

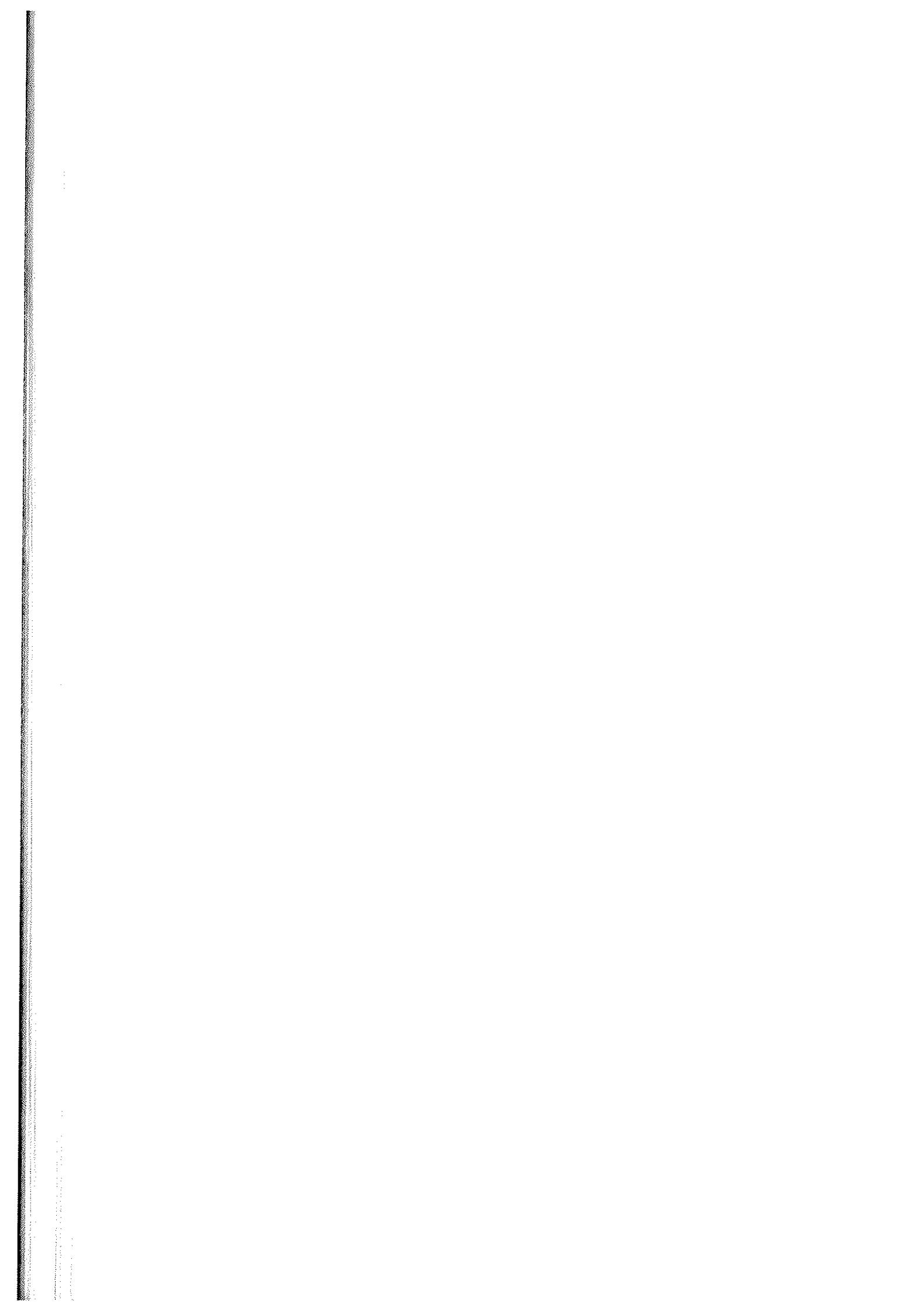
BILAG II

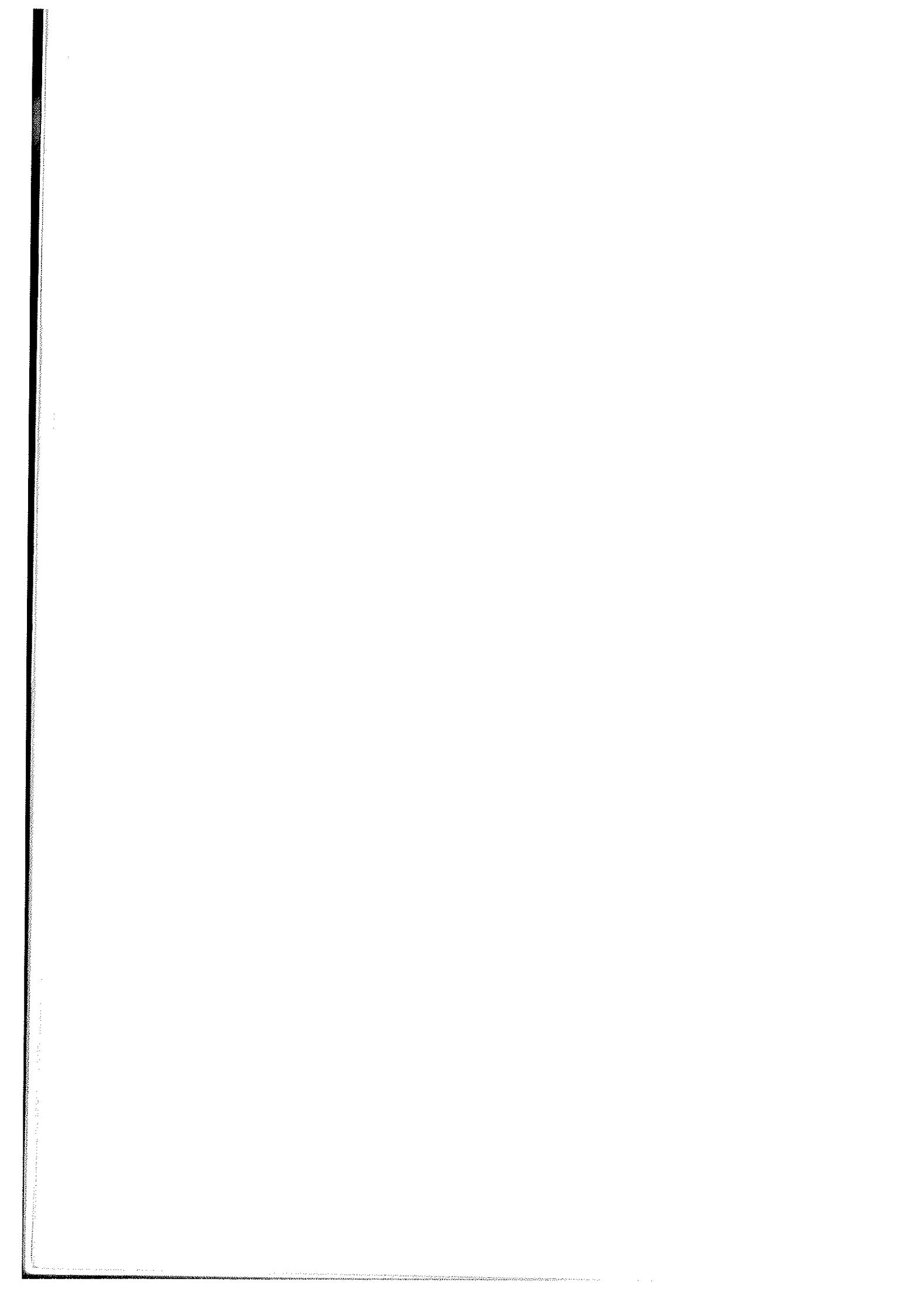
O. BENNETZEN OG U.S. MIKKELSEN

**FS-METODENS ANVENDELIGHED SOM
HYGIEJNISK KONTROLPARAMETER**

**DEL-RAPPORT TIL
SMITSTOFREDUKTION I BIOMASSE
RAPPORT VEDRØRENDE
DET VETERINÆRE FORSØGSPROGRAM
I
BIOGASFÆLLESANLÆG**

BIND II: DEL-RAPPORTER OG BILAG 1995





FS-metodens anvendelighed som hygiejniske kontrolparameter

1. Biogasfællesanlæg

The applicability of the FS method as a parameter for the control of biogas plants

Summary

The outlines are given of the general conditions for treatment and use of waste when processed in biogas plants (BGP), as specified in the notification on sludge etc. The criteria for the treatment of waste products and slurry in the BGP's are described. Furthermore, the requirements which a microbiological indicator organism must satisfy are mentioned. Faecal streptococci (FS) have been proposed for this purpose, and a series of investigations have been carried out in the present investigation to clarify the applicability of FS for this purpose: The occurrence of FS in untreated slurry and the T90 elimination curve for FS determined in laboratory experiments by using 100% slurry, 80% slurry + 20% sludge and 100% sludge as raw materials. In addition, the growth of FS in the storage tanks have been studied. Based on these observations it is concluded that FS may be used as a parameter for surveillance of the pathogen reducing capacity of a BGP. The method may also be used to uncover deficient functions in a BGP. The FS method is, however, not suitable for monitoring "controlled hygienization" as defined in the notification on sludge etc.

Sammendrag

Der fremhæves nogle generelle retningslinjer i slabbekendtgørelsen vedrørende affaldstyper, og behandlingen af disse i biogasfællesanlæg. Derefter omtales nogle kriterier for behandlingen af biomassen i biogasfællesanlæggene. Endvidere opstilles nogle krav til en indikatororganisme i biogasfællesanlæg. Fækalstreptokokker (FS) foreslås som indikatororganisme, og der foretages forskellige undersøgelser til belysning af FS' anvendelighed til formålet. Først undersøges der for forekomst af FS i ubehandlet gylle. Siden fremstilles en T90 drabskurve for FS, udført som laboratorieforsøg, med henholdsvis 100% gylle, 80% gylle + 20% slam, samt 100% slam som udgangsmateriale. Slutelig, foretages en måling af evt. eftervækst i lagertankene. På baggrund af disse resultater diskuteres FS-metodens anvendelighed. Det konkluderes, at FS synes at være en udmaerket overvågningsparameter til vurdering af et biogasfællesanlægs effektivitet vedrørende smitsstofreduktion. Endvidere er metoden velegnet til afsløring af driftshygieniske brist i anlægget. Metoden er derimod ikke anvendelig til sikring af en »kontrolleret hygienisering«.

Introduktion

Der er i Danmark blevet opført en del biogasfællesanlæg, således at vi i dag har 10 biogasproducerende anlæg (1). Fælles for disse er, at biogasproduktionen hovedsagelig sker med gylle som råmateriale. I alle anlæg forekommer der dog supplerende råmaterialer, der har til formål at stimulere biogasproduktionsprocessen.

I slabbekendtgørelsen (2) er der stillet hygiejniske begrunde anwendungeskrav til forskellige affaldstyper. Disse krav gælder også for affald, der behandles i biogasanlæg.

Ifølge ovennævnte bekendtgørelse kan slam fra vegetabilsk produktion, benævnt kategori A, anvendes uden hygiejniske begrunde restriktioner. Slam fra animalsk produktion (f.eks. slam fra slagterier, fiskeriindustrivirksomheder eller minkaffald), benævnt kategori B, kan efter stabilisering anvendes uden restriktioner. Stabiliseringen kan være en »anaerob stabilisering ved udrådning i opvarmet rådnetank, eller behandling i biogasreaktor«. Affaldstyper af kategori A og B kan derfor anvendes uden hygiejniske restriktioner efter behandling i et biogasanlæg.

Kildesorteret affald, benævnt kategori C (f.eks. madaffald), samt spildevandsslam, benævnt kategori D (f.eks. slam fra kommunale rensningsanlæg), kan efter en kontrolleret hygienisering anvendes uden hygiejniske begrunde restriktioner. En kontrolleret hygienisering defineres i bekendtgørelsen som en »behandling i reaktor, som sikrer en temperatur på minimum 70°C i minimum 1 time, eller tilsvarende hygienisering«.

Hvis biogasanlæg anvender type C eller type D affald, er det nødvendigt, at tilsynsmyndigheden (Amtsrådet eller kommunalbestyrelsen) har metoder til at kontrollere, om der er foretaget en kontrolleret hygienisering.

