

Annett Reinhardt-Hanisch, Hartmut Grimm und Eberhard Hartung

Neuartige Ureaseinhibitoren in der Nutztierhaltung – Grundlagenarbeit zu deren Wirksamkeit

Im Rahmen des BMBF-geförderten interdisziplinären Forschungsverbundprojektes „Ureaseinhibitoren zur Senkung der Ammoniakemissionen in der Landwirtschaft“ wurden Grundlagenuntersuchungen mit einem Behälter-Wasserbad-Messsystem (BeWaSys) durchgeführt. Ziel war die Selektion des Ureaseinhibitors mit der besten Minderungswirkung nach einem Standardverfahren und die Quantifizierung von Einflussfaktoren auf die Wirkung des ausgewählten Ureaseinhibitors.

Schlüsselwörter

Ammoniak, Ammoniakemissionen, Ammoniakminderung, Urease, Ureaseinhibitoren

Keywords

Ammonia, ammonia emission, ammonia reduction, urease, urease inhibitors

Abstract

Reinhardt-Hanisch, Annett; Grimm, Hartmut and Hartung, Eberhard

Basic studies on the effects of novel urease inhibitors in livestock husbandry

Landtechnik 64 (2009), no. 2, pp. 102 - 105, 2 figures, 1 table, 12 references

Ammonia emissions from agriculture in Germany derive mostly from livestock husbandry. Therefore the aim of this research project is to test the effectivity of different novel urease inhibitors in order to reduce ammonia emissions from animal facilities and to compare them to the commercially available urease inhibitor N-(n-butyl)thiophosphoric triamide (NBPT). A standardised laboratory measuring system was used to detect the inhibitor with the best reduction potential and to study the dose-effect relationships of the inhibitors under laboratory conditions. In general, some novel urease inhibitors showed a reduction of ammonia release and of the conversion of urea-N to $\text{NH}_3\text{-N}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$, but the level of the reduction was different and influenced by substrate temperature and concentration of the inhibitor. By the use of the novel urease inhibitor D was obtained an explicit higher

reduction of the ammonia release and of the conversion of urea-N to $\text{NH}_3\text{-N}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$ as by the use of the well-known NBPT inhibitor. So for instance, after the use of novel urease inhibitor D (concentration: 0,1 % of Total Kjeldahl Nitrogen, substrate temperature: 15 °C) the emission reduction potential is estimated to be rather promising. A remarkable lower portion of only 15 % of the urea-N was transferred to $\text{NH}_3\text{-N}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$ compared to NBPT with 76 %. The novel urease inhibitor D was also effective in substrates of different dairy barns, in different layer thicknesses of slurry and in pig slurry.

■ Eine wesentliche Ursache der Ammoniakemissionen aus der Nutztierhaltung [2] ist die ureasekatalysierte Harnstoffhydrolyse. Ureaseinhibitoren hemmen die Umsetzung des Harnstoffs und damit die Entstehung von Ammoniak [1; 5]. Trotz verschiedener Untersuchungen zum Einsatz von Ureaseinhibitoren in der Tierhaltung [4; 7; 8; 11; 12] konnte eine praktische Anwendung bisher noch nicht umgesetzt werden. Ziel des Projektes war deshalb die Entwicklung einer Prinziplösung zur Senkung von Ammoniakemissionen aus der Nutztierhaltung durch den Einsatz von neuartigen Ureaseinhibitoren. Um für die Untersuchungen unter stallähnlichen Bedingungen in einem Windtunnel-Wasserbad-Messsystem und im Praxisstall [3] wichtige Kenntnisse und Erfahrungen zu gewinnen, wurden zunächst Grundlagenuntersuchungen in einem Behälter-Wasserbad-Messsystem durchgeführt. Wesentliche Ziele dieser Grundlagenuntersuchungen waren die Selektion desjenigen Ureaseinhibitors mit der besten Minderungswirkung, die Quantifizierung von Einflussfaktoren auf die Wirkung des ausgewählten Ureaseinhibitors, die Gewinnung von Kenntnissen zum Verbleib des zugeführten Harnstoff-Stickstoffs sowie die Ableitung von ersten Hinweisen zur Langzeitwirkung des aus-

