

Patogene bakterije u sirovini i digestatu pri proizvodnji bioplina

Sažetak

Proizvodnja bioplina iznimno je važna u ciklusu održivog korištenja agrarne biomase i organskog otpada životinjskog podrijetla kao obnovljivog izvora energije na poljoprivrednom imanju. Biokemijski proces anaerobne digestije (AD) u proizvodnji bioplina može značajno pridonijeti povećanju sanitarne kakvoće digestata u odnosu na sirovi stajski gnoj. Ovaj rad uspoređuje prisutnost četiriju vrsta patogenih bakterija u uzorcima svježeg stajskog gnoja s primjesama biljne ili industrijske sirovine u odnosu na digestat nastao anaerobnom digestijom u bioplinom postrojenju Mala Branjevina 2. s područja sjeveroistočne Slavonije. Uzorci sirovine uzeti su prije, a uzorci digestata nakon procesa anaerobne fermentacije. U obje faze uzorkovanja radi se o sirovini približno istog kemijskog sastava: 80% goveđeg gnoja, 15% biljnog materijala i 5% industrijskog otpada prehrambene industrije. Rezultati istraživanja potvrdili su pretpostavku o znatno više očekivanih patogenih bakterija u svježem stajskom gnoju u usporedbi s digestatom koji je sanitarno gotovo sterilan, a time i zdravstveno sigurniji za ljude.

Cljučne riječi: organski otpad, anaerobna digestija, digestat, bakterije

Uvod

U doba energetske krize trebalo bi se što više okrenuti vlastitim nacionalnim resursima da bi se skupa, uvozna fosilna goriva postupno i sve više zamjenjivala obnovljivim izvorima energije. To uključuje i biogoriva: biodizel, bioalkohole i bioplin, koji se dobiva iz organskog otpada animalnog i biljnog podrijetla. Na površini Zemlje godišnje nastaje 150-170 milijardi tona suhe biljne mase (Špicnagel i sur., 2014.).

Kako nastaje ta ogromna količina bilja? Poznato je da biljke fotosintezom zadovoljavaju svoje potrebe za ugljikom postupkom asimilacije anorganskog ugljika iz ugljikovog (IV) oksida CO₂ sastojka zraka. Sva ostala živa bića trebaju za život organski vezani ugljik koji heterotrofne biljke, odnosno bakterije, ponovno prevode iz organskog u anorganski ugljik u obliku CO₂ i metan CH₄, glavnim sastojcima bioplina (Al Seadi i sur., 2008., Shih i sur., 1985.) Dakle, bakterije su ta neizostavna karika u prirodnim procesima kružnog toka ugljika kojima se stalno nadopunjavaju atmosferske zalihe anorganskog ugljika u obliku CO₂. Biokemijski proces fotosinteze u zelenim biljkama ima ogromnu važnost za život jer se u njemu Sunčeva energija u kemijskoj reakciji vode i atmosferskog plina CO₂, memorira u biomasu. Pri tome se odvijaju biokemijski procesi prikazani jednadžbama kemijskih reakcija:



Za stvaranje organski vezanog ugljika u 1 kg biljne mase potrebno je oko 16,75 MJ energije, a 150 milijardi tona suhe biljne mase sadrži u sebi 2,512.5 x 10⁹ J energije, što je ogroman, uglavnom neiskorišteni svjetski, godišnji energetska potencijal (Kalambura i sur., 2011.). Spomenuta biljna masa kao i organski otpad životinjskog podrijetla izvrsne su sirovine za tehnološki postu-

¹ Sonja Raić Bistrović, mag. educ. chem., Medimursko veleučilište u Čakovcu, Bana Josipa Jelačića 22a, 40000 Čakovec, Hrvatska, sbistrovic@gmail.com

² dr. sc. Silvija Zeman, dipl. ing. agr., Medimursko veleučilište u Čakovcu, Bana Josipa Jelačića 22a, 40000 Čakovec, Hrvatska, szeman@mev.hr

³ Krunoslav Tomljenović, dipl. ing. agr., voditelj PC Biopliniska postrojenja, Novi Agrar d.o.o., Đakovština 3, 31 000 Osijek, Hrvatska, krunoslav.tomljenovic@zito.hr

