

# Hygienisierung von Wirtschaftsdünger und Gärresten

Schriftenreihe, Heft 37/2014



# Möglichkeiten zur Hygienisierung von Wirtschaftsdünger und Gärresten

Janina Pospiech, Marc Ullrich, Sandra Göttling, Uwe Truyen, Stephanie Speck

	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>11</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>11</b>
1.1	Problemstellung.....	12
1.2	Zielsetzung.....	12
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b> .....	<b>12</b>
2.1	Grundlagen der Biogasproduktion.....	12
2.1.1	Allgemeine Grundlagen.....	12
2.1.2	Entwicklung der Biogastechnologie in Sachsen.....	14
2.1.3	Bestandsaufnahme.....	15
2.1.4	Öffentliche Diskussion.....	15
2.1.5	Zukunft.....	17
2.2	Hygienisierungsverfahren.....	19
2.2.1	Grundlagen der Hygienisierung.....	19
2.2.2	Darstellung möglicher Keimreduktions- und Hygienisierungsverfahren.....	19
2.2.2.1	Keimreduzierende Wirkung der Biogaserzeugung.....	19
2.2.2.2	Pasteurisierung.....	20
2.2.2.3	Drucksterilisation.....	22
2.2.2.4	Thermo-Druck-Hydrolyse (TDH).....	24
2.2.2.5	Alkalische Hydrolyse.....	24
2.2.2.6	Silierung des Ausgangssubstrates.....	25
2.2.2.7	Gärresttrocknung.....	25
2.2.2.8	Thermophile Prozessführung im Fermenter.....	27
2.2.2.9	Langzeitlagerung von Gülle.....	27
2.2.2.10	Sonderformen der Hygienisierungsverfahren.....	28
2.2.3	Geeignete Verfahren für landwirtschaftliche Biogasanlagen.....	28
2.3	Aktueller Erkenntnisstand zu mikrobiologischen Risiken und zur Hygienisierung von Wirtschaftsdüngern und Gärresten.....	29
2.3.1	Gesetzliche Grundlagen.....	29
2.3.2	Hygienische Aspekte beim Einsatz von Gärresten im Vergleich zu festen Wirtschaftsdüngern.....	36
2.3.2.1	Gärreste aus Biogasanlagen.....	36
2.3.2.2	Feste Wirtschaftsdünger.....	41
2.4	Beschreibung der ausgewählten Indikatororganismen.....	42
2.4.1	<i>Clostridium perfringens</i> .....	42
2.4.2	<i>Clostridium botulinum</i> .....	42
2.4.3	Fäkalstreptokokken, Enterokokken.....	43
2.4.4	<i>Escherichia coli</i> .....	43
2.4.5	<i>Salmonella</i> Spezies.....	44
2.4.6	ESBL – Extended-Spektrum $\beta$ -Laktamasen.....	45
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>46</b>
3.1	Auswahl und Beschreibung der Musteranlagen.....	46
3.1.1	Auswahl der Musteranlagen.....	46
3.2	Auswahl und Beschreibung der Pilotbetriebe.....	50
3.3	Erstellung eines Fragebogens zur Datenerhebung.....	51
3.4	Ökonomische und praktische Realisierbarkeit einer Hygienisierungsstufe.....	52
3.4.1	Planungsrechnung der Musteranlagen.....	52
3.4.2	Technische Gegenüberstellung der Hygienisierungsverfahren.....	52
3.4.3	Investitionskosten für Hygienisierungsanlagen.....	56
3.5	Etablierung und Standardisierung der kulturell-mikrobiologischen Nachweismethoden (qualitativ und quantitativ) mit definierten Proben.....	57

3.5.1	Etablierung der Nachweismethoden.....	57
3.5.2	Verwendete Testorganismen und Nährmedien .....	58
3.6	Probennahme, Transport und Lagerung.....	59
3.7	Verifikation der ausgewählten Verfahren an Feldproben.....	60
3.8	Etablierung der molekularbiologischen Nachweismethoden für Clostridien .....	61
3.8.1	Aufbereitung der Proben .....	61
3.8.2	Nachweis und Typisierung von <i>Clostridium perfringens</i> .....	61
3.8.3	Nachweis von <i>Clostridium botulinum</i> .....	62
3.8.4	Verwendete Testorganismen.....	62
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>63</b>
4.1	Vorbereitung zur Etablierung der Nachweismethoden .....	63
4.2	Auswahl der Nährmedien .....	63
4.2.1	<i>Salmonella</i> Typhimurium und <i>S. Enteritidis</i> .....	63
4.2.2	<i>Enterococcus faecalis</i> .....	64
4.2.3	<i>E. coli</i> .....	64
4.2.4	ESBL-bildende <i>E. coli</i> 0010-73-1 (CTM-X 1), 003-13-2 (CTM-X 15 TEM) .....	65
4.2.5	ESBL-bildende <i>Klebsiella pneumoniae</i> SHV-18 ATCC 700603 .....	65
4.2.6	<i>Clostridium perfringens</i> .....	66
4.3	Verifikation der etablierten Nachweismethoden an Feldproben .....	68
4.3.1	Keimgehalt in den Feldproben.....	69
4.4	Molekularbiologische Untersuchung von Clostridien .....	73
4.5	Ergebnisse der Planungsrechnung .....	76
4.5.1	Ergebnis der Planungsrechnung für die Musteranlagen.....	76
4.5.2	Betriebskosten – Pasteurisierung .....	77
<b>5</b>	<b>Diskussion und Empfehlung .....</b>	<b>78</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>84</b>
<b>6</b>	<b>Anlagen .....</b>	<b>91</b>
6.1	Erklärungen zum EEG.....	91
6.1.1	Direktvermarktung und Flexibilisierung.....	91
6.2	Detailbeschreibung Musteranlagen .....	94
6.2.1	Musteranlagen.....	94
6.2.2	Hygienisierungstechnik der Musteranlagen.....	102
6.3	Mikrobiologische Durchführung .....	106
6.4	Probennahmeprotokoll für mikrobiologische Untersuchungen .....	108

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Allgemeiner Verfahrensablauf bei der Biogasgewinnung.....	13
Abbildung 2:	Prozessmodell Biogas.....	13
Abbildung 3:	Schema Biogasnutzung.....	14
Abbildung 4:	Entwicklung von Anzahl, Zubau und kumulierter elektrischer Leistung sächsischer BGA.....	14
Abbildung 5:	Reduktion ausgewählter Indikatororganismen im Biogasprozess.....	19
Abbildung 6:	Einfluss des Anlagenaufbaus auf die Keimreduktion.....	20
Abbildung 7:	Hygienisierung (Pasteurisierung) im Batch-Verfahren.....	21
Abbildung 8:	Quasikontinuierliche Hygienisierung mit Wärmerückgewinnung.....	21
Abbildung 9:	Schematische Darstellung einer Drucksterilisationsanlage.....	23
Abbildung 10:	Schematische Darstellung der Kontakt Trocknung.....	26
Abbildung 11:	Pressschneckenseparator.....	26
Abbildung 12:	Schematische Darstellung eines Bandrockners (Konvektionstrocknung).....	27
Abbildung 13:	Einordnung von Gülle nach dem Kreislaufwirtschaftsgesetz.....	36
Abbildung 14:	Musteranlage 1.....	47
Abbildung 15:	Musteranlage 2.....	48
Abbildung 16:	Musteranlage 3.....	49
Abbildung 17:	(v. l. n. r.) <i>Salmonella</i> Typhimurium auf <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Salmonella Agar, <i>Salmonella</i> Enteritidis auf XLD Agar und <i>Salmonella</i> Enteritidis auf XLT4 Agar.....	64
Abbildung 18:	(v. l. n. r.) <i>Enterococcus faecalis</i> auf Enterococcus Selektivagar (BAA) und <i>Enterococcus faecalis</i> auf Slanetz Bartley Agar.....	64
Abbildung 19:	(v. l. n. r.) <i>E. coli</i> auf Tergitol 7 Lactose TTC Agar und <i>E. coli</i> auf <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar.....	65
Abbildung 20:	<i>E. coli</i> 0010-73-1 (links) und <i>E. coli</i> 003-13-2 (rechts) auf <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> ESBL Agar.....	65
Abbildung 21:	<i>K. pneumoniae</i> SHV-18 auf <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> ESBL Agar.....	66
Abbildung 22:	<i>C. perfringens</i> (Feldisolat) auf TSC-Agar.....	66
Abbildung 23:	Feldprobe auf <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Salmonella Agar.....	68
Abbildung 24:	Feldprobe auf Enterococcus Selektivagar (links) und Slanetz Bartley Agar (rechts).....	69
Abbildung 25:	Feldprobe auf <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar.....	69
Abbildung 26:	<i>C. perfringens</i> Toxin-Gen PCR – Auswertung im Agarosegel.....	74
Abbildung 27:	<i>C. perfringens</i> Toxin-Gen PCR – Darstellung unspezifischer Banden im Agarosegel.....	75
Abbildung 28:	<i>C. perfringens</i> Toxin-Gen PCR nach touch-down Protokoll – Auswertung im Agarosegel.....	75
Abbildung 29:	<i>C. botulinum</i> NTNH PCR – Auswertung im Agarosegel.....	76
Abbildung 30:	Gegenüberstellung Grundvergütung zur Direktvermarktung.....	92
Abbildung 31:	Sekundärregelleistung und Minutenreserveleistung.....	93
Abbildung 32:	Musteranlage 1.....	95
Abbildung 33:	Musteranlage 2.....	97
Abbildung 34:	Musteranlage 3.....	100
Abbildung 35:	Pasteurisierung im Batchverfahren mit Wärmerückgewinnung vor der Vergärung.....	103
Abbildung 36:	Pasteurisierung im Batchverfahren mit Wärmerückgewinnung nach der Vergärung.....	104

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Kategorisierung tierischer Nebenprodukte, Auszug aus Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 .....	32
Tabelle 2:	Daten Musteranlage 1.....	47
Tabelle 3:	Daten Musteranlage 2.....	48
Tabelle 4:	Daten Musteranlage 3.....	49
Tabelle 5:	Investitionskosten der Musteranlagen.....	50
Tabelle 6:	Pasteurisierung: Einbauort vor der Beschickung in den Fermenter .....	53
Tabelle 7:	Pasteurisierung: Einbauort nach der Vergärung .....	54
Tabelle 8:	Drucksterilisation: Einbauort vor der Vergärung, vor der Beschickung in den Fermenter .....	55
Tabelle 9:	Drucksterilisation: Einbauort nach der Vergärung.....	55
Tabelle 10:	Investitionskosten Pasteurisierung.....	56
Tabelle 11:	Positivkontrollen für die <i>C. perfringens</i> Toxin-Gen PCR .....	62
Tabelle 12:	Positivkontrollen für die <i>C. botulinum</i> PCR .....	62
Tabelle 13:	Bestimmung der Nachweisgrenze für verschiedene Nährmedien .....	67
Tabelle 14:	Aerobe Lebendkeimzahl (KbE/g) in den Proben aus BGA.....	70
Tabelle 15:	Nachweis von Enterokokken (KbE/g) in den Proben aus BGA .....	70
Tabelle 16:	Nachweis coliformer Keime (KbE/g) in den Proben aus BGA.....	71
Tabelle 17:	Nachweis von <i>E. coli</i> (KbE/g) in den Proben aus BGA .....	71
Tabelle 18:	Nachweis von <i>C. perfringens</i> (KbE/g) in den Proben aus BGA .....	72
Tabelle 19:	In den Proben aus BGA nachgewiesene ESBL-bildende Bakterien .....	72
Tabelle 20:	Referenzstämme für die <i>C. perfringens</i> PCR.....	73
Tabelle 21:	Übersicht technische Daten der Musteranlagen .....	76
Tabelle 22:	Stromeinspeisung und Einnahmen der Musteranlagen .....	76
Tabelle 23:	Betriebskosten der Musteranlagen .....	77
Tabelle 24:	Einnahmen und Kosten pro kWh <sub>el</sub> .....	77
Tabelle 25:	Einnahmen und Kosten unter Bedingungen des EEG 2014 .....	77
Tabelle 26:	Betriebskosten für die Pasteurisierung .....	78
Tabelle 27:	Abmessungen Fermenter Musteranlage 1 .....	95
Tabelle 28:	Leistungsdaten BHKW im Vollastbetrieb.....	96
Tabelle 29:	Investitionskosten Musteranlage 1, 75 kW <sub>el</sub> in € .....	96
Tabelle 30:	Abmessungen Fermenter und Gärrestlager.....	97
Tabelle 31:	Leistungsdaten BHKW im Vollastbetrieb.....	98
Tabelle 32:	Investitionskosten Musteranlage 2, 250 kW <sub>el</sub> in €.....	98
Tabelle 33:	Investitionskosten Musteranlage 2, 250 kW <sub>el</sub> in € inkl. Gärrestlager mit einschaligem Gasdach (nicht gasdicht) .....	99
Tabelle 34:	Abmessungen der Behälter .....	100
Tabelle 35:	Leistungsdaten Gas-Otto-BHKW im Vollastbetrieb.....	101
Tabelle 36:	Investitionskosten Musteranlage 3, 526 kW <sub>el</sub> in €.....	101
Tabelle 37:	Investitionskosten Musteranlage 3, 526 kW <sub>el</sub> in € inkl. Gärrestlager mit einschaligem Gasdach (nicht gasdicht) .....	102
Tabelle 38:	Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 1 – 75 kW <sub>el</sub> .....	105
Tabelle 39:	Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 2 – 250 kW <sub>el</sub> .....	105
Tabelle 40:	Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 3 – 526 kW <sub>el</sub> .....	105
Tabelle 41:	Nährmedien zur Untersuchung von Feldproben .....	106

## Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm (10 <sup>-6</sup> Gramm)
µl	Mikroliter (10 <sup>-6</sup> Liter)
A	Ampere
a	Jahr
AKh	Arbeitskraftstunden
AP	Arbeitspaket
Aqua dest.	destilliertes Wasser
ATCC	American Type Culture Collection
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BGA	Biogasanlage
BHKW	Blockheizkraftwerk
BioAbfV	Bioabfallverordnung
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BMELF	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
BMF	Bundesfinanzministerium
BMG	Bundesministerium für Gesundheit
BMUB	Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit
BMWi	Bundesministerium für Wirtschaft und Energie
bp	Basenpaare
BZA	Betriebszweigabrechnung
bzw.	beziehungsweise
<i>C. botulinum</i>	<i>Clostridium botulinum</i>
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
C.A.R.M.E.N.	Centrales Agrar-Rohstoff Marketing- und Energie-Netzwerk
d	Tag(e)
DLG	Deutsche Landwirtschaftliche Gesellschaft
DNA	Desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
DüMV	Düngemittelverordnung
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EE	erneuerbare Energien
EEG	Gesetz für den Vorrang Erneuerbarer Energien
EEX	European Energy Exchange; Europäische Energiebörse
EFSA	European Food Safety Authority
EG	Europäische Gemeinschaft
EMSR	Elektro-, Mess-, Steuer- und Regelungstechnik
ESBL	Extended Spectrum beta-Laktamase
f.	folgender
ff.	folgende
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
FM	Frischmasse
ft	foot (engl., plural: feet), Maßeinheit für Entfernungen (1 ft entspricht 0,3048 m)

FuE	Forschung und Entwicklung
GV	Großvieheinheit
h	hour(s) = Stunde(n)
HRT	hydraulic retention time (hydraulische Verweildauer)
i. d. F.	in der Fassung
i. d. R.	in der Regel
KbE	Kolonie-bildende Einheiten
KrWG	Kreislaufwirtschaftsgesetz
KTBL	Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft
kW	Kilowatt
kWh	Kilowattstunde
kWh <sub>el</sub>	Kilowattstunde elektrisch
kWh <sub>therm</sub>	Kilowattstunde thermisch
LfULG	Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
LKZ	Lebendkeimzahl
mCP	Membran Clostridium Perfringens Agar
Mg	Megagramm (metrische Tonne)
MRL	Minutenreserveleistung
MRT	minimum retention time (mindest-Verweildauer)
MW	Megawatt
NawaRo	Nachwachsende Rohstoffe
NCTC	National Collection of Type Cultures
Nr.	Nummer
PB	Pilotbetrieb
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
RKI	Robert-Koch-Institut
S.	<i>Salmonella</i>
sp.	Spezies
spp.	mehrere Spezies/Arten
SRL	Sekundärregelleistung
Temp.	Temperatur
TierNebG	Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetz
TierNebV	Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsverordnung
TPGY	Trypticase Peptone Glucose Yeast (Tryptikase Pepton Glukose Hefe) Bouillon
TS	Trockensubstanz
TSC	Tryptose-Sulfit-Cycloserin Agar
ÜBN	Übertragungsnetzbetreiber
VO	Verordnung
XLD	Xylose-Lysin-Desoxycholat Agar
XLT4	Xylose-Lactose-Tergitol 4 Agar

## Glossar

Abprodukte	bei der Produktion entstehende Abfälle, besonders in Industrie und Landwirtschaft
abrasiv	abnutzend, schleifend, reinigend
aerob	Sauerstoff (zum Leben) benötigend
anaerob	ohne Sauerstoff (lebend)
anaerobe Behandlung	biotechnologische Behandlung durch gesteuerten Abbau der organischen Substanz unter Luftabschluss (Vergärung), mit dem Ziel der Hygienisierung, Stabilisierung, Verbesserung der Nährstoffverfügbarkeit und Verbesserung der physikalischen Eigenschaften (siehe DüMV)
anaerobe Mikroorganismen	Anaerobier; Bezeichnung für Bakterienarten, die ausschließlich in Abwesenheit von Sauerstoff wachsen
Berstscheibe	Sicherungseinrichtung bei unter Druck stehenden technischen Anlagen. Eine Scheibe (i. d. R. Metall) bestimmter Stärke bricht („birst“) ab einem bestimmten Druck unterhalb des Maximaldrucks der übrigen Anlage und fungiert somit bei Überdruck als Sollbruchstelle (verhindert Schäden an anderen Anlagenteilen).
Biogas	gasförmiges Produkt der Vergärung, das hauptsächlich aus Methan und Kohlendioxid besteht und je nach Substrat auch Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Wasserdampf und andere gasförmige oder verdampfbare Bestandteile enthalten kann
biologischer Abbau	Zerlegung organischer Substanzen, z. B. pflanzliche und tierische Rückstände, durch Mikroorganismen
Blockheizkraftwerk (BHKW)	Aggregat zur Umwandlung chemisch gebundener Energie in Elektro- und Wärmeenergie auf der Basis eines Motors und eines daran gekoppelten Generators
enterotoxisch	toxische Wirkung auf den Darmtrakt
Fermentationsrückstand	Rückstand aus der Umwandlung tierischer Nebenprodukte in einer Biogasanlage (gemäß Verordnung (EU) Nr. 142/2011)
Fermenter	Behälter, in dem der mikrobiologische Abbau des Substrates bei gleichzeitiger Biogasbildung stattfindet
Gärrest	flüssiger oder fester Rückstand der Biogasgewinnung, der organische und anorganische Bestandteile enthält
HACCP-Konzept	Hazard Analysis and Critical Control Points-Konzept; deutsch: Gefahrenanalyse und kritische Kontrollpunkte; ein vorbeugendes System, das die Sicherheit von Lebensmitteln und Verbrauchern gewährleisten soll
Hygienisierung	Behandlung mit dem Ziel, die Konzentration an Krankheitserregern und Schadorganismen so weit zu reduzieren, dass das Risiko einer Verbreitung von Krankheiten der Menschen, der Tiere oder der Pflanzen sowie der Eintrag von Organismen mit unerwünschten Eigenschaften in die Umwelt vermindert wird (siehe DüMV, BioAbfV oder Verordnung [EG] Nr. 1069/2009)
intrinsisch	natürlich vorhandene, ausgeprägte Eigenschaft

Kolonie-bildende Einheit (KbE)	durch Vermehrung aus einem Bakterium entstehende, makroskopisch sichtbare Anhäufung von Bakterien
Matrix	Bestandteil einer Probe, der als Träger für das zu untersuchende Material dient und nicht analysiert wird
mesophil	„mittlere Temperaturen liebend“; mesophile Prozesstemperatur einer Biogasanlage: 38 bis 43 °C
Nachwachsende Rohstoffe (NawaRo)	Sammelbegriff für stofflich und energetisch genutzte Biomasse (keine Futter- und Lebensmittel). Es handelt sich hierbei i. d. R. um landwirtschaftlich erzeugte Rohstoffe wie Mais, Rüben, Gras, Sorghum oder Grünroggen, die nach Silierung einer energetischen Anwendung zugeführt werden.
Nachweisgrenze	kleinste Konzentration an Bakterien, die mit genügender statistischer Sicherheit nachgewiesen werden kann
Oozyste	Dauerform von Parasiten
Pasteurisierung	Thermisches Verfahren bei 62 bis 85 °C zur Abtötung vegetativer Formen von Keimen. Definition im Sinne der BioAbfV, Verordnung (EG) Nr. 1069/2009, Verordnung (EU) Nr. 142/2011: Einwirkung einer Temperatur von mindestens 70 °C über einen zusammenhängenden Zeitraum von mindestens 1 Stunde auf das gesamte Material
Pathogen, pathogen	Krankheitserreger, krankmachend
Probit Analyse	Regressionsanalyse, statistische Methode
Rachentrichterpumpe	spezielle Pumpenbauart (auch: Exzentrerschneckenpumpe) besonders geeignet zur Förderung von dickflüssigen, hochviskösen und abrasiven Medien, z. B. Gülle und Co-Substraten
Repowering	Beschreibt eine Vielzahl von Einzelmaßnahmen im biologischen, technischen und organisatorischen Bereich, die den Gesamtwirkungsgrad von Bestandsbiogasanlagen erhöhen.
Reststoff	bei industriellen und landwirtschaftlichen Produktionsprozessen neben dem eigentlichen Produkt entstehender Stoff
Silage	durch Milchsäuregärung konserviertes Pflanzenmaterial
Stammkultur	Konservierung von Bakterienstämmen über einen langen Zeitraum, um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten
Substrat	Substanz, die umgesetzt (abgebaut, umgebaut, verbraucht) wird
Surrogat	Ersatzstoff
Tenazität	hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber äußeren Einflüssen
thermophil	wärmeliebend; thermophile Prozesstemperatur einer Biogasanlage: im Bereich von 45 bis 60 °C
vegetativ	vermehrungsfähig
Vergärung	Abbau von biogenem Material durch Mikroorganismen in Abwesenheit von Sauerstoff, d. h. unter anaeroben Bedingungen; die Vergärung ist ein Teilbereich der Fermentation
Verweilzeit	durchschnittliche Aufenthaltszeit des Substrates im Fermenter
Wrasen	in der Luft zu Nebel auskondensierender und damit sichtbar werdender Wasserdampf
Zoonose	Krankheiten und Infektionen, die natürlicherweise zwischen Wirbeltieren und Menschen übertragen werden

# Zusammenfassung

Zentraler Inhalt dieses Forschungsvorhabens war die Darstellung und Auswertung der aktuellen Möglichkeiten einer Hygienisierung von flüssigen und festen Wirtschaftsdüngern sowie Gärresten anhand einer Literaturrecherche. Ergänzend hierzu wurde die technische und ökonomische Realisierbarkeit einer Hygienisierung für drei Musteranlagen exemplarisch durchgerechnet. Aus technischer Sicht war die Pasteurisierung für landwirtschaftliche Biogasanlagen das am besten geeignete Verfahren. Ökonomisch gesehen bedeutet die Einrichtung einer solchen Einheit keinen Mehrwert für die Anlagenbetreiber, sie verursacht jedoch erhebliche Mehrkosten.

Der zweite Schwerpunkt beinhaltete eine Zusammenfassung des aktuellen Erkenntnisstandes zu mikrobiologischen Risiken aus Biogasanlagen. Darüber hinaus wurden verschiedene Nachweismethoden für die Untersuchung von Proben aus Biogasanlagen im Labor erprobt und auf ihre Anwendbarkeit in der Praxis überprüft. Die Literaturrecherche ergab, dass das Keimpektrum der Gärprodukte und Gärreste weitgehend vom Keimpektrum der Ausgangssubstrate abhängig ist. Eine Vermehrung von Krankheitserregern im Biogasprozess ist nicht gegeben, vielmehr findet eine Keimreduktion um bis zu 8  $\log_{10}$ -Stufen statt, die von verschiedenen Faktoren, wie z. B. Temperatur und Verweilzeit, abhängig ist. Eine gute fachliche Praxis vorausgesetzt und unter Beachtung der aktuellen Gesetzesvorgaben ergeben sich keine Hinweise darauf, dass Gärreste aus Biogasanlagen *per se* ein hygienisches Risiko für Menschen, Tiere oder Pflanzen darstellen. Vielmehr führt bereits der mesophile Biogasprozess zu einer Keimreduktion, was auch die vorliegende Studie bestätigt. Somit ist das hygienische Risiko bei der Düngung mit Gärresten nicht größer als bei der Verwendung von Gülle.

Aus mikrobiologischer und auch ökonomischer Sicht erscheint es nicht zwingend sinnvoll, eine Empfehlung zur allgemeinen Einführung einer zusätzlichen Hygienisierung für Biogasanlagen auszusprechen. Sinnvoller wäre die regelmäßige mikrobiologische Statusüberprüfung anhand von Indikatorkeimen, die tierseuchenrechtlich und/oder phytohygienisch von Bedeutung sind. Auf diese Weise wäre das frühzeitige Erkennen von hygienischen Risiken gewährleistet.

## 1 Einleitung

Unter den erneuerbaren Energien nimmt der Biogassektor in Deutschland eine Sonderstellung ein. Die derzeit ca. 7.500 Biogasanlagen (BGA) in Deutschland decken bereits nahezu 4 % des Gesamtenergiebedarfs und sind im Gegensatz zu Photovoltaik und Windenergie die einzige erneuerbare Energiegewinnungsform, welche vollständig regelbar ist und somit durch Bereitstellung von Regelenergie maßgeblich zur notwendigen Netzstabilisierung beiträgt. Im Zusammenhang mit dem Bau von Biogasanlagen wurde in der Öffentlichkeit die Frage hinsichtlich des Vorkommens und der Verbreitung von Krankheitserregern in den Gärresten laut, insbesondere, wenn diese zur Düngung ausgebracht werden. Unklarheit besteht z. B. darüber, ob sich pathogene Mikroorganismen im Gärprozess vermehren können. Das vorliegende Projekt wurde realisiert, um die Möglichkeiten der Hygienisierung von Wirtschaftsdüngern und Gärresten darzustellen und die technische sowie ökonomische Realisierbarkeit einzuschätzen.

# 1.1 Problemstellung

Die seit über einem Jahrzehnt kontinuierlich fortschreitende Verbreitung der Biogas-Technologie erfuhr im Jahr 2012 einen erheblichen Rückgang, was einerseits auf den Wegfall von Förderungen und eine Verkomplizierung der Genehmigungsverfahren, u. a. durch Änderung des Kreislaufwirtschaftsgesetzes (KrWG), sowie andererseits auf zunehmende Akzeptanzprobleme in der Öffentlichkeit zurückzuführen ist. Der Neubau von Biogasanlagen ging 2012 um ca. 75 % zurück und die Investitionen im Biogassektor beschränkten sich größtenteils auf „Repowering“- und Ausbaumaßnahmen bestehender Anlagen. Um die Erschließung des derzeit noch ungenutzten Potenzials dieser Technologie zu ermöglichen bzw. zu fördern, ist es notwendig, die Akzeptanz in der Bevölkerung zu steigern und eine zeitgemäße Methodik der Genehmigungs- und Kontrollverfahren für BGA zu etablieren. Ein wichtiger Ansatzpunkt ist hierbei die Klärung der Fragestellung, welches Gefahrenpotenzial die Gärreste aus Biogasanlagen möglicherweise bergen, welche Technologien zur Risikominimierung geeignet sind und die Frage, wie mögliche mikrobielle Risiken zuverlässig überprüft und nachgewiesen werden können.

# 1.2 Zielsetzung

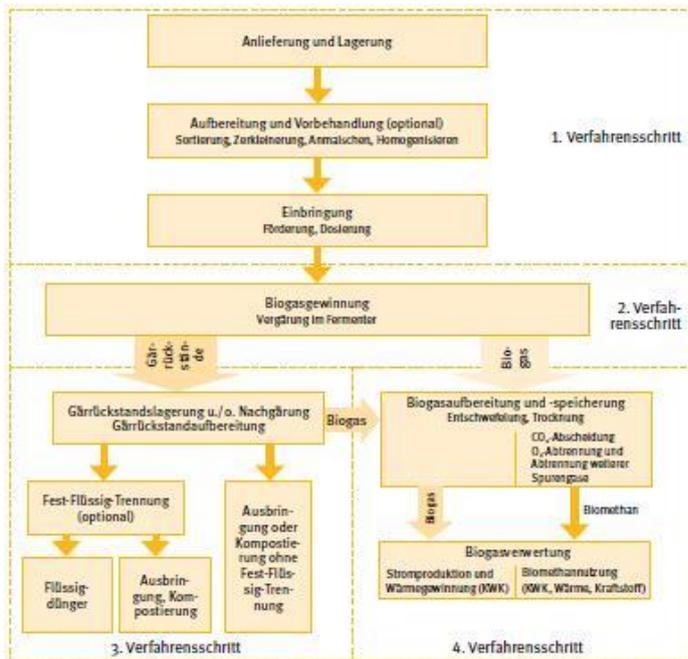
In diesem Bericht werden die aktuellen Möglichkeiten einer Hygienisierung von flüssigen und festen Wirtschaftsdüngern sowie Gärresten anhand einer Literaturrecherche dargestellt. Die technische und ökonomische Realisierbarkeit einer Hygienisierung wurde für drei Musteranlagen exemplarisch durchgerechnet. Darüber hinaus wurden verschiedene mikrobiologische Nachweismethoden auf ihre Anwendbarkeit in der Praxis überprüft. Hierfür wurde ein Probenentnahmeprotokoll erarbeitet (siehe Kap. 6.4), Proben in ausgewählten Pilotbetrieben gezogen und bakteriologisch untersucht. Zum Einsatz kamen Kulturverfahren zur quantitativen Analyse und molekularbiologische Verfahren. Der Fokus lag auf dem Nachweis ausgewählter Indikatororganismen, die bereits in anderen Studien als sinnvoll beschrieben wurden.

# 2 Literaturübersicht

## 2.1 Grundlagen der Biogasproduktion

### 2.1.1 Allgemeine Grundlagen

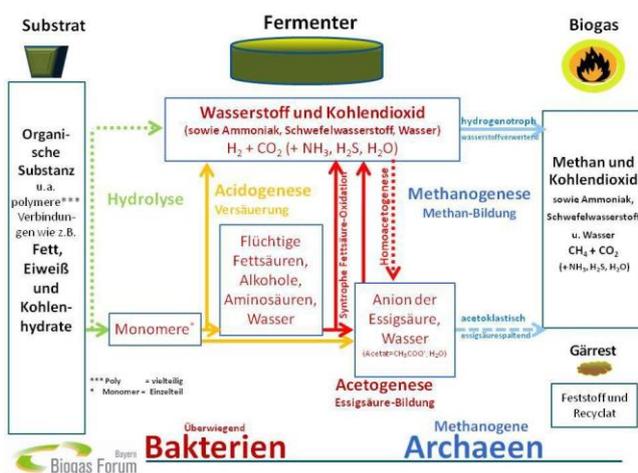
In Biogasanlagen werden vergärbare Stoffe (z. B. biologischer Abfall, Güllesubstrate, Energiepflanzen) in Behältern (Fermenter) bei einer Temperatur von 38 bis 43 °C (mesophil) oder  $\geq 55$  °C (thermophil) unter anaeroben Bedingungen (TEWE 2013) zu methanhaltigem Gas und Gärresten umgesetzt. Jede Biogasanlage besteht grundsätzlich aus Substratbereitstellung (Substrateinbringung und Vorgrube), Gärbehälter/Fermenter, Gasspeicher, Gasreinigung, Blockheizkraftwerk und Substratendlager/Gärrestlager (DLG 2006).



**Abbildung 1: Allgemeiner Verfahrensablauf bei der Biogasgewinnung**

Quelle: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR) (2013): Leitfaden Biogas

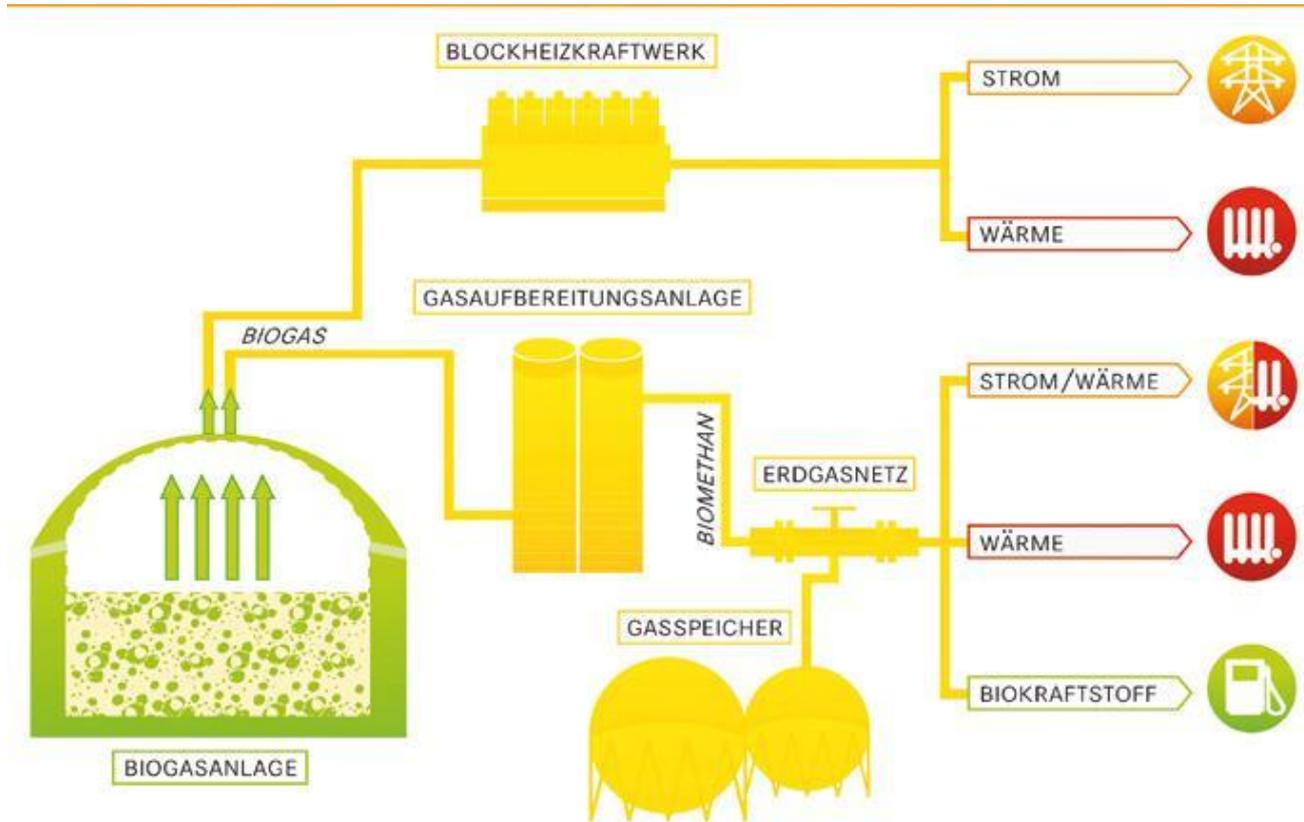
Im Grundprinzip finden im Gärbehälter (Fermenter) die Hydrolyse und Fermentation statt. Die organischen Stoffe werden hierbei durch extrazelluläre Enzyme (Cellulase, Amylase, Protease und Lipase) von Mikroorganismen in kleinere organische Teile zerlegt. Somit entstehen Monosaccharide, Peptide und Aminosäuren sowie kurzkettige Fettsäuren. Durch den Einsatz von Energie (Wärme) im Fermenter findet die Acidifikation und Methanogenese statt. Die Substrate werden durch säurebildende Bakterien in Ethansäure (Essigsäure,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), Wasserstoff, Kohlendioxid, Schwefelwasserstoff und geringe Mengen in Methan umgewandelt. Anschließend nutzen methanbildende Bakterien den Wasserstoff und die Ethansäure, um Methan und Kohlendioxid herzustellen. Hierbei entsteht ein symbiotisches Verhältnis zwischen den säurebildenden und methanbildenden Mikroorganismen (Ecosan Services & Seecon 2007).



**Abbildung 2: Prozessmodell Biogas**

Quelle: Arbeitsgemeinschaft Landtechnik und landwirtschaftliches Bauwesen in Bayern e. V. (2010): Prozessmodell Biogas

Das daraus resultierende energiereiche Methangas kann nach der (optionalen) Gasreinigung im nächsten Schritt zur kombinierten Strom- und Wärmeerzeugung (Kraft-Wärme-Kopplung) verwendet oder, nach geeigneter Aufbereitung, in das Erdgasnetz des lokalen Versorgers eingespeist werden (DLG 2006).

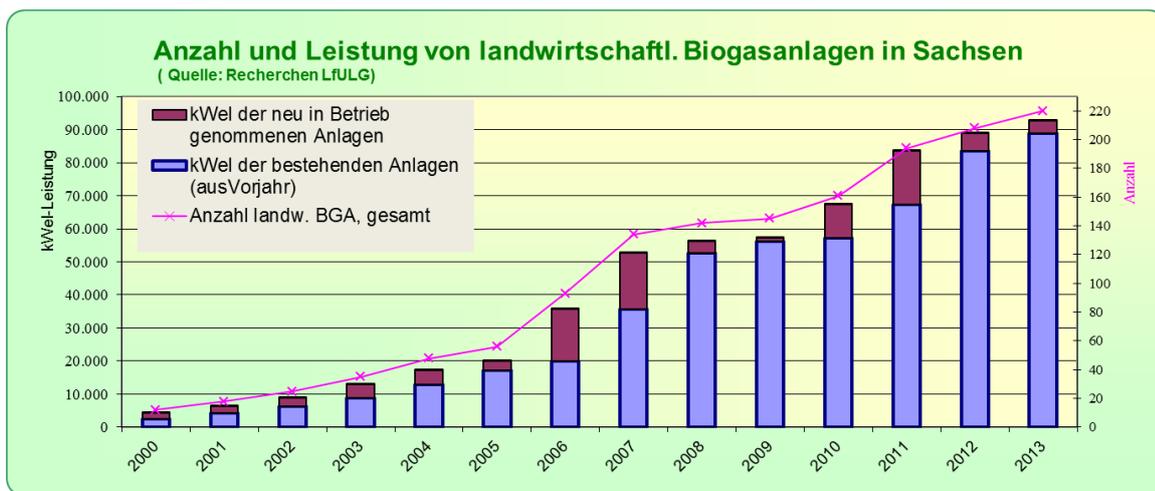


**Abbildung 3: Schema Biogasnutzung**

Quelle: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR) und Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) (2013): Broschüre Biogas

### 2.1.2 Entwicklung der Biogastechnologie in Sachsen

#### Gestern und Heute



**Abbildung 4: Entwicklung von Anzahl, Zubau und kumulierter elektrischer Leistung sächsischer BGA**

Quelle: LfULG, Anlagenmonitoring (Stand 31.12.2013) (kein Anspruch auf Vollständigkeit)

Seit dem Erlass des Erneuerbare Energien-Gesetzes (EEG) von 2004 hat sich die Anzahl der Biogasanlagen in Sachsen mehr als vervierfacht. Diese Entwicklung ist mit der gesamtdeutschen Situation vergleichbar bzw. übertrifft diese leicht. Seit Inkrafttreten des EEG 2012 ist der Anlagenzubau jedoch in Sachsen wie auch deutschlandweit um ca. 75 % eingebrochen. Investitionen im Biogasbereich konzentrieren sich seitdem auf Modernisierung und „Repowering“ der Bestandsanlagen. Mögliche Ursachen dafür werden im Kap. 2.1.5 beleuchtet.

### 2.1.3 Bestandsaufnahme

Nach einer Erhebung des Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG) waren Ende 2013 etwa 260 BGA in Sachsen mit einer Leistung von ca. 120 MW<sub>el</sub> am Netz. Ca. 220 dieser Anlagen (ca. 92 MW<sub>el</sub>) sind direkt an landwirtschaftliche Betriebe angegliedert. Die mittlere Leistung dieser 220 Anlagen betrug etwa 420 kW<sub>el</sub>. Im Schnitt werden etwa 45 % der prozesseextern anfallenden Abwärme zur Beheizung von Wirtschaftsgebäuden, Getreidetrocknungen, Wohnungen etc. genutzt. Der Großteil der Anlagen (ca. 75 %) wurde im Zeitraum bis 2012 in Betrieb genommen, weshalb sie bezüglich der Vergütung unter das EEG 2004 bzw. 2009 fallen. Sächsische Biogasanlagen setzen im Durchschnitt mindestens 70 Masseprozent Wirtschaftsdünger, überwiegend Rindergülle, als Substrat ein, gefolgt von Maissilage und anderen Energiepflanzen. Dabei werden nur etwa 13,4 % der Ackerfläche zum Maisanbau genutzt, was weit unter dem Bundesdurchschnitt von ca. 21,2 % liegt. Nur etwa sieben Anlagen speisen aufbereitetes Biogas in das Erdgasnetz ein.

### 2.1.4 Öffentliche Diskussion

Biogasanlagen sind in ihrer Gesamtheit ein sehr komplexes Thema, welches eine sehr differenzierte Betrachtungsweise zur Einschätzung der Potenziale und Risiken bedingt. Dies ist in der öffentlichen Berichterstattung oft nicht der Fall. Biogasanlagenbetreiber sehen sich zunehmend mit Akzeptanzproblemen in der Bevölkerung konfrontiert, deren Ursache unter anderem die Angst vor krankheitserregenden Bakterien in den Gärresten ist. Vor allem eine mögliche, nicht beabsichtigte Massenvermehrung bzw. Anreicherung von Bakterien der Gattung *Clostridium* (WEILAND et al. 2007), insbesondere das Neurotoxin-bildende *Clostridium botulinum*, wurde in der Öffentlichkeit und den Medien intensiv diskutiert. Oftmals werden vorrangig die negativen Aspekte betrachtet, wenn es um die Sicherheit von Biogasanlagen sowie deren mögliche Belastung der Umwelt und des Umfeldes geht. Wissenschaftlich nicht belegbare Argumentationen und Kampagnen sind keine Seltenheit. Aus diesem Grund ist eine verbesserte Aufklärung und Einbeziehung der Öffentlichkeit für die Etablierung dieser zukunftssträchtigen Technologie notwendig. Einen Beitrag dazu leisten u. a. Institutionen wie der C.A.R.M.E.N. e. V., welcher z. B. durch Publikationen (u. a. Akzeptanz für Erneuerbare Energien – Ein Leitfaden; C.A.R.M.E.N. e.V 2014) Anlagenbetreibern, Gemeinden, Herstellern und anderen Institutionen Hilfestellung bei Konfliktbewältigung und Integration der Bevölkerung gibt.

### Sicherheit

Die Sicherheit von Biogasanlagen ist ein wichtiges Thema, das immer wieder in den Fokus der Öffentlichkeit tritt. Während Personenschäden in Verbindung mit Störfällen in Biogasanlagen selten sind, kam es in der Vergangenheit häufiger zu Sachschäden und umweltgefährdenden Havarien, z. B. durch den Austritt größerer Mengen Gülle bzw. Gärrest und/oder Substrat. Mögliche Erklärungen hierfür sind einerseits die anfangs noch fehlenden Erfahrungen mit dieser recht jungen Technologie und teils lückenhaften Sicherheitsvorschriften, andererseits die mangelnde Erfahrung und Schulung der Betreiber. In allen Bereichen der Sicherheit von BGA wird kontinuierlich an Verbesserungen gearbeitet; so sind z. B. seit dem EEG 2012 Notverbrauchseinrichtungen für überschüssiges Biogas für jede Anlage Pflicht. Aspekte wie Blitzschutz (EEG 2000–2014), Grenzwerte für Methanemissionen und bauliche Auflagen werden ebenfalls ständig weiterentwickelt. Auch das Angebot an Fortbildungsmöglichkeiten für Anlagenbetreiber und Anlagenfahrer wächst stetig; in Sachsen werden z. B.

zahlreiche Weiterbildungs- und Informationsveranstaltungen durch das LfULG angeboten ([www.smul.sachsen.de/vplan](http://www.smul.sachsen.de/vplan)). Eine einheitliche Nachweispflicht für die Befähigung, eine Biogasanlage zu betreiben, existiert bisher allerdings nicht, weshalb Havarien durch Bedienungsfehler weiterhin ein reales Risiko darstellen.

Trotz der verbleibenden Risiken kam es seit 2009 in Sachsen lediglich zu einem meldepflichtigen Störfall, wobei es sich um ein größeres Gülleleck handelte (LfULG, Stand 2013). Die Komplexität des Biogasprozesses führt auch im Bereich Sicherheit regelmäßig dazu, dass in der öffentlichen Wahrnehmung ein falsches Bild von Biogasanlagen entsteht. So wurde unter anderem auf eine Statistik der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe aus dem Jahre 2010 verwiesen (Basisdaten Biogas Deutschland 2010), jedoch nicht differenziert, welche Arten von Störfällen mit einbezogen wurden. Unter „Störfall“ wurden in der genannten Statistik u. a. auch Ereignisse wie z. B. der Ausfall eines Rührwerkes gezählt, welcher für Mensch und Umwelt i. d. R. absolut unbedenklich ist. In späteren Ausgaben der Broschüre wurde der Begriff „Störfall“ durch „Betriebsstörung“ ersetzt. Gegendarstellungen oder Richtigstellungen erfolgen in den entsprechenden Artikeln meist nicht, wodurch in der öffentlichen Wahrnehmung das Bild entsteht, Biogasanlagen seien per se gefährlich.

Auch in Bezug auf das hygienische Gefahrenpotenzial weichen öffentliche Berichterstattung und wissenschaftlicher Erkenntnisstand oftmals stark voneinander ab. „Reißerische“ Überschriften diverser Zeitschriften vermitteln den Eindruck, Biogasanlagen wären generell eine hygienische Bedrohung für Mensch und Tier. Dagegen kommen wissenschaftliche Studien zu gegenteiligen Schlussfolgerungen. So wird in einer Studie von LEBUHN & WILDERER (2006) der Vorteil der Ausbringung von Biogasgärrest gegenüber Rohgülle in Trinkwassereinzugsgebieten herausgestellt, weil dieser einen niedrigeren Keimgehalt hat (s. Kap. 2.2.2).

### **Belastung und Belästigung**

Sowohl in der Landwirtschaft als auch in der Industrie spielt neben dem Faktor Sicherheit die Belastung der Umwelt und des Umfeldes durch die Biogasanlagen eine große Rolle für die öffentliche Wahrnehmung. Hierzu wäre zu erwähnen, dass Biogasanlagen im Vergleich zu anderen erneuerbaren Energien (Windkraft, Solarenergie, Wasserkraft) aufgrund ihrer kompakten Bauweise einen bezogen auf die Leistung relativ geringen Platzbedarf haben, wodurch sie das Landschaftsbild nur vergleichsweise geringfügig stören. Auch bezüglich der optischen und akustischen Belästigung sind BGA vor allem den Windkraftanlagen deutlich überlegen, weil Effekte wie Schattenwurf oder der sogenannte Diskoeffekt (Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen 2002) nicht auftreten. Auch die Lärmbelästigung ist bei entsprechend abgeschirmten BHKW und einwandfreier beweglicher Technik gering. Weiterhin sind BGA im Vergleich zu Wind-, Wasserkraft- und Photovoltaikanlagen bezüglich der Standortwahl flexibler; so spielen z. B. Aspekte wie Windexposition, Neigung der Fläche oder Vorhandensein von Fließgewässern keine Rolle. Daher können sie in entsprechender Distanz zu Wohnanlagen errichtet werden, um z. B. ein effektives Nahwärmenetz anzulegen. Die Nähe zu landwirtschaftlichen Produktionsanlagen ist zumindest aus politischer und ökologischer Sicht besonders bei Gülleanlagen logistisch sinnvoll, wodurch eine Ansiedelung im Außenbereich von Ortschaften der häufigste Fall ist. Tierproduktionsbetriebe halten generell ausreichende Lagerkapazitäten für Gülle und Mist vor. Der Zubau einer Biogasanlage bedingt, dass bereits vorhandene und teilweise offene Lagerkapazitäten für die Biogasproduktion gasdicht (und somit geruchsdicht) abgedeckt werden (müssen). Fakt ist, dass bei landwirtschaftlichen BGA mit hohem Gülleanteil hauptsächlich Substrate genutzt und veredelt werden, die in der primären Produktion ohnehin anfallen. Weiterhin verändert der Biogasprozess die Substrate dahingehend positiv, dass sie im Vergleich zum Ausgangsmaterial nur noch einen sehr schwachen Geruch abgeben und somit sowohl bezüglich der Lagerung als auch der Ausbringung unproblematischer sind (C.A.R.M.E.N. e. V. 2014).

Trotz dieser mehr oder weniger offensichtlichen Vorteile werden BGA in der öffentlichen Wahrnehmung kritisch gesehen. Neben den bereits erwähnten Sicherheitsbedenken werden vor allem Belastungen für die Umwelt befürchtet. Diese beziehen sich vor allem auf den verstärkten Anbau von Energiepflanzen, vor allem Mais, in Monokultur. Die so genannte „Vermaisung“ stellt vor allem in Regionen mit sehr hohem Anteil an reinen NawaRo-BGA, z. B. in Niedersachsen und Schleswig-Holstein, ein Problem dar. Es wird befürchtet, dass der übermäßige Maisanbau zu einer starken Belastung und Auslaugung der Böden führt und die Biodiversität der Flächen stark beeinträchtigen kann. Die öffentliche Debatte zu diesem Thema wurde in einem umfassenden Artikel in der Zeitung „Berichte über Landwirtschaft“ des BMELV (2013 a) dargestellt. Um dieser Entwicklung entgegenzuwirken, wurden bereits im EEG 2012 (s. Kap. 2.1.5) entsprechende Regulierungen zu Ungunsten stark NawaRo-lastiger Anlagen eingeführt. In der journalistischen Berichterstattung wird jedoch oft verallgemeinert von BGA gesprochen, was hinsichtlich der zahllosen verschiedenen Typen, welche nur zum Teil die genannten Risiken verursachen, das Gesamtbild oftmals stark ins Negative verzerrt. Gegen einen Anbau von Energiepflanzen in einer sinnvollen Fruchtfolge unter Bedingungen der guten fachlichen Praxis ist dagegen aus ökologischer Sicht nichts einzuwenden.

### 2.1.5 Zukunft

#### Das Erneuerbare Energien-Gesetz (EEG)

Mit dem Energiekonzept 2050 strebt die Bundesregierung den zügigen Ausstieg aus der Kernenergie und den Einstieg in das Zeitalter der erneuerbaren Energien an. Als Teil dieses Energiekonzeptes regelt das EEG die Förderung und Vergütung beim Einsatz der erneuerbaren Energieträger. Die Bioenergie spielt dabei aufgrund ihrer Flexibilität und der im Gegensatz zu anderen erneuerbaren Energien hervorragenden Regelbarkeit und Speicherfähigkeit eine wesentliche Rolle.

