



---

Sveriges  
lantbruksuniversitet

# **Maskkompostering för behandling av organiskt avfall**

---

**Alexander Myrsten**



# Referat

## Maskkompostering för behandling av organiskt avfall

*Alexander Myrsten*

Bristen på högvärdigt gödsel är i många låg- och medelinkomstländer betydande då mineralgödsel är kostsamt och svårt att transportera. Material att tillverka biogödsel av finns det dock gott om i form av mat- och trädgårdsavfall samt animaliskt och mänskligt avfall. Dessa material är rika på essentiella växtnäringsämnen som kväve och fosfor. Utmaningen vid användning av dessa material är att de ofta innehåller höga halter av smittförande mikroorganismer vilka är skadliga för både människor och djur. Ska dessa material användas som biogödsel är det viktigt att de patogena mikroorganismerna inaktiverats så att smittor inte sprids i miljön och till livsmedel.

Denna studie jämförde tre maskkomposter med tre mesofila komposter med avseende på inaktivering av mikroorganismer samt produktion av ett högvärdigt biogödsel som slutprodukt. Projektet pågick i 77 dagar och indikatororganismerna, bakterierna *Salmonella Typhimurium* och *Enterococcus faecalis* samt bakteriofagererna  $\Phi X$  och 28B, studerades med jämna mellanrum under projektet. Kemisk analys av näringsämnen gjordes vid uppstart och vid avslutande av experimentet. De näringsämnen som studerades var ammoniak, nitrat, total-kväve, fosfat och total-fosfor.

De resultat som framkom under experimentet var att varken mask- eller kontrollkomposten hade uppnått ett moget och hygieniserat material under de 77 dagar som experimentet pågick. Detta beror delvis på att flertalet av maskarna vid två tillfällen dog av höga ammoniakhalter och torka, vilket vittnar om maskarnas känslighet och svårigheterna med småskalig maskkompostering. För båda behandlingarna skulle mer tid ha behövts då inget material ansågs stabiliserat och moget.

Institutionen för energi och teknik, Sveriges Lantbruksuniversitet, Lennart Hjelms väg 9, box 7032, SE-750 07 Uppsala, Sverige.  
ISSN 1401-5765

*Sal. Typhimurium* och bakteriofag  $\Phi X$  sjönk betydligt i båda komposterna. För *Ent. faecalis* var kontrollkomposten den effektivare behandlingen. Bakteriofag 28B var den starkaste överlevaren i båda komposterna. I båda behandlingarna gick över 90 % av den ursprungliga ammoniaken förlorad. För totalkväve och totalfosfor fanns det en skillnad mellan behandlingarna och kontrollkomposten visade sig innehålla högre halter av dessa ämnen. För resterande ämnen fanns ingen skillnad mellan de olika behandlingarna.

Nyckelord: maskkompostering, mesofil kompostering, indikatororganismer, gödsel.

## Abstract

### Composting as treatment for organic waste

Alexander Myrsten

The lack of high standard fertilizers is considerable in many low and medium income countries. The mineral fertilizers are expensive to buy and difficult to transport. Bio-fertilizer material exists in large quantities: e.g. food left-overs, garden waste, manure and feces. These materials are rich in phosphorus and nitrogen and other vital plant nutrients. These materials, however, often contain large amounts of pathogenic microorganisms harmful to both humans and animals. If the material is to be used as bio-fertilizers it is crucial that all pathogenic microorganisms are inactivated in order to prevent the spreading of infectious diseases.

In this study the efficacy of vermicomposting was compared to mesophilic composting in regards to pathogen inactivation. The main study objectives were to investigate the ability of the composts to inactivate four different indicator organisms, and to determine the composts fertilizer value. The indicator organisms studied were the bacteria *Salmonella* Typhimurium and *Enterococcus faecalis* and the bacteriophages  $\Phi$ X174 and 28B. A chemical analysis of the compost material was done in the beginning and in the end of the experiment. The substances analyzed were ammonium, nitrate, total nitrogen, phosphate and total phosphorus. The experiment lasted for 77 days in total.

The result from the study suggests that neither the vermicompost nor the control compost achieved a material that was mature and free of pathogen microorganisms by the 77th day of the experiment. The results can partly be explained by worms dying due to high ammonium levels and dried out material. This shows that worms are extremely sensitive and that small scale vermicomposting is hard to manage. An extended time line for the study is needed to achieve a completely mature material.

Institutionen för energi och teknik, Sveriges Lantbruksuniversitet, Lennart Hjelms väg 9, box 7032, SE-750 07 Uppsala, Sverige.  
ISSN 1401-5765

*S. Typhimurium* and bacteriophage  $\Phi$ X174 decreased substantially with both treatments in the study material. There was a significant difference between the two composts regarding the inactivation of *E. faecalis*, the control compost showed to be more effective in this aspect. Bacteriophage 28B was the strongest survivor in both of the different composts. Both the vermicompost and the control compost lost over 90 % of the original ammonium. For total nitrogen and total phosphorous the control compost had the highest values. For the rest of the controlled substances no difference between the treatments could be observed.

Key words: vermicomposting, compost, indicator organisms, fertilizers.

## Förord

Denna rapport har skrivits som ett examensarbete för att kunna avsluta mina studier till civilingenjör inom miljö och vattenteknik på Uppsala Universitet. Projektet har genomförts på Sveriges Lantbruksuniversitet vid Institutionen för energi och teknik i Uppsala. Det laborativa arbetet har utförts på Statens veterinärmedicinska anstalt i Ultuna, Uppsala.

Cecilia Lalander har varit handledare och Björn Vinnerås har varit ämnesgranskare. Båda arbetar vid institutionen för energi och teknik, SLU.

Detta arbete hade inte vart möjligt att genomföra på egen hand, därför vill jag tacka följande personer. Först och främst vill jag tacka min handledare Cecilia Lalander som på ett utmärkt sätt hjälpt och stöttat mig i det laborativa arbetet såväl som i skrivandet av rapporten. Jag vill även tacka min handledare Björn Vinnerås för den hjälp jag fått med rapporten. Ett speciellt tack riktas även till Alexander Johansson, Annika Nordin, Jörgen Fidjeland och Maria Elisa Magri som förutom att ha varit behjälpliga i det laborativa skedet av projektet även gjort det laborativa arbetet avsevärt mycket roligare.

Jag vill även tacka min familj och mina vänner för det stöd de givit mig under skrivandet av denna rapport.

/Alexander Myrsten

# Populärvetenskaplig sammanfattning

## Kompostering för behandling av organiskt avfall

*Alexander Myrsten*

För att en jordbruksmark ska vara i balans och kunna användas även i framtiden, krävs det att man tillsätter lika mycket näringsämnen till marken som man tar ut från marken via de som skördas. Idag används mestadels mineralgödsel för att upprätthålla denna balans av näringsämnen i jorden. Nackdelarna med mineralgödsel är att det är förhållandevis dyrt, är en ändlig resurs samt att det krävs en väl uppbyggd infrastruktur för att effektivt kunna transporteras från fabrik till jordbruksmark.

Alternativ till mineralgödsel är bio-gödsel vilket består av organiskt material exempelvis boskapsgödsel, hushållsavfall, slakteriavfall, trädgårdsavfall, pappersmassa, restprodukter från bryggerier med mera, som genomgått en behandling. Efter behandlingen är materialet rikt på näringsämnen som växter kan ta upp via sina rötter. Materialet är även säkert att hantera och fritt från sjukdomsframkallande bakterier och virus som annars kan finnas i obehandlat organiskt material

Detta projekt har fokuserat på två olika typer av behandling av organiskt material, kompostering och maskkompostering för att se om det finns en skillnad mellan hur dessa metoder dödar bakterier och virus i det obehandlade materialet. I projektet har även det behandlade materialets innehåll av näringsämnena kväve och fosfor studerats före och efter behandlingen. Detta för att se om någon av behandlingarna skapar ett material som är bättre lämpat som gödsel.

Projektet genomfördes genom att tre stycken komposter och tre stycken maskkomposter byggdes i liten skala, i laboratorium. Med jämna mellanrum togs prover från komposterna och koncentrationerna av bakterier och virus i materialet räknades fram och följdes under projektets gång. Vid uppstarten och avslutande av komposten togs även prover som användes för att räkna fram koncentrationen av näringsämnen i materialet.

Under detta projekt så uppnådde ingen av behandlingarna ett material fritt från sjukdomsframkallande bakterier och virus. En förklaring är att experimentet fick modifieras



ett flertal gånger samt att maskarna vid två tillfällen dog vilket gjorde att den totala behandlingstiden som maskarna fick i materialet blev för kort.

Det som dock gick att observera var att två av de organismer som studerades skiljde sig mellan de olika behandlingarna. Maskkomposten var marginellt bättre med avseende på avdödning av ett av virusen, och den vanliga komposten var aningen bättre vid avdödning av en av bakterierna. För de resterande två studerade organismerna kunde ingen skillnad observeras.

När det kommer till det behandlade materialets innehåll av näringsämnen så var den vanliga komposten aningen bättre som gödselmedel då den uppvisade något högre halter av två av de studerade ämnena totalkväve och totalfosfor.

Slutsatserna från detta experiment är att en längre studie behövs för att avgöra vilken behandling som är effektivast. Maskkompostering kräver noggrann översyn och är svår att få att fungera i liten skala.

# Innehållsförteckning

1. Inledning.....	1
2. Problemformulering .....	4
3. Bakgrund .....	5
3.1 Mineralisering .....	5
3.2 Kompostering.....	6
3.3 Maskkompostering.....	8
3.4 Hygienisering .....	11
3.5 Patogener och Indikatororganismer .....	12
3.5.1 Patogener .....	12
3.5.2 Indikatororganismer .....	12
3.5.3 <i>Salmonella</i> Typhimurium .....	13
3.6 <i>Enterococcus faecalis</i> .....	14
3.7 Bakteriofager .....	15
3.7.1 Bakteriofag 28B .....	15
3.7.2 Bakteriofag $\Phi$ X.....	15
4. Metod.....	16
4.1 Metodinledning.....	16
4.2 Kompostblandning .....	16
4.2.1 Kompost version 1 .....	17
4.2.2 Kompost version 2 .....	18
4.2.3 Kompost version 3 .....	19
4.2.4 Kompost version 4 .....	19

4.3 Mikrobiell provtagning .....	20
4.4 Substrat vid mikrobiell provtagning .....	20
4.4.1 SlaBa .....	20
4.4.2 MSRV .....	20
4.4.3 BAB .....	21
4.4.4 XLD .....	21
4.5 Provtagningsuppstart mikrobiell provtagning .....	22
4.5.1 Enterococcus .....	22
4.5.2 Salmonella .....	22
4.5.3 Bakteriofag 28B och $\Phi$ X 174 .....	23
4.5.4 Kemisk analys av start- och slutvärden.....	24
4.5.5 TS och VS prov .....	24
4.5.6 Näringsämnesanalys .....	25
4.5.7 Förberedning för provtagning av ammoniak, nitrat, fosfat och totalfosfor .....	25
4.5.8 Förberedning för provtagning av Totalkväve.....	26
4.6 Databearbetning och statistik.....	26
4.6.1 ANOVA-analys .....	26
4.6.2 Standardfelet.....	26
5. Resultat .....	27
5.1 Kompost version 1.....	27
5.2 Kompost version 2.....	27
5.3 Kompost version 3.....	29
5.4 Kompost version 4.....	29
5.5 Slutprovtagning.....	29

5.6 Avdödning av indikator organismer .....	30
5.6.1 Avdödning av indikatorbakterier i maskkompost .....	30
5.6.2 Avdödning av indikatorbakterier i kontrollkompost .....	31
5.6.3 Avdödning av <i>S. Typhimurium</i> .....	32
5.6.4 Avdödning av <i>E. faecalis</i> .....	33
5.6.5 Avdödning av bakteriofag $\Phi$ X .....	34
5.6.6 Avdödning av bakteriofag 28B .....	35
5.6.1 P-värden för de olika indikatororganismerna .....	36
5.7 Resultat av kemisk analys .....	37
5.7.1 Koncentration av näringsämnen .....	37
5.7.2 TS och VS värden .....	38
5.7.3 P-värden för näringsämnen.....	38
6. Diskussion.....	40
7. Slutsatser.....	45
8. Litteraturförteckning .....	48



## 1. Inledning

I oktober 2001 beräknade FN organet UNFPA att vi passerat sju miljardersgränsen för den totala befolkningen på jorden (UNFPA, 2011). År 2005 beräknades det att det fanns omkring 1,4 miljarder människor som levde i extrem fattigdom, vilket enligt FN är de som lever på under 1,25 \$ om dagen (UN, 2011). Ett av de mest utsatta områdena när det gäller extrem fattigdom är de länderna söder om Sahara där över hälften av befolkningen fortfarande lever i extrem fattigdom och nästan en fjärdedel av barn under fem år är undernärda (UN, 2011). I Uganda är 32 % av barnen så undernärda att deras tillväxt drabbas negativt och barnadödligheten ligger på 12,8 % (FAO, 2011) och det är även här i länderna söder om Sahara som utvecklingen för att förbättra villkoren för dessa människor går långsammast (UN, 2011).

Med extrem fattigdom tillkommer hunger och undernäring som drabbar de svagaste och sårbaraste hårdast, i de flesta fall små barn. Undernäringen beror inte enbart på brist av näringsrik mat, utan beror till stor del på bristande hygien och smittspridning av patogener från obehandlade fekalier. Bristande sanitet leder till utbrott av diarrésjukdomar, vilket förvärrar effekterna av undernäringen (UNICEF, 2012) (UN, 2011).

En annan aspekt att ta i beaktning vad gäller bekämpning av hunger och undernäring är livsmedelsproduktion. För att kunna ha en tillräcklig hög livsmedelsproduktion krävs det en god tillgång på gödselmedel innehållande framförallt kväve, fosfor och kalium. Konstgödsel som idag är den primära gödselkällan är så dyrt att många fattiga länder i framförallt i Afrika både saknar kapital för att köpa konstgödsel och infrastruktur för transport av konstgödsel (Rosemarin & Cordell, 2011). Ett annat problem med konstgödsel är att det består av ändliga resurser vilka en dag kommer ta slut (Jönsson, 2011).

I Kampala, Uganda, bor idag miljontals människor och djur i den stadsnära bebyggelsen (Vinnerås, 2012). Detta leder dagligen till att mycket stora mängder organiskt avfall bildas. Detta avfall kan även ses om en resurs som skulle kunna täcka hela stadens behov av växtnäring, om det fanns ett system för att återföra dessa näringsämnen till jordbruket på

ett säkert och effektivt sätt. Idag hamnar mycket stora delar av detta material i enkla latringropar eller direkt på marken. Då detta material inte är behandlat så utsätter de människor och djur för stora risker då dricksvatten kan kontamineras och patogener får en grund från vart de senare kan spridas.

Maskkompostering är den behandlingsmetod för organiskt material som detta arbete ska utforska. De fördelar som maskkomposter har gentemot termofil kompostering är att ingen vändning eller luftning behöver göras av materialet då maskarna som lever under aeroba förhållanden sköter detta själva, slutmaterialet får även en homogenerare struktur vilket främjar mikroorganismer och mineraliseringen av växtnäringsämnen (Edwards, 2010). Den stora nackdelen med maskkompostering är att temperaturen inte får överstiga 35 °C för att maskarna ska överleva. Detta medför att Inaktivering av patogener med hjälp av höga temperaturer inte är möjlig i en maskkompost (Edwards, 2010).

Tidigare forskning har visat att en kombination av termofil förkompostering med efterföljande maskkompostering både leder till att behandlingstiden förkortas och att slutproduktens kvalitet förbättras samt att reduktionen av oönskade patogener uppnådde uppsatta gränser (Ndegwaa & Thompson, 2001).