At veterinære grunde er det vigtigt, at der sker en forsvarlig håndtering af biomassen, ikke kun af de forskellige slamtyper, men også af gyllen, idet talrige animalske og humane patogener er påvist deri.

Resultaterne fra de veterinære delprojekter 1 og 2, 1990 (3, 4), har bevirket, at man i det veterinære delprojekt 4, 1991 (5), har opstillet forskellige hygieniseringsskriterier for biogasanlæg. Hvis der udelukkende behandles affaldsprodukter af kategori A og B anbefales der for:

a) termofile biogasanlæg

- Den sikrede opholdstid i reaktortanken er mindst 2 timer ved mindst 55°C, eller mindst 4 timer ved mindst 50°C, eller tilsvarende kombinationer mellem disse yderpunkter.
- Den gennemsnitlige passagetid gennem gasreaktortanken er mindst 2-3 døgn.

b) mesofile anlæg

(skal have tank til særlig for- eller efterhygienisering):

*) Af dyrlæge Olaf Bennetzen, Miljø- og lernedsmiddelkontrollen, Ribe, og dyrlæge Uffe S. Mikkelsen, Miljø- og lernedsmiddelkontrollen, Haderslev.

Den sikrede opholdstid i hygiejniseringsstanken er mindst 55°C i mindst 4 timer, eller mindst 50°C i 8 timer, eller tilsvarende kombinationer mellem disse yderpunkter.

Hvis der tillige anvendes affaldsprodukter af kategorierne C og D, gælder det for alle typer af biogasanlæg, at kravene til kontrolleret hygiejnisering fra slabbekendtgørelsen skal overholdes. Det er vigtigt, at den tilsynsførende myndighed har mulighed for at vurde, om den daglige drift af anlægget er betryggende. Til dette formål bør man have en effektiv driftsparameter. En sådan parameter skal ikke alene kunne anvendes i biogasanlæg, der håndterer affald af kategori C og D, men også i de øvrige anlæg.

Til sikring af overholdelse af kravene har man i det veterinære delprojekt 2, 1990 (4), foreslægt anvendelsen af en såkaldt FS (fækale streptokokker) – metode.

FS-metodens princip: Antallet af fækale streptokokker pr. gram i henholdsvis den ubehandlede og behandlede biomasse sammenlignes. Resultaterne omregnes til logaritmeheder. Differencen mellem log resultaterne tages som udtryk for varmebehandlings effektivitet.

På baggrund af opnåede erfaringer har man i det veterinære delprojekt 4, 1991 (5) opstillet følgende krav til velfungerende biogasanlæg:

- Der skal opnås en FS-reduktion på 3-4 log enheder ved behandling af den rå biomasse i anlæggets forskellige afsnit.
- Der skal være opnået en reduktion af FS-mængden til under 100 FS pr. gram biomasse efter den hygiejniserende behandling.
- Der må ikke forekomme væsentligt øgede FS-mængder i lagertanken.

I vor undersøgelse er der efter oplæg fra *Bendixen* (6), undersøgt muligheden for at anvende fækale streptokokker som driftsparameter (indikatororganisme).

Ved fækale streptokokker forstås streptokokker, der tilhører Lancefields Gruppe D (enterokokker) (7).

Materialer og metoder

For at kunne vurdere, om fækale streptokokker er en egnet indikatororganisme, har vi udført følgende undersøgelser.

Forsøg 1. Forekomst af FS i ubehandlet gylle

FS-indholdet i 20 prøver af ubehandlet gylle bestemmes. Hver af prøverne udtages fra fortankene i Ribe Biogasanlæg med ca. 1 uges mellemrum. Prøvestørrelse: ca. 1,5 kg.

FS i de enkelte prøver bestemmes ved pladespredningsmetoden efter NMKL nr. 68, 1978: »Bestemmelse av Fecale streptokokker i næringsmidler« (8) med følgende ændringer/præcise-

ninger: Ved fremstillingen af Slanetz agar må denne ikke autoklaveres, i stedet koges agaren i autoklaven med strømmende vanddamp i 20 min.

Prøverne udtages efter DS 2250 punkt 4.5. (9).

De enkelte prøver homogeniseres inden undersøgelsen ved forsigtig omrøring med spadel.

Der anvendes fortyndningsvæske som angivet i DS 2252 punkt 4.1. (10).

Der anvendes petriskål med en diameter på 14 cm. Udstrygning langs kanten undgås.

Aflæsningen foretages som angivet i NMKL nr. 68, punkt V, med følgende tilføjelser: Der tælles på agarplader, hvor der er mellem 20 og 200 kolonier. Kolonier, der forekommer at være typiske af størrelse og farve, men som er fligede (kan evt. iagttagtes ved stereomikroskop), medtælles ikke.

Kimtallet beregnes som angivet i Veterinærdirektoratets håndbog for mikrobiologiske laboratorier, 1989, kvalitetskontrol, afsnit 1.1.3. (11).

Resultatet angives i antal FS pr. gram.

Forsøg 2. T90 drabskurve for FS

Disse udføres som laboratorieforsøg, med henholdsvis 100% gylle, 80% gylle + 20% slam, samt 100% slam som udgangsmateriale.

Det er hensigten at undersøge, hvorledes en varmebehandling vil indvirke på forekomsten af FS-indholdet i henholdsvis 100% gylle, 80% gylle + 20% slam (for at simulere en situation i et biogasanlæg, der ikke kun anvender gylle som råmateriale), og 100% slam. Fremover vil der hyppigere være ønske om anvendelse af slam fra f.eks. byrensningsanlæg i biogasfællesanlæg.

Laboratorieforsøgene er udført på én prøve af ubehandlet gylle (ca. 1,5 kg) fra Ribe biogasfællesanlæg og på én prøve slam (råslam, ca. 1,5 kg) fra Haderslev rensningsanlæg. Gylleprøverne er delt i 4 identiske prøver, hvorefter de 2 af prøverne er utsat slammet i forholdet 80% gylle + 20% slam. Én prøve af 100% gylle og én prøve, bestående af 80% gylle + 20% slam, er herefter undersøgt på miljø- og levnedsmiddelkontrolenhederne i henholdsvis Ribe og Haderslev. Prøven bestående af 100% slam er alene undersøgt på laboratoriet i Haderslev.

De tre prøvetyper behandles efter følgende tids/temperatur forhold:

100% gylle, ubehandlet

100% gylle, behandlet ved 60°C i 60 min.

100% gylle, behandlet ved 55°C i 120 min.

100% gylle, behandlet ved 50°C i 240 min.

80% gylle + 20% slam, ubehandlet

80% gylle + 20% slam, behandlet ved 60°C i 60 min.

80% gylle + 20% slam, behandlet ved 55°C i 120 min.

80% gylle + 20% slam, behandlet ved 50°C i 240 min.

100% slam, ubehandlet
100% slam, behandlet ved 60°C i 15 min.
100% slam, behandlet ved 55°C i 30 min.
100% slam, behandlet ved 50°C i 240 min.

På laboratorierne afvejes 10 identiske delprøver for hvert temperaturbehandlingsniveau (se efterfølgende). Der udføres dobbelt-bestemmelser på hver delprøve ved FS-undersøgelserne.

De enkelte prøver undersøges som under Materialer og metoder forsøg 1, dog med følgende tilføjelser:

Efter omrøringen afvejes ca. 10 g af delprøverne i coli-rør af mellemstørrelse.

De enkelte delprøver varmebehandles ved de respektive tid/temperaturkombinationer i vandbad. Efter varmebehandlingen afkøles glassene under den kolde vandhane i 5 min., hvorefter der foretages udsåning fra forskellige fortyndinger.

På grundlag af de bestemte FS-værdier, i henholdsvis den ubehandlede og den varmebehandlede biomasse, udregnes T90, der angiver den tid, det tager, før en bakteriepopulation er reduceret til 10% af oprindelsespopsulationen svarende til at populationen er reduceret med én logaritmeeenhed. Derefter optegnes en kurve på et semilogaritmisk papir med T90 som ordinaten og varmebehandlingstiderne som abscissen. T90-kurven kan bruges til at forudsige, hvad FS-indholdet kan forventes at være ved forskellige varmebehandlingstemperaturer/-tider, såfremt udgangsmaterialets FS-indhold er kendt.

Statistisk analyse (12)

A. Udvalgelse af data

Der anvendes kun data, hvor der ingen signifikans er imellem dobbeltbestemmelserne på de enkelte delprøver. Dette afgøres ved en χ^2 -test.

B. Udregning af de logaritmiske reduktioner, samt udregning af spredningen på de logaritmiske reduktioner

Log reduktionen, samt spredningen på log reduktionen udregnes separat på resultaterne fra hvert laboratorium.

Spredningen, s_p , på log reduktionen bestemmes efter følgende formel (12):

Hvis man har 2 gennemsnit, U_1 og U_2 , hver som resultat af henholdsvis n_1 og n_2 observationer og har en spredning på henholdsvis s_1 og s_2 , gælder for den samlede varians, s_p^2 :

$$s_p^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

Spredning, $s_p = \sqrt{s_p^2}$

C. Udregning af T90 i min. samt udregning af 95% sikkerhedsgrænser for T90 i min

Disse beregninger udføres separat på resultaterne fra hvert laboratorium.

T90 beregnes ud fra formlen:

$$\frac{1}{T90} = \frac{\log FS_{t_0} - \log FS_t}{t - t_0}$$

hvor t_0 og t er de forskellige tidspunkter for målingerne af logFS.

$\rightarrow t_0$ 95% sikkerhedsgrænser for T90 findes ved at beregne $\pm 2 \times s_p$ på log reduktionen og omregne dette interval til T90 i min.

D. Beregning af regressionslinje, samt beregning af 95% konfidens-intervaller for regressionslinjens y-værdier

Regressionslinjen for log T90-værdiernes (y-værdi) korrelering med temperaturen i °C (x-værdi) beregnes ved:

$$\hat{Y} = \bar{Y} + b(X - \bar{X})$$

hvor \hat{Y} er den estimerede y-værdi, \bar{Y} er gennemsnittet af y-værdierne, b er hældningskoefficienten, X er den aktuelle x-værdi og \bar{X} er gennemsnittet af x-værdierne.

$$\text{Endvidere gælder: } b = \frac{\sum(X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sum(X - \bar{X})^2}$$

Endvidere gælder der for korrelationskoefficienten, r :

$$r = \frac{\sum(X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum(X - \bar{X})^2 \sum(Y - \bar{Y})^2}}$$

Til beregning af 95% konfidensintervaller omkring regressionslinjen udregnes først:

variansen, s^2_{yx} , omkring regressionslinjen:

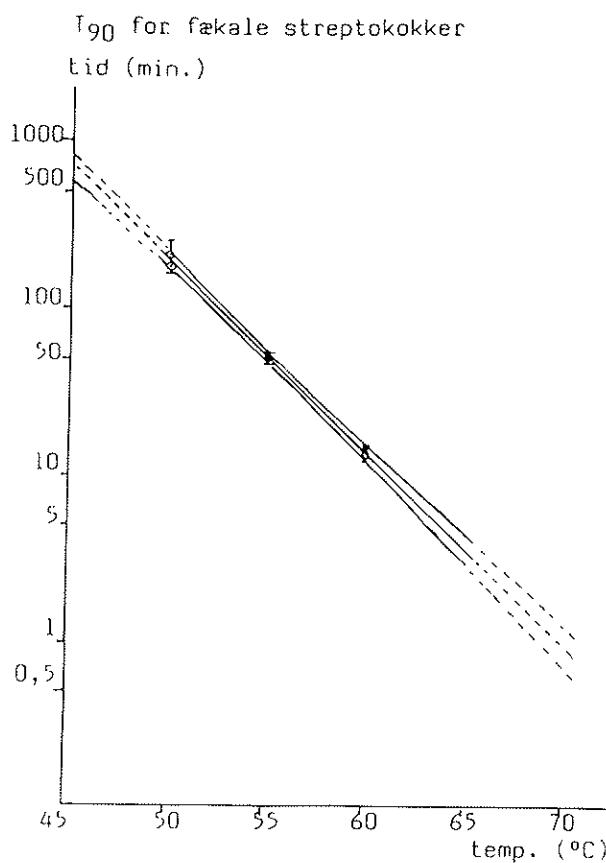
$$s^2_{yx} = \frac{\sum(Y - \bar{Y})^2 - b^2 \sum(X - \bar{X})^2}{n - 2}$$

hvor n er antal resultater.