⁴ prof. dr. sc. Ana Vovk Korže, Univerza v Mariboru, Filozofska fakulteta, Koroška cesta 160, 2000 Maribor, Slovenija, ana.vovk@um.si

pak anaerobne digestije (AD) proizvodnje bioplina, što je anaerobno-alkalni višeslojni mikrobiološki proces razgradnje biopolimera uz prisutnost najčešće četiriju kultura bakterija. Zbog strogih uvjeta anaerobnosti, fermentacija se odvija u zrakonepropusnom digestoru u četiri povezane procesne koraka (Al Seadi i sur., 2008.). Hidrolitičke bakterije i egzoenzimi koje oni luče, koriste za svoje metaboličke procese hranjenja produkte hidrolize složenih makrobioloških polimera: ugljikohidrata, masti ili proteina. Slično djeluju acidogene, fermentativne bakterije na produkte hidrolize te nastaju još jednostavniji metanogeni spojevi, većinom: acetat CH_3COO^- , ugljikov (IV) oksid CO_2 i vodik H_2 , a manjim dijelom molekule hlapljivih masnih kiselina i alkohola, te sulfidi i amonijak, nepoželjni nusprodukti. Produkti acidogeneze pomoću acetogenih bakterija prelaze u manje molekule: acetat (najčešće octena kiselina), vodik i ugljikov dioksid. Ti spojevi prikladni su za transformaciju do metana pomoću metanogenih bakterija. 70% tako dobivenog metana CH_4 nastaje od acetata, a ostatak od 30% iz CO_2 i H_2 .

Osim glavnog produkta biometana, krajnji sporedni produkt postupka AD digestije je digestat, visokovrijedno gnojivo, čija nutritivna svojstva variraju, ovisno o kvaliteti ulazne sirovine. Najbolje ako je to stajski (kravlji) ili pileći gnoj, odnosno gnojnica s točnim postotkom suhe tvari, u određenom omjeru sa sirovinom biljnog podrijetla i industrijskog otpada. Mnoge studije bave se utjecajima mineralnih ili organskih gnojiva na kemijska, fizikalna ili mikrobiološka svojstva tla. Mikrobiološka ekologija tla u novije je vrijeme prepoznata kao važan činilac stabilnosti čitavog ekosustava (Anderson, 2003., Chu, 2007., Doran, 2000.). Tekstura, odnosno strukturna formacija tla, acidifikacija, razlaganja organske tvari te biogeokemijsko kruženje ugljika, dušika, fosfora i sumpora direktno ovise o biomasi mikroorganizama. Neki od njih sudjeluju čak u uklanjanju toksina iz zemlje (Pernes-Debuyers i Tessier, 2004.). Osim korisnih bakterija i enzima, potrebnih za AD tretiranje raznovrsnog organskog otpada, u krajnjem produktu - digestatu, kao i u gnojivu, čak i u crijevima stoke te peradi mogu se nalaziti i neki potencijalni patogeni: bakterije, protozoi ili virusi prikazani u Tablici 1.

Tablica 1. Popis najčešćih patogenih mikroorganizama u stajskom gnojju i digestatu

BAKTERIJE	GLJIVICE (FUNGI)	VIRUSI	PARAZITI	OSTALI PROTOZOI CESTODE, NEMATODE
<i>Salmonellae</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Marek's disease Virus (MDV)</i>	<i>Ascaris</i>	<i>Eimeria species</i>
<i>Enterobacterium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Coxsackievirus</i>	<i>Toxocara</i>	<i>Coccidia</i>
<i>Eimeria tenella</i>	<i>Candida</i>	<i>Poliovirus</i>	<i>Toxocaris</i>	<i>Entamoeba</i>
<i>E. coli</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Echovirus</i>	<i>Trichuris</i>	<i>Gardia</i>
<i>Listeria</i>	<i>Mucor</i>			
Sulfitoreducirajuće klostridije (SRK)				
Coliforms				

Slični parametri utječu na opstojnost korisnih kao i patoloških mikroorganizama, iako su neki uvjeti zbujujući. Primjerice u namirnicama koje su bile kontaminirane *E. coli*, patološkim bakterijama, otkriveno je neobično svojstvo njihove opstojnosti na nižim temperaturama i pri nižim pH vrijednostima kontaminirane hrane: jabukovače i tvrde salame. Ti se uvjeti obično smatraju nepovoljnima za bakterije (Potthoff i sur., 2006.). Poznat je slučaj epidemije uzrokovane kontaminiranom jabukovačom čuvanom u hladnjaku. Drugi put zaraze su bile uzrokovane zagađenom tvrdom salamom s visokim sadržajem nitrata, nitrita i soli. Iz toga se može zaklju-