Annan forskning visar också på att maskkompostering är en effektiv behandling av *E.coli*, *Salmonella spp*, *Ent. faecilis*, enteriska virus och parasiter som tarmmask. Experiment har visat att maskkompostering i 4 till 5 månader är tillräcklig för att uppnå ett hygieniserat material (Bajsa m.fl, 2005). Maskkompostering har även visat sig fördelaktig då material efter flera månaders lagring efter genomförd behandling visat sig vara fritt från patogener (Bajsa m.fl, 2005).

Forskning av Sinha, Herat, Bharambe, & Brahambhatt har påvisat att maskkompostering påskyndar stabiliseringsprocessen i avloppsslam. Detta har påvisats genom att den totala mängden organiskt kol minskat med drygt 10 % mer, jämfört med en termofil kompost efter 12 veckors behandling (Sinha m.fl, 2010).

Liknande försök med stabilisering av avloppsslam av Gupta och Garg har visat att en blandning av avloppsslam och kodynga är ger ett bra material för gödsling då pH , totalt

organiskt kol och kol/kväve kvoten minskar medans totalkväve, totalfosfor och totalkalium ökade (Gupta & Garg, 2008).

Detta projekt är en del i ett större forskningsprojekt finansierat av utrikesdepartementet, huvudprojektet är "Urban and peri-urban animal farming". Målsättningen är att kunna förbättra de negativa effekter stadsnära boskapslantbruk har, genom att hitta effektiva metoder för att behandla det organiska restmaterialet. Förhoppningen är att man ska kunna nyttja de näringsrika restprodukter som skapas av boskapskötsel, för att efter behandling kunna använda det som en säker gödselkälla för lantbruk i samma region. (Boqvist, Vinnerås, & Lindberg, 2011)

Huvudprojekt är uppdelat i tre underprojekt: zoonotiska sjukdomar, dålig hygien samt säker livsmedelsförsörjning. Detta projekt utforskar maskkompostering som en möjlig hygieniseringsmetod som både är enkel, billig och genomförbar i Kampala. Under projektet jämförades maskkompostering med mesofil kompostering, som användes som referens och benämns kontrollkompost i rapporten.

Kompostmaterialets förmåga att hålla näringsämnen innehållande kväve och fosfor analyserades, detta för att få en uppfattning om kompostmaterialet är lämpligt att använda som biogödsel efter genomförd behandling.



## 2. Problemformulering

- Är maskkompostering en effektiv behandling, jämfört med mesofil kompostering, för att hygienisera kontaminerat organiskt material, med avseende på indikatororganismerna, bakterierna *Salmonella Typhimurium* och *Enterococcus faecalis* samt bakteriofagerna  $\Phi$ X174 och 28B?
- Hur förändras näringsinnehållet i kompostmaterialet av behandlingarna, med avseende på ammoniak, nitrat, total-kväve, fosfat och total-fosfor i maskkomposten respektive kontrollkomposten?

## 3. Bakgrund

### 3.1 Mineralisering

Mineralisering är den process som sker löpande i naturen då organiskt bundet material bryts ner av mikroorganismer och svampar och återförs till jorden som oorganiska föreningar. Majoriteten av kolet i de organiska molekylerna försvinner som koldioxid via mikroorganismernas cellandning då dessa bryter ner de organiska molekylerna för att utvinna energi. Nedbrytningen av organiskt material sker stegvis. De minst komplexa och energirikaste molekylerna, såsom socker, bryts ner snabbast. Mer komplexa molekyler, som cellulosa och lignin, bryts ner betydligt långsammare (Pettersson, 2006).

Kväve är en livsviktig beståndsdel för allt levande och behövs för att bygga proteiner, aminosyror och arvsanlag som DNA och RNA. Den enda källan av kväve för människor och djur är genom organiska föreningar såsom proteiner eller aminosyror som fås genom födan. Växter och bakterier kan däremot ta upp oorganiska föreningar av kväve i form av ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) och nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) (Likens, 2005). Det är även detta kväve vi använder högre upp i näringskedjan. För att växterna ska kunna tillgodose sitt behov av kväve krävs det tillräckliga mängder av ammoniak och nitrat i marken.

Ammonifikation är det första steget och sker med hjälp av mikroorganismer och svampar som bryter ner organiskt bundet kväve till ammonium. Nästa steg sker då specifika bakterier via nitrifikation omvandlar ammonium till nitrat (Likens, 2005).

Även fosfor är livsviktigt för allt levande och används till att bygga arvsanlag DNA och RNA, fosforlipider, ATP samt tänder och ben för djur. Fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) är den enda oorganiska källan av fosfor som växter kan ta upp och de nyttjas senare högre upp i näringskedjan. Mineralisering av fosfat sker då mikroorganismer bryter ner organiskt material och bildar fosfat som växterna sedan kan ta upp (Likens, 2005).

## 3.2 Kompostering

Kompostering är resultatet av flertalet aeroba processer som sker när organiskt material läggs tätt samman i en fuktig miljö, men kompostering som helhet kan beskrivas enligt följande.

”Biologisk nedbrytning och stabilisering av organiskt material under förhållanden som tillåter utveckling av termofila temperaturer som ett resultat av biologisk aktivitet, med en slutgiltig produkt fri från patogener och tillräckligt stabil för att lagras och för att kunna spridas på mark utan att påverka miljön negativt” (Haug, 1993).

Den första fasen vid kompostering är den mesofila fasen. I denna fas växer en varierad population av mikroorganismer och svampar till sig och bryter ner den enklaste och mest lättillgängliga molekylerna. Detta leder till att temperaturen i komposten stiger till cirka 45°C innan mikroorganismernas aktivitet upphör. Vid denna temperatur dör de flesta växtcellerna och hyferna och slutligen så förstörs deras cellmembran (Kutzner, 2008).

Efter den mesofila fasen följer en kortare tillväxtsfas innan den termofila fasen tar vid. I den termofila fasen växer termofila bakterier och svampar till sig och temperaturen ökar stegvis. Den optimala temperaturen för dessa organismer ligger mellan 50 °C och 65 °C, vid temperaturer mellan 70 °C och 80 °C dör de av (Kutzner, 2008). Beroende på balansen mellan tillförd värme via mikroorganismerna och värmeförluster till omgivningen kommer komposten att hitta en balans och en stabil temperatur kommer hållas så länge de termofila organismerna har tillräckligt med näring. Då temperaturen överstiger 80 °C kommer mikroorganismerna inaktiveras vilket leder till att temperaturen i komposten sjunker. Detta skapar således ett självreglerande system (Kutzner, 2008).

Den tredje fasen, mognadsfasen, karakteriseras av en gradvis minskning i temperatur. Då temperaturen avtagit tillräckligt för att mesofila organismer ska kunna överleva återväxer dessa och konkurrerar ut de termofila. Från denna punkt fortsätter nerbrytningen av det komposterade materialet, i ett långsammare tempo, tills materialet är moget. I och med att materialet mognar ändras materialet sin färg som blir mörkare. Strukturen liknar allt mer jord. PH-värdet för en mogen kompost ökar och ligger vanligtvis mellan 8-9 (Kutzner, 2008).

Material som är lämpliga för kompostering är följande, trädgårdsavfall, skogsavfall, matrester, frukt och grönsaksrester, biprodukter från rötningsanläggningar, gödsel från boskap, restprodukter från pappersindustrin, slakterirester och avloppsslam. Var och en för sig kan dessa material vara svåra att kompostera. För att motverka detta behöver materialen finfördelas och beblandas poröst, och behandlades så vattenhalten och C/N-kvoten ligger på en bra nivå. (Kutzner, 2008) (Bertoldi, Vallini, & Pera, 1983) (Naturvårdsverket, 2003)

För att mikroorganismerna ska trivas och komposteringen ska fungera optimalt krävs en kol/kväve-kvot som bör ligga runt 30 vid uppstarten av komposten (Bertoldi, Vallini, & Pera, 1983) (Kutzner, 2008). Om C/N-kvoten är för hög kommer bristen av kvävet att begränsa tillväxten av mikroorganismer i komposten, vilket kommer leda till en långsammare komposteringsprocess och en minskad värmeproduktion i komposten. Om kvoten är för låg kommer det att råda ett överskott av kväve, vilket leder till att ammoniak kommer att evaporeras. Detta kommer att minska det slutgiltiga materialets koncentration av näringsämnen innehållande kväve. (Bertoldi, Vallini, & Pera, 1983) (Kutzner, 2008)

För att motverka en för hög C/N-kvot så bör komposteringsmaterialet blandas ut med material som har en låg C/N-kvot, exempelvis avloppsslam, gödsel eller urin. Då C/N-kvoten är för låg bör materialet istället blandas med material som har en hög C/N-kvot, exempelvis trädgårdsavfall eller skogsavfall. (Bertoldi, Vallini, & Pera, 1983) (Kutzner, 2008)

Allteftersom materialet bryts ner kommer det mesta av kolet att försvinna som koldioxid vilket att kommer leda till att C/N-kvoten sjunker, då mikroorganismerna tar upp kvävet i sin egen biomassa som blir kvar i komposten (Kutzner, 2008).

Vatten är en helt avgörande för att mikroorganismerna ska kunna leva i komposten. Dock ger viktförhållandet mellan torrsvikt och våtsvikt inte ett entydligt svar på vilken den optimala vattenhalten är. Detta beror på hur stor andel av vattnet som är bundet till materialet, och inte kan nyttjas av bakterierna (Kutzner, 2008). Sågspån och halm kräver ett vatteninnehåll mellan 75% - 90%, medan färskt trädgårdsavfall och matavfall endast kräver ett vatteninnehåll på 50% - 60% för optimal kompostering (Kutzner, 2008). Under nedbrytning

av organiskt material tillkommer vatten genom cellandningen. Dock försvinner mycket av det vatten som finns tillgängligt som vattenånga vid luftningen av komposten.

Kompostering är en aerob metod vilket medför att syre måste finnas tillgängligt för att mikroorganismerna ska kunna bryta ner det organiska materialet. Vid nedbrytning av 100 gram organiskt material krävs 80 gram syre (Kutzner, 2008). För att tillgodose mikroorganismernas behov av syre behöver komposthögen luftas, vilket kan göras genom vändning av kompost vilket förbättrar kompostens struktur eller genom att aktivt pumpa luft igenom komposten. Andra viktiga faktorer som påverkar syreförhållanden i en kompost är strukturen på de material som komposteras. Allt för smått material gör komposten för tät, vilket leder till syrebrist, och alltför grovt material minskar angripsytan för mikroorganismer (Bertoldi, Vallini, & Pera, 1983) (Kutzner, 2008).

Vid kompostering förbrukar mikroorganismerna det mesta av det organiska materialet genom sin respiration och den totala massan minskar. Under kompostering i 35 dagar uppmättes en 74% minskning av den organiska massan (Vinnerås, Björklund, & Jönsson, 2003). Förutom att den totala massan minskade ökade TS (total solids) från 29% till 44% och andelen askvikt ökade från 14,3% till 39,3% vilket tyder på en kraftig reduktion av det organiska materialet (Vinnerås, Björklund, & Jönsson, 2003).

I komposter innehållande lättillgängliga och energirika fettsyror, som ofta finns i hushållsavfall, sjunker kompostens pH-värde initialt till 4,5 – 6 beroende på att korta organiska syror bildas (Sundberg, Smårs, & Jönsson, 2004). Moget komposterat material har däremot ett pH mellan 8 och 9 (Sundberg, Smårs, & Jönsson, 2004).

### **3.3 Maskkompostering**

Maskkompostering kan beskrivas som en biooxiderande process där maskar i nära samspel med mikroorganismer påskyndar stabiliseringen av det organiska materialet samtidigt som materialets fysikaliska och biokemiska egenskaper förändras (Domínguez & Gómez-Brandón, 2012).

*Eisenia fetida* är den vanligaste arten som används vid maskkompostering. Den finns världen över och söker sig naturligt till organiskt material för att äta. Livscykeln är relativt kort och

maskarna blir köns mogna redan efter 28-30 dagar och kan då lägga mellan 0,35-0,5 kokonger per dag innehållandes 2,5 -3,8 maskar per kokong. Efter cirka 50 dagar är de fullvuxna, de har då en medelvikt på 0.55 g och medelängd mellan 5 och 10 cm. Under kontrollerade former har en medellivslängd på 594 dagar uppmätts. (Dominguez & Edwards, 2011)

Den aktiva fasen karakteriseras av hög närvaro av kompostmaskar och är den initiala fasen i en maskkompostering. Under denna fas sönderdelar maskarna det organiska materialet då materialet passera genom maskarnas kroppar, ofta flera gånger (Edwards, 2011). Förändring i kemiska parametrar och högre mikrobiell aktivitet har uppmätts i material som passerat genom maskarna (Dominguez & Edwards, 2011). Denna aktiva fas sker vanligtvis i de översta 15 cm av komposten där det färskaste materialet finns (Dominguez & Edwards, 2011). Längden av den aktiva fasen beror på koncentrationen av maskar, vilken sorts maskar som används och vilket material som behandlas (Domínguez & Gómez-Brandón, 2012).

Den sista fasen för en maskkompost är mognadsfasen. Mognadsfasen börjar då maskarna lämnat materialet och börjat röra sig mot färskt material. Kvar blir mikroorganismer som fortsätter att bryta ner materialet tills de stabiliserats. Materialet i en mogen maskkompost är mörkbrunt eller svart till färgen. Materialet är finfördelat, har hög porositet och luftningsförmåga samtidigt som det har hög vattenhållningskapacitet (Dominguez & Edwards, 2011). Tiden det tar för en maskkompost att mogna varierar kraftigt och är beroende av val av system, omgivande miljö och klimat. En av de snabbare maskkomposterna med kilsystem har 3-4 månaders processtid medan det kan ta 6-18 månader för en traditionell bäddmaskkompost att mogna (Edwards, 2011).

Maskkompostering är en mesofil process där den optimala temperaturen ligger mellan 15 °C och 25 °C, men maskarna överlever temperaturer mellan 4 °C och 30 °C (Dominguez & Edwards, 2011).

Nästan all form av organsikt material går att kompostera i en maskkompost. Material som är extra lämpliga är dock mat- och trädgårdsavfall, gödsel, restavfall från bryggerier, avloppsslam och processerad pappersmassa (Edwards, 2010). Material som inte är lämpligt

att kompostera i maskkomposter, och som behöver förbehandlas, är material rikt på ammoniak och salt.

För att maskarna ska trivas optimalt i komposten bör C/N-kvoten ligga mellan 25 och 30 i startmaterialet. Vid optimal maskkompostering bör C/N-kvoten ligga runt 10 när komposten är mogen, men värden strax över anses också vara acceptabla under förutsättningar att nedbrytningen har stannat in, då inga lättnedbrutna organiska föreningar finns kvar i materialet (Dominguez & Edwards, 2011).

För att kompostmaskarna ska kunna överleva krävs att materialet hålls fuktigt. Vattenhalten i en maskkompost bör optimalt ligga mellan 80% och 85% men maskarna överlever vid vattenhalter mellan 60% och 90%. (Dominguez & Edwards, 2011)

Till skillnad från aerobkompostering behöver inte maskkomposten extern syresättning. I och med kompostmaskarnas grävande syresätts komposten, vilket gynnar aeroba mikroorganismer i komposten.

Likt en termofil kompost reduceras den totala massan i en maskkompost avsevärt då det mesta av det organiska kolet försvinner som koldioxid, en mindre del kol och näringsämnen tas upp i mikroorganismer och maskarna och blir därigenom kvar i komposten (Dominguez & Edwards, 2011).

De flesta arter av kompostmaskar är relativt toleranta mot förändringar av pH och klarar av pH-värden mellan 5 och 9. Dock så föredrar kompostmaskarna surare material och trivs bäst i material med pH runt 5 (Dominguez & Edwards, 2011)

Material som innehåller koncentrationer av ammoniak som överstiger 0,5 mg/gram prov eller salthalter på 0,5 % och mer är direkt dödliga för maskar och sådana material behöver förbehandlas innan maskarna tillsätts (Dominguez & Edwards, 2011). Förbehandlingar som kan tillämpas är spolning av materialet och utspädning med annat material för att åtgärda höga salt- och ammoniakhalter. Förkompostering av materialet kan även användas för att bli av med höga ammoniakhalter.

