

A 34

Voortgangsrapportage ATO- Champignonprogramma tweede halfjaar 1993

Dr. W.M.F. Jongen,
programmaleider

ato-dlo



Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek

2251456

Voortgangsrapportage
ATO-Champignonprogramma
tweede halfjaar 1993

Wageningen, januari 1994
dr W.M.F. Jongen, programmaleider

INHOUD	Pagina
1. Veroudering van de champignon (A. Braaksma)	3 - 9
2. Modelleren van MA-verpakkingen van champignons (H.W. Peppelenbos)	10 - 13
3. Onderzoek naar factoren die bepalend zijn voor de verwerkingsverliezen van champignons (E.P.H.M. Schijvens)	14 - 19
4. Enzymatische bruinverkleuring van champignons (H.J. Wichers)	20 - 21
5. DSS Strategische Planning (R.A.C.M. Broekmeulen)	22 - 24
6. CBA van champignons (B.H. van Zwol)	25 - 28

VEROUDERING VAN DE CHAMPIGNON

A. Braaksma

Doelstelling

Met het voortgaan van de veroudering in de afzetketen neemt de kwaliteit van de champignon af. Het onderzoek is erop gericht de eerste aanzet, of één van de eerste stappen, van het verouderingsproces te vinden. Hiermee komt dan een belangrijke parameter in handen die het in principe mogelijk maakt de daarop volgende veroudering specifiek af te remmen. Een uitgestelde veroudering, danwel een nauwelijks afnemende kwaliteit van de champignon, zou een vergroting van het afzetgebied mogelijk maken en nieuwe markten aanboren.

Projectbeschrijving

- I. Meten en beschrijven van veranderingen in membraansamenstelling. Bij alle tot nu toe onderzochte tuinbouwproducten gaan die veranderingen vooraf aan macroscopische verouderingsverschijnselen. De vraag was of deze veranderingen ook bij de champignon optreden en zo ja, dan tevens het begin van de veroudering markeren.
- II. Koolhydraatmetabolisme: De hypothese is dat bij veroudering een competitie optreedt om suikers. Suikers die enerzijds een rol spelen als osmosticum (nodig voor steelgroei, hoedgroei) en anderzijds het substraat zijn voor de (hoge) respiratie. Door regulatie van het koolhydraatmetabolisme worden groeiprocessen in gang gezet, welke nadelig zijn voor de kwaliteit. Inzicht in de regulatie van de koolhydraathuishouding moet mogelijkheden genereren teneinde groeiprocessen te remmen.
- III. Histologische veranderingen op cellulair niveau. De centrale vraag is: Hoe wordt de bekende macroscopische groei van bepaalde onderdelen van de champignon op cellulair niveau mogelijk gemaakt?
- IV. De regulerende rol van calmoduline/calcium. Het calmoduline is een eiwit, waarvan (in andere organismen) is aangetoond dat het een rol speelt bij regulatie van processen op cellulair niveau. Daar calmoduline ook in champignons voorkomt en de structuur van dit eiwit nauwelijks afwijkt van calmodulines uit andere organismen, is een regulerende functie ook in champignon hoogst waarschijnlijk. Als eerste aanzet zal de concentratie van dit eiwit in de verschillende delen van de champignon gedurende de veroudering worden bepaald.
- V. Afzetketensimulatie. Praktijksituaties waar veroudering een probleem vormt worden gesimuleerd, teneinde belangrijke parameters voor veroudering onder praktijkomstandigheden in handen te krijgen.

Voortgang tweede halfjaar 1993

- I. De werkzaamheden in het kader van dit deelproject zijn afgerond en ter publicatie aangeboden.
- II. In het kader van de rol van het koolhydraatmetabolisme is een aanzet gemaakt om de samenstelling van verschillende koolhydraten te meten onder die omstandigheden waaronder hoedopening wel en niet is geremd.
- III. Van een aantal weefsels zijn coupes gemaakt en verschillende metingen verricht. Aanvullende metingen op een electronenmicroscop zijn tweede helft 1993 uitgevoerd. Tevens zullen een aantal coupes nog worden gemeten en doorberekend.
- IV. De resultaten worden in postervorm in aug.1993 gepresenteerd op het "International Symposium Postharvest 1993" te Kecskemet, Hongarije.
- V. Naar aanleiding van de experimenten die als doel hadden de invloed van de herkomst op de naooft eigenschappen na te gaan, rees het vermoeden dat niet de herkomst, maar het oogsttijdstip wellicht grote invloed heeft op het naooft gedrag van de champignon. Hiertoe zijn enkele experimenten uitgevoerd.

Inleiding

Deelproject 3:

De resultaten zullen bewerkt worden voor een publicatie.

Deelproject IV:

De aanpak was gericht op het verkrijgen van zuiver calmoduline om aan de hand daarvan na te gaan of het calmoduline uit champignons dezelfde eigenschappen zou hebben als calmoduline in het algemeen.

Vervolgens lag het in de bedoeling de reactiviteit te bepalen met commerciële antilichamen, die bij gebleken geschiktheid ook gebruikt kunnen worden in immuno-histologisch werk. Als dat lukt, dan kan op cellulair niveau met CLSM (Confocal Laser Scanning Microscopy) de aanwezigheid van calmoduline en de plaats van werking worden vastgesteld.

Dit gedeelte van het project heeft een sterk fundamenteel en risicodragend karakter. Dit gedeelte van het project is versterkt door een Hongaarse gast-medewerkster.

Gevolgde werkwijze:

De zuivering verliep volgens een gemodificeerde procedure van Charbonneau & Cormier (1979), waarbij een extract van champignons na centrifugatie, verhitting, dialyse en filtratie over twee moleculaire zeven op een affiniteitskolom (phenyl-sepharose CL-4B) werd gebracht. Na elutie kon een fractie worden verkregen die, beoordeeld op SDS-PAGE, zuiver calmoduline zou zijn.

De gebruikte calmoduline-activiteitsmeting is beschreven door Schiefer (1986), en is gebaseerd op stimulatie van phosphodiesterase door calmoduline. De optimalisering van de procedure werd opgezet met commercieel verkrijgbaar calmoduline en vervolgens aangepast aan het champignonpreparaat. Daarna is dezelfde test uitgevoerd met extracten die de zuiveringsprocedure doorliepen t/m de dialyse. De extracten waren

gemaakt van hoed, plaat en steel zowel van verse als van oude champignons (3 dagen, 20°C), zodat deze eerste testen een indruk gaven van het gehalte en de afname van calmoduline tijdens de veroudering.

Resultaten:

Uit metingen blijkt dat de afname van het totale eiwitgehalte tijdens veroudering weefselspecifiek is (zie tabel 1); in steel- en plaatweefsel is een sterke afbraak en in het hoedweefsel veel minder.

Tabel 1: Totaal oplosbaar eiwitgehalte van de verschillende weefsels van de champignon uitgedrukt in mg eiwit/gram versgewicht direct na de oogst (dag 0) en na drie dagen verouderen bij 20°C en >93% relatieve luchtvochtigheid.

Weefsel/Dag	Dag 0	Dag 3
Hoed	3.4	2.8
Plaat	3.6	2.1
Steel	3.0	1.7

De opbrengst van de calmoduline-zuivering uit de gehele champignon loopt bij veroudering sterk terug (zie fig.1a, de eerste staven bij "geheel"). Deze teruggang is toe te schrijven aan een afname in plaat- en steelweefsel (fig.1a). Deze afnames correleren met de algehele afname van eiwitgehalten in de champignon (tabel 1); ook hier alleen grote afnames in plaat- en steelweefsel. Uitgedrukt als percentage van het totale eiwitgehalte **in het ruwe preparaat** is de afname ook vergelijkbaar. De afname van calmoduline in de steel is in beide gevallen (fig.1a & 1b) veel groter dan de algemene afname van eiwit (tabel 1), hiermee suggererend dat calmoduline in de steel selectief wordt afgebroken omdat regulering aldaar in het bereikte verouderde stadium blijkbaar niet meer zo noodzakelijk is.