95% konfidensinterval omkring regressionslinjen, Y^* :

$$Y^* = \bar{Y} + b(X^* - \bar{X}) \pm t[.975]s_{yx} \sqrt{1/n + (X^* - \bar{X})^2 / \sum(X - \bar{X})^2}$$

hvor Y^* er den y-værdi, hvortil der ønskes fundet et konfidensinterval, X^* er den tilhørende x-værdi, samt $s_{yx} = \sqrt{s^2_{yx}}$. $t[.975]$ er t-værdien på 95% niveau, med $f = n - 1$.

Figur 1. Gylle

Semilogaritmisk afbildning af T_{90} i min. for fækale streptokokker som funktion af temp. Der er udformet en regressionslinje, hvor de enkelte resultater, 95% sikkerhedsgrænserne for de enkelte resultater, samt 95% konfidensintervallet for regressionslinjen er angivet.

E. Beregning af 95% konfidensinterval for regressionslinjens hældningskoefficient

95% konfidensintervallet, β , for hældningskoefficienten beregnes som følger:

$$\beta = b \pm t[.975]syx \sqrt{1/\sum(X - \bar{X})^2}$$

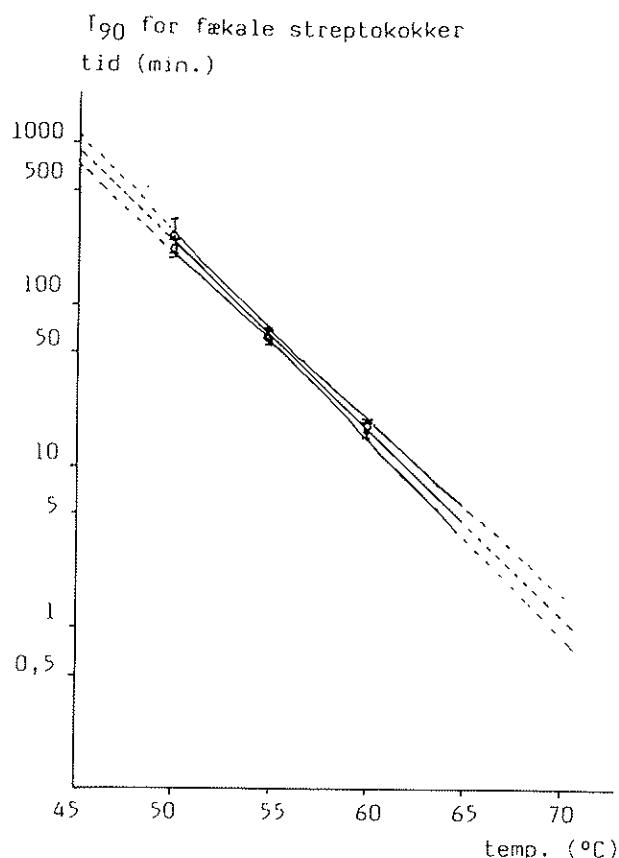
Forsøg 3. Måling af evt. eftervækst af FS i lagertankene
1,5 kg biogasmateriale udtages fra en af reaktorerne i Linstrup biogasfællesanlæg (mesofilt anlæg) og deles i 2 identiske prøver. Den ene prøve er herefter undersøgt på laboratoriet i Ribe, den anden på laboratoriet i Haderslev. På laboratorierne er hver prøve delt i 3×3 identiske delprøver. Indholdet af FS bestemmes straks og efter opbevaring af de 3×3 delprøver ved henholdsvis 7°C, 21°C og 30°C i henholdsvis 14 og 28 dage.

Temperaturniveauerne vælges således, at de repræsenterer en forventet temperatur i lagertankene på 21°C, samt temperaturstrekmer på henholdsvis 30°C om sommeren, og 7°C om vinteren. Prøverne undersøges efter 14 dage og efter 28 dage.

Resultater

Forsøg 1. FS i ubehandlet gylle

Gennemsnitlige antal FS er 550.000/g.

Figur 2. 80% gylle + 20% slam

Semilogaritmisk afbildning af T_{90} i min. for fækale streptokokker som funktion af temp. Der er udformet en regressionslinje, hvor de enkelte resultater, 95% sikkerhedsgrænserne for de enkelte resultater, samt 95% konfidensintervallet for regressionslinjen er angivet.

95% sikkerhedsgrænser: 39.000 FS/g < antal FS/g < 7,6 mill.FS/g

Det mindste antal fundne FS er 28.000/g, medens det største antal fundne FS er 2,9 mill./g. Der er således FS i alle prøver.

Forsøg 2. T90 drabskurve for FS i 100% gylle, 80% gylle + 20% slam og 100% slam

Resultaterne og de optegnede regressionslinjer fremgår af figurerne 1, 2 og 3.

Regressionslinjen er den midterste linje i figurerne, medens de to andre linjer angiver 95% grænserne for regressionslinjens konfidensinterval. De enkelte punkters 95% sikkerhedsgrænse er endvidere angivet.

Korrelationskoefficienten, r , er som følger:

100% gylle: $r = -0,9989$

80% gylle + 20% slam: $r = -0,9985$

100% slam: $r = -0,9961$

Alle korrelationskoefficienterne ligger tæt på -1,0000. Dette viser, at henfaldene bestemmes stærkt af temperaturerne.

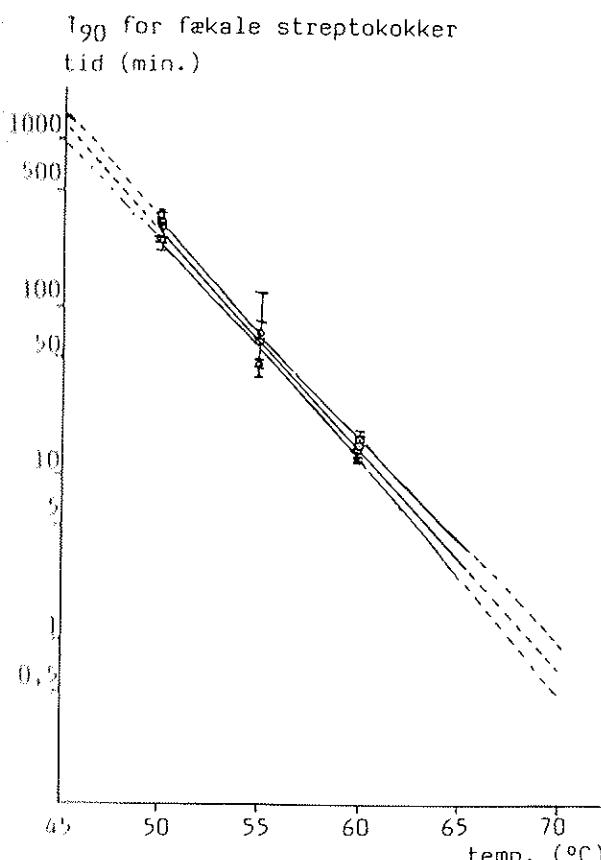
95% konfidensintervallerne, β , for regressionslinjernes hældningskoefficienter er som følger:

100% gylle: $-0,1217 < \beta < -0,1078$

80% gylle + 20% slam: $-0,1226 < \beta < -0,1066$

100% slam: $-0,1393 < \beta < -0,1201$

Figur 3. Slam



Semilogaritmisk afbildning af T_{90} i min. for fækale streptokokker som funktion af temp. Der er udformet en regressionslinje, hvor de enkelte resultater, 95% sikkerhedsgrænserne for de enkelte resultater samt 95% konfidensintervallet for regressionslinjen er angivet.

Af resultaterne ses, at regressionslinjernes hældningskoefficienter for prøverne indeholdende 100% gylle, samt 80% gylle + 20% slam stort set har overlappende konfidensintervaller, medens hældningskoefficientens konfidensinterval for slamprøver næsten ingen overlapning har. Slamkurven er derfor signifikant stejlere.

Forsøg 3. Måling af evt. eftervækst af FS i lagertankene
Udviklingen af FS-indholdet i den rå biomasse ved forskellige temperaturbelastninger fremgår af tabel 1.

Diskussion

Det vil blive diskuteret, i hvilket omfang fækale streptokokker er egnet som indikatororganisme i forbindelse med kontrol af biogas-anlæg.

Følgende krav stiller vi til indikatororganismen: (13)

Punkt 1

Den skal forekomme konstant og i et væsentligt større antal end evt. patogener i den aktuelle, ubehandled biomasse.

Punkt 2

Ved de aktuelle tids/temperatur kombinationer skal der ske en log reduktion af indikatororganismen, beregnet som forskellen

imellem den ubehandled og behandled biomasses indhold, som er målelig.

Punkt 3

Den under punkt 2 nævnte målelige log reduktion skal være mindre end de aktuelle patogeners log reduktion.

Punkt 4

I den færdigbehandled biomasse skal den forekomme i uændret antal over en længere periode.

Punkt 5

Den skal kunne indikere anlæggets potentielle reduktionskapacitet.

Punkt 6

Indikatororganismen skal kunne bestemmes kvantitativt ved en enkelt og specifik metode.

De opstillede krav til indikatororganismen vil blive diskuteret punkt for punkt.

Punkt 1

Af forsøg 1 fremgår det, at FS forekommer konstant i biomassen med et gennemsnitligt indhold på 550.000 FS/g.

Det er tidligere vist (14, 15), at FS og 37°C *E. coli* indgår som en normalflora i rå gylle og i rå slam, og af delprojekt 2 (4) fremgår, at indholdet af FS og 37°C *E. coli* er af samme størrelsesorden i den ubehandled biomasse, men indholdet af FS varierer mindre. I omtalte projekt udgjorde biomassen hovedsagelig kvæg- og svine-gylle, men også slagteriaffald og blegejord blev anvendt. Indholdet af *Clostridium perfringens* og *Bacillus spp.* var henholdsvis af størrelsesordenen 10.000/ml og 1 mill./ml. I projektet blev det største antal *Salmonella spp.* fundet til 54/ml, men i gylle er der i Danmark fundet *Salmonella spp.* i størrelsesordenen 10.000/ml i forbindelse med udbrud af *S. typhimurium* og *S. dublin* infektioner (16). *Salmonella spp.* isoleres jævnligt i slam fra byrensningsanlæg (17). I gylle er der fundet omkring 1.000 *Mycobacterium paratuberculosis* pr. 100 ml i besætninger med forud diagnosticeret paratuberkulose (18).

På grundlag af de her beskrevne resultater synes FS at forekomme i større antal i den ubehandled biomasse end de specifikt patogene bakterier.

Punkt 2

Det gennemsnitlige FS-indhold i ubehandlet biomasse fandt vi som nævnt til 500.000/ml, hvilket svarer til et logaritmisk indhold på 5,7. Dette betyder, at vi maksimalt kan måle en log reduktion på 4 - 5, da alle resultater med større reduktioner ikke vil være målbare. T_{90} i fig. 1-3 angiver tiden for én log reduktion ved de respek-

Tabel 1. FS-indhold i rå biomasse

Oversigt over udviklingen af FS-indholdet i rå biomasse udtaget fra Lintrup biogasfællesanlæg. Temperaturbehandlingen er udført som et laboratorieforsøg. Hvert resultat er et gennemsnit af 6 prøver. Biomassens FS-indhold er undersøgt straks efter udtagningen, og den er derefter behandlet ved 3 forskellige temperaturniveauer og undersøgt efter 14 dage samt efter 28 dage for indholdet af FS.

dag:	0	14	28
7°C, antal FS/g:	5.400	7.900	5.900
21°C, antal FS/g:	5.400	3.700	990
30°C, antal DA/g:	5.400	130	<100

tive temperaturer. Ved at multiplicere de forskellige T90 værdier med 5, fremkommer de maksimalt målelige behandlingstider ved de forskellige temperaturer med FS-metoden. Dette fremgår af tabel 2.

