

Avdödning av mikroorganismer vid långtidslagring av avvattnat slam

*Agneta Leander
Erik Helmersson
Josefine Elving
Ann Albihn*



Svenskt Vatten Utveckling

Svenskt Vatten Utveckling (SVU) är kommunernas eget FoU-program om kommunal VA-teknik. Programmet finansieras i sin helhet av kommunerna. Programmet lägger tonvikten på tillämpad forskning och utveckling inom det kommunala VA-området. Projekt bedrivs inom hela det VA-tekniska fältet under huvudrubrikerna:

Dricksvatten
Ledningsnät
Avloppsvatten
Management

SVU styrs av en kommitté, som utses av styrelsen för Svenskt Vatten AB. För närvarande har kommittén följande sammansättning:

Agneta Granberg, ordförande	Göteborgs Stad
Daniel Hellström, sekreterare	Svenskt Vatten
Henrik Aspegren	VA SYD
Per Ericsson	Norrvatten
Stefan Johansson	Skellefteå kommun
Henrik Kant	Göteborg Vatten
Lena Ludvigsson-Olafsen	Smedjebackens kommun
Lisa Osterman	Örebro kommun
Kenneth M. Persson	Sydvatten AB
Lars-Gunnar Reinius	Stockholm Vatten AB
Bo Rutberg	Sveriges Kommuner och Landsting
Lena Söderberg	Svenskt Vatten

Författarna är ensamma ansvariga för rapportens innehåll, varför detta ej kan återopas såsom representerande Svenskt Vattens ståndpunkt.

Svenskt Vatten Utveckling
Svenskt Vatten AB
Box 47607
117 94 Stockholm
Tfn 08-506 002 00
Fax 08-506 002 10
svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se

Svenskt Vatten AB är servicebolag till föreningen Svenskt Vatten.

Rapportens titel:	Avdödning av indikatororganismer vid långtidslagring av avvattnat slam
Title of the report:	Inactivation of indicator organism at long-term storage of dewatered sludge
Rapportnummer:	2012-17
Författare:	Agneta Leander, VA SYD, Erik Helmersson, Josefine Elving, Ann Albihn, Statens Veterinärmedicinska Anstalt.
Projektnummer:	10-114
Projektets namn:	Avdödning av mikroorganismer vid långtidslagring av avvattnat slam i sex månader
Projektets finansiering:	Svenskt Vatten Utveckling, olika avloppsreningsverk
Rapportens omfattning	
Sidantal:	21
Format:	A4
Sökord:	Avloppsslam, rötning, reduktion, mikroorganismer, lagring
Keywords:	Sludge, digestion, sanitation, storage
Sammandrag:	Analys av de mikroorganismer som ingått i studien visar på stora variationer mellan reningsverk, årstider samt mikroorganismer. Generellt kan en något högre reduktion av de studerade mikroorganismerna ses efter 6 månaders lagring jämfört med 3 månader.
Abstract:	Analysis of microorganisms included in the present study show upon differences in terms of concentration and reduction between treatment plants, seasons, and microorganisms. In general, a slightly larger reduction of the studied microorganisms could be seen after 6 months storage compared to 3 months.
Målgrupper:	Myndigheter, VA-verk, Jordbruks- och livsmedelssektorn
Omslagsbild:	Långtidslagring av slam vid Klagshamns avloppsreningsverk. Foto: Agneta Leander VA SYD
Rapport:	Finns att hämta hem som PDF-fil från Svenskt Vattens hemsida www.svensktvatten.se
Utgivningsår:	2012
Utgivare:	Svenskt Vatten AB © Svenskt Vatten AB

Förord

I Naturvårdsverkets tidigare förslag till förordning redovisades krav på behandlingsmetoder för hygienisering samt krav på högsta halt av organismerna *Salmonella*, *E.coli* samt enterokocker efter utförd behandling. Bland metoderna fanns långtidslagring i 1 år av orötat slam men utan tillförsel av nytt slam. Denna metod kräver enorma lagervolymer och kan inte anses vara en rimlig metod på svenska avloppsreningsverk i de mellanstora och större städerna. Istället skulle de flesta avloppsreningsverk vara hänvisade till andra metoder som kommer att kräva stora investeringar som innebär årliga kostnader vilka grovt bedömts till 20–40 miljoner kronor om året per avloppsreningsverk.

I certifieringssystemet REVAQ är mesofil rötning med efterföljande lagring i minst 6 månader en godkänd hygieniseringmetod. Efter lagring skall *Salmonella* inte kunna påvisas i slammet. Visserligen kräver denna metod relativt stora lagervolymer men på många ställen finns det möjlighet att klara detta utan nyinvesteringar.

I denna studie studerades förekomst och avdödningen av flera mikroorganismer däribland *Salmonella*, *E.coli*, enterokocker, kolifager, clostridier och giardia.

Agneta Leander

Innehåll

Förord.....	3
Sammanfattning.....	6
Summary.....	7
1 Inledning	8
1.1 Syfte	8
1.2 Bakgrund	8
1.3 Förslag till slamförordning.....	8
1.4 Förutsättningar för projektet	9
2 Material och metoder	10
2.1 Reningsverk och provtagning.....	10
2.2 Analysmetoder	10
3 Resultat	12
3.1 Effekt av mesofil rötning	12
3.2 Effekt av långtidslagring på överlevnad av mikroorganismer	13
3.3 Jämförelse av studiens resultat med Naturvårdsverkets förslag på gränsvärden	18
4 Slutsatser	20
5 Referenser.....	21

Sammanfattning

Lagring av slam har visats resultera i en reduktion av mikroorganismer över tid (Dumontet, Dinel et al. 1999), men behandlingen är en passiv process vilket gör det svårt att förutsäga hur stor reduktion av mikroorganismer som sker. Tidigare studier har även visat att det kan förekomma tillväxt av bakterier vid lagring av obehandlat så väl som rötat slam (Berggren, Albiñ et al. 2005).