Nader onderzoek zal moeten uitwijzen of de grootste afname van calmoduline vlak voor of na een specifieke ontwikkelingsfase van de champignon plaats vindt. Bijvoorbeeld, als calmoduline vlak voor het uitgroeien van het plaatweefsel al versneld zou worden afgebroken, zou calmoduline als "trigger" functioneren en een belangrijke parameter in het naogst onderzoek zijn om zo de besturing van de naogst ontwikkeling al op het (cellulaire) niveau van signaaltransductie te remmen, dus nog vòòr er van actuele plaatgroei, hoedopening e.d. sprake is.

Zowel met zuivere preparaten als ruwe, partieel gezuiverde preparaten is de immunoblot procedure van Towbin & Gordon (1979) uitgevoerd, met enkele modificaties zoals beschreven door Maxwell & Hincke (1988) en Van Eldik & Wolchok (1984). Deze procedure is eerst geoptimaliseerd in termen van eiwitoverbrenging naar het PVDF (=polyvinylidene-difluoride) membraan (incubatietijd, amperage etc). De efficiency van blotting is gecontroleerd met eiwitkleuring. De reactie met antilichamen is daarna geoptimaliseerd. Een probleem vormde het feit dat het calmoduline wel overgebracht kon worden, maar zich niet stevig genoeg hechtte aan het PVDF-membraan. Een fixatiestap met glutaraaldehyde kon dat ondervangen, maar na deze fixatiestap kleurden ook de markers met het

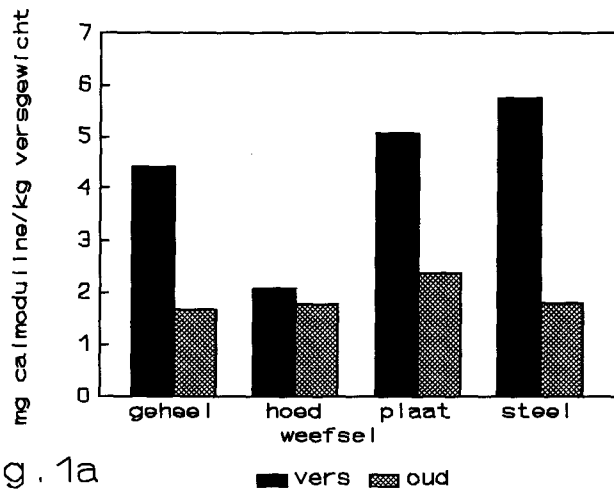


fig. 1a

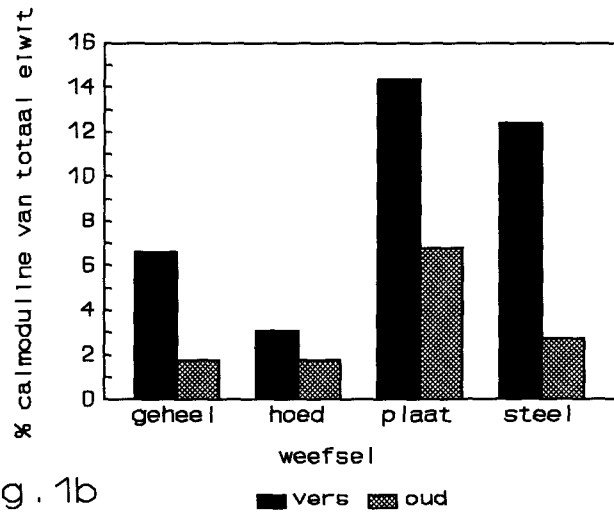


fig. 1b

alkaline phosphatase van het tweede antilichaam. Uit controle-experimenten bleek dat de glutaardialdehyde de specificiteit van het tweede antilichaam drastisch verlaagde. Dus, zonder fixatie geen eiwit, met fixatie wel eiwit maar dan tevens kleuring op alle eiwitten. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen in hoeverre het calmoduline-gehalte in de diverse weefsels een maat is voor het ontwikkelingsstadium.

Referenties:

- Charbonneau, H. & Cormier, M.J., 1979. BBRC 90:1039-1047
Schiefer, S., 1986. In: Methods of Enzymatic Analysis
(Ed. Bergmeyer) IX:317-331
Towbin, H. & Gordon, J., 1979. PNAS 76:4350
Maxwell, L. & Hincke, T., 1988. Electrophoresis 9:303-306
Van Eldik, L.J.V. & Wolchok, S.R., 1984. BBRC 124:752-759.

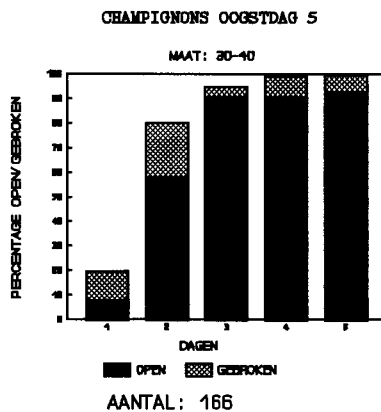
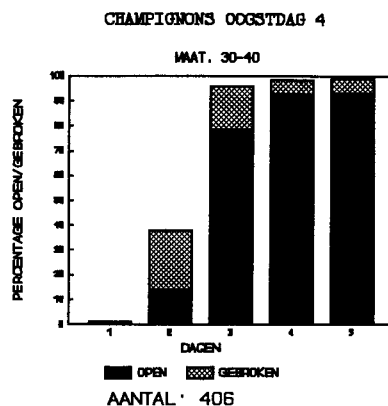
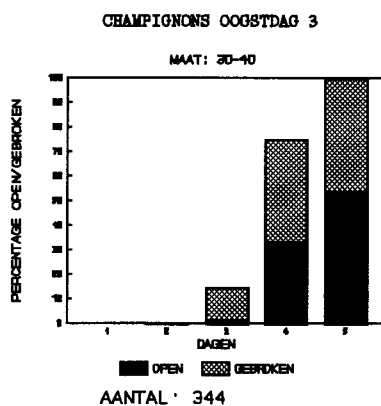
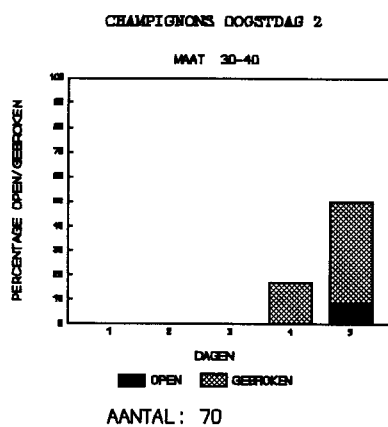
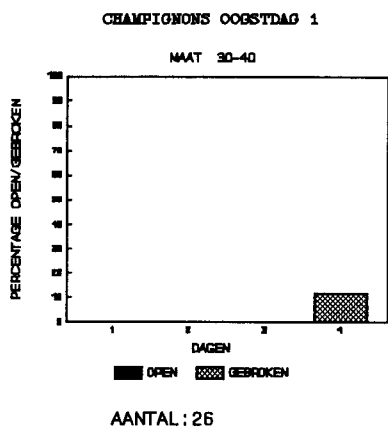
Deelproject 5:

Naar aanleiding van de resultaten van dit deelonderzoek is een experiment opgezet om de invloed van oogsttijdstip te bepalen op hoedopening.

