

A 20

**Voortgangsrapportage  
ATO-Onderzoekprogramma Groenten  
en Fruit 1991**

Dr. W.M.F. Jongen,  
programmaleider

**ato-dlo**



2251462

# Voortgangsrapportage

## ATO-Onderzoekprogramma Groenten en Fruit

1991

Wageningen, januari 1992  
dr W.M.F. Jongen, programmaleider

INHOUDSOPGAVE	pag.
1. Stevigheid en meligheid tijdens de rijping en veroudering van appels (F. Koppenaar)	4 - 9
2. Kwaliteit tomaat (H.C.P.M. van der Valk)	10 - 17
- Stevigheidsonderzoek tomaat	10 - 12
- Houdbaarheidsvoorspellend model tomaat	13 - 15
- Meligheid tomaat	16 - 17
3. Effecten van licht en lage temperatuur tijdens bewaring, inclusief chlorofylfluorescentie, van voedings- tuinbouwproducten (O. van Kooten)	18 - 21
4. Climacterische vruchten en CA-bewaring (P. Claassen)	22 - 26
5. CA-bewaring van groente en fruit (S.P. Schouten)	27 - 32
6. Voedselveiligheid en smaak	33 - 60
- Glycoalkaloiden in nachtschaden (E.A.J. Keukens)	33 - 34
- Detectie en bestrijding van bederfveroorzakende micro-organismen (L.G.M. Gorris)	35 - 43
- Onderzoek naar het gebruik van (bio)sensoren ten behoefte van kwaliteitsaspecten van verse en verwerkte plantaardige grondstoffen (C. van Dijk)	44 - 45
- Chemische en sensorische analyses van smaakcomponenten in verse paprika (P.A. Luning)	46 - 58
- Smaak (A. van Amerongen)	59 - 60

7. Verpakkingen	61 - 77
- Afbreekbare coatings en folies (H. Tournois)	61 - 63
- Modelleren van MA-verpakkingen van groenten en fruit (H. Peppelenbos)	64 - 71
- Verpakking groenten en fruit (R.G. Evelo)	72 - 77
8. Systeemkunde	78 - 105
- DSS voor de optimale bewaring van hardfruit (A.P.H. Saedt)	78 - 81
- Kwaliteitsmodellering van groenten en fruit (P. Tijskens)	82 - 89
- DSS voor Strategisch Sectorbeleid (R.A.C.M. Broekmeulen)	90 - 95
- DSS voor mengladingsen (M. Janssens)	96 - 101
- Computer Beeld Analyse bij groenten en fruit (A. Hulzebosch)	102 - 105

## STEVIGHEID EN MELIGHEID TIJDENS DE RIJPING EN VEROUDE- RING VAN APPELEN

Projectnummer: 1.01.16

F. Koppenaar

### A. Verslag over 1991

#### Probleemstelling

Stevigheidsverlies en de ontwikkeling van meligheid zijn de belangrijkste factoren welke het verlies van kwaliteit van appels in het handelskanaal bepalen. Met name de veilingen willen over een methode beschikken waarmee de stevigheid en meligheid objectief kan worden gemeten. Om dit mogelijk te maken is niet alleen empirisch onderzoek nodig naar het verband tussen potentiële meetmethoden en de kwaliteit van het fruit. Om tot een goede keuze te komen van meetparameters is kennis over de achtergrond van de ontwikkeling van stevigheid en meligheid tijdens de rijping en veroudering van appels noodzakelijk.

#### Doelstelling

Onderzoek naar factoren die een rol spelen bij het verloop van de stevigheid en meligheid tijdens de rijping en veroudering van appels moet leiden tot:

1. verbetering van meetparameters voor de praktijkcontroles.
2. ontwikkeling van voorspellingsmodellen waarmee de snelheid van veranderingen in de stevigheid en meligheid kan worden bepaald.
3. ontwikkeling van maatregelen om stevigheidsverlies en het optreden van meligheid uit te stellen of te voorkomen.

#### Fasering

jaar 1:

- ultrastructurele karakterisering van stevigheidsverlies en meligheid
- biochemisch onderzoek aan celwandhydrolases

jaar 2:

- biochemisch onderzoek aan celwandhydrolases  
verband tussen celwandafbraak (celwandhydrolases) en kwaliteitsverlies
- detectie celwandhydrolases op messenger RNA niveau
- effect van calciuminfiltratie op de stevigheid

jaar 3:

- pH-metingen van de celwand
- calciummetingen in de celwand
- turgormetingen

jaar 4:

- meligheidstoets op basis van fluorescerend label
- onderzoek naar de regulatie van calciumtranslocatie op celwand- en celmembraanniveau

1991 (jaar 1)

1. Transmissie electronenmicroscopie van ultradunne coupes, om ultrastructurele veranderingen op celwandniveau te onderzoeken.
2. Scanning electronen microscopie (cryo-SEM) voor onderzoek naar breukvlakken; in combinatie met cryo-frezen voor onderzoek naar celdimensies en -vorm.
3. Biochemisch onderzoek aan celwandhydrolases:  
Opzetten van extractie- en bepalingsmethoden voor PG en PME.

### **Verslag van de werkzaamheden**

#### Ultrastructuur

Met behulp van electronenmicroscopie is onderzoek gedaan naar veranderingen in de ultrastructuur van appels bij de rassen Elstar en Cox's Orange Pippin. Het doel van de experimenten was vast te stellen waar de belangrijkste structurele veranderingen plaatsvinden. Er werd voornamelijk gekeken naar de celwandstructuur omdat verwacht wordt dat dit deel van de cel grotendeels de stevigheid van de vrucht bepaalt. Er is in eerste instantie een vergelijking gemaakt tussen onrijpe, stevige en zachte, melige vruchten.

Allereerst is gekeken wat er gebeurt wanneer je een stukje appelweefsel door midden breekt. Wanneer je het verkregen breukvlak met een scanning electronenmicroscopie bij een hoge vergroting bekijkt kun je in principe iets zeggen over de wijze waarop de weefselcellen onderling verbonden zijn.

Breukvlakken van stevige appels, welke direct uit de Controlled Atmosphere-bewaring kwamen en een hoge stevigheid vertoonden (gemeten met een penetrometer), duiden erop dat het breukvlak dwars door de cellen heen loopt. Breukvlakken bij zachte, melige appels gaven een totaal ander beeld te zien. Vrijwel alle weefselcellen waren nog intact terwijl er een duidelijke toename zichtbaar was in de grootte van de intercellulaire ruimten. Op sommige punten komen deze ruimten bij elkaar waardoor groepjes cellen ontstaan. Deze groepjes van cellen zorgen waarschijnlijk voor de korrelige, melige indruk tijdens consumptie van zachte appels. Doordat de cellen grotendeels intact blijven zal er weinig vocht vrijkomen, hetgeen een verklaring geeft voor de droge indruk bij consumptie.

Om meer in detail naar structuurveranderingen van de celwand te kijken zijn stukjes appelweefsel gefixeerd en in ultradunne coupes gesneden. Na kleuring

van de coupes zijn ze bij een hoge vergroting bekeken met een transmissie elektronenmicroscop.

De opnames laten zien dat een specifiek deel van de celwand bij melige appels opgelost is. Dit deel is de middenlamel. Bij onrijpe appels daarentegen is er geen onderscheid te zien tussen celwand en middenlamel.

Bovenstaande resultaten wijzen erop dat tijdens de rijping en veroudering van appels de middenlamel van de celwand oplost. Dit heeft dan weer effect op de stevigheid.

#### Biochemische karakterisering van celwandafbrekende enzymen

Uit celwanden van Elstar appels werd getracht exo-polygalacturonase te isoleren. Hoewel zeker niet bewezen, wordt toch algemeen aangenomen dat dit enzym mede verantwoordelijk is voor de afbraak van een deel van de middenlamel. Met de tot nu toe uitgeteste methoden is het echter nog niet mogelijk gebleken dit enzym aan te tonen in stevige of zachte Elstar appels. Dit kan enerzijds betekenen dat Elstar zeer lage enzymniveau's bevat of anderzijds dat de extractie van het eiwit uit de celwanden nog niet optimaal is. Besloten is daarom om te proberen exo-PG uit appels van het ras Cox's Orange Pippin te isoleren. Eerder onderzoek heeft dit enzym reeds aangetoond bij dit ras (Bartley, 1978). Resultaten met Cox kunnen het onderzoek aan Elstar ondersteunen.

De eerste experimenten met Cox zijn verricht aan appels welke direct uit de CA-bewaring kwamen. Uit hardheids-, ethyleen-, en respiratiemetingen bleek duidelijk dat deze appels al in het climacterium zaten. Pre-climacterische Cox appels waren in de CA-bewaring niet meer aanwezig. De meest onrijpe exemplaren zijn gebruikt voor de enzymbepalingen.

Door middel van zoutextractie is appelweefsel (vruchtvlees) geïncubeerd bij een lage pH. Het extract is verder opgewerkt waarbij als laatste stap een gelfiltratie kolom is gebruikt. Op deze manier was het mogelijk om het eiwit te scheiden van niet-eiwit gebonden suiker (suiker stoort de enzymbepaling in hoge mate). Met de eiwitfracties zijn vervolgens de activiteitsbepalingen verricht. Uit de eerste resultaten blijkt dat de geteste appels exo-PG activiteit vertoonden. Opvallend was dat de activiteit afhankelijk was van de Ph en calciumconcentratie van het reactiemedium.

#### Onderzoek met behulp van NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

De eerste resultaten van het onderzoek aan appels met behulp van NMR (Dr. P. de Waard en P. v.d. Meer, ATO) zijn bemoedigend. Er wordt onderzoek verricht naar de manier waarop water gebonden is binnen de vrucht. Uit de eerste experimenten met stukjes appel bleek dat er duidelijke verschillen waren tussen melige en niet-melige Elstar appels.

Bovenstaande experimenten zijn op grotere schaal herhaald met zowel Elstar als Cox appels. Per ras zijn van een groot aantal appels, variërend van onrijpe, stevige vruchten tot rijpe, zachte (melige) vruchten relaxatiemetingen verricht. De metingen werden verricht aan kurkboor monsters. Metingen van de relaxatietijd geven informatie omtrent de manier waarop water gebonden is binnen de cellen van het vruchtvlees. Deze resultaten kunnen informatie verschaffen over veranderingen in compartimentatie binnen de vruchtwefselcellen.

De NMR metingen zijn voor een deel gecombineerd en vergeleken met andere

metingen: penetrometer (hardheid), ethyleenproductie en electronenmicroscopie. Uit de resultaten blijkt dat er voor Elstar een zeer goed, lineair verband is tussen de instrumentele stevigheid (penetrometer) en veranderingen van de gemeten relaxatietijden (NMR). Stevigheidsafname gaat duidelijk samen met een grote percentuele toename van de hoeveelheid gebonden water en een even grote afname van de hoeveelheid vrij water. De totale hoeveelheid water blijft gelijk. Voor het ras Cox is het verband tussen de instrumentele hardheid en het water-sigitaal veel minder. Dit wordt zeer waarschijnlijk veroorzaakt door de penetrometer, waarvan de geschiktheid als meetinstrument voor de stevigheid discutabel is. Wanneer de appels echter groepsgewijs worden ingedeeld op grond van de bewaarcondities na uitslag uit de CA-bewaring, dan vertonen Elstar en Cox hetzelfde verband tussen kwaliteit en relaxatietijd.

Uit de electronenmicroscopische opnames van dunne coupes van appelweefsel afkomstig van dezelfde appels waarmee bovenstaande NMR metingen verricht zijn moet blijken of de toename van de hoeveelheid gebonden water te maken heeft met veranderingen in de compartimentatie binnen de cellen. De resultaten met de electronenmicroscopie worden begin '92 verwacht.

### **Confrontatie met de fasering**

Onderzoek naar enzymen die betrokken zijn bij de afbraak van de middenlamel is in de fasering van het project naar voren geschoven, ten koste van het onderzoek naar de rol van calcium. Dit is naar het volgende jaar verschoven. Het leek meer zinvol om allereerst te inventariseren welke enzymen eventueel een rol spelen tijdens de rijping en veroudering. Daarna kan dan meer specifiek gekeken worden naar het effect van calcium op de celwandstructuur en de werking van de celwandafbrekende enzymen.

## **B. Werkzaamheden 1992**

### **Aanpak**

#### Celwandhydrolases

De experimenten met de detectie van celwandafbrekende enzymen uit appelweefsel worden voortgezet in 1992.

Concreet betekent dit dat de extractie en zuivering van exo-PG wordt geoptimaliseerd. Uit eigen resultaten en uit literatuurgegevens lijkt de exo-PG activiteit bij appels laag te zijn. Zeker wanneer de activiteiten vergeleken worden met andere produkten welke exo-PG bevatten (tomaat, perzik). Aangezien niet bekend is welke activiteit minimaal nodig is om de celwand voldoende af te breken mag niet geconcludeerd worden dat de schijnbaar lage activiteit bij appels geen rol speelt. Om veranderingen in deze lage PG-activiteit te kunnen aantonen is een meer gevoelige methode wenselijk. In principe is dit mogelijk door de momenteel gebruikte bepalingmethode te optimaliseren. Hiertoe zal getracht worden de fluorescentie van een van de reactieprodukten te meten.



Uitgaande van een artikel van Castaldo et al. (1989) zal het enzym pectinemethylesterase (PME) uit de celwanden van Elstar appels worden geïsoleerd. Naast PG is PME een belangrijke kandidaat voor de celwandafbraak bij appels. Het is bekend dat dit enzym in redelijke hoeveelheden voorkomt in appelweefsel. Het is echter nog niet bekend hoe het verloop is in de activiteit en/of kwantiteit van dit enzym tijdens de rijping en veroudering. Hetzelfde geldt overigens voor exo-PG.

Onderzoek naar de relatie tussen veranderingen in activiteit van deze celwandhydrolases en een aantal bij de rijping en veroudering optredende relevante kwaliteitskenmerken zal plaatsvinden met fruit afkomstig uit een samenwerkingsproject met Dr P.A.M. Claassen (ATO): gedurende het bewaarseizoen '91-'92 wordt een partij appels van het ras Elstar bewaard bij 20 graden celcius onder atmosferische gascondities en een partij onder optimale CA-condities (laag zuurstof en hoog kooldioxide), beide bij een hoge relatieve luchtvochtigheid. Regelmatig wordt gemonsterd waarbij zowel respiratie-, ethyleen- als stevigheidsmetingen verricht worden. Een deel van de monsters wordt gevriesdroogd. Aan het gevriesdroogde materiaal kunnen vervolgens de enzymextracties en -bepalingen verricht worden.

#### Aantonen celwandafbrekende enzymen met DNA-probes

Naast een enzymatische aanpak kan een moleculair biologische aanpak additionele informatie verschaffen omtrent de rol van polygalacturonases en pectine methylesterases tijdens de rijping. Alvorens deze enzymen actief worden, stijgt namelijk het messenger RNA coderend voor deze enzymen. Deze toename kan gedetecteerd en gekwantificeerd worden. Binnen het ATO zijn reeds specifieke oligonucleotiden en DNA probes beschikbaar welke benut kunnen worden voor de detectie van PME en endo-PG genen (Dr K. Recourt, ATO). Met behulp van de PCR (Poly Chain Reaction) techniek en Northern blotting technieken kan met deze PME en PG-probes de aanwezigheid van beide enzymen tijdens bewaring van appels als het ware voorspeld worden.

#### NMR

De relaxatiemetingen die werden verricht aan kurkboommonsters zullen nu worden herhaald met hele vruchten, gebruik makend van een NMR-instrument waarin grotere objecten passen. De metingen zullen worden verricht aan Elstar en Cox appels met een verschillende hardheid en meligheid. Gekoppeld aan de NMR metingen worden bepalingen gedaan met betrekking tot de stevigheid (penetrometer, instron), vochtuittrekking (in combinatie met de instronmeting) en de ethyleenproductie. Verwacht kan worden dat het relaxatiesignaal gemeten aan hele vruchten minstens zo duidelijk zal zijn als bij de kurkboommonsters.

Tevens zijn er plannen om dit jaar relaxatiemetingen te verrichten bij de vakgroep Moleculaire Fysica van de LUW. Hierbij zal gebruik worden gemaakt van een zeer vereenvoudigde (goedkopere) labopstelling waarmee intacte vruchten kunnen worden gemeten.

### Calciuminfiltratie

Stukjes appelweefsel worden geïnfilteerd met calcium waarbij gekeken zal worden naar het effect op de stevigheid en de hoeveelheid uittredend vocht, gemeten met de Instron druk-trekbank. De toediening van calcium vindt plaats bij verschillende pH's zodat gekeken kan worden naar de interactie tussen deze twee factoren.

### **Fasering**

kwartaal 1:

- extractie, (gedeeltelijke) opzuivering en assay van exo-polygalacturonase.
- Aantonen van PG en PME via DNA-probes

kwartaal 2:

- extractie, (gedeeltelijke) opzuivering en assay van exo-polygalacturonase en pectinemethylesterase

kwartaal 3:

- onderzoek naar het verband tussen enzymactiviteit en het ontwikkelingsstadium aan gevriesdroogde monsters

kwartaal 4:

- afhankelijk van de resultaten in het 3<sup>e</sup> kwartaal zullen enzymbepalingen aan vers weefsel (oogst '92) verricht worden. Dit kan het geval zijn wanneer zou blijken dat de enzymbepalingen aan de gevriesdroogde monsters problemen opleveren.
- effect van calciuminfiltratie van appelweefsel op de stevigheid

### **Literatuur**

- Bartley, I.M. (1978) *Phytochemistry* 17, 213-216  
Castaldo, D. et al. (1989) *J. Food Science* 54, 653-673

## **KWALITEIT TOMAAT**

Projectnummers: 2.07.10, 2.07.11 en 2.07.13

### **Stevigheidsonderzoek Tomaat**

Dr. H.C.P.M. van der Valk

#### **A. Verslag over 1991**

##### **Probleemstelling**

Verlies van stevigheid is een belangrijk kwaliteitsprobleem bij tomaten. De enzymen die de celwanden afbreken spelen een belangrijke rol bij de verzachting. De regulatie van de activiteit van deze enzymen is echter onbekend. Ook de bijdrage van de turgor aan de vruchtstevigheid is niet duidelijk. Als deze factor van betekenis zou zijn is het wellicht mogelijk de stevigheid met teelmaatregelen te verbeteren.

