

3.1.1 Concentratie humuszuren in kalvermest

Bij aanvang van het project was het onbekend welke gehalten aan humuszuren in kalvermest te verwachten waren. Daarom zijn op het uitgangsmateriaal (verse mest en mest uit de mestkelder) chemische analyses uitgevoerd. In tabel 2.1 zijn de gegevens van de monsters weergegeven. De bemonstering is in enkelvoud uitgevoerd, de resultaten geven dus een indicatie van de aanwezige hoeveelheid humuszuren in kalvermest. Met de analyse zijn verschillende fracties onderscheiden: humuszuren (HA), fulvozuren (FA), hydrofobe (HON) en hydrofiele (Hy) fracties (zie tabel 3.1). Vanwege de spreiding in de resultaten en het minimale aantal monsters zijn op basis van de resultaten geen eenduidige uitspraken te doen over verschillen in gehalten tussen rosé/blank kalveren, verse faeces/mest uit mestkelder of leeftijd van de kalveren. Vooral de monsters 11B en 22 vallen op qua resultaat, 11 B heeft een laag vochtgehalte en 22 een laag dissolved organic carbon (DOC) gehalte.

De analysemethode wordt normaliter toegepast op bodemonsters. In het geval van mest treedt enige verstoring op. Dit is visueel vastgesteld, de extracten met humuszuren hebben een lichtere kleur dan normaal. In figuur 3.1 is een foto te zien van het extract waarin de (licht)bruine kleur van de pellet (organische stof die na centrifugeren op de bodem van het buisje samenklontert) en vloeistof is te zien. Daarom is naast de gebruikelijke extractie een waterextractie uitgevoerd die ook gecentrifugeerd is. De stoffen die daarbij op de bodem van het buisje een pellet vormen kunnen mogelijk ook deels in de pellet van de humuszuren terecht komen (interferentie) ondanks dat deze stoffen niet alle eigenschappen van humuszuren zullen hebben. Het verschil in percentage pellet zuur loog t.o.v. totaal volume en pellet water t.o.v. totaal volume geeft een indicatie van de optredende interferentie (voor monster 11B is de interferentie dus waarschijnlijk erg hoog).

Gemiddeld genomen is een gehalte humuszuren van circa 7,5 g/kg aanwezig met een minimum van 3.7 g/kg en een maximum van 9.9 g/kg. Deze getallen zijn (zonder correctie voor interferentie of uitbijters) voor verdere interpretatie gebruikt.

Tabel 3.1 Analyseresultaten humuszuren in gram C per kg verse kalvermest

Monster	DOC*	FA	HA	HY	HON*	Recovery	pellet tov totaal volume zuur/loog	pellet tov totaal volume water	Vocht [% vers materiaal]
	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(%)	(%)	(%)	
11B	36	3,9	9,9	5,5	12,8	78	1,6	1,4	57
22	8	0,6	3,7	0,7	2,2	93	2,5	0,6	93
31B	22	4,9	7,0	7,9	-0,2	85	4,5	0,3	84
42	22	5,4	9,4	5,8	0,5	94	4,7	1,9	88

DOC = Dissolved organic carbon, FA = fulvic acid, HA = humic acid, HY = hydrophilic organic carbon, HON = hydrophobic neutral organic carbon

* Een negatieve waarde kan ontstaan omdat het gehalte HON berekend wordt als zijnde een restgroep. Door meetfouten kan bij lage gehalten HON een negatief waarde ontstaan.

Figuur 3.1 Humuszuren in zuur base extractie

3.1.2 Initiatieven winning humuszuren

Een aantal bedrijven houdt zich bezig met de winning van humuszuren (zie ook tabel 3.2):

- Darling Ingredients¹ heeft een pilot voor de winning van humuszuren bij varkensmest (persoonlijke communicatie Richard van Lijssel). Vooral bij de verwerking van varkensmest blijkt een probleem op te treden met humuszuren in het behandelde water. Bij de behandeling van kalvermest zijn de problemen met humuszuren mogelijk niet zo urgent.
- SMG (Stichting Mestverwerking Gelderland) is tevens aan het experimenteren met het winnen van humuszuren. Onduidelijk is hoever dit onderzoek al gevorderd is.
- Er zijn ook al proeven met het winnen van humuszuren uit rioolwater (STOWA en Grondstoffenfabriek), dit onderzoek is nog gaande.
- Vitens wint humuszuren uit het grondwater dat bestemd is voor drinkwater. Dit water is op diepte door veenpakketten gestroomd en hierdoor zijn humus- en fulvozuren opgelost. Verwijdering is wenselijk vanwege visuele aantrekkelijkheid van het drinkwater, echter bij verwijdering met ionenwisselaar ontstaat een oplossing met humuszuren en fulvozuren en keukenzout. Met diafiltratie wordt een zoutoplossing en een oplossing met humuszuren en fulvozuren gecreëerd

¹ Darling Ingredients: <https://www.darlingii.com>

(Sjoerdsma *et al*, 2013). Deze oplossing met humus en fulvozuren wordt vermarkt onder de naam Humic door Triferto². Onduidelijk is de precieze samenstelling van de oplossing (bijvoorbeeld in het product van Vitens zit nog een gehalte aan keukenzout, onbekend is of het product nog bewerkt wordt). Triferto geeft aan dat er 20% aan humuszuren en fulvozuren in het product aanwezig is.

Tabel 3.2 *Initiatieven winning van humuszuren*

Bedrijf	Grondstof	Techniek	Stand van zaken	Kwaliteit Humuszuren
Darling Ingredients Ecoson ^{*)}	Varkensdrijfmest	Onbekend	Pilot	Onbekend
SMG ^{**)}	Kalverdrijfmest	Onbekend	Pilot	Onbekend
Waterschappen ^{*)**)}	Rioolwater	Onbekend	Pilot	Onbekend
Vitens ^{***)}	Grondwater	Ionenwisselaar en diafiltratie, indampen	Toegepast op bedrijfsschaal	Oplossing bevat 200 g/l organische stof en 2,5 g/l NaCl, Obv veldproef groei stijging van 7%. ³

^{*)} Onderzoek in samenwerking met Triqua/Opure

^{**)} Onderzoek in samenwerking met Tauw

^{***)} Onderzoek in samenwerking met Royal Haskoning DHV

3.1.3 Extractiemogelijkheden van humuszuren

De technieken die mogelijk zijn om humuszuren te winnen zijn in tabel 3.3 weergegeven.

Humuszuurwinning in combinatie met een (an)aerobe behandeling wordt als potentieel mogelijk geacht voor kalvermest. Het gebruik van ionenwisselaar voor het winnen van humuszuren uit drinkwater is al bewezen. Verwacht wordt dat deze techniek ook in te zetten is voor het winnen van humuszuren uit het effluent van een biologische kalvermest zuivering. Mogelijk is voor het winnen van humuszuren ook een vorm van filtratie een optie.

Winnen van humuszuren uit kalverdrijfmest door middel van een zuur base extractie wordt op industrijschaal niet mogelijk geacht omdat interferentie optreedt, tevens zou het verbruik aan zuur en base (eerst naar pH 1 daarna naar pH 10) zeer hoog zijn.

Tabel 3.3 *Extractiemogelijkheden humuszuren*

Technologie	Toepasbaar op kalvermest?	Eindproduct	Opmerking [#]
Zuur base extractie	Ja, technisch mogelijk maar niet wenselijk.	Humuszuren met overige stoffen.	Let op hoog chemicaliën gebruik en er zijn hoge technologische uitdagingen (overige neerslagen).
Fractionering	Toepasbaar op (drijf) mest.	Fulvozuren.	
Filtratie	Onbekend, mogelijk te gebruiken bij effluent van biologische zuivering. Huidige onderzoek is vooral gericht op ionenwisselaar.	Mengsel van Humuszuren en Fulvozuren.	De technische uitdaging is om een eindproduct te creëren met lage gehalten aan (N,P,K) en overige organische stoffen.
Ionenwisselaar en diafiltratie, indampen	Ja, alleen in combinatie met biologische zuivering.	Mengsel van Humuszuren en Fulvozuren (en zouten).	Let op dit is een intensief proces.

[#] Er zijn geen kosten bekend van deze technieken.

² Triferto: <http://www.triferto.eu/nl/home>

³ <https://www.h2owaternetwerk.nl/index.php/vakartikelen/238-peter-sjoerdsma-alexander-laarman-rik-thijssen-bob-bolt-vitens>

3.1.4 Economisch perspectief humuszuren

Er is gekeken naar de opbrengst indien humuszuren ingezet worden in de land en tuinbouw. Dierlijke of menselijke consumptie worden buiten beschouwing gelaten aangezien hier nog een lang traject aan voorafgaat en hiervoor andere bronnen voorradig zijn als bruinkool of veen die meer voor de hand liggen.

In tabel 3.4 zijn de verwachte opbrengsten uit humuszuren weergegeven. Uitgangspunt bij deze berekening zijn:

- De gemeten gehalten (zie paragraaf 3.1.1)
- De prijzen zoals die betaald worden voor humuszuren uit bruinkool en kalium humuszuuroplossingen (0,1 tot 1 euro per kg).

Als daarnaast nog gerekend wordt met een extractie rendement van 60 % dan zijn opbrengsten tussen € 0,2 per ton mest en € 5,9 per ton mest te verwachten.

Tabel 3.4 Opbrengsten humuszuren op basis van globale berekening

Hoeveelheid Humuszuren per ton mest	Opbrengsten per ton mest	
	(min)	(max)
gemiddeld	€ 0,75	€ 7,51
max	€ 0,99	€ 9,88
min	€ 0,37	€ 3,74

Niet meegenomen is in deze berekening dat tijdens het aerobe en anaerobe afbraakproces in een kalvergierbewerkingsinstallatie mogelijk ook humuszuren worden gevormd door de afbraak van organische verbindingen. De prijzen van de extractiemethoden zijn onbekend.

3.1.5 Markt voor humuszuren

Vitens⁴ beweert in 2013 dat de productie van 800 m³ humuszuur (20%) uit drinkwater ruimschoots voorziet in de totale vraag uit Nederland, België en Luxemburg. Uitgaande van een gift van 60 l humuszuren oplossing per hectare⁵ (oplossing met 20% humuszuren) en inzet voor akkerbouw in Nederland (circa 500.000 hectare⁶) dan is de potentiële markt groter dan Vitens voordoet (theoretisch 30.000 m³ 20 % oplossing). Echter dit getal moet worden gezien als een maximum, want toedienen van humuszuren zal niet bij alle teelten, grondsoorten en voedingstoestanden van de bodem voordelig zijn, en mogelijk heeft jaarlijks toedienen ook geen voordeel. Daarom zullen slechts op een beperkt gedeelte van het akkerbouw areaal humuszuren worden ingezet. Ook moet rekening gehouden worden met het feit dat met het toedienen van drijfmest of compost alreeds humuszuren op het land gebracht worden.

Als we uitgaan van

- 25% van de kalvermest wordt ingezet voor het winnen van humuszuren: 0,8 miljoen ton
- en een gemiddeld gehalte van 7,5 g humuszuren/kg kalvermest
- en een winningsrendement van 60%
- en een oplossing met 20% humuszuren.

Dan kan uit kalvermest 18.000 ton 20 % oplossing geproduceerd worden (circa 18.000 m³ oplossing). Verwacht wordt dat deze hoeveelheid binnen de Benelux niet af te zetten is.