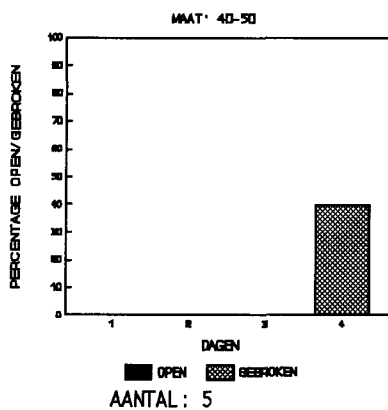
De geogste champignons zijn ingedeeld in grootteklassen met hoeddiameter 15-20mm, 20-30mm, 30-40mm, 40-50mm, 50-60mm, 60-70mm, 70-80mm en >80mm. Twee dagen vòòr de grote oogst (tweede vlucht) is een bedoppervlak van 2,1m² leeggeplukt, de dag erna gebeurde hetzelfde met het naastliggende oppervlak van 2,1m² op hetzelfde bed, de dag daarna (de grote oogstdag) weer en zo verder tot tenslotte het laatste proefoppervlak twee dagen later (na de grote oogst) werd geogst. Vervolgens werden de geogste champignons van elke oogstdag opgeslagen bij 20°C en gedurende minimaal vier dagen gevolgd en gescoord op hoedopening.

Bij deze experimenten zijn daarnaast de volgende parameters gevolgd: het aantal per grootteklasse met daarbinnen de percentages champignons die danwel nog gesloten zijn, èn champignons waarvan de hoed open was. Daarbij is ook het gewicht bepaald van de verschillende klassen, opbrengst in kg/m² (met tevens de gemiddelde opbrengst zoals die door de teler is gerealiseerd voor de gehele kweekcel), de verdelingen van de verschillende grootteklassen per m² per oogstdag, het bijbehorende gewicht, de procentuele verdeling per grootteklasse per oogstdag en tenslotte de relatie diameter van de hoed versus het gewicht van de totale champignon. De omvang van het experiment besloeg zo'n 3500-4000 champignons. Dit experiment is drie keer herhaald, met dezelfde resultaten. De belangrijkste resultaten staan in grafiekvorm op de volgende twee pagina's. Daar staan de typerende resultaten van één experiment voor de commerciële maten 20-30mm en 30-40mm met de percentages van de "open", danwel de "gebroken" champignons. Duidelijk is, dat champignons uit de zogeheten voorpluk, dus geplukt voor de grote oogst niet of weinig opengaan, daarentegen vertonen champignons geplukt nà de grote oogstdag het tegenovergestelde beeld. Dus champignons van dezelfde grootte en voorkomen verschillen sterk in hun naoogstgedrag met betrekking tot hoedopening. Overigens, bij dit fenomeen speelt behalve het oogsttijdstip ook de grootte een rol, d.w.z. bij alle maten is de remming van hoedopening evident, maar de mate waarin is grootteafhankelijk.

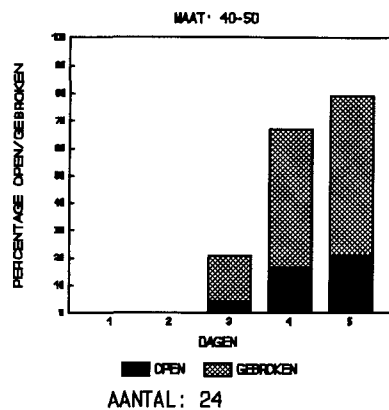
Dit fenomeen is een aanknopingspunt voor nader onderzoek naar sturingsprocessen van de hoedopening, met name op hormonaal niveau.



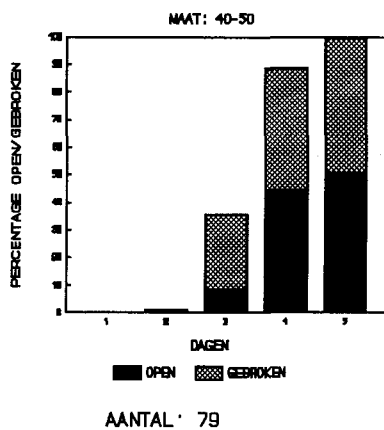
CHAMPIGNONS OOGSTDAG 1



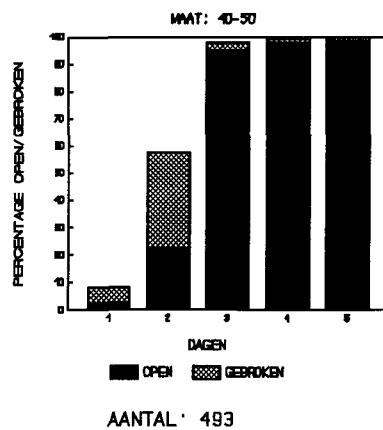
CHAMPIGNONS OOGSTDAG 2



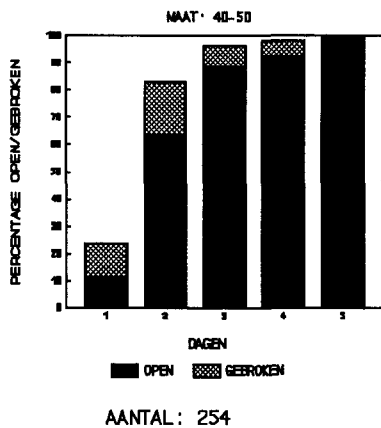
CHAMPIGNONS OOGSTDAG 3



CHAMPIGNONS OOGSTDAG 4



CHAMPIGNONS OOGSTDAG 5



MODELLEREN VAN MA-VERPAKKINGEN VAN CHAMPIGNONS

H.W. Peppelenbos

A. VOORTGANG TWEEDE HALFJAAR 1993

Probleemstelling

Bij kamertemperatuur (18°C, zoals in een supermarkt) gaat de kwaliteit van champignons snel achteruit (verkleuring van wit naar bruin en verlies van stevigheid). Bekend is dat de omgeving (temperatuur, luchtvochtigheid, zuurstof- en kooldioxideconcentraties) het kwaliteitsverloop beïnvloedt. Uit eigen onderzoek is gebleken dat zuurstof en kooldioxide een sterke invloed hebben op allerlei kwaliteitsaspecten.

Uitgaande van eigen experimenten en de literatuur lijken de optimale concentraties voor champignons ongeveer 0.5-1.5% zuurstof en 6-8% kooldioxide te zijn. Lage zuurstof- en hoge kooldioxideconcentraties vertragen de groei, de ontwikkeling, de groei van de vlekken op de hoed en de afname van de stevigheid.

Naar de wijze waarop zuurstof en kooldioxide de verschillende kwaliteitsfactoren (en de houdbaarheid) beïnvloeden wordt nader onderzoek gedaan. Begrip van de fysiologische processen achter kwaliteitsveranderingen is van belang voor het kunnen voorspellen van de houdbaarheid bij wisselende bewaaromstandigheden en verschillende herkomsten.

Met behulp van verpakkingen is het mogelijk de omstandigheden rond het produkt te beïnvloeden, omdat een levend produkt zuurstof gebruikt en kooldioxide afgeeft (respiratie) en een verpakking in beperkte mate doorlatend is voor zuurstof en kooldioxide (diffusie). Het is nu van belang om respiratie en diffusie zo op elkaar af te stemmen dat het bereikte evenwichtsnivo in een verpakking overeenkomt met de meest optimale luchtsamenstelling. Deze wijze van bewaren wordt MA genoemd (Modified Air). Om de optredende processen aan elkaar te kunnen koppelen is een model onontbeerlijk. Bijkomend voordeel van de ontwikkeling van een model is dat het uiteindelijk mogelijk zal zijn om het kwaliteitsverloop van een produkt bij verschillende bewaaromstandigheden te voorspellen.

