

Overleving van pathogenen bij mestverwerking

Paul Hoeksma (Wageningen UR), Saskia Rutjes (RIVM), André Aarnink (Wageningen UR), Hetty Blaak (RIVM), Fridtjof de Buissonjé (Wageningen UR)

In de producten van verschillende mestverwerkingsprocessen zijn de concentraties gemeten van een aantal pathogenen. De resultaten laten zien dat mechanische scheiding vrijwel geen effect heeft op het aantal pathogenen. Vergisting heeft weinig effect op virussen en grampositieve bacteriën, maar reduceert wel het aantal gramnegatieve bacteriën. Grampositieve bacteriën kunnen ook hittebehandeling tot 70°C overleven.

Omgekeerde osmose, een membraantechniek die in een aantal mestverwerkingsinstallaties wordt toegepast, resulteert in een mineralenconcentraat dat als meststof wordt gebruikt en een effluent dat op het riool of oppervlaktewater wordt geloosd. Effluent na omgekeerde osmose is microbiologisch schoon, mits de integriteit van het RO-proces goed wordt bewaakt.

Het transport van dierlijke mest en de hoeveelheid mest die wordt verwerkt tot verschillende producten, zoals vaste mestfracties, mestkorrels en mineralenconcentraten, nemen toe in Nederland (zie kader). Dit wordt (mede) veroorzaakt door de door de overheid opgelegde verplichting om mest te verwerken en daarmee het overschot aan mineralen (stikstof en fosfaat) in Nederland te verlagen. Ook de verdere aanscherping van de gebruiksnormen voor dierlijke mest draagt hieraan bij. Deze veranderingen in het gebruik van dierlijke mest brengen mogelijk voor zowel mensen als dieren verhoogde sanitaire risico's met zich mee.

Het risico op verspreiding van pathogenen via het transport en gebruik van (producten van) dierlijke mest heeft al geruime tijd de aandacht van het beleid in Nederland en landen om ons heen. Dit blijkt onder meer uit het feit dat mest bestemd voor export op grond van Europese regelgeving gepasteuriseerd dient te worden. Zowel door de EHEC-crisis in 2011 als door een recente publicatie waarin een mogelijke relatie wordt gelegd tussen uitgereden mest en de Q-koortsepidemie van 2007-2010, is de aandacht voor de microbiologische risico's van mest recentelijk geïntensiveerd. De verwachting is dat in Nederland het transport van mest en mestproducten verder zal toenemen nu sinds vorig jaar een deel van de niet-plaatsbare mest moet worden verwerkt. Mestverwerking zal in de eerste plaats gericht zijn op het wegwerken van het overschot aan mineralen. Hierbij worden diverse organische en minerale eindproducten geproduceerd die een toepassing vinden als meststof in binnen- of buitenland. De waterige fracties worden, na reiniging, geloosd op het riool of oppervlaktewater. Deze nieuwe meststromen kunnen sanitaire risico's met zich meebrengen voor mens en dier door verspreiding van bacteriële en virale pathogenen (zoönosen) en endotoxinen via grond- en oppervlaktewater en mogelijke besmetting van drink- en zwemwater. Ook aspecten als antibioticaresistentie en verspreiding van hormoonresiduen spelen hierbij een rol. Hoe groot deze risico's zijn is onvoldoende bekend, evenals door welke maatregelen ze tot een acceptabel niveau beperkt kunnen worden. Kwantitatieve gegevens ontbreken, waardoor het voor vergunningverleners, zoals waterschappen, praktisch onmogelijk is om bij mestverwerkingsinitiatieven een gefundeerde afweging te maken.

Mestdistributie

De hoeveelheid mest die van bedrijven met een mestoverschot naar elders wordt getransporteerd neemt de laatste jaren toe. Volgens gegevens van het CBS bedroeg het geregistreerde mesttransport in 2014 circa 17 miljoen ton, een toename van 3,3% ten opzichte van een jaar eerder. Het aantal mesttransporten bedroeg 630.000, een stijging van 2,5%. Ongeveer de helft van de getransporteerde mest betreft varkensdrijfmest. Rundveedrijfmest vertoonde vorig jaar met een aandeel van een derde een sterke toename ten opzichte van een jaar eerder. Deze ontwikkeling zal zich naar verwachting dit jaar voortzetten, onder invloed van verscherpte gebruiksnormen en verplichte verwerking van mestoverschotten.