Tab. 1

Prozentualer Umsatz des applizierten Harnstoff-Stickstoffs nach Einsatz der Ureaseinhibitoren bei unterschiedlichen Inhibitorkonzentrationen (Rinderflüssigmist, Substrattemperatur 15 °C)
 Table 1: Percentage conversion of applied urea nitrogen after application of urease inhibitors at different inhibitor concentrations (cattle slurry, substrate temperature 15 °C)

Ureaseinhibitor (UI) urease inhibitor (UI)	Variante treatment	Umsatz des Harnstoff-N zu $\text{NH}_3\text{-N}$ [%] conversion of urea-N to $\text{NH}_3\text{-N}$ [%]					Umsatz des Harnstoff-N zu $\text{NH}_3\text{-}$ und $\text{NH}_4\text{-N}$ [%] conversion of urea-N to $\text{NH}_3\text{-}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$ [%]				
		n	Mittelwert mean	Minimum minimum	Maximum maximum	Standard- abweichung standard deviation	n	Mittelwert mean	Minimum minimum	Maximum maximum	Standard- abweichung standard deviation
-	B	52	6	3	11	2,2	41	90	62	127	11,2
C	C3	16	6	4	9	1,7	12	91	70	101	8,6
C	C4	32	3	2	6	1,1	29	76	38	101	16,4
D	D3	47	1	0	3	0,8	29	33	-3	89	20,5
D	D4	20	1	0	1	0,2	12	15	7	22	4,5
E	E3	8	4	3	5	0,6	8	91	60	111	14,7
E	E4	8	3	3	4	0,3	8	89	70	100	10,9
F	F3	4	4	3	4	0,4	4	66	57	81	11,1
F	F4	3	2	2	3	0,6	3	29	28	30	0,8
G	G3	4	8	6	9	1,6	4	79	72	82	5,1
G	G4	4	6	4	7	1,3	4	76	62	91	11,6

UI-Konzentration 3: Soll-Konzentration 0,01% von Total Kjeldahl Nitrogen
 concentration 3 of UI: target value 0.01% of Total Kjeldahl Nitrogen

n: Anzahl der Wiederholungen
 n: number of repetitions

UI-Konzentration 4: Soll-Konzentration 0,1% von Total Kjeldahl Nitrogen
 concentration 4 of UI: target value 0.1% of Total Kjeldahl Nitrogen

gewählten Ureaseinhibitoren, zum Einfluss des Ureaseinhibitors auf die Biogasbildung und zur Wirkung des Ureaseinhibitors in Schweineflüssigmist.

Material und Methode

Das eingesetzte Behälter-Wasserbad-Messsystem [9; 10] bestand aus max. 28 Messbehältern, die mit 2 l Rinder- bzw. Schweineflüssigmist befüllt wurden und nach dem Grundprinzip der dynamischen Kammer arbeiteten. Der Einsatz der Messbehälter in ein Wasserbad ermöglichte eine exakte und konstante Temperierung des Substrates. Die Untersuchungen wurden bei 5, 15 und 25 °C durchgeführt. Je Versuchsdurchgang wurden mehrere randomisiert angeordnete Wiederholungen der verschiedenen Behandlungsvarianten angesetzt. Die Messung der Ammoniakkonzentrationen (Nichtdispersive Infrarot Spektroskopie) und der Substrattemperaturen im jeweiligen Messbehälter erfolgte quasi-kontinuierlich alle 45 min. Die Zusammensetzung des Flüssigmistes sowie die Flüssigmistmasse und der pH-Wert wurden am Anfang und am Ende eines jeden Versuches erfasst. Ein Standardversuch dauerte insgesamt eine Woche. Nach der einmaligen Applikation von 100 ml Ureaseinhibitorlösung (UIL) erfolgte die Zugabe von je 100 ml Harnstofflösung (HSL; Konzentration: 20 g/l) im Abstand von jeweils 24 h. Insgesamt wurden fünf verschiedene Ureaseinhibitoren untersucht (Typ: C, D, E, F, G). Bei den Inhibitoren D, E, F und G handelte es sich um neue, vom Projektpartner SKW Stickstoffwerke Piesteritz GmbH entwickelte Inhibitoren [6]. Der unter dem Namen AGROTAIN bereits im Pflanzenbau eingesetzte Wirkstoff NBTPT wurde als Ureaseinhibitor C bezeichnet und diente als Referenz. Zu Vergleichszwecken wurden zusätzlich