Ved anvendelse af fig. 1-3 kan der endvidere beregnes et bedste skøn over den påkrævede behandlingstid ved de forskellige temperaturniveauer, for at der er sket en »kontrolleret hygienisering« ifølge slambekendtgørelsen (2) (70°C i 1 time eller tilsvarende), som vist i nedenstående beregningseksempel:

Af fig. 1 kan aflæses, at én log reduktion af FS i 100% gylle tager ca. 1 min. ved 70°C (der beregnes ud fra selve grafværdierne og ikke ud fra konfidensintervallets grænseværdier). Ved 1 times behandling må der derfor forventes en log reduktion på 60 (dette kan naturligvis ikke måles i praksis). Ved at multiplicere de forskellige temperaturbehandlingsniveauers tider i fig. 1 (disse repræsenterer én log reduktion) med 60, fremkommer tidskravene til kontrolleret hygienisering ved de forskellige temperaturbehandlingsniveauer. De enkelte resultater fremgår af tabel 2.

Af tabel 2 ses, at slambekendtgørelsens krav vedr. kontrolleret hygienisering (en varmebehandlingstid på minimum 70°C i minimum 1 time, eller en tilsvarende hygienisering) ikke kan måles/kontrolleres ved FS-metoden, idet de maksimalt målelige behandlingstider ved 70°C for gylle og 80% gylle + 20% slam ligger i området 4,9 min.-6,0 min. For at kunne kontrollere slambekendtgørelsens krav vedr. kontrolleret hygienisering burde den maksimalt målelige behandlingstid i tabel 2 have været 60 min./ (5 til 6 min.) = 10 til 12 gange større end de nævnte tider. Der kan derfor alene fastslås, at der ved en kontrolleret hygienisering ikke må forekomme FS i det hygieniserede produkt.

Metoden kan derimod anvendes til kontrol af krav om en minimumsbehandlingstid af biomassen på f.eks. 4 timer ved 53°C (dette krav er stillet til Ribe biogasfællesanlæg, der er et termofilt anlæg, som udelukkende anvender gylle samt type A og type B affald (jf. slambekendtgørelsen)).

Ved sammenligning af de 3 figurer ses endvidere, at kurverne i fig. 1 og fig. 2 er nogenlunde ens i forløbet, medens kurven i fig. 3 er en anelse stejlere, hvilket også fremgår af resultatangivelsen over hældningskoefficienternes 95% konfidensintervaller. FS i slam bliver således hurtigere reduceret ved de forskellige temperaturniveauer end FS i gylle.

Punkt 3

Kravet om, at log reduktionen skal være mindre end evt. patogener ved de aktuelle tids-/temperaturkombinationer, betyder, at T90 for FS skal være større end evt. patogener.

Ved forsøg i termofile biogasanlæg (15, 18, 19) med en behandlingstemperatur på 53°C, er der fundet T90-værdier for forskellige patogener. *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* og *Mycobacterium paratuberculosis*

Tabel 2. Varmebehandlingstid

Oversigt over den maksimalt målelige varmebehandlingstid for de forskellige biomassesorter ved forskellige temperaturniveauer for den anvendte FS-metode, samt påkrævede behandlingstider ved »kontrolleret hygienisering«.

biomasse:	temp (°C):	maksimalt målelige behandlings- tider (min.):	påkrævede behandlings- tider ved en »kontrolleret hygienisering« (timer)
gylle:	50	965	200
» :	53	430	88
» :	55	255	52
» :	60	69	14
» :	65	18,3	3,7
» :	70	4,9	1,0
80% gylle			
+ 20% slam:	50	1.175	200
» :	53	525	88
» :	55	310	52
» :	60	83	14
» :	65	22,1	3,7
» :	70	6,0	1,0
slam:	50	1.400	390
» :	53	570	160
» :	55	312	87
» :	60	69	19
» :	65	15,5	4,4
» :	70	3,6	1,0

så havde alle en lavere T90 end *Streptococcus faecalis* (denne havde en T90 på 1,0 time), medens T90 for *Erysipelothrix rhusiopathiae* var på 1,2 timer. *Clostridium perfringens* type C samt *Bacillus cereus* havde ingen henfald. Metoden er altså anvendelig som indikator for reduktion af mange patogene bakterier, men ikke for de undersøgte sporedannende bakterier.

Ved samme undersøgelse (15, 19) undersøgtes, hvor lang tid der gik, før forskellige parasitæg (æg af løbetarmorm, knudeorm

og spolorm) tabte deres viabilitet ved en behandlingstemperatur på 53°C. Denne var af størrelsesordenen 1-4 timer. Denne tids-/temperatur kombination kan måles med FS-metoden.

Forsøg med gylle foretaget af Statens Veterinære Institut for Virusforskning viser, at de fleste patogene virus inaktiveres inden for 150 min. ved 50°C og inden for 60 min. ved 55°C. Porcint parvovirus inaktiveres dog først efter 5 dage ved 50°C og efter 8 dage ved 55°C (3).

Punkt 4

Af tabel 1 fremgår det, at FS-indholdet vil falde relativt hurtigt allerede efter 14 dage ved en opbevaringstemperatur på 30°C, medens der ved en opbevaringstemperatur på 21°C ses et moderat fald af FS-indholdet i løbet af 28 dage. Ved en opbevaringstemperatur på 7°C synes FS-indholdet at være ret konstant.

Under normale forhold vil den afgassede biomasse opbevares under temperaturforhold, der varierer imellem 10°C-20°C. I f.eks. Nibe biogasfællesanlæg er biomassens gennemsnitsopholdstid i lagertankene ca. 3 døgn. Det må derfor formodes, at der kun vil ske en svag reduktion af FS-indholdet i lagertankene. Det kunne følgelig overvejes at reducere prøveantallet i forbindelse med den rutinemæssige overvågning af anlægget, således at der kun tages prøver fra for- og lagertankene, men ikke fra reaktortankene.

Punkt 5

Forsøg 2 viser, at der sker en reduktion af FS-indholdet ved de forskellige tids-/temperaturbehandlinger. Denne reduktion forekommer i hele intervallet 50°C-60°C. I dette interval vil metoden derfor være et udtryk for anlæggets potentielle reduktionskapacitet.

Der er endvidere udført temperaturbehandlinger ved 45°C, 40°C og 65°C med 100% gylle, og ved 65°C med 80% gylle + 20% slam. Ved 45°C og 46°C er temperaturpåvirkningerne så svage, at bakterierne ikke reduceres logaritmisk lineært, og ved 65°C er temperaturpåvirkningstiden i forsøget så kort, at prøverne reelt får en længere temperaturbehandling under opvarmningen og afkølingen af prøverne. Disse data er ikke vist.

Punkt 6

Bestemmelsen af fækale streptokokker i en biomasse ved tælling på mælkekok-agar efter Sianetz og Bartley, efter inkubering ved 37°C i 48 timer (15), må vurderes som værende en enkel og specifik metode, der er anvendelig som reference og rutinemetode i overvågningen af biogasfællesanlæg. Metoden medtager alle streptokokker der har Lancefields Gr. D antigen (7), d.v.s. *Streptococcus faecalis*, *S. faecium*, *S. avium*, *S. gallinarum*, *S. bovis* og *S. equinus*.

Konklusion

Det kan konkluderes, at FS synes at være en udmærket overvågningsparameter til vurdering af et biogasfællesanlægs effektivitet vedrørende smitstofreduktion. Endvidere er metoden egnet til at afdække driftshygieniske brist i anlægget. Derimod er metoden ikke anvendelig til kontrol af, om der er sket en regelret kontrolleret hygiejniseringsprocess efter slabbekendtgørelsen. I de tilfælde, hvor der forekommer FS i den behandlede biomasse efter en kontrolleret hygiejniseringsprocess, betyder det at en sådan ikke har fundet sted.

Forekommer der ingen FS i den behandlede biomasse kan der ikke omvendt sluttet, at der har fundet en kontrolleret hygiejniseringsprocess.

Af fig. 2 og 3 ses, at der allerede efter ca. 6 min. ved 70°C er sket en reduktion af FS på 5 log enheder, d.v.s. til umåelige mængder. Kravet til kontrolleret hygiejniseringsprocess er som tidligere omtalt en behandling ved 70°C i 60 min. Dette medfører, at der er en »sikkerhedsfaktor« på 60 min./6 min. = 10. Det bør derfor overvejes, om kravene i slabbekendtgørelsen til kontrolleret hygiejniseringsprocess ikke er for restriktive.

T90 kurverne over FS kan bruges til at forudsige hvor lang en behandlingstid ved en given temperatur, der er nødvendig, for at kravet om kontrolleret hygiejniseringsprocess er opfyldt. Dette har naturligvis stor betydning, når den godkendende myndighed skal tage stilling til, om det pågældende biogasanlæg opfylder gældende krav til modtagelse af type C og D affald.

Litteratur

- Energistyrelsen: Statusrapport for Biogasfællesanlæg, oktober 1992.
- Miljøministeriets bekendtgørelse nr. 736 af 26. oktober 1989 om anvendelse af slam, spildevand og kompost m.v. til jordbrugsformål.
- Bøtner, Anette: Modelstudier vedrørende overlevelse af virus i gylle under traditionel opbevaring og under udråndning i biogasanlæg. Delprojekt 1. Veterinær forskning og rådgivning i forbindelse med etablering og drift af biogasfællesanlæg. Statens Veterinære Institut for Virusforskning, Lindholm 1990.
- Munch, Bente & Anette Bonde Larsen: Forsknings- og overvågningsprogram vedrørende bakterier og parasitter med henblik på opstilling af driftsovervågningsprogram for biogasfællesanlæg. Delprojekt 2. Veterinær forskning og rådgivning i forbindelse med etablering og drift af biogasfællesanlæg. Rapport fra Statens Veterinære Serumlaboratorium og Institut for Veterinær Mikrobiologi og Hygiejne, Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, 1991.
- Bendixen, H.J. & Susanne Ammendrup: Smitbeskyttelse i biogasfællesanlæg. Rådgivning om forebyggelse af smittespredning og krav til hygiejniseringsprocess. Veterinær forskning, overvågning og rådgivning i forbindelse med etablering og drift af biogasfællesanlæg. Delprojekt 4. Rapport fra Veterinærdirektoratet, 1991.

6. Bendixen, H.J.: Forslag til et veterinært forsøgsprogram tilsluttet et fortsat teknisk og økonomisk opfølgningsprogram for biogasfællesanlæg. Forsøgsrække 1: Forbedringer af laboratoriemetoder. Veterinærdirektoratet, 1991.
7. Sneath, Peter H.A. et al: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Baltimore, 1986.
8. Nordisk metodikkommitte für livsmedel, nr. 68: »Bestemmelse af fæcale streptokokker i næringsmidler«, 1978.
9. DS 2250: Vandundersøgelse. Prøvetagning, transport og opbevaring af prøver til mikrobiologiske undersøgelser. 1.udgave. København, januar 1983.
10. DS 2252: Vandundersøgelse. Bestemmelse af kmtallet og fluorescerende kim ved 21°C i Kings agar B. 1. udgave. København, januar 1983.
11. Veterinærdirektoratets håndbog for mikrobiologiske laboratorier, en vejledning om god laboratoriemæssig praksis (GLP) og kvalitetskontrol ved mikrobiologiske laboratorier. Afd. for levnedsmiddelkontrol, Veterinærdirektoratet, 1989.
12. Dunn, Olive Jean: Basic statistics: A primer for the biomedical sciences, second edition, U.S.A., 1977.
13. Søgaard, Henry, Per Haugaard & Jens Laurits Larsen: Indikatorer i levnedsmiddel- og miljøhygiejne, Dyrlægernes Uddannelsesvirksomhed. København, 1984.
14. Strauch, H. et al.: Hygienic Aspects of the Treatment and Use of Organic Sludge and Liquid Agricultural Wastes. Commission of the European Communities. Proceedings of a Workshop of Working-Party 3: »Hygienic Aspects Related to Treatment and Use of Organic Sludge«, Lelystad (NL), 26-28 sept. 1988.
15. Larsen, Holger Errebo & Bente Munch: Sygdoms- og miljømæssige problemer i forbindelse med behandling og spredning af flydende husdyrgødning (gylle). Institut for Veterinær Mikrobiologi og Hygiene, Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, 1981.
16. Munch, B., H. Errebo Larsen, B. Brest Nielsen & E.M. Vestergaard: Forekomst af Salmonella i gylle fra danske husdyrbesætninger. Dansk VetTidsskr. 1987, 70, 1169-1179.
17. Bendixen, H. J., E. Tribler & S. Ammendrup: Overvågningsprogram vedrørende anvendelse af slam i landbruget. Slutrapport vedrørende Salmonella. Veterinærdirektoratet, september 1988.
18. Larsen, Holger Errebo, Bente Munch, John Elmerdahl Olsen & Peter Nansen: Om smitstofdrab og smitterisici ved udrådning af husdyrgødning i biogasanlæg. En orientering. Dansk VetTidsskr. 1989, 72, 1411-1418.
19. Olsen, John Elmerdahl, Holger Errebo Larsen & Peter Nansen: Smitstofreduktion ved biogasproduktion i husdyrbruget. STUB-rapport nr. 20, 1985. Udg. af Teknologisk Institut. Afd. for kemi-teknik. Tårstrup.