##### **Doelstelling**

Het doel van het onderzoek is het bepalen van de rol van de turgor bij de opbouw en het verloop van de vruchtstevigheid. Daarnaast wordt de regulatie van de activiteit van het pectine-afbrekende enzym onderzocht.

##### **Fasering**

Eerste kwartaal:

- Bepalen van de geleidbaarheid en osmotische potentiaal van harde en zachte tomaten. Meten van turgorpotentiaal.

Tweede kwartaal:

- Meten van turgorpotentiaal.

Derde kwartaal:

- Inventarisatie PG-activiteit in EC-vruchten. Isolatie van convertor.

Vierde kwartaal:

- Karakterisering van convertor.

##### **Verslag van de werkzaamheden**

Tomaten met verschil in stevigheid zijn gegeneerd op het PTG door het aanbrengen van grote verschillen in de zoutconcentratie van de voedingsoplossing. De verwachting was dat dit zou resulteren in vruchten die niet alleen verschillen in stevigheid, maar ook in osmotische potentiaal en daardoor ook in

turgorpotentiaal. Tegen de verwachting in zijn echter geen toenames gevonden van geleidbaarheids- en osmotische waarden van het celsap van pericarp, tussenschotten en gelei. Integendeel, vruchten verkregen van planten die bij de hoogste EC-waarde waren opgekweekt vertoonden zelfs iets lagere osmotische en geleidbaarheidswaarden. Dit was ook in 1990 gevonden.

Vervolgens is onderzocht of deze waarden tijdens de rijping/opslag (dus verzachting) veranderen. Zowel in het celsap van het pericarp, de tussenschotten als de gelei van vruchten in kleurstadium 1, 4 en 10 is een geringe daling van de geleidbaarheidswaarde gemeten. De osmotische waarden bleven uiterst constant tijdens de verzachting. Dit kan verklaard worden doordat enerzijds de organische zuren tijdens de rijping worden verademd, terwijl anderzijds de polysacchariden van de celwanden massaal worden afgebroken tot laag-moleculaire suikers, die de osmotische waarde van het celsap konstant houden. Tijdens de rijping bleef de geleidbaarheid van de gelei consequent hoger dan die van de pericarp en tussenschot-celsappen. De osmotische waarden zijn echter exact gelijk aan die van de pericarp- en tussenschotcellen.

Dit betekent dat de osmotische potentiaal van harde, groene (stadium 1) tomaten gelijk is aan die van zachte rode (stadium 10) tomaten. Dit is in overeenstemming met de waarnemingen van 1990 aan de celsappen van de vruchten van de "EC-tomaten". Hierbij werden ook nauwelijks of geen osmotische potentiaalverschillen aangetroffen tussen celsap van harde (EC=7) en zachte (EC=1) vruchten.

Uit deze waarnemingen valt echter nog niet te concluderen dat de turgorpotentiaal in harde en zachte vruchten hetzelfde is en daardoor niet van belang voor de stevigheid. De waterpotentiaal en de matrixpotentiaal kunnen immers nog verschillen.

Om een uitspraak te kunnen doen over het aandeel van de turgorpotentiaal in de verzachting is het nodig deze direct te meten. Het meten van de turgor is het afgelopen seizoen nog niet mogelijk geweest door vertraging bij de bouw en aflevering van de apparatuur in Duitsland. Inmiddels zijn alle benodigdheden op het Instituut aanwezig en aan het begin van het seizoen 1992 zal de opstelling operationeel zijn.

In de vruchten, gekweekt bij de verschillende EC-waarden, is daarnaast de polygalacturonase (PG)-activiteit bepaald. Het doel hiervan is om te onderzoeken of de stevigheidsverschillen in de vruchten die met de EC-proeven zijn gecreëerd gecorreleerd zijn met de celwandafbrekende enzymcapaciteit. De vruchten, gekweekt bij de laagste EC-waarde (de zachtste vruchten), vertoonden de snelste toename van PG-activiteit. Dit resulteerde in het eerder bereiken van de maximale PG-activiteit in deze vruchten dan in vruchten die zijn opgegroeid bij hoge EC-waarde (harde vruchten). De zachte vruchten hadden ook een kortere houdbaarheid dan de harde vruchten. Er is dus een positieve correlatie tussen de beginstevigheid (en houdbaarheid) en het moment van het bereiken van de maximale PG-activiteit in deze vruchten. De experimenten zijn herhaald en leverden exact dezelfde waarden voor de verschillende EC-vruchten.

Om te onderzoeken of het mogelijk is vruchten te krijgen met grotere stevigheidsverschillen zijn tomaten onderzocht van planten die zijn opgegroeid in

klimaatkamers van de Vakgroep Tuinbouwplantenteelt van de LUW. De tomaten zijn in diverse stadia van de ontwikkeling geogost, ingedeeld op kleurstadium en de beginstevigheid is gemeten. Het kleurstadium werd als uitgroei-parameter genomen omdat de tijd na vruchtzetting geen goede maat is door vertraagde uitgroei bij lagere temperatuur. Vruchten geteeld bij 23 °C waren in alle stadia (groen t/m. volledig doorgekleurd) duidelijk zachter dan vruchten gekweekt bij 17 °C. Er zijn ook vruchten gemeten die afkomstig waren van temperatuur-experimenten op het PTG. Ook hier bleek dat vruchten geteeld bij 27 °C in de kleurstadia 5, 7 en 9 zachter waren dan vruchten in hetzelfde kleurstadium gekweekt bij 19 °C. De verschillen in stevigheid zijn voor groene tomaten in dezelfde orde van grootte als de vruchten verkregen uit de EC-proeven. Echter, het is met deze methode wel mogelijk grotere stevigheidsverschillen te verkrijgen in de wat verder in de rijpingsfase verkerende vruchten (vanaf stadium 6). De kleur van de vruchten is dus geen goed indicator voor het bepalen van het stadium van de verzachting. Kleuring en verzachting lijken ongekoppelde fenomenen.

## B. Werkzaamheden 1992

De bijdrage van de turgor aan de vruchtstevigheid wordt bepaald. Als er een invloed is wordt onderzocht hoe verschillen in turgor zouden kunnen optreden. De convertor wordt gekarakteriseerd en de rol van de convertor bij de verzachting wordt onderzocht door manipulatie van de verzachting in een *in vitro* systeem.

### Fasering

Eerste kwartaal:

- Karakterisering van de convertor. Optimaliseren van de turgormetingen.

Tweede kwartaal:

- Manipulatie van verzachting en bepalen van de rol van de convertor hierbij.
- Turgormetingen aan EC-vruchten.

Derde en vierde kwartaal:

- Turgorbepalingen aan EC-vruchten en aan *in vitro* verzachtende weefsels.

## **Houdbaarheidsvoorspellend model Tomaat**

### **A. Verslag over 1991**

#### **Probleemstelling**

Het is tot nu toe niet mogelijk een uitspraak te doen over de houdbaarheid van een op de veiling aangevoerde partij tomaten. Kleur en stevigheid bij aanvoer zijn geen goede verklarende parameters. De houdbaarheid van partijen varieert tijdens het seizoen.

#### **Doel van het onderzoek**

Het doel van het onderzoek is het bouwen van een houdbaarheidsvoorspellend model voor partijen tomaten, gebaseerd op de stevigheid van de vruchten op het moment van aanvoer op de veiling, dat wel opgaat voor een heel seizoen.

#### **Fasering**

1991: Vanaf begin maart tot begin december zijn tomaten bemonsterd op de veiling. De beginstevigheid en houdbaarheid is bepaald. In december is begonnen met de statistische verwerking van de gegevens.

#### **Verslag van de werkzaamheden**

De laatste bemonstering op de veiling vond plaats op 2 december 1991 en de laatste tomaat werd rond kerstmis te zacht bevonden, waarmee de experimenten werden afgesloten. De gegevens zijn ingevoerd in de computer en zodanig bewerkt dat statistische berekeningen met GENSTAT kunnen worden uitgevoerd. De weersgegevens zijn van het PTG verkregen.

Er is in eerste instantie onderzocht of een seizoensafhankelijke factor, zoals vorig jaar was aangetoond, ook dit jaar optreedt. Het is inderdaad mogelijk eenzelfde model op te stellen. De richtingscoëfficiënt van de vergelijking  $ax+b$  ( $a$ ) verschilt nauwelijks van die van vorig jaar. Het verloop van het intercept (de factor  $b$ ) staat weergegeven in de grafiek.

De waarde  $b$  is hoog in het voorjaar en vroege zomer. Dit betekent een relatief goede houdbaarheid in deze periode. De factor wordt kleiner in de zomer en het najaar. De houdbaarheid van de tomaat neemt af. Dit komt overeen met de waarnemingen van het vorige seizoen.

Er is dit seizoen geen verbeterde houdbaarheid gevonden in het late seizoen, zoals in het najaar van 1989. Interessant is het oplopen van de factor  $b$  gedurende de maand maart. Waarnemingen zo vroeg in het seizoen waren bij het vorige model niet gedaan. Het oplopen van de factor  $b$  en daarmee de houdbaarheid van de tomaat aan het eind van het seizoen, zoals voorgesteld in het model van vorig jaar trad dit seizoen niet op.

Volgens de veilingmeester kan dit niet komen doordat bijvoorbeeld veel koude-teelt of heteluchtters in deze periode relatief veel aanvoeren. Deze zouden tot

resp. oktober, september aanvoeren.

De opvallende dalen in de waarden van de factor b worden door de afdeling statistiek gecorreleerd met de weergegevens. De eerste conclusie is dat er een sterke correlatie is tussen de lage waarden van de factor b en dagen met hoge maximum temperaturen voor de oogst. Een blok van 5 warme dagen 20 dagen voor de aanvoer is sterk gecorreleerd met een lagere factor b. Ook een blok warme dagen 5 dagen voor de aanvoer is gecorreleerd met lagere b-waarden.

Het percentage verklarende variantie van dit model is slechts 58%. Het model gebaseerd op gegevens van 1990 heeft een verklarend percentage van 76%. Er wordt onderzocht waardoor dit verschil wordt veroorzaakt.

De tweede versie van de tomatometer, gebruikt in de tweede fase van het onderzoek, leverde dezelfde waarden voor de indrukking als de eerste versie. Het apparaat is robuust en betrouwbaar. Het meet de 15 tomaten onder laboratorium-omstandigheden 30% sneller dan de eerste versie (gemiddeld 5 min.).

De invloed van de temperatuur (tijdens het meten) op de indrukking is onderzocht. De temperatuur van de vrucht bleek de indrukking niet te beïnvloeden.

De vruchten zijn overnacht bewaard bij 15 °C en vervolgens gemeten; drie uur bij 18 °C weggezet, de inwendige temperatuur en stevigheid gemeten, enzovoort. Als controle voor maximale verzachting tijdens de meetperiode zijn tomaten gedurende 9 uur bij 28 °C geplaatst en gemeten.

Voor de praktijk (veiling) is het dus geen probleem als de stevigheid van de tomaten gemeten moet worden bij wisselende temperaturen, zoals deze voorkomen in de aanvoerhal gedurende het seizoen.

De eindstevigheid van de tomaten is ook met de tomatometer bepaald. Dit is op drie verschillende dagen gedaan.

De indrukkingen waren	1,97 mm (SD: 0,18, n=37)	6 november 1991
	1,97 mm (SD: 0,15, n=25)	8 „ „
	1,87 mm (SD: 0,29, n=24)	13 „ „

Het moment waarop de tomaten te zacht worden bevonden is sterk gecorreleerd met een vaste waarde voor de indrukking, gemeten met de tomatometer.

Gedurende het seizoen zijn nauwelijks zwelscheurtjes aangetroffen. In augustus is een periode geweest waarin enkele gebarsten vruchten voorkwamen, welke uit de proef zijn verwijderd. Het hele seizoen kwamen goudspikkels voor. We hebben niet de indruk dat dit de houdbaarheid (bepaald door de eindstevigheid) beïnvloedde.

## B. Werkzaamheden 1992

De gegevens van het volledige seizoen 1991 worden statistisch verwerkt en gebruikt voor het bouwen van het houdbaarheidsvoorspellings-model. Het model, voorgesteld naar aanleiding van de gegevens van 1990, wordt gevalideerd. Het meten van beginstevigheid wordt geïntroduceerd op de veiling en dit wordt wetenschappelijk begeleid. Ook wordt daarbij het houdbaarheidsmodel gebruikt en dit wordt begeleid.

## **Fasering**

1992:

Eerste kwartaal:

- Afronding statistische bewerkingen, en schrijven van het rapport

Tweede kwartaal:

- Begeleiding introductie stevigheidsmeting op de veiling

Derde kwartaal:

- Begeleiding introductie houdbaarheidsmodel op de veiling

Vierde kwartaal:

- Begeleiding/validering houdbaarheidsmodel op de veiling



## **Meligheid Tomaat**

### **A. Verslag over 1991**

#### **Probleemstelling**

Meligheid is een veel voorkomend kwaliteitsprobleem bij vleestomaten. Het verschijnsel wordt sensorisch waargenomen in de kwaliteitsbeoordeling. Verder is er niets over bekend.

#### **Doel van het onderzoek**

Het verschijnsel meligheid moet allereerst nauwkeurig worden omschreven en fysiologisch onderzoek moet aanknopingspunten geven voor verbeteringen van teeltomstandigheden en/of bewaarcondities. Daarnaast dient een objectieve methode ontwikkeld te worden om meligheid te scoren (in het laboratorium en in de praktijk).

#### **Fasering**

Eerste en tweede kwartaal:

- Lichtmicroscopisch onderzoek naar de structuur van melige en niet-melig weefsel/middenlamel. Fysiologisch onderzoek naar omstandigheden in met name de apoplast/celwand die mogelijk een regulerende functie hebben bij veranderingen die een rol spelen bij het melig worden van tomateweefsel.

Derde kwartaal:

- Biochemisch onderzoek naar de samenstelling van de celwanden van melige en niet-melige tomaten.

#### **Verslag van de werkzaamheden**

Er zijn enkele verbeteringen/veranderingen in de kleuringsmethode voor het cellulose van de celwanden aangebracht. De pH tijdens de kleuring en de ouderdom van de kleuroplossing bleek erg kritisch. De oplossing moet ook in het donker bewaard worden. Onder het microscoop zijn cellen uit melig weefsel goed van cellen uit niet-melig weefsel te onderscheiden. De verdere ontwikkeling van een toets gebaseerd op celwandkeuring wordt vooral uitgevoerd door het Proefstation.

Uit het microscopisch onderzoek is gebleken dat niet de middenlamel wordt afgebroken, maar dat juist de primaire celwand "gaten" vertoont. De middenlamel is microscopisch duidelijk zichtbaar aanwezig, maar over de kwaliteit en samenstelling is nog niets bekend.

Weefsels van melige en niet-melige tomaten zijn gefixeerd voor electronen-microscopisch onderzoek. De optimale inbedmethoden zijn ontwikkeld.

Er is een methode ontwikkeld om de pH in de apoplast van tomaten te meten. De pH's van groene en rode, melige en niet-melige vruchten verschilden niet

significant. Er zijn geen aanwijzingen dat pH-daling een rol zou spelen bij het melig worden van tomatenweefsel. Cellen uit weefsels van groene tomaten van melige en niet-melige cultivars verschilden op dezelfde manier als cellen van rode weefsels. Dit is een aanwijzing voor de hypothese dat meligheid niet een in een later stadium van de rijping van de tomaat optredend verschijnsel is, maar dat meligheid al in het groene stadium is aangelegd. Meligheid is dan echter nog niet goed sensorisch waar te nemen.

Biochemisch onderzoek naar de samenstelling van celwanden van melige en niet-melige cultivars heeft geen kwantitatieve verschillen opgeleverd. Achteraf bleek echter dat de niet-melige cultivar in de experimentele periode tijdelijk meligheidsverschijnselen vertoonde. De experimenten moeten worden herhaald.

## B. Publikaties

Verslag afstudeeropdracht C.J.M. Gielesen.

## C. Werkzaamheden 1992

De samenstelling van de celwanden van melige en niet-melige cellen wordt bepaald (kwantitatief en kwalitatief). Melige en niet-melige weefsels worden submicroscopisch onderzocht.

Eerste kwartaal: Biochemisch onderzoek celwanden.

Tweede kwartaal: Electronon-microscopisch onderzoek.

Optimaliseren van de meligheidstoets

## EFFECTEN VAN LICHT EN LAGE TEMPERATUUR TIJDENS BEWA- RING, INCLUSIEF CHLOROFYLFLUORESCENTIE, VAN VOEDINGS- TUINBOUWPRODUCTEN

Projectnummer: 1.02.12 en 1.04.12

Periode: 1990-1994

O. van Kooten

### A. Verslag over 1991

#### Probleemstelling

Het project probeert antwoord te vinden op de vraag "Wat veroorzaakt lage-temperatuurbederf bij komkommers en paprika's "en de vraag "Is het mogelijk om op non-destructieve wijze de houdbaarheid van komkommers en eventueel andere voedingstuinbouwproducten te voorspellen".