### 3.4 Hygienisering

Europaparlamentets och rådets förordning nr 142/2011 som behandlar "...  
*hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel...*" (EG, 2011) är den förordning som ersatt den äldre (EG) nr 1774/2002 (förordning om animaliska biprodukter), och idag specificerar de krav som finns på biologisk behandling av organiskt material. Med biologisk behandling menas i detta fall kompostering eller rötning.

Biologisk behandling är endast tillåten för material tillhörande kategori 2 och 3 vilket specificeras i förordningen nr 142/2011 (EG, 2011). Kategori 2 och 3 kan dock något förenklat beskrivas enligt följande.

Kategori 2 innehåller bland annat, naturgödsel, mag- och tarminnehåll, djur eller delar av djur som inte avlivats på grund av allvarlig sjukdom. Det är dock vanligt att naturgödseln hanteras i enlighet med bestämmelserna för kategori 3 material.

Kategori 3 innehåller bland annat, djur eller delar av djur som slaktats och varit tjänliga som livsmedel, djur som gått igenom besiktning på slakteri utan tecken på sjukdom men som inte godkänts som livsmedel på grund av gemenskapslagstiftning.

För att en komposteringsbehandling ska uppfylla de krav på hygienisering som ställs ska partikelstorleken på inkommande material vara maximalt 12 mm. Temperaturen i komposten ska hålla 70 °C i minst en timme i allt material alternativt genomgå motsvarande behandling. (EG, 2011)

För att materialet ska anses vara hygieniserat efter en biologisk behandling ska ett flertal representativa prov från det behandlade materialet tas under, eller omedelbart efter, avslutad behandling. (EG, 2011)

Fem av proverna ska testas för *Escherichia coli* alternativt *Enterococcaceae*. Testvikten per prov är 1 gram och totalt får samtliga prov tillsammans inte innehålla fler än 5000 bakterier, och inget enskilt prov får ha en högre koncentration än 1000 bakterier/gram. (EG, 2011)



Fem av proven testas för salmonella. Testvikten per prov är 25 gram och inga positiva resultat får påträffas. Ger någon av dessa tester underkända resultat skall behandlingen repeteras. (EG, 2011)

### **3.5 Patogener och Indikatororganismer**

#### **3.5.1 Patogener**

Patogener är ett samlingsnamn för sjukdomsframkallande mikroorganismer och kan finnas som bakterier, virus, och protozoer. Vanligt förekommande patogener i avföring från nötkreatur är bakterierna *E.coli* O157:H7, *Salmonella* spp, och protozoer som *Giardia* spp eller virus som Polio, Coxsackie-42, Echo, Hepatitis A och Rotavirus (Gerba & Smith, 2006) (Nicholson, Groves, & Chambers, 2005)

#### **3.5.2 Indikatororganismer**

En indikatorbakterie för fekal kontaminering av vatten definieras enligt följande (Ronald, 2006).

- Indikatororganismen bör finnas närvarande när det finns patogener från tarmfloran.
- Indikatororganismen bör vara användbar för alla typer av vatten;
- Indikatororganismen bör överleva längre i den yttre miljön än andra patogener;
- Indikatororganismen bör inte växa till i vatten;
- Indikatororganismen bör finnas naturligt förekommande i varmblodiga djurs tarmar.
- Provtagningsmetoden bör vara lätt att utföra;
- Kvantiteten av hittade indikatororganismer bör ha ett direkt samband med hur stor den fekala kontamineringen är.

Alla ovanstående punkter behöver inte vara uppfyllda, men ju fler som är uppfyllda desto bättre är indikatororganismen som indikator (Ronald, 2006).

När prover tas som ger positiva utfall så indikerar detta att det finns obehandlade fekalier i provet. Detta betyder i sin tur att det förutom indikatorn kan finnas andra patogener som kan vara betydligt skadligare för människor och djur men som kan vara svåra att upptäcka i små koncentrationer.

### 3.5.3 *Salmonella Typhimurium*

*Salmonella* är ett bakteriesläkte som tillhör familjen *Enterobacteriaceae*. Inom släktet *Salmonella* finns det två arter som kan påverka människor negativt, dessa är *Salmonella enterica* och *Salmonella bongort*. Av dessa två är *Salmonella enterica* den vanligast förekommande och är i sin tur uppdelad i ytterligare sex underarter varav en är *Salmonella enterica* underart *enterica*. Av denna underart finns det sedan ett betydande antal stereotyper, däribland *Salmonella enterica* underart *enterica* Typhimurium som även benämns *Salmonella* Typhimurium eller *S. Typhimurium*, vilket är den stereotyp som används i detta projekt. År 2007 hade man hittat 2579 olika stereotyper av *Salmonella* spp. (FDA, 2012)

Alla bakterier i släktet salmonella är cylinderformade och de flesta har flageller. De är gram-negativa, vilket innebär att de har en yttre cellvägg som gram-positiva bakterier saknar. Salmonella saknar förmågan att bilda sporer. (FDA, 2012)

Många stereotyper av salmonella är zoonotiska vilket innebär att de kan spridas mellan människor och djur. Utanför en värd kan salmonella inte fortplanta sig i någon större utsträckning. De kan dock överleva i veckor i vatten, och i jord kan de under gynnsamma förhållanden överleva i år (Todar, 2008).

Vid smitta av salmonella kan två olika sjukdomar fås beroende på vilken stereotyp av bakterien som smittat.

Nontyphoidal Salmonellosis är den mildare av dessa sjukdomar som hos friska personer inte kräver någon behandling. Infektionsdosen kan vara så låg som en enstaka bakterie beroende på hälsan hos värden och stereotyp av bakterien. Symtom börjar synas mellan 6-72 timmar efter infektion och symtomen är yrsel, kräkningar, kramper, diarré, feber och huvudvärk. Symtomen håller i sig upp till en vecka, men de akuta besvären brukar avta efter 1-2 dagar. Smitta sker oralt via mat eller vatten, ofta från fekal kontaminering. (FDA, 2012)

Typhoidfeber är den andra och allvarligare av dessa sjukdomar och kan utan behandling vara dödlig. Inkubationstiden ligger mellan 1 och 3 veckor men kan i extrema fall vara upp till 2 månader. Infektionsdosen för att bli smittad ligger under 1000 bakterier. Symtom vid smitta

är buksmärtor, hög feber, diarré eller förstoppning, huvudvärk, förlust av aptit och ibland förekommer rödaktiga utslag. (FDA, 2012)

### **3.6 *Enterococcus faecalis***

*Enterococcus* är en bakterie som närmast är besläktad med *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, and *Carnobacterium*. Dock har den tidigare i historien klassificerats som Grupp D *streptococcus*. I dagens läge finns det 27 bekräftade stereotyper av *Enterococcus* och den vanligaste förekommande är *Enterococcus faecalis*. (FDA, 2012)

*Enterococcus* är ett släkte av icke patogena gram-positiva bakterier som är sfäriska till äggformade och mindre än 2 µm långa. Bakterierna är opportunister och mycket goda överlevare och kan överleva länge utanför sin värd. Optimal temperatur för tillväxt av *Enterococcus* är vid 35 °C, men även under svåra förhållanden som vid höga pH-värden upp till 9,6, i 6,5 % NaCl-lösningar eller i temperaturer kring 45 °C kan tillväxt ske. (FDA, 2012)

*Enterococcus* lever och fortplantar sig i tarmarna hos människor och djur. I tarmarna lever bakterien av kommensalism, d.v.s. bakterien drar nytta av värden utan att värden påverkas positivt eller negativt (Murray, 1990). Då *enterococcus* är en stark överlevare är det inte ovanligt att finna den ute i naturen, oftast i djur men även på växter, i jord och i vatten. (FDA, 2012) (Murray, 1990)

*Enterococcus* kan leda till mycket svåra sjukdomstillstånd då många av bakterierna har hög resistens mot antibiotika, vilket försvårar behandlingen. Oral smitta är inte känd och kunskap inom detta område saknas. Inokulering av bakterierna direkt i öppna sår kan leda till hjärnhinneinflammation, bakteriemi, hjärthinneinflammation och urinväginflammation (Murray, 1990). En infektion av *enterococcus* är i sig inte livshotande men flera av följsjukdomarna är livshotande, exempelvis bakteriemi och hjärthinneinflammation. Symtom som uppstår vid insjuknande är diarré, bukkramper, yrsel, kräkningar, feber, köldkänningar och svindel (FDA, 2012).

## 3.7 Bakteriofager

Bakteriofager är ett samlingsnamn för virus som bara kan angripa bakterieceller. Bakteriofager har liknande struktur, utbyggnad och storlek som enterovirus som vanligen återfinns i tarmsystemet hos människor och djur. Dessa används därför ofta som indikatororganismer för sådana virus. Lik andra virus kan bakteriofager endast föröka sig genom en värdcell. Varje bakteriofag har specifika värd bakterier som de kan föröka sig igenom. Bakteriofagen känner igen sin värd bakterie via receptorer på den yttrecellväggen (Elving, 2009). Detta gör dem lämpliga att använda för laborativt arbete då de är billigare att analysera än vanliga virus, samt att risken att överföra viruset till människor då blir obefintlig. (Holmqvist & Stenström, 2002)

### 3.7.1 Bakteriofag 28B

28B är en bakteriofag som har sin arvs massa lagrad på dubbelsträngat DNA. 28B är värdspecifik för *Salmonella Typhimurium* (Lilleengen, 1948). Bakteriofag 28B är somatisk vilket betyder att den receptor som bakteriofagen angriper hos värdcellen finns permanent på cellskalet. 28B är inte vanligt förekommande i naturen (Elving, 2009).

### 3.7.2 Bakteriofag $\Phi X$

$\Phi X 174$  är en somatisk bakteriofag vars genom är uppbyggt av enkelsträngat DNA uppbyggt av cirka 5300 nukleider, vilka kodar för elva proteiner. Värd bakterien som  $\Phi X$  använder sig av för multiplicering är *Escherichia Coli*.  $\Phi X 174$  var det första DNA-genomet som blev avkodat, 1977 av Frederick Sanger och hans kollegor (Sanger, o.a., 1977).  $\Phi X$  är vanligt förekommande i naturen och återfinns i rikliga mängder i avloppsslam (Ottoson, 2005).

## 4. Metod

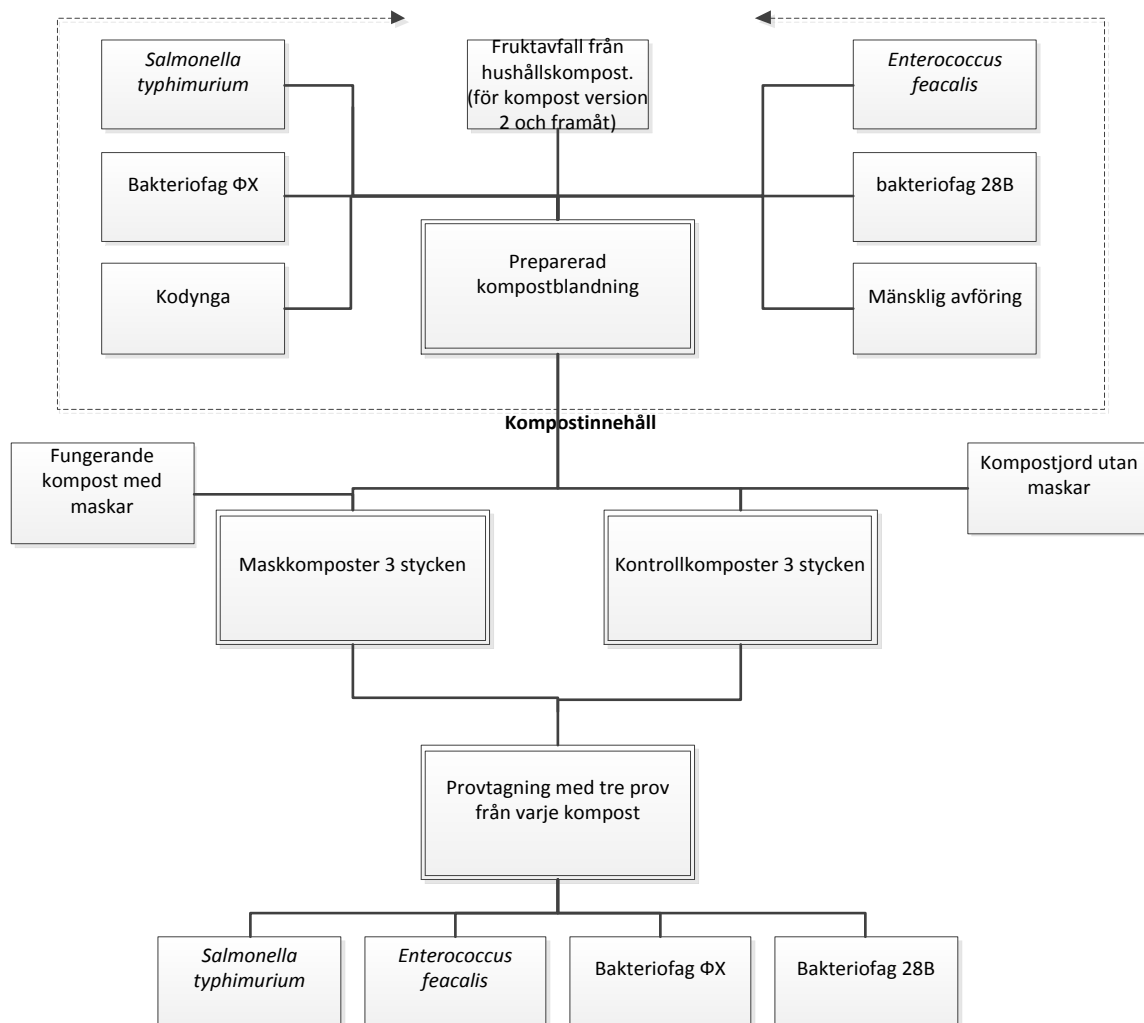
### 4.1 Metodinledning

Den experimentella delen av projektet utfördes på ett laboratorium beläget på Sveriges veterinärmedicinska anstalt (SVA). Experimentet gjordes i liten skala och innefattade tre komposter med maskar och tre komposter utan maskar. Ur varje kompost togs tre prover vid varje provtillfälle. Vid varje provtillfälle analyserades koncentrationen av *S. Typhimurium* och *Enterococcus faecalis*, och dessa bakterier användes som indikatororganismer för att illustrera avdödningen av olika bakterier i mask- och kontrollkomposten. Bakteriofag  $\Phi$ X 174 och 28B användes som indikatororganismer för att illustrera avdödningen av olika virus i mask- och kontrollkomposten. Bakteriofag 28B användes även som en indikator på om maskarna hade bearbetat materialet. Detta kunde nyttjas då bakteriofag 28B som är en stark överlevare i tidigare forskning visat sig dö då bakteriofagen passerat maskarnas kroppar (Lalander, 2012). Utöver dessa prover togs prov från start- och slutmaterialen och analyserades med avseende på ammoniak, nitrat, totalkväve, fosfat och totalfosfor.

### 4.2 Kompostblandning

Komposten bestod av 15 kg kodynga från en beteshage och 8 kg mänsklig avföring från ett utedass. Materialen hölls frysta fram till experimentets start. Till det tinade materialet inblandades 25 cl näringsbuljong med uppodlade *S. Typhimurium* fagtyp 178 som isolerats från reningsverksslam (Sahlmström, Aspan, Bagge, Danielsson-Tham, & Albihn, 2004), 25 cl näringsbuljong med uppodlade *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), 70 ml av bakteriofagen  $\Phi$ X 174 samt 20 ml av bakteriofagen 28B. Materialet blandades i en tillsluten förstärkt sopsäck genom att knådas under någon timme till dess att massan i påsen var homogeniserad.