KVL-telefoner

Omrstilningsbord 35 28 28 28
Telefax 35 28 20 79

Over omrstillingsbordet kan man komme i forbindelse med administrationen, biblioteket og medarbejderne på de 16 institutter. Omrstillingsbordet er åbent mandag-torsdag 8.00-16.00, fredag 8.00-15.30.

Kender man KVL's lokalnumre, kan man ringe direkte til det ønskede institut. De fire første cifre er: 35 28. Nedenfor er angivet lokalnumrene for de veterinære institutter etc. I alle tilfælde er anført lokalnummeret til sekretariatet, hvorfra der kan omstilles til de enkelte medarbejdere.

Postadressen for de veterinære institutter er uændret Bülowsvæj 13, 1870 Frederiksberg C.

Institut for Anatomি og Fysiologi

Anatomি	35 28 25 40
Produktionsfysiologi og Ernæringslære	35 28 25 62
Veterinær Fysiologi og Biokemi	35 28 25 10

Biblioteket

35 28 21 45

Institut for Farmakologi og Patobiologi

Apoteket	35 28 31 46
Farmakologi og Toksikologi	35 28 31 60
Veterinær Patologi	35 28 31 05

Fiskepatologisk Laboratorium

35 28 27 10

Institut for Husdyrbrug og Husdysundhed

Etiologi og Sundhed	35 28 30 10
Husdyrnærering	35 28 30 30
Husdyrgenetik	35 28 30 60

Klinisk Institut

Centrallaboratoriet	35 28 29 07
Dyrlegevagten	35 28 29 45
Hospitalet for Mindre Husdyr	35 28 29 15
Intern Medicin	35 28 28 37
Kirurgi	35 28 28 60
Veterinærmedicinsk Museum	35 28 21 49
Reproduktion	35 28 29 66
Røntgen	35 28 29 20

Institut for Veterinær Mikrobiologi

Bakteriologi	35 28 27 60
Fisksygdomme	35 28 27 10
Fjerkræsygdomme	35 28 27 18
Levnedsmiddelmikrobiologi	35 28 27 60
Parasitologi	35 28 27 75
Virologi og Immunologi	35 28 27 25

Institut for Økologi og Molekylær Biologi

Genetik	35 28 26 05
Zoologi	35 28 26 60

FS-metodens anvendelighed som hygiejnisisk kontrolparameter

2. Biogasfællesanleggene i Ribe og Lintrup

The applicability of the FS method as a parameter for the control of the biogas plants in Ribe and Lintrup

Summary

A description is given to illustrate how the expected pathogen reducing effect of the BGP in Ribe (log reduction of FS in biomass) may be predicted by calculations based on a set of measured and fixed parameters. There is conformity between the theoretical and the observed results. Upon this, a proposal is made for the systematic treatment of the results from biogas plants. Eventually, a case story from the BGP in Lintrup is reported to demonstrate the use of the FS method for surveillance at a BGP during a period of deficient functions.

Sammendrag

Der gives en beskrivelse af, hvorledes der teoretisk kan foretages en beregning over Ribe biogasfællesanlægs forventede logaritme (log) reduktion af FS-indholdet i biomassen. Det teoretiske resultat er i god overensstemmelse med fundne resultater. Siden fremsættes et forslag til systematisk behandling af resultaterne fra biogasfællesanlæg. Slutelig følger en case fra Lintrup biogasfællesanlæg, der viser FS-metodens anvendelighed i forbindelse med driftssvigt på anlægget.

1. Forventet/målt log reduktion af FS-indholdet i biomassen

Forventet log reduktion

Med kendskab til et biogasfællesanlægs dimensionering og drift kan der foretages en teoretisk beregning over den forventede log reduktion af FS-indholdet i biomassen ved dennes behandling i anlægget.

Der er foretaget biomasseundersøgelser i Ribe biogasfælles-anlæg siden august 1990. I følge miljøgodkendelsen af anlægget er der bl.a. stillet følgende miljøhygiejniske grundlagte krav:

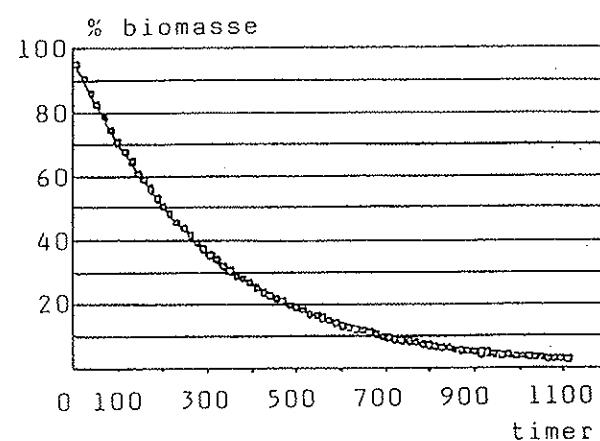
Anlægget skal tilsikre en termofil udrådning af biomassen ved en minimum temperatur på +53°C i mindst 4 timer.

Det undersøges, hvilken FS log reduktion der kan forventes i Ribe biogasfællesanlæg ved opfyldelsen af dette krav.

Først beregnes, hvilken behandlingstid de forskellige dele af en tilfældigt udtaget prøve fra én af reaktorerne i anlægget vil have (der er tre reaktorer i alt, alle af samme dimension).

Med kendskab til reaktortankens rumfang, den daglige biomass-

Figur 1. Biomassens behandlingstid (A)



Kurven viser, hvor stor en del af biomassen der har fået en behandlingstid på mindst den anførte tid. Kurven er fremkommet som resultat af en prøve, udtaget på et tilfældigt valgt tidspunkt i en reaktor.

setiførsel til denne samt indpumpningscyklus, kan mængden af indpumpet biomasse pr. gang findes.

Det antages, at den ind- og udpumpedede mængde biomasse er konstant. Det antages endvidere, at der sker en fuldstændig opblanding af den indpumpedede biomasse inden udpumpning (der går knap 6 timer mellem ind- og udpumpning under samtidig omrøring).

Der udarbejdes et EDB-program, som beregner, hvor stor en del af en bestemt mængde indpumpet biomasse der forlader reaktoren ved de efterfølgende udpumpninger.

Resultaterne angives i % af den undersøgte indpumpedede mængde biomasse.

Nærmere oplysninger om EDB-programmet kan fås ved henvedelse til forfatterne.

Af de fremkomne resultater skrives der på SuperCalc 5 en sumkurve, der viser, hvor stor en del af biomassen der maksimalt har fået den pågældende behandlingstid. Derefter tages reciprokværdierne til sumkurvens resultater. Den herved fremkomne kurve angiver, hvor stor en del af biomassen der har fået en behandlingstid på mindst den anførte tid (se fig. 1 og fig. 2).

Af fig. 1 ses, at biomassens middelbehandlingstid (den tid det tager for at 50% af biomassen er behandlet) er 200 timer.

Årsagen til at kurven i fig. 2 er vandret i de første 4 timer er, at godkendelseskravet tilsikrer en mindsteopholdstid på 4 timer.

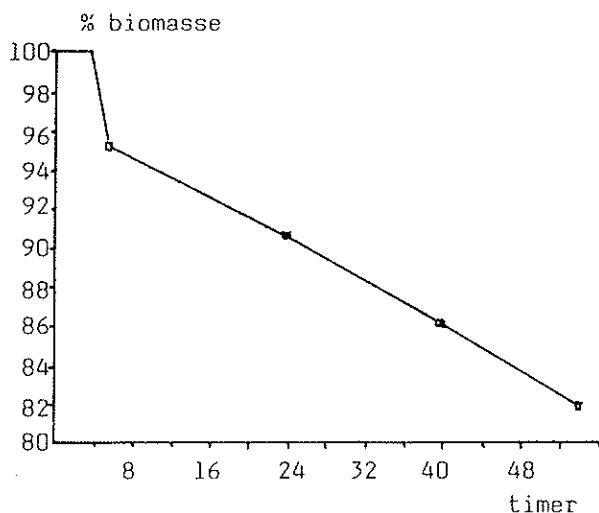
Den forventede log reduktion kan nu beregnes som følger:

Mindste opholdstid i reaktor: 4 timer.

Temperaturen i reaktor: 53°C.

*) Dyrlæge Olaf Bennetzen, Miljø- og levnedsmiddelkontrollen, Industrivej 30 B, 6760 Ribe, & dyrlæge Uffe S. Mikkelsen, Miljø- og levnedsmiddelkontrollen, Haderslev.

Figur 2. Biomassens behandlingstid (B)



Kurven er en del af kurven i fig. 1. Kurven viser, hvor stor en del af biomassen, der har fået en behandlingstid på mindst den anførte tid. Kurven er fremkommet som resultat af én prøve, udtaget på et tilfældigt valgt tidspunkt i en reaktor.

I et tidligere forsøg er T_{90} for fækale streptokokker i gylle som funktion af temperaturen fundet (2), se fig. 3.

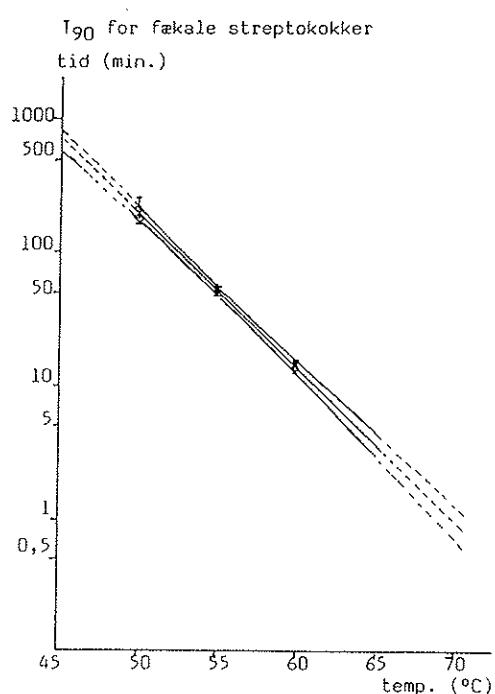
Ifølge fig. 3: Ved 53°C tager én log reduktion (T_{90}) 85 min.

Forventet log reduktion ved en behandlingstid på 4 timer: $(240 \text{ min.}) / (85 \text{ min.}) = 2,8$.

En log reduktion på ca. 5 vil ikke kunne registreres ved FS-metoden (2).

Behandlingstid for at der er opnået en log reduktion på 5 ifølge fig. 3: 85 min. $\times 5 = \text{ca. } 7 \text{ timer}$.