#### Doelstelling

Door lage-temperatuurbederf te doorgronden wordt het mogelijk om vast te stellen hoe de initiatoren van het proces gedetecteerd kunnen worden. Daarmee wordt het mogelijk om een koeling te creëren die reageert op de toestand van het produkt. Door de temperatuur te variëren tijdens bewaring kan een langere houdbaarheid verkregen worden. Als de houdbaarheid van produkten middels metingen op de veiling aangegeven kan worden, dan kan de kwaliteit beter ingeschat worden. Dit levert een hogere prijs voor kwalitatief betere produkten.

#### Fasering

- 1991/1992: Koude bewaring en reversibiliteit lage-temperatuurbederf komkommer en groene paprika. Biofysische karakterisering koude schade. Houdbaarheid komkommer en peer voorspelling met behulp van chlorofyl-fluorescentie metingen.
- 1992/1994: Bestudering van relatie tussen membraansamenstelling en gevoeligheid voor temperatuur-stress. Effecten van temperatuur, licht en CA-bewaring (zuurstofspanning) op membraansamenstelling en -turnover.
- 1991- Nauwkeurige bestudering kouschade komkommer en groene paprika. Houdbaarheidsvoorspelling komkommer en peer. Fotosynthese en ademhaling komkommer in relatie tot temperatuur en afleving.

## Verslag van de werkzaamheden

Aan komkommers (Jessica) en groene paprika's (Lokas en Medeo) is bij 6 temperaturen (2,4,6,8,10 en 12°C) naar de respons van de variabele fluorescentie in de tijd gekeken en vergeleken met de hoeveelheid lage temperatuurbederf. Hieruit volgt dat de variabele fluorescentie bij komkommers onder 6°C inzakt voordat er lage-temperatuurbederf is geïnitieerd. Bij 6 en 8°C is de afname van het fluorescentie signaal wel gecorreleerd met het voorkomen van LTB verschijnselen in de nabewaring. Er zijn dus twee verschillende processen die de variabele fluorescentie doen afnemen. Bij komkommer vindt er onder 6°C een dissociatie plaats tussen het watersplitsende eiwit complex en het fotosysteem 2 reactiecentrum. Dit proces treedt op binnen een dag en is maximaal binnen 4 dagen. Nadat deze afname maximaal is, is zij niet meer reversibel. Als de komkommers echter binnen 2 dagen weer bij 20°C gelegd worden dan kan de variabele fluorescentie zich wel weer herstellen. Dit proces blijkt echter niet rechtstreeks met LTB verschijnselen gekoppeld te zijn omdat LTB nauwelijks geconstateerd wordt na 5 dagen bij 2°C en één week nabewaring bij 20°C. De daling van de variabele fluorescentie bij 6 en 8°C wordt waarschijnlijk door veranderingen in het membraan veroorzaakt. Wij vermoeden dat de afname in onverzadigde vetzuurketens een verhoging van de membraanviscositeit tot gevolg heeft. Dit zou leiden tot een verminderde interactie tussen het licht-invangende eiwit-pigmentcomplex en het reactiecentrum, wat direct een daling in de variabele fluorescentie tot gevolg heeft. Dit proces lijkt goed gekoppeld met het optreden van infecties (zowel schimmel als rot) en LTB in de nabewaringsfase. Hetzelfde zien wij in de paprika experimenten. Zowel bij Lokas als bij Medeo zien wij alleen een geringe afname (wel significant!) in de variabele fluorescentie bij 2 en bij 4°C. Alleen bij deze temperaturen treden infectie en LTB verschijnselen op. Hierbij is bij 4°C nog sprake van een zekere reversibiliteit na 5 dagen bij 20°C, maar bij 2°C niet meer. De voorlopige conclusie die wij hier uit trekken is dat het proces van LTB gecorreleerd is met de variabele fluorescentie bij komkommer boven 5°C en bij groene paprika boven 2°C. De oorzaak van deze correlatie wordt gezocht in veranderingen in de vetzuursamenstelling van het fotosynthese membraan als gevolg van zuurstof radicalen gevormd door de ademhaling dan wel de fotosystemen. Het resultaat hiervan zou het op gang komen zijn van een proces dat wij lipide peroxidatie noemen en resulteert in de typische verschijnselen die als LTB gekarakteriseerd worden. Lipide peroxidatie moet gepaard gaan met de emissie van het gas ethaan en met een duidelijke afname van het vitamine C gehalte van het weefsel. De afname in variabele chlorofyl-fluorescentie onder 6°C bij komkommers is niet direct gekoppeld aan membraan veranderingen en is dus minder bruikbaar om te gebruiken om de koeling tijdens bewaring aan te sturen.

Conference peren zijn bij 20°C bewaard en de veroudering is gevolgd m.b.v. de kleurverandering. De variabele chlorofyl-fluorescentie nam af gedurende de bewaring. Er was echter geen duidelijke correlatie tussen de kleurverandering in de tijd en de afname van de variabele fluorescentie. De verandering in kwaliteit van de peer is niet goed te relateren aan de verandering in kleur. Om de afname in kwaliteit te kunnen correleren met de afname in variabele fluorescentie

hebben we eerst een betere definiëring van de kwaliteit nodig. Een relatie met sensorisch onderzoek lijkt hier meer voor de hand te liggen.

Van de komkommer zijn bij 6 rassen (Jessica, Bronco, Ventura, Sortena, Mustang en Allure) 4 keer bewaarproeven gedaan in het afgelopen jaar. De afname in fotosynthese efficiëntie is lineair in de tijd. De afname in kleur gaat minder geleidelijk. De uitkomsten zijn tot nu toe nog niet duidelijk genoeg om een voorspelling te kunnen doen over de houdbaarheid van een komkommer bij kamertemperatuur. Er zal eerst een diepgaand onderzoek gedaan moeten worden naar het herstel van de fotosynthese efficiëntie na een verandering in lichtintensiteit en daarnaast zal in overleg met het proefstation komkommers verkregen moeten worden waarbij middels de teelt een duidelijk verschil in houdbaarheid is gecreëerd (bv teelt bij verschillende EC waarden of onder beschaduwing).

### **Confrontatie met de fasering**

Wij hadden gehoopt aan het eind van afgelopen jaar voldoende gegevens te hebben om aan een duidelijke praktijkimplementatie te beginnen voor de houdbaarheidsvoorspelling bij de komkommer. Dit valt echter tegen. Er zal eerst gezocht moeten worden naar de meer fundamentele processen die de fotosynthese remmen tijdens veroudering. Er is verder ook een kleine achterstand opgelopen in de dataverwerking van de kouschadeproeven. Dit is mede het gevolg van de extra energie die is gestoken in het chlorofyl-fluorescentie onderzoek bij appels en bij broccoli. Wij verwachten hierop in te lopen in de eerste helft van 1992.

### **B. Publikaties**

- O. van Kooten (1991) 'Fluorescentie voorspelt houdbaarheid' Groente en Fruit/vakdeel glasgroente, 1 (25): 25. (Vakblad)
- O. van Kooten, M. Mensink und E. Otma (1991) 'Stress, Chlorophyll-Fluoreszenz, Ermittlungsmethoden' Gärtnerbörse Gartenwelt, 32: 1548-1549 (Vakblad)
- O. van Kooten, M. Mensink, E. Otma, A. van Schaik en S. Schouten "Chilling damage in cucumbers detected by chlorophyll fluorescence." (poster)

### **C. Werkzaamheden 1992**

#### **Aanpak**

Voor de LTB experimenten wordt nu gewerkt aan de ontwikkeling van een kleine meetkop die continu op het produkt geplaatst kan worden. Dit apparaat zal dan op ieder gewenst moment de variabele fluorescentie meten en doorgeven aan de stuurcomputer van onze geavanceerde koelcel. Zodra het prototype goed werkt zullen er een aantal van geproduceerd worden en zal er een experiment met komkommer van start gaan. Daarnaast zullen er metingen van ethaan-

emissie plaatsvinden bij komkommers die op verschillende temperaturen bewaard worden. Het gaat hierbij vooral om het moment waarop de ethaan emissie ontstaat. Waarschijnlijk is dit pas in de nabewaring als de respiratie toeneemt en daarmee ook het aantal zuurstofradikalen in het weefsel. Daarnaast zal het verloop van de vitamine C concentratie in het weefsel gevolgd worden. Als dit samenhangt met de lipide peroxidatie kan dit een goede maat worden om de kou-schade bij witlof te bestuderen. Hierbij kan geen chlorofyl-fluorescentie gebruikt worden omdat witlof nu eenmaal geen chlorofyl bevat.

In het kader van de houdbaarheidsvoorspelling bij komkommer zal er een uitgebreid onderzoek gedaan worden naar de regulatie van de fotosynthese gedurende de senescentie. Hieruit moet duidelijk worden of de chlorofyl-fluorescentie geschikt is als techniek om de houdbaarheid te kunnen voorspellen. Als dit positief beantwoord wordt dan zal er verder onderzoek plaatsvinden, waarbij samenwerking met het proefstation gezocht zal worden. Daarnaast zullen er metingen plaatsvinden aan spruitkool, broccoli en tomaten om ook hier de relatie met houdbaarheid te toetsen.

### **Fasering**

In de eerste 6 maanden van het jaar zullen LTB experimenten met komkommers gedaan worden gezamenlijk met ethaan en vitamine C metingen. Als deze experimenten de hypothesen bevestigen dan kunnen er in de tweede helft van het jaar LTB experimenten gedaan worden met groene paprika en witlof. In de tweede helft van het jaar kunnen dan ook de temperatuurcontrolemetingen met de *in situ* metingen van de variabele chlorofyl-fluorescentie in de koelcel. Deze metingen moeten er vooral op gericht zijn om vast te kunnen stellen in hoeverre de houdbaarheid verlengd kan worden door de temperatuur te variëren tijdens de bewaring.

In de eerste 6 maanden zullen er ook oriënterende metingen aan spruitkool en tomaat gedaan worden. De fotosynthese regulatie van de komkommer in relatie tot de senescentie zal ook in de eerste 6 maanden onderzocht worden. Indien hieruit een duidelijke relatie komt kan er in de tweede helft van het jaar gericht gezocht worden naar een houdbaarheidsvoorspellende toets bij komkommers. Als dit niet het geval is dan kan er in de tweede helft van 1992 verder gegaan worden met spruitkool of tomaat of broccoli, al naar gelang één van deze produkten meer perspectief biedt.

### **Afwijking van de oorspronkelijke fasering**

We zitten redelijk binnen de oorspronkelijk voorgestelde fasering, al hadden wij oorspronkelijk gehoopt verder te zijn met de houdbaarheid van de komkommer. Met de LTB experimenten gaan we in 1992 al een stukje biochemie oppakken in de vorm van vitamine-C-bepalingen. Dit was oorspronkelijk pas in het derde jaar voorzien. Op basis van de huidige resultaten leek het ons verstandig om hier nu al mee te beginnen omdat dit uitsluitsel moet bieden of wij in het derde jaar naar de membraan samenstelling moeten gaan kijken dan wel een techniek ontwikkelen die op eenvoudige wijze het redox potentiaal van weefsel *in situ* meet.

## CLIMACTERISCHE VRUCHTEN EN CA BEWARING

Projectnummer: 6.02.04

P. Claassen

A. Verslag over de periode oct. 91 - feb. 92

### Doelstelling

Het uiteindelijke doel van dit onderzoek is een karakterisering van de fysiologische verschijnselen die optreden tijdens de afrijping van climacterische (appels) en niet-climacterische (paprika's) vruchten.

In eerste instantie is begonnen een aantal facetten van het climacterium te bestuderen. Het malaatmetabolisme staat hierin centraal. De achterliggende gedachte hierbij is het feit dat veranderingen in het malaatmetabolisme de climacterische CO<sub>2</sub> productie zouden kunnen bewerkstelligen en dat deze veranderingen van betekenis kunnen zijn voor de energiehuishouding van de cel en dus indirect een indicator zouden kunnen vormen voor het rijpingsproces.

### Strategie

Voor het genereren van geschikt materiaal worden appels bewaard onder verschillende condities die van invloed zijn op het tijdstip van het optreden van het climacterium. Diverse monsters worden geanalyseerd op de kwantitatieve samenstelling van organische zuren. In dezelfde monsters wordt de activiteit van de malaatoxiderende enzymen en enkele andere citroenzuurcyclus enzymen bepaald.

In de vorige periode zijn de ontwikkeling van extractieprocedures en diverse enzymassays aan de orde geweest.

In dit verslag worden de resultaten van de eerste bewaarproeven en de vorderingen met betrekking tot de analyse van de fractie organische zuren en discriminatie van de mitochondriële malaatoxiderende enzymen gepresenteerd.

### Resultaten

#### Bewaring van Elstar appelen

Methode:

Pluktijdstippen: 19 en 28 september 1991

Bewaarcondities: 20 °C, atmosferische luchtsamenstelling

1.5 °C, 5 % O<sub>2</sub> en 0.3 % CO<sub>2</sub> (CA)

Bemonstering: 2x15 appelen voor:

ademhaling, ethyleenproductie en stevigheid

2 x 10 appelen voor:

metabolieten en enzym analyse na vriesdrogen;  
mitochondriën isolatie na invriezen

Bewaring vindt plaats in duplo in 4 fietswielcontainers

Voor het accumuleren van CO<sub>2</sub> en ethyleen wordt een monster gedurende 1 tot 5 uur in een afgesloten exsiccator gedeponerd. Van de head space wordt in duplo een monster genomen dat gaschromatografisch geanalyseerd wordt. Als referentie wordt een luchtmonster of een ethyleenmonster met bekende samenstelling geïnjecteerd.

De stevigheid van de appels wordt bepaald aan de blos en aan de groene zijde met behulp van een penetrometer.

De resultaten van de bewaarproef (20 °C, lucht) zijn weergegeven in figuur 1.

Fig. 1 A

Ethyleen productie van appels tijdens de bewaring bij 20°C.

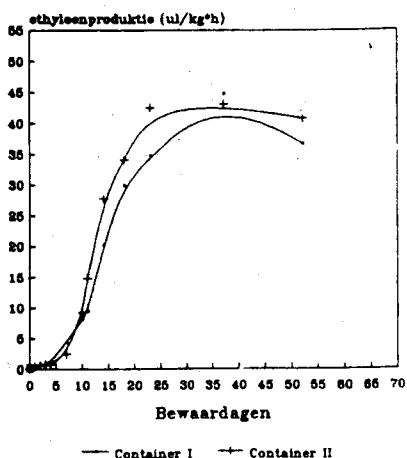
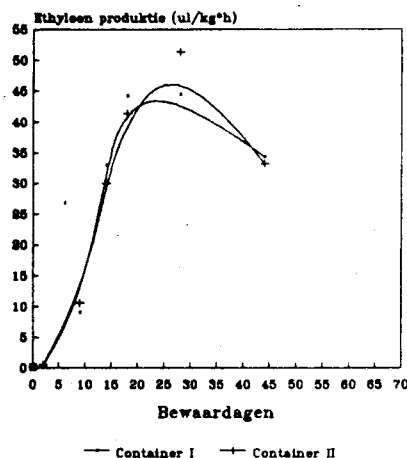


Fig. 1 B

Ethyleen productie van appels tijdens de bewaring bij 20°C.



Tweede pluktijdstip

Fig. 1 C

CO<sub>2</sub> productie van appels tijdens de bewaring bij 20°C.

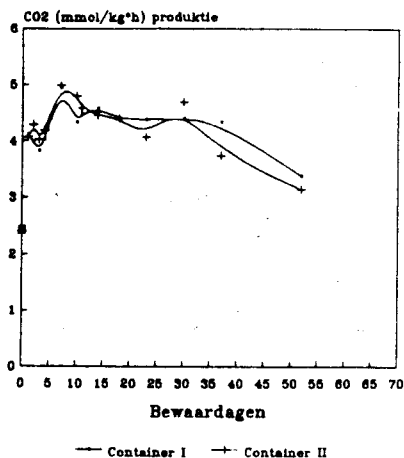
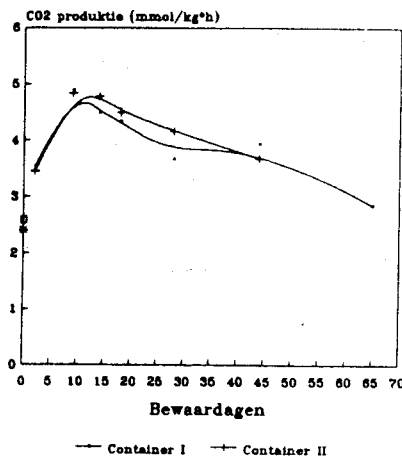


Fig. 1 D

CO<sub>2</sub> productie van appels tijdens de bewaring bij 20°C.

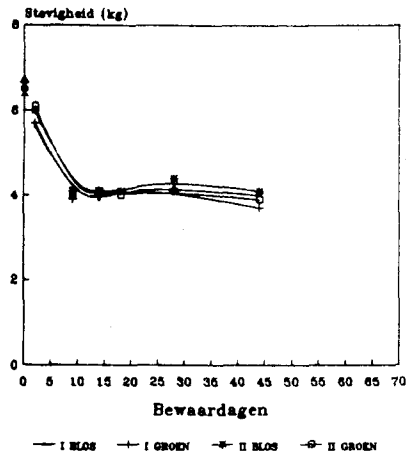


Tweede plukdatum



Fig. 1 E

Stevigheid van appels tijdens de bewaring bij 20°C



Tweede plukdatum

Fig. 1 F

Stevigheid van appels tijdens de bewaring bij 20°C

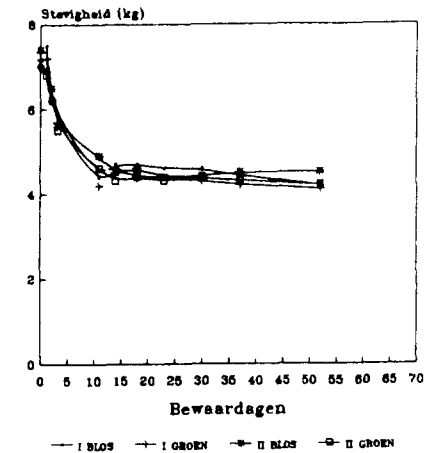


Fig. 1: Ethyleen (A,B) en CO<sub>2</sub> (C,D) productie en afname van de penetrometrische hardheid (E,F) van Elstar appels tijdens bewaring bij 20 °C en atmosferische condities.