Onderzoek

Wageningen UR en het RIVM hebben in opdracht van de provincie Noord-Brabant en waterschap Aa en Maas een onderzoek uitgevoerd om inzicht te krijgen in het effect van mestbe- en verwerking op het overleven van ziekteverwekkende micro-organismen en van mogelijke sanitaire risico's van het gebruik en lozen van eindproducten.

In mest en digestaat (het product na vergisting) is gemeten of en in welke mate verschillende bacteriën en virussen voorkomen. Daarnaast is in een aantal installaties voor mestverwerking en mesthygiënisatie onderzocht in hoeverre deze *downstream* nog aanwezig zijn in de tussen- en eindproducten.

De metingen zijn uitgevoerd bij zes installaties voor de productie van mineralenconcentraat en bij twee installaties voor mesthygiënisatie; een met vergisting vooraf en hygiënisatie van het vloeibare digestaat en een met mechanische scheiding vooraf en hygiënisatie van de vaste fractie.

Productie van mineralenconcentraat

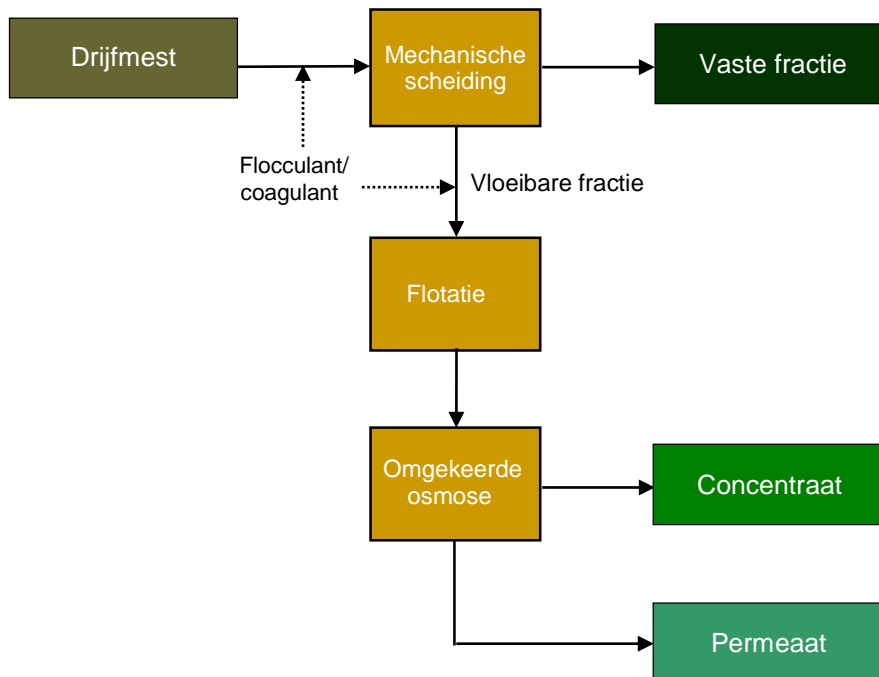
De productie van mineralenconcentraat is bedoeld om zoveel mogelijk nutriënten uit dierlijke mest in de landbouw te benutten. De wens is om mineralenconcentraat (in Brussel) erkend te krijgen als minerale meststof die boven de gebruiksnorm voor dierlijke mest kan worden toegepast. Daardoor zou het verschil tussen de hoeveelheid stikstof die met dierlijke mest mag worden gegeven en de behoefte van het gewas met mineralenconcentraat opgevuld kunnen worden, in plaats van met kunstmest.

Het productieproces van mineralenconcentraat kent de volgende stappen (zie afbeelding 1):

1. Mechanische scheiding van ruwe drijfmest door middel van een zeefbandpers of vijzelpers, resulterend in een vaste en een vloeibare fractie.
2. Behandeling van de vloeibare fractie middels flotatie, onder toevoeging van coagulant (ijzer- of aluminiumsulfaat) en flocculant (poly-acrylamide), eventueel gevolgd door filtratie over een 10 µm-papierfilter, resulterend in een 'schone' dunne fractie.
3. Membraanfiltratie onder hoge druk (40-60 bar) van 'schone' dunne fractie d.m.v. omgekeerde osmose (reverse osmosis, RO), resulterend in een concentraat en een permeaat.