Projektet syftar till att studera avdödning av mikroorganismer i mesofilt rötat slam, med efterföljande lagring. Projektet utgick från Naturvårdsverkets förslag till ny slamförordning. Enligt förslaget delades hygieniseringsmetoder för slam in i metoder som resulterar i ett så kallat klass A eller klass B slam. Under pågående projekt mottogs beskedet om att regeringen inte skulle gå vidare med förslaget. Trots det fullföljdes projektet utifrån fastställd projektbeskrivning. Resultaten har därför jämförts med de mikrobiologiska kraven på behandlingsmetoder för klass A och B slam i enlighet med Naturvårdsverkets uppdatering av "Aktionsplan för återföring av fosfor ur avlopp" från 2010. Studien har även innefattat analyser av ytterligare mikroorganismer bl.a. Giardiascystor, Kolifager samt Clostridiesporer.

Resultaten visar på varierande reduktion av mikroorganismer. Jämförelse inom och mellan reningsverk och årstider gav inga entydiga resultat. Inte heller kunde några tydliga effekter av årstid för lagring urskiljas. Generellt uppnås en något högre reduktion av de studerade mikroorganismerna efter 6 månaders lagring jämfört med 3 månaders lagring. Dock är provunderlaget i den befintliga studien för litet för att med säkerhet kunna säga om 6 månaders lagring ger en avsevärt förbättrad reduktion än 3 månaders lagring.

Summary

It has previously been shown that the number of microorganisms present in digested sludge will generally decrease in long-term storage (Dumontet, Dinel et al. 1999). However storage is a passive process of sanitization, making it difficult to predict the inactivation. Furthermore, previous studies have shown that periods of bacterial regrowth might occur during storage of untreated as well as digested sludge (Berggren, Albihn et al. 2005).

The aim of the present study was to investigate the inactivation of microorganisms in sludge digested at mesophilic temperature, followed by six months of storage. The present study was based on the draft for the new sludge regulation provided by the Swedish Environmental Protection Agency. In the draft sanitization methods were divided into methods resulting in Class A and Class B sludge. During the running of the project news was received that the Swedish government would not proceed with the draft. In spite of that, the project was completed by approved project plan. The results have been compared with the microbiological requirements for treatment as specified for Class A and B sludge in “Aktionsplan för återföring av fosfor ur avlopp”, presented by the Swedish Environmental Protection agency in 2010. Additionally analysis of e.g. *Giardia* cysts, Coliphages and *Clostridium* spores has been performed

The results show that reduction of microorganisms was not stable and variations could be seen when comparing results from within the treatment plant and between the different treatment plants. Based on the results from this study no clear-cut effect on the microbial content of stored sludge could be seen between seasons. In general a slightly higher reduction could be seen after 6 months of storage when compared to 3 months of storage. To determine if there is a significant difference in the reduction occurring during storage for 6 months compared with 3 months, a larger sample amount is required.

1 Inledning

1.1 Syfte

Syftet med detta projekt var att studera avdödning av organismerna *Salmonella*, *E.coli* och enterokocker i mesofilt rötat slam under lagring. Studien har även innefattat analyser av ytterligare mikroorganismer, däribland *Giardiascystor*, *Kolifager* samt *Clostridiesporer*.

1.2 Bakgrund

Det är av stor vikt att fästa avseende vid det faktum att användning av organiska avfall innebär en risk för spridning av infektionssjukdomar. Den fraktion som innehåller störst mängd sjukdomsframkallande mikroorganismer är fekalier. Sjukdomsframkallande mikroorganismer kan, vid kontakt, spridas till människor och djur och även vidare till miljön.

Förekomsten av sjukdomsframkallande mikroorganismer i slam beror delvis på förekomsten av mikroorganismer i inkommande avloppsvatten. Detta beror i sin tur på infektionsfrekvensen hos anslutna personer, hur reningsverket är uppbyggt och på årstid. Då många mikroorganismer är partikelbundna kommer koncentrationen att öka i slammet.

Det går att minska smittrisen genom biologisk, kemisk eller termisk behandling. Hygienisering innebär en behandling som kraftigt reducerar innehållet av patogener. Slutprodukten ska därefter inte utgöra en smittrisk för människor eller djur.

1.3 Förslag till slamförordning

2008 fick Naturvårdsverket i uppdrag av regeringen att revidera rapporten "Aktionsplan för återföring av fosfor ur avlopp" i syftet att öka återanvändningen av fosfor. Förslaget presenterades 2010 och skulle träda i kraft 1 januari 2012. I förslaget fanns skärpningar vad gäller metaller samt nya regler avseende hygienisk kvalitet och hygieniseringsmetoder för slam.

I förslaget föreslogs två behandlingsklasser, klass A och klass B. Klass A omfattade slutna kontrollerade processer vilket skulle medge fler användningsmöjligheter. Processerna baserades på behandlingsmetoder över 50 °C. Klass B omfattade öppna definierade processer som normalt används vid lägre temperaturer under 50 °C men under avsevärt längre tid.

Miljödepartementet har efter det meddelat att regeringen inte går vidare med Naturvårdsverkets förslag till ny slamförordning. Miljödepartementet meddelade också att de hade för avsikt att återkomma till Naturvårdsverket med ett nytt regeringsuppdrag. Naturvårdsverket mottog detta regeringsuppdrag i början på februari 2012.

1.4 Förutsättningar för projektet

Denna studie utgick från det tidigare förslaget till ny slamförordning där man vad gällde hygienisering talade om klass A och klass B.

Under pågående projekt mottogs beskedet om att regeringen inte skulle gå vidare med förslaget. Det är därmed osäkert hur regler för hygienisering av slam kommer att se ut i framtiden men det är ändå av högsta vikt att titta på de parametrar och de förutsättningar som gjorts i denna rapport. Därför fullföljdes projektet utifrån fastställd projektbeskrivning utan förändringar.