Vorläufer des EEG war das seit 1991 geltende Stromeinspeisungsgesetz, welches u. a. den Marktzugang für die meist verhältnismäßig kleinen Produzenten von erneuerbaren Energien regeln und vereinfachen sollte, indem es die großen Netzbetreiberunternehmen gesetzlich zur Abnahme des Stromes verpflichtete und Mindestvergütungen sicherstellte. Mit dem ersten EEG aus dem Jahr 2000 wurde das Stromeinspeisungsgesetz ersetzt. Mit dem 1. EEG wurden die Vergütungssätze für die verschiedenen Arten der erneuerbaren Energien stärker differenziert und generell sowie vor allem für Photovoltaikanlagen erhöht, um eine Art Anschubförderung zu stellen. Hauptziel war dabei, den Anteil der erneuerbaren Energien an der Stromproduktion stark zu erhöhen (Verdoppelung bis 2010). Bereits 2004 wurde das EEG novelliert; die Änderungen umfassten im Wesentlichen eine Reduzierung der Förderung von Windkraftanlagen, die Anpassung an die neue EU Richtlinie 2001/77/EG (2009 durch die Richtlinie 2009/28/EG ersetzt) sowie eine Anpassung der Fördersätze und die Verbesserung der juristischen Stellung der Energieerzeuger gegenüber den Netzbetreibern.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass seit dem EEG 2004 erstmals der Aspekt Kraft-Wärme-Kopplung (KWK) besonders berücksichtigt und gesondert vergütet wurde. Mit der erneuten Novellierung des EEG im Jahre 2009 wurde dieser Aspekt durch Einführung des KWK-Bonus weiter gefördert. Außerdem sollten der NawaRo-Bonus (Bonus für den Einsatz nachwachsender Rohstoffe) und der Technologiebonus einen Anreiz für die Weiterentwicklung im Sektor erneuerbare Energien, besonders im Bereich Biomasse, geben. Der ebenfalls mit dem EEG 2009 eingeführte Güllebonus ermöglichte Sonderzahlungen für BGA, welche mindestens 30 % Gülle als Substrat einsetzten. Weiterhin wurden mit dieser Novelle des EEG eine Vielzahl von Detailregelungen u. a. im Bereich Bestandsschutz für Altanlagen eingeführt sowie Maßnahmen zum Netzmanagement und Netzausbau festgelegt, um die Integration der Erzeuger erneuerbarer Energien zu regeln. Die Einführung des Grünstromprivilegs sollte die Möglichkeit der Strom-Direktvermarktung für EE-Erzeuger und Elektrizitätsver-

sorgungsunternehmen attraktiver machen. Die Grundstruktur des EEG 2004 wurde jedoch weitestgehend beibehalten.

Nachdem die Erhöhung des Anteils der erneuerbaren Energien durch die bis dahin verabschiedeten Versionen des EEG erfolgreich verlief, erhöhten sich auch die Kosten der angelaufenen Energiewende. Mit der EEG-Novelle von 2012 wurden daher die Grundvergütungssätze abgesenkt und ein detailliertes Einsatzstoffklassen-Vergütungssystem für BGA erstellt, um besonders die Nutzung von Gülle und Reststoffen zu fördern. Durch Einführung des Marktprämienmodells und der Flexibilitätsprämie (s. Kap. 6.1.1) sollte ein zusätzlicher Anreiz für EE-Erzeuger geschaffen werden, den Strom direkt und nicht über die EEG-Vergütung zu vermarkten. Die bisher angewandten Bonuszahlungen entfielen größtenteils. Das Ziel, erneuerbare Energien zukünftig stärker direkt zu vermarkten, wurde auch im EEG 2014 weiter verfolgt. Umgesetzt wurde dieses u. a. durch weitere starke Kürzungen in den Grundvergütungen und dem Wegfall diverser Boni. Das EEG in seiner aktuellen Form trat am 01.08.2014 in Kraft und beinhaltet grundlegende Änderungen für den Sektor der Energiegewinnung aus Biogas.

### Entwicklung des Biogassektors

Wie eingangs erwähnt, brach die sehr zügige Entwicklung des Biogassektors bereits mit dem EEG 2012 stark ein. Der Anlagenzubau verringerte sich um 75 %, Investitionen wurden vornehmlich für „Repowering“-Maßnahmen getätigt. Als wichtige Gründe dafür sind u. a. die Absenkung der Förderungen sowie die Verschärfung der für Grund- und Sondervergütungen notwendigen Management- und bautechnischen Anforderungen zu nennen. Auch die erklärte Intention der Bundesregierung, zum Zweck der Kostensenkung für Wirtschaft und Verbraucher den Wechsel für erneuerbare Energien von der sicheren EEG-Vergütung in die Direktvermarktung voranzutreiben, sorgte für starke Verunsicherung und Zurückhaltung bei bestehenden und potenziellen Anlagenbetreibern. Mit der Neufassung des EEG von 2014 wird dieser Effekt noch verstärkt; Expertenverbände, u. a. der Fachverband Biogas e. V., rechnen zum Teil sogar mit einem fast vollständigen Einbruch des Marktes, mit Ausnahme der gesondert geförderten Kleinanlagen (bis 75 kW installierte elektrische Leistung, mindestens 80 % Gülleinsatz). Größere Neuanlagen, analog zu den bisher eingesetzten Grundtypen, sind prinzipiell auf Basis der EEG-Vergütung nicht mehr kostendeckend zu betreiben (Fachverband Biogas e. V. 2014).

Zusätzliche Belastungen wie Akzeptanzprobleme in der Bevölkerung, vorrangig aufgrund der befürchteten Belastung von Umwelt und der Gesundheit von Mensch und Tier, verstärken die Problematik zusätzlich. An diesem Punkt setzt die hier vorliegende Arbeit an, um die Fragestellung nach der hygienischen Notwendigkeit sowie der technischen und ökonomischen Realisierbarkeit von Hygienisierungssystemen für Biogasanlagen zu beleuchten und dadurch einen Beitrag zur sachlichen Argumentation und Akzeptanzverbesserung im Bereich Energie aus Biogas zu leisten.

Trotz des derzeit stagnierenden Ausbaus verfügt die Technologie der Energiegewinnung aus Biogas, besonders aus landwirtschaftlichen Abprodukten, Reststoffen und Bioabfällen über das Potenzial, im Energiemix der Zukunft eine wesentliche Rolle zu spielen.

## 2.2 Hygienisierungsverfahren

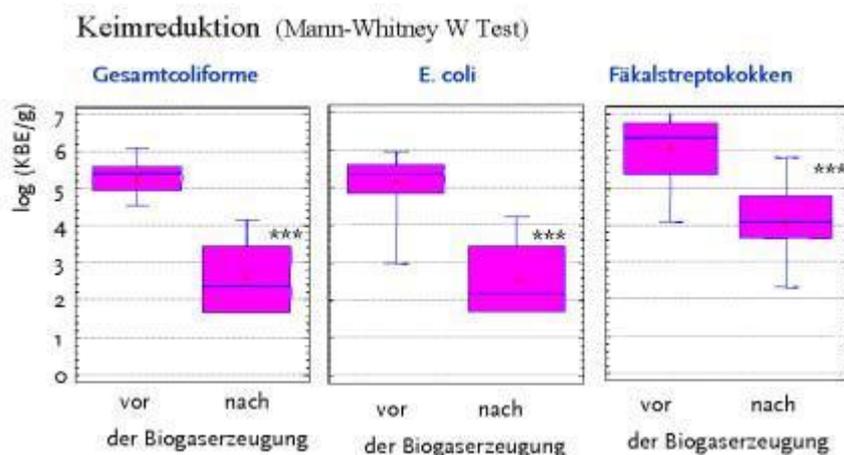
### 2.2.1 Grundlagen der Hygienisierung

Hygienisierung bezeichnet im wissenschaftlichen Sprachgebrauch eine Reduktion aktiver (bzw. koloniebildender) Individuen um mindestens 4, typischerweise 5  $\log_{10}$ -Stufen, also um 99,99 bzw. 99,999 % (LEBUHN & FRÖSCHLE 2012). Die Verordnung (EU) Nr. 142/2011 schreibt bei alternativen thermischen und chemischen Umwandlungsverfahren in Biogasanlagen für eine ausreichende Reduzierung biologischer Risiken u. a. den Nachweis einer Verminderung von *Salmonella* Senftenberg (775W, H<sub>2</sub>S-negativ) um 5  $\log_{10}$ -Stufen vor. Zusätzlich zur Hygienisierung im engeren Sinne gibt es diverse Verfahren mit keimreduzierender Wirkung, zu denen unter anderem auch der Biogasprozess zählt. Dabei wird keine gesicherte Keimreduktion erreicht, jedoch zumindest eine Keimvermehrung gehemmt.

### 2.2.2 Darstellung möglicher Keimreduktions- und Hygienisierungsverfahren

#### 2.2.2.1 Keimreduzierende Wirkung der Biogaserzeugung

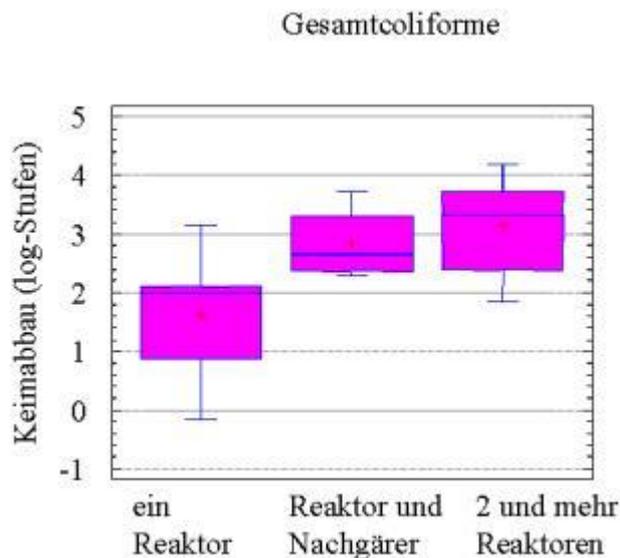
In diversen Studien wurde dargestellt, dass die Behandlung von tierischen Nebenprodukten – speziell Gülle – in Form der Verwertung in Biogasanlagen im Regelfall zu einer Keimreduktion führt (u. a. LEBUHN & WILDERER 2006). Die Studie von REINHOLD & JAHN (2004) kommt zu dem Ergebnis, dass in den untersuchten Anlagen (mesophiler Betrieb ~38,8 °C, mittlere Reaktorbelastung, mittlere Verweildauer 50 d) hinsichtlich der untersuchten Indikatororganismen (gesamtcolliforme Keime, *E. coli* und Fäkalstreptokokken) durchgehend eine Keimreduktion zu beobachten war (s. Abbildung 5).



**Abbildung 5: Reduktion ausgewählter Indikatororganismen im Biogasprozess**

Quelle: REINHOLD & JAHN (2004): Hygienisierende Wirkungen der Biogaserzeugung auf die Gärsubstrate

In der genannten Studie konnte darüber hinaus für mesophil betriebene Fermenter im Gegensatz zu thermophil betriebenen Fermentern kein signifikanter Einfluss der Verweildauer auf die Keimreduktion nachgewiesen werden (REINHOLD & JAHN 2004). Vielmehr stellte sich heraus, dass der Aufbau der Anlage die Keimreduktion beeinflusst. So verstärkt ein mehrstufiger Aufbau, z. B. durch den Einsatz zusätzlicher Fermenter oder Nachgärer, die keimreduzierende Wirkung (s. Abbildung 6).



**Abbildung 6: Einfluss des Anlagenaufbaus auf die Keimreduktion**

Quelle: REINHOLD & JAHN (2004): Hygienisierende Wirkungen der Biogaserzeugung auf die Gärsubstrate

Die Autoren kommen zu folgendem Fazit: „Zusammenfassend ist festzustellen, dass durch die landwirtschaftliche Biogaserzeugung eine deutliche Verbesserung des hygienischen Status der Substrate stattfindet.“ (REINHOLD & JAHN 2004). Die bereits erwähnte Studie von LEBUHN & WILDERER (2006) kommt bezüglich thermophil betriebenen Fermentern (2 Versuchsfermenter, 55 °C konstant, Verweildauer >4 h) in der Kernaussage zu einem ähnlichen Schluss: „Eine Ausbringung von Gärresten hat, insbesondere vor dem Hintergrund einer eventuellen Ausbringung im erweiterten Wasserschutzgebiet, wegen der wesentlich geringeren Keimkonzentration im Gärrest deutliche Vorteile gegenüber Rohgülle.“

### 2.2.2.2 Pasteurisierung

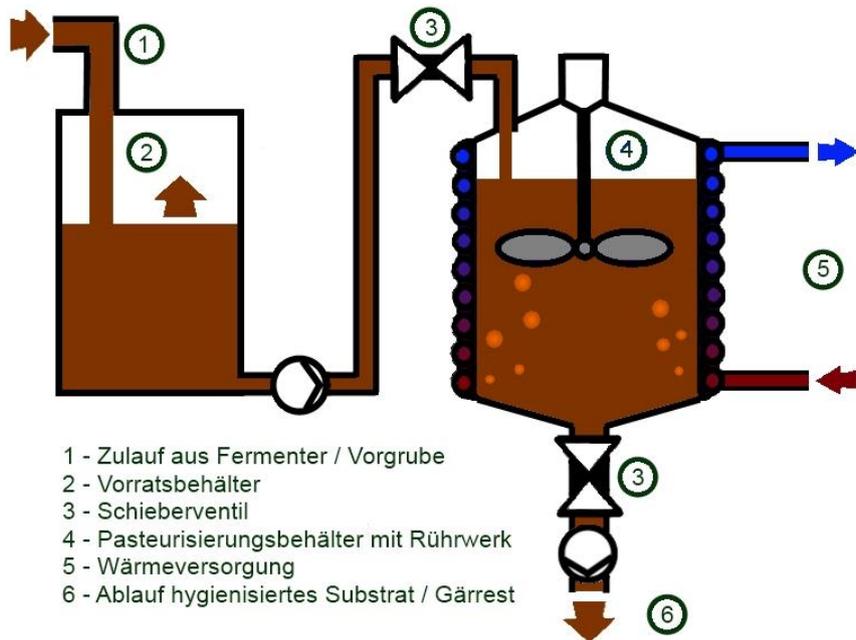
Eine technisch relativ einfache und zugleich wirkungsvolle Möglichkeit der Hygienisierung stellt die Pasteurisierung dar. Dabei wird das Substrat über eine Stunde bei einer konstanten Temperatur von 70 °C gehalten. Praktisch kann diese Art der Hygienisierungsstufe je nach Bedarf an verschiedenen Stellen einer BGA integriert werden. Soll nur ein Teil der Substrate, z. B. Kategorie 3 Material nach Verordnung (EG) Nr. 1069/2009, hygienisiert werden, ist eine entsprechend klein dimensionierte Anlage vor dem Fermenter ausreichend. Wenn jedoch aufgrund wechselnder oder unsicherer Einsatzstoffe der gesamte Gärrest hygienisiert werden soll, ist der technische Aufwand dementsprechend höher.

Es gibt verschiedene technische Ansätze, um die erforderliche Temperatur über einen ausreichenden Zeitraum zu erreichen. Man unterscheidet dabei vor allem in Batch- (Abbildung 7) und quasikontinuierliche Verfahren (Abbildung 8). Dabei werden vornehmlich Wärmetauscher unterschiedlicher Bauart eingesetzt, entweder als Durchlaufvariante zur Vorheizung/Wärmerückgewinnung oder als Kocher in die Wand des Hygienisierungstanks integriert. Die Pasteurisierung ist nach deutschem bzw. europäischem Recht ein geeignetes Verfahren, um eine abgesicherte Hygienisierung zu erreichen.

### Technische Möglichkeiten

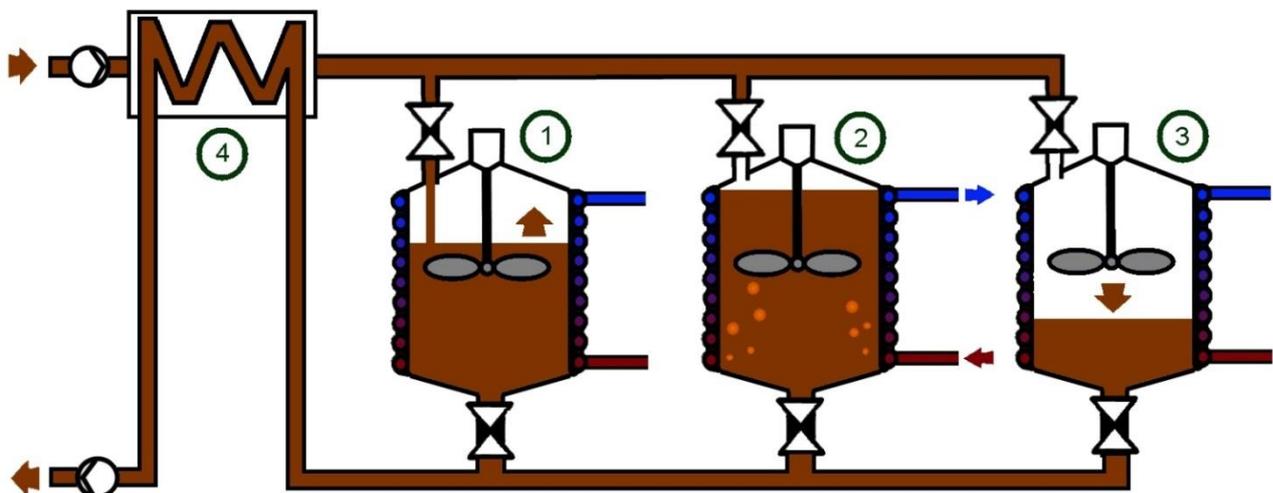
Technisch kann für die Pasteurisierung die Abwärme des Kühlwassers des BHKWs genutzt werden. Verfügt die Anlage bereits über ein Wärmenutzungskonzept, z. B. ein Nahwärmenetz, kann es bezüglich der thermischen Energie zu Konkurrenzsituationen kommen. Auch wenn die BGA im Sinne der Flexibilisierung genutzt wird, kann es vorkommen, dass es, bedingt durch das teils unregelmäßige Anfahren und Abschalten bzw.

Regeln des/der BHKW, zu Engpässen in der Verfügbarkeit der notwendigen Prozesswärme kommt. Dieses muss dann über Pufferspeicher für Wärme oder Substrat bzw. zusätzliche Heizmöglichkeiten wie Gasbrenner o. ä. ausgeglichen werden, was den technischen und finanziellen Aufwand z. T. drastisch erhöht. Ähnliches gilt für Biogasanlagen in kalten und/oder exponierten Lagen, welche je nach klimatischen Bedingungen den überwiegenden Anteil der BHKW-Abwärme als Prozesswärme für die Fermenterheizung benötigen.



**Abbildung 7: Hygienisierung (Pasteurisierung) im Batch-Verfahren**

Abbildung: M. Ullrich



- 1 - Behälter 1: wird befüllt (Zulauf offen, Ablauf geschlossen, Wärmezufuhr aus)
- 2 - Behälter 2: wird pasteurisiert (Zulauf und Ablauf geschlossen, Wärmezufuhr ein)
- 3 - Behälter 3: wird entleert (Zulauf geschlossen, Ablauf offen, Wärmezufuhr aus)
- 4 - Wärmetauscher (Nutzung der Restwärme des hygienisierten Substrates)

**Abbildung 8: Quasikontinuierliche Hygienisierung mit Wärmerückgewinnung**

Abbildung: M. Ullrich

Bei der quasikontinuierlichen Beschickung werden mehrere Hygienisierungsreaktoren (in Abbildung 8: 1, 2, 3) wechselseitig beschickt. Somit ist eine sichere Hygienisierung gewährleistet. Eine Wärmerückgewinnung (Abbildung 8: 4) lässt sich leicht integrieren. Der Zulauf, z. B. zum Biogasreaktor oder Gärrestlager, erfolgt quasikontinuierlich.

### 2.2.2.3 Drucksterilisation

Tierische Reststoffe, z. B. Schlachtabfälle, weisen zumeist einen hohen Anteil von Stoffen auf, welche sich in Biogasanlagen hervorragend stofflich umsetzen lassen. Dabei genügt häufig eine Hygienisierung z. B. in Form einer Pasteurisierung bei 70 °C (drucklos, 1 h Verweildauer) nicht mehr den gesetzlichen Anforderungen. Eine Vielzahl von biologisch gut verwertbaren Stoffen muss sterilisiert werden. In der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments sind die Substrate in drei Kategorien unterteilt (s. Kap. 2.3.1, Tabelle 1). Je nach Zugehörigkeit ist eine Vorbehandlung der Stoffe erforderlich oder eine Verwertung in Biogasanlagen nicht vorgesehen bzw. nicht erlaubt.

Bei den Reststoffen gemäß Kategorie 2, für die eine Drucksterilisation zur Verwertung in einer Biogasanlage erforderlich ist, handelt es sich u. a. um Schlachtereiabfälle. Für die Drucksterilisation gilt:

- Der Behälter und der Wärmetauscher zur Sterilisation der Stoffe stehen unter einem Überdruck von ca. 2–3 bar bei 133 °C.
- Häufig ist eine umfassende Vorbehandlung der zu sterilisierenden Stoffe erforderlich. Die Vorbehandlung kann aus einer Störstoffabscheidung und einer ggf. mehrstufigen Zerkleinerung bestehen.
- Zum Erreichen der erforderlichen Temperatur bedarf es in den meisten Fällen einer zusätzlichen Wärmequelle, weil die üblicherweise zur Verfügung stehenden ca. 90 °C Heizwasser aus einem BHKW nicht ausreichen.
- Aus apparativen und verfahrenstechnischen Gründen ist es meist sinnvoll, mit einer Dampf-injektion die Substrate zu erhitzen.
- Das Substrat hat nach Verlassen der Sterilisation eine Temperatur von ca. 133 °C. Es muss daher anschließend druckthermisch entspannt werden, um zumindest unterhalb von 100 °C das Handling des Substrats zu vereinfachen. Meist ist eine weiterführende Kühlung erforderlich.
- Durch den vorhandenen Überdruck in den Sterilisatoren sind zusätzlich verschiedene sicherheitstechnische Einrichtungen erforderlich.

Der genaue Ablauf ist u. a. von der Partikelgröße des Substrates abhängig und wird in der EU-Verordnung Nr. 142/2011 verbindlich geregelt.

### Technische Möglichkeiten

Bei den Anlagen zur Hygienisierung wird häufig das Kühlwasser des Blockheizkraftwerks mit einer Temperatur von annähernd 90 °C zur Erwärmung eingesetzt. Weil für die Drucksterilisation eine Temperatur von 133 °C in den Substraten erreicht werden muss, genügt eine Temperatur von 90 °C nicht. Eine Nutzung der Abwärme des BHKWs ist jedoch möglich. Reicht diese Wärmemenge nicht aus, kann eine separate Kesselanlage zur Aufheizung errichtet werden. Der erzeugte Dampf wird dann ggf. direkt in das Substrat eingeblasen. Alternativ zur Dampfeinblasung kann auch mit Dampf oder Thermoöl die Wärme über einen Wärmetauscher in das Substrat eingebracht werden. Dieses ist apparativ deutlich aufwändiger. Außerdem besteht hier die Gefahr, dass die Oberflächen des Wärmetauschers bei den relativ hohen Temperaturen schnell verschmutzen.

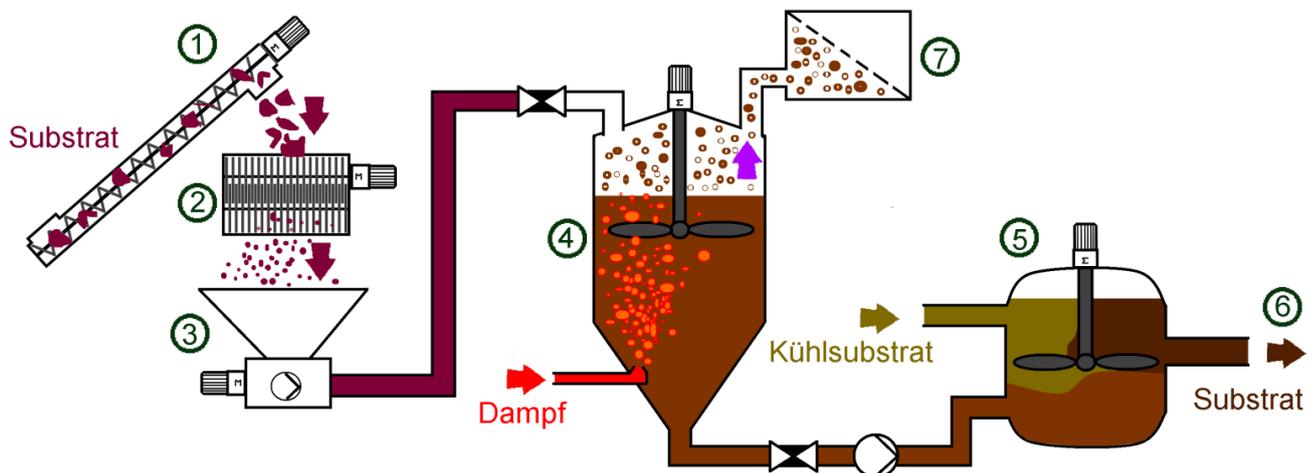
Nach der Drucksterilisation müssen die unter Druck stehenden Abfälle wieder auf den atmosphärischen Druck entspannt werden. Die Entspannung erfolgt in einem separaten Entspannungsbehälter, in dem die freiwerdende Verdampfungsenthalpie zurückgewonnen werden kann. Eine Möglichkeit dazu ist der Einsatz von Flashverdampfern zur Gewinnung der Wärme aus den Substraten. Bei diesem Verfahren wird das Substrat auf einem entsprechenden Druckniveau, ggf. auch bei deutlichem Unterdruck, entspannt. Der dabei frei werdende Dampf wird aufgefangen und die enthaltene Energie z. B. für Heizzwecke abgeführt. Der Vorteil bei dieser Verfahrensweise liegt darin, dass das Wasser aus dem Dampf je nach Konstellation wieder weitestgehend aus dem Substrat entfernt wird. Der apparative Aufwand ist relativ hoch.

Bei der Kühlung über verschiedene Wärmetauscher wird die in den Substraten enthaltene Energie direkt auf Kühl- bzw. Heizwasser übertragen. Diese Energie kann dann für unterschiedliche Zwecke flexibel auf der Anlage genutzt werden. Möglicherweise in das Substrat eingetragener Dampf bleibt darin enthalten.

Beim Einsatz von Mischkühlern werden Substrate wie z. B. Gülle, Schlempe oder Maischwasser mit den sterilisierten heißen Substraten vermischt und der Wrasen eingebunden. Sofern ausreichend kühle Substrate zur Verfügung stehen, kann das Mischsubstrat dann in die Fermenter gegeben werden. Bei diesem Verfahren bleiben die Wasseranteile des Dampfes in den Substraten und der Feststoffgehalt sinkt geringfügig. Dem gegenüber steht eine deutlich einfache Verfahrens- und Betriebstechnik.

Wie auch andere Hygienisierungsanlagen können Sterilisationsanlagen im Mehrbehälterverfahren für einen quasikontinuierlichen Betrieb (ähnlich Abbildung 8) ausgelegt werden. Dadurch erhöht sich zwar der technische Aufwand für die Sterilisationsanlage an sich, jedoch müssen vor- und nachgelagerte Anlagenteile nur noch für den gleichmäßigen kontinuierlichen Durchsatz ausgelegt werden und keine durch Batchverfahren bedingte Leistungsspitzen mehr aufnehmen.

Die Drucksterilisation ist ein technisch und energetisch zumeist sehr aufwändiges, jedoch sicheres Hygienisierungsverfahren.



**Abbildung 9: Schematische Darstellung einer Drucksterilisationsanlage**

Abbildung: M. Ullrich

Bei der Sterilisationsanlage in Abbildung 9 werden die anfallenden Substrate (1) z. B. in einem Doppelwellenzerkleinerer (2) auf die erforderliche Größe zerkleinert und mit einer Pumpe (3) in den Sterilisator (4) gefördert. Nach dem Sterilisationsvorgang wird die Charge in einem Mischer (5) mit Kühlsubstraten, die ebenfalls in

die Biogasanlage gefördert werden sollen, gemischt, sodass die Mischtemperatur zumindest unterhalb von 100 °C liegt und das Substrat (6) entspannt zur Biogasanlage gefördert werden kann. Die Sterilisationsbehälter müssen gegen Überdruck abgesichert sein. Üblicherweise werden hierfür Berstscheiben eingesetzt. Weil im Falle einer Havarie neben dem Abdampf auch Substrat mitgerissen werden könnte, wird dieses in einem Abscheider (7) zurückgehalten (PONDUS 2013; [www.pondus-verfahren.de](http://www.pondus-verfahren.de)).

Wie auch die Pasteurisierung steht die Dampfsterilisation in direkter Konkurrenz zur sonstigen Nutzung der gewonnenen thermischen Energie. Bei beiden Verfahren, besonders aber bei der Sterilisation, kommt es vor, dass die Abwärme des BHKWs für den Betrieb nicht ausreicht. In diesem Fall muss z. B. durch die Installation eines zusätzlichen Brenners die benötigte Wärme erzeugt werden, wodurch zusätzlicher Brennstoff, z. B. Biogas, verbraucht wird. Somit kann auch die Gewinnung elektrischer Energie eingeschränkt werden.

#### 2.2.2.4 Thermo-Druck-Hydrolyse (TDH)

Die Thermo-Druck-Hydrolyse stellt den Oberbegriff für eine Gruppe der physikalischen Substrat-Vorbehandlungsverfahren dar, welche z. T. die Bedingungen einer Pasteurierungs- bzw. Drucksterilisationsanlage erfüllen, teilweise wird hierbei jedoch mit deutlich höherer Temperatur und höherem Druck gearbeitet. Unterschieden wird grundsätzlich in Hoch- und Niedertemperaturverfahren. Bestimmungsgemäß sind Verfahren dieser Kategorie am Anfang der Substratbehandlung und des Biogasprozesses anzusiedeln. Hauptziel dieser Verfahren ist der deutlich verbesserte Substrataufschluss, welcher zu höheren Gasausbeuten, höheren Methangehalten und kürzeren Verweilzeiten führen kann. Die TDH ist ein laut Verordnung (EU) Nr. 142/2011 zulässiges Hygienisierungsverfahren für Material der Kategorie 2 und 3. Werden die vorgegebenen Parameter eingehalten, so fällt dieses Verfahren in die Kategorie der Hygienisierungsverfahren im eigentlichen Sinne. Dies ist jedoch nicht immer der Fall, weil auch kontinuierliche Verfahren wie z. B. das Rapid-Steam-Hydrolysis/Continuous Extraction (RASH-Verfahren) – eine kontinuierliche Dampf-injektion – zu dieser Kategorie zählen. Kontinuierliche Verfahren sind laut EU-Verordnung nicht prinzipiell unzulässig, es müssen jedoch entsprechende Kerntemperaturen und Verweilzeiten sichergestellt werden. Bei den genannten Verfahren ist eine Hygienisierung bzw. sogar eine Sterilisation zu erwarten, diese kann verfahrenstechnisch aufgrund des kontinuierlichen Betriebes aber nicht immer abgesichert werden (BAHR 2010). Generell haben TDH-Verfahren analog zu den verschiedenen Arten der Pasteurierungs- und Drucksterilisationsverfahren den Nachteil, dass ihr Betrieb in direkter Konkurrenz zu anderen Wärmenutzungskonzepten steht. Der Betrieb dieser Anlagen ist aufgrund von z. T. sehr hohen Anschaffungs- und Betriebskosten nicht überall rentabel.

#### 2.2.2.5 Alkalische Hydrolyse

Bei der alkalischen Hydrolyse gemäß EU-Verordnung Nr. 142/2011 wird dem Substratgemisch Natriumhydroxid- oder Kaliumhydroxid-Lösung beigemischt, um den Substrataufschluss zu beschleunigen bzw. zu verbessern und das Substrat sicher zu hygienisieren. Anschließend wird das Substrat auf mindestens 150 °C bei mindestens 4 bar Druck erhitzt und muss diese Temperatur je nach Kategorie des eingesetzten Materials über einen vorgegebenen Zeitraum halten. Sie stellt demzufolge ein chemisch-physikalisches Kombinationsverfahren dar. Laut Verordnung kann dieses Verfahren für Materialien aller Kategorien verwendet werden, es ist jedoch zu bedenken, dass Gemische aus Materialien anderer Kategorien und Kategorie 1-Material automatisch als Kategorie 1 eingestuft werden. Diese Gemische können zwar zu Biogas umgewandelt werden, jedoch ist eine Verwendung der Gärreste als Düngemittel bzw. generell eine andere Verwendung als Verbrennung oder Deponierung ausgeschlossen. Wird nur Material der Kategorien 2 und 3 eingesetzt, so genügt es, die Parameter der dafür vorgesehenen Hygienisierungsverfahren einzuhalten. Ist dies der Fall, so kann der Einsatz von Natronlauge (oder alternativ auch Säuren, z. B. Schwefelsäure) in der (separaten) Hydrolysestufe den Aufschluss vor allem ligninhaltiger und/oder cellulosehaltiger Substrate begünstigen und bewirkt gleichzeitig durch die pH-Wert-Änderung eine Keimreduktion (BAHR 2010). Dieses kann sowohl in geschlossenen als

auch in offenen Hydrolyseanlagen erfolgen. Zu beachten ist hierbei, dass das Substrat gegebenenfalls vor dem Einsatz im Fermenter neutralisiert bzw. gespült werden muss, was einen teils erheblichen technischen Mehraufwand bedeutet. Als negative Effekte sind hierbei die z. T. erhöhte Korrosionsgefahr der substratführenden technischen Anlagen sowie der Preis der zugesetzten Chemikalien und deren Gefährdungspotenzial für Lebewesen und Umwelt zu nennen. Außerdem lässt sich bei vorgeschalteten, offenen Hydrolysebehältern die Entstehung von Hydrolysegasen (Wasserstoff) nicht vollständig vermeiden, wodurch dem System einerseits Energie verloren geht, andererseits eine zusätzliche Gefährdung durch das austretende, brennbare Gas entsteht.

#### 2.2.2.6 Silierung des Ausgangssubstrates

Auch wenn das Verfahren der Silierung nicht für alle in BGA einsetzbaren Substraten anwendbar ist, wird es hier aufgrund der weiten Verbreitung zur Konservierung pflanzlicher Substrate und seiner keimreduzierenden Wirkung genannt. Bei der Silierung wird das pflanzliche Substrat, z. B. angewelktes Gras oder gehäckselte Maispflanzen, nach der Zerkleinerung zuerst verdichtet und dann luftdicht verschlossen. Dies kann sowohl in Ballen-, Schlauch- oder größeren Fahrsilos erfolgen. Durch bakterielle Aktivität, i. d. R. durch Milchsäurebakterien, werden im anaeroben Milieu Stärke und Zucker in Milchsäure umgewandelt und es wird hierdurch eine Absenkung des pH-Wertes auf ca. 4,0–4,5 bewirkt. Durch diese Versäuerung werden gärschädliche Bakterien und Pilze gehemmt und das Substrat haltbar gemacht. Auch für diverse potenzielle Pathogene herrscht in der Silage ein eher ungünstiges Milieu (Umweltbundesamt 2009; Fachagentur nachwachsende Rohstoffe 2013). Gras, das mit Parasitenstadien kontaminiert ist, enthält nach einer dreiwöchigen Silierung keine lebensfähigen infektiösen Stadien von Helminthen und Nematoden des Verdauungstraktes. Die Eier des Schweine-Spulwurms bleiben bei einer Temperatur bis +20 °C mehr als zwei Monate lebensfähig. Eier von Bandwürmern der Gattung *Taenia* überdauern in Silage bei +10 °C 60 bis 80 Tage (BOCH & SUPPERER 1992).

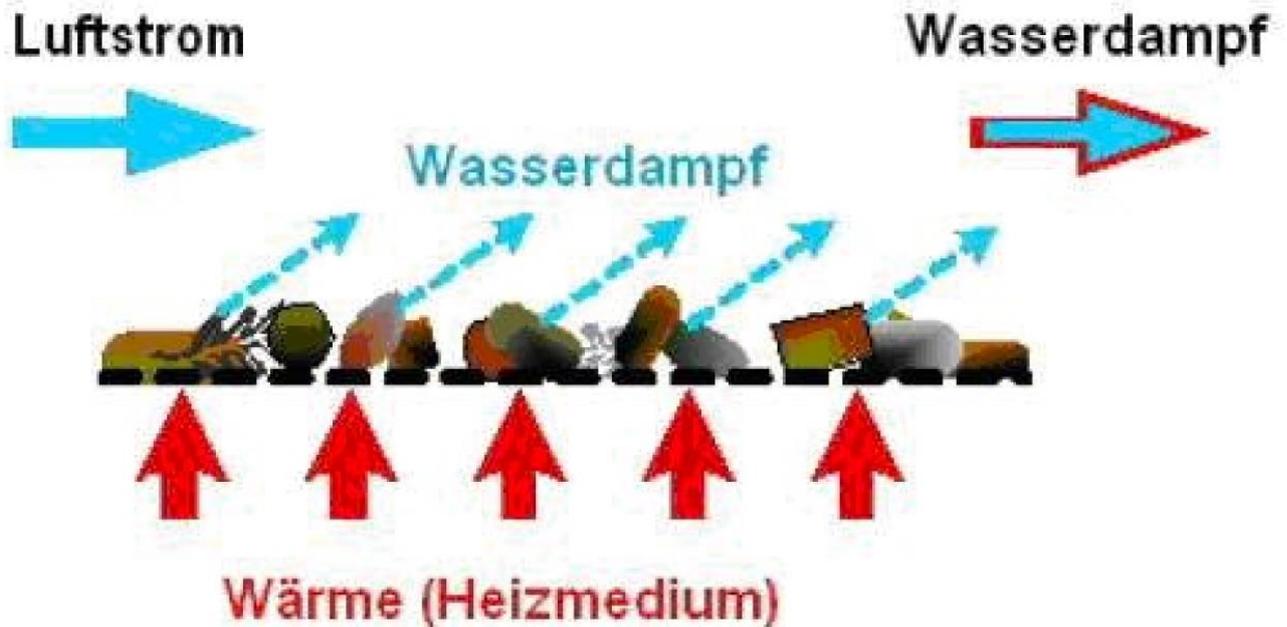
#### 2.2.2.7 Gärresttrocknung

Die Trocknung der anfallenden Gärreste stellt eine weitere Möglichkeit der Keimreduktion dar. Auch wenn die verfügbaren Verfahren derzeit noch einen teilweise erheblichen technischen Mehraufwand bedeuten, so ergeben sich zusätzlich zur keimreduzierenden Wirkung weitere Vorteile für die anschließende Lagerung, Nutzung als Wirtschaftsdünger oder weitere energetische Verwertung (Umweltbundesamt 2009).

Die verschiedenen Trennungs- und Trocknungsverfahren lassen sich grob in mechanische und thermische Verfahren unterteilen, wobei letztere in die Bereiche direkte und indirekte Verfahren eingeordnet werden können. In der Vergangenheit wurden für die Trennung von Wirtschaftsdünger insbesondere Pressschneckenseparatorn (s. Abbildung 11) eingesetzt. Diese haben sich in der Praxis weitestgehend durchgesetzt. Des Weiteren gibt es diverse Verfahren der Kontakttrocknung (indirekte Trocknung, s. Abbildung 10) und der Konvektionstrocknung (direkte Trocknung, s. Abbildung 12). Dabei eignen sich für die Trocknung von Gärresten Konvektionstrockner aufgrund der höheren zu erreichenden Trockensubstanzgehalte etwas besser als Kontakt-trockner. Eine besonders effektive Trocknung lässt sich über die Kombination verschiedener Verfahren erreichen. Auch wenn es derzeit hierzulande noch nicht so weit verbreitet ist, muss auch das besonders energie-sparende Verfahren der solaren Gärresttrocknung mit erwähnt werden.

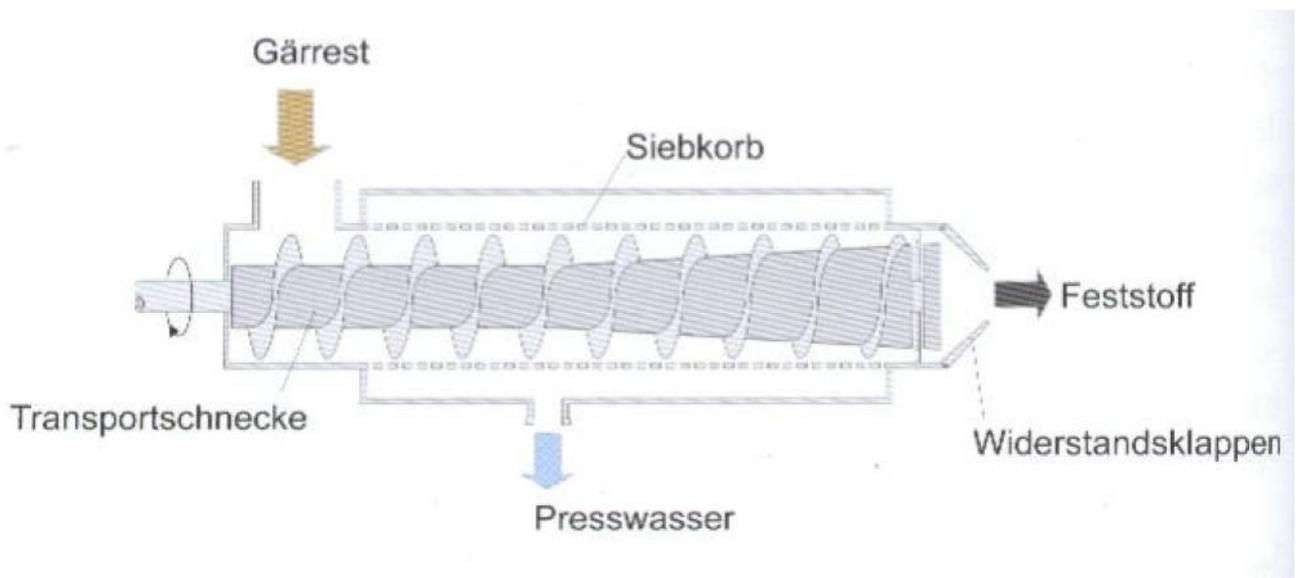
Als Hauptvorteile der Gärresttrocknung sind die keimreduzierende Wirkung, die Konzentration der Inhaltsstoffe und die damit verbundene Einsparung von Lagerraum bzw. Transportvolumen sowie die Möglichkeit der weiteren Veredlung in Form einer Kompostierung oder energetischen Verwertung als Brennstoff zu nennen. Weiterhin ist die Gärresttrocknung im Regelfall ein anerkanntes Wärmekonzept im Rahmen des EEG. Aus der Befragung der Pilotbetriebe ging hervor, dass getrocknete Gärreste in Ausnahmefällen in anderen, vorrangig NawaRo-vergärenden Biogasanlagen als Substrat zum Einsatz kommen. Wie auch andere thermische Be-

handlungsverfahren konkurriert die Gärresttrocknung (mit Ausnahme der solaren Trocknung) mit anderen Wärmenutzungskonzepten, z. B. Nahwärmenetzen, wodurch sie sich negativ auf die Energiebilanz der Anlage auswirken kann.



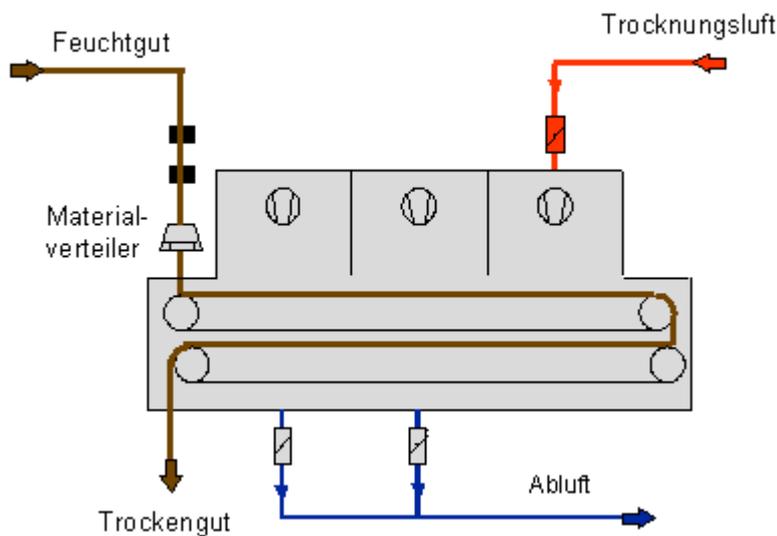
**Abbildung 10: Schematische Darstellung der Kontaktstrocknung**

Quelle: WETTER & BRÜGGING (2006): Machbarkeitsstudie zur Verwertung von Gärresten aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen, Fachhochschule Münster



**Abbildung 11: Pressschneckenseparator**

Quelle: FUCHS & DROSG (2010): Technologiebewertung von Gärrestbehandlungs- und Verwertungskonzepten



**Abbildung 12: Schematische Darstellung eines Bandrockners (Konvektionstrocknung)**

Quelle: WETTER & BRÜGGING (2006): Machbarkeitsstudie zur Verwertung von Gärresten aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen, Fachhochschule Münster

### 2.2.2.8 Thermophile Prozessführung im Fermenter

Die Erhöhung der Temperatur direkt im Fermenter ist eine weitere Form der Keimreduktion (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft 2007). Dabei wird die Prozesstemperatur im Gegensatz zum weit verbreiteten mesophilen Betrieb auf ca. 55 °C erhöht, wodurch für die meisten pathogenen, d. h. potenziell schädlichen Mikroorganismen ungünstige Wachstumsbedingungen geschaffen werden. Ein wesentlicher negativer Nebeneffekt dieser Art der Prozessführung ist die Tatsache, dass die Biodiversität der gasproduzierenden, anaerob lebenden Mikroorganismen dabei auch deutlich verringert werden kann. Dies hat zur Folge, dass bei sich ändernden Substratzusammensetzungen die Gefahr des „Umkippen“, d. h. des Absterbens der nützlichen Anaerobier des Fermenters, steigt. Darüber hinaus sind im Gegensatz zu den teils höheren Gasausbeuten zum Teil geringere Methangehalte zu erwarten. Sollen Substrate in der BGA eingesetzt werden, die der Bioabfallverordnung unterliegen (s. Kap. 2.3.1), so ist die thermophile Vergärung bei mindestens 50 °C unter anlagenspezifisch zu ermittelnden Mindestverweilzeiten nach BioAbfV Anhang 2 Nummer 2.2.3 eine zulässige Methode der Hygienisierung.

Die Kombination eines thermophilen Fermenters als Hydrolyse- und Hygienisierungsstufe und anschließender Vergärung in einem mesophilen Fermenter bei ca. 38 °C kann eine Möglichkeit sein, die Vorteile der keimreduzierenden Wirkung sowie des verbesserten Substrataufschlusses zu nutzen und dabei weitestgehend die Nachteile des thermophilen Systems auszugleichen.

### 2.2.2.9 Langzeitlagerung von Gülle

Die Langzeitlagerung von Gülle und Mist stellt eine weitere Möglichkeit der Keimreduktion dar. Laut einer Studie von RAPP (1995; zitiert in HAUMACHER et al. 2012) nimmt die Lebensfähigkeit und Infektiosität der meisten Krankheitserreger während der Lagerung ab. Dabei führen laut BÖHM (2002) Lagerzeiten ab 12 Monaten zu einer signifikanten Reduktion der Keimbelastung. Zwar ist bei der Lagerung von Gülle und Mist eine Keimreduktion zu erwarten, allerdings zeigen die verschiedenen Studien (u. a. RAPP 1995; zitiert in HAUMACHER et al. 2012) z. T. deutliche Unterschiede im Ausmaß der Keimreduktion, sodass sich die Verweildauer zur sicheren Keimminderung nicht genau vorhersagen lässt. In Gülle, die in Behältern außerhalb von Stallungen gelagert wird, können Dauerstadien von Parasiten im Winter (+3 °C bis +8 °C) etwa 2 bis 4 Monate und im Sommer

(bis +20 °C) ca. 2,5 Monate überleben (BOCH & SUPPERER 1992). Spulwurmeier von *Ascaris suum* (Spulwurm des Schweines) überleben in Gülle bei einer Temperatur von +8 °C bis +18 °C bis zu 85 Tage (SCHNIEDER 2000). Eine vollständige Abtötung von Pathogenen ist entgegen der allgemein keimreduzierenden Wirkung laut AVERY (2005) nicht sicher gewährleistet, es besteht die Gefahr der Rekontamination. Beim Ausbringen von nicht ausreichend lange gelagerter Gülle können, neben anderen Pathogenen, auch entwicklungsfähige oder infektiöse Parasitenstadien ausgebracht werden (BOCH & SUPPERER 1992). Einen Einflussfaktor auf die Effektivität der Keimreduktion stellt der pH-Wert dar (STRAUCH 1981; zitiert in HAUMACHER et al. 2012). So sind z. B. Salmonellen gegenüber niedrigen pH-Werten relativ widerstandsfähig, eine Alkalisierung (pH >9) hingegen bewirkt eine höhere Empfindlichkeit gegenüber der Temperatur (PIETSCH 1981). *Escherichia coli* hat in feuchtem Milieu eine hohe Widerstandsfähigkeit und kann sich in Kot und Gülle über mehrere Monate vermehrungsfähig erhalten (WILLINGER 1981).

### 2.2.2.10 Sonderformen der Hygienisierungsverfahren

Neben den hier beschriebenen und nach EG- oder EU-Verordnung anerkannten Hygienisierungsverfahren im engeren Sinne sind auch alle individuellen Verfahren, welche nach Verordnung (EU) Nr. 142/2011 Anhang IV, Kapitel III, Buchstabe G geprüft wurden und deren Wirksamkeit bestätigt ist, zulässig.

### 2.2.3 Geeignete Verfahren für landwirtschaftliche Biogasanlagen

Vor der Auswahl eines geeigneten Verfahrens zur Hygienisierung und/oder Keimreduktion der Substrate bzw. Gärreste einer landwirtschaftlichen Biogasanlage sind die Fakten hinsichtlich der Technik und der Wirtschaftlichkeit der Anlage zu berücksichtigen:

Je nach Bauart und Standort der Anlage steht nur eine begrenzte Wärmemenge (Abwärme des BHKW) zur Verfügung, welche in der Regel zur Beheizung der Fermenter und für diverse KWK-Anlagen genutzt wird. In Abhängigkeit der verfügbaren Restwärme kann deshalb unter Umständen nur ein Teil der Substrate z. B. pasteurisiert werden. Je nach Substratzusammensetzung und Fermenterfahrweise variiert auch der technische Aufwand für den Einsatz einer Hygienisierung. Sollen Substrate mit höherem Trockensubstanzgehalt hygienisiert werden, sind beispielsweise in Bezug auf Rühr- und Fördertechnik robustere Geräte einzusetzen. Auch ein besonders hoher Geräteverschleiß, z. B. durch den Einsatz sandhaltiger Substrate wie Hühnertrockenkot, muss bei der Wahl des Verfahrens berücksichtigt werden. Die verschiedenen Hygienisierungs- und Keimreduktionsverfahren unterscheiden sich zum Teil deutlich bezüglich des nötigen technischen und ökonomischen Aufwandes sowie des Managements. So sind z. B. Pasteurisierungs- oder Sterilisationsanlagen mit einem deutlich höheren technischen Aufwand verbunden als beispielsweise die Umstellung des Fermenters auf den thermophilen Betrieb. Dieser stellt aufgrund der etwas empfindlicheren Biologie wiederum erhöhte Anforderungen an das Management und die Substratzusammensetzung und kann den Prozessenergiebedarf stark erhöhen. Das Material, das bei den klassischen mesophilen landwirtschaftlichen NawaRo-BGA verwendet wurde (u. a. Beton, Stahl) ist i. d. R. nicht für den dauerhaften thermophilen Betrieb ausgelegt.

