

Nationellt Samverkansprojekt Biogas i Fordon



Mikrobiell analys av biogas

610412

ISSN 1651-5501

Projektet finansieras av Energimyndigheten

Förord

Denna studie är finansierad av Statens Energimyndighet och har genomförts som ett samarbetsprojekt på Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU), Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) och Smittskyddsinstitutet (SMI). Provtagningar och de laborativa undersökningarna har i huvudsak utförts av SLU och SVA. Vissa analyser och riskvärderingen har genomförts på SMI.

En referensgrupp som gav gott stöd i arbetet med detta projekt har deltagit under hela projektiden. Referensgruppen bestod av Anders Gunnarsson, SVA, Håkan Schyl, Fortum, Ola Palm, JTI, Jörgen Ejertsson, Tekniska Verken i Linköping samt Owe Jönsson, Svenskt Gastekniskt Center. Dessutom deltog Håkan Jönsson, SLU, Ann Albihn, SVA och Ingela Berggren, SVA i diskussionerna kring utformandet och utvärderingen av projektet.

Björn Vinnerås, SLU, SVA (Projekledare)

Caroline Schönning, SMI

Sammanfattning

Införandet av biogasanläggningar och användningen av biogas som ett miljöanpassat bränsle har lett till planer på att sammanfoga biogasanläggningarna med den redan existerande infrastrukturen för naturgas. Kopplingen av biogassystem till existerande naturgasnät har föranlett en diskussion kring de mikrobiologiska riskerna som biogasen skulle kunna medföra. Genom att gasen kommer från snabb nedbrytning av biologiskt material som kan härstamma från hushållsavfall, avloppsslam och animaliska biprodukter kategori 2 och 3, finns det en oro för att hanteringen av biogas skall öka risken för spridning av patogener jämfört med risken från existerande gasnät.

Syftet med studien var att identifiera förekomsten av mikroorganismer i olika delar av hanteringssystemet för biogas, samt att värdera risken för spridning av smitta från gasen.

I studien undersöktes den mikrobiella sammansättningen på biofilmen som fanns i gasledningssystemen och sammansättningen av de mikroorganismer som återfanns i gasen. Biofilmen undersöktes genom provtagningar av kondensvattnet från ledningssystemet. Gasen provtogs genom att ledas direkt ned på växtodlingsmedier för mikroorganismer. I kondensvattnet återfanns ca 10^5 cfu/ml i en stor blandning av olika bakterier och svampar. I biogasen återfanns 10-100 cfu/m³ gas. Som jämförelse undersöktes även naturgas. Mängden mikroorganismer i naturgasen motsvarade koncentrationen som fanns i biogasen. Halterna av mikroorganismer i normal omgivningsluft är generellt sett högre.

Generellt sett var sammansättningen av mikroorganismer och halterna inte mycket annorlunda i naturgasen än vad som påvisades i den uppgraderade biogasen. Analyserar man de olika systemen är det dock en väsentlig skillnad i vad som skulle kunna tillföras via biogas. Föreliggande studie och riskbedömning har dock inte visat att det finns anledning att undvika biogas på naturgasnätet. Sannolikheten för tillväxt i gasledningarna är låg eftersom de håller marktemperatur.

Oavsett vilken typ av gasledningssystem som används kan man förvänta sig att det byggs upp en biofilm i systemet. Detta visas av den stora förekomsten av mikroorganismer i kondensvatten som samlats in från olika delar av biogashanteringens ledningssystem.

Undersökningar av gassystem för naturgas har visat på ett vitt spektra av olika organismer, bland annat påvisades flera olika typer av organismer motsvarande 10-100 cfu/m³ naturgas.

Sammanfattningsvis kan riskerna för sjukdomsfall orsakade av producerad (renad och torkad) biogas bedömas vara låg. Risken relaterad till hela systemet är till stor del beroende av hantering av de olika strömmarna (kondensvatten mm) och procedurer för drift och underhåll. Troligen utgör eventuell exponering för teknisk personal den största risken. Denna grupp kan dock identifieras och på ett enkelt sätt informeras om möjliga risker och hur dessa kan begränsas. Riskscenariot kan aldrig uteslutas, men bör inte utgöra ett hinder för implementering av biogasanläggningar eftersom gasen bär med sig så låg koncentration mikroorganismer att risken för smitta i det närmaste är obefintlig. Om övriga risker med användning av gas som sådan skulle bedömas är sannolikheten för infektion troligen lägre än gasförgiftning, explosionsrisk och liknande. De låga halter bakterier som uppmätts motsvarar att en så pass stor mängd gas måste intas att förgiftningsrisken överskuggar infektionsrisken.

Biogas producerad i de två undersökta anläggningarna anses tillräckligt hygieniskt säker för att kunna användas även i kökspisar. Denna slutsats bygger dels på en erfarenhetsmässig bedömning av biogassystem och på de resultat som erhållits i denna studie.

Ordlista

Infektionsdos	Antal mikroorganismer som krävs för att infektera en individ.
CFU	Colony Formin Unit, dvs antalet mikroorganismer som bildar enskilda kolonier på ett odlingsmedium.
Sporer	Vilostadie för bakterier. Sporena är mycket mer stabila gentemot omgivningsfaktorer jämfört med vegetativa bakterier. Sporena som bildas är vanligen mindre än den vegetativa bakterien.
Gram +/-	Beroende på bakteriers hölje kan de skiljas åt i grupperna grampositiva och gramnegativa organismer.
Fag	Virus som endast ingekterar bakterier. Kan användas som modell för humana virus.
PFU	Plac Forming Unit, dvs antalet fager som bildar enskilda klara zoner i en bakteriematta på ett odlingsmedium.
PCR	Polymeras Chain Reaction, DNA baserad metod för att identifiera förekomst av viss DNA sammansättning som kan kopplas till specifika mikroorganismer.
Opportunt patogen	En mikroorganism som kan infektera när andra yttre förutsättningar hjälper infektionen tex personer med nedsatt immunförsvar.

Innehåll

BAKGRUND	7
Syfte och mål	7
LITTERATURSTUDIE	7
Uppbyggnaden av biogassystemet.....	8
Metoder för uppgradering av biogas	9
Skrubber.....	9
Membrankoncentrering.....	9
Fysikaliska förutsättningar under behandlingen	10
Kemisk behandling och torkning	10
CO ₂ avlägsning	10
Torkning genom adsorption.....	10
PSA (Pressure Swing Adsorption).....	11
Anläggningar som ingått i studien	11
MATERIAL OCH METOD	13
Provtagning av kondensvatten	13
Provtagning av gas	14
IDENTIFIERADE BAKTERIER FRÅN MÄTNINGAR AV MIKROBIELL AKTIVITET I BIOGASSYSTEM	15
FÖREKOMST AV MIKROORGANISMER I KONDENSVATTNET	15
Förekomst av mikroorganismer i kondensvattnet från rågasen.....	16
Kondensvatten från rågasen efter rötning av opastöriserat avloppsslam	16
Kondensvatten för systemet med rågas från rötning av pastöriserat bioavfall (70°C, 1h).....	16
Kondensvatten från biogassystem utan uppgradering av producerad gas, anläggning 3	18
Skrubbervatten	18
Kondensvattnet från den uppgraderade gasen.....	19
Förekomst av mikroorganismer i gas	21
Naturgas	21
Biogas	22
Skillnaden mellan mikroorganismer i biogas och i naturgas	24
BESKRIVNING AV DE MIKROORGANISMER SOM ÅTERISOLERATS FRÅN DE OLIKA BIOGASSYSTEMEN	24
Bakterier	25
Bacillus species.....	25
Clostridium species.....	25
Aeromonas hydrophila caviae.....	26
Alcaligenes xylosoxidans	26
Cellulomonas sp.....	26
Corynebacterium species	26
Citrobacter freundii.....	26
Echerichia coli	26
Enterobacter spp	26
Enterobacter aerogenes.....	27
Enterococcus faecalis.....	27
Leucobacter.....	27
Micrococcus spp	27
Pseudomonas spp.....	27
Pandora pnomensa.....	27
Ralstonia pickettii	27
Staphylococcus sp. (koagulasnegativ)	28
Streptococcus sp. (alfa hemolyserande).....	28
Övriga mikroorganismer	28
Fungi/Svamp.....	28
Virus	28

Övrigt kring mikroorganismer från undersökta biogassystem.....	28
Legionella	28
Kultiverbara mikroorganismer.....	29
PRELIMINÄR RISKVÄRDERING	29
Riskvärdering	29
PATOGENFÖREKOMST	29
EXPONERINGSVÄGAR.....	31
Andra möjliga risker i samband med systemet	33
SAMMANFATTANDE DISKUSSION RISKVÄRDERING	34
DISKUSSION	36
SLUTSATSER.....	37
REFERENSER.....	38

Bakgrund

Regeringens mål med ett uthålligt samhälle innebär bland annat att 35% av hushållens organiska avfall samt allt organiskt avfall från industri samt restaurang- och livsmedelsbutiksavfall ska återvinnas (Vinnerås, 2004). Tillgängliga behandlingsmetoder är kompostering och anaerob rötnings. Nedbrytning i närvaro av syre omvandlar kolkällan till koldioxid och värme. I frånvaro av syre under rötningsprocessen produceras avsevärt mindre värmeenergi, i stället binds energin in som metan.

Totalt i Sverige i dag finns det 14 större anläggningar som främst rötar industriavfall (inklusive slakteriavfall) och hushållsavfall (Tynell, 2005). Dessutom finns det på flertalet av de större avloppsreningsverken en rötningsanläggning för rötnings av det producerade avloppsslammet. Utöver detta finns det ett antal mindre anläggningar för behandling av gödsel mm.

Ett av de främsta användningsområdena för den producerade biogasen är som fordonsbränsle. Dagens biogasproduktion är dock inte tillräcklig för att försörja existerande gasfordon. Därför är de flesta existerande system en kombination av biogas och naturgas. På andra ställen används den befintliga infrastrukturen för naturgas. Här leds biogasen ut på befintligt naturgasnät. Denna gas används sedan bland annat inom industrin, som stadsgas och i vissa fall som fordonsgas.

Genom att diskussioner förts kring att sammankoppla anläggningar som producerar biogas med existerande naturgasnät har en diskussion kring de mikrobiologiska riskerna som en sådan sammankoppling skulle medföra. Genom att gasen kommer från snabb nedbrytning av biologiskt material som kan härstamma från hushållsavfall, avloppsslam och animaliska biprodukter kategori 2 och 3, finns det en oro för att hanteringen av biogas skall öka risken för spridning av patogener från biogassystemet.

Syfte och mål

Syftet med studien är att identifiera förekomsten av mikroorganismer i olika delar av hanteringssystemet för biogas, samt att utifrån denna studie genomföra en värdering av risken för spridning av smitta från gasen.

Målet med studien är att identifiera luckor med avseende på kunskapen omkring risken för smittspridning i systemet för hantering av biogas. Dessutom är målet att presentera förslag på åtgärder i existerande system för att undvika risker för spridning av smitta.

Litteraturstudie

Sammansättningen på den producerade gasen är huvudsakligen metan (55-70 vol%) och koldioxid (25-45 vol%) (Tynell, 2005). Övriga spårgaser som medföljer är främst vatten, H_2S och NH_3 . Dessa tre gaser är korrosiva vilket gör att dessa gaser avlägsnas i största möjliga mån tidigt i behandlingen. Vid planerad eller oplanerad tillsats av luft till systemet ökar även andelen N_2 i gasen. Kvävgasen har endast negativ påverkan i själva förbränningskedet eftersom den inerta kvävgasen späder metanen och sänker gasens energivärde. Samtidigt är kvävgas svår att avlägsna från övriga gaser.

Genom att vatten, svavelväte och ammoniak har en korrosiv effekt på systemet är den generella hanteringen att förekomsten av dessa gaser hålls låg. Avlägsnandet av dessa ämnen, främst vatten, har en koppling till förekomst av mikroorganismer i gasen. Störst risk för

förekomst av organismer är det i samband med att mindre vattenpartiklar (aerosoler) transporteras i ledningssystemet. Sedan finns det risk för att enskilda organismer transporteras i gasen även efter att den torkats. Om det förekommer biofilm i ledningssystemet ökar chansen att finna både grupperingar och enskilda organismer som lossnat från rörets väggar och transporterats med gasen avsevärt.

I gasledningssystem på industrier har man undersökt sammansättningen och mängden mikroorganismer som man återfunnit i gasen (Zhu mfl., 2003). Anledningen till studierna av Zhu mfl (2003) var att man ville se om det var möjligt att härleda korrosion i ledningssystemet till mikrobiella restprodukter. Denna koppling gjordes då till att mikroorganismerna i ledningssystemet för naturgas utnyttjar spårämnen som finns i systemet för sin tillväxa och sin överlevnad. Genom att det passerar så stora mängder gas genom ledningssystemet räcker mycket små koncentrationer av ämnen som kan utnyttjas av mikroorganismernas metabolism så att de kan föröka sig. I system som endast innehåller raka kolväten (metan, etan, etc.) finns det mycket liten biologisk aktivitet eftersom det krävs något ämne som kan reduceras för att oxidera dessa maximalt reducerade ämnen. Större system för gashantering innehåller spårämnen som möjliggör biologisk aktivitet. När dessa spårämnen bryts ned av mikroorganismer i ledningssystemet bildas i vissa fall ämnen med lågt pH som ökar korrosionen av ledningssystemet.

Zhu mfl. (2003) genomförde mätningar i ledningssystem för industrigas genom att placera bitar av rörmaterial i ledningssystemet som sedan analyserades för förekomst av mikroorganismer. De använde sig av PCR teknik för att undersöka vilka olika typer av mikroorganismer som tillväxt på det där placerade ledningsmaterialet. I undersökningen fann man ett 70-tal olika organismer som hade tillväxt på dessa extra ledningar. I den undersökningen hittade man dock flertalet oväntade mikroorganismer såsom *Escherichia coli* och även toxinproducerande *E. coli*, så kallad EHEC (Zhu mfl, 2003). Dessa fynd förklarades med att man troligen kontaminerat provet på laboratoriet, vilket gör det mycket svårt att uppskatta vilka organismer som egentligen kom från ledningssystemet och vilka organismer som kontaminerat undersökningen på laboratoriet. Generellt från den studien går det dock att säga att även i ledningssystem för naturgas kan man förvänta sig tillväxt av mikroorganismer. En trolig källa till den biofilm som bildas i ledningssystemet för naturgas är mikroorganismer som introducerats till systemet under konstruktionen av ledningarna. Dessa mikroorganismer kan antingen komma från jord och från luft som kommit in i ledningarna under byggnationen, eller också kan de komma från arbetarna som jobbat med installationen av systemet.