Det färdigblandade materialet fördelades mellan de sex komposterna och tre prover togs för analys för att bestämma komposternas startvärde. De startvärden som analyserades var koncentrationer av indikatororganismerna, koncentrationsbestämning av näringsämnen samt TS och VS prover.



Figur 1. Illustration av tillverkningen av kompostmaterial som användes i projektet.

#### 4.2.1 Kompost version 1

Sex komposter uppställdes och till tre av dessa tillsattes kompostmaskar av arten *Eisenia fetida* medan de återstående tre var utan maskar och användas som referenser (figur 2).

Varje kompost bestod av två stycken 5 liters hinkar staplade på varandra. I den inre hinken var tio stycken 20 mm hål borrade för att tillåta maskarna att röra sig mellan de två hinkarna.

Den undre hinken var fylld med fuktigt tidningspapper och utgjorde en tillflyktsort för maskarna och skulle behövas om temperaturen skulle ökat alternativt då ammoniak skulle bildats i komposten. Den övre hinken fylldes med 3,5 kg av det kontaminerade materialet.



Figur 2. Bilden visar kompost version 1. De yttre hinkarna användes även för kompost version 4.

#### 4.2.2 Kompost version 2

Version 2 av komposten skiljde sig från den tidigare på flera punkter. Istället för de hinkar som användes i version 1 införskaffades 18 stycken skålformade byttor, tre stycken till varje kompost. I två av dessa tre borrhades 14 hål för att tillåta maskarna att röra sig fritt mellan de tre olika lagren. Till tre av dessa komposter togs ett kg kompostmaterial från en fungerande maskkompost och tillsattes i lager ett och lager tre, det understa och översta lagret. Till dessa lager tillsattes även 70 kompostmaskar per kompost. Till de resterande tre komposterna användes inköpt kompostjord utan maskar som lades till lager ett och tre, 1 kg tillsattes vardera lager.

Till lager två tillsattes i samtliga komposter en blandning av 1,5 kg materialet från version 1 och mixat fruktavfall till förhållandet 2:1. I denna blandning tillsattes även nya bakterier,

*S. Typhimurium* och *E. faecalis* och nya bakteriofager av typen 28B och ΦX 174. Från denna blandning togs tre prov för att användas som nya startvärden.

Upstarten av denna kompost hänvisas till som dag 1 under resterande del av rapporten.



Figur 3. Bilderna illustrerar de skålformade byttor som användes i kompost version 2 och 3.

#### 4.2.3 Kompost version 3

I kompost version 3 togs det översta lagret bort från samtliga komposter så att det mellersta lagret hamnade högst upp. De maskar som fanns i de övre sektionerna i maskkomposterna plockades ur och lades i det undre lagret i respektive kompost. Analys av pH genomfördes på det mellersta lagret.

#### 4.2.4 Kompost version 4

I version 4 av komposten togs de hinkar som använts i version 1 åter i bruk och fylldes med 0,8 kg av material från den undre sektionen från respektive kompost från version 3. När det undre lagret var ilagt lades en tunn krans med aska runt kanten för att markera gränsen mellan de två materialen. Det kontaminerade kompostmaterialet lades direkt på bäddmaterialet. Detta gjordes för att minska den fysiska barriären mellan de två materialen.

Den 7 februari, dag 49, tillsattes 25 nya kompostmaskar till varje maskkompost efter att komposterna hade fuktats ordentligt. Torka hade utplånat de maskarna som fanns i komposterna sedan tidigare.



### **4.3 Mikrobiell provtagning**

Med två till tre veckor intervall provtogs koncentrationen av de inokulerade bakterierna och bakteriofagerna. Traditionell bakterieodling på plattor från en spädningsserie användes för koncentrationsbestämning av *S. Typhimurium*, *E. faecalis* och bakteriofagerna ΦX174 och 28B.

### **4.4 Substrat vid mikrobiell provtagning**

Vid den mikrobiella analysen användes flertalet olika substrat för att kunna uppskatta koncentrationen hos indikatororganismerna. De substrat som användes var SlaBa, MSRV, BAB och XLD.

#### **4.4.1 SlaBa**

SlaBa står för Slanetz and Bartely och är ett medium som används för att odla enterococcus. Mediet är selektivt för enterococcus, och rosa till rödbruna prickar bildas där enterococcus växer. SlaBa är en rekommenderad metod för att upptäcka enterococcus i dricksvatten enligt det amerikanska miljödepartementet och den nordiska kommittén för livsmedelsanalys (Bridson, 2006). Förutom näringsämnen och näring som finns i mediet finns natriumazid som hämmar gramnegativa bakterier, vilket ger enterococcus en fördel då dessa är gram positiva och resistent mot natriumazid (Lichstein & Soule, 1944). Det aktiva ämnet Triphenyltetrazolium blir reducerat till formazan av enterococcus och som leder till den brunröda färgen (CONDALAB, 2010).

#### **4.4.2 MSRV**

MSRV står för Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis och används för att på ett relativt enkelt sätt upptäcka salmonella i mat och avföring. De aktiva ämnena i MSRV plattorna är bland annat kasein och hydrolysat som är kol- och kvävekällorna för att bakterierna ska kunna växa. Natriumklorid försäkrar att den osmotiska balansen bibehålls, medan magnesiumklorid höjer det osmotiska trycket. Som en buffert används kalium-diväte-fosfat. Agar används för att ge en fastare konsistens. Men de viktigaste ämnena är Novobiocin som

är ett tillväxthämmande substrat som tillsatts för att hindra bakterier från att växa. salmonella har en hög tolerans mot novobiocin vilket ger den en stark konkurrensfördel. Ämnet "malachite green oxalate" som bidrar till den grönblåafärgen i MSRV-agarn är en viktig indikator på salmonella, då salmonella är den enda bakterie som kan bryta ner detta ämne och på så sätt få till en färgskiftning (Neogen, 2011).

Plattorna ses som positiva om en vit-grå zon växer ut från tillsatt prov. Negativa resultat är det då mediet runt det tillsatta provet behåller sin grön-blåa färg och ingen vit-grå zon flyter ut från det tillsatta provet. Positiva plattor konfirmeras genom att plattas på XLD-platta. (Neogen, 2011)

#### **4.4.3 BAB**

Blood Agar Bas (BAB) är ett ospecifikt medium som består av en näringsagar som lämpar sig för att odla diverse olika bakterier på. Om man önskar kan olika sorters blod eller andra anrikningar tillsättas plattan, som då blir mer selektiv. Utan tillsattser är plattan den bäst lämpade för odling av många bakteriofager. (Bridson, 2006)

Vid användandet av BAB-plattor i detta projekt användes inga extra tillsattser.

#### **4.4.4 XLD**

Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar var ett medium som först togs fram för att isolera och identifiera *Shigella* spp. från avföringsprover. Sedan dess har användningsområdet utökats och XLD används idag även för att identifiera salmonella. Metoden bygger på fermentering av xylos, decarboxylation av lysin och produktion av vätesulfid (Bridson, 2006). salmonella skiljer sig från andra icke-patogena organismer som även de kan fermentera xylos genom att de samtidigt fermentera xylos och producerar vätesulfid, medan övriga tarmbakterier (exempelvis *Shigella* spp.) inte kan producera vätesulfid. Vid avläsning av XLD plattor räknas röda prickar med svarta center positiva för salmonella medans endast röda prickar anses negativa. (Bridson, 2006)

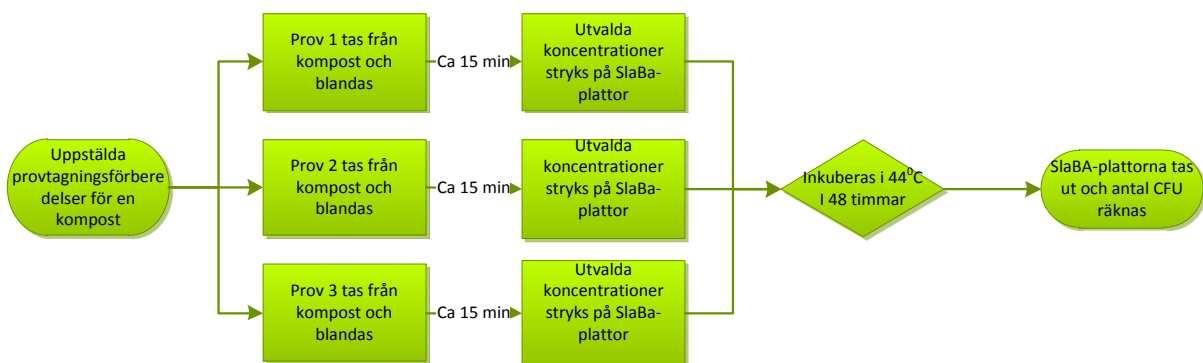
## 4.5 Provtagningsuppstart mikrobiell provtagning

Prover togs ur komposterna och späddes till önskad koncentration i buffrad NaCl lösning med Tween. Tillsatsen av det ytaktiva ämnet tween användes för att mer effektivt extrahera bakterierna från materialet och för att förhindra att de skulle klumpa ihop sig i kolonier, något som skulle bidra till en sämre noggrannhet vid räkningen av plattor.

### 4.5.1 Enterococcus

*E. faecalis* odlades på SlaBa plattor. De valda koncentrationerna från spädningsserierna plattas på SlaBa-plattor inom 18 min från att de späddes och inkuberades sedan i 44 °C i 48 timmar. Efter inkubationen togs plattorna ut och antalet rödbruna prickar räknades.

För att få ett tillförlitligt värde togs tre prov från varje kompost. Från vart och ett av dessa prov togs prov från minst tre olika spädningar.

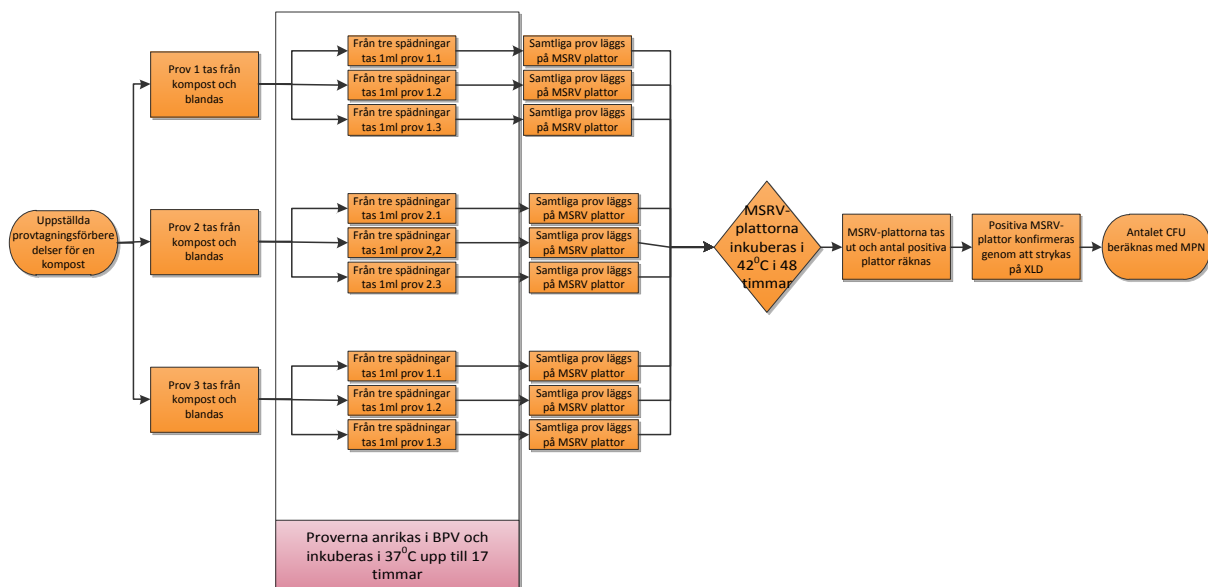


Figur 4. Schema över provtagning av *E. faecalis*

### 4.5.2 Salmonella

För att få en uppfattning om koncentrationen av salmonella användes metoden "Most Probable Number" (MPN). MPN är en statistisk metod som bygger på att minst tre prov i tre efterföljande spädningar (totalt 9 stycken) analyseras och bestäms som positiva eller negativa. Resultatet från dessa räknas ihop och ur en tabell utläses det mest troliga värde (MPN) för en specifik volym eller massa. Ytterligare information som går att utläsa från dessa tabeller är ett 95 % konfidensintervall som ger en övre och undre gräns för vart det verkliga värdet bör ligga (Oblinger & Koburger, 1975) (Blodgett, 2010).

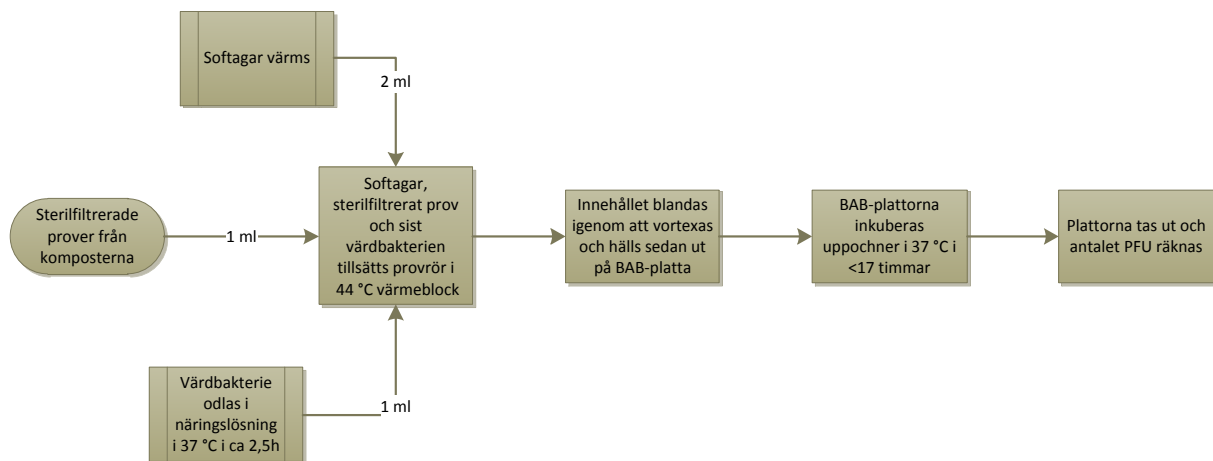
Det test som användes var anrikning på Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) plattor. MSRV plattorna ger ett tydligt utslag om det finns eller inte finns salmonella i provet men ingen information om kvantiteten av bakterier. För att säkra metoden anrikades provet i buffrat pepton vatten (BPV) i <17 timmar i 37 °C innan provet lades på MSRV platta. MSRV plattorna inkuberades i 42,5 °C i 48 timmar innan de avlästes som positiva eller negativa. Vid positiva resultat konfirmerades resultatet genom att ett prov från en positiv MSRV-platta ströks över en XLD-platta för att sedan inkuberades i 37 °C i upp till 24 timmar innan den avlästes.



Figur 5. Provtagningschema över provtagning av *Salmonella Typhimurium*

#### 4.5.3 Bakteriofag 28B och $\Phi$ X 174

Vid provtagning av bakteriofager behövs en värdstambakterie som är specifik för de bakteriofager som skulle koncentreras. En koloni från önskad värdstam togs från platta och blandades ner i en icke selektiv näringslösning. Bakterierna fick sedan växa till sig under cirka 2,5 timmar i 37 °C tills lösningen blivit grumlig. Softagar värmdes upp och 2 ml överfördes till ett provrör i ett 44 °C värmeställ. Till samma rör tillsätts sedan 1 ml av sterilfiltrerat prov från önskad koncentration och slutligen 1 ml av värdbakterien. Provröret blandades om kraftigt och innehållet hällades sedan över en BAB-platta. Lösningen fördelades jämt över plattan. Plattan inkuberades i 37 °C i <17 timmar. Efter inkubationen har de infekterade värdbakterierna blivit transparenta vilket gjort dem möjliga att räkna.



Figur 6. Provtagningschema för provtagning av bakteriofager.

#### 4.5.4 Kemisk analys av start- och slutvärden

Vid uppstarten av projektet togs tre prov med cirka 100 g kompostmaterial från startmaterialet och lades i en försluten burk och frystes ner. Vid sista mikrobiella provtagningen togs drygt 50 gram material från varje kompost och lades i burkar som förslöts och frystes ner. Dessa prover analyserades senare med avseende på ammoniak, nitrat, totalkväve, fosfat och totalfosfor samt TS och VS halt.

#### 4.5.5 TS och VS prov

Torr substansen (TS) och glödförlust (VS från engelska "volatile solids") togs för att få en uppfattning om materialets komposition med avseende på vatten, organiskt material och aska. Nio keramikskålar togs fram och vägdes och märktes. Till dessa skålar tillsattes sedan cirka 25 gram av kompostmaterial från de olika komposterna och vägdes igen, tre skålar vardera för startmaterialet, mask- och kontrollkomposterna. Samtliga skålar sattes sedan in i en ugn i 105 °C i 14 timmar. När skålarna svalnat vägdes dessa och sattes sedan tillbaks i ugnen igen för att hettas upp till 550 °C i fyra timmar innan de åter fick svalna för att sedan vägas en sista gång.

Följande ekvationer visar hur TS, VS samt askhalt räknas fram.

$$TS = \frac{\text{vikt prov efter 14h i } 105^{\circ}C}{\text{vikt insatt prov}} \quad (1)$$

$$VS = \frac{\text{vikt prov efter 14h i } 105^{\circ}C - \text{vikt prov efter 4h i } 550^{\circ}C}{\text{vikt prov efter 14h i } 105^{\circ}C} \quad (2)$$

$$VS = \frac{\text{vikt prov efter 4h i } 550^{\circ}C}{\text{vikt insatt prov}} \quad (3)$$

#### 4.5.6 Näringsämnesanalys

Samtliga nio upptinade prover analyserades med avseende på innehåll av ammoniak, nitrat totalkväve, fosfat och totalfosfor. Från varje prov togs två replikat för varje analys. Utifrån dessa prov kunde ett medelvärde skattas och ett p-värdetest gjordes för att jämföra om det fanns någon statistisk signifikant skillnad (95%) mellan de olika behandlingarna med avseende på de olika näringsämnena. Samtliga analyser gjordes genom att använda färdiga analys-kit från MERCK. Analysen använde sig av en spektrofotometer för att beräkna koncentrationen av de sökta ämnena. Metoden bygger på att ett tillsatt ämnen reagerar med det söka ämnet och bildar komplex, vilka absorberar ljus i en specifik våglängd. Utifrån kända absorbanser kan sedan en koncentration räknas fram.

#### 4.5.7 Förberedning för provtagning av ammoniak, nitrat, fosfat och totalfosfor

Tinat kompostmaterial vägdes upp i en burk och späddes till lämplig koncentration med avjonat vatten. Lösningen rördes sedan till en homogen vätska och ett tätt lock sattes över burken som sedan fick stå i två timmar. Efter detta tillsattes en knivspets aktivt kol och lösningen rördes åter om ordentligt i ett par minuter innan ett prov från lösningen togs och sterilfiltrerades för att sedan analyseras.

#### 4.5.8 Förberedning för provtagning av Totalkväve

Vid analys av totalkväve togs 5 gram tinat kompostmaterial och blandades med 10 ml av 0,025 M CaCl<sub>2</sub> i en burk som förslöts med lock och placerades på en skakplatta i en timme. En knivspets aktivt kol tillsattes och blandades ner i lösning innan den späddes till önskad koncentration.

#### 4.6 Databearbetning och statistik

Alla statistiska beräkningar och samtliga figurer som visar avdödningen av indikatororganismer i resultatdelen har beräknats med hjälp av statistikprogramet STATISTICA version 10.

##### 4.6.1 ANOVA-analys

För att säkerställa om det finns någon statistiskt säkerställd skillnad mellan maskomposten och kontrollkomposten med avseende på förändringen av ammoniak, nitrat, totalkväve, fosfat och totalfosfor gjordes envägs variansanalys (ANOVA) där de två behandlingsalternativen jämfördes med varandra utifrån ett 95 % konfidensintervall.

##### 4.6.2 Standardfelet

I figurerna med de avtagande indikatororganismerna i resultatdelen har standardfelet används för att visa variansen.

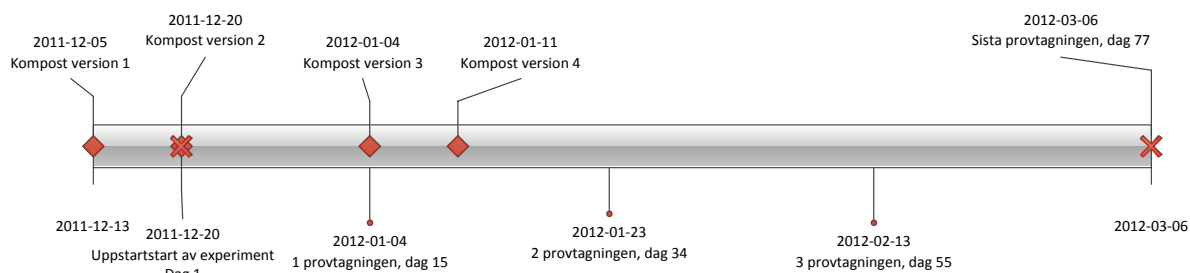
Standardfelet räknas ut enligt följande

$$stdfel = \sqrt{s^2/n} \quad (4)$$

Där  $s^2$  = de uppmätta värdenas uppskattade varians och  $n$  = antalet provet.

## 5. Resultat

Under projektets gång har utformningen av komposterna behövts modifierats ett flertal gånger. Detta beror på att maskarna inte rörde sig in i det kontaminerade materialet. Tidpunkter för de modifieringar av komposterna som gjorts samt tidpunkter för provtagningar har visas i figur 7.



Figur 7. Tidslinje som visar när de olika versionerna av komposterna skapats samt när provtagningar har skett.

### 5.1 Kompost version 1

Vid den första provtagningen som skedde två veckor efter uppstarten upptäcktes att inga maskar hade gått in i komposterna. Maskarna i en av maskkomposterna hade dött och maskarna i de övriga maskkomposterna var kraftigt försvagade. Detta gjorde att försöket avbröts och modifieringar gjordes.

Vid provtagningar av kompostmaterialet visade det sig att pH var runt 8,6 och att det fanns betydande mängder kväve (N-tot) i komposten, cirka 7,91 mg/ gram torrsvikt eller 2000 mg per liter. Den fungerande maskkomposten hade pH på 7,14 och en kvävehalt på ca 1000 mg per liter.

### 5.2 Kompost version 2

För att komma till rätta med det höga pH värdet och den stora mängden ammoniak i maskkomposten kontrollerades fem olika behandlingsalternativ. I tabell 1 kan de fem olika behandlingsalternativen och resultaten från dessa utläsas.

Med mogen maskkompost i tabell 1 menas en fungerande maskkompost från vilken maskarna togs till detta experiment.



Tabell 1. Behandlingsalternativ som testades för att sänka pH samt minska mängden ammoniak i kompostmaterialet.

Behandling	1	2	3	4	5	Mogen mask-kompost	Gödsel
Kompostmaterial (gram)	100	100	100	100	100	-	-
Tidningspapper (gram)	10	2	-	-	7	-	-
organiskt matavfall (gram)	-	-	30	100	30	-	-
pH	9,05	8,9	8,71	7,68	8,72	7,14	8,86
Absorbans totalkväve	20,8	21,7	15,5	12,9	21,5	4,2	24
N-tot (mg/liter)	1 464,7	1 528,1	1 091,5	908,4	1 514,1	295,7	1690,1

Ur tabell 1 så kan avläsas att behandlingarna 1 och 2 som innefattade tidningspapper höjde pH i komposten vilket ökar ammoniakhalten i komposten och missgynnar maskarna. Med stöd från data presenterade i tabell 1 skapades version 2 av komposten, som var en blandning av behandling 3 och 4. Vid provtagning en timme efter tillsättning av maskarna låg pH mellan 7,4 och 7,6.

Efter 15 dagar i den nya komposten version 2 hade inga maskar gått in i det kontaminerade kompostmaterialet vare sig från det översta eller understa lagret av komposten. Prover togs för att kontrollera pH och totalkväve men dessa värden hade inte förändras sedan uppstarten. Andra iakttagelser som gjordes var att materialet var mycket fuktigt vilket kunde misstänkas vara en anledning till att maskarna inte ville gå in i materialet. Efter dessa iakttagelser modifierades komposten.

### 5.3 Kompost version 3

En vecka efter att version 3 startats, alternativt dag 22 på experimentet, kontrollerades det om några maskar hade tagit sig in i det kontaminerade materialet som nu var lagom fuktigt och hade ett neutralt pH. Inga spår efter maskarna i det kontaminerade materialet upptäcktes och ytterligare förändringar gjordes på komposterna för att underlätta maskarnas rörelser in till det kontaminerade materialet.

### 5.4 Kompost version 4

Vid kontroll av kompost version 4 hade maskarna tagit sig in i materialet och inga mer förändringar av komposternas uppbyggnad gjordes. Dock dog kompostmaskarna på grund av torka, vilket upptäcktes vid en kontroll av komposterna den 7 februari. Cirka 25 kompostmaskar tillsattes till vardera maskkompost efter att komposterna fuktats ordentligt.

### 5.5 Slutprovtagning

Dag 77 togs den sista mikrobiella provtagningen då även prov för kemisk analys togs och frystes ner för senare analys. Vid detta tillfälle bearbetade maskarna fortfarande kompostmaterialet.

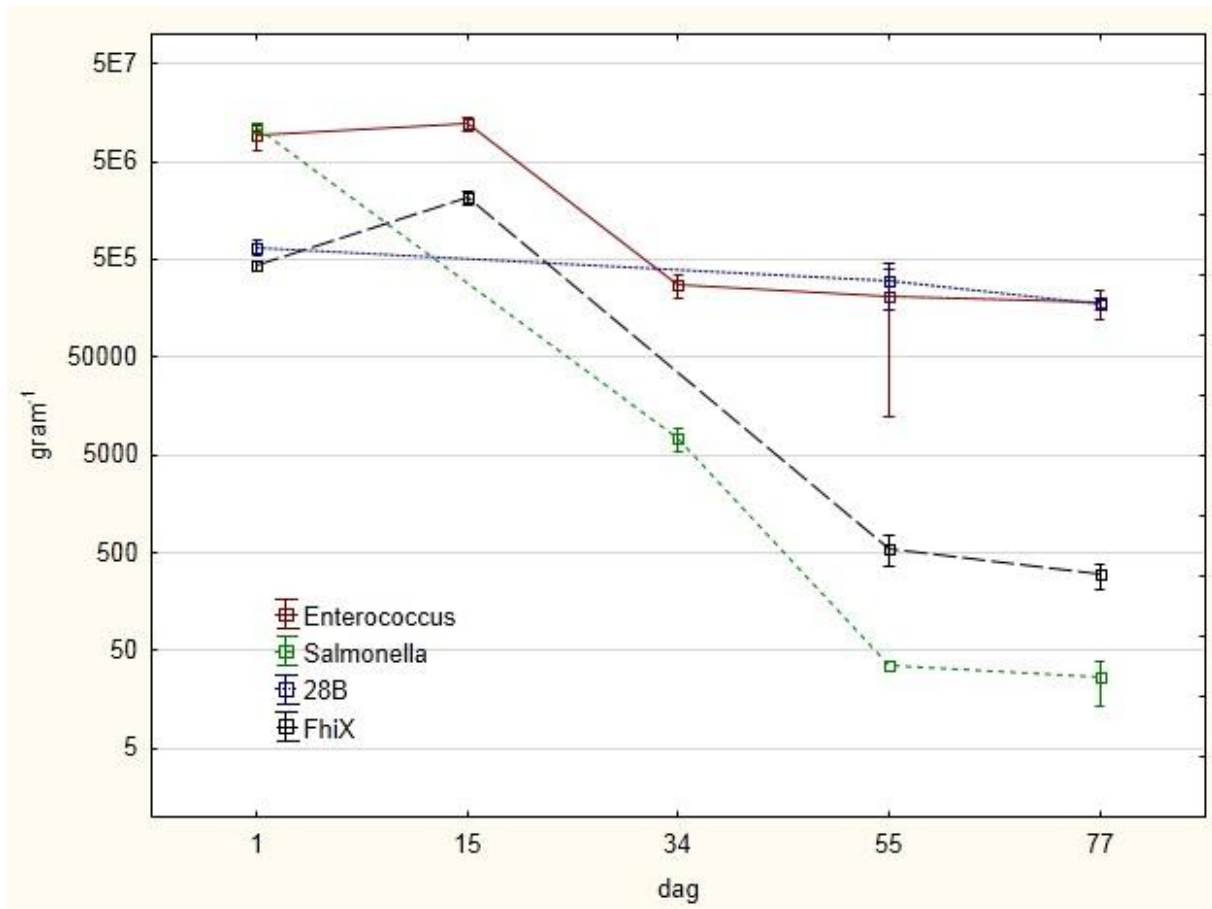
Mask- och kontrollkomposterna luktade fortfarande av en blandning mellan kodynga och citrusfrukt från det ursprungliga komposterande materialet. I materialet hos samtliga komposter gick det fortfarande att urskilja delar av ursprungsmaterial och materialet hade ej fått fin struktur utan aggregerade sig i större klumpar när materialet kontrollerades.

**Tabell 2.** PH-värden för komposterna efter avslutade behandling.

	Maskkompost			Kontrollkompost		
Prov	1	2	3	1	2	3
pH	8,77	8,63	8,94	8,81	8,93	8,9

## 5.6 Avdödning av indikator organismer

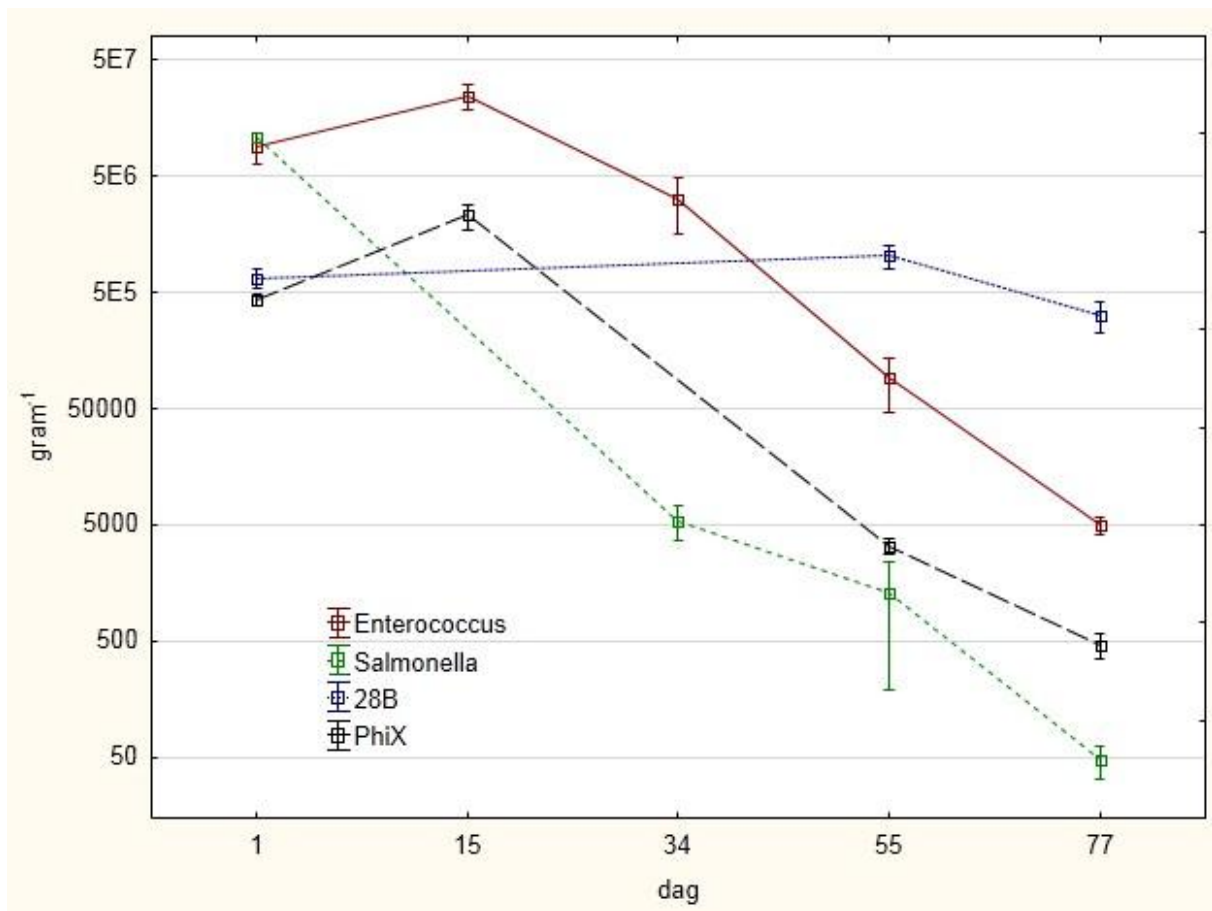
### 5.6.1 Avdödning av indikatorbakterier i maskkompost



Figur 8. Indikatororganismernas avtagande i maskkompost. Förändringen i koncentration med tiden av indikatororganismerna i maskkomposten. Punkterna representerar medelvärden och felstaplarna standardfelet. Koncentrationen mäts i CFU/gram för *E. faecalis*, MPN/gram för *S. Typhimurium* och PFU/gram för bakteriofagerna 28B och  $\Phi$ X174.

*S. Typhimurium* och bakteriofag  $\Phi$ X174 var de organismer som avtog mest med tiden och hade ett logaritmiskt avtagande fram tills dag 55, medan *E. faecalis* och bakteriofag 28B minskade betydligt långsammare och efter 77 dagars behandling i maskkomposten fortfarande fanns i betydande koncentrationer (figur 8).

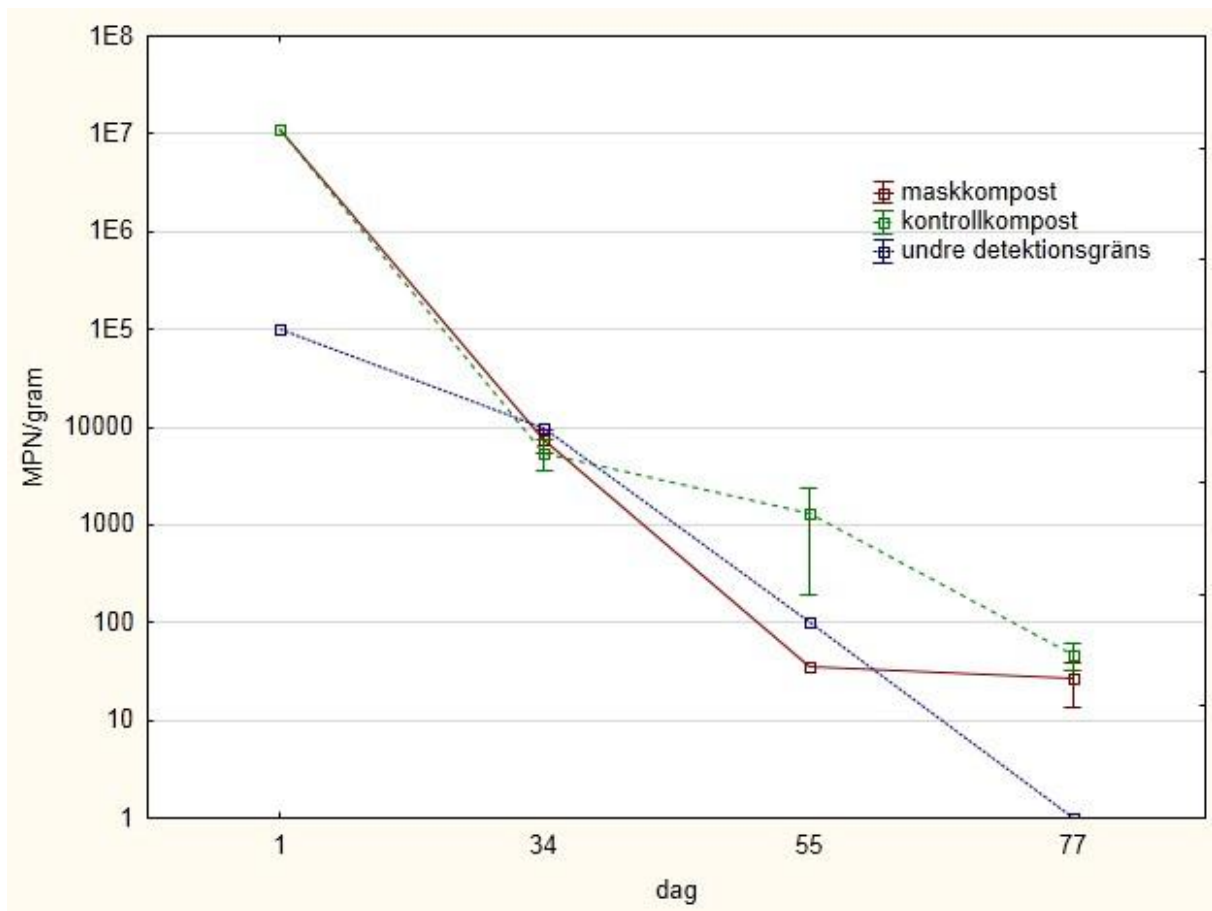
### 5.6.2 Avdödning av indikatorbakterier i kontrollkompost



Figur 9. Indikatororganismernas avtagande i kontrollkompost. Förändringen i koncentration med tiden av indikatororganismerna i kontrollkomposten. Punkterna representerar medelvärden och felstaplarna standardfelet. Koncentrationen mäts i CFU/gram för *E. faecalis*, MPN/gram för *S. Typhimurium* och PFU/gram för bakteriofagerna 28B och  $\Phi$ X174.

Figur 9 påminner mycket om figur 8 om man jämför *S. Typhimurium*, bakteriofag 28B och  $\Phi$ X174. *E. faecalis* däremot avtar snabbare från dag 34 och framåt i tiden (figur 9).

### 5.6.3 Avdödning av *S. Typhimurium*

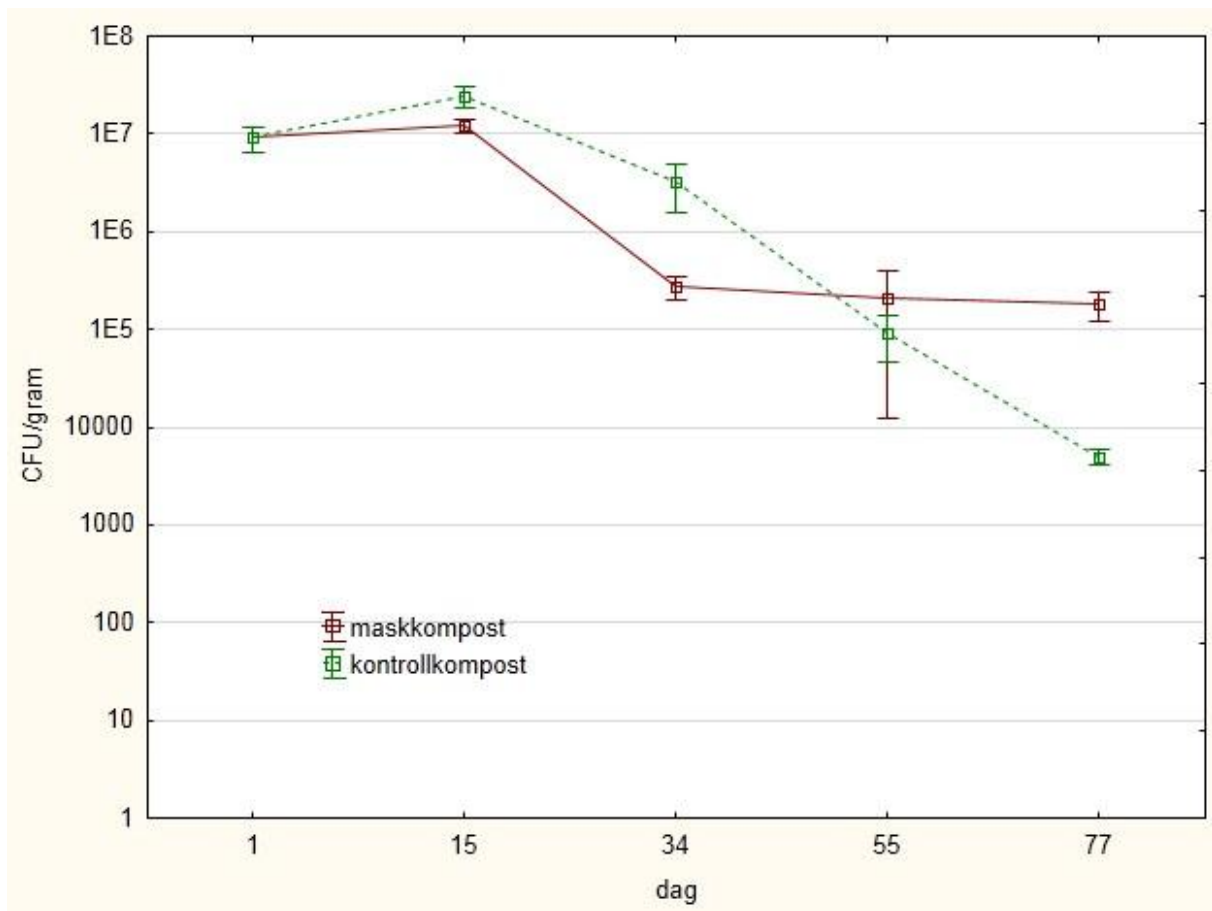


Figur 10. Avdödningen av *S. Typhimurium* genom olika behandlingar. För att tydliggöra osäkerheten runt medelvärden används standardfelet. I de punkter där ingen avvikelse är angiven finns bara ett mätvärde vilket gör att data i de punkterna ytterst osäkra.

*S. Typhimurium* dog med tiden i både mask- och kontrollkomposterna (figur 10). Datan är inte tillförlitlig i alla punkter då den undre detektionsgränsen valdes allt för högt under provtagningarna dag 34 och dag 55. Detta medförde att många av de prover som togs inte gav något utslag vilket ledde till en större osäkerhet enligt MPN. Provtagningen dag 15 misslyckades och därför finns inga mätvärden från detta tillfälle. Mätpunkter i figur 10 som inte har någon avvikelse är endast baserade på ett mätvärde och är således mycket osäkra.

Ingen signifikant skillnad mellan de två komposteringsmetoderna finns (p-värdet 0,78, tabell 4).

### 5.6.4 Avdödning av *E. faecalis*

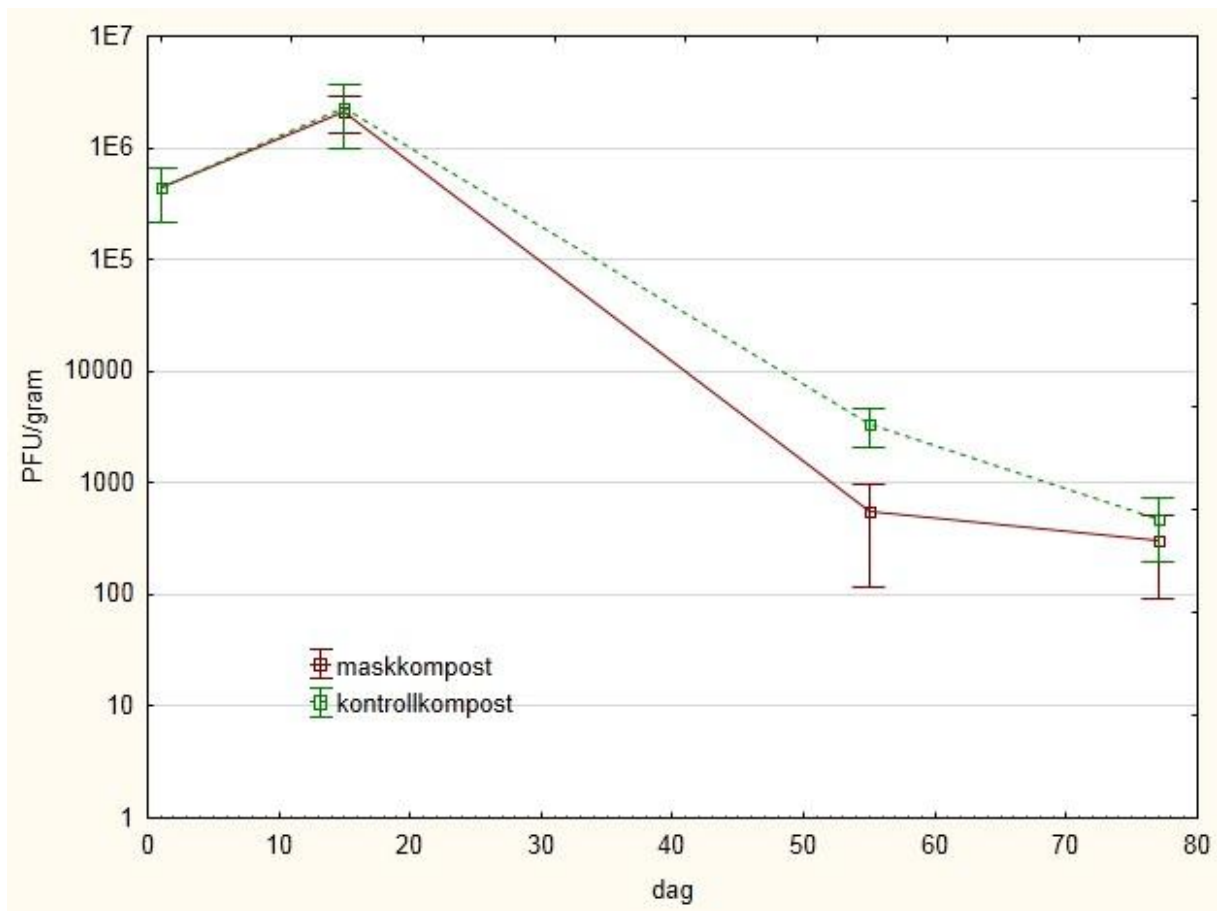


Figur 11. Figuren visar avdödningen av *E. faecalis* för de två behandlingarna. För att tydliggöra osäkerheten kring medelvärdet används standardfelet.

En tillväxt av *E. faecalis* skedde i båda komposterna direkt efter uppstarten (figur 11). Efter cirka en månad så hade koncentrationen avtagit i båda komposterna igen. Dock hade maskkomposten en lägre koncentration av *E. faecalis* än kontrollkomposten vid denna tidpunkt. Detta ändrades vid nästkommande provtagning dag 55 och även vid slutprovtagningen dag 77. Kontrollkompostens koncentration fortsatte att sjunka medan maskkompostens koncentration av *E. faecalis* planade ut från dag 34 och framåt.

En signifikant skillnad mellan maskkomposterna och kontrollkomposterna fanns med avseende på avdödningen av *E. faecalis* (p-värde på 0,049, tabell 4).

### 5.6.5 Avdödning av bakteriofag $\Phi X$

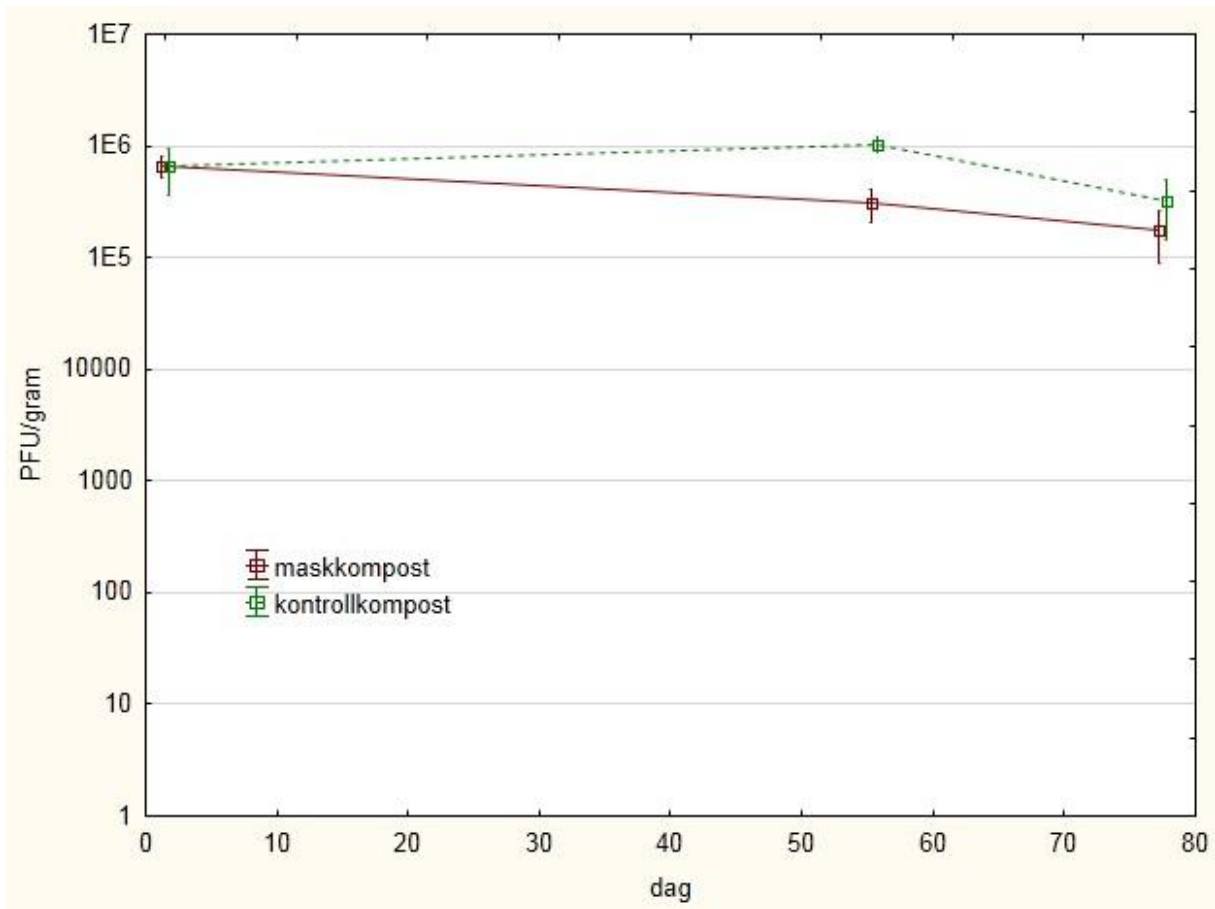


Figur 12. Avdödning av bakteriofag  $\Phi X$ . Avdödningen av bakteriofag  $\Phi X174$ . Figuren visar medelvärde samt standardfelet som anger variationen.

Koncentrationen av bakteriofag  $\Phi X174$  ökade de första veckorna och ingen skillnad mellan mask- eller kontrollkomposten kunde utläsas för den första tiden (figur 12). Komplikationer med provtagning gjorde att resultat uteblev dag 34, stor osäkerhet om vad som hände mellan dag 15 och dag 55 råder därför.

Koncentrationen av  $\Phi X174$  har gått ner betydande, cirka 4 tiopotenser från dag 1 till dag 77, i båda komposterna. ANOVA analys gav ett p-värde på 0,61, vilket visade att ingen signifikant skillnad mellan de olika behandlingarna fanns (tabell 4).

### 5.6.6 Avdödning av bakteriofag 28B



Figur 13. Avdödning av bakteriofag 28B. Avdödningen av bakteriofag 28B i de två komposterna. I figuren visas medelvärde och standardfelet som ett mått på variansen.

Provtagningen dag 15 och dag 34 misslyckades trots upprepade försök, detta medförde att resultat saknas från dessa datum. Vad som dock är gick att observera är att koncentrationen av 28B verkar ha ökat från dag 1 till dag 55 i kontrollkomposten för att därefter sjunka till dag 77 (figur 13). En ökning kan även ha skett i maskkomposten även om vi inte observerat detta på grund för få provtillfällen.

En signifikant skillnad finns mellan behandlingarna med avseende på bakteriofag 28B ( $p$ -värde 0,014, tabell 4).



Tabell 3. Start- och slutkoncentrationer för indikatororganismer efter behandling.

Prov		<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	ΦX174	28B
Start koncentration	CFU/gram kompost (torrvikt)	3,60E+07	4,35E+07	1,72E+06	2,61E+06
Slutkoncentration maskkompost	CFU/gram kompost (torrvikt)	6,37E+05	9,30E+01	1,06E+03	6,23E+05
	andel av startvärde	1,77E-02	2,14E-06	6,14E-04	2,39E-01
Slutkoncentration kontrollkompost	CFU/gram kompost (torrvikt)	1,72E+04	1,66E+02	1,64E+03	1,12E+06
	andel av startvärde	4,78E-04	3,81E-06	9,52E-04	4,28E-01

Tabell 3

Tabell 3 visar hur koncentrationerna av indikatororganismerna har förändrats under behandlingen. Tabellen visar även hur stor andel av de ursprungliga indikatororganismerna som fanns kvar i materialet efter genomförd behandling.

### 5.6.1 P-värden för de olika indikatororganismerna

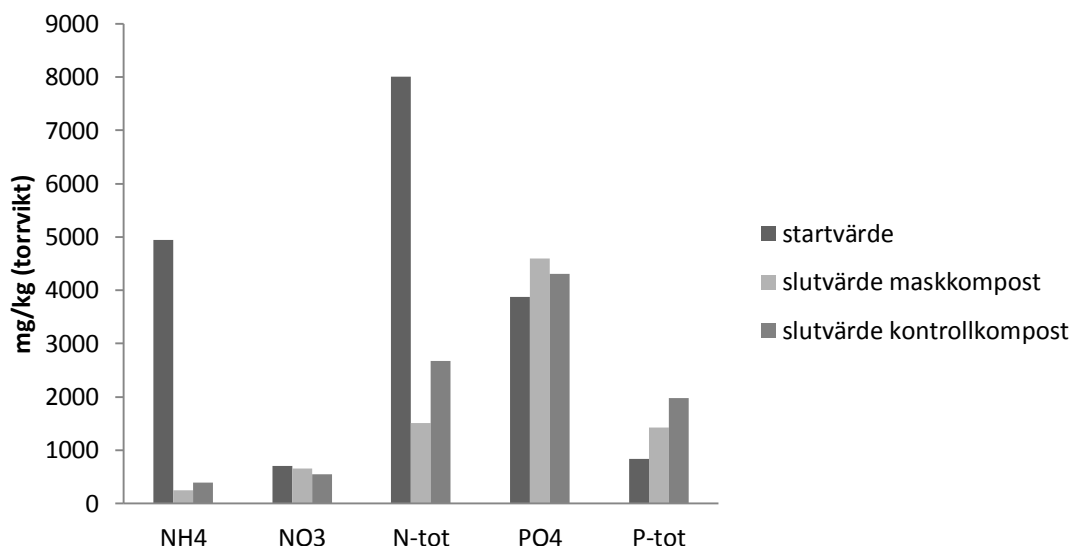
Tabell 4. P-värden jämförande maskkompost vs kontrollkompost med avseende på avdödning av indikatororganismer. P-värden som framtagits genom en ANCOVA analys där co-variansen beräknats. P-värden under 0,05 medger att det finns en signifikant skillnad på 95 % mellan maskkompost och kontrollkompost, med avseende på avdödning av studerat organism

Indikatororganism	P-värde
<i>E. faecalis</i>	0,0498
<i>S. Typhimurium</i>	0,779
ΦX174	0,61
28B	0,0148

Ur tabell 4 utläses att det finns en signifikant skillnad mellan de två studerade komposteringsbehandlingarna när det gäller avdödning av *E. faecalis* och bakteriofag 28B. Gällande *S. Typhimurium* och ΦX174 fanns ingen signifikant skillnad mellan behandlingarna maskkompostering och kompostering.

## 5.7 Resultat av kemisk analys

### 5.7.1 Koncentration av näringsämnen



Figur 14. Kompostmaterialet innehåll av näringsämnen, före och efter behandling. Värdena är beräknade utifrån torrvikten av proverna.

Tabell 5. Förändringen av koncentration av näringsämnen efter behandling. Koncentrationen av näringsämnena före och efter de olika behandlingarna. Värdena är beräknade utifrån torrvikten av proverna.

	mg/gram (torrvikt)				
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-tot	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	P-tot
Startvärde	4,94	0,71	8,00	3,87	0,84
Slutvärde maskkompost	0,24	0,65	1,51	4,59	1,42
Slutvärde kontrollkompost	0,38	0,55	2,67	4,312	1,98

Koncentrationen av ammoniak och total-kväve har minskat betydligt medan koncentrationen av nitrat inte förändrats avsevärt av komposteringsbehandlingen (tabell 5, figur 14).

Koncentrationen av både fosfat och total-fosfor har ökat efter kompostering i båda behandlingarna.

### 5.7.2 TS och VS värden

**Tabell 6.** Medelvärde av TS, VS och askhalten. Medelvärdet bygger på tre prov från vardera ursprung.

	TS	VS	askhalt
Startvärde för kompostmaterialet	0,253	0,901	0,0983
Slutvärde maskkompost	0,284	0,871	0,128
Slutvärde kontrollkompost	0,286	0,870	0,130

Tabellen visar TS, VS och askhalten. Ur tabellen går det att utläsa att båda komposterna hade ett vatteninnehåll på drygt 70 % och att både mask- och kontrollkomposten hade liknande andel av organsikt material och aska vid dag 77. Genom att studera VS i tabell 6 går det att se att andelen organiskt material har minskat likvärdigt i de båda behandlingarna i förhållande till askan jämförelsevis med startmaterialet.

### 5.7.3 P-värden för näringsämnen

**Tabell 7.** P-värden för jämförelse mellan mask- och kontrollkomposten med avseende på ammoniak, nitrat, totalkväve, fosfat och totalfosfor med hjälp av ett ANOVA test med 95 % konfidensintervall. Ur tabellen kan p-värdet avläsas då beräkningen gjorts med hänsyn till provets TS-halt, Vs-halt eller utan hänsyn till provets sammansättning.

Ämne	P-värde		
	Original prov	TS	VS
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,33	0,39	0,35
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,68	0,71	0,98
N-tot	0,010	0,018	0,0044
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,79	0,68	0,65
P-tot	0,0024	0,00000	0,00001

För p-värden under 0,05 i tabell 7 finns en 95 % signifikant statistisk säkerställd skillnad att de olika behandlingarna har haft olika stor inverkan på hur de kontrollerade näringsämnena bevaras i kompostmaterialet. Det fanns en signifikant skillnad mellan behandlingarna när det gäller total-kväve och total-fosfor, kontrollkomposten har i båda fallen högst koncentration av dessa ämnen kvar i sitt material. Mellan ammoniak, nitrat och fosfat fanns det inte någon

signifikant skillnad mellan de olika behandlingarna. För övrigt kan man i tabell 7 också observera att det inte fanns någon betydande skillnad med avseende på signifikansnivå mellan ursprungsprov, prov viktat för TS och prov viktat för VS. Detta då samtliga värden för total-kväve och total-fosfor var mindre än 0,05 medan samtliga värden för ammoniak, nitrat och fosfor var större än 0,05 (tabell 7).

## 6. Diskussion

Diverse problem uppstod vid uppstarten av experimentet vilket gjorde att komposterna fick byggas om flera gånger innan maskarna började bearbeta det kontaminerade materialet. Under experimentet dog flertalet maskar vid två tillfällen. Första gången berodde detta på höga ammoniakhalter och andra gången dog maskarna av torka. Att höga ammoniakhalter och torka var dåliga för maskarna hade var redan känt genom tidigare forskning och kan även bekräftas av detta experiment (Edwards, 2010).

Något som däremot observerades var att komposterna inte hade någon buffertkapacitet mot uttorkning eller höga ammoniakhalter. Detta beror troligtvis på de små volymer av kompostmaterial som användes i experimentet. Om experimentet skulle ha genomförts i full skala skulle troligtvis maskarna överlevt både torkan och de höga ammoniakhalterna. Detta genom att maskarna skulle kunnat fly. Genom att krypa tillbaks till materialet som låg djupare och därmed är fuktigare vid torra perioder skulle maskarna kunnat ha överlevt torkan. Då material med höga ammoniakhalter skulle tillsats en fungerande maskkompost skulle maskarna även i detta fall flytt tillbaks i materialet för att sedan ha återvänt till det nyare materialet när ammoniakhalterna nått en rimlig nivå. Problemen med fullskaliga experiment är däremot risken för spridning av de patogener som kompostmaterialet preparerats med, i vårt fall *S. Typhimurium*.

Torkan som dödade maskarna kan också ha påverkat de indikatororganismer som vi har studerat. Detta kan ha gjort att eventuella skillnader mellan behandlingarna gällande avdödningen av indikatororganismerna gått förlorade.

Fram till dag 22 då den slutgiltiga versionen av komposterna byggdes fanns det inga spår av maskar i maskkomposten och någon gång mellan dag 38 och dag 49 dog de av uttorkning. Eftersom experimentet endast pågick i 77 dagar betyder det att den aktiva tid som maskarna maximalt har haft på sig för att bearbeta materialet var 47 dagar. En behandlingstid på 47 dagar för maskkompostering är en mycket kort tid jämförelsevis med bäddsystem som behövde en processtid på 6-18 månader eller kilsystem som behövde en processtid på 3 - 4 månader på sig för att mogna (Edwards, 2011). Eventuella skillnader mellan mask- och

kontrollkomposten borde tidigast gå att observera dag 34 då detta är första provtagningen efter att maskarna gått in i materialet.

Ytterligare observationer som gjordes vid den slutliga provtagningen dag 77 var att materialet i komposterna inte levde upp till de kriterier som ställs på ett moget och stabiliserat material, även om pH-värdena låg inom ramen för vad ett moget material borde ligga (tabell 2). Däremot saknade materialet den porösa, jordliknade och fina strukturen och den mörka färgen som kan förväntas av ett fullt stabiliserat material. Materialets doft hade visserligen minskat men luktade fortfarande av ursprungsmaterialet. Betydande mängder organiskt material fanns kvar i komposterna (tabell 6), och även om askhalten hade ökat från drygt 9 % till drygt 12 % för båda behandlingsalternativen är detta långt ifrån den ökning av askhalt på drygt 20 procentenheter som uppmätts av Vinnerås m.fl. (2003).

Slutsatsen som dras av dessa observationer tyder på att varken maskkomposterna eller kontrollkomposterna har hunnit stabiliseras och nått en mogen fas, vilket bör tas i beaktande då ett stabiliserat kompostmaterial eventuellt skulle ha gett andra resultat. Inte heller kan resultaten från denna studie jämföras med de tidigare forskningsresultat som påvisat att maskkompostering skulle vara en effektivare stabiliseringsprocess än termofil kompostering varken mask- eller kontrollkomposten uppnått ett stabiliserat material (Sinha m.fl, 2010).

Inte heller kan materialet från mask- eller kontrollkomposterna ses som hygieniserat då ingen av behandlingarna uppfyller de krav som ställs på ett färdigbehandlat och hygieniserat material (EG, 2011). Detta arbete kan därför inte varken stödja eller motsätta sig de resultat som påvisat att maskkompostering visat sig vara en effektiv behandling av patogener, detta på grund av att behandlingstiden inte var tillräcklig (Bajsa m.fl, 2005).

I en jämförelse mellan figur 8 och figur 9 syns ett tydligt samband mellan hur de olika indikatororganismerna växer till och dör av i de olika behandlingarna fram till provtagningen dag 34. Från dag 34 och framåt finns likheter i avdödningen av *S. Typhimurium* (figur 10) vilket ytterligare förtydligas av ett p-värde på 0,7790 vilket inte medger att det finns någon signifikant skillnad mellan mask- och kontrollkomposten med avseende på avdödningen av

S. Typhimurium (tabell 4). Det som dock bör belysas när figur 10 studeras är de få mätvärden som ligger till grund för grafen då många av de prov som togs hamnade under detektionsgränsen vilket lett till att osäkerheten har ökat. Detta kan ha bidragit till att en eventuell skillnad mellan de två behandlingarna har missats.

Avdödningen av *E. faecalis* (figur 11) skiljer sig mellan mask- och kontrollkomposten efter dag 34. En anledning kan vara att maskarna gynnar *E. faecalis* eller missgynnar konkurrerande bakterier vilket skulle ge *E. faecalis* en fördel. En annan förklaring skulle kunna vara att rotandet i komposten för att säkerställa maskarnas välmående skulle ha påverkat kompostmaterialets struktur vilket kan ha gynnat *E. Faecalis*, alternativt missgynnat dess konkurrenter. Oavsett anledning finns det en signifikant skillnad mellan mask- och kontrollkomposten då ett p-värde på 0,0498 erhöles vid ancova-test (tabell 4).

Resultaten från bakteriofagerna  $\Phi$ X174 och 28B är betydligt svårare att tolka (figur 12, figur 13). Detta beror på att bakteriofag  $\Phi$ X174 saknar data för provtagningen dag 34 och bakteriofag 28B saknar data från både dag 15 och dag 34.

Ingen skillnad mellan de olika behandlingarna kan ses gällande avdödningen av bakteriofag  $\Phi$ X174 vid de provtagningstillfällena som finns tillgängliga (figur 12). Detta stärks av erhållet p-värde på 0,6100 (tabell 4). Vad som dock kan observeras är en ökning av bakteriofag  $\Phi$ X174 vid det förstaprovtagningstillfället i både mask- och kontrollkomposterna. Vad detta beror på är oklart då vi inte vet om värd bakterien *Escherichia coli* finns närvarande i kompostmaterialet och en tillväxt varit möjlig. En annan förklaring är att ökningen inte beror på tillväxt, utan förklaras genom att bakteriofagerna vid uppstart varit aggregerade vilket kan ha gett ett lågt startvärde.

För bakteriofag 28B finns det enbart tre provtillfällen som givit resultat vilket leder till sämre noggrannhet (figur 13). Det tycks dock som om avdödning av bakteriofagen 28B har gått snabbare i maskkomposten. Även om det finns en signifikant skillnad mellan behandlingarna (p-värde 0,0148, tabell 4), så är slutvärdet från båda behandlingarna vid dag 77 relativt lika. Båda behandlingarna har resulterat i att koncentrationen av 28B sjönk till några tiotals procent av ursprungskoncentrationen (tabell 3). Detta skiljer även bakteriofag 28B från

övriga studerade organismer, då 28B närmast varit opåverkad av både mask- och kontrollkomposten. Teorin om att 28B skulle avdödas effektivare i maskarnas kropp kan varken förkastas eller styrkas då maskkomposteringen inte har skett.

När det kommer till det behandlade materialets potential att bevara näringsämnen innehållande kväve och fosfor finns det ett både likheter och skillnader mellan de olika behandlingarna. Det finns en signifikant skillnad mellan mask- och kontrollkomposten för total-kväve och total-fosfor som båda fick ett p-värde under 0,05 (tabell 7). Skillnaden mellan de olika behandlingarna är att medelkoncentration av total-kväve för maskkomposten låg på 1505 mg/kg(?) (torrvikt) medan kontrollkomposten hade en medelkoncentration på 2674 mg/kg (torrvikt). Detta gav en skillnad på drygt 43 % mellan de olika behandlingarna (tabell 7).

För total-fosfor var skillnaden mindre då maskkomposten hade en medelkoncentration på 1420 mg/kg (torrvikt) medan kontrollkomposten hade en medelkoncentration på 1975 mg/kg (torrvikt). Detta gav en skillnad på 28% mellan de olika behandlingarna (tabell 7).

När det gäller de övriga näringsämnena så finns det inget statistisk säkerställd skillnad mellan de olika behandlingarna.

Övriga observationer är att mängden ammoniak minskat kraftigt från startmaterialet medan koncentrationen av nitrat endast sjunkit marginellt för båda behandlingarna (figur 14). Koncentrationen av totalkväve har sjunkit betydande men det är inte mer än rimligt då betydande mängder ammoniak evaporerats (Figur 14).

När det kommer till fosfat och total-fosfor så har koncentrationen av båda dessa ökat för både mask- och kontrollkomposten efter behandlingen (tabell 5). Detta tyder på att den totala torrsubstansen har minskat i båda behandlingarna (tabell 6). Detta har lett till en anrikning av fosfat och total-fosfor eftersom dessa ämnen inte försvinner från materialet. Förbryllande är att fosfat finns i koncentrationer som överstiger totalfosfor (tabell 5) för startmaterialet och för maskkompost trots att omräkning till vikt fosfor har gjorts för fosfat. Till detta finns ingen logisk förklaring utan minst en av mätmetoderna måste gett felaktiga resultat.



Utifrån det som diskuteras ovan bör koncentrationerna av fosfat och totalfosfor fortsätta att stiga tills ett fullt moget och stabiliserat material bildats, beroende på att det organiska materialet kommer att fortsätta att minska. Koncentrationen av ammoniak, nitrat och totalkväve kommer inte att fortsätta att sjunka lika dramatiskt som det gjort i början, utan dessa koncentrationer kommer att stabilisera sig när C/N-kvoten i materialet närmar sig sin jämvikt som enligt litteraturen bör ligga runt eller strax över 10 vilket är optimalt för mikroorganismerna.

## 7. Slutsatser

Materialet var inte är hygieniserat efter 77 dagars behandling för något av behandlingsalternativen.

En signifikant skillnad mellan de olika behandlingarna med avseende på *E. faecalis* för den tid som studerats. För *E. faecalis* visade sig vanlig mesofil kompostering vara en effektivare behandlingsmetod än maskkompostering. Bakteriofag 28B var den indikatororganism som var tåligast mot båda behandlingarna och minskade endast marginellt i både mask- och kontrollkomposten. Inga signifikanta skillnader kunde iakttas mellan de två behandlingarna med avseende på *S. Typhimurium* och bakteriofag  $\Phi$ X 174 under den tid som studien genomfördes. Dock så var det dessa indikatororganismer som minskade mest i koncentration under behandlingarna.

Mask- och kontrollkomposten hade en liknande nedbrytning då TS ökade från drygt 25 % till 28 % och askhalten ökade från drygt 9 % till drygt 12 % för båda behandlingarna. Vad gäller förändringen av näringsämnen inom materialet fanns det en signifikant skillnad mellan mask- och kontrollkomposten för total-kväve och total-fosfor. För både total-kväve och total-fosfor så var det kontrollkomposten som hade högst koncentration av dessa ämnen. För ammoniak kunde ingen skillnad mellan behandlingarna iakttas, dock observerades ett samband i och med att båda behandlingsalternativen förlorat över 90 % av det ursprungliga materialets innehåll av ammoniak. Koncentrationerna av nitrat och fosfat hade inte förändrats nämnvärt i någon av behandlingarna.

Då materialet inte kan klassas som färdigbehandlat för vare sig mask- eller kontrollkomposten bör resultaten inte tolkas som slutgiltiga resultat. Detta gäller både för avdödningen av studerade indikatororganismer och för näringsinnehållet i materialet efter en behandling i mask- eller kontrollkompost.

Slutsatser som kan dras utifrån experimentet är att småskaliga maskkomposter är mycket känsliga och saknar den livsavgörande buffert som kompostmaskarna behöver för att kunna fly från bland annat lokal torka och höga ammoniakhalter.





## 8. Litteraturförteckning

Tryckta källor

CONDALAB. (2010). Hämtat från CONDA: <http://www.condalab.com/pdf/1109.pdf> den 24 februari 2012

Bajsa, O., Nair, J., Mathew, K., & Ho, G. (2005). Processing of sewage sludge through vermicomposting. i M. K, & I. Nhapi, *Water and Environment Management Series*. London: IWA Publishing.

Bertoldi, M. d., Vallini, G., & Pera, A. (1983). THE BIOLOGY OF COMPOSTING: A REVIEW. *Waste Management & Research*, 1(2), 157-176.

Blodgett, R. (oktober 2010). <http://www.fda.gov/>. Hämtat från U.S. Food and Drug Administration:  
<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm109656.htm> den 01 februari 2012

Boqvist, S., Vinnerås, B., & Lindberg, J.-E. (2011). *Project plan: Urban and peri-urban animal farming*.

Bridson, E. Y. (2006). *The OXOID MANUAL* (9 uppl.). Hampshire: Oxoid Limited.

Dominguez, J., & Edwards, C. A. (2011). Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicomposting. i *Vermiculture Technology* (ss. 28-38). Boca Raton: CRC Press.

Dominguez, J., & Edwards, C. A. (2011). Chapter 2 Relationships between Composting and Vermicomposting. i *Vermiculture Technology* (ss. 12-24). Boca Raton: CRC Press.

Domínguez, J., & Gómez-Brandón, M. (2012). Vermicomposting: Composting with Earthworms to Recycle Organic Wastes . i A. B. Sunil Kumar, *MANAGEMENT OF ORGANIC WASTE* (ss. 29-49). Croatia : InTech.

Edwards, C. A. (2010). Low-Technology Vermicomposting System. i *Vermicomposting Technology* (ss. 79-90). Boca Raton: CRC Press.

- Edwards, C. A. (2011). Medium- and High-technology Vermicomposting System. i *Vermiculture Technology* (ss. 91-102). Boca Raton: CRC Press.
- EG. (2011). nr 142/2011. Bryssel: Europeiska unionens officiella tidning.
- Elving, J. (2009). *Pathogen Inactivation and Regrowth in Organic Waste during Biological Treatment*. SLU. Uppsala: Report / Department of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health.
- FAO. (den 20 july 2011). *Country briefs*. Hämtat från [www.fao.org](http://www.fao.org): <http://www.fao.org/countries/55528/en/uga/> den 17 april 2012
- FDA. (2012). *Bad Bug Book 2nd Edition*. Silver Spring: U.S Food and Drug Administration.
- Gerba, C. P., & Smith, J. E. (2006). Sources of Pathogenic Microorganisms and Their Fate during Land Application of Wastes. *Journal of Environmental Quality*, 34(1), 42-48.
- Gupta, R., & Garg, V. (2008). Stabilization of primary sewage sludge during vermicomposting. *Journal of Hazardous Materials*, 153(3), 1023-1030.
- Haug, R. T. ( 1993). *The practical handbook of compost engineering* . Boca Raton: Lewis Publishers,cop.
- Holmqvist, A., & Stenström, T. A. (2002). *SURVIVAL OF ASCARIS SUUM OVA, INDICATOR BACTERIA AND SALMONELLA TYPHIMURIUM PHAGE 28B IN MESOPHILIC COMPOSTING OF HOUSEHOLD WASTE*. Solna: Swedish Institute for Infectious Disease Control.
- Jönsson, H. (2011). Återvinn all växtnäring ur avloppet - inte bara fosfor! i *Återvinna fosfor - hur bråttom är det ?* (ss. 339-351). Stockholm: Formas Fokuserar.
- Kutzner, H. J. (2008). 2 Microbiology of Composting. i H. J. Kutzner, *Biotechnology* (ss. 36-50). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH.
- Lichstein, H. C., & Soule, M. H. (1944). Studies of the Effect of Sodium Azide on Microbic Growth and Respiration. *Journal of Bacteriology*, 47(3), 224-240.

- Likens, G. E. (2005). Ecosystem. i N. A. Campell, & J. B. Reece, *Biology-seventh edition* (ss. 1184-1209). San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Lilleengen, K. (1948). *Typing of Salmonella typhimurium by Means of Bacteriophage*. London: Royal Veterinary College.
- Murray, B. (januari 1990). the life and time if the Enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(1), 46-65.
- Naturvårdsverket. (2003). *Metoder för lagring, rötning och kompostering av avfall, Handbok med allmänna råd till 2 kap. 3 § miljöbalken*. Stockholm: Naturvårdsverket .
- Ndegwaa, P. M., & Thompson, S. A. (2001). Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technology*, 76(2), 107-112.
- Neogen. (den 3 april 2011). *RAPPAPORT-VASSILIADIS (MSRV) MEDIUM* . Hämtat från Neogen: [http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7511\\_P1.pdf](http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7511_P1.pdf) den 21 februari 2012
- Nicholson, F. A., Groves, S. J., & Chambers, S. J. (2005). Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. *Bioresource Technology*, 96(2), 135-143.
- Niwagaba, C., Nalubega, M., Vinnerås, B., Sundberg, C., & Jönsson, H. (2009). Bench-scale composting of source-separated human faeces for sanitation. *Waste Management*, 29(2), 585-589.
- Oblinger, J. L., & Koburger, J. A. (den 10 Februari 1975). Understanding and Teaching the Most Problable Number Technique. *Milk Food Technol*, 38(9), ss. 540-545.
- Ottoson, J. (2005). *Comparative analysis of pathogen occurrence in wastewater - management strategies for barrier function and microbial control*. Stockholm: Royal Institute of Technology.
- Petersson, G. (2006). *Kemisk Miljöanalys* . Göteborg : Chalmers tekniska högskola .

- Ronald, L. (2006). Bacteria Indicators of Potential Pathogens. i J. Ronald L. Ohrel, & K. M. Register, *Voluntary Estuary Monitoring Manual* (ss. 17-4). Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- Rosemarin, A., & Cordell, D. (2011). Det behövs en global fosforkonvektion. i *Återvinna fosfor - hur bråttom är det ?* (ss. 55-75). Stockholm: Formas Fokuserar .
- Sahlmström, I., Aspan, A., Bagge, E., Danielsson-Tham, M.-L., & Albihn, A. (2004). *Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants*. Uppsala: Water Research.
- Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B. G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fiddes, J. C., o.a. (1977). Nucleotide sequence of bacteriophage  $\phi$ X174 DNA. *Nature*, 125(2), 687 - 695.
- Sinha, R. K., Herat, S., Bharambe, G., & Brahmabhatt, A. (2010). Vermistabilization of sewage sludge (biosolids) by earthworms: converting a potential biohazard destined for landfill disposal into a pathogen-free, nutritive and safe biofertilizer for farms. *Waste Management & Research*, 28(10), 872-881.
- Sundberg, C., Smårs, S., & Jönsson, H. (2004). Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. *Bioresource Technology*, 95(2), 145–150.
- Todar, K. (2008). *textbookofbacteriology: salmonella*. Hämtat från [textbookofbacteriology: salmonella](http://textbookofbacteriology.net/salmonella_2.html) den 02 02 2012
- UN. (2011). *The Millenium Development Goals Report* . New York: UN .
- UNFPA. (2011). *UNFPA state of world population 2011*. New York: UN.
- UNICEF. (2012). *unicef.se/fakta/undernaring*. Hämtat från [unicef.se](http://unicef.se/fakta/undernaring): <http://unicef.se/fakta/undernaring> den 29 mars 2012
- Vinnerås, B., Björklund, A., & Jönsson, H. (2003). Thermal composting of faecal matter as treatment and disinfection method—laboratory-scale and pilot-scale studies. *Bioresource Technology*, 88(1), 47–54.



## Muntliga källor

Vinnerås, Björn. Institutionen för energi och teknik, SLU Uppsala, 17 april 2012.

Lalander, Cecilia. Institutionen för energi och teknik, SLU Uppsala, 7 april 2012).