A,C,E: pluktijdstip 19/9/91

B,D,F: pluktijdstip 28/9/91

--●-- en --+-- zijn duplo's in A,B,C, en D

--●-- en --\*--; --+-- en --□-- zijn duplo's in E en F.

### Organische zuren in appelweefsel

#### Methode:

Van gevriesdroogd appelweefsel wordt, na suspenderen in water, een monster geanalyseerd op de HPLC, die uitgerust is met een kolom voor de scheiding van organische zuren.

Tabel 1: Concentratie van organische zuren in Elstar appels voor en na bewaring gedurende 4 dagen bij 20 °C onder atmosferische condities.

	gehalte organische zuren (µg/g vers gewicht)	
	voor bewaring	na 4 dagen
oxaloacetaat	0.011	n.d. <sup>1)</sup>
2-ketoglutaraat	0.011	0.007
citraat	0.604	0.322
pyruvaat	0.118	0.055
malaat	79.600	70.100
succinaat	11.000	10.800
fumaraat	0.002	n.d.

1) n.d. is niet gedetecteerd

De concentratie van ascorbaat is eveneens bepaald in dezelfde monsters maar nog niet uitgedrukt in concentratie-eenheden. Hieronder volgen de concentraties ascorbaat in arbitraire eenheden:

- voor bewaring [ascorbaat] = 1016791
- na 4 dagen [ascorbaat] = 981603

#### Discriminatie van malaatoxiderende enzymen

De oxidatie van malaat in de mitochondriën kan gekatalyseerd worden door 2 verschillende enzymen: (1) het NAD-afhankelijke malaatdehydrogenase (NAD-MDH) of (2) het NAD-afhankelijke malaat enzym (NAD-ME). De MDH gekatalyseerde reactie kan, theoretisch, van de ME reactie onderscheiden worden op basis van het gevormde produkt: ofwel oxaloacetaat, ofwel pyruvaat. Vanwege het feit dat oxaloacetaat zeer instabiel is en omgezet wordt in een verbinding die met de HPLC niet te onderscheiden is van pyruvaat, wordt oxaloacetaat omgezet in 2-ketoglutaraat dat wel stabiel is.

#### Methode:

Reactieproducten, verkregen door incubatie van de enzymfractie van gevriesdroogd appelweefsel met malaat onder verschillende condities, worden geanalyseerd op de HPLC.

De eerste resultaten zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2: Oxidatie van malaat door appelextract bij pH 10 in aanwezigheid van  $MnSO_4$

	Reactiemix			
	pH;	$MnSO_4$	pH;	$MnSO_4$
	10	0	10	6 mM
mM				
[malaat] <sub>t=0</sub>		5.4		5.3
[malaat] <sub>t=30</sub>		3.0		4.5
[2-ketoglutaaraat] <sub>t=30</sub>		0.35		0.33
[pyruvaat] <sub>t=30</sub>		0		0.03
initiële mM NADH/min		0.58		0.72

Uit tabel 2 blijkt dat alleen in aanwezigheid van  $MnSO_4$  pyruvaat gevormd wordt. Dit duidt op participatie van het NAD-afhankelijke malaat enzym in de oxidatie van malaat. De gevormde hoeveelheid pyruvaat is echter extreem weinig en is, samen met de produktie van 2-ketoglutaaraat, verre van voldoende om de afname van malaat te verklaren. Verdere experimenten zijn dan ook nodig om deze methode geschikt te maken voor een accurate discriminatie tussen malaat-enzym en malaatdehydrogenase.

### Conclusie

De monsters uit de bewaarproef van Elstar appels bij 20 °C en atmosferische condities, (Fig. 1), vertegenwoordigen diverse pre-climacterische en climacterische stadia van de vrucht en zijn dus geschikt om fysiologische veranderingen op celniveau te bestuderen.

De ontwikkelde HPLC methode is klaar en biedt de mogelijkheid om de concentratie van diverse organische zuren zeer gevoelig (ng niveau) te bepalen.

De eerste aanzet tot het maken van een onderscheid tussen de mitochondriële malaatoxiderende enzymen, t.w. NAD malaatdehydrogenase en NAD malaat-enzym, is gemaakt. Tot dusver is de methode nog niet nauwkeurig genoeg om eenduidig de activiteit van malaatenzym vast te stellen.

## CA BEWARING VAN GROENTE EN FRUIT

Projectnummer: 1.01.15

Drs S.P. Schouten

### A. Verslag 1991

#### **Probleemstelling**

Kwaliteitsverlies van een kort of langdurig bewaard produkt is vaak erg groot door allerlei oorzaken. Beperking van de bewaarduur is het gevolg. Deze situatie kan in principe worden verbeterd door de toepassing van CA-condities in aanvulling op gekoelde opslag. Echter, de verschillende groente- en fruitsoorten stellen verschillende eisen met betrekking tot de gewenste veranderingen in lichtsamenstelling. Verder zijn er een aantal produkten, waarvan onvoldoende bekend is over hun reacties op CA-condities en de interacties met andere omgevingsfactoren.

Verder vindt de distributie van groente en fruit vaak plaats onder sub-optimale condities en zijn de schattingen van de gevolgen er van nauwelijks mogelijk.

#### **Doelstelling**

De doelstellingen van het onderzoek kunnen als volgt worden omschreven:

1. Verbetering van het kwaliteitsbehoud van langdurig te bewaren produkten
2. Verlenging van de afzetperioden van kort houdbare produkten
3. Ontwikkeling van kwaliteitsverliesmodellen

#### **Fasering**

De fasering geeft aan, dat in 1991/1992 experimenten zijn gepland met komkommers, appels, asperges, spruitkool, wortelen en witlofwortelen. Nagegaan moet worden onder welke combinaties van CA-condities en temperatuur het beste kwaliteitsbehoud gerealiseerd kan worden.

#### **Verslag van de werkzaamheden**

##### Inleiding

Het onderzoek, dat in het kader van dit project wordt verricht is tweeledig. Enerzijds wordt inventariserend onderzoek verricht met een aantal produkten. Hierbij gaat het om de praktische vraag naar mogelijkheden bestaande bewaarmethoden en om de distributiemethode te verbeteren (Radicchio rosso, komkommer, suikermais, waspeen, witlofwortel, asperge). Anderzijds wordt er onderzoek verricht met de bedoeling iets meer te weten te komen over de waargenomen

effecten (ethyleenhuishouding appelen en kool). Echter, ook bij dit laatste onderzoek spelen praktische vragen een belangrijke rol.

### Werkwijze

Onderzoek wordt uitgevoerd in kunststof containers, waarin de gewenste luchtsamenstelling wordt bereikt en gehandhaafd door een combinatie van de eigen ademhaling plus het bijmengen van de gewenste gassen. De beoordeling van de produkten na bepaalde achtereenvolgende bewaarperioden geschiedt door visuele beoordelingen van kleur, groei, parasitair bederf en afwijkingen. Verder worden instrumenteel bepaald: gewichtsverlies, refractie, ademhaling, ethyleenproductie en trekresultaat (witlof). In een aantal gevallen wordt ook de invloed van bewaarcondities op smaakaspecten vastgesteld.

### Resultaten

#### **Appel**

In onderzoek zijn genomen twee onderwerpen:

##### a. Ethyleen en CA-bewaring

Pre-climacterische vruchten van het ras Elstar werden opgeslagen in 1 en 5% zuurstof bij 0.5% koolzuur en 1.5°C. Als ethyleenconcentraties werden gekozen 0, 1, 10 en 100 ppm. Na 2, 5, 7 en 9 maanden opslag werden ethyleenproductie, ademhalingsintensiteit en stevigheid bepaald. De CO<sub>2</sub>- en ethyleenproductie waren lager in de bewaaratmosfeer zonder ethyleen. De vruchten bleven tevens steviger, ook na een uitstalperiode van 7 dagen bij 20°C (zie tabel 1).

In het nu lopende onderzoek wordt opnieuw aandacht besteed aan de interactie tussen zuurstof en ethyleen. Verder is ook de mogelijke interactie met het oogsttijdstip hieraan nog toegevoegd.

Tabel 1: De invloed van ethyleen in 1% en 3% zuurstof en 0.5% koolzuur na 5 maanden opslag bij 1.5°C op de kwaliteit van Elstar appelen

Bewaarcondities:		Productie:		Stevigheid in N.	
Zuurstof %	Ethyleen ul.kg/h	Ethyleen ul.kg/h	CO <sub>2</sub> ml.kg/h.	direct	na 7 dgn
3	0	0.62	0.901	63	47
3	1	0.78	3.102	53	46
1	0	0.52	0.007	68	57
1	1	0.56	0.252	65	48

##### **b. Circulatie in appel CA-cellen**

Het energieverbruik is hoog in CA-cellen, o.a. door het hoge circulatievoud. Dit kan worden verminderd door toepassing van een door TNO en ATO ontwikkeld

nieuw concept van de bouw van een CA-cel. Dit concept houdt in, dat de cel moet worden gebouwd zonder aflopend dak, maar moet worden voorzien van een vals plafond.

Op de veiling "Geldermalsen en Omstreken" zijn enkele exemplaren van dit nieuwe concept gerealiseerd en in het seizoen 1990/1991 bestond er de gelegenheid tot een vergelijking met het traditionele type cel. In samenwerking tussen ATO, TNO en de veiling Geldermalsen onder coördinatie van het CBT werd onderzoek verricht met financiële steun van NOVEM. TNO voerde bepalingen uit naar de temperatuur op verschillende plaatsen in de cel, terwijl ook het energieverbruik werd gemeten. ATO nam samen met de veiling de kwaliteitsbeoordeling voor haar rekening. Hiertoe werden op 9 plaatsen in de cel monsters van 8 herkomsten (6 Cox"s O.P. en 2 Schone van Boskoop) in de cellen gebracht. De bewaring werd voortgezet tot in februari.

De gemiddelde temperatuur was in beide cellen (waarin een luchtsamenstelling van 1.5%O<sub>2</sub> en <1%CO<sub>2</sub> werd gehandhaafd) exact gelijk 4.6°C, terwijl de temperatuurspreiding iets groter was in de nieuwe cel. Het energieverbruik was in de nieuwe cel veel lager. Kwaliteitsverschillen werden direct bij uitslag niet vastgesteld. Na de uitstalperiode van 2 weken bij 18°C bleek de hoeveelheid scald op vruchten uit de nieuwe cel aanzienlijk hoger dan op de vruchten uit de traditionele cel (zie Tabel 2). Een concept rapport van dit onderzoek is reeds opgesteld.

In verband met de door nachtvorst veroorzaakte schade aan de appels werd het geplande onderzoek voor het seizoen 1991/1992 uitgesteld.

Tabel 2: Gemiddelde invloed van het celtype op gemiddelde temperatuur, temperatuurverdeling en kwaliteit van appels resp. tijdens de bewaring, bij uitslag en na nabewaring.

Metingen	Cel A (gangbaar)	Cel B (nieuw)
Tijdens de bewaring:		
- Temperatuur	4.6°C	4.6°C
- T-spreiding	4.3 - 5.2	4.0 - 5.5
Bij uitslag:		
- Gewichtsverlies	2.75%	2.65%
- Rot	0.77%	0.60%
- Kleur 1-8)	2.37	2.40
- Stevigheid	6.06 kg	6.13 kg
Na uitstalling bij 18°C:		
- Rot	2.61%	3.00%
- Scald	5.1%	9.9%

## CA-bewaring asperges

Produkt van 1 bedrijf werd bewaard gedurende resp. 9 en 36 dagen bij 0-1°C en in een reeks oplopende (0-21%) CO<sub>2</sub>- en in een reeks dalende O<sub>2</sub>-spanningen. Het produkt werd na de genoemde bewaarduren beoordeeld op enkele uiterlijke kwaliteitskenmerken (bruin- en roodverkleuringen, schimmelgroei, koprot en uitgedroogd uiterlijk), welke visueel werden vastgesteld aan individuele stengels. Verder werd het gewichtsverlies vastgesteld.

Zwak positieve invloeden werden opgemerkt van een oplopende koolzuur (Zie fig 1) en/of dalende zuurstofspanning voor bruinverkleuring, uitgedroogd uiterlijk, schimmelgroei en koprot. De gegevens moeten nog verdere statistische analyse ondergaan.

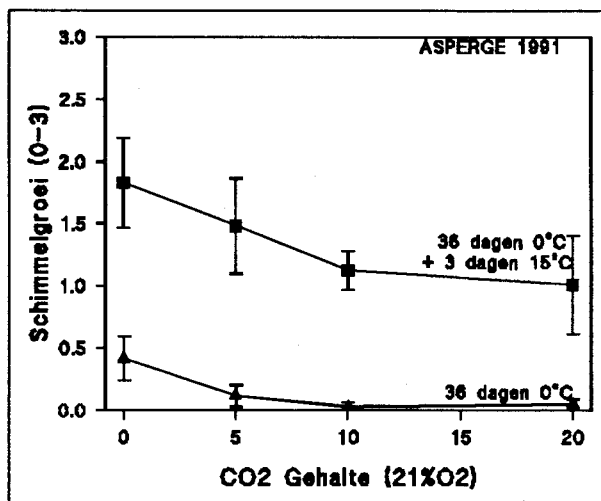


Fig 1: Invloed van de koolzuurconcentratie op schimmelgroei van asperges na verschillende bewaartijden.

## CA-bewaring suikermais

In opdracht van Farm Pack b.v. te Kapelle werden kolven van het ras Candle bewaard gedurende 3, 6 en 9 weken bij 0-1°C en in diverse luchtsamenstellingen. Deze betroffen een reeks CO<sub>2</sub> spanningen (0, 5 en 10%) en enkele zuurstofconcentraties (4, 2 en 1%). De kolven werden op genoemde tijdstippen individueel beoordeeld op de kleur van het omblad en het parasitaire bederf aan blad en zaden. Tevens werd van mengmonsters de refractie gemeten. De metingen werden gedaan direct na uitslag uit de CA-bewaring en na een week nabewaring.

De invloed van zuurstofverlaging en koolzuurverhoging was resp. zeer zwak en zeer sterk op kleur en parasitair bederf. De refractie werd door de CA-condities nauwelijks beïnvloed. Opslag van reeds verpakt produkt werd tevens in dit onderzoek betrokken. Het bleek, dat veel beter met verpakken kan worden gewacht tot na de opslag. Door rotontwikkeling gedurende langdurige bewaring worden veel verpakkingen onbruikbaar.

Er is een concept rapport is van dit onderzoek gereed.

### CA-bewaring waspeen

Via het PAGV te Lelystad werd een partij waspeen van het ras Almaro opgeslagen bij 0-1°C. Als CA condities werden gekozen 2, 1 en 0.5% zuurstof steeds in combinatie met <1%CO<sub>2</sub>. Inslag vond plaats eind november 1991 en de ruiming zal plaatsvinden in 3 gedeelten tot mei 1992. Beoordeeld zal worden op uiterlijk, parasitair bederf, smaak, refractie en gewichtsverlies.

De eerste indruk van het produkt, uitgeslagen in januari, was niet gunstig. Met name het produkt uit de laagste zuurstofconcentratie vertoonde een toename in parasitair bederf.

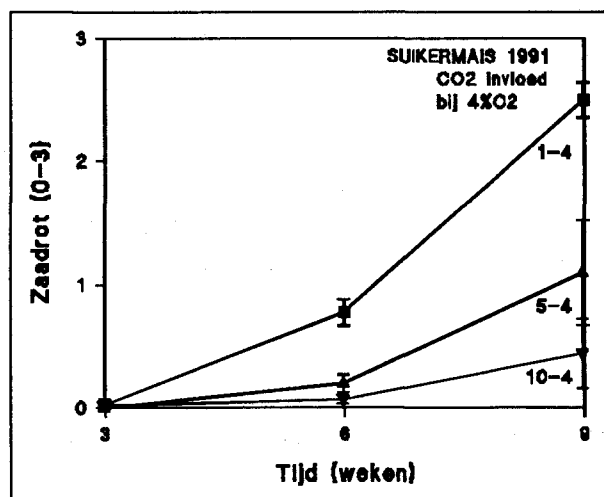


Fig 2: Invloed van de koolzuurconcentratie op het parasitair bederf van de zaden van suikermais na verschillende opslagperioden.

### CA-bewaring witlofwortelen

Twee partijen witlofwortelen van de rassen Flash en Rhinof werden in december 1991 opgeslagen bij 0-1°C en in 2, 1 en 0.5% zuurstof (bij <1%CO<sub>2</sub>). Het produkt zal in 4 fasen worden geruimd, het ras Flash in de periode tussen januari en begin juni, Rhinof in de periode maart en augustus 1992. Beoordeeld zal worden op gewichtsverliezen en parasitair bederf. De opbrengst van de bewaarde wortelen evenals de trekduur en de kwaliteit van het geogste lof zal worden vastgesteld door het PAGV te Lelystad.

### Achtergronden CA-bewaring kool

CA-condities kunnen de bewaarduur van koolsoorten aanzienlijk verlengen. Met name verhogingen van de koolzuurspanning al dan niet in combinatie met verlaagde zuurstofspanning kunnen een bijdrage leveren in het kwaliteitsbehoud van het produkt. Omtrent de achtergronden van deze effecten (kleurbewand en minder parasitair bederf) is weinig bekend. Verwacht kan worden, dat de ethyleengevoeligheid en -productie beïnvloed zullen worden door CA-condities. Praktische implicaties van dit onderzoek zijn de volgende vragen:

- moet tijdens de langdurige bewaring van koolsoorten onder CA-condities het geproduceerde ethyleen continu worden verwijderd, en welke ethyleen niveau's moeten onder CA condities worden verwacht?
- moeten bij de gebruikelijke lage bewaartemperaturen effecten worden verwacht van exogeen ethyleen (bijv. afkomstig van andere produkten).

