BILAG VII

O. BENNETZEN

RAPPORT OVER MIKROBIOLOGISKE FORHOLD I DECENTRALE BIOMASSETANKE I RIBE BIOGASANLÆG

DEL-RAPPORT TIL

SMITSTOFREDUKTION I BIOMASSE

RAPPORT VEDRØRENDE

DET VETERINÆRE FORSØGSPROGRAM
I
BIOGASFÆLLESANLÆG

BIND II: DEL-RAPPORTER OG BILAG 1995

FORMÅL:

1.: at undersøge de generelle mikrobiologiske forhold i decentrale biomassetanke tilhørende et biogasfællesanlæg.

2.: at undersøge, hvorledes evt. uregelmæssigheder på et biogasfællesanlæg vil afspejle sig i forholdene i de decentrale biomassetanke.

For at afklare ovennævnte punkter undersøges 21 forskellige decentrale tanke stikprøvevis over en længere periode.
Endvidere undersøges én bestemt decentral tank (5 A) over en længere periode.
Resultaterne sammenlignes med driftsforholdene på selve biogasanlægget samt med desinfektionsproceduren i forbindelse med transport af biomassen i tankvogne.

INDLEDNING:

Udgasset gylle fra lagertankene i Ribe biogasfællesanlæg transporteres til decentrale biomassetanke (25 ialt) og gårdtanke (56 ialt).
Tankvognene til transport af gyllen, kører den udgassede biomasse ud i de decentrale biomassetanke og gårdtankene. De decentrale tanke modtager udgasset biomasse flere gange pr. måned. Evt. patogener fra biogasfællesanlægget vil således hurtigt kunne spores i de decentrale tanke.
De decentrale tanke er ikke overdækkede men alene forsynet med et flydende Leca-lag.
Efter tømning af tankvognene fyldes disse med rågylle fra gårdejernes gyllebeholdere. Rågyllen transporteres derefter til fortankene i biogasfællesanlægget. Inden påfyldning af udgasset gylle fra lagertankene til tankvognene foretages der en desinfektionsprocedure af tankvognene.
Der er ikke særskilt ind- og udkørsel til biogasfællesanlægget. Tilkørselsveje og pladser er asfalterede. Afløb for skyllevand føres til fortankene.
Der er lukket hal med modtageplads. Der findes faciliteter til

frostfri rensning, spuling og desinfektion af transportvognene.

FORSØGSPLAN:

Forsøgsdeltager: MLKE i Ribe.

Forsøgets afvikling: forsøget påbegyndtes d. 30. september 1992 og afsluttedes d. 7. december 1994.

Metoder og fremgangsmåder:
FS-indholdet bestemmes efter: Udkast til FS-metode, august 1991/92: Biomasse undersøgelse: "Bestemmelse af fækale streptokokker i gylle, slam og blandinger af gylle med organisk affald ved pladespredningsmetoden". Metoden er udarbejdet af MLKE'erne: Haderslev/Ribe.
Ca. 2 kg biomasse udtages fra decentrale tanke.
Fra hver prøve udtages en delprøve på 10 g til undersøgelse for FS-indhold. Delprøven sås ud i følgende fortyndinger: -1, -2, og -3. Der foretages dobbeltudsæd (og dermed dobbeltbestemmelser).

Salmonella-indholdet bestemmes efter NMKL nr. 71: "Salmonellabakterier. Påvisning i livsmedel", 4. udgave 1991.
Der udføres kvalitative Salmonella-undersøgelser ved at afveje 25 g af prøverne med efterfølgende undersøgelse.

RESULTATER OG BEREGNINGER:

FS-bestemmelser:
Der er beregnet kimtal og log kimtal.
På grundlag af log kimtal er udført følgende:
x = gennemsnitligt antal FS pr. g. Værdien er beregnet på grundlag af logaritmetallene, hvorefter antilogaritmen er fundet.
95 % sikkerhedsinterval: beregnes som ± 2 x spredningen (sp).
sp findes på grundlag af logaritmetallene.