Uppbyggnaden av biogassystemet

Gasen som kommer ut från biogasreaktorn innehåller främst metan och koldioxid men ett stort antal andra gaser i mindre mängd, främst handlar det om ammoniak och svavelväte. Dessutom är den utgående gasen från reaktorn mättad med vatten. Det första steget i gasbehandlingen är att man avvattnar den utkommande gasen, genom att den till viss del kyls ned.

Genom att den råa gasen innehåller mellan 30% och 50% koldioxid är gasens energivärde relativt lågt. I vissa fall används denna gas direkt, främst handlar det då om att gasen förbränns och omvandlas till värme och el. I något fall leds denna råa gas ut på ledningsnät för stadsgas.

För att höja energivärdet på gasen används olika metoder för att avlägsna den inerta koldioxiden. De vanligaste metoderna som används i Sverige kommer att presenteras senare i rapporten. Efter uppgraderingen torkas gasen för att undvika kristallisering av vattenmolekyler av kylan som uppstår när komprimerad gas expanderar. Gasen komprimeras därefter till önskat tryck. Om gasen leds ut på ett mindre distributionsnät håller nätet vanligen

ett tryck på runt 4 bar. Större nät håller ett högre tryck, vanligen håller större distributionsnät ett tryck på ca 16 bar. Den gas som används till fordonsbränsle komprimeras ytterligare för att det skall vara möjligt att under en rimlig tidsperiod tanka fordonstankar. Vanligen håller gasen i en tankstation ett övertryck på 200 bar.

Metoder för uppgradering av biogas

Skrubber

Uppgradering av biogas sker vanligen i absorptionstorn med ett arbetstryck mellan 6 och 25 bar. Gasen renas motströms med vatten (normalt 5-10 m höga kolonner). Främst finns det två olika principer för användningen av skrubbevattnet, antingen används ett kontinuerligt tillflöde av vatten till skrubbern eller så används ett cirkulerande system där skrubbevattnet regenereras. Eftersträvansvärt är att vattnet som tillförs skrubbern håller en så låg temperatur som möjligt för att därigenom maximera upptaget av koldioxid. Vanligen håller skrubbevattnet en temperatur under 15°C. Behandlingen kan genomföras eftersom lösligheten för koldioxid (3,37 g CO₂/liter H₂O) är avsevärt högre i vatten jämfört med lösligheten för metan (0,039 g CH₄/liter H₂O). För att maximera kontaktytan mellan gasen som skall behandlas används ett fyllnadsmaterial i skrubbertornen, materialet som används är vanligen pallringar i plast.

I system där man använder ett kontinuerligt tillflöde av skrubbevatten används vanligen utgående behandlat avloppsvatten för att spara på (vatten)resurser. I det behandlade avloppsvattnet finns det en stor mängd mikroorganismer och däribland en stor mängd potentiella patogener, både bakterier som *Salmonella* sp (Sahlström mfl., 2004) och virus som t ex rotavirus (Ottosson, 2005) kan förekomma. Detta beror på att avloppsreningen inte är optimerad med avseende på avlägsnandet av mikroorganismer utan på syrenedbrytande kolföreningar samt på fosfor och kväve. Den kontinuerliga tillförseln av mikroorganismer, kol och spårämnen leder till att bakterier och svampar koloniserar på bärarmaterialet som finns i anläggningen. Detta har tidigare visats vara ett stort problem i anläggningar som använder avloppsvatten som tvättmedia i skrubbern (Tynell, 2005).

I system där vattnet återanvänds regenereras vattnet genom desorption. Detta åstadkoms antingen genom trycksänkning eller genom kombinerad trycksänkning och avdrivning med hjälp av luft. När koldioxiden drivs av med luft leder detta till att vattnet syresätts. Denna tillförsel av syre leder till att det i skrubbern kan ske en aerob tillväxt, vilket är den troliga orsaken till den kraftiga tillväxt av mikroorganismer som finns på flertalet system med denna typ av uppgradering (Tynell, 2005).

Membrankoncentrering

Membrankoncentrering som reningsmetod har inte undersökts närmare i denna studie eftersom den inte är speciellt utbredd i de större verken i Sverige. Stern mfl. (1998) ger en sammanställning av en behandlingsmetod för att separera metan och koldioxid genom membranfiltrering. Filtren är tillverkade av glatta polymerer (cellulosa acetat, polyamid). Dessa filter släpper främst igenom CO₂ och H₂S till permeatet medan CH₄ koncentreras i retentatet. Behandlingen leder till en gaskoncentration av 80-97 mol% CH₄.

Denna metod är baserad på att den uppgraderade metanen återfinns i retentatet. Detta kombinerat med att man använder sig av filter med mycket liten porstorlek så är det att förvänta att de mikroorganismer som följer med inkommande gas kommer att följa med den utgående uppgraderade gasen. Det som kan leda till en minskning av mängden

mikroorganismer är om de fysikaliska förutsättningarna med avseende på tryck och temperatur medför att antalet viabla mikroorganismer minskar i detta system. Utifrån de processparametrar som ges av Stern mfl. (1998) verkar de inte vara sådana att de i speciellt stor omfattning ökar inaktiveringen av medföljande mikroorganismer. System med denna typ av uppgradering kan ge viss reduktion av mikroorganismer men det troliga är att den utgående gasen innehåller en liknande mikrobiell flora som den inkommande gasen.

Fysikaliska förutsättningar under behandlingen

Kondensering av gasen genomförs för att undvika utfällningar av vattenkristaller på filtret, beroende på Joule-Tomson kyleffekten, vid tryckfallet när gasen passerar membranet. Rekommendationen som Stern mfl. (1998) ger är att kondensering vid 4,4°C räcker för att minska risken för nedsättning i filtereffektivitet. Trycket som gasen sedan behandlas under är 48-52 bar. Vid detta höga tryck kan det ske en reduktion av mikroorganismer.

Sekundärt redovisad studie (Kapi mfl., 2004) anger att den optimala membranseparationen sker vid 25°C och med ett tryck av 5,5 bar. Vid detta förhållandevis låga tryck påverkas troligen inte antalet mikroorganismer alls av behandlingen.

Kemisk behandling och torkning

CO₂ avlägsning

Selexol är en dimetyleterbaserad (CH₄-O-CH₄) kemikalieblandning som absorberar koldioxid, svavelföreningar och ammonium. Dessutom torkar Selexolen gasen med avseende på vatten. Regenereringen sker genom kombinerad trycksänkning och temperaturhöjning, i vissa fall används även luftning för att avlägsna absorberade ämnen (Wågdal, 1999).

I system med luftning finns det stor chans att mikroorganismer koloniserar eftersom det då finns tillgång på både organiskt material i form av metan och av oxidationsmedel i form av syre. Dimetyleter är i sig inte något optimalt medie för mikrobiologisk tillväxt men det är troligt att mikroorganismer kan passera denna behandling och återfinnas i den uppgraderade gasen.

Torkning genom adsorption

Sker främst genom adsorption i kolonner där gas leds genom aluminiumbaserade zeoliter aluminiumoxid, magnesiumoxid eller kiselgel. Dessa material regenereras, främst genom uppvärmning. Denna behandling ger mycket låga daggpunkter. Adsorption sker främst på fasta medier i kolonner. Behandlingen sker normalt mellan 5 och 10 bar. Vid regenereringen av gasen sänks trycket till 50-100 mbar. Hög vattenhalt stör vanligen behandlingen, därför förtorkas vanligen gasen innan behandling.

Torkningen kan även ske genom absorption i flytande medier, tex. glykol, trietylen glykol eller hygroskopiska salter (Hagen mfl, 2001).

Torkningen kan även ske genom nedkylning av gasen. Den initiala nedkylningen utan tryckförändringar gör det möjligt att sänka daggpunkten från den mättade reaktorgasen, beroende på reaktortemperatur, ned till ca 1°C. För att erhålla lägre daggpunkter måste en kombination av temperatur och tryck användas på grund av problem med isbeläggningar på värmeväxlarna.

Torkningen i sig leder till en minskad koncentration av mikroorganismer i gasfasen. Anledningen till denna minskning är främst att huvuddelen av mikroorganismerna transporteras i mindre kluster tillsammans med vattnet i gasen. Genom att minska andelen vatten i gasen minskar också chansen för mikroorganismer att färdas med själva gasen. Torkningen ger dock inte någon garanti för en mikroorganismfri biogas. En av de främsta anledningarna till detta är att i torkningsmediet, speciellt det fasta mediet erbjuds stora ytor med mikroklimat där mikroorganismer kan kolonisera och tillväxa. I fallet där mediet regenereras genom uppvärmning är troligen risken för bildande av biofilmer och överlevnaden av mikroorganismer lägre ju högre temperaturintervall som används för regenereringen av adsorptionsmediet.

PSA (Pressure Swing Adsorption)

Den främsta metoden för uppgradering av biogas genom adsorption som används i Sverige är uppgradering i PSA (Pressure Swing Adsorption) anläggningar. I dessa anläggningar används främst aktivt kol för inbindning av koldioxid medan huvuddelen av metanen passerar genom anläggningen. Denna metod avlägsnar även andra mikroföroreningar såsom ammoniak, svavelväten och vatten. Regenereringen av adsorbenten genomförs, som metoden antyder, att trycket i kolonnen ändras. Genom att sänka trycket förändras bindningsförmågan hos adsorbenten vilket leder till att huvuddelen av de adsorberade gaserna frigörs.

Detta system har samma förutsättningar som övriga adsorptionssystemen genom att det runt partiklarna skapas ett mikroklimat där mikroorganismer kan överleva. Det är därför troligt att det även i dessa system bildas en biofilm på materialet där olika typer av mikroorganismer koloniserar. Genom att inget syre tillförs materialet är det troligt att tillväxten av biofilmen sker långsammare än i system där luft används för regenereringen.

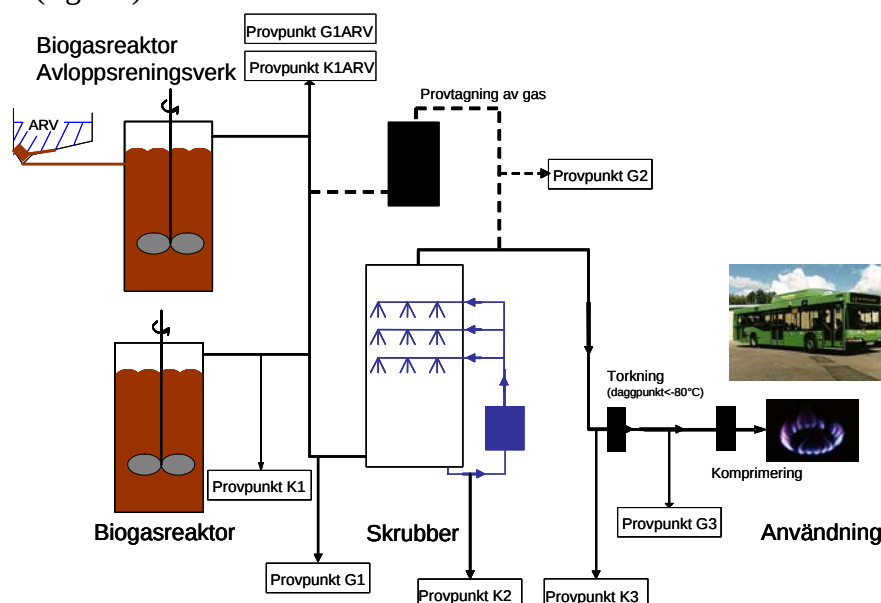
Anläggningar som ingått i studien

I studien har tre biogasanläggningar undersökts närmare. I studien undersöktes kondensvattnet från tre anläggningar (figur 1-3) där alla anläggningar har en rötkammare för bioavfall och en rötkammare för avloppsslam. Gasen leddes efter produktionen till samman från de båda rötkamrarna. Gasen undersöktes från två anläggningar (figur 1-2), dessa två anläggningar hade fullständig uppgradering till fordonsbränsle. Båda anläggningarna hade en uppgraderingskapacitet på mellan 600 och 650 Nm³/h.

I system 1 (figur 1) leds gasen från behandlingen av bioavfallet och avloppsslammet samman. Utgående gas från rötkammaren kyls till omgivningstemperatur och kondensvattnet leds till inkommande bioavfall respektive inkommande avloppsvatten. Gasen uppgraderas sedan i en vattenskrubber. Vattnet som används i skrubbern regenereras genom att det luftas och kyls innan det sedan recirkuleras i anläggningen. Efter uppgraderingen av gasen torkas den följt av komprimering till fordonsbränsle. Vid undersökningen av mikroorganismer i gasen användes även anläggningens reservanläggning för att behandla biogasen (en PSA anläggning med kolonner som är fyllda med aktivt kol). Gasen från rötningen av avloppsslammet leddes till denna anläggning medan gasen från rötningen av bioavfallet leddes till skrubberanläggningen. PSA anläggningen hade vid provtillfället vart igång under ca 7 timmar innan själva provtagningen startade.