Onderzoek werd einde 1991 gestart met een partij spruitkool (ras Rampart) aan de stam. Bewaring geschiedt bij 0-1°C in lucht en in 6% CO<sub>2</sub>-21% O<sub>2</sub>. Ethyleen



werd wel en niet continu verwijderd. Gedurende 4 maanden zal elke maand een partij stammen worden uitgeslagen. Beoordeeld zal worden op kleur en verder zullen ademhalingsintensiteit, ethyleenproductie en gewichtsverliezen worden bepaald. Ethyleen- en CO<sub>2</sub> productie worden bepaald aan geogoste monsters.

### **Confrontatie fasering**

In de uitgevoerde experimenten werd aandacht besteed aan het toetsen van CA-combinaties. Er werden met uitzondering van komkommer (zie voorgaand voortgangsrapport) steeds proeven gedaan bij 1 temperatuur. Dit heeft te maken met uitkomsten van eerder onderzoek, waaruit overeenstemming blijkt over de optimale temperaturen. Met betrekking tot de ontwikkeling van voorspellende kwaliteitsverliesmodellen is deze gang van zaken een bezwaar. Er kan echter met de krappe inzet van mensen te weinig aandacht worden besteed aan het volgen van fysiologische processen, die voorspellingswaarde hebben voor een later optredend kwaliteitsverlies.

## **VOEDSELVEILIGHEID EN SMAAK**

Projectnummer: 2.05.10

### **Glycoalkaloiden in nachtschaden**

E.A.J. Keukens

#### **A. Verslag over 1991**

##### **Probleemstelling**

Glycoalkaloiden zijn natuurlijke toxinen die voorkomen in nachtschaden waarvan aardappel, tomaat, paprika en aubergine bekende consumptiegewassen zijn. Er is voornamelijk onderzoek gedaan naar de glycoalkaloiden die in de aardappel voorkomen. Over het voorkomen en de aard van de glycoalkaloiden in paprika en aubergine is heel weinig bekend. Met behulp van een a-specifieke kleurmethode is aangetoond dat er grote hoeveelheden in aanwezig kunnen zijn. Het gehalte aan deze verbindingen is sterk afhankelijk van rasverschillen en rijpingsstadium.

##### **Doelstelling**

Doel van dit project is tweeledig:

- Identificatie van de chemische structuur van de glycoalkaloiden die voorkomen in paprika en aubergine.
- Het vaststellen van de gehalten aan glycoalkaloiden in tomaat, paprika en aubergine in relatie tot rasverschillen, oogstijdstip en beschadiging.

##### **Fasering**

In het afgelopen jaar is grotendeels de fasering gevolgd zoals die is aangegeven.

##### **Verslag van de werkzaamheden**

Het onderzoek van het afgelopen jaar valt uiteen in twee delen.

Voor de identificatie is getracht uit aubergine en paprika de aglyconen, de steroïde basis van de glycoalkaloiden te isoleren volgens methodes die zijn beschreven voor aardappel glycoalkaloiden. Deze methode blijkt echter niet geschikt te zijn voor paprika en aubergine. Aan een nieuwe methode van isolatie wordt gewerkt. Wanneer de aglyconen geïsoleerd zijn, zullen ze worden gescheiden op een GC waarna identificatie met behulp van GC-MS zal plaatsvinden. Vervolgens zal er worden overgegaan op de identificatie van de suikergroepen. Bij de ontwikkeling van de gehalten in de verschillende groenten zal er worden gekeken naar diverse aspecten die van invloed zijn op deze ontwikkeling zoals het vruchtrijpingsstadium op het moment van oogst en de ontwikkeling als

gevolg van het oogsttijdspit.

Momenteel is er een HPLC-methode uitgewerkt voor de analyse van  $\alpha$ -tomatine, het glycoalkaloid in tomaat. Er zijn enige bewaarproeven uitgevoerd met tomaten van verschillend rijpingsstadium die zowel rijp als groen zijn geoogst.

### **Confrontatie met de fasering**

In overleg met de begeleidingscommissie is halverwege het jaar besloten om een capaciteitsverschuiving toe te passen ten gunste van het smaakonderzoek. Dit houdt in dat de totale inspanning voor dit onderdeel van het Groente en Fruit programma is teruggebracht tot 1,5 mj/j. Doordat de in de literatuur beschreven methodes niet van toepassing bleken op paprika en aubergine, is een achterstand ontstaan op de oorspronkelijke fasering.

### **B. Verschenen publikaties**

Geen.

### **C. Werkplan 1992**

Het onderzoek zal zich richten op verbetering van de isolatiemethode voor glycoalkaloiden in paprika en aubergine met behulp van GC en GC-MS technieken.

Daarnaast zullen de resultaten van het onderzoek met tomaten statistisch worden bewerkt en gevalideerd.

Tevens zullen experimenten worden gedaan naar rasverschillen m.b.t. het gehalte aan steroidalkaloiden.

## **Detectie en Bestrijding van Bederfveroorzakende Micro-organismen**

Projectnummer: 2.06.13

L.G.M. Gorris

### **A. Verslag over 1991**

#### **Probleemstelling**

Verse groente- en fruitprodukten zijn na de oogst onderhevig aan bederf, veroorzaakt door de gecontinueerde fysiologische activiteit van het produkt (ademhaling, rijping) en de ontwikkeling van bederfveroorzakende micro-organismen. Om bederf te beperken of zelfs te voorkomen kunnen milde conserveringsmethoden aangewend worden (koeling, matig vacuüm bewaring, modified-atmosphere verpakking (MA), toepassing natuurlijke biociden en microbiële antagonisten). Er is behoefte aan snelle detectie van relevante bederfveroorzakende micro-organismen om de microbiële kwaliteit van produkten efficiënt mee te kunnen registreren.

#### **Doelstellingen**

Het toepassen van gekoelde matig-vacuümbewaring voor de bewaring van groente- en fruitprodukten.

Het optimaliseren van matig-vacuümbewaring en MA-verpakking op basis van kennis t.a.v. het werkingsmechanisme van beide methoden.

Het ontwikkelen van snelle en gevoelige detectiesystemen voor belangrijke bederfveroorzakende micro-organismen.

#### **Fasering**

jaar 1:

- nagaan populatiedynamica van bederfveroorzakende microflora tijdens gekoelde matig-vacuümbewaring van groente en fruit produkten.
- studie effecten gekoelde matig-vacuümbewaring op humaan-pathogene bacteriën

jaar 2:

- studie mechanisme gekoelde matig-vacuümbewaring en MA-verpakking

jaar 3:

- ontwikkeling specifieke detectiemethode voor relevante bederfveroorzakende micro-organismen
- aanvang ontwikkeling wiskundig model voor populatiedynamica microflora bij MA-verpakking

jaar 4:

- verdere ontwikkeling model en opzetten database

### **Werkzaamheden in 1991**

Binnen het thema *Bestrijding en detectie van micro-organismen* van het deelproject *Microbiologie van bewaring* werd een inventarisatie verricht van de microflora en de kwaliteit van verse producten bewaard middels gekoelde matig-vacuümtechnologie. In dit bewaarsysteem wordt een deel van de lucht bij aanvang van de bewaring weggezogen. Het produkt wordt derhalve bewaard bij een verlaagde zuurstofspanning (circa 8% i.t.t. 21% in lucht bij buitenluchtdruk). Omdat het produkt, ook onder gekoelde omstandigheden, nog ademt zal de zuurstof verbruikt worden waardoor de zuurstofspanning verder zal dalen. Dit zal bijdragen aan een beperking van de ademhaling van het produkt en van de groei van zuurstofgebruikende (aërobe) bederfveroorzakende micro-organismen.

In het eerste halfjaar werd het kwaliteitsverloop tijdens bewaring van een aantal verschillende soorten groente en fruit gescreend. Voor een aantal produkten, waaronder taugé, bleken zowel de microbiële kwaliteit als de sensorische kwaliteit (consistentie, smaak, aroma) bij gekoelde matig-vacuümbewaring langer behouden te blijven dan bij gekoelde bewaring onder buitenluchtdruk (zie verslag eerste half jaar). In het tweede halfjaar werden de populatiedynamica en de soortsamenstelling binnen de microflora van twee produkten (taugé en witlof) meer in detail onderzocht. Een begin werd gemaakt met het onderzoek naar het lot van enkele humaan-pathogenen, die bij het begin van de bewaring kunstmatig op taugé aangebracht werden. Voorts werd aandacht besteed aan de ontwikkeling van een toets voor pectinolytische soorten *Erwinia*, bacteriën die bij veel verschillende groenten rot veroorzaken.

#### a. Populatiedynamica

De populatiedynamica binnen de microflora van taugé en witlof (hele kropjes of gewassen en gesneden) werd nagegaan door middel van microbiologische tellingen op specifieke voedingsmedia. Gekoelde (7°C) bewaring onder buitenluchtdruk leidde bij zowel taugé (grafieken a,b) als witlof (grafieken c-f) tot een toename van het Totaal Aëroob kiemgetal en het aantal enterobacteriën. Onder matig vacuüm (400 mB) bleven de uitgangsniveaus bij taugé daarentegen gehandhaafd of trad een lichte daling op. Bij gesneden witlof werd een verminderde toename waargenomen terwijl bij hele kropjes geen effect werd geconstateerd. Zowel bij taugé als bij gesneden witlof (grafiek g), maar niet bij hele kropjes witlof, nam het aantal melkzuurbacteriën toe onder matig vacuüm.

Geconcludeerd wordt dat gekoelde matig vacuüm bewaring microbiëel bederf kan tegengaan door de omvang van de initiële microflora te consolideren, zoals bij taugé en (minder) bij gesneden witlof. Onderzoek naar het mechanisme en de eventuele rol van de melkzuurbacteriën daarin is gepland voor het tweede jaar.

### b. Soortsamenstelling

De in de microflora aanwezige soorten bacteriën werden gedurende de bewaring van taugé en witlof getypeerd, onder meer m.b.v. het BIOLOG identificatiesysteem. In grafieken h t/m k is te zien dat er relevante verschuivingen in de soortsamenstelling optreden. Bij taugé overwegen initieel enterobacteriën (*Enterobacter cloacae* en *E. agglomerans*) en pseudomonaden, terwijl gedurende de bewaring een sterke toename werd geregistreerd in het aantal gram(+) katalase(-) kokken (melkzuurbacteriën). Onder vacuüm domineert deze populatie uitermate sterk. Bij hele kropjes witlof komen initieel bijna alleen enterobacteriën voor (*E. agglomerans*, *Rahnella aquatilis*, *Moraxella atlantae*), maar neemt aan het einde het aantal gram(+) kokken toe.

Geconcludeerd moet worden dat bij zowel taugé als witlof initieel verschillende soorten bacteriën behorend tot de familie *Enterobacteriaceae* voorkomen die, zoals uit literatuur gegevens ook blijkt, aangemerkt moeten worden als de belangrijkste bederfveroorzakers. Geen van de bacteriën kan aangemerkt worden als de meest belangrijke. Detectie van relevante bederfveroorzakende bacteriën zou bij deze produkten dan ook het beste uitgevoerd kunnen worden via een algemene, niet specifieke toets voor enterobacteriën.

### c. Lot humaan-pathogenen

Met dit onderwerp is een aanvang gemaakt middels challenge experimenten op taugé met *Salmonella typhimurium* en *Yersinia enterocolitica*, twee aërobe pathogenen, en *Bacillus cereus*, een sporevormende aërobe pathogeen. De eerste resultaten wijzen erop dat geen van de pathogenen in staat is gedurende de bewaarperiode tot een verontrustend niveau uit te groeien. Gezien het grote belang van het waarborgen van de voedselveiligheid voor de bewaarmethode zal aan deze experimenten verder aandacht gegeven worden in het tweede jaar. Er zullen dan ook challenge experimenten worden uitgevoerd met non-proteolytische stammen *Clostridium botulinum*. Dit is een sporevormende pathogeen die zonder zuurstof (anaëroob) en bij lage temperatuur (tot 3 à 4°C) kan gedeien. Indien de zuurstof die in het bewaarsysteem aanwezig is op raakt, kan deze pathogeen potentieel een groter probleem vormen dan de bovengenoemde aërobe pathogenen.

### d. Toetsontwikkeling

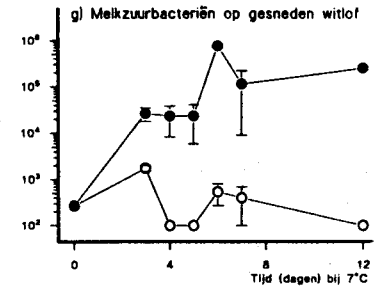
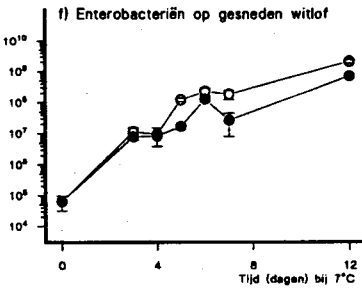
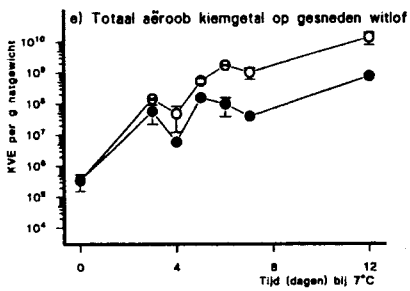
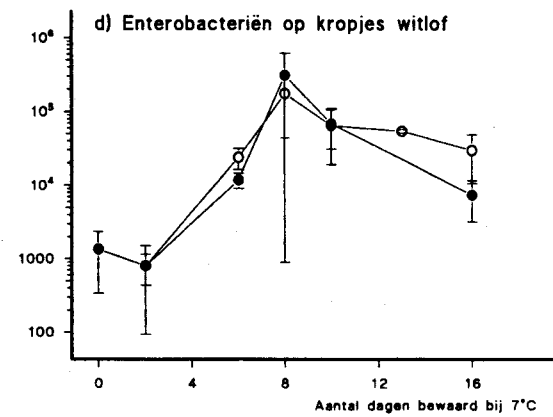
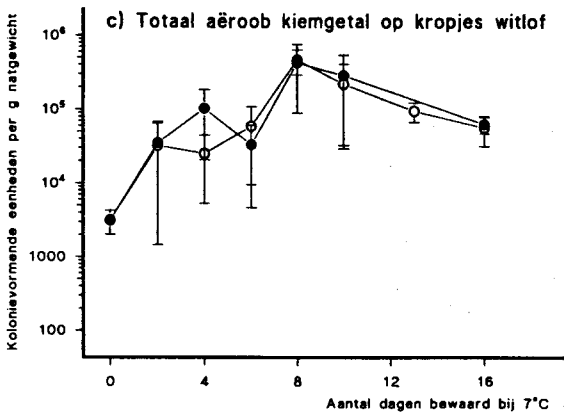
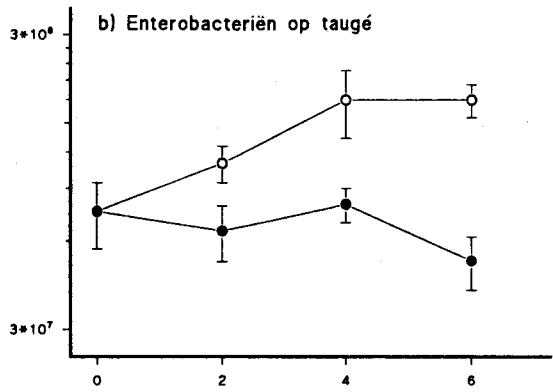
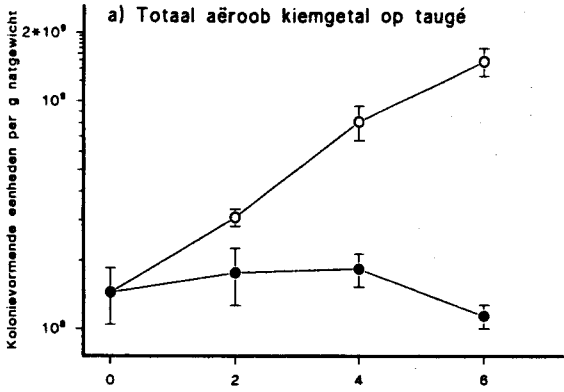
Er werd gewerkt aan een assay op basis van DNA-hybridisatie waarmee onderscheid gemaakt kan worden tussen de drie pectinolytische typen *Erwinia*, t.w. *E. carotovora ssp carotovora* (ECC), *E. carotovora ssp atroseptica* (ECA) en *E. chrysanthemi* (EC). Deze bacteriën, allen behorend tot de familie *Enterobacteriaceae*, komen voor op zeer veel verschillende groenten. Vaak treedt echter een zekere gastheerspecificiteit op, waardoor bij een bepaald produkt maar een of twee van hen een probleem vormen. Het is juist daarom van belang in staat te zijn een onderscheid te maken tussen de verschillende typen *Erwinia* middels een snelle en gevoelige toets. Op basis van een klein deel van het protease gen

van EC werden primers ontwikkeld. Deze bleken specifiek voor ECC, ECA en EC en reageerden niet met enkele zeer nauw verwante, niet pectinolytische soorten *Erwinia* (m.n. *E. rhapontici* en *E. herbicola*), noch met nauw verwante soorten bacteriën (m.n. *Eschericia coli* en *Lactococcus lactis*). Vervolgens werden primers ontwikkeld die specifiek zouden moeten zijn voor ECC en ECA. Er bleek inderdaad geen kruisreactie op te treden tussen de ECC en ECA stammen waarop de primers ontwikkeld waren. Tevens reageerden verschillende ECC en ECA isolaten uitsluitend op de ECC of ECA primers.