čiti da *E. coli* preživljava dulje u hladnijim uvjetima: do 70 dana pri - 5°C temperaturama, do 56 dana na 22°C, a 49 dana pri 37°C (Jefferey i sur., 1998.). Listerija prirodno živi u biljkama i tlu te slabo fermentiranoj silaži povišenih pH vrijednosti. U izmetu goveda pronađeno je više bakterija tijekom hladnijih mjeseci. Mnogi ljudi i stoka, osobito ovce, nositelji su bakterije Listerije, a posebno u stresnim situacijama kao što su porađanje ili dulji prijevoz. Poznato je mišljenje da je svježe povrće tretirano gnojovkom važan izvor infekcija za ljude. Listerija dobro raste u širokom rasponu temperatura, širokog raspona pH vrijednosti (5-9) te u visokokoncentriranim otopinama soli. Prema Hancocku i sur., 1997. i Potthoffu i sur., 2006. patogeni najrizičniji za infekciju ljudi obično se nalaze u govedem stajnjaku i najčešće se prenose kroz klaonice stoke ili peradi. Najčešći izvori *E. coli* su goveda, dok je najmanja opasnost od infekcije ljudi iz fekalija peradi i ptica. Najrizičnija skupina su junice i telad do 24 mjeseci starosti te ona nedavno odbijena od sise jer mliječno okruženje štiti mladunče. Poznato je da postoji oko 2000 vrsta *Salmonelle*, no samo nekoliko njih uzrokuju bolesti kod stoke ili ljudi. 75% mljekara je pozitivno na fekalne kulture *Salmonelle*. U nekim mljekarama je preko 50% sirovine porijeklom od goveda zaraženih *Salmonelom*. Mali postotak goveda pokupi je tijekom prijevoza kamo dospjeva izmetom prevoženih životinja. Većina fekalija goveda sadrži između 20-50000 CFU *Salmonelle* po gramu gnoja (Jefferey i sur., 1998.). Postoje mnogi drugi izvori *Salmonelle* u mljekarama te osim kontaminirane sirovine prenosioci mogu biti glodavci, divlje životinje i ptice, te voda zagađena najčešće stočnim gnojem. Ta bakterija u stajskom gnoju može opstati u jedva mjerljivim graničnim količinama do 286 dana. Srećom 90% *Salmonelle* reducira se u izmetu u samo 30 dana, a najviše u prva dva tjedna (Himathongkham i sur., 1999.). Hlađenjem mulja produžuje se opstanak *Salmonelle* koji najviše ovisi o umjerenosti temperaturi, ali i izloženosti kisiku O₂ ili pak amonijaku NH₃. Ostali činioci opstanka patogena u gnojivu su tip mulja ili stajskog gnoja, pH vrijednost (visoka ili niska), sadržaj suhe tvari, prisutnost broja i tipa prisutnih patogena te prisutnost drugih mikroorganizama. Općenito na opstanak patogena u okolišu utječe i sunčeva svjetlost te nedostatak vlage (Jefferey i sur., 1998., Hancock i sur., 1997.). Stočni gnoj kao i ljudski feces, gnojnice te mulj često sadrže, kao što je prikazano u tablici 1, bakterije, spore gljivica, ciste protozoa, viruse i najotpornija jajašca parazita. Kroz praksu aplikacije gnojiva na obradivu zemlju isti patogeni mogu kontaminirati okoliš, tlo i površinske vode. Jedno od najboljih rješenja dekontaminacije stočnog gnoja i dobivanja mikrobiološki potpuno promijenjenog, visokovrijednog gnojiva je proces anaerobne digestije (AD) u bioplinskom postrojenju. U protivnom su u opasnosti radnici na farmi stoke, konzumenti kao i same životinje. Na efikasnost anaerobne digestije (AD) najviše utječe nedostatak kisika zbog usporenog razvoja jajašca, ali i potrebno vrijeme i temperatura. Povišenje temperature tako pospješuje uništenje ili samo inaktivaciju jajašca parazita. Fekalne bakterije, uključujući i *Salmonelu*, u cijelosti se reducira u 99,8% procesom AD termofilne digestije, a prosječno 95% u uvjetima mezofilne digestije (Fayer i Reid, 1982., Woollens, 1987.). Slični su podatci i za redukciju patogenih spora *Fungi* u mezofilnim uvjetima, što iznosi 99% u 28 sati. Literaturni podatci variraju od 50-70% redukcije u 24 sata (Shih, 1987.), a prema nekim autorima i 95% nakon završenog procesa mezofilne AD pri 35°C (Klinger i Marchaim, 1987.) U neophodno potrebnim postupcima sanitacije patogeni se uništavaju i drže pod kontrolom. Oni malobrojni preostali su u termofilnim uvjetima teško oštećeni, tako da su čak i spore neinfektivne za mladunčad stoke, dok su u mezofilnim uvjetima oštećenja bila manja. Mikroorganizmi se, nažalost, mogu prilagoditi mutacijama i postati rezistentni što poskupljuje postupke sanitacije, kako u zemljama u razvoju tako i u razvijenim zemljama s većom produkcijom životinjskog otpada zbog intenzivne proizvodnje. Komparacijom količine patogena u životinjskom i ljudskom izmetu neke studije zaključuju da je taj broj približno jednak te odgovara izmetu od 100 grla stoke, odnosno 40 000-50 000 ljudi (Klinger i Marchaim, 1987.). U Kini je već sedamdesetih godina prošlog stoljeća, kao doprinos javnom zdravlju u ruralnim sredinama, postavljen velik broj AD digestora (Shih i Lee, 1985.).