Resultaterne fra de forskellige decentrale tanke er skematisk vist i bilag 1 på siderne 12, 13 og 14.
x = 2.100 FS pr. g.
95 % sikkerhedsinterval:
52 FS pr. g < antal FS pr. g < 81.000 FS pr. g.
Resultaterne fra den decentrale tank 5A er skematisk vist i bilag 2 på side 15, samt grafisk afbildet i bilag 3 på side 16.
x = 1.100 FS pr. g.
95 % sikkerhedsinterval:
15 FS pr. g < antal FS pr. g > 80.000 FS pr. g.

Salmonella-undersøgelser:
Resultaterne er angivet i bilagene 1, 2 og 3 på siderne 12, 13, 14, 15 og 16.

DISKUSSION:

1. Forhold på og ved biogasfællesanlægget.
Desinfektionsproceduren:
Før d. 15. juli 1993 blev tankvognene spulet indvendigt og udvendigt i tidsrummet efter tømningen for rågylle og inden påfyldningen af udgasset biomasse.
Fra d. 15. juli 1993 blev der indført en egentlig desinfektionsprocedure, således at tankvognene indvendigt blev spulet med en 0,2 % NaOH opløsning.
I starten var der visse indkøringsproblemer, således tæredes desinfektionspumpen og ventilerne deri. I løbet af sommeren 1993 blev disse forhold dog løst.
I efteråret 1993 klagede chaufførerne over rengøringsproceduren, idet de følte ubehag ved håndteringen af NaOH i den nævnte koncentration i form af luftvejssymptomer og svien i øjnene. I denne periode udførtes ingen desinfektion af vognene.
Arbejdstilsynet aflagde i efteråret 1993 virksomheden besøg. Det blev konkluderedet, at håndteringen af NaOH i nævnte koncentration var forsvarlig, men at luftudskiftningen i hallen var for lille. Udluftningsforholdene i modtagehallen blev forbedret, idet ventilationen i forvejen var underdimensio-

neret. Luftudsugningen fra bilernes udstødning var mangelfuld. I januar 1994 blev desinfektionsproceduren genoptaget. Der blev udformet en instruks over desinfektionsproceduren, se side 6. I august 1994 var desinfektionspumperne opslidte og de skulle dermed udskiftes. Fra august 1994 og helt frem til d. 1/12 1994 blev der ikke foretaget desinfektion af tankvognene.

Resultater fra selve biogasfællesanlægget:
Resultater i den undersøgte periode ses af skemaet på siderne 7 og 8.
Det gennemsnitlige FS-indhold i lagertankene x, beregnet på grundlag af logaritmetal er 540 pr. g.
95% sikkerhedsinterval, beregnet som ± 2 x sp på grundlag af logaritmetallene:
13 FS pr. g < antal FS pr. g < 22.000 FS pr. g.

Der har i hele perioden været en god smitstofreduktion fra fortankene til reaktortankene, idet den mindste reduktion har været på 3,38 og den største reduktion har været på > 5,23. Den ønskede smitstofreduktion er af størrelsesordenen 3 - 4. Reaktorerne har i hele perioden arbejdet ved temperaturer omkring 53,0°C (dette ses ikke af bilagene). Dette svarer til kravene fra Miljøgodkendelsen (53°C i mindst 4 timer). FS-indholdet i lagertankene har svinget fra < 10 pr. g til 23.000 pr. g. Disse store svingninger må tillægges evt. eftervækst i lagertankene. Det er betegnende, at det største FS-indhold i lagertankene findes i den kolde periode oktober - marts. Således er 8 ud af 10 resultater med et FS-indhold på > 1.000 pr. g fra denne periode. Årsagen til dette er, at FS-reduktionen er lavest ved kolde temperaturer i lagertankene. Det svingende FS-indhold i lagertankene har bevirket at log reduktionen fra fortankene til lagertankene har svinget meget (fra 0,82 til > 4,56), og den har varieret meget fra den ønskede reduktion på 3 - 4.
Med én undtagelse nær, er der ikke fundet Salmonella spp. i lagertankene, hvilket både er ønskeligt og forventeligt, da der ikke har været nævneværdige FS-indhold i reaktortankene.