Omdat humuszuren een verzamelbegrip is kunnen humuszuren die op de markt gebracht worden qua kwaliteit zeer sterk verschillen. Verschillende mengsels van humuszuren, fulvozuren en overige oplosbare organische stoffen zijn op de markt te verkrijgen. Het gaat hierbij vooral om de marketing, en het betrouwbaar aantonen van de werking van het product. Vitens heeft een aanvoer van

⁴ Mest uit kraanwater, Vitens, Trouw maart 2013

⁵ Triferto, Humic, 2017

⁶ CBS, cijfers Landbouw; gewassen, dieren en grondgebruik naar regio, 2016

humuszuren oplossing met een relatief constante kwaliteit. Voor kalvermest zal dit ook geborgd moeten worden.

Humuszuren worden als vloeistof toegediend en als coating op kunstmest korrels.

3.1.6 Vervolgtraject

Bekend is dat bij SMG en Darling Ingredients onderzoek wordt/is uitgevoerd naar de winning van humuszuren uit (kalver)mest. Omdat vooral de winning van humuszuren in combinatie met aerobe/anaerobe behandeling als potentieel haalbaar wordt geacht zal aansluiting bij SMG of Darling Ingredients de voorkeur hebben. In tabel 3.5 is het verwachte traject weergegeven om tot toepassing in de praktijk te komen. Daarnaast zal geïnvesteerd moeten worden in het vermarkten van het product. Dit betekent dat onderzoek gedaan moet worden naar de werking van de betreffende humuszuren en dat een handelaar in meststoffen (bijvoorbeeld Triferto) aangetrokken moet worden om de humuszuren in de markt te zetten.

Tabel 3.5 Verwachte traject en beoordeling kans van slagen

Doel	Onderzoek (jaren)	Investering onderzoek (k euro)	Technisch [#]	Economisch	Specifiek voordeel kalvermest	Totaal beoordeling
Bodemverbeteraar	0,5-1	150-300	70%	50%	40%	60%
Diervoeding	3-10	150-1.000	70%	70%	0%	0%
Humane voeding	5-15	500-2.000	70%	90%	0%	0%

[#] Zie figuur 2.1 voor beoordelingskader

3.2 Eiwitten

3.2.1 Aanvullende beschouwing eiwitten

In het project Mest vol Waarden I is van een aantal mestmonsters bepaald welke eiwitten erin voorkomen. Dit leverde een lijst op met eiwitten die al dan niet gedeeltelijk intact aanwezig zijn in de kalvermest. Van de eiwitten is uitgezocht welke eigenschappen deze eiwitten hebben en zijn de biologische routes en processen en stoffen die hieraan worden toegeschreven opgezocht. Hierbij moet worden aangemerkt dat hiervoor databases gebruikt zijn met menselijke eiwitten. Het kan dus zijn dat de eiwitten afkomstig van de kalveren een net iets andere werking hebben. De totale lijst van aangetroffen eiwitten is opgenomen in bijlage 4.

Routes

Van een aantal routes (pathways) bleken relatief veel eiwitten aanwezig te zijn in de faeces. In tabel 3.6 zijn deze routes en betreffende eiwitten weergegeven. In bijlage 5 zijn de processchema's voor uitscheiding alvleesklier (pancreatic secretion) en wondheling (complement and coagulation cascades) als voorbeelden weergegeven. De in de faeces aangetroffen eiwitten zijn gekoppeld aan enkele biologische processen. Zoals in bijlage 5 ook te zien is zijn er bij de routes nog veel meer eiwitten betrokken. Toepassing van een groep van eiwitten voor een dergelijke route is dus niet direct mogelijk. Een toepassing zal gezocht moeten worden in een interessant onderliggend biologisch proces. Voor bijvoorbeeld de route uitscheiding alvleesklier zijn enerzijds eiwitten geïdentificeerd die in verteringssappen zitten en eiwitten die betrokken zijn bij het proces van uitscheiden van deze verteringssappen.

Van de onderstaande processen worden uitscheiding alvleesklier en wondheling als interessante routes aangemerkt waarvan voorgesteld kan worden dat winning van dergelijke eiwitten waardevol kan zijn. Op basis van expert judgement wordt van de overige vastgestelde routes verwacht dat toepasbaarheid minder is en daarmee ook de waarde laag zal zijn.

Tabel 3.6 Processen met hoge score op basis van voorkomen eiwitten

Processen	Eiwitten gerelateerd aan proces
Hemostasis	A2M, ACTN1, HBB, F12, PSAP, ANXA2, SERPINA1, SERPINC1, ALB, TF
Pancreatic Secretion	PLA2G2A, CLCA1, CPA1, CTRB1, RAB8A, CELA3B, CLCA4
Response to Elevated Platelet Cytosolic Ca ²⁺	A2M, ACTN1, PSAP, SERPINA1, ALB, TF
Complement and Coagulation Cascades	A2M, F12, SERPINA1, SERPINC1, C3
Selenium Pathway	MPO, HBB, SERPINA3, HBA1, ALB

Stoffen gerelateerd aan aanwezige eiwitten

Op basis van de in de kalvermest aanwezige eiwitten is ook bekeken welke stoffen beïnvloed worden door combinaties van deze eiwitten (zie tabel 3.7). Interessante stoffen kunnen heparine en fibrogeen zijn. Bijvoorbeeld voor bloedtransfusies en wondheling. De overige stoffen worden als minder waardevol beschouwd. Cysteïne kent wel een grote markt als toepassing bij de bereiding van brood. Bereiding van brood met cysteïne uit kalvermest wordt echter niet als sociaal geaccepteerd geacht.

Tabel 3.7 Stoffen gerelateerd aan voorkomende eiwitten in kalvermest

Stoffen	Eiwitten
Calcium	A2M, KRT8, LCN2, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, HBB, HLA-A, PSAP, ANXA2, ANXA4, STOM, SERPINA3, SERPINB1, VIL1, CELA1, CLCA1, ALB, PIGR, ALPI, S100A9, ANPEP, ANXA1, TFF2, CA1, CLCA4
Heparin	A2M, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, F12, ANXA2, ANXA4, SERPINA1, SERPINA3, SERPINB1, SERPINC1, C3, ALB, ANPEP
Serine	A2M, KRT8, LCN2, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, HBB, F12, PSAP, ANXA2, STOM, SERPINA1, SERPINA3, SERPINB1, SERPINC1, PGLYRP1, C3, PIGR, SERPINB4, ANPEP, ANXA1
Creatinine	KRT8, LCN2, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, SERPINA1, SERPINA3, SERPINC1, C3, ALB, ALPI, TF
Fibrogen	A2M, LCN2, F12, SERPINA1, SERPINA3, SERPINC1, C3, ALB, S100A9, TF
Polysaccharide	LCN2, ANXA2, SERPINA1, SERPINA3, SERPINC1, PGLYRP1, C3, ANPEP, TF
Vitamin A	LCN2, SERPINA1, SERPINA3, C3, ALB, PIGR, ALPI, TF
Cholesterol	A2M, PSAP, ANXA2, STOM, SERPINA1, SERPINA3, C3, ALB, S100A9, ANPEP, ANXA1, TF
Lipid	KRT8, PLA2G2A, PLA2G6, PSAP, ANXA2, ANXA4, STOM, SERPINA1, SERPINA3, C3, GP2, ALB, ALPI, S100A9, ANPEP, ANXA1
Phospholipid	PLA2G2A, PLA2G6, PSAP, ANXA2, ANXA4, STOM, SERPINA1, C3, ANXA1
Cysteine	KRT8, PLA2G2A, PLA2G6, HBB, HIST4H4, PSAP, ANXA2, ANXA4, SERPINA1, SERPINA3, C3, ALB, SERPINB4, ANPEP
FMLP	LCN2, MPO, PLA2G2A, ANXA2, SERPINA3, S100A9, ANXA1
Arginine	PLA2G2A, PLA2G6, HBB, HIST4H4, HLA-A, PSAP, ANXA2, ANXA4, SERPINA3, SERPINC1, ANPEP, CA1
Iron	KRT8, LCN2, HBB, ANXA2, SERPINA1, SERPINA3, ALB, TF

Wat kunnen we hiermee?

Duidelijk is dat de meerwaarde gezocht moet worden in een groep van eiwitten die vergelijkbare eigenschappen hebben of gezamenlijk een rol spelen in een biologisch proces. Interessante eiwitten zijn degenen die een rol spelen in bloedstolling en uitscheiden van stoffen uit de alvleesklier. Deze processen kunnen bijvoorbeeld interessant zijn bij (bloed)transfusie of bij verteringsvraagstukken (dus medische toepassing of cosmetisch/technologisch). Vanuit de benadering van stoffen die te relateren zijn aan de eiwitten in kalvermest komt geen economisch interessante stof. Heparine en fibrogeen spelen een rol bij de bloedstolling en kunnen interessante stoffen zijn, verwacht wordt dat deze stoffen niet in winbare gehalten in de faeces aanwezig zijn.

3.2.2 Historische toepassingen van faeces en urine

In de zoektocht naar een toepassingsmogelijkheid voor eiwitten is ook gekeken naar historisch perspectief. Bij biobased onderzoek worden vaker toepassingen uit het verleden gebruikt of opnieuw uitgevonden. Al sinds 8.000 jaar wordt mest gebruikt voor bemesting van het land (A. Bogard *et al.* 2013). Het idee achter historisch perspectief is dat toepassingen uit het verleden kunnen leiden tot innovatieve toepassingen nu. De volgende toepassingen zijn gevonden:

- Bouwmateriaal: soortgelijk gebruik als leem.
- Brandstof: mest drogen en verbranden.
- Productie van kaliumnitraat voor buskruit: mest langdurig overgieten met urine waardoor zoutkristallen ontstaan.
- Leerbewerking: betreft een voorbereiding van huiden met urine en eventueel faeces. Het daadwerkelijke looien wordt met tannine gedaan (bijvoorbeeld uit eikenschors).
- Vervilten van wol (warm water en urine)
- Wassen van textiel (urine)
- Genezing. Aan faeces en urine worden genezende krachten toebedeeld. Vooral in India waar de koe als heilig wordt gezien worden faeces (smeerseltjes) en urine (oraal gebruik) gebruikt als geneesmiddel.

Voor urine zijn meerdere toepassingen gevonden (buskruit, leerbewerking, vervilten wol en wassen textiel) de werkzaamheid wordt in dit geval vooral door ammonium bepaald. Mogelijk dat ook andere stoffen bij deze toepassingen een rol spelen.

Voor faeces zijn bouwmateriaal en brandstof als belangrijkste toepassingen gevonden. Eigenschappen die hiermee samenhangen kunnen interessant zijn. Om als bouwmateriaal te kunnen dienen zal de gedroogde mest cohesie moeten krijgen. De stoffen die hierbij een rol spelen kunnen interessant zijn voor toepassing in lijmen, verven en dergelijken.

Wetenschappelijke onderbouwing van de genezende kracht van faeces en urine is niet gevonden. Vermoedelijk is deze toepassing gestoeld op geloofsovertuiging en cultuur.

3.2.3 Gehalten eiwitten

Om een indicatie te krijgen van de totale hoeveelheid aanwezige eiwitten is de organische stikstoffractie bepaald. In tabel 3.8 zijn de resultaten hiervan weergegeven, tevens is op basis van de meetgegevens indicatief berekend hoeveel procent eiwitten in de mest zouden zitten, uitgaande van een omrekenfactor 4. Voor vlees wordt een factor 6,25 aangehouden en voor granen 5,7, echter voor mest wordt verwacht dat deze factor lager is. Deze factor is niet vastgesteld middels onderzoek.