Metode i rezultati

Uzorci ulazne sirovine organskog otpada uzeti su na lokalitetu istočne Slavonije u bioplinском postrojenju Mala Branjevina 2. Sastav krute sirovine je 80% stajski gnoj s 15% stelje i žetvenih ostataka te 5% industrijskog organskog otpada. Šest uzoraka uzeto je na dubini od 0-20 cm iz trenč silosa za sirovinu prikazanih na slici 1. Sirovina se razrjeđivala prije procesa AD do 10% suhe tvari.



Slika 1. Fotografija uzorkovane ulazne sirovine u trenč silosu za sirovinu

Isti je postupak ponovljen i na krajnjem produktu - tekućem digestatu, nakon 5 tjedana fermentacije. Slika 2. prikazuje krajnji produkt AD – digestat iz kojeg je uzet uzorak.



Slika 2. Fotografija uzorkovanog digestata u laguni za digestat

Pri ispitivanju uzoraka sirovine i digestata analizirani su i kalkulirani sljedeći parametri: ukupne anaerobne mezofilne bakterije - Escherichije coli (*E.coli*), Listerije sp., Sulfitoreducirajuće klostridije (SRK) i prisutnost Salmonelle. Postupci brojenja bakterija izvođeni su u duplikatu. Tablica 1. prikazuje rezultate decimalnih logaritama po dva zbrajanja od svakog. Za postupak obrade sirovog stajskog gnoja (koji čini 80 % sirovine, osim žetvenih ostataka i otpadnih industrijskih sirovina) odabrana je mezofilna AD digestija koja je izvršena u bioplinском postrojenju

Orlovac. Postupci su standardizirani za svaku bakteriju zasebno. Uzorci su izvagani, homogenizirani (1-2 minute) te pripremljeni u decimalnim razrjeđenjima. Od 1 ml masene koncentracije 10^{-1} g (0,1g) uzorka dobiveno je razrjeđenje uzorka masene koncentracije 10^{-6} g (0,000001g). 1 ml tako pripremljenog uzorka inokulirano je na površinu cca 2 ml *Clostridium perfringens* agar CLP (za ispitivanje SRK) te je provedena inkubacija, odnosno aerobna kultivacija uzorka u 10 ml TTB ili ALOA (TXB ili XLD i CSA) agar hranjive podloge, ovisno o vrsti ispitivanih bakterija. Vrijeme i temperature inkubacije određene su: za *E.coli* 16 sati/ $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, za *Listeriju* sp. 24 sata/ $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, Sulfitoreducirajuću klostridiju (SRK) 24 sata/ $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ i za ispitivanje prisutnosti *Salmonele* 24 sata pri $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Izvršeni su potvrdni testovi pokretljivosti i bojanja te brojanja kolonija mikroorganizama koje se obavlja po ml ili po g uzorka. Prema broju kolonija na pločama dobiveni su rezultati za četiri vrste ispitivanih patogenih bakterija te su prikazani u Tablicama 2, 3, 4 i 5. Broj patogenih bakterija *Salmonele* nije prikazan zbog minimalnog broja u samo jednom uzorku sirovine, a u digestatu nakon postupka AD nisu niti identificirane.