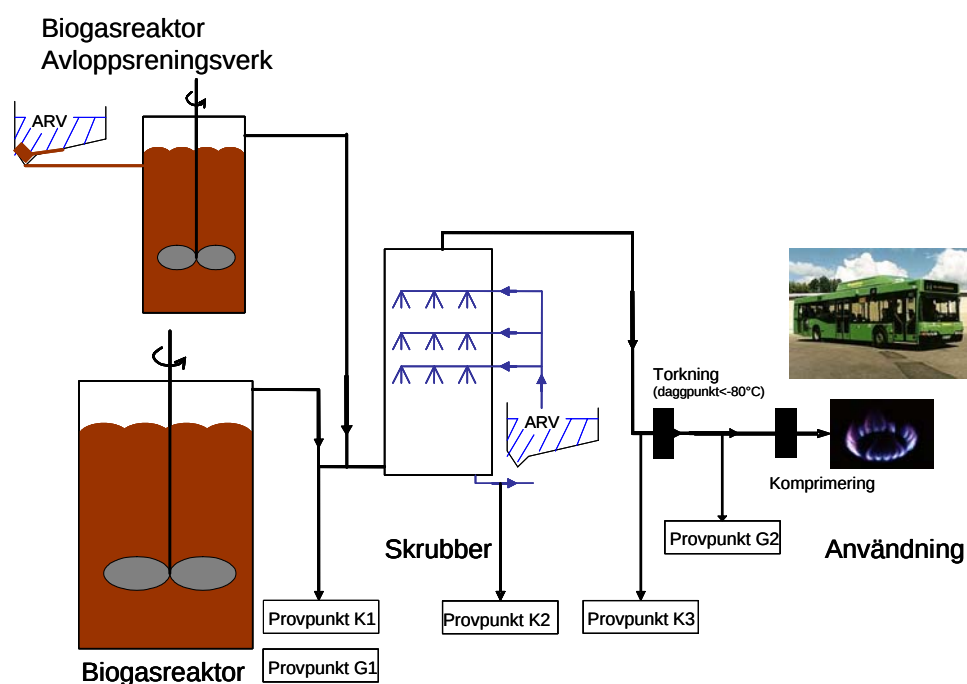
Undersökningen av system 1 genomfördes så att mätningen började vid den uppgraderade gasen efter skrubberbehandling och torkning, provpunkt G3 (figur 1). Därefter undersöktes gasen från PSA anläggningen, provpunkt G2 (figur 1) följt av mätningarna på rågasen, både

på avloppsreningsverket, provpunkt G1ARV, och på rötningsanläggningen för bioavfall, provpunkt G1 (figur 1).



Figur 1, Undersökt system 1, markerade provpunkter för kondensvattenprovtagning (K#) och för gasprovtagning (G#) gasprovtagningen har genomförts i systemet där gasen från avloppsreningsverket uppgraderas via behandling i aktivt kol (PSA anläggning) och från gas från rötningen av bioavfall som uppgraderats genom vattenskrubber.

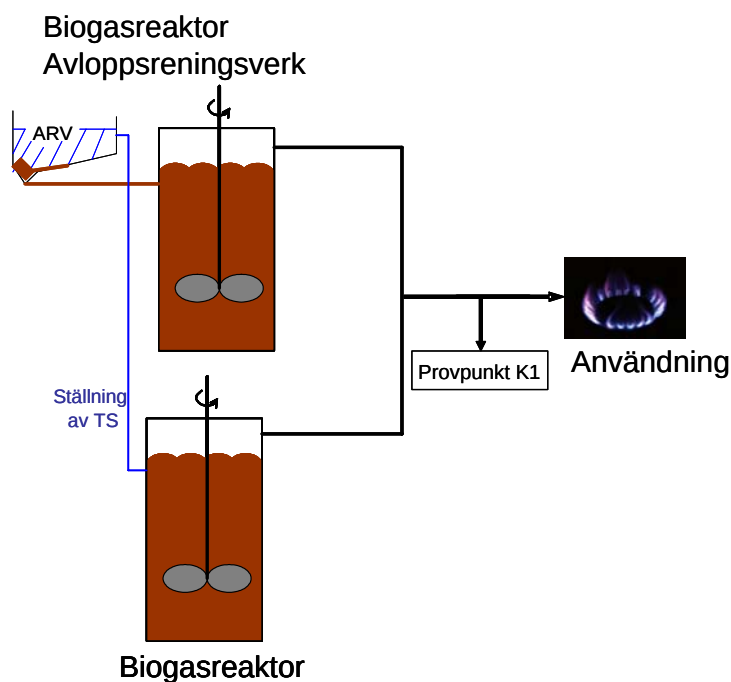
System 2 (figur 2) behandlar även den gas från rötning av bioavfall och från rötning av avloppsslam. Uppgraderingen av gasen sker här i ett linjärt flöde där utgående renat avloppsvatten används som medie för uppgraderingen. Efter uppgraderingen torkas gasen och komprimeras innan den används som fordonbränsle.



Figur 2, Undersökt system 2, markerade provpunkter för gasprovtagning (G#) och för kondensvattenprovtagning (K#).

I anläggningen på system 2 (figur 2) undersöktes gasen endast på två olika punkter. Här undersöktes först den uppgraderade gasen efter skrubberanläggningen, följt av rågasen. Vid flertalet av undersökningarna av rågasen var det inte möjligt att erhålla större flöde än maximalt 10 liter/minut (jämfört med önskade 50 liter/minut).

I System 3 (figur 3) undersöktes endast kondensvattnet från systemet. Även här leds rågasen från rötning av bioavfall och från rötning av avloppsslam i ett gemensamt ledningssystem. Den producerade gasen används sedan antingen i en närbelägen industri för energiändamål eller lokalt på anläggningen för energiproduktion.



Figur 3, Undersökt system 3, markerade provpunkter för kondensvattenprovtagning (K1).

Material och metod

Studierna som genomförts baserar sig på odling av mikroorganismer som antingen förekommer i kondensvattnet från ledningssystemet eller från själva gasen. Uppodlingen av mikroorganismer har gjorts på medier som inte är organismsspecifika. De medier som använts är TSA (Tryptic Soy Agar) samt SAB (Sabouraud Dextrose Agar). TSA agarn är ett allmänt medium som mestadels används för att odla bakterier. SAB är ett medium som innehåller viss mängd bakteriehämmande substanser vilket gör att mediet främst är till för att undersöka förekomsten av svamp.

För analyser av kondensvattnet användes dessutom selektiva medier för odling av tarmflora. Här användes VRB (Violet Bile Agar) som är selektiv för koliforma bakterier. Dessutom sattes prover på SLABA (Slanetz-Bartley Agar) som är ett medie selektivt för *Enterococcus* sp.

Provtagning av kondensvatten

Kondensvattnet samlades från tre olika biogasanläggningar, två där gasen uppgraderades hela vägen till fordonsbränsle och en där man använde den producerade gasen direkt utan uppgradering. Själva provtagningspunkterna och systemets utformning presenteras i figur 1-3.

Kondensvattnet provtogs på anläggningarna och sändes till laboratoriet tillsammans med kylklampar med post över natt för analys följande dag.

Kondensvattnet späddes sedan stegvis 1 till 10 i steril fysiologisk saltlösning. Från de olika spädningarna togs sedan 0,1 ml till spridning på platta. Proverna inkuberades sedan 3 dagar i $25\pm 2^\circ\text{C}$ följt av 2 dagar i $35\pm 2^\circ\text{C}$. Denna uppdelning av inkubering valdes för att maximera tillväxten av en diversifierad mikrobiologisk flora (Reich, 1998).

Från de inkuberade plattorna plockades sedan typkolonier för vidare identifikation av mikroorganismer. De utvalda mikroorganismerna odlades sedan över natt på blodagar- och blåplattor i 37°C , med eventuella enskilda avvikelser beroende på mikroorganismernas tillväxthastighet. Utifrån tillväxten på dessa plattor fortsatte identifieringen av mikroorganismerna med hjälp av API biokemisk identifieringsteknik. Organismer som inte var möjliga att identifiera genom dessa metoder undersöktes med DNA identifikation genom PCR typning. Vissa organismer var inte möjliga att få tillräcklig återväxt på för att identifiera. Identifieringen av mikroorganismerna genomfördes av ett ackrediterat mikrobiologiskt laboratorium.

Dessutom lämnades vissa prover från kondensvattnet för vidare analyser av förekomsten av Legionella och av bakterievirus vid för analyserna ackrediterade mikrobiologiska laboratorier.

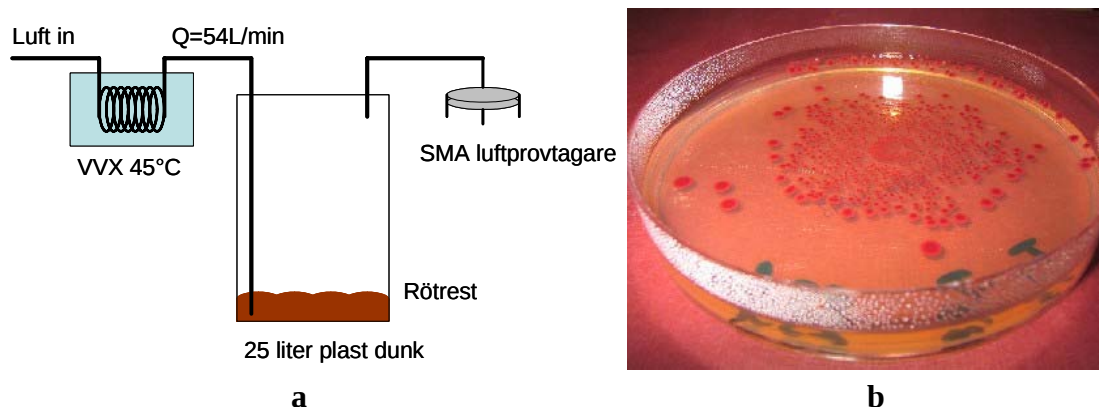
Provtagning av gas

Provtagningen genomfördes genom att gas leddes ut från existerande ledningssystem varefter det passerade en SMA luftprovtagare (figur 4). Bakterierna fångas i en 9 cm agarplatta som placeras i provtagaren. Företaget som producerar utrustningen garanterar att om man använder ett luftflöde motsvarande 54 liter per minut som ger en 95% återfångst av mikroorganismerna i gasen. Det höga flödet krävs för att gasen som passerar plattan skall vara tillräckligt turbulent för att bakterierna skall fästa på plattan.



Figur 4, SMA luftprovtagare som användes för provtagning av biogas.

För att verifiera att det var möjligt att analysera sammansättningen på mikroorganismerna i gasen och att dessa kunde komma från rötresten genomfördes en studie där uppvärmd tryckluft leddes genom rötrest vidare ut till luftprovtagaren (figur 5). Till rötresten hade *Enterococcus faecalis* motsvarande 10^4 tillsatts. Tillväxten av *E. faecalis* kunde studeras på de selektiva plattorna, medan det på de icke selektiva plattorna var tillväxten av mikroorganismer mycket mer diversifierad.



Figur 5, a) provuppställningen på laboratoriet där tryckluft värmdes innan det leddes ned i rötrest med tillsatt *Enterococcus faecalis*. B) återisolerade *E faecalis* på selektivt medium (SLABA).

Förstudierna med laborieuppställningen visade att det var möjligt att återisolera mikroorganismer från gasen som fanns i rötresten (figur 5). När flödet undersöktes i ett oselektivt medium växte stora mängder av olika mikroorganismer.

Metoden med att återdetektera mikroorganismerna från gasen användes därefter i studier på biogasanläggningar. En steriliserad slang anslöts till gasledningssystemet. Där det var möjligt reglerades gasflödet i anslutningen. I dessa fall anslöts endast flödesmätaren under regleringen för att sedan ersättas av den anslutna SMA:n. I de fall där detta inte var möjligt användes flödesmätaren för att reglera flödet. Studien har genomförts med så korta slangar som möjligt. Det har inneburit en slanglängd på 1-9 meter. Den främsta faktorn som påverkat slanglängden är kravet att gasutsläppet från provtagningen skulle ske utomhus. Den varierade slanglängden kan ha gett en viss fördröjning i andelen mikroorganismer som mäts i gasen. Det höga flödet kan dock motverka detta till viss del kombinerat med den långa provtagningstiden.

Förutom provtagning direkt på platta genomfördes några provtagningar genom att gasen bubblades genom fysiologiskt peptonvatten. Dessa prover lämnades senare för analys av förekomsten av bakterievirus (kolifager).

Provtagningarna av gasen genomfördes i varierande tidsperioder, från fem minuter upp till 20 minuter. I några av fallen var flödet av gasen lägre än de eftersträfvade 54 L/minut. I dessa fall ökades provtagningsintervallet.

Identifierade bakterier från mätningar av mikrobiell aktivitet i biogassystem

Förekomst av mikroorganismer i kondensvattnet

Förekomsten av mikroorganismer i kondensvattnet är relativt stor. I de två större anläggningarna (system 1 och system 2) som undersöktes återfanns höga koncentrationer (ca 10^5 cfu/ml) av en mycket blandad flora av mikroorganismer i systemet.

Förekomst av mikroorganismer i kondensvattnet från rågasen

Kondensvatten från rågasen efter rötning av opastöriserat avloppsslam

Provtagningen av kondensvattnet genomfördes på avloppsreningsverket i system 1. Proverna som tagits härifrån omnämns som K1ARV. Slammet som röts i avloppsreningsverket kommer från de olika sedimentationsstegen i reningsverket. Detta slam förtjockas till en torrsbstanshalt motsvarande 2-5%. Det förtjockade slammet behandlas sedan mesofilt vid ca 35°C .

I kondensvattnet som kommer från gasledningssystemet efter rötningen av avloppsslam (punkt K1ARV, tabell 1) reflekteras sammansättningen på avloppsslammet. Bland annat har det varit möjligt att återfinna indikatorer på tarmflora i kondensvattnet (tex har *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* isolerats från kondensvattnet). Detta gör det troligt att även annan ovanligare (och patogen) tarmflora kan vara möjlig att återfinna, tex humana virus (såsom norovirus och rotavirus) samt *Salmonella* sp. Antagandet att det är möjligt att återfinna både virus och *Salmonella* sp i dessa system baserar sig på att dessa organismer vanligen återfinns, dock till lägre koncentrationer, i avloppsvatten och avloppsslam på större avloppsanläggningar (Sahlström mfl. 2004). Dessutom återfanns små mängder bacillus i dessa prover, vilket indikerar att även sporformande bakterier kan följa med gasen från reaktorn.

Tabell 1, fördelning av mikroorganismer i kondensvattnet från rötning av avloppsslam i system 1.

Plats	Ung. konc. Cfu/ml	Organism
K1ARV	10 ⁰	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
K1ARV	10 ⁰	<i>Bacillus</i> sp
K1ARV	10 ¹	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
K1ARV	10 ¹	<i>Escherichia coli</i>
K1ARV	10 ²	<i>Pseudomonas</i> sp
K1ARV	10 ²	<i>Citrobacter freundii</i>
K1ARV	10 ³	G- Ox+ stav
K1ARV	10 ³	<i>Streptococcus</i> sp (Alfa hem)
K1ARV	10 ³	<i>Micrococcus</i> sp

Kondensvatten för systemet med rågas från rötning av pastöriserat bioavfall (70 °C, 1h)

Koncentrationen av mikroorganismer i kondensvattnet från de biogasreaktorer där inkommande material är pastöriserat har en annan sammansättning i punkt K1. Pastöriseringen gör att icke sporbildande bakterier inaktiveras under den timme som materialet håller 70°C. Den bakterieflora som förväntades i denna del av systemet var därför främst sporbildande bakterier och ingen tarmflora.