Tabel 3.8 Analyseresultaten stikstof organisch en berekende hoeveelheid eiwitten

Monster	Stikstof organische g/kg verse mest	Berekende hoeveelheid eiwitten %
11B	10,3	4,1
22	4,1	1,6
31B	4,4	1,8
42	4,1	1,6

Het percentage aan eiwitten in kalvermest is circa 1,6 tot 4,1 op basis van nu gemeten waarden, Chen *et al.* 2003 vond vergelijkbare gehalten, 18 % eiwit per kg droge stof mest, omgerekend naar verse mest is dat circa 2 %. Voor nu wordt een percentage van 2% eiwit aangehouden.

Er is afgezien van het daadwerkelijk bepalen van de hoeveelheid eiwitten vanwege de hoge kosten, en het feit dat met deze indirecte methode voldoende inzicht wordt verkregen. Het analyseren van de afzonderlijke hoeveelheden eiwitten kon niet binnen het budget van het project gerealiseerd worden. Wel kan op basis van de relatieve aanwezigheid een grove schatting gedaan worden over de hoeveelheid van een specifiek eiwit. Bijvoorbeeld voor Mucine (zie bijlage 4 Mucin 13, Cell Surface Associated): gemeten relatieve hoeveelheid 63.651 hits tegen een totaal van 47.994.804 geeft een

percentage van 0,13%. Uitgaande van een totaalhoeveelheid van 2 % eiwitten geeft 0,003 % mucine (oftewel 0,003 g mucine/kg mest).

3.2.4 Extractie mogelijkheden van eiwitten

Bij de winning van eiwitten zullen faeces en urine gescheiden moeten worden bij de bron, of zal als eerste stap een mechanische scheiding ingezet moeten worden. Mechanische scheiding zal moeten leiden tot een dunne fractie waarin de wateroplosbare eiwitten zoveel mogelijk geconcentreerd zijn en de niet in water oplosbare eiwitten zoveel mogelijk in de dikke fractie, zie ook tabel 3.9. Afhankelijk het gewenste product wordt verwacht dat verdere opwerking middels extracties en filtraties zal leiden tot het verkrijgen van een product met een groep van eiwitten. Om een specifiek eiwit te verkrijgen zal een voorbewerking met waarschijnlijk extracties en filtraties uitgevoerd moeten worden gevolgd door chromatografie. Vooral bij de extractie van een specifiek eiwit is het mogelijk dat de winning van overige stoffen bemoeilijkt wordt. Over de haalbaarheid van deze technologieën voor kalvermest kan nog geen uitspraak worden gedaan, daarvoor zullen eerst experimenten uitgevoerd moeten worden.

Tabel 3.9 *Extractiemogelijkheden eiwitten*

Technologie	Eindproduct	Opmerking
1 Mechanische scheiding*	Dikke fractie en dunne fractie	Eerste stap in scheidingsproces. Nog geen bruikbare eiwitfractie. (4 euro per ton mest) [#]
2 Cascadering van extracties en filtraties	Verzameling van zoveel mogelijk eiwitten of groep van eiwitten	Zuiverheden en extractierendement nog niet bekend. (100 euro per ton input) ^{##}
3 Voorbehandeling en chromatografie	Specifiek eiwit	Zuiverheid en extractierendement nog niet bekend. (100.000 euro per ton input) ^{##}

* Een scheiding van urine en faeces bij de bron heeft de voorkeur

[#] KWIN veehouderij 2014-2015

^{##} De kosten voor de scheidingsmethoden zijn een zeer ruwe schatting. Omdat eerst technisch onderzoek nodig is om te bepalen welke scheidingstechnieken daadwerkelijk ingezet moeten worden zijn de maximale prijzen geschat.

3.2.5 Economisch perspectief eiwitten

De vraag of in de kalvermest eiwitten zitten met economisch perspectief is aan enkele experts gesteld. Het bleek echter niet mogelijk om op basis van de lijst met eiwitten en de vermoedelijke werking van deze eiwitten om één van de eiwitten of een groep aan te wijzen als een potentiële haalbare kaart. Wel is duidelijk geworden dat er in drie hoofdrichtingen gedacht kan worden:

- Dierlijke voeding (zoveel mogelijk organische stikstof winnen)
- Cosmetics en gezondheid non medisch, of een technologische toepassing (specifieke groep eiwitten)
- Medische inzet (specifiek eiwit).

Om te bepalen of het winnen van eiwitten economisch haalbaar is, is een grove berekening gedaan op basis van de volgende uitgangspunten:

- Prijs eiwitten voor diervoeding 0,5 euro per kg
- Prijs eiwitten voor cosmetica/technologie 100 euro per kg
- Prijs voor eiwit voor medisch gebruik 100.000 euro per kg
- Percentage eiwitten in faeces 2%
- Gemiddelde gehalten van voorkomen eiwitten voor medisch gebruik (berekend op basis van relatieve voorkomen, zie paragraaf 3.2.3), voor cosmetisch uitgaande van een groep van 5 eiwitten met een gemiddeld voorkomen.

Tabel 3.10 Verwachte opbrengsten eiwitten op basis van globale berekening

Doel	Opbrengst (euro/kg)	Hoeveelheid (kg/ton mest)	Maximale opbrengst (euro/ton mest)	Rendement (%) [#]	Reëel opbrengst (euro/ton mest)
Veevoer	0,5	20	10	70	7
Cosmetisch/technologie	100	2	200	50	100
Medisch	100.000	0,4	400.000	30	120.000

[#] Rendement ingeschat op basis van expert Judgement. Onderzoek zal moeten uitwijzen of deze rendementen gehaald kunnen worden met mest

Ook is gekeken naar Mucine omdat deze stof specifiek genoemd is tijdens Mest vol Waarden I. In de geanalyseerde kalvermestmonsters van Mest vol Waarden I is *Mucin 13, Cell Surface Associated* aanwezig. Echter het gehalte is te laag zijn voor economisch winnen, namelijk 0,003 g/kg mest.

De kosten van extractie (zie tabel 3.10) tegen de potentiële opbrengsten (zie tabel 3.9) geeft:

- Dierlijke voeding; extractie 10 euro per ton, opbrengsten 7 euro per ton
- Cosmetica/technologisch; extractie 100 euro per ton, opbrengst 100 euro per ton
- Medisch; 100.000 euro per ton, opbrengst 120.000 euro per ton.

De geschatte kosten voor extractie en de potentiële opbrengsten liggen in dezelfde ordegrootte bij de huidige uitgangspunten. Voor de kosten van de extractiemethoden zijn maximale kosten ingeschat. Afhankelijk van de gewenste specificaties van de eindproducten en de resultaten van technologisch onderzoek zal moeten blijken wat de daadwerkelijke kosten zijn.

Mulder 2010, deelde verschillende potentiële plantaardige bronnen voor eiwitten als volgt in:

- Groep 1 (eiwitgehalte >50 %) Geschikte eiwitbron
- Groep 2 (eiwitgehalte 25-40 %) Geschikte eiwitbron
- Groep 3 (eiwitgehalte 10-20 %) Eiwitbron maar weinig rendabel
- Groep 4 (eiwitgehalte 5-15 %) Geen rendabele eiwitbron
- Groep 5 (eiwitgehalte <5 %) Geen rendabele eiwitbron.

De kalvermest zou dan in groep 4 of 5 terecht komen, en wordt dus als een niet rendabele bron van eiwitten gezien voor bijvoorbeeld dierlijke voedsel. Deze groepen met lage gehalten aan eiwitten zijn mogelijk wel te gebruiken voor de extractie van specifieke eiwitten.

3.2.6 Markt voor eiwitten

Er is geen vraag naar eiwitten uit kalvermest vanuit de chemische sector. Marktpartijen zullen pas aansluiten indien duidelijke kansen zichtbaar zijn, en tegelijkertijd ook de toepassingen maatschappelijk geaccepteerd zullen zijn (mondelinge informatie Arie Kies DSM).

Tevens zullen andere bronnen waarbij de technologische uitdagingen lager liggen en het gebruik van eiwitten meer geaccepteerd en minder moeilijk qua wet en regelgeving is concurreren met kalvermest. Bijvoorbeeld de interessante eiwitten gerelateerd aan de afgifte van stoffen van de alveesklier zijn zeer waarschijnlijk makkelijker te winnen uit de alveesklier.

3.2.7 Vervolgtraject

Bij de voorgestelde sporen zal nog een investering gedaan moet worden in tijd en geld:

- Dierlijke voeding
 - **Technologisch onderzoek:** ontwerpen extractie, uitwerken technologie, bepalen rendementen, bepalen geschiktheid extract voor diervoeder, bepalen voederwaarde
 - **Sociaal en wet- en regelgeving:** maatschappelijke acceptatie bepalen, wet- en regelgeving aanpassen
 - **Economisch:** bepalen economische potentieel

- Cosmetica/technologisch
 - **Technologisch onderzoek:** ontwerpen extractie, bepalen geschiktheid extracten voor cosmetica/technologie, uitwerken technologie, bepalen rendementen en zuiverheden
 - **Sociaal en wet- en regelgeving:** maatschappelijke acceptatie bepalen, wet- en regelgeving aanpassen
 - **Economisch:** bepalen economische potentieel
- Medisch
 - **Medisch onderzoek:** bepalen nut van aanwezige eiwitten voor medische wetenschap.
 - **Technologisch onderzoek:** ontwerpen extractie, bepalen geschiktheid extracten voor medische werking, uitwerken technologie, bepalen rendementen en zuiverheden
 - **Sociaal en wet- en regelgeving:** maatschappelijke acceptatie bepalen, wet- en regelgeving aanpassen
 - **Economisch:** bepalen economische potentieel.

In tabel 3.11 is het verwachte traject weergegeven om tot toepassing in de praktijk te komen.

Tabel 3.11 Verwachte traject en beoordeling kans van slagen

Doel	Onderzoek (jaren)	Investering onderzoek (k euro)	Technisch [#]	Economisch	Specifiek voordeel kalvermest	Totaal beoordeling
Veevoer	5	150-1.000	50%	0%	50%	0%
Cosmetisch/technisch	5-10	500-4.000	40%	50%	40%	40%
Medisch	10-20	5.000-1.000.000	20%	60%	0%	0%

[#] Zie figuur 2.1 voor beoordelingskader

Om te bepalen wat kalvermest de industrie te bieden heeft zal onderzocht moeten worden welke eiwitfracties winbaar zijn en wat eventuele toepassingsmogelijkheden zijn. Dus het uitvoeren van een fractionering en daarna de verkregen fracties karakteriseren en toepassingen hierbij zoeken. Dit vervolg is gericht op het midden segment cosmetisch/technologie. Met een goede toepassing is het mogelijk een markt te creëren. Verwerkende industrieën als DSM of Henkel zullen betrokken moeten worden bij het vinden van toepassingen bij de verkregen fracties.