Instruks for renholdelsesprocedure af gylletransportvogne.

1. Efter fuldstændig tømning for biomasse skylles alle indre overflader med postevand indtil det afdrænede skyllevand er klart.

2. Når beholderen er tømt spules alle indvendige overflader med en 0,2% NaOH-opløsning. Den store vogn tilsættes mindst 200 l af opløsningen, medens de 2 små vogne tilsættes mindst 150 l.

3. Efter henstand i 2 minutter kan den afgassede gylle tilsættes.

4. Mens desinfektionsprocessen forløber, renses og vaskes transportkøretøjets ydre overflader, specielt hjulene.

Vedrørende evt. sikkerhedsmæssige krav i forbindelse med udførelsen af proceduren henvises til Arbejdstilsynet.

Miljø- og levnedsmiddel kontrollen	Biogasfællesanlæg A/S
i Ribe d. 1994-01-19	i Ribe d. 1994-01-19
Olaf Bennetzen	Else Jensen

Fækale streptokokker (FS) samt Salmonella-bakterier i biomassen fra Ribe Biogasfællesanlæg i perioden 1992-09-30 - 1994-10-19

Prøve-dato	1. Fortanke (FS/g)	2. Reak-tortanke (FS/g)	3. Lagertanke (FS/g)	Log reduk-tion:1 - 2 (FS/g)	Log reduk-tion:1 - 3 (FS/g)	Salmonella i lager-tank
92-09-30	680.000	10	200	4,83	3,53	-
92-10-28	1.500.000	< 10	150	> 5,18	4,00	-
92-11-25	150.000	10	23.000	4,18	0,82	-
93-01-06	690.000	30	1.400	4,36	2,69	-
93-02-03	890.000	10	1.400	4,95	2,80	+
93-03-03	850.000	< 10	2.000	> 4,93	2,63	-
93-03-31	1.700.000	< 10	3.000	> 5,23	2,75	-
93-04-28	520.000	< 10	1.800	> 4,72	2,46	-
93-05-26	530.000	< 10	450	> 4,72	3,07	-
93-06-24	110.000	< 10	450	> 4,04	2,39	-
93-07-21	1.100.000	< 10	950	> 5,04	3,06	-
93-08-18	520.000	< 10	6.300	> 4,72	1,92	-
93-09-15	73.000	30	120	3,38	2,78	-
93-10-13	360.000	< 10	2.000	> 4,56	2,26	-
93-11-10	560.000	< 10	210	> 4,75	3,43	-
93-12-08	> 200.000	< 10	1.500	> 4,30	> 1,88	-
94-01-19	330.000	< 10	140	> 4,52	3,37	-

94-02-16	370.000	< 10	830	> 4,57	2,65	-
94-03-16	450.000	< 10	1.500	> 4,65	2,47	-
94-05-18	360.000	< 10	< 10	> 4,56	> 4,56	-
94-06-15	110.000	< 10	10	> 4,04	4,04	-
94-08-17	870.000	< 10	80	> 4,94	4,04	-
94-10-19	1.100.000	10	320	5,04	3,53	-

D. 3. februar 1993 er der dog fundet Salmonella-bakterier i lagertankene. Da det ikke er sandsynligt bakterierne stammer fra reaktortankene, og da lagertankene er overdækkede, er den mest sandsynlige forklaring den, at lagertanken er kontamineret ved påfyldningen fra lagertanken til tankvognen. På dette tidspunkt anvendtes ikke desinfektion af de indre flader i tankvognene. Skaden kan være sket ved et evt. fejlagtigt returløb i påfyldningsproceduren.