Undersökningen påvisade relativt stora mängder aeroba bakterier som inte var sporbildande. Det var även möjligt att identifiera tarmbakterier (*Enterococcus* sp) i kondensvattnet från rötammaren med pastöriserat material (tabell 2).

Tabell 2, fördelning av mikroorganismer i kondensvattnet från rötning av pastöriserat bioavfall från system 1 och från system 2.

Plats	Ung. konc. Cfu/ml	Organism
K1	-	<i>Clostridium</i> sp <i>Clostridium perfringens</i>
K1	10 ¹	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
K1	10 ¹	<i>Enterobacter</i> sp
K1	10 ¹	<i>Enterococcus</i> sp
K1	10 ¹	<i>Klitsiella pneumonia</i>
K1	10 ²	G+ stav
K1	10 ²	G- stav
K1	10 ³	<i>Burkholdia capacia</i>
K1	10 ³	<i>Mikrokokkus</i> sp

Genom att det inkommande bioavfallet värmebehandlas i 70°C under en timme innan det förs över till själva reaktorn kan inte tarmbakterier som *Enterococcus* sp överleva.

Värmebehandlingen försäkrar att både tarmfloresindikatorerna och övriga icke sporbildande bakterier inte kommer till reaktorn med inkommande bioavfall. Den troliga källan till tarmbakterierna är därför troligen ympen som användes för start av reaktorn. I detta fall kommer ympen från en biogasreaktor som bland annat behandlat svingödsel utan föregående pastörisering. Organismer som då följde med vid uppstart av reaktorn har sedan överlevt och förökat sig i den anaeroba miljö som finns i reaktorn för att sedan reflekteras i kondensvattnet för rågasledningssystemet. Svingödseln skulle även kunna tillföra patogener till reaktorn men en utspädning sker med inkommande material. I ett system med kort uppehållstid i reaktorn kommer materialet att hålla en högre redoxpotential vilket gör det möjligt för andra än strikta anaerobier att överleva. Genom att enterokockerna har lyckats att kolonisera systemet och konstant återfinns i rötresten finns det viss risk för att annan, patogen, tarmflora som tillförts reaktorn kan kolonisera och tillväxa i reaktorn. Det är därför viktigt att ympen som används för att starta upp reaktorn är kvalitetssäkrad med avseende på förekomst av patogena mikroorganismer.

Undersökningarna visade även förekomst av *Clostridium* sp. Förekomsten av dessa kan däremot inte kvantifieras eftersom metoden som användes för identifiering av dessa organismer innehåller steg av anrikning vilket medför att antalet organismer inte kan bestämmas. Minst tre olika typer av *Clostridium* sp identifierades i studien, en av dessa identifierades till *Clostridium perfringens*.

Vid undersökningen av rågasen i system 2 var det inte möjligt att återisolera några mikroorganismer alls. Den troliga anledningen till detta var att flödet som var möjligt att få från anläggningen var under 10 liter i minuten och att mikroorganismerna då antingen fastnade i ledningssystemet eller inte var möjliga att återfånga på plattorna som undersöktes. Undersökningen av rågasen från system 1 var det möjligt att få ett bra gasflöde (60 liter/minut). Från den undersökningen var det även möjligt att återfinna mellan 10 och 100 cfu per m³ gas. Den undersökta gasen från system 1 kan dock inte garanteras vara fri från gas som kommer från avloppsreningsverket, även om gasen från rötningen av avloppsslammet för tillfället leddes till PSA anläggningen sedan 7 timmar före provtagningstillfället.

Kondensvatten från biogassystem utan uppgradering av producerad gas, anläggning 3

Kondensvattnet från anläggning 3 undersöktes vid två enskilda tillfällen med ca en månad mellan de två provtagningstillfällena. Gasen i detta system kommer från en rötkammare där avloppsslam rötas samt en rötkammare där man rötar endast bioavfall. För att reglera torrsubstanshalten på bioavfallet använder man sig av det utgående avloppsvattnet. Därför är det möjligt att anta att det i rötkammaren från båda systemen finns tarmflora och även potentiella patogener.

Det var dock inte möjligt att återisolera några aeroba organismer från kondensvattnet i detta system, till skillnad från system 1 och 2. Den främsta anledningen till detta är troligen att systemet har en generellt låg belastning. Den extra volymen i reaktorerna har använts för att undvika översvämnningar, främst från ökad skumbildning. Genom att man kunnat undvika översvämning i systemet har inte stora mängder mikroorganismer förts över till, och därmed inte kunnat kolonisera, ledningssystemet. Dessutom har dessa två rötkammare en relativt lång uppehållstid och därmed hög utrötningsgrad av det behandlade materialet. Detta kan göra att fakultativa anaerober har svårt att överleva. Främsta orsaken till den låga överlevnaden är i så fall att red-oxpotentialen i materialet är så låg att i princip endast strikta anaeroba organismer överlever under längre perioder. Genom att hålla en hög uppehållstid kombinerat med säkerhetsmarginaler så att översvämning undviks minskar troligen risken för att fakultativa anaerober från inkommande material sprider sig till gasledningssystemet.

Skrubbervatten

Skrubbrarna som används i de två olika anläggningarna för uppgradering av biogas som ingått i denna studie har olika typer av vattendistributionssystem. Anläggningen i system 1 använder sig av ett cirkulerande system med regenerering av vattnet genom att vattnet luftas med omgivningsluft. Anläggningen i system 2 använder sig av det utgående avloppsvattnet i ett linjärt flöde, vilket innebär att behandlat avloppsvatten används en gång för att sedan släppas ut i recipienten. Genom att skrubbevattnet i system 2 endast är en reflektion på utgående avloppsvatten undersöktes inte detta närmare. Sammansättningen på skrubbevattnet fokuserar därför på system 1 där skrubbevattnet cirkuleras.

Sammansättningen av mikroorganismer i skrubbersystemet reflekterar två olika källor till mikroorganismer. Först är det mikroorganismer som tillförs systemet med den producerade biogasen. Dessa organismer kommer både från rötningen av bioavfall och från rötningen av avloppsslam. Den andra källan är från luften som används till att driva av koldioxiden från det använda skrubbevattnet i och med att vattnet regenereras. Genom att samma vatten cirkuleras och är omväxlande anaerobt och aerobt kombinerat med metanet som kolkälla är det möjligt för mikroorganismer att kolonisera på bärarmaterialet som används i skrubbrarna, vilket lett till problem med slamuppbyggnad på bärarmaterialet i skrubbern (Tynell, 2005). Tydligast är den stora mängd (10^2 cfu/ml) med svampar (fusarium och mucor samt till viss del även jäst) och den höga koncentrationen av grampositiva stavar (10^4 cfu/ml) (tabell 3).

Tabell 3, fördelning av mikroorganismer i kondensvattnet i systemen 1 där skrubbervattnet cirkuleras i systemet

Plats	Ung. konc. Cfu/ml	Organism
K2	10 ¹	<i>Bacillus</i> sp
K2	10 ¹	<i>Corynebacterium</i> sp
K2	10 ¹	G- stav
K2	10 ¹	<i>Pseudomonas</i> sp
K2	10 ²	<i>Bacillus cereus</i>
K2	10 ²	G+ stav (sekvensierad)
		<i>Leucobacter acridicollis</i>
		<i>Leucobacter komagatae</i>
		<i>Leucobacter albus</i>
		<i>Leucobacter chomiireducens</i>
K2	10 ²	G- Ox - stav (Sekvens)
K2	10 ²	<i>Fusarium</i> sp
K2	10 ²	<i>Mucor</i> sp
K2	10 ²	Jästsvamp
K2	10 ³	<i>Pseudomonas veronii</i>
K2	10 ⁴	G+ stav

De sporbildande bakterier som återfanns i skrubbervattnet (*Bacillus* sp 10¹cfu/ml). Kan antingen vara organismer som tillförts skrubbervattnet via omgivningen eller via gasen följt av en viss kolonisering av materialet.

I de undersökningar som Tynell (2005) har genomfört har hon funnit liknande sammansättning av organismerna på fyllnadsmaterialet i skrubbern som används för uppgradering av gasen som de organismer som återfunnits i dessa studier. I Tynell (2005) har flera olika typer av slam på fyllkroppar definierats, där skillnaderna främst beror på utformningen av anläggningarna. Den största tillväxten av materialbeläggning kommer från de anläggningar som anläggning 2 i denna studie som använder sig av utgående avloppsvatten i skrubbern. Men även de anläggningar som har cirkulerande system har i flertalet fall problem med tillväxt av mikroorganismer på fyllkropparna och använder sig därför av olika system för att regenerera dessa, främst genom alkalisk eller oxiderande tvättning.

Kondensvattnet från den uppgraderade gasen

Målet med uppgraderingen av biogasen är att avlägsna förorenande gaser såsom koldioxid, ammoniak och svavelväten. När uppgraderingen sker genom att använda skrubberteknik mätas gasen med vatten. Efter uppgraderingen torkas därför gasen för att minska risken för utfällning av vatten och is i samband med trycksänkningar på gasen. Kondensvattnet från torkning är det kondensvatten som benämns som K3 i denna studie.

Kondensvattnet från den uppgraderade gasen reflekterar typen av system som används för uppgraderingen av gasen dvs. mikroorganismerna som isoleras från punkt K3 är i stort sett desamma som isoleras från punkt K2. Från det recirkulerande systemet är det dock möjligt att se en viss skillnad i fördelningen av mikroorganismer jämfört med skrubbervattnet. Detta tyder på att det är en annan typ av mikroorganismer som koloniserar ledningssystemet efter skrubbern (tabell). Bland annat har det varit möjligt att återfinna avsevärt högre

koncentrationer av svamp där kondensvattnet innehåller ca 10^4 cfu/ml (tabell 4) jämfört med skrubbevattnets 10^2 cfu/ml (tabell 3).

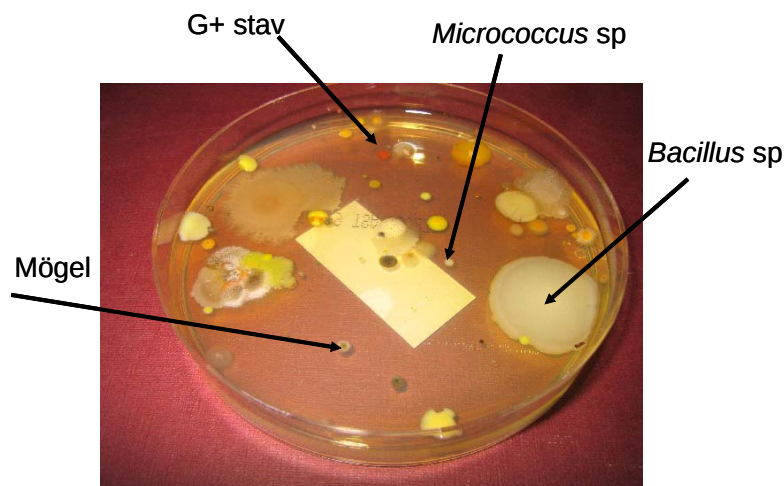
Tabell 4, fördelning av mikroorganismer i kondensvattnet i de undersökta systemen

Plats	Ung. konc. Cfu/ml	Organism
K3	10^0	<i>Enterobacter</i> sp
K3*	10^0	Kolifager (Bakterievirus som modell för Virus)
K3	10^1	<i>Leukobacter</i> sp
K3*	10^2	<i>Escherichia coli</i>
K3	10^3	<i>Alcaligenes xylos-oxidans</i>
K3	10^3	<i>Streptococcus</i> sp
K3	10^3	<i>Micrococcus</i> sp
K3	10^3	<i>Pseudomonas veronii</i>
K3	10^4	<i>Fusarium</i> sp
K3	10^4	Jästsvamp

*organismer som endast identifierats från system 2

Enterobacter sp samt flertalet andra bakterier som inte identifierats i skrubbevattnet har vart möjligt att hitta i kondensvattnet från torkningen av gasen efter uppgraderingen. Flera organismer, förutom svamp, har återfunnits i högre koncentration i kondensvattnet (10^3 cfu/ml) (tex. *Alcaligenes xylos-oxidans* och *Streptococcus* sp) jämfört med motsvarande 10^{1-2} cfu/ml i skrubbevattnet.

Andra organismer som fanns i relativt höga koncentrationer i skrubbevattnet återisolerades inte i kondensvattnet efter uppgraderingen (tex *Bacillus* sp). Den främsta orsaken till skillnaderna är troligen att just dessa organismer inte plockats ut för identifiering i den efterföljande renodlingen av mikroorganismer. En ytterligare anledning är att dessa organismer konkurrerats ut under odlingen på de oselektiva medier som används i det första steget av odlingen i laboratorium. Den fortsatta behandlingen av de uppodlade plattorna var en selektion av typiska kolonier för att ge ett representativt urval till vidare identifikation. Denna selektion kan leda till förbiseende av kolonier som uppträder likadant på odlingsmediet. Detta gör att mikroorganismer som liknar varandra kan förbises vid selektionen inför identifikationen samt att plattor med kraftig tillväxt gör det svårt att selektera enskilda organismer (figur 6).



Figur 6, tillväxt av mikroorganismer på TSA agarplatta med tillsatt kondensvatten med några markerade typkolonier.