Tablica 2. Opisni rezultati na ukupno istraženom uzorku

Variable	Descriptive Statistics (ukupan uzorak; n= 12)					
	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Coef.Var.	Standard Error
E.coli/g	130000	20000,0	270000	112610	86,62273	32507,6
Listeria	2896667	220000,0	6200000	2781410	96,02106	802923,9
SRK/g	49000	30000,0	70000	11716	23,91091	3382,2

Tablica 3. Opisna statistika za uzorke sirovine

Variable	Descriptive Statistics (sirovina n=6)					
	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Coef.Var.	Standard Error
E.coli/g	236667	200000	270000	24221,2	10,23431	9888,3
Listeria	5550000	5200000	6200000	350713,6	6,31916	143178,2
SRK/g	58833	50000	70000	6645,8	11,29598	2713,1

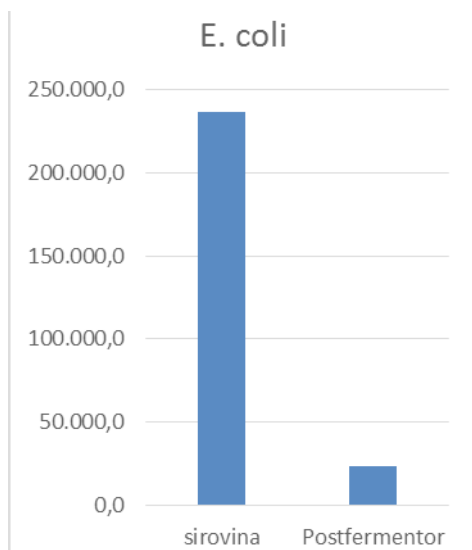
Tablica 4. Opisna statistika za uzorke digestata MB2 Postfermentor

Variable	Descriptive Statistics (MB2 Postfermentor n=6)					
	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Coef.Var.	Standard Error
E.coli/g	23333,3	20000,0	26000,0	2160,25	9,25820	881,917
Listeria	243333,3	220000,0	270000,0	17511,90	7,19667	7149,204
SRK/g	39166,7	30000,0	45000,0	5076,09	12,96022	2072,304

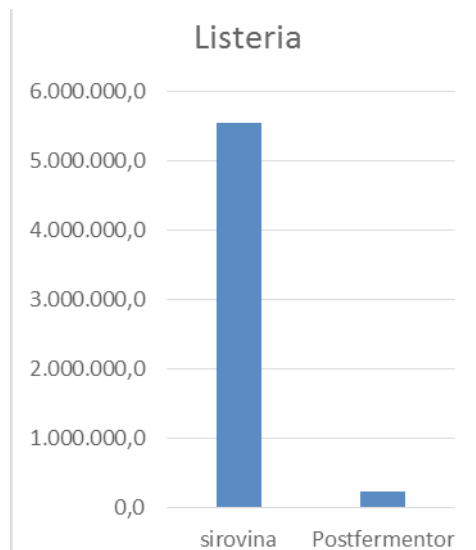
Tablica 5. Statistička značajnost između sirovine i digestata MB2 Postfermentor

Variable	T-tests; Grouping: Naziv uzorka (Spreadsheet1)					
	Group 1: sirovina					
	Group 2: MB2 Postfermentor					
	Mean sirovina	Mean MB2 Postfermentor	t-value	df	p	std.Err.
E.coli/g	236667	23333,3	21,48910	10	0,000000	7020
Listeria	5550000	243333,3	37,01725	10	0,000000	101368
SRK/g	58833	39166,7	5,76055	10	0,000183	2414

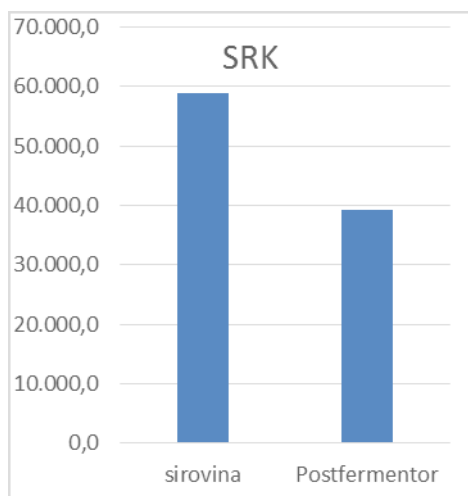
Grafički prikazi rezultata na Slici 3, Slici 4. i Slici 5. prikazuju pojedinačno vrstu i broj patogenih bakterija u sirovini i digestatu. Broj patogenih bakterija *Salmonelle* nije grafički prikazan zbog minimalnog broja u samo jednom uzorku sirovine, dok u digestatu nakon AD nisu niti potvrđene.