Resultaterne fra dette forsøg:
Af bilagene 1, 2 og 3 ses, at der omkring ovennævnte tidspunkt (d. 3. februar 1993), fandtes Salmonella spp. i de decentrale lagertanke 8 K Høgstrupvej (d. 20. januar 1993) og 6 C Obbekærvej (d. 3. februar 1993), hvilket sandsynliggør en smittespredning fra lagertankene via de udesinficerede tankvogne til de omtalte decentrale lagertanke.
Kontaminationen af lagertankene synes dog ikke at have været manifest, da der i selvsamme periode ikke fandtes påvist Salmonella spp. i den decentrale tank 5 A Nyhedevej på datoerne 20. januar 1993 og 17. februar 1993 (se bilagene 2 og 3).

Af bilagene 1, 2 og 3 samt af tidligere udførte beregninger ses endvidere følgende:
FS-indholdet i de decentrale tanke er meget svingende, med indhold på 5 FS pr. g og 140.000 FS pr. g som ydergrænser.
Gennemsnitligt er der 2.100 FS pr. g i tankene.
For den decentrale tank 5 A gælder specielt:
FS-indholdet svinger fra 55 FS pr. g til 61.000 FS pr. g.
Gennemsnitligt er der 1.100 FS pr. g.
Indholdet af FS i de decentrale tanke er således gennemsnitligt fra 2 (tank 5 A) til 4 (de andre tanke) gange så højt som i lagertankene. Da gennemsnitsopholdstiden i de decentrale tanke er stor (der må f. eks. ikke leveres biomasse fra tankene og ud på marken i hele perioden oktober - februar) i forhold til lagertankenes (ca. 5 dage), og da FS-indholdet reduceres med tiden i tankene (mest ved høje temperaturer), må der tilføres biomasse til de decentrale tanke med et relativt højt indhold

af FS. Forsøget viser da også, at inputtet i lagertankene har et betydeligt lavere FS-indhold (ca. < 10 pr. g fra reaktortankene) end inputtet i de decentrale tanke (ca. 540 pr. g fra lagertankene).
Før man startede på desinfektionsproceduren, er der påvist Salmonella-bakterier d. 14. oktober 1992 i 2 C , d. 11. november 1992 i 5 A, de 2 før omtalte tilfælde d. 20. januar 1993 og 3. februar 1993 i henholdsvis 8 K og 6 C, d. 17. marts 1993 i 8 F, d. 17. marts 1993 i 3 C, samt d. 24. juni 1993 i 6 D. I 8 F var der tale om en Salmonella infantis, der var meget almindeligt isoleret fra slagterier samt fra humane sygdomstilfælde på omtalte tidspunkt.
Efter starten på desinfektionsproceduren er der påvist Salmonella-bakterier i følgende tilfælde:

1. D. 4. august 1993 i 8 G, d. 18. august 1993 i 6 B, d. 1. september 1993 i 5 A samt d. 15. september 1993 i 2 B.
Alle disse forhold kan relateres til de tidligere omtalte indkøringsproblemer i opstartfasen af rengøringsproceduren.

2. D. 13. oktober 1993 i 8 G, d. 10. november i 6 C, d. 24. november i X, d. 5. januar 1994 i 8 C, d. 19. januar 1994 i 5 C, d. 2. februar 1994 i 8 F og 5 A, d. 3. marts 1994 i 3 D samt d. 6. april 1994 i 1 B. Alle disse forhold vil kunne relateres til, at der fra efteråret 1993 indtil januar 1994 ikke blev udført en desinfektionsprocedure på grund af tidligere omtalte géner med luftudsugningen.
Årsagen til, at der er påvist Salmonella-bakterier helt hen i april måned, altså 3 måneder efter at desinfektionsproceduren er genopstartet, kan skyldes at Salmonella-bakterier kan overleve i lang tid i gylle, især om vinteren.