3.3 Hormonen

3.3.1 Hormonen in faeces en urine

Gehalten

Op basis van de eerste verkenning in Mest vol Waarden I heeft DUCARES allereerst getracht meer inzicht te krijgen in de gehalten aan hormonen in mest. In Mest Vol Waarde I is uitgegaan van een beperkte set data van urinemonsters. DUCARES heeft aan de hand van praktijkdata van 2016 een aanvullende beschouwing uitgevoerd. In Mest vol Waarden I werd uitgegaan van gehalten in urine van 57 kalveren. DUCARES beschikt over meerdere data en heeft ter onderbouwing de analysedata van de monitoring van de kalverensector in 2016 gebruikt, dit met instemming van de SKV. Tabel 3.12 geeft een overzicht van de gevonden gehalten van de 6 hormonen die als waardevol worden beschouwd

Tabel 3.12 Gehalten van hormonen in kalverenurine

	Estrone Urine µg/L	17α-Estradiol Urine µg/L	Cortisol Urine µg/L	17α-Testosteron Urine µg/L	17β-Testosteron Urine µg/L	Progesteron Urine µg/L
Aantal kalveren	308	308	654	580	580	590
Laagste gehalte	< DL	< DL	< DL	< DL	< DL	< DL
Hoogste gehalte	0,91	5,4	37	588	32	10
Gemiddelde gehalte	0,04	0,52	1,2	47	1,7	0,9

<DL = kleiner dan de detectielimiet

Hieruit kan worden afgeleid dat in Mest Vol Waarden I, ondanks een beperkte dataset, een redelijk beeld werd gegeven van de te verwachten gehalten in kalverenurine. In de verdere beschouwing worden bovengenoemde data aangehouden.

Voor gehalten in faeces van kalveren moet worden teruggegaan naar een studie van Arts et. al, 1989. Gesteld kan worden dat gehalten in urine hoger liggen dan in faeces. In urine vindt men de hormonen in een geconjugeerde vorm (zie hieronder). Gehalten in urine, zoals genoemd in tabel 3.12 en 3.13, zijn bepaald na enzymatische deconjugatie. In de studie van Arts werden Radio-Immuno-Assay's toegepast.

Tabel 3.13 Gehalten van hormonen in kalverenmest

	17α-Estradiol		17α-Testosteron		17β-Testosteron	
	Urine µg/L	Faeces µg/kg	Urine µg/L	Faeces µg/kg	Urine µg/L	Faeces µg/kg
Gehalte range	1,4 - 16	0,25 - 12	5,7 - 291	6 - 66	2,7 - 18	0 - 3,6
Gemiddelde gehalte	4,7	4,0	81	32	9,1	1,6

N= 10, leeftijd van de mannelijke kalveren 22 weken.

Voor het overige is er over gehalten in mest van kalveren weinig bekend. Het merendeel van de publicaties beschrijven de impact van hormonen bij volwassen runderen op het milieu en de eliminatie van deze stoffen uit de mest. Er wordt nauwelijks gesproken over absolute concentraties.

Verschijningsvormen; base- resp. conjugaten

Hormonen (steroïden) behoren tot een groep van hydrofobe verbindingen. Uitscheiding vindt plaats via de urine en via faeces. In urine zullen hormonen voornamelijk in een geconjugeerde vorm, als een glucuronide of als sulfaat, voorkomen. Als conjugaat verliest het hormoon de hydrofobe eigenschappen, waardoor het wateroplosbaar is en kan worden uitgescheiden (zie figuur 3.2).

Figuur 3.2 Molecuulstructuren 17β-Estradiol 17β-Estradiol-glucuronide

Door Zhang et al (2012) werd onderzoek verricht naar de aanwezigheid van vrije- en geconjugeerde estrogeen in mest en urine van runderen. Om een indruk te krijgen van de verdeling van de verschillende uitscheidingsvormen werden de base-, de sulfaat- en glucuronide-vorm als percentage van het totaal uitgedrukt.

Tabel 3.14 Verdeling vrij- en geconjugeerde oestrogenen in urine en faeces van runderen

	Estron	Estron-sulfate	Estron - glucuronide	17b-Estradiol	17b-Estradiol-sulfate	17b-Estradiol-glucuronide
	URINE			URINE		
Milking Cow	8%	4%	88%	2%	13%	85%
Bull	8%	36%	56%	31%	34%	35%
	FAECES			FAECES		
Milking Cow	83%	17%	n.d.	77%	23%	n.d.
Bull	n.d.	100%	n.d.	41%	59%	n.d.

Met de resultaten van Zhang wordt bevestigd dat een deconjugatie van deze oestrogenen in zowel urine als in mest noodzakelijk is om een zo'n hoog mogelijke opbrengst te krijgen. Aangenomen wordt dat dit ook voor andere hormonen geldt.

Invloeden op de stabiliteit

Medebepalend voor de winbare hoeveelheden hormonen is de manier waarop de mest wordt opgeslagen. Verschillende studies laten zien dat de manier van opslag (aeroob, anaeroob, inkuilen) van invloed is op de al dan niet aanwezigheid van verschillende steroïden.

Volgens Donk et. al. (Donk et. al., 2013) wordt bij de reguliere opslag ("stockpiled") van mest androgenen, mannelijke hormonen, afgebroken en bij composteren de oestrogenen. In zijn algemeenheid geldt dat bij langdurige opslag steroïden degraderen.

Het gebruik van installaties voor de winning van hormonen in z'n algemeenheid, heeft een negatief effect (Ermawati et. al. 2007). Onder aerobe condities breekt ca. 80% van de aanwezige steroïden af terwijl onder anaerobe condities ca. 95% afbreekt.

Eigen onderzoek binnen DUCARES heeft overigens ook laten zien dat de stabiliteit van steroïden (steroïdhormonen) in urine beperkt is (DUCARES, 2012). Met name de β -vormen zijn sterk aan degradatie onderhevig.

Winbare hoeveelheden

Om een indicatie te krijgen van winbare hoeveelheden gaan we allereerst uit van de meest optimale scenario. Hiervoor worden de urine gehalten gebruikt zoals deze in tabel 3.15 zijn genoemd.

Er zal rekening gehouden moeten worden met genoemde invloeden op de stabiliteit en met verliezen bij de opwerking. Omdat nog geen exacte cijfers hierover bekend zijn, wordt een schatting van 50 % verlies aangehouden (dit verlies van 50% wordt gezien als een minimum).

Tabel 3.15 Inschatting winbare hoeveelheden

	E1	17 α -E2	Cort.	17 α -T	17 β -T	Pr.
Gehalte	0,04 μ g/L	0,50 μ g/L	1,2 μ g/L	47 μ g/L	1,7 μ g/L	0,9 μ g/L
Maximale opbrengst per ton 'mest'	0,04 mg	0,5 mg	1,2 mg	47 mg	1,7 mg	0,9 mg
Opbrengst bij 50% verlies	0,02 mg	0,25 mg	0,6 mg	24 mg	0,85 mg	0,45 mg

E1 = Estrone, 17 α -T = 17 α -Testosteron, Cort. = Cortisol, 17 β -T = 17 β -Testosteron, Pr. = Progesteron

3.3.2 Extractiemogelijkheden van hormonen

Op laboratoriumschaal

De DUCARES procedure voor het op laboratorium schaal winnen van hormonen is in figuur 3.3 schematisch weergegeven. Voor een zo'n hoog mogelijke opbrengst zal men allereerst de geconjugeerde verbindingen moeten hydrolyseren bijvoorbeeld met een mengsel van de enzymen glucuronidase en arylsulfatase. Bij de extractie van de vrije steroïden uit mest, urine of een combinatie hiervan kan gebruik gemaakt worden van het apolaire karakter van de steroïden. Hiertoe wordt een hoeveelheid monster geëxtraheerd met een apolair oplosmiddel en gezuiverd via verschillende SPE (solid phase

extratie) en LLE (liquid/liquid extractie) technieken. Tot slot worden de verschillende hormonen gescheiden op een HPLC, uitgerust met een fractieverzamelaar, waarin de verschillende fracties worden opgevangen. Via deze weg is het mogelijk om afzonderlijke verbindingen te isoleren. Echter, het is van belang te realiseren dat zowel urine als faeces een groot aantal verbindingen bevat welke een sterke gelijkenis vertonen met de aangemerkte verbindingen. Dit betekent dat de geïsoleerde fractie nog verdere zuivering moet ondergaan om de zuiverheid op het gewenste niveau te krijgen.

Figuur 3.3 Schematische weergave extractie hormonen op laboratoriumschaal

Op moment van schrijven heeft DUCARES nog niet de beschikking over monsters van een KGBI (kalvergier beweringsinstallatie). Bij een vervolg zal DUCARES allereerst verschillende fracties vanuit een KGBI onderzoeken op gehalten en extraheerbaarheid. Fracties met hoge gehalten zijn niet interessant indien door sterke verontreiniging de extractieopbrengst erg laag is.

Op industriële schaal

Industriële toepassingen voor isolatie van hormonen uit afvalstromen is er meestal op gericht om grote hoeveelheden schadelijke stoffen (i.e. steroïden) uit afvalstromen te verwijderen. Veelal worden membranen, oxidatoren, reductoren gebruikt om dit te bewerkstelligen. Het gebruik van oxidatoren en/of reductoren zal echter leiden tot verlaging van de hoeveelheden aan hormonen (Donk et al., 2013, Ermawati et al., 2007 en Liu et al., 2012).

Bij het isoleren van hormonen zullen technieken gebruikt moeten worden waarbij de hormonen in enige mate selectief uit de bulk kunnen worden gehaald. DUCARES heeft het in verleden meegewerkt aan een pilot waarbij door middel van absorptie (polymeer gecoate buizen) steroïden op een eenvoudige wijze uit urine konden worden geëxtraheerd (DUCARES 2010). Mogelijk dat dit soort technieken aangewend kunnen worden in een dergelijk proces.

3.3.3 Markt voor hormonen en economisch perspectief

Partijen welke mogelijk geïnteresseerd zijn in steroïden, met als voorwaarde dat dit ethisch verantwoord moet zijn, zijn beperkt. Steroïden worden met name in de farmaceutische industrie gebruikt. Hormoontherapieën worden bijvoorbeeld nog veelvuldig gebruikt in de oncologie en bij ouderdomskwalen, echter, het gebruik van alternatieven selectieve androgen/estrogen receptor modulators/ (SARM/SERM) neemt toe. Verder worden hormonen nog gebruikt in researchinstellingen (laboratoria), deze hoeveelheden zijn waarschijnlijk beperkt.

De eerdergenoemde lijst van steroïden zijn commercieel relatief eenvoudig te verkrijgen. In tabel 3.16 is een schatting gegeven van de waarde per hormoon bij een opbrengst vanuit de 'mest'. Hierbij werd uitgegaan van gehalten in urine (zie tabel 3.12) en de aanname dat 50% (verwacht maximum) hiervan winbaar zou zijn.

Tabel 3.16 Schatting van de commerciële waarde per hormoon

	E1	17 α -E2	Cort.	17 α -T	17 β -T	Pr.
Opbrengst 1 ton kalvermest [#]	0,02 mg	0,25 mg	0,6 mg	24 mg	0,85 mg	0,45 mg
Commerciële prijs per gram zuivere stof	€ 33	€ 733	€ 15	€ 1468	€ 9,40	€ 3,70
Waarde hormoon uit 1 ton mest	€ 0,0007	€ 0,18	€ 0,009	€ 35	€ 0,008	€ 0,002

[#] Ruwe schatting

De voorgestelde isolatie en zuivering is complex en arbeidsintensief. Het omzetten van dit proces van laboratoriumschaal naar industriële schaal zal slechts tot een beperkte vereenvoudiging van het proces kunnen leiden. Een bijkomend nadeel is de inzet van chemicaliën. Alleen al de kosten van de benodigde chemicaliën en niet te vergeten de afvoer daarvan, overstijgen de geschatte opbrengst van ca. € 35 per ton mest.

3.3.4 Vervolgtraject

Een kans van slagen voor een economisch haalbare winning van hormonen uit mest is uitgesloten. Bovendien heeft kalvermest geen specifiek voordeel ten opzichte van andere bronnen. Een vervolg van het onderzoek is niet opportuun.