jeweils zwei Varianten ohne Ureaseinhibitoren angesetzt:

- bei der Nullvariante A wurde jeweils nur Wasser zugegeben;
- bei der Maximalvariante B wurde Harnstofflösung auf den unbehandelten Flüssigmist appliziert.

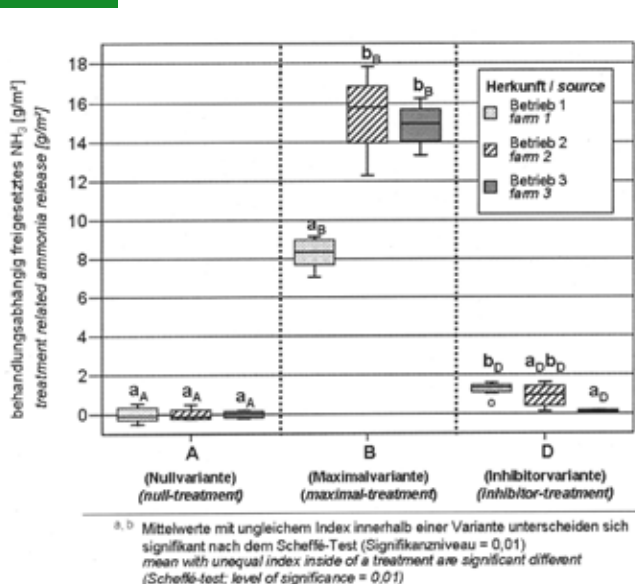
Die Konzentration der jeweiligen Ureaseinhibitorlösung wurde auf den Gehalt an Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) im Flüssigmist bezogen und in % von TKN angegeben. Nach der Erfassung mit dem Messprogramm DasyLab wurden die Daten zunächst in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel importiert und auf Plausibilität überprüft. Die statistische Aufbereitung und Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programmsystem SPSS 12.0.

Ergebnisse

Die fünf eingesetzten Ureaseinhibitoren unterschieden sich teilweise sehr deutlich hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Harnstoffhydrolyse und damit auf die Ammoniakfreisetzung (Tabelle 1). Die beste Minderungswirkung wurde dabei durch den Einsatz des neu entwickelten Ureaseinhibi-

tor erreicht.