Die Positionierung der Hygienisierung im System ist ein weiterer entscheidender Faktor; z. B. kann eine vorgeschaltete thermische Hygienisierungsstufe zusätzlich zu ihrer keimabtötenden Wirkung einen positiven Effekt auf den Substrataufschluss haben. Des Weiteren wird die dem Substrat zugeführte Wärme gleichzeitig zur Beheizung des Fermenters genutzt und geht dem System somit nicht verloren. Eine nachgeschaltete Hygienisierung kann die mikrobiologische Unbedenklichkeit des Gärrestes weitestgehend sicherstellen. Weiterhin kann eine nachgeschaltete Hygienisierung, z. B. in Form einer Gärresttrocknung, zusätzliche positive Effekte hinsichtlich der Weiterverarbeitung des Gärrestes haben. Diesbezüglich wäre vornehmlich die Mengenreduktion zu nennen, welche die bei Gülle und Gärrest stets vorhandene Lagerproblematik deutlich entschärft.

fen kann. Darüber hinaus ist eine anschließende energetische Weiterverwertung des getrockneten Gärrestes z. B. als Brennstoff in einer Biostoffverbrennungsanlage möglich.

Neben der technischen Realisierbarkeit der Hygienisierung spielt auch die Substratwahl eine entscheidende Rolle für die Wahl des geeigneten Verfahrens. Während z. B. beim Einsatz von Schlachtabfällen das Hygienisierungsverfahren und dessen Positionierung in der Anlagenkonfiguration gesetzlich vorgegeben ist, kann beim Einsatz von Gülle und unbedenklichen Co-Substraten die Positionierung der Hygienisierungsstufe in Abhängigkeit von der angestrebten Weiterverwendung des Substrates bzw. der erwünschten Zusatzeffekte der Hygienisierung gewählt werden.

Allgemeingültige Aussagen hinsichtlich der Auswahl und Realisierbarkeit von Hygienisierungssystemen zu treffen, ist nicht möglich, weil landwirtschaftliche Biogasanlagen im Regelfall Einzellösungen darstellen, welche sich je nach Betriebsstruktur und -philosophie in den betrieblichen Ablauf einfügen und sich hinsichtlich ihrer Biologie, Gaserträge, Verweilzeiten usw. meist sehr stark unterscheiden. Die ökonomische Realisierbarkeit von Hygienisierungssystemen wird im Kap. 3.4 näher betrachtet.

Nach dem aktuellen Wissensstand stellt sich neben der Frage nach der Realisierbarkeit vor allem die Frage nach der Notwendigkeit einer Hygienisierung. Besonders zu hinterfragen sind Hygienisierungsverfahren im eigentlichen Sinne bei klassischen landwirtschaftlichen BGA, denn die Ergebnisse aller vorliegenden wissenschaftlichen Studien zum Thema Hygiene in der Biogasproduktion bescheinigen der Vergärung an sich einen positiven Einfluss auf den Hygienestatus der eingesetzten Substrate (s. Kap. 2.3.2).

## 2.3 Aktueller Erkenntnisstand zu mikrobiologischen Risiken und zur Hygienisierung von Wirtschaftsdüngern und Gärresten

### 2.3.1 Gesetzliche Grundlagen

In Deutschland sind die hygienischen Anforderungen an Wirtschaftsdünger und Gärreste gesetzlich festgelegt. Diese gewährleisten den Schutz der Gesundheit von Menschen, Tieren, Pflanzen und der Natur. In diesem Abschnitt sind ausgewählte gesetzliche Grundlagen zusammengefasst, die hygienische und seuchenhygienische Vorgaben enthalten. Wichtig für den Geltungsbereich dieser Grundlagen ist dabei u. a., welche Eingangssubstrate verwendet werden und ob die Gärreste auf eigenen Flächen ausgebracht oder an Dritte weitergegeben werden. Im Folgenden werden insbesondere die hygienischen Anforderungen, die für die Gesundheit von Mensch und Tier von Relevanz sind, aufgeführt.

#### Düngegesetz

Das Düngegesetz vom 9. Januar 2009 (BGBl. I S. 54, 136), zuletzt geändert durch Artikel 1 des Gesetzes vom 15. März 2012 (BGBl. I S. 481) dient der Begriffsbestimmung und legt grundsätzliche Regelungen fest, um „Gefahren von Mensch und Tier sowie dem Naturhaushalt vorzubeugen, die durch Düngemittel entstehen können“. Darüber hinaus dient es dazu, Rechtsakte der Europäischen Union, die das Inverkehrbringen und Anwenden von Düngemitteln betreffen, umzusetzen oder durchzuführen.

#### Düngeverordnung

Die Düngeverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 27. Februar 2007 (BGBl. I S. 221), zuletzt geändert durch Artikel (Art.) I 5 Absatz (Abs.) 36 des Gesetzes vom 24. Februar 2012 (BGBl. I S. 212) regelt

die „gute fachliche Praxis bei der Anwendung von Düngemitteln, [...] auf landwirtschaftlich genutzten Flächen“ (§ 1 Nr. 1). Sie umfasst u. a. Begriffsbestimmungen, Grundsätze für die Anwendung sowie Anwendungsbeschränkungen, -verbote und Aufzeichnungspflichten.

### **Düngemittelverordnung (DüMV)**

Die Düngemittelverordnung in der Fassung vom 5. Dezember 2012 (BGBl. I S. 2482) regelt das Inverkehrbringen von Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln (§ 2).

Sie beschreibt die anaerobe Aufbereitung als „biotechnologische Behandlung durch gesteuerten Abbau der organischen Substanz unter Luftabschluss, mit dem Ziel der Hygienisierung, Stabilisierung, Verbesserung der Nährstoffverfügbarkeit und Verbesserung der physikalischen Eigenschaften“ (§ 1 Nr. 18). Im Weiteren definiert sie die Hygienisierung als „Behandlung mit dem Ziel, die Konzentration an Krankheitserregern und Schadorganismen so weit zu reduzieren, dass das Risiko einer Verbreitung von Krankheiten der Menschen, der Tiere oder der Pflanzen sowie der Eintrag von Organismen mit unerwünschten Eigenschaften in die Umwelt vermindert wird“ (§ 1 Nr. 19).

Darüber hinaus enthält die DüMV u. a. Anforderungen an die Seuchen- und Phytohygiene (§ 5) und gibt z. B. an, dass die Anforderungen an die Seuchenhygiene als eingehalten gelten, wenn in 50 g Probenmaterial keine Salmonellen gefunden werden (§ 5 Abs. 2 Nr. 1). Die seuchenhygienischen Anforderungen gelten auch dann als eingehalten, wenn alle verwendeten tierischen Ausgangsprodukte eine geeignete Behandlung zur Hygienisierung erfahren haben (§ 5 Abs. 5).

Je nach Betriebsstruktur und weiterer Verwendung (z. B. als Wirtschaftsdünger) der Düngemittel bestehen Einschränkungen und Ausnahmen der oben genannten Anforderungen, die ebenfalls in der DüMV Erwähnung finden. Gärreste werden als besonderer Ausgangsstoff für mineralische Düngemittel in Tabelle 6 der DüMV aufgeführt. Auf Gülle als zulässigen Ausgangsstoff und Einschränkungen hierzu wird in Tabelle 7 der DüMV hingewiesen.

### **Bioabfallverordnung (BioAbfV)**

Die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden ist in der Bioabfallverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 4. April 2013 (BGBl. I S. 658) festgesetzt.

Bioabfälle gemäß BioAbfV sind „Abfälle tierischer oder pflanzlicher Herkunft oder aus Pilzmaterialien zur Verwertung, die durch Mikroorganismen, bodenbürtige Lebewesen oder Enzyme abgebaut werden können, einschließlich Abfälle zur Verwertung mit hohem organischen Anteil tierischer oder pflanzlicher Herkunft oder an Pilzmaterialien; [...] Bodenmaterial ohne wesentliche Anteile an Bioabfällen gehört nicht zu den Bioabfällen; Pflanzenreste, die auf forst- oder landwirtschaftlich genutzten Flächen anfallen und auf diesen Flächen verbleiben, sind keine Bioabfälle;“ (§ 2 Nr. 1). Tierische Nebenprodukte sind von dieser Verordnung ausgenommen; sie unterliegen der Verordnung (EG) 1069/2009 und dem Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetz (TierNebG) (§ 1 Abs. 3 Nr. 3a). Werden tierische Nebenprodukte gemeinsam mit Bioabfällen behandelt oder ein Gemisch aus beiden hergestellt und auf Böden aufgebracht, so gilt die BioAbfV zusätzlich zur Verordnung (EG) 1069/2009 und des TierNebG (§ 1 Abs. 4).

In der BioAbfV ist eine hygienisierende Behandlung von Bioabfall vorgeschrieben (§ 3 Abs. 3). Laut Begriffsbestimmung (§ 2 Nr. 2) dieser Verordnung sind zur Behandlung möglich:

- die Pasteurisierung, bei der das zuvor homogenisierte Material über einen zusammenhängenden Zeitraum von mindestens 1 Stunde auf  $\geq 70$  °C erhitzt werden muss
- die aerobe hygienisierende Behandlung (thermophile Kompostierung) mit einer Temperatur von z. B. mindestens 55 °C über einen möglichst zusammenhängenden Zeitraum von zwei Wochen. Bei höheren Temperaturen verringert sich die Zeit.
- die anaerobe hygienisierende Behandlung (thermophile Vergärung). Hierbei muss über den zusammenhängenden Zeitraum der Mindestverweilzeit die Temperatur im thermophilen Bereich liegen, also mindestens 50 °C betragen. Diese Mindestverweilzeit wird bei einer vorhergehenden Prozessprüfung ermittelt.
- anderweitige Hygienisierungsbehandlung gemäß Definition im Anhang 2 der BioAbfV. Die aerobe und anaerobe hygienisierende Behandlung gilt gleichzeitig als biologisch stabilisierende Behandlung (§ 2 Nr. 2a), die gemäß § 3a BioAbfV vorgeschrieben ist.

Zur Gewährleistung der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit von Bioabfällen gibt die BioAbfV Behandlungsverfahren zur Hygienisierung (Anhang 2 Nr. 2.1) und Prüfmethode nach der hygienisierenden Behandlung vor (Anhang 2 Nr. 3 und Nr. 4). Die Prozessprüfung in der Seuchenhygiene wird mit *Salmonella* Senftenberg W775 durchgeführt (Anhang 2 Nr. 4.2). Die seuchenhygienische Prüfung von hygienisierten Bioabfällen gilt als erfolgreich abgeschlossen, wenn in 50 g einer gut durchmischten Sammelprobe von ca. 3 kg keine Salmonellen nachgewiesen werden können (Anhang 2 Nr. 4.2.2). Es besteht eine Untersuchungspflicht für den Bioabfallbehandelnden (§ 3 Abs. 4 bis 9). Allerdings gibt es auch hier Bedingungen für eine Freistellung von der Behandlungspflicht und/oder der Untersuchungspflicht (§ 10).

### Verordnung (EG) Nr. 1069/2009

Die Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 enthält Hygiene- und Tiergesundheitsvorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und dient der Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte). In Abhängigkeit von ihrem Grad der Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier werden tierische Nebenprodukte und ihre Folgeprodukte in dieser Verordnung (VO) in spezifische Kategorien (Tabelle 1) eingeteilt (Artikel 7-10).

**Kategorie 1** beinhaltet unter anderem Tierkörper und alle Körperteile von Tieren, die verdächtig auf Transmissible Spongiforme Enzephalopathie (TSE) sind oder bei denen TSE amtlich bestätigt wurde, und Tierkörper oder Teile von Tierkörpern von Zoo- und Heimtieren. Darüber hinaus sind Speiseabfälle aus dem internationalen Verkehr Kategorie 1 Material. Auch Gemische, in denen Material der Kategorie 1 enthalten ist, müssen wie Kategorie 1-Material behandelt werden. Eine Verwendung dieses Materials (Artikel 12) ist in den meisten Fällen nur nach Drucksterilisation erlaubt. Sie dürfen auch nach der Drucksterilisation in keinem Fall als Futter für Nutztiere oder als Dünger für Futter von Nutztieren verwendet werden (Artikel 36).

Die **Kategorie 2** umfasst unter anderem Gülle, nicht mineralisierten Guano, Magen- und Darminhalt und Tiere, die nicht durch Schlachtung oder Tötung zum menschlichen Verzehr zu Tode gekommen sind einschließlich der Tiere, die im Zuge einer Seuchenbekämpfung getötet worden sind. Gemische aus Material der Kategorien 2 und 3 gelten als Material der Kategorie 2 (Art. 9). Dieses Material kann unter bestimmten Voraussetzungen zu Biogas umgewandelt werden (Artikel 13 Buchstabe e, g).

In **Kategorie 3** gehören Schlachttiere, die zwar genusstauglich, aber aus kommerziellen Gründen nicht für den menschlichen Verzehr bestimmt sind. Des Weiteren als schlachtauglich eingestufte Tiere oder Körperteile dieser Tiere, die bei der fleischhygienischen Untersuchung als genussuntauglich eingestuft wurden und keine Anzeichen von auf Mensch und Tier übertragbaren Krankheiten haben, sowie weitere tierische Neben-

produkte. Speiseabfälle, die nicht Kategorie 1 sind, sind ebenfalls Kategorie 3-Material. Auch Material der Kategorie 3 kann zur Biogasherstellung verwendet werden (Artikel 14 Buchstabe f, g).

Für die Umwandlung tierischer Nebenprodukte zu Biogas (und Kompost) müssen die Unternehmer ein ständiges schriftliches Verfahren oder Verfahren auf der Grundlage von Gefahrenanalyse und kritischen Kontrollpunkten (HACCP-Konzept) ein- und durchführen (Artikel 29).

**Tabelle 1: Kategorisierung tierischer Nebenprodukte, Auszug aus Verordnung (EG) Nr. 1069/2009**

Kategorie	Material (Artikel 8-10)	Beseitigung/Verwendung (Artikel 12-14, 32, 36)
1	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ TSE-verdächtiges oder bestätigtes Material</li> <li>■ spezifiziertes Risikomaterial</li> <li>■ Gemische mit Material der Kategorie 1</li> <li>■ Weiteres siehe VO (EG) 1069/2009 Artikel 8</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ als Abfall durch Verbrennen</li> <li>■ Drucksterilisation</li> <li>■ nach Verarbeitung immer dauerhaft zu kennzeichnen</li> <li>■ darf nicht in die Nutztier-Futtermittelkette gelangen</li> <li>■ Weiteres siehe VO (EG) 1069/2009 Artikel 12</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Gülle</li> <li>■ nicht mineralisierter Guano</li> <li>■ Magen- und Darminhalte</li> <li>■ Tiere, die nicht für den menschlichen Verzehr getötet worden sind</li> <li>■ Gemische aus Material der Kategorie 2 und 3</li> <li>■ Weiteres siehe VO (EG) 1069/2009 Artikel 9</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Umwandlung zu Biogas mit oder ohne vorherige Verarbeitung, wenn es sich um Gülle, Magen und Darm und dessen Inhalt, Milch, Erzeugnisse auf Milchbasis, Kolostrum, Eier und Eiprodukte handelt, bei denen die zuständige Behörde nicht davon ausgeht, dass sie eine Gefahr der Verbreitung einer schweren übertragbaren Krankheit bergen</li> <li>■ Umwandlung zu Biogas nach Drucksterilisation und dauerhafter Kennzeichnung des entstandenen Materials</li> <li>■ Umwandlung zu Biogas, sofern es sich um Material von Wassertieren handelt</li> <li>■ weitere Verwendungen siehe VO (EG) Nr. 1069/2009 Artikel 13</li> </ul>
3	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ schlachtaugliche Tiere und Körperteile, die genussun-tauglich sind</li> <li>■ Weiteres siehe VO (EG) 1069/2009 Artikel 10</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Futterherstellung z. B. für Heimtiere</li> <li>■ Biogaserzeugung</li> <li>■ weitere Verwendungen und deren Vorgaben siehe VO (EG) Nr. 1069/2009 Artikel 14</li> </ul>

Im Zusammenhang mit der Verwendung von tierischen Nebenprodukten im Biogasprozess findet Material der Kategorien 2 und 3 auch im Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetz und seiner Durchführungsverordnung (Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsverordnung) Erwähnung.

### Verordnung (EU) Nr. 142/2011

Bei der Verordnung (EU) Nr. 142/2011 handelt es sich um die Durchführungsverordnung der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009. In dieser sind u. a. bauliche Anforderungen an Biogasanlagen aufgeführt (Anhang V Kapitel I Abschnitt 1). Hier ist beschrieben, dass Biogasanlagen obligatorisch über eine Pasteurisierung und entsprechende Überwachungsgeräte für diesen Betriebsabschnitt verfügen müssen, sodass ein Einhalten des vorgegebenen Temperatur-Zeit-Regimes (70 °C, mindestens 60 Minuten) gewährleistet ist (Anhang V Kapitel I Abschnitt 1 Nr. 1).

Die Pasteurisierung ist nicht verpflichtend, wenn z. B. nur Gülle als tierisches Nebenprodukt eingesetzt wird, oder anderes Material der Kategorie 2, das zuvor drucksterilisiert wurde. Material der Kategorie 3 kann alternativ zuvor in einem anderen Betrieb pasteurisiert werden (Anhang V Kapitel I Abschnitt 1 Nr. 2). Darüber hinaus sind Mindestanforderungen für Material der Kategorie 3 festgelegt, wenn es in einer Biogasanlage mit Pasteurisierung als Rohmaterial eingesetzt werden soll (Anhang V Kapitel III Abschnitt 1). Die Mindestanforderung besagt, dass Material-Partikel vor Eingang in das entsprechende Abteil eine spezifizierte Größe nicht überschreiten dürfen und für mindestens 60 Minuten auf 70 °C erhitzt oder alternativ behandelt werden müssen (Anhang V Kapitel III Abschnitt 1 Nr. 1).

Abweichungen von diesen Mindestanforderungen sind möglich, jedoch ist nachzuweisen, dass eine ausreichende Reduzierung biologischer Risiken gewährleistet ist (Anhang V Kapitel III Abschnitt 2). Dieses beinhaltet den validen Nachweis der Verminderung der Infektiosität bzw. Lebensfähigkeit eines definierten Indikatororganismus, der in einem geeigneten Testkörper in das System eingebracht wird. Die Verminderung bei thermischen und chemischen Verfahren ist definiert als eine Reduktion um 5 log<sub>10</sub>-Stufen von *Enterococcus faecalis* oder *Salmonella* Senftenberg (775W, H<sub>2</sub>S negativ) und der Verminderung des Infektiositätstiters um 3 log<sub>10</sub>-Stufen eines thermoresistenten Virus (z. B. *Parvovirus*). Bei chemischen Verfahren muss auch die Verminderung resistenter Parasiten wie z. B. der Eier von *Ascaris* sp. um mindestens 3 log<sub>10</sub>-Stufen nachgewiesen werden (Anhang V Kapitel III Abschnitt 2 Nr. 1 Buchstabe d Ziffer i und ii).

Ferner gibt es Normen für Fermentationsrückstände und Kompost: *Escherichia coli* oder *Enterococcaceae* dürfen in vier von fünf untersuchten Proben (zu je 1 g) eine Keimzahl von  $\leq 10^3$  nicht überschreiten, eine Probe darf eine Keimzahl zwischen  $10^3$  und  $5 \times 10^3$  aufweisen. Während oder unmittelbar nach der Auslagerung dürfen in 25 g Fermentationsrückstand/Kompost keine Salmonellen nachweisbar sein (Anhang V Kapitel III Abschnitt 3). Mindestanforderungen gelten auch für Material der Kategorie 2, das gemäß Artikel 13 Buchstabe e Ziffer ii der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 ohne vorherige Verarbeitung in eine Biogasanlage eingespeist werden soll (Anhang V Kapitel III Abschnitt I Nr. 1).

Befindet sich eine Biogasanlage auf einem Betrieb, auf dem auch Nutztiere gehalten werden, so muss eine vollständige räumliche Trennung von dem Bereich der Biogasanlage und dem Bereich der Nutztiere vorhanden sein (Anhang V Kapitel I Abschnitt 1 Nr. 3). So wird gewährleistet, dass kein unannehmbares Risiko einer Übertragung von einer Krankheit auf Mensch und Tier besteht. Besonders, wenn die Biogasanlage auch tierische Nebenprodukte verarbeitet, die nicht vom eigenen Betrieb stammen.

Die Verordnung (Anhang V Kapitel II) gibt weiterhin vor, dass tierische Nebenprodukte nach ihrer Anlieferung ordnungsgemäß zu lagern und so schnell wie möglich zu verarbeiten sind. Des Weiteren sind regelmäßige Hygienekontrollen durchzuführen und eine Rekontamination der Fermentationsrückstände muss durch entsprechende Handhabung und Lagerung ausgeschlossen werden.

### **Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetz (TierNebG)**

Das Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetz vom 25. Januar 2004 (BGBl. I S. 82), zuletzt geändert durch Artikel 2 Absatz 91 des Gesetzes vom 22. Dezember 2011 (BGBl. I S. 3044), dient der Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002, welche durch die Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 aufgehoben worden ist.

Gemäß § 3 dieses Gesetzes sind die nach Landesrecht zuständigen Körperschaften Beseitigungspflichtige für tierische Nebenprodukte, die nach der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 bzw. (EG) Nr. 1069/2009 den Kategorien 1 und 2 angehören. Ihnen obliegt die Aufgabe, diese tierischen Nebenprodukte abzuholen, zu sammeln,

zu befördern, zu lagern, zu behandeln, zu verarbeiten oder zu beseitigen und entsprechende Voraussetzungen dafür zu schaffen. Sie dürfen sich zur Erfüllung dieser Pflicht Dritter bedienen, denen sie den Auftrag dazu erteilen (§ 3 Abs. 1).

Zusätzlich zum TierNebG gibt es die Durchführungsverordnung, die im Folgenden zusammengefasst ist.

### **Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsverordnung (TierNebV)**

Bei der Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsverordnung vom 27. Juli 2006 (BGBl. I S. 1735), die zuletzt durch Artikel 2 der Verordnung vom 23. April 2012 (BGBl. I S. 611) geändert worden ist, handelt es sich um die Verordnung zur Durchführung des TierNebG.

Sie gilt gemäß § 1 für „den Umgang mit tierischen Nebenprodukten im Sinne des Artikels 2 Abs. 1 Buchstabe a der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 3. Oktober 2002 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte (ABl. EG Nr. L 273 S. 1) in der jeweils geltenden Fassung, einschließlich Küchen- und Speiseabfälle tierischer Herkunft im Sinne des Artikels 1 Abs. 2 Buchstabe e der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002“.

Sie enthält genaue Angaben zu den Anforderungen an Biogasanlagen bei der Vergärung und Kompostierung von tierischen Nebenprodukten. Hierbei wird unterschieden zwischen Biogasanlagen, die ausschließlich Gülle, Magen-Darm-Inhalt, Milch und Kolostrum einsetzen (§ 15) oder diese mit Küchen- und Speiseabfällen mischen (§ 14). Beim Einsatz von tierischen Nebenprodukten, die nicht unter die beiden vorangehend genannten Paragraphen fallen, muss sichergestellt sein, dass zu pasteurisierendes Kategorie 3-Material nur verbraucht wird, soweit es vor dem Einbringen in den Fermenter pasteurisiert worden ist oder eine Pasteurisierung des Fermentationsrückstandes erfolgt (§ 12).

Werden Küchen- oder Speiseabfälle zur Verarbeitung in eine Biogasanlage transportiert, die sich auf einem Nutztierbetrieb befindet, so müssen diese Abfälle vor dem Befördern in den Betrieb pasteurisiert werden (§ 3 Abs. 2 Nr. 1), d. h. Material mit einer Teilchengröße von max. 12 mm muss für mindestens 60 Minuten bei einer Temperatur von mindestens 70 °C erhitzt werden. Des Weiteren muss sich eine Biogasanlage in einem ausreichend weiten Abstand zu dem Bereich befinden, in dem die Tiere gehalten werden, um eine Seuchenübertragung zu verhindern (§ 3 Abs. 2 Nr. 2). Gleiches gilt laut § 5 für die Verwendung von tierischen Nebenprodukten und verarbeiteten Erzeugnissen in einer Biogas- oder Kompostierungsanlage, die sich auf einem Betrieb mit Nutztierhaltung befindet. Der mittel- und unmittelbare Kontakt zwischen Nutztieren und den tierischen Nebenprodukten sowie verarbeiteten Erzeugnissen ist zu unterbinden; ausgenommen sind z. B. Gülle, Milch und Kolostrum vom eigenen Betrieb.

Die Reinigung und Desinfektion der für den Transport der Fermentationsrückstände verwendeten Fahrzeuge, Behälter und Gerätschaften ist in § 8 Abs. 1 festgesetzt. Diese muss nicht erfolgen, wenn die verwendeten Behälter, Fahrzeuge und Gerätschaft nicht mit unverarbeiteten tierischen Nebenprodukten in Berührung kommen (§ 8 Abs. 1 Nr. 1). Sie ist auch nicht erforderlich, wenn lediglich Gülle, Milch oder Kolostrum aus einem Betrieb mit Nutztieren, der keinen tiereseuchenrechtlichen Maßregeln unterliegt, in eine Biogas- oder Kompostierungsanlage, die neben Gülle auch andere tierische Nebenprodukte behandelt, befördert wird und im selben Fahrzeug oder Behälter Fermentationsrückstände oder Komposte zur Ausbringung auf Flächen eines landwirtschaftlichen Betriebes befördert werden (§ 8 Abs. 1 Nr. 2).

Die TierNebV regelt darüber hinaus Untersuchungen und Probenentnahme in Biogasanlagen (und Kompostierungsanlagen; §§ 21-22). Betreiber einer Biogasanlage mit Pasteurisierung sind verpflichtet, Fermentations-

rückstände und Komposte auf *Escherichia coli* oder Enterokokken untersuchen zu lassen. Die Probenahme muss unmittelbar nach der Pasteurisierungs- oder Hygienisierungseinheit oder nach dem Pasteurisierungs- oder Hygienisierungsprozess erfolgen. Eine Untersuchung von abgabefertigen Fermentationsrückständen auf Salmonellen ist vorgeschrieben bei Biogasanlagen, die eine Pasteurisierung vornehmen müssen bzw. Speise- und Küchenabfälle ausschließlich oder zusammen mit Gülle einsetzen (§ 21 Abs. 3). Hierfür finden die seuchenhygienischen Anforderungen an die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle nach Anhang 2 der BioAbfV entsprechend Anwendung. Werden verarbeitete Gülle oder Gülleprodukte in den Verkehr gebracht, so ist eine Untersuchung auf *Escherichia coli* oder Enterokokken vorgeschrieben. Abgabefertige Gülle oder Gülleprodukte müssen auf Salmonellen getestet werden und den Anforderungen der VO (EU) 142/2011 entsprechen (§ 21 Abs. 4).

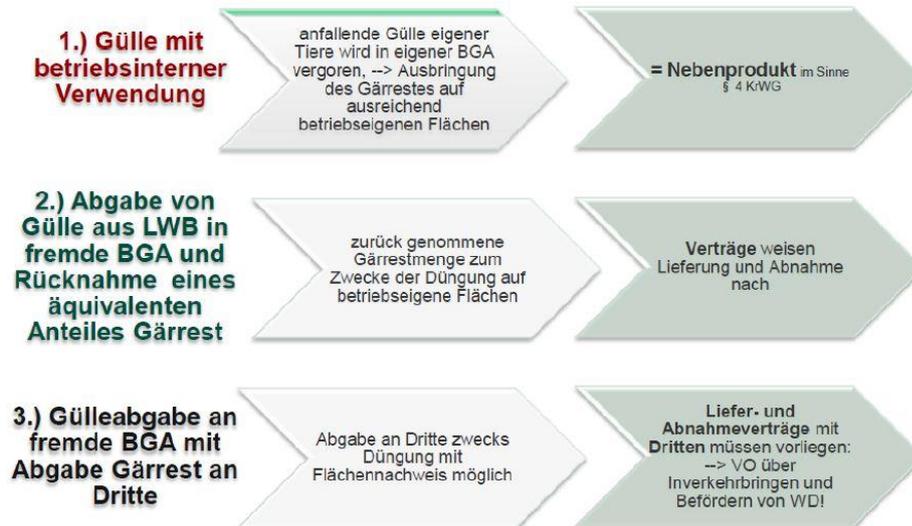
### **Kreislaufwirtschaftsgesetz (KrWG)**

Das Kreislaufwirtschaftsgesetz vom 24. Februar 2012 (BGBl. I S. 212), das zuletzt durch § 44 Absatz 4 des Gesetzes vom 22. Mai 2013 (BGBl. I S. 1324) geändert worden ist, regelt die Vermeidung, Verwertung, Beseitigung von Abfall und sonstigen Maßnahmen der Abfallbewirtschaftung (§ 2). Das Gesetz gilt nicht für tierische Nebenprodukte, die unter die VO (EG) Nr. 1069/2009 fallen, mit Ausnahme von tierischen Nebenprodukten, die zur Verbrennung, Lagerung auf der Deponie oder zur Verwendung in einer Biogasanlage oder Kompostieranlage bestimmt sind.

Nach § 4 ist ein Stoff oder Gegenstand nicht als Abfall, sondern als Nebenprodukt anzusehen, wenn: „1. sichergestellt ist, dass der Stoff oder Gegenstand weiter verwendet wird, 2. eine weitere, über ein normales industrielles Verfahren hinausgehende Vorbehandlung hierfür nicht erforderlich ist, 3. der Stoff oder Gegenstand als integraler Bestandteil eines Herstellungsprozesses erzeugt wird und 4. die weitere Verwendung rechtmäßig ist; dies ist der Fall, wenn der Stoff oder Gegenstand alle für seine jeweilige Verwendung anzuwendenden Produkt-, Umwelt- und Gesundheitsschutzanforderungen erfüllt und insgesamt nicht zu schädlichen Auswirkungen auf Mensch und Umwelt führt.“

Paragraph 5 regelt, dass „die Abfalleigenschaft eines Stoffes endet, wenn dieser ein Verwertungsverfahren durchlaufen hat und so beschaffen ist, dass 1. er üblicherweise für bestimmte Zwecke verwendet wird, 2. ein Markt für ihn oder eine Nachfrage nach ihm besteht, 3. er alle für seine jeweilige Zweckbestimmung geltenden technischen Anforderungen sowie alle Rechtsvorschriften und anwendbaren Normen für Erzeugnisse erfüllt sowie 4. seine Verwendung insgesamt nicht zu schädlichen Auswirkungen auf Mensch oder Umwelt führt.“

Somit fallen Gülle und Gärrest, der zur Düngung eingesetzt werden soll, nicht unter das KrWG.



**Abbildung 13: Einordnung von Gülle nach dem Kreislaufwirtschaftsgesetz**

Quelle: persönl. Mittlg. BRÜCKNER (LfULG)

## 2.3.2 Hygienische Aspekte beim Einsatz von Gärresten im Vergleich zu festen Wirtschaftsdüngern

### 2.3.2.1 Gärreste aus Biogasanlagen

#### Tier- und humanpathogene Mikroorganismen

##### ■ Bakterien

Trotz der gesetzlichen Vorgaben bleibt die Frage des Risikos für Mensch und Tier durch pathogene Mikroorganismen in Gärresten von Biogasanlagen bestehen. Mit diesem Thema hat sich in der Vergangenheit eine Vielzahl an Autoren beschäftigt (u. a. BAGGE et al. 2005; WATCHARASUKARN et al. 2009; LEBUHN & WILDERER 2006; BAGGE et al. 2010). Ein Eintrag von Substraten mit einem höheren Gehalt an Krankheitserregern in die Biogasanlage kann nicht ausgeschlossen werden, sodass das Gärprodukt als belastet angesehen werden muss (Fachverband Biogas e. V. 2014). Deshalb dürfen Substrate mit einem höheren seuchenhygienischen Potenzial nur in speziell zugelassenen Anlagen nach strengen rechtlichen Vorschriften verarbeitet werden. Die landwirtschaftliche Nutzung von Gärprodukten und Komposten aus diesen Substraten ist nur zulässig, sofern ihre hygienische Unbedenklichkeit nachgewiesen wurde (Fachverband Biogas e. V. 2014).

Nach einer Ausarbeitung von LEBUHN & FRÖSCHLE (2012) gibt es keine Studie, die belegt, dass Krankheitserreger im Biogasprozess zunehmen. Vielmehr wurde gezeigt, dass sich die Konzentration untersuchter Krankheitserreger in Abhängigkeit von ihrer Widerstandsfähigkeit im Biogasprozess mehr oder weniger stark reduziert. Ausschlaggebend hierfür sind die Höhe der Prozesstemperatur und die tatsächliche Verweildauer im Prozess (LEBUHN & FRÖSCHLE 2012). Je länger die Verweilzeit im anaeroben Abbau, desto intensiver ist die Einwirkung biologischer, chemischer und physikalischer Faktoren und somit deren abtötende oder inaktivierende Wirkung. Nach aktuellem Kenntnisstand hängt der hygienische Status des Gärrestes mit dem hygienischen Status der zugelieferten Rohstoffe zusammen (BREVES 2012; LEBUHN & FRÖSCHLE 2012). Dies gilt in besonderem Maß für den Einsatz von Gülle in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. Letztere liegen mit der Prozesstemperatur überwiegend im mesophilen Temperaturbereich (ca. 35 °C bis 42 °C, die Temperaturen können im Praxisbetrieb hiervon abweichen). Insbesondere widerstandsfähige Erreger wie z. B. Sporenbildner überleben den mesophilen Biogas-Prozess eher unbeschadet oder wenig dezimiert. Sie werden im thermophilen Betrieb (ca. 45 °C bis 60 °C) einer Biogasanlage wesentlich effizienter inaktiviert.

Die Verordnung (EU) Nr. 142/2011 (vom 25.02.2011), Anhang V Kapitel III Abschnitt 2 gibt bei alternativen thermischen und chemischen Umwandlungsverfahren in Biogasanlagen für eine ausreichende Reduzierung biologischer Risiken den gesicherten Nachweis einer Reduktion um 5 log<sub>10</sub>-Stufen für *Enterococcus faecalis* oder *Salmonella* Senftenberg (775W, H<sub>2</sub>S-negativ) vor. Bei gesicherten 55 °C im Fermenter geben LEBUHN & WILDERER (2006) in ihren Modellversuchen eine Reduktion um ca. 3 log<sub>10</sub>-Stufen für intestinale Enterokokken an. Fäkalcoliforme wurden um ca. 5 log<sub>10</sub>-Stufen und coliforme Keime um ca. 4 log<sub>10</sub>-Stufen reduziert. Hingegen blieben aerobe (*Bacillus* Arten) und anaerobe (*Clostridium perfringens*) Sporenbildner in ihrer Keimzahl nahezu unverändert (LEBUHN & WILDERER 2006). Auch HABER (2008) berichtet, dass die Keimzahlen von Clostridien in Gärprodukten und Gülle keinen Unterschied aufwiesen. Im Gegensatz hierzu berichten BAGGE et al. (2010), dass Clostridien im Vergleich zu *Bacillus* Arten empfindlicher gegenüber Pasteurisierung und anaerobem Verdau reagierten. Sie beobachteten eine Reduktion der Clostridien, während *Bacillus* spp. den Prozess relativ unbeschadet überstanden (BAGGE et al. 2010). Dieses wird untermauert durch den Bericht von KNIE et al. (2001), wonach bei *Clostridium perfringens* eine Reduktion um 2 bis 3 Zehnerpotenzen durch Vor- oder durch Nachpasteurisierung erreicht werden kann. LEBUHN & FRÖSCHLE (2012) fassen zusammen, dass, nach dem aktuellen Stand der Forschung, Gärreste bezüglich des Hygienestatus im Vergleich zu den Substraten als besser einzustufen sind.

In einer niedersächsischen Studie zur „Einschätzung des Risikopotentials der Biogastechnologie in mikrobiologischer Hinsicht“ (BREVES 2012) wurde festgestellt, dass Gärreste im Vergleich zu den Rohstoffen, unabhängig vom Biogasanlagentyp, immer um 0,5 bis 2,5 log<sub>10</sub>-Stufen niedrigere Keimzahlen aufwiesen. Aus dieser Studie geht weiterhin hervor, dass bei der Fermentation in Biogasanlagen keine spezifische Vermehrung von Clostridien stattfindet, sondern der Gehalt im Verhältnis zum Rohstoff abnimmt. *Clostridium botulinum* wurde in keiner der untersuchten Biogasanlagen nachgewiesen, während toxinbildende (Toxin α und β<sub>2</sub>) *Clostridium perfringens*-Stämme vor allem in Schweine-, aber auch Rindergülle verarbeitenden Anlagen festgestellt wurden (BREVES 2012 und 2014; WEILAND 2007). Die anaerobe Behandlung von Gülle führt nach Untersuchungen von RÜCKERT (1991) zu einer Reduktion bzw. Elimination von Salmonellen und anderen *Enterobacteriaceae*. Eine vollständige Abtötung der Bakterien wurde durch thermophile Faulung (55 °C) erreicht, während die anaerobe, mesophile Faulung (35 °C) von Schweinegülle eine Reduktion der genannten *Enterobacteriaceae* um 3 log<sub>10</sub>-Stufen bewirkte. In Rindergülle hingegen wurde bei der mesophilen Faulung nur eine Reduktion um ca. 1 log<sub>10</sub>-Stufe erreicht. Die thermophile Behandlung von Rindergülle führt nach RÜCKERT (1991) zur nahezu vollständigen Elimination dieser Bakterien.

Nach Untersuchungen von ADE-KAPPELMANN (2008) wurden *Salmonella* Senftenberg W775 und *Campylobacter jejuni* in thermophil betriebenen Anaerobanlagen innerhalb von 1 h inaktiviert, während *Enterococcus faecalis* den Behandlungsprozess bis zu 3 h überlebte. Eine Aufenthaltszeit von 24 h bei 35 °C im Biogasreaktor führte bei keinem der untersuchten Mikroorganismen zu einer Inaktivierung. Eine vollständige Abtötung von Mikroorganismen ist bei der anaeroben Behandlung nach ADE-KAPPELMANN (2008) ohne zusätzliche Hygienisierung nicht zu erreichen. Die anaerobe Kofermentation von Rinder- bzw. Schweinegülle mit Speiseabfällen im mesophilen Temperaturbereich kann nach HOFERER (2001; zitiert in ADE-KAPPELMANN 2008) keine ausreichend sichere Inaktivierung potenzieller Tierseuchenerreger im Biogassubstrat gewährleisten. Bei allen untersuchten Erregern (u. a. *Salmonella* Senftenberg, *Escherichia coli* O:157, *Enterococcus faecium*) zeigte sich jedoch eine ausreichende Reduzierung im thermophilen Temperaturbereich. Mit Ausnahme von *Enterococcus faecium* wurden bei 55 °C alle untersuchten Bakterien innerhalb eines Zeitraumes von 6 h um ≥4 log<sub>10</sub>-Stufen reduziert. LEBUHN & WILDERER (2006) analysierten darüber hinaus das Vorkommen von thermophilen *Campylobacter*-Bakterien und *Yersinia enterocolitica* in Vorgrube, Fermentern und Endlager. Sie zeigten, dass die Behandlung im Fermenter bei 55 °C ausreicht, um beide Bakterienarten um mindestens 5 log<sub>10</sub>-Stufen zu reduzieren. Zusammenfassend betrachtet belegen diese Stu-

dien, dass pathogene Bakterien während des Biogasprozesses reduziert werden. Nach wissenschaftlichen Erkenntnissen ist der anaerobe Behandlungsprozess (Vergärung) aus hygienischer Sicht ausdrücklich zu begrüßen (Fachverband Biogas e. V. 2014).

## ■ Parasiten

Neben pathogenen Bakterien stellt die Inaktivierung widerstandsfähiger Dauerstadien z. B. von Oozystenbildenden eukaryontischen Parasiten wie *Cryptosporidium parvum* oder *Giardia* und von Spulwurm-Eiern eine Problematik dar. Die Eier von *Ascaris suum* (Spulwurm des Schweines) werden über den Kot ausgeschieden und sind in der Umwelt sehr widerstandsfähig; sie überleben in Gülle bei einer Temperatur von 8 bis 18 °C bis zu 85 Tage. Auf Austrocknung reagieren sie empfindlich; bei 55 bis 56°C sind sie nach zehn Minuten inaktiviert (SCHNIEDER 2000). In Rindergülle sind Spulwurmeier 76 d infektiös, während sie in Festmist bei 40 °C 25 d und bei 50 °C 4 d überdauern (HOY 2002). Der neue Wirt infiziert sich oral über infektiöse Eier (BOCH & SUPPERER 1992).

ADE-KAPPELMANN (2008) führte eine Tenazitätsprüfung mit Eiern von *Ascaris suum* als Prüforganismen in einer Pasteurisierungseinheit durch. Diese Tenazitätsprüfung kam zu dem Ergebnis, dass sich bei einer Betriebstemperatur von 70 °C nach einer Aufenthaltszeit von 30 Minuten aus den Eiern keine Larven entwickelten. ADE-KAPPELMANN (2008) leitete daraus ab, dass die Parasitendauerstadien vollständig inaktiviert wurden. Zitiert nach ADE-KAPPELMANN (2008) berichten ältere Studien von einem Verlust der Infektiosität nach 1 h bei 50 °C und 20 Minuten bei 55 °C (LANG 1987) bzw. von einer vollständigen Eliminierung aus Klärschlamm nach 10-minütiger thermophiler (54 °C) anaerober Fermentation (PLACHY et al. 1997). Die Überlebensdauer von nicht infektiösen *Ascaris suum*-Eiern bei mesophiler (35 bis 37 °C), anaerober Fermentation über einen Zeitraum von 20 d wurde hingegen nur geringfügig beeinträchtigt (JURIS et al. 1996). KATO et al. (2003) haben den Effekt von aerober und anaerober Fermentation auf die Überlebensfähigkeit von *Ascaris suum*-Eiern bei 37 °C, 47 °C und 55 °C untersucht. Unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C waren nach zehn Tagen noch 10 % der *Ascaris suum*-Eier lebensfähig, was signifikant unterschiedlich zur Überlebensrate von 80 bis 93 % bei aeroben Bedingungen war. Bei 47 °C im anaeroben Milieu waren 99 % der Ascariiden-Eier nach 2 d inaktiviert, wohingegen aerobe Bedingungen für eine Überlebensdauer von 8 d sorgten. Eine Erhöhung der Temperatur auf 55 °C reduzierte die Überlebensdauer auf zwei Tage. AITKEN et al. (2005) kommen zu einem ähnlichen Ergebnis und geben an, dass innerhalb von 30 min bei 53 bzw. 55 °C eine Reduktion der *Ascaris suum*-Eier um ungefähr 3 log<sub>10</sub>-Stufen stattfindet.

Cryptosporidien gehören zu den Einzellern (Protozoen). Sie sind weltweit verbreitet und kommen als Zoonoserreger bei vielen Säugetierarten vor. Die infektiösen Stadien (Zysten und Oozysten) der Cryptosporidien werden mit dem Kot ausgeschieden (GORNİK 1997). Sie sind chlorresistent (DILLINGHAM et al. 2002) und können über Jahre in der Umwelt überleben (zitiert in HAUMACHER et al. 2012). Häufig sind bis zu 100 % der jungen Wiederkäuer in einem Bestand mit *Cryptosporidium parvum* infiziert. In der vorangehend beschriebenen Studie von KATO et al. (2003) waren >99 % der *Cryptosporidium (C.) parvum* Oozysten nach 10 d bei 37 °C, 2 d bei 47 °C und 1 h bei 55 °C inaktiviert. Bei den beiden niedrigen Temperaturen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen dem aeroben und anaeroben Milieu. LEBUHN & WILDERER (2006) beschreiben den Nachweis von *C. parvum* aus Vorgrube und Fermentern mittels quantitativer PCR. Gemäß dieser Studie belegen metabolische Parameter aus Keimträgerexperimenten, dass eine vierstündige thermophile (gesichert 55 °C) anaerobe Vergärung von Rindergülle reicht, um die Infektiosität von Kryptosporidien-Oozysten um >5 log<sub>10</sub>-Stufen zu reduzieren. Die Autoren sehen eine gesicherte Verweilzeit von 4 h bei gesicherten 55 °C als sinnvolle Zielgröße zur Behandlung von Rindergülle in Biogasanlagen an, wenn der Gärrest vom parasitologischen (und bakteriologischen) Standpunkt her einwandfrei und auch zur Ausbringung in sensiblen Regionen geeignet sein soll (LEBUHN & WILDERER 2006).

## ■ Viren

Aufgrund der breiten Palette an Roh- und Reststoffen, die als Substrate in Biogasanlagen eingesetzt werden können, spielt auch die Überlebensfähigkeit von viralen Krankheitserregern im Biogasprozess eine wichtige Rolle. Erwähnenswert sind hier z. B. Parvoviren, Rotaviren, Caliciviren (*Norovirus*) oder Enteroviren. Letztere zeichnen sich durch eine hohe Tenazität aus. Sie sind im sauren Milieu (bis zu pH 2) stabil, reagieren jedoch wärmeempfindlich und verlieren bei 55 °C innerhalb von 30 min ihre Infektiosität (ROLLE & MAYR 2007). Rotaviren sind ebenfalls gegenüber Umwelteinflüssen stabil. Bei 20 °C bleibt ihre Infektiosität für 7 bis 12 Monate erhalten. Zu den sehr widerstandsfähigen Viren gehören Parvoviren, die erst bei Temperaturen von 80 bis 90 °C inaktiviert werden. Sie sind umwelt- und pH-stabil (pH 3) (ROLLE & MAYR 2007). Zur Tenazität von humanen Noroviren ist bisher wenig bekannt (BfR 2012). Einem Bericht des BfR (2012) zufolge tolerieren Noroviren einen niedrigen pH-Wert und sie verlieren im Temperaturbereich oberhalb von 70 °C in Abhängigkeit von der gewählten Haltezeit an Infektiosität. Bei dem gegenwärtigen Kenntnisstand können Rotaviren und Enteroviren hinsichtlich Hygienisierung durch Vergärung als unkritische Parameter angesehen werden (LEBUHN & WILDERER 2006). Die Untersuchungen von LEBUHN & WILDERER (2006) auf Noroviren verliefen ebenfalls negativ, jedoch besteht hinsichtlich der Methoden zum Nachweis der Tenazität Optimierungsbedarf. Tenazitätsuntersuchungen (im Prüfkörperverfahren in Modellanlagen) von KNIE et al. (2001) zu bovinem Parvovirus ergaben, dass die mesophile Faulung zu einer Reduktion um ca. zwei Zehnerpotenzen führt, während eine thermophile Faulung i. d. R. innerhalb von ca. 24 h eine Reduktion um 2 bis 3  $\log_{10}$ -Stufen bewirkt. Bei Versuchen in großtechnischen Biogasanlagen wurden bis zu 7  $\log_{10}$ -Stufen innerhalb einer 24-stündigen Kontaktzeit im Biogasreaktor erreicht. Sowohl Vor- als auch Nachpasteurisierung für 1 h bei 70 °C reduzierte das *Parvovirus* um maximal fünf Zehnerpotenzen (KNIE et al. 2001). In den thermophil betriebenen Praxisanlagen war nach 7 d bzw. 14 d kein Virus mehr nachweisbar. DRČA (2007) berichtet, dass eine bei 70 °C für 30 min durchgeführte Hygienisierung nicht zur vollständigen Inaktivierung des Parvovirus führte, jedoch eine Reduktion um bis zu vier Zehnerpotenzen erreichte. Bovines Enterovirus (ECBO-Virus) konnte bei 70 °C, nach einer Aufheizphase von 41 min, nicht mehr nachgewiesen werden. Vergleichbare Ergebnisse wurden für das feline Calicivirus erreicht (DRČA 2007), das als Surrogat für Noroviren angesehen werden kann (LEBUHN & WILDERER 2006).

MONTEITH et al. (1986) untersuchten die Inaktivierung von bovinem Parvovirus und bovinem Enterovirus während der anaeroben Fermentation bei 55 °C und 35 °C. Unter thermophilen Bedingungen (55 °C) war das Enterovirus nach 30 Minuten nicht mehr nachweisbar, während im mesophilen (35 °C) Versuchsaufbau ein sporadischer Nachweis in der zweiten Viruspassage nach 10 Tagen noch möglich war. Bei den Parvovirus-Untersuchungen war nach zwei Tagen bei 55 °C und nach 10 Tagen bei 35 °C kein Virus nachweisbar. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die thermophile anaerobe Fermentation eine sichere Methode für die Inaktivierung von bovinem Parvo- sowie Enterovirus in Rindergülle darstellt, während sich die Inaktivierung bei mesophilen Temperaturen inkonstant verhält, was eventuell auf ein Anheften der Viren an feste Partikel in der Gülle zurückzuführen sein könnte (MONTEITH et al. 1986).

## ■ Phytohygiene

Die Phytohygiene ist ein Aspekt, der bei der Risikoeinschätzung von Gärresten aus Biogas ebenfalls eine bedeutende Rolle spielt. Gärreste aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen unterliegen beim Inverkehrbringen auch den Anforderungen der DüMV an die Phytohygiene. Was bereits eingangs zum Verhalten bakterieller Erreger in mesophilen Biogasanlagen gesagt wurde, gilt auch für Erreger von Pflanzenkrankheiten: in diesem Temperaturbereich kann nicht generell eine ausreichende Hygienisierung vorausgesetzt werden. Nach einem Fachartikel des Kuratoriums für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (KTBL) aus dem Jahr 2013 ist es zunächst zu vermeiden, stark belastete Substrate der Fermentation zuzuführen (HOFMANN & SCHULTHEISS 2013). Generell gilt, dass mit Quarantäneschädlingen befallene Substrate nicht in Biogasanlagen verwertet, sondern vernichtet werden müssen. In einem Verbundvorhaben (gefördert von BMELV und

FNR, FKZ 22013207, 220028408, 22028508) wurde das Thema „Phytopanitäres Risiko bei der anaeroben Vergärung von pflanzlichen Biomassen in Biogasanlagen“ untersucht. Bezüglich des Verbreitungsrisikos von Pflanzenkrankheiten und Unkrautdiasporen über die Ausbringung von Gärprodukten aus Biogasanlagen wurde festgestellt, dass optimale Bedingungen bei der Silierung in vielen Fällen ausreichend sind, um eine Inaktivierung von Krankheitserregern herbeizuführen (zitiert in HOFMANN & SCHULTHEIß 2013). Die Studie umfasste virale, bakterielle und pilzliche Pflanzenschädlinge der gängigen Substrate. Unter Laborbedingungen war eine Verweilzeit von 6 h ausreichend, um die meisten Pathogene zu inaktivieren, ausgenommen Pilze der Gattung *Fusarium*, die bis zu sechs Tage überdauerten. Untersuchungen in Praxisbiogasanlagen zeigten hingegen, dass diese Arten nach einer anaeroben Vergärung im mesophilen Temperaturbereich nach 24 h Verweildauer nicht mehr lebensfähig waren. Abschließend sagen HOFMANN & SCHULTHEIß (2013) aus, dass das Gefährdungspotenzial von mit Schaderregern und Unkrautsamen belasteten Gärprodukten bei der Biogaserzeugung als gering einzustufen ist. Zu diesem Ergebnis kommt auch eine Arbeitsgruppe des Landwirtschaftlichen Technologiezentrums Augustenberg, Karlsruhe, deren Untersuchung sich auf ausgewählte Pflanzenpathogene, der typischen Inputpflanzen von NawaRo-Anlagen (wie Mais und Getreide), stützt.