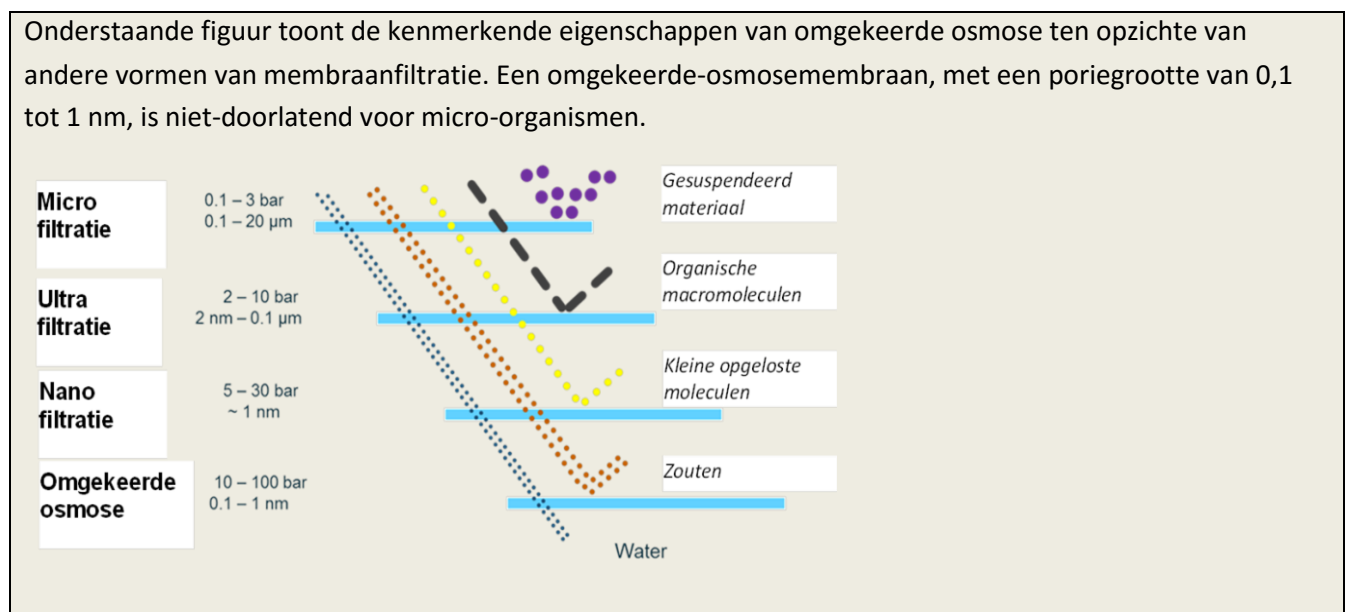
Het productieproces van mineralenconcentraat levert drie eindproducten op: een vaste organische mestfractie, een vloeibaar mineralenconcentraat en waterig permeaat, in een typische

massaverhouding van 20 : 30 : 50. Deze verhouding kan variëren afhankelijk van de samenstelling van de ingaande mest, de toegepaste technieken en de bedrijfsvoering bij de mestverwerker.



Afbeelding 1: Processchema voor productie van mineralenconcentraat, met als eindproducten: vaste fractie, concentraat en permeaat (water).

Onderstaande figuur toont de kenmerkende eigenschappen van omgekeerde osmose ten opzichte van andere vormen van membraanfiltratie. Een omgekeerde-osmosemembraan, met een poriegrootte van 0,1 tot 1 nm, is niet-doorlatend voor micro-organismen.



Hygiëniseren van digestaat

De installatie voor hygiëniseren van digestaat bestond uit een warmtewisselaar waarin het digestaat werd verwarmd tot 70°C gedurende één uur. Het digestaat was afkomstig uit een co-vergister (processtemperatuur 39°C, gemiddelde verblijftijd 60 dagen) die werd gevoed met een mengsel van varkensdrijfmest, de dikke fractie van rundveedrijfmest, supermarktmix (een reststroom uit supermarkten), glycerine, gerstsubstraat en cacao-doppen.



Afbeelding 2: Processchema van vergisting en hygiëniserie van het digestaat tot een gehygiëniseerd product.