### **Confrontatie met fasering**

Het onderzoek naar de bruikbaarheid van gekoelde matig-vacuumbewaring voor groente- en fruitprodukten is volgens planning 1991 verlopen en afgerond. Een aantal produkten is als model gekozen voor verdere studie, als gepland in 1992, van het mechanisme van de bewaarmethode. Met het onderzoek naar het overleven van humaan-pathogene bacteriën is, zoals gepland, een aanvang gemaakt. Dit onderdeel is echter nog niet, zoals gepland, afgerond. Daarentegen is een deelonderwerp dat was gepland voor 1993 (jaar 3), t.w. de toetsontwikkeling, al in 1991 opgestart. Hierdoor moet er in beide jaren voldoende ruimte zijn het humaan-pathogene deelonderwerp naar behoren af te ronden.

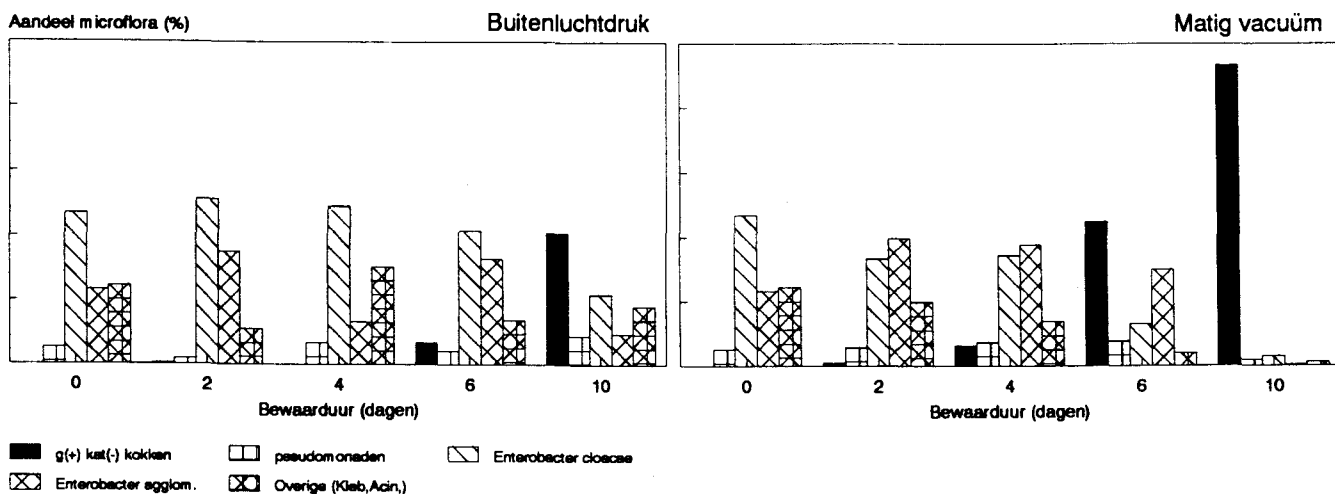
Grafieken ten bate van populatie dynamica



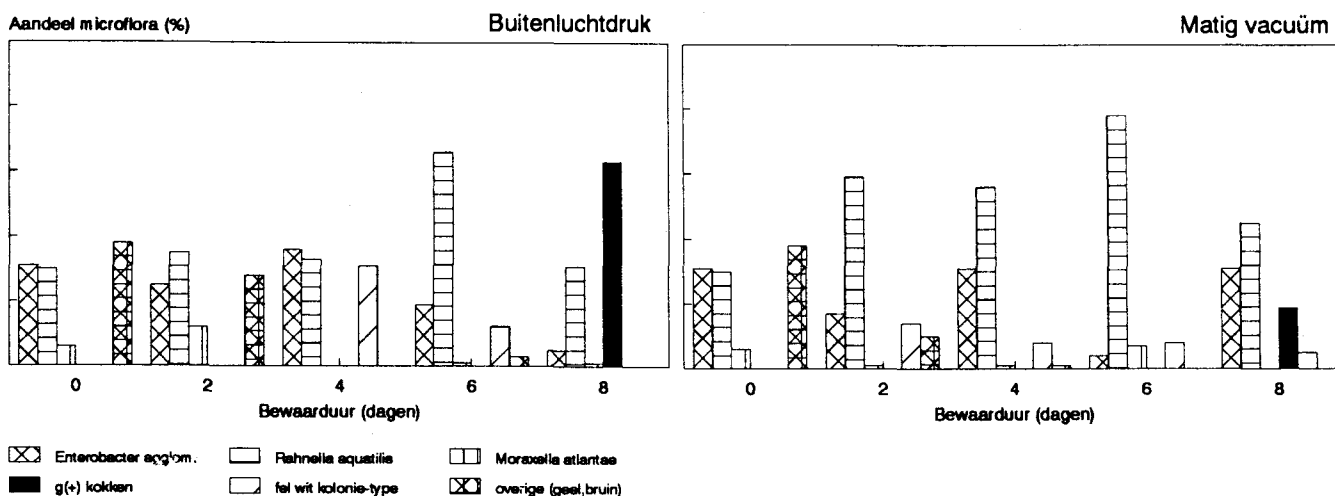


**Grafieken ten bate van soort-samenstelling**

**h) Soort-samenstelling op taugé**



**i) Soort-samenstelling op kropjes witlof**



## B. Publikaties

- Gorris, L.G.M., C.J.M. Hoenderboom, L.A. Ledelay & Y. de Witte, 1991. Kwaliteit en houdbaarheid beter met vacuüm koeling. Groenten+Fruit/Algemeen 1(14), 18-21
- Gorris, L.G.M., L.A. Ledelay, C.J.M. Hoenderboom & F.M. Rombouts, 1991. Gekoelde bewaring onder matig vacuüm kan de houdbaarheid van bederfelijke voedingsmiddelen verlengen. Voedingsmiddelentechnologie 24 (7), 32-33.
- Gorris, L.G.M., C.J.M. Hoenderboom, L.A. Ledelay, R.G. van der Vuurst de Vries, R.R. Beumer & F.M. Rombouts, 1991. Microbiële en sensorische kwaliteit van bederfelijke levensmiddelen tijdens gekoelde bewaring onder matig vacuüm (ATO-Rapport 158).
- Gorris, L.G.M., Y. de Witte & R.G. van der Vuurst de Vries, 1991. Gekoelde bewaring van witlof onder matig vacuüm: microbiële en sensorische kwaliteit. (ATO-Rapport 232).
- Gorris, L.G.M., C.J.M. Hoenderboom, L.A. Ledelay & Y. de Witte, 1991. Kwaliteit van verse groenten en fruit bij bewaring onder matig vacuüm. ATO Research Seminar "Voedselveiligheid, Kwaliteit en Snelle Detectiemethoden", 20 maart, Wageningen. (poster)

## C. Werkzaamheden 1992

### Aanpak

In de fasering zijn voor 1992 onderzoeken van het mechanisme van matig-vacuümbewaring en modified-atmosphere verpakking (MA) gepland. In beide systemen spelen de gassamenstelling, de fysiologie van het produkt en de microflora een grote rol. Deze zullen daarom in detail onderzocht worden.

Begonnen wordt met onderzoek naar het mechanisme van de matig-vacuümbewaring, gebruik makend van taugé en witlof als modelprodukten. Gaschromatografisch zullen de veranderingen in de gassamenstelling tijdens bewaring gemeten worden en gecorreleerd worden met veranderingen in de microflora en de produktademhaling. Binnen dit laatste facet valt de eventuele omschakeling van aërobe naar anaëroberespiratie als gevolg van een te lage zuurstofspanning. Deze wordt gemeten via GC en HPLC analyses van zuurstof, koolzuur en ethanol.

Experimenten t.a.v. de voedselveiligheid zullen worden voortgezet zoals boven beschreven. Testen met *Salmonella*, *Yersinia* en *Bacillus cereus* zullen herhaald worden. Met medewerkers van de LUW zal overleg geïnitieerd worden ten aanzien van de gezamenlijke uitvoering van challenge experimenten met *Clostridium botulinum*.

Ten aanzien van de MA-verpakking zullen taugé en witlof als model produkt bewaard worden. Op basis van de respiratiesnelheid (zuurstof opname en

koolzuur afgifte) van deze produkten zullen verpakkingsmaterialen gekozen moeten worden die bij de bewaar temperatuur in de evenwichtssituatie een gassamenstelling van  $\pm 5\%$  zuurstof en  $\leq 5\%$  koolzuur hebben.

Speciale aandacht krijgt ook de rol van melkzuurbacteriën bij de bewaring van taugé. Deze bacteriën produceren melkzuur en zogenaamde bacteriocinen die een sterk remmende werking zouden kunnen hebben op (bepaalde) bederfveroorzakende bacteriën. Eerst worden melkzuurbacteriën van het produkt geïsoleerd. Vervolgens worden inhibitie experimenten uitgevoerd waarbij het effect van deze isolaten (of hun uitscheidingsprodukten) op relevante bederfveroorzakende micro-organismen, t.w. *Enterobacter cloacae* en *E. agglomerans*, *Pseudomonas* spp., wordt nagegaan. Tevens worden de diverse stammen *Erwinia* gebruikt bij de toetsontwikkeling en de enterobacteriën geïsoleerd van witlof (*E. agglomerans*, *Rahnella aquatilis*, *Moraxella atlantae*), in deze inhibitie experimenten opgenomen om na te gaan of bepaalde melkzuurbacteriën gebruikt kunnen worden als natuurlijke antagonisten en als zodanig als een milde conserveringsfactor.

### **Fasering**

#### 1ste kwartaal

- nagaan veranderingen in gassamenstelling gedurende gekoelde matig-vacuumbewaring van taugé in vergelijking met gekoelde bewaring onder buitenluchtdruk
- nagaan optreden anaërobe-ademhaling gedurende gekoelde matig-vacuumbewaring van taugé

#### 2de kwartaal

- isoleren van melkzuurbacteriën van taugé (vers van kweker en van taugé betrokken van groente & fruit detailhandel)
- nagaan veranderingen in gassamenstelling gedurende gekoelde matig-vacuumbewaring van taugé en witlof
- nagaan optreden anaërobe-ademhaling gedurende gekoelde matig vacuumbewaring van taugé en witlof

#### 3de kwartaal

- nagaan optreden anaërobe ademhaling gedurende gekoelde, matig-vacuumbewaring van witlof (vervolg)
- toetsen van antagonistische werking melkzuurbacteriën geïsoleerd van taugé op diverse enterobacteriën
- keuze verpakkingsmateriaal geschikt voor MA-verpakking taugé en witlof (literatuur gegevens respiratie, contacten met verpakkingsfilm producenten)
- toetsen overleven *Clostridium botulinum* en *Bacillus cereus* bij gekoelde, matig vacuumbewaring van taugé (in samenwerking met LUW).

4de kwartaal

- toetsen van antagonistische werking melkzuurbacteriën geïsoleerd van taugé op diverse enterobacteriën (vervolg)
- toetsen overleven *Salmonella* en *Yersinia* bij gekoelde matig-vacuümbewaring van taugé (herhaling 1991) en witlof

**Afwijking van oorspronkelijke fasering**

De voor 1992 opgestelde fasering is vrijwel conform de oorspronkelijke fasering. Naar verwachting zullen voor zowel taugé als witlof alle parameters (populatie-dynamica, veranderingen in gassenstelling, pathogenen) van de gekoelde matig-vacuümbewaring afgerond kunnen worden. Zo mogelijk zal een begin gemaakt worden met het meten van dezelfde parameters bij MA-verpakte taugé en witlof. Dit is echter afhankelijk van de snelheid waarmee de matig-vacuümexperimenten afgerond kunnen worden. Een deel zal naar de eerste helft van 1993 doorschuiven. Daarentegen zijn voor 1992 experimenten met antagonistische micro-organismen opgenomen die in de oorspronkelijke fasering niet genoemd zijn, maar die essentieel onderdeel van het project zijn. De ontwikkeling van detectiesystemen, oorspronkelijk gepland voor jaar 3 en reeds in jaar 1 opgestart, heeft in jaar 2 geen hoge prioriteit. Indien mogelijk zullen echter wel testen gedaan worden om de mogelijkheid de momenteel voorhanden zijnde primers in vivo (in de produktmatrix) toe te passen.

**Onderzoek naar het gebruik van (bio)sensoren ten behoeve van kwaliteitsaspecten van verse en verwerkte plantaardige grondstoffen**

Projectnummer: 3.02.03

Dr.Ir. C. van Dijk

**A. Verslag derde en vierde kwartaal 1991**

**Probleemstelling**

Krimpscheurtjes bij tomaten vormen een negatief kwaliteitsaspect. Door de aanwezigheid van deze krimpscheurtjes treedt er een verhoogde vochtafgifte plaats, waardoor de houdbaarheid van de tomaat afneemt.

**Doelstelling**

De doelstelling van het project is het ontwikkelen van een meetopstelling, die in staat is zwelscheurtjes te detecteren. Tevens dient aangegeven te worden wat de mogelijkheden en beperkingen van een dergelijke meetopstelling zijn.

**Verslag van de werkzaamheden**

**Literatuurinventarisatie**

Randvoorwaarden: bij de literatuurinventarisatie werd uitgegaan, dat de meting "snel" en non-destructief dient plaats te vinden. Dit impliceert bij voorbaat, dat meting niet-mechanisch via aftasting van het object dient plaats te vinden. De consequentie hiervan is, dat de meting met optische of akoestische meting technieken moet worden uitgevoerd. Daar akoestische metingen het meest effectief uitgevoerd worden als de "geluidsbron" in contact staat met het te meten voorwerp (vergelijk echoscopie) betekent dit, dat een akoestische meting ten koste gaat van de snelheid. Hiervoor is de keuze gevallen op een optische methode.

Uit de literatuur is gebleken, dat het meten van oppervlakteruwheden met behulp van optische technieken op hetzelfde basisprincipe berust, namelijk het oppervlak belichten en het gereflecteerde licht analyseren. Verder bleek, dat oppervlakteruwheden bepaald kunnen worden als de ruwheid van het oppervlak in dezelfde ordegrootte ligt als de golflengte van het gebruikte licht. Dit betekent, dat de ruwheid in de ordegrootte van 1 - 10  $\mu\text{m}$ . dient te liggen. Echter de zwelscheurtjes hebben een diameter van 0,1 - 0,5 mm; met andere woorden, de gebruikte methoden kunnen bij de alhier beschreven voorwaarden niet worden toegepast. Uit deze inventarisatie bleek eveneens een beperking voor het gebruik van lasers; ls lichtbron. Het voordeel van laserlicht is, dat het zeer goed gedefinieerd is (golflengte, homogeniteit van de bundel etc.). Het nadeel is, dat met name voor coherent lichtinterferenties kunnen optreden (zichtbare lokale verster-

king en uitdoving van het licht) als gevolg van oppervlakteruwheden in de orde-grootte van de golflengte van het laserlicht. Dit betekent, dat ruweden buiten het interessegebied mede van invloed zijn op de uiteindelijke signaal/ruisverhouding.

#### Praktische metingen

Op basis van bovenstaande overwegingen werd een meetopstelling gebouwd, waarbij een gedeelte van het oppervlak van een tomaat wordt belicht. Hiertoe werd een halogeenlamp als bron gebruikt, en het licht via een glasvezelkabel en een lenzenstelsel afgebeeld op de tomaat. Het gereflecteerd licht werd met behulp van een CCD-camera gemeten. De beelden werden via een frame-grabber ingelezen en met behulp van een beeldbewerkingspakket geanalyseerd. In bijgevoegd figuur zijn het oppervlak afgebeeld van een tomaat die geen of weinig zwelscheurtjes vertoont, een die "veel" zwelscheurtjes vertoont met de bijbehorende analyses van de beelden van het oppervlak. Duidelijk is het verschil in oppervlakteruwheid tussen de tomaten aan te geven.

#### Verdere omschrijving van de problematiek om vanuit de boven beschreven metingen te komen tot een werkzaam prototype

Om op basis van de boven beschreven resultaten te kunnen komen tot een prototype, dat verder uitontwikkeld kan worden moet aandacht besteed worden aan de volgende facetten van het onderzoek:

- De optica  
optimale belichting van de tomaat; facetten die hierbij een rol spelen zijn: hoe belicht je, hoe detecteer je het licht, welk deel van het spectrum gebruik je, etc.
- De selectiviteit  
Inzicht dient te worden verkregen hoe en of andere oppervlakte-ongerechtigheden, zoals goudspikkels de meting beïnvloeden
- De specificiteit  
Indien een deel van het oppervlak van de tomaat wordt belicht (gemeten) is de vraag hoe representatief dat deel is voor het oppervlak voor de gehele tomaat.
- De gevoeligheid en de signaal/ruisverhouding  
Hoe gevoeliger men meet hoe kleiner de signaal/ruisverhouding wordt. Dit moet afgezet worden tegen de vraag: "Wanneer heeft een tomaat geen zwelscheuren"; met andere woorden, wat is de nulwaarde. Tevens dient nagegaan te worden wanneer het aantal zwelscheuren onacceptabel is; dit is de bovenwaarde.
- De beeldverwerking vindt plaats met behulp van een beeldverwerkingspakket. Dit werkt traag. Indien aan bovengenoemde criteria kan worden voldaan, dient dit aspect verder uitgewerkt te worden.

#### **Fasering**

- Optica: eerste en tweede kwartaal 1990

## Chemische en sensorische analyses van smaakcomponenten in verse paprika

Projectnummer: 3.05.01

P.A. Luning

### A. Verslag over 1991

#### **Inleiding**

Bij het rassenonderzoek wordt voornamelijk gekeken naar aspecten zoals een hoge produktie, een goede houdbaarheid, een hoge ziekte-resistentie, kleur en vorm. Het aspect smaakkwaliteit wordt echter steeds belangrijker. Uit een rassenonderzoek van Rivro/Proefstation Naaldwijk bleek, dat er smaakverschillen konden worden waargenomen tussen de verschillende papikarassen; m.n. Evident werd bij de groen/rode rassen zeer positief beoordeeld. Mazurka werd minder goed beoordeeld.