3. D. 17. august 1994 i 5 A, d. 5. oktober 1994 i 3 D og i 8 K samt d. 7. december i 5 C. Alle disse forhold kan relateres til, at der siden august 1994 og til d. 2. december 1994 ikke har været udført desinfektion af tankvognene på grund af opslidte desinfektionspumper.

Det skal som tidligere nævnt pointeres, at ingen af de decentrale tanke er overdækkede. Tankene er forsynet med et flydelag af Leca. Dette er en usikkerhedsfaktor i selve forsøget, idet patogener, heriblandt Salmonella spp. vil kunne tilføres tankene udenom det gængse transportsystem, f. eks. via fugle der defækerer i tankene.

KONKLUSION:

1.
Der er stor variation i FS-indholdet i de decentrale tanke. FS-indholdet er generelt højere i de decentrale tanke end i lagertankene (ca. 2 - 4 gange så højt). Der påvises jævnligt patogener i tankene (i form af Salmonella spp.).

2.
Der synes at være en sammenhæng imellem foretaget desinfektion af tankvognene og forekomst af patogener (her Salmonella spp.) i de decentrale tanke, således at en desinfektion af tankvognene hindrer tilførsel af patogener til de decentrale tanke. Omvendt vil en mangelfuld desinfektion af tankvognene bevirke, at der tilføres patogener fra den rå biomasse til de decentrale tanke.

3.
Påvisning af Salmonella spp. i lagertankene afspejler sig i lignende fund i de decentrale tanke.

BILAG 1
Fækale streptokokker (FS) samt Salmonellabakterier i biomassen i decentrale tanke fra Ribe Biogasfællesanlæg i perioden 1992-09-30 - 1994-11-30.

Dato	Navn på tank	log FS/g	FS/g	Salmonella påvist i tank
92-09-30	3 B Sønder-skiftevej	5,15	140.000	-
92-10-14	2 C Plougs-vadvej	2,93	860	+(S. typhimurium)
92-10-28	8 C Bredkær-vej	3,70	5.000	-
92-11-11	5 C Fårevej	3,64	4.400	-
92-11-25	I 8 Råhedevej	3,23	1.700	-
92-12-09	2 B Jernved-vej 200	2,59	390	-
93-01-06	1 B Mosevej	3,18	1.500	-
93-01-20	8 K Høgstrup-vej	3,56	3.600	+(S. worthington)
93-02-03	6 C Obbekær-vej	3,82	6.600	+
93-02-17	1 A Fennevej	3,38	2.400	-
93-03-03	1 C Villebøl-vej	3,18	1.500	-
93-03-17	8 F Mandøvej	2,92	830	+(S. infantis)
93-03-31	3 C Sønder-engevej	3,62	4.200	+
93-04-15	2 A Jernved-vej	3,38	2.400	-
93-04-28	8 B Hader-slevvej	3,18	1.500	-
93-05-12	8 B Hader-slevvej	4,60	40.000	-
93-06-09	3 D Darumvej	4,65	45.000	-
93-06-24	6 D Gl. Mose-vej	2,51	320	+ (S. typhimurium)
93-07-07	8 G Tørvevej	3,80	6.300	-

93-07-21	8 E Vester-marksvej	4,40	25.000	-
93-08-04	8 G Tørvevej	3,72	5.200	+(S. typhimurium)
93-08-18	6 B Staun-agervej	4,60	40.000	+
93-09-01	8 D Hessel-lundvej	3,53	3.400	-
93-09-15	2 B Jernved-vej 200	2,48	300	+(S. putten)
93-09-29	6 B Staun-agervej	3,41	2.600	-
93-10-13	8 G Tørvevej	4,64	44.000	+(S. infantis)
93-10-27	6 D Gl. Mose-vej	3,49	3.100	-
93-11-10	6 C Obbekær-vej	3,04	1.100	+(S. typhimurium)
93-11-24	X	4,20	16.000	+(S. 4.12:b:-)
93-12-08	2 C Plougs-vadvej	3,52	3.300	-
94-01-05	8 C Bredkær-vej	3,52	3.300	+ (S. infantis)
94-01-19	5 C Fårevej	3,32	2.100	+ (S. infantis)
94-02-02	8 F Mandøvej	3,72	5.300	+ (S. sp.)
94-02-16	1 B Mosevej	3,94	8.700	-
94-03-03	3 D Darumvej	2,94	880	+ (S. infantis)
94-03-16	8 G Tørvevej	3,04	1.100	-
94-04-06	1 B Mosevej	3,53	3.400	+
94-05-18	8 G Tørvevej	3,58	3.800	-
94-06-08	1 A Fennevej	3,59	3.900	-
94-06-15	3 C Sønder-engevej	3,18	1.500	-
94-07-06	2 B Jernved-vej 200	3,26	1.800	-

94-07-06	8 C Bredkær-vej	< 1,00	5	-
94-08-03	2 A Jernved-vej	2,45	280	-
94-08-03	8 G Tørvevej	1,95	90	-
94-08-31	2 B Jernved-vej 200	1,93	86	-
94-08-31	8 C Bredkær-vej	2,04	110	-
94-10-05	3 D Darumvej	2,30	200	+
94-10-05	8 K Høgstrup-vej	1,85	70	+
94-11-02	1 A Fennevej	2,64	440	-
94-11-02	1 B Mosevej	2,96	920	-
94-12-07	1 C Villebøl-vej	3,97	9.400	-
94-12-07	5 C Fårevej	3,51	3.200	+ (S. typhimurium)

BILAG 2
Fækale streptokokker (FS) samt Salmonellabakterier i biomassen fra den decentrale tank på 5A Nyhedevej stammende fra Ribe Biogasfællesanlæg i perioden 1992-10-14 - 1994-10-18.

Dato	Navn på tank	log FS/g	FS/g	Salmonella påvist i tank
92-10-14	5 A Nyhedevej	3,52	3.300	-
92-11-11	5 A Nyhedevej	3,41	2.600	+(S. worthington)
92-12-09	5 A Nyhedevej	1,88	75	-
93-01-20	5 A Nyhedevej	3,76	5.700	-
93-02-17	5 A Nyhedevej	2,79	610	-
93-03-17	5 A Nyhedevej	2,63	430	-
93-04-15	5 A Nyhedevej	3,49	3.100	-
93-05-12	5 A Nyhedevej	2,93	850	-
93-05-26	5 A Nyhedevej	2,49	310	-
93-06-09	5 A Nyhedevej	< 1,00	< 10	-
93-07-07	5 A Nyhedevej	3,54	3.500	-
93-08-04	5 A Nyhedevej	2,51	320	-
93-09-01	5 A Nyhedevej	4,79	61.000	+ (S. 4.12:b:-)
93-09-29	5 A Nyhedevej	3,45	2.800	-
93-10-27	5 A Nyhedevej	2,20	160	-
93-11-24	5 A Nyhedevej	2,45	280	-
94-01-05	5 A Nyhedevej	3,08	1.200	-
94-02-02	5 A Nyhedevej	3,26	1.800	+ (S. typhimurium)
94-03-03	5 A Nyhedevej	4,54	35.000	-
94-04-06	5 A Nyhedevej	3,04	1.100	+
94-06-08	5 A Nyhedevej	1,74	55	-
94-08-17	5 A Nyhedevej	2,72	520	+
94-10-19	5 A Nyhedevej	4,76	57.000	-

Resultater fra den decentrale tank 5 A Nyhedevej
+ = prøver hvori der er påvist Salmonella spp.

BILAG 3