Hygiëniserie van vaste fractie

De installatie voor hygiëniserie van vaste fractie betrof een roterende trommel waarin de vaste fractie van rundveedrijfmest (direct na scheiding met een vijzelpers) werd gecomposteerd. De verblijftijd van het materiaal in de trommel bedroeg ongeveer 1 dag bij een procestemperatuur van ca. 60 tot 70°C. De composteertrommel werd semi-continu gevoed, waarbij intermitterend 30 minuten per uur vers materiaal werd ingevoerd en het materiaal in 'propstroom' naar het einde van de trommel werd gevoerd.



Afbeelding 3: Processchema van hygiëniserie van de vaste fractie na mechanische scheiding van rundveedrijfmest tot een gehygiëniseerd product.

Gemeten micro-organismen

In de processtromen van de verwerkingsinstallaties werden de concentraties van de volgende bacteriën en virussen gemeten: *Escherichia coli*, intestinale enterococci, *Salmonella*, *Clostridium difficile*, *MRSA*, ESBL-producerende *E. coli*, somatische colifagen en het hepatitis E-virus.

Dit zijn micro-organismen die voorkomen bij Nederlands vee en veelal in mest worden uitgescheiden. Deze organismen geven een goed beeld van de aanwezigheid van ziekteverwekkende bacteriën en virussen in de verschillende processtromen en de eventuele reductie van deze micro-organismen tijdens het mestverwerkingsproces.

Door middel van gramkleuring kunnen bacteriën worden onderscheiden op basis van hun celwandstructuur. De celwand van gramnegatieve (gram -) bacteriën heeft een buitenmembraan die bestaat uit lipopolysacchariden (LPS). De celwand van grampositieve (gram +) bacteriën heeft deze LPS-laag niet. Bij gramkleuring kleuren ze respectievelijk rood en blauw.

E. coli (gram -), intestinale enterococci (gram +) en somatische colifagen zijn voor de mens (meestal) niet pathogeen. Ze worden gebruikt als indicatororganisme omdat ze in hoge concentraties in dierlijke mest voorkomen. Er wordt van uitgegaan dat de indicatoren met vergelijkbare efficiëntie worden verwijderd als de pathogenen. *C. difficile* is een grampositieve sporenvormende bacterie waarvan de sporen zeer persistent zijn in het milieu en daardoor naar verwachting ook minder gevoelig zijn voor behandelingsprocessen als verhitting.

MRSA (Methicilline Resistente Staphylococcus Aureus, gram +) is een slijmvliesbacterie die bij mensen vooral problemen geeft in ziekenhuizen (een zogenaamde ziekenhuisbacterie) en daarnaast vooral veel bij varkens voorkomt; *MRSA* is resistent tegen beta-lactam-antibiotica (waaronder methicilline).

ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase) is een enzym, geproduceerd door sommige darmbacteriën zoals *E. coli*, dat resistentie tegen beta-lactam-antibiotica veroorzaakt. Het hepatitis E-virus is een enteraal virus dat vrij algemeen bij varkens voorkomt en ziekte bij de mens kan veroorzaken. *Salmonella*, *MRSA*, *C. difficile* en het hepatitis E-virus (maar ook pathogene varianten van *E. coli*) zijn zoönosen en kunnen dus van dier op mens worden overgedragen en infecties veroorzaken.