Tabel 3.17 Verwachte traject en beoordeling kans van slagen

Doel	Onderzoek (jaren)	Investering onderzoek (k euro)	Technisch [#]	Economisch	Specifiek voordeel kalvermest	Totaal beoordeling
Medisch/ Chemisch	-	-	60%	0%	0%	0%

[#] Zie figuur 2.1 voor beoordelingskader

3.4 Vetzuren

3.4.1 Concentratiebepaling

Beredeneerd vanuit voeding en vertering wordt verwacht dat langere vetzuren (langer dan C5) niet aanwezig zijn in de faeces (ten minste niet in hoge gehalten), wel kunnen (langere) vetzuurstaarten aan celmateriaal zitten (persoonlijke communicatie Leon de Jong). De voeding wordt namelijk zo afgestemd op het verteringsstelsel van de kalveren dat zoveel mogelijk vetzuren opgenomen worden. Indien vetten of vetzuren in de faeces terecht zouden komen dan is dit een niet noodzakelijk verlies. Vooral de vetzuren groter dan C6 kunnen interessant zijn. Tevens kan de C5 vetzuur iso-valeriaan nog interessant zijn (persoonlijke communicatie Jacco van Haveren).

Om meer gevoel te krijgen bij de te verwachten gehalten aan vetzuren zijn analyses uitgevoerd. Er is een analyse gedaan op verse faeces monsters waarbij de vetzuren C2 t/m C8 zijn gemeten. Alleen C2 t/m C5 zijn aangetroffen voor zowel blank- als rosé vleeskalveren (zie tabel 3.18). Tijdens de literatuurstudie van Mest vol Waarden I werden gehalten in vergelijkbare orde grootte aangetroffen. De vetzuren >C8 zijn niet gemeten, deze analyse is afwijkend van standaard en is dus duur, tevens wordt verwacht dat deze vetzuren in lage gehalten aanwezig zijn omdat deze opgenomen worden in het spijsverteringsstelsel van het kalf.

Tabel 3.18 Analyseresultaten vetzuren in gram per kg verse kalvermest

Monster	Acetaat(C2) (g/kg)	Propionaat (C3) (g/kg)	Butyraat (C4) (g/kg)	Valeraat (C5) (g/kg)	Caproaat (C6) (g/kg)	Heptanoaat (C7) (g/kg)	Octanoaat (C8) (g/kg)
11A	3,5	1,8	1,3	0,6	<0,05	<0,05	<0,05
21	3,7	1,3	0,9	0,4	<0,05	<0,05	<0,05
31A	6,3	1,7	1,4	0,2	<0,05	<0,05	<0,05
41	4,5	0,9	1,0	0,1	<0,05	<0,05	<0,05
Gem. #	4,6	1,5	1,2	0,4	<0,05	<0,05	<0,05

Gemiddelde ter indicatie berekend, het betreft verschillende kwaliteiten van kalvermest.

3.4.2 Vetzuren potentie

Vetzuren, vetten en oliën kennen veel toepassingsmogelijkheden, en er is een grote vraag naar (biobased) vetzuren⁷. In figuur 3.4 zijn de toepassingen weergegeven van vetzuren in de VS. Verwacht wordt dat het gebruik van vetzuren uit mest bij enkele van deze toepassingsgebieden sociaal en maatschappelijk geaccepteerd zullen zijn (bijvoorbeeld smeermiddel, plastics, coatings en lijmen en rubbers). Tevens worden korte vetzuren (C2-C6) en middellange vetzuren (C6-C12)

Toepassingen van vetzuren in de VS

toegevoegd aan diervoeders (o.a. kalvervoeders). Naast de energie waarde hebben een aantal vetzuren ook een bacteriële werking (Huang et al. 2011 en Ouattara et al. 1997). In de kalvermest zijn de vetzuren in tienden van procenten tot maximaal 1 % aanwezig. Deze gehalten zijn te laag (zeker bij de aangetroffen economisch oninteressante vetzuren) om verwaard te worden. De vetzuren kunnen wel dienen voor energie conversie bijvoorbeeld via vergisting, al zijn de gehalten hiervoor ook laag.

Figuur 3.4 Toepassingen vetzuren VS (MVO, 201 interpretatie op basis van Bozell 2004)

Iso-valeriaanzuur is als potentieel interessant aangemerkt. Voor C5 is bij de huidige analyse geen onderscheid gemaakt in iso-valeriaan en valeriaan. In de literatuur (Mest vol Waarden I) zijn gegevens gevonden van analyses op kalvermest waarbij een aantal vluchtige vetzuren en aromaten zijn gemeten (Velsen, 1979), iso-valeriaanzuur komt voor in kalvermest volgens deze bron (125 mg/l dus circa 0,12 g/kg). Er zijn geen bronnen aangetroffen wat deze stof zou kosten/welke toepassingen er voor specifiek iso-valeriaanzuur zijn. Valeraanzuur wordt gebruikt voor de productie van een geurstof methylvaleraan. Vanwege de lage gehalten aan iso-valeriaan wordt verwacht dat er geen potentie is voor het winnen van iso-valeriaan uit kalvermest.

3.4.3 Extractiemogelijkheden vetzuren

Het winnen van vetzuren kan door middel van extractie filtratie uitgevoerd worden. Verwacht wordt dat de langere vetzuurstaarten door middel van schudden met een organisch oplosmiddel te extraheren zijn.

3.4.4 Vervolgtraject

Er is nog geen onderzoek gedaan naar de langere vetzuurketens die mogelijk vastzitten aan celmateriaal (vezels) en daardoor niet verteerd zijn door het kalf. Dit is nog een richting voor het

⁷ <http://www.mvo.nl/duurzaamheid/biobased-economy> 2017

verwaarden van kalvermest door middel van het winnen van vetzuren die het onderzoeken waard kan zijn. In tabel 3.19 is het onderzoekstraject geschetst voor vetzuren.

Tabel 3.19 Verwachte traject en beoordeling kans van slagen

Doel	Onderzoek (jaren)	Investering onderzoek (k euro)	Technisch [#]	Economisch	Specifiek voordeel kalvermest	Totaal beoordeling
Langere vetzuurketens (>C8)	1-2	50-250	30%	10%	10%	15%
Kleine vetzuren (<C8)	nvt	nvt	60%	0%	10%	0%

[#] Zie figuur 2.1 voor beoordelingskader

3.5 Totale verwaarding kalvermest

In voorgaande paragrafen zijn de verschillende hoogwaardige stoffen separaat behandeld. In de praktijk dient een verdere verwaarding van de kalvermest plaats te vinden. Waarbij het doel is om zoveel mogelijk waardevolle stoffen te winnen en tevens de overige stromen te kunnen gebruiken voor fosfaat organische stof scheiding en/of energie en bemesting. In tabel 3.20 zijn de verschillende verwaardingsmogelijkheden voor kalvermest weergegeven, hierin zijn ook de sporen P-os scheiding en bemesting en energie opgenomen.

Voor het winnen van de hoogwaardige stoffen zijn extractie en filtratiestappen nodig om een scheiding te krijgen. Bij iedere stap ontstaan twee producten. Mogelijk is het technisch haalbaar om hiermee bij bijvoorbeeld de winning van eiwitten ook in het proces humuszuren, hormonen of vetzuren te winnen. Ook kan het zijn dat bij de extractie en filtratie mengsels van stoffen met soortgelijke eigenschappen ontstaan. Deze mengsels zijn mogelijk ook toe te passen (bijvoorbeeld voor leerbewerking). Om deze mogelijkheden in beeld te krijgen is technologisch onderzoek nodig. Op voorhand kan niet worden bepaald of synergie mogelijk is of extractie van de ene stof winning van de andere stof in de weg staat.

Bij Avebe⁸ wordt bijvoorbeeld sinds 2015 eiwit gewonnen uit een reststroom van de zetmeel winning uit aardappels. De zetmeelaardappels bevatten een relatief laag gehalte aan eiwitten (2-3 %) (Wijnholds, 2005) maar door de combinatie met zetmeelwinning is het mogelijk om de eiwitten ook te winnen.

Als extractie en filtratie stappen worden toegepast voor de winning van de hoogwaardige stoffen dan zal het grote volume geschikt moeten blijven voor verder gebruik. Het toevoegen van een zoute oplossing aan het begin van de extractie filtratie reeks is niet wenselijk. Een organisch oplosmiddel is ook minder wenselijk. Logen en basen toevoegen geeft minder problemen, echter dit kan wel gevolgen hebben voor de kwaliteit van andere hoogwaardige stoffen. En het toevoegen van logen of base heeft een effect op fosfaat organische stof scheiding en het gebruik van de mest als meststof (ammoniak vorming). Maar mogelijk kan ook hierin weer synergie gevonden worden.

Het scheiden van faeces en urine bij de bron is een goede stap om de verwaarding te faciliteren. Hierdoor zal het gebruik van chemicaliën verminderen en de mogelijkheden tot verdere toepassingen verbeteren. Bij het onderzoek naar het verwaarden van bijvoorbeeld plantenresten (Van Dam et al., 2014) wordt ook op deze manier gewerkt. Het afvalproduct wordt eerst opgedeeld in logische eenheden (bijvoorbeeld stengel, blad en bloem) zodat de waardevolle stoffen in zo hoog mogelijke gehalten aanwezig zijn.

⁸ <http://www.avebe.nl/producten/solanic/>, 2017

Tabel 3.20 Overzicht mest verwaarding

Spoor*	Stofgroep	Proces	Product	Toepassing	Gebruik overige stromen	Economisch perspectief
MvW	Eiwitten	Extractie/filtratie	Alle N organisch	Veevoer	Effluent voor verdere verwaarding [#]	Nee
		Extractie/filtratie	Groep eiwitten	Cosmetica/techniek	Effluent voor verdere verwaarding [#]	Mogelijk
		Extractie/filtratie	Specifiek eiwit	Medisch	Effluent voor verdere verwaarding [#]	Nee
MvW	Humuszuren	Anaerobe/aerobe behandeling gevolgd filtratie of ionenwisselaar	Humuszuur/fulvozuur oplossing (opgeloste zouten?)	Bodemverbeteraar	Effluent biologische zuivering lozen Slib biologische zuivering verbranden/bemesting/verwaarden?	Mogelijk
MvW	Hormonen	Extractie/filtratie en GC	Specifiek hormoon	Medisch/onderzoek	Effluent voor verdere verwaarding [#]	Nee
MvW	Vetzuren	Extractie/filtratie	nvt	nvt	nvt	Nee
P-os	Fosfaat	Chemisch	Struviet (zuiver)	Bemesting/industrie	Os fractie bodemverbeteraar of verdere verwaarding	Mogelijk
		Chemisch	Calciumfosfaat (zuiver)	Bemesting/industrie	Os fractie bodemverbeteraar of verdere verwaarding	Mogelijk
		Chemisch en mechanisch	P concentreren	Bemesting	Os fractie bodemverbeteraar of verdere verwaarding	Mogelijk
Regulier	Meststof	Geen	Drijfmest	Bemesting landbouw	nvt	Ja
		Composter	Compost	Bemesting land en tuinbouw particulier	nvt	Ja
		Drogen	Droge mest	Bemesting land en tuinbouw particulier	nvt	Ja
Regulier	Energie	Vergisten	Biogas/elektriciteit/warmte	Energie	Digestaat voor verdere verwaarding/bemesting	Ja
		Verbranden	Warmte	Energie	Nee	Mogelijk
		Pyrolyse	Warmte	Energie	Biochar verdere verwaarding of bodemverbeteraar	Mogelijk

* MvW = Mest vol Waarden, P-os fosfaat organische stof scheiding, regulier = reguliere mestbe/verwerking

[#] Het gebruik van chemicaliën moet wel afgestemd worden op de mogelijkheden van verwerking van de grootste

4 Conclusies en aanbevelingen

Na fase 1 van het traject Mest vol Waarden, waarin mogelijke waardevolle stoffen in kalvermest zijn geïdentificeerd, heeft het huidige onderzoek de technologische en organisatorische situaties voor het winnen en verwaarden van de separate stoffen bepaald. Het winnen en verwaarden van waardevolle stoffen uit mest staat nog in de kinderschoenen. Technologisch zijn er nog een aantal flinke passen te zetten, organisatorisch (marktpartijen, wet- en regelgeving) vraagt ook de nodige aandacht.