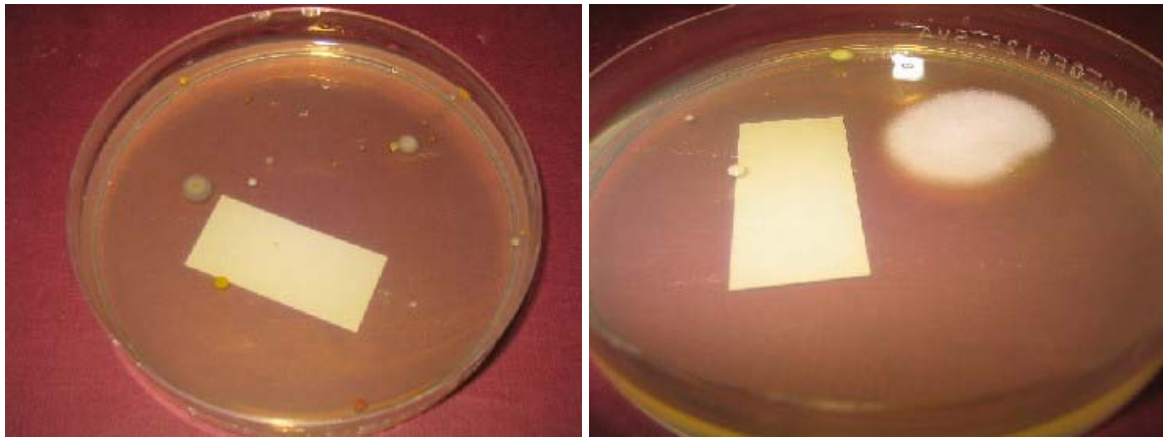
I figur 6 går det att se flera typiska kolonityper. Dessutom går det att se att det finns ett flertal kolonier som är mycket lika varandra. Dessa kolonier är det omöjligt att särskilja på detta medium. För att kunna säkerställa att det är samma eller olika organismer krävs att dessa organismer renodlas på andra typer av odlingsmedium. Detta har inte genomförts eftersom studierna endast strävat efter att få en uppfattning av den normalflora som återfinns i de olika delarna av biogasledningssystemet.

I kondensvattnet från systemet där avloppsvatten använts i skrubbern var det möjligt att återfinna relativt höga koncentrationer av tarmbakterier (tex. *E coli*, *Enterobacter* sp) (tabell 4). Detta reflekterar förekomsten av dessa i skrubbersystemet eftersom avloppsvattnet som används är renat med avseende på miljöstörande kemiska ämnen (syreförbrukande organiskt material, fosfor och kväve) men inte med avseende på mikroorganismer vilket gör att andelen mikroorganismer i det utgående avloppsvattnet är relativt stort. Dessutom var det i detta system möjligt att återisolera kolifager (bakterievirus), vilket kan användas som en indikation på att man även skulle kunna återfinna humanpatogena virus i detta system.

Förekomst av mikroorganismer i gas

Naturgas

Undersökningen av naturgasen påvisade en stor variation i flora av bakterier samt några typer av mögelsvamp. De flesta av de återfunna bakterierna var inte möjliga att identifiera med tillgängliga metoder för identifiering. De organismer som var möjliga att identifiera var grampositiva stavbakterier, dessa kan vara omgivningsflora eller humanrelaterad flora samt *Bacillus* sp. Undersökningen visade att det i naturgasen var möjligt att återfinna 10-100 cfu/m³ naturgas (figur 7).



Figur 7, bild på mikroorganismer som isolerats från 0,4m³ naturgas

Undersökningen genomfördes med ca sex meter lång slang och ett flöde på ca 20 liter per minut, vilket är något under halva det efterfrågade flödet. Detta kan leda till att resultatet från undersökningen kan vara en underskattning eftersom det lägre flödet gör att mikroorganismerna inte passerar ledningssystemet på önskat sätt. Dessutom är det inte säkert att metoden är lika effektiv att fånga mikroorganismer på utplacerad agarplatta när flödet är lägre eftersom det då riskerar att mikroorganismerna passerar plattan istället för att skjutas fast i agarplattan. Metoden kan även ha resulterat i en ökning av antalet mikroorganismer som följde med gasen ut ur ledningssystemet. Den främsta anledningen till eventuellt ökat antal mikroorganismer är att anslutningen genomfördes i änden på ett befintligt system och att flödet som användes var ett högre flöde jämfört med det flöde som normalt används i systemet. Det högre flödet kan ha lett till att biofilm i systemet slitit loss från ledningarnas väggar och följt med gasen ut och därmed lett till ett ökat antal detekterade mikroorganismer. Även om det inte var möjligt att identifiera huvuddelen av de bakterier som återfunnits i biogasen bekräftar undersökning resultaten från Zhu mfl. (2003) att det finns mikroorganismer i naturgassystem. Resultaten visar även att de befintliga mikroorganismerna kan transporteras med gasen ut från ledningssystemet.

Biogas

Studier av sammansättningen för mikroorganismer har genomförts både på system 1 och system 2. Antalet organismer som identifieras i de olika studierna ligger inom samma intervall som för naturgasen för alla provpunkter, förutom vid provtagningen av rågasen i system 2 där det inte var möjligt att återisolera några organismer. De mikroorganismer som återfanns i gasen reflekterar väl de mikroorganismer som återfunnits i kondensvattnet (tabell 5). Det var heller inte möjligt att se någon signifikant skillnad mellan gas som uppgraderats i skrubberanläggning och gas som uppgraderats i PSA anläggning. Det var dock viss tendens till större mängd svampsporer i PSA anläggningen, troligen beror detta av att anläggningen stått oanvänd en längre tid och endast varit aktiv i ca 5 timmar vid provtagningen.

Tabell 5, sammansättningen på mikroorganismer som återfunnits i uppgraderad biogas

Anläggning	Punkt	Organism
1	G3	<i>Aerococcus</i> sp
1	G1ARV, G3	<i>Micrococcus</i> sp
1	G1, G1ARV, G3	<i>Bacillus</i> sp
1	G1, G2, G3	Gram+ stav
1	G2	Gram- stav
	G1ARV, G3	Gram+ kock
1	G1, G1ARV, G2, G3	Mögelsvamp

Flertalet av de organismer som återisolerades från den analyserade biogasen var inte möjliga att identifiera med tillgängliga metoder. De analyserade organismerna presenteras enbart som förekomst och inte som en koncentration (tabell 5). Generellt sett är det samma typ av mikroorganismer som återfinns i de olika delarna systemet. Organismerna som återfanns i gasen från PSA anläggningen skiljde sig något från övriga, främst genom en större andel mögel jämfört med övriga samt att bakteriefloran var svåroddlad. Den största orsaken till detta var troligen att systemet stått oanvänt en längre tid och endast vart aktivt i ca 5 timmar före själva mätningen. Antalet organismer som man kan förvänta sig i den producerade gasen är i alla fraktioner mellan 10 och 100 cfu/m³ biogas (tabell 6).

Tabell 6, antalet organismer uppdelat på bakterier och mögel vid de olika provpunkterna samt vilket gasflöde som användes vid de olika mättillfällena. Antalet anges som cfu/m³ gas

Provpunkt	Flöde (liter/minut)	Provtagnings- intervall (minuter)	Antal org. (cfu/m ³)	Andel bakt. (%)
System 1				
Punkt G1	50	10	2	100
	50	10	34	100
Punkt G1ARV	30-70*	10	20	80
	30-70*	10	18	90
Punkt G2	60	10	14	45
	60	10	47	65
Punkt G3	55	5	65	60
	55	10	11	65
	55	5	51	85
System 2				
Punkt G1	10	20	0	-
	50	20	0	-
Punkt G2	50	10	12	60
G2 ny VVX	50	20	4	100
	50	20	3	100
Naturgas				
	20	20	65	90
	20	20	25	90

* flödet varierade oregelbundet inom intervallet från 30 liter/minut upp till och med 70 liter per minut. För beräkningen av antalet mikroorganismer per m³ gas har medelflödet 50 liter per minut använts.

Undersökningen av rågasen på system 2 (figur 2) påvisade inga aeroba organismer fastän dessa var möjligt att hitta i kondensvattnet (tabell 2). Det låga gasflödet som fanns för rågasen i system 2 kan ha gjort att återfångstgraden av mikroorganismer i gasen var lägre än den verkliga förekomsten. Anledningen till detta är att det lägre flödet inte kan garantera att gasflödet över plattan är turbulent och att kontakten mellan mikroorganismer och platta då är lägre.

I de undersökningar som en lång slang (ca 6 meter) användes var det i vissa fall möjligt att se en stigande koncentration av mikroorganismer under mättillfället. Detta kan bero på att det sker en viss fördröjning av antalet mikroorganismer i ledningen mellan gasledningen och provtagningsutrustningen. Anledningen till att så långa slangar användes var en strävan efter att på grund av arbetssäkerhetsskäl genomföra själva provtagningen och därmed utsläppet av metan utomhus.

Skillnaden mellan mikroorganismer i biogas och i naturgas

Undersökningen av förekomsten av mikroorganismer i gasfasen visade ungefär lika stora mängder mikroorganismer oavsett om det var uppgraderad biogas eller om det var naturgas (tabell 5). Den största skillnaden mellan mikroorganismerna som kan förekomma i dessa gastyper beror på källan till mikroorganismerna. De mikroorganismer som koloniserat systemet för naturgas har troligen främst tillförts systemet under systemets konstruktion, då detta i övrigt är ett mycket "rent" system eftersom systemet är slutet gentemot omvärlden. Det handlar då främst om omgivningsflora såsom jordorganismer från partiklar som kommit in i systemet under ledningsbyggnationen. Dessutom kan man förvänta sig att viss hudflora kan härröra från byggnadsarbetarna under konstruktionen av systemet.

Källorna till mikroorganismer i biogasen kan ha samma ursprung. I detta system finns även risken för att mikroorganismer i gasen från uppgraderingen i skrubbern kan följa med gasen genom torkningen ut i systemet. Detta gör att patogena mikroorganismer skulle kunna återfinnas i den producerade biogasen. Genom den låga koncentration av totalantalet mikroorganismer i gasen ($10\text{--}100\text{cfu/m}^3$, tabell 5) är dock risken som gasen medför mycket liten.

Beskrivning av de mikroorganismer som återisolerats från de olika biogassystemen

De mikroorganismer som isolerats från kondensvatten och direkt från biogasen presenteras kort i nedanstående stycken. Målet med presentationen är att ge en uppfattning om vilken typ av organism som det handlar om samt en kortare information om organismens patogenitet. Detta kombinerat med förekomsten av mikroorganismer i de olika delarna av systemet ligger sedan till grund för bedömningen av risken för spridning av smitta i riskvärderingen.

De flesta mikroorganismer som återfunnits i dessa studier är inte direkt patogena. Organismerna kan ändå orsaka sjukdom (opportunistiska mikroorganismer) hos känsliga individer, oftast personer som av någon anledning har ett nedsatt immunförsvar. Ett nedsatt immunförsvar kan bland annat bero på sjukdom (tex AIDS), ålder eller medicinering (tex vid organ donationer). Andelen personer i samhället med nedsatt immunförsvar är i dagsläget en ökande grupp (Gerba mfl., 1996).

Opportunistiska mikroorganismer är organismer som i vanliga fall inte ger infektion. Men under speciella förutsättningar kan de resultera i infektioner. Dessa speciella förutsättningar kan tex vara personer med nedsatt immunförsvar. Vissa förutsättningar hos värden kan även

de resultera i infektion, tex om den normala skyddande bakteriefloran avlägsnas av antibiotikaanvändning finns det risk för svampangrepp.

Även om en person utsätts för en patogen mikroorganism är det inte säkert att den blir sjuk. De faktorer som främst påverkar insjuknandet är infektionsvägen, infektionsdosen och mottaglighet för tillfället. De vanligaste infektionsvägarna är alimentär (via födan), oralt, inhalation samt via hud och slemhinnor. Olika mikroorganismer har olika infektiositet beroende på vilket sätt infektionen sker, dessutom krävs det vanligen att flera mikroorganismer infekterar vid samma tillfälle. Infektionsdosen varierar mycket mellan olika organismer, generellt sett krävs mellan 1 och 10 virus för att orsaka sjukdom medan för bakterier varierar det mellan 100 och 10^{10} organismer. Mottagligheten för sjukdomar för en och samma individ kan variera vid olika tillfällen. Främst beror detta på den enskilde individens status med avseende på bla, immunförsvar, nutrition etc.

Bakterier

Bacillus species

Bacillus sp har identifierats i flera olika led med kondensvatten för biogas och i skrubervattnet. Den mer specificerade undergruppen *Bacillus cereus* har identifierats i kondensvattnet. Även i naturgasen var det möjligt att identifiera *Bacillus* sp.

Familjen *Bacillus* omfattar ett brett spektra av grampositiva, sporbildande, fakultativt anaeroba bakterier. Flertalet *Bacillus* sp är kemoautotrofa och bryter normalt ned enklare organiska material såsom socker, aminosyror och organiska syror. I vissa fall kan längre organiska kolkedjor brytas ned under formeringen av glycerol och butandiol. Huvuddelen av organismerna är mesofila (Todar, 2005).

Genom att gruppen bacillus är sporbildande överlever de den initiala passagen med pastörisering av inkommande avfall. Dessutom kan de delta i den anaeroba nedbrytningen av organiskt material vilket medför att vi kan förvänta oss en ökning av antalet bacillus i rötresten och därmed även i ledningssystemet för biogas.

Inom gruppen finns det flera organismer som kan klassas som djurpatogena. Främst är det *Bacillus Antracis* (Mjältbrand) som är en zoonotisk sjukdom, vilket gör att den smittar både människor och djur. Organismen har under senare tid blivit mer känd i samband med terrorattacker i USA. Mjältbrand har tre infektionsvägar, genom hud och slemhinnor, vid inandning samt via mag tarmsystemet. Farligast är det vid smitta genom inandning av sporer. Infektionsdosen för antrax är ungefär 3 000 organismer (Todar, w2005; Duckworth mfl, w2005) dödlig dos rapporteras till 8 000-10 000 organismer.

Generellt är *Bacillus* sp (förutom *Bacillus Antracis*) inte sjukdomsframkallande. Däremot producerar flertalet av organismerna exotoxiner vilket medför att mikroorganismer som kommer i kontakt med mat som inte upphettas ordentligt tillväxa snabbt och därmed förgifta maten.

Clostridium species

Organismer av familjen *Clostridium* sp är strikt anaeroba grampositiva sporbildande mikroorganismer. Flertalet olika Clostridier har återfunnits i kondensvattnet från dessa har *Clostridium perfringens* identifierats. De producerar toxiner som kan ha stor effekt. Dessutom kan vissa av dessa organismer smitta personer som har nedsatt immunförsvar.

Aeromonas hydrophila caviae

A. hydrophila är en främst en vattenorganism som återfinns både i söt- och bräcktwater och har identifierats både i fisk och skaldjur (Ullmann mfl., 2005) men även som kontaminant i anda matvaror (Hinton mfl., 2004; Holley mfl., 2004).

Organismen kan orsaka sjukdom hos fisk och hos människa. Infektioner hos människa är främst infektion i öppna sår samt mag-tarm infektion (gastroenterit hos friska människor eller blodförgiftning hos människor med nedsatt immunförsvar).