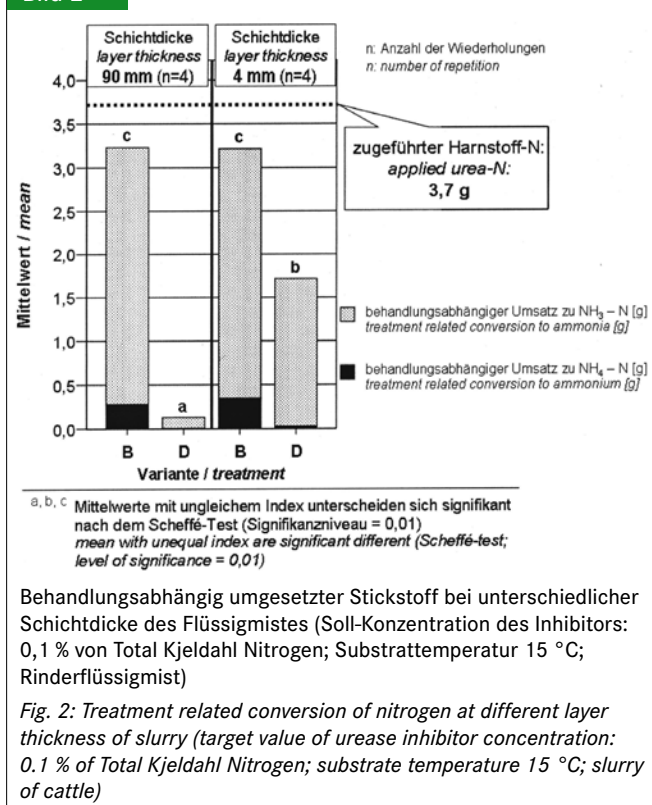
Bild 1



Behandlungsabhängige Ammoniakfreisetzung nach Applikation von Harnstofflösung auf Flüssigmist unterschiedlicher Herkunft (Soll-Konzentration des Inhibitors: 0,1 % von Total Kjeldahl Nitrogen; Substrattemperatur 15 °C; Rinderflüssigmist)

Fig. 1: Treatment related ammonia release after application of urea solution on slurry of different sources (target value of urease inhibitor concentration: 0.1 % of Total Kjeldahl Nitrogen; substrate temperature 15 °C; cattle slurry)

Bild 2



tors D erreicht. So wurden beispielsweise nach dem Einsatz dieses Inhibitors bei einer Substrattemperatur von 15 °C und einer Inhibitor-Konzentration von 0,1 % von TKN im Mittel nur 15 % des zugeführten Harnstoff-N zu Ammoniak- und Ammonium-N umgesetzt. Beim Referenzprodukt NBPT waren es bei gleicher Konzentration durchschnittlich 76 %. Die Wirkung des Urease-inhibitors D war dabei von der Substrattemperatur abhängig: Um eine signifikante Minderung zu erreichen, musste der Ureaseinhibitor bei einer Substrattemperatur von 25 °C mit 0,1 % von TKN höher dosiert werden als bei einer Substrattemperatur von 5 und 15 °C, hier führte bereits eine Konzentration von 0,01% von TKN zu einer signifikanten Minderung. Des Weiteren konnte für den Ureaseinhibitor D auch eine deutliche Dosis-Wirkung-Beziehung nachgewiesen werden: mit zunehmender Konzentration des Inhibitors nahm die Harnstoffhydrolyse und damit auch die Ammoniakfreisetzung ab.

Untersuchungen zur Menge und Frequenz der Ureaseinhibitor-Applikation mit dem Ureaseinhibitor D zeigten, dass unter Laborbedingungen die Minderungswirkung des Inhibitors bei der gleichen Inhibitorgesamtmenge (8 mg) unabhängig von der Verteilung der einzelnen Applikationen (1 x 8 mg; 2 x 4 mg; 4 x 2 mg) ist.

Für die Untersuchungen zur Wirkung des Ureaseinhibitors D in Flüssigmist unterschiedlicher Herkunft wurde Rinderflüssigmist aus drei verschiedenen Betrieben eingesetzt. Dabei konnte im Flüssigmist aller drei Betriebe durch den Einsatz des Ureaseinhibitors D eine signifikante Minderung sowohl der behandlungsabhängigen Ammoniakfreisetzung

als auch der Umsetzung des Harnstoff-N zu Ammoniak- und Ammonium-N nachgewiesen werden, und zwar unabhängig von der unterschiedlichen Ammoniakfreisetzung aus dem unbehandelten Flüssigmist der Maximalvariante B (Bild 1).

Die Untersuchungen zur Wirkung des Ureaseinhibitors D bei unterschiedlichen Schichtdicken des Flüssigmistes zeigten, dass durch den Einsatz des Inhibitors die Harnstoffhydrolyse und damit auch die Ammoniakfreisetzung sowohl bei einer Schichtdicke von 4 mm als auch bei einer Schichtdicke von 90 mm jeweils signifikant gehemmt werden konnte. Dabei traten jedoch innerhalb der jeweiligen B- und D-Varianten Unterschiede zwischen den beiden Schichtdicken auf (Bild 2). So wurden beispielsweise nach dem Einsatz des Ureaseinhibitors D bei einer geringeren Schichtdicke von 4 mm durchschnittlich 46 % des Harnstoff-N zu Ammoniak- und Ammonium-Stickstoff umgesetzt. Bei einer größeren Schichtdicke von 90 mm waren es hingegen im Mittel nur 4 %.