Slika 3. Patogene bakterije *E. coli* u sirovini i digestatu



Slika 4. Patogene bakterije *Listerije* u sirovini i digestatu



Slika 5. Patogene bakterije *Sulfitoreducirajuće klostridije (SRK)* u sirovini i digestatu

Diskusija i zaključak

Rezultati u komparaciji s dostupnim studijama (Shih, 1987., Klinger i Marchaim, 1987., Jeffrey i sur., 1998., Paul, 2007.). pokazuju isti trend smanjenja patogenih bakterija najviše za 6 - 7 log jedinica ili pak redukcije ispod razine detekcije u termički tretiranom digestatu na 35°C mezofilno, odnosno na 55° - 70°C u termofilnim uvjetima AD, pri kojima u uzorcima digestata nije zabilježen bakterijski rast. Postupkom mezofilne digestije u AD digestoru najčešće se reducira do 66% coliformnih bakterija i 51% *Salmonelle* (Himathongkham i sur., 1999., Shih i Lee, 1985.). Većina u spektru mikrobioloških patogena razara se ili inaktivira u mezofilnim, a posebno termofilnim uvjetima procesa anaerobne digestije AD.

Kao što je vidljivo iz rezultata ovog rada, prema tablicama 3 i 4 te slikama 3, 4 i 5, u uzorcima sirovine sastava 80% goveđeg gnoja s 15% biljnog materijala i 5% inustrijskog organskog otpada, uzorkovanih iz *trenč silosa za sirovinu* i *lagune za digestat pri sobnoj temperaturi*, određen je najveći broj četiriju tipova mikrobioloških patogena: bakterije *E.coli* 240.000/g; bakterije *Listeria sp.* 5.600.000/g; SRK 60.000/g, a tip bakterije *Salmonella* nije izoliran u gramu, niti u 25 g uzorka sirovine, odnosno jedva je detektirana njihova prisutnost u samo jednom uzorku sirovine prije AD digestije. Postupak mezofilne digestije proveden je na 35°C. U petom tjednu digestije došlo je do značajnijeg smanjenja broja bakterija *E.coli*, čak za 2 logaritamska ciklusa (s 10^6 na 10^4 cfu/g) u finalnom digestatu nakon 5 tjedana fermentacije, a broj *Listeria sp.* za 1 log ciklus (s 10^6 na 10^5 cfu/g) u odnosu na broj bakterija u sirovini.

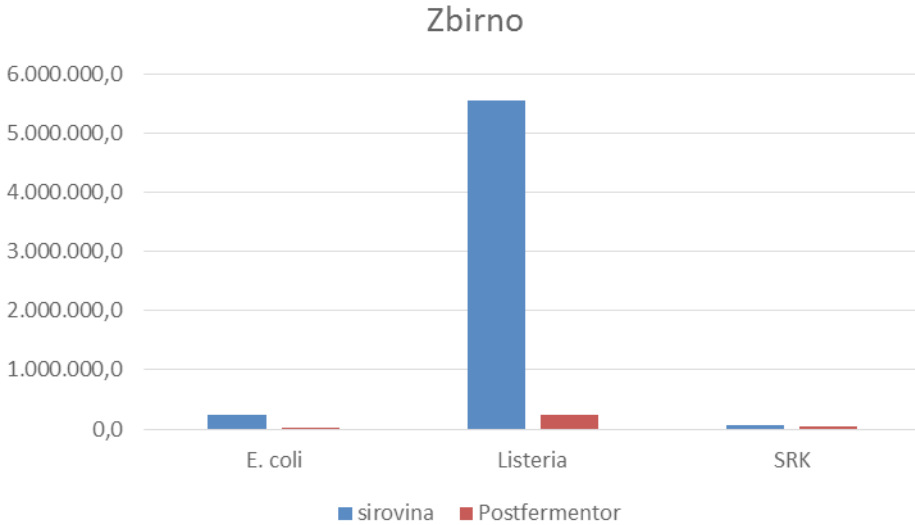
Iz prikazanog rezultata u grafičkom obliku slike 3 i slike 4 očito je da se broj patogena u anaerobno fermentiranom stajskom gnojivu drastično smanjuje te pokazuje bolja sanitarna svojstva od sirovog stajskog gnoja.