4.1 Conclusie

In het huidige onderzoek zijn voor de separate stoffen de technologische en economische organisatorische situaties bepaald:

- Humuszuren
 - Het direct winnen van humuszuren uit kalvermest biedt vanuit technologisch perspectief geen mogelijkheden vanwege een te laag gehalte en het optreden van interferentie van andere stoffen.
 - Winnen van humuszuren binnen een proces van an(ae)robe mestverwerking is een optie. Hiervoor kan aansluiting gezocht worden bij SMG en eventueel Darling Ingredients.
 - Zeer belangrijk is om in te zetten op een goede marketing voor humuszuren. Hiervoor is onderzoek naar de werking van de humuszuren cruciaal.
- Eiwitten
 - Winnen van eiwitten voor diervoer wordt niet rendabel geacht vanwege de relatief lage gehalten aan eiwitten en de uitdagingen die dit meebrengt vanuit wet- en regelgeving.
 - Winnen van eiwitten voor het middensegment (cosmetica/technologie) kan leiden tot acceptabele opbrengsten, technologisch onderzoek is hiervoor nodig met een focus op het isoleren van bepaalde fracties en het bepalen van de functionele eigenschappen hiervan.
 - Winnen van eiwitten voor zeer specifieke inzet, zoals medicijnen, kan leiden tot zeer hoge opbrengsten maar kost ook een investering van vele jaren onderzoek en het resultaat is onzeker.
 - De verwerkende industrie zal pas aansluiten bij het verwaarden van eiwitten uit kalvermest indien duidelijke kansen zichtbaar zijn, en er ook maatschappelijk draagvlak is.
- Hormonen
 - Het winnen van hormonen is technisch mogelijk maar economisch wordt verwacht dat er geen voordeel te behalen is.
 - Er is een markt voor hormonen, deze is qua omvang beperkt. Gedacht kan worden aan medisch gebruik of gebruik voor onderzoek.
 - Onder (an) aerobe condities treedt sterk verlies van hormonen op.
- Vetzuren
 - Vetzuren C2 tot en met C8 zijn geanalyseerd, vanaf C5 zijn de gehalten onder de rapportagegrens.
 - De gehalten aan de minder interessante vetzuren C2-C5 zijn te laag voor het economisch haalbaar winnen van deze vetzuren.
 - Een mogelijkheid is de winning van langere vetzuren die aan onverteerd organisch materiaal zitten. Verwacht wordt dat deze gehalten ook laag zullen zijn. Hiernaar is echter geen onderzoek uitgevoerd.

De stoffen en beoogde toepassingen zijn beoordeeld op basis van technisch en economische haalbaarheid. Tevens is gekeken of voor de betreffende stoffen het logisch is om deze te winnen uit specifiek kalvermest. In tabel 4.1 staan de stoffen waarbij enige kans van slagen wordt verwacht.

Tabel 4.1 Samenvatting beoordeling haalbaarheid verwaarding

Stof en doel	Onderzoek (jaren)	Investering onderzoek (k euro)	Technisch	Economisch	Specifiek voordeel kalvermest	Totaal beoordeling
Humuszuren bodemverbeteraar	0,5-1	150-300	70%	50%	40	60%
Eiwitten Cosmetisch/technisch	5-10	500-4.000	40%	50%	40%	40%
Langere vetzuurketens (>C8), vele toepassingen	1-2	50-250	30%	10%	10%	15%

4.2 Aanbevelingen

Aanbevolen wordt om het vervolg van het project een technologische insteek te geven. Kansen worden gezien bij een totaalbeoordeling van meer dan 40-50% namelijk:

- De winning van humuszuren bij (an)aerobe behandeling. Het vervolgtraject is globaal:
 - Aansluiting zoeken bij (an)earobe kalvergierzuivering, bijvoorbeeld SMG of Darling Ingredients.
 - Vaststellen welke gehalten aan humuszuren gewonnen kunnen worden binnen het proces van kalvergierbehandeling en hoe de winning binnen dit proces het beste kan plaatsvinden.
 - Vaststellen hoe groot het positieve effect is op de bodemvruchtbaarheid.
 - Afzetmarkt creëren in samenwerking met bijvoorbeeld Triferto.
- Het winnen van eiwitten voor cosmetica of een technologische toepassing. Waarbij een mengsel van eiwitten wordt gecreëerd. Het vervolgtraject is globaal:
 - Uitvoeren van extracties/filtraties waarbij verschillende fracties ontstaan.
 - Het bepalen van de functionele eigenschappen van deze fracties en het vinden van een cosmetische of technische toepassing hiervoor.
 - Afzetmarkt creëren in samenwerking met verwerkende industrie (bijvoorbeeld DSM, Henkel).

De winning van de stoffen (humuszuren, eiwitten, hormonen en vetzuren) zal door middel van een aantal extractie en filtratie stappen plaats kunnen vinden, eventueel aangevuld met chromatografie. Een interessante richting is het vinden van synergie bij de winning van de betreffende stoffen. Mogelijk kunnen ook mengsels met verschillende organische stoffen met vergelijkbare eigenschappen bruikbaar zijn. De toe te passen extractie methode zal proefondervindelijk vastgesteld moeten worden om een uitspraak te doen over synergie of mogelijke beperkingen voor de winning van de verschillende stoffen.

Over het algemeen is het bij de bron scheiden van faeses en urine een pré voor het winnen van waardevolle stoffen en zal het snel verwerken van de mest leiden tot hogere opbrengsten. Voor het winnen van humuszuren is dit niet het geval.

Literatuur

- Andeweg K., F.R. Leenstra, N. Verdoes, M. Timmerman, N. Verdoes,. Mest vol Waarden. Een verkenning naar waardevolle stoffen in kalvermest. Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Vertrouwelijk Livestock Research Report 439, 2015.
- Arts C. J. M., M.J. van Baak, H. van den Berg, R. Shilt, P.L.M. Berende, J.M.P. Den Hartog, Concentrations of the endogenous steroid hormones oestradiol-17 β , testosterone and progesterone in veal calves in relation to the possibilities for the control of illegal administration. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 41 (3) (1990) 58-62
- Bogard A., Rebecca F.,Heaton T. H. E., Wallace M, et al., Crop manuring and intensive land management by Europe's first farmers, *PNAS* July 30 2013, vol. 110 no. 31 12589–12594
- Boshuis P., R. Lamers, DUCARES, Long term stability of Androgens, Estrogens, Stilbenes and RAL;s in bovine urine Poster presentation Euroresidue VI 2012
- Bozell J., Oleochemicals as a Feedstock for the Biorefinery: High Value Products from Fats and Oils, *NREL* 2004
- Chen S., J.H. Harrison, W. Liao, D. C. Elliott, C. Liu, M. D. Brown, Z. Wen, A. E. Solana, R. L. Kincaid, D. J. Stevens., Value-added chemicals from animal manure, Washington State University and Pacific Northwest National Laboratory, Report 1, Richland, Washington, USA, 2003
- Dam van J.E.G., E. Annevelink, B. van Gogh, M.J.A. van den Oeveret, Kansen voor de valorisatie van biomassa-reststromen in de Greenport Betuwse Bloem, 978-94-6173-705-2, 2014
- Donk et.al. S.J., S. Biswas, W. L. Kranz, D. D. Snow, et al., Transport of steroid hormones in the vadose zone after land application of beef cattle manure *Am. Soc. Of Agric. and Biol. Engineers* (56) 4, 2013 page 1327
- DUCARES, In vial extraction: Using immobilized polymer to extract steroids from urine Poster presentation, Symposium Hormones and Veterinary Drugs 2010
- Ermawati R., S. Morimura, Y. Tang, K. Liu, and K. Kida et al., Degradation and behaviour of natural steroid hormones in cow manure waste during biological treatments and ozone oxidation, *J. of Bioscience and bioengineering* (103) 1, 2007 page 27
- Huang C. B., Y Alimova, T. M. Myers, J.L. Ebersole, Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms, *Achieves of oral biology*, 56 (2011) 650–654
- Lehmann J. and M. Kleber, The contentious nature of soil organic matter, *Nature* vol 000, 00 month 2015, 23 November 2015
- Liu S., G. Ying*, R. Zhang, L. Zhou, et.al., Fate and occurrence of steroids in swine and dairy cattle farms with different farming scales and waste disposal systems *Environmental pollution* (170), 2012 page 190
- Mulder W, Proteins in Biomass Streams, april 2010, Platform Groene Grondstoffen
- Ouattara B., R.E. Simard, R.A. Holley, G.J.P. Piette, A Bégin, Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils, *International Journal of Food Microbiology* 37 (1997) 155–162 against six meat spoilage organisms

-
- Sjoerdsma P., A. Laarman, R. Thijssen, B. Bolt, 2013, Vitens, Waarde uit water: de terugwinning van humuszuren uit de reststroom van de ontkleuring van drinkwater, H2O-Online / 7 juni 2013
- Velsen van, A. F. M., et al. "Anaerobic digestion of calve manure in an upflow reactor." H2O 12(3): 59-63+45 1979
- Wijnholds K.H., Invloed van stikstofniveau en -deling op eiwitgehalte en opbrengst van zetmeelaardappelen, Oktober 2005, Projectnummer: 510428
- Zhang H., J. Shi, X Liu, X. Zhan, J. Dang T. Bo, Occurence of free estrogens; conjugated estrogens and BPA in fresh livestock excreta and their removal by composting in North China Eviron. Sci Pollut Res (21), 2012 page 9939
- Zomeren Van A. and R.J. Comans, Measurement of Humic and Fulvic Acid Concentrations and Dissolution Properties by a Rapid Batch Procedure, VOL. 41, NO. 19, 2007 / Environmental Science and Technology 9 6755

Bijlage 1 Indicatie stoffen in mest (MvWI)

Tabel B1.1 Globale indicatie van stoffen aanwezig in mest aangevuld met stoffen die in kalvermest zijn aangetroffen.