Bei der durchgeführten Stickstoff-Bilanzierung wurde zunächst der Gehalt an Total Kjeldahl Nitrogen (TKN-Wert) am Ende eines Versuchsdurchganges anhand der erfassten Daten berechnet und dann mit dem im Labor analysierten TKN-Wert verglichen. Dabei wurde eine weitgehende Übereinstimmung der beiden TKN-Werte festgestellt. Die Differenzen lagen i.d.R. innerhalb des Analysefehlers. Damit können größere Stickstoffverluste – wie beispielsweise durch die Freisetzung von Lachgas – für alle durchgeführten Untersuchungen grundsätzlich ausgeschlossen werden.

Die ersten weiterführenden Untersuchungen mit dem Ureaseinhibitor D ließen keine negativen Effekte des Ureaseinhibitors D auf die Biogasbildung erkennen. In Schweineflüssigmist konnten nach dem Einsatz des Ureaseinhibitors D ähnliche Zusammenhänge wie im Rinderflüssigmist aufgezeigt werden.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Mit dem neu entwickelten Ureaseinhibitor D konnte die Harnstoffhydrolyse unter Laborbedingungen signifikant gemindert werden. Aufgrund der Temperaturabhängigkeit und der Dosis-Wirkung-Beziehung des Inhibitors D ist bei der Anwendung auf eine ausreichend hohe Konzentration zu achten, insbesondere bei höheren Substrattemperaturen (> 20 °C) ist eine höhere Inhibitorkonzentration erforderlich, um eine entsprechende Minderungswirkung zu erzielen. Da unter Laborbedingungen bei gleicher Inhibitorgesamtmenge die Minderungswirkung des Inhibitors unabhängig von der Verteilung der einzelnen Applikationen war, erscheint es bei einer späteren Anwendung des Inhibitors in der Tierhaltung sinnvoll, geringere Mengen des Inhibitors öfter auszubringen, um einem negativen Effekt durch den Tierverkehr sowie durch das Absetzen der Exkremente auf den mit Ureaseinhibitor behandelten Flächen entgegen zu wirken. Untersuchungen im Praxisstall [3] bestätigen diese Schlussfolgerungen.

Neben weiteren Untersuchungen zur Verfahrenstechnik bei der Anwendung des Inhibitors im Stallbereich muss bei zukünftigen

Untersuchungen auch die gesamte Verfahrenskette bis zur Ausbringung des Flüssigmistes auf dem Feld betrachtet werden. Denn unter der Voraussetzung, den nicht zu Ammoniak- und Ammonium-N umgesetzten Harnstoff-N über die gesamte Verfahrenskette hinweg im Flüssigmist halten zu können und anschließend emissionsarm auszubringen, könnten durch den Einsatz des Ureaseinhibitors einerseits umweltschädliche Ammoniakemissionen effektiv gemindert werden, andererseits würde gleichzeitig ein höherwertiger Wirtschaftsdünger zur Verfügung stehen.

Danksagung

Das Projekt wurde im Rahmen des BMBF-Verbundprojektes „Ureaseinhibitoren in der Landwirtschaft“ an der Universität Hohenheim bearbeitet (FKZ: 330524).