Iako se količina *E. coli* u gnojivu prema literaturnim podacima kreće od 3-50000 cfu/ gramu fekalija, infektivna doza *E coli* za čovjeka je oko 10cfu - najniža u usporedbi s uobičajenim ljudskim patogenima koji se prenose hranom (Jefferey i sur.,1998.). Vrijednosti dobivene u ovom radu su pet, odnosno šest logaritamskih ciklusa veće od tih najnižih infektivnih vrijednosti određene EU legislativom. Olakotna okolnost je to što *E. coli* ne preživljava dugo, pogotovo u mliječnom okruženju i ne utječe značajno na ispašu goveda s krmivima prethodno tretiranih stajnjakom. Iz tog razloga također je bolje koristiti digestat umjesto sirovog stajskog gnojiva za gnojenje bilja (krmiva). Dodatna prednost je zaustavljanje ciklusa prenošenja bolesti i sjemena korova postupkom AD kao i smanjenje neugodnih mirisa u zraku do 80% , a također i smanjenje broja insekata koji se zadržavaju te glodavaca prisutnih na skladištenim gnojnicama i kompostištima (Al Seadi i sur., 2008., Shih i Lee, 1985.).

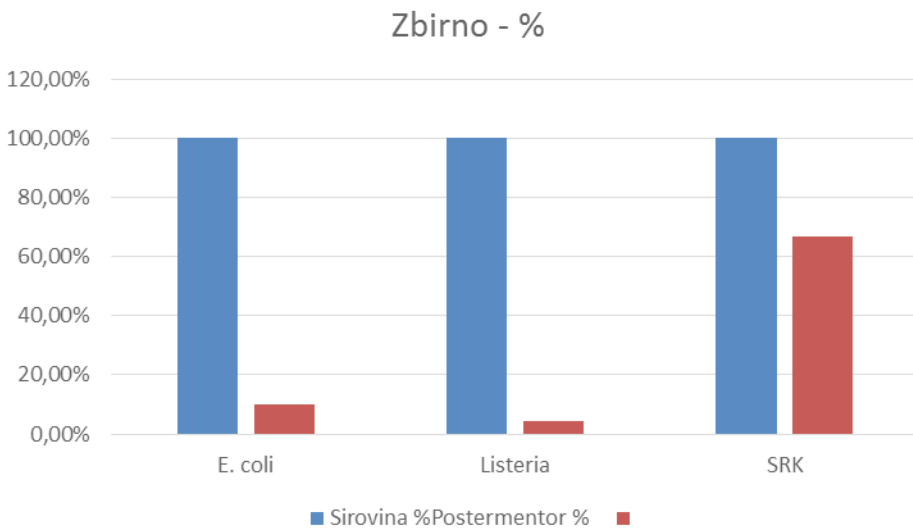
Grafički prikazi rezultata na Slici 6. i Slici 7. prikazuju zbirno vrstu i broj patogenih bakterija u sirovini i digestatu. Broj patogenih bakterija *Salmonelle* nije grafički prikazan zbog minimalnog broja u samo jednom uzorku sirovine, dok u digestatu nakon postupka AD te bakterije nisu niti identificirane.

Prema zahtjevima EU legislative i propisanim graničnim vrijednostima EU Uredbe EC 1774/2002 postoji potreba kontrolirane sanitarne obrade na što ukazuju rezultati ovog rada. Može se zaključiti da je mezofilni proces anaerobne digestije u bioplinskom postrojenju Male Branjevine dovoljno učinkovit za detoksifikaciju patogena. Sustavnim praćenjem EU legislative može se zaključiti da postoje indicije zabrane korištenja sirovog stajskog gnojiva u bliskoj budućnosti te je preporuka korištenje sanitarno ispravnijeg digestata. Uništenjem patoloških mikroorganizama AD procesom povećana je sanitarna sigurnost zbog korištenja ekoloških gnojiva-digestata u odnosu na uobičajeni stočni gnoj te je ispunjena svrha njegove uporabe zbog zaštite ljudskog i životinjskog zdravlja te sačuvanja ukupnog agrikulturalnog ekosustava.

Iako su istraživanja rađena na uzorcima stočnog (kravljeg) gnoja pretpostavljamo da bi se slični rezultati dobili i s mezofilnom, što više termofilnom AD obradom ljudskih ekskremenata.



Slika 6. Grafički prikaz ukupnog broja patogenih mikroorganizama



Slika 7. Grafički prikaz ukupnog broja patogenih mikroorganizama prikazan u postotcima

U ovom radu mikrobiološki je istražena sanitacija u mezofilnim uvjetima. U potpunosti je eliminirana bakterija Salmonela, a reducirane su populacije tablično i grafički prikazanih patogenih bakterija. Sanitacija anaerobnom digestijom iznimno je važna zbog sprečavanja zaraza hranom, jer se bakterije i drugi patogeni mogu prenijeti od farme, odnosno staje zagađene fekalnim mikroorganizmima do finalnog proizvoda dobivenih iz stoke i namijenjenih potrošačima.