DOEL:

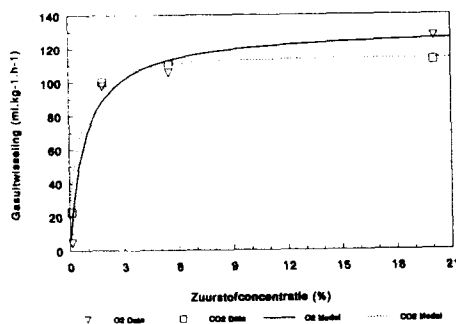
1. Het bepalen van de invloed van een aantal omgevingsfactoren, namelijk de O₂-concentratie, de CO₂-concentratie en de mate van indroging (= flow * luchtvochtigheid), op processen die de kwaliteit van verse champignons bepalen.
2. De ontwikkeling van een model dat de invloed van omstandigheden rond een produkt op het verloop van de kwaliteit van dat produkt kan berekenen en kan aangeven welke verpakking (welk materiaal) het meest geschikt is om de kwaliteit zo lang mogelijk te handhaven.

Verslag van de werkzaamheden in tweede helft 1993

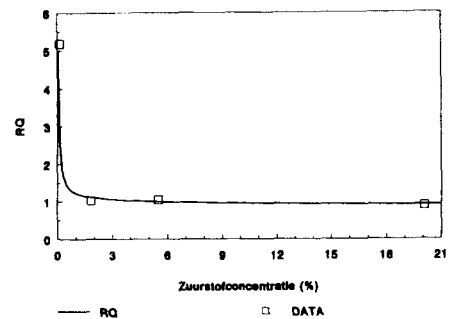
Ademhaling

In het afgelopen jaar is verschillende malen de ademhaling gemeten. Zowel de zuurstofopname als de kooldioxide-afgifte van de champignons bij verschillende zuurstof- en kooldioxideconcentraties in de lucht werd daarbij gemeten. Uit de metingen blijkt dat pas bij zeer lage zuurstofconcentraties (lager dan 2%) de zuurstofopname sterk geremd wordt (figuur 1). Ook de kooldioxide-afgifte neemt af bij lagere zuurstofconcentraties. Deze afname is echter minder sterk, wat tot uiting komt in de RQ (Respiratie Quotiënt; de kooldioxide-afgifte gedeeld door de zuurstofopname). Deze RQ neemt toe bij lagere zuurstofconcentraties (figuur 2).

Het ademhalingsmodel dat het afgelopen jaar ontwikkeld is, is in staat om zowel de zuurstofopname als de kooldioxide-afgifte bij alle zuurstofconcentraties te berekenen (figuur 1). De verschuiving van de RQ wordt berekend door een langzame toename van anaeroob metabolisme waarbij kooldioxide vrijkomt.



Figuur 1. Ademhaling bij 18°C. Data = metingen, Model = Modelberekening

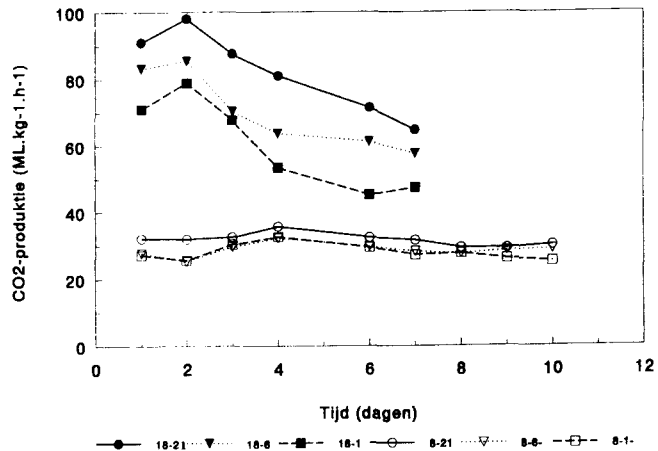


Figuur 2. RQ van champignons Berekend met gegevens van figuur 1.

Het model maakt een betere voorspelling van de concentraties in een verpakking mogelijk. Op dit moment is het ademhalingsmodel alleen niet voldoende als basis voor de berekening van het kwaliteitsverloop. Het model is namelijk een statisch model; het geeft het verband tussen een bepaalde concentratie en de ademhalingsnelheid.

De ademhalingsnelheid en andere hieraan gekoppelde processen kunnen in de tijd echter veranderen.

Om nu de veranderingen in de tijd van het belangrijkste Nederlandse ras, U1, te achterhalen en de invloed van verschillende omgevingsfactoren op deze veranderingen te kunnen bepalen zijn dit jaar verschillende experimenten uitgevoerd. Hiervoor zijn de champignons bij alle combinaties van 2 temperaturen (8 en 18 °C), 4 zuurstofconcentraties (21, 6, 2, 0.5%) en 3 kooldioxide concentraties (0.1, 5, 10%) bewaard.



Figuur 3. Ademhaling van champignons; tijdverloop van de kooldioxide-afgifte (eerste getal is temperatuur, tweede getal is zuurstofconcentratie, dus 18-21 = 18 °C, 21% O₂)

Het is duidelijk dat het ademhalingspatroon een piek vertoont. Bij een hogere temperatuur treedt de piek eerder op: bij 18 °C na 2 dagen (figuur 3). Op het moment van de piek is de ademhaling ongeveer 40% hoger dan het minimale niveau bij deze temperaturen. Dit verschil is vergelijkbaar met literatuurgegevens.

Bij 8 °C is er echter nauwelijks een piek waar te nemen; na 4 dagen is slechts een lichte verhoging van de ademhaling waar te nemen (figuur 3). Bij lagere zuurstofconcentraties is de ademhaling lager, maar lijkt er geen verschuiving van het moment van de piek op te treden. Een mogelijkheid is dat er wel een verschuiving is, maar dat deze plaatsvindt binnen de periode tussen twee metingen (nu 1 dag). Ook kooldioxide afzonderlijk (tot 10%) lijkt geen invloed te hebben op de ademhalingsnelheid en het moment van de piek. Een conclusie is dat er een duidelijke invloed is van de temperatuur en een mogelijk kleine invloed van de lichtsamenstelling op het moment van de piek.

Bruinverkleuring

In het verleden is een invloed van zuurstof en kooldioxide op de verkleuring van champignon gevonden. Bekend is dat deze verkleuring veroorzaakt wordt door het enzym tyrosinase. Onduidelijk is echter of zuurstof en kooldioxide de werking van dit enzym beïnvloeden, of dat op een andere wijze de bruinverkleuring beïnvloed wordt. Daarom is een experiment uitgevoerd waarbij champignons bij verschillende lichtsamenstellingen bewaard werden. De kleur van de champignons werd tijdens de bewaring een aantal keren gemeten m.b.v. computer beeldanalyse. De tyrosinase-activiteit en de hoeveelheid substraat (dat het enzym omzet zodat de bruine kleur ontstaat) werden gemeten aan vier verschillende onderdelen van de champignon; de steel, de lamellen, de buitenkant van de hoed en de rest van de hoed.

Inmiddels zijn de metingen grotendeels afgerond, maar zijn de resultaten nog niet verwerkt en beoordeeld. Daarom zijn de resultaten van dit experiment nog niet te geven.

Interactie tussen luchtsamenstelling en uitdroging

Om transpiratie/uitdroging van het produkt te minimaliseren is het van belang om de luchtvochtigheid hoog te houden. In een gesloten verpakking (noodzakelijk voor MA) kan een hoge luchtvochtigheid rond het produkt worden gehandhaafd. Een te hoge luchtvochtigheid vergroot echter de kans op condensatie; op het produkt kan een laagje vocht ontstaan (vooral bij temperatuurschommelingen). Dit kan de microbiële groei stimuleren. Daarom moet naast het optimaliseren van de zuurstof- en kooldioxideconcentraties in een verpakking ook de luchtvochtigheid binnen bepaalde grenzen gehouden worden. Om te kunnen aangeven welke luchtvochtigheid (mate van indroging) optimaal of acceptabel is, is een klein bewaarexperiment uitgevoerd. Geprobeerd werd om verschillen in luchtvochtigheid en uitdroging te bereiken door wel of niet de lucht te bevochtigen, en door verschillende luchtverversingssnelheden te gebruiken. Om een eventuele interactie met de luchtsamenstelling te onderzoeken is normale lucht (21% zuurstof en 0.05% kooldioxide) en de 'optimale' luchtsamenstelling (2% zuurstof en 6% kooldioxide) aangeboden. De verschillen in luchtvochtigheid tijdens de bewaring waren echter niet bijzonder groot (90-99%). Mede als gevolg daarvan waren er geen verschillen te zien tussen de champignons bewaard bij de verschillende luchtvochtigheden.