Resultaten onderzoek

Productie van mineralenconcentraat

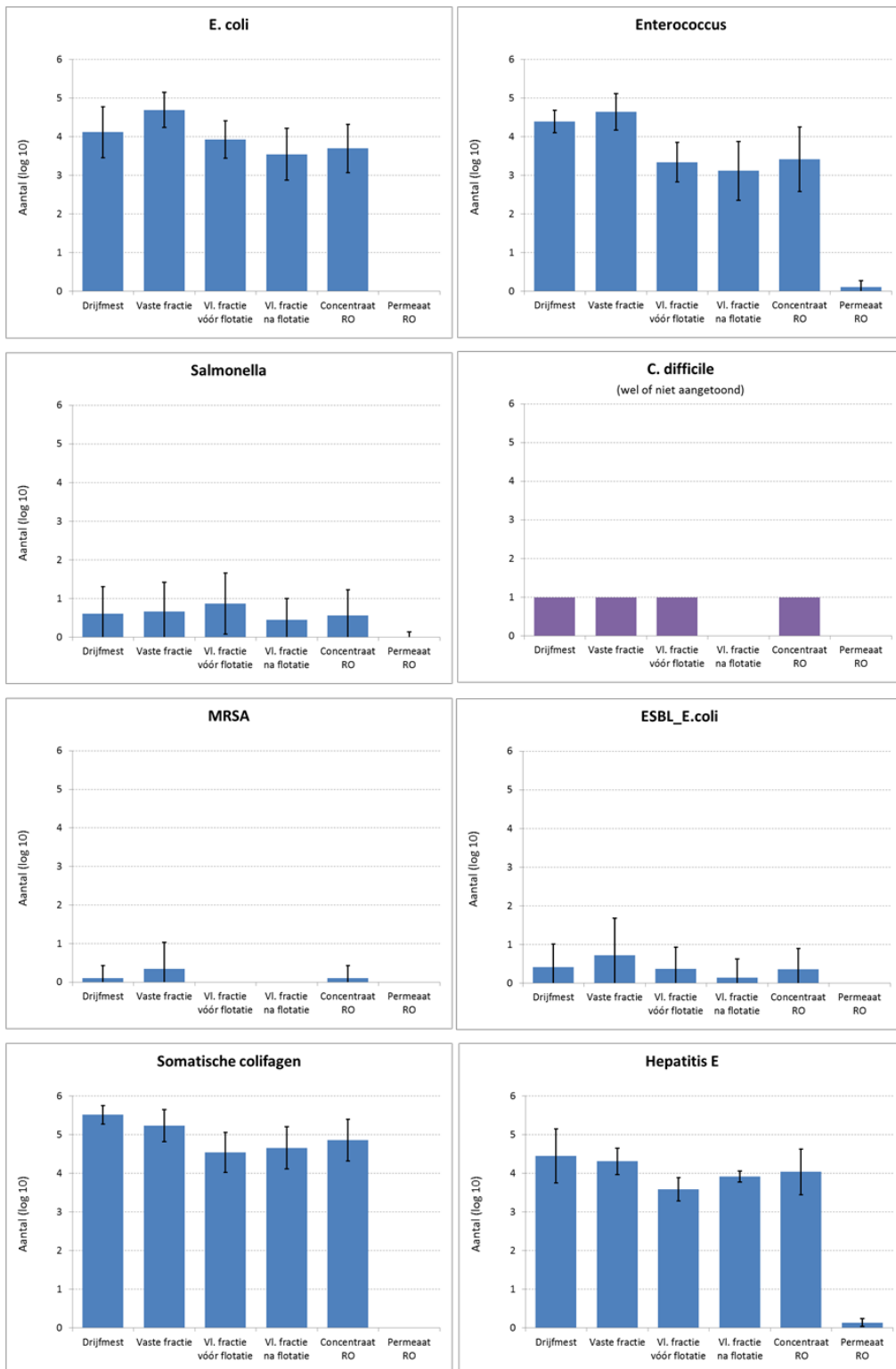
De gemiddelde kiemconcentraties per processtap van de zes installaties waar gemeten is, zijn weergegeven in afbeelding 4.

Er zijn twee groepen met sterk verschillende concentratieniveaus te onderscheiden; enerzijds *E. coli*, intestinale enterococci, somatische colifagen en hepatitis E die in vergelijkbaar hoge concentraties (10^3 - 10^5 eenheden per gram) zijn gemeten en anderzijds *Salmonella*, *MRSA* en *ESBL-E. coli* die in veel lagere concentraties (<10 eenheden per gram) zijn aangetroffen. Over *C. difficile* kunnen geen kwantitatieve uitspraken worden gedaan omdat van deze bacterie alleen aan- of afwezigheid in een monster is bepaald.

De opeenvolgende processtromen tonen globaal vergelijkbare concentraties, behalve het permeaat na omgekeerde osmose, waarin geen of slechts zeer geringe aantallen zijn gemeten. De kiemconcentraties in de vloeibare fracties en het concentraat RO zijn in het algemeen lager (ca. één log verschil) dan in drijfmest en vaste fractie maar dit verschil is niet voor alle micro-organismen statistisch significant.

Tijdens het verwerkingsproces tot mineralenconcentraat vindt geen duidelijke reductie plaats van het aantal kiemen. Ze worden teruggevonden in de vaste fractie en in het mineralenconcentraat na omgekeerde osmose. Grampositieve bacteriën lijken het productieproces van mineralenconcentraat iets beter te overleven dan gramnegatieve bacteriën en virussen. Strikt genomen is niets te zeggen over de overleving van het hepatitis E-virus, omdat de detectie is uitgevoerd met behulp van polymerase chain reaction (PCR, een vermeerderingsmethode voor virussen), waarmee het genetisch materiaal (RNA) van zowel infectieuze als dode virusdeeltjes wordt aangetoond.

Hoewel de verdeling van bacteriën en virussen over de vaste fractie en het mineralenconcentraat niet aantoonbaar verschilt, lijken *E. coli* en enterococci relatief meer voor te komen in de vaste fractie dan somatische colifagen en hepatitis E. Dit zou verklaard kunnen worden doordat bacteriën meer aan grotere mestdelen zijn gebonden dan virussen. Het scheidingsrendement - het percentage dat in de vaste fractie terecht komt - van grotere mestdeeltjes is hoger dan dat van kleinere deeltjes. Het permeaat na omgekeerde osmose is microbiologisch nagenoeg schoon. De bevinding dat in het permeaat enkele micro-organismen worden teruggevonden is waarschijnlijk toe te schrijven aan slijtage of kleine beschadigingen van de omgekeerde-osmosemembranen. Het is dus zaak het RO-proces goed te controleren om de integriteit van het systeem te bewaken.



Afbeelding 4: Gemiddelde concentraties (aantal per gram of ml op log₁₀-schaal) en variaties (plus en min 1 maal de standaarddeviatie) van micro-organismen in de processtromen bij productie van mineralenconcentraat. Van *C. difficile* is aangegeven of het wel (niveau 1) of niet (niveau 0) kon worden aangetoond.

Het effluent na omgekeerde osmose is nagenoeg vrij van micro-organismen. Dit geeft verschillende gebruiks- en lozingsmogelijkheden, hoewel de allergevoeligste toepassingen, zoals gebruik als drinkwater voor het vee, worden afgeraden wegens risico's bij incidentele verminderde zuivering.

Het effluent wordt gebruikt binnen het bedrijf als reinigingswater of geloosd op het riool. Verwerking via riolering en rioolwaterzuivering heeft microbiologisch gezien geen nut. Er valt namelijk weinig tot niets te zuiveren. Het effluent voldoet echter doorgaans niet aan de kwaliteitseisen voor lozing op het oppervlaktewater wegens een te hoog N-gehalte. Middels ionenwisseling, zoals door enkele bedrijven wordt toegepast, kan aan de lozingseisen voor oppervlaktewater worden voldaan.

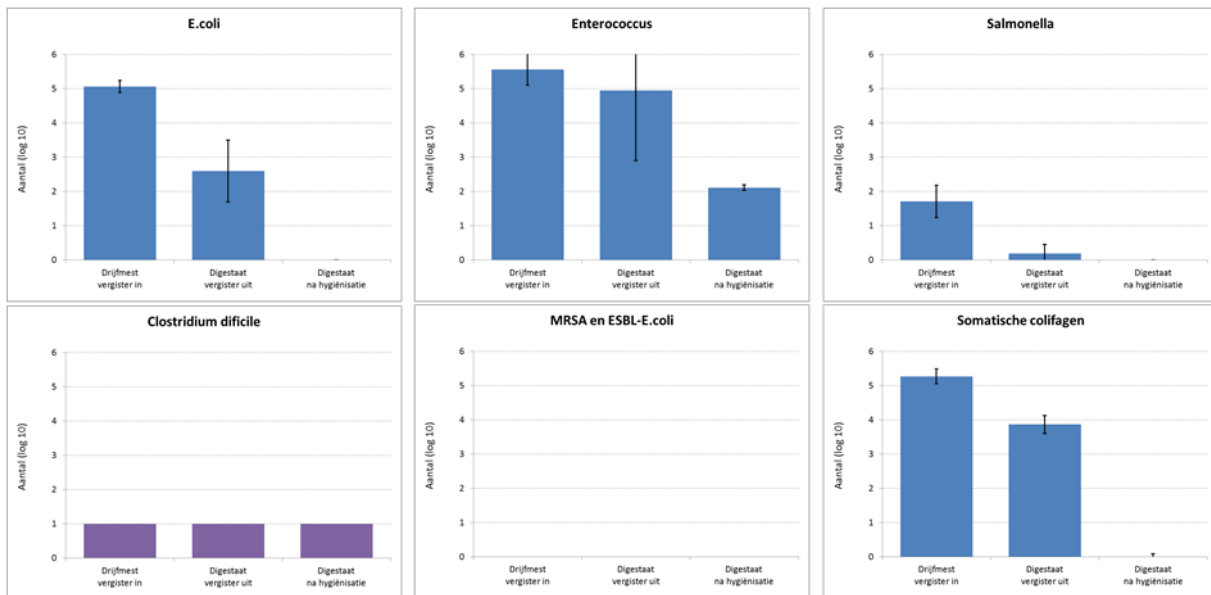
Hygiënisatie van digestaat

Afbeelding 5 toont het gemiddelde aantal kiemen in de in- en uitgaande processtromen van covergisting (bij ca. 37°C) met varkensdrijfmest en hygiënisatie (verhitting tot 70°C gedurende één uur) van het digestaat. Afbeelding 5 laat zien dat *E. coli*, *Enterococcus* en somatische colifagen in vergelijkbaar hoge concentraties en *Salmonella* in een veel lagere concentratie in varkensdrijfmest voorkomen. De figuur laat ook zien dat mesofiele vergisting een sterk reducerend effect heeft op *E. coli* (gram -), *Salmonella* (gram -) en somatische colifagen, maar een veel geringer reducerend effect op enterococci (gram +). Hierbij moet opgemerkt worden dat de ingaande mest vooraf ongeveer 50-50 (op gewichtsbasis) is gemengd met co-producten van niet dierlijke oorsprong. *C. difficile* (sporenvormer) komt zowel in de ruwe mest als in het digestaat voor. MRSA en ESBL-*E. coli* zijn niet aangetroffen in zowel de ingaande mest als het digestaat.

Uit de resultaten blijkt dat grampositieve bacteriën en sporenvormers een mesofiel vergistingsproces en een hittebehandeling tot 70°C beter doorstaan dan gramnegatieve bacteriën en virussen.

Pasteurisatie van het digestaat na vergisting leidt tot volledige verwijdering van *E. coli*, *Salmonella* en somatische colifagen en een aantoonbare reductie maar niet volledige verwijdering van enterococci.

Het effect van vergisting en verhitting op pathogenen is op basis van het uitgevoerde onderzoek (aan één installatie) niet vast te stellen; MRSA en ESBL-producerende *E. coli* werden in het uitgangsmateriaal niet aangetroffen, van *C. difficile* zijn geen kwantitatieve data beschikbaar en hepatitis E-virus werd niet gemeten. Het is echter aannemelijk dat de pathogenen het gedrag volgen van de indicatoren; *E. coli* en *Salmonella* voor ESBL-producerende Enterobacteriaceae, enterococci voor MRSA en somatische colifagen voor hepatitis E-virus.

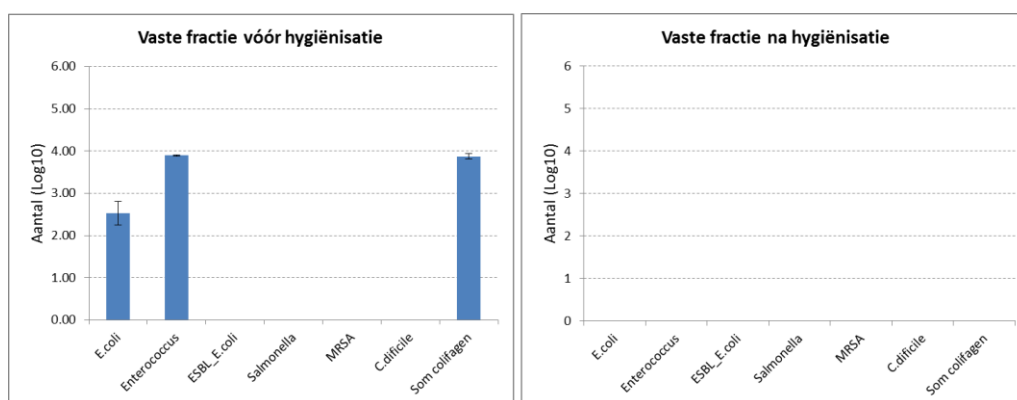


Afbeelding 5: Gemiddelde concentratie (aantal per gram op log₁₀-schaal) en variaties (standaarddeviatie) aan gemeten bacteriën en virussen in de in- en uitgaande processtromen bij mesofiele vergisting van varkensdrijfmest gevolgd door hygiënatie van het digestaat. Van *C. difficile* is met niveau 1 aangegeven dat het is aangetoond.

Hygiënatie van vaste fractie

Afbeelding 6 toont het gemiddelde aantal kiemen en de variatie per micro-organisme vóór en na hygiënatie van de vaste fractie. Deze figuur laat zien dat in de vaste fractie van runderdrijfmest wel *E. coli*, enterococci en somatische colifagen zijn gevonden maar dat de andere micro-organismen niet zijn aangetroffen (HEV is niet gemeten). De niveaus van de genoemde micro-organismen zijn significant lager dan die in de vaste fractie van varkensdrijfmest (Afbeeldingen 4 en 5); het verschil bedraagt 2-3 log-units. Na compostering zijn van de gemeten micro-organismen geen detecteerbare aantallen gevonden.

Compostering onder de gegeven omstandigheden blijkt een effectieve methode voor het hygiëniseren van de vaste fractie van rundveedrijfmest. Het proces resulteert in een microbiologisch schoon eindproduct.



Afbeelding 6: Gemiddelde aantallen (log₁₀-schaal) en variatie (standaarddeviatie) aan gemeten bacteriën en virussen in in- en uitgaande processtroom bij hygiënatie van vaste mestfractie uit runderdrijfmest door middel van compostering.

Concluderende opmerkingen

Dit onderzoek heeft inzicht verschaft in de invloed van mestverwerking op de overleving van pathogenen. De verkregen informatie kan worden gebruikt door vergunningverleners voor beleidsontwikkeling ten aanzien van mestverwerkingsinstallaties. Het onderzoek heeft laten zien dat de verwerkingsstappen rond mechanische scheiding geen vermindering geven van het oorspronkelijk aantal in de ruwe mest aanwezige pathogenen. De vaste fractie bevat hogere kiemconcentraties dan de oorspronkelijke mest, mineralenconcentraat iets lagere. Als akkerland met aardappelen naast dierlijke mest bemest zou worden met de toegestane hoeveelheid mineralenconcentraat in plaats van met kunstmest dan zou de hoeveelheid in het milieu gebrachte micro-organismen met ongeveer een kwart toenemen.

Mestvergisting heeft weinig effect op virussen en grampositieve bacteriën maar heeft wel een reducerend effect op het aantal gramnegatieve bacteriën. Hygiëniserende effecten door middel van compostering of pasteurisatie resulteren in vrijwel steriele producten. Grampositieve bacteriën en sporevormers kunnen deze behandelingen echter overleven. Effluent na omgekeerde osmose is microbiologisch nagenoeg schoon.

De meststof 'mineralenconcentraat gemaakt uit dierlijke mest' heeft nu nog de status 'dierlijke mest' en is daarom onderhevig aan de mestregelgeving. Zodra aan mineralenconcentraat de status 'kunstmestvervanger' wordt toegekend zouden bij export van dit product ook regels omtrent hygiëniserende effecten moeten gelden, daar mineralenconcentraat microbiologisch gelijk is aan dierlijke mest. De sanitaire risico's van het verspreiden van microbiële verontreinigingen door bemesting met producten uit mestverwerking zijn niet bekend. Hoe het zit met persistentie en blootstelling van mens en dier is eveneens niet bekend. Dit zou verder onderzocht moeten worden.

Het onderzoek was toegespitst op varkensdrijfmest. Andere mestsoorten, bijvoorbeeld drijfmest van rundvee en andere soorten drijfmest en pluimveemest, dienen nader bekeken te worden. De noodzaak hiertoe is evenwel kleiner, omdat de concentratie aan micro-organismen in varkensdrijfmest doorgaans hoger is dan in drijfmest van andere dieren; hier is een *worst case* onderzocht. Vaste pluimveemest wordt slechts op beperkte schaal aangewend in de Nederlandse landbouw; het grootste deel wordt verbrand of geëxporteerd.