Infektionsdosen är mycket hög, intag av upp till 10^{11} organismer har inte lett till infektion hos frivilliga försökspersoner. Däremot är det vanligt att man finner höga koncentrationer av *A. hydrophila* i avföringen hos personer med diarré. Troligen krävs det någon ytterligare okänd faktor som leder till att infektion bryter ut. Från dykare som fått diarré efter intag av små mängder vatten har *A. hydrophila* isolerats från deras avföring.

Två olika symptom har identifierats för personer med *A. hydrophila*, 1 kolera liknande symptom med mycket vattnig avföring, samt 2 dysenteriliknande symptom med blodig och slemmig avföring.

Alcaligenes xylosoxidans

Kan även kallas *Achromobacter xylosoxidans*, är en gramnegativ stav. Organismen kan orsaka luftrörsinfektioner på personer med nedsatt immunförsvar.

Cellulomonas sp

Grampositiv jordbakterie som medverkar vid nedbrytning av bla. cellulosa och lignin. Ingen patogen effekt funnen. Inte heller har någon koppling till patogena organismer hittats.

Corynebacterium species

Corynebacterium är grampositiva aeroba stavformade bakterier som är besläktade med actinomyceter, de kan dock ej bilda sporer. Organismen är en del av den humana normalfloran men kan vara patogen. Den mest studerade patogena organismen inom gruppen är *Corynebacterium diphtheriae* som orsakar difteri (äkta krupp). Sjukdomen orsakas av produktion av exotoxiner och drabbar övre andningsorganen. Sjukdomen är ovanlig i Sverige eftersom flertalet svenskar är vaccinerade. I utvecklingsländer där vaccination inte förekommer är sjukdomen vanlig. Under senare år har den ökat i flera östeuropeiska länder (SMI, w2005). Spridning av difteri kan behöva beaktas i samband med införandet av biogassystem i utvecklingsländer.

Citrobacter freundii

Gramnegativ stav, tidigare grupperad med *E. coli*. Tillhör vanligen den normala tarmfloran. Den kan dock vid speciella tillfällen verka patogen hos personer med nedsatt immunförsvar. Vissa Citrobakter kan också producera värmestabila toxiner som kan orsaka diarré.

Escherichia coli

Är vanligt förekommande i mag-tarmsystemet hos däggdjur och fåglar. Generellt är dessa organismer inte patogena. Det förekommer dock vissa stammar som är toxinproducerande och därmed patogena.

Enterobacter spp

Gramnegativa, oxidasnegativa stavformade bakterier. Dessa har vanligen både respiratorisk och fermenterande metabolism. De för människan vanligast förekommande patogena organismerna är *Salmonella* och *Shigella*, dessa två har inte återfunnits under genomförandet

av dessa studier. De flesta bakterier som tillhör Enterobacteriaceae kan generellt betecknas som opportunistiska patogener. Dessa bakterier kan bidra i den initiala nedbrytningen av organiskt material under fermentationsprocessen.

Enterobacter aerogenes

Även denna grupp är vanligt förekommande i mag-tarmsystemet. I vissa fall kan dessa mikroorganismer orsaka sjukdom hos immunsvaga individer. *E. aerogenes* omnämns bland annat som en av de antibiotikaresistenta organismer som orsakar så kallad sjukhussjuka.

Enterococcus faecalis

Är en fakultativ anaerob grampositiv rund bakterie som är del av den normala tarmfloran. *E. faecalis* är inte någon direkt patogen organism men kan som flertalet av den vanliga tarmfloran orsaka infektion om den förekommer på fel plats. Organismen är en av de tåligare tarmflorabakterierna som därför ofta används som indikator på fekala föroreningar.

Leucobacter

Aerob grampositiv stav, vanligen återfunnen i jord. I denna studie har *L. aridicollis*, *L. komagatae*, *L. albus* och *L. chromiireducens* identifierats. Inga uppgifter om leucobacters patogenisitet har hittats.

Micrococcus spp

Är grampositiva aeroba bakterier. Kan återfinnas som hudflora samt o jord och vatten. Organismen kan vara patogen för personer med nedsatt immunförsvar.

Pseudomonas spp

Gramnegativ stavformad organism. Organismen tillväxer i magra medier med visst innehåll av organiskt material utan behov av omgivande tillväxtfaktorer. *Pseudomonas* är en vanligt förekommande organism som kan isoleras både från mark och från vattenprover. Kan ge sjukdom hos personer med nedsatt immunförsvar. Främst handlar det om personer med brännskador, cystisk fibros och cancerpatienter.

Organismen kan återfinnas i naturen och ses som normalflora i tarmsystemet hos människa, främst handlar det om *Pseudomonas aeruginosa*, som inte isolerats i denna studie.

Endast *Pseudomonas (Burkholderia) mallei* och *P. (Burkholderia) pseudomallei* ses som patogena. Det är dock möjligt att återfinnas *P. (Burkholderia) pseudomallei* fritt växande i miljön.

Pseudomonas veronii har isolerats från jordprover, ingen information om patogenisitet har återfunnits.

Burkholderia cepacia tillhör släktet *Pseudomonas*, och är både en plant och djurpatogen. Är en opportunistisk bakterie som kan orsaka infektioner. Den enda *P. (Burkholderia)* som är direkt patogen är *P. mallei* som infekterar körtlar hos hästdjur.

Pandoraea pnomenusa

Gramnegativ stav, liknar *B. cepacia* och *Ralstonia* spp med vilka den ofta felidentifieras. *P. pnomenusa* är en vanligt förekommande jordbakterie som uppträder hos personer med kroniska lungsjukdommar (Stryjewski & Patel, 2003).

Ralstonia pickettii

Se de 2 ovan nämnda organismerna.

Staphylococcus sp. (koagulasnegativ)

Är en grampositiv sfärisk organism som växer i klasar. Stafylokocker ingår i den normala hudfloran. Sjukdomar uppstår när organismer passerar det primära skyddet, tex genom sår i huden. Vanligen innebär förekomst av stafylokocker inte någon risk för smitta.

Streptococcus sp. (alfa hemolyserande)

Är en gram-positiv rund bakterie som vanligen förekommer i par eller långa kedjor av organismer. Är en vanligt förekommande organism som 5-15% av befolkningen bär på. Oftast förekommer den i andningsorganen, utan att sjukdom uppträder. Vanliga sjukdomar hos personer med sänkt immunförsvar är halsinfektioner och hudinfektioner.

Övriga mikroorganismer

Fungi/Svamp

Tre olika typer av svamp har identifierats i de prover som analyserats, *Fusarium sp*, *Mucor sp* samt jäst. Ingen av dessa mikroorganismer är direkt humanpatogena, de är dock opportunist. *Fusarium sp* och *Mucor sp* producerar mögelsporer vilka kan vara besvärande för allergiker. Dessa svampar är snarast ett processtekniskt problem i uppgraderingsprocessen för biogasen där de bildar beläggning på bärarmaterialet i skrubbern.

Virus

Endast en liten studie av förekomsten av bakterievirus (kolifager) genomfördes. Denna studie kopplades till möjligheten att återfinna dessa organismer i kondensvattnet och i själva gasen genom att fånga fagera genom bubbling av gas genom peptonvatten.

I kondensvattnet från anläggning 2 återfanns fager vid punkt K3 motsvarande en koncentration på 1 pfu/ml. Detta indikerar att det är troligt att vi kan återfinna även humana virus i kondensvattnet från dessa system. Inga virus var möjligt att återfinna i själva gasen. En av de främsta anledningarna till detta var troligen att för små mängder gas undersöktes. Undersökningen genomfördes totalt på 2 m³ gas varav endast 1 m³ uppgraderad gas vid punkt G2. Det troliga är att förhållandet mellan antalet virus i gasen förhåller sig till antalet fager i kondensvattnet på samma liknande sätt som övriga mikroorganismer. Fördelningen mellan kondensvatten före torkning och antalet organismer i gasen motsvarade ungefär 1000 cfu/ml i kondensvattnet var 1cfu/m³ i gasen. Därigenom hade det krävts att avsevärt större kvantiteter gas hade undersökts för ett positivt provresultat.

Övrigt kring mikroorganismer från undersökta biogassystem

Legionella

Undersökning av legionellabakterier genomfördes på kondensvattnet från de tre undersökta anläggningarna. I anläggning 1 undersöktes kondensvatten från punkt K1 och punkt K3. I anläggning 2 undersöktes kondensvattnet från punkt K1 och punkt K3. Kondensvattnet från anläggning 3 var samlat i punkt K1. I inget av de undersökta kondensvattnen var det möjligt att återisolera *Legionella sp*. Även om inte *Legionella sp* var möjlig att återisolera betyder det inte att förekomst kan uteslutas.

Kultiverbara mikroorganismer

De mikroorganismer som har isolerat från ledningssystemet under denna studie ger en indikation för vilka mikroorganismer man kan förvänta sig i biogasledningssystemet. Både från anläggningar som använder skrubberteknik för uppgradering av biogasen samt för rågasen från mesofil rötning av pastöriserat bioavfall och opastöriserat avloppsslam.

Undersökningen av mikroorganismer har främst fokuserats på aeroba och fakultativt aeroba mikroorganismer. Anledningen till denna fokusering är att målet med denna studie var att värdera risken för smitta från hanteringen av biogas. De mikroorganismer som är odlingsbara på dessa specifika medier motsvarar ett urval av de organismer som eventuellt skulle utgöra en risk för de personer som arbetar med och använder gasen. Förekommande anaeroba mikroorganismer är inte specifikt patogena organismer och kan heller inte specifikt användas som modell för andra patogena organismer. Därför undersöktes endast förekomsten av dessa mikroorganismer i denna studie.

Även om mikroorganismer förekommer som en del i paletten av organismerna i ett system är det inte säkert att de går att odla på de odlingsmedier som använts i under dessa studier. De olika mikroorganismer som finns i det undersökta systemet växer olika bra under de förutsättningar som erhållits under studien. Detta kan leda till att vissa organismer konkurreras ut av andra organismer som vid undersökningstillfället växer bättre (Zhu mfl., 2002). Detta innebär att de undersökningar som genomförts inte ger en fullständig reflektion av den population som kan förekomma i biogasledningssystemet och att det därmed inte går att utesluta alla organismer som inte hittats i systemet. Ett alternativ är att genomföra PCR baserade undersökningar som är avsevärt känsligare för förekomst av mikroorganismer. När man genomför den typen av studier är det dock inte möjligt att avgöra om organismerna är viabla eller inte. Därför valdes de metoder som använts i denna studie då riskvärderingen baserar sig på risken för patogener.

Preliminär riskvärdering

Riskvärdering

En systematisk genomgång av systemet för att kartlägga smittspridningsriskerna har gjorts i form av en kvalitativ riskvärdering. Avgörande för vilka risker som föreligger är främst förekomsten av patogener i de olika materialströmmarna i systemet och i vilken omfattning individer kan komma i kontakt med dessa strömmar. I dessa studier har endast opportunt patogena organismer identifierats. Dessa organismer har då använts som modell för liknande patogena organismer som antas förekomma eller dyka upp i biogashanteringssystemet. Generellt är dock att koncentrationen av mikroorganismer i gasen från biogasanläggningarna är låg och att risken för smitta därmed generellt sett är låg.

Patogenförekomst

Förekomsten av patogener i systemet beror på vilket material som behandlas i rötkammaren och eventuellt annat material som tillförs systemet. I system 1 rötas en blandning av hushållsavfall, gödsel, organiskt industriavfall etc. i en separat rötkammare. Materialet som tillförs denna rötkammare pastöriseras under en timme i 70°C, enligt krav i EG-förordningen, innan det förs in i själva reaktorn. I alla tre undersökta anläggningar finns en andra rötkammare där slam från avloppsreningsverket rötas. Gasen från dessa två system leds sedan samman till en gemensam ledning. Båda rötkamrarna är mesofila reaktorer med en rötningstemperatur på ca 35-40°C. Samtliga inkommande fraktioner kan innehålla patogener,

men pastöriseringen av inkommande material till röt-kammaren för bioavfall (figur 1, 2) innebär att endast sporbildande mikroorganismer kan tillföras röt-kammaren med det ”färska” materialet. En genomgång av möjligt förekommande patogener i röttningsanläggningar finns i Åström mfl. (2005, RVF-rapport 2005:11).

Genom att system med rötning av avloppsslam ingår finns det risk för att patogena mikroorganismer från slammet tillförs biogassystemet. För en genomgång av patogener i avloppsvatten och slam hänvisas till en rapport publicerad av Naturvårdsverket (NV, 2003) och till Schönning och Stenström (2004) samt genomgången av förekomst av *Salmonella* sp i avloppsslam av Sahlström m fl. (2004). Utöver detta är det möjligt att patogener t o m tillförs via luften, speciellt viktigt är detta i system 1 där stora mängder luft används för regenerering av skrubbervattnet.

Sammansättningen på materialet som rötas i system 2 är liknande det som rötas i system 1, med rötning av hushållsavfall kombinerat med animaliska biprodukter kategori 3 och andra organiska industriavfall. Till uppgraderingen av gasen är även avloppsreningsverkets gasproduktion från avloppsslam ansluten. Båda reaktorerne är även i detta system mesofila och drivs vid en temperatur på 35-40°C. Till uppgraderingen av gasen används utgående avloppsvatten i skrubbern, vilket innebär att tarmpatogener kan tillföras. Detta gäller trots att avloppsvattnet som används är behandlat eftersom dagens avloppsvattenrening inte är optimerad för att reducera mikroorganismer och det finns inga krav på vilka halter det får innehålla.

De mikroorganismer som påvisats listas i tabell 1-5. Halterna varierar mellan 10^0 - 10^4 cfu/ml i kondensvattenproverna (K1-3) (tabell 1-4) och mellan 10^1 - 10^2 cfu/m³ i gasproverna (G1-3) (tabell 5). Som nämnts ovan är det inte säkert att alla typer av organismer fångats upp i analyserna pga. det urval som gjorts. Ett relativt brett spektrum av organismer har dock påvisats. Inga av dem är direkt patogena men flera är så kallade opportunister som kan infektera individer med nedsatt immunförsvar. Många av dessa är dock naturligt förekommande i miljön och inte specifika för biogassystemen. Att halterna kan vara så pass höga beror troligen på den bildning av biofilm i ledningar och på fyllnadsmaterial i skrubbern som diskuterats tidigare, där bakterier och svampar kan tillväxa om förhållandena är gynnsamma. Tarmpatogener, som vanligtvis orsakar gastroenterit (infektion och symtpom i mag-tarmsystemet), har dock inte påvisats. Däremot påvisades bakterierna *C. perfringens*, *E. faecalis*, samt *E. coli*, vilka är naturligt förekommande i tarmen hos människor (och andra varmblodiga djur). Detta betyder att tarmpatogener skulle kunna förekomma i de undersökta strömmarna (gas och kondensvatten). Vissa patogener är tåligare än dessa naturligt förekommande bakterier, medan andra kan vara känsligare. Vid infektion kan en individ utsöndra stora mängder av en patogen, men eftersom ursprungsmaterialet är en blandning från många olika källor skulle fekalier/gödsel från sjuka individer spädas ut. Detsamma gäller avloppsvattnet som används i processen, vilket betyder att en förekomst av indikatorbakterier är förväntad, medan halterna av patogena tarmorganismer troligen är låga.