Mit Ausnahme einer Gülleprobe erwiesen sich alle Gärprodukte im dreijährigen Untersuchungszeitraum als frei von den fünf ausgewählten Indikatororganismen (HABER 2008). Das Hygienisierungspotenzial des Biogasprozesses hinsichtlich phytopathogener Schaderreger wurde auch von SEIGNER et al. (2012) evaluiert. Die Untersuchungen umfassten virale (Rizomaniavirus, Tabakmosaikvirus), bakterielle (Kartoffelringfäule, Schleimkrankheit, Gräserwelke), pilzliche (u. a. Kartoffelkrebs, Ährenfusariose, *Verticillium*) und parasitäre (Kartoffel-Zystennematoden) Pflanzenpathogene. Die Autoren gelangen zu dem Schluss, dass die Vergärung im Biogasprozess grundsätzlich zu einer Reduktion der Keimbelastung führt, jedoch sind bestimmte Schadorganismen wie z. B. der Erreger der bakteriellen Kartoffelringfäule in der Lage, den anaeroben Fermentationsprozess über einen längeren Zeitraum zu überstehen; in diesem Fall bis zu 100 Tage in Abhängigkeit von der Substrataufbereitung. Neben der Temperatur und der Verweilzeit des Substrats im Biogasfermenter hatte das umgebende Milieu Einfluss auf die Überlebensfähigkeit. Auch diese Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass eine Silierung unter Optimalbedingungen sich vorteilhaft auf die Hygienisierung auswirkt. Zudem lag die Überlebensdauer der Pathogene zumeist unter den theoretischen Substratverweilzeiten im Fermenter. Das Fazit dieser Studie war, dass bei Verweilzeiten von wenigstens 30 bis 40 Tagen bei einer Fermentertemperatur von mindestens 38 °C für die o. g. Phytopathogene kein sanitäres Risiko besteht. Aus Sicht der Autoren ist die mesophile Fermentation jedoch nicht als hygienisierende Maßnahme für den Erreger des Kartoffelkrebses, der bakteriellen Ringfäule und der Schleimkrankheit der Kartoffel geeignet. Bei Phytopathogenen, wie dem Erreger der Hopfenwelke, der bakteriellen Gräserwelke oder thermoresistenten Viren kann eine zusätzliche Hygienisierung notwendig sein (SEIGNER et al. 2012).

Das zu Beginn erwähnte Verbundvorhaben „Untersuchungen zum phytopanitären Risiko bei der anaeroben Vergärung von pflanzlichen Biomassen in Biogasanlagen“ konnte weiterhin zeigen, dass Unkrautsamen im Biogasprozess nicht notwendigerweise inaktiviert werden. Der Silierprozess kann auch hier einen erheblichen Beitrag zur Abtötung von Unkrautsamen leisten (GEROWITT & WESTERMANN 2012).

Die Kernaussage der zitierten Studien im Hinblick auf human-, tier- und pflanzenpathogene Mikroorganismen in Gärresten lässt sich wie folgt zusammenfassen: Die Ausbringung von Gärresten aus der landwirtschaftlichen Biogasanlage stellt bei Beachtung der geltenden Regeln und Empfehlungen keine gesundheitliche Gefahr für Mensch, Tier oder Pflanze dar. Vielmehr ist eine Verbesserung der hygienischen Situation durch den Einsatz von Gärresten gegeben (LEBUHN & FRÖSCHLE 2012).

## ■ Auswirkungen auf Boden und Wasser

Wenige Studien haben bisher untersucht, ob sich mikrobiologische Bodeneigenschaften durch die Ausbringung von Gärresten im Vergleich zur Ausbringung von Gülle ändern. LEBUHN & WILDERER (2006) sammelten in ihrer Studie erste Informationen dazu, ob durch Ausbringung von Gärresten eine Anreicherung mit bestimmten Keimen im Boden festgestellt werden kann. Sie untersuchten hierfür Bodenproben von Gülle- und Gärrest-gedüngten Testflächen bis 1 m Bodentiefe auf *E. coli*, coliforme Keime, Enterokokken, *Clostridium perfringens* und aerobe Sporenbildner (*Bacillus cereus*-Gruppe). Alle ausgewählten Indikatorkeime waren bis in 1 m Bodentiefe nachweisbar. Eine Anreicherung im Boden konnte nicht festgestellt werden, jedoch sind diese Ergebnisse als vorläufig zu betrachten. Die Autoren kommen weiterhin zu dem Schluss, dass die Ausbringung von Gärresten in wasserwirtschaftlich sensiblen Gebieten (z. B. im Einzugsgebiet von Badegewässern) der Ausbringung von unbehandelten Wirtschaftsdüngern vorzuziehen ist. HENKELMANN (2006) berichtet, dass innerhalb weniger Stunden nach der Aufbringung von Gärrest und Rohgülle, Gülleinhaltsstoffe, Tracer (Tritium, Lithium, Bromid) und *E. coli* im Sickerwasser zu finden waren und führte diese erste schnelle Verlagerung auf Makroporen im Boden zurück. Das Auswaschen über diese Makroporen erreichte in Beregnungsexperimenten 2 bis 3 h nach der Gülle- und Gärrestausringung ein Maximum, das danach wieder abfiel. Dabei war die Verlagerung der *E. coli* mit dem Sickerwasser weitgehend unabhängig vom Wirtschaftsdünger. Jedoch verzögerte sich die Keimverlagerung bei Ausbringung von Rohgülle im Spätherbst gegenüber der Ausbringung im Sommer um einige Stunden. Das Auswaschen der Indikatorkeime konnte über einen Zeitraum von einem Jahr nach der Ausbringung gemessen werden. Die Gärreste hatten gegenüber der Rohgülle eine um 3 bis 4 Zehnerpotenzen niedrigere *E. coli*-Konzentration, was aus Sicht des Boden- und Gewässerschutzes für die Keimbelastung von Boden und Sickerwasser als positiv zu beurteilen ist. Gemäß HENKELMANN (2006) sollte die Ausbringung von Gärresten auf ausgetrockneten Böden, insbesondere vor Starkregenereignissen, in sensiblen Zonen nicht empfohlen werden, um Makroporentransportvorgänge zu vermeiden.

### 2.3.2.2 Feste Wirtschaftsdünger

Der Keimgehalt von festen Wirtschaftsdüngern liegt mit mehr als  $10^6$  KbE/g *Enterobacteriaceae*, coliformen Bakterien und Fäkalstreptokokken höher im Vergleich zu Flüssigmist (PHILIPP et al. 1990; zitiert in HAUMACHER et al. 2012). PHILIPP et al. (1990) führen als Begründung dafür u. a. die Entmistungstechnik und die daraus resultierende Miststapelung zurück, die es erschwert, eine repräsentative Probe zu entnehmen. Nach STRAUCH (1981; zitiert in HAUMACHER et al. 2012) erhitzt sich Festmist mit genügend Einstreumaterial bei der richtigen Lagerung auf der Düngestätte auf 50 bis 74 °C, was zu einer Abtötung von krankheitsrelevanten Bakterien, Viren und Parasiten führt. Dieses Verfahren wird auch Rotte von Festmist genannt (BOCH & SUPPERER 1992). Sie läuft je nach Strohgehalt und Sauerstoffzufuhr aerob oder anaerob ab und dauert in Abhängigkeit von der Art der Mistzusammensetzung und Lagerung drei Wochen bis zwei Monate. Bei der aeroben Rotte werden Temperaturen von ca. 74 °C erreicht. Die anaerobe Rotte erreicht ca. 60 °C. Temperaturen von maximal 50 °C treten bei der Rotte von Tiefstreu auf. Diese Temperaturen reichen für die Abtötung von Dauerformen von Parasiten innerhalb der Rottezeit aus (BOCH & SUPPERER 1992).

DANG et al. (2001) berichten in ihrer Studie über die Reduktion von *E. coli*, coliformen Keimen und *Enterococcus* spp. bei der Rotte von Festmist. Sie untersuchten die Hygienisierung von Festmist in so genannten Festmiststapeln in Vietnam. Diese Festmiststapel bestehen üblicherweise aus Schweinemist, der mit Reisstroh und Pflanzenresten gemischt ist. Die Stapel werden mit Lehm überdeckt und für drei bis vier Monate gelagert. Die Autoren haben in ihrem Versuchsaufbau darüber hinaus Festmist mit Harnstoff bzw. Calciumcarbonat gemischt, um die hygienisierende Wirkung zu erhöhen (DANG et al. 2001). Nach 45 Tagen war in den Dungpackungen ohne Zusätze eine Reduktion von *E. coli* um 2  $\log_{10}$ -Stufen feststellbar. Die Anzahl der coliformen Keime zeigte keine signifikante Reduktion. Der Zusatz von Harnstoff führte bei *E. coli* und den Gesamt-

Coliformen zu einer Reduktion um bis zu 4  $\log_{10}$ -Stufen nach 15 Tagen. Dieses Verfahren ist mit der Keimreduktion im allgemeinen Biogasprozess durchaus vergleichbar.

## 2.4 Beschreibung der ausgewählten Indikatororganismen

### 2.4.1 *Clostridium perfringens*

Clostridien sind große, gram-positive anaerobe Sporenbildner, die ubiquitär im Erdboden sowie im Magen-Darm-Trakt von Mensch und Tier vorkommen. Im Erdboden wirken Clostridien durch ihre proteolytischen Eigenschaften vor allem am Eiweißabbau mit (SCHOOP 1980). Die von Clostridien gebildeten Sporen sind sehr widerstandsfähig und können mehrere Jahre im Erdboden überleben. Mehr als 100 *Clostridium* Spezies wurden beschrieben; etwa 20 Spezies sind pathogen (QUINN et al. 2011). Pathogene *Clostridium* Spezies werden aufgrund ihrer Toxin-Aktivität und der Gewebe, die sie schädigen, in verschiedene Kategorien eingeteilt. *Clostridium* (*C.*) *perfringens* gehört zur Gruppe der „enteropathogenen und Enterotoxämie-verursachenden Clostridien“. Aufgrund der Bildung verschiedener Exotoxine werden bei *C. perfringens* fünf verschiedene Typen (A-E) unterschieden, die unterschiedliche Krankheitsbilder verursachen. Die vier Major-Toxine sind  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ , und  $\iota$  (QUINN et al. 2011). Des Weiteren wird ein Enterotoxin gebildet, das beim Menschen Lebensmittelvergiftungen hervorrufen kann.

Toxin-bildende *C. perfringens* kommen auch im Darm gesunder Tiere vor; hier ist der Typ A am häufigsten vertreten (BISPING & AMTSBERG 1988). Der physiologische *C. perfringens*-Gehalt pro g Rinderkot liegt zwischen  $\leq 10^3$  (adulte Tiere) und  $10^5$ – $10^6$  (Kälber) (KRÜGER 2010). In Faeces von Schweinen und Hühnern liegen die Werte bei  $4 \times 10^4$  bzw.  $2,5 \times 10^2$  (GELDREICH 1978). Bei erkrankten Schweinen konnte der Nachweis von bis zu  $10^9$  *C. perfringens*/g Kot erbracht werden (EL SUKHON 1974). Prädisponierende Faktoren für eine unphysiologische Vermehrung von *C. perfringens* im Darmtrakt sind eine plötzliche Futterumstellung und Fehler im Haltingsmanagement. Oft ist *Clostridium perfringens* auch an multifaktoriellen Krankheitsgeschehen beteiligt. In Schweine- und Rindergülle verarbeitenden Biogasanlagen wurden  $\alpha$ - und  $\beta_2$ -Toxin-bildende *C. perfringens*-Stämme sowohl im Gärsubstrat als auch im Gärrest festgestellt (BREVES 2014). Aber auch in Anlagen, die ausschließlich mit Mais und nachwachsenden Rohstoffen betrieben werden, waren  $\alpha$ -Toxin-bildende *C. perfringens* nachweisbar (BREVES 2014).

### 2.4.2 *Clostridium botulinum*

*Clostridium* (*C.*) *botulinum* gehört zu den Vertretern der neurotoxischen Gruppe der Clostridien, welche neuromuskuläre Funktionen beeinflussen. Nach oraler Aufnahme von *Clostridium botulinum*-Toxin über die Nahrung oder das Futter kommt es zu einer schlaffen Lähmung der Muskulatur und nachfolgend zum Tod durch Atemlähmung (QUINN et al. 2011). Kontrovers diskutiert wird der so genannte viszerale Botulismus, der durch Besiedelung unterer Darmabschnitte mit *C. botulinum* und im Darm gebildetes Botulinum-Toxin verursacht werden soll. Die kontinuierliche Resorption geringer Mengen des Toxins soll zur Ausprägung des Krankheitsbildes eines chronischen Botulismus führen und durch unspezifische Symptome und Leistungseinbußen gekennzeichnet sein (BÖHNEL et al. 2001). Der Abschlussbericht eines Kooperationsprojektes der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover und dem Friedrich-Loeffler-Institut Jena zu diesem Thema resümiert, dass nach Auswertung von Daten aus 139 Betrieben die Hypothese des „viszeralen“ oder „chronischen“ Botulismus nicht bestätigt werden kann (Schlussbericht Friedrich-Loeffler-Institut 2014).

*Clostridium botulinum*-Endosporen kommen ubiquitär im Erdboden, in Schlamm und im Bodensediment von Gewässern vor (BISPING & AMTSBERG 1988; WHITLOCK et al. 2004). Im Hinblick auf die Clostridien-Belastung im Futtermittel sind vor allem tiefes Abmähen bei der Futtergewinnung, Geflügelkotdüngung, schlechte Si-

lierung (zu hoher pH-Wert) und Tierkadaver (z. B. Kleinnager) in Heu oder Silage zu nennen (QUINN et al. 2011). *Clostridium botulinum* kommt auch im Darminhalt gesunder Wirbeltiere (z. B. Rind, Schwein, Katze, Geflügel) vor. Für die Verbreitung spielen jedoch Kadaver eine wesentliche Rolle (SONNENSCHNEIN 1980). Aufgrund der Bildung verschiedener Toxine werden sieben *C. botulinum* Toxin-Typen (A-G) unterschieden (BISPING et al. 1988; WHITLOCK et al. 2004; QUINN et al. 2011). Die Neurotoxine von *C. botulinum* sind hoch wirksame Gifte. Hinsichtlich der Empfänglichkeit gegenüber oral aufgenommenem Botulinum-Toxin bestehen jedoch beträchtliche tierartliche Unterschiede. Verglichen mit Pflanzenfressern sind Fleisch- und Aasfresser wenig empfindlich für alle Toxintypen (SONNENSCHNEIN 1980). Menschliche Erkrankungsfälle werden von den Toxintypen A, B und E-G beschrieben (QUINN et al. 2011). Typ A und C-Erkrankungen kommen beim Hund vor, während beim Rind vorwiegend Typ C und D, seltener auch Typ A, zu Erkrankungen führt. Beim Pferd wird Botulismus durch die Typen A-D verursacht (SONNENSCHNEIN 1980; QUINN et al. 2011). Schweine sind empfänglich gegenüber Toxin-Typ A (QUINN et al. 2011). Hingegen wurden Massenvergiftungen insbesondere bei wild lebendem Wassergeflügel durch Typ C-Toxin beobachtet (SONNENSCHNEIN 1980).

Das Risiko einer möglichen *C. botulinum*-Anreicherung im Biogasprozess wurde mehrfach untersucht und konnte bis jetzt nicht bestätigt werden. Im Gegenteil finden sich im Gärsubstrat mehr Clostridien (einschließlich *C. botulinum*) als in den Gärresten (WEILAND et al. 2007). Dieses bestätigen BAGGE et al. (2010), die *C. botulinum* in Gülle und Schlachtabfällen nachweisen konnten. Nach dem Biogasprozess waren keine pathogenen Clostridien (einschließlich *C. botulinum*) mehr nachweisbar und die Gesamtanzahl an *Clostridium* spp. hatte sich verringert (BAGGE et al. 2010). In einer aktuellen Untersuchung von Gärsubstraten und Gärresten aus 15 Biogasanlagen konnten keine Neurotoxin-bildenden *C. botulinum* nachgewiesen werden (BREVES 2014), was die vorangehend beschriebenen Ergebnisse unterstützt.

#### 2.4.3 Fäkalstreptokokken, Enterokokken

Fäkalstreptokokken gehören zur Gattung *Enterococcus*, einer Gruppe von grampositiven Kokken. Sie sind Bestandteil der normalen Darmflora von Mensch und Tier, wobei *Enterococcus (E.) faecalis* und *E. faecium* am häufigsten isoliert werden (QUINN et al., 2011). Die durchschnittliche Konzentration an Fäkalstreptokokken im Kot wurde mit  $10^6$  (Rind) bzw. ca.  $10^8$  (Schwein) angegeben (GELDREICH 1978). Obwohl sie keine Sporen bilden, sind Enterokokken gegenüber Austrocknung hoch widerstandsfähig. Sie tolerieren extreme pH-Werte, ionisierende Strahlung, osmotischen und oxidativen Stress, hohe Konzentrationen an Schwermetallen sowie Antibiotika. Im Gegensatz zu anderen mesophilen Bakterien überleben bzw. wachsen Enterokokken in einem Temperaturbereich von +10 °C bis +45 °C. Die Gattung *Enterococcus* umfasst augenblicklich 37 Spezies. Sie sind als Krankheitserreger beim Tier von untergeordneter Bedeutung (BISPING & AMTSBERG 1988), können aber als opportunistische Erreger zu Wundinfektionen, Mastitis, Zystitis oder Endokarditis führen (QUINN et al. 2011). Zunehmende Bedeutung erlangen Vancomycin-resistente *E. faecium* Isolate, die auch von Tieren isoliert wurden (QUINN et al. 2011). Vor allem *E. faecium* besitzt eine hohe natürliche („intrinsische“) Resistenz gegenüber Vancomycin, Ampicillin und hohen Konzentrationen von Aminoglykosid-Antibiotika (AGUDELO HIGUITA & HUYCKE 2014), weshalb es als multiresistenter Krankheitserreger in der Krankenhaushygiene eine große Rolle spielt. Zur Charakterisierung des hygienischen Status der Gärsubstrate sowie der Gärreste wurde die Untersuchung auf Fäkalstreptokokken als zielführend angesehen (REINHOLD & JAHN 2004).

#### 2.4.4 *Escherichia coli*

*Escherichia (E.) coli* gehört zur Familie der *Enterobacteriaceae*. Hierbei handelt es sich um eine große Gruppe heterogener, gramnegativer, fakultativ anaerober Stäbchen (QUINN et al. 2011). Innerhalb der Gattung *Escherichia* ist nur *E. coli* in der Tiermedizin von Bedeutung (CARTER & WISE 2004). Der natürliche Standort von *E. coli* ist der Darmtrakt des Menschen und vieler Tierarten.  $10^7$  bis  $10^9$  *E. coli*/g Kot sind bei Säugetieren üblicherweise nachweisbar (GYLES & FAIRBROTHER 2004). Als opportunistische Erreger verursachen *E. coli*

außerhalb ihres physiologischen Habitats unter anderem Zystitis und Mastitis (BISPING & AMTSBERG 1988; CARTER & WISE 2004; QUINN et al. 2011). In Abhängigkeit von der Tierart und vom Krankheitsbild werden bestimmte *E. coli* Serotypen vermehrt nachgewiesen, was für eine erhöhte Pathogenität für bestimmte Tierarten spricht (BISPING & AMTSBERG 1988; GYLES & FAIRBROTHER 2004). Derzeit werden sieben *E. coli* Pathovaren unterschieden, die zu Magen-Darm-Erkrankungen, Erkrankungen außerhalb des Magen-Darm-Traktes und Septikämie führen können. Darunter stellen Enterotoxin-bildende (enterotoxische) *E. coli* (ETEC) die Hauptursache für Durchfall in der Nutztierzucht dar. Hierzu gehören aber auch Shigatoxin-produzierende *E. coli* (STEC), die weltweit als Zoonoseerreger von Bedeutung sind. Diese werden synonym auch Verotoxin-bildende *E. coli* (VTEC) genannt. Sie stehen im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen bei neugeborenen Wiederkäuern, älteren Kälbern und der Ödem-Krankheit der Absatzferkel (BISPING & AMTSBERG 1988; CARTER & WISE 2004; QUINN et al. 2011).

STEC Stämme, die beim Menschen zu einer hämorrhagischen Enteritis führen, werden auch enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) genannt. In diesem Zusammenhang spielt v. a. der Serotyp O157:H7 eine wichtige Rolle (GYLES & FAIRBROTHER 2004). Die minimale EHEC Infektionsdosis für den Menschen beträgt 100 Kolonie-bildende Einheiten (DASCHNER et al. 2006). Wiederkäuer, vor allem Rinder, Schafe und Ziegen, aber auch Wildwiederkäuer werden als wichtiges Reservoir und Hauptinfektionsquelle für EHEC beim Menschen angesehen. Vereinzelt wurde nachgewiesen, dass auch andere landwirtschaftliche Nutztiere und Heimtiere EHEC ausscheiden (<http://www.rki.de>). Weitere intestinale *E. coli*-Pathovaren sind enteropathogene *E. coli* (EPEC), die u. a. Durchfall beim Schwein verursachen, enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enteroaggregative *E. coli* (EAggEC) und diffus-adhärierende enteropathogene *E. coli* (DAEC). Zu den extraintestinalen pathogenen *E. coli* (ExPEC) zählen uropathogene *E. coli* (UPEC), die Zystitis, Pyelonephritis oder coliforme Mastitis verursachen sowie aviäre pathogene *E. coli* (APEC), die systemische Infektionen beim Geflügel hervorrufen (GYLES & FAIRBROTHER 2004). In der Umwelt kann *E. coli* über Wochen und Monate überleben (QUINN et al. 2000) und somit eine Infektionsquelle für empfängliche Individuen darstellen.

#### 2.4.5 *Salmonella* Spezies

Salmonellen gehören ebenfalls zur Familie der *Enterobacteriaceae*. Sie umfassen eine große Gruppe gram-negativer Bakterien mit zwei Spezies (*Salmonella* (*S.*) *enterica*, *S. bongori*) und ca. 2.500 Serotypen (LIBBY et al. 2004). Einige Salmonellenarten sind wirtsspezifisch, wie z. B. *S. Gallinarum* (Geflügel), *S. Pullorum* (Geflügel), *S. Choleraesuis* (Schwein) oder *S. Dublin* (Rind), während andere Serotypen, wie z. B. *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* ein sehr breites Wirtsspektrum und zoonotisches Potential besitzen (LIBBY et al. 2004; QUINN et al. 2011). Salmonellosen kommen weltweit bei Mensch und Tier vor. Hauptreservoir der Salmonellen sind meistens nicht erkrankte Träger-Tiere (Säuger, (Wild-) Vögel, Reptilien). Landwirtschaftliche Nutztiere wie Rinder, Schweine und Geflügel und die daraus erzeugten tierischen Lebensmittel stehen als mögliche Infektionsursache im Vordergrund (<http://www.rki.de>). Die Krankheitssymptome und das Ausmaß der Erkrankung sind abhängig vom *Salmonella* Serotyp.

Die Salmonellose beim Tier manifestiert sich hauptsächlich als akute Darmentzündung mit Durchfall, Septikämie, aber auch als Abort (z. B. *S. Abortusovis*, *S. Dublin*). Beim Menschen sieht man meist eine akute Darmentzündung mit plötzlich einsetzendem Durchfall, Kopf- und Bauchschmerzen, Unwohlsein und manchmal Erbrechen. Häufig tritt leichtes Fieber auf. Die Salmonellose ist die klassische Lebensmittelinfektion und wird vor allem über nicht ausreichend erhitzte Eier bzw. eierhaltige Speisen sowie über rohes bzw. nicht oder nicht ausreichend erhitztes Fleisch übertragen (<http://www.rki.de>). Nach deutschem Tierseuchenrecht ist die Salmonellose (*Salmonella* spp.) vieler Tierarten meldepflichtig (Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten i. d. F. der Bekanntmachung vom 11. Februar 2011). Eine Anzeigepflicht besteht nach § 4 der Geflügel-Salmonellen-Verordnung (i. d. F. der Bekanntmachung vom 17. Januar 2014) und nach § 1 Nummer 28 der

Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen (i. d. F. der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011) für die Salmonellose des Rindes.

Im Jahr 2012 wurden bundesweit 102 Ausbrüche der Rinder-Salmonellose angezeigt; im Freistaat Sachsen waren es vier Ausbrüche (Friedrich-Loeffler-Institut, Tiergesundheitsjahresbericht 2014). Für denselben Zeitraum wurden laut Tiergesundheitsbericht des Friedrich-Loeffler-Instituts 609 Fälle beim Schwein und 128 Fälle bei Hühnern gemeldet. Laut dem Infektionsepidemiologischen Jahrbuch des Robert-Koch-Instituts stand die Salmonellose des Menschen im Jahr 2012 mit 20.849 gemeldeten Fällen an vierter Stelle aller meldepflichtigen Krankheiten in Deutschland (Robert Koch-Institut 2013). Salmonellen sind widerstandsfähig und können über mehrere Monate in feuchtem Boden, Faeces und Wasser überdauern (QUINN et al. 2000). Sie vermehren sich bei Temperaturen bis 43 °C. Nach Untersuchungen von ADE-KAPPELMANN (2008) wurde *Salmonella* Senftenberg W775 in Keimträgerversuchen im Biogasprozess in thermophil betriebenen Anaerobanlagen innerhalb von 1 h inaktiviert. LEBUHN & FRÖSCHLE (2012) konnten schon nach 30-minütiger Inkubationszeit im thermophilen Temperaturbereich (60 °C) keine Salmonellen im Keimträgerversuch mehr nachweisen. Hingegen verlief die Keimreduktion im mesophilen Bereich (38 °C) wesentlich langsamer, sodass eine Abtötung von 90 % der Salmonellen erst nach ca. 7 h erreicht wurde (LEBUHN & FRÖSCHLE 2012).

#### 2.4.6 ESBL – Extended-Spektrum $\beta$ -Laktamasen

$\beta$ -Laktamasen sind Enzyme, die von zahlreichen Bakterien gebildet werden. Sie sind in der Lage, den  $\beta$ -Laktam-Ring, der allen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika gemeinsam ist, zu spalten und somit die Wirkung der Antibiotika zu verhindern. Sie tragen also zur Entstehung von Antibiotikaresistenzen bei. ESBL können ein erweitertes Spektrum an  $\beta$ -Laktam-Antibiotika spalten und erhöhen damit auch den Einsatz von sogenannten Reserve-Antibiotika in der humanmedizinischen Therapie (FRIESE & RÖSLER 2013; GESER et al. 2012). Die Zunahme von Antibiotikaresistenzen bei Bakterien entwickelt sich weltweit immer mehr zu einem therapeutischen Problem in der Human- und Tiermedizin. Vor allem die Zunahme an *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae*-Bakterien mit Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 3. und 4. Generation wurde in den letzten 10 Jahren stetig beobachtet (EWERS et al. 2012). Waren ESBL-bildende Bakterien bisher vor allem aus krankenhaushygienischer Sicht von großem Interesse, zeigen neuere Studien den vermehrten Nachweis v. a. ESBL-/Cephalosporinase (AmpC)-bildender *E. coli* in Lebensmittel liefernden Tieren (EWERS et al. 2012).

Zahlreiche Darmbakterien können ESBL-Resistenzen tragen. Bisher wurden diese Resistenzen vor allem in *E. coli*- und *Klebsiella*-Bakterien, selten auch in *Proteus*-, *Citrobacter*-, *Enterobacter*- und *Pseudomonas*-Bakterien gesehen. In der Nutztierhaltung sind ESBL-Bakterien weit verbreitet (PFEIFER & ELLER 2012). In einer Studie an insgesamt 334 Kotproben von gesunden Schweinen, Rindern, Schafen und Hühnern waren 63 % der Hühner-, 15 % der Schweine-, 14 % der Rinder- und 9 % der Schafproben ESBL-positiv (GESER et al. 2012). Der überwiegende Anteil (89 %) der ESBL-bildenden Bakterien waren *E. coli*. Diese Ergebnisse decken sich mit Resultaten einer früheren Studie, die 15 % der untersuchten Schweine und 17 % der Rinder als Träger von ESBL-bildenden Bakterien identifizierte (GESER et al. 2011). Im Gegensatz dazu lag die Prävalenz ESBL-produzierender *E. coli* in der Studie von BÜCHTER (2010) innerhalb der untersuchten Tierarten bei 3 % für Rinder, 1,2 % für Schweine und 0,3 % für Geflügel. Bezogen auf Krankheiten wurden die meisten ESBL-produzierenden *E. coli* aus Rindern mit Enteritis isoliert (5,6 %), gefolgt von Rindern mit Mastitis (1,1 %). Die Verbreitung und Übertragung von ESBL-produzierenden Bakterien z. B. über Tierkontakte oder die Lebensmittelkette ist vielfältig möglich (PFEIFER et al. 2013). Auch in frei lebenden Wildschweinen wurden ESBL-produzierende Bakterien nachgewiesen (LITERAK et al. 2009). Eine Übertragung der Bakterien über beweidete oder güllegedüngte Nutzflächen ist denkbar.

# 3 Material und Methoden

## 3.1 Auswahl und Beschreibung der Musteranlagen

Die Musteranlagen wurden herangezogen, um exemplarisch die ökonomische Realisierbarkeit einer Hygienisierung zu berechnen.

### 3.1.1 Auswahl der Musteranlagen

Für die Auswahl der Musteranlagen wurden folgende Kriterien für die Bestimmung der Anlagengrößen und -ausstattungen zugrunde gelegt:

- Durchschnittliche Anlagengröße in Sachsen – 420 kW<sub>el</sub> (Deutsches Biomasseforschungszentrum [DBFZ] im Auftrag des Bundesumweltministeriums [BMU]: Stromerzeugung aus Biomasse – Zwischenbericht)
- Bauausführungen – Biogasanlagen sind je nach Betrieb individuell angepasst und lassen sich nur schwer regional einteilen. Fermenterausführung, Abstufung des Gärprozesses sowie Gärrestlagerung und begleitende Technik sind in unterschiedlichsten Formen vertreten.
- Substrateinsatz – landwirtschaftliche Biogasanlagen mit einem Gülleanteil von mind. 70 %, vorwiegend Rindergülle (Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie [2013]: Daten und Fakten Biogas, Stand 08/2013); Maissilage als häufigstes Co-Substrat
- Fördermöglichkeiten – besondere Förderungen von Anlagen bis 75 kW<sub>el</sub>

Anhand dieser Kriterien haben sich drei Biogasanlagengrößen (75 kW<sub>el</sub>, 250 kW<sub>el</sub> und ca. 500 kW<sub>el</sub>) in ihrer Häufigkeit in Sachsen herauskristallisiert. Aufgründessen wurden Musteranlagen in den Größenordnungen 75 kW<sub>el</sub>, 250 kW<sub>el</sub> und 526 kW<sub>el</sub> als Planungsgrundlage herangezogen.

## Musteranlage 1: 75 kW<sub>el</sub> Biogasanlage

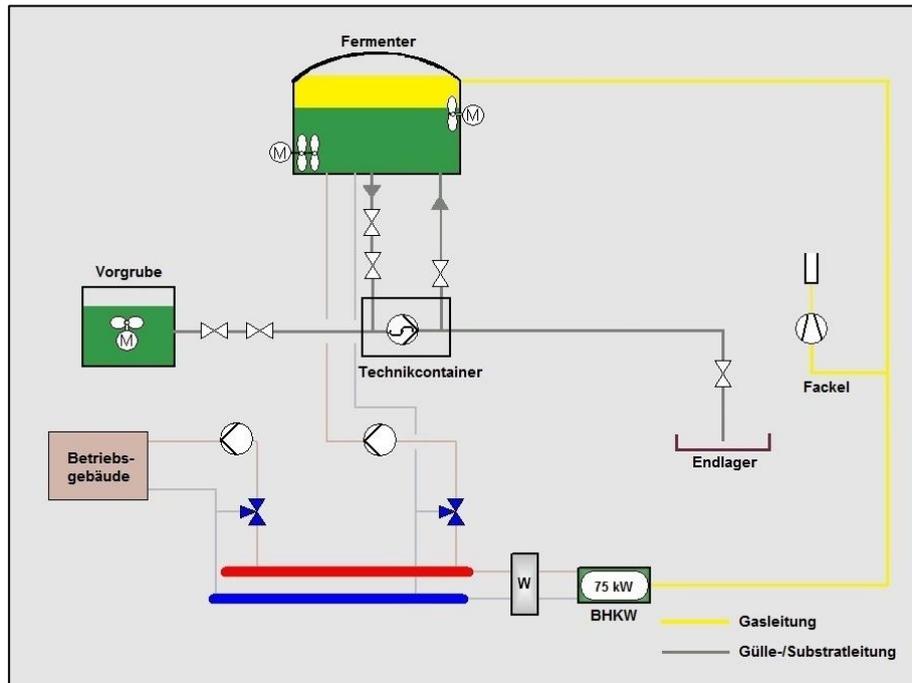


Abbildung 14: Musteranlage 1

Tabelle 2: Daten Musteranlage 1

Musteranlage 1	
<b>Einsatzstoffe</b>	
Rindergülle	12.410 t/a
TS-Gehalt	8%
GV-Einheiten	621
<b>Biogasanlage</b>	
Betriebstemperatur	38 – 40°C
Gärbehälter	1 Stück Fermenter
Durchmesser x Höhe	19 m x 7 m
Arbeitsvolumen	1.786 m <sup>3</sup>
Raumbelastung	1,2 kg oTS/(m <sup>3</sup> /d)
Verweilzeit	52 Tage
<b>Gas-Otto-Motor</b>	
Elektrische Leistung	75 kW
Thermische Leistung	89 kW
Elektrischer Wirkungsgrad	38,00%
Thermischer Wirkungsgrad	45,20%

## Musteranlage 2: 250 kW<sub>el</sub> Biogasanlage

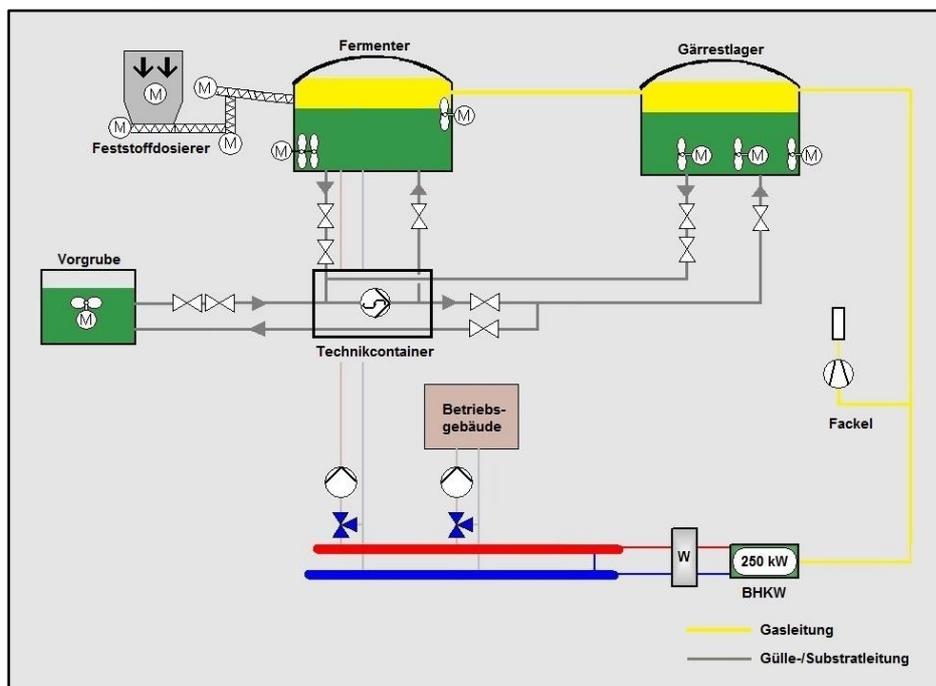


Abbildung 15: Musteranlage 2

Tabelle 3: Daten Musteranlage 2

Musteranlage 2		
<b>Einsatzstoffe</b>		
Rindergülle	8.395 t/a	
	TS-Gehalt	8%
	GV-Einheiten	420
Maissilage	3.650 t/a	
	TS-Gehalt	32%
<b>Biogasanlage</b>		
Betriebstemperatur	38 – 40°C	
Gärbehälter	Fermenter 1 Stück	Gärrestlager 1 Stück
	Durchmesser x Höhe	17 m x 7 m
	Arbeitsvolumen	1.430 m <sup>3</sup>
	Raumbelastung	3,2 kg oTS/(m <sup>3</sup> /d)
	Verweilzeit	43 Tage
		110 Tage
<b>Gas-Otto-Motor</b>		
Elektrische Leistung	250 kW	
Thermische Leistung	220 kW	
Elektrischer Wirkungsgrad	45,50%	
Thermischer Wirkungsgrad	40,00%	

## Musteranlage 3: 526 kW<sub>el</sub> Biogasanlage

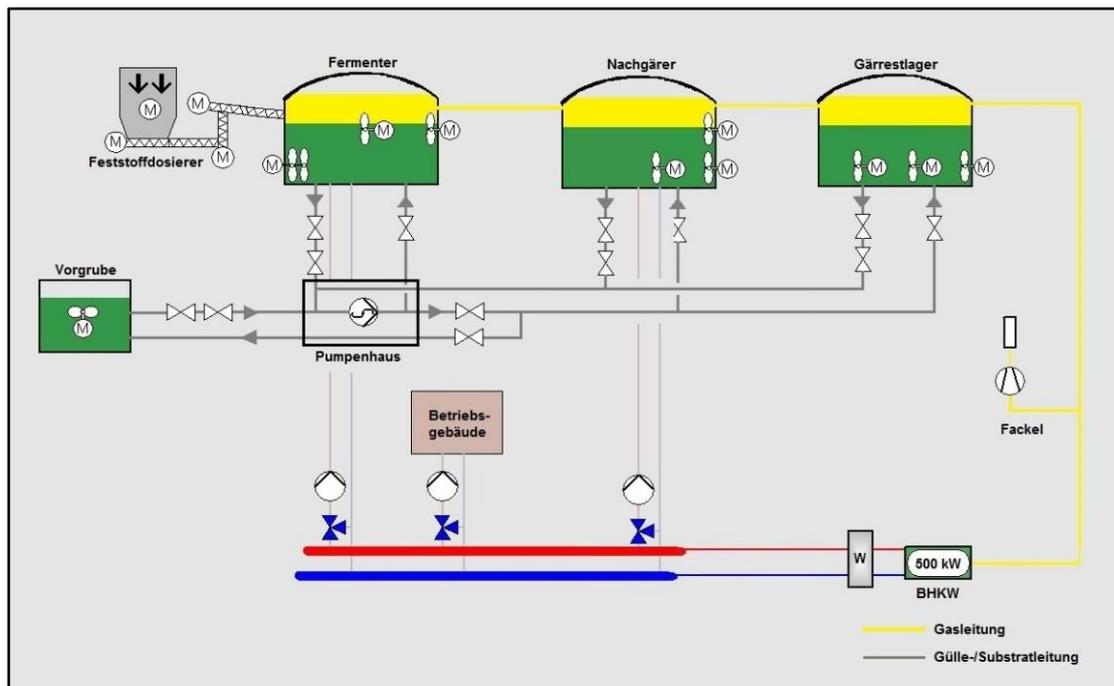


Abbildung 16: Musteranlage 3

Tabelle 4: Daten Musteranlage 3

Musteranlage 3			
<b>Einsatzstoffe</b>			
Rindergülle	16.790 t/a		
	TS-Gehalt	8%	
	GV-Einheiten	840	
Maissilage	9.125 t/a		
	TS-Gehalt	32%	
<b>Biogasanlage</b>			
Betriebstemperatur	38 – 40°C		
Gärbehälter	Fermenter 1 Stück	Nachgärer 1 Stück	Gärrestlager 1 Stück
	Durchmesser x Höhe	24 m x 7 m	30 m x 7 m
	Arbeitsvolumen	2.850 m <sup>3</sup>	4.453 m <sup>3</sup>
	Raumbelastung	3,7 kg oTS/(m <sup>3</sup> /d)	0,7 kg oTS/(m <sup>3</sup> /d)
	Verweilzeit	40 Tage	69 Tage
<b>Gas-Otto-Motor</b>			
Elektrische Leistung	526 kW		
Thermische Leistung	566 kW		
Elektrischer Wirkungsgrad	40,40%		
Thermischer Wirkungsgrad	43,50%		

In Tabelle 5 sind die Kosten für eine komplette Biogasanlage inklusive Baunebenkosten und Allgemeine Geschäftskosten des Generalunternehmers aufgeführt. Die Kosten für die Vorgrube und das Endlager sind nicht enthalten. Es wurde vorausgesetzt, dass die Komponenten im Landwirtschaftsbetrieb bereits vorhanden sind.

**Tabelle 5: Investitionskosten der Musteranlagen**

	Musteranlage 1 75 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 2 250 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 2 250 kW <sub>el</sub> (mit einschaligem Gasdach)	Musteranlage 3 526 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 3 526 kW <sub>el</sub> (mit einschaligem Gasdach)
Bau netto	258.000 €	553.000 €	491.000 €	996.000 €	921.000 €
Technik netto	166.000 €	312.000 €	310.000 €	457.000 €	454.000 €
BHKW, EMSR netto	207.000 €	441.000 €	440.000 €	729.000 €	728.000 €
<b>Gesamtkosten netto</b>	<b>631.000 €</b>	<b>1.306.000 €</b>	<b>1.241.000 €</b>	<b>2.182.000 €</b>	<b>2.103.000 €</b>
zzgl. MwSt. 19 %	119.890 €	248.140 €	235.790 €	414.580 €	399.570 €
Gesamtkosten brutto	750.890 €	1.554.140 €	1.476.790 €	2.596.580 €	2.502.570 €
spezifische Kosten je kW <sub>el</sub> netto	8.413 €	5.224 €	4.964 €	4.148 €	3.998 €
spezifische Kosten je kW <sub>el</sub> brutto	10.012 €	6.217 €	5.907 €	4.936 €	4.758 €

BHKW= Blockheizkraftwerk; EMSR= Elektro-, Mess-, Steuer- und Regelungstechnik

## 3.2 Auswahl und Beschreibung der Pilotbetriebe

In Zusammenarbeit mit dem LfULG wurden zehn Pilotbetriebe ausgewählt. Hauptauswahlkriterien waren:

- Typ der Biogasanlage (landwirtschaftlich angebunden, Gülle und NawaRo)
- Leistungsklasse (repräsentativ für den Freistaat Sachsen)
- Substrat (Gülleart, Co-Substrate, Festmist etc.)
- Aufbau (Fermentertyp, Prozessstufen)
- Vorhandensein von Hygienisierungsmöglichkeiten
- Räumliche Verteilung

Alle Pilotbetriebe befinden sich im Freistaat Sachsen. Die Teilnahme am Projekt beruhte auf freiwilliger Basis. Aus Gründen des Datenschutzes wurden alle Pilotbetriebe (PB) randomisiert durchnummeriert, sodass sich die Benennung PB 1 bis PB 10 ergab. Ein Betrieb (PB 1) konnte im weiteren Projektverlauf aus betriebstechnischen Gründen nicht beprobt werden und wurde deshalb aus der Studie genommen, sodass im weiteren Text neun Betriebe (ein Betrieb mit zwei BGA) und zehn BGA erwähnt werden. Aus Gründen des Datenschutzes werden die Pilotbetriebe hier nur allgemein beschrieben, damit eine betriebsspezifische Zuordnung von Daten für Außenstehende nicht möglich ist.

Die Inbetriebnahme der BGA der Pilotbetriebe erfolgte in den Jahren 2002 bis 2011. Somit wurden alle im Projektzeitraum eingebundenen Pilotbetriebe entsprechend dem EEG aus dem Jahr 2009 vergütet. Drei der BGA wurden vor 2004 in Betrieb genommen, von 2004 bis 2010 erfolgte die Inbetriebnahme von sechs der

BGA und eine Anlage wurde nach 2010 in Betrieb genommen. Bei zwei Biogasanlagen erfolgte nach vier bzw. acht Jahren eine Erweiterung der kW<sub>el</sub> (Repowering).

Die durchschnittliche elektrische Leistung der teilnehmenden Anlagen betrug 493 kW<sub>el</sub>, wobei eine BGA weniger als 250 kW<sub>el</sub> leistete, eine Anlage lag unter 500 kW<sub>el</sub> und die restlichen acht Anlagen hatten eine elektrische Leistung zwischen 500 und 650 kW<sub>el</sub>. Drei der BGA besitzen eine bzw. zwei Hydrolysestufen, die vor dem Fermentationsprozess installiert ist. Eine Anlage besitzt einen thermophilen Nachgärer und zwei der Biogasanlagen verfügen über mehr als ein Endlager für die Gärreste.

Im Hinblick auf die Gärsubstrate macht Gülle bei allen Anlagen den größten Anteil der Substrate aus. Lediglich eine BGA hat einen Gülleanteil von weniger als 70 % in ihrem Gärsubstrat. Die überwiegende Anzahl der BGA (6/10) hat einen Gülleanteil zwischen 70 und 90 %, bei drei Anlagen liegt der Anteil der Gülle über 90 %. Der Anteil an nachwachsenden Rohstoffen liegt bei drei Anlagen über 20 %, bei sieben von zehn BGA sind es bis zu 20 %. Alle BGA führen eine Silierung der Substrate durch und verfügen über eine mesophile Prozessführung. Ein thermophiler Nachgärer und eine Einrichtung für die Gärresttrocknung waren einmal unter den Betrieben vorhanden.

### 3.3 Erstellung eines Fragebogens zur Datenerhebung

Für die Erstellung des Fragebogens zur Datenerhebung wurde der vom LfULG in Anlehnung an die Vorlage der DLG für das Biogasanlagenmonitoring (DLG 2006) erarbeitete Erhebungsbogen zur Betriebszweigabrechnung Biogas als Grundlage genutzt. Dabei wurden u. a. auch mögliche Methoden zur Keimreduzierung (u. a. mesophile oder thermophile Prozessführung, Silierung des Ausgangssubstrates, Gärresttrocknung) mit berücksichtigt. Zusätzlich zu den technischen Basisdaten der jeweiligen Anlagen wurden kritische Systemkomponenten für die technische Realisierbarkeit eines Hygienisierungssystems abgefragt. Diese beinhalteten u. a. nachfolgende Punkte und waren Voraussetzung für die Planung der entsprechenden Technik:

#### ■ Bauliche bzw. räumliche Gegebenheiten:

- Ist eine Vor-, Nach- oder Zwischenschaltung einer Hygienisierungsstufe räumlich möglich, und wenn ja: an welcher Stelle der Anlagenkonfiguration ist diese möglich?

#### ■ Produzierte Abwärme/Energie:

- Kann der normale Anlagenbetrieb aufrechterhalten werden, wenn z. B. Abwärme für eine Hygienisierungsstufe genutzt wird bzw. was wäre nötig, um den Betrieb der Hygienisierung sicherzustellen?

#### ■ Einsatzmengen, Stoffströme, Verweildauer:

- Welche Kapazitäten einer Hygienisierung wären nötig?

#### ■ Substratzusammensetzung und sonstige Stoffeinträge:

- Welche Besonderheiten sind bei der Wahl des Hygienisierungssystems zu beachten, z. B. hoher TS-Gehalt, zügige Entmischung, Bildung von Schwimmschichten, evtl. erhöhter Eintrag von Sand oder Fremdkörpern?

#### ■ Fermentertemperatur und -fahrweise:

- Inwiefern würde das Fermentersystem (bei Vor- oder Zwischenschaltung der Hygienisierung) durch die höheren Temperaturen des hygienisierten Substrats beeinflusst werden?

#### ■ Substrataufschluss:

- Könnten sich durch den Einsatz einer Hygienisierungsstufe evtl. positive Effekte hinsichtlich Substrataufschluss und dadurch bezüglich Gasausbeute und Verweildauer ergeben?

#### ■ Art und Nutzung des Gärrestlagers, Management der Ausbringung, Nutzung der Transportfahrzeuge und/oder -leitungen:

- Ist eine Hygienisierung sinnvoll, im Hinblick auf Möglichkeiten zur Rekontamination bei der Gärrestverarbeitung? Bedingt der ökonomisch und technisch sinnvolle Einsatz einer Hygienisierungsstufe noch zusätzliche Umstrukturierungen im Bereich Management und Technik?

Durch die Auswahl technisch zum Teil sehr unterschiedlicher Pilotbetriebe ergaben sich bei der Durchführung der Befragungen vor Ort oftmals zusätzliche Aspekte, welche in den Fragebogen mit aufgenommen und bei den anderen Betrieben nachträglich abgefragt wurden. Die Anpassung des Fragebogens erfolgte daher fortlaufend über den gesamten Befragungszeitraum. Die relevanten Abfragepunkte wurden in Zusammenarbeit mit der OBAG BioEnergy Anlagenbau GmbH erörtert, was eine realistische und praxisnahe Ausrichtung des Fragebogens gewährleistete. Weiterhin unterstützte die OBAG BioEnergy Anlagenbau GmbH das Projekt in sämtlichen Fachfragen aus dem Bereich Anlagenplanung und -bau sowie Ökonomie (s. auch Kap. 3.4). Sämtliche Betriebsdaten wurden dabei ausschließlich anonymisiert verarbeitet.

## 3.4 Ökonomische und praktische Realisierbarkeit einer Hygienisierungsstufe

Die ökonomische und praktische Realisierbarkeit einer Hygienisierungsstufe hängt in erster Linie von der Wirtschaftlichkeit der zu betrachtenden Biogasanlage ab. Im Folgenden ist die Wirtschaftlichkeit der fiktiven Musteranlagen (s. Kap. 3.1) anhand von Planungsrechnungen dargestellt. Auf Basis dieser Daten wurde anschließend ermittelt, inwiefern der Zubau einer technisch praktikablen Hygienisierungsstufe die Wirtschaftlichkeit der Musteranlagen beeinflusst.