Figur 3. Gylle

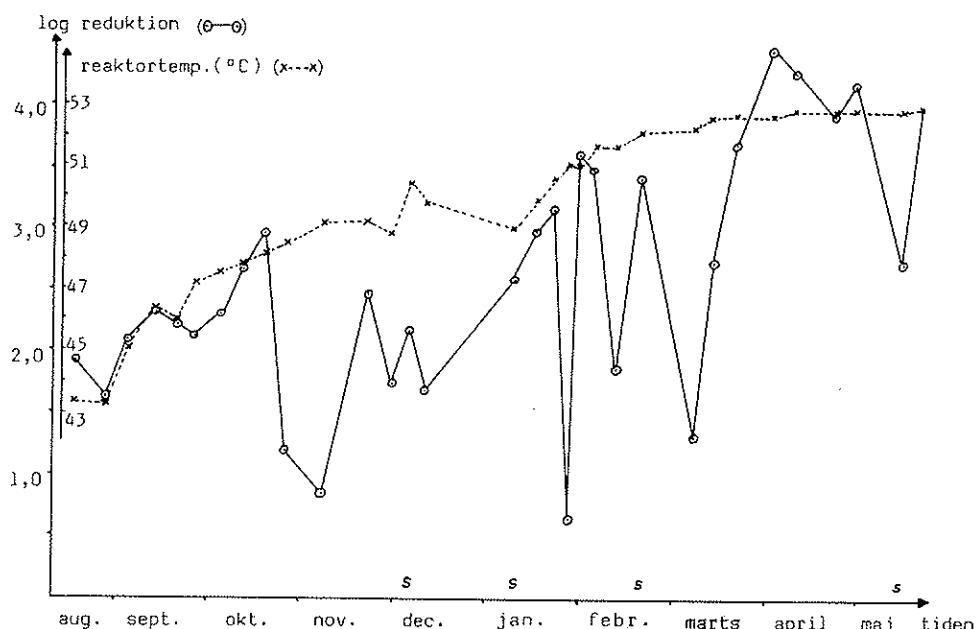


Semilogaritmisk afbildning af T_{90} i min. for fækale streptokokker som funktion af temperaturen. Der er udformet en regressionslinje, hvor de enkelte resultater serier, 95 % sikkerhedsgrænsene for de enkelte resultater serier samt 95 % konfidensintervallet for regressionslinjen er angivet (2).

% biomasse der har fået mere end 7 timers behandlingstid ifølge fig. 2: 95%

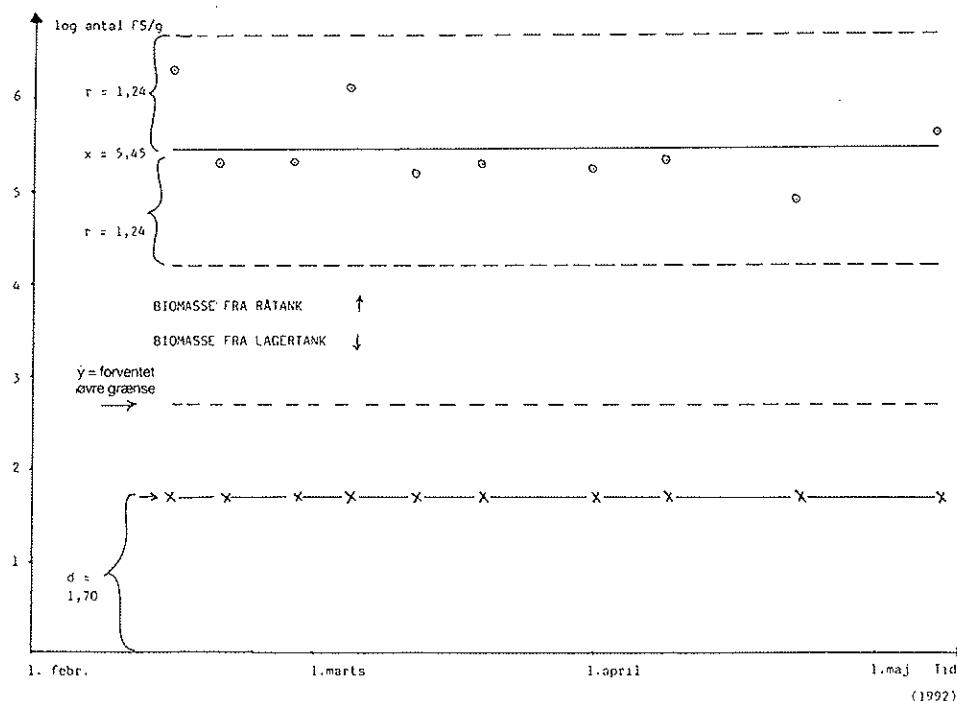
Dette betyder, at 95% af biomassen ved FS-metoden vil blive regi-

Figur 4. Ribe biogasfællesanlæg



Gennemsnitsreaktortemperaturer for 3 reaktorer, FS log reduktionerne mellem log til FS-indholdet i fortankene og lagertankene, samt påvisning af *Salmonella* spp. i lagertankene (mærket med S) i perioden 1990-08-17 til 1991-05-14.

Figur 5. Ribe Biofællesanlæg



Log antal FS/g i biomasse fra råtank og lagertank, samt forventet øvre grænse (y) for log antal FS/g i lagertank ved en forventet log reduktion på 4,0. ○ = målinger foretaget i råtank. ✕ = målinger foretaget i lagertank. d = metodens nedre målegrænse (< 50 FS/g). x = gennemsnit af de 10 målinger i råtanlen, $r = 2\sqrt{2}x s$, hvor s er spredningen på de ovennævnte 10 måleresultater.

streret som < 10 FS/g.

Den forventede log reduktion vil derfor være 2,8 plus en fortyndingsfaktor på 20 gange (5% op i 100%) = 2,8 + 1,3 (log til 20) = 4,1. (Der ses bort fra tidsrummet imellem 4 timer og 7 timer, da FS her hurtigt vil blive reduceret betydeligt).

Målt log reduktion

Resultaterne fra opstartfasen i Ribe biogasfællesanlæg fremgår af fig. 4. Anlægget startede i aug. 1990. I perioden aug. 1990 til jan. 1991 er temperaturen steget nogenlunde jævn fra 43°C til 49°C. I selvsamme periode har der været stor variation i log reduktionen, idet den har varieret fra 1,0 til ca. 3,0. I perioden fra midten af jan. 1991 til og med marts 1991 er temperaturen steget fra 49°C til knap 52°C. Dette er ikke blevet modsvaret af en stigning i log reduktionen. Efter undersøgelse af sagen fandtes årsagen til den manglende stigning i log reduktion at være et driftsuheld i slutningen af jan. 1991, hvor den rå biomasse blev pumpet direkte over i lagertankene (på grund af en EDB-styringsfejl). Af resultaterne ses, at fejlen har bevirket en stor forekomst af FS i lagertankene i febr. og marts. I perioden april 1991 og til jan. 1993 (det meste af denne periode er ikke afbilledt) har temperaturen ligget nogenlunde konstant omkring 53,0°C og log reduktionen har været omkring 4,0.

Resultaterne viser altså, at der er god overensstemmelse imellem teori og praksis.

I opstartfasen blev lagertankene desuden undersøgt for forekomst af *Salmonella spp.* Af fig. 4 fremgår det, at der er påvist *Salmonella spp.* gentagne gange i opstartfasen (også i tidspunktet omkring driftsuheldet). I perioden efter maj 1991 og til jan. 1993 er der ikke konstateret *Salmonella spp.* i lagertankene (dette svarer til, hvad der kunne forventes).

2. Forslag til systematisk behandling af målte resultater fra biogasfællesanlæg

Der anvendes resultater fra Ribe Biogasfællesanlæg.

Af fig. 5 fremgår det, at der på baggrund af 10 løbende målereultater i den rå biomasse er udregnet et logaritmisk gennemsnit (x), samt fundet en r -værdi. På baggrund af denne r -værdi kan der optegnes 95 % sikkerhedsgrænsen for resultaterne (de øverste 2 stippled linjer i fig. 5). Derefter kan den forventede øvre grænse for log til antallet af FS i den behandlede biomasse findes (y) på baggrund af en forventet FS-reduktion i biomassen på 4 log enheder (det antages, at spredningen i den behandlede biomasse er af samme størrelsesorden som spredningen i den ubehandlede biomasse). Den øverste stippled linje i fig. 5 forskydes derfor 4 log enheder nedad. Den derved fremkomne grænse vil være den øverte forventede grænse for den behandlede biomasse.

Af fig. 5 ses, at resultaterne fra den behandlede biomasse alle har ligget under den forventede øvre grænse.

Hvis resultaterne i den rå biomasse ligger udenfor de nævnte sikkerhedsgrænsen må prøvetagningen i anlægget intensiveres, idet sammensætningen i biomassen øjensynligt er blevet ændret. De nye resultater vil danne udgangspunkt for beregning af nye x , r , og y -værdier.

Hvis resultaterne fra den rå biomasse ligger inden for sikkerhedsintervallet, vil der efter fremkomst af 5 nye resultater foretages nye beregninger af x , r , og y -værdier på baggrund af de sidste 10 resultater, således at de 5 første resultater fra forrige beregning bortkastes.

Hvis resultaterne fra den behandlede biomasse overskrider y -værdien, vil dette give anledning til en grundig gennemgang af anlægget for at finde evt. driftsforstyrrelser.

Vejviser

Denne beregningsmetode tager hensyn til, at der er en vis variation i det målte materiale, samt at det ikke er den samme biomasse, der måles på, ved sammenligning af målinger udført på behandlet og ubehandlet biomasse samme dag (biomassens gennemsnitsopholdstid i reaktorerne i Ribe Biogasfællesanlæg er 11 døgn). En log reduktion på 2, målt som forskellen imellem ubehandlet og behandlet biomasse den samme dag, kan således udmaerket være tilfredsstillende, såfremt resultaterne ligger henholdsvis over $x - r$ i den ubehandlede biomasse og under y i den behandlede biomasse.

3. Case fra Lintrup biogasfællesanlæg

Anlægget er et mesofilt anlæg (projekteret til at arbejde ved 35°C , men arbejder ved 40°C), som først foretager en kontrolleret hygjenisering (70°C i én time eller en tilsvarende behandling) af den modtagne biomasse. Ved undersøgelse af prøver fra hygjeniseringstanken må vi normalt forvente at finde < 10 FS pr. g. I midlertid begyndte driftskontrolprøverne pludselig at vise et stigende indhold af FS. EDB-udskrifterne vedrørende tider og temperaturer i hygjeniseringstankene kunne i begyndelsen ikke afsøre unormale forhold. FS-undersøgelerne afslorede, at biomassen ikke var blevet hygjeniseret regelret. Virksomheden gennemgik derfor anlægget, specielt varmevekslersystemet. Gennemgangen afslorede, at der var revner i rørsystemet, så en kortslutning kunne ske imellem den indpumpedøje og udpumpedøje biomasse. Revnerne skyldtes materialeträthed, opstået på grund af den stedvise pumping af biomassen. Forholdet blev rettet og FS-indholdet faldt til < 10 FS pr. g.

Litteratur

1. Andersen, Bent H., Miljø- og levnedsmiddelkontrollen i Ribe. Personlig meddelelse.
2. Bennetzen, Olaf & Uffe S. Mikkelsen: FS-metodens anvendelighed som hygjenisk kontrolparameter. 1. Biogasfællesanlæg. Dansk VetTidsskr. 1993, 76, 597-604.

Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole
Bülowsvej 13,
1870 Frederiksberg C
Telefon 35 28 28 28, dagomstilling til alle institutter
Telefax 35 28 20 79
Jernbaneadresse: Københavns Godsbanegård, Bernstorffsgade 50, 1577 København V

Afdeling for patologi og epidemiologi
Patologi og rådgivning vedrørende sygdomme hos svin, kveg, får, ged og hest
Parasitologiske undersøgelser
Produktion og omsætning af vacciner, sera og diagnostiske reagenser

Gifregister
Foreningen til Dyrenes Beskyttelse i Danmark
Telefon 86 46 80 04 (døgnbetjent)

Afdeling for mikrobiologi
Bakteriologiske undersøgelser
Mykoplasmaundersøgelser

Kvalitetsrådgivning
herunder mastitisbekämpelse
Danske Mejeriers Fællesorganisation
Frederiks Allé 22, 8000 Århus C
Afdelingsleder Laust Jepsen
Ledende mastitisdyrlæge
Karsten Aagaard
Telefon 86 13 26 11
Telefax 86 13 26 93

Afdeling for biokemi og immunologi
Biokemiske og toksikologiske undersøgelser
Serodiagnostiske undersøgelser incl. eksportundersøgelser, alle dyrearter undtagen fisk
Virologiske undersøgelser

Kvægbrugets Laboratorium
Ladelundvej 85 A, 6650 Brørup
Laboratorieleder Johs. Jensen
Telefon og telefax 75 38 17 55

Århus
Hangøvej 2, 8200 Århus N
Telefon 86 16 79 00
Telefax 86 10 74 64
Telegramadresse
Vetserum, Århus

Statens Veterinære Institut for Virusforskning
Lindholm, 4771 Kalvehave
Telefon 55 81 45 23
Kontoret er åbent:
8.45-15.30 (lørdag lukket)
Telegramadresse: Vetvirus, Kalvehave
Telex 40306 virus dk
Telefax 55 81 17 66

Afdeling for fisk, pelsdyr og vildt
Fisksygdomme
Sygdomme hos pelsdyr, kaniner, farmede harer og hjorte
Sygdomme hos hund og kat
Vildtsygdomme

Statens Veterinære Serumlaboratorium
Telefontid: 8.30-16.00 (lørdag lukket)
Bedste trefstid for faglige forespørgsler 12.30-14.00

Afdeling for fjerkræsygdomme
Patologiske, parasitologiske, bakteriologiske og virologiske undersøgelser af fjerkræ og fugle, samt rådgivning

København
Bülowsvej 27, 1790 København V
Telefon 31 35 45 44
Gennemwahl 31 39 86 11
Telefax 31 35 37 37

Bloodprøver
Statens Veterinære Serumlaboratorium
1790 København V

Bestilling af sera og vacciner
Telefon 31 39 86 00
Telefax 31 35 37 35
Telegramadresse
Vetserum, København
Telex 22904 vetser dk
Jernbaneadresse
Københavns Godsbanegård, Bernstorffsgade 50
1577 København V

Veterinærdirektoratet
Rølhedsvej 25,
1958 Frederiksberg C
Telefon 31 35 81 00
Telefontid: 8.30-16.00, fredag dog kun til 15.00 (lørdag lukket)
Telefax 35 36 19 12
Telex 22473 VETDIR DK
Teletex 2381-11 26 26
VETDIR DK
Datatransmission 35 36 58 11

af Olaf Bennetzen & Uffe S. Mikkelsen*)

FS-metodens anvendelighed som hygiejnisk kontrolparameter

3. Rensningsanlæg

The applicability of the FS method as a parameter for the control of sewage treatment plants.

Summary

On the basis of the hygienic conditions for disposal and use of sludge and other waste products on agricultural land, which are included in Order No. 736 of October 26, 1989 of the Danish Ministry of the Environment, it is suggested to use the FS (enterococci - faecal streptococci) method as a parameter for evaluating the pathogen reducing effect of waste water treatment plants. The presence of FS is studied. Furthermore, the effect of mesophilic, anaerobic stabilization is investigated by using the FS method on samples of sludge. It is concluded that a satisfactory inactivation of pathogens is not achieved by the methods of anaerobic stabilization used in these plants. Furthermore, it is concluded that the FS method can be used to discover deficiencies in the treatment of sludge on a particular plant. The FS method is not suitable for checking whether the criteria of »controlled sanitation« - as required in Order No. 736 - has been fulfilled. The contents of FS is eliminated too quickly at these conditions.

Sammendrag

Med udgangspunkt i slambekendtgørelsens hygiejniske betingelser for anvendelse af affald foreslås det at anvende FS (fækale streptokokker)-metoden som parameter til vurdering af et rensningsanlægs smitstofreducerende effekt over for evt. patogener. Forekomsten af FS i rå slam undersøges. Endvidere undersøges hvilken effekt en mesofil anaerob stabilisering har på FS-indholdet i slam. Det konkluderes, at en anaerob stabilisering ikke bewirker en tilstrækkelig inaktivering af evt. patogener. Endvidere konkluderes, at FS-metoden er anvendelig til kontrol af den daglige drift i anlægget. Derimod er FS-metoden ikke egnet til kontrol af en regelret »kontrolleret hygienisering«, jfr. slambekendtgørelsen, idet FS-indholdet reduceres for hurtigt ved disse temperatur/tid-kombinationer.

Indledning

Slam fra rensningsanlæg, der behandler husspildevand og som ønskes anvendt til f.eks. jordbrugsformål (recyklering) skal være deklareret med hensyn til bl.a. indhold af visse tungmetaller og næringsstoffer (1), for at modtageren (ofte landbruget) kan anven-

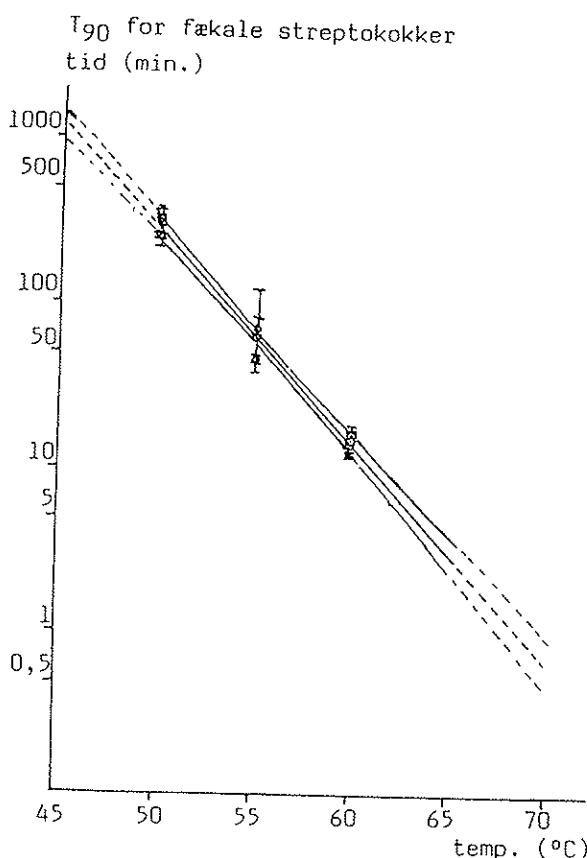
de det som et element i gødningsplanerne. På grund af slammets indhold af evt. smitstoffer, og dermed risiko for smitstofspredning ved håndteringen, har Miljøministeriet udstedt en slambekendtgørelse (1) som stiller visse hygiejnisk begrundede anvendelseskrav til slam, afhængig af dets behandling på rensningsanlægget. I de fleste offentlige/kommunale rensningsanlæg bliver slammet behandlet i en rådnetank, hvor det undergår en mesofil forgæringer ved en temperatur på 30-35°C i 4-6 uger, oftest efterfulgt af en avanding.

Ifølge slambekendtgørelsen defineres en sådan proces som stabilisering: »Anaerob stabilisering ved udrådning i opvarmet rådnetank, eller behandling i biogasreaktor«. Stabiliseret slam må ikke anvendes uden hygiejnisk begrundede restriktioner. Det må således ikke anvendes til havebrug eller udbringes på arealer, der anvendes til fortærbare afgrøder (»På arealer, hvor der er tilført spildevandsslam, må der indtil 1 år efter sidste tilførsel kun dyrkes korn- eller frøafgrøder til modenhed, samt græs eller lignende til industriel fremstilling af tør foder. Endvidere må der dyrkes ikke-fortærbare afgrøder« (1)). En anden proces, der ifølge slambekendtgørelsen defineres som stabilisering, er en kemisk behandling ved tilsætning af brændt kalk eller læsket kalk. Ifølge rapport til Miljøstyrelsen ang. kalkbehandling af slam (2) ser det ud til, at der ved tilsætning af særligt aktive brændte kalkprodukter kan opnås en effektiv hygienisering som følge af temperaturstigning og stigning af pH-værdien i produktet. Det konkluderes således, at slammet efter 3 måneders lagring ved pH >12 kan anvendes uden hygiejnisk begrundede restriktioner.

For at lette afsætningen af spildevandsslam i recykleringsøjemed vil der være et stigende behov for at behandle det på rensningsanlæggene, således at det kan håndteres uden hygiejnisk begrundede restriktioner. For at gøre dette muligt, kræves der, ifølge slambekendtgørelsen, en »kontrolleret hygienisering«, der defineres som: »Behandling i reaktor, som sikrer en temperatur på minimum 70°C i minimum 1 time, eller tilsvarende hygienisering«. En sådan termofil behandling vil tillige give mulighed for en større gasproduktion. Til kontrol af varmebehandlingen kunne evt. anvendes FS (fækale streptokokker)-metoden, der er et udtryk for, hvor stor en reduktion af FS der sker ved varmebehandlingen. I en foregående artikel i DVT (3) er det illustreret, hvorledes T90-værdien til FS-indholdet i slam reduceres med stigende temperaturbehandlingsniveau (se fig. 1). Endvidere er der redejagt for, at FS-metoden ikke er velegnet til måling af en regelret kontrolleret hygienisering, da FS-indholdet reduceres til umålelige mængder efter ca. 4 min. ved 70°C. I artiklen (3) er endvidere beregnet den maksimalt målelige varmebehandlingstid for slam ved forskellige temperaturniveauer for FS-metoden, samt de påkrævede varmebehandlingstider ved en »kontrolleret hygienisering« (tabel 1).

I denne artikel er brugt ordet »tilsvarende« fra slambekendtgørelsen som den alternative behandlingstid/-temperatur, der

*) Dyrlege Olaf Bennetzen, Miljø- og levnedsmiddelkontrollen, Industrivej 30 B, 6760 Ribe & dyrlege Uffe S. Mikkelsen, Miljø- og levnedsmiddelkontrollen, Haderslev

Figur 1. Slam

Semilogaritmisk afbildning af T_{90} i min. for fækale streptokokker som funktion af temperaturen. Der er udformet en regressionslinje, hvor de enkelte resultatserier, 95% sikkerhedsgrænsene for de enkelte resultatserier samt 95% konfidensintervallet for regressionslinjen er angivet (3).

sikrer et drab af FS af samme størrelsesorden som ved 70°C i 1 time.

FS-metodens anvendelighed til kontrol af den daglige drift i rensningsanlæg (driftsparameter) ønskes undersøgt for at bedømme, om den egner sig til at afsløre driftsforstyrrelser.

Forekomsten af FS i slam fra rensningsanlæg er undersøgt, idet FS skal være konstant til stede og i rigelige mængder for at kunne anvendes som en driftsparameter. Endvidere er det undersøgt, hvor stor en reducerende effekt en anaerob stabilisering (den hyppigst forekommende behandlingsart i et slamanlæg) har på FS-indholdet.

Materialer og metoder

Indholdet af FS i rå slam samt størrelsen af logaritmereduktionen af fækale streptokokker fra rå slam til færdigbehandlet slam i rensningsanlæg er undersøgt af Den Sydjysk-Fynske Laboratorieklub i perioden november 1990 til august 1991.

Alle de undersøgte anlæg foretager en anaerob stabilisering som slambehandlingsmetode. For alle anlæg gælder, at stabiliseringen foregår i rådnetank ved temperaturer fra 32°C til 37°C og med en behandlingstid på 28-40 døgn. Den anaerobe stabilisering hører derfor under definitionen for anaerob stabilisering i slambekendtgørelsen.

Tabel 1. Varmebehandlingstid

biomasse:	temp (°C):	maksimalt målelig behand- lingstid i minutter:	påkrævet behandlingstid ved en »kon- trolleret hygienisering« i timer:
slam :	50	1.400	390
» :	53	570	160
» :	55	312	87
» :	60	69	19
» :	65	15,5	4,4
» :	70	3,6	1,0

Oversigt over den maksimalt målelige varmebehandlingstid for slam ved forskellige temperaturniveauer for den anvendte FS-metode, samt påkrævede behandlingstider ved »kontrolleret hygienisering«. Den maksimalt målelige behandlingstid (beregnet på grundlag af fig. 1), beregnes som $T_{90} \times 5$ (metoden kan i praksis kun måle en log reduktion på ca. 5,0). Den påkrævede behandlingstid ved en »kontrolleret hygienisering« beregnes som $T_{90} \times 86$ (af fig. 1 fremgår det, at T_{90} ved 70°C er 0,7 min. Ved én times behandling vil den teoretiske log reduktion være 60 min./0,7 min. = 86). De valgte T_{90} -værdier er aflæst på selve regressionslinjen i fig. 1.