2 Material och metoder

2.1 Reningsverk och provtagning

Information om de fyra reningsverk som deltagit i studien, var de är lokaliserad samt rötningsparametrar återfinns i Tabell 1.

Vid provtagning togs sammanlagt fyra olika prover; prov på slampartier lagrade 3 samt 6 månader, prov på obehandlat slam samt prov på slam direkt efter rötning. För information om slampartier och provtagningsdatum se Tabell 1.

Tabell 1 Närmaste tätort samt rötningsparametrar, temperatur och hydrisk retentionstid (HRT), för reningsverk som deltagit i studien. Vidare listas tidpunkt (månad, år) då de senare provtagna slamlagren har lagts upp (6 respektive 3 månader) samt datum då prover tagits och skickats till SVA för analys.

Tidpunkt för uppläggning av slampartier (månad, år)		Prover skickade för analys
6 månader	3 månader	
Sjölunda , Malmö, dimensionerat för 550 000 pe Rötningsparametrar: 37 °C, ~21 dygn HRT		
Januari 2010	April 2010	16:e Augusti 2010
April 2010	Juli 2010	9:e November 2010
Juli 2010	Oktober 2010	14:e Februari 2011
Oktober 2010	Januari 2010	9:e Maj 2011
Huskvarna avloppsreningsverk , dimensionerat för 43 000 pe Rötningsparametrar: 35 °C, 18 dygn HRT		
Juli 2010	Oktober 2010	8:e Februari 2011
Oktober 2010	Januari 2010	16:e Maj 2011
Januari 2010	April 2011	29:e Augusti 2011
April 2010	Juli 2011	21:a November 2011
Sundet , Växjö, dimensionerat för 95 000 pe Rötningsparametrar: 37 °C, ~23 dygn HRT		
Juli 2010	Oktober 2010	15:e Februari 2011
Oktober 2010	Januari 2010	10:e Maj 2011
Januari 2010	April 2011	23:e Augusti 2011
April 2010	Juli 2011	7:e November 2011
Himmerfjärdsverket , Grödinge, dimensionerat för 350 000 pe Rötningsparametrar: 37 °C, 14-21 dygn HRT		
Juli 2010	Oktober 2010	31:a januari 2011
Oktober 2010	Januari 2010	17:e Maj 2011
Januari 2010	April 2011	15:e Augusti 2011
	Juli 2011	14:e November 2011 ¹

¹ Prover för 3 månaders lagring provtogs 9:e januari 2012, tidpunkt för uppläggning av detta slamlager saknas.

2.2 Analysmetoder

Mikrobiologiska analyser har utförts enligt gällande Nordiska metodkommittén för livsmedels (NMKL) metoder för Enterokocker, NMKL 68:4:2004, Koliforma bakterier 37 °C, NMKL 44:6:2004, Termotoleranta koliformer samt presumtiva *Escherichia coli* (*E.coli*), NMKL 125:4:200, och *Salmonella*, NMKL 71:5:1999.

Sporer av *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) detekterades genom att prover satta på TSC (Tryptos Sulfit Cycloserin)-agarplattor med D-cycloserin inkuberas anaerobt i 24 h, 37 °C. Sedan renodlas 5 kolonier till lecitinaspaltor och hästblodagarplattor och inkuberas anaerobt i 37 °C i 24 h. Som *C. perfringens* kolonier räknades de som var lecitinaspitiva och uppvisade hemolys på hästblodagar.

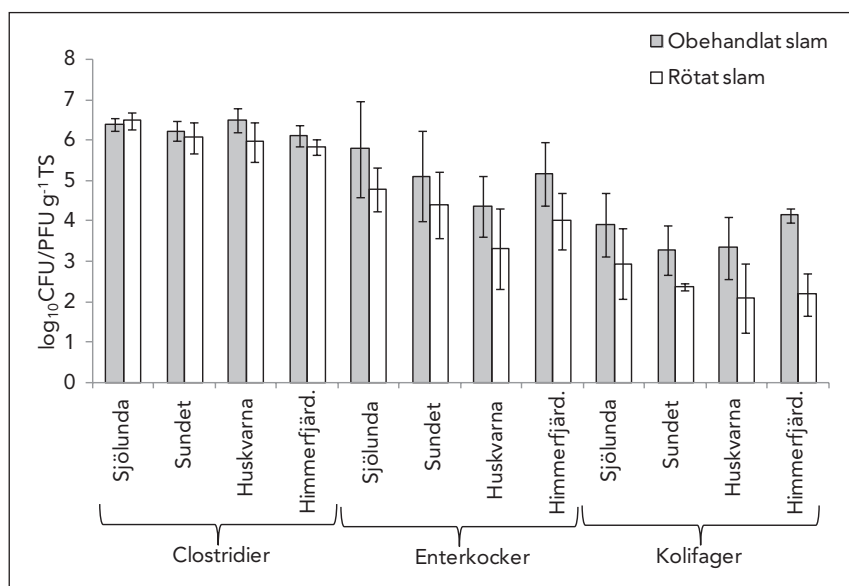
Detektion av somatiska kolifager (virus som infekterar bakterier) utfördes med dubbelagarmetoden (Adams 1959). I korthet gjordes en 10x spädning av slamprov i fosfatbuffer och extraherades sedan i 30 min. Proverna centrifugerades därefter i 10 min, 3 000 rpm vid 5 °C varpå proverna steriltfiltrerades (0,45 µm) för att avlägsna kvarvarande partiklar och bakterier som annars kan störa analysen. Därefter analyserades lämpliga spädningar med plackanalys på värdstammen *E.coli* (ATCC 13706).

Detektion av Giardiacystor samt oocyster av *Cryptosporidium* utfördes med hjälp av Aqua-Glo Giardia/Cryptosporidium Direkt (A100FLR-20X) kit där monoklonala antikroppar binds till provet, som sedan visualiseras i fluorescensmikroskop.