Literatura

- Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H., Kötner, M., Finsterwalder, T., Volk Silke, Janssen, R. (2008.). *Bioplin priručnik*, Timski rad Intelligent Energy for Europe, u okviru projekta Big East, pp. 56-59, 118-123.
- Anderson, T.H. (2003.). Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. *Agric Ecosyst Environ* 89, pp. 285-293 ([http://dx.doi.org/10.1016/S0167-8809\(03\)00088-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-8809(03)00088-4))
- Chu, H.Y., Fujii, T., Morimoto, S., Lin, X.G., Yagi, K., Hu, J.L., Zhang, J.B. (2007.). Community structure of ammonia-oxidizing bacteria under long-term application fertilizer and organic manure in a sandy loam soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, pp. 485-491
- Doran, J.W., Zeiss, M.R. (2000.) Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 15, pp. 3-11
- EU Uredba EC 1774/2002
- Fayer, R., Reid, W.M. (1982.). Biology of coccidia. University Park Press, Baltimore. pp. 453-488.
- Hancock, D.D., Rice, H.R., Berriott, D.E. (1997.). Effects of Farm Manure-Handling Practices on E. coli 0157 Prevalence in Cattle. *J. Food Prot.* 60(4); pp. 363-366
- Himathongkham, S., Bahari, S., Riemann, H. (1999.). Survival of E. coli 0157 and Salmonella typhimurium in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Micro Lett.* 178, pp. 251-257
- Jefferey, J.S., Kirk, J.H., Atwill, R. (1998.). Prevalence of Selected Microbial Pathogens in Processed Poultry Waste Used as Dairy Cattle Feed. *Poultry Sci.* 77, pp. 808-811
- Kalambura, S., Krička, T., Kalambura D. (2011.). **Gospodarenje otpadom, 4. poglavlje – bioplin, Vevečilište Velika Gorica**, Velika Gorica, Hrvatska, pp. 88-90
- Klinger, I., Marchaim, U. (1987.). *AD. Isr.J.Vet.Med.* 43, pp. 181-187
- Paul, E.A. (2007.). Soil microbiology, ecology and biochemistry. 3rd edn. Academic Press, San Diego, USA, pp. 532
- Pernes-Debuyers, A., Tessier, D. (2004). Soil physical properties affected by long-term fertilization. *Eur. J. Soil Sci.* 55, pp. 505-512
- Postrojenja u hrvatskom poljoprivrednom sektoru**, Sisačko – moslavačka županija, Sisak, Hrvatska, Potthoff, M., Steenwerth, K.L., Jackson, L.E., Drenovsky, R.E., Scow, K.M., Joergensen, R.G. (2006.). Soil microbial community composition as affected by restoration practices in California grassland. *Soil. Biol. Biochem.* 38, pp. 1851-1860 pp. 31-67.
- Shih, J.C.H. (1987.). Ecological benefits of anaerobic digestism. *Poult. Sci.* 66, pp.946-950
- Shih, J.C.H., Lee, M.R. (1985). Anaerobic Digestion, ChinaState Biogas Association, Beijing, China. pp.581-890
- Špicnagel, A., Puškarić, T., Raymaekers, F., Van Driessche, J. (2014.). *Potencijal bioplinskih postrojenja*
- Thompson, W.H. (2001.). **Test Methods for the Examination of Composting and Compost**. The United States Composting Council Research and Education Foundation. The United States Department of Agriculture.,
- Woollens, M.S. (1987.). Antifungal activity in anaerobic poultry waste digesters. *Thesis, North Carolina State hiversit* 4.

Scientific paper

Pathogenic bacteria in manure and digestate anaerobic digestion biogas production

Summary

Summary: The production of biogas is of great importance in the cycle of sustainable use of agricultural biomass and organic animal waste as a renewable energy source on a farm. The biochemical process of anaerobic digestion (AD) of the process can significantly contribute to increasing the sanitary quality of digestate compared to raw manure. This paper compares the presence of four types of pathogenic bacteria in samples of fresh manure with a touch of herbal or industrial raw materials in relation to the digestate created by anaerobic digestion biogas plant Small Branjevina second in the field of northeastern Slavonia. Samples of raw materials are taken before and samples digestate after an anaerobic digestion. In both phases of sampling it is the raw material of about the same chemical composition: 80% bovine manure, 15% vegetable material and 5% of industrial waste of the food industry. Results confirmed the assumption of the expected significantly more pathogenic bacteria in the fresh manure compared with the digestate is almost sterile, sanitary, health and thus safer for people.

Keywords: organic waste, anaerobic digestion, digestate, bacteria