De smaak wordt bepaald door de samenstelling van vluchtige componenten (meestal 100 - 200 per groente) en smaakstoffen (zoals suikers, organische zuren en bitterstoffen). In dit onderzoek wordt aan de hand van vergelijkingen tussen verschillend smakende paprika's onderzocht welke factoren smaakbepalend zijn in verse paprika. Twee verschillend smakende Nederlandse rassen (Mazurka & Evident) worden met elkaar vergeleken in diverse rijpheidsstadia (van groen naar rood).

#### **Fasering**

##### maart-juni

- \* Experiment: bepaling significante rijpheidsstadia in een tijdreeksperiment (2x herhaald)
- \* Bepalingen:
  - A) isolatie vluchtige componenten van gemalen paprika
  - B) GC-analyses van vluchtige componenten
- \* Trainen smaakpanel paprika's ten behoeve van schalen op diverse smaak-eigenschappen
- \* Ontwikkelen van een tweede isolatiemethode voor vluchtige componenten

##### juli-november

- \* Experimenten: vergelijken ras en rijpheidstadia en twee monstervoorbereidingen (3x herhaald)
- \* Bepalingen:
  - A) Isolatie vluchtige componenten met twee monstervoorbereidingen resp. malen en snijden.
  - B) GC-analyses van de vluchtige componenten

C) HPLC-suikeranalyses

D) Sensorische analyses door smaakpanel

- \* Ontwikkelen HPLC-methode voor de analyse van organische zuren
- \* Oriënterende snuffelpoort analyses ten behoeve van het creëren van een geuromschrijvingenlijst.
- \* Installatie van een thermodesorptie systeem op de GC/MS.

november-december

- \* Leerperiode GC/MS-analyses (theorie & praktijk)
- \* Identificatie van vluchtige componenten met GC/MS
- \* Voorbereidingen snuffelpoortanalyses
- \* Verder optimaliseren HPLC-methode voor organische zuren.
- \* Oriënterend onderzoek naar lipoxygenase-activiteit in paprika.

**Verslag van de werkzaamheden**

A. Tijdreeksexperiment

A.1 Experimentele condities

De paprika's werden twee weken na vruchtzetting gelabeld. Op 7 tijdstippen werd er geoogst m.n. 3 t/m 10 weken na vruchtzetting met één week tussentijd. Per week werden 8 monsters genomen waarvan de vluchtige componenten en de suikers werden bepaald. De paprika's voor de suikers werden opgeslagen bij - 20 °C, terwijl voor de aroma-analyses de paprika's meteen na oogsten gebruikt werden.

De vluchtige componenten werden geïsoleerd met een dynamische headspace methode. De paprika's werden geflushed met stikstof en geconcentreerd op tenaxbuisjes (adsorberend materiaal). De vluchtige componenten werden door middel van een thermodesorptiesysteem gedesorbeerd en rechtstreeks geïnjecteerd in de gaschromatograaf. Het piekoppervlak is een maat voor de hoeveelheid van een vluchtige stof.

A.2 Resultaten

Uit GC-analyses bleek (zie bijlage I) dat de volgroeide groene (t=3) en rode paprika's (t=7) duidelijk verschillen in samenstelling van vluchtige componenten. In het bonte stadium (t=5) lijkt een snelle omslag te hebben plaats gevonden van het groene naar het rode aromaprofiel. Omdat in dit experiment nog geen GC/MS analyses uitgevoerd konden worden is slechts voor één component, m.n. 2-methoxy-3-isobutyl pyrazine, de verandering tijdens rijping nader uitgewerkt (zie figuur 1). De identiteit van dit component is vastgesteld door vergelijking van de retentietijd met de zuivere stof in combinatie met de specifieke stikstof-detector. Uit de literatuur is bekend dat dit component een sterke groene paprika-geur heeft. Uit figuur 1 blijkt duidelijk dat de concentratie sterk daalt in het bonte stadium.



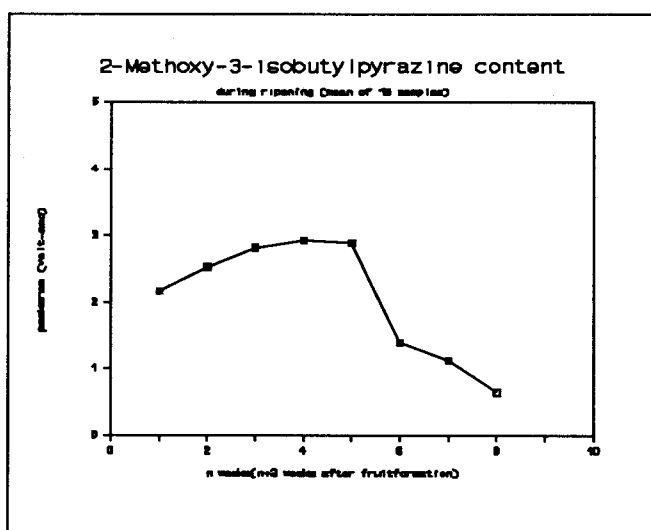
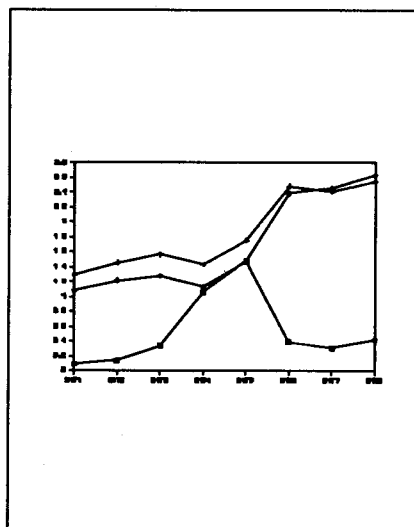
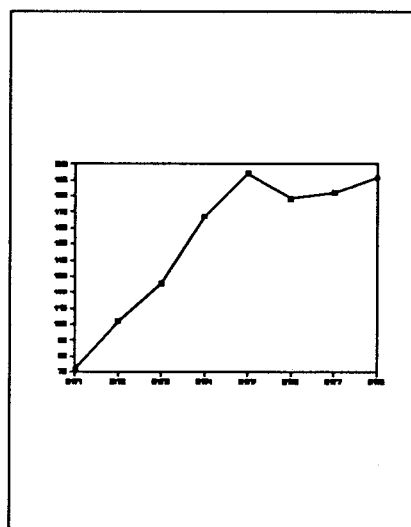


Figure 1: 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine content of bell pepper during ripening.

De verandering in suikersamenstelling tijdens rijping staat weergegeven in figuur 2. Ook hier blijkt dat in het bonte stadium veranderingen optreden. Het saccharose lijkt te worden gesplitst in fructose en glucose. Van de organische zuren is itamine-C apart bepaald omdat de hoge concentraties storen in scheiding van de andere zuren. Uit figuur 3 blijkt dat het gehalte na het bonte stadium stabiliseert.



Figuur 2: Suikergehalte tijdens de rijping van Mazurka.



Figuur 3: Vitamine C gehalte tijdens rijping van Mazurka.

De concentraties van de overige organische zuren zijn nog niet bepaald vanwege problemen met de bepaling. De hoge suikerconcentraties storen de zuurbepaling en de diverse zuren worden onder verschillende uitgeteste omstandigheden nog slecht gescheiden. Enkele zuren konden daarom nog niet geïdentificeerd worden. De suikerstoring kan onderdrukt worden door te meten bij een andere golflengte (deze is minder optimaal voor de zuren). Dit gaat echter ten koste van de zuurbepaling. Daarom wordt gezocht naar een andere methode om de suikers te verwijderen. Het gebruik van twee gekoppelde kolommen, waarbij op de eerste de suikers verwijderd werden, leverde niet de gewenste resultaten. Momenteel wordt onderzocht of de suikers met behulp van een aparte voorkolom gescheiden kunnen worden van de zuren.

In bijlage II staan enkele HPLC-plaatjes van resp. een onvolgroeide groene paprika (t=1) en een rijpe rode paprika (t=7). Zowel groene als rode paprika lijkt citroenzuur en appelzuur te bevatten (en ascorbinezuur zie figuur 3) en enkele zuren uit de citroenzuur cyclus zoals cis-aconitaaat, oxaal- en fumaarzuur. De groene paprika lijkt een "lage" citroenzuur- en een "hoge" appelzuur concentratie te bevatten. In de rode paprika lijkt deze situatie te zijn omgekeerd.

Naar aanleiding van deze GC en HPLC-resultaten is besloten om voor het ras/rijpheidsexperiment drie stadia te kiezen m.n. groen (t=3), bont(t=5) en rood (t=7).

## B. Het ras/rijpheidsexperiment

### B.1 Experimentele condities

Voor het aroma-onderzoek waren deze als volgt:

- 2 rassen: Mazurka & Evident
- 3 rijpheidsstadia: groen, bruin, rood
- 2 bewerkingen: gemalen (30 g + 50 ml water, 2 uur bemonsterd) en gesneden (250 g, 4 uur bemonsterd)

Er is voor twee bewerkingen gekozen, omdat de piekenpatronen duidelijk verschillend waren. Tevens bleek uit oriënterende GC/MS resultaten van 1990 dat de beide bewerkingen ook verschillende componenten opleverden. Mogelijk leveren beide bewerkingen meer informatie over het belang van de verschillende componenten voor de smaak.

Per experiment (ras x rijpheidsstadium x bewerkingen) werden 4,2 en 2 stuks, resp. GC-, GC/MS en snuffelpoort monsters gemaakt (op tenax buisjes). Dit totale experiment werd drie maal herhaald.

Voor de sensorische analyses en de smaakstoffenbepalingen werden delen van de dezelfde paprika's gebruikt. De HPLC-monsters werden ingevroren (- 20 °C). De monsters voor sensoriek werden zo snel mogelijk sensorisch beoordeeld door het smaakpanel (opslag bij 13 °C).

### B.2 Resultaten

De GC-analyses zijn nog niet uitgewerkt. Het is zeer bewerkelijk om alle pieken in detail te gaan bekijken. Het is daarom noodzakelijk om een selectie te maken.

Deze selectie zal plaatsvinden op grond van de snuffelpoortanalyses. Hier zal later in dit verslag nog verder op in worden gegaan .

Van een aantal, monsters m.n. van groene en rode gesneden en gemalen Mazurka, zijn GC/MS-analyses uitgevoerd. In Tabel 1 staan de meest opvallende verschillen in samenstelling tussen rode en groen gemalen, resp. gesneden paprika. Opvallend is dat zowel in gesneden als in gemalen paprika het groene stadium cis-3-hexen-1-ol bevat terwijl het rode trans-2-hexen-1-ol bevat. In de literatuur staat cis-3-hexen-1-ol bekend als het "blad alcohol" dat een groenige/grassige geur heeft.

Groene gemalen paprika bevat een hoge concentratie (mogelijk) cis-3-hexenal (N.B. de identiteit moet nog op een andere wijze bevestigd worden) dat totaal verdwijnt tijdens rijping. Cis-3-hexenal wordt ook wel het "blad aldehyde" genoemd en geeft een groenige/grassige geur. De C-6 aldehydes kunnen afkomstig zijn uit de secundaire vetoxidatie van overzadigde vetzuren door lipoxygenase.

Table 1: Verschillen in samenstelling vluchtige componenten tussen resp. gemalen en gesneden groene en rode paprika.

gemalen groen gesneden rood	gemalen rood	gesneden groen	
propanal	-		
butanal	-		
2-methyl-2-propanal	-	2-methyl-2-propenal	-
2-butanon	-	2-propanol	-
2/3-methylbutanal	-		
3-buten-2-on	-	3-buten-2-on	-
2-ethylfuran	-	2-ethylfuran	-
(cis)-3-hexenal*	-	-	
2,3-dihydrofuran?			
-?	myrceen	2-heptanon	-
5-methyl-3-heptanon	-		
-	2-ethylhexyl	-	
3,4-dimethyl-1-pentanol	acetaat		
2-penten-1-ol(E/Z)	-		
2-penten-1-ol (E/Z)	-		
-	4-nonanon		
-	6-methyl-5-hepten-2-on		
(cis)-3-hexen-1-ol	-	cis-3-hexen-1-ol	-
2,4-hexadienal(e,E)	-	-	
trans-2-hexen-1-ol		-	
3-nonanal		2,3,5,6-tetramethyl	-
		fenol	-
		pentylthiofeen	-
		-	
2-nonenal		sulfinylbis-	-
methaan			

Tabel 2: Verschillen in samenstelling vluchtige componenten tussen resp. gemalen en gesneden groene en rode paprika.

gesneden groen gemalen rood	gemalen groen	gesneden rood
2-propanol	-	
-	2/3-methylbutanal	
dimethyldisulfide	-	dimethyldisulfide
-	2-pentalen(E/Z)	
-	3-penten-2-on	
-	2-pentalen(E/Z)	-
2-pentalen (E/Z)		
-	(cis)-3-hexenal*	
-	(cis)-2-hexenal*	-
(cis)-2-hexenal *		
limoneen**	-	-
trans-2-hexenal		
2-heptanol	-	
-	2-heptenal	
4-nonanon	-	
6-methyl-5- hepten-3-on	-	
dimethyltrisulfide	-	dimethyltrisulfide
-	2,4-hexadienal (E,E)	-
1-nonen-3-ol		
-	ws alcohol +terpeen	
2-butoxyethanol	-	
2-pentylthiofeen	-	
sulfinylbismethaan	-	
sulfur compound?	-	sulfur compound

\* : Met de GC/MS kon nog geen goed onderscheid gemaakt worden tussen de spectra van cis-3-hexenal, 2-hexenal, cis-2-hexenal en trans-2-hexenal. De laatste is inmiddels bevestigd met behulp van een zuivere standaard.

De overige verschillen tussen rood en groen en gesneden en gemalen, lijken voornamelijk concentratieverschillen te zijn. De diverse chromatogrammen van de twee rassen blijken zeer veel overeenkomsten te bevatten. De reacties van het smaakpanel wezen ook op een moeilijk onderscheid tussen beide rassen. Deze resultaten zijn niet in overeenstemming met de gegevens uit het oriënterend experiment van 1990 waar duidelijke sensorische en instrumentele verschillen werden waargenomen tussen de twee rassen Evident en Mazurka. Dit jaar zijn de paprika's bij één teler gehaald die glaswol gebruikt. Vorig jaar zijn de paprika's bij twee telers gehaald waarvan één turf gebruikte. Mogelijk zijn de verschillen tussen telers groter dan de rasverschillen. De gegevens moeten echter nog in detail uitgewerkt worden.

Een probleem bij de GC/MS-bepalingen is de identificatie van de terpenen. Deze hebben een vergelijkbaar massaspectrum en de informatie over retentietijden en/of Kovats indices is noodzakelijk. Deze informatie is momenteel niet beschikbaar. De nadere uitwerking zal pas plaatsvinden na de snuffelpoortanalyses

waarbij het belang van deze terpenen voor de geur zal worden bepaald.

### C. Bepaling van lipoxygenase in paprika

Uit de GC/MS resultaten blijkt dat onverzadigde C-aldehyden en C-6 alcoholen aanwezig zijn in paprika. Deze componenten kunnen afkomstig zijn uit de secundaire vetoxidatie waarbij lipoxygenase vooraan in de biosynthese zit. Lipoxygenase zet onder invloed van zuurstof onverzadigde vetzuren (zolas linol-en linoleenzuur) om in hydroperoxydes. Deze kunnen vervolgens door allerlei andere (enzym)processen omgezet worden in vluchtige geurcomponenten. Het onderzoek naar de rol van lipoxygenase in de aromavorming van paprika is in november/december gestart. Uit oriënterende experimenten waarbij de zuurstofconsumptie in een paprika-extract is gemeten, blijkt dat de groene paprika waarschijnlijk lipoxygenase bevat. De rode paprika lijkt 20 % minder activiteit te bevatten. Deze experimenten moeten nog herhaald worden waarbij extra controles moeten worden meegenomen om er zeker van te zijn dat lipoxygenase is bepaald.

### Confrontatie met de fasering

#### 1. Bepaling van vluchtige componenten

De aroma-isolatieproeven lopen redelijk op schema, echter, de uitwerking van de GC- en GC data kost veel meer tijd dan gepland. Hiervoor zijn een aantal redenen voor aan te geven. De grote hoeveelheid pieken per monster en het grote aantal monsters (voorjaarsexperiment: 144 en ras/rijpheid: 144) maken het onmogelijk om alles in detail uit werken binnen het paprikaseizoen (mei-nov). Met behulp van de snuffelpoortanalyses zal het aantal pieken gereduceerd worden. Alleen de stoffen die geroken worden zullen in detail bekeken worden. Niet alle pieken hebben namelijk een geur. Deze "geurloze" componenten zijn mogelijk minder interessant voor het paprika-aroma. Tevens moet uitgezocht worden op welke wijze de data het beste statistisch verwerkt kunnen worden. Nadat de snuffelpoortanalyses zijn uitgevoerd zal de uitwerking van het tijdreeksperiment de hoogste prioriteit krijgen.

#### 2. Sensorische bepalingen

De sensorische waarnemingen zijn ook nog niet in detail uitgewerkt. De reden hiervoor is dat inmiddels omgeschakeld is naar het gebruik van een computersysteem voor sensorische analyse en dataverwerking. Inmiddels is het systeem operationeel. Het betekent echter, dat de data van het ras/rijpheidsexperiment nog handmatig moeten worden ingevoerd. Hiermee is inmiddels een begin gemaakt en naar verwachting zal dit mei 1992 zijn afgerond.