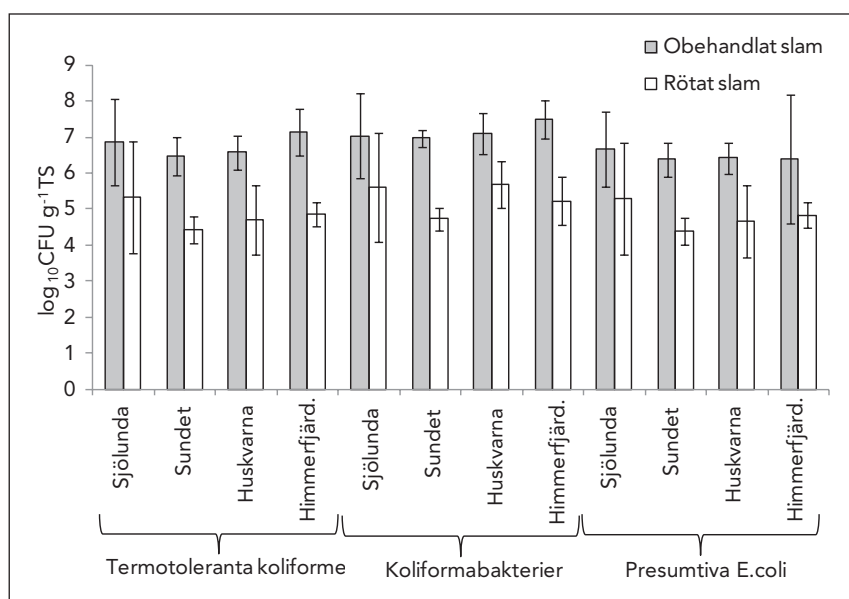
3 Resultat

3.1 Effekt av mesofil rötning

Resultat för samtliga organismer, förutom *Salmonella* och *Giardia*, före och efter mesofil rötning presenteras i Figur 1 och Figur 2. Värden presenteras som medelvärden av samtliga provtagningsstillfällen med standardavvikelser. Värden ges i enheten koloniformande enheter (CFU) och plackformande enheter (PFU) för bakterier respektive fager.



Figur 1 Koncentrationer av *C. perfringens*, Enterokocker och somatiska kolifager före och efter mesofil rötning av slam, anges som medelvärden ($n = 8$) $\pm$ standardavvikelse



Figur 2 Koncentrationer av termotoleranta koliformer, koliforma bakterier och presumptiva *E. coli* före och efter mesofil rötning av slam, anges som medelvärden ($n = 8$) $\pm$ standardavvikelse

Analys av mikroorganismer före och efter mesofil rötning visar på en låg eller obefintlig reduktion för samtliga av de analyserade organismerna. Detta överensstämmer väl med tidigare studier på den hygieniserande effekten av mesofil rötning, där reduktionen av mikroorganismer också varit låg (Lang and Smith 2008; Bagge 2009; Vo Thi, Clemens et al. 2009). Somatiska kolifager kunde återfinnas i slam från alla reningsverk någon gång under året. Dock var nivåerna av kolifager låga och vid flera tillfällen under detektionsgränsen redan före mesofil rötning.

Tabell 2 Andel positiva provtagningstillfällen för *Salmonella* och *Giardiacystor* vid provtagning av obehandlat och rötat slam. Ett provtagningstillfälle anses om positivt om minst ett prov i duplikatet är positivt.

Organism	Sjölunda	Sundet	Huskvarna	Himmerfjärdsverket	Summering
Salmonella					
Obehandlat slam	3/4	4/4	4/4	4/4	15/16
Rötat slam	3/4	2/4	1/4	4/4	10/16
Giardiacystor					
Obehandlat slam	1/4	2/3*	0/4	3/4	6/15
Rötat slam	1/4	2/4	1/4	0/4	4/16
Cryptosporidium oocyster					
Obehandlat slam	0/4	0/3 ¹	0/4	0/4	0/16
Rötat slam	0/4	0/4	0/4	0/4	0/16

¹ Prover på obehandlat slam saknas från ett provtagningstillfälle

Salmonella påträffades vid minst ett provtagningstillfälle efter mesofil rötning i samtliga reningsverk. Vid provtagning på Himmerfjärdsverket påträffades *Salmonella* i samtliga provtagningar även efter mesofil rötning (Tabell 2). *Giardia* påträffades vid minst ett provtagningstillfälle vid alla reningsverk utom vid Himmerfjärdsverket (Tabell 2). *Cryptosporidium* kunde inte detekteras i något prov vare sig före eller efter rötning.

3.2 Effekt av långtidslagring på överlevnad av mikroorganismer

Inga tydliga variationer i koncentration av mikroorganismer kunde observeras under lagring beroende på årstid varför analys av olika väderleksförhållanden inte inkluderats i studien. Det finns inte heller någon tydlig korrelation mellan olika mikroorganismer och de olika lagringsperioderna.

Det bör nämnas att lagring inte alltid skett exakt 3 respektive 6 månader. I flera fall har variationer av lagringstider förekommit, ibland med flera veckor. Nedan antas 3 och 6 månaders provtagningarna motsvara 3 respektive 6 månader lagring och hänsyn har inte tagits till eventuell variationer i lagringstider. Dock bör läsaren ha i åtanke att sådana variationer förekommer.

3.2.1 Salmonella

Efter lagring av slam kan en minskning i antalet prover positiva för *Salmonella* ses jämfört med i obehandlat och rötat slam (Tabell 2 och 3). I prover

tagna vid Sundets reningsverk kunde ingen *Salmonella* påvisas i något av de prover som tagits efter lagring. Även prover insamlade från Huskvarna efter 6 månaders lagring var fria från *Salmonella* (Tabell 3). Vid jämförelse av lagringstiderna 3 och 6 månader tyder resultaten på att en lagringstid på 6 månader ger en något bättre reduktion av *Salmonella*.

Tabell 3 Förekomst av *Salmonella* i slam lagrat 3 respektive 6 månader för Sjölanda, Sundets, Huskvarnas och Himmerfjärdens reningsverk samt summerat för alla reningsverk. Ett provtagningstillfälle klassas som positivt om minst ett prov i duplikatet är positivt.

Salmonella	Sjölanda	Sundet	Huskvarna	Himmerfjärdensverket	Summering
3 månaders lagring	3/4	0/4	1/4	2/4	6/16
6 månaders lagring	2/4	0/4	0/4	1/4	3/16

3.2.2 Enterokocker

Långtidslagring med avseende på reduktion av enterokocker är en osäker behandlingsmetod, med stora variationer över året vilket kan utläsas från Tabell 4. Dock finns ingen tydlig korrelation mellan reduktion av enterokocker och årstid för genomförd lagring.

Resultaten från provtagning vid Sundets reningsverk är ett tydligt exempel på problematiken med lagring. I detta fall skulle samtliga prover klarat Naturvårdsverkets krav för slam med avseende på enterokocker ($<1\ 000\ \text{CFU/g TS} = <3\ \log_{10}$) efter 3 månaders lagring, men endast en av provtagningensomgångarna efter 6 månader klarar kravet.

Tabell 4 Medelvärden $\pm$ standardavvikelse för enterokocker efter 3 respektive 6 månaders lagring ($n = 2$). Provtagningar där minst 1 av värdena är under detektionsgränsen är markerade i fet stil.

Reningsverk och lagringstid	Mängd detekterade enterokocker (log ₁₀ CFU g ⁻¹ TS)			
Sjölunda				
3 månader	nov-feb 4,39 ± 0,04	feb-maj 4,05 ± 0,10	maj-aug 3,62 ± 0,14	aug-nov 4,05 ± 0,03
6 månader	nov-feb 3,71 ± 0,00	feb-maj 3,46 ± 0,39	maj-aug 2,63 ± 0,01	aug-nov 4,00 ± 0,30
Sundet				
3 månader	nov-feb 2,66 ± 0,01	feb-maj 2,44 ± 0,00	maj-aug 2,56 ± 0,02	aug-nov 2,56 ± 0,00
6 månader	nov-feb 3,68 ± 0,05	feb-maj 2,54 ± 0,01	maj-aug 3,57 ± 1,43	aug-nov 3,02 ± 0,51
Huskvarna				
3 månader	nov-feb 4,30 ± 0,12	feb-maj 3,67 ± 0,21	maj-aug 2,66 ± 0,01	aug-nov 2,64 ± 0,00
6 månader	nov-feb 4,20 ± 0,19	feb-maj 2,66 ± 0,01	maj-aug 2,62 ± 0,00	aug-nov 4,14 ± 0,26
Himmerfjärdsverket				
3 månader	nov-feb 2,95 ± 0,00	feb-maj 3,88 ± 0,38	maj-aug 3,94 ± 0,10	aug-nov 4,14 ± 0,16
6 månader	nov-feb 2,60 ± 0,01	feb-maj 4,20 ± 0,14	maj-aug 2,84 ± 0,22	aug-nov 4,25 ± 0,12

3.2.3 E. coli

Det är svårt att utläsa några större skillnader i reduktion mellan 3 månaders lagring och 6 månaders lagring för presumtiva E.coli (Tabell 5). I likhet med resultaten för enterokocker går det inte att utläsa några tydliga kopplingar mellan reduktion och årstid.

Tabell 5 Medelvärden $\pm$ standardavvikelse för presumtiva E.coli efter 3 respektive 6 månaders lagring (n=2). Provtagningar där minst 1 av värdena är under detektionsgränsen är markerade i fet stil.

Reningsverk och lagringstid	Mängd detekterade presumtiva <i>E.coli</i> (log ₁₀ CFU g ⁻¹ TS)			
Sjölunda				
3 månader	nov-feb 3,50 ± 0,21	feb-maj 3,88 ± 0,07	maj-aug 3,34 ± 2,41	aug-nov 1,69 ± 0,03
6 månader	nov-maj 1,83 ± 0,56	feb-aug 4,02 ± 0,76	maj-nov 1,63 ± 0,01	aug-feb 1,66 ± 0,02
Sundet				
3 månader	nov-feb 2,28 ± 0,88	feb-maj 1,44 ± 0,00	maj-aug 2,41 ± 1,23	aug-nov 2,95 ± 0,16
6 månader	nov-maj 1,54 ± 0,06	feb-aug 1,54 ± 0,01	maj-nov 3,57 ± 2,47	aug-feb 1,67 ± 0,01
Huskvarna				
3 månader	nov-feb 3,60 ± 0,32	feb-maj 2,51 ± 0,45	maj-aug 1,66 ± 0,01	aug-nov 2,01 ± 0,52
6 månader	nov-maj 1,61 ± 0,01	feb-aug 1,66 ± 0,01	maj-nov 2,05 ± 0,61	aug-feb 1,75 ± 0,01
Himmerfjärdsverket				
3 månader	nov-feb 2,56 ± 0,18	feb-maj 2,79 ± 0,57	maj-aug 4,55 ± 0,19	okt-jan 1,64 ± 0,00
6 månader	nov-maj 2,10 ± 0,70	feb-aug 3,65 ± 2,87	maj-nov 1,69 ± 0,01	aug-feb 2,71 ± 1,52

3.2.4 Koliforma bakterier och termotoleranta koliformer

Koliforma bakterier påvisades i höga halter efter 6 månaders lagring från samtliga reningsverk, från prov taget i augusti (Tabell 6). Det här gäller även vid 3 månaders lagring, med undantag av Huskvarna. De andra provtagningsomgångarna stämmer bra överens med resultatet från presumtiva E.coli. Även termotoleranta koliformer ger samma bild som presumtiva E.coli (Tabell 6). Sammantaget så är det svårt att utläsa någon tydlig effekt av lagring på koliformer samt termotoleranta koliformer.

Tabell 6 Medelvärden $\pm$ standardavvikelse för koliforma bakterier samt termotoleranta koliformer efter 3 respektive 6 månaders lagring (n=2). Provtagningar där minst 1 av värdena är under detektionsgränsen är markerade i fet stil.

Reningsverk och lagringstid	Mängd detekterade koliforma bakterier (log ₁₀ CFU g ⁻¹ TS)			
KOLIFORMA BAKTERIER				
Sjölunda				
3 månader	nov-feb 4,00 ± 0,49	feb-maj 4,05 ± 0,16	maj-aug 6,36 ± 0,93	aug-nov 1,69 ± 0,03
6 månader	nov-maj 2,05 ± 0,88	feb-aug 5,86 ± 1,54	maj-nov 1,63 ± 0,01	aug-feb 1,66 ± 0,02
Sundet				
3 månader	nov-feb 2,32 ± 0,82	feb-maj 1,44 ± 0,00	maj-aug 5,41 ± 0,17	aug-nov 2,19 ± 0,89
6 månader	nov-maj 1,52 ± 0,03	feb-aug 5,04 ± 1,77	maj-nov 3,51 ± 2,75	aug-feb 1,67 ± 0,01
Huskvarna				
3 månader	nov-feb 4,05 ± 0,14	feb-maj 2,31 ± 0,99	maj-aug 1,66 ± 0,01	aug-nov 2,44 ± 1,13
6 månader	nov-maj 2,33 ± 1,03	feb-aug 4,65 ± 0,02	maj-nov 3,39 ± 0,88	aug-feb 1,75 ± 0,01
Himmerfjärdsverket				
3 månader	nov-feb 3,95 ± 3,25	feb-maj 3,51 ± 0,55	maj-aug 5,35 ± 0,48	okt-jan 1,64 ± 0,00
6 månader	nov-maj 1,60 ± 0,01	feb-aug 5,97 ± 0,21	maj-nov 1,69 ± 0,01	aug-feb 3,10 ± 2,07
TERMOTOLERANTA KOLIFORMER				
Sjölunda				
3 månader	nov-feb 3,50 ± 0,21	feb-maj 3,88 ± 0,07	maj-aug 5,78 ± 0,49	aug-nov 1,69 ± 0,03
6 månader	nov-maj 1,88 ± 0,63	feb-aug 4,07 ± 0,69	maj-nov 1,63 ± 0,01	aug-feb 1,66 ± 0,02
Sundet				
3 månader	nov-feb 2,32 ± 0,82	feb-maj 1,44 ± 0,00	maj-aug 2,41 ± 1,23	aug-nov 2,95 ± 0,16
6 månader	nov-maj 1,89 ± 0,55	feb-aug 1,54 ± 0,01	maj-nov 3,57 ± 2,47	aug-feb 1,67 ± 0,01
Huskvarna				
3 månader	nov-feb 3,60 ± 0,32	feb-maj 2,51 ± 0,45	maj-aug 1,66 ± 0,01	aug-nov 2,01 ± 0,52
6 månader	nov-maj 1,76 ± 0,23	feb-aug 1,66 ± 0,01	maj-nov 2,05 ± 0,61	aug-feb 1,75 ± 0,01
Himmerfjärdsverket				
3 månader	nov-feb 2,56 ± 0,18	feb-maj 3,19 ± 0,56	maj-aug 4,80 ± 0,01	aug-nov 1,64 ± 0,00
6 månader	nov-maj 2,22 ± 0,86	feb-aug 6,04 ± 0,21	maj-nov 1,69 ± 0,01	okt-jan 4,12 ± 0,47

3.2.5 Clostridium perfringens

Nivåerna av *C. perfringens* håller sig mer eller mindre konstanta över den 6 månader långa lagringen (Tabell 7).

Tabell 7 Medelvärden $\pm$ standardavvikelse för *C. perfringens* efter 3 respektive 6 månaders lagring (n=2).

Reningsverk och lagringstid	Mängd detekterade <i>C. perfringens</i> (log ₁₀ CFU g ⁻¹ TS)			
Sjölunda				
3 månader	nov-feb 6,52 ± 0,36	feb-maj 6,39 ± 0,07	maj-aug 6,26 ± 0,16	aug-nov 6,19 ± 0,34
6 månader	nov-maj 6,14 ± 0,21	feb-aug 6,27 ± 0,13	maj-nov 6,47 ± 0,21	aug-feb 6,47 ± 0,09
Sundet				
3 månader	nov-feb 5,26 ± 0,55	feb-maj 5,97 ± 0,03	maj-aug 5,21 ± 0,35	aug-nov 5,43 ± 0,09
6 månader	nov-maj 6,27 ± 0,04	feb-aug 5,72 ± 0,09	maj-nov 6,33 ± 0,54	aug-feb 6,63 ± 0,03
Huskvarna				
3 månader	nov-feb 6,08 ± 0,17	feb-maj 6,09 ± 0,10	maj-aug 5,88 ± 0,16	aug-nov 6,02 ± 0,03
6 månader	nov-maj 5,44 ± 0,96	feb-aug 5,76 ± 0,02	maj-nov 6,11 ± 0,02	aug-feb 6,36 ± 0,03
Himmerfjärdsverket				
3 månader	nov-feb 6,52 ± 0,24	feb-maj 6,07 ± 0,17	maj-aug 5,55 ± 0,64	aug-nov 6,54 ± 0,00
6 månader	nov-maj 6,45 ± 0,02	feb-aug 5,86 ± 0,22	maj-nov 7,19 ± 0,87	okt-jan 6,29 ± 0,07

3.2.6 Somatiska kolifager

Förekomsten av somatiska kolifager är låg redan vid provtagning av obehandlat material och är i de flesta fall under detektionsgränsen vid såväl 3 som 6 månaders lagring (Tabell 8). Detta bidrar till att det är svårt att uttala

Tabell 8 Medelvärden $\pm$ standardavvikelse för somatiska kolifager efter 3 respektive 6 månaders lagring (n=2). Provtagningar där minst 1 av värdena är under detektionsgränsen är markerade i fet stil.

Reningsverk och lagringstid	Mängd detekterade somatiska kolifager (log ₁₀ CFU g ⁻¹ TS)			
Sjölunda				
3 månader	nov-feb 1,68 ± 0,01	feb-maj 1,60 ± 0,04	maj-aug 1,60 ± 0,05	aug-nov 1,69 ± 0,03
6 månader	nov-maj 1,55 ± 0,17	feb-aug 1,64 ± 0,02	maj-nov 1,63 ± 0,01	aug-feb 1,66 ± 0,02
Sundet				
3 månader	nov-feb 1,66 ± 0,01	feb-maj 1,44 ± 0,00	maj-aug 1,56 ± 0,02	aug-nov 1,56 ± 0,00
6 månader	nov-maj 1,52 ± 0,03	feb-aug 1,54 ± 0,01	maj-nov 1,55 ± 0,01	aug-feb 1,67 ± 0,01
Huskvarna				
3 månader	nov-feb 1,86 ± 0,22	feb-maj 1,58 ± 0,05	maj-aug 1,66 ± 0,01	aug-nov 1,64 ± 0,00
6 månader	nov-maj 1,61 ± 0,01	feb-aug 1,66 ± 0,01	maj-nov 1,62 ± 0,00	aug-feb 1,75 ± 0,01
Himmerfjärdsverket				
3 månader	nov-feb 1,65 ± 0,00	feb-maj 2,25 ± 0,00	maj-aug 1,66 ± 0,01	aug-nov 1,64 ± 0,00
6 månader	nov-maj 1,60 ± 0,01	feb-aug 1,63 ± 0,01	maj-nov 1,69 ± 0,01	okt-jan 2,09 ± 0,64

sig om vilken hygieniserande effekt lagringen har jämfört med prover tagna direkt efter rötning. Lagringen ger en mycket liten reduktion av somatiska kolifager.

3.2.7 Giardiacystor och Cryptosporidium oocyster

Giardia påvisades på alla reningsverk, efter 3 och 6 månaders lagring (Tabell 9). Resultaten tyder inte på att lagring ger någon märkbar reduktion av Giardia cystor. En summering av samtliga reningsverk resulterar i totalt 8 av 16 prov positiva för giardia efter såväl 3 som 6 månaders lagring, dock är antalet positiva prover vid de enskilda reningsverken inte konstant. Värt att kommentera är att jämfört med prover tagna direkt efter rötning där 4 av 16 prover var positiva för giardiacystor är antalet positiva prover fler efter lagring. Cryptosporidium kunde inte påvisas varken i prover från orötat eller rötat slam och inte heller från något prov efter 3 eller 6 månaders lagring.

Tabell 9 Förekomst av Giardiacystor och Cryptosporidium oocyster i slam lagrat 3 respektive 6 månader för Sjölunda, Sundets, Huskvarnas och Himmerfjärdens reningsverk samt summerat över reningsverk. Ett provtagningstillfälle klassas som positivt om minst ett prov i duplikatet är positivt.

Giardiacystor	Sjölunda	Sundet	Huskvarna	Himmerfjärdensverket	Summering
3 månaders lagring	4/4	0/4	2/4	2/4	8/16
6 månaders lagring	3/4	1/4	3/4	1/4	8/16

3.3 Jämförelse av studiens resultat med Naturvårdsverkets förslag på gränsvärden

En jämförelse av resultaten från denna studie med de hygieniseringskrav som finns i bilaga Y i Naturvårdsverkets förslag till slamförordning ger inget entydigt svar på huruvida lagring kan uppfylla dessa krav (Tabell 10). En sammanställning av samtliga reningsverk visar att 6 månaders lagring i 10/16 fall uppfyller reduktionskraven för klass B slam jämfört med 3 månaders lagring där 8/16 fall uppfyller kraven för klass B slam.

Tabell 10 Jämförelse av reduktionen av mikroorganismer efter 3 respektive 6 månaders lagring av slam med hygieniseringskrav för klass A och B slam enligt Naturvårdsverkets tidigare förslag till slamförordning.