### 3.4.1 Planungsrechnung der Musteranlagen

Für die Planungsrechnung wurde das EEG 2009 als Berechnungsgrundlage herangezogen, weil der Großteil der sächsischen Bestandsanlagen nach diesem EEG vergütet wird. Diese Berechnungen bildeten die Grundlage für die spätere Beurteilung der Anlagenökonomie (z. B. unter dem EEG 2014 sowie mit und ohne Hygienisierungsstufe).

### 3.4.2 Technische Gegenüberstellung der Hygienisierungsverfahren

Zur Veranschaulichung der technischen Anforderungen der verschiedenen Hygienisierungs- bzw. Keimreduktionsverfahren sind in den Tabellen 6 bis 9 der jeweilige technische Aufwand sowie die Vor- und Nachteile der Systeme anhand der Musteranlagen (s. Kap. 3.1) dargestellt und ökonomisch bewertet.

Als „echte“ Hygienisierungssysteme mit einer technisch abgesicherten Keimreduktion von 5  $\log_{10}$ -Stufen kommen letztendlich nur die Verfahren Pasteurisierung und Drucksterilisation bzw. abgewandelte und zum Teil aufwändigere Verfahren (z. B. die Thermo-Druck-Hydrolyse) in Frage. Andere, technisch unterschiedlich aufwändige Verfahren erreichen zwar eine Keimreduktion, die sich zum Teil dem Bereich der Hygienisierung (5  $\log_{10}$ -Stufen) annähert, können diese aber nicht zu jedem Zeitpunkt sicher gewährleisten. Daher wurden diese Verfahren in den folgenden Betrachtungen nicht berücksichtigt.

**Tabelle 6: Pasteurisierung: Einbauort vor der Beschickung in den Fermenter**

Pasteurisierung im Batchverfahren mit Wärmerückgewinnung	
<b>Wirkungsweise</b>	Drucklose Hygienisierung bei 70 °C, Verweildauer 1 h, Höchst Korngröße 12 mm, quasikontinuierliche Betriebsweise
<b>Einbauort</b>	Vor der Beschickung in den Fermenter
<b>Vorteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wärmenutzung des hygienisierten Materials durch Übertragung auf das Frischsubstrat bzw. zum Erhalten der Temperatur im Fermenter</li> <li>- Kontakt mit nicht hygienisiertem Material ist ausgeschlossen</li> <li>- Substrataufschluss wird etwas verbessert</li> </ul>
<b>Nachteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- größerer Volumenstrom als nach Vergärung</li> <li>- mindestens zwei Hygienisierungstanks notwendig, weil das Entleeren und Befüllen sonst nicht gleichzeitig stattfinden kann → Investitionskosten höher</li> <li>- bei Anlagen mit Gülle- und NawaRo-Einsatz muss nach dem Feststoffdosierer eine Rachtrennpumpe zum Vermischen von Gülle und NawaRo eingebaut werden, welche das Substrat in die Hygienisierungsanlage pumpt, alternativ kann die Maissilage in die Vorgrube eingemischt werden (hohe Anforderungen an Pumpe, angemischtes Substrat muss schnell weiterverarbeitet werden, weil sonst Biogas entweicht → nachts problematisch, weil über den Tag verteilt je 2 m<sup>3</sup> hygienisiert werden)</li> <li>- Anlage täglich in Betrieb</li> <li>- hoher Verschleiß verfahrenstechnischer Komponenten</li> <li>- hygienisiertes Material kann den mesophilen Temperaturbereich übersteigen, besonders beim Einsatz von NawaRo → kleinere Gärbehälter können dies möglicherweise nicht auffangen → Störung der Biologie, Einbruch der Gasproduktion, Behälter muss für entsprechende Temperaturdifferenzen ausgelegt sein, eventuell Kühlung erforderlich</li> <li>- für die Biogasbildungsprozesse wichtige Bakterien in der Rindergülle werden ebenfalls abgetötet</li> <li>- hohe TS-Gehalte beeinträchtigen die Pumpfähigkeit → höhere Leistungsaufnahme der Pumpen</li> <li>- hohe Heiztemperaturen begünstigen Anbackungen in Rohrleitungen der Pasteurisierung → hoher Reinigungsaufwand, weil sonst schlechter Wärmeübergang</li> <li>- nötige Spurenelemente oder Eisenkomplexe zur Entschwefelung müssen durch die Hygienisierungsanlage in die Biogasanlage gefördert werden</li> <li>- Platzbedarf für Container und Wärmetauscher</li> <li>- bei Ausfall der Pasteurisierung fällt auch die Fütterung der Biogasanlage aus → Einbußen Biogasertrag</li> <li>- hohe Investitionen und laufende Kosten, aber keine Einnahmen</li> </ul>
<b>Ökonomische Bewertung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- hoher Stromverbrauch für Pump- und Umwälzvorgänge</li> <li>- optimale Wärmenutzung durch zwei Wärmetauscher</li> <li>- hoher anlagentechnischer Aufwand (Hygienisierungsbehälter, Schieber, Wärmetauscher, Rohrleitungen, Steuerungs- und Sicherheitstechnik) für landwirtschaftliche Biogasanlagen → hohe Kosten</li> <li>- eventuell Zusatzkosten durch Rachtrennpumpe bei NawaRo (Kosten von 38.000 bis 55.000 € je nach Einbaumöglichkeit) bzw. Ausrüstung der Vorgrube zur Anmischgrube</li> <li>- bei Biogasanlagen mit geringer Leistung (75 kW<sub>el</sub>) reicht die zur Verfügung stehende Wärme vom BHKW im Winter nicht für die Beheizung der Biogasanlage und der Hygienisierung aus → zusätzlicher Wärmeerzeuger</li> <li>- im Vergleich zu hohen Investitionskosten und technischem Aufwand ist der Substrataufschluss zu vernachlässigen</li> <li>- bei reinen Gülleanlagen mit geringerer Energiedichte ist der Energieaufwand für die Pasteurisierung generell unwirtschaftlich</li> </ul>
<b>Empfehlung</b>	Generell nicht zu empfehlen bei landwirtschaftlichen Biogasanlagen.

**Tabelle 7: Pasteurisierung: Einbauort nach der Vergärung**

Pasteurisierung im Batchverfahren mit Wärmerückgewinnung	
<b>Wirkungsweise</b>	Drucklose Hygienisierung bei 70 °C, Verweildauer 1 h, Höchst Korngröße 12 mm, quasikontinuierliche Betriebsweise
<b>Einbauort</b>	Nach der Vergärung, zwischen Fermenter und Gärrestlager bzw. Nachgärer und Gärrestlager
<b>Vorteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- geringerer Volumenstrom, weil ausgegoren</li> <li>- durch Wärmerückgewinnung kann das Inputmaterial auf ein höheres Temperaturniveau gebracht werden (von 40 °C auf 65 °C) bzw. zur Beheizung des Fermenters oder Nachgärers genutzt werden</li> <li>- keine Rückverkeimung möglich, weil Batchverfahren und separate Pumpen für die Entleerung</li> <li>- dauert die Hygienisierung des pro Tag anfallenden vergorenen Materials keine 24 Stunden, dann kann die Anlage dennoch ohne Stopp durchgefahren werden, um Zeit für Wartungszwecke zu gewinnen</li> <li>- der Biogasprozess wird nicht gestört, weil die Biologie erhalten bleibt</li> <li>- Gesamtaufbau Biogasanlage und Feststoffeintrag basierend auf dem Stand der Technik ist entsprechend erprobt und dadurch einfacher zu Händeln und wartungsärmer</li> <li>- geringerer TS-Gehalt in zu hygienisierendem Material → pumpfähiger</li> <li>- bei genügend Speichervolumen in den Behältern ist die Hygienisierung unabhängig von der Fütterung, d. h. fällt die Hygienisierung wegen Wartungszwecken z. B. drei Tage aus, kann die Biogasanlage die anfallenden Mengen speichern, insofern der Nachgärer bei etwa 90 % Füllstand gefahren wird</li> </ul>
<b>Nachteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- mindestens zwei Hygienisierungstanks notwendig, weil das Entleeren und Befüllen sonst nicht gleichzeitig stattfinden kann → Investitionskosten</li> <li>- das hygienisierte Substrat ist noch sehr warm (45 °C nach Wärmeübertragung auf das Substrat aus dem Nachgärer), was zu Spannungen im Gärrestlager führen kann → höhere Anforderungen an Errichtung Gärrestlager bzw. zusätzliche Kühlung notwendig bzw. Wärmeübertragung an Frischsubstrat</li> <li>- hoher Verschleiß verfahrenstechnischer Komponenten</li> <li>- hohe Heiztemperaturen begünstigen Anbackungen in Rohrleitungen der Pasteurisierung → hoher Reinigungsaufwand, weil sonst schlechter Wärmeübergang</li> <li>- Platzbedarf für Container und Wärmetauscher</li> <li>- hohe Investitionen und laufende Kosten, aber keine Einnahmen</li> </ul>
<b>Ökonomische Bewertung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- hoher Stromverbrauch für Pump- und Umwälzvorgänge</li> <li>- optimale Wärmenutzung durch zwei Wärmetauscher</li> <li>- hoher anlagentechnischer Aufwand (Hygienisierungsbehälter, Schieber, Wärmetauscher, Rohrleitungen, Steuerungs- und Sicherheitstechnik) für landwirtschaftliche Biogasanlagen → hohe Kosten</li> <li>- bei Biogasanlagen mit geringer Leistung (75 kW<sub>a</sub>) reicht die zur Verfügung stehende Wärme vom BHKW im Winter nicht für die Beheizung der Biogasanlage und der Hygienisierung aus, dann müsste ein zusätzlicher Wärmeerzeuger oder besser ein zusätzlicher Wärmeüberträger dazu gebaut werden (Restwärmeübertragung von hygienisiertem Material auf Frischgülle, Kosten ca. 27.000 €)</li> </ul>
<b>Empfehlung</b>	Generell ist diese Variante aus technologischer, ökonomischer und biologischer Sicht die günstigere. Das gilt für alle drei Musteranlagen.

**Tabelle 8: Drucksterilisation: Einbauort vor der Vergärung, vor der Beschickung in den Fermenter**

Drucksterilisation	
<b>Wirkungsweise</b>	2 bar Überdruck bei 133 °C, Verweildauer 20 min, Dampfinjektion
<b>Einbauort</b>	Vor der Vergärung, vor der Beschickung in den Fermenter
<b>Vorteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- sehr sicheres Hygienisierungsverfahren</li> <li>- Wärmerückführung bei der Kühlung möglich</li> <li>- geringerer Wärmebedarf für die Erhaltung der Betriebstemperatur im Fermenter</li> </ul>
<b>Nachteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- zusätzliche Wärmequelle wie Heizkessel notwendig, weil von den meisten BHKW nur etwa 90 °C ausgekoppelt werden können</li> <li>- druckthermische Entspannung und Kühlung des hygienisierten Materials notwendig</li> <li>- hoher Aufwand: Anlagen- und sicherheitstechnisch</li> <li>- umfassende Vorbehandlung des zu hygienisierenden Materials: Zerkleinerung, Störstoffabscheidung</li> </ul>
<b>Ökonomische Bewertung</b>	- zu hohe Kosten und anlagentechnischer Aufwand
<b>Empfehlung</b>	Nicht relevant für landwirtschaftliche Biogasanlagen, weil auch mit der kostengünstigeren Pasteurisierung der Hygienisierungserfolg gewährleistet ist.

**Tabelle 9: Drucksterilisation: Einbauort nach der Vergärung**

Drucksterilisation	
<b>Wirkungsweise</b>	2 bar Überdruck bei 133 °C, Verweildauer 20 min, Dampfinjektion
<b>Einbauort</b>	Vor der Vergärung, zwischen Fermenter und Gärrestlager bzw. Nachgärer und Gärrestlager
<b>Vorteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- sehr sicheres Hygienisierungsverfahren</li> <li>- Wärmerückführung bei der Kühlung möglich</li> <li>- Substrat hat vor dem Hygienisierungsprozess bereits eine Temperatur von etwa 40 °C, d. h. geringerer Wärmebedarf bei der Erhitzung auf 130 °C nötig</li> </ul>
<b>Nachteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- zusätzliche Wärmequelle wie Heizkessel notwendig, weil von den meisten BHKW nur etwa 90 °C ausgekoppelt werden können</li> <li>- druckthermische Entspannung und Kühlung des hygienisierten Materials notwendig</li> <li>- hoher Aufwand: Anlagen- und sicherheitstechnisch</li> <li>- umfassende Vorbehandlung des zu hygienisierenden Materials: Zerkleinerung, Störstoffabscheidung</li> </ul>
<b>Ökonomische Bewertung</b>	- zu hohe Kosten und anlagentechnischer Aufwand
<b>Empfehlung</b>	Nicht relevant für landwirtschaftliche Biogasanlagen, weil auch mit der kostengünstigeren Pasteurisierung der Hygienisierungserfolg gewährleistet ist.

Weil die Drucksterilisation technisch wegen ihres hohen Energieverbrauchs (Zusatzfeuerung unumgänglich), der hohen sicherheitstechnischen Ansprüche (hoher Druck und Temperatur), den hohen Anforderungen an die Substrataufbereitung und der allgemein nötigen Zusatzaggregate (Wärmetauscher, Entspannungsbehälter etc.) deutlich aufwändiger ist, ist ihre Praktikabilität im Bereich der landwirtschaftlichen Biogasanlagen im Vergleich zur Pasteurisierung als gering einzustufen. Dieses wird nicht zuletzt durch die hohen Anforderungen an das Bedienpersonal und dessen höhere Gefährdung noch verstärkt. Weil sämtliche Einsatzstoffe, für deren Verarbeitung eine Vorbehandlung durch Drucksterilisation rechtlich vorgeschrieben ist, und alle mit ihnen in Kontakt gekommenen Substrate nicht als Dünger eingesetzt werden dürfen, wie für Gärreste üblich, sondern z. B. durch Verbrennung entsorgt werden müssen, entfällt auch das Argument eines breiteren Einsatzstoffspektrums. Der technische Umfang und die Komplexität der Drucksterilisationsanlagen bedingen ebenfalls ungleich höhere Investitionskosten. Auch der Aufwand und somit die Kosten für Wartung und Überprüfung der sicherheitsrelevanten Anlagenteile sind als vergleichsweise hoch einzustufen.

Drucksterilisationsanlagen, welche ausreichende Kapazitäten zur Hygienisierung des gesamten Gärsubstrates einer BGA besitzen, sind somit im Vergleich zu entsprechenden Pasteurisationsanlagen im Bereich der landwirtschaftlichen Biogasanlagen als maßgeblich weniger praktikabel einzustufen.

### 3.4.3 Investitionskosten für Hygienisierungsanlagen

Wie in Kap. 3.4.2 festgestellt, ist die Pasteurisierung im Bereich der landwirtschaftlichen Biogasanlagen aus technischer Sicht das praktikabelste Hygienisierungsverfahren. In Tabelle 10 sind die Kosten für entsprechende Anlagen am Beispiel der drei Musteranlagen dargestellt. Technisch handelt es sich dabei um Batch-Pasteurisierungsanlagen. Die Positionierung der Anlage im System spielt bezüglich der Investitionskosten eine vernachlässigbare Rolle.

**Tabelle 10: Investitionskosten Pasteurisierung**

	Musteranlage 1 75 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 2 250 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 3 526 kW <sub>el</sub>
Gesamtkosten netto	137.000 €	137.000 €	155.000 €
zzgl. MwSt. 19 %	26.030 €	26.030 €	29.450 €
Gesamtkosten brutto	163.030 €	163.030 €	184.450 €
spezifische Kosten je kW <sub>el</sub> netto	1.827 €	548 €	620 €
spezifische Kosten je kW <sub>el</sub> brutto	2.174 €	652 €	738 €

Eine Zerkleinerungstechnik vor der Hygienisierungsanlage bzw. dem Feststoffdosierer wurde nicht einkalkuliert, weil davon ausgegangen wurde, dass das Substrat eine Korngröße kleiner als 12 mm hat. Die Abschreibungsdauer beträgt 10 Jahre. In Kap. 4.5.2 wird die Umsetzbarkeit aus der Sicht der Ökonomie am Beispiel der drei Musteranlagen bewertet.

## 3.5 Etablierung und Standardisierung der kulturell-mikrobiologischen Nachweismethoden (qualitativ und quantitativ) mit definierten Proben

Die folgenden DSMZ-Testkeime wurden gemäß Herstellervorgabe in 5 ml Nährbouillon rekonstituiert: *E. coli* ATCC 8739, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Enteritidis* DSM 14221, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* SHV-18 ATCC 700603, *Clostridium (C.) perfringens* ATCC 13124. Für jedes Isolat erfolgte direkt im Anschluss das Überimpfen auf je 1 Platte Columbia Schafblutagar (5 % Schafblut, OXOID) und Gassner-Nährboden (OXOID). Nach 24 h Bebrütung bei 37 °C wurde die Reinheit der Bakterienkultur und das phänotypische Wachstum der Bakterien überprüft.

Des Weiteren wurden die o. g. Stämme und zusätzlich *E. coli* 003-13-2 (CTM-X 15 TEM, Feldisolat), *E. coli* 0010-73-1 (CTM-X 1, Feldisolat), *C. perfringens* (Feldisolat) und *Clostridium botulinum* Typ B BC 36/06 (REB 1931, Feldisolat) auf die spezifisch ausgewählten, zu testenden Agarplatten (siehe Kap. 3.5.2) überimpft, gemäß Herstellerangaben inkubiert und kontrolliert, ob das Wachstum den Herstellerangaben entspricht. Dieses war, mit Ausnahme von *Clostridium perfringens* ATCC 13124, bei allen Agarplatten und Bakterienstämmen gegeben. *Clostridium perfringens* ATCC 13124 entsprach in seinem Wachstum auf Membran Clostridium Perfringens (mCP) Agar nicht den Herstellerangaben, weshalb für die weiteren Versuche ein Feldisolat von *C. perfringens* gewählt wurde, das auf mCP dem vom Hersteller vorgegeben Wachstum entsprach. Von allen Testkeimen wurden Stammkulturen angelegt und bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C gelagert.

### 3.5.1 Etablierung der Nachweismethoden

#### Herstellung einer Testkeim-Spiking-Suspension

48 Stunden vor Versuchsbeginn wurde eine frische Subkultur des Testkeims auf Blutagar (5 % Schafblut, OXOID) angefertigt und für 24 Stunden bei 37 °C (aerob/anaerob) bebrütet. Für die Herstellung der Testkeim-Spiking-Suspensionen wurde von jedem der Testkeime je 1 Kolonie in 10 ml Nährbouillon überimpft und für 24 h bei 37 °C (aerob/anaerob) bebrütet.

Aus jeder Testkeim-Spiking-Suspension wurde eine 1 : 10-Verdünnungsreihe bis zu einer Verdünnung von  $10^{-9}$  hergestellt, wobei für die erste Verdünnungsstufe 1 ml der Keimsuspension in 9 ml Nährbouillon überführt und anschließend mit einem Vortex-Mixer gemischt wurde. Für die nächste Verdünnungsstufe wurde von der entstandenen Suspension 1 ml in 9 ml Nährbouillon übertragen und mit einem Vortex-Mixer gemischt. Dieses wurde bis zur benötigten Verdünnungsstufe fortgeführt. Es wurden je 100 µl auf 2 Platten Standard-Nähragar I (Roth) ausgespatelt und bei 37 °C für 48 h (aerob/anaerob) inkubiert. Nach 24 und 48 h wurden die gewachsenen Kolonien ausgezählt und nach 48 h die Anzahl an Kolonie bildenden Einheiten (KbE)/ml berechnet.

#### Berechnung der Lebendkeimzahl (LKZ)

Anhand der ausgezählten Kolonien auf allen verwendeten Selektivnährböden und dem Standard-Nähragar I wurde die LKZ bzw. die Menge an Kolonie bildenden Einheiten pro Milliliter (KbE/ml) bzw. pro Gramm Probe (KbE/g) berechnet. Zur Berechnung herangezogen wurde die niedrigste Verdünnungsstufe, die noch auszählbar war, d. h. auf der weniger als 100 Kolonien gewachsen waren. Die Berechnung erfolgte mit folgender Formel:

$$\blacksquare \text{KbE/ml} = \frac{\Sigma c}{n * d * v}$$

■ Wenn:

- $\Sigma c$  = die Summe aller ausgezählten Kolonien der ausgewählten Verdünnungsstufe
- n = Anzahl der ausgezählten Platten der ausgewählten Verdünnungsstufe
- d = Verdünnungsstufe, die ausgewählt wurde
- v = Volumen, das ausgespatelt wurde (0,1 ml)

### Vorbereiten der Untersuchungs-Matrix

Zur Etablierung der bakteriologischen Nachweismethoden wurden autoklavierte Gärreste aus einer hauptsächlich mit Schweinegülle gefütterten Biogasanlage verwendet. Die Gärreste wurden in autoklavierbaren Gefäßen ohne Deckel bei 121 °C für 60 Minuten autoklaviert. Als Sterilitätskontrolle wurden anschließend Columbia-Blutagar-Platten (5 % Schafblut, OXOID) mit dem Gärrest beimpft und für 24 Stunden bei 37 °C bebrütet.

Aus der hergestellten Testkeim-Spiking-Suspension wurde eine 1 : 10-Verdünnungsreihe in Nährbouillon bis zur Verdünnungsstufe  $10^{-8}$  hergestellt. Die Beimpfung der Matrix (autoklavierter Gärrest) erfolgte mit fünf definierten Keimmengen. 9 ml Matrix wurden mit 1 ml Testkeim-Spiking-Suspension beimpft. Die Ausgangskeimmengen wurde so gewählt, dass eine eindeutige Wiederfindung möglich war, aber auch Mengen im Bereich der theoretischen unteren Nachweisgrenze (= 1 Kolonie/Platte) bzw. darunter eingesetzt wurden. Jede beimpfte Matrix wurde mit 90 ml steriler Nährbouillon aufgefüllt und für 60 Sekunden gründlich im Stomacher durchmischt. Im Anschluss daran wurde eine 1 : 10-Verdünnungsreihe der beimpften Matrix in Nährbouillon hergestellt und je 100 µl im Doppelansatz auf die in Kap. 3.5.2 aufgeführten Nährmedien ausgespatelt. Nach einer Bebrütung von 48 h bei 37 °C (aerob/anaerob) wurden die KbE/ml berechnet. Für jedes Nährmedium wurden drei unabhängige Versuchsdurchgänge durchgeführt. Die Berechnung der analytischen Sensitivität zur Festlegung der unteren Nachweisgrenze (Probit Analyse) wurde mit dem Statistikprogramm „R“ Version 3.0.2 (R Development Core Team, 2014) durchgeführt. Das 95 %-Detektionslimit wurde mittels der „dose.p function“ der MASS Anwendung nach VENABLES & RIPLEY (2002) kalkuliert.

### 3.5.2 Verwendete Testorganismen und Nährmedien

Als Referenzkeime (ATCC, DSMZ) zur Test-Etablierung wurden die vom Plattenhersteller (OXOID) angegebene Positivkontrollen für die jeweiligen Selektivnährböden und Feldisolate verwendet. Die Feldisolate *E. coli* 003-13-2 (CTM-X 15 TEM) und *E. coli* 0010-73-1 (CTM-X 1) wurden von Dr. Mirjam Grobbel, Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung, zur Verfügung gestellt.

Im Folgenden sind die Testkeime mit dazugehörigen Selektivnährböden aufgelistet.

#### ■ *Escherichia coli* ATCC 25922

- Tergitol 7 Lactose TCC Agar (OXOID)
- *Brilliance*<sup>TM</sup> *E. coli*/Coliform Selektiv (OXOID)

#### ■ *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028

#### ■ *Salmonella* Enteritidis DSM 14221

- *Brilliance*<sup>TM</sup> *Salmonella* Agar (OXOID)
- XLT4 Agar (OXOID)

- XLD Agar (OXOID)
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
  - Slanetz Bartley Agar (Enterokokken Nährboden) (OXOID)
  - Enterococcus Selektivagar (BAA) (Galle Äsculin Azid Agar) (OXOID)
- *Klebsiella pneumoniae* SHV-18 ATCC 700603, *Escherichia coli* 003-13-2 (CTM-X 15 TEM), *Escherichia coli* 0010-73-1 (CTM-X 1)
  - Brilliance™ ESBL (OXOID)
- *Clostridium perfringens*
  - Membran Clostridium Perfringens (mCP) Agar (OXOID)
  - Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) Agar (OXOID) – Überschichtung mit TSC Agar Basis
- *Clostridium botulinum* Typ B BC 36/06 (REB 1931)
  - Eigelb-Laktose-Agar (eigene Herstellung, Rezept siehe Anhang)
  - TPYG Bouillon (eigene Herstellung, Rezept siehe Anhang)

## 3.6 Probennahme, Transport und Lagerung

### Probennahme

Zur Überprüfung, ob die unter optimalen Laborbedingungen ausgewählten Nachweismethoden tatsächlich praxistauglich sind, wurden Proben in den Biogasanlagen der Pilotbetriebe entnommen und im Labor untersucht. Die Probenentnahme erfolgte durch einen Mitarbeiter des Instituts für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen an der Universität Leipzig im Zuge der Datenerhebung mittels Fragebogen.

Es wurden zehn BGA beprobt. Die Anlagenbetreiber wurden im Vorfeld gebeten, die Behältnisse (z. B. Fermenter), aus denen die Proben gewonnen wurden, nach Möglichkeit mindestens ½ Stunde vor Probennahme aufzurühren. Dies war nicht in allen Anlagen möglich, weil vor allem die Gärresteendlager zum Teil erst vor der Ausbringung von Gärresten zur Düngung aufgerührt werden. So ergab es sich, dass der Betrieb PB 7 zwei Mal beprobt wurde; beim ersten Besuch im Zuge der Datenerhebung und zeitlich versetzt das Endlager nach dem Aufrühren. Die Probennahme richtete sich nach den örtlichen baulichen Gegebenheiten. Wenn vorhanden, wurden die Proben aus einem Probenentnahmehahn entnommen. Hierbei wurden die ersten 20 l Probe aus dem Hahn verworfen, danach ca. 1 bis 3 Liter Probe in ein steriles Weithalsgefäß abgefüllt und dieses verschlossen.

War kein Probenentnahmehahn vorhanden, wurde die Probe mit einem Jaucheschöpfer entnommen, in ein steriles Weithalsgefäß gefüllt und verschlossen. Aufgrund der unterschiedlichen baulichen Gegebenheiten in den verschiedenen Biogasanlagen, konnten nicht bei allen Anlagen Proben aus den gleichen Betriebsabschnitten genommen werden. In der folgenden Übersicht ist aufgeführt, aus welchem Bereich der Biogasanlage in den einzelnen Pilotbetrieben die Proben entnommen wurden:

- PB2: Fermenter I, Fermenter II, Nachgärer
- PB3: Fermenter, Nachgärer
- PB4: Vorgrober, Fermenter, Nachgärer, Endlager

- PB5: Vorgrube, Fermenter, Nachgärer
- PB6: Fermenter, Nachgärer, Endlager I, Endlager II
- PB7: Fermenter, Endlager
- PB8: Fermenter I, Fermenter II
- PB9a: Hydrolyse 1, Hydrolyse 2, Fermenter I, Fermenter II
- PB9b: Hydrolyse, Fermenter
- PB10: Vorgrube, Fermenter, Nachgärer

### Transport

Der Transport erfolgte in Weithalsgefäßen, ungekühlt, weil eine Zeitspanne von maximal 3 h bis zur Untersuchung im Labor eingehalten wurde.

### Lagerung

Die Untersuchung der entnommenen Proben erfolgte jeweils am selben Tag. Nach der Untersuchung wurden je Probe 2 x 50 ml als Rückstellprobe bei -80 °C aufbewahrt. Die restliche Probenmenge wurde gekühlt bei +5 °C gelagert, bis die Auswertung der Untersuchungen abgeschlossen war.

## 3.7 Verifikation der ausgewählten Verfahren an Feldproben

Die Proben aus den Biogasanlagen wurden im Transportbehälter gut durchmischt. Von jeder Probe wurden mit einem sterilen Löffel 1 x 10 g in ein steriles Becherglas und weitere 10 g in einen sterilen Plastikbeutel (Stomacherbeutel) abgewogen. In einem Fall waren mehrere Proben aus einem Fermenter entnommen worden. Diese wurden in einem sterilen Gefäß miteinander gemischt und als Sammelprobe untersucht. Das Becherglas wurde mit Autoklavierfolie abgedeckt und für 15 Minuten bei 65 °C im Wasserbad erhitzt.

Die Probe im Plastikbeutel wurde mit 90 ml steriler Nährbouillon aufgefüllt und für 60 Sekunden im Stomacher gründlich durchmischt. Aus dieser Probe wurde eine 1 : 10-Verdünnungsreihe bis zu der Verdünnungsstufe von  $10^{-6}$  hergestellt. Im Doppelansatz wurden je 100 µl auf die verschiedenen Selektivnährmedien und zur Bestimmung der LKZ auch auf Standard-Nähragar I aufgebracht. Diese wurden 48 Stunden bei 37 °C (aerob/anaerob) bebrütet. Die Anzahl der gewachsenen Kolonien wurde nach 24 und 48 Stunden kontrolliert und dokumentiert.

Aus der im Wasserbad erhitzten Probe wurde ebenfalls eine Verdünnungsreihe bis zu der Verdünnungsstufe  $10^{-6}$  hergestellt. Im Doppelansatz wurden je 100 µl dieser Verdünnungsstufen auf die Nährmedien für anaerobe Keime aufgebracht und im Anaerobiertopf (AnaeroJar<sup>TM</sup>, OXOID) für 72 Stunden bei 37 °C bebrütet. Nach 24 und 48 bzw. 72 Stunden wurde die Anzahl der gewachsenen Kolonien kontrolliert und dokumentiert. Die Nährmedien für anaerobe Bakterien wurden vor der Verwendung in sauerstoffreduzierter Atmosphäre gelagert. Zusätzlich wurden je 500 µl dieser Probe in 2 x 5 ml TPYG-Bouillon übertragen und für fünf Tage unter anaeroben Bedingungen (AnaeroJar<sup>TM</sup>, OXOID) bei 37 °C angereichert. Nach Ablauf der Zeit wurde diese Anreicherung bis zur Untersuchung mittels PCR bei -80 °C gelagert. Sie wurden für die molekularbiologische Untersuchung auf *C. botulinum* (siehe Kap. 3.8.3) und *C. perfringens* (siehe Kap. 3.8.2) eingesetzt.

### Identifizierung ESBL-verdächtiger Kolonien

Wurden auf dem *Brilliance*<sup>™</sup> ESBL Agar verdächtige Kolonien gezählt, so wurde von jeder phänotypisch unterschiedlichen Kolonie je eine Subkultur auf Schafblutagar (5 % Schafblut) und Gassner Nährboden angefertigt. Die Identifizierung der Spezies erfolgte anhand der Koloniemorphologie und des typischen Wachstums auf den beiden Nährmedien, der Färbung nach Gram, der Katalase-, Oxidase- und Indolreaktion sowie mittels des kommerziell erhältlichen RapID<sup>™</sup> ONE Kit (Remel).

### Identifizierung *Salmonella*-verdächtiger Kolonien

Wurden auf dem *Brilliance*<sup>™</sup> Salmonella Agar verdächtige Kolonien registriert, so wurde von diesen eine Subkultur auf Schafblutagar (5 % Schafblut), Gassner Nährboden und XLT4 Agar angefertigt. Die weitere Identifizierung erfolgte anhand der Koloniemorphologie und des typischen Wachstums auf den Nährmedien, der Färbung nach Gram, der Katalase-, Oxidase- und Indolreaktion sowie mittels kommerziell erhältlicher Biochemie (RapID<sup>™</sup> ONE Kit, Remel) und Agglutinationsseren (Sifin).

### Differenzierung von Clostridien

Wurden auf dem Eigelb-Laktose-Agar verdächtige Kolonien gefunden, so wurde von diesen je eine Subkultur auf vorreduziertem Schafblutagar (5 % Schafblut) hergestellt. Zusätzlich wurde eine aerobe Wachstumskontrolle angelegt. Die Identifizierung der Spezies erfolgte anhand der Koloniemorphologie und des typischen Wachstums, der Färbung nach Gram sowie mittels des kommerziell erhältlichen RapID<sup>™</sup> ANA II Kit (Remel).

## 3.8 Etablierung der molekularbiologischen Nachweismethoden für Clostridien

### 3.8.1 Aufbereitung der Proben

Die Aufbereitung der Bakterienisolate für den Einsatz in der PCR erfolgte mittels QIAamp<sup>®</sup> DNA Mini Kit der Firma Qiagen gemäß den Anweisungen des Herstellers. Für die Aufreinigung von genomischer DNA aus den bei -80 °C gelagerten Rückstellproben wurde das QIAamp<sup>®</sup> Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen) nach der Arbeitsanweisung des Herstellers zur „Aufreinigung von DNA aus großen Mengen Kot“ eingesetzt. Die DNA-Isolierung aus den Anreicherungen in TPYG erfolgte ebenfalls mittels QIAamp<sup>®</sup> Fast DNA Stool Mini Kit gemäß „Protokoll zur Aufreinigung von DNA aus Stuhlproben für den Nachweis von Pathogenen“. Es wurde zu jeder Aufreinigung eine Aufreinigungskontrolle mitgeführt. Hierfür wurde anstelle des Probenmaterials destilliertes Wasser verwendet. Die aufgereinigte DNA wurde bis zu ihrer Verwendung bei -20 °C gelagert.

### 3.8.2 Nachweis und Typisierung von *Clostridium perfringens*

Der molekularbiologische Nachweis von *C. perfringens* erfolgte über die Detektion der Toxin-Gene ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta_2$ , Enterotoxin,  $\epsilon$ ,  $\iota$ ) mittels konventioneller Multiplex PCR nach dem Protokoll von VAN ASTEN et al. (2009). Dieses Verfahren wurde zur Typisierung aller mittels RapID<sup>™</sup> ANA II als *C. perfringens* charakterisierte Feldisolate eingesetzt. Darüber hinaus wurde es für den Nachweis von *C. perfringens* aus TPYG-Flüssigkultur verwendet, sofern die Originalproben im Kulturverfahren (Eigelb-Laktose Agar, TSC Agar) *C. perfringens*-negativ waren. Zusätzlich wurde untersucht, ob dieses PCR-Verfahren für die direkte Anwendung unter Verwendung von DNA aus Gärprodukt bzw. Gärrest (Rückstellproben) geeignet ist. Die für die Etablierung der PCR sowie als Positivkontrollen verwendeten Referenzstämme sind in Tabelle 11 aufgeführt. *C. sordellii*, *C. bifermentans*, *C. sporogenes*, *C. butyricum* und *C. difficile* wurden als Negativkontrollen (analytische Spezifität der PCR) mitgeführt.

### 3.8.3 Nachweis von *Clostridium botulinum*

Der Nachweis von toxinbildenden *C. botulinum* aus TPYG-Flüssigkultur erfolgte nach dem Protokoll von HILL et al. (2010). Hierbei wird zunächst eine konventionelle PCR zum Nachweis des NTNH-Gens (Nicht-Toxin-Nicht-Hämagglutinin) durchgeführt, das bei allen Toxin bildenden *C. botulinum* vorkommt. Alle in der NTNH-PCR positiven Proben werden anschließend mit einer real-time PCR auf die Neurotoxin-Gene (BoNT A bis F) untersucht, um den Toxintyp zu bestimmen. Die verwendeten Referenzstämme für die PCR-Etablierung und als Positivkontrollen sind in Tabelle 12 aufgeführt. *C. sordellii*, *C. bifermentans*, *C. sporogenes*, *C. butyricum* und *C. difficile* wurden als Negativkontrollen (analytische Spezifität der PCR) mitgeführt.

### 3.8.4 Verwendete Testorganismen

**Tabelle 11: Positivkontrollen für die *C. perfringens* Toxin-Gen PCR**

Referenzstamm	Toxin-Gene	Herkunft
<i>C. perfringens</i> Typ A DSM 756	α-Toxin β <sub>2</sub> -Toxin	Leibniz-Institut Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig
<i>C. perfringens</i> Typ B ATCC 3626	α-Toxin β-Toxin ε-Toxin β <sub>2</sub> -Toxin	Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin
<i>C. perfringens</i> Typ C NCTC 3180	α-Toxin β-Toxin	Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin
<i>C. perfringens</i> Typ D IMT 5029/160	α-Toxin ε-Toxin	Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin
<i>C. perfringens</i> Typ E ATCC 27324	α-Toxin Enterotoxin β <sub>2</sub> -Toxin ι-Toxin	Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin

**Tabelle 12: Positivkontrollen für die *C. botulinum* PCR**

Referenzstamm	Toxin-Gene	Herkunft
<i>Clostridium botulinum</i> Typ A S0174/09 (REB 1472)	NTNH-Gen BoNT A	Friedrich-Loeffler-Institut, Jena
<i>Clostridium botulinum</i> Typ B BC 36/06 (REB 1931)	NTNH-Gen BoNT B	Friedrich-Loeffler-Institut, Jena
<i>Clostridium botulinum</i> Typ C S0028/10 (REB 1455)	NTNH-Gen BoNT C	Friedrich-Loeffler-Institut, Jena
<i>Clostridium botulinum</i> Typ D B-1720-01	NTNH-Gen BoNT D	Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr, München
<i>Clostridium botulinum</i> Typ E S0187/09 (REB 1718)	NTNH-Gen BoNT E	Friedrich-Loeffler-Institut, Jena
<i>Clostridium botulinum</i> Typ F BC 69/06 (NCTC 10281)	NTNH-Gen BoNT F	Friedrich-Loeffler-Institut, Jena

# 4 Ergebnisse

## 4.1 Vorbereitung zur Etablierung der Nachweismethoden

### Herstellung einer Testkeim-Spiking-Suspension

Als Vorbereitung zur Etablierung der Nachweisverfahren wurde von jedem Referenzstamm eine Keimsuspension hergestellt und deren LKZ auf Standard-Nähragar I überprüft. Mit diesem Versuchsansatz konnten die folgenden Keimmengen erzielt werden:

<i>E. coli</i> (ATCC 8739, DSM 1576)	$3,0 \times 10^8$ KbE/ml
<i>S. Typhimurium</i> (ATCC 14028)	$1,2 \times 10^9$ KbE/ml
<i>S. Enteritidis</i> (DSM 14221)	$7,6 \times 10^8$ KbE/ml
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	$3,6 \times 10^8$ KbE/ml
<i>K. pneumoniae</i> SHV-18 ATCC 700603	$1,8 \times 10^8$ KbE/ml
<i>E. coli</i> 0010-73-1 (CTM-X 1)	$3,4 \times 10^8$ KbE/ml
<i>E. coli</i> 003-13-2 (CTM-X 15 TEM)	$3,8 \times 10^8$ KbE/ml
<i>C. perfringens</i>	$2,0 \times 10^6$ KbE/ml
<i>C. botulinum</i>	ca. $10^2$ KbE/ml

Mit Ausnahme von *C. perfringens* und *C. botulinum* lagen die Ergebnisse im Bereich der Vorgabe, die gemäß CEN BT/TF 151 – WP3 Part I, Annex H (EFSA, 2007) in der Testkeim-Spiking-Suspension vorhanden sein sollte (i.e.  $10^7$ - $10^9$  KbE/ml). Mit *C. botulinum* wurden in mehreren Versuchsansätzen nicht mehr als  $10^2$  KbE/ml erreicht. Aus diesem Grund wurde entschieden, auf ein Austesten der ausgewählten Nährmedien für *C. botulinum* zu verzichten. Für alle anderen Testkeime wurde die Herstellung der Testkeim-Spiking-Suspensionen nach dem unter Kap. 3.5.1 beschriebenen Verfahren durchgeführt.

## 4.2 Auswahl der Nährmedien

Die Ergebnisse der folgenden Abschnitte sind in Tabelle 13 aufgeführt.

### 4.2.1 *Salmonella Typhimurium* und *S. Enteritidis*

Alle drei ausgewählten Nährböden waren für die Anzucht von *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* aus beimpfter Matrix geeignet. Hinsichtlich der Nachweisgrenzen ergaben sich zwischen den beiden Salmonellen-Arten und bei der Verwendung der verschiedenen Nährböden auffällige Unterschiede (Tabelle 13). *Brilliance*<sup>TM</sup> Salmonella Agar ergab eine Nachweisgrenze von 8 bzw. 9 KbE/ml und wurde zur Untersuchung der Feldproben ausgewählt. Als so genannter chromogener Nährboden bietet *Brilliance*<sup>TM</sup> Salmonella Agar durch Farbdifferenzierung der gewachsenen Bakterienkolonien eine einfachere Identifizierung im Vergleich zu traditionellen Nährmedien. Gemäß Hersteller wachsen Salmonellen (einschließlich Laktose-positiver Salmonellen) violett-rosa, während andere Spezies aus der Familie *Enterobacteriaceae* blau oder farblos erscheinen.

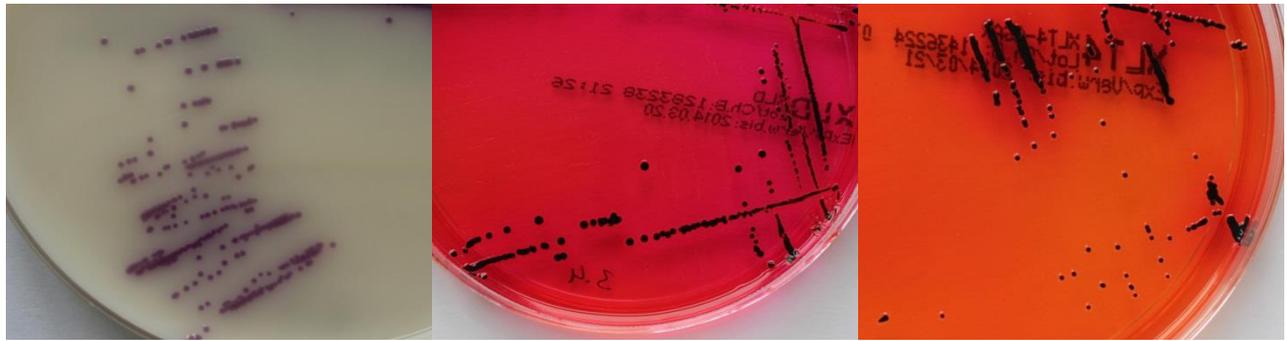


Abbildung 17: (v. l. n. r.) *Salmonella* Typhimurium auf *Brilliance*<sup>™</sup> Salmonella Agar, *Salmonella* Enteritidis auf XLD Agar und *Salmonella* Enteritidis auf XLT4 Agar

#### 4.2.2 *Enterococcus faecalis*

Auf Slanetz Bartley Agar waren die Kolonien von *Enterococcus faecalis* nach 24 h sehr fein (stecknadelspitzen groß), erreichten jedoch nach 48 h eine Größe von 1 mm (Abbildung 18 rechts). Die Koloniefarbe variierte von rötlich-braun bis rot. Als Indikator im Nährboden dient Triphenyltetrazoliumchlorid. Enterokokken können dieses Salz zu einem unlöslichen rötlichen Formazanfarbstoff reduzieren. Im Gegensatz dazu hatten die Kolonien auf Enterococcus Selektivagar bereits nach 24 h einen Durchmesser von >1 mm und zeigten einen charakteristischen braun-schwarzen bis schwarzen Hof um die Kolonie, der dem Nachweis der Äskulinspaltung dient (Abbildung 18 links). Trotz der Schwarzfärbung des Agars, die typischerweise das Wachstum von fäkalen Streptokokken der Lancefield Gruppe D (Enterokokken) anzeigt, war die Auswertung gut durchführbar. In diesem Versuch waren alle Versuchsdurchläufe sowohl auf Slanetz Bartley Agar als auch auf Enterococcus Selektivagar auswertbar. Für beide Nährmedien lag die untere Nachweisgrenze bei 11 KbE/ml (Tabelle 13). Demzufolge sind beide Nährmedien gleich gut geeignet, um für die Untersuchung von Feldproben eingesetzt zu werden. Aufgrund der besseren Auswertung, d. h. der größeren Kolonieförmigkeit nach 24 h, wurde für die Untersuchung von Gärresten der Enterococcus Selektivagar (Galle Äskulin Azid Agar) ausgewählt.

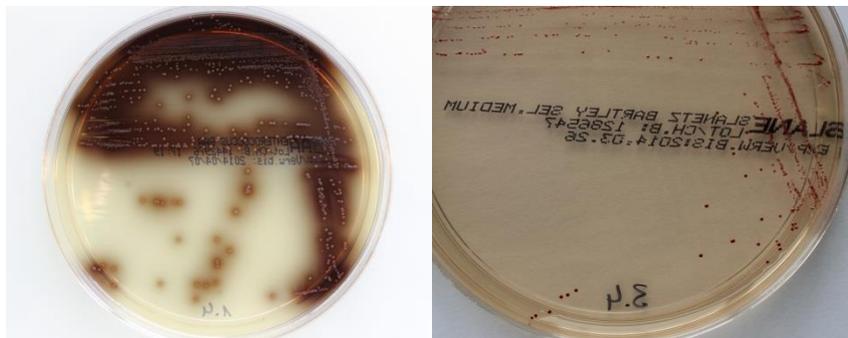


Abbildung 18: (v. l. n. r.) *Enterococcus faecalis* auf Enterococcus Selektivagar (BAA) und *Enterococcus faecalis* auf Slanetz Bartley Agar

#### 4.2.3 *E. coli*

Sowohl Tergitol 7 Lactose TTC Agar als auch *Brilliance*<sup>™</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar erwiesen sich als geeignet zum Nachweis von *E. coli* aus beimpfter Matrix. Phänotypisch erscheinen die Kolonien auf Tergitol 7 Lactose TTC Agar gelb (Abbildung 19 links) und auf *Brilliance*<sup>™</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar sind die Kolonien violett (Abbildung 19 rechts). Bei der Verwendung von TTC Agar lag die untere Nachweisgrenze bei 38 KbE/ml während *Brilliance*<sup>™</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar 5 KbE/ml sicher detektiert (Tabelle 13). Aufgrund der höheren Sensitivität und der Differenzierungsmöglichkeit zwischen *E. coli* und coliformen Keimen wurde der chromogene *Brilliance*<sup>™</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar zur Untersuchung der Feldproben ausgewählt. Die im Agar verwendeten chromogenen Substrate werden durch zwei Enzyme umgesetzt und bilden im

Ergebnis violett-gefärbte *E. coli*-Kolonien während coliforme Keime rosa und andere Bakterien farblos oder blau gefärbt sind.



**Abbildung 19:** (v. l. n. r.) *E. coli* auf Tergitol 7 Lactose TTC Agar und *E. coli* auf *Brilliance™* E. coli/Coliform Selektiv Agar

#### 4.2.4 ESBL-bildende *E. coli* 0010-73-1 (CTM-X 1), 003-13-2 (CTM-X 15 TEM)

Der *Brilliance™* ESBL Agar funktioniert ebenfalls auf der Basis chromogener Substrate und kann direkt mit Stuhlproben beimpft werden. Durch die chromogenen Substanzen kann zwischen den am meisten verbreiteten ESBL-bildenden Organismen unterschieden werden. Gemäß Hersteller wächst *E. coli* blau/türkis oder pink/rosa (Galactosidase-negativ). Die beiden verwendeten ESBL-bildenden *E. coli* waren auf diesem Agar in verschiedenen Blautönen gefärbt. *E. coli* 0010-73-1 erscheint auf dem *Brilliance™* ESBL Agar in einem dunkleren Blau (Abbildung 20 links). Deutliche Unterschiede zeigten sich auch hier in der Nachweisgrenze, die für *E. coli* 0010-73-1 5 KbE/ml betrug und bei *E. coli* 003-13-2 bei 23 KbE/ml lag (Tabelle 13).



**Abbildung 20:** *E. coli* 0010-73-1 (links) und *E. coli* 003-13-2 (rechts) auf *Brilliance™* ESBL Agar

#### 4.2.5 ESBL-bildende *Klebsiella pneumoniae* SHV-18 ATCC 700603

Phänotypisch wächst *K. pneumoniae* SHV-18 auf dem *Brilliance™* ESBL Agar in hellem Türkisblau (Abbildung 21). Die Kolonien waren nach 24 h Inkubation bei 37 °C sehr fein. Ein definitives Auszählen war erst nach einer Inkubationszeit von 48 h möglich, weil sich die Anzahl der Kolonien nach 48 h im Vergleich zu der Anzahl nach 24 h noch erheblich änderte. 11 KbE/ml waren mit dem *Brilliance™* ESBL Agar sicher nachweisbar (Tabelle 13).



Abbildung 21: *K. pneumoniae* SHV-18 auf Brilliance™ ESBL Agar

#### 4.2.6 *Clostridium perfringens*

Beide Selektivnährmedien erwiesen sich als geeignet, um *C. perfringens* in beimpfter Matrix nachzuweisen. Sowohl mCP als auch TSC-Agar benötigen für die eindeutige Auswertung eine zusätzliche Behandlung. Bei der Verwendung von mCP Agar müssen die verdächtigen, opak-gelb wachsenden Kolonien auf der Platte mit Ammoniak bedampft werden. Ein Farbumschlag nach rosarot zeigt den Nachweis von *C. perfringens* an. Der TSC-Agar muss nach dem Beimpfen überschichtet werden, damit die Kolonien eine deutliche Schwarzfärbung ausbilden. Durch Aktivität des *C. perfringens*-Enzyms Lecithinase entstehen opak-weiße Zonen um die Kolonie, die in Abbildung 22 deutlich zu erkennen sind. Durch die notwendige Überschichtung ist dieses Kultur-Verfahren im Vergleich zur Verwendung des mCP Agar aufwändiger. Verdächtige schwarze Kolonien ohne eindeutig opake Zone mussten darüber hinaus subkultiviert und biochemisch bestätigt werden. Trotz der geringeren Sensitivität (11 KbE/ml) fiel die Entscheidung zu Gunsten des TSC Agars aus, weil hier kein Hantieren mit der offenen Platte über einer Ammoniakflasche, wie bei der Verwendung von mCP Agar, nötig ist. Darüber hinaus zeigte sich in den Vorversuchen mit dem mCP Agar, dass der Farbumschlag nach rosarot nach der Bedampfung nicht immer eindeutig ist und zu Interpretationsschwierigkeiten führt.

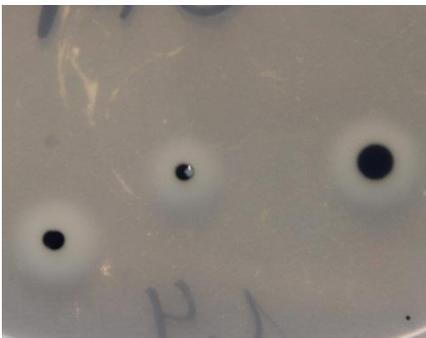


Abbildung 22: *C. perfringens* (Feldisolat) auf TSC-Agar

**Tabelle 13: Bestimmung der Nachweisgrenze für verschiedene Nährmedien**

Indikatorkeim	Nachweisgrenze der verschiedenen Nährmedien (Probitanalyse, p=0.95)									
	XLD	XLT4	B SALM	Slanetz-Bartley	EBAA	B E. coli	TTC	B ESBL	TSC	mCP
<i>S. Typhimurium</i>	8 KbE/ml	9 KbE/ml	8 KbE/ml	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
<i>S. Enteritidis</i>	18 KbE/ml	90 KbE/ml	9 KbE/ml	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
<i>E. faecalis</i>	nt	nt	nt	11 KbE/ml	11 KbE/ml	nt	nt	nt	nt	nt
<i>E. coli</i>	nt	nt	nt	nt	nt	5 KbE/ml	38 KbE/ml	nt	nt	nt
<i>K. pneumoniae</i> ESBL	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	11 KbE/ml	nt	nt
<i>E. coli</i> 0010-73-1	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	5 KbE/ml	nt	nt
<i>E. coli</i> 003-13-2	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	23 KbE/ml	nt	nt
<i>C. perfringens</i>	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	11 KbE/ml	2 KbE/ml

nt = nicht getestet, B SALM = Brilliance™ Salmonella, EBAA = Enterococcus Selektivagar, B E. coli = Brilliance™ E. coli/Coliform Selektiv, TTC = Tergitol 7 Lactose TTC Agar, B ESBL = Brilliance™ ESBL

## 4.3 Verifikation der etablierten Nachweismethoden an Feldproben

Aufgrund der Ergebnisse aus der Nachweisverfahren-Etablierung wurden zunächst folgende Nährmedien zur bakteriologischen Untersuchung der Feldproben eingesetzt: *Brilliance*<sup>™</sup> Salmonella Agar, *Brilliance*<sup>™</sup> E. coli/Coliform Selektiv Agar, *Brilliance*<sup>™</sup> ESBL Agar, *Enterococcus* Selektivagar und TSC-Agar überschichtet mit TSC-Agar Basis. XLT4-Agar wurde als zweites festes Selektivmedium für den Salmonellennachweis verwendet. Obwohl die Auswahl des optimalen Nährmediums für *C. botulinum* mit dem gewählten Verfahren nicht durchgeführt werden konnte, wurde Eigelb-Laktose-Agar zur Untersuchung der Feldproben auf *C. botulinum* eingesetzt. Zusätzlich wurde eine Anreicherung in TPYG-Bouillon angesetzt.

Bei der Untersuchung von Proben aus den verschiedenen Biogasanlagen zeigte sich, dass die mikrobielle Begleitflora das Ergebnis der Anzucht auf einigen Selektivnährmedien stark beeinflusste. Dieses führte u. a. zur notwendigen Bestätigung verdächtiger Bakterienkolonien bzw. zum Wechsel eines Nährmediums im Verlauf der Untersuchungen.

### *Brilliance*<sup>™</sup> Salmonella Agar

Auf dem *Brilliance*<sup>™</sup> Salmonella Agar waren in einigen Proben nach 48-stündiger Inkubation bei 37 °C Salmonellen-verdächtige, violett-pink erscheinende Kolonien zu erkennen (Abbildung 23). Darüber hinaus wurde eine unspezifische Verfärbung des Mediums beobachtet.



**Abbildung 23: Feldprobe auf *Brilliance*<sup>™</sup> Salmonella Agar**

Alle phänotypisch verdächtigen Kolonien wurden auf Blutagar, XLT4 Agar und Gassner Medium subkultiviert. Aufgrund weiterführender Differenzierungen stellte sich in allen Fällen heraus, dass es sich nicht um Salmonellen, sondern um *Citrobacter* spp. bzw. in einem Fall um *Providentia rettgeri* handelte.

### *Enterococcus* Selektivagar

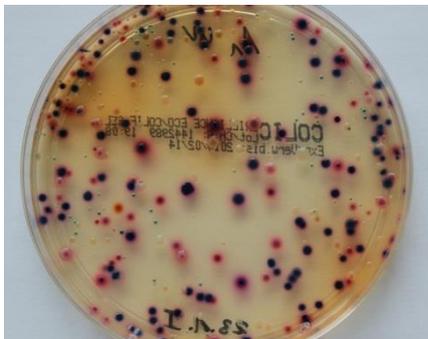
Entgegen der Ergebnisse aus der Etablierung der Nachweismethoden erwies sich der *Enterococcus* Selektivagar bei der Untersuchung von Feldproben als nicht praktikabel bzw. auswertbar. Die in den Proben enthaltene Begleitflora verursachte eine intensive Schwarzfärbung des gesamten Nährbodens (Abbildung 24). Hierdurch war nicht mehr eindeutig zu differenzieren, welche Kolonien einen braun-schwarzen Hof aufwiesen, der charakteristisch für fäkale Enterokokken ist. Aufgrund dessen wurde bei den weiteren Untersuchungen im Rahmen des Projektes der Nachweis auf Enterokokken mittels Slanetz Bartley Agar durchgeführt. Bedingt durch das feine Erscheinungsbild der Kolonien auf Slanetz Bartley Agar nach 24 h Bebrütung wurde die Auswertung auf diesem Nährboden im weiteren Projektverlauf nach 48 und 72 h durchgeführt.



**Abbildung 24: Feldprobe auf *Enterococcus* Selektivagar (links) und Slanetz Bartley Agar (rechts)**

### **Brilliance™ E. coli/Coliform Selektiv Agar**

Dieser Agar zeigte sich bei der Verifikation der etablierten Nachweismethoden fast identisch zu den Versuchen im Rahmen der Methodenetablierung. Die Kolonien von *E. coli* (dunkelviolett) und coliformen Keimen (rosarot) waren farblich gut zu differenzieren (Abbildung 25). Lediglich bei einigen Kolonien, die nach 24 h als coliforme Keime identifiziert wurden (Farbe rosarot), war nach 48 h eine Farbänderung in Richtung violett (*E. coli*) zu beobachten.



**Abbildung 25: Feldprobe auf Brilliance™ E. coli/Coliform Selektiv Agar**

### **TSC-Agar und Eigelb-Laktose-Agar**

Bei den anaerob bebrüteten Nährmedien (Eigelb-Laktose Agar, TSC-Agar) zeigte sich, dass das Erhitzen der zu untersuchenden Probe für 15 min bei 65 °C zu einem häufigeren Nachweis von *C. perfringens* führte. Darüber hinaus ist bei der Anwendung von Eigelb-Laktose Agar, ebenso wie bei der Verwendung des Slanetz Bartley-Agars, eine Auswertung nach 48 und 72 h sinnvoll. Im Gegensatz dazu zeigte der TSC Agar nach 24 h gut auszählbare Kolonien. Nach 48 h wurde die Schwarzfärbung, ähnlich der des Enterococcus Selektivagars, so intensiv, dass eine Zuordnung zu einzelnen Kolonien nicht mehr möglich war.

#### **4.3.1 Keimgehalt in den Feldproben**

Die qualitative und quantitative Untersuchung der Feldproben mittels der vorangehend beschriebenen Nährmedien erfolgte auf Enterokokken, Salmonellen, *E. coli*, coliforme Keime, ESBL-bildende Bakterien, *C. perfringens* und *C. botulinum*. Darüber hinaus wurde die aerobe Lebendkeimzahl auf Standard-Nähragar I bestimmt. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung der jeweils zur Verfügung stehenden Proben aus den BGA sind in den Tabellen 14 bis 19 aufgelistet. Alle BGA, die teilgenommen haben, wurden mit mesophiler Prozessführung betrieben. In einer Anlage war ein thermophiler Nachgärer vorhanden.

### Aerobe Lebendkeimzahl auf Standard-Nähragar

Die aerobe Lebendkeimzahl lag zwischen  $10^5$  und  $10^8$  KbE/g Probe (Tabelle 14). Zum Teil war im Verlauf des Biogasprozesses eine Keimreduktion um bis zu 3  $\log_{10}$ -Stufen zu erkennen, was bereits in anderen Studien beobachtet wurde.

**Tabelle 14: Aerobe Lebendkeimzahl (KbE/g) in den Proben aus BGA**

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	Nachgärer	Endlager I	Endlager II
PB 2				$1,8 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$		
PB 3				$1,1 \times 10^8$		$2,3 \times 10^6$ <sup>T</sup>		
PB 4			$1,3 \times 10^8$	$7,8 \times 10^6$		$3,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$	
PB 5			$2,9 \times 10^8$	$2,6 \times 10^7$		$8,6 \times 10^6$		
PB 6				$2,3 \times 10^6$		$2,1 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$
PB 7				$1,4 \times 10^7$			$2,4 \times 10^6$	
PB 8				$4,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$			
PB 9a	$4,8 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$		$1,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$			
PB 9b	$7,8 \times 10^7$			$3,6 \times 10^6$				
PB 10			$5,4 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$		

<sup>T</sup> – thermophil betriebener Nachgärer

### Enterokokken

Beim Nachweis von Enterokokken aus den Feldproben lag der Keimgehalt zwischen  $10^2$  und  $10^6$  KbE/g Probe (Tabelle 15). In einer Biogasanlage (PB 6) waren Enterokokken nur in der Probe aus dem Fermenter nachweisbar. Eine Reduktion der Menge an Enterokokken um bis zu 3  $\log_{10}$ -Stufen war zu erkennen; überwiegend lag die Reduktion im Betriebsablauf bei 1  $\log_{10}$ -Stufe. In den Biogasanlagen PB 4 und PB 5 wurde ein leichter Anstieg von 0,5 bis 1  $\log_{10}$ -Stufe bemerkt.

**Tabelle 15: Nachweis von Enterokokken (KbE/g) in den Proben aus BGA**

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	Nachgärer	Endlager I	Endlager II
PB 2				$4,7 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	$8,8 \times 10^2$		
PB 3				$3,8 \times 10^5$		$2,8 \times 10^3$ <sup>T</sup>		
PB 4			$4,3 \times 10^4$	$2,6 \times 10^3$		$6,0 \times 10^2$	$2,3 \times 10^3$	
PB 5			$1,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^2$		$1,2 \times 10^3$		
PB 6				$2,0 \times 10^3$		0	0	0
PB 7				$3,1 \times 10^5$			$3,4 \times 10^4$	
PB 8				$7,8 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$			
PB 9a	$3,7 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$		$2,2 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$			
PB 9b	$2,8 \times 10^5$			$3,4 \times 10^4$				
PB 10			$4,5 \times 10^4$	$3,9 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$	$8,0 \times 10^2$		

<sup>T</sup> – thermophil betriebener Nachgärer

### Escherichia coli und coliforme Keime

Ein Nachweis von *E. coli* und coliformen Keimen war in zwei Anlagen (PB 2, PB 6) in keiner der untersuchten Proben möglich (Tabelle 16 und Tabelle 17). In den Proben der restlichen Anlagen waren zwischen  $10^1$  und  $10^6$  KbE coliforme Keime bzw. *E. coli* pro g Probe nachweisbar. Im thermophilen Nachgärer der Anlage PB 3 waren *E. coli* oder coliforme Keime nicht mehr nachzuweisen, was in dieser Anlage einer Reduktion um bis zu 4  $\log_{10}$ -Stufen entspricht. Im Mittel lag die Reduktion von *E. coli* und coliformen Keimen bei 2  $\log_{10}$ -Stufen.

**Tabelle 16: Nachweis coliformer Keime (KbE/g) in den Proben aus BGA**

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	Nachgärer	Endlager I	Endlager II
PB 2				0	0	0		
PB 3				$7,0 \times 10^3$		0 <sup>T</sup>		
PB 4			$2,3 \times 10^6$	$2,5 \times 10^3$		$7,5 \times 10^1$	$3,0 \times 10^2$	
PB 5			$8,5 \times 10^4$	$5,3 \times 10^2$		$1,0 \times 10^2$		
PB 6				0		0	0	0
PB 7				$2,0 \times 10^3$			$1,5 \times 10^2$	
PB 8				$5,5 \times 10^1$	0			
PB 9a	$9,5 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$		$1,3 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$			
PB 9b	$2,3 \times 10^4$			$1,8 \times 10^2$				
PB 10			$2,9 \times 10^4$	$3,8 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$	$2,5 \times 10^1$		

<sup>T</sup> – thermophil betriebener Nachgärer

**Tabelle 17: Nachweis von *E. coli* (KbE/g) in den Proben aus BGA**

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	Nachgärer	Endlager I	Endlager II
PB 2				0	0	0		
PB 3				$1,3 \times 10^4$		0 <sup>T</sup>		
PB 4			$1,1 \times 10^6$	$2,2 \times 10^3$		$2,0 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$	
PB 5			$4,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^2$		$5,0 \times 10^1$		
PB 6				0		0	0	0
PB 7				$2,0 \times 10^3$			$3,0 \times 10^2$	
PB 8				$1,7 \times 10^1$	0			
PB 9a	$1,7 \times 10^5$	$2,3 \times 10^6$		$1,6 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$			
PB 9b	$1,1 \times 10^5$			$1,1 \times 10^3$				
PB 10			$2,3 \times 10^5$	$1,4 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$		

<sup>T</sup> – thermophil betriebener Nachgärer

### Clostridium perfringens

Mit Ausnahme der Anlagen PB 3 und PB 8 war *C. perfringens* in allen anderen Anlagen nachweisbar (Tabelle 18). Die nachgewiesene Menge lag bei  $10^4$  bis  $10^5$  KbE/g Probe. In der Anlage von PB 2 war *C. perfringens* im Fermenter I nachweisbar; im Fermenter II sowie dem Nachgärer gelang kein bakteriologischer Nachweis von *C. perfringens*. PB 6 besitzt zwei Endlager, welche abwechselnd befüllt und entleert werden. Hier wurde *C. perfringens* nur aus der Probe des Endlagers II angezüchtet. Bei PB 7 zeigte die Probe aus dem Fermenter kein Wachstum von *C. perfringens*, jedoch war im Endlager ein Keimgehalt von  $10^4$  KbE/g Probe nachzuweisen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen für die aeroben Bakterien war für *C. perfringens* keine Reduktion im Vergärungsprozess zu beobachten.

**Tabelle 18: Nachweis von *C. perfringens* (KbE/g) in den Proben aus BGA**

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	Nachgärer	Endlager I	Endlager II
PB 2				$2,0 \times 10^5$	0	0		
PB 3				0		0 <sup>T</sup>		
PB 4			$9,3 \times 10^4$	$4,5 \times 10^4$		$3,5 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	
PB 5			$1,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$		$1,5 \times 10^4$		
PB 6				$5,5 \times 10^4$		$3,0 \times 10^4$	0	$5,0 \times 10^3$
PB 7				0			$1,0 \times 10^4$	
PB 8				0	0			
PB 9a	$5,0 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$		$4,2 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$			
PB 9b	$2,5 \times 10^5$			$3,4 \times 10^5$				
PB 10			$3,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$		

<sup>T</sup> – thermophil betriebener Nachgärer

### ESBL-bildende Keime

In den Proben von sechs der zehn Pilotbetriebe waren ESBL-bildende Bakterien nachweisbar (Tabelle 19). Der Nachweis gelang ausschließlich aus den Vorgruben- und Fermenterproben. 19 Isolate wurden mittels *Brilliance*<sup>TM</sup> ESBL Agar gewonnen. Bei drei Isolaten war die phänotypische Bestätigung mittels Micronaut-S-β-Lactamase VIII Test negativ. In den verbleibenden 16 Isolaten konnte das Vorhandensein von ESBL phänotypisch bestätigt werden. Neun (56 %) der 16 ESBL-positiven Isolate waren *E. coli*. Darüber hinaus wurden drei *Escherichia fergusonii*-, zwei *Klebsiella oxytoca*- und je ein *Klebsiella pneumoniae*- und *Enterobacter aerogenes*-Isolat gewonnen. Zumeist waren die in den verschiedenen Proben einer Anlage gefundenen ESBL-bildenden Bakterienspezies dieselben. Bis zu vier verschiedene ESBL-tragende Bakterienspezies waren in den Proben der Anlagen PB 5, PB 9a und PB 9b nachweisbar.

**Tabelle 19: In den Proben aus BGA nachgewiesene ESBL-bildende Bakterien**

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	ESBL-Bestätigung phänotypisch (Micronaut-S β-Lactamase VII)
PB 4			<i>E. coli</i>	0		positiv
PB 5			<i>E. coli</i>	0		positiv
PB 7				<i>Citrobacter freundii</i>		negativ; AMP-C positiv
PB 8				<i>E. coli</i>	0	positiv

	Hydrolyse 1	Hydrolyse 2	Vorgrube	Fermenter I	Fermenter II	ESBL-Bestätigung phänotypisch (Micronaut-S β-Lactamase VII)
PB 9a	<i>E. fergussonii</i>	<i>E. fergussonii</i>			<i>E. fergussonii</i>	positiv
	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>				positiv
	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. oxytoca</i>				positiv
		<i>K. pneumoniae</i>				positiv
PB 9b	<i>E. coli</i>					positiv
	<i>Enterobacter aerogenes</i>					positiv
PB 10			<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	positiv

### Salmonellen

Salmonellen waren mit den hier verwendeten Untersuchungsmethoden in keiner der Feldproben nachweisbar.

### *Clostridium botulinum*

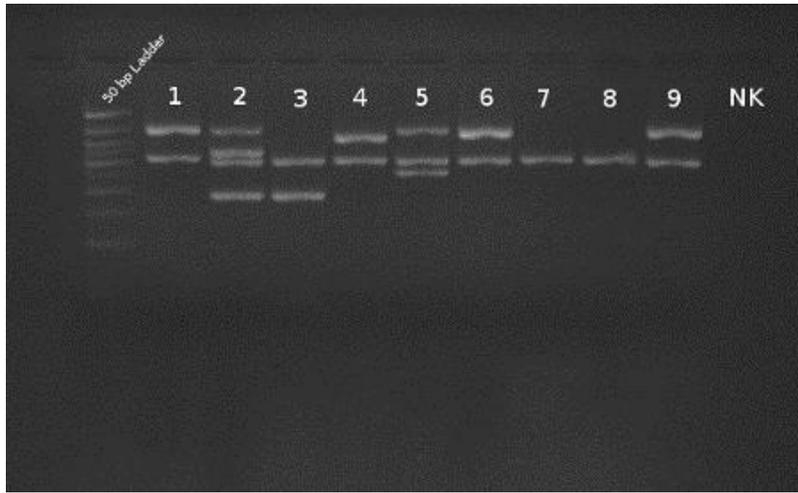
Die Anzucht von *C. botulinum* mittels Eigelb-Laktose-Agar gelang aus keiner der untersuchten Proben.

## 4.4 Molekularbiologische Untersuchung von Clostridien

Sowohl die *C. perfringens* Toxin-Gen PCR nach dem Protokoll von VAN ASTEN et al. (2009) als auch die PCR zum Nachweis und zur Toxintyp-Bestimmung von *C. botulinum* nach HILL et al. (2010) erwiesen sich als geeignet für den Nachweis aus aufgereinigter Bakterien-DNA. In der Abbildung 26 ist exemplarisch das Ergebnis der *C. perfringens* Toxin-Gen PCR der Referenzstämmen (Abbildung 26 Nr. 1-5) und von ausgewählten Feldisolaten (Abbildung 26 Nr. 6-9) dargestellt. Tabelle 20 führt die Referenzstämmen mit ihren Toxin-Genen und den zu erwartenden Amplifikatgrößen auf. Die sogenannten Major-Toxine sind in Fettdruck dargestellt.

**Tabelle 20: Referenzstämmen für die *C. perfringens* PCR**

Referenzstamm	Toxin-Gene	Toxin	Amplifikatgröße
1. <i>C. perfringens</i> Typ A DSM 756	<b><i>cpa</i></b>	<b>α-Toxin</b>	324 bp
	<i>cpb2</i>	β <sub>2</sub> -Toxin	548 bp
2. <i>C. perfringens</i> Typ B ATCC 3626	<b><i>cpa</i></b>	<b>α-Toxin</b>	324 bp
	<b><i>cpb</i></b>	<b>β-Toxin</b>	195 bp
	<b><i>etx</i></b>	<b>ε-Toxin</b>	376 bp
	<i>cpb2</i>	β <sub>2</sub> -Toxin	548 bp
3. <i>C. perfringens</i> Typ C NCTC 3180	<b><i>cpa</i></b>	<b>α-Toxin</b>	324 bp
	<b><i>cpb</i></b>	<b>β-Toxin</b>	195 bp
4. <i>C. perfringens</i> Typ D IMT 5029/160	<b><i>cpa</i></b>	<b>α-Toxin</b>	324 bp
	<b><i>etx</i></b>	<b>ε-Toxin</b>	376 bp
5. <i>C. perfringens</i> Typ E ATCC 27324	<b><i>cpa</i></b>	<b>α-Toxin</b>	324 bp
	<b><i>iap</i></b>	<b>ι-Toxin</b>	485 bp
	<i>cpe</i>	Enterotoxin	548 bp
	<i>cpb2</i>	β <sub>2</sub> -Toxin	272 bp



**Abbildung 26: *C. perfringens* Toxin-Gen PCR – Auswertung im Agarosegel**

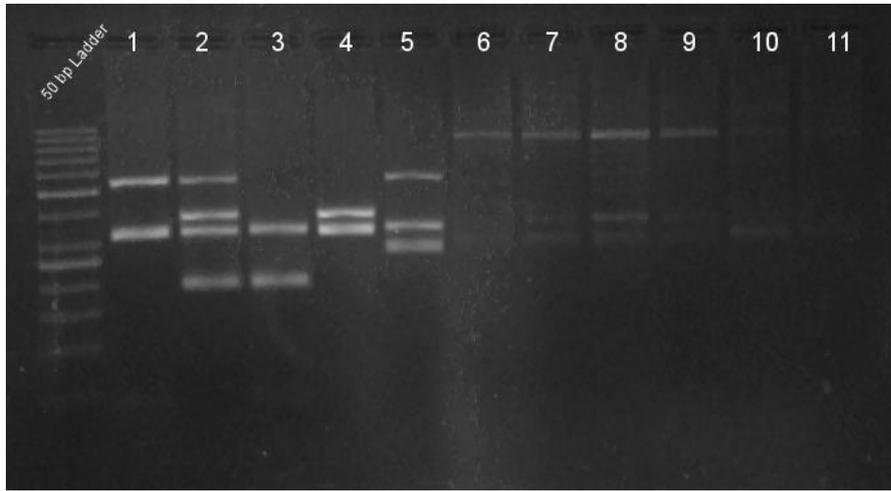
1: Toxintyp A; 2: Toxintyp B; 3 Toxintyp C; 4 Toxintyp D; 5 Toxintyp E; 6: Feldprobe Toxintyp A, *etx* positiv, 7: Feldprobe Toxintyp A; 8: Feldprobe Toxintyp A; 9: Feldprobe Toxintyp A, *etx* positiv, NK = Negativkontrolle

### ***C. perfringens* Toxin-Gen-PCR**

In acht Anlagen wurde *C. perfringens* mittels Bakterienkultur nachgewiesen (Tabelle 18). Insgesamt wurden 22 Feldisolate gewonnen, die anhand der PCR-Ergebnisse alle dem *C. perfringens* Typ A zuzuordnen waren. Sechs von den 22 Feldisolaten (27 %) wiesen zusätzlich das  $\beta_2$ -Toxin-Gen auf.

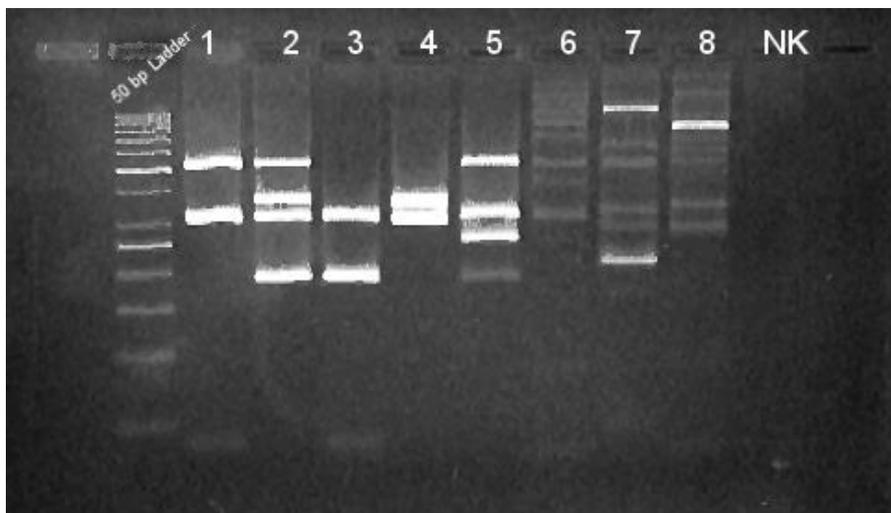
Aus einigen Proben verlief die Anzucht und somit der Nachweis von *C. perfringens* mittels Eigelb-Laktose-Agar und TSC-Agar negativ. Aus diesem Grund wurde aus den TPYG-Flüssigkulturen DNA aufgereinigt und ebenfalls in die *C. perfringens* PCR nach VAN ASTEN et al. (2009) eingesetzt. Von 16 auf diese Weise untersuchten Proben enthielten 14 *C. perfringens* Typ A. Diese Typ A *C. perfringens* besaßen zudem das  $\beta_2$ -Toxin-Gen. Zwei dieser Proben waren darüber hinaus positiv für *C. perfringens* mit Enterotoxin-Gen. Die verbleibenden zwei Proben ergaben den Nachweis von *C. perfringens* Typ C ( $\beta_2$ -Toxin-Gen positiv) und Typ D ( $\beta_2$ -Toxin-Gen positiv).

Für die Untersuchung der Rückstellproben wurde DNA mithilfe des QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kits nach dem Protokoll zur „Aufreinigung von DNA aus großen Mengen Kot“ isoliert. Die Qualität der gewonnenen DNA war gut und die Ausbeute entsprach den Angaben des Herstellers. Bei der Auswertung der PCR im Agarosegel wurde deutlich, dass der Einsatz von DNA aus Gärresten/Gärprodukten zur Amplifikation unspezifischer Nukleinsäuresequenzen führte (Abbildung 27). Im Rahmen einer Optimierung des PCR-Verfahrens wurde ein touch-down Protokoll mit erhöhter Stringenz in den Amplifikationsbedingungen eingesetzt. Dieses Protokoll führte zu keiner Reduktion der unspezifischen Amplifikate (Abbildung 28), sodass dieses PCR-Verfahren für den Nachweis von *C. perfringens* aus DNA von Gärprodukten/Gärresten nicht geeignet ist.



**Abbildung 27: *C. perfringens* Toxin-Gen PCR – Darstellung unspezifischer Banden im Agarosegel**

1: Toxintyp A; 2: Toxintyp B; 3 Toxintyp C; 4 Toxintyp D; 5 Toxintyp E; 6 - 11: Feldproben mit unspezifischen Banden

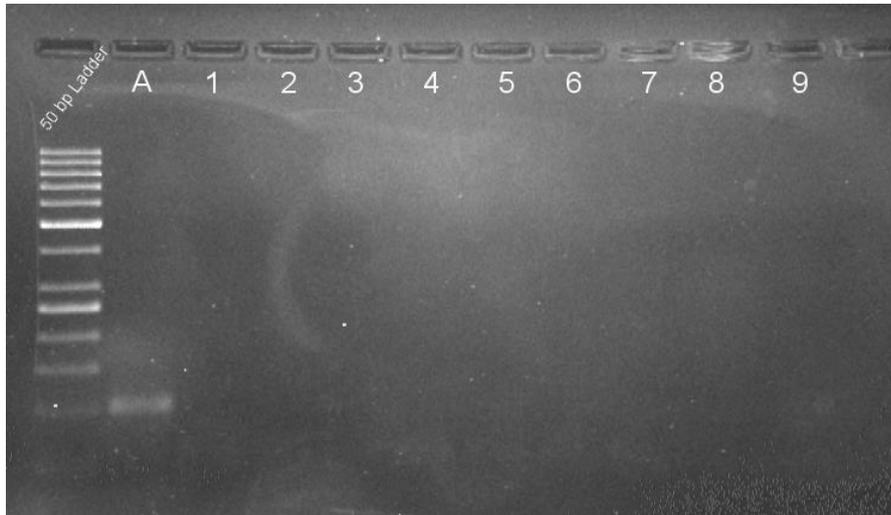


**Abbildung 28: *C. perfringens* Toxin-Gen PCR nach touch-down Protokoll – Auswertung im Agarosegel**

1: Toxintyp A; 2: Toxintyp B; 3 Toxintyp C; 4 Toxintyp D; 5 Toxintyp E; 6 - 8: Feldproben mit unspezifischen Banden, NK = Negativkontrolle

### ***C. botulinum* Toxin-Gen-PCR**

Mit der PCR zum Nachweis von toxinbildenden *C. botulinum* nach dem Protokoll von HILL et al. (2010) konnte in keiner der TPYG-Anreicherungen das NTNH-Gen nachgewiesen werden. Weil die Positivkontrolle (*C. botulinum* Typ A, s. Tabelle 12) in jedem Fall positiv war, wie beispielhaft in Abbildung 29 zu sehen, ist anzunehmen, dass das PCR-Ergebnis valide war. Somit wurden alle untersuchten Feldproben als negativ für toxinbildende *C. botulinum* beurteilt.



**Abbildung 29: C. botulinum NTNH PCR – Auswertung im Agarosegel**

A: C. botulinum Typ A; 1 – 9: Feldproben

## 4.5 Ergebnisse der Planungsrechnung

### 4.5.1 Ergebnis der Planungsrechnung für die Musteranlagen

Als Grundlage der Planungsrechnung für die in Kap. 3.1 beschriebenen Musteranlagen dienten Richtwerte der 3. Ausgabe Faustzahlen Biogas (KTBL 2013) und die in den Pilotbetrieben erfassten Daten. Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

**Tabelle 21: Übersicht technische Daten der Musteranlagen**

Musteranlage	Inbetriebnahmejahr	kW <sub>el</sub>	kW <sub>therm</sub>	Auslastung in %	Gülleanteil Substrat in %	Substratmenge/Jahr in m <sup>3</sup> (Frischmasse)
MA 1	2011	75	89	89	100	12.410
MA 2	2011	250	220	89	70	12.045
MA 3	2011	526	566	89	65	25.915

**Tabelle 22: Stromeinspeisung und Einnahmen der Musteranlagen**

Musteranlage	Strom-einspeisung/Jahr	Einnahmen Stromverkauf	sonstige Einnahmen	Vergütung/kWh <sub>el</sub>	kalkulatorisches BZ-Ergebnis
MA 1	585.000 kWh	129.987 €	0 €	0,222 €	18.170 €
MA 2	1.950.000 kWh	399.073 €	25.550 €	0,205 €	41.086 €
MA 3	4.102.800 kWh	761.605 €	63.875 €	0,186 €	41.801 €

**Tabelle 23: Betriebskosten der Musteranlagen**

Musteranlage	Strom-einspeisung/Jahr	Direktkosten/Jahr	Direktkosten pro Jahr & kWh <sub>el</sub>	Fixkosten/Jahr	Fixkosten/kWh <sub>el</sub>
MA 1	585.000 kWh	0 €	0 €	111.817 €	1.491 €
MA 2	1.950.000 kWh	127.750 €	511 €	255.787 €	1.023 €
MA 3	4.102.800 kWh	319.375 €	607 €	464.304 €	883 €

**Tabelle 24: Einnahmen und Kosten pro kWh<sub>el</sub>**

Musteranlage	Vergütung/kWh <sub>el</sub>	sonstige Einnahmen/kWh <sub>el</sub>	Gesamtkosten/kWh <sub>el</sub>	Fixkosten/kWh <sub>el</sub>	variable Kosten/kWh <sub>el</sub>
MA 1	0,222 €	0,0 €	0,1911 €	0,1911 €	0,0000 €
MA 2	0,205 €	0,013 €	0,1967 €	0,1312 €	0,0655 €
MA 3	0,186 €	0,016 €	0,1910 €	0,1132 €	0,0778 €

In Tabelle 25 sind die Einnahmen und Kosten unter Bedingungen des EEG (2014) dargestellt. Die Vergütung wird ab dem 01.01.2016 nur noch bei Kleinanlagen (§ 37) bis 100 kWh<sub>el</sub> gezahlt. Nach § 45 wird ab einer installierten Leistung von 100 kWh<sub>el</sub> nur die Strommenge, die der Hälfte der installierten Leistung entspricht, vergütet. Die restliche Strommenge wird nach dem Strombörsen-Basispreis vergütet. Dieser kann mit 5 Cent/kWh angenommen werden. Mit dem EEG 2014 sind sämtliche Boni, wie Güllebonus oder NaWaRo-Bonus, entfallen, aus der Vergütungssituation leitet sich prinzipiell die „Pflicht“ zur Direktvermarktung von Strom ab.

**Tabelle 25: Einnahmen und Kosten unter Bedingungen des EEG 2014**

Musteranlage	Vergütung/kWh <sub>el</sub>	sonstige Einnahmen/kWh <sub>el</sub>	Gesamtkosten/kWh <sub>el</sub>	Einnahmen/kWh <sub>el</sub>	Einnahmen - Kosten in kWh <sub>el</sub>	kalkulatorisches BZ-Ergebnis
MA 1	0,2373 €	0,0000 €	0,1911 €	0,2373 €	0,05 €	27.003 €
MA 2	0,0930 €	0,0131 €	0,1967 €	0,1061 €	-0,09 €	-176.637 €
MA 3	0,0930 €	0,0156 €	0,1910 €	0,1086 €	-0,08 €	-338.244 €

#### 4.5.2 Betriebskosten – Pasteurisierung

Die in Kap. 3.4.3 und 6.2.2 dargestellten Pasteurisierungsanlagen werden im Folgenden unter Betrachtung der laufenden Betriebskosten dargestellt.

#### Aus der

Tabelle 26 geht hervor, dass die Pasteurisierungsanlagen im laufenden Betrieb für die Musteranlagen keine zusätzlichen Einnahmen bringen, aber erhebliche Kosten verursachen. Im Falle der 75 kWh<sub>el</sub>- Anlage (Musteranlage 1) führen die Betriebskosten sogar zu einem negativen Betriebsergebnis (Kosten von 27.172 € gegenüber Einnahmen von 18.170 € bzw. 27.003 € unter Bedingungen des EEG 2014).

**Tabelle 26: Betriebskosten für die Pasteurisierung**

	Musteranlage 1 – 75 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 2 – 250 kW <sub>el</sub>	Musteranlage 3 – 526 kW <sub>el</sub>
Nettoinvestitionskosten	137.000 €	137.000 €	155.000 €
Abschreibung	13.700 €	13.700 €	15.500 €
Zinsansatz	2.740 €	2.740 €	3.100 €
Wartungskosten	1.370 €	1.370 €	1.550 €
Personal Bedienung/Reinigung	5.475 €	5.475 €	10.950 €
Elektroenergiebedarf	3.887 €	3.883 €	8.432 €
<b>Gesamtkosten</b>	<b>27.172 €</b>	<b>27.168 €</b>	<b>39.532 €</b>
spezifische Kosten je kW <sub>el</sub>	362 €	109 €	79 €
kalkulatorisches BZ-Ergebnis vor Investition	18.170 €	41.086 €	41.801 €
kalkulatorisches BZ-Ergebnis nach Investition	<b>-9.002 €</b>	<b>13.918 €</b>	<b>2.269 €</b>
Veränderung kalkulatorisches BZ-Ergebnis	<b>-150%</b>	<b>-66%</b>	<b>-95%</b>

## 5 Diskussion und Empfehlung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die aktuell bekannten möglichen hygienischen Risiken im Zusammenhang mit Gärresten aus Biogasanlagen zusammenzufassen. Darüber hinaus sollten Untersuchungsverfahren zur mikrobiologischen Untersuchung von Proben aus Biogasanlagen anhand ausgewählter Indikatorkeime im Labor etabliert und an Feldproben verifiziert werden. Ergänzend hierzu wurde der Einbau einer Hygienisierungseinheit in eine BGA hinsichtlich der Ökonomie und Umsetzbarkeit anhand von Musteranlagen berechnet und beurteilt.

### Mikrobiologische Einschätzung

Die Auswahl der in dieser Studie verwendeten Indikatororganismen erfolgte basierend auf bereits bestehenden gesetzlichen Vorgaben bezüglich des Gefahrenpotenzials von Fermentationsprodukten und Gärresten. Stellvertretend hierfür sei erwähnt, dass die VO (EU) Nr. 142/2011 für das Inverkehrbringen von Gärresten eine Untersuchung auf *E. coli* oder *Enterococcus faecalis* und Salmonellen vorschreibt. Zusätzlich wird *C. perfringens* in der VO (EU) Nr. 142/2011 als Indikatororganismus erwähnt, wenn eine alternative Methode zur Drucksterilisation genehmigt werden soll. Darüber hinaus sind *E. coli*, *Enterococcus faecalis* und *C. perfringens* im Kot von Nutztieren physiologisch in größeren Mengen vorhanden und somit als Indikatoren gut geeignet. Die Untersuchung auf Fäkalstreptokokken wurde zudem zur Charakterisierung des hygienischen Status von Gärsubstraten und Gärresten als zielführend angesehen (REINHOLD & JAHN 2004). Die Auswahl von *C. botulinum* erfolgte aufgrund des in der Presse immer wieder heftig diskutierten Themas des so genannten „viszeralen Botulismus“. Auch wenn es bis heute keine Studie gibt, die toxinbildende *C. botulinum* in Gärresten von Biogasanlagen nachgewiesen hat, wird dieses Thema regelmäßig von den Medien aufgegriffen. Die ESBL-bildenden Bakterien waren bisher vor allem aus krankenhaushygienischer Sicht von großem Inte-

resse. Jedoch zeigten neuere Studien den vermehrten Nachweis v. a. ESBL-bildender *E. coli* in Lebensmittel liefernden Tieren (EWERS et al. 2012). Die Verbreitung und Übertragung von ESBL-produzierenden Bakterien z. B. über Tierkontakte oder die Lebensmittelkette ist vielfältig möglich (PFEIFER et al. 2013). Eine Übertragung der Bakterien über gülle- oder gärrestgedüngte Nutzflächen ist denkbar, weshalb diese Keime im Rahmen der vorliegenden Studie mit betrachtet wurden.

Wie im Kap. 4 bereits beschrieben, eigneten sich die hier verwendeten bakteriologischen Untersuchungsmethoden zum Nachweis der beschriebenen Indikatororganismen aus Gärresten von Biogasanlagen. Mittels Probit-Analyse konnte gezeigt werden, dass mit einer 95 %igen Wahrscheinlichkeit zwischen 2 und 90 KbE/ml Matrix je nach Nährmedium sicher nachzuweisen waren. In der praktischen Durchführung der Untersuchung von Feldproben zeigte sich jedoch, dass die Matrix Gärsubstrat/Gärrest einen maßgeblichen Einfluss auf die Auswertbarkeit haben kann. So stellte sich der *Enterococcus* Selektivagar, trotz optimaler Ergebnisse unter Laborbedingungen, als nicht geeignet für die Untersuchung von Gärsubstraten/Gärresten heraus. Auch die Auswertung der Gärrest-beimpften TSC-Agarplatten erwies sich nach 48 h als schwierig, was bei der Verwendung von *C. perfringens* Reinkulturen nicht der Fall war. Zu empfehlen ist auch das Erhitzen der Probe im Wasserbad für 15 Minuten bei 65 °C, wodurch Sporenbildner zum Auskeimen angeregt werden und somit die Nachweisrate von *C. perfringens* deutlich verbessert wurde. Bei den chromogenen Medien (*Brilliance*<sup>TM</sup> Agar) waren unspezifische Verfärbungen des Mediums zu erkennen. Diese können durch fäkale Bestandteile hervorgerufen werden und sind im Produkt-Informationsblatt des Herstellers unter dem Punkt „Einschränkungen des Testverfahrens“ angegeben (OXOID, PO5302Adev01, 2009). Bei den molekularbiologischen Untersuchungsmethoden hat sich herausgestellt, dass eine Untersuchung von nativen Gärrestproben auf *C. perfringens* mit dem gewählten Verfahren nach VAN ASTEN et al. (2009) nicht erfolgversprechend ist. Die Anreicherung in TPYG-Bouillon erbrachte positive Ergebnisse in jenen Proben, die in der bakteriologischen Untersuchung mittels Eigelb-Laktose-Agar und TSC-Agar keinen Nachweis von *C. perfringens* ergab. Somit kann eine vorherige Anreicherung für den Nachweis spezifischer anaerober Keime sinnvoll sein. Die hier vorgestellten bakteriologischen Untersuchungsmethoden können nur orientierend für eine bakteriologische Untersuchung von Gärresten aus Biogasanlagen gelten. Sie stellen keine definitive Vorgabe dar und sollen in keinem Fall die bereits gesetzlich vorgegebenen Maßnahmen, wie z. B. der Rinder-Salmonellose-Verordnung, ersetzen.

Die bakteriologische und molekularbiologische Untersuchung von Gärresten und Gärsubstraten aus BGA des Freistaates Sachsen ergab übereinstimmend mit bereits veröffentlichten Studien (z. B. BAGGE et al. 2005; WATCHARASUKARN et al. 2009; LEBUHN & WILDERER 2006; BAGGE et al. 2010; WEILAND et al. 2007), dass bereits im Rahmen des mesophilen Biogasprozesses eine Reduktion der Keimzahlen stattfindet. Mit Ausnahme von Salmonellen und *C. botulinum* wurden alle ausgewählten Indikatorkeime in den untersuchten Proben aus BGA gefunden. Im vorliegenden Bericht lag die Keimreduktion im Biogasprozess bei 1 bis 3 log<sub>10</sub>-Stufen für Enterokokken sowie bis zu 4 log<sub>10</sub>-Stufen für *E. coli* bzw. coliforme Keime. Hingegen blieben die Keimzahlen für *C. perfringens* relativ konstant. Dieses entspricht den Ergebnissen, die u. a. von LEBUHN & WILDERER (2006) publiziert wurden. In Bezug auf *E. coli* und Enterokokken waren die KbE/g Gärprodukt/Gärrest in der aktuellen Studie geringer als die physiologisch im Kot von Nutztieren vorkommende Menge. Aus zwei Anlagen waren alle Proben in der Untersuchung auf *E. coli* und coliforme Keime negativ. In Proben aus sechs der zehn Biogasanlagen (60 %) wurden ESBL-bildende Bakterien isoliert und phänotypisch bestätigt. Sie wurden ausschließlich aus Proben der Vorgrube und des Fermenters angezüchtet. Die Isolate wurden überwiegend als *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* und *Enterobacter aerogenes* identifiziert. Vor allem die beiden erst genannten Bakterienarten stellen in Bezug auf die Entwicklung von Multiresistenzen therapeutisch eine Herausforderung in der Veterinär- und Humanmedizin dar. Jedoch zeigen auch hier die Ergebnisse dieser Studie, dass der Biogasprozess die ESBL-bildenden Keime weitestgehend eliminiert. Bei einer BGA war

ein Anstieg der Keimzahl von *C. perfringens* im Endlager zu beobachten. Ein möglicher Grund hierfür kann das Auskeimen von *C. perfringens*-Sporen sein, jedoch ist auch ein Eintrag der Keime von außen denkbar.

Prinzipiell hängt der hygienische Status des Gärrestes mit dem hygienischen Status der Substrate zusammen (BREVES 2012; LEBUHN & FRÖSCHLE 2012). Bis auf einen Pilotbetrieb, der einen thermophilen Nachgärer in der Anlage hat, wurden alle anderen in die Studie einbezogenen BGA mesophil betrieben. Darüber hinaus verfügten alle an dieser Studie beteiligten BGA über eine Silierung, und in einer der BGA war eine Gärresttrocknung vorhanden. Das sind günstige Voraussetzungen für die Verminderung möglicher mikrobieller Risiken. Unsere Resultate zeigen, dass bereits der mesophile Biogasprozess keimreduzierend wirkt und somit ein gewisses „hygienisierendes Potenzial“ hat. Dieses wurde bereits von RÜCKERT (1991) beschrieben. Thermophile Verfahren besitzen eine wesentlich bessere keimreduzierende Wirkung, weshalb sie in der Bioabfallverordnung als „anaerobe hygienisierende Behandlung“ Erwähnung finden. Anhand der Ergebnisse unserer bakteriologischen Untersuchungen erfüllt der mesophile Anlagenbetrieb zwar nicht die Anforderungen der VO (EU) Nr. 142/2011 an alternative Verfahren zur Pasteurisierung, die eine Reduktion um 5 log<sub>10</sub>-Stufen von *Enterococcus faecalis* vorschreibt, aber die in dieser VO ebenfalls festgesetzten Normen für Fermentationsrückstände wurden in allen untersuchten Nachgärer- und Endlagerproben eingehalten, weil keine dieser Proben einen Gehalt von *E. coli* über 10<sup>3</sup> aufwies.

Der Gehalt an *C. perfringens*, das als Sporenbildner eine höhere Resistenz gegenüber der mesophilen Vergärung aufweist, entsprach in allen untersuchten Proben ungefähr der Menge, die sich physiologisch im Kot von Nutztieren nachweisen lässt. Somit kann eine Vermehrung dieser Bakterien im Rahmen des Biogasprozesses in den hier untersuchten BGA ausgeschlossen werden. Eine Aussage in Bezug auf das Verhalten von *C. botulinum* im Biogasprozess kann anhand unserer Ergebnisse nicht getroffen werden. Hierzu sollten weiterführende Untersuchungen, z. B. mit Keimträgern in Modellanlagen, in Erwägung gezogen werden. Eine allgemeine Aussage über das hygienische Risiko, das von Biogasanlagen ausgeht, zu treffen ist schwer, weil es sich bei vielen BGA um eine individuelle Anlage handelt, die nur schwer mit einer anderen Anlage vergleichbar ist. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass selbst Biogasanlagen mit einem sehr ähnlichen Fütterungsregime voneinander abweichende Keimzahlen zeigen. Hinzu kommt, dass die Ergebnisse „Momentaufnahmen“ einer einzelnen Probenentnahme sind, die der Überprüfung der Praxistauglichkeit der ausgewählten Nährmedien diene. Aus diesem Grund kann nicht beurteilt werden, inwiefern z. B. jahreszeitliche oder wetterbedingte Schwankungen und die Verwendung von Substraten unterschiedlicher Zusammensetzung einen Einfluss auf den mikrobiellen Prozess haben. Daher sind weiterführende Untersuchungen mit einer größeren Anzahl an Proben und Biogasanlagen (mit unterschiedlichem Fütterungsregime) sinnvoll, um genauere Aussagen über Keimgehalt und Hygienrisiken verschiedener Anlagentypen treffen zu können. Mit der hier untersuchten Anzahl von Biogasanlagen ist dies nicht möglich.

Aus mikrobiologischer Sicht war der Gärrest in allen von uns untersuchten Proben nicht schlechter als das Ausgangsprodukt Gülle. Trotzdem sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass der Eintrag von Keimen in die Gärreste während ihrer Endlagerung, z. B. durch Kot bzw. Kadaver von Vögeln oder Nagetieren bei nicht oder ungenügend abgedeckten Endlagern, eintreten kann. Eine generelle Abdeckung der Gärrestelager ist gesetzlich nicht vorgeschrieben. Bei einer nach Bundes-Immissionsschutzgesetz genehmigungsbedürftigen BGA, die unter das EEG aus dem Jahr 2009 fällt, ist eine gasdichte Abdeckung des Gärrestelagers die Voraussetzung für die Zahlung des NawaRo-Bonus (EEG 2009, Anlage 2 zu § 27). Für die Abdeckung gelten die Empfehlungen des VDI 3475 Blatt 4/Part 4. Für BGA, die ab dem 01.01.2012 in Betrieb genommen worden sind, ist gemäß EEG 2012 § 6 Absatz 4 Nr. 1 bei der Erzeugung von Biogas dafür zu sorgen, dass „ein neu zu errichtendes Gärrestlager am Standort der Biogaserzeugung technisch gasdicht abgedeckt ist“ [...]. Diese EEG-Vorgabe stellt auch hier die Voraussetzung für eine Vergütung dar, außer es handelt es sich um BGA,

die ausschließlich Gülle einsetzen. Gleiches ist im EEG in der Fassung vom 21. Juli 2014 (BGBl. I S. 1066) in § 9 Absatz 5 festgelegt. Somit ist eine gasdichte Abdeckung als technische Voraussetzung für eine Vergütung nicht bei allen BGA eine Pflicht.

Für die Aufrechterhaltung der hygienischen Qualität des Gärrestes ist auch zu bedenken, dass eine Kontamination des Gärrestes im Transportfahrzeug stattfinden kann, sofern dieses auch für andere Zwecke genutzt wird (BAGGE et al. 2005). Eine Möglichkeit, dieser Kontamination entgegenzuwirken, wäre eine Reinigung und/oder Desinfektion der Transportfahrzeuge. Im Allgemeinen sollte ein Kontakt zwischen unverarbeiteten Substraten und Fermentationsprodukten vermieden werden, obwohl dieses nach der Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsverordnung erlaubt ist, wenn es sich bei den Rohstoffen um tiereseuchenrechtlich unbedenkliche Gülle handelt und die Fermentationsprodukte zur Ausbringung auf landwirtschaftliche Flächen des Betriebes transportiert werden. Eine Reinigung/Desinfektion des Endlagers nach vollständiger Entleerung ist gegebenenfalls sinnvoll, um ein Überdauern von Pathogenen zu vermeiden und somit einer Kontamination der Gärreste vorzubeugen. Hierbei stellt sich allerdings die Frage der technischen Umsetzbarkeit, die von den baulichen Voraussetzungen abhängt.

Eine gute fachliche Praxis vorausgesetzt und unter Beachtung der aktuellen Gesetzesvorgaben ergibt sich kein Hinweis darauf, dass Gärreste aus Biogasanlagen *per se* ein hygienisches Risiko für Menschen, Tiere oder Pflanzen darstellen. Vielmehr führt bereits der mesophile Biogasprozess zu einer Keimreduktion, was auch die vorliegende Studie bestätigt. Aus diesem Grund erscheint es nicht zwingend sinnvoll, eine Empfehlung zur allgemeinen Einführung einer zusätzlichen Hygienisierung für Biogasanlagen auszusprechen. Sinnvoller wäre die regelmäßige mikrobiologische Statuserhebung anhand von Indikatorkeimen, die tiereseuchenrechtlich und/oder phytohygienisch von Bedeutung sind. Auf diese Weise wäre das frühzeitige Erkennen von hygienischen Risiken gewährleistet. Eine weitere Möglichkeit wäre die Probenentnahme bei oder direkt vor der Ausbringung von Gärresten auf landwirtschaftliche Flächen, die eine Aussage über den hygienischen Status der Fermentationsprodukte, die in die Umwelt gelangen, erlaubt. Im Falle einer gesetzlich festgelegten regelmäßigen mikrobiologischen Statuserhebung wäre eine Festlegung auf tiereseuchenrechtlich und/oder phytohygienisch relevante Erreger von Seiten des Gesetzgebers sinnvoll, um die anfallenden Kosten für die Untersuchungen zu minimieren.

### Ökonomische und Technische Einschätzung

Neben der Einschätzung der möglichen mikrobiellen Risiken hatte die vorliegende Studie zum Ziel, die ökonomische und technische Realisierbarkeit von Hygienisierungssystemen darzustellen. Im Bereich der Biogasanlagen gibt es zahlreiche Methoden, um die Keimbelastung des Substrates zu reduzieren; dabei ist auch der Biogasprozess an sich zu nennen. Die Behandlung von Gülle durch anaerobe Vergärung vor der Ausbringung auf sensible Flächen wie z. B. Trinkwassereinzugsgebiete wird in der Fachliteratur empfohlen (HENKELMANN 2006). Wie in Kap. 2.2.2 beschrieben, muss bezüglich der Keimreduktion jedoch zwischen Hygienisierungsverfahren per Definition (Verordnung [EU] Nr. 142/2011, Keimreduktion um mindestens 5 log<sub>10</sub>-Stufen) und Verfahren mit keimreduzierender Wirkung (Keimreduktion zu erwarten, aber nicht abgesichert) unterschieden werden.

Um die Vorgaben der Hygienisierung im engeren Sinne zu erfüllen, wurden zur näheren ökonomischen und technischen Betrachtung nur Verfahren mit abgesicherter Keimreduktion, d. h. so genannte „echte Hygienisierungsverfahren“ wie z. B. die Pasteurisierung, betrachtet. Unter Berücksichtigung der Anschaffungs- und Betriebskosten sowie von technischen Gesichtspunkten (Anlagensicherheit, Komplexität der Anlage, Bedienung, Wartungsaufwand) stellte sich das Verfahren der Pasteurisierung im Vergleich zu anderen Verfahren als praktikabel für landwirtschaftliche BGA heraus. Dabei ist besonders die Integration der Pasteurisierungsanlage im System nach der Vergärung zu erwähnen.

Zur Veranschaulichung der technischen und ökonomischen Auswirkungen eines solchen Systems wurden Musteranlagen (75, 250 und 526 kW<sub>el</sub>) in drei für den Freistaat Sachsen repräsentativen Leistungsklassen erstellt. Anschließend wurden für jede Anlage entsprechend dimensionierte Pasteurisierungsanlagen geplant. In der nachfolgenden Betrachtung bezüglich der ökonomischen Auswirkungen stellte sich heraus, dass die Pasteurisierungsanlagen dem Betrieb keine Zusatzeinnahmen bringen, aber erhebliche Mehrkosten verursachen. Im Fall von Musteranlage 1 (75 kW<sub>el</sub>) würde eine Pasteurisierung den wirtschaftlichen Betrieb der Anlage verhindern. Die Dimensionierung und somit auch die Kostenintensität einer Pasteurisierungsanlage sind maßgeblich von der zu verarbeitenden Substratmenge abhängig. Weil besonders BGA mit hohem Gülleanteil ein vergleichsweise hohes Substrataufkommen haben, muss die Pasteurisierungsanlage entsprechend groß dimensioniert werden. Dieses wirkt sich besonders auf die spezifischen Kosten aus. So sind beispielsweise die Pasteurisierungsanlagen von Musteranlage 1 (75 kW<sub>el</sub>) und 2 (250 kW<sub>el</sub>) annähernd identisch dimensioniert, jedoch verfügt Anlage 2 über eine wesentlich höhere Leistung. Dieses konnte auch in Bezug auf die Pilotbetriebe beobachtet werden. So wurde festgestellt, dass bei zwei Anlagen mit ähnlicher Leistung, aber einem unterschiedlichen Gülleanteil die umgesetzte Substratmenge bei der Anlage mit dem höheren Gülleanteil im Vergleich zur BGA mit dem geringeren Gülleanteil um ein Vielfaches höher ist.

Weil BGA mit hohem Gülleanteil vergleichsweise hohe Substratmengen umsetzen und i. d. R. einen deutlich höheren Wärmebedarf für die Fermenterheizung haben, würden diese durch eine Pasteurisierung besonders belastet. Eine Wärmerückgewinnung nach der Pasteurisation ist zwar prinzipiell möglich, jedoch ist dies mit einem höheren anlagentechnischen Aufwand und höheren Kosten verbunden.

Nach Inkrafttreten der aktuellen Novelle des EEG zum 01.08.2014 wird in Fachkreisen davon ausgegangen, dass landwirtschaftliche BGA in den derzeit weit verbreiteten Größenordnungen von über 100 kW<sub>el</sub> als Neuanlage im Rahmen der EEG-Grundvergütung nicht mehr kostendeckend zu betreiben sind (Fachverband Biogas e. V. 2014). Weil sich somit im Bereich der Neuanlagen aktuell die Frage nach der generellen Realisierbarkeit stellt, sind Kostenfaktoren, die keinen Mehrwert generieren (wie es sich auch im Fall der Pasteurisierungsanlagen darstellt) ein zusätzliches Hindernis für den Anlagenzubau. Während eine Pasteurisierungsanlage für Altanlagen unter den für die Musteranlagen getroffenen Annahmen ökonomisch nur z. T. realisierbar ist, wäre eine generelle Forderung nach Hygienisierungssystemen für Neuanlagen finanziell nicht zu leisten. Somit wäre eine Gleichbehandlung aller BGA nicht möglich.

Der Biogasprozess an sich bewirkt i. d. R. eine Keimreduktion. Daher ist davon auszugehen, dass der Gärrest aus hygienischer Sicht keinen schlechteren Status aufweist als die Ausgangssubstrate. Weil Wirtschaftsdünger zudem auch ohne das Durchlaufen des Biogasprozesses auf landwirtschaftliche Flächen ausgebracht werden, ist eine Hygienisierung des zumeist hygienisch vergleichbaren Gärrestes nicht unbedingt sinnvoll. Darüber hinaus ist auch die Weiterverarbeitung des Gärrestes nach der Hygienisierung zu betrachten. Wie bereits im Abschnitt „mikrobiologische Einschätzung“ erwähnt, kann es nach erfolgreicher Hygienisierung des Gärrestes oder der Gülle zu einer Rekontamination kommen. Aus diesem Grund muss man die Wirksamkeit einer Hygienisierung in Bezug auf die gesamte Verarbeitungskette bis hin zur Ausbringung auf landwirtschaftliche Flächen als organischer Dünger betrachten, weil trotz Hygienisierung ein gewisses Restrisiko nicht völlig ausgeschlossen werden kann. Die Produktion unter dem Aspekt der guten fachlichen Praxis in den vor- und nachgeschalteten Produktionsstufen beeinflusst das hygienische Risiko maßgeblich. Im Hinblick auf die Pilotbetriebe sind, neben der mesophilen anaeroben Vergärung, verschiedene Technologien vorhanden, die eine gute Voraussetzung zur Verminderung mikrobieller Risiken darstellen wie z. B. eine meist mehrstufige Anordnung der Fermenter, eine kontrollierte Prozessführung, der Einsatz thermophiler Nachgärer, Systeme zur Gärresttrocknung sowie die Silierung und die regelmäßige Beprobung der Co-Substrate.

Zusammenfassend betrachtet kann auch aus technischer und ökonomischer Sicht keine generelle Empfehlung für eine Hygienisierung im Bereich landwirtschaftlicher Biogasanlagen ausgesprochen werden. Das untersuchte Verfahren der Pasteurisierung wurde anhand der verfügbaren Daten als das praktikabelste im Bereich landwirtschaftlicher Biogasanlagen identifiziert, es erzielt jedoch keinerlei Mehreinnahmen für den Betrieb und verursacht erhebliche Mehrkosten, die die Wirtschaftlichkeit der gesamten Anlage in Frage stellen können. Alternativ zur Hygienisierung könnte eine regelmäßige Erhebung des hygienischen Status, wie bereits im mikrobiologischen Teil angesprochen, als zusätzliches Sicherheitsinstrument herangezogen werden. Die daraus gewonnenen Daten könnten zur Erstellung von HACCP-Konzepten sowie zusätzlich im Bereich der Forschung genutzt werden und stellen gleichzeitig eine wesentlich geringere ökonomische Belastung für die Betriebe dar.

# Literaturverzeichnis

- ADE-KAPPELMANN, K. (2008): Untersuchungen zur seuchenhygienischen Unbedenklichkeit von Gärresten aus Bioabfällen nach der Behandlung in Anaerobanlagen. Veterinärmedizinische Dissertation. Freie Universität Berlin, Berlin.
- AGUDELO HIGUITA, N. I.; HUYPKE, M. M. (2014): Enterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment. In: M. S. Gilmore, D. B. Clewell, Y. Ike und N. Shankar (Hg.): Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. 1. Aufl. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary.
- AITKEN, M. D.; SOBSEY, M. D.; BLAUTH, K. E.; SHEHEE, M.; CRUNK, P. L.; WALTERS, G. W. (2005): Inactivation of *Ascaris suum* and Poliovirus in Biosolids under Thermophilic Anaerobic Digestion Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 39 (15), S. 5804–5809.
- Anonym (2011): Stand 2011. Online verfügbar unter: <http://biogas-kanns-nicht.de/4.html>.
- Arbeitsgemeinschaft Landtechnik und landwirtschaftliches Bauwesen in Bayern e. V. (2010): Prozessmodell Biogas. Broschüre. Online verfügbar unter: <http://www.biogas-forum-bayern.de>.
- EVERY, L. M.; KILLHAM, D. L. JONES (2005): Survival of *E. coli* O157:H7 in organic wastes destined for land application. *Journal of Applied Microbiology* 98, 2; 814-822.
- BAGGE, E.; PERSSON, M.; JOHANSSON, K.-E. (2010): Diversity of spore-forming bacteria in cattle manure, slaughterhouse waste and samples from biogas plants. *Journal of Applied Microbiology* (109), S. 1549–1565.
- BAGGE, E.; SAHLSTRÖM, L.; ALBIHN, A. (2005): The effect of hygienic treatment on the microbial flora of bio-waste at biogas plants. *Water Research* 39 (20), S. 4879–4886.
- BAHR, T. (2010): Einfluss der Vakuum-Siede-Behandlung auf die anaerobe Verfügbarkeit ausgewählter Biomasseprodukte. Dissertation. Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig.
- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (2007): Biogastechnologie für Hygiene und Umwelt in wasserwirtschaftlich sensiblen Gebieten. LfL-Information.
- BISPING, W.; AMTSBERG, G. (Hg.) (1988): Colour atlas for the diagnosis of bacterial pathogens in animals. Berlin: P. Parey Scientific Publishers.
- BMEL (2004): Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetz vom 25. Januar 2004 (BGBl. I S. 82), das zuletzt durch Artikel 2 Absatz 91 des Gesetzes vom 22. Dezember 2011 (BGBl. I S. 3044) geändert worden ist". TierNebG.
- BMEL (2009): Geflügel-Salmonellen-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 17. Januar 2014 (BGBl. I S. 58). GfISalmoV.
- BMELF (1972): Rinder-Salmonellose-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 14. November 1991 (BGBl. I S. 2118), die zuletzt durch Artikel 2 der Verordnung vom 17. April 2014 (BGBl. I S. 388) geändert worden ist. RindSalmV.
- BMELV (1991): Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 (BGBl. I S. 1404), die durch Artikel 1 der Verordnung vom 12. Juni 2013 (BGBl. I S. 1576) geändert worden ist.
- BMELV (2006): Verordnung über die Anwendung von Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln nach den Grundsätzen der guten fachlichen Praxis beim Düngen. Düngeverordnung - DüV, vom 27.02.2007.
- BMELV (2012): Düngegesetz vom 9. Januar 2009 (BGBl. I S. 54, 136), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 15. März 2012 (BGBl. I S. 481) geändert worden ist.
- BMELV (2012): Verordnung über das Inverkehrbringen von Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln. Düngemittelverordnung - DüMV, vom 12.12.2012.

- BMELV (2013 a): Berichte über Landwirtschaft. Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft. Das Thema Vermaischung im öffentlichen Diskurs. Band 91, Heft 2. Vom August 2013.
- BMELV (2013 b): Positionspapier des BMELV zur Novelle des Erneuerbare-Energien-Gesetzes (EEG). Stand 09.09.2013.
- BMELVL, BMUB (2006): Verordnung zur Durchführung des Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetzes (Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsverordnung - TierNebV). TierNebV, vom 27.06.2006.
- BMUB (2004): Erneuerbare-Energien-Gesetz vom 21. Juli 2004 (BGBl. I S. 1918), zuletzt geändert durch Artikel 1 des Gesetzes vom 7. November 2006 (BGBl. I S. 2550). EEG, vom 07.11.2006.
- BMUB (2009): Erneuerbare-Energien-Gesetz vom 25. Oktober 2008 (BGBl. I S. 2074), zuletzt geändert durch Artikel 6 des Gesetzes vom 21. Juli 2011 (BGBl. I S. 1475). Erneuerbare-Energien-Gesetz - EEG, vom 21.07.2010.
- BMUB (2012): Erneuerbare-Energien-Gesetz vom 25. Oktober 2008 (BGBl. I S. 2074), das durch Artikel 1 des Gesetzes vom 17. August 2012 (BGBl. I S. 1754) geändert worden ist. Erneuerbare-Energien-Gesetz - EEG, vom 17.08.2012.
- BMUB, BMELF, BMG (1998): Bioabfallverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 4. April 2013 (BGBl. I S. 658). Bioabfallverordnung - BioAbfV.
- BMUB, BMELF, BMG; BMWI (2012): Gesetz zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der Kreislaufwirtschaftsgesetz vom 24. Februar 2012 (BGBl. I S. 212), das zuletzt durch § 44 Absatz 4 des Gesetzes vom 22. Mai 2013 (BGBl. I S. 1324) geändert worden ist. KrWG.
- BMWI (1990): Gesetz über die Einspeisung von Strom aus erneuerbaren Energien in das öffentliche Netz (Stromeinspeisungsgesetz) vom 07. Dezember 1990 (BGBl. I S. 2633), zuletzt geändert durch Gesetz zur Neuregelung des Energiewirtschaftsrechts vom 24. April 1998 (BGBl. I S. 730, 734).
- BMWI (2014): Gesetz für den Ausbau erneuerbarer Energien. Erneuerbare-Energien-Gesetz - EEG 2014, vom 21.07.2014.
- BMWI, BMF (2000): Gesetz für den Vorrang Erneuerbarer Energien. Erneuerbare-Energien-Gesetz - EEG, vom 22.12.2003.
- BOCH, J.; SUPPERER, R. (Hg.) (1992): Veterinärmedizinische Parasitologie. Unter Mitarbeit von Johannes E. und Michel Rommel (Mitarbeiter) Erich Kutzer (Mitarbeiter). 4. Aufl. Berlin: P. Parey.
- BÖHM, R. (2002): Aspekte der Seuchenhygiene und Anforderung an die Verwertung von Klärschlamm, Kompost und Gülle. In: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e. V. (KTBL) (Hrsg.): Landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm, Gülle und anderen Düngern unter Berücksichtigung des Umwelt- und Verbraucher-schutzes, KTBL-Schrift 404, KTBL, Darmstadt, 61-84.
- BÖHNEL, H.; SCHWAGERICK, B.; GESSLER, F. (2001): Visceral botulism - a new form of bovine *Clostridium botulinum* toxication. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 48 (6), S. 373–383.
- BOLL, C. (2011): Chronischer Botulismus – Tod aus der Biogasanlage. Wild und Hund Ausgabe 10/2011. Paul Parey Zeitschriftenverlag GmbH. Online verfügbar unter: [http://www.wildundhund.de/r30/vc\\_content/bilder/firma438/Downloads/20110628\\_wuh\\_tod\\_aus\\_der\\_biogasanlage\\_im\\_visier\\_10\\_11\\_01.pdf](http://www.wildundhund.de/r30/vc_content/bilder/firma438/Downloads/20110628_wuh_tod_aus_der_biogasanlage_im_visier_10_11_01.pdf).
- BREVES, G. (2012): Abschlussbericht zu Einschätzung des Risikopotentials der Biogastechnologie in mikrobiologischer Hinsicht. Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover.
- BREVES, G. (2014): Teil 2: Mikrobiologisches Risikopotenzial von Biogasanlagen unter besonderer Berücksichtigung von Hühnertrockenkot als Gärsubstrat (Physio). In: Tierärztliche Hochschule Hannover (Hg.): Abschlussbericht. Bedeutung von *Clostridium botulinum* bei chronischem Krankheitsgeschehen und Teilprojekt: Mikrobiologisches Risikopotenzial von Biogasanlagen unter besonderer Berücksichtigung von Hühnertrockenkot als Gärsubstrat. Forschungsprojekt-Nummer: 2810HS005, S. 104–113.

- BÜCHTER, B. (2010): Vorkommen und Charakterisierung von Extended-Spectrum-Beta-Laktamase (ESBL)-produzierenden *Escherichia coli* bei Lebensmittel liefernden Tieren. [Online-Ausg.]. Berlin: mbv, Mensch- und-Buch-Verl.; Veterinärmedizinische Dissertation. Freie Universität Berlin.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (Hg.) (2012): Tenazität (Widerstandsfähigkeit) von Noroviren in Erdbeerkompott. Stellungnahme Nr. 038/2012 des BfR vom 6. Oktober 2012.
- C.A.R.M.E.N. E. V.: (2014) Akzeptanz für Erneuerbare Energien - Ein Leitfaden. 3. Aufl.
- CARTER, G. R.; WISE, DARLA J. (Hg.) (2004): Essentials of veterinary bacteriology and mycology. 6. Aufl. Ames, Iowa: Iowa State Press.
- DANG, S. T. T.; TRUONG, D. V.; MADSEN, H.; DALSGAARD, A. (2011): Survival of faecal indicator bacteria in treated pig manure stored in clay-covered heaps in Vietnam. *Vet. Microbiol.* 152 (3-4), S. 374–378.
- DASCHNER, F.; DETTENKOFER, M.; FRANK, U.; SCHERRER, M. (2006): Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz. Mit 123 Tabellen. 3. Aufl. Heidelberg: Springer Medizin. Online verfügbar unter <http://www.myilibrary.com?id=62366>.
- Deutsches Maiskomitee e.V. (2014) online verfügbar unter: <http://www.maiskomitee.de/>.
- DILLINGHAM, R. A.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. (2002): Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes Infect.* 4 (10), S. 1059–1066.
- DLG-Arbeitsgruppe Biogas (Hg.) (2006): Betriebszweigabrechnung für Biogasanlagen. Einheitliche Abrechnung und Erfolgskennzahlen für Biogasanlagen aller Rechtsformen. Unter Mitarbeit von H. Jochimsen. Frankfurt am Main: DLG-Verlag (Arbeiten der DLG, Nr. 200).
- DLG (2011): DLG-Merkblatt 368. Stromvermarktung außerhalb des EEG 2012. Chancen und Risiken für Biogasanlagen. DLG e.V. Fachzentrum für Land- und Ernährungswirtschaft. Ausschuss für Biogas. Auflage Stand 22.12.2011.
- DRČA, M. (2007): Seuchenhygienische-mikrobiologische Untersuchungen an einer mesophil betriebenen Biogasanlage zur Verwertung von Speiseresten in Verbindung mit methodischen Untersuchungen zum Nachweis von Salmonellen und *Escherichia coli* aus biologischem Material. Veterinärmedizinische Dissertation. Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät; Universität Hohenheim, Leipzig, Hohenheim. Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen; Institut für Umwelt- und Tierhygiene.
- EFSA (Hg.) (2007): CEN BT/TF 151 – WP 3-Part I, Annex H. Methoden zur Validierung von biotechnologischen, thermischen und chemischen Behandlungsprozessen für tierische Nebenprodukte, Klärschlamm und Bioabfall zur Gewährleistung der hygienischen Unbedenklichkeit der hergestellten Dünger oder vergleichbarer Produkte mittels Exposition von Prüforganismen oder Prüfviren – Teil 1 : Validierung mit vegetativen Bakterien. Project Horizontal.
- EG (2001): Richtlinie 2001/77/EG zur Förderung der Stromerzeugung aus erneuerbaren Energiequellen im Elektrizitätsbinnenmarkt vom 27.09.2001.
- EG (2002): Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 3. Oktober 2002 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte.
- EG (2009): Richtlinie 2009/28/EG zur Förderung der Nutzung von Energie aus erneuerbaren Quellen und zur Änderung und anschließenden Aufhebung der Richtlinien 2001/77/EG und 2003/30/EG vom 23.04.2009.
- EG (2009): Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte). VO (EG) 1069/2009.
- EL SUKHON, S. N. (1974): Vorkommen und Bedeutung von *Clostridium perfringens* beim Schwein in Nordwestdeutschland. Veterinärmedizinische Dissertation. TiHo Hannover.
- EU (2011): Verordnung (EU) Nr. 142/2011 der Kommission vom 25. Februar 2011 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte sowie zur Durchführung der

- Richtlinie 97/78/EG des Rates hinsichtlich bestimmter gemäß der genannten Richtlinie von Veterinärkontrollen an der Grenze befreiter Proben und Waren.
- EWERS, C.; BETHE, A.; SEMMLER, T.; GUENTHER, S.; WIELER, L. H. (2012): Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *Clin. Microbiol. Infect.* 18 (7), S. 646–655.
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (2013) Leitfadens Biogas. Von der Gewinnung zur Nutzung. 6. Überarbeitete Auflage, 2013.
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe; BMELV (2010): Biogas Basisdaten Deutschland. Stand Juni 2010.
- Fachverband Biogas e. V. (2014): Stellungnahme des Fachverbandes Biogas e.V. zur Neufassung des Erneuerbare-Energien-Gesetzes (EEG 2014) – Übersicht der wesentlichen Änderungen und Bewertung. Stand vom 01.08.2014.
- Fachverband Biogas e. V. (Hg.) (2014): Hygienepapier. Verhalten von Krankheitserregern in Biogasanlagen. Freising.
- Friedrich-Loeffler-Institut (2014): Bedeutung von *Clostridium botulinum* bei chronischen Krankheitsgeschehen. Schlussbericht Friedrich-Loeffler-Institut 2014. Teilprojekt "Clostridiendiagnostik". C. Seyboldt, Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen, Jena. Hg. v. BLE und BMELV.
- Friedrich-Loeffler-Institut (2014): Tiergesundheitsjahresbericht 2012. Hg. v. Friedrich-Loeffler-Institut. Greifswald-Insel Riems.
- FRIESE, A.; RÖSLER, U. (2013): ESBL- und AmpC-produzierende Enterobakterien bei Tieren. *Krankenh.hyg. up2date* 08 (01), S. 49–63.
- FUCHS, W.; DROSG, B. (2010): Technologiebewertung von Gärrestbehandlungs- und Verwertungskonzepten. Wien: Universität für Bodenkultur.
- GELDREICH, E. E. (1978): Bacterial Populations and Indicator Concepts in Feces, Sewage, Stormwater and Solid Wastes, BERG, G. (Ed.): Indicators of Viruses in Water and Food, Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, Michigan 51-97.
- GEROWITT, B.; WESTERMAN, P. R. (2012): Unkrautsamen in der Biogas-Prozesskette. In: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e. V. (KTBL) (Hg.): Untersuchungen zum phytosanitären Risiko bei der anaeroben Vergärung von pflanzlichen Biomassen in Biogasanlagen (KTBL-Sonderveröffentlichung), S. 30–36.
- GESER, N.; STEPHAN, R.; KORCZAK, B. M.; BEUTIN, L.; HACHLER, H. (2012): Molecular Identification of Extended-Spectrum-beta-Lactamase Genes from Enterobacteriaceae Isolated from Healthy Human Carriers in Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56 (3), S. 1609–1612.
- GESER, N.; STEPHAN, R.; KUHNERT, P.; ZBINDEN, R.; KAEPEL, U.; CERNELA, N.; HAECHLER, H. (2011): Fecal Carriage of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Swine and Cattle at Slaughter in Switzerland. *Journal of Food Protection* 74 (3), S. 446–449.
- GORNIK, V. (1997): Cryptosporidiosis. In: *Bundesgesundhbl.* 40 (12), S. 475–484.
- GYLES, C. L.; FAIRBROTHER, J. M. (2004): *Escherichia coli*. In: C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer und C. O. Thoen (Hg.): Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3. Aufl. Ames, Iowa: Blackwell Pub., S. 193–224.
- HABER, N. (2008): Inhaltsstoffe von Gärprodukten und Möglichkeiten zu ihrer geordneten landwirtschaftlichen Verwertung. Abschlussprojekt. Unter Mitarbeit von W. Wagner, M. Mokry, M. Dederer und J. Messern. Hg. v. Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg -LTZ. Karlsruhe.
- HAUMACHER, R. (2012): Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben: Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben: Hygieneaspekte organischer Düngemittel und ihre Anwendung Förderkennzeichen: 2811HS016. Unter Mitarbeit von S. Schnauer, W. Philipp, M. Pietsch und L. E. Hölzle.
- HENKELMANN, G. (2006): Teilprojekt: Wasserwirtschaftliche und hygienische Begleituntersuchungen - Lysimeter-, Labor- und Praxisversuche. In: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) (Hg.): Biogastech-

- nologie zur umweltverträglichen Flüssigmistverwertung und Energiegewinnung in Wasserschutzgebieten. Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik. Freising (Schriftenreihe, 23).
- HILL, B. J.; SKERRY, J. C.; SMITH, T. J.; ARNON, S. S.; DOUEK, D. C. (2010): Universal and specific quantitative detection of botulinum neurotoxin genes. *BMC Microbiol* 10 (1), S. 267.
- HOFERER, M. (2001): Seuchenhygienische Untersuchungen zur Inaktivierung ausgewählter Bakterien und Viren bei der mesophilen und thermophilen anaeroben alkalischen 268 Faulung von Bio- und Küchenabfällen sowie anderen Rest- und Abfallstoffen tierischer Herkunft. Veterinärmedizinische Dissertation. Freie Universität Berlin.
- HOFMANN, M.; SCHULTHEISS, U. (2013): Phytohygienische Aspekte in der Biogaskette. Hg. v. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e. V. (KTBL). Darmstadt (Fachartikel).
- HOY, S. (2002): Anfall und hygienisch-ökologische Eigenschaften von organischen Düngern. In: Methling, W. Unshelm, J. (Hrsg.) Umwelt- und tiergerechte Haltung von Nutz-, Heim- und Begleittieren. Berlin: Parey, S. 101.
- JURIS, P.; TÓTH, F.; LAUKOVÁ, A.; PLACHÝ, P.; DUBINSKÝ, P.; SOKOL, J. (1996): Survival of model bacterial strains and helminth eggs in the course of mesophilic anaerobic digestion of pig slurry. *Vet Med (Praha)* 41 (5), S. 149–153.
- KATO, S.; FOGARTY, E.; BOWMAN, D. (2003): Effect of aerobic and anaerobic digestion on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Ascaris suum* eggs. *Int J Environ Health Res* 13 (2), S. 169–179.
- KNIE, A.; HAUMACHER, R.; PHILIPP, W.; MARTENS, W.; BÖHM, R. (2001): Forschungsbericht FZKA-BWPLUS. Untersuchungen zur Phytohygiene in Anaerobanlagen (Halb- bzw. großtechnische Anlagen). Hg. v. Universität Hohenheim. Institut für Tierhygiene.
- KRÜGER, M. (2010): Aktuelle Erkrankungen im Milchviehbetrieb: Diagnostik und Bedeutung von Clostridienerkrankungen bei Rindern. Vortrag bei der 9. Agrar- und Veterinär-Akademie (AVA)-Haupttagung. Agrar- und Veterinär-Akademie. Göttingen, 17.03.2010.
- Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (Hg.) (2013): Faustzahlen Biogas. 3. Ausgabe. Tabellenwerk. Darmstadt: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft.
- Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen (2002): Sachinformation optische Immissionen von Windkraftanlagen.
- LANG, A. (1987): Mikrobiologische Untersuchungen über die Eignung verschiedener Indikatororganismen zur seuchenhygienischen Beurteilung von Klärschlamm. Agrarwissenschaftliche Dissertation. Universität Hohenheim.
- LEBUHN, M.; FRÖSCHLE, B.: Hygienische Aspekte beim Einsatz von Gärresten. (2012) In: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) (Hg.): Düngung mit Biogasgärresten effektiv-umweltfreundlich-bodenschonend. 10. Kulturlandschaftstag. Weichering, 15.11.2012. 1. Aufl., S. 59–71.
- LEBUHN, M.; WILDERER, P. (2006): Projektteil: Mikrobiologische, parasitologische und virologische Untersuchungen. In: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) (Hg.): Biogastechnologie zur umweltverträglichen Flüssigmistverwertung und Energiegewinnung in Wasserschutzgebieten. Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik. Freising (Schriftenreihe, 23/2006).
- LfULG (2013): Biogas in Sachsen 2013. Broschüre. Stand August 2013.
- LIBBY, S. J.; HALSEY, T. A.; ALTIER, C.; POTTER, J.; GYLES, C. L. (2004): *Salmonella*. In: C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer und C. O. Thoen (Hg.): Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3. Aufl. Ames, Iowa: Blackwell Pub., S. 143–167.
- LITERAK, I.; DOLEJSKA, M.; RADIMERSKY, T.; KLIMES, J.; FRIEDMAN, M.; AARESTRUP, F.; HASMANN, H.; CIZEK, A. (2009): Antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli* in wild mammals in central Europe: multiresistant *Escherichia coli* Antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli* in wild mammals in central Europe: multi-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in wild boars. *Journal of Applied Microbiology* 108 (5), S. 1702–1711.

- MONTEITH, H. D.; SHANNON, E. E.; DERBYSHIRE, J. B. (1986): The inactivation of a bovine enterovirus and a bovine parvovirus in cattle manure by anaerobic digestion, heat treatment, gamma irradiation, ensilage and composting. *J Hyg (Lond)* 1986 (97(1)), S. 175–184.
- OXOID Deutschland GmbH (2009): *Brilliance™* ESBL. PO5302Adev01.
- PFEIFER, Y.; ELLER, C. (2012): Aktuelle Daten und Trends zur  $\beta$ -Lactam-Resistenz bei gramnegativen Infektionserregern. *Bundesgesundheitsbl.* 55 (11-12), S. 1405–1409.
- PHILIPP, W.; GRESSER, R.; MICHELS, E.; STRAUCH, D. (1990): Vorkommen von Salmonellen in Gülle, Jauche und Stallmist landwirtschaftlicher Betriebe in einem Wasserschutzgebiet. *Forum Städte-Hygiene* 1990 (41), S. 209–212.
- PIETZSCH, O. (1981): Salmonella. In: H. Blobel und T. Schließer (Hg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band III. Stuttgart: Fischer (Band III), S. 344–433.
- PLACHY, P.; PLACHA, I.; JURIS, P. (1997): Effect of anaerobic stabilization of sewage sludges on the survival of *Ascaris suum* under laboratory conditions. *Helminthologia* 1997 (34), S. 229–234.
- PONDUS Verfahrenstechnik GmbH (2013): Hygienisierung auch Pasteurisierung genannt von Biosubstraten. Online verfügbar unter: <http://www.pondus-verfahren.de/hygienisierung.html>
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. (Hg.) (2000): Clinical veterinary microbiology. London: Wolfe.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING S.; HARTIGAN, P. J. (Hg.) (2011): Veterinary microbiology and microbial disease. 2. Aufl. Chichester: Wiley-Blackwell.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- RAPP, A. (1995): Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen zum Verhalten von ausgewählten Bakterien und Viren während der längerfristigen Speicherung von Flüssigmist in Güllegemeinschaftsanlagen. Agrarwissenschaftliche Dissertation., Universität Hohenheim.
- REINHOLD, G.; JAHN, O. (2004): Hygienisierende Wirkungen der Biogaserzeugung auf die Gärsubstrate. In: Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Hg.): Generalthema "Qualitätssicherung in landwirtschaftlichen Produktionssystemen". Kongressband 2004 Rostock ; 116. VDLUFA-Kongress, 60/2005. Speyer: VDLUFA-Verl. (Schriftenreihe, 60/2005), S. 256–262.
- Robert Koch-Institut (2013): Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2012. Berlin.
- ROLLE, M.; MAYR, A. (2007): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 8. Aufl. Stuttgart: Enke.
- RÜCKERT, V. (1991): Mikrobiologische Untersuchungen zur aeroben und anaeroben Flüssigmistbehandlung. Agrarwissenschaftliche Dissertation. Universität Hohenheim.
- SCHNIEDER, T. (2000): Helminthosen des Schweines. In: M. Rommel L., J. Eckert, E. Kutzer, W. Körting und T. Schnieder (Hg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. Mit 100 Tabellen. 5. Aufl. Berlin: Parey.
- SCHOOP, G. (1980): Clostridien der Haustiere. In: H. Blobel und T. H. Schließer (Hg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II. Stuttgart - New York: Gustav-Fischer-Verlag.
- SEIGNER, L.; FRIEDRICH, R.; KAEMMERER, D.; BÜTTNER, P.; POSCHENRIEDER, G.; HERMANN, A.; GRONAUER, A. (2012): Hygienisierungspotential des Biogasprozesses. Ergebnisse aus einem Forschungsprojekt. 2. unveränderte Auflage: August 2012. Hg. v. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL). Institut für Pflanzenschutz. Freising-Weihenstephan (Schriftenreihe 8/2010).
- SONNENSCHNEIN (1980): *Clostridium botulinum*. In: H. Blobel und T. H. Schließer (Hg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II. Stuttgart - New York: Gustav-Fischer-Verlag.
- Statistisches Bundesamt (2014): Preise und Daten zur Energiepreisentwicklung. Lange Reihen von Januar 2000 bis August 2014, S. 31 u. 49.
- STRAUCH, D. (1981): Hygienische Gesichtspunkte der Lagerung und Ausbringung von Stallmist und Gülle. *Der Tierzüchter* 33, Nr. 4, 149-150.

- Tewe Elektronik GmbH & Co. KG (2013): Informationen zur Biogastechnik. Online verfügbar unter: <http://www.tewe.com/de/produkte/biogastechnik/biogasanlagen>.
- Tierärztliche Hochschule Hannover (Hg.) (2014): Abschlussbericht. Bedeutung von *Clostridium botulinum* bei chronischem Krankheitsgeschehen und Teilprojekt: Mikrobiologisches Risikopotential von Biogasanlagen unter besonderer Berücksichtigung von Hühnertrockenkot als Gärsubstrat. Forschungsprojekt-Nummer: 2810HS005.
- Umweltbundesamt (2009) Stand der Technik beim Bau und Betrieb von Biogasanlagen. Bestandsaufnahme 2008. Ausschließlich online verfügbar unter: [http://www.umweltbundesamt.de/uba-infomedien/mysql\\_medien.php?anfrage=Kennnummer&Suchwort=3873](http://www.umweltbundesamt.de/uba-infomedien/mysql_medien.php?anfrage=Kennnummer&Suchwort=3873).
- VAN ASTEN, A. J.; VAN DER WIEL, C. W.; NIKOLAOU, G.; HOUWERS, D. J.; GRÖNE, A. (2009): A multiplex PCR for toxin typing of *Clostridium perfringens* isolates. *Veterinary Microbiology* 136 (3-4), S. 411–412.
- VENABLES, W. N., RIPLEY, B. D. (2002): *Modern Applied Statistics with S*. New York: Springer.
- WATCHARASUKARN, M.; KAPARAJU, P.; STEYER, J.-P.; KROGFELT, K. A.; ANGELIDAKI, I. (2009): Screening *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Clostridium perfringens* as Indicator Organisms in Evaluating Pathogen-Reducing Capacity in Biogas Plants. *Microb Ecol* 58 (2), S. 221–230.
- WEILAND, P. (2007): Untersuchungen zum qualitativen und quantitativen Vorkommen von *Clostridium botulinum* in Substraten und Gärrückständen von Biogasanlagen. Abschlussbericht. Projektförderung durch das Niedersächsische Ministerium für den ländlichen Raum, Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. Unter Mitarbeit von P. Weiland, L. Klingebiel, C. C. Tebbe, A.-B. Dohrmann und S. Baumert. Hg. v. Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft. Institut für Technologie und Biosystemtechnik, Institut für Agrarökologie. Braunschweig.
- WETTER, C. UND BRÜGGING, E. (2006): Machbarkeitsstudie zur Verwertung von Gärresten aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen, Fachhochschule Münster
- WHITLOCK (2004): Neurotoxic Clostridia. In: C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer und C. O. Thoen (Hg.): *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 3. Aufl. Ames, Iowa: Blackwell Pub.
- WILLINGER, H. (1981): *Escherichia coli*. In: H. Blobel und T. Schließer (Hg.): *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*. Band III. Stuttgart: Fischer (Band III), S. 257–343.

# 6 Anlagen

## 6.1 Erklärungen zum EEG

### 6.1.1 Direktvermarktung und Flexibilisierung

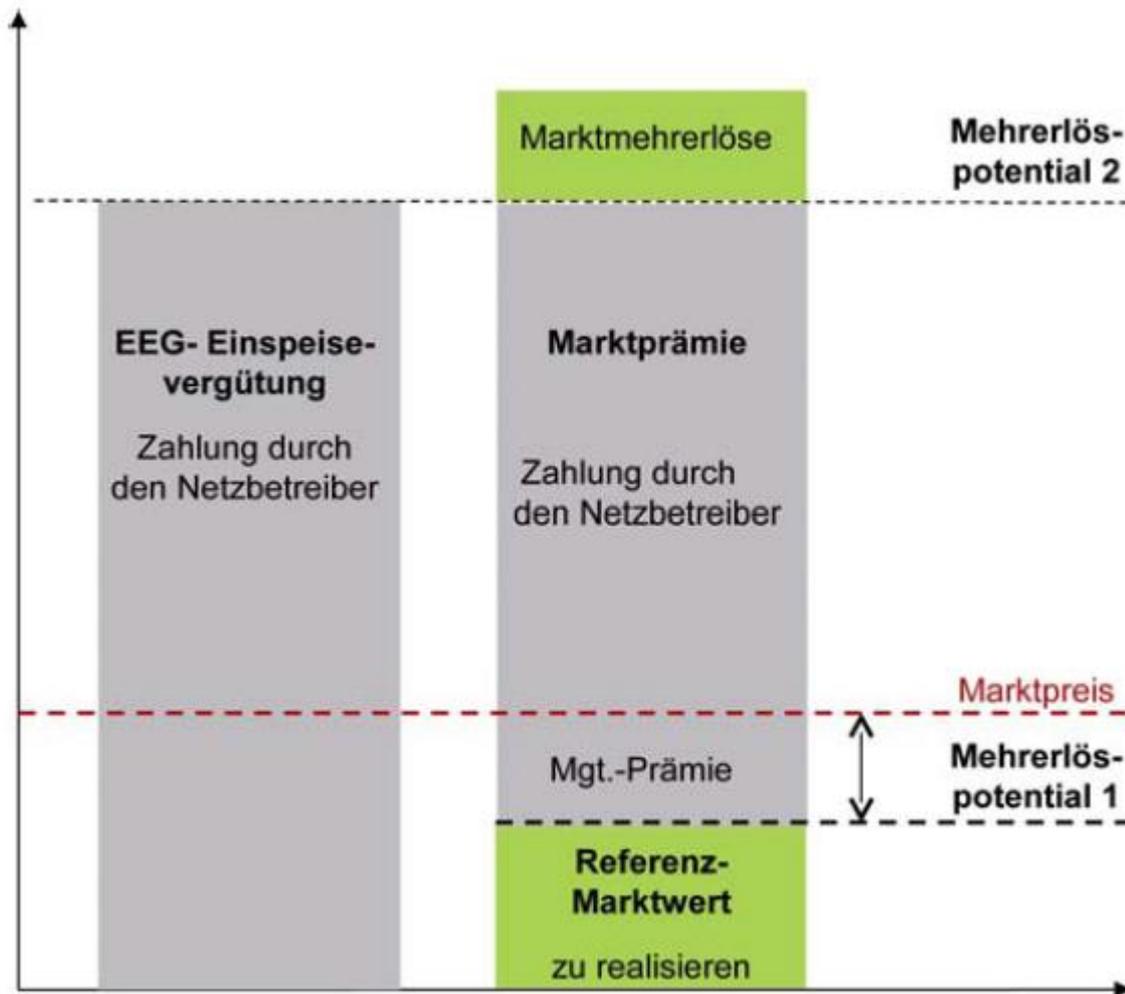
#### Direktvermarktung von Biogasstrom

Seit der EEG-Novelle von 2012 wird den Produzenten erneuerbarer Energie eine Alternative zur bisherigen EEG-Einspeisung angeboten (BMELV 2013 b). Dabei sollen Anreize gesetzt werden, Strom nicht mehr nur kontinuierlich zu produzieren, sondern bedarfsgerecht in das Stromnetz einzuspeisen. Theoretisch sind gerade BGA für diese Art der bedarfsgerechten Stromproduktion prädestiniert, weil sie unabhängig von Witterung und Tageszeit produzieren können. Ein erster Schritt in die Richtung einer an der Nachfrage orientierten Stromproduktion ist dabei die Heranführung der Produzenten an die Direktvermarktung des Stroms außerhalb der sicheren EEG-Einspeisung. Die bereits in der EEG-Novelle von 2012 geschaffenen Anreize, die die unsicherere Teilnahme am Marktgeschehen für die Betreiber attraktiver machen sollen, wurden im EEG in der Fassung vom 21. Juli 2014 (BGBl. I S. 1066) weitestgehend beibehalten, beziehungsweise durch drastische Verringerungen im Bereich der Grundvergütung verstärkt. Die zusätzliche gravierende Einkürzung der Grundvergütung für Neuanlagen, besonders mit einer Leistung von über 75 kW<sub>el</sub>, macht die Direktvermarktung zu einem wichtigen Thema.

Jeder Betreiber einer EEG-Anlage kann dabei monatlich entscheiden, ob er die EEG-Einspeisevergütung in Anspruch nimmt oder den produzierten Strom direkt vermarktet. Der gesetzlich verankerte, 20-jährige Vergütungsanspruch der Anlage wird dadurch nicht berührt, jedoch wird er für die Zeit der Direktvermarktung nicht in Anspruch genommen. Die Arten der Direktvermarktung sind dabei per Gesetz nicht miteinander kombinierbar, weiterhin sind sämtliche Zusatzerlöse, z. B. die Bereitstellung von Regelenergie, zwingend an eine Form der Direktvermarktung gebunden. Der Anlagenbetreiber wird, für den Fall dass er sich für die Direktvermarktung entscheidet, vom Gesetzgeber nicht in der Höhe der möglichen Zusatzerlöse limitiert, jedoch ist er damit auch für alle Chancen und Risiken selbst verantwortlich. Für BGA ist aufgrund der definierten Rahmenbedingungen vor allem das Marktprämienmodell wirtschaftlich interessant. Dieses resultiert vorrangig aus der bereits genannten technologischen Fähigkeit, Strom bedarfsgerecht zu produzieren. Das Marktprämienmodell ist für alle Beteiligten sehr einfach konstruiert und enthält eine zusätzliche Anreizkomponente für Anlagenbetreiber, die so genannte Managementprämie. Im Marktprämienmodell wird grundsätzlich der durchschnittliche monatliche Marktwert, welcher an der Strombörse EPEX Spot erzielt werden kann, als Referenzwert angenommen. Der Referenzwert wird vom Netzbetreiber veröffentlicht und ist für alle Biomasseanlagen gleich. Anschließend wird die Differenz zur anlagenspezifischen EEG-Vergütung berechnet und vom Netzbetreiber an den Betreiber ausgezahlt. Der tatsächliche Verkaufspreis des Stroms ist davon unabhängig und bietet dem Betreiber die Möglichkeit, Mehrerlöse zu erzielen. Um einen Mehrwert zu erwirtschaften, muss der Betreiber den Strom mindestens zum Referenzmarktwert verkaufen. Aufgrund der Förderung des direkt vermarkteten Stroms über die Marktprämie verliert dieser allerdings seine „grüne Eigenschaft“ und kann somit nur noch als „Graustrom“ vermarktet werden. Eine Vermarktung als Grünstrom (Grünstromprivileg s. § 39 EEG 2012 – im EEG in der Fassung vom 21. Juli 2014 [BGBl. I S. 1066] ersatzlos gestrichen) bei gleichzeitiger Inanspruchnahme der Marktprämie gilt als Doppelvermarktung und führt zum Verlust aller Ansprüche aus dem EEG. Die als zusätzlicher Anreiz konzipierte Managementprämie soll dem Betreiber den Schritt in die Direktvermarktung erleichtern. Sie stellt keinen garantierten Mehrerlös dar, sondern soll vorrangig den Aufwand und die möglichen Risiken abdecken, welche aus der Marktteilnahme resultieren. Die Managementprämie ist dabei vom

Gesetzgeber bewusst gering gehalten worden, um einen Mitnahmeeffekt ohne Änderung des Einspeiseverhaltens zu verhindern. Eine reine „Mitnahme“ wäre daher nicht rentabel.

Biogasanlagen, die nach dem EEG 2012 vergütet werden, werden durch den Wechsel in die Direktvermarktung für den entsprechenden Zeitraum von ihrer Pflicht zur Kraft-Wärme-Kopplung nach § 27 Abs. 4 Nr. 1 befreit. Die Direktvermarktung ist für Neuanlagen ab 750 kW<sub>el</sub>, welche nach dem 31.12.2013 in Betrieb gegangen sind, verpflichtend.



**Abbildung 30: Gegenüberstellung Grundvergütung zur Direktvermarktung**

Quelle: Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (2011): DLG-Merkblatt 368

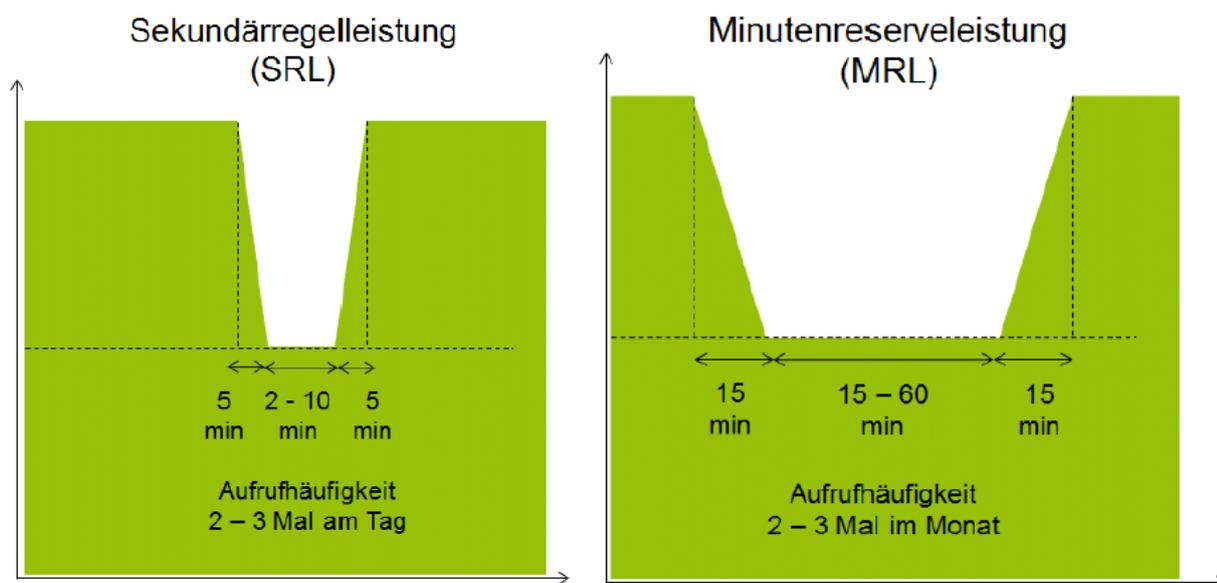
### Flexibilisierung

Der Begriff der Flexibilisierung bezeichnet in diesem Fall die zeitlich bedarfsgerechte Stromproduktion. Weil Biogasanlagen prinzipiell in der Lage sind, unabhängig von äußeren Gegebenheiten Strom zu produzieren, sind sie für die Flexibilisierung geeignet. Die bedarfsgerechte Produktion von Strom ist eine Möglichkeit, Mehrlöse im Bereich der Direktvermarktung zu erzielen. Die Eignung von Biogasanlagen für bestimmte Formen der Flexibilisierung hängt von der technischen Ausstattung der Anlage ab. Ausschlaggebend hierfür sind u. a. Kapazitäten zur Gasspeicherung sowie vorhandene BHKW-Leistung und die Eignung der BHKW zum Teillastbetrieb. Für jede Form der Flexibilisierung ist jedoch die technische Möglichkeit der Fernsteuerung der Anlage unabdingbar.

## ■ Regelenergie

Eine Form von Flexibilisierung ist die Bereitstellung von Regelenergie. Weil die Übertragungsnetzbetreiber (ÜNB) aus wettbewerbsrechtlichen Gründen nicht über eigene Erzeugungsanlagen verfügen dürfen, müssen sie die Regelenergie von Dritten beschaffen. Diese wird von den ÜNB über monatliche, wöchentliche oder tägliche Ausschreibungen beschafft. Diese Ausschreibungen erfolgen transparent und diskriminierungsfrei über eine Online-Plattform. Diese wird von der Bundesnetzagentur als „Regelenergiemarkt“ bezeichnet. Am Regelenergiemarkt teilnehmen kann prinzipiell jeder Energieerzeuger oder Verbraucher, der in der Lage ist, seine Leistung kurzfristig zu ändern. Vergütet wird dabei vorerst der vereinbarte Leistungspreis, welcher für die Bereitstellung der Regelenergie bzw. das Recht, diese in Anspruch zu nehmen, gezahlt wird. Zusätzlich wird bei tatsächlicher Inanspruchnahme der Regelleistung der so genannte Arbeitspreis gezahlt.

Biogasanlagen können i. d. R. zwei Arten von Regelenergie liefern: Minutenreserveleistung (MRL) und Sekundärregelleistung (SRL). Hierbei wird grundsätzlich die Anhebung oder Absenkung der Anlagenleistung über einen bestimmten Zeitraum um eine bestimmte Leistung verlangt. Die Ausschreibung von positiver und negativer Regelenergie erfolgt getrennt voneinander. Biogasanlagen, welche normalerweise im Grundlastbetrieb betrieben werden und in der Lage sind, zumindest kurzfristig nicht verbrauchtes Gas zu speichern, können i. d. R. zumindest negative Regelenergie bereitstellen. Ist zusätzliche Motorenleistung vorhanden, kann auch positive Regelenergie zur Verfügung gestellt werden. Der Regelenergiemarkt ist „ein relativ kleiner Markt“ mit einer geringen Anzahl an Anbietern und somit großen Preisschwankungen unterworfen. Prognosen lassen sich daher nur schwierig erstellen.



**Abbildung 31: Sekundärregelleistung und Minutenreserveleistung**

Quelle: Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (2011): DLG-Merkblatt 368

## ■ Virtuelle Kraftwerke

Um am Regelenergiemarkt teilnehmen zu können, muss eine Anlage die Erfüllung bestimmter Mindestanforderungen nachweisen. Dazu gehört neben der Fähigkeit zur kurzfristigen Leistungsänderung auch eine bestimmte Mindestangebotsgröße. Diese beträgt für SRL 5 MW und für MRL 10 MW. Weil viele Biogasanlagen nicht über eine so hohe Leistung verfügen, kann eine Teilnahme häufig nur durch die Zusammenlegung mehrerer Anlagen zu einem virtuellen Kraftwerk erfolgen.

### ■ Bedarfsorientierte Erzeugung

Je flexibler eine Biogasanlage Strom erzeugen kann, d. h. über je mehr Speicherkapazitäten und zusätzliche Motorleistung sie verfügt, umso höher können die Zusatzerlöse ausfallen. Dieses lässt sich u. a. dadurch erreichen, dass die täglichen Schwankungen des Strompreises ausgenutzt werden, indem vornehmlich zu Zeiten hoher Strompreise produziert wird.

### ■ Schaffung von zusätzlichen Anreizen

Die Schaffung und Nutzung von Erzeugungsflexibilität ist i. d. R. mit zusätzlichen Investitionen verbunden. Daher sollte vorhandene und neu zu schaffende Flexibilität nach Möglichkeit mit einem erfahrenen Händler individuell bewertet und preisoptimiert eingesetzt werden.

Um für Anlagenbetreiber einen zusätzlichen Anreiz für Investitionen im Bereich der Flexibilisierung zu schaffen, wurde mit der EEG-Novelle von 2012 die Flexibilitätsprämie als zusätzlicher Anreiz eingeführt. Diese wurde mithilfe einer so genannten Kapazitätskomponente berechnet und bezogen auf die produzierte Strommenge ausgezahlt. Mit Inkrafttreten des EEG in der Fassung vom 21. Juli 2014 (BGBl. I S. 1066) wurde die Flexibilitätsprämie durch den Flexibilitätszuschlag nach § 53 Absatz 1 ersetzt, gilt aber weiterhin für Anlagen, welche vor dem 01.08.2014 in Betrieb gegangen sind. Der Flexibilitätszuschlag kann von allen Anlagenbetreibern mit einer installierten Leistung von mehr als 100 kW<sub>el</sub> in Anspruch genommen werden und beträgt pauschal 40 € pro kW installierter Leistung und Jahr.

Neuanlagen mit einer installierten Leistung von über 100 kW<sub>el</sub> können nach EEG in der Fassung vom 21. Juli 2014 (BGBl. I S. 1066) nur noch für die Hälfte der installierten Leistung die gesetzliche Grundvergütung erhalten. Für jegliche zusätzlich produzierte Energie wird nur der Basispreis der Strombörsen gezahlt. Dieser lag im ersten Halbjahr 2014 für die EEX in Leipzig bei durchschnittlich ca. 3,2 Cent/kWh. Somit besteht für diese Anlagen de facto die Pflicht zur Flexibilisierung.

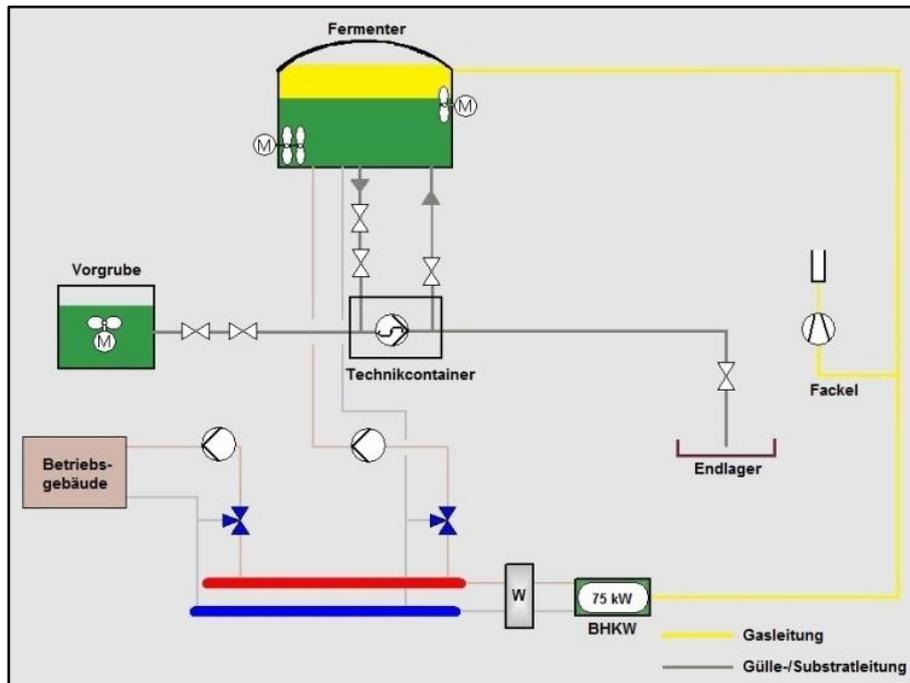
## 6.2 Detailbeschreibung Musteranlagen

### 6.2.1 Musteranlagen

Bei der Auswertung eines Anlagen-Monitorings des Sächsischen Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie im Jahr 2013 haben sich drei Biogasanlagengrößen (75 kW<sub>el</sub>, 250 kW<sub>el</sub> und ca. 500 kW<sub>el</sub>) in ihrer Häufigkeit in Sachsen herauskristallisiert. Anhand so genannter Musteranlagen in den Größenordnungen 75 kW<sub>el</sub>, 250 kW<sub>el</sub> und 526 kW<sub>el</sub> wurde untersucht, ob eine Erweiterung einer bestehenden Biogasanlage um eine Hygienisierungsanlage wirtschaftlich zu realisieren ist. Im Folgenden werden die verschiedenen technischen Konzepte und die Betriebsweisen vorgestellt.

#### Musteranlage 1: 75 kW<sub>el</sub>-Biogasanlage

Die Musteranlage 1 ist eine reine Gülleanlage. Die sächsischen 75 kW<sub>el</sub>-Anlagen werden i. d. R. mit Rindergülle betrieben. Der Durchsatz bei der Musteranlage 1 beträgt 12.410t/a Rindergülle. Das verfahrenstechnische Konzept basiert auf dem einstufigen Speicherdurchflussverfahren im Fermenter in mesophiler Fahrweise.



**Abbildung 32: Musteranlage 1**

Zur Zwischenpufferung der täglich ankommenden Gülle aus den Rinderställen wird eine Vorgrube genutzt. Von der Vorgrube wird die Rindergülle über die zentrale Pumpstation in den Fermenter gefördert und steht den Bakterien zur Umwandlung in Biogas zur Verfügung. Dabei stellt sich eine Faulraumbelastung von ca. 1,22 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d) ein.

**Tabelle 27: Abmessungen Fermenter Musteranlage 1**

	Fermenter
Nettovolumen	1.786 m <sup>3</sup>
Abmessungen (Durchmesser/Höhe)	19 m/7 m

Fermenter, Vorgrube und Technikcontainer sind nah beieinander aufgestellt, sodass die Pumpwege kurz gehalten werden. Die Behälter sind runde, monolithisch erbaute Stahlbetonbehälter, ebenso das Endlager, das sich auch in direkter Nähe zum Fermenter befindet (siehe Abbildung 32). Für die Aufrechterhaltung der Gärtemperatur zwischen 38 und 40 °C ist der Fermenter mit innenliegenden Heizungsleitungen aus Edelstahl ausgestattet und gedämmt. Zur schonenden Durchmischung des Gärsubstrates dient ein Großpaddelrührwerk. Um bei Bedarf Schwimmschichten zu bekämpfen, wird zusätzlich ein Stabmischrührwerk verwendet. Der Fermenter ist mit einem Tragluftdach zur Gasspeicherung abgedeckt. Unterhalb der Gasspeicherfolie ist eine Holzbalkendecke verlegt, die das Tragwerk für den Gasspeicher bildet und als Bewuchsfläche für die Bakterien der biologischen Entschwefelung dient. Nach einer Verweildauer von etwa 52 Tagen im Fermenter wird das vergorene Substrat in das Endlager gepumpt und dort bis zur Ausbringung auf die Felder gelagert. Im zentralen Technikcontainer direkt neben dem Fermenter befindet sich die Zentralpumpe mit Substratverteiler und -schieber sowie die zentrale Steuerungseinheit mit Schaltschrank und die Lufteinblasung für die biologische Entschwefelung. Dadurch wird ein Schutz vor Witterung und Frostfreiheit der eingebauten Technik gewährleistet. Vom Bedienerarbeitsplatz können über die Anlagensvisualisierung alle prozesstechnischen Vorgänge in der Biogasanlage überwacht und gesteuert werden.

Das Biogas wird durch eine Gasleitung vom BHKW aus dem Fermenter angesaugt und mit Hilfe eines Gas-aufbereitungsmoduls aufbereitet. Der Schwefelwasserstoffgehalt wird nach dem Aktivkohlefilter auf 0 % reduziert. Das gereinigte Gas wird dann im Gas-Otto-Motor verbrannt und Wärme und Strom erzeugt. Der gewonnene elektrische Strom wird direkt in das öffentliche Stromnetz eingespeist. Bis zu 50 % der Wärme werden für die Aufrechterhaltung der Temperatur im Fermenter benötigt, dabei wird Warmwasser über im Erdreich verlegte und gedämmte Leitungen vom BHKW zum Fermenter gefördert und an die Heizungsleitungen im Fermenter übergeben. Neben dem BHKW gibt es noch eine zweite Verbrennungseinrichtung, die Notfackelanlage. Sie wird nur zur Verbrennung von Überschussgas und zum kontrollierten Abbrennen des Gases bei Havarien verwendet.

**Tabelle 28: Leistungsdaten BHKW im Volllastbetrieb**

Gas-Otto-Motor	
Elektrische Leistung	75 kW
Thermische Leistung	89 kW
Elektrischer Wirkungsgrad	38,00%
Thermischer Wirkungsgrad	45,20%

**Tabelle 29: Investitionskosten Musteranlage 1, 75 kW<sub>el</sub> in €**

1.1	Baustelleneinrichtung	4.433
1.2	Tiefbau	26.565
1.3	Behälterbau	107.410
1.4	Behälterbeschichtung	3.588
1.5	Behälterabdeckungen	29.670
1.6	Behälterbekleidungen	30.360
1.7	Zimmererarbeiten	14.145
1.8	Allgemeiner Hochbau	20.821
1.9	Metallbauarbeiten	7.475
2.1	Gülletechnik, Pump- und Rührtechnik	82.565
2.2	Feststoffdosiertechnik	0
2.3	HLS- und Gastechnik	56.770
2.4	Notfackelanlage	12.880
3.1	E-/MSR-Technik	60.852
3.2	Kraftwerkstechnik	132.877
4	Baunebenkosten	40.250
	Posten inklusive Baunebenkosten*	
1.	Bau	257.884
2.	Technik	165.633
3.	BHKW	207.146
	Gesamtinvestitionskosten	630.662

\* Die Blocksummen (1.-3.) ergeben sich aus den Detailsummen (nach Farben sortiert) plus der Aufteilung der Baunebenkosten zu gleichen Anteilen.

## Musteranlage 2: 250 kW<sub>el</sub>-Biogasanlage

Die Musteranlage 2 dient zur Vergärung von 8.395 t/a Rindergülle und 3.650 t/a energiereicher Maissilage. Es werden ein Fermenter und ein Gärrestlager in einstufiger, mesophiler Betriebsweise eingesetzt. Diese Anlagenkonfiguration ist repräsentativ für die Biogasanlagen dieser Leistungsstufe in Sachsen. Zur Bevorratung der täglich notwendigen Güllemengen dient der Vorgrubenbehälter.

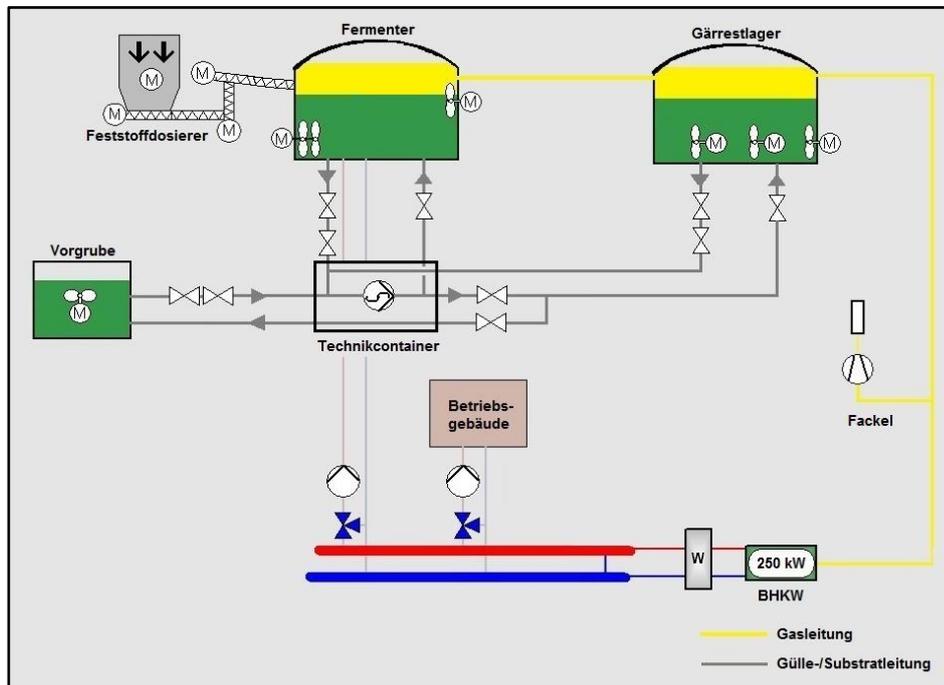


Abbildung 33: Musteranlage 2

Tabelle 30: Abmessungen Fermenter und Gärrestlager

	Fermenter	Gärrestlager
Nettovolumen	1.430 m <sup>3</sup>	3.345 m <sup>3</sup>
Abmessungen (Durchmesser/Höhe)	17 m/7 m	26,00/7,00 m
Hydraulische Verweilzeit; Stapelkapazität	43 Tage	110 Tage
Faulraumbelastung	3,2 kg oTS/(m <sup>3</sup> *d)	0,4 kg oTS/(m <sup>3</sup> *d)

Die Gasspeicherung erfolgt in beiden Behältern mit Hilfe eines Tragluftdaches. Das Tragwerk für den Gasspeicher ist die eingebaute Holzunterkonstruktion, welche zugleich als Besiedlungsfläche für Schwefelbakterien dient. Die Schwefelbakterien sind in der Lage, mit Hilfe von Luftsauerstoff Schwefelwasserstoff zu elementarem Schwefel umzuwandeln und somit aus dem Biogas herauszufiltern.

Beide Behälter sind an die Pumpenzentrale im Technikcontainer angeschlossen. Damit ist ein Pumpen von jedem in jeden Behälter möglich. Zur Durchmischung des Gärsubstrates dienen ein langsam laufendes Großpaddelrührwerk und ein Stabmixrührwerk im Fermenter sowie drei Tauchmotorrührwerke im Gärrestlager.

Im Container zwischen den Behältern sind die Pumpentechnik, die Elektro-, Mess-, Steuer- und Regelungstechnik (EMSR-Technik) für die automatisierte Steuerung der gesamten Biogasanlage und der Bedienerarbeitsplatz integriert. Die Zentralpumpe ist eine Exzentrerschneckenpumpe und dient der Beschickung der Behälter,

dem Rezirkulieren und ist generell für alle Pump- und Umpumpvorgänge innerhalb der Biogasanlage geeignet. Die Überwachung der Gasqualität, in Form von CH<sub>4</sub>-, O<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>S-Gehalt, erfolgt mit einem stationären Gasanalysegerät. Ebenso ist das Seitenkanalgebläse für die Lufterdüsung in den Fermenter zur mikrobiologischen Entschwefelung im Container untergebracht. Das Biogas wird vom BHKW über die Gasableitung aus dem Gärrestlager gesaugt, aufbereitet und verbrannt. Der erzeugte elektrische Strom wird direkt in das öffentliche Netz eingespeist. Die Wärme aus dem Abgas und aus dem Motor wird für die Beheizung der Biogasanlage sowie für Betriebs- und Nebengebäude genutzt.

**Tabelle 31: Leistungsdaten BHKW im Volllastbetrieb**

<b>Gas-Otto-Motor</b>	
Elektrische Leistung	250 kW
Thermische Leistung	220 kW
Elektrischer Wirkungsgrad	45,5%
Thermischer Wirkungsgrad	40,0%

Bei Gasüberproduktion oder Ausfall des BHKWs wird das Biogas mit Hilfe einer Notverbrauchereinrichtung, der Gasfackel, verwertet.

**Tabelle 32: Investitionskosten Musteranlage 2, 250 kW<sub>el</sub> in €**

1.1	Baustelleneinrichtung	8.865
1.2	Tiefbau	51.463
1.3	Behälterbau	248.745
1.4	Behälterbeschichtung	22.604
1.5	Behälterabdeckungen	70.265
1.6	Behälterbekleidungen	23.299
1.7	Zimmererarbeiten	42.895
1.8	Allgemeiner Hochbau	30.884
1.9	Metallbauarbeiten	19.550
2.1	Gületechnik, Pump- und Rührtechnik	132.580
2.2	Feststoffdosiertechnik	64.806
2.3	HLS- und Gastechnik	62.448
2.4	Notfackelanlage	17.825
3.1	E-/MSR-Technik	124.102
3.2	Kraftwerkstechnik	282.360
4	Baunebenkosten	103.500
	Posten inklusive Baunebenkosten*	
1.	Bau	553.070
2.	Technik	312.158
3.	BHKW	440.962
	Gesamtinvestitionskosten	1.306.190

\* Die Blocksummen (1.-3.) ergeben sich aus den Detailsummen (nach Farben sortiert) plus der Aufteilung der Baunebenkosten zu gleichen Anteilen.

**Tabelle 33: Investitionskosten Musteranlage 2, 250 kW<sub>el</sub> in € inkl. Gärrestlager mit einschaligem Gasdach (nicht gasdicht)**

1.1	Baustelleneinrichtung	8.865
1.2	Tiefbau	50.543
1.3	Behälterbau	248.745
1.4	Behälterbeschichtung	3.169
1.5	Behälterabdeckungen	58.420
1.6	Behälterbekleidungen	23.299
1.7	Zimmererarbeiten	12.995
1.8	Allgemeiner Hochbau	30.884
1.9	Metallbauarbeiten	19.550
2.1	Gülletechnik, Pump- und Rührtechnik	132.580
2.2	Feststoffdosiertechnik	64.806
2.3	HLS- und Gastechnik	60.135
2.4	Notfackelanlage	17.825
3.1	E-/MSR-Technik	122.952
3.2	Kraftwerkstechnik	282.360
4	Baunebenkosten	103.500
	Posten inklusive Baunebenkosten*	
1.	Bau	490.970
2.	Technik	309.846
3.	BHKW	439.812
	Gesamtinvestitionskosten	1.240.627

\* Die Blocksummen (1.-3.) ergeben sich aus den Detailsummen (nach Farben sortiert) plus der Aufteilung der Baunebenkosten zu gleichen Anteilen.

### Musteranlage 3: 526 kW<sub>el</sub>-Biogasanlage

Die Musteranlage 3 ist eine einstufige Biogasanlage mit Fermenter, Nachgärer und Gärrestlager. Sie wird mesophil betrieben und hat eine elektrische Leistung von 526 kW<sub>el</sub>. In dieser Anlage werden 16.790 t/a Rindergülle zusammen mit 9.125 t/a Maissilage vergoren.

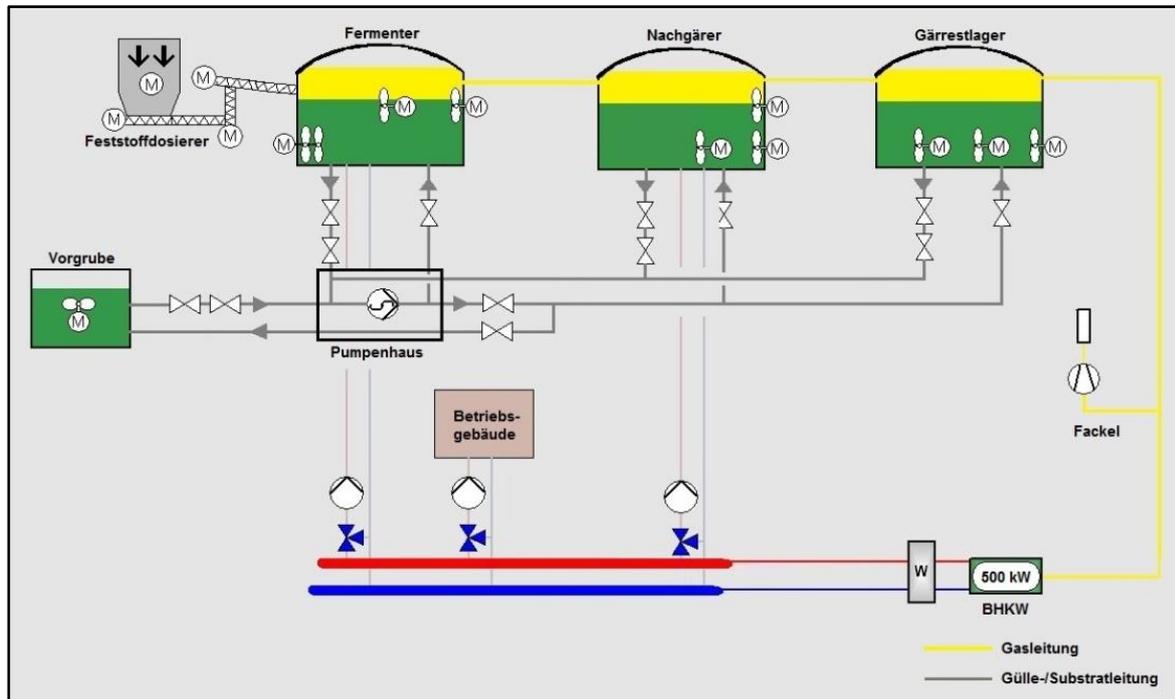


Abbildung 34: Musteranlage 3

Tabelle 34: Abmessungen der Behälter

	Fermenter	Nachgärer	Gärrestlager
Nettovolumen	2.850 m <sup>3</sup>	2.850 m <sup>3</sup>	4.453 m <sup>3</sup>
Abmessungen (Durchmesser/Höhe)	24,00 m/7,00 m	24,00 m/7,00 m	33,00 m/7,00 m
Hydraulische Verweilzeit; Stapelkapazität	40 Tage	44 Tage	69 Tage
Faulraumbelastung	3,7 kg oTS/(m <sup>3</sup> *d)	1,2 kg oTS/(m <sup>3</sup> *d)	0,7 kg oTS/(m <sup>3</sup> *d)

Von den Rinderställen wird täglich frische Gülle in die Vorgrube der Biogasanlage gepumpt und gepuffert. Der Sammelbehälter ist ein monolithischer Stahlbetonbehälter, abgedeckt mit einer Stahlbetondecke und ausgerüstet mit einem Tauchmotorrührwerk. Der Fermenter wird über eine Zentralpumpe im Pumpenhaus und mit Hilfe eines individuellen, automatisch ablaufenden Fütterungsprogrammes täglich mit Gülle beschickt. Die festen Substrate werden auch automatisch über die Anlagensteuerung mit einem Dosiersystem direkt in den Fermenter gefördert.

Fermenter, Nachgärer und Gärrestlager sind monolithische Stahlbetonbehälter und mit je einem Tragluftdach mit integriertem Gasspeicher abgedeckt. Die Holzkonstruktion unter der Gasspeicherfolie dient als Tragwerk und als Besiedlungsfläche für die biologische Entschwefelung. Fermenter und Nachgärbehälter sind mit innenliegenden Edelstahlwellrohren für die Erhaltung der Substrattemperatur ausgestattet. Damit die Wärme nicht an die Umgebung verloren geht, sind die Behälter gedämmt und mit einer Verkleidung gegen die Witterung geschützt. Für die vollständige Durchmischung des Gärinhaltes dienen im Fermenter ein langsam laufendes

Großpaddelrührwerk und zwei Stabmixrührwerke. Im Nachgärbehälter sind zwei Tauchmotorrührwerke und ein Stabmixer eingebaut und im Gärrestlager drei Tauchmotorrührwerke. Das Gärrestlager wird für die Lagerung genutzt und ist daher weder beheizt noch gedämmt. Alle Pumpvorgänge innerhalb der Biogasanlage werden zentral gesteuert, so auch das tägliche Pumpen vom Fermenter in den Nachgärer und von dort in das Gärrestlager. Die gesamte Pump- und EMSR-Technik sowie das Heizsystem, Entschwefelungsgebläse und der Bedienerarbeitsplatz sind im zentralen Pumpenhaus zwischen dem Fermenter und dem Nachgärer untergebracht. Die Eindüsung der Luftmenge in den Gasraum wird über den Sauerstoffgehalt im jeweiligen Gasspeicher gesteuert. Die Gasanalysetechnik ist ebenfalls im Pumpenhaus untergebracht und misst mehrmals täglich den CH<sub>4</sub>-, O<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>S-Gehalt.

**Tabelle 35: Leistungsdaten Gas-Otto-BHKW im Volllastbetrieb**

Gas-Otto-BHKW	
Elektrische Leistung	526 kW
Thermische Leistung	566 kW
Elektrischer Wirkungsgrad	40%
Thermischer Wirkungsgrad	43%

Der erzeugte elektrische Strom wird, wie bei den anderen Musteranlagen, direkt in das öffentliche Netz eingespeist. Die Wärme aus dem Abgas und aus dem Motor wird für die Beheizung der Biogasanlage und für Betriebs- und Nebengebäude sowie Wohn-, Miet- und Sozialgebäude genutzt. Zum kontrollierten Verbrennen von Überschussgas kommt eine Notfackel zum Einsatz.

**Tabelle 36: Investitionskosten Musteranlage 3, 526 kW<sub>el</sub> in €**

1.1	Baustelleneinrichtung	8.865
1.2	Tiefbau	74.463
1.3	Behälterbau	442.865
1.4	Behälterbeschichtung	30.050
1.5	Behälterabdeckungen	130.065
1.6	Behälterbekleidungen	66.240
1.7	Zimmererarbeiten	89.389
1.8	Allgemeiner Hochbau	59.404
1.9	Metallbauarbeiten	33.350
2.1	Gülletechnik, Pump- und Rührtechnik	199.382
2.2	Feststoffdosiertechnik	84.737
2.3	HLS- und Gastechnik	93.807
2.4	Notfackelanlage	17.825
3.1	E-/MSR-Technik	187.352
3.2	Kraftwerkstechnik	480.505
4	Baunebenkosten	184.000
	Posten inklusive Baunebenkosten*	
1.	Bau	996.024
2.	Technik	457.083
3.	BHKW	729.190
	Gesamtinvestitionskosten	2.182.297

\* Die Blocksummen (1.-3.) ergeben sich aus den Detailsummen (nach Farben sortiert) plus der Aufteilung der Baunebenkosten zu gleichen Anteilen.

**Tabelle 37: Investitionskosten Musteranlage 3, 526 kW<sub>el</sub> in € inkl. Gärrestlager mit einschaligem Gasdach (nicht gasdicht)**

1.1	Baustelleneinrichtung	8.865
1.2	Tiefbau	73.543
1.3	Behälterbau	442.865
1.4	Behälterbeschichtung	8.970
1.5	Behälterabdeckungen	118.220
1.6	Behälterbekleidungen	66.240
1.7	Zimmererarbeiten	48.318
1.8	Allgemeiner Hochbau	59.404
1.9	Metallbauarbeiten	33.350
2.1	Gülletechnik, Pump- und Rührtechnik	199.382
2.2	Feststoffdosiertechnik	84.737
2.3	HLS- und Gastechnik	90.653
2.4	Notfackelanlage	17.825
3.1	E-/MSR-Technik	186.202
3.2	Kraftwerkstechnik	480.505
4	Baunebenkosten	184.000
	Posten inklusive Baunebenkosten*	
1.	Bau	921.108
2.	Technik	453.930
3.	BHKW	728.040
	Gesamtinvestitionskosten	2.103.078

\* Die Blocksummen (1.-3.) ergeben sich aus den Detailsummen (nach Farben sortiert) plus der Aufteilung der Baunebenkosten zu gleichen Anteilen.

## 6.2.2 Hygienisierungstechnik der Musteranlagen

### ■ Bestandteile der Pasteurisierung:

- 3 Hygienisierungsbehälter aus Edelstahl mit je 2 m<sup>3</sup> Fassungsvermögen inklusive Untergestell und Mannloch, gedämmt, aufgestellt in einem 30 ft-Container, inkl. Tiefbau und Streifenfundamente
  - Durchsatz 2 m<sup>3</sup>/Hygienisierungsprozess
- 2 Doppelrohrwärmetauscher in Außenaufstellung
- Pneumatikschieber und Rohrleitungen
- 2 Exzentrerschneckenpumpen, Fördermenge 10–20 m<sup>3</sup>/h, im Mittel 15 m<sup>3</sup>/h
- 1 Rührwerk je Behälter
- EMSR-Technik inkl. Temperatur- Druck- und Füllstandsüberwachung
- Abgetrennter Steuerraum zur Auswertung und Steuerung der Prozesse

### ■ Pasteurisierungsverfahren:

- Pumpen der Inputstoffe über den Schlamm-/Schlamm-Wärmeüberträger in den Behälter 1
  - Hygienisierungsanlage vor der Biogasanlage: Gepumpt wird mit der vorhandenen Pumpe in der Güllevorgrube/Anmischgrube oder Rachtentrichterpumpe nach dem Feststoffdosierer (bei der Berechnung nicht mit einkalkuliert!)

- Hygienisierungsanlage nach der Biogasanlage: Zentralpumpe Biogasanlage (15 m<sup>3</sup>/h) wird für Befüllung genutzt
- Gleichzeitige Entleerung von Behälter 2
- Übertragung der Wärme des hygienisierten Materials auf den Inputstrom
  - Rückgewinnung der Wärme
- Beginn der Beheizung des zu hygienisierenden Materials durch Pumpen des Materials über den Wasser-/Schlamm-Wärmeüberträger
  - wird mit der Abwärme vom BHKW gespeist
- Ständige Überwachung der Temperatur und des Druckes im Behälter
- Aufrechterhaltung der Homogenität des zu hygienisierenden Materials mittels Rührwerk
- 60 min Verweilzeit mit einer Anfangstemperatur von 71,5 °C (zum Puffern von Transmissionswärmeverlusten)
  - Entleerung des Behälters 1 und zeitgleiche Befüllung eines anderen Behälters
- bei 3 Hygienisierungsbehältern ist es möglich, Behälter 1 zu befüllen, gleichzeitig Behälter 2 zu entleeren und Behälter 3 zu beheizen/zu hygienisieren → Anwendung bei Musteranlage 3

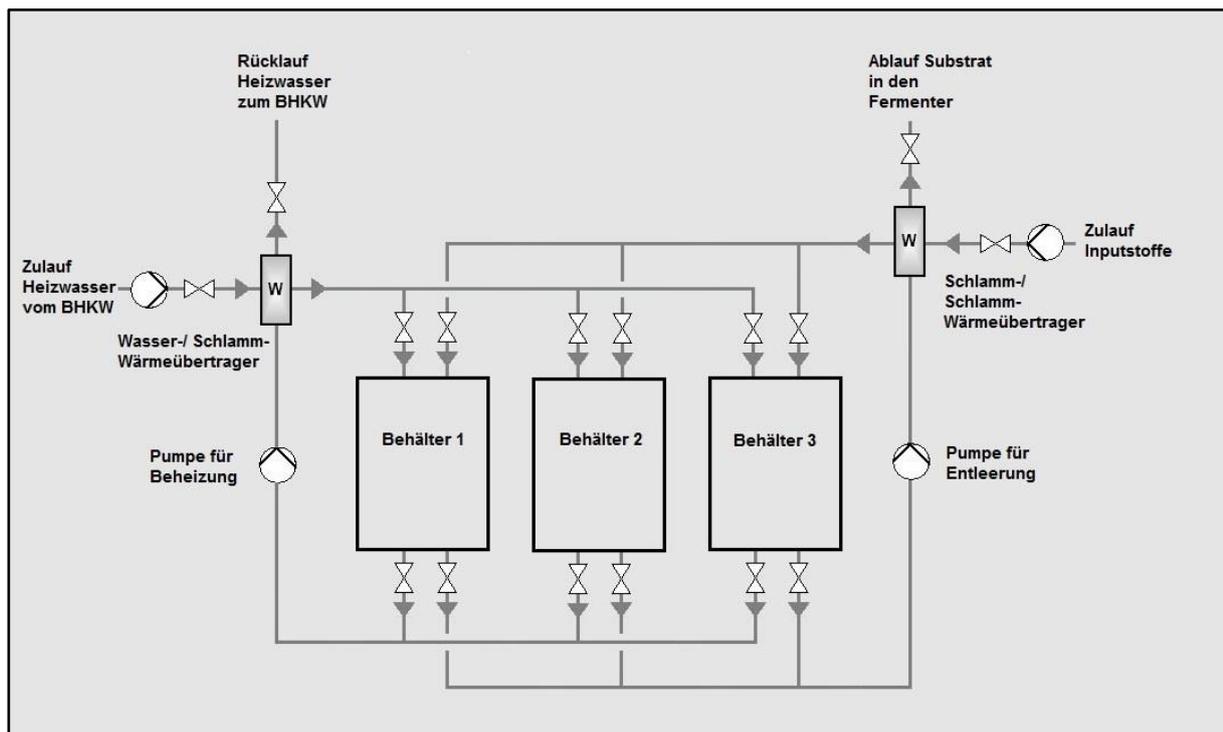
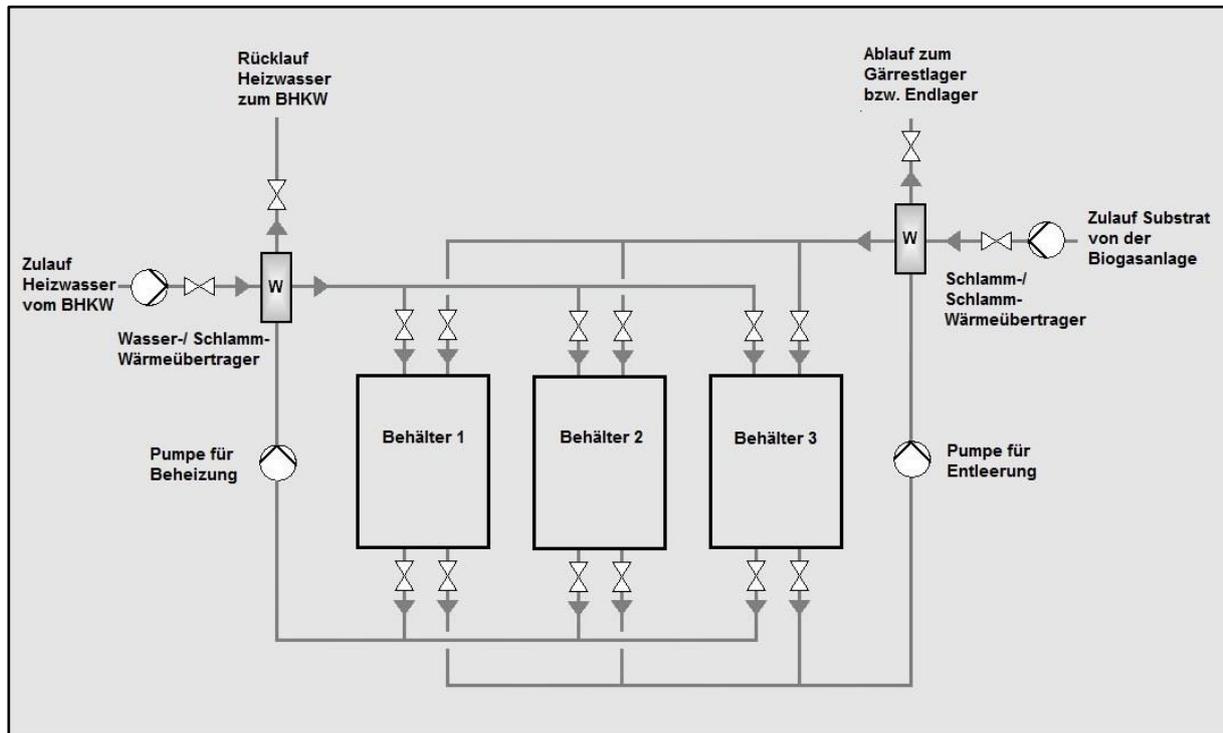


Abbildung 35: Pasteurisierung im Batchverfahren mit Wärmerückgewinnung vor der Vergärung



**Abbildung 36: Pasteurisierung im Batchverfahren mit Wärmerückgewinnung nach der Vergärung**

Unterschied zwischen den Pasteurisanlagen von Musteranlage 1 und 2 zur Musteranlage 3:

- bei Musteranlage 1 und 2 kommen nur 2 Hygienisierungsbehälter zum Einsatz:
- Vorteil: Batchbetrieb möglich inklusive Wärmerückgewinnung möglich (Befüllen und Entleeren laufen gleichzeitig ab)
- Kosteneinsparung, weil nur 20 ft-Container zur Unterbringung der Komponenten nötig und weniger Schieber, Rohrleitungen, Sensoren verbaut
- Trotz variierender Anlagengröße bei Musteranlage 1 und 2 von 75 kW und 250 kW wird jeweils das gleiche Hygienisierungskonzept verwendet:
  - Es kommen etwa die gleichen Substratmengen zum Einsatz.
  - bei Musteranlage 1 34 m<sup>3</sup> reine Rindergülle pro Tag und bei Musteranlage 2 insgesamt 33 m<sup>3</sup> pro Tag (Rindergülle + Maissilage)
  - je eine Pumpe für Entleeren und eine für Beheizen (damit keine Rückverkeimung möglich)
- Geschätzte Gesamtdauer Pasteurisierung pro Tag (nach der Vergärung):
  - Musteranlage 1: 17 Chargen (genau 16,5), Dauer etwa 23,8 Stunden
  - Musteranlage 2: 15 Chargen, Dauer etwa 22 Stunden
  - Musteranlage 3: 33 Chargen, Dauer 23,5 Stunden

**Tabelle 38: Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 1 – 75 kW<sub>el</sub>**

<b>Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 1 - 75 kW<sub>el</sub></b>	
Dauer Hygienisierung Gärrest	1.430 min/d
	23,8 h/d
Summe hygienisierter Gärrest	34 m <sup>3</sup> /d
Wärmeenergiebedarf gesamt	393,4 kWh/d
Wärmeenergieanteil an theor. Wärmeproduktion (89 kW)	18,42%
Anteil an theoretisch zur Verfügung stehender Wärme (80 kW)	20,49%
Strombedarf gesamt	71 kWh/d
Stromanteil an theor. Stromproduktion (75kW)	3,96%
Stromkosten (0,15 €/kWh)	10,69 €/d

**Tabelle 39: Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 2 – 250 kW<sub>el</sub>**

<b>Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 2 - 250 kW<sub>el</sub></b>	
Dauer Hygienisierung Gärrest	1.320 min/d
	22,0 h/d
Summe hygienisierter Gärrest	30 m <sup>3</sup> /d
Wärmeenergiebedarf gesamt	355,6 kWh/d
Wärmeenergieanteil an theor. Wärmeproduktion (89 kW)	6,7%
Anteil an theoretisch zur Verfügung stehender Wärme (80 kW)	7,48%
Strombedarf gesamt	70 kWh/d
Stromanteil an theor. Stromproduktion (75kW)	1,17%
Stromkosten (0,15 €/kWh)	10,56 €/d

**Tabelle 40: Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 3 – 526 kW<sub>el</sub>**

<b>Daten zur Pasteurisierung Musteranlage 3 - 526 kW<sub>el</sub></b>	
Dauer Hygienisierung Gärrest	1.410 min/d
	23,5 h/d
Summe hygienisierter Gärrest	66,0 m <sup>3</sup> /d
Wärmeenergiebedarf gesamt	767,8 kWh/d
Wärmeenergieanteil an theor. Wärmeproduktion (89 kW)	5,65%
Anteil an theoretisch zur Verfügung stehender Wärme (80 kW)	6,29%
Strombedarf gesamt	154 kWh/d
Stromanteil an theor. Stromproduktion (75kW)	1,22%
Stromkosten (0,15 €/kWh)	23,04 €/d

## 6.3 Mikrobiologische Durchführung

### Nährmedien für Bakterien

#### ■ Eigelb-Laktose-Agar zur Anzucht von Anaerobiern

Standard-Nähragar I	35,0 g
L-Cystein-Hydrochlorid	0,5 g
Laktose	10,0 g
Bromkresolpurpur (0,4 %)	10,0 ml
Agar-Agar	10,0 g
Aqua dest.	1,0 l

Autoklavieren bei 121 °C für 15 Minuten

Sterile Eigelbemulsion	100,0 ml
------------------------	----------

Bei 50 °C hinzugeben

#### ■ TPYG (Trypticase-Peptide-Yeast-Glucose extract broth) zur Anreicherung von *C. botulinum*

Pepton	5,0 g
Trypton	50,0 g
Hefeextrakt	20,0 g
$\alpha$ -D(+)-Glucose Monohydrat	4,0 g
Natriumthioglykolat	1,0 g
Aqua dest.	1,0 l

Autoklavieren bei 121 °C für 15 Minuten

### Protokoll zur Untersuchung von Feldproben

**Tabelle 41: Nährmedien zur Untersuchung von Feldproben**

#### Nährmedien zur Untersuchung von Feldproben

Standard-Nähragar I

Slanetz Bartley Agar

XLT4 Agar

*Brilliance*<sup>TM</sup> Salmonella Agar

*Brilliance*<sup>TM</sup> ESBL Agar

*Brilliance*<sup>TM</sup> ESBL Agar

Eigelb-Laktose Agar

TSC Agar überschichtet mit TSC Agarbasis

TPYG 2x 5 ml, vor der Verwendung aufkochen

#### ■ Vorbereitung des Gärrestes:

■ Probe gut durchmischen

■ je 10 g Probe in einen Stomacherbeutel und in ein steriles Becherglas abwiegen

- 10 g Probe mit 90 ml Nährbouillon verdünnen
- durchmischen für 60 Sekunden im Stomacher
- die 10 g Probe im abgedeckten Becherglas bei 65 °C für 15 Minuten erhitzen
- Weiterverarbeitung der nicht erhitzten Probe
  - Herstellung einer 1 : 10-Verdünnungsreihe in Nährbouillon
  - je 100 µl auf den jeweiligen Nährmedien ausspateln:
    - Standard-Nähragar I
    - Slanetz Bartley Agar
    - XLT4 Agar
    - *Brilliance*<sup>TM</sup> Salmonella Agar
    - *Brilliance*<sup>TM</sup> ESBL Agar
    - *Brilliance*<sup>TM</sup> E. coli Agar
  - Inkubation bei 37 °C für 48 bzw. 72 h aerob
  - Kontrolle und Dokumentation der gewachsenen Kolonien nach 24 h und 48 h bzw. 48 h und 72 h (Slanetz Bartley Agar)
- Weiterverarbeitung der erhitzten Probe
  - je Probe 500 µl Probe in 5 ml TPYG übertragen
    - Inkubation unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C für 5 Tage, danach Auswertung mittels Kulturverfahren oder PCR
  - Herstellung einer 1 : 10-Verdünnungsreihe in Nährbouillon
  - TSC-Agar mit 100 µl beimpfen, danach mit TSC-Agarbasis überschichten
    - Inkubation unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C für 48 h
    - Kontrolle und Dokumentation der gewachsenen Kolonien nach 24 h und nach 48 h
  - Eigelb-Laktose-Agar mit 100 µl beimpfen
    - Inkubation unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C für 72 h
    - Kontrolle und Dokumentation der gewachsenen Kolonien nach 48 h und nach 72 h

# 6.4 Probennahmeprotokoll für mikrobiologische Untersuchungen

## Probennahmeprotokoll für die bakteriologische Untersuchung von Wirtschaftsdüngern, Fermenterinhalt und Gärresten

Ansprechpartner:

Telefonnummer:

<b>Probeneingang</b>	(wird vom Labor ausgefüllt)	Befund als (ankreuzen)	Brief	E-Mail
	<input type="text"/>		Fax	

<b>Auftraggeber:</b>		<b>Rechnungsadresse:</b> (falls abweichend vom Auftraggeber)	
Kundennummer (falls vorhanden)			
Firma:			
Ansprechpartner:		<b>Durchschrift des Befundes an:</b>	
Straße:		Ansprechpartner:	
PLZ:	Ort:	Telefonnummer:	
Telefonnummer:		Faxnummer:	
Faxnummer:		E-Mail:	
E-Mail:			
Bezeichnung der Anlage:			
<b>Probennehmer:</b>			
<b>Probennahmedatum:</b>		Uhrzeit:	
<b>Probenbezeichnung / Probennummer:</b>			
<b>Art der Probe:</b> (bitte ankreuzen)		<input type="checkbox"/> Einzelprobe	<input type="checkbox"/> Sammelprobe

<b>Untersuchungsmaterial:</b>			
(bitte ankreuzen was und ggf. mit welchem Verwendungszweck)			
<input type="checkbox"/>	Gülle	<input type="checkbox"/>	als Wirtschaftsdünger zur Verwendung im eigenen Unternehmen
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	als Wirtschaftsdünger nach DüMV
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	als Input für Biogasanlagen
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	als (bitte angeben):
<input type="checkbox"/>	Dung als Input für Biogasanlagen		
<input type="checkbox"/>	Inhalt Vorgrube		
<input type="checkbox"/>	Fermenterinhalt	<input type="checkbox"/>	trocken
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	flüssig
<input type="checkbox"/>	Inhalt Nächgärer		
<input type="checkbox"/>	Gärrest	<input type="checkbox"/>	fest
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	flüssig
<input type="checkbox"/>	Sonstiges: (bitte angeben)		
<b>Zusatzangaben:</b>			
Verweildauer:		Tage	Temperatur:
Raumbelastung:		oTS kg/Tag/m <sup>3</sup> FV (FV = Fermentervolumen)	

Probennahmeort: (bitte ankreuzen)			
<input type="checkbox"/>	Vorgrube	<input type="checkbox"/>	Nachgärer
<input type="checkbox"/>	Fermenter 1	<input type="checkbox"/>	Gärresteendlager
<input type="checkbox"/>	Gärrest fest	<input type="checkbox"/>	Sonstiges: (bitte angeben)
<input type="checkbox"/>	Fermenter 2	<input type="checkbox"/>	<b>Temperatur im Fermenter:</b> (bitte ankreuzen)
<input type="checkbox"/>	Fermenter 3	<input type="checkbox"/>	mesophil <input type="checkbox"/> thermophil <input type="checkbox"/> beides <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Fermenter 4	<input type="checkbox"/>	<b>Behältervolumen in m<sup>3</sup>:</b>
Substrat mit prozentualem Anteil (bitte ankreuzen)			
<input type="checkbox"/>	Rindergülle	<input type="checkbox"/>	Schweinegülle <input type="checkbox"/> Mischgülle <input type="checkbox"/> Fischgülle
<input type="checkbox"/>	Rindermist	<input type="checkbox"/>	Schweinemist <input type="checkbox"/> Geflügelmist <input type="checkbox"/> NaWaRo
<input type="checkbox"/>	Sonstiges: (bitte angeben)		
<input type="checkbox"/>			

Gewünschte Untersuchung: (bitte ankreuzen)	
<input type="checkbox"/>	§ 3 Absatz 4 BioAbfV
<input type="checkbox"/>	§ 21 TierNebV (Verordnung (EG) Nr. 1069/2009)
<input type="checkbox"/>	Düngemittelverkehrskontrolle
<input type="checkbox"/>	Salmonellen, Aerobe Gesamtkeimzahl (37 °C), Fäkalcoliforme Bakterien, Enterokokken
<input type="checkbox"/>	Sonstiges (bitte angeben)

Ort, Datum

Unterschrift Anlagenbetreiber

Unterschrift Probennehmer

#### Hinweise zur Probennahme

Aus hygienischen Gründen ist bei der Probennahme Schutzkleidung zu tragen. Bitte nur gereinigte und desinfizierte Probenbehälter (0,5 l, mit Schraubverschluss) für den Versand verwenden. Vor der Probennahme ist ein Aufrühren notwendig. Bei Entnahme über einen Probenentnahmehahn die ersten 20 l verwerfen, dann die Probe (max. 0,4 l) abfüllen. Bei Verwendung eines Gülleschöpfers an mehreren Stellen einzelne Proben nehmen und in einen 10 l-Eimer füllen. Den Inhalt des Eimers gut durchmischen und max. 0,4 l in die 0,5 l-Probenbehälter abfüllen. Achtung, die Gefäße nicht bis oben auffüllen, weil sich die Probe ausdehnen kann und die Gefäße dann platzen können. Probenbehälter von außen gründlich reinigen und mit einem Aufkleber Ihrer Anschrift und der Angabe des Inhaltes versehen. Diesen Begleitschein ausgefüllt beilegen. Probe bis zur Abholung/Einsendung gekühlt halten und gekühlt versenden (siehe Verpackungsvorschriften der Deutschen Post).

**Herausgeber:**

Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG)  
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden  
Telefon: +49 351 2612-0  
Telefax: +49 351 2612-1099  
E-Mail: [lfulg@smul.sachsen.de](mailto:lfulg@smul.sachsen.de)  
[www.smul.sachsen.de/lfulg](http://www.smul.sachsen.de/lfulg)

**Autoren:**

Janina Pospiech, Marc Ullrich, Sandra Göttling, Uwe Truyen, Stephanie Speck  
Institut für Tierhygiene und öffentliches Veterinärwesen  
Universität Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig  
Telefon: +49 341 9738153  
Telefax: +49 341 9738198  
E-Mail: [stephanie.speck@vetmed.uni-leipzig.de](mailto:stephanie.speck@vetmed.uni-leipzig.de)  
Dr. Claudia Brückner, Dr. Evelin Ullrich  
LfULG

**Redaktion:**

Dr. Claudia Brückner  
LfULG, Abteilung Grundsatzangelegenheiten Umwelt, Landwirtschaft, Ländliche  
Entwicklung/Referat Betriebs-, Umweltökonomie, Markt  
Telefon: +49 351 2612-2422  
E-Mail: [claudia.brueckner@smul.sachsen.de](mailto:claudia.brueckner@smul.sachsen.de)  
Dr. Evelin Ullrich  
LfULG, Abteilung Landwirtschaft/Referat Tierzucht, Tierhygiene  
Telefon: +49 34222 46-2218  
E-Mail: [evelin.ullrich@smul.sachsen.de](mailto:evelin.ullrich@smul.sachsen.de)

**Titelfoto:**

Biogasanlage der Agrargenossenschaft e. G. Jesewitz

**Redaktionsschluss:**

03.12.2014

**ISSN:**

1867-2868

**Hinweis:**

Die Broschüre steht nicht als Printmedium zur Verfügung, kann aber als PDF-Datei unter <https://publikationen.sachsen.de/bdb/> heruntergeladen werden.

**Verteilerhinweis**

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen ihrer verfassungsmäßigen Verpflichtung zur Information der Öffentlichkeit herausgegeben.

Sie darf weder von Parteien noch von deren Kandidaten oder Helfern im Zeitraum von sechs Monaten vor einer Wahl zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen.

Missbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen, an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist auch die Weitergabe an Dritte zur Verwendung bei der Wahlwerbung. Auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl darf die vorliegende Druckschrift nicht so verwendet werden, dass dies als Parteinahme des Herausgebers zugunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden könnte.

Diese Beschränkungen gelten unabhängig vom Vertriebsweg, also unabhängig davon, auf welchem Wege und in welcher Anzahl diese Informationsschrift dem Empfänger zugegangen ist. Erlaubt ist jedoch den Parteien, diese Informationsschrift zur Unterrichtung ihrer Mitglieder zu verwenden.