#### 3. Zuurbepaling

De optimalisatie van de zuurbepaling bracht veel meer complicaties met zich mee dan werd verwacht. Als de bepaling echter goed werkt, dan kunnen de

monsters in een tijdbestek van twee maanden worden genanalyseerd op organisch zuren en suikers.

## B. Publikaties

Momenteel is het nog een te vroeg stadium om de resultaten te publiceren. De publicatie(s) worden verwacht eind 1992.

## C. Werkzaamheden 1992

### Aanpak

#### 1. Onderzoek vluchtige aromacomponenten verse paprika

De GC-data (piekoppervlakken van de componenten) van tijdreeksperiment zullen verwerkt worden met het statistische programma unscrambler. Hiermee zal bepaald worden welke componenten statistisch verschillen en of er relaties tussen de afzonderlijke stoffen voor de diverse rijpheidsstadia zijn.

De GC-data van het ras/rijpheidsexperiment worden ook met Unscrambler bewerkt om statistische verschillen te bepalen. Daarnaast zullen deze data gekoppeld worden aan de sensorische gegevens van het smaakpanel en indien mogelijk het snuffelpanel. Mogelijk worden er relaties gevonden tussen sensorische en instrumentele analyses.

#### 2. Onderzoek smaakstoffen verse paprika

De HPLC-bepaling van zuren wordt verder geoptimaliseerd. Daarna kunnen de organische zuren, vitamine C en de rest van de suikers van het tijdreeks- en ras/rijpheidsexperiment bepaald worden. Deze data zullen ook gekoppeld worden aan de sensorische data met behulp van unscrambler.

#### 3. Sensorisch onderzoek met snuffelpanel

De snuffelpoortanalyses worden met een panel van 12 personen uitgevoerd die uit een groep van 100 mensen zijn geselecteerd op reukvermogen, -consistentie en creativiteit.

Het geselecteerde panel zal eerst getraind worden met een aantal proefmonsters om een geuromschrijvingenlijst te creëren en de mensen te trainen op geur-associatie. Vervolgens krijgen alle proefpersonen twaalf monsters aangeboden (2 rassen x 3 rijpheid x 2 bewerkingen). De snuffelpoortdata moeten vervolgens gekoppeld worden aan de GC-data. De twaalf (van de twaalf snuffelaars) afzonderlijke chromatogram/snuffel gegevens worden met een speciaal hiervoor ontwikkeld programma aan elkaar gekoppeld. Wanneer vijf of meer personen op hetzelfde moment wat ruiken wordt dit als een signaal beschouwd. Daaronder is het ruisniveau. Dit is bepaald aan de hand van het snuffelen van een blanco. Per

signaal wordt bepaald welke termen worden gegeven en of er overeenkomsten zijn. Alle twaalf monsters zullen tenslotte met elkaar vergeleken worden. Mogelijk komen er verschillen uit tussen rode en groene paprika's. Hoe deze data vertaald moeten worden naar het programma unscrambler is nog niet uitgezocht.

#### 4. Sensorisch onderzoek met smaakpanel

De sensorische data van het ras/rijpheidsstadium worden ingevoerd in unscrambler. Allereerst wordt bepaald hoe de paprika's zich onderling verhouden ten aanzien van de verschillende aspecten zoals zoet, zuur, bitter, paprika- aroma en grassigheid. In een volgende stap zal getracht worden om deze data te koppelen aan de instrumentele analyses. Het is mogelijk dat een nieuw experiment wordt uitgevoerd naar de sensorische gewaarwording van de twee rassen Mazurka en Evident.

Inmiddels wordt een speciaal panel getraind op reukvermogen. Mogelijk zal dit worden ingezet bij bovengenoemd experiment.

#### 5. Lipoxygenase onderzoek

Momenteel wordt gewerkt aan de karakterisering van het paprika-lipoxygenase. Aspecten zoals pH-profiel, hitte-inactivering, invloed van remmers en activatoren zullen worden onderzocht. In eerste instantie worden de experimenten uitgevoerd met het ruwe preparaat. Daarnaast wordt gewerkt aan de zuivering van lipoxygenase. Indien mogelijk worden substraat-additie experimenten uitgevoerd waarbij de vorming van vluchtige componenten zal worden bepaald.

#### **Fasering**

- Onderzoek vluchtige aromacomponenten verse paprika  
april-december 1992
- Onderzoek smaakstoffen verse paprika  
maart-december (50% van de tijd) 1992
- Sensorisch onderzoek met snuffelpanel  
jan-meï 1992
- Sensorisch onderzoek met smaakpanel  
april-meï 1992
- Lipoxygenase onderzoek  
januari-juli 1992

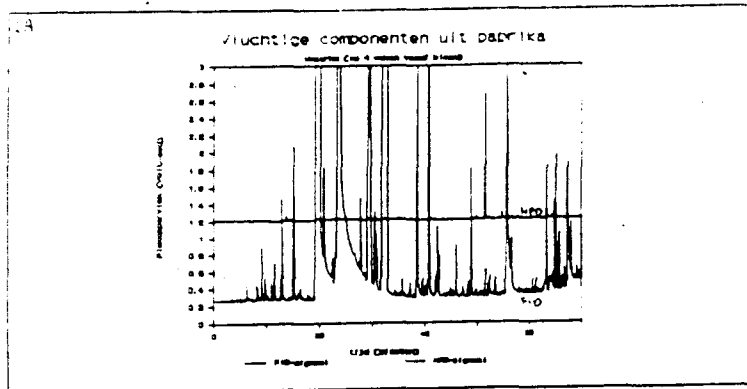
#### **Afwijking van de oorspronkelijke fasering**

De eerste fasering was zeer summier en er is weinig sprake van afwijking. Het programma is aangevuld met meer uitgebreide snuffelportanalyses en extra

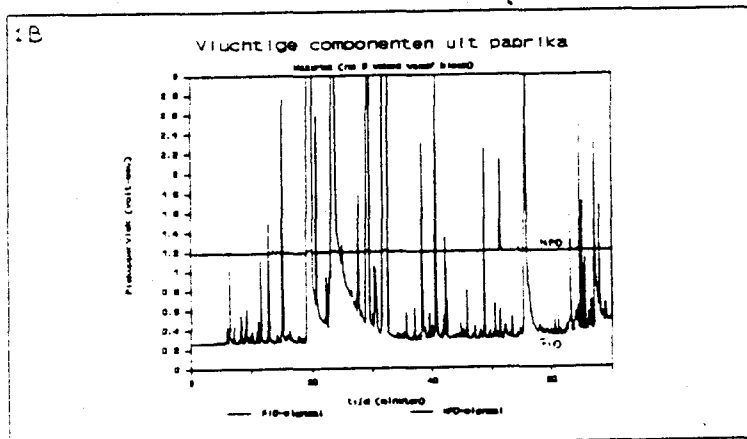
onderzoek naar lipoxygenase. De dataverwerking met unscrambler zal mogelijk meer tijd gaan kosten dan aangegeven, omdat dit nog niet eerder is uitgevoerd. In de oorspronkelijke fasering zijn ook de smaakstoffen bittere componenten en capsaïcine opgenomen. Capsaïcine zal niet bepaald worden, omdat de paprika's geen prikkelende smaak hadden. De ontwikkeling van een bepaling voor de bitterstoffen is vertraagd vanwege de problemen met de organische zuurbepaling.



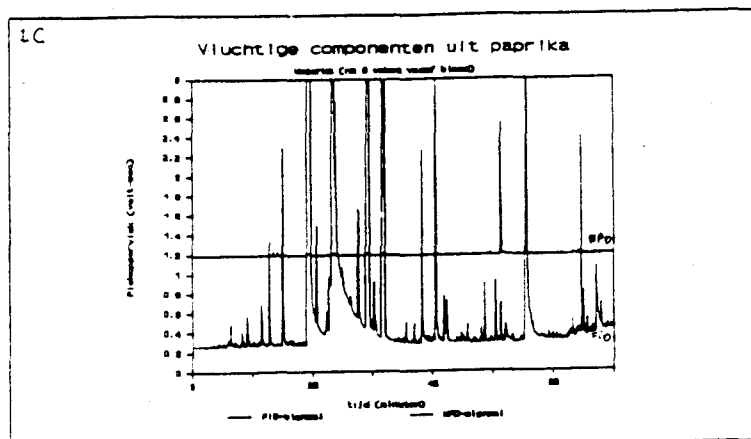
BIJLAGE I: Chromatogrammen van 30 g gemalen Mazurka in diverse rijpeidsstadia ( 4 t/m10 weken na vruchtzetting).



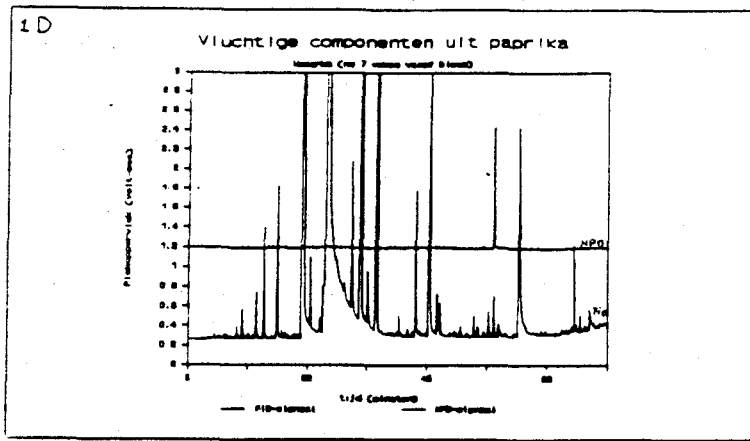
Mazurka op tijdstip 1 (= 4 weken na vruchtaanzetting)



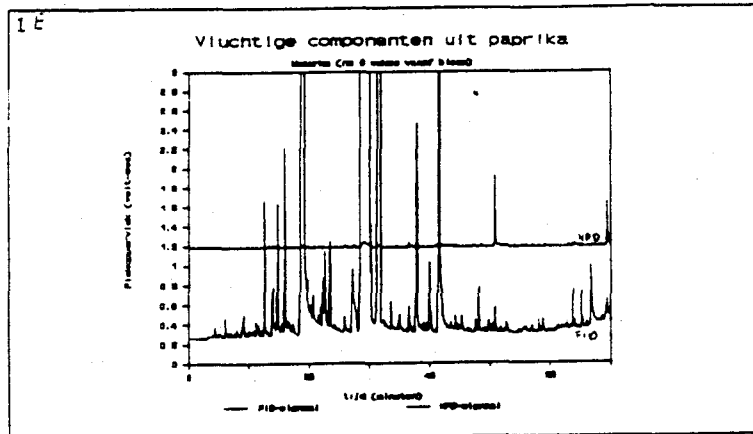
Mazurka op tijdstip 2 (= 5 weken na vruchtaanzetting)



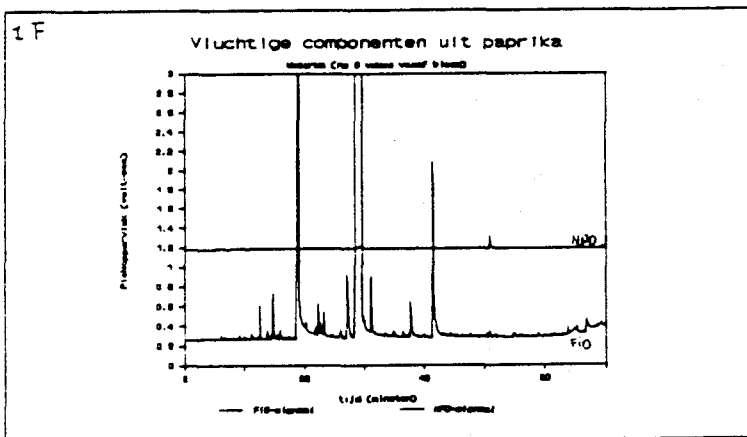
Mazurka op tijdstip 3 (= 6 weken na vruchtzetting)



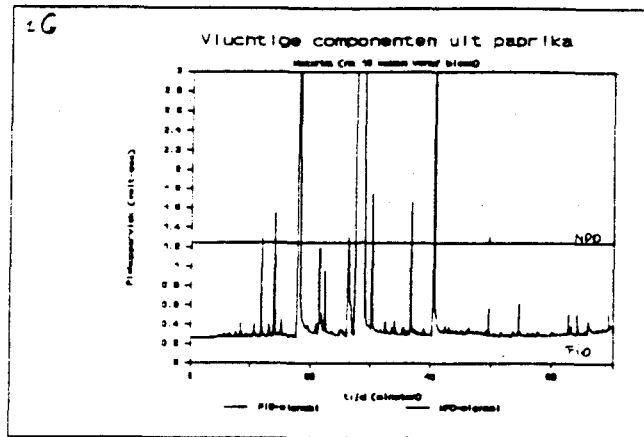
Mazurka op tijdstip 4 (= 7 weken na vruchtzetting)



Mazurka op tijdstip 5 (= 8 weken na vruchtzetting)

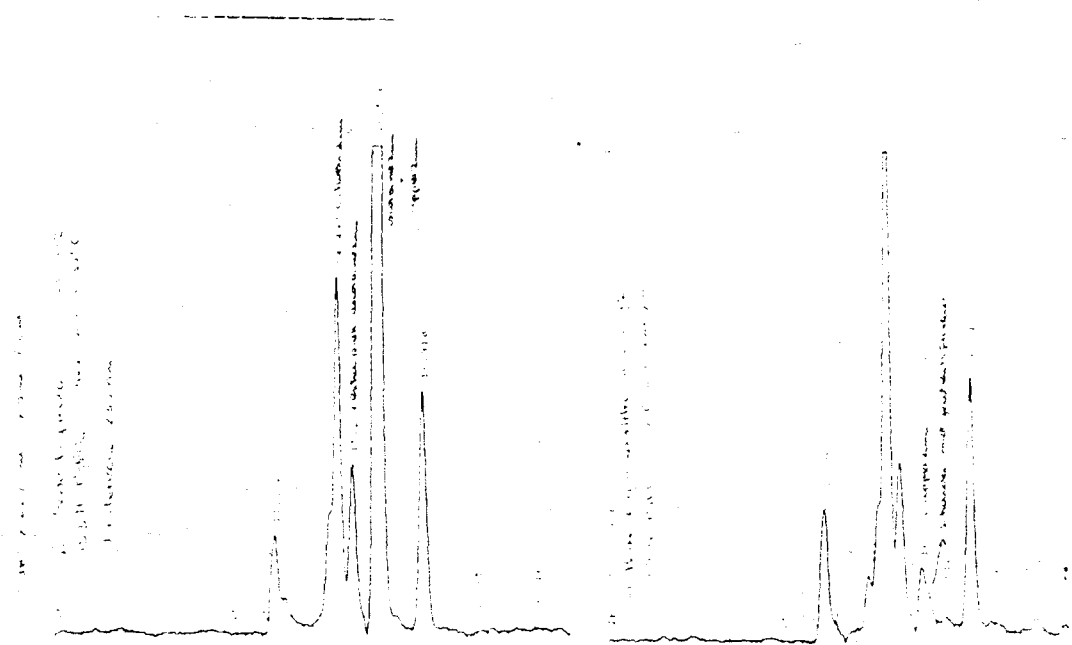
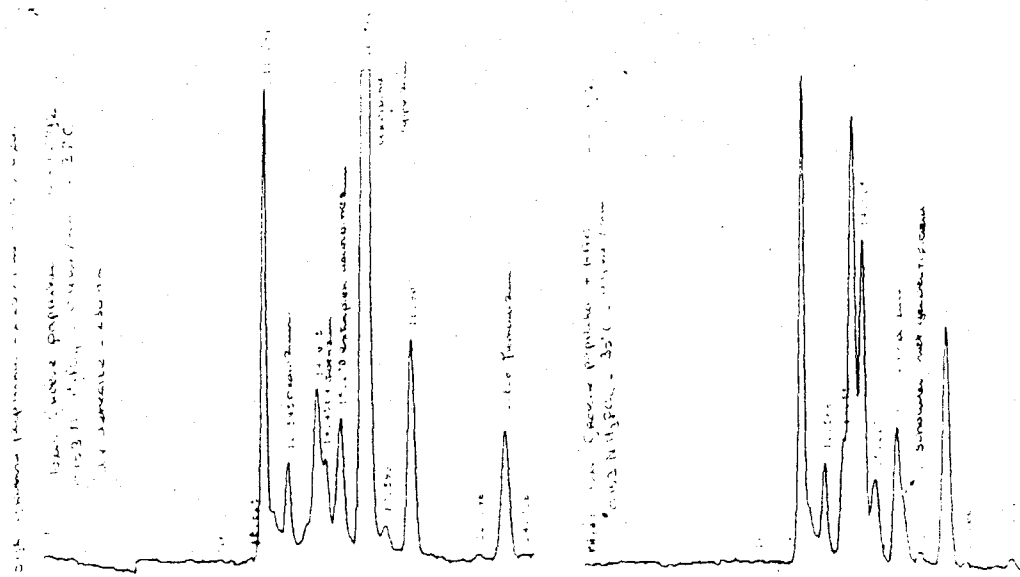


Mazurka op tijdstip 6 (= 9 weken na vruchtzetting)



Mazurka op tijdstip 7 (= 10 weken na vruchtzetting)

BIJLAGE II: HPLC-plaatjes van resp. een onvolgroeide groene paprika (t=1) en een rijpe rode paprika (t=7) zonder en met toevoeging van ascorbine oxidase.



## Voedselveiligheid en smaak

Projectnummer: 5.07.04

Deelproject 3: SMAAK

A. van Amerongen

### A. Verslag februari 1992

#### a. Ontwikkeling immunochemische toets scherpte radijs

Het 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanaat (MTBITC) is verantwoordelijk voor de scherpe smaak van radijs. Deze verbinding is een afbