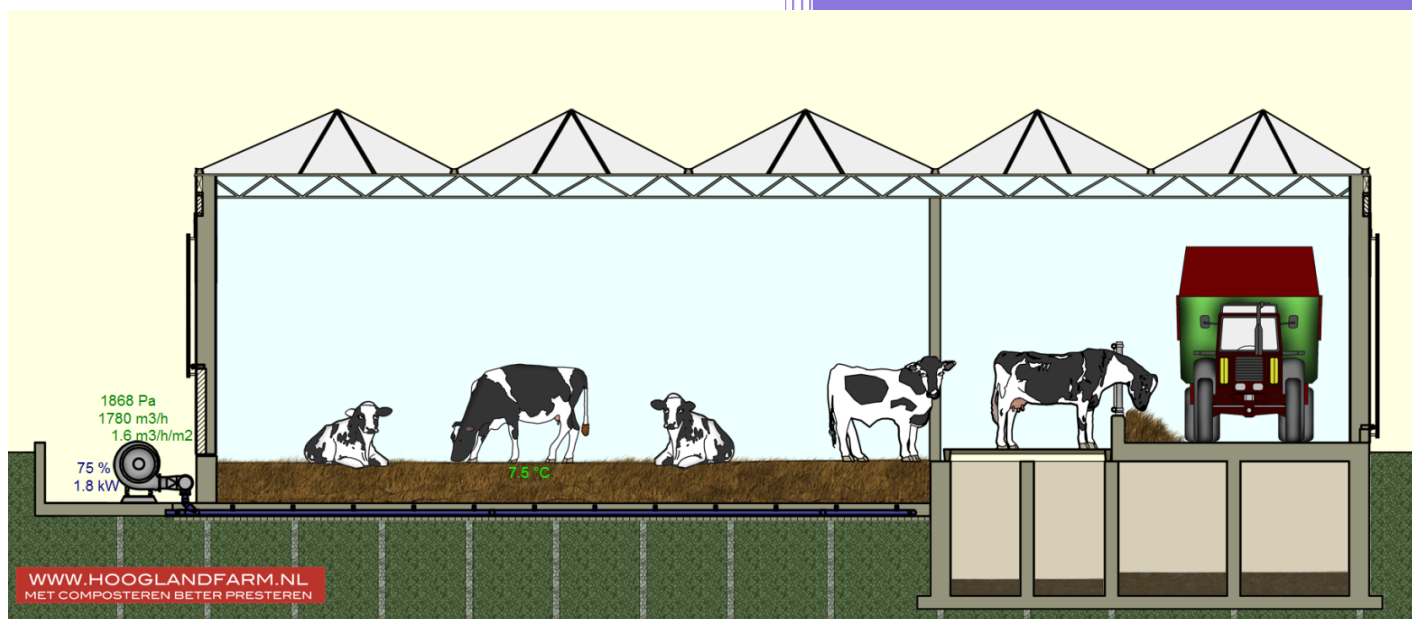


# Heet onder de klauwen

Effect van extra beluchting op de ammoniakemissie en concentratie sporenvormende bacteriën in de composteringsbodem van een vrijloopstal.



Onderzoekstage Diergeneeskunde C2001

Sanne van den End

3051722

April 2014

Begeleiders:

Dr. Tine van Werven

Dr. Gerrit Koop

Departement Gezondheidszorg

Landbouwhuisdieren, faculteit

Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht

## **1. Voorwoord**

Dit onderzoek is uitgevoerd in het kader van de onderzoeksstage van de opleiding Diergeneeskunde Curriculum 2001 aan de Faculteit Diergeneeskunde in Utrecht. In de periode van eind januari tot eind maart zijn er in samenwerking met NIZO food research BV en Bureau Blauw b.v. metingen en monsternames uitgevoerd bij een vrijloopstal met composteringsbodem. De data die hieruit verzameld zijn, vormen de basis voor deze rapportage.

De vrijloopstal met composteringsbodem staat centraal in dit onderzoek. Er zal gekeken worden naar de ammoniakemissie van en concentratie van sporenvormende bacteriën in de composteringsbodem. Beide onderwerpen zijn zeer actueel binnen dit vrij nieuwe huisvestingssysteem voor melkvee. Tevens zal het beluchten van de bodem als mogelijkheid voor een eventueel reguleringsmechanisme onderzocht worden.

Sanne van den End

## 2. Samenvatting

Vrijloopstallen zijn de afgelopen jaren in opkomst in Nederland, en bieden veel voordelen met betrekking tot het uitoefenen van duurzame melkveehouderij. In een dergelijke stal kunnen verscheidene bodems worden toegepast, waaronder een composteringsbodem van houtsnippers. In de composteringsbodem blijken echter hitteresistente sporenvormende bacteriën te groeien, waardoor er uiteindelijk sporen van mesofiele en thermofiele aërobe sporenvormende bacteriën in de melk terecht komen. Deze sporen zijn resistent tegen de hittebehandeling die uitgevoerd wordt bij de verwerking van zuivel, waardoor ze in het latere zuivelproduct kunnen uitgroeien en voor bederf kunnen zorgen. De houdbaarheid van met name de lang houdbare zuivelproducten die naar warme landen geëxporteerd worden, verslechtert. Daarnaast is er nog weinig bekend over de ammoniakemissie van een dergelijke vrijloopstal met composteringsbodem. Omdat de koeien meer vierkante meters tot hun beschikking hebben, blijken de vrijloopstallen een iets hogere emissie op koe-niveau te hebben dan ligboxenstallen. In dit onderzoek hopen we daarom inzicht te krijgen in de mate van ammoniakemissie en het voorkomen van sporenvormende bacteriën in de composteringsbodem en tevens het beluchten van de bodem als mogelijk reguleringsmechanisme te onderzoeken.

Hiertoe zijn er ammoniakmetingen uitgevoerd, monsters van bodem, spenen en melk geanalyseerd en de hygiëne van de koeien gescoord. De gemeten ammoniakconcentraties bleken erg laag te zijn waardoor er geen betrouwbare uitspraak over de totale stalemissie gedaan kon worden. De concentratie sporenvormende bacteriën die in de bodemmonsters uit dit onderzoek aangetroffen werden, lagen naar aanleiding van eerdere onderzoeken, in de verwachting van een composteringsbodem van houtsnippers. Een fractie hiervan treffen we aan op de spenen, en een nog kleinere fractie in de melk. Naast interventiemogelijkheden om de concentratie sporenvormende bacteriën in de bodem te verminderen, kunnen methodes om de transmissie van sporenvormers naar, of de aanwezigheid in melk te voorkomen, dan wel te verminderen, een reguleringsmechanisme zijn om de exportpositie van de Nederlandse zuivelsector te behouden.

# Inhoud

1. Voorwoord .....	1
2. Samenvatting.....	2
3. Inleiding .....	5
Ammoniak emissie.....	5
Sporenvormende bacteriën .....	6
Reguleringsmechanisme .....	7
4. Methode en Materialen .....	9
Vrijloopstal.....	9
Automatisch beluchtingsysteem.....	9
Interventie.....	10
I. Ammoniakmetingen .....	11
II. Metingen voor bepaling sporenvormende bacteriën.....	13
Monstername stalbodemmateriaal.....	13
Monstername wasvloeistof spenen .....	13
Monstername melk.....	14
Analyse monsters .....	14
III. Metingen voor bepaling stal- en bodemklimaat.....	16
Metingen stalklimaat .....	16
Metingen bodemklimaat.....	16
Weersomstandigheden .....	17
IV. Metingen voor bepaling hygiëne koeien .....	17
5. Resultaten.....	18
Ammoniak emissie.....	18
Sporenvormende bacteriën .....	19
Interventie.....	20

Temperatuur en vochtigheid bodem.....	21
Hygiëne koeien.....	24
Ammoniak emissie.....	25
Sporenvormende bacteriën.....	27
6. Discussie.....	32
Ammoniak emissie.....	32
Sporenvormende bacteriën .....	33
Bodem .....	33
Speenwasvloeistof en melk.....	33
Interventie.....	34
Ammoniakemissie.....	35
Sporenvormende bacteriën.....	36
7. Conclusie.....	38
8. Dankwoord.....	39
9. Referenties .....	40
10. Bijlagen .....	42
Bijlage A: Plattegrond vrijloopstal .....	43
Bijlage B: foto's interieur vrijloopstal.....	44
Bijlage C: Foto's beluchtingssysteem vrijloopstal.....	45
Bijlage D: Toelichting sporenvormende bacteriën.....	46
Bijlage E: Meetformulier metingen stal- en bodemklimaat.....	47
Bijlage F: UGCN Hygiëne Scorekaart .....	49
Bijlage G: Aantekeningen onderzoeksperiode .....	50
Bijlage H: Temperatuurverloop bodems .....	58
Bijlage I: Verloop vochtigheid bodems.....	60
Bijlage J: Verloop hygiënescores .....	62

### **3. Inleiding**

Met het oog op de ontwikkeling van duurzame melkveehouderij in Nederland, zijn vrijloopstallen de afgelopen jaren in opkomst. Deze stallen zijn veelal open en ruim opgezet en bieden het melkvee een meer natuurlijke leefomgeving met meer bewegingsvrijheid. In een vrijloopstal kunnen verschillende typen bodems toegepast worden, waaronder de compostbodems. Binnen deze categorie is er een onderscheid te maken tussen een compostbodem en een composteringsbodem. Een compostbodem bestaat uit een mengsel van strooisel en mest waaraan periodiek (vaak wekelijks) een nieuwe laag droge compost wordt toegevoegd. Het vocht uit de mest dat niet verdampt, wordt geabsorbeerd door het bodemmateriaal. Bij een vrijloopstal met composteringsbodem bestaat de bodem uit houtsnippers en zaagsel, waarin de mest en urine van de koeien opgenomen wordt. Slechts enkele keren per jaar worden er nieuwe houtsnippers toegevoegd aan deze bodem. In combinatie met dagelijks frezen, cultiveren of beluchting, vormt er zich een composteringsbodem. Bij een composteringsbodem verdampt het vocht van mest en urine door de warmte uit het composteringsproces. Er ontstaat een zachte en droge toplaag die klauw- en mastitisproblemen helpt te voorkomen en een goede ligplaats voor de koeien biedt.

Vrijloopstallen dragen dankzij de grote bewegingsvrijheid en het gunstige effect op uier- en klauwgezondheid, positief bij aan het welzijn en de gezondheid van het melkvee. Er zijn echter zorgen rondom de emissie van ammoniak en de groei van thermofiele sporenvormers in de composteringsbodem.

#### **Ammoniak emissie**

Uit eerste onderzoeken met oriënterende metingen blijkt dat vrijloopstallen een iets hogere emissie op koe-niveau hebben dan ligboxenstallen (Galama P. et al, 2008). Dit wordt voor een deel veroorzaakt doordat koeien in een vrijloopstal meer vierkante meters per koe tot hun beschikking hebben, een groter met urine en feces bevuild oppervlakte per dierplaats. In een lab opstelling van de Animal Sciences Group van Wageningen UR zijn verschillende bodempakketten na gesimuleerde urinelozing onderzocht op ammoniakemissie waaruit bleek dat de emissie van de organische bodemmateriaal (waaronder compost) als gevolg van urinelozing lager is dan van de anorganische bodemmateriaal (zand, rubber snippers). Het is daarbij zorg dat de bodem niet aangedrukt, maar los en rul is (Smits M.C.J. et al, 2009). Uit later onderzoek bleek dat de ammoniakemissie in een vrijloopstal ten opzichte van een ligboxenstal per m<sup>2</sup> slechts 35% is en per koe net iets hoger: 107% compostbodem waarbij de emissie van de ligboxenstal op 100% is

gesteld (Dooren H.J.C. et al, 2012). Omdat ook vrijloopstallen aan de milieueisen dienen te voldoen, heeft het bepalen van de ammoniakemissie in vrijloopstallen nog nader onderzoek. Daarnaast is er nog weinig bekend in hoeverre de ammoniakemissie te beïnvloeden is bij dergelijke stallen.

Met dit onderzoek hopen we daarom inzicht te krijgen in de mate van de ammoniakemissie van een composterende vrijloopbodem die bestaat uit houtsnippers, urine en mest.

## **Sporevormende bacteriën**

Uit onderzoek van Livestock Research Wageningen en NIZO blijkt dat de concentratie van sporevormende bacteriën in compostbodems bij vrijloopstallen hoger is dan in de bodembedekking met zaagsel van reguliere melkveebedrijven (Dooren H.J.C. et al, 2012). Deze sporevormende bacteriën bevinden zich waarschijnlijk in het voer en komen met de mest in de bodem terecht. Wanneer de koeien op deze bodem liggen, komen de uiers en spenen van de koeien in aanraking met de toplaag van de composteringsbodem en de mest waardoor de huid van de uier en spenen gecontamineerd kan worden. Tijdens het melken komen deze bacteriën en sporen in de melk terecht, uit het onderzoek van Livestock Research Wageningen en NIZO bleek ook een hogere sporenconcentratie in de tankmelk van vrijloopstallen (Zessen T. van, 2013). Doordat de sporen van sporevormende bacteriën resistent zijn tegen de hittebehandeling die uitgevoerd wordt bij de verwerking van melk en in het eindproduct weer kunnen uitgroeien, verslechtert de houdbaarheid van zuivelproducten en zijn met name de lang houdbare zuivelproducten aan bederf onderhevig. De Nederlandse Zuivel Organisatie (NZO) raadt haar leden het gebruik van compost als bodembedekking in melkveestallen sterk af (Zessen T. van, 2013). Zeer recent maakte zuivelcoöperatie Royal FrieslandCampina (RFC) bekend per 1 januari 2015 het gebruik van compost als bodembedekker te verbieden:

Uit onderzoek is gebleken dat compost sterk verhoogde concentraties van sporevormende bacteriën bevat. Deze micro-organismen kunnen leiden tot bederf van bepaalde zuivelproducten. Om de kwaliteit in de keten te waarborgen is de toepassing van compost of gecomposteerd materiaal niet langer wenselijk. Daarom heeft FrieslandCampina besloten over te gaan tot een verbod op het gebruik van compost of gecomposteerd materiaal (materiaal dat is gecomposteerd vóór aanvoer op het melkveebedrijf) als strooiselmateriaal in stallen. Materialen die in de stal kunnen composteren vallen niet onder het verbod, hier wordt nader onderzoek naar gedaan. FrieslandCampina richt een traject in om te komen tot een verbod op het gebruik van

compost of gecomposteerd materiaal vanaf 1 januari 2015. Het verbod zal worden opgenomen in het Praktijkreglement. (Mevr. M.M.J. van der Peet, FrieslandCampina, persoonlijke communicatie, 25 april 2014)

Met dit onderzoek hopen we een inschatting te kunnen geven van het niveau van sporenvormende bacteriën in de bodem en de tankmelk van een vrijloopstal met een composteringsbodem en daarmee van de relevantie van sporenvormende bacteriën in dit type stal.

## **Reguleringsmechanisme**

Een mogelijk reguleringsmechanisme bij vrijloopstallen is het beluchten van de composteringsbodem. Hierdoor wordt buitenlucht van onderaf de bodem ingeblazen waardoor er toevoer van zuurstof is, een essentieel component in het composteringsproces om organische stof af te breken. Door het aanpassen van de frequentie en intensiteit van beluchting kan er wellicht invloed uitgeoefend worden op de temperatuur en het vochtgehalte van de composteringsbodem en zodoende hierdoor het composteringsproces beïnvloed worden.

Het effect van deze interventie zal op het niveau van de ammoniakemissie en de concentratie van sporenvormers in de melk gemeten worden. Een intensievere beluchting heeft mogelijk een positief of negatief effect op de mate van ammoniakemissie. Door het creëren van een drogere bovenlaag van de composteringsbodem, zullen de koeien naar verwachting schoner blijven en zal er minder vuil aan de spenen van de koeien zitten. Na de gebruikelijke droge voorbehandeling van de spenen voorafgaand aan het melken, verwachten we minder sporenvormers in de melk aan te treffen. Daarnaast zal de concentratie van sporenvormende bacteriën wellicht afnemen als de temperatuur van de composteringsbodem beheerst kan worden met beluchting, waardoor de concentratie in de melk uiteindelijk ook afneemt.

Met dit onderzoek willen we een indicatie geven van de mate waarin intensief beluchten de temperatuur en vochtigheid van de bodem beïnvloedt en of deze interventie de ontwikkeling van sporen in de bodem kan beperken. Daarnaast hopen we inzicht te krijgen in de mate waarin intensief beluchten een gunstig effect heeft op de mate van contaminatie van de speenhuid en daarmee op de mate van contaminatie van de melk. Door het creëren van een drogere bovenlaag van de bodem zullen de koeien naar verwachting schoner blijven, waardoor er minder vuil aan de spenen van de koeien blijft hangen. Op deze manier zullen er na de gebruikelijke droge voorbehandeling van de spenen voorafgaand aan het melken minder sporenvormers in de melk worden aangetroffen. Daarnaast zal het beheersen van de temperatuur van de bodem wellicht



minder kans op sporevormers geven, waardoor de concentratie sporevormers in de bodem en daarmee uiteindelijk ook in de melk afneemt.

Met dit onderzoek willen we tevens een indicatie geven van het effect van intensief beluchten op de ammoniakemissie. Zowel in positieve als negatieve zin kan een intensievere beluchting mogelijk effect hebben op de mate van ammoniakemissie.

Indien het beluchten van de bodem een gunstig effect heeft op de ammoniakemissie en de concentratie van sporevormende bacteriën in de bodem, is dit mogelijk een reguleringsmechanisme.

Het doel van dit onderzoek is om een indicatie te geven van de mate van ammoniak emissie en het voorkomen van sporevormende bacteriën in de bodem en melk van deze vrijloopstal met composteringsbodem. Daarnaast is het doel van dit onderzoek inzicht te krijgen in het effect van een intensieve beluchting op de ammoniakemissie, de temperatuur en vochtigheid van de bodem en de mate waarin dit de ontwikkeling van sporevormende bacteriën in de bodem en de contaminatie van spenen en melk kan beperken.

## 4. Methode en Materialen

Voor dit onderzoek werden gedurende acht weken metingen gedaan bij een vrijloopstal met composteringsbodem van een melkveehouder.

### Vrijloopstal

De relatief nieuwe vrijloopstal is in de zomer van 2012 in gebruik genomen, biedt plaats aan maximaal 200 koeien en bestaat uit twee groepshokken voorzien van een composteringsbodem met in het midden een voergang (zie plattegrond in [Bijlage A](#)). Achter de voergang ligt eerst een 4 meter brede emissiearme roostervloer met hieronder een mestput, deze roostervloer loopt door tot de wachtruimte vóór en terugloopruijnte na de melkput. Vanwege het drukke koe-verkeer op deze plaatsen is gekozen voor een roostervloer waarin de mest en urine verdwijnt omdat een bedding met houtsnippers te veel aangedrukt zouden worden. De toegang tot beide composteringsbodems is te regelen met behulp van verticaal schuivende hekken. De lacterende koeien zijn verdeeld over beide ligbedden die elk 15 meter breed zijn. Het kleine groepshok heeft een bedding van ca. 493m<sup>2</sup>, het grote groepshok heeft een bedding van ca. 1065 m<sup>2</sup>, waarvan een deel is afgezet voor de droge koeien. De melkput is voorzien van een 2x 26 swing-over melkstal. Naast de melkput zijn nog aparte separatieruimten die tevens voorzien zijn van een composteringsbodem en roostervloer voor het voerhek. Gedurende het onderzoek waren er 106 koeien aanwezig in de vrijloopstal waardoor er idealiter 14,7 m<sup>2</sup> bedding beschikbaar was per koe.

De stal heeft geen zijwanden, maar is voorzien van zeilen die naar gelang van de luchtvochtigheid automatisch sluiten. De V-vormige bovenbouw van de stal met melkwitte platen bezit kleppen waarmee de luchtinlaat te reguleren is. Met behulp van een ventilator in de stal wordt ook bij warme zomerdagen voor een adequate ventilatie in de stal gezorgd. De composteringsbodem wordt gevormd door een laag houtsnippers van circa 60 cm. diep waarin de mest en urine van de koeien opgenomen wordt. De bodem wordt ongeveer één keer per jaar geheel vervangen. In [Bijlage B](#) zijn enkele foto's opgenomen voor een impressie van de vrijloopstal.

### Automatisch beluchtingssysteem

De vloer is voorzien van een automatisch beluchtingssysteem van GICOM Composting Systems (Gicom) om het composteringsysteem naar behoefte te kunnen sturen. Hiertoe is een systeem van beluchtingsbuizen gemonteerd in de betonnen vloer. Deze buizen met een diameter van 7,5

9

cm. liggen 90 cm. uit elkaar en zijn om de 90 cm. voorzien van kleine openingen waarop conische doppen (spigots) zijn gemonteerd. Via deze openingen wordt er door ventilatoren naar wens lucht door de bedding geblazen wordt. Onderdeel van het automatische beluchtingssysteem zijn verder de sensoren die de tegendruk in de buizen, temperatuur in de bedding en het klimaat in de stal meten. Met behulp van een waterslot wordt de lucht met een constante druk in het systeem geblazen. Het systeem kan met behulp van de software op de computer in de stal gecontroleerd, dan wel aangestuurd worden. In [Bijlage C](#) zijn enkele foto's opgenomen van het beluchtingssysteem.

Het dagelijkse onderhoud van de beide composteringsbodems bestond in de periode voor het onderzoek uit tweemaal daags beluchten en cultiveren om een rulle en luchtige bodem te bewerkstelligen. Het beluchten vond gedurende 15 minuten plaats met 65% ventilatoren-capaciteit. Het cultiveren werd uitgevoerd met cultivatortanden tot een diepte van ca. 40 cm en een rol om kluiten kapot te maken. Naast dat er hierdoor zuurstof in de bovenste bodemlaag terecht komt, worden mest en urine verspreid. Door een adequate stalventilatie en de warmte die vrijkomt bij het composteringsproces, werd gestreefd naar een voldoende droge toplaag.

## **Interventie**

Bij dit bedrijf was het mogelijk om de beluchting van de twee groepshokken afzonderlijk te regelen waardoor het mogelijk was om één hok extra te beluchten en het andere hok als controle te gebruiken. Door de twee groepshokken om de beurt aan een intensiever beluchtingsschema bloot te stellen, kon het effect van extra beluchten op zowel de ammoniakemissie, als op de concentratie sporenvormende bacteriën in de bodem, op de speenhuid en in de melk onderzocht worden. Vóór de interventie werden de koeien in twee groepen verdeeld zodat er zoveel mogelijk uitgegaan kon worden van een gelijke 'koe-dichtheid'.

Het onderzoek was op te delen in vier periodes waarin vier categorieën metingen werden uitgevoerd. Om het effect van beluchting te onderzoeken, werd allereerst in de uitgangspositie (periode 1) de mate van ammoniakemissie in een composterende vrijloopbodem en de concentratie sporenvormende bacteriën in de composteringsbodem, op de spenen en in de tankmelk bepaald. Na interventie met een geïntensiveerd beluchtingsschema, werd het effect van beluchten op de ammoniakemissie en op de concentratie sporenvormende bacteriën in de bodem, op de speenhuid en in de melk worden bepaald. Hiertoe werd allereerst in hok A gedurende 2 weken een geïntensiveerd beluchtingsschema toegepast (30 minuten, 95%) terwijl hok B als controle diende (15 minuten, 65%) (periode 2). Na deze interventie was er een herstelperiode

van 2 weken (periode 3). Vervolgens werd in hok B gedurende 2 weken een geïntensiveerd beluchtingschema toegepast (30 minuten, 95%) en diende hok A als controle (15 minuten, 65%) (periode 4). Gedurende alle periodes werden er drie maal per week metingen gedaan voor het bepalen van het stal- en bodemklimaat, werden de weersomstandigheden bijgehouden en zijn er wekelijks hygiënescores uitgevoerd.

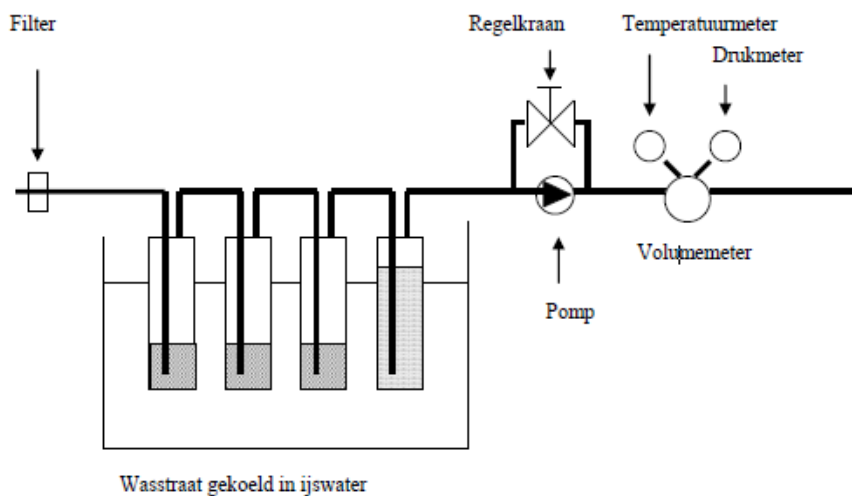
## **I. Ammoniakmetingen**

De ammoniakemissie is per groepshok op drie momenten worden gemeten. De eerste meting is na periode 1 uitgevoerd om de uitgangspositie te bepalen. Om het effect van extra beluchting te meten, werden de tweede en derde meting uitgevoerd na de interventie van respectievelijk periode 2 en 4.

De ammoniakmetingen werden conform de Nederlandse Emissie Richtlijnen (NeR) in drievoud uitgevoerd met een monsternameduur per enkelvoudige meting van 30 minuten, uitgevoerd in serie. Voor de bemonstering werd gebruikt gemaakt van een meettunnel die op de bedding geplaatst werd waardoor er per groepshok 5 m<sup>2</sup> van de bedding bemonsterd werd. Met behulp van een ventilator met een bekend debiet werd de meettunnel door een actief koolfilter heen belucht zodat de ventilatievoud van de meettunnel berekend kon worden. De meetmethode die toegepast is bij dit onderzoek, was de NH<sub>3</sub> door bemonstering over gaswasflessen met absorptievloeistof, volgens NEN 2826 en geaccrediteerd door de Raad voor Accreditatie. Hiervoor werd de monsterlucht via een vlakfilter en een verwarmde teflon leiding naar drie gekoelde gaswasflessen (gevuld met 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) en door een droogkolom (gevuld met silicagel) geleid. Door een monsternamepomp werd de bemonsterde lucht door de wasflessen en droogkolom gezogen en vervolgens door een gekalibreerde droge gasmeter geleid. Deze meetopstelling staat weergegeven in Figuur 1, en een schematische weergave in Figuur 2. De analyses van ammoniak werden door een geaccrediteerd laboratorium uitgevoerd (Rapport Ammoniak metingen bij Hoogland Farm in Montfoort, Buro Blauw).



Figuur 1: Meetopstelling ammoniakemissie grote bedding op 10 februari 2014



Figuur 2: Meetopstelling ammoniakemissie schematisch weergegeven.  
Bron: Rapport Ammoniak metingen bij Hoogland Farm in Montfoort, Buro Blauw

Reeds bij de eerste meting bleek dat de ammoniakconcentraties die afgevangen werden in de meettunnel, zeer laag waren. Om die reden werd de monsternameduur van de tweede en derde meting verlengd. Bij de tweede meting is een verlengde monsternameduur tot 60 minuten toegepast, drievoudig in serie uitgevoerd. Bij de derde meting is een verlengde monsternameduur tot 150 minuten toegepast, drievoudig gelijktijdig uitgevoerd (Rapport Ammoniak metingen bij Hoogland Farm in Montfoort, Buro Blauw).

## II. Metingen voor bepaling sporenvormende bacteriën

Voor de bepaling van sporenvormende bacteriën zijn aan het begin van de eerste periode in beide hokken monsters genomen van de composteringsbodem, spenen en melk om de uitgangspositie van de concentratie aan sporenvormende bacteriën te bepalen. Deze monsternamen zijn aan het einde van periode 2, 3 en 4 herhaald om het effect van de interventie met een geïntensiveerd beluchtingschema te kunnen vaststellen. De monsters werden op de volgende wijze genomen.

### Monsternamen stalbodemmateriaal

Op tien verschillende posities per groepshok werd de composteringsbodem bemonsterd. De posities zijn zodanig gekozen dat het bodemmateriaal representatief was voor het groepshok. Op elke positie is met de hand een plukmonster van ongeveer 25 gram bodemmateriaal genomen van de bovenlaag en een plukmonster van ongeveer 25 gram bodemmateriaal genomen op ca. 30 cm. diepte, indien nodig met behulp van een smal tuinschepje. De tien monsters van de bovenlaag werden samengevoegd tot één verzamelmonster per groepshok, evenals de tien monsters op ca. 30 cm. diepte. Deze procedure werd in het andere groepshok herhaald, zodat deze monsternamen uiteindelijk in vier verzamelmonsters resulteerde.

Tevens is er aan het begin van het onderzoek één monster van ongeveer 250 gram van het verse stalbodemmateriaal genomen. Deze voorraad houtsnippers lag opgeslagen op het buitenterrein, onafgedekt in een betonnen sleufsilos en zal gebruikt worden indien eventuele toevoeging aan de composteringsbodem nodig is. Dit monster is met de hand uit het midden op armlengte diep genomen.

In afwachting van het transport naar en de analyse bij NIZO zijn de monsters maximaal 24 uur gekoeld bewaard geweest bij 4°C, dan wel gelijk na de monsternamen ingevroren bij -20°C.

### Monsternamen wasvloeistof spenen

In de melkstal werden at random 10 koeien per groepshok geselecteerd. De veehouder voerde de reguliere voorbehandeling van de spenen uit welke bestond uit reiniging met een droge papieren wegwerpdoek. Eén van de 2 achterste spenen (om en om linksachter en rechtsachter) is vervolgens gewassen in een fysiologische zoutoplossing. Hiervoor werd 8 ml. fysiologische zoutoplossing in een stevig monsternamenzakje gebracht. Aan de basis van de speen werd de bovenzijde van het monsternamenzakje met duim en wijsvinger gefixeerd, terwijl de speen met behulp van melkende bewegingen met de rest van de hand in de vloeistof gewassen werd. De

spoelvroestof van het wassen van de spenen van de 10 dieren per groepshok is samengevoegd tot één verzamelmonster. Deze procedure werd in het andere groepshok herhaald, zodat deze monsternamen uiteindelijk in twee verzamelmonsters resulteerde.

In afwachting van het transport naar en de analyse bij NIZO zijn de monsters maximaal 24 uur gekoeld bewaard geweest bij 4°C, dan wel gelijk na de monsternamen ingevroren bij -20°C.

### Monsternamen melk

In de melkstal werden at random 10 koeien per groepshok geselecteerd waarbij monsterflessen bevestigd werden aan de betreffende melkglazen. Na het melken van deze koeien is een melkmonster genomen uit deze monsterflessen. Deze procedure werd in het andere groepshok herhaald, zodat deze monsternamen uiteindelijk in twee sets van tien individuele melkmonsters resulteerde.

Daarnaast is er per monsternamen ook een monster van de tankmelk genomen, waar de melk van zes melkbeurten (drie dagen) van het gehele koppel in verzameld was.

In afwachting van het transport naar en de analyse bij NIZO zijn de monsters maximaal 24 uur gekoeld bewaard geweest bij 4°C, dan wel gelijk na de monsternamen ingevroren bij -20°C.

### Analyse monsters

De monsters van de composteringbodems, spenen, melk en tankmelk zijn geanalyseerd in het laboratorium van NIZO om de concentratie sporenvormende bacteriën te bepalen. Er is onderscheid gemaakt tussen sporen van mesofiele aërobe sporenvormers (MAS), sporen van thermofiele aërobe sporenvormers (TAS) en extreem hitteresistente sporen van thermofiele aërobe sporenvormers (XTAS), zie voor een toelichting [Bijlage D](#). Bij de monsters van de composteringbodems, spenen, melk en tankmelk is de concentratie MAS en TAS bepaald, bij de monsters van de composteringbodems is tevens de concentratie aan XTAS bepaald.

Voor de microbiologische analyse ondergingen de monsters allereerst een hittebehandeling. De monsters van het stalbodem materiaal zijn hiertoe in een stomacherzak met filter één op tien verdund met steriel RO-water. In verband met mogelijke lekkage is deze zak in een extra stomacherzak geplaatst en vervolgens gehomogeniseerd in een Stomacher gedurende 2 minuten (200 r.p.m.). Indien het monster te veel grote 'verse' houtsnippers bevatte, werd er voor gekozen dit monster één op tien met steriel RO-water te verdunnen in een monsterpot, te schudden en uit

te laten zakken. De speenwasvloeistof en monsters van melk en tankmelk zijn onverdund en ongeconcentreerd gebruikt voor de analyse.

### *MAS*

Voor de bepaling van MAS werd per monster twee maal 5 milliliter in buizen gepipetteerd waardoor het vervolg in duplo uitgevoerd is. De buizen werden in een waterbad van 80 °C gedurende 13 minuten verhit (effectief: 10 minuten) waarna deze in ijswater gekoeld werden. Het extract is verdund met pepton fysiologisch zout tot  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  en  $10^{-6}$  (bodemmonsters),  $10^0$ ,  $10^{-1}$  (melkmonsters) en  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  (speenwasvloeistof) verdunningen. Vervolgens werd 1 milliliter van elke verdunning gepipetteerd in petrischalen. Deze werden dubbel gegoten met een PCMA-medium als voedingsbodem, waarna de petrischalen gedurende 48 uur in een stoof op 37°C bebroed zijn. Bovenstaande analyse is volgens NEN 6813 uitgevoerd waarmee het gehalte aan sporen van mesofiele aërobe sporenvormende bacteriën in melk en melkproducten bepaald kon worden.

### *TAS*

Voor de bepaling van TAS werd per bodem- en speenwasvloeistofmonster twee maal 5 milliliter en voor melkmonsters twee maal 25 milliliter in buizen gepipetteerd waardoor het vervolg in duplo uitgevoerd is. De buizen werden in een al stomende stoompan bij 100 °C gedurende 30 minuten verhit waarna deze in ijswater gekoeld werden. Het extract is verdund met pepton fysiologisch zout tot  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  en  $10^{-6}$  (bodemmonster),  $10^0$  (melkmonsters) en  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  (speenwasvloeistof) verdunningen. Vervolgens werd 1 milliliter van de bodemmonster- en speenwasvloeistof-verdunning gepipetteerd in petrischalen, en werd 5 milliliter van de melkmonsters gepipetteerd in grote petrischalen. De petrischalen werden dubbel gegoten met een DTA-medium als voedingsbodem, waarna de petrischalen gedurende 48 uur in een stoof op 55 °C bebroed zijn. Bovenstaande analyse is volgens NEN 6809 uitgevoerd waarmee het gehalte aan sporen van thermofiele aërobe sporenvormende bacteriën in melk en melkproducten bepaald kon worden.

### *XTAS*

Voor de bepaling van XTAS werd per bodemmonster twee maal 5 milliliter in potjes gepipetteerd. De potjes werden in een oliebad van 115 °C gedurende 28 minuten verhit (effectief: 20 minuten) waarna deze in ijswater gekoeld werden. Het extract werd verdund met pepton fysiologisch zout tot  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  en  $10^{-3}$  verdunningen waarna 1 milliliter van elke verdunning gepipetteerd werd in petrischalen. Deze werden dubbel gegoten met een BHIA-medium met toegevoegd vitamine B12



als voedingsbodem, waarna de petrischalen gedurende 96 uur (vier dagen) in een stoof op 55°C bebroed zijn. Bovenstaande analyse is uitgevoerd naar een methode die door het NIZO ontwikkeld is.

Na het incuberen zijn de kolonies geteld en de concentratie van MAS, TAS en indien van toepassing, XTAS van elk monster bepaald.

### **III. Metingen voor bepaling stal- en bodemklimaat**

Gedurende de vier periodes zijn er drie maal per week metingen gedaan voor het bepalen van het stal- en bodemklimaat. Deze metingen werden genoteerd op een meetformulier, zie [Bijlage E](#).

#### Metingen stalklimaat

De omgevingstemperatuur en relatieve luchtvochtigheid in de stal zijn tijdens elke meting op één vaste plaats en tijdstip gemeten om het stalklimaat te bepalen.

#### Metingen bodemklimaat

Het bodemklimaat is per groepshok bepaald aan de hand van de temperatuur en de vochtigheid van de bodem.

##### *Temperatuur*

Op tien verschillende posities per groepshok werd de bodem gemeten. De posities werden zodanig gekozen dat het bodemmateriaal representatief was voor het groepshok. De temperatuur is per groepshok op deze tien plaatsen op een diepte van ca. 10 en 30 cm gemeten.

##### *Vochtigheid*

Voor het bepalen van de vochtigheid van de bodem is het droge stof gehalte bodemmonsters bepaald. Hiertoe werden van de bodem per groepshok op deze 10 plaatsen als bij het meten van de temperatuur, plukmonsters genomen. Op elke positie werd met de hand een plukmonster van ongeveer 10 gram bodemmateriaal genomen van de bovenlaag en een plukmonster van ongeveer 10 gram bodemmateriaal genomen op ca. 30 cm. diepte. De tien monsters van de bovenlaag werden samengevoegd tot één verzamelmonster per groepshok, evenals de tien monsters op ca. 30 cm. diepte. Deze procedure werd in het andere groepshok herhaald, zodat deze monsternamen uiteindelijk in vier verzamelmonsters resulteerde. Met behulp van een droge stof tester is het droge stof gehalte van de verzamelmonsters bepaald. Met behulp van een weegschaal is daartoe 100 gram van het verzamelmonster in de metalen zeef afgewogen nadat deze gemengd was. Het

monster werd goed in de zeef verdeeld en in de metalen koker van de tester geplaatst. Elke 10 minuten diende het monster gewogen te worden, tot het gewicht twee maal niet was afgenomen, waarna het eindgewicht genoteerd kon worden: het percentage droge stof gehalte van het betreffende verzamelmonster. Door dit percentage van 100% af te trekken, hebben we de maat voor de vochtigheid van de bodem bepaald. Dit werd herhaald voor alle vier de monsters per monstername. Om geen monstermateriaal te verliezen, was het van belang de droge stof tester uit de wind te gebruiken en behoedzaam met de zeef en het monster hierin om te gaan tijdens de weegmomenten.

#### Weersomstandigheden

Gelijktijdig met de metingen voor bepaling stal- en bodemklimaat, zijn de weersomstandigheden genoteerd. Hiervoor werd gebruik gemaakt van de actuele waarnemingen van het dichtstbijzijnde KNMI-meetpunt: Cabauw. Deze gegevens waren online beschikbaar via Weerplaza.

#### **IV. Metingen voor bepaling hygiëne koeien**

Om een indruk te krijgen van het effect van de extra beluchting van de composteringsbodem op de hygiëne van de koeien, werden er gedurende de vier periodes koeien gescoord volgens de hygiënescorekaart van het UGCN (zie [Bijlage F](#)). Dit werd uitgevoerd door wekelijks at random 10 koeien per groepshok te selecteren en te scoren. Met behulp van de foto's op de kaart werd per koe een score gegeven aan de vervuiling van de uier (van de zijkant), dijen en ondervoet, waarna deze scores per groepshok gemiddeld zijn.

## 5. Resultaten

Het onderzoek is gestart met de bepaling van de uitgangspositie in periode 1 betreffende de ammoniakemissie en concentratie sporenvormende bacteriën in beide groepshokken. In periode 2 werd vervolgens gestart met de interventie die tot en met periode 4 uitgevoerd werd. Gedurende alle periodes is de verdeling van de koeien over beide groepshokken bijgehouden, evenals de instellingen van het automatische beluchtingssysteem, de weersomstandigheden en het stalklimaat. Tevens zijn er aantekeningen gemaakt over de conditie van beide stalbodems en het gedrag van de koeien. Deze resultaten zijn te vinden in [Bijlage G](#).

### Ammoniak emissie

De resultaten van de ammoniakmeting in periode 1 (uitgangspositie) zijn weergegeven in Tabel 1 en hebben betrekking op het actuele zuurstofpercentage. De methode die hierbij toegepast is, is een meting in serie, bestaande uit drie deelmetingen van elk 30 minuten per groepshok. De gemeten concentraties zijn uitgedrukt in  $\text{mg}/\text{m}^3$ : milligram per normaal kubieke meter. Een normaal kubieke meter is het volume van droge lucht met een temperatuur van 273 K en een druk van 101,3 kPa (Rapport Ammoniak metingen bij Hoogland Farm in Montfoort, Buro Blauw).

Tabel 1: Resultaten ammoniakmeting

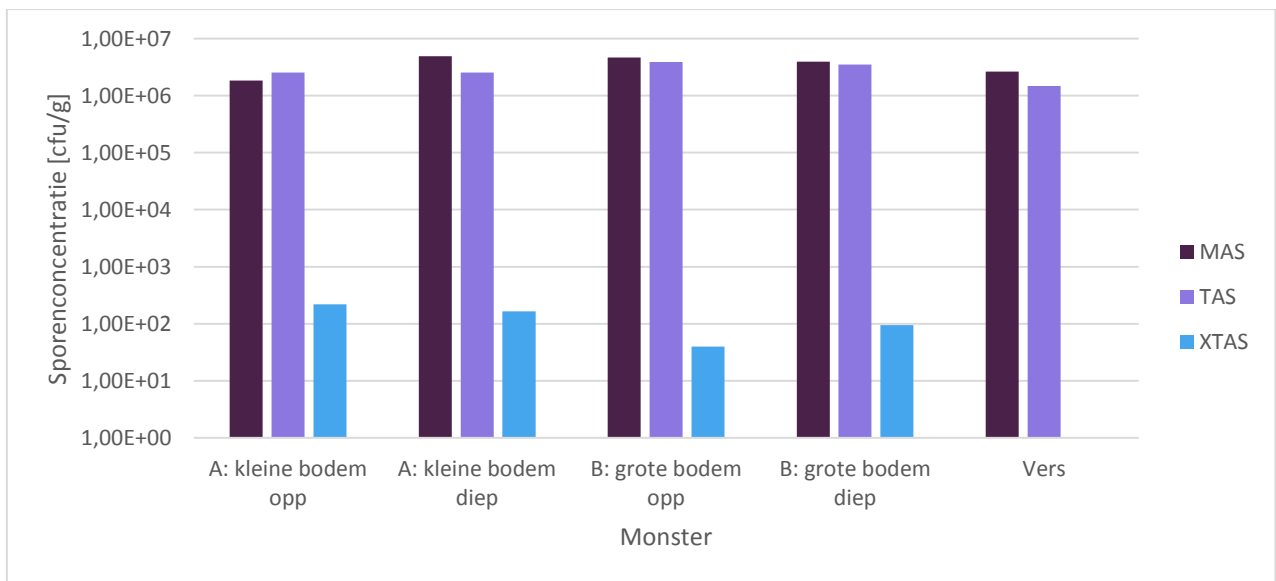
Ammoniakmeting 10-02-2014	Concentratie ammoniak [ $\text{mg}/\text{m}^3$ ]	
	Hok A (kleine bedding)	Hok B (grote bedding)
Deelmeting 1	< 1	< 1
Deelmeting 2	< 1	< 1
Deelmeting 3	1,2	< 1
<b>Gemiddeld</b>	<b>&lt; 1</b>	<b>&lt; 1</b>

Uit Tabel 1 blijkt dat de gemeten ammoniakemissie van de kleine bedding bij twee deelmetingen niet boven de onderste rapportagegrens van  $1 \text{ mg}/\text{m}^3$  uitkomt en bij de derde deelmeting 1,2

mg/m<sup>3</sup> bedraagt. De deelmetingen van de grote bedding zijn alle drie < 1 mg/m<sup>3</sup> waardoor de gemiddelde ammoniakemissies van beide bodems bij deze meting < 1 mg/m<sup>3</sup> is.

## Sporevormende bacteriën

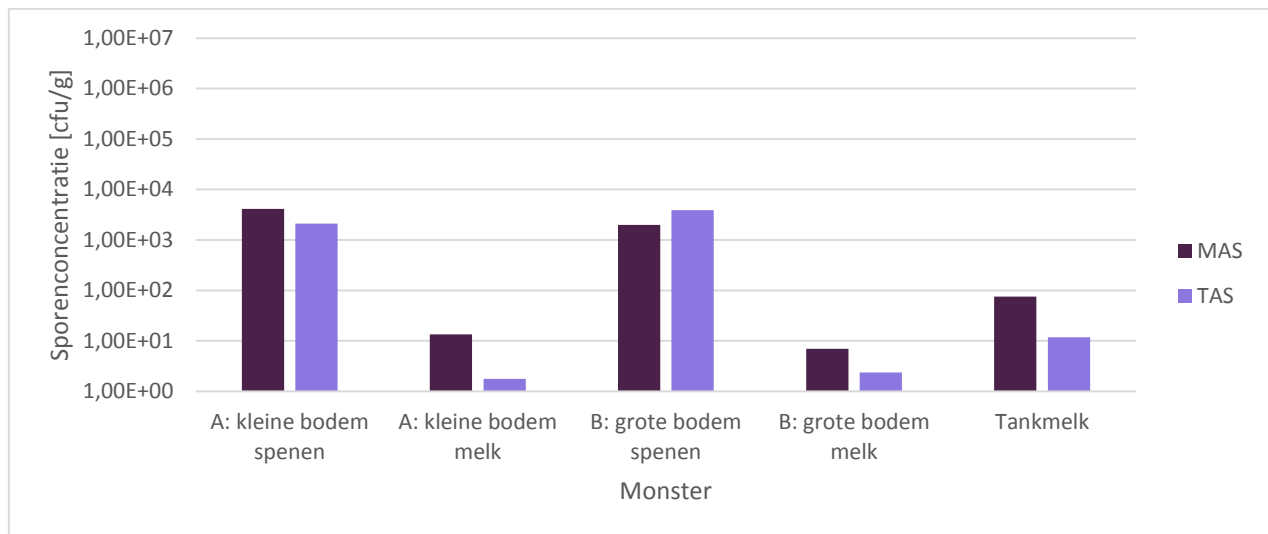
De resultaten van de bepaling van de concentratie sporevormende bacteriën in de monsters van de composteringsbodems van beide groepshokken en verse snippers in periode 1 (uitgangspositie) staan in Figuur 3 weergegeven. Voor deze monsters is zowel MAS, TAS als XTAS bepaald.



Figuur 3: Concentratie sporevormende bacteriën in monsters van composteringsbodem en verse snippers in periode 1 (uitgangspositie), logaritmische schaal.

Zowel MAS als TAS treffen we in beide bodems en in de verse snippers aan in een concentratie van ca. 10<sup>6</sup> cfu/g. De concentratie aan MAS in groepshok A is in het bodemmonster van ca. 30 cm. diepte iets hoger dan in het oppervlakkige bodemmonster, terwijl de concentratie aan TAS gelijk is in beide monsters. In groepshok B zien we een iets hogere concentratie aan zowel MAS als TAS in het oppervlakkige bodemmonster in vergelijking met het diepe bodemmonster. In alle bodemmonsters, met uitzondering van het oppervlakkige bodemmonster van groepshok A, is de concentratie TAS lager dan MAS. XTAS treffen we in het oppervlakkige en diepe bodemmonsters uit groepshok A aan in een concentratie van respectievelijk 220 cfu/g en 165 cfu/g. De concentratie van TAS in de bodemmonsters van groepshok B ligt een logstap lager: 40 cfu/g in het oppervlakkige monster en 95 cfu/g in het diepe monster. Uit het monster van het verse bodemmateriaal kon geen XTAS bepaald worden (<10 cfu/g). Aan het begin van periode 2 zijn deze snippers toegevoegd aan groepshok B ter vervanging van een deel van de composteringsbedding (zie [Bijlage G](#)).

De resultaten van de bepaling van de concentratie sporevormende bacteriën in de monsters van de spenen en melk van beide groepshokken en tankmelk in periode 1 (uitgangspositie) staan in Figuur 4 weergegeven. Voor deze monsters is MAS en TAS bepaald.



*Figuur 4: Concentratie sporevormende bacteriën in speenwasvloeistof en melkmonsters in periode 1 (uitgangspositie), logaritmische schaal.*

De concentratie aan de sporevormende bacteriën MAS en TAS in de speenwasvloeistof is ca.  $10^3$  cfu/g, 3 logstappen lager dan in de monsters van de composteringsbodem. In groepshok B valt op dat de concentratie aan TAS (3900 cfu/g) hoger is dan de concentratie aan MAS (2000 cfu/g). De concentratie MAS in de melkmonsters is laag: 13,5 cfu/g bij groepshok A en 7 cfu/g bij groepshok B. De concentratie TAS in de melkmonsters ligt een logstap lager: 1,76 cfu/g bij groepshok A en 2,36 cfu/g bij groepshok B. In de tankmelk, waar op dat moment de melk van zes melkbeurten van beide groepshokken verzameld is, vinden we een concentratie aan MAS van 75 cfu/g en aan TAS van 11,7 cfu/g.

## Interventie

Allereerst is in hok A een geïntensiveerd beluchtingschema toegepast terwijl hok B dient als controle (periode 2). Na deze interventie is er een herstelperiode van 2 weken (periode 3) aangehouden, waarna in hok B gedurende 2 weken een geïntensiveerd beluchtingschema toegepast werd en hok A als controle diende (periode 4).

Als resultaat van de interventie kijken we naar de invloed van het geïntensiveerd beluchtingsysteem op achtereenvolgens de temperatuur en vochtigheid van de bodem, de hygiëne van de koeien, de ammoniak emissie en tenslotte de concentratie van sporevormende bacteriën in de bodem, op de speenhuid en in de melk. Aantekeningen met betrekking tot de

verdeling van de koeien over beide groepshokken, de instellingen van het automatische beluchtingssysteem, de weersomstandigheden, het stalklimaat, de conditie van beide stalbodems en het gedrag van de koeien zijn te vinden in [Bijlage G](#).

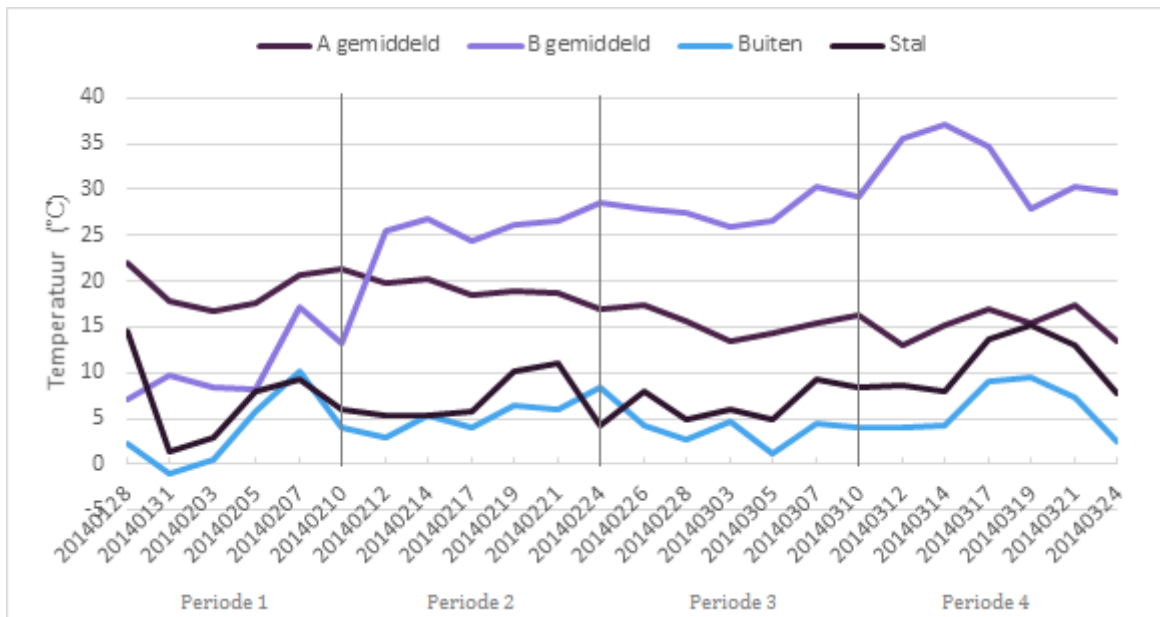
### Temperatuur en vochtigheid bodem

In Tabel 2 staat de gemiddelde temperatuur weergegeven van de composteringsbodem van groepshok A, B, de buiten- en staltemperatuur gedurende de vier periodes. De gemiddelde temperatuur van de bodem van groepshok A is in periode 1 en 2 een krappe 20°C, in periode 3 en 4 ligt deze rond de 15°C. De gemiddelde temperatuur van de bodem van groepshok B begon laag: 10°C, maar ligt in periode 2 opvallend hoger en bereikt in periode 4 een gemiddelde temperatuur van boven de 30°C.

*Tabel 2: Resultaten temperatuurmetingen gedurende de vier periodes.*

<b>Gemiddelde temperatuur (°C)</b>				
<b>Periode</b>	Hok A	Hok B	Buiten	Stal
<b>1</b>	18,9	10,1	3,5	7,2
<b>2</b>	19,2	25,9	5,0	7,5
<b>3</b>	15,2	27,6	3,5	6,6
<b>4</b>	15,7	31,9	6,5	11,5

In Figuur 5 staat het verloop weergegeven van de gemiddelde temperatuur van beide composteringsbodems gedurende de vier periodes waar tevens de buitentemperatuur en temperatuur in de stal aan toegevoegd zijn. Het verloop van de temperatuur in de composteringsbodems, opgesplitst in de oppervlakkige en diepe laag, staat weergegeven in [Bijlage H](#).



Figuur 5: Verloop van de gemiddelde temperatuur van de bodem van groepshok A en B gedurende de vier periodes, uitgezet tegenover de buitentemperatuur en temperatuur in de stal.

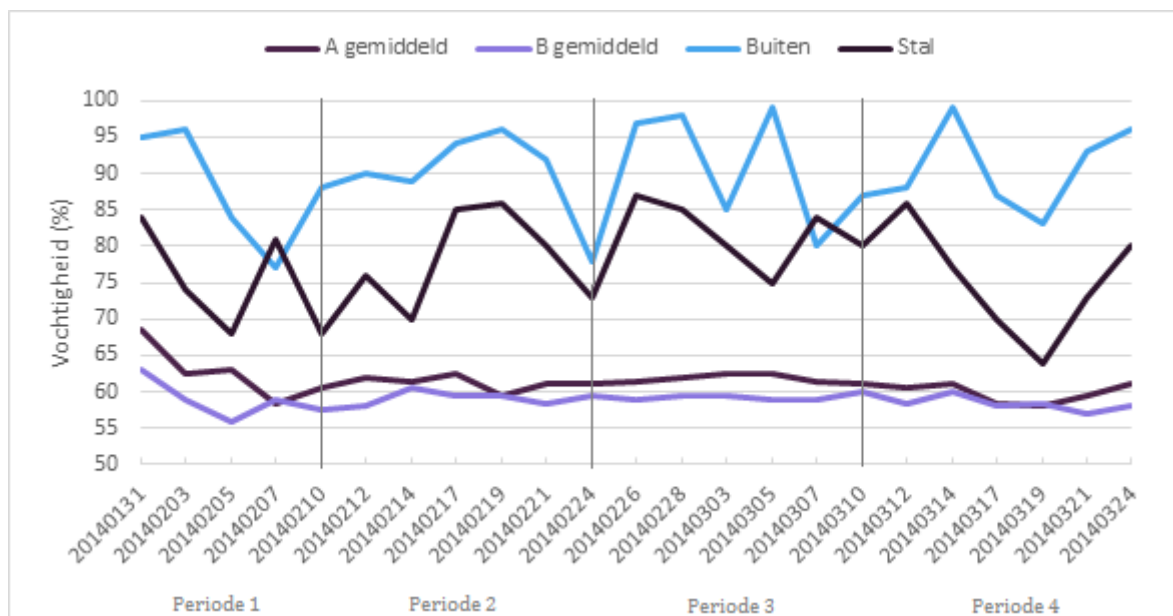
De gemiddelde temperatuur van de composteringsbodem van groepshok A verloopt vrij constant met een lichte daling vanaf de start van periode 2. De gemiddelde temperatuur van de composteringsbodem van groepshok B vertoont vanaf halverwege periode 1 een flinke stijging die in Tabel 2 bij periode 2 zichtbaar werd, waarna de temperatuur gedurende het grootste deel van periode 2 en 3 vrij constant en licht stijgend is. Aan het begin van periode 4 zien we opnieuw een flinke stijging, waarna de temperatuur weer iets lijkt te dalen tot het vrij constante niveau van daarvoor.

In Tabel 3 staat de gemiddelde vochtigheid weergegeven van de composteringsbodem van groepshok A, B en de relatieve vochtigheid buiten en in de stal gedurende de vier periodes. De gemiddelde vochtigheid van de bodem van groepshok A ligt in het algemeen iets hoger dan die van groepshok B. De vochtigheid van de bodem van groepshok A is iets later in periode 2 en 4, de vochtigheid van de bodem van groepshok B blijft gedurende de eerste drie periodes vrij constant met ruim 59% en is in periode 4 ruim een procent lager.

Tabel 3: Resultaten vochtigheidsmetingen gedurende de vier periodes

Gemiddelde vochtigheid (%)				
Periode	Hok A	Hok B	Buiten	Stal
1	63,1	59,3	88	76,8
2	61,1	59,5	92,8	80,3
3	62,1	59,3	90,5	81
4	59,3	57,9	89,8	71,8

In Figuur 6 staat het verloop weergegeven van de gemiddelde vochtigheid van beide composteringsbodems gedurende de vier periodes waar tevens de relatieve vochtigheid buiten en in de stal aan toegevoegd zijn. Het verloop van de vochtigheid van de composteringsbodems, opgesplitst in de oppervlakkige en diepe laag, staat weergegeven in [Bijlage I](#).



Figuur 6: Verloop van de gemiddelde vochtigheid van de bodem van groepshok A en B gedurende de vier periodes, uitgezet tegenover de relatieve vochtigheid buiten en in de stal.



Opvallend is een daling in de vochtigheid van de bodems van beide groepshokken aan het begin van periode 1, waarna ze beiden vrij constant verlopen. In periode 4 zien we een lichte daling bij beide bodems, waarna de vochtigheid aan het einde weer iets lijkt te stijgen.

## Hygiëne koeien

In Tabel 4 staan de resultaten weergegeven van de scoring van de hygiëne van de koeien per periode. Let wel: hierbij konden scores gegeven worden van 1 tot 4 naar de beoordeling van de UGCN Hygiëne Scorekaart (zie [Bijlage F](#)):

Score 1 = schoon

Score 2 = licht bevuild

Score 3 = bevuild

Score 4 = zwaar/ernstig bevuild

Dit betekent dat hoe lager de gemiddelde score is, hoe schoner de koeien zijn.

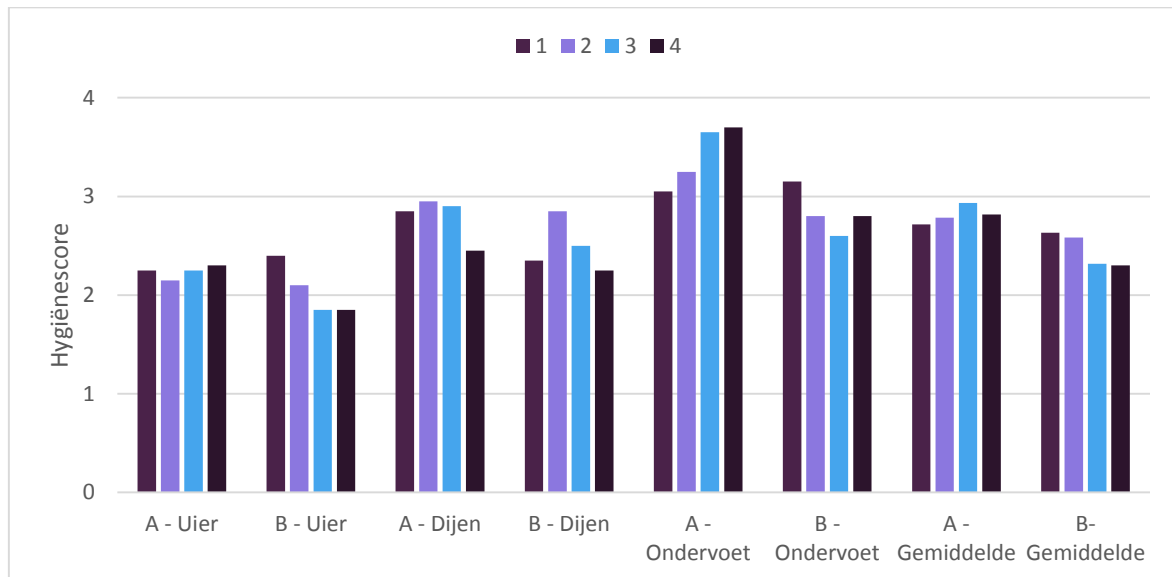
*Tabel 4: Resultaten bepaling hygiëne koeien*

<b>Hygiënescore</b>									
<b>Periode</b>	<b>Hok A</b>				<b>Hok B</b>				
	Uier	Dijen	Ondervoet	Gemiddeld	Uier	Dijen	Ondervoet	Gemiddeld	
<b>1</b>	2,3	2,9	3,1	2,7	2,4	2,4	3,2	2,6	
<b>2</b>	2,2	3,0	3,3	2,8	2,1	2,9	2,8	2,6	
<b>3</b>	2,3	2,9	3,7	2,9	1,9	2,5	2,6	2,3	
<b>4</b>	2,3	2,5	3,7	2,8	1,9	2,3	2,8	2,3	

De gemiddelde hygiënescores van de koeien in groepshok A zijn gedurende alle periodes hoger dan die van de koeien in groepshok B en fluctueren rond de 2,8. Opvallend is de score voor de hygiëne van de ondervoet, die na periode 2 met 0,4 stijgt. In groepshok B zien we na periode 2 een daling in de gemiddelde hygiënescore van 0,3. De score voor de hygiëne van de uier daalt na periode 1 tot uiteindelijk 1,9 in periode 3 en 4. De score voor de dijnen daalt na periode 2 tot

uiteindelijk 2,3 in periode 4. Hierbij is opmerkelijk dat de hygiëne van de ondervoet van groepshok B in periode 4 als enige categorie hoger ligt dan in periode 3.

Het verloop van de afzonderlijke hygiënescores voor uier, dijen en ondervoet van beide groepshokken gedurende de vier periodes staat weergegeven in Figuur 7. Een overzicht van het verloop van de hygiënescores per meetmoment, is opgenomen in [Bijlage J](#).



Figuur 7: Verloop hygiënescores per categorie gedurende de vier periodes.

In bovenstaand figuur is tevens duidelijk zichtbaar dat de scores van de koeien in groepshok B bij alle categorieën lager zijn dan die van de koeien in groepshok A. Opvallend is de stijging van de score voor de hygiëne van de ondervoet van de koeien in groepshok A gedurende alle periodes.

### Ammoniak emissie

Reeds bij de eerste ammoniakmeting bleek dat de ammoniakconcentraties welke afgevangen werden in de meettunnel, zeer laag waren. Om die reden is bij de daaropvolgende metingen de monsternameduur van de deelmetingen verlengd. De resultaten van de ammoniakmetingen zijn weergegeven in Tabel 5 en hebben betrekking op het actuele zuurstofpercentage. De eerste meting is uitgevoerd in periode 1, de uitgangspositie. De tweede meting is uitgevoerd in periode 2 waarbij hok A intensief belucht werd. De derde meting is uitgevoerd in periode 4 waarbij hok B intensief belucht werd.

Tabel 5: Resultaten ammoniakmetingen

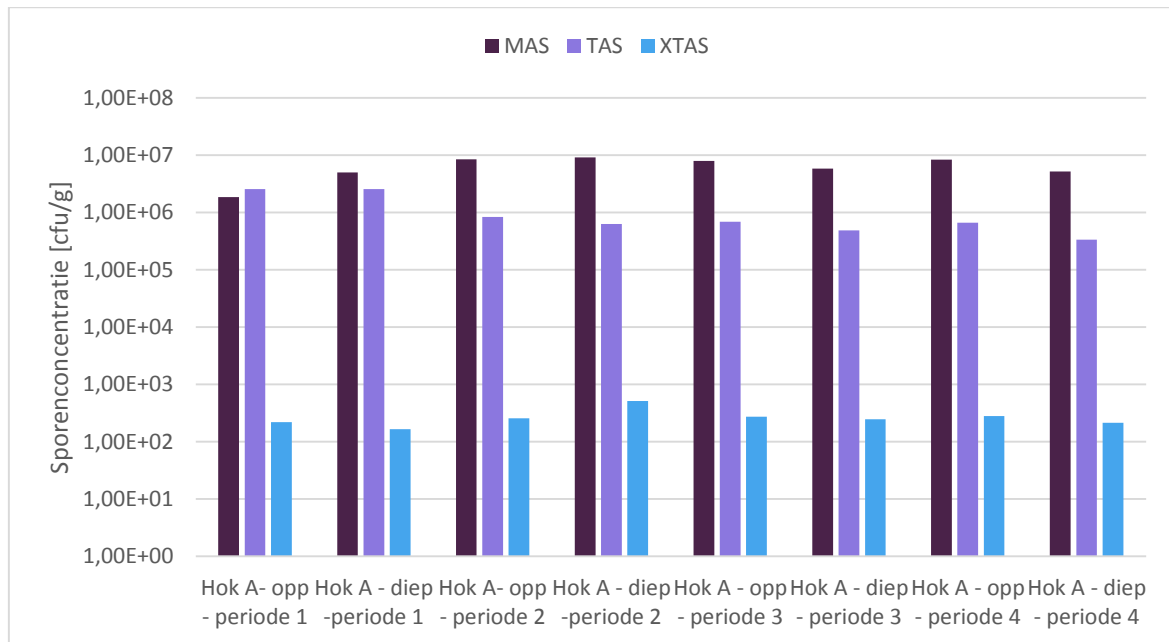
Meetmoment	Weersomstandigheden		Stalklimaat		Gemiddelde concentratie ammoniak [mg/m <sup>3</sup> ]		Meetmethode ammoniak
	T (°C)	RV (%)	T (°C)	RV (%)	Hok A (kleine bedding)	Hok B (grote bedding)	
10-02-2014 <b>(Periode 1)</b>	4,0	88	5,9	68	< 1	< 1	3x 30 min per stal, in serie
Gemiddeld					1,2	< 1	
					<b>&lt; 1</b>	<b>&lt; 1</b>	
24-02-2014 <b>(Periode 2)</b>	8,3	78	4,2	73	< 1	< 1	3x 60 min per stal, in serie
Gemiddeld					1,3	< 1	
					< 1	< 1	
24-03-2014 <b>(Periode 4)</b>	2,5	96	7,8	80	< 1	1,7	3x 150 min per stal, gelijktijdig
Gemiddeld					< 1	1,7	
					< 1	1,7	

Uit Tabel 5 blijkt dat de gemeten gemiddelde ammoniakemissie van de kleine bedding op alle drie de meetmomenten niet boven de onderste rapportagegrens van 1 mg/m<sup>3</sup> uitkomt. Bij de grote bedding bedraagt de gemiddelde ammoniakemissie op twee momenten eveneens < 1 mg/m<sup>3</sup>, en bij de laatste meting 1,7 mg/m<sup>3</sup>.

## Sporevormende bacteriën

### Bodemmateriaal

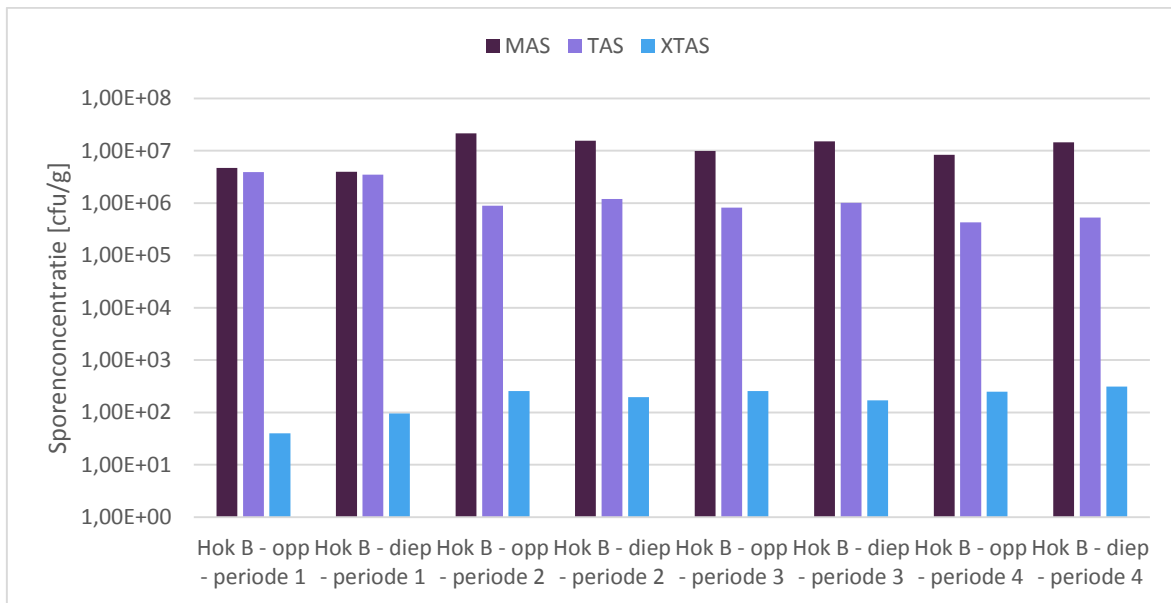
De resultaten van de bepaling van de concentratie sporevormende bacteriën in de monsters van de composteringsbodems van groepshok A in de vier periodes staan in Figuur 8 weergegeven. Voor deze monsters is zowel MAS, TAS als XTAS bepaald.



Figuur 8: Concentratie sporevormende bacteriën in composteringsbodem van groepshok A gedurende vier periodes, logaritmische schaal.

In periode 2, waarbij in groepshok A een geïntensiveerd beluchtingschema werd toegepast, zien we dat de concentratie MAS en XTAS iets verhoogd zijn ten opzichte van periode 1, 3 en 4. De concentratie TAS is lager dan in de uitgangspositie (periode 1) gemeten werd, gedurende periode 3 en 4 ligt deze rond dezelfde orde van grootte als periode 2.

De resultaten van de bepaling van de concentratie sporevormende bacteriën in de monsters van de composteringsbodems van groepshok B in de vier periodes staan in Figuur 9 weergegeven. Voor deze monsters is zowel MAS, TAS als XTAS bepaald.

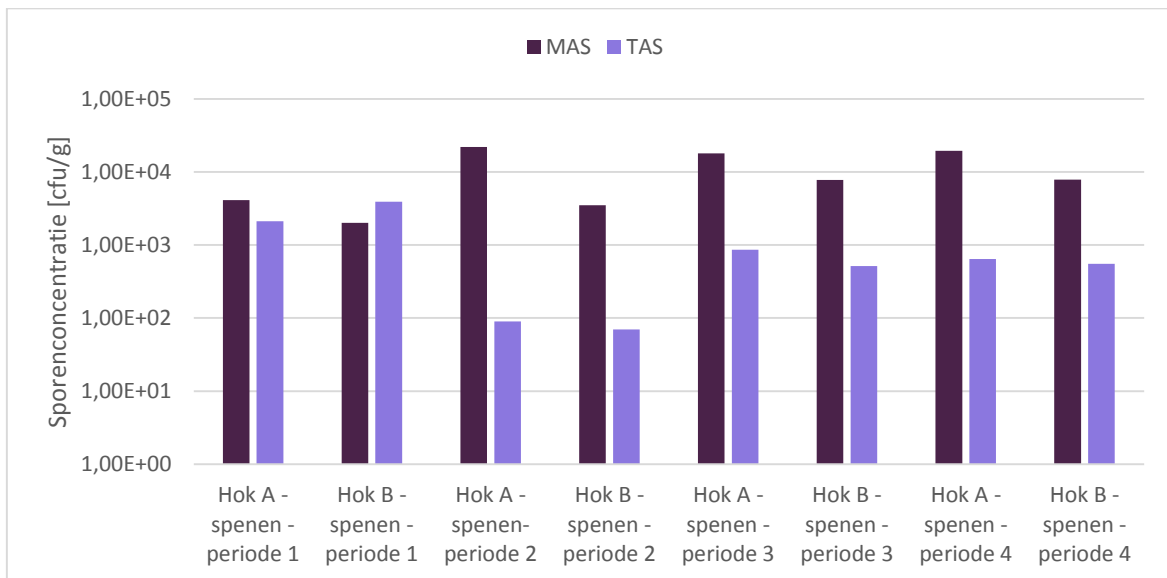


Figuur 9: Concentratie sporevormende bacteriën in composteringsbodem van groepshok B gedurende vier periodes, logaritmische schaal.

In periode 4 is in groepshok B een geïntensiveerd beluchtingsschema toegepast, de concentratie MAS en XTAS zijn iets verhoogd ten opzichte van de uitgangsspositie (periode 1) maar vergelijkbaar met de concentraties in de voorafgaande periodes 2 en 3. De concentratie TAS is in periode 4 lager dan de voorgaande periodes.

## Speenwasvloestof

De resultaten van de bepaling van de concentratie sporenvormende bacteriën in de speenwasvloestof van groepshok A en B in de vier periodes staan in Figuur 10 weergegeven. Voor deze monsters is MAS en TAS bepaald.

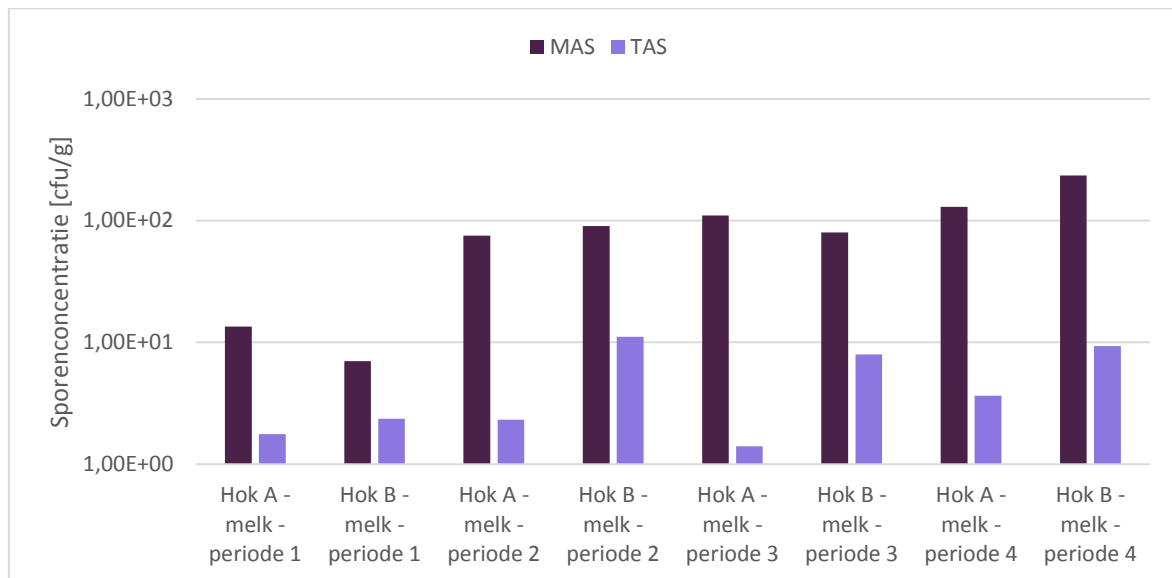


Figuur 10: Concentratie sporenvormende bacteriën in speenwasvloestof van groepshok A en B gedurende vier periodes, logaritmische schaal.

In periode 2 is in groepshok A een geïntensiveerd beluchtingsschema toegepast, groepshok B is gedurende periode 4 intensief belucht. Ten opzichte van de uitgangspositie (periode 1) zien we dat de concentratie MAS in periode 2 in groepshok A verhoogd is, terwijl de concentratie TAS flink gedaald is. Ook in groepshok B zien we een lage concentratie TAS gedurende periode 2. In periode 4 zien we dat de concentraties van TAS wederom weinig verschillen, echter is de concentratie aan MAS in groepshok A hoger dan in groepshok B.

## Melkmonsters

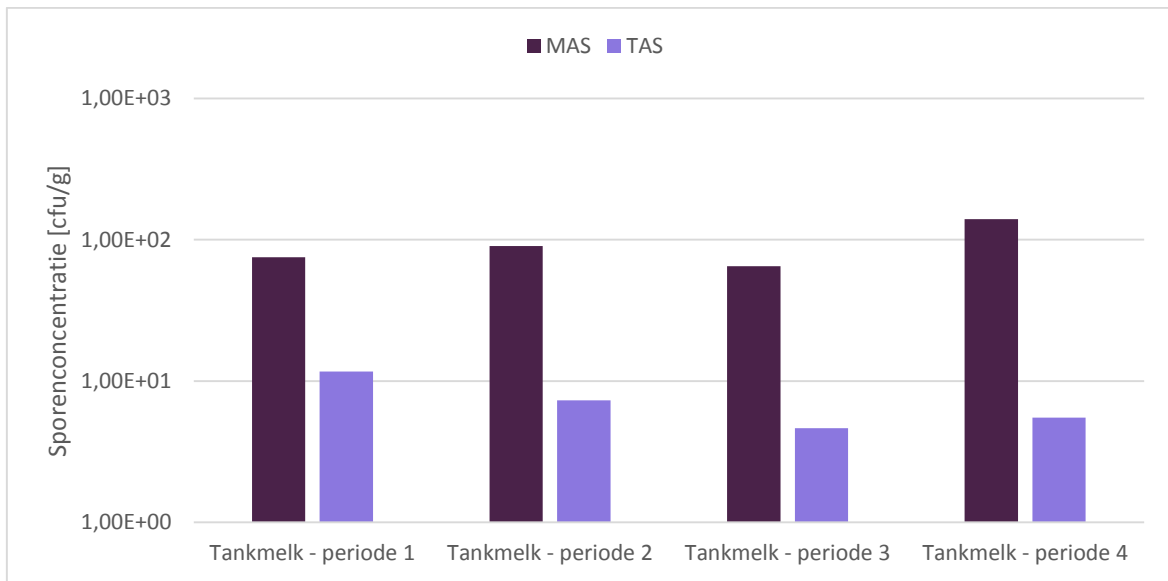
De resultaten van de bepaling van de concentratie sporenvormende bacteriën in de melkmonsters van groepshok A en B in de vier periodes staan in Figuur 11 weergegeven. Voor deze monsters is MAS en TAS bepaald.



Figuur 11: Concentratie sporenvormende bacteriën in melkmonsters van groepshok A en B gedurende vier periodes, logaritmische schaal.

In periode 2 is in groepshok A een geïntensiveerd belichtingsschema toegepast, groepshok B is gedurende periode 4 intensief belucht. De concentratie MAS is na periode 1 gestegen in beide groepshokken en stijgt in periode 4 nog iets verder, de hoogste concentratie van 235 cfu/g wordt in het melkmonster van hok B aangetroffen. De concentratie TAS is in alle periodes in groepshok A lager dan in groepshok B met als laagste concentratie 1,4 cfu/g in het melkmonster van groepshok A in periode 3.

De resultaten van de bepaling van de concentratie sporenvormende bacteriën in de tankmelkmonsters in de vier periodes staan in Figuur 12 weergegeven. Voor deze monsters is MAS en TAS bepaald.



Figuur 12: Concentratie sporevormende bacteriën in tankmelkmonsters gedurende vier periodes, logaritmische schaal.

De concentratie MAS is vrij constant rond 100 cfu/g, de concentratie TAS varieert van nog geen 5 cfu/g (periode 3) tot bijna 12 cfu/g (periode 1).



## 6. Discussie

Met behulp van de resultaten uit dit onderzoek zal een inschatting gegeven worden van de mate van de ammoniakemissie en de concentratie van sporenvormende bacteriën in de composteringsbodem van de vrijloopstal uit dit onderzoek. Rekening houdend met de beperkingen van het onderzoek en de complicaties in het veld, zal gekeken worden naar de toepassing van mogelijke reguleringsmechanismen hiervoor, waar tevens aanvullend onderzoek voor benodigd is.

### Ammoniak emissie

Met dit onderzoek hoopten we inzicht te krijgen in de mate van ammoniakemissie in een composterende vrijloopbodem. Vanuit de metingen blijkt dat de gemeten ammoniakconcentraties zeer laag zijn, en in de meeste gevallen niet boven de onderste rapportagegrens van  $1 \text{ mg/m}^3$  uitkomt. De gemeten ammoniakconcentraties zijn daarom te laag om een betrouwbare uitspraak over de totale stalemissie voor ammoniak te kunnen doen, wel blijkt dat de in dit onderzoek bij deze composterende vrijloopstal gemeten ammoniak emissie erg laag is.

Dit komt overeen met de onderzoeken die door Livestock Research – Wageningen University zijn uitgevoerd waarbij de ammoniakemissie per  $\text{m}^2$  van vrijloopstallen met composteringsbodems uit houtsnippers eveneens relatief laag bleek. Hier werd op vijf bedrijven met een composteringsbodem uit houtsnippers op stalniveau een relatieve emissie uit het ligbed per  $\text{m}^2$  tot maximaal 30% gevonden in vergelijking met een ligboxenstal met roostervloer (100%). Voor een indicatie van de emissie op dierniveau, is er echter een omrekening nodig waarbij rekening gehouden moet worden met het aantal  $\text{m}^2$  ligbed per dier, het aantal  $\text{m}^2$  loopvloer en het werkelijke oppervlakte per bedrijf. Diezelfde vijf bedrijven scoorden bij de berekening van de indicatieve relatieve emissie per dier een stuk hoger, van 80% tot 180% in vergelijking met een ligboxenstal met roostervloer (100%). Door het toepassen van een emissiearme vloer lijkt echter een lage stalemissie mogelijk: drie van de vijf bedrijven scoren nu onder het niveau van de ligboxenstal (Ir. H.J.C. van Dooren, Wageningen University, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014). Een aanbeveling daarom voor vervolgonderzoek is het doorrekenen met emissiegegevens op dierniveau om uiteindelijk de ammoniak emissie in aantal kilogram  $\text{NH}_3$  per dierplaats per jaar vast te kunnen stellen.

## Sporevormende bacteriën

De gemeten concentraties sporevormende bacteriën in de monsters liggen in de verwachte ranges vanuit de ervaring van het NIZO met dergelijke monsters uit vrijloopstallen (Dr. F. Driehuis, NIZO, persoonlijke communicatie, 23 april 2014).

### Bodem

Bij het bepalen van de concentratie sporevormende bacteriën in de bodemmonsters van de uitgangspostie, periode 1, bleek er weinig verschil te tussen de composteringsbodems van beide groepshokken. De concentratie XTAS was in de bodem van groepshok A een factor 2-5 hoger dan in de bodem van groepshok B. Als we de gemeten concentraties in de uitgangspostie (variërend van 40-220 cfu/g) vergelijken met de concentraties XTAS in GFT-compost dat kan worden toegepast in een compostbodem, is XTAS in deze composteringsbodem niet erg hoog. In GFT-compost wordt gemiddeld ca.  $10^4$  cfu/g XTAS gevonden, de concentratie in composteringsbodems uit houtsnippers ligt in het algemeen een factor 10 tot 100 lager, hoewel er veel variatie tussen bedrijven is (Dr. F. Driehuis, NIZO, persoonlijke communicatie, 17 februari 2014).

### Speenwasvloeistof en melk

In de uitgangspostie bleek de concentratie MAS en TAS in de speenwasvloeistof ruim 3 logstappen lager te liggen dan in de bodemmonsters, en in de melkmonsters 5 logstappen. XTAS bleek bij de eerste analyse niet aantoonbaar te zijn in de speenwasvloeistof, ook niet na een toegepaste concentratiestap met factor 13,9. Uit eerder onderzoek door het NIZO blijkt dat de verhouding TAS:XTAS doorgaans constant is in bodem- en melkmonsters, en naar wij aannemen ook in speenwasmonsters. Op basis van de verhouding TAS:XTAS in de monsters van de composteringsbodem, werd geschat dat er een minimale concentratiefactor van 100 nodig zou moeten zijn voor het kunnen bepalen van een eventuele XTAS concentratie in de speenwasvloeistof (Dr. F. Driehuis, NIZO, persoonlijke communicatie, 17 februari 2014). Omdat hiervoor een dermate groot monstervolume benodigd zou zijn, was dit niet praktisch toepasbaar meer en is de bepaling van de concentratie XTAS uit speenwasvloeistof in het vervolg uit de bepalingen gelaten en niet verder meegenomen in dit onderzoek. Met behulp van TAS en de verhouding TAS:XTAS in de bodemmonsters kunnen we een indicatie geven van de concentratie XTAS in de speenwasvloeistof en melkmonsters. Deze zou bij deze betreffende monsters van de bepaling voor de uitgangspostie voor de speenwasvloeistof en melkmonsters minimaal 4 logstappen lager zijn dan de concentratie TAS, die bij speenwasvloeistof 2100 (A) en 3900 (B)

cfu/g bedraagt, en bij de melkmonsters 1,76 (A) en 11,7 (B) cfu/g. Dat zou zo laag zijn dat het niet te meten valt en om deze reden niet relevant om in deze monsters mee te nemen.

Wat betreft de concentratie van MAS en TAS in de tankmelkmonsters troffen we gemiddeld respectievelijk 92,5 cfu/g en 7,28 cfu/g aan. Ter vergelijking onderstaand Figuur 13 waarin het gemiddeld aantal bacteriën en bacteriesporen in tankmelk in Nederland weergegeven staat (Dr. F. Driehuis, NIZO, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014).

Populatie	Hitteresistentie	Aantal per liter tankmelk
Kiemgetal	-	~ 10.000.000
MAS sporen	10 min 80°C	~ 30.000
Boterzuurbacteriesporen	10 min 80°C	~ 100
TAS sporen	30 min 100°C	~ 10
XTAS sporen	20 min 115°C	< 0,01 (< 1 per 100 liter)

*Figuur 13: Bacteriën en bacteriesporen in tankmelk, gemiddeld in Nederland.  
Bron: Dr. F. Driehuis, NIZO, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014*

## Interventie

Door de twee groepshokken om de beurt aan een intensiever beluchtingschema bloot te stellen, beoogden we het effect van extra beluchten op zowel de ammoniakemissie, als op de concentratie sporenvormende bacteriën in de bodem, op de speenhuid en in de melk te onderzoeken.

Echter, aan het begin van het onderzoek bleek al dat er sprake was van een groot verschil in de conditie van beide composteringsbodems in de vrijloopstal. Gedurende het onderzoek zijn er aantekeningen met betrekking tot de conditie van de bodems en het gedrag van de koeien bijgehouden, zie [Bijlage G](#). Vóór de interventie zijn in beide bodems verse houtsnippers toegevoegd waarna de conditie van vooral de grote composteringsbedding erg vooruitging. Er werden hoge temperaturen gemeten in zowel de oppervlakkige als de diepe bodemlaag, er kwam duidelijk damp vanuit de bedding, de koeien lagen op een droge en zachte toplaag en liepen gemakkelijk door de rulle bedding heen. De kleine composteringsbedding verslechterde helaas al snel waarbij de bodem te vochtig bleef en gemakkelijk aangedrukt werd bij het liggen en lopen van de koeien. Urine werd niet meer goed opgenomen in de bedding, de diepe laag kwam niet boven de 20 graden uit bij het meten, er was sprake van niveauverschil over de gehele breedte van het groepshok en de koeien stonden lastig op en liepen moeizaam door de bedding heen. Voor het oog was duidelijk dat de koeien van de kleine composteringsbedding meer bevuild waren, met

name aan de ondervoeten. Vergeleken met de grote bedding waren de koeien terughoudend met het gaan liggen op de bodem en stonden minder vlot op.

Daarnaast bleken de weersomstandigheden mede bepalend te zijn voor de conditie van beide composteringsbodems. De kleine bedding is op het noorden gesitueerd, de grote bedding op het zuiden. Omdat de zijwanden van de stal open zijn, staan beide bodems erg onder invloed van de heersende weersomstandigheden, waaronder de buitentemperatuur, de wind en de mate van zonlicht. Aan de zonzijde van de stal werd de toplaag van de grote bodem op een zonnige dag zichtbaar droger. De buitentemperatuur heeft nog sterker invloed op de temperatuur van de bodem doordat de bodem met buitenlucht belucht wordt. Indien het buiten vriest, wordt er in verhouding erg koude lucht de bodem in geblazen waardoor deze te snel kan afkoelen. Indien de composteringsbodem eenmaal afgekoeld is, is het lastig om weer hogere temperaturen te bereiken zonder nieuwe houtsnippers toe te voegen waardoor het composteringsproces erg matig is. Dit was hoogstwaarschijnlijk het geval bij de zowel de grote, als de kleine composteringsbodem aan het begin van het onderzoek. Door toevoeging van een voldoende grote hoeveelheid nieuwe snippers aan de grote composteringsbodem en wellicht met hulp van een paar dagen ideaal weer, is daar het composteringsproces opnieuw op gang gekomen, de kleine bodem bleef echter achter in temperatuur waardoor er te weinig vocht kon verdampen en er geen droge toplaag meer kon ontstaan.

Omdat beide beddingen in een dergelijk grote mate verschillen, is het bepalen van het effect van beluchten door beide bodems gedurende deze periodes te vergelijken, erg discutabel. Wellicht enerzijds een beperking van het uitgevoerde onderzoek, maar anderzijds juist geeft de uitvoering van dit onderzoek in de praktijk van een vrijlooptal ook nieuwe inzichten. Om die reden zijn er rondom een mogelijke interventie voor onze onderzoeksonderwerpen zeker een aantal punten te bediscussiëren om in vervolgonderzoek verder op te pakken.

### Ammoniakemissie

Gedurende de interventieperiodes 2 en 4 waarbij respectievelijk groepshok A en B aan een intensiever beluchtingschema blootgesteld zijn, zien we bij groepshok A dat één deelmetering in periode 2 net boven de onderste rapportagegrens uitkomt:  $1,3 \text{ mg/ m}_0^3$ . Echter blijft de gemiddelde ammoniakconcentratie van de bodem van groepshok A in deze periode  $< 1 \text{ mg/ m}_0^3$  en was er in periode 1 zonder beluchting ook sprake van één iets verhoogde deelmetering ( $1,3 \text{ mg/ m}_0^3$ ). Bij groepshok B zien we dat er in periode 4 een ammoniak concentratie gemeten wordt van  $1,7 \text{ mg/ m}_0^3$ , hoger dan de twee eerdere metingen die niet boven de onderste rapportagegrens

uitkwamen. We hebben te weinig (absolute) meetresultaten vanuit dit onderzoek en te veel variabele omstandigheden die mede de conditie van de bodem bepalen om deze verhoogde emissie enkel aan het intensiever beluchten toe te kunnen schrijven. Om een mogelijk effect van extra beluchten op de ammoniakemissie van een dergelijke composteringsbodem nader te onderzoeken en daadwerkelijk te kunnen meten, is een vervollexperiment onder meer geconditioneerde omstandigheden met een vergelijkbare controlegroep aan te bevelen. Bij emissie-onderzoek door Livestock Research – Wageningen University is tot op heden nog geen relatie gevonden tussen temperatuur en vochtigheid en de ammoniakemissie (Ir. H.J.C. van Dooren, Wageningen University, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014).

### Sporenvormende bacteriën

Vanuit onderzoek naar concentraties aan TAS en XTAS in GFT-compost, concludeert het NIZO dat er geen of weinig toename van XTAS en TAS in de stal plaatsvindt, waaruit blijkt dat de sporen in het composteringsproces gevormd worden. Dit wordt ook teruggezien in de bepaling van TAS en XTAS in verse, ongebruikte houtsnippers in vergelijking met de gebruikte houtsnippers vanuit de composteringsbodem. Indien deze verse, ongebruikte snippers enige tijd opgeslagen liggen, worden er opmerkelijk veel TAS en XTAS aangetroffen in deze ‘oude’ houtsnippers, hoewel deze ongebruikt zijn, zie Figuur 14 (Dr. F. Driehuis, NIZO, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014).

Bedding	N	XTAS gem <sup>1</sup> . cfu/g	XTAS max. cfu/g	TAS gem <sup>1</sup> . cfu/g	TAS max. cfu/g
GFT-compost #	13	7.000	30.000	3.400.000	13.300.000
GFT-compost *	8	11.000	64.000	8.700.000	12.000.000
Houtsnippers-vers #	5	<10	10	6.500	10.000
Houtsnippers-oud #	6	<10	70	2.900.000	18.900.000
Hsn. comp.bodem *	10	174	6100	1.300.000	3.800.000

<sup>1</sup> gemiddelde na log-conversie

\* gebruikt, uit stal; # ongebruikt, uit voorraad

*Figuur 14: Concentraties TAS en XTAS in GFT-compost en houtsnippers.  
Bron: Dr. F. Driehuis, NIZO, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014*

In het monster van de ‘verse’ houtsnippers uit dit onderzoek treffen we een vergelijkbare 10<sup>6</sup> concentratie aan TAS aan als in de beddingmonsters. Aangezien deze snippers al enkele maanden buiten onafgedekt opgeslagen liggen, heeft hier al een mate van compostering in

plaatsgevonden, waarbij deze sporen reeds gevormd zijn. Wanneer de stal gevuld wordt met deze snippers, zit daar al een aanmerkelijke concentratie aan sporenvormende bacteriën in. Een eventuele interventiemethode die in de stal toegepast wordt, zal dan minder invloed kunnen hebben op de ontwikkeling van de sporen in de bodem als deze sporen al eerder gevormd zijn.

Een aanbeveling voor vervolgonderzoek lijkt daarom het zoeken naar mogelijkheden voor bodemmateriaal dat bij aanvoer een lage concentratie aan sporenvormende bacteriën heeft en waar bij eventuele opslag geen compostering plaats vindt. De hoge temperatuur die met compostering bereikt wordt, is de trigger voor het vormen van sporen. Indien door interventie als beluchten, afzuigen of intensievere bewerking van de bedding het ontstaan van een dergelijke hoge temperatuur ook in de stal voorkomen kan worden, zou dit tot minder thermofiele sporenvormers kunnen leiden. Echter zouden mesofiele sporevormers zich hierbij kunnen vermeerderen. Daarnaast heeft een minder hoge temperatuur als negatief effect dat er onvoldoende verdamping optreedt van mest en urine waardoor er tegelijkertijd geen droge en rulle top laag kan ontstaan. Uit onderzoek blijkt dat een bewerking van het bodemmateriaal, zoals het aanzuren tot een pH van kleiner dan 5, de groei van *Bacillus cereus* kan verhinderen of voorkomen (Vissers M.M.M., 2006). Omdat de koeien in nauw contact komen met de bedding en de bedding in praktijk bloot staat aan verschillende stalfactoren, dienen mogelijkheden van dergelijke bewerkingen ook buiten lab-omstandigheden onderzocht te worden. Of wellicht biedt een geheel ander bodemmateriaal een oplossing, alhoewel organische materialen in combinatie met uitscheidingsproducten van de koeien al gauw een goede voedingsbodem voor bacteriegroei kunnen vormen. Onderzoek naar een interventiemechanisme om overdacht van sporenvormende bacteriën van bedding naar melk te voorkomen zou daarom een ander perspectief kunnen bieden. Het voorbehandelen van spenen waarmee in een optimale situatie tot 90% van het vuil verwijderd wordt, voorkomt veel transmissie van micro-organismen van de spenen naar de melk (Vissers M.M.M., 2006), maar lijkt te weinig effect te hebben op de uiteindelijke concentratie aan XTAS in de melk (Dr. F. Driehuis, NIZO, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014). Mogelijkheden voor het wegvangen of inactiveren van de sporen in de melk zodat verdere groei in het zuivelproduct niet mogelijk is, behoeven nader onderzoek.

## 7. Conclusie

De vrijloopstal in een zeer positieve ontwikkeling is op het gebied van de ontwikkeling naar een duurzame veehouderij. De stal als we zien met een focus op dierwelzijn en diergezondheid: deze intentie is ontwikkeld tot een daadwerkelijk functionerend huisvestingssysteem. De vrijloopstal biedt rust, ruimte en comfort voor de koe en daar zien we de positieve effecten van op klauw- en uiergezondheid, koeien die 'langer mee gaan'. De kanttekeningen op het gebied van ammoniakemissie en het voorkomen van hittebestendige sporenvormende bacteriën, blijven echter bestaan. In dit onderzoek bleek de ammoniakemissie weliswaar erg laag te zijn, de totale stalemissie rekening houdend met de totale oppervlakte per dier konden we niet bepalen. De concentratie sporenvormende bacteriën die in de bodemonsters uit dit onderzoek aangetroffen werden, liggen naar aanleiding van eerdere onderzoeken, in de verwachting van een composteringsbodem van houtsnippers. Een fractie hiervan treffen we aan op de spenen, en een nog kleinere fractie in de melk. Een intensief beluchtingschema dat als mogelijk reguleringsmechanisme in dit onderzoek is toegepast, had geen effect op de aanwezigheid van sporenvormende bacteriën in de monsters. Opvallend is dat er tevens geen effect was van de mate van compostering van de bedding op de concentratie sporenvormende, bij het bereiken van hogere temperaturen werden er niet meer sporenvormende bacteriën aangetroffen in de bodem. Ondanks dat de toplaag van deze betreffende bedding schoner en droger werd, veranderde de mate van contaminatie van de spenen niet noemenswaardig. Concluderend uit dit onderzoek is dat het beluchten geen invloed lijkt te hebben op de mate van ontwikkeling van sporen. Echter, met betrekking tot de recente ontwikkelingen binnen de zuivelsector is de aanwezigheid van deze sporen wel degelijk een punt van grote aandacht. Naast de ontwikkeling van mogelijke interventiemethodes om de uiteindelijk concentratie aan sporen in de melk te verminderen of geheel weg te kunnen vangen, is vervolgonderzoek nodig naar het voorkomen en de mate van ontwikkeling van de sporenvormende bacteriën in het uitgangsmateriaal: de composteringsbedding van houtsnippers.

## 8. Dankwoord

In de eerste plaats wil ik mijn begeleiders, Tine van Werven en Gerrit Koop, bedanken voor de mogelijkheid om dit onderzoek te mogen uitvoeren. Bedankt voor het vertrouwen dat jullie in mij hadden en de vrijheid die jullie mij gaven om dit onderzoek helemaal tot 'mijn eigen project' te mogen maken. Tegelijkertijd kon ik altijd aankloppen voor een moment van overleg en waren jullie, ook Gerrit vanuit Cambridge, zeer betrokken bij de voortgang van het onderzoek.

Ik wil graag Esther Bomhof en Frank Driehuis van het NIZO bedanken voor hun medewerking aan dit onderzoek en de mogelijkheid die jullie mij gaven om 'een kijkje in de keuken' bij het NIZO te mogen nemen. Esther, het waren erg gezellige dagen in Nico zijn lab en daarnaast erg interessant om samen de monsters te mogen verwerken.

Sharon en Jurgen: bedankt voor de gastvrijheid in jullie 'ULP-domein'. Ik heb met plezier de uurtjes wachten op de droge-stof koker uitgezeten, tussentijds ijverig in de weer met B.O.'s of met een praatje op de gang 😊

Erik Verhaaf en Peter Gerritzen van Buro Blauw: bedankt voor het uitvoeren van de ammoniak metingen in een wel heel bijzondere meet-situatie. De vreselijk nieuwsgierige koeien hebben samen met het zonnetje en de kopjes koffie de uren wachttijd voor de metingen hopelijk wat kunnen opfleuren.

Tenslotte wil ik natuurlijk Gerard Hoogland als uiteindelijke opdrachtgever voor dit onderzoek hartelijk danken voor de gastvrijheid en het beschikbaar stellen van zijn vrijloopstal voor de benodigde metingen en monsternames. Voor dag en dauw de koeien wakker schudden en van hun comfortabele bedding richting melkstal jagen om vervolgens gewapend met thermometer, schepje en zakjes door de bodems heen te ploegen: dat is pas ochtendfitness! Ik vond het erg leuk om deze weken mee te mogen draaien en waar mogelijk een handje uit te steken op je mooie melkveebedrijf. Helaas past zo'n shovel hier niet in de parkeergarage, maar wellicht kan ik die expertise later nog verder ontwikkelen. Bedankt voor de leuke tijd en je interesse.



## 9. Referenties

- Dooren H.J.C. van, Galama P.J., 2009. Internationale verkenningen naar ervaringen met vrijloopstallen. Rapport 244, Animal Sciences Group Wageningen UR
- Dooren H.J.C. van, Galama P.J., Smits M.C.J., Ouweltjes W., Driehuis F., Bokma S., 2012. Bodems voor vrijloopstallen. Rapport 411, Livestock Research Wageningen UR
- Driehuis F., Lucas-van den Bos E., Wells-Bennik M.H.J., 2010. Microbiële contaminanten in stalbodems van vrijloopstallen voor melkvee. NIZO-RAPPORT E 2010/248
- Galama P., Smits M., Biewenga M., 2008. Is de vrijloopstal haalbaar in Nederland? V-focus december 2008: 18-20
- Smits M.C.J., Aarnink A.J.A., 2009. Verdamping uit ligbodems voor vrijloopstallen. Rapport 230, Animal Sciences Group Wageningen UR
- Smits M.C.J., Dousma F., Kupers G.C.C., Blanken K., 2009. Oriënterend laboratoriumonderzoek naar ammoniakemissie uit bodempakketten voor vrijloopstallen. Rapport 231, Animal Sciences Group Wageningen UR
- Verhaaf E., 2014. Rapport AMMONIAK METINGEN BIJ HOOGLAND FARM IN MONTFOORT, Ammoniak emissie van de open koestal. Rapportnummer BL2014.6814.01-V01, Buro Blauw
- Vissers M.M.M. et al, 2006. Short Communication: Quantification of the Transmission of Microorganisms to Milk via Dirt Attached to the Exterior of Teats. J. Dairy Sci. 90: 3579–3582
- Vissers M.M.M. et al, 2006. Minimizing the Level of Bacillus cereus Spores in Farm Tank Milk. J. Dairy Sci. 90: 3286–3293
- Zessen T. van, 2013. Zorg om melkkwaliteit in vrijloopstal, Compost leidt tot verhoogd aantal hitteresistente thermofiele bacteriën in melk. Veeveelt februari 1 2013
- Zevenbergen G., 2012. Geregeld beluchten, Hoogland blaast lucht in bodem. Veehouderij techniek juli 2012: 10-12

Symposium Vrijloopstallen, 13 februari 2014

Presentatie 'Emissies vrijloopstallen', ir. H.J.C. van Dooren, Wageningen University

Presentatie 'Sporen van thermofiele sporenvormers in beddingmaterialen en overdracht naar melk', dr. F. Driehuis, NIZO

Veeteelt

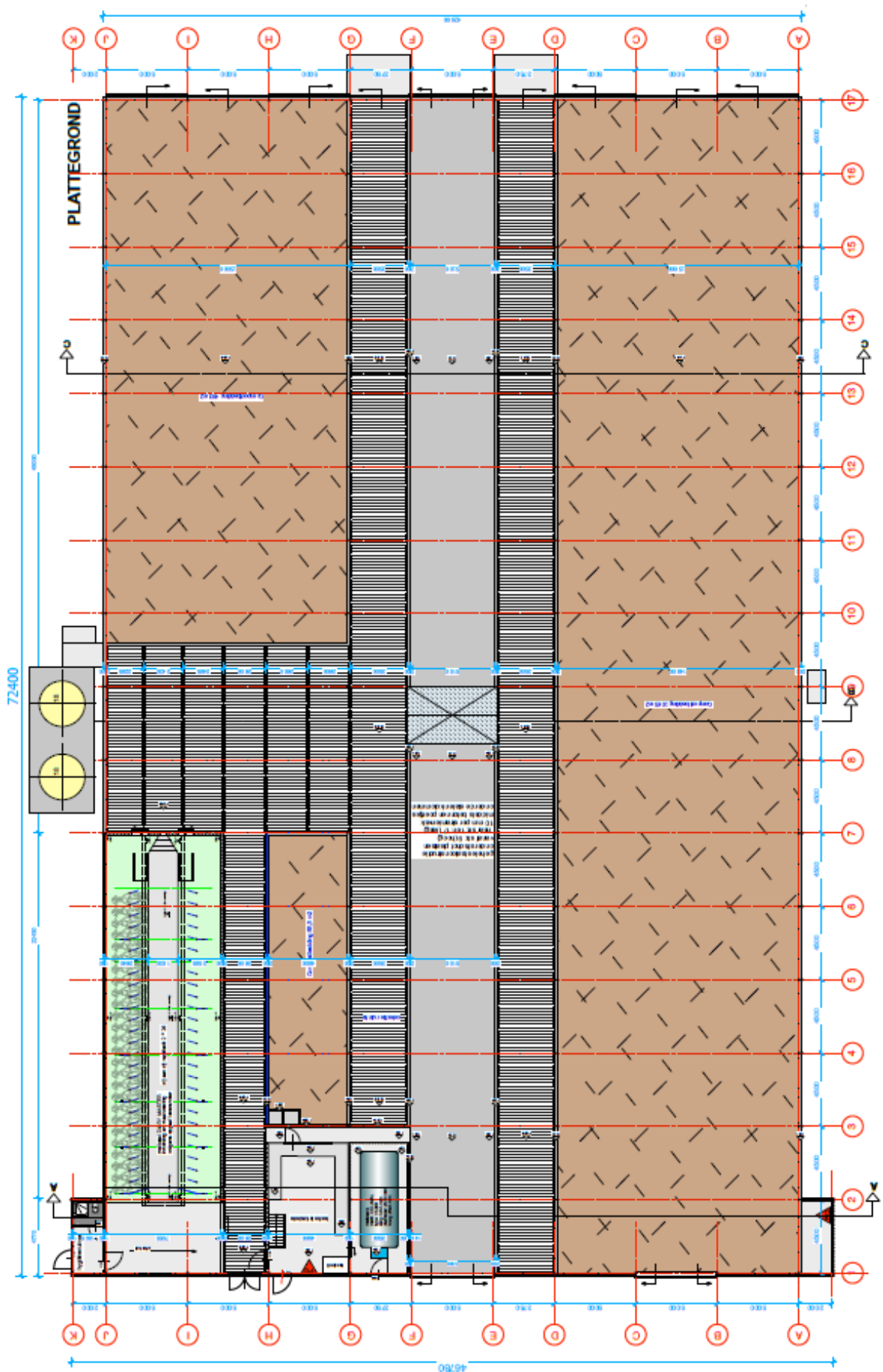
Bedrijfsreportage vrijloopstal Hoogland: <http://veeteelt.nl/foto/bedrijfsreportage-vrijloopstal-hoogland>

Melkvee

Beluchte bodem vrijloopstal (fotoserie): <http://www.melkvee.nl/nieuws/2122/beluchte-bodem-vrijloopstal--fotoserie->

## 10. Bijlagen

## Bijlage A: Plattegrond vrijlooptal



... met een bodem van compostieringsbodem van een vrijlooptal. Onderzoeksstage Diergeneeskunde - Sanne van den End

## Bijlage B: foto's interieur vrijloopstal



Overzichtsfoto stal met rechts de grote bedding en links achterin de kleine bedding.

Bron: Melkvee.



Grote bedding met de verticaal schuivende hekken waarbij tevens de zeilen als zijwanden zichtbaar zijn.

Bron: Melkvee.



De melkstal met naastliggende separatuurruimten.

Bron: Melkvee.



Vooraanzicht van de vrijloopstal.

Bron: Veeteelt.



Dak met melkwitte platen en luchtinlaten.

Bron: Veeteelt.

## Bijlage C: Foto's beluchtingssysteem vrijloopstal



Buizenstelsel van het beluchtingssysteem voordat de bovenste laag beton gegoten werd.

Bron: Veeteelt.



Een spigot in de betonnen vloer waardoor de lucht de bedding in geblazen wordt.

Bron: Veeteelt.



De strooisellaag van houtsnippers.

Bron: Veeteelt.



De slakkenventilator en buizen aan de zijkant van de stal.

Bron: Veeteelt.

## **Bijlage D: Toelichting sporevormende bacteriën**

Sporevormende bacteriën zijn worden gekarakteriseerd kunnen voorkomen in melk en melkproducten en een hittebehandeling als pasteurisatie overleven waardoor ze voor bederf van producten kunnen zorgen. Op basis van hittebestendigheid van de bacteriën wordt in dit onderzoek een onderscheid gemaakt tussen mesofiele en thermofiele aërobe sporevormers. Binnen deze laatste groep kan nog een onderscheid gemaakt worden in extreem hitteresistente sporevormers. Deze laatste groep kan zelfs de hittebehandeling EVAP overleven. Melk wordt hierbij tot de helft ingedampt en gesteriliseerd tot geëvaporeerde melk, een belangrijk exportproduct.

### **Mesofiele aërobe sporevormers (MAS)**

Een groep van vooral Gram-positieve bacteriën waarvan *Bacillus* spp. en *Clostridium* spp. de grootste groepen vormen. Waaronder *Bacillus cereus*.

### **Thermofiele aërobe sporevormers (TAS)**

Een groep van vooral Gram-positieve bacteriën waaronder *Geobacillus* spp., *Anoxybacillus*, *Aneurinibacillus* en een aantal *Bacillus* species veel voorkomend zijn, waaronder *Bacillus subtilis*, *B. sporothermodurans* en *B. thermoamylovorans* die het meest voorkomend is.

### **Extreem hitteresistente sporen van thermofiele aërobe sporevormers (XTAS)**

Thermofiele aërobe sporevormers met extreem hitteresistente sporen, bijvoorbeeld *Geobacillus stearothermophilis*, *G. debilis*, *G. composti*, *Aeribacillus palidus* en *Anoxybacillus flavithermus*. *Geobacillus* en *Aeribacillus* zijn door FrieslandCampina geïdentificeerd als veroorzaker van het bederf van EVAP-producten.

Bron: Dr. F. Driehuis, NIZO, Symposium Vrijloopstallen 13 februari 2014

## Bijlage E: Meetformulier metingen stal- en bodemklimaat

### Meetformulier metingen stal- en bodemklimaat

Dag: .....

#### Stalklimaat

Tijd		Temperatuur (°C)		RV (%)	
------	--	------------------	--	--------	--

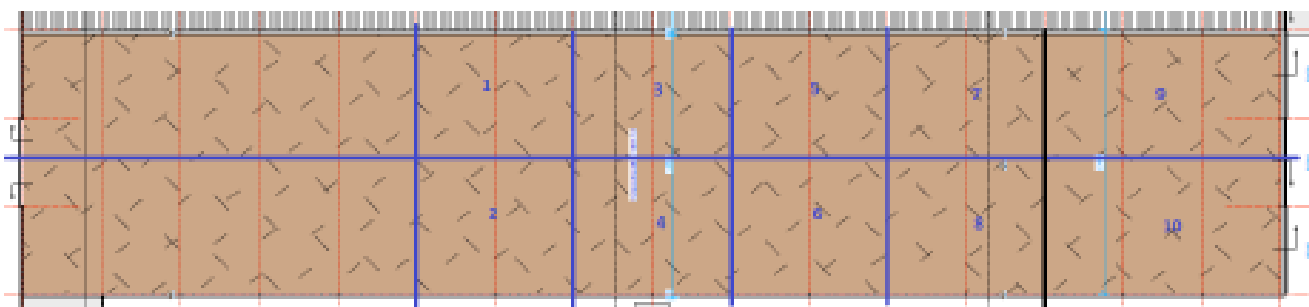
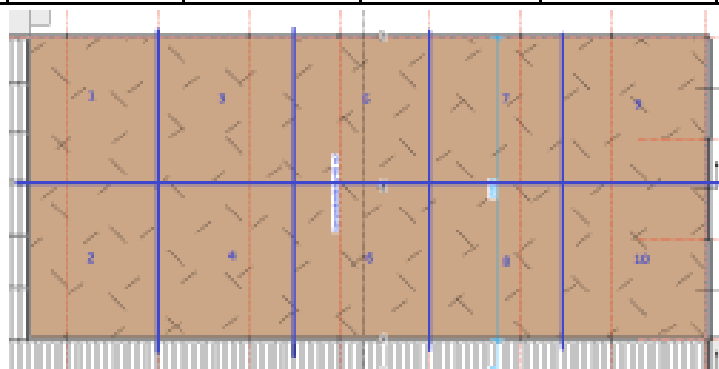
#### Bodemklimaat - temperatuur

Hok A		Temperatuur	Hok B		Temperatuur
1	Oppervlakkig		1	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
2	Oppervlakkig		2	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
3	Oppervlakkig		3	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
4	Oppervlakkig		4	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
5	Oppervlakkig		5	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
6	Oppervlakkig		6	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
7	Oppervlakkig		7	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
8	Oppervlakkig		8	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
9	Oppervlakkig		9	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	
10	Oppervlakkig		10	Oppervlakkig	
	Diep			Diep	



**Bodemklimaat – droge stof**

Hok A	Oppervlakkig Gewicht	Diep Gewicht	Hok B	Oppervlakkig Gewicht	Diep Gewicht
0 min			0 min		
10 min			10 min		
20 min			20 min		
30 min			30 min		
40 min			40 min		
50 min			50 min		
60 min			60 min		
70 min			70 min		
80 min			80 min		
90 min			90 min		
100 min			100 min		
110 min			110 min		
120 min			120 min		
- gewicht zeef			- gewicht zeef		
DS (%)			DS (%)		



## Bijlage F: UGCN Hygiëne Scorekaart



### Hygiëne Scorekaart



**Hygiëne achter en zijkant uier:**  
**Hoe schoon komen de uiers en spenen in de melkput?**  
 Aandachtspunten: hygiëne ligplaatsen, strooisel ligplaatsen, hygiëne looppaden, uiers scheren of branden, ligcomfort ligboxen, mestconsistentie en gezondheid koppel, ...

**Hygiëne dijjen:**  
**Hoe schoon zijn de ligplaatsen?**  
 Aandachtspunten: verzorging ligplaatsen en instrooien, ligcomfort ligboxen, mestconsistentie en gezondheid koppel, ...

**Hygiëne onderbenen en klauwen:**  
**Hoe schoon zijn de looppaden?**  
 Aandachtspunten: gebruik mest-schuif, reiniging paden waar mest-schuif niet komt, mestconsistentie, reiniging wachtruimte, ...

Score 1 = schoon

Score 2 = licht bevuild

Score 3 = bevuild

Score 4 = zwaar/ernstig bevuild

## Bijlage G: Aantekeningen onderzoeksperiode

### Verdeling koeien

Periode	Meet-moment	Hok A			Hok B (lacterend)			Hok B (droog)
		Aantal koeien	Aantal m <sup>2</sup> /koe	Aantal koe/m <sup>2</sup>	Aantal koeien	Aantal m <sup>2</sup> /koe	Aantal koe/m <sup>2</sup>	Aantal koeien
1	10-02-2014	35	14,1	0,07	58	12,6	0,08	13
2	24-02-2014	40	12,3	0,08	55	13,3	0,08	11
3	10-03-2014	38	13,0	0,08	55	13,3	0,08	13
4	24-03-2014	39	12,6	0,08	53	13,8	0,07	14

In totaal is er 1558 m<sup>2</sup> aan composteringbodemp beschikbaar in de vrijloopstal, met de huidige bezetting van 106 koeien, zou dit neerkomen op 14,7 m<sup>2</sup> bedding per koe, een 'koe-dichtheid' van 0,07 koe/m<sup>2</sup>.

Bedding groepshok A: 493 m<sup>2</sup>

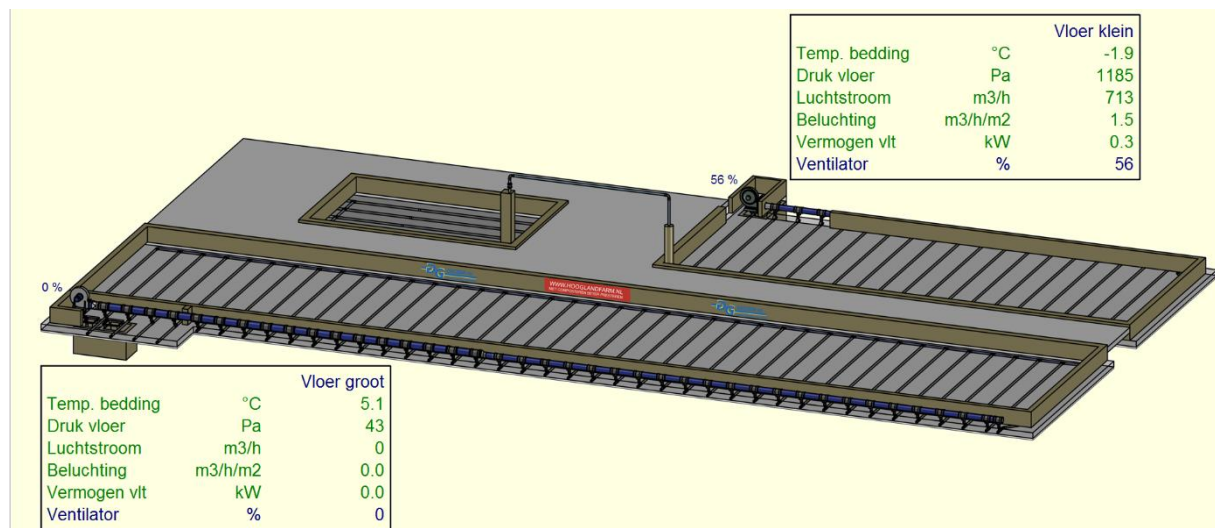
Totale bedding hok B: 1065 m<sup>2</sup>. Hiervan is 333 m<sup>2</sup> met behulp van schrikdraad afgezet voor de huisvesting van de droge koeien, deze bedding wordt niet in het onderzoek betrokken. Hierdoor blijft er 732 m<sup>2</sup> overblijft voor de huisvesting van de lacterende koeien: groepshok B.

Vóór de interventie beginnend in periode 2 zijn de koeien in twee groepen verdeeld zodat er zoveel mogelijk uitgegaan kan worden van een gelijke 'koe-dichtheid'.

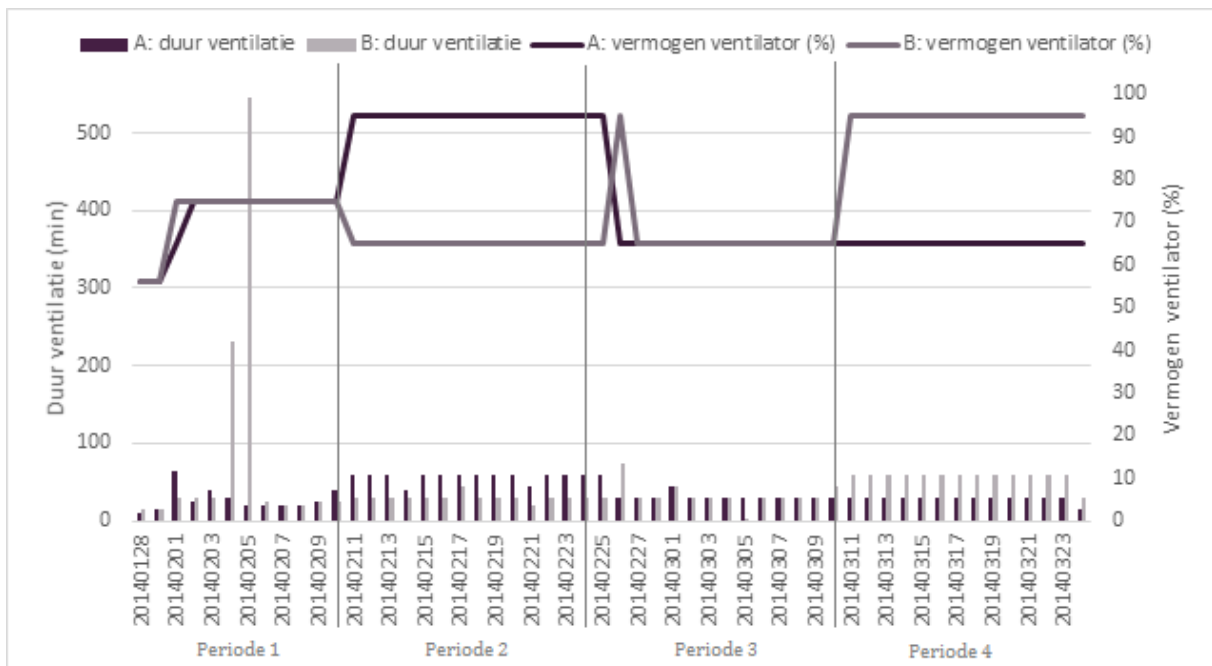
## Instellingen automatische beluchtingssysteem

Periode	Hok A		Hok B	
	Vermogen ventilator (%)	Duur ventilatie (minuten)	Vermogen ventilator (%)	Duur ventilatie (minuten)
1	75	2x 15	75	2x15
2	95	2x 30	65	2x 15
3	65	2x 15	95	2x 30
4	65	2x 15	65	2x 15

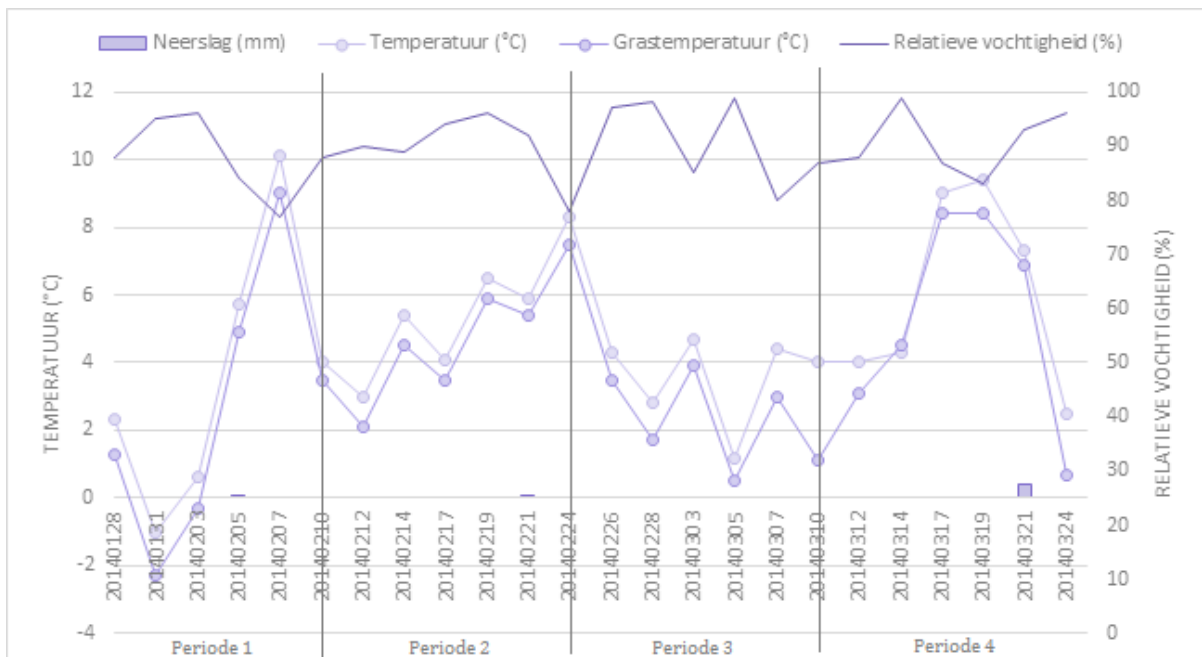
Het automatisch beluchtingssysteem wordt tegelijk met de melkmachine ingeschakeld, waardoor er sprake is van twee maal daags beluchten. Er is per bodem een wachttijd in te stellen na hoeveel minuten de beluchting begint. Hierdoor wordt de bodem momenteel automatisch belucht als de koeien van de bedding af zijn. Dit is zo ingesteld om te voorkomen dat door warme lucht uit de bedding er condensvorming op de koeien ontstaat. Het is daarnaast ook mogelijk om het beluchtingssysteem met de hand aan- en uit te zetten. In dit onderzoek hebben we ervoor gekozen om gebruik te maken van deze automatische instellingen en de beluchtingsduur en ventilatorcapaciteit te verhogen bij de interventie, en niet tussentijds te beluchten.



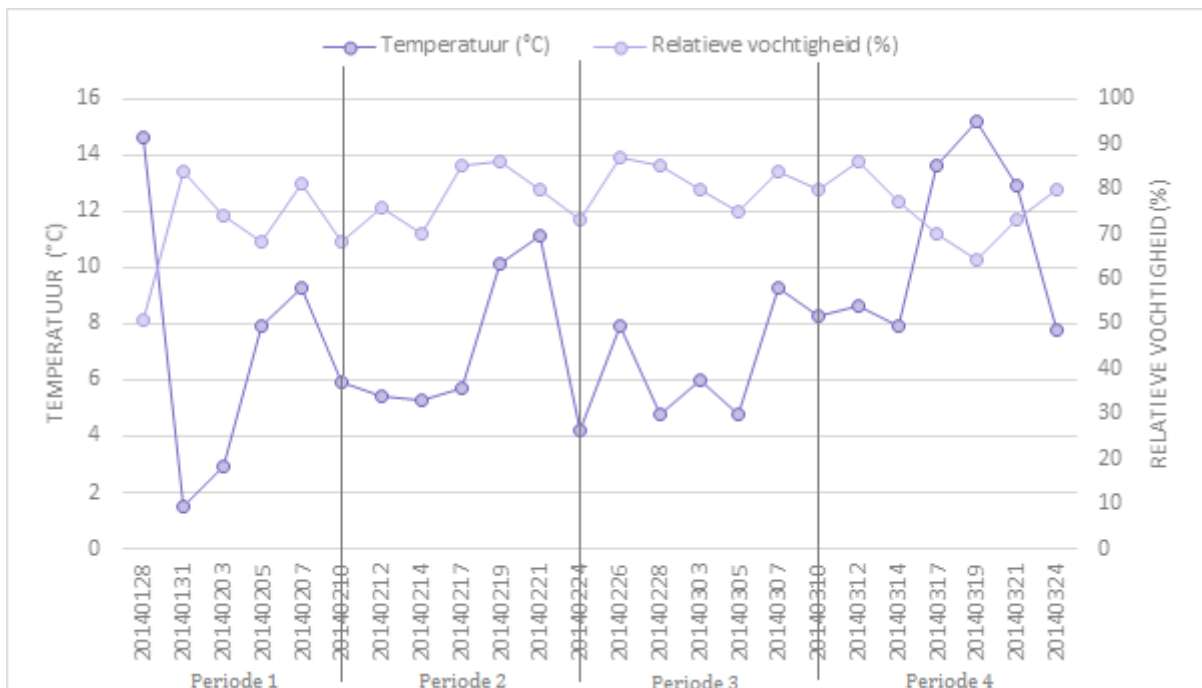
## Daadwerkelijke beluchting



## Weersomstandigheden



## Stalklimaat



## Conditie beide stalbodems en gedrag koeien

### Periode 1: 27 januari tot 10 februari

De grote bodem is van kleiachtige consistentie en lijkt over de gehele diepte niet warmer te zijn dan 15°C. De bovenlaag is nog vrij rul, maar daaronder bevindt zich een stevige laag. Ook op de plekken waar de koeien gelegen hebben, ontstaat een vaste toplaag. Op de plaatsen met veel koe-verkeer is de bodem erg vochtig, waardoor de koeien een flinke stap moeten maken vanuit de bedding de roostervloer op. De bodem is over het algemeen lastig doorloopbaar voor de koeien. Wanneer de koeien los zijn van het voerhek, zijn ze afwachten met het instappen van de bedding.

De kleine bodem heeft een vrij droge toplaag, maar de onderste bodemlaag (vanaf ca. 30 cm. in de diepte) is erg vochtig vanwege het overlopen van het waterslot en een defecte temperatuursensor. Hierdoor was er afgelopen weken geen automatische beluchting mogelijk en is de beluchting in deze tijd handmatig geregeld. De bovenlaag is losser dan de grote bodem en mooi egaal, de koeien lopen gemakkelijk door de bedding en zakken hierin maximaal 10 cm weg. De laag eronder is lastig door te steken bij de metingen en monsternames. In de tweede week zijn delen van de bodem aan de kant van het voerhek opgevuld met nieuwe snippers. Deze snippers zijn vermengd met de bedding over een strook van ongeveer 1/3 breedte van het hok. De koeien zijn halverwege deze eerste periode verdeeld in twee groepen in verband met de interventie van periode 2. Na het melken wordt een voorkeur voor het voerhek van de kleine bedding gezien en dienen er koeien naar de andere kant van de stal gejaagd te worden om een redelijke verdeling te krijgen.



*Kleine bedding, 28 januari*



*Grote beding, 28 januari*

## Periode 2: 10 februari tot 24 februari

Een deel van de grote bodem is afgelopen weekend vervangen door verse houtsnippers: het natste gedeelte bodem naast de roostervloer is daartoe uitgegraven waardoor er een nieuwe laag houtsnippers van ca. 60 cm. ligt. Deze houtsnippers zijn verdeeld richting het midden van de bodem. Na een aantal dagen is het effect van de nieuwe houtsnippers erg duidelijk en worden er temperaturen tot 50 graden in de betreffende helft van de bedding gemeten. De consistentie van de andere helft van de bedding is weinig veranderd. De koeien hebben een duidelijke voorkeur om op de 'verse' kant van de grote bedding te liggen. De tweede week bleken de verse houtsnippers tevens in het midden van de stal voor hogere temperaturen te zorgen en wordt er damp gezien tijdens het beluchten. Ook de 'oude' bedding is ruller aan het worden door kluiten klei die verdrogen en uit elkaar vallen.

De kleine bodem oogt droger en er worden temperaturen tot 30 graden gemeten. De verse houtsnippers van vorige week zijn goed verspreid en lijken deels al verteerd. Tijdens beluchten is er zichtbare damp vanuit het midden van de bedding waarneembaar. De bedding is vrij rul en goed doorloopbaar voor de koeien.

In beide groepshokken zijn de poten van de koeien erg smerig, dit wordt veroorzaakt doordat er veel mest op de roosters blijft liggen. De mest is daarnaast ook vrij dun waardoor er een aantal koeien flink besmeurd zijn. In de tweede week is de mestput leeg gereden en zijn de roosters schoon geschoven, tevens is er twee maal na het melken een voetenbad toegepast voor de koeien: zichtbaar effect!



*Kleine bedding, 17 februari*



*Grote bedding, 12 februari*



### Periode 3: 24 februari tot 10 maart

De gehele grote bedding is vrij rul en droog inmiddels, op een steeds groter gedeelte worden hoge temperaturen in de bedding gemeten. De koeien zijn beter verdeeld over de gehele bedding. De weeromstandigheden zijn gunstig: zonnig met een flinke bries, waardoor de bedding aan de open zijkant sneller lijkt op te drogen en zelfs wat stoffig wordt. Tijdens het beluchten, na het cultiveren, maar ook lang nadat de koeien van de bedding af zijn, wordt er damp gezien over de gehele breedte van de bedding. De koeien liggen over de gehele bedding verspreid, staan gemakkelijk op en lopen vlot weg.

De kleine bedding is vrij vochtig, de urine zakt op sommige plaatsen niet weg in de bodem, maar blijft in kuiltjes in de bedding liggen, dit is het ergst aan de achterkant van de stal naast het rooster (druk koe-verkeer). Er zijn nog steeds plekken die boven 20°C uitkomen. De koeien hebben een voorkeur om op de bedding richting de melkstal te gaan liggen. Doordat er relatief veel koeien afgekalfd hebben, liepen er meer koeien in de kleine bedding waardoor er koeien later in lactatie overgeplaatst zijn naar de grote bedding. In de tweede week valt op dat de bedding vrij ongelijk is, 's ochtends voor het cultiveren vergelijkbaar met een maanlandschap. De koeien zakken ver weg in de bedding, opstaan, vlot weglopen en de stap naar de roostervloer maken gaat duidelijk moeizaam.



*Kleine bedding, 7 maart*



*Grote bedding, 26 februari*



*Grote bedding, 28 februari*

Periode 4: 10 maart tot 24 maart

De grote bedding is nog mooi droog, maar niet stoffig meer. De bedding dampst over de gehele breedte, is goed doorloopbaar en de koeien liggen over de gehele bedding verspreid.

De conditie van de kleine bedding lijkt onveranderd. De bedding is op veel plekken ongelijk en urine blijft in kuiltjes in de bedding staan. Koeien zakken ver weg bij het lopen door deze bedding.



*Kleine bedding, 21 maart*



*Kleine bedding, 24 maart*

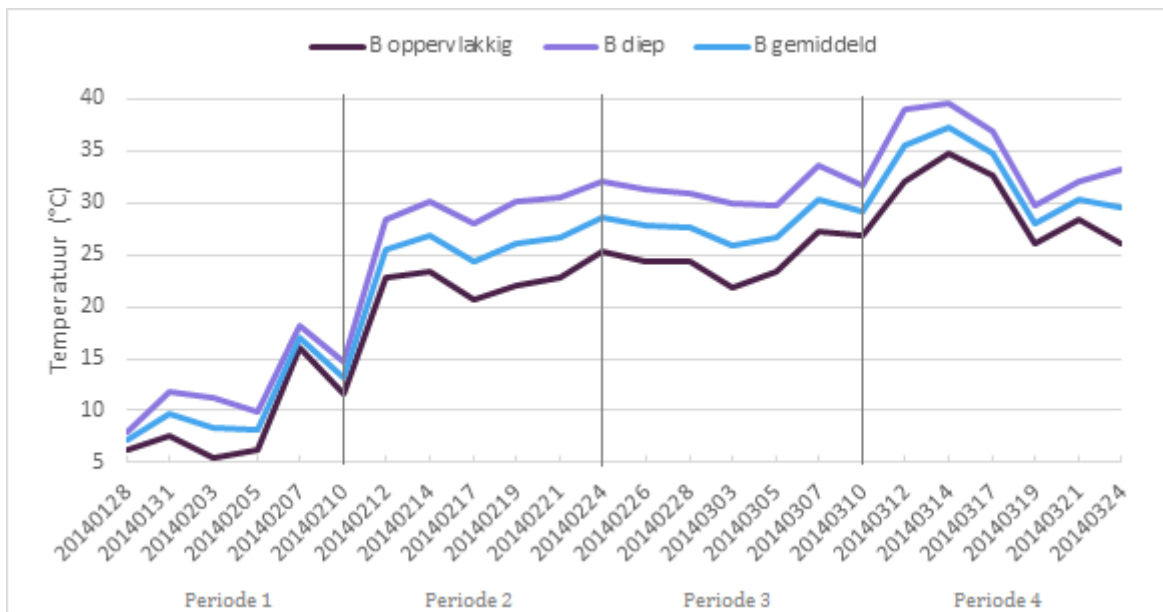
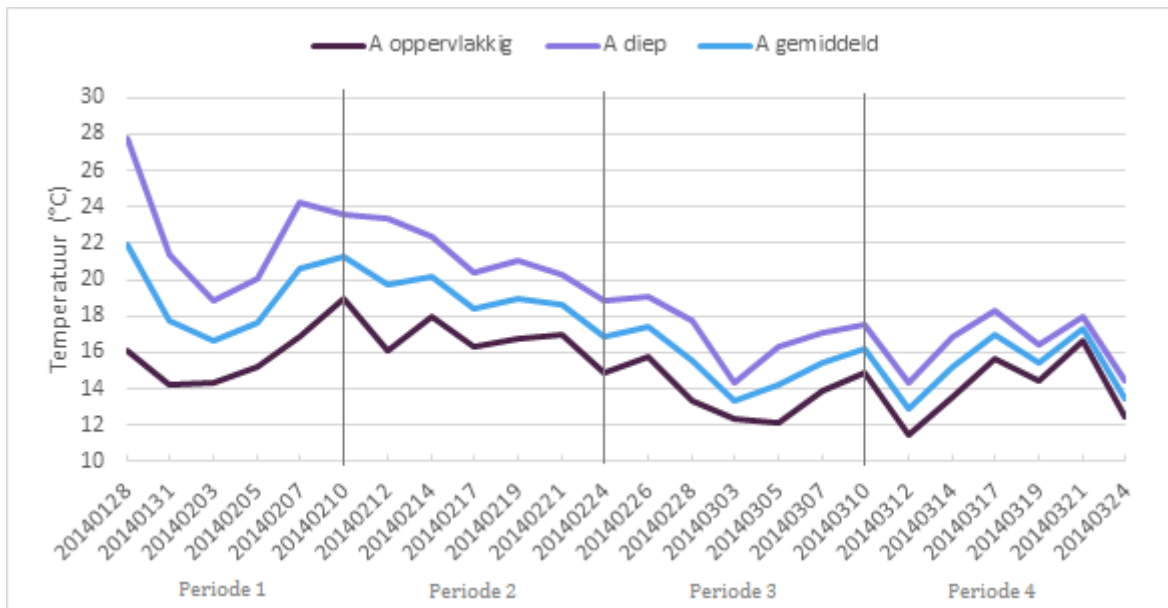


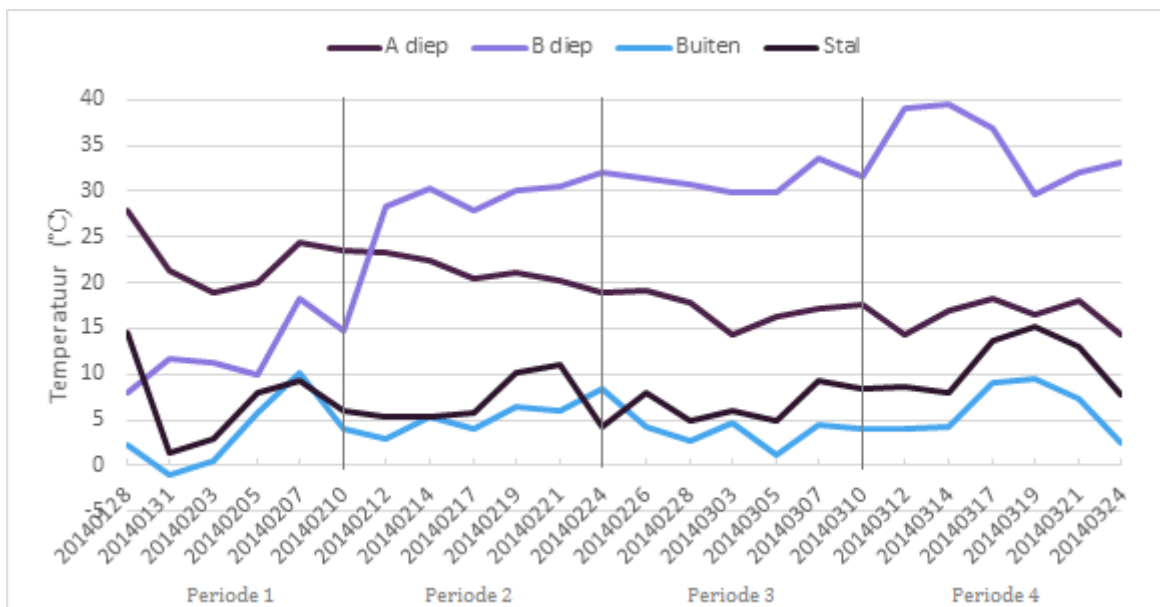
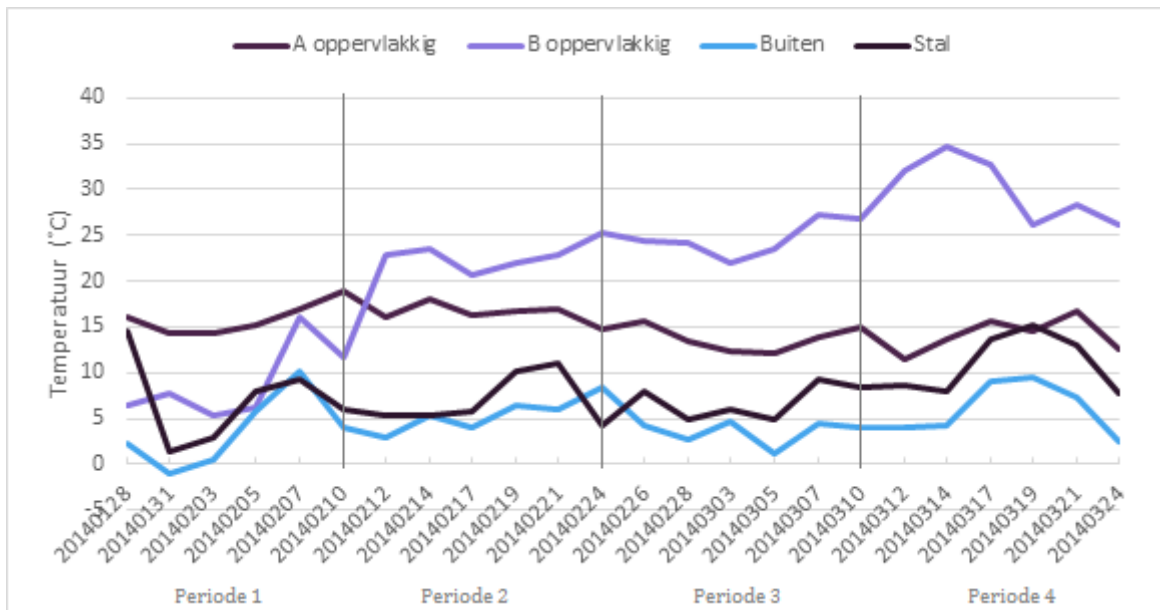
*Grote bedding, 21 maart*



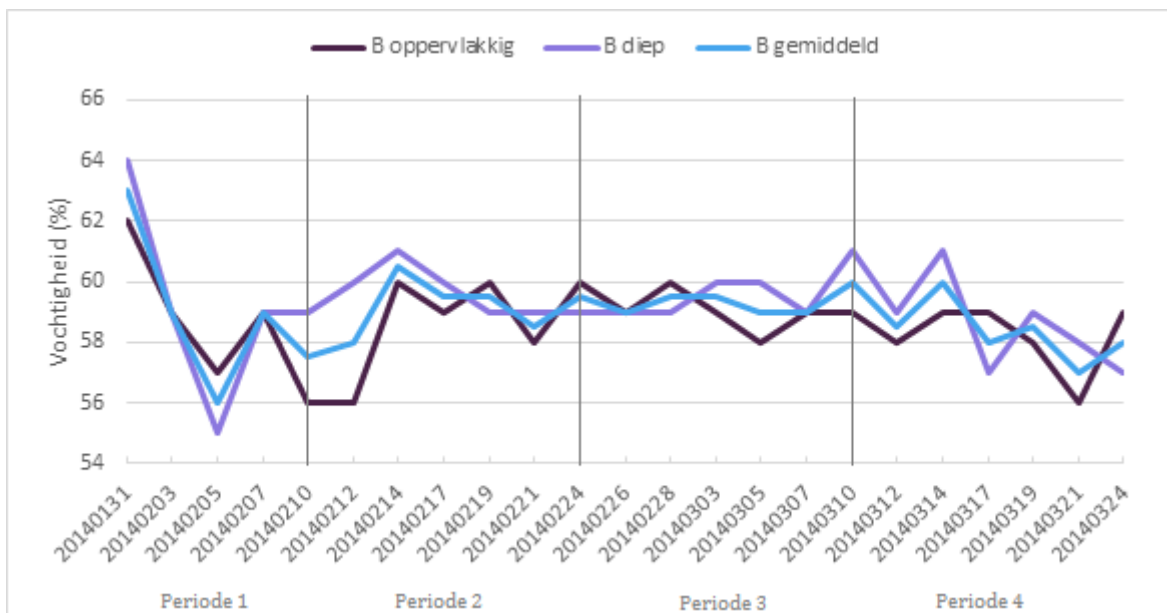
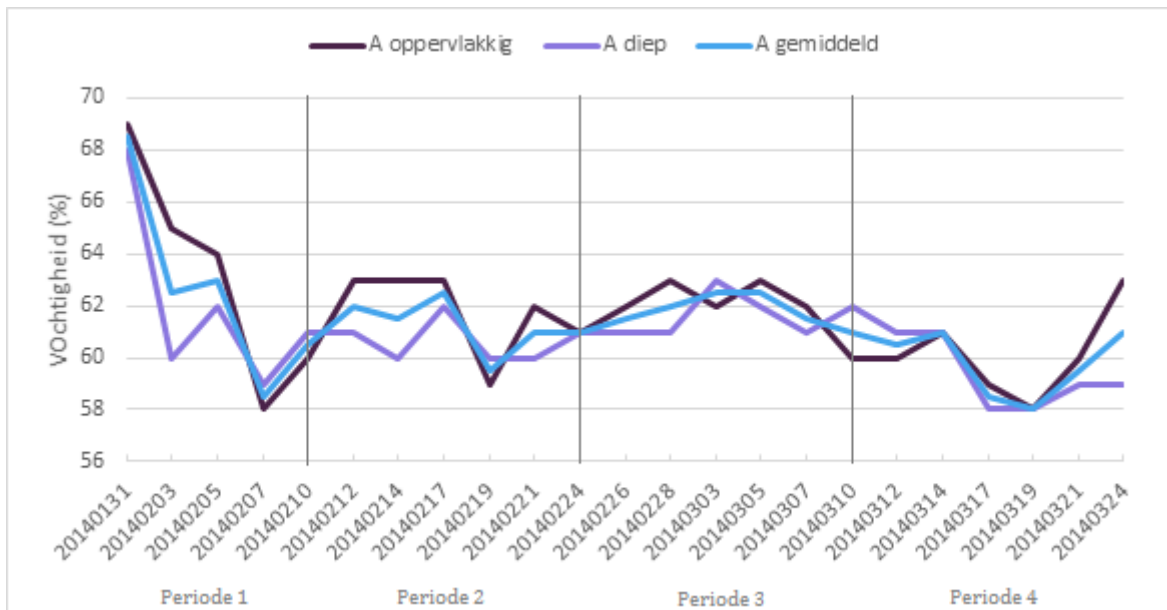
*Grote bedding, 24 maart*

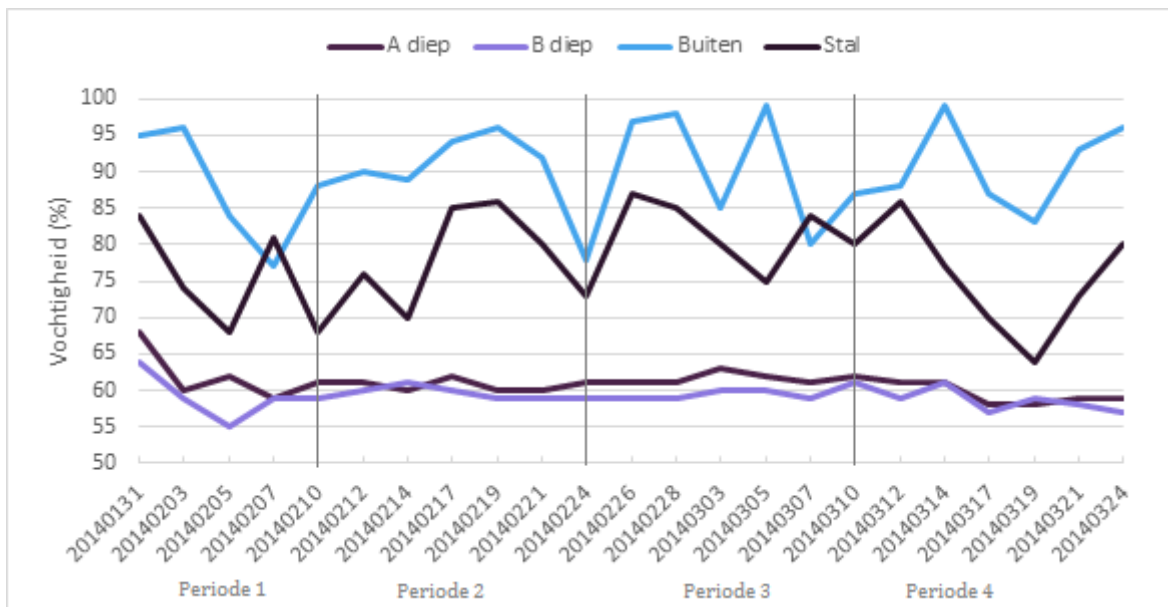
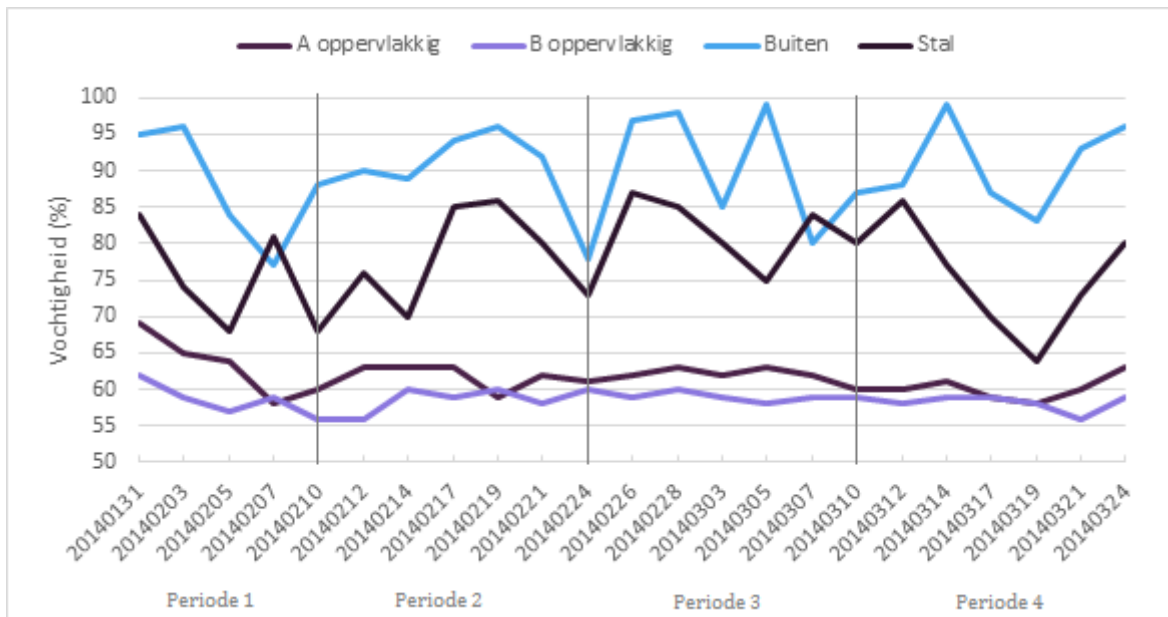
## Bijlage H: Temperatuurverloop bodems





## Bijlage I: Verloop vochtigheid bodems





Opmerking: in verband met de levertijd van de droge-stof-koker zijn deze metingen één meetmoment later gestart.

## Bijlage J: Verloop hygiënescores