Även om opportunistiska patogener påvisats i olika strömmar och andra sjukdomsframkallande mikroorganismer teoretiskt skulle kunna finnas i kondensvattnet och gasen har systemets utformning, så som de ser ut, en viss påverkan på förekommande mikroorganismer. Framförallt är det torkningen som skulle kunna reducera antalet mikroorganismer, förutom sporer, eftersom de är beroende av en viss fukthalt för att överleva. Den minskade fukthalten i gasen leder även till en minskad förekomst av mikroorganismer i gasen eftersom vattnet gör att mikroorganismerna har det enklare att följa med gasen. Endast förbehandling och röttningsprocessen i sig sker vid så pass höga temperaturer att det har någon reducerande effekt på tillförda mikroorganismer. Används biogasen till fordonsbränsle komprimeras den dock vid höga temperaturer så som beskrivs nedan. Dessutom är det krav på att använda

partikelfilter på 1 µm vid tankning (för att undvika föroreningar med smutspartiklar etc.), vilket betyder att endast mindre mikroorganismer som virus och sporer kan passera.

I system 1 uppgraderas den utgående biogasen genom tvättning i en skrubber där skrubbevattnet cirkuleras till en desorptionsanläggning där koldioxiden drivs av med luft. Efter att koldioxiden drivits av återanvänds vattnet i skrubbern. Vanligen eftersträvas en så låg vätsketemperatur som möjligt för att öka lösligheten av koldioxid, normalt håller vattnet i skrubbern ca 15°C. Därefter torkas gasen ned till en daggpunkt på <-80°C, vilket även innebär att antalet mikroorganismer minskas rejält. Minskningen beror främst på att mängden vatten som även kan transportera mikroorganismer minskar. Slutligen komprimeras gasen upp till ca 200 bar, komprimeringen genomförs stegvis. Under komprimeringen höjs gastemperaturen kraftigt under en kortare period, vilket gör att viss del av de känsligare organismerna inaktiveras. Generellt brukar gasen under tryckstegringen nå temperaturer på upp emot 100°C vid varje tryckstegring. Denna upprepade temperaturhöjning har troligen en stor reducerande effekt på mikroorganismerna som förekommer i gasen.

I system 2 uppgraderas den utgående biogasen genom absorption av koldioxid i en skrubber där skrubbevattnet passerar kontinuerligt. Uppgraderingsanläggningen är placerad på avloppsreningsverket och det utgående avloppsvattnet används för uppgradering av gasen.

För system där gasen inte direkt användas till fordonsbränsle sker komprimeringen endast till avsevärt lägre tryck. Många system är inkopplade, eller planerar att koppla in sig, på närliggande naturgasnät för att kunna utnyttja redan befintlig infrastruktur och för att kunna garantera kontinuerlig gastillgänglighet. Dessa ledningssystem håller olika tryck beroende på systemets storlek. De större matarsystemen håller ca 16 bar medan de mindre stadsgasnäten håller ett tryck på 2-4 bar (Wågdaahl, 1999). Det lägre behovet av trycksättning medför även en minskad uppvärmning av gasen innan den distribueras.

I alla de undersökta systemen finns det möjlighet att en biofilm byggs upp på insidan av ledningarna, vilket visats i tidigare studier (Tynell, 2005). Mätningar av förekomsten av biofilm i ledningssystemet genomfördes inte under denna studie. I stället undersöktes ledningssystemet genom att det bildade kondensvattnet eftersom detta reflekterar de mikroorganismer som återfinns i ledningssystemet.

Det finns främst två källor till mikroorganismer som kan kolonisera biofilmen i ledningssystemet för hanteringen av biogas. Den första källan är vätska som kommer in i ledningssystemet antingen från själva reaktorn eller från skrubbern. Den andra källan är mikroorganismer som följer med gasen som är mättad med vätska från själva reaktorn till ledningssystemet. Hur väl mikroorganismerna kan transporteras med gasen vet vi inte så mycket om men förstudien av provtagningsmetodiken visar att fuktmättad gas som håller ca 40°C kan transportera stora mängder mikroorganismer (figur 5) samt att undersökningarna av den torkade gasen som visar att det förekommer 10-100 cfu per m³ gas (tabell 5).

Exponeringsvägar

För att förekommande patogener ska innebära en reell risk för infektion och/eller sjukdom krävs att en individ (människa eller djur) exponeras för dessa patogener. Exponering kan sägas bestå i både den mängd material en individ får i sig genom en viss exponeringsväg (exempelvis ett antal deciliter vatten per dag genom att dricka kranvatten) och det antal patogener som finns i detta material. Tillsammans ger det ett intag av ett visst antal patogener (en dos) som antingen är tillräcklig eller inte för att orsaka infektion/sjukdom. Hur stor dos som krävs för att orsaka hälsoproblem beror på typ av organism och världens mottaglighet (känslighet). För ett antal patogener finns s.k. dos-respons modeller där ett matematiskt

samband mellan antalet intagna patogener (dosen) och sannolikheten för att bli infekterad (responsen) har tagits fram. Detta har gjorts genom försök på frivilliga, friska individer.

Mögel och andra svampar har påvisats i gas och kondensvatten. Dessa organismer påverkar ofta individer genom att ge allergiska besvär som drabbar luftvägarna, Toxiner (exotoxiner, endotoxiner) produceras av bakterier och kan orsaka symptom utan att infektion föreligger. Endotoxiner som är en beståndsdel av Gram-negativa bakteriers yttre membran har t ex förknippats med hälsoproblem vid avloppsreningsverk. Endotoxin påvisades i prov från punkt K3.

Exponeringen för gas i systemen kan ske genom läckor, samt vid oavsiktliga mindre utsläpp som kan förekomma vid arbeten på systemet. Dessutom beräknas att maximalt kan upp till 5 cm³ gas släpps ut till omgivande luft i samband med tankning av fordon. Detsamma gäller för mängden gas som släpps ut i gasspisar i samband med antändningen av spisen. De flesta pisar är numera självtändande varför gasutsläppen är mycket små.

Den andra strömmen är kondensvattnet. Detta vatten hanteras dock i ett slutet system och kontakt sker endast i samband med service och andra arbeten med den processtekniska utrustningen. Detsamma gäller för kontakten med vattnet som används i skrubbern i system 1 där det cirkuleras, och samma sak gäller för hanteringen av det bärarmaterial som finns i skrubbern.

Generellt kan biofilm leda till exponering för en större mängd patogena mikroorganismer (om sådana finns närvarande), genom att bitar av filmen lossnar (s.k. sloughing). Att en större mängd material skulle följa med biogasen är dock mindre sannolikt, medan de skulle kunna hamna i kondensvattnet. Några patogener har som nämnts ovan inte isolerats varför det inte är möjligt att uppskatta någon dos. För de opportunistiska patogenerna finns inga klara samband mellan exponering/dos och möjlig infektion.

En preliminär kvantifiering av antalet mikroorganismer vid de olika provpunkterna har gjorts för kondensvattnet samt för gasen. Mätningarna som genomförts i detta projekt har visat att man kan förvänta sig 10-100 cfu per m³ gas. Om sammansittande kluster av mikroorganismer transporteras med gasen är detta svårt att mäta med denna metod. Detta gör att större grupper av organismer kan ha lossnat från biofilmen och leda till punktföroreningar. Större kluster har dock svårare att transporteras med gasen längre sträckor eftersom ju större partiklar desto snabbare sedimentering av partikeln.

Då de flesta identifierade mikroorganismerna är opportunister innebär det att normalt friska individer inte utsätts för någon betydande risk även om de skulle få i sig gas eller kondensvatten. De exponeringsvägar som kan tänkas förekomma alternativt de som är kopplade till provpunkterna sammanfattas i tabell 6.

Tabell 6, Sammanfattning av exponeringen för olika patogener i system 1 och 2

Provpunkt	Möjlig exponering	Personer som exponeras	Patogener identifierade	Kommentar
K1	Oavsiktligt intag genom stänk eller liknande.	Arbetare på anläggningen	Endast opportunister (tabell 1)	Slutet system. Kondensvattnet leds till avloppsrening.
G1	Inandning vid gasläckage eller underhåll	Arbetare på anläggningen		Obetydliga gasläckage. Vid underhåll är systemet avstängt.
K2	Oavsiktligt intag genom stänk eller liknande, vid t ex underhåll av skrubber.	Arbetare på anläggningen	System 2 håller en större risk för patogener från avloppsvatten. Endast opportunister (tabell 1)	Slutet system. Kondensvattnet leds till avloppsrening. Viss kontakt möjlig via skrubbevatten och dess bärmaterial vid underhåll.
K3	Oavsiktligt intag genom stänk eller liknande.	Arbetare på anläggningen		Slutet system. Kondensvattnet leds till avloppsrening.
G2	Inandning av gas	Arbetare på anläggningen		Obetydliga gasläckage. Vid underhåll är systemet avstängt.
Användning av gasen som fordonsgas	Inandning av gas vid slutanvändning	Personer som tankar	-	Krav på användning av partikelfilter gör att endast virus och sporer kan exponeras. Återsug – minimalt gasutsläpp.
Gas som introducerats till naturgasnät (stadsgas)	Inandning vid slutanvändning Inandning vid arbeten på nätet Annan användning av gasen	Boende (allmänheten) Arbetare på ledningsnätet		Endast små mängder gas släpps ut. Genom att kräva samma standard med partikelfilter som för fordonsgas kan alla patogener förutom sporbildare och virus avlägsnas.

Andra möjliga risker i samband med systemet

Legionella uppmärksammas som ett problem i fler och fler tekniska system, nu senast i bioreningsdammar i Sverige och i skrubbrar vid industrianläggningar i Norge. Legionella är en naturligt förekommande bakterie som kan tillväxa vid 18-45°C och tillväxten gynnas av den biofilm som finns i t ex vattenledningsrör. Infektion kan ske vid inandning av aerosoler och resulterar i svår lunginflammation. Ytterligare provtagningar av biogassystem skulle kunna vara intressant om det är möjligt att personer exponeras för aerosoler/vattendimma. Legionella kan därför förekomma i dessa system och uppmärksamhet vid hantering och utsläpp av gas/aerosoler från skrubbersystemet kan vara nödvändig.

Vissa mikroorganismer har diskuterats i samband med risk för terroristhandlingar. Genom att gasen används av en stor del av allmänheten skulle en vid spridning av patogener teoretiskt

kunna ske. I jämförelse med andra system, exempelvis klimatanläggningar och dricksvattensystem är effekten dock liten och sannolikheten för att katastrofscenario anses låg.

I jämförelse med andra risker som kan vara förknippade med biogassystem är slutanvändningen av gasen troligen minimal. Risken vid kontakt med materialet i anläggningen är större eftersom det då genomgått en lägre grad av behandling. I system för avloppsvattenrening med utsläpp av utgående vatten i en sjö och användning av slammet i jordbruk visades att det var arbetarna på reningsverket som utsattes för den största risken (Westrell mfl. 2005). Motsvarande skulle kunna gälla för systemen som undersökts i denna rapport, men risken för arbetarna skulle i jämförelse vara betydligt lägre eftersom det är renare strömmar än (obehandlat/delvis behandlat) avloppsvatten de utsätts för. Dessutom är det ett betydligt mer slutet system och enligt processkunniga är det mycket sällan risk för att arbetare exponeras. Majoriteten av mikroorganismerna i rötkammaren kommer att finnas kvar i rötresten och inte transporteras via gasen. Detta innebär att riskerna vid hanteringen och användningen av rötresten skulle vara betydligt större än hanteringen av biogasen och bildat kondensvatten. Riskerna med rötrest har nyligen beskrivits av Åström et al. (2005), och bedömdes då som små vid fungerande behandlingsprocess.

Lämpligheten att tillföra biogas till gasledningsnät avsedda för naturgas har diskuterats, bl a med avseende på hygienfrågan. Som beskrivits ovan analyserades naturgas i jämförande syfte och även i denna påvisades sprobildande mikroorganismer som *Bacillus* sp. Generellt sett var sammansättningen av mikroorganismer och halterna inte mycket annorlunda än vad som påvisades i den uppgraderade biogasen. Analyserar man de olika systemen är det dock en väsentlig skillnad i vad som skulle kunna tillföras via biogas. Föreliggande studie och riskbedömning har dock inte visat att det finns anledning att undvika biogas på naturgasnätet. Sannolikheten för tillväxt i gasledningarna är låg eftersom de håller marktemperatur.

Om övriga risker med användning av gas som sådan skulle bedömas är sannolikheten för infektion troligen lägre än gasförgiftning, explosionsrisk och liknande. De låga halter bakterier som uppmäts motsvarar att en så pass stor mängd gas måste intas att förgiftningsrisken överskuggar infektionsrisken.

Sammanfattande diskussion riskvärdering

Risken för infektion av personer som kommer i kontakt med (exponeras för) gasen som produceras eller kondensvattnet beror på

- vilken koncentration av patogener som finns i materialet
- vilken mängd material (vätska eller gas) som intas eller inandas
- personens mottaglighet för att bli infekterad

Tabell 6 ovan illustrerar dels att förekomsten av patogener inte kunnat konstateras och att exponeringen för gas och kondensvatten är så låg att en patogenförekomst troligen inte hade inneburit några betydande risker. Erfarenhetsmässigt har projektgruppen bedömt de hygieniska riskerna med biogassystem som små, men man kan aldrig påstå att riskerna är helt obefintliga. För att på ett systematiskt sätt förmedla informationen har systemet därför beskrivits stegvis och olika scenarier har fått illustrera hur vi kan förhålla oss till potentiella risker.