Antal prøver

Der udtages 16 prøveserier fra i alt 11 rensningsanlæg. En prøveserie = 1 prøve ubehandlet slam + 1 prøve behandlet slam udtaget på samme anlæg og på samme tid.

Prøverne udtages før rådnetanken og lige efter behandlingen i rådnetanken.

Analyseforskrift

I det enkelte rensningsanlæg udtages der én prøve (x) af det rå slam og én prøve af det færdigbehandlede slam (y).

Der udtages ca. 250 g af den enkelte prøve.

Prøverne udtages efter DS 2250 punkt 4.5.

De enkelte prøver homogeniseres ved forsigtig omrøring med spatel.

Af den homogeniserede prøve udtages 2 delprøver à ca. 10 g.

Disse prøver behandles separat og benævnes X1, X2, henholdsvis Y1, Y2.

Den afvejede mængde kommer i stomacherpose, og der tilsættes nøjagtig 9 gange så meget fortynningsvæske (fosfatbuffer pH 7,2 efter DS 2254).

Prøverne behandles 30 sek. i stomacheren.

Derefter gårds frem efter NMKL nr. 68 med følgende ændringer:

A. Der anvendes fornævnte fortynningsvæske.

B. Der anvendes petriskål med en diameter på 14 cm. Dette betyder, at der skal hældes ca. 30 ml Slanetz-agar op i hver petriskål. Pladerne tørres inden anvendelse. Udsåning helt ud til kanterne undgås.

C. Der tælles på plader med fra 10 til 250 kolonier. Plader med flere end 250 kolonier angives som > 250 FS/g.

D. Slanetz-agar må ikke autoklaveres, men behandles med kogende vanddamp i 20 min.

Tabel 2. Fækale streptokokker

Se- rie	ubehandlet slam kimtal: $x = \frac{X_1+X_2}{2}$	behandlet slam kimtal: $y = \frac{Y_1+Y_2}{2}$	log x	log y	log red.
1	72.000	36.000	4,86	4,56	0,30
2	160.000	75.000	5,20	4,88	0,32
3	200.000	66.000	5,30	4,82	0,48
4	600.000	28.000	5,78	4,45	1,33
5	250.000	2.300	5,40	3,36	2,04
6	32.000	8.000	4,51	3,90	0,61
7	570.000	5.600	5,76	3,75	2,01
8	1.000.000	32.000	6,00	4,51	1,49
9	440.000	410	5,64	2,61	3,03
10	700.000	27.000	5,85	4,43	1,42
11	710.000	23.000	5,85	4,36	1,49
12	150.000	6.200	5,18	3,79	1,39
13	2.000.000	1.800.000	6,30	6,26	0,04
14	1.500.000	13.000	6,18	4,11	2,07
15	240.000	100.000	5,38	5,00	0,38
16	170.000	8.200	5,23	3,91	1,32
gns.	340.000	20.000	5,52	4,29	1,23

Beregnede antal fækale streptokokker pr. gram i henholdsvis rå slam og behandlet slam fra rensningsanlæg der foretager anaerob stabilisering. Endvidere er angivet log reduktionen mellem FS-indholdet i rå slam og FS-indholdet i behandlet slam.

Fra hver delprøve (X1 og X2) udsås 2 x 0,1 ml (dobbelt-bestemmelse) af fortynderne: 10^1 , 10^2 og 10^3 .

Fra hver delprøve (Y1 og Y2) udsås 2 x 0,1 ml (dobbelt-bestemmelse) af fortynderne: 10^0 , 10^1 , 10^2 og 10^3 .

Statistisk databehandling

Chi²-test på dobbeltbestemmelser:

Der udføres chi²-test på hver af dobbeltbestemmelserne, således at de dobbeltbestemmelser der har et chi-resultat > 3,84 sorteres fra. Resultatet af testen fremgår af følgende:

Antal prøver:

Chi²-test:

$\approx 3,84$: Ca. 20% af prøverne

$\approx 3,84$: Ca. 80% af prøverne

Der anvendes 76 talpar til videre databehandling. Endvidere anvendes der 3 enkeltbestemmelser (3 resultater er kun angivet som enkeltbestemmelse).

R' på alle dobbeltbestemmelserne:

R' er en mellemtning mellem repeterbarhed og reproducerbarhed. R' er et udtryk for størrelsen af forskellen inden for de enkelte dobbeltbestemmelser.

talpar (n) = 76 d = forskellen inden for de enkelte dobbeltbestemmelser

$$s(\text{total}) = \sqrt{\frac{\sum d^2}{(2xn)}} \quad \sum d^2 = 1,0049$$

$$s(\text{total}) = \sqrt{\frac{1,0049}{(2 \times 76)}} = 0,08$$

For at undersøge om nogle af forskellene ligger signifikant udenfor, udføres Dixons outliers test:

$$c = d^2(\text{max}) / \sum d^2 = (0,69)^2 / 4,573 = 0,10$$

Der er ingen outliers eller stragglers.

R' (total) = $2\sqrt{2} \times s(\text{total}) = 0,33$ hvilket betyder, at forskellen mellem 2 dobbeltbestemmelser i 95% af tilfældene vil være mindre end eller lig med 0,33 log enheder.

R' på delprøverne (X1 og X2 henholdsvis Y1 og Y2):

(R' er en mellemtning mellem repeterbarhed og reproducerbarhed)

R' er et udtryk for størrelsen af forskellen mellem X1 og X2 henholdsvis Y1 og Y2.

Værdierne X1, X2, Y1 og Y2 er taget som gennemsnit af dobbeltbestemmelserne.

talpar (n) = 32

$$s(\text{total}) = \sqrt{\frac{\sum d^2}{(2xn)}} \quad \sum d^2 = 1,2361$$

$$s(\text{total}) = \sqrt{\frac{1,2361}{(2 \times 32)}} = 0,14$$

Resultater

I tabel 2 er anført de beregnede antal fækale streptokokker pr. gram i henholdsvis rå slam og behandlet slam. Endvidere angives log reduktionen mellem FS-indholdet i rå slam og behandlet slam.

Fækale streptokokker i slam

1. Ubehandlet slam:

Gennemsnit, \bar{x} : 340.000 FS/g

95% sikkerhedsgrænser: $37.000 \leq \bar{x} \leq 3,1$ mill.

2. Behandlet slam:

Gennemsnit, \bar{y} : 20.000 FS/g

95% sikkerhedsgrænser: $480 \leq \bar{y} \leq 800.000$

Log reduktionen mellem ubehandlet slam og behandlet slam

Beregning af log reduktionen ud fra de logaritmiske gennemsnit, \bar{x}^* , henholdsvis \bar{y}^* :

Log. reduktion: $\log \bar{x}^* - \log \bar{y}^* = 5,5 - 4,3 = 1,2$

95% sikkerhedsgrænser: $0,0 \leq \log \text{red.} \leq 2,6$

95% confidensinterval for log reduktionen: $0,8 \leq \log \text{red.} \leq 1,7$.

Testning af, om der er signifikant forskel mellem de 2 logaritmiske gennemsnit, \bar{x}^ og \bar{y}^**

Der udføres en t-test.

Der er signifikans på 99,9% niveau, og derfor er der signifikans mellem de 2 logaritmiske gennemsnit \bar{x}^* og \bar{y}^* .

Det nærmere beregningsgrundlag kan rekviseres hos forfatterne.

Diskussion og konklusion

Af resultaterne ses, at FS forekommer i konstant store mængder i det rå slam. Samtidig ses der en betydelig variation i indholdet svingende fra 6.400 FS/g til 2,5 mill. FS/g.

En anaerob stabilisering af slammet vil bevirket en log reduktion af FS-indholdet på godt og vel 1 log enhed.

Hvis vi sammenligner med erfaringer med mesofil varmebehandling af gylle i biogasreaktorer (4,5), der jo også betragtes som en anaerob stabilisering, vil en sådan log reduktion ikke være tilstrækkelig til eliminering af evt. patogener, idet dette ville kræve en log reduktion på mindst 3 - 4 log enheder. Denne reduktion opnås kun i termofile biogas-reaktorer eller i hygieniseringstank, der arbejder ved temperaturer på over 50°C. Det må derfor anses for rimeligt, at der i slambekendtgørelsen stilles hygienisk begrundede restriktioner til anvendelsen af slam efter den anaerobe mesofile stabiliseringssproces.

For at sikre en kraftig smitstofreduktion i slammet - og dermed lette afsætningen af produktet til jordbrugsformål - er det ønskeligt, om slammet varmebehandles i et omfang, der svarer til en FS-reduktion på ca. 4 log enheder. En sådan FS-log reduktion kan evt. indgå i deklarationen af slam. Den ønskede FS-log reduktion kan opnås ved flere alternative metoder:

1. Hævning af temperaturen i rånetanken til f.eks. 53°C, således at der foregår en termofil udrådning. Af fig. 1 fremgår det, at en sådan temperatur ville kræve en mindste behandlingstid af slammet på godt og vel 7 timer for at opnå en log reduktion på ca. 4.
2. Slammet varmes op i en hygieniseringstank ved en temperatur på f.eks. 60°C. Dette ville kræve en mindste behandlingstid på knap 1 time for at sikre en FS-log reduktion på ca. 4 (fig.1).

3. En »kontrolleret milekompostering«, der sikrer en temperatur på minimum 55°C i hele slammassen på godt og vel 4 timer, vil bevirket en FS-log reduktion på ca. 4 (fig.1). I praksis bør varmebehandlingen dog foregå over længere tid, dels fordi temperaturen er svær at styre, dels fordi de ydre lag i milen har en lavere temperatur. Milerne bør derfor være rigtigt opbygget og tildækkes, således at varmetab undgås.

I slambekendtgørelsen (1) er kravet til kontrolleret kompostering: »Kompostering med daglig temperaturmåling, således at alt materiale underkastes en temperatur på minimum 55°C i minimum 2 uger«. De hygiejniske restriktioner i forbindelse med anvendelse af spildevandsslam, der er kontrolleret komposteret, er de samme som de tidligere nævnte restriktioner for stabiliseret spildevandsslam.

FS-metoden vil kunne anvendes til at afsløre driftsforstyrrelser, f.eks. om den anaerobe stabilisering fungerer korrekt i anlægget. Metoden er derimod ikke egnet til kontrol af, om der er foretaget en regelret kontrolleret hygienisering, idet FS-indholdet da er umåeligt. Omvendt giver forekomst af FS i behandlet slam oplysning om, at der ikke er sket en regelret kontrolleret hygienisering i anlæg, hvor dette er tilsigtet.

Litteratur

1. Miljøministeriets bekendtgørelse nr. 736 af 26. oktober 1989 om anvendelse af slam, spildevand og kompost m.v. til jordbrugsformål.
2. Andreasen, Peter & Henning Pedersen: Kalkbehandling af slam: Praktiske forsøg samt miljømæssige og hygiejniske aspekter ved spredning af kalkbehandlet slam på landbrugsjord. Rapport til Miljøstyrelsen samt Industri- og Handelsstyrelsen. Carl Bro as. December 1990.
3. Bennetzen, Olaf & Uffe S. Mikkelsen: FS-metoden anvendelighed som hygiejniske kontrolparameter. 1. Biogasfællesanlæg. Dansk VefTidsskr. 1993, 76, 597-604.
4. Larsen, H. Errebo, B. Munch, J.E. Olsen & P. Nansen: Om smitstofdrab og smitterisici ved udrådning af husdyrgødning i biogasanlæg. En orientering. Dansk VefTidsskr. 1989, 72, 1411-1418.
5. Munch, B. & A. Bonde Larsen: Delpunkt 2 (VET-BIO-2): Forsknings- og overvåningsprogram vedrørende bakterier og parasitter med henblik på opstilling af et driftsovervågningsprogram for biogasfællesanlæg. Statens Veterinære Serumlaboratorium, København, og Institut for Veterinær Mikrobiologi og Hygiejne, KVL, 1990.

• • •

Som det fremgår af en meddelelse andet steds i dette nummer af Dansk Veterinærtidsskrift, har Fond af 13. Juli 1873 til Veterinærvidenskabens Fremme belønnet de to foregående artikler om dette emne med en forfatterpræmie på kr. 5.000. Artiklerne er offentliggjort i DVT nr. 14 og 15, 1993.

red.