Reningsverk och lagring	Period	Enterokocker	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>	Uppfyller kraven ¹	
					Klass A	Klass B
Sjölunda						
3 månader	nov-feb	4,0 ± 0,1	3,9 ± 0,1	+	N	N
	feb-maj	3,6 ± 0,1	3,3 ± 0,1	+	N	N
	maj-aug	4,1 ± 0,0	1,7 ± 0,0	-	N	J
	aug-nov	4,4 ± 0,0	3,5 ± 0,0	+	N	N
6 månader	nov-maj	3,7 ± 0,0	1,8 ± 0,6	+	N	N
	feb-aug	3,5 ± 0,4	4,0 ± 0,8	-	N	N
	maj-nov	2,6 ± 0,0	1,6 ± 0,0	+	N	N
	aug-feb	4,0 ± 0,3	1,7 ± 0,0	-	N	J
Sundet						
3 månader	nov-feb	2,7 ± 0,0	2,3 ± 0,9	-	J	J
	feb-maj	2,4 ± 0,0	1,4 ± 0,0	-	J	J
	maj-aug	2,6 ± 0,0	2,4 ± 1,2	-	J	J
	aug-nov	2,6 ± 0,0	3,0 ± 0,2	-	N/J ³	N/J ³
6 månader	nov-maj	3,7 ± 0,1	1,5 ± 0,1	-	J	J
	feb-aug	2,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	-	N	J
	maj-nov	3,6 ± 1,4	3,6 ± 2,5	-	N	N
	aug-feb	3,0 ± 0,5	1,7 ± 0,0	-	J	J
Huskvarna						
3 månader	nov-feb	4,3 ± 0,1	3,6 ± 0,3	+	N	N
	feb-maj	3,7 ± 0,2	2,5 ± 0,4	-	N	J
	maj-aug	2,7 ± 0,0	1,7 ± 0,0	-	J	J
	aug-nov	2,6 ± 0,0	2,0 ± 0,5	-	J	J
6 månader	nov-maj	4,2 ± 0,2	1,6 ± 0,0	-	N	J
	feb-aug	2,7 ± 0,0	1,7 ± 0,0	-	J	J
	maj-nov	2,6 ± 0,0	2,1 ± 0,6	-	J	J
	aug-feb	4,1 ± 0,3	1,7 ± 0,0	-	N	J
Himmersfjärden						
3 månader	nov-feb	2,9 ± 0,0	2,6 ± 0,2	-	J	J
	feb-maj	3,9 ± 0,4	2,8 ± 0,6	+	N	N
	maj-aug	3,9 ± 0,1	4,6 ± 0,2	-	N	N
	okt-jan ²	4,1 ± 0,2	1,6 ± 0,0	+	N	N
6 månader	nov-maj	2,6 ± 0,0	2,1 ± 0,7	-	J	J
	feb-aug	4,2 ± 0,1	3,7 ± 2,9	-	N	N
	maj-nov	2,8 ± 0,2	1,7 ± 0,0	-	J	J
	aug-feb	4,3 ± 0,1	2,7 ± 1,5	+	N	N

¹ Ja/Nej (J/N) uppfyller det av Naturvårdsverkets uppställda lagkrav, för behandlingsklass B krävs att ingen Salmonella kan detekteras i 25g material samt att antalet e.coli är <1000 cfu/g. För klass A krävs även att enterokocker ska vara <1000 cfu/g TS efter den hygieniserande behandlingen

² Inlagrat prov 3 mån i sista provomgången saknades i november och ett 3 mån inlagrat prov från sep. skickades i januari

³ Ett av värdena överstiger gränsvärdet (3 log10), men medelvärdet (n=2) är under kravet för klass A och B.

4 Slutsatser

Reduktion efter lagring av de mikroorganismer som analyserats i denna studie var inte stabil utan variation sågs vid jämförelse mellan olika reningsverk, provtagningsstillfällen samt mikroorganismer. Jämförelse av reduktion efter lagring under olika årstider visade inte på någon entydig trend. Generellt uppnås en något högre reduktion av de studerade mikroorganismerna efter 6 jämfört med 3 månaders lagring. Dock är antalet prover i den befintliga studien för litet för att med säkerhet kunna säga om 6 månaders lagring ger en tydligt förbättrad reduktion än 3 månaders lagring. Resultaten tyder även på att det kan finnas svårigheter i att generellt acceptera 3 eller 6 månaders lagring som en hygieniseringsmetod för slam baserat på de krav på hygienisk kvalitet som ställts upp i Naturvårdsverkets förslag till slamförordning.

En representativ provtagning av stora volymer material kan vara svår att utföra och hur prov uttas kan bidra till stora variationer i analysresultat. Det kan vara svårt att göra en bedömning och generalisering av reduktionen av mikroorganismer vid lagring baserat på ett fåtal prover. Det är också känt att reduktionen av mikroorganismer varierar på olika djup i slamlagret varför prover bör tas på olika djup för att möjliggöra bedömning av den reducerande effekten på mikroorganismer.

Mot bakgrund av aktuell studie bör följande aspekter tas med vid fortsatt arbete med bedömning av lagring av slam för reduktion av mikroorganismer:

- Provtagningsplan ska motsvara den lagringstid som ska undersökas, variationer på plus/minus flera veckor förhindrar en god bedömning av effekten av 3 respektive 6 månaders lagring.
- Av intresse är fortfarande effekten av anläggning av slamlager vid olika årstider under året och effekten av detta på reduktionen av mikroorganismer. Fortsatta studier av detta kräver en intensivare provtagning och ett större antal prover än i den befintliga studien.
- En enhetlig provtagningsrutin för stora slamlager bör fastställas. Detta för att möjliggöra en säkrare validering av lagringens reduktion av mikroorganismer.

5 Referenser

- Adams, M. H. (1959). *Bacteriophages*, Interscience Publishers, New York 1.
- Bagge, E. (2009). Hygiene Aspects of the Biogas process with Emphasis on Spore-Forming Bacteria. *Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Department of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health*. Uppsala, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU): 88.
- Berggren, I., A. Albihn, et al. (2005). Långtidslagring av avloppsslam - effekt på hygienisk kvalitet. *VA-forsk rapport 2005-04*. Stockholm.
- Dumontet, S., H. Dinel, et al. (1999). "Pathogen reduction in sewage sludge by composting and other biological treatments: A review." *Biological Agriculture & Horticulture* 16(4): 409–430.
- Lang, N. L. and S. R. Smith (2008). "Time and temperature inactivation kinetics of enteric bacteria relevant to sewage sludge treatment processes for agricultural use." *Water Research* 42 (8–9): 2229–2241.
- Naturvårdsverket (2010). Redovisning av regeringsuppdrag 21. Uppdatering av "Aktionsplan för återföring av fosfor ur avlopp".
- Vo Thi, Y.-p., J. Clemens, et al. (2009). "Hygienic effects and gas production of plastic bio-digesters under tropical conditions." *Journal of Water and Health* 7(4): 590–596.



Box 47607, 117 94 Stockholm
Tfn 08 506 002 00
Fax 08 506 002 10
svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se