Ingående material till rötkammaren påverkar möjlig förekomst av patogener i gasen och vid förändringar i materialsammansättning kan man behöva ta hänsyn till detta. Det bör dock poängteras att riskerna kopplade till rötresten i förekommande fall är betydligt större. Material

som kategoriseras till en högre kategori med avseende på risk för smittspridning, ska dock behandlas vid högre temperatur. I de undersökta systemen behandlas materialet som ska rötas vid 70°C under en timme, vilket ger en effektiv avdödning av de flesta patogener och sannolikheten att de transporteras vidare i systemet via gasen är låg. Tillförsel av biogas från rötning av avloppsslam och användningen av avloppsvatten som skrubbevatten ger i jämförelse en betydligt större möjlighet att tarmpatogener tillförs systemet.

En kartläggning av förekommande mikroorganismer i gasen och kondensvattnet har gjorts genom provtagning, uppodling och identifiering. De flesta organismer som identifierats är så kallade opportunistiska patogener, dvs. de kan i huvudsak orsaka infektion och sjukdom hos individer med nedsatt immunförsvar. De ingående flöden från avloppsvattensystem (till system 1 och 2 samt användningen av renat avloppsvatten som skrubbevatten i system 2) innebär dock att diverse olika tarmpatogener kan förekomma i systemet. Några av de bakterier som har identifierats är sådana som naturligt förekommer i tarmen, och de kan därför sägas vara indikatorer på fekal förorening. Exempelvis clostridier kan dock även förekomma naturligt i miljön och därför tillföras från olika källor. Att tarmpatogener inte identifierats beror antingen på att förekomsten trots allt är så låg att de inte identifierats bland övriga organismer, att de är obefintliga eller att de inte kunnat odlas upp på de substrat (plattor) som använts.

Påträffade mikroorganismer kan även härröra från rötammaren som drivs vid ca 37°C. Även om ett föregående behandlingssteg reducerar förekommande patogener (undantaget sporbildare) till obetydliga nivåer (exempelvis 1 timmes upphettning till 70°C), kan patogener då tillföras materialet som rötas. Utspädningsfaktorer bör dock resultera i att denna tillförsel är av liten betydelse. Man kan också tänka sig att en tillväxt sker i systemet, men ytterligare undersökningar skulle behövas för att bekräfta detta och utreda om det innebär någon väsentlig risk. Att en biofilm bildas i rörledningar och på fyllnadsmaterial i skrubbern har tidigare visats (Zhu mfl., 2003, Tynell, 2005). Den behandling som gasen utsätts för vid torkning resulterar troligen i en väsentlig reduktion av eventuellt förekommande mikroorganismer. Att den färdiga gasen innehåller patogener i betydande mängder är således osannolikt. Studierna av de olika gaserna påvisar ungefär samma mängd mikroorganismer i gasen oavsett vart i systemet som undersökningen genomförts. En exemplifiering kan göras genom att ta hänsyn till de halter av bakterier på 10^1 - 10^2 cfu/m³ gas som påvisats och jämföra de med halter på 10^4 - 10^5 cfu/ml kondensvatten.

Upphettningen vid komprimeringen av fordonsgas samt användningen av partikelfilter minskar ytterligare riskerna vid användning. För att vara än mer på den säkra sidan skulle man kunna tänka sig att rekommendera partikelfilteranvändning för all gas. Även om en porstorlek på 1 µm tillåter sporer och virus att passera förekommer ofta mikroorganismer i aggregat, med varandra eller andra partiklar. Som redan diskuterats är sannolikheten för betydande mängder patogener i färdig gas låg och ett partikelfilter skulle utgöra en ytterligare barriär med dels en hygienisk funktion men även kunna vara gynnsam ur andra användningsaspekter eftersom antalet oönskade partiklar och eventuell olja från kompressorer hålls borta från systemet.

En kvantitativ riskvärdering med uppskattningar/beräkningar av dosen personer kan utsättas för och i senare led beräkning av sannolikheten för infektion har inte gjorts inom ramen för denna studie. Anledningen är dels att uppskattningarna av systemens patogenreducerande effekt är svårbedömd, dels att det saknas så kallade dos-respons modeller för de opportunistiska patogener som identifierats, vilka behövs för beräkning av risken för infektion.

Sammanfattningsvis kan riskerna för sjukdomsfall orsakade av producerad (renad och torkad) biogas bedömas vara låg. Risken relaterad till hela systemet är till stor del beroende av

hantering av de olika strömmarna (kondensvatten mm) och procedurer för drift och underhåll. Troligen utgör eventuell exponering för teknisk personal den största risken. Denna grupp kan dock identifieras och på ett enkelt sätt informeras om möjliga risker och hur dessa kan begränsas. Ett katastrofscenario så som diskuterats ovan kan aldrig uteslutas, men bör inte utgöra ett hinder för implementering av biogasanläggningar eftersom gasen bär med sig så liten koncentration mikroorganismer att risken för smitta i det närmaste är obefintlig.

Biogas producerad i de två undersökta anläggningarna anses tillräckligt hygieniskt säker för att kunna användas t o m i köksspisar. Denna slutsats bygger dels på en erfarenhetsmässig bedömning av biogassystem och på de resultat som erhållits i denna studie.

Diskussion

Oavsett vilken typ av gasledningssystem som används verkar det som att man får förvänta sig att det byggs upp en biofilm i systemet. Detta visas av den stora förekomsten av mikroorganismer i kondensvatten som samlats in från olika delar av biogashanteringens ledningssystem. Undersökningar av gassystem för naturgas har visat på ett vitt spektra av olika organismer, bland annat påvisades flera olika organismer, både bakterier och svampar, motsvarande 10-100 cfu/m³ naturgas. Andra undersökningar av bildandet av biofilm på material introducerat i gasledningssystemet har visat på en mycket stor variation av mikroorganismer (Zhu mfl., 2003). Tyvärr har det inte varit möjligt att korrelera undersökningarna av naturgas i denna studie mot resultaten från studien av Zhu mfl. (2003), eftersom det i denna studie inte varit möjligt att identifiera alla förekommande mikroorganismer då de metoder som använts inte är direkt anpassade för miljömikroorganismer utan för att identifiera patogena organismer. Dessutom är resultaten i studien Zhu mfl. (2003) av så låg kvalitetsgrad att de själva inte kan identifiera vilka organismer som kan härledas till biofilmen och vilka som kan härledas till laboratoriekontamination.

Kravet kring reningen av fordonsgas med avseende på olja och på partikelförekomst gör att man i dagsläget rekommenderar att man använder ett filter med en nominell porstorlek på 1µm. Denna typ av filter avlägsnar inte bara partiklar och oljeemulsioner utan även den största andelen förekommande bakterier (vanligen >1µm) och svampar (vanligen >2µm). Däremot avlägsnar dessa filter inte virus och sporer. Genom att använda finare filter skulle det vara möjligt att även kunna komma avlägsna dessa organismer från gasen. Ett finare filter skulle dock vara mer energikrävande eftersom minskad porstorlek leder till ökat tryckfall över filtret.

Lång uppehållstid i reaktorn verkar även det vara en faktor som reglerar förekomsten av aeroba mikroorganismer i ledningssystemets biofilm. Anledningen till detta är skillnaden i förekomst av mikroorganismer i de två system med kort uppehållstid kombinerat med inkommande pastörisering, totalt ca 10⁵ cfu/ml jämfört med inga funna aeroba organismer alls i ett system där det inkommande materialet inte pastöriserades kombinerat med att utgående avloppsvatten används för ställning av materialets TS. Det troliga är att ett system med lång uppehållstid får en så låg re-doxpotential att inte fakultativt anaeroba mikroorganismer överlever processen.

Den största risken för att få in patogener som koloniserar i en biogasanläggning är genom ympen som används för att starta upp anläggningen. Detta har visats tydligt i undersökningarna av rågasens kondensvatten där tarmflora (tex. *Enterococcus* sp) har identifierats. Genom att allt ingående material pastöriseras skall det inte vara möjligt att introducera denna typ av organismer till röt-kammaren annat än med ympen vid

uppstartningen av anläggningen. Den ymp som används för att starta dessa anläggningar bör därför kvalitetssäkras med avseende på risken för att introducera patogener till rötkammaren. I detta system har ingen anläggning med termofil rötning undersökts. Det troliga är dock att den höga temperaturen i rötkammaren skulle leda till att inga potentiellt patogena mikroorganismer återfunnits i gasen eller i kondensvattnet. Den senare hanteringen i systemet med uppgraderingen av gasen skulle dock vara den samma som för de två undersökta systemen.

Användningen av avloppsvatten som skrubbevatten är en ekonomiskt intressant metod eftersom det i princip innebär fri tillgång på nytt skrubbevatten. Användningen av avloppsvatten har vissa processtekniska nackdelar eftersom det leder till en ökad tillväxt av biofilm på bärarmaterialet i skrubberanläggningen. Dessutom ökar denna användning risken för att sprida patogener med biogasen något.

Om biogasen används till något annat än till energiproduktion direkt på produktionsanläggningen borde den producerade gasen åtminstone behandlas genom att den torkas och sedan filtreras genom ett partikelfilter som motsvarar de krav som ställs på förekomsten av partiklar i fordonsbränsle, dvs 1µm porstorlek. Denna typ av filtrering avlägsnar huvuddelen av alla bakterier och svampar vilka är större än 1µm i storlek. De organismer som kan passera ett sådant filter är virus och bakteriesporer. Samtidigt så är dessa organismer ofta bundna i större kluster av organismer, partiklar eller till små vattendroppar. Denna bindning till annat material gör det troligt att ett filter med porstorleken 1µm kommer att avlägsna större delen av förekommande virus och sporer. Användningen av ett sådant filter skulle introducera en barriär för att introducera eventuella patogener i de system där biogasen används.

Slutsatser

- Relativt höga halter bakterier har påvisats i kondensvatten från biogassystemen
- Uppmätta halter i gasen är betydligt lägre (mellan 10 och 100 gånger lägre antal mikroorganismer per m³ gas än vad som återfinns per ml kondensvatten), men kondensvattnet speglar förekomsten av mikroorganismer i gasen
- Gasen, oavsett om det är biogas eller naturgas för med sig mikroorganismer motsvarande 10-100 cfu/m³ gas
- Patogener kan tillföras systemet via biogas
- Tillförseln av patogener från rötning av avloppsslam borde vara högre, men detta har ej kunnat visas genom analys av rågas
- Att mikroorganismer kan föras vidare med gasen har visats genom laborieförsök
- Användning av avloppsvatten för uppgradering i skrubbrar innebär troligen en större tillförsel av potentiella patogener än biogasen i sig
- En tillväxt av förekommande bakterier kan ske i den biofilm som finns i ledningssystemet
- De mikroorganismer som analyserats är i huvudsak naturligt förekommande i miljön, varav vissa är opportunistiska patogener
- Andra påvisade organismer som svampar samt endotoxiner kan orsaka hälsoproblem men risken anses låg eftersom exponeringen för gas och kondensvatten är liten (systemen är slutna)
- Torkningen reducerar möjligheten för mikroorganismer att finnas kvar i gasen

- De relativt låga halterna organismer i gasen innebär att risken för hygieniska problem är låg
- Vid användning som fordonsgas är riskerna i det närmaste obefintliga eftersom gasen komprimeras vid högt tryck och hög temperatur, samt att ett partikelfilter används och att systemet är designat för minimala gasutsläpp
- Naturgas innehåller motsvarande koncentrationer av mikroorganismer som biogasen
- Biogas kan utan nämnvärda hygieniska risker användas i naturgasnätet/och stadsgasnätet (för användning i t ex köksspisar)
- Ett partikelfilter skulle kunna användas för att ytterligare minska riskerna även vid annan typ av användning

Referenser

- Duckworth, Crandall & Rathe, 2000, Bugs computer program, <http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/intro.html>, updaterad 2000-09-15, besökt 2005-07-05.
- Gerba, C.P., Rose, J.B., Haas, C.N., Crabtree, K.D. 1996 Waterborne rotavirus: A risk assessment. *Water Research* 30(12):2929-2940
- NV. 2003. Risker för smittspridning via avloppsslam – Redovisning av behandlingsmetoder och föreskrifter. Rapport 5215, Naturvårdsverket, Stockholm.
- Ottosson. 2005 Comparative analysis of pathogen occurrence in wastewater. PhD thesis. KTH Stockholm
- RVF. 2005. Smittspridning via kompost och biogödsel från behandling av organiskt avfall – Litteratursammanställning och riskhantering. RVF Utveckling 2005:11.
- Sahlström, Aspan, Bagge, Danielsson- Tham & Albiñ. 2004. Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants, *Water Research*, 38:8, s 1989-1994
- Schönning, C. & Stenström, T.A. 2004. Guidelines for the safe use of urine and faeces in ecological sanitation systems. Rapport 2004-1, EcoSanRes, SEI, Stockholm.
- Stern, Krishnakumar, Charati, Amato, Friedman & Fuess Performance of a bench-scale membrane pilot plant for the upgrading of biogas in a wastewater treatment plant *Journal of Membrane Science*, 151:1, s 63-74.
- Stryjewski & Patel, 2003, Selective decontamination of digestive tract in intensive care. *The Lancet*, Volume 362:9401, s 2118
- Todar 2005. The textbook of bacteriology. <http://www.textbookofbacteriology.net/> besökt 2005-07-05.
- Tynell, 2005. Microbial Growth on Pall-rings – A problem when upgrading biogas with the technique absorption with water wash. Rapport 610408, Svenska biogasföreningen, ISSN 1651-5501.
- Westrell, 2004. Microbial risk assessment and its implications for risk management in urban water systems. Linköping Studies in Arts and Science No 304, PhD thesis, Linköpings Universitet, Linköping.
- Vinnerås, 2004. Tufft mål för matresterna. I *Sopor hit och dit – på vinst och förlust*. Redaktör Birgitta Johansson, Formas Fokuserar, Formas, Stockholm, s 163-172.
- Wågda, 1999. Distribution av biogas i naturgasnätet, Rapport SGC 101, Svenskt Gastekniskt Center, Malmö.
- Zhu, Lubeck & Kilbane, 2003, Characterization of Microbial Communities in Gas Industry Pipelines, *Applied and Environmental Microbiology*, 69:8, p. 5354–5363.

Åström, Schönning, & Stenström. 2005 Smittspridning via kompost och biogödsel från behandling av organiskt avfall – litteratursammanställning och riskhantering. RVF rapport 2005:11. RVF Lund.