Als niet wordt gekeken naar bevochtiging of luchtverversingssnelheid maar alleen naar de luchtsamenstelling, dan blijkt dat de champignons die bewaard zijn in normale lucht van slechtere kwaliteit zijn dan de champignons bewaard bij de optimale luchtsamenstelling. Dit bleek uit metingen van kleur, bacterievlekken en open hoeden.

ONDERZOEK NAAR FAKTOREN DIE BEPALEND ZIJN VOOR DE VERWERKINGSVERLIEZEN VAN CHAMPIGNONS

E.P.H.M. Schijvens

Doelstelling

Onderzoek naar eigenschappen van de champignon en naar procesomstandigheden tijdens de verwerking, die effect hebben op het verwerkingsverlies.

Eventuele toepassingen:

- Optimalisatie van het verwerkingsproces
- Parameters bij de keuze van teeltomstandigheden en de ontwikkeling van rassen die minder verlies bij verwerking zullen geven
- Mogelijkheden bieden voor nieuwe champignonprodukten

Inleiding

In de tweede helft van 1993 zijn de effecten van een aantal processtappen in de verwerking van champignons en van fysische en chemische eigenschappen van champignons op het gewichtsrendement nader onderzocht.

1. *Effect van de blancheertijd op het gewichtsverlies*

Uit het onderzoek naar de voor het gewichtsverlies relevante procesfactoren (zie voortgangsrapportage van januari 1992) is onder andere gebleken dat er een significant effect is van de blancheertijd van 5 minuten ten opzichte van 15 minuten blancheren. Om het effect van de blancheertijd in meer detail te onderzoeken is het gewichtsrendement als functie van meerdere blancheertijden onderzocht in de eerste periode van 1993. Het resultaat van deze experimenten is een bevestiging dat bij niet geëvacueerde champignons 15 min. blancheren een hoger verwerkingsrendement oplevert dan 5 min blancheren. Bij deze experimenten kwam echter een ander verschijnsel naar voren. Het effect is dat bij langere blancheertijden het effect van evacueren niet terug te vinden is in de blancheerrendementen, maar pas in de totaalrendementen. Dit zou betekenen dat het positieve effect van evacueren nog niet zichtbaar is na het blancheren maar pas tijdens het steriliseren tot uiting komt. Omdat dit een verschijnsel is dat belangrijk kan zijn voor het begrijpen van het effect van evacueren, moet het zeker zijn dat dit verschijnsel zich ook werkelijk voordoet. Daarom zijn dezelfde experimenten in de tweede helft van 1993 herhaald, maar dan met hele en gesneden champignons en met zowel water als 1 %NaCl als opgieter.

2. De dichtheid van champignonweefsel in relatie tot het gewichtsverlies bij verwerking

In het verslag van de tweede helft van 1991 werd gerapporteerd dat de dichtheid van het weefsel effect heeft op het rendement. In latere experimenten wordt dit bevestigd (verslag van de eerste helft van 1992). Tot nu zijn deze dichtheden bepaald door middel van het onderwatergewicht. Hiermee wordt de "bulkdichtheid" van de champignon vastgesteld. Dit is de dichtheid van celwand en celinhoud inclusief de lucht tussen de cellen. De dichtheid van celwand en celinhoud noemen we "materiaaldichtheid". In de vorige verslagperiode zijn bulkdichtheden van verschillende partijen champignons gemeten en vergeleken met het evacuatierendement. Deze resultaten zijn hier in Fig. 1 nog eens weergegeven. De relatie tussen het specifieke volume, afgeleid van de bulkdichtheid, en het evacuatierendement is zichtbaar als een

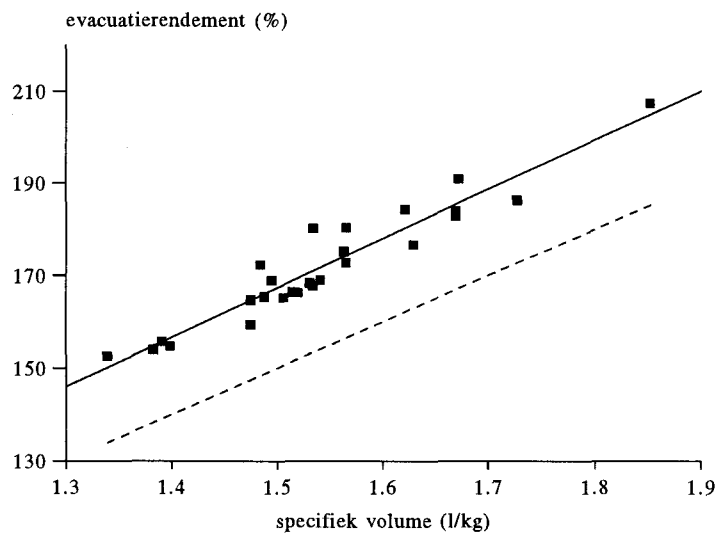


Fig. 1 Relatie tussen het specifiekvolume afgeleid van de bulkdichtheid van champignonweefsel en het evacuatierendement (—) en de theoretische relatie (--).

doorgetrokken lijn. Met een stippellijn is aangegeven wat deze relatie theoretisch had moeten zijn uitgaande van een materiaaldichtheid welke niet ver van 1,0 afwijkt. Maar omdat deze stippellijn ca 15 - 20% lager ligt dan de werkelijke relatielijn, moet de materiaaldichtheid substantieel hoger zijn dan 1,0 kg/l. Daarom is in deze verslagperiode de materiaaldichtheid van champignons gemeten.

3. De textuureigenschappen van champignons

Het onderzoek naar de textuureigenschappen van champignons wordt uitgevoerd om het slinken en daarmee het gewichtsverlies beter te begrijpen. Het is echter ook van belang voor het onderzoek naar de ontwikkeling van champignonprodukten. Uit dit onderzoek naar nieuwe champignonprodukten blijkt dat door bepaalde bewerkingen, zoals diepvriezen, de champignon taai wordt. Deze experimenten moeten een meetmethode selecteren die de taaiheid van champignons kan meten. Dit onderzoek is uitgevoerd in samenwerking met de groep die het onderzoek naar de ontwikkeling van de champignonprodukten uitvoert (Bartels). In deze verslagperiode zijn aanvullende metingen uitgevoerd. De uitwerking van deze data in relatie tot de sensorische meetwaarden van taaiheid is nog niet klaar. Daarom zijn er nu niet meer gegevens te presenteren dan wat in het vorige verslag is gegeven.

4. Voorspellende waarde van fysische en chemische eigenschappen van champignons voor het verwerkingsverlies

Hoewel het in de bedoeling lag de set gegevens zoals die er nu ligt, uit te breiden met aanvullende metingen aan nog meer partijen champignons, zijn in de tweede helft van 1993 hieraan geen metingen verricht.

Materiaal en Methoden

1. Effect van de blancheertijd op het gewichtsverlies

Champignons, al dan niet geëvacueerd, zijn 2 tot 30 minuten geblancheerd. Na het blancheren werden de champignons al dan niet gesneden verwerkt tot gesteriliseerde champignons. Bij deze experimenten is zowel water als een oplossing van 1%NaCl als opgieter gebruikt.

2. De dichtheid van champignonweefsel in relatie tot het gewichtsverlies bij verwerking

De "bulkdichtheid" van het champignonweefsel wordt gemeten door middel van het onderwatergewicht, waarbij het volume van de hele champignon, inclusief de lucht die in de champignons zit, wordt gemeten en later gedeeld door het gewicht van de champignon.

De "materiaaldichtheid" van de champignon wordt gemeten met een pycnometer, waarbij het volume van de champignon wordt gemeten door de drukverandering te registreren bij een gegeven volumeverandering van de ruimte waarin de champignon zich bevindt. Omdat de openingen tussen de cellen van champignons geheel doorlaatbaar zijn voor gassen, wordt de dichtheid van de celwanden en celinhoud gemeten.

Resultaten en discussie

1. Effect van evacueren en de blancheertijd op het gewichtsverlies

Het effect van evacueren en de blancheertijd op het verwerkingsrendement van champignons is weergegeven in Fig. 2. De punten in Fig. 2 zijn het gemiddelde van de meetresultaten aan hele en gesneden champignons

verwerkt in een opgiet van zowel water als een oplossing van 1% NaCl.

In Fig. 2 is te zien dat er voor de korte blancheertijden (10 minuten of korter) de punten van het blancheerrendement voor de geëvacueerde champignons (a) hoger liggen dan voor de niet geëvacueerde champignons (b). Voor de langere blancheertijden (langer dan 10 minuten) is er aan het blancheerrendement geen effect van het evacueren vast te stellen. Daar liggen de punten nagenoeg op hetzelfde niveau. Het effect van evacueren op het verwerkingsrendement is zowel bij de korte als bij de lange blancheertijden duidelijk zichtbaar. Bij de lange blancheertijden kan het positieve effect van evacueren op het verwerkingsrendement niet veroorzaakt worden door een hoger rest gewicht na het blancheren. Het positieve effect van het evacueren bij langere blancheertijden, ligt kennelijk in de sterilisatie stap. Het is waarschijnlijk dat ook voor de kortere blancheertijden het effect van evacueren in de sterilisatiestap moet worden gezocht. Maar bij de korte blancheertijden is het blancheerrendement van de geëvacueerde champignons hoger. Een hoger verwerkingsrendement zou dan verklaard kunnen worden door het hogere rest-gewicht na het blancheren.

Het beeld, zoals te zien in Fig. 2, geldt voor zowel hele als gesneden champignons en zowel voor verwerking in water als voor 1% NaCl oplossing als opgietvloeistof.

Bij gesneden champignons is het effect duidelijker te zien dan bij hele champignons en bij water als opgiet is het effect ook duidelijker te zien dan bij 1% NaCl als opgiet.

Waarom bij de langere blancheertijden het effect van evacueren niet te zien is aan het blancheerrendement maar wel aan het verwerkingsrendement is op basis van de huidige kennis niet te verklaren.

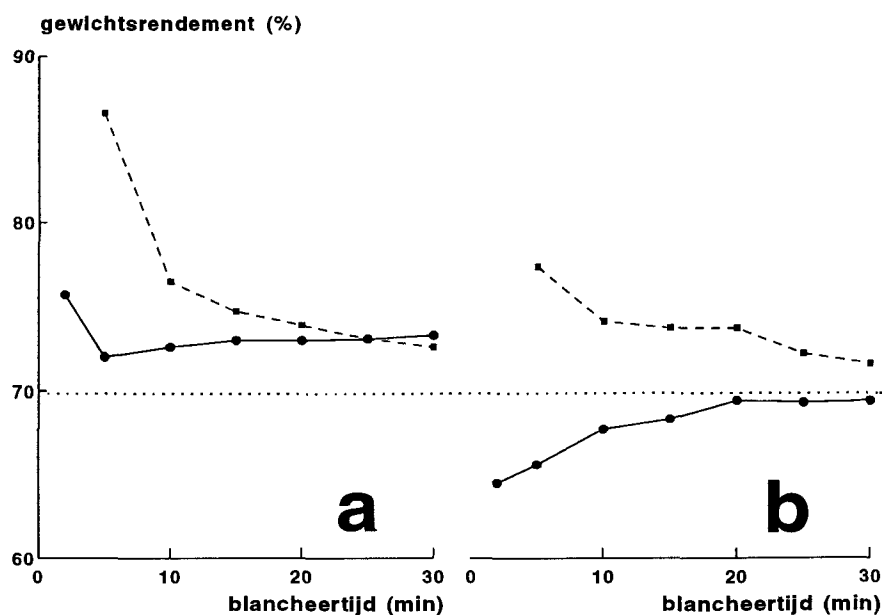


Fig. 2 Gewichtsrendement na blancheren (---) en verwerken (—) van geëvacueerde (a) en niet geëvacueerde (b) champignons, gemiddeld voor hele en gesneden champignons en water en 1% als opgieter

2. De dichtheid van champignonweefsel in relatie tot het gewichtsverlies bij verwerking

De resultaten van zowel de bulkdichtheid als de materiaaldichtheid van champignons zijn weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1 Bulk- en materiaaldichtheid van rauwe champignon en materiaaldichtheid van geëvacueerde champignon

rauwe champignon				geëvacueerde champignon	
bulk-dichtheid (kg/l)	st.afw. (n=13)	materiaal-dichtheid (kg/l)	st.afw. (n=13)	evacuatie-rendement (%)	st.afw. (n=13)
0,63	0,043	1,20	0,049	176	0,074

Zoals uit Tabel 1 blijkt is de materiaaldichtheid voor champignons groter dan 1,0 kg/l. De effecten welke deze dichtheden zullen hebben voor het evacuatierendement kunnen worden berekend. Voor 100 g champignons betekent een bulkdichtheid van 0,63 kg/l een volume van 159 cm³. Omdat de materiaaldichtheid 1,2 is i.p.v. 1,0 kg/l is het materiaalvolume 83 i.p.v. 100cm³. Dit betekent dat de fractie lucht in de champignon 59+17=76cm³

is. Deze fractie lucht in de champignon zal een werkelijk evacuatierendement van 176% geven. Het resultaat van het gemiddelde gemeten evacuatierendement is ook 176%. Ook voor de relatie in Fig. 1 zal een hogere dichtheid van celwanden en inhoud gelden. De theoretische lijn loopt dan anders dan de aangegeven stippellijn. Immers 100 g champignon met een materiaaldichtheid van 1,2 kg/l heeft een volume van b.v. 83 cm³. Uitgaande van een bulkdichtheid van 0,6 heeft 100g champignon een volume van 167 cm³ en bestaat uit 67+17=84 cm³ lucht. Het te verwachten evacuatierendement zal dan ongeveer 184 % zijn. Dit is ongeveer het evacuatierendement wat valt op de doorgetrokken lijn in Fig. 1 voor een specifiek volume van 1,67.

Voortgang 1e kwartaal 1994

- De bulkdichtheid en de materiaaldichtheid van meerdere partijen champignons zal worden onderzocht, waarbij ook aandacht zal worden besteed aan het volume van champignons na evacueren, dat zoals eerder is vastgesteld, toeneemt tengevolge van het evacueren.
- De instrumenteel gemeten textuureigenschappen van champignons zullen worden gerelateerd aan de al eerder uitgevoerde sensorische taaibepalingen.

ENZYMATISCHE BRUINVERKLEURING VAN CHAMPIGNONS

H.J. Wichers

Doelstelling

Inzicht in de enzymologie van bruinverkleuringsreacties in de champignon en ontwikkeling van methoden om deze verkleuring te remmen of voorkomen.

Mogelijke toepassingen

- Snelle selectiemethoden voor rassen die minder gevoelig voor bruinverkleuring zijn;
- Aanpassing van behandelings- en verwerkingsprocessen en -trajekten zodanig dat bruinverkleuring wordt tegengegaan.

Inleiding

Bruinverkleuring in de champignon is het gevolg van de (gedeeltelijk) enzymatische vorming van bruine pigmenten, de zogenaamde melaninen. Het hierbij in de vruchtlichamen van *A. bisporus* betrokken enzym is tyrosinase (zie eerdere voortgangsrapportages).

In de onderhavige verslagperiode is aandacht besteed aan:

A- Bereiding van monoclonale antilichamen tegen de eerder gezuiverde isoenzymen van tyrosinase (taak 1);

B- Onderzoek naar de relatie tussen tyrosinase-activiteit, fenolenconcentratie, protease-activiteit en bruinverkleuring van champignons bij MA-bewaring, i.s.m. H.W. Peppelenbos (taak 1).

Voor een verklaring van de gebruikte codering zie het onderzoeksprogramma d.d. februari 1992.

Materiaal en methoden

M.b.t. aktie A:

Een drietal muizen is geïmmuniseerd met een mengsel van de gezuiverde isoenzymen. Van een tweetal muizen is inmiddels een zgn. hybridomaculture in ontwikkeling.

M.b.t. aktie B:

Champignons (U1) zijn bewaard bij combinaties van een aantal zuurstof- en kooldioxideconcentraties gedurende maximaal 9 dagen. Op gezette tijden zijn monsters genomen waarbij in de "huid" van de hoed, het "vlees" van de hoed, de lamellen en de steel resp. het tyrosinase-gehalte, de totale fenolen-concentratie, de protease-activiteit en de bruinheid van de hoed zijn bepaald.

Resultaten en discussie

Aktie A:

Van een tweetal muizen is inmiddels de milt geïsoleerd, waarna de miltcellen zijn gefuseerd met een muizentumor-cel lijn (ter combinatie van de antilichaam-producerende eigenschap van de miltcellen met de "onsterfelijkheid" van de tumorcel lijn in het fusie-produkt, zgn. hybridoma-cel lijnen). Momenteel worden in de hybridoma-populatie de cel lijnen met een voldoende hoge antistof-productie en de gewenste specificiteit (tegen een van beide isoenzymen) uitgeselecteerd. Met deze antilichamen kunnen diverse nieuwe wegen worden ingeslagen, o.a. bij toetsontwikkeling, en bij fysiologische en moleculair-biologische studies.

Aktie B:

Bij het schrijven van deze rapportage zijn alle monsters doorgemeten op de onderzochte parameters. Een overzicht en evaluatie van de analyses kan nog niet worden gegeven, maar kan hopelijk ter voortgangvergadering worden gepresenteerd.

Geplande activiteiten in het komende halfjaar

Hangen in sterke mate af van de prioriteiten in een eventueel vervolgprogramma.

EEN BESLISSINGSONDERSTEUNEND SYSTEEM (DSS) VOOR STRATEGISCHE PLANNING

R. Broekmeulen

A. VOORTGANG TWEEDE HALFJAAR 1993

Doelstelling

Doel van dit project is het bestuderen van de bestaande en alternatieve afzetketens voor champignons in het kader van het thema integrale goederenstroombesturing. Integrale goederenstroombesturing is een logistiek vraagstuk en houdt in dat op de juiste momenten de juiste beslissingen over opslag, transport, bewerking en verwerking dienen te worden genomen. Hiervoor zijn modellen nodig voor het kwaliteitsverloop, het koelen en het verpakken van een bederfelijk product zoals champignons.

Status van het project ultimo 1993

Voor het ontwikkelen van nieuwe markten voor champignons en het consolideren of uitbreiden op bestaande is het noodzakelijk om de condities in de afzetketens te kennen en te (gaan) beheersen. Hierbij moet gelet worden op verlengen van de houdbaarheid aan de ene kant en op het verkorten van de doorlooptijd aan de andere kant. Een ketenbeschrijving waarin alle acties en condities van teler tot consument zijn vastgelegd worden conditie-scenario's genoemd (CS). Het strategische sectormodel wat met deze conditie-scenario's werkt bestaat uit drie lagen:

- 1 Aanmaak van potentieel aantrekkelijke conditie-scenario's.
- 2 Selectie van een set van relevante CS die voldoen aan de gewenste criteria (kwaliteit, kosten, exportactieradius, flexibiliteit, etc.) en die de sector volledig kunnen beschrijven (integraal).
- 3 Een doelprogrammeringsmodel dat bij de inrichting en besturing van de sector met behulp van de geselecteerde CS rekening houdt met de aanwezige en/of gewenste capaciteiten (koelen, verpakken en handling).

Vorig jaar is dit model geïmplementeerd in het prototype "AiDA for Mushrooms".

Fasering

- Test en validatie van de ontwikkelde modellen
- Test en validatie van het systeem
- Presentatie in de sector van het systeem
- Selectie van mogelijke testcases voor het systeem

Verslag van de werkzaamheden

Volgens plan is het systeem voorgesteld aan diverse partijen in de sector zoals het CNC, CBT, PGF en groothandelaren, evenals aan het OVO-overleg. De vorm van deze presentaties liep uiteen van plenaire voordrachten gevolgd door een discussie met de zaal tot uitvoerige demonstraties. De drie belangrijkste opmerkingen die uit deze presentaties naar voren kwamen zijn:

1 Strategisch sectormodel

Over wie de toekomstige gebruikers van het systeem zijn bestaat nog onduidelijkheid bij sommige partijen. Men is bang dat de uitkomsten van dit systeem de structuur van de sector zullen bepalen. AiDA is echter een ondersteunend systeem dat op een kwantitatieve, onderbouwde manier kan helpen bij de discussies over de toekomst van de sector. In principe kunnen alle partijen in de sector gebruiker worden van het systeem in zoverre men belangstelling heeft voor de strategische inrichting van de champignonsector. Vragen op tactisch en operationeel niveau zoals aanvoerschema's voor de veiling en productieplanning en rendementsverbetering voor de industrie worden expliciet niet in het project behandeld. AiDA kan helpen bij het maken van afwegingen voor een Integraal KwaliteitsZorg (IKZ) systeem maar is niet in staat om een IKZ-systeem op te stellen of te implementeren.

2 Onderhoud van de gegevens

Voor het werken met een strategisch sectormodel zijn veel gegevens uit de hele sector noodzakelijk. AiDA rekent met geaggregeerde gegevens over de sector plus de voorkeuren van de gebruiker (bv. vergroting actieradius) een optimale sectorinrichting uit. De omvang van de sector bemoeilijkt het onderhoud van de algemene, meer neutrale gegevens. Het is belangrijk dat de diverse partijen met dezelfde set algemene gegevens rekenen om een eerlijke vergelijking tussen de alternatieve sectorinrichtingen te kunnen maken. Het effect van de vele gebruikersvoorkeuren waarmee het systeem rekening houdt op de sectorinrichting is niet altijd direct duidelijk. Totaal afwijkende sets van gebruikersvoorkeuren leiden soms tot exact dezelfde sectorinrichting.

3 Uitgebreidheid

Een aantal partijen betwijfelen of ze het complete sectormodel nodig hebben voor hun beleidsondersteuning. De grafische module waarmee conditie-scenario's kunnen worden gebouwd plus het met een expertsysteem te modificeren kwaliteitsverloopmodel werd met veel enthousiasme ontvangen. Een uitgekede versie van AiDA waar de sectorinrichting geen deel van uitmaakt is waarschijnlijk eenvoudiger te bedienen voor de incidentele gebruiker en voldoet meestal voor de kleinere partijen in de sector.

Naar aanleiding van de opmerkingen op het model heeft ATO-DLO aan de sector gevraagd om een concrete case waarbij AiDA gebruikt zou kunnen worden. De sector voert hierover momenteel nog overleg.

B. PUBLIKATIES

Geen.

C. PLANNING 1994

Afhankelijk van de aangeboden praktijkcase zullen de mogelijkheden van het huidige systeem aangepast worden. De verwachte noodzakelijke aanpassingen aan het systeem zullen bij het verdere onderzoek geen belemmering vormen. De dataverzameling, analyse en validatie van de case zullen het overgrote deel van de werkzaamheden in 1994 uitmaken.

CBA EN CHAMPIGNONS

B.H. van Zwol

A. VERSLAG OVER TWEEDE HALFJAAR 1993

Probleemstelling

Champignons worden geteeld voor de verse markt of voor de industrie. Afhankelijk van de groei moet op een gegeven moment worden geoogst en worden de champignons bij de pluk in klassen ingedeeld. De indeling naar kleur en ontwikkelingsstadium gebeurt op basis van een visuele beoordeling en kan nogal verschillend uitvallen.

Doelstelling

Het meten van de kwaliteitsbepalende aspecten van champignons op een objectieve manier met behulp van computer beeld analyse. Uiteindelijk zullen de met CBA ontwikkelde meetroutines worden gebruikt voor het bouwen van een prototype kwaliteitscontrole apparaat waarmee deze metingen ook onder praktische omstandigheden kunnen worden uitgevoerd.

Fasering

In de afgelopen jaren werden meetopstellingen, meetroutines en calibratiemethoden ontwikkeld voor het meten van kleur en verkleuringen en afmetingen van champignons. In 1993 zal worden gewerkt aan:

- * Een beschrijving van een classificatiesysteem voor champignons bij toepassing van CBA
- * Beschrijving van de opnamecondities voor de detectie van champignons in bulk.
- * Beschrijving van kwaliteitsbeoordelingsapparatuur voor champignons met gebruikmaking van CBA.

Verslag van de werkzaamheden

Ook in het tweede halfjaar 1993 zijn, op basis van door de veiling te Bemmel aangeleverde kratten met champignons, CBA-metingen uitgevoerd voor een objectieve vergelijking van afmetingen, kleur en verkleuringen. De champignons in de kratten waren door de keurmeesters op de veiling ingedeeld in de klassen I-1-60, I-2-60, II-2-60 en II-2-60-Industrie. Per klasse zijn 18 kenmerkende waarden gemeten variërend van hoedoppervlak van de champignon, vlekken op de hoed, hoeddiameter en hoeddikte, steellengte en steeldikte, vlekken op de steel, mate van hoedopening tot de gemiddelde waarde van de witheid van de champignon. Om de met

CBA gemeten champignons te kunnen classificeren op basis van de metingen is het noodzakelijk uit de 18 genoemde kenmerkende waarden een aantal te kiezen.

Voor het bepalen van de optimale classificatiekenmerken is een computerprogramma ontwikkeld, dat afhankelijk van het opgegeven aantal kenmerken de beste combinatie berekent.

Een keuze van 4 kenmerken uit de beschikbare 18 kenmerkwaarden leverde een combinatie op van witheid van de hoed met het oppervlak aan vlekken op de hoed en steellengte en -breedte. Voor het classificeren van de gemeten partijen champignons zijn een neuraal netwerk en lineaire en kwadratische discriminant analyse (LDA en QDA) gebruikt. Zowel de statistische methoden LDA en QDA als het neurale netwerk maken gebruik van een leerverzameling voor het "aanleren" van de klassificatie.

In de tabel 1 is te zien hoe de door de keurmeester van de veiling geklassificeerde champignons worden ingedeeld op basis van 4 kenmerken volgens LDA, QDA en het neurale netwerk.

Tabel 1: Indeling van partijen champignons volgens classificatie-systemen.

Klasse volgens Keurmeester	Klasseindeling volgens:											
	Lineaire Discriminant Analyse				Kwadratische Discriminant Analyse				Neuraal Netwerk			
	I 1	I 2	II 2	II 2 i n d	I 1	I 2	II 2	II 2 i n d	I 1	I 2	II 2	II 2 i n d
I-1-60	21	5	1	3	26	0	2	2	30	0	0	0
I-2-60	6	15	3	2	3	20	2	1	1	25	0	0
II-2-60	5	6	13	4	6	6	14	2	0	4	24	0
II-2-60 Ind.	5	0	5	20	5	1	7	17	0	0	1	29

Bij klassificatie volgens LDA zijn 61% van de partijen in dezelfde klasse ingedeeld als door de keurmeester.

Bij klassificatie volgens QDA komen 68% van de partijen overeen.

Bij klassificatie volgens het Neurale netwerk komen zelfs 95% van de partijen overeen met de menselijke beoordeling.

In de praktijk kan het indelingspercentage volgens het Neurale netwerk lager uitvallen omdat de schatting onzuiver is.

Een overeenstemming van 100% is overigens niet haalbaar, de hoogste overeenstemming tussen menselijke experts is 85-90%.

De bovenstaande resultaten werden verkregen in samenwerking met het project 70290 getiteld: CBA en uitwendige kwaliteit van industriële groenten.

Praktisch gezien maakt dit onderzoek duidelijk dat met CBA een klasse-indeling kan worden gemaakt overeenkomstig de indeling door een keurmeester op de veiling, mits de witheid van de hoed, de verkleuringen op de hoed en de steellengte en -dikte goed gemeten kunnen worden.

Het verschil in witheid van de hoed tussen de diverse partijen uit een klasse is overigens groot en wordt veroorzaakt door seizoenvariëaties, er is het hele jaar door gemeten, maar ook door variëaties in de belichtingsomstandigheden in de belichtingskast. Analyse van de belichtingsomstandigheden toonde aan dat de lichtsterkte in de kast fluctueert met de temperatuur. Bij een variëatie van 15 °C naar 25 °C neemt de lichtsterkte met 10% toe. In verband met deze lichtsterktevariëatie is een nieuwe belichtingskast ontworpen waarin de lichtsterkte met een fotocel wordt gemeten en gestabiliseerd.

Om champignons per krat te kunnen beoordelen is een meetopstelling gebouwd met 2 elektronische flitsers, die zijdelings naast een kratje met champignons waren opgesteld. Om uit de bulk van champignons zoals deze in het kratje liggen hoed en steel te kunnen onderscheiden werd eerst een opname met flitslicht van links gemaakt en daarna een opname met flitslicht van rechts. Beide opnamen werden apart gesegmenteerd en de binaire beelden werden gecombineerd. Het onderscheiden van hoeden en stelen uit deze beelden bleek echter niet mogelijk. De flitsbelichting van de champignons leverde constante beelden op, hetgeen van groot belang is voor een kwaliteitsbeoordelingssysteem voor praktische toepassing.

Confrontatie met de fasering

Doordat uit de gecombineerde flitsopnamen geen gescheiden detectie van hoeden en stelen mogelijk bleek, zal kwaliteitsbeoordeling van kratjes champignons alleen gebaseerd kunnen zijn op afzonderlijke champignons. Voor beoordeling door keurmeesters is het zgn. "gedekt" leggen van champignons voorgeschreven, dit houdt in dat de bovenste laag met de hoed naar boven in het kratje wordt gelegd. Of beelden van "gedekt" gelegde kratjes voldoende informatie geven over de "witheid" en de

"verontreinigingen " voor een voorlopige klassering zal nog moeten worden onderzocht.

B. PUBLIKATIES

Geen.

C. WERKPLAN 1994

In de resterende tijd tot beëindiging van het project zal de aandacht vooral uitgaan naar de mogelijkheid van het beoordelen van champignons op kratniveau, en een bruikbare verslaglegging van het gehele project.