Onverteerde voercomponenten	Microflora	Endogene stoffen	Urine componenten	Restfracties uit mestraffinage
Vezels voor glucose en ethanolproductie, of kraken voor olieproductie (pyrolyse)	Vitaminen (K, B12)	Galzuren, glycoproteïnen, enzymen (o.a. lipase)	Ureum, NH3 (N-bron)	Substraat voor biomassaproductie: eendenkroos, algen, insecten, N-bron voor herkauwers, solid state fermentatie (microbiëel eiwit)
Mineralen: P, N, K, Ca	Aminozuren		Natuurlijke hormonen, o.a. testosteron, corticosteroïden (cortisol, cortison), boldenon	
Spoorelementen: Mg, S, Fe, Al, Na, Cu, Zn, Mn, B, Cr	Bioactieve eiwitten, enzymen, peptiden	Kleurstoffen (biliverdine, bilirubine)		Humuszuur
	(Vluchtige) vetzuren	Overige bioactieve stoffen (lysozyme, immunoglobinen)		
Vetten, calciumzepen	Microbiota	immuun modulerende eiwitten, anti-microbiële eiwitten	Ongewenste componenten: gifstoffen, geneesmiddelen (o.a. antibiotica)	
Onverteerd zetmeel				
Onverteerde eiwitten	Anti-bacteriële eiwitten			
Onverteerde organische stof / restenergie (bron voor bio-energie)			Kleurstoffen (urobiline, porfyrine)	
			Creatinine	
			Purine derivaten o.a. allantoine, urinezuur, (hypo)xanthine	

Bijlage 2 Schema extractie Humuszuren

Figuur B2.1 Schematische weergave bepaling fracties HA, FA, HY en HON

Bijlage 3 Lijst met experts

Tabel B3.1 Experts

Naam	Organisatie	Expertise
Richard van Lijssel	Darling Ingredients	Verwerken slachtafval en mest; Humuszuren
Arie Kies	DSM	Diervoeding dierlijke eiwitten; Eiwitten
Herbert van Veen	SMG	Aerobe anearobe verwerking van kalvermest; Humuszuren.
Mari Smits	WUR	Microbiële biologie; Eiwitten
Marcel Hulst	WUR	Genomica, moleculaire biologie; Eiwitten
Jacco van Haveren	WUR	Chemie en agro-industriële ketens; Vetzuren en eiwitten
Marieke Bruins	WUR	Bioraffinage en proces; Eiwitten
Ariette Matser	WUR	Levensmiddelen en bio-proceskunde; Eiwitten
Martin van Baak	DUCARES	Monitoring kritische stoffen; Hormonen
Peter Boshuis	DUCARES	Detectietechnieken kritische stoffen; Hormonen
Arnaud Duive	Opure	Onderzoek en advies waterbehandeling; Humuszuren

Bijlage 4 Aangetroffen eiwitten

kalf

s=significant Fold change blank/rose = > of < 1.5

non-s = niet significant

Bron	Naam eiwit	symbol	blank kalveren rose	kalveren	significa nt	FC Blank/Rose
BOVIN	Serpin A3-7 / endopin 2	SERPINA3	144,862.00	1.00	s	144862.0
BOVIN	Ras-related protein Rab-8A	RAB8A	79,412.00	1.00	s	79412.0
BOVIN	Cadherin-Related Family Member 2	PLA2G6	336,432.00	2,250.00	s	149.5
BOVIN	Intelectin-2	ITLN2	99,708.00	2,403.00	s	41.5
BOVIN	Intestinal-type alkaline phosphatase	ALPI	218,614.00	5,712.00	s	38.3
BOVIN	Alpha-2-macroglobulin	A2M	32,707.00	1,167.00	s	28.0
BOVIN	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3	ENPP3	501,103.00	25,324.00	s	19.8
BOVIN	Chloride Channel Accessory 1	SERPINB4	445,750.00	28,338.00	s	15.7
BOVIN	SMPDL3B protein	SMPDL3B	110,394.00	8,272.00	s	13.3
BOVIN	TFF2 protein	TFF2	1,241,883.00	98,184.00	s	12.6
BOVIN	Chymotrypsinogen A	CTRB1	548,884.00	54,966.00	s	10.0
BOVIN	Antithrombin-III	SERPINC1	251,364.00	30,320.00	s	8.3
BOVIN	Lysozyme C, intestinal isozyme	LYZ	158,626.00	20,506.00	s	7.7
BOVIN	MPO protein / myeloperoxidase	MPO	94,065.00	12,734.00	s	7.4
BOVIN	Chloride channel accessory 4	CLCA4	822,247.00	117,379.00	s	7.0
BOVIN	Glycoprotein 2 (Zymogen Granule Membrane)	CDHR2	75,168.00	11,177.00	s	6.7
BOVIN	SERPINB4 protein	SERPINB4	150,891.00	25,794.00	s	5.8
BOVIN	Immunoglobulin Lambda-Like Polypeptide 1	WFDC2	31,486.00	5,466.00	s	5.8
BOVIN	Complement C3	C3	316,686.00	63,853.00	s	4.96
BOVIN	Villin 1	VIL1	38,897.00	8,027.00	s	4.85
BOVIN	Leukocyte elastase inhibitor [Homo sapiens (human)]	SERPINB1	401,286.00	92,325.00	s	4.35
BOVIN	Alpha-1-antiproteinase	SERPINA1	1,701,376.00	398,090.00	s	4.27
BOVIN	Annexin A1	ANXA1	60,577.00	15,328.00	s	3.95
BOVIN	Hemoglobin subunit beta	HBB	4,610,727.00	1,182,830.00	s	3.90
BOVIN	Annexin A2	ANXA2	122,980.00	32,459.00	s	3.79
BOVIN	Phospholipase A2, group IIA (Platelets, synovial fluid)	PLA2G2A	2,148,388.00	586,200.00	s	3.66
BOVIN	Phospholipase A2, membrane associated	PLA2G6	3,785,328.00	1,150,510.00	s	3.29
BOVIN	Prosaposin, BOVIN Isoform 2 of	PSAP	36,152.00	11,157.00	s	3.24
BOVIN	Mucin 13, Cell Surface Associated	STOM	63,651.00	20,320.00	s	3.13
BOVIN	Olfactomedin 4	MUC13	190,472.00	61,036.00	s	3.12
BOVIN	Peptidoglycan recognition protein 1	PGLYRP1	185,674.00	63,412.00	s	2.93
BOVIN	Ly6/PLAUR domain-containing protein 8	LYPD8	12,116,180.00	4,503,200.00	s	2.69
BOVIN	Annexin A4	ANXA4	135,997.00	56,434.00	s	2.41
BOVIN	Hemoglobin subunit alpha	HBA1	1,309,867.00	594,277.00	s	2.20
BOVIN	Phospholipase A2, Group VI (Cytosolic, Calcium-Independent)	CLCA1	214,769.00	98,960.00	s	2.17
BOVIN	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade B (Ovalbumin), Member 4	GP2	550,060.00	274,752.00	s	2.00
BOVIN	Stomatin	IGLL1	136,038.00	75,084.00	s	1.81
BOVIN	Factor XIIa inhibitor	F12	300,595.00	169,777.00	s	1.77
BOVIN	Serum albumin precursor BOVIN Serum albumin	ALB	4,773,260.00	2,727,140.00	s	1.75
BOVIN	Aminopeptidase N	ANPEP	453,819.00	266,482.00	s	1.70
BOVIN	WAP Four-Disulfide Core Domain 2	OLFM4	163,305.00	110,796.00	non-s	1.47
BOVIN	Histone H4	HIST4H4	574,250.00	389,989.00	non-s	1.47
BOVIN	Actin, cytoplasmic 1, BOVIN Actin, cytoplasmic 2	ACTN1	600,899.00	410,836.00	non-s	1.46
BOVIN	Odorant-binding protein-like / LCN2 lipocalin 2 [Homo sapiens (human)]	LCN2	131,199.00	95,244.00	non-s	1.38
BOVIN	Mucosal pentraxin / CRP C-reactive protein, pentraxin-related [Homo sap	MPTX1	6,288,852.00	5,442,480.00	non-s	1.16
BOVIN	NAALADL1 protein	NAALADL1	22,029.00	21,194.00	non-s	1.04
BOVIN	Keratin, type II cytoskeletal 8	KRT8	25,536.00	25,198.00	non-s	1.01
BOVIN	Polymeric immunoglobulin receptor	PIGR	472,800.00	509,694.00	non-s	0.93
BOVIN	Chymotrypsin-like elastase family member 1	CELA1	237,202.00	275,181.00	non-s	0.86
BOVIN	Carboxypeptidase A1	CPA1	267,242.00	328,666.00	non-s	0.81
BOVIN	Carbonic anhydrase 1	CA1	73,041.00	134,814.00	s	0.54
BOVIN	Serotransferrin	TF	44,387.00	106,703.00	s	0.42
BOVIN	Proproteinase E = CELA3B chymotrypsin like elastase family member 3B	CELA3B	55,062.00	154,413.00	s	0.36
BOVIN	BOLA class I histocompatibility antigen, alpha chain BL3-7	HLA-A	6,854.00	25,952.00	s	0.26
BOVIN	Protein S100-A9	S100A9	14,764.00	142,963.00	s	0.10
BOVIN	Allergen Bos d 2 / LOC100300091 / homology to Chain A, Bovine Lipocali	BDA20	21,007.00	432,842.00	s	0.05