Literatur

Bücher sind mit ● gekennzeichnet

- [1] Amtul, Z., A. Rahman, R.A. Siddiqui, M.I. Choudhary (2002): Chemistry and Mechanism of Urease Inhibition. *Current Medicinal Chemistry*, 2002, Vol. 9, No. 14, p. 1323-1348
- [2] ● Hartung, E. (2001): Ammoniak-Emissionen der Rinderhaltung und Minderungsmaßnahmen. In: KTBL-Schrift 406, Hrsg.: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V. (KTBL), Darmstadt
- [3] ● Leinker, M. (2007): Entwicklung einer Prinziplösung zur Senkung von Ammoniakemissionen aus Nutztierställen mit Hilfe von Ureaseinhibitoren. Forschungsbericht Agrartechnik VDI-MEG Schrift 462, Dissertation Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, ISSN-Nr. 0931-6264, Cuvillier Verlag, Göttingen, ISBN-Nr. 978-3-86727-460-9
- [4] Ludden, P.A., D.L. Harmon, B.T. Larson, D.E. Axe (2000): Influence of the novel urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric triamide on ruminant nitrogen metabolism: I. In vitro urea kinetics and substrate digestion. *J. Animal Science*, 2000, Vol. 78, p. 181 - 187
- [5] McCarty, G.W., J.M. Bremner, J.S. Lee (1990): Inhibition of plant and microbial ureases by phosphoramides. In: *Plant and Soil*, 127, p. 269-283, Kluwer Academic Publishers in the Netherlands
- [6] Niclas, H.J., H.J. Michel, C. Schuster (2003): Ureaseinhibitoren zur Senkung der Ammoniakemissionen aus der Landwirtschaft. Antrag auf BMBF-Fördermittel im Rahmen der Fördermaßnahme „Integrierter Umweltschutz in der Wirtschaft“, SKW Stickstoffwerke Piesteritz GmbH (SKWP), Wittenberg-Piesteritz, Mai 2003
- [7] Panetta, D.M., W.J. Powers, J.C. Lorimor (2005): Management strategy impacts on ammonia volatilization from swine manure. *Journal of Environmental Quality*, 2005, Vol. 34(3), p. 1119 - 1130
- [8] Parker, D.B., S. Pandrang, L.W. Greene, L.K. Almas, N.A. Cole, M.B. Rhoades, J.A. Koziel (2005): Rate and Frequency of Urease Inhibitor Application for Minimizing Ammonia Emissions from Beef Cattle Feedyards. *Transactions of the ASAE*, ISSN 0001-2351, Vol. 48(2), p. 787 - 793
- [9] Reinhardt-Hanisch, A. und E. Hartung (2006): Comparison of novel urease inhibitors to reduce ammonia emissions under laboratory conditions. *Proceedings of the CIGR World Congress "Agricultural Engineering for a Better World"*, Bonn 03. bis 07.09.2006, VDI-Verlag GmbH, Düsseldorf, 2006, VDI-Berichte Nr. 1958, Archive Nr. 440119580469, ISBN 3-18-091958-2, Abstract S.469-470
- [10] ● Reinhardt-Hanisch, A. (2008): Grundlagenuntersuchungen zur Wirkung neuartiger Ureaseinhibitoren in der Nutztierhaltung. Forschungsbericht Agrartechnik VDI-MEG Schrift 471, Dissertation Universität Hohenheim, ISSN-Nr. 0931-6264, im Internet veröffentlicht unter: <http://opus.ub.uni-hohenheim.de/volltexte/2008/302/>
- [11] Todd, C.R. & Z.F. Ming (2001): Efficacy of various microbial urease inhibitors on controlling ammonia emission from swine manure slurry (Study I - III). Project final report to Ontario Pork HEMS Program Canadian Pork Council
- [12] Varel, V.H., J.A. Nienaber, H.C. Freetly (1999): Conservation of Nitrogen in Cattle Feedlot Waste with Urease Inhibitors. *J. Animal Science*, 1999, Vol. 77, p. 1162 - 1168

Autoren

Dr. Annett Reinhardt-Hanisch und **PD Dr. habil. Hartmut Grimm**

sind wissenschaftliche Mitarbeiter am Fachgebiet Verfahrenstechnik der Tierhaltungssysteme (Leiter: **Prof. Dr. T. Jungbluth**), Institut für Agrartechnik, Universität Hohenheim, Garbenstraße 9, 70599 Stuttgart, E-Mail: A.Reinhardt-Hanisch@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. Eberhard Hartung ist Direktor des Instituts für landwirtschaftliche Verfahrenstechnik an der Universität Kiel, 24098 Kiel.