Identified genes/proteins (53) significant verschillende expressie

Symbol	Full Name	Aliases
A2M	Alpha-2-Macroglobulin	alpha-2-macroglobulin, A2MD, FWP007, S863-7, alpha-2-M, CPAMD5
ACTN1	Actinin, Alpha 1	BDPLT15
ALB	Albumin	albumin, ANALBA, FDAH, PRO0883, PRO0903, PRO1341
ALPI	Alkaline Phosphatase, Intestinal	IAP, glycerophosphatase
ANPEP	Alanyl (Membrane) Aminopeptidase	LAP1, p150, GP150, CD13, PEPN, AP-M, AP-N, APN, hAPN
ANXA1	Annexin A1	calpactin-2, annexin-1, LPC1, chromobindin-9, ANX1, p35
ANXA2	Annexin A2	p36, IIP2, HEL-S-270, LPC2, annexin-2, chromobindin-8, ANX2, ANX2L4, CAL1H, LPC2D, PAP-IV PAP-II, HEL-S-274, PIG28, ZAP36, annexin-4, chromobindin-4, ANX4, P32.5, PP4-X
ANXA4	Annexin A4	ASP, prepro-C3, AHUSS, ARMD9, C3a, C3b, HEL-S-62p, CPAMD1
C3	Complement Component 3	CAB, CAR1, HEL-S-11, CA-I
CA1	Carbonic Anhydrase I	protocadherin-24, PCDH24, PCLKC, PC-LKC
CDHR2	Cadherin-Related Family Member 2	elastase-1, ELA1
CELA1	Chymotrypsin-Like Elastase Family, Member 1	E1, CBPP, EL-1, elastase-3B, ELA3B
CELA3B	Chymotrypsin-Like Elastase Family, Member 3B	CACC, CLCRG1, GOB5, CACC1, CaCC-1, hCLCA1, hCaCC-1
CLCA1	Chloride Channel Accessory 1	CACC, caCC-2, CaCC2, hCLCA4, hCaCC-2
CLCA4	Chloride Channel Accessory 4	CPA
CPA1	Carboxypeptidase A1 (Pancreatic)	CTRB
CTRB1	Chymotrypsinogen B1	B10, CD203c, NPP3, PD-IBETA, gp130RB13-6, PDNP3
ENPP3	Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 3	HAES3, HAEX, HAF
F12	Coagulation Factor XII (Hageman Factor)	ZAP75
GP2	Glycoprotein 2 (Zymogen Granule Membrane)	HBH, alpha-globin, HBA-T3
HBA1	Hemoglobin, Alpha 1	CD113t-C, beta-globin
HBB	Hemoglobin, Beta	H4/g, H4FG, H4/A, H4/B, H4/C, H4/D, H4/E, H4/H, H4/I, H4/J, H4/K, H4/M, H4/N, H4/O, H4F2, H4FA, H4FE, H4FH, H4FI, H4FJ, H4FK, H4FM, H4FN, H4FO, HIST2H4, H4/p, H4FB, H4FC, H4FD
HIST4H4	Histone Cluster 4, H4	HLAA, Aw-19, Aw-24, Aw-33, Aw-34, Aw-36, Aw-43, Aw-66, Aw-68, Aw-69, Aw-74, Aw-80
HLA-A	Major Histocompatibility Complex, Class I, A	IGVPB, 14.1, AGM2, CD179b, IGL5, IGLJ14.1, IGO, VPREB2, lambda5, IGLL, IGL1
IGLL1	Immunoglobulin Lambda-Like Polypeptide 1	HL2, HL-2
ITLN2	Intelectin 2	CARD2, CK8, K2C8, KO, cytokeratin-8, CK-8, CYK8, K8, Keratin-8
KRT8	Keratin 8, Type II	p25, siderocalin, 24p3, MSFI, lipocalin-2, NGAL, HNL
LCN2	Lipocalin 2	LZM, lysozyme
LYPD8	LY6/PLAUR Domain Containing 8	myeloperoxidase
LYZ	Lysozyme	MPTX
MPO	Myeloperoxidase	DRCC1, MUC-13, RECC
MPTX1	Mucosal Pentraxin 1 (Pseudogene)	I100, NAALADASEL, NAALADL
MUC13	Mucin 13, Cell Surface Associated	GC1, Olfd, UNQ362, bA209J19.1, GW112, OLM4, hGC-1, hOlfd
NAALADL1	N-Acetylated Alpha-Linked Acidic Dipeptidase-Like 1	PGRPS, TAG7, PGLYRP, TNFSF3L, PGRP, PGRP-S
OLFM4	Olfactomedin 4	PiGr
PGLYRP1	Peptidoglycan Recognition Protein 1	PLA2L, MOM1, PLA2, PLA2S, PLA51, sPLA2, PLA2B, NPS-PLA2, RASF-A
PIGR	Polymeric Immunoglobulin Receptor	PLA2, GVI, INAD1, iPLA2-VIA, NBIA2A, NBIA2B, PARK14, iPLA2, iPLA2beta, Cal-PLA2, PNPLA9, iPLA2-beta, PLPLA9
PLA2G2A	Phospholipase A2, Group IIA (Platelets, Synovial Fluid)	prosaposin, GLBA, SAP1
PLA2G6	Phospholipase A2, Group VI (Cytosolic, Calcium-Independent)	MEL, RAB8
PSAP	Prosaposin	P14, 60B8AG, L1Ag, MIF, NIF, CFAG, CGLB, LIAG, MAC387, calgranulin-B, CAGB, MRP-14, MRP14
RAB8A	RAB8A, Member RAS Oncogene Family	PI, alpha-1-antitrypsin, A1A, A1AT, PI1, PRO2275, alpha-1-antiproteinase, alpha1AT, AAT
S100A9	S100 Calcium Binding Protein A9	
SERPINA1	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade A (Alpha-1 Antiproteinase, Antitrypsin), Member 1	ACT, alpha-1-antichymotrypsin, GIG24, GIG25, AACT
SERPINA3	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade A (Alpha-1 Antiproteinase, Antitrypsin), Member 3	
SERPINB1	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade B (Ovalbumin), Member 1	HELS7, ELANH2, EI, LEI, M/NEI, MNEI, PI-2, PI2
SERPINB4	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade B (Ovalbumin), Member 4	LEUPIN, SCCA1, SCCA2, PI11, SCCA-2, PI-11
SERPINC1	Serpin Peptidase Inhibitor, Clade C (Antithrombin), Member 1	AT3D, THPH7, AT3, ATIII
SMPDL3B	Sphingomyelin Phosphodiesterase, Acid-Like 3B	ASML3B
STOM	Stomatin	stomatin, EPB7, EPB72, BND7
TF	Transferrin	transferrin, PRO1557, PRO2086, TFQTL1, siderophilin
TFF2	Trefoil Factor 2	spasmolysin, SML1, SP
VIL1	Villin 1	D2S1471, VIL
WFDC2	WAP Four-Disulfide Core Domain 2	EDDM4, dJ461P17.6, HE4, WAP5

Matching score statistics:

High score matches
Med score matches

Score	SuperPath Name (processen)	Matched Genes (Symbols)	# SuperPath Tot	# SuperPath Matched Genes
23.64	Pancreatic Secretion	99	6	PLA2G2A, CLCA1, CTRB1, RAB8A, CELA3B, CLCA4
19.97	Complement and Coagulation Cascades	82	5	2, SERPINA1, SERPINC1, C3
19.33	O2/CO2 Exchange in Erythrocytes	10	3	HBB, HBA1, CA1
18.84	Hemostasis	549	9	A2M, HBB, F12, PSAP, ANXA2, SERPINA1, SERPINC1, MPO, HBB, SERPINA3, HBA1, ALB
18.58	Selenium Pathway	100	5	A2M, PSAP, SERPINA1, ALB, TF
18.51	Response to Elevated Platelet Cytosolic Ca2+	101	5	MPO, LYZ, ANPEP, CA1
14.67	C-MYB Transcription Factor Network	87	4	ANXA2, ANXA4, ANXA1
14.48	Prostaglandin Synthesis and Regulation	31	3	PLA2G2A, PLA2G6, S100A9, ANXA1
12.53	Spinal Cord Injury	128	4	A2M, F12, SERPINC1
11.90	Formation of Fibrin Clot (Clotting Cascade)	57	3	HBB, HBA1, ALB
11.29	Binding and Uptake of Ligands By Scavenger Receptors	66	3	HBB, SERPINA1, HBA1, RAB8A, ALB
10.51	Vesicle-mediated Transport	329	5	PLA2G2A, PLA2G6
10.02	Eicosanoid Synthesis	21	2	PLA2G2A, SERPINC1
9.20	Glypican 1 Network	28	2	A2M, PLA2G2A, PLA2G6, ENPP3, HBB, PSAP, CTRB1, HBA1, ALB, ALPI, ANPEP, CA1
8.82	Metabolism	2254	12	ANXA2, ALB, ANXA1
8.75	Ca, CAMP and Lipid Signaling	122	3	

Score	Name GO_term Biological proces	Matched Genes (Symbols)	# Genes	# Matched Genes
29.93	Negative Regulation of Endopeptidase Activity	147	8	A2M, SERPINA1, SERPINA3, SERPINB1, SERPINC1, C3, SERPINB4, WFDC2
20.16	Blood Coagulation	491	9	A2M, HBB, F12, PSAP, SERPINA1, SERPINC1, C3, ALB,
19.88	Platelet Degranulation	83	5	A2M, PSAP, SERPINA1, ALB, TF
16.35	Hydrogen Peroxide Catabolic Process	20	3	MPO, HBB, HBA1
14.83	Receptor-mediated Endocytosis	172	5	ENPP3, HBB, HBA1, IGLL1, ALB
14.77	Negative Regulation of Interleukin-8 Secretion	4	2	ANXA4, ANXA1
13.60	Positive Regulation of Vesicle Fusion	6	2	ANXA2, ANXA1
13.60	Protection From Natural Killer Cell Mediated Cytotoxicity	6	2	HLA-A, SERPINB4
13.40	Bicarbonate Transport	40	3	HBB, HBA1, CA1
13.29	Retina Homeostasis	41	3	LYZ, ALB, TF
13.29	Platelet Activation	216	5	A2M, PSAP, SERPINA1, ALB, TF
13.06	Proteolysis	523	7	F12, CLCA1, CTRB1, ANPEP, WFDC2, CELA3B, CLCA4
11.86	Low-density Lipoprotein Particle Remodeling	11	2	MPO, PLA2G2A
11.61	Maintenance of Gastrointestinal Epithelium	12	2	SERPINA3, MUC13
11.17	Positive Regulation of Blood Coagulation	14	2	F12, S100A9
10.98	Detection of Bacterium	15	2	HLA-A, PGLYRP1
10.79	Oxygen Transport	16	2	HBB, HBA1
10.70	Defense Response to Gram-positive Bacterium	76	3	PLA2G2A, HLA-A, PGLYRP1
10.48	Negative Regulation of Catalytic Activity	80	3	ANXA2, ANXA4, ANXA1
10.46	Blood Coagulation, Intrinsic Pathway	18	2	A2M, F12
10.43	Negative Regulation of Inflammatory Response	81	3	SERPINC1, PGLYRP1, TFF2
10.02	Fibrinolysis	21	2	F12, ANXA2
9.91	Inflammatory Response	361	5	LYZ, SERPINA3, C3, S100A9, ANXA1
9.76	Phosphatidylethanolamine Acyl-chain Remodeling	23	2	PLA2G2A, PLA2G6

Score	Name compound	Matched Genes (Symbols)	# Genes	# Matched
34.99	Calcium	A2M, KRT8, LCN2, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, HBB, HLA-A, PSAP, ANXA2, ANXA4, STOM, SERPINA3, SERPINB1, VIL1, CELA1, CLCA1, ALB, PIGR, ALPI, S100A9, ANPEP, ANXA1, TFF2, CA1, CLCA4	2367	26
34.53	Heparin	A2M, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, F12, ANXA2, ANXA4, SERPINA1, SERPINA3, SERPINB1, SERPINC1, C3, ALB, ANPEP	505	14
31.49	Serine	A2M, KRT8, LCN2, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, HBB, F12, PSAP, ANXA2, STOM, SERPINA1, SERPINA3, SERPINB1, SERPINC1, PGLYRP1, C3, PIGR, SERPINB4, ANPEP, ANXA1	1633	21
27.98	Creatinine	KRT8, LCN2, MPO, PLA2G2A, PLA2G6, SERPINA1, SERPINA3, SERPINC1, C3, ALB, ALPI, TF	479	12
27.45	FIBRINOGEN	A2M, LCN2, F12, SERPINA1, SERPINA3, SERPINC1, C3, ALB, S100A9, TF	296	10
24.19	Polysaccharide	LCN2, ANXA2, SERPINA1, SERPINA3, SERPINC1, PGLYRP1, C3, ANPEP, TF	280	9
23.64	Vitamin A	LCN2, SERPINA1, SERPINA3, C3, ALB, PIGR, ALPI, TF	207	8
23.44	Cholesterol	A2M, PSAP, ANXA2, STOM, SERPINA1, SERPINA3, C3, ALB, S100A9, ANPEP, ANXA1, TF	639	12
23.34	LIPID	KRT8, PLA2G2A, PLA2G6, PSAP, ANXA2, ANXA4, STOM, SERPINA1, SERPINA3, C3, GP2, ALB, ALPI, S100A9, ANPEP, ANXA1	1259	16
23.04	Phospholipid	PLA2G2A, PLA2G6, PSAP, ANXA2, ANXA4, STOM, SERPINA1, C3, ANXA1	308	9
22.07	Cysteine	KRT8, PLA2G2A, PLA2G6, HBB, HIST4H4, PSAP, ANXA2, ANXA4, SERPINA1, SERPINA3, C3, ALB, SERPINB4, ANPEP	1000	14
21.39	FMLP	LCN2, MPO, PLA2G2A, ANXA2, SERPINA3, S100A9, ANXA1	171	7
20.69	Arginine	PLA2G2A, PLA2G6, HBB, HIST4H4, HLA-A, PSAP, ANXA2, ANXA4, SERPINA3, SERPINC1, ANPEP, CA1	764	12
20.17	Iron	KRT8, LCN2, HBB, ANXA2, SERPINA1, SERPINA3, ALB, TF	285	8

Bijlage 5 Voorbeelden met routes eiwitten

COAGULATION AND COMPLEMENT CASCADES

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life

Wageningen Livestock Research Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl [www.wur.nl/
livestock-research](http://www.wur.nl/livestock-research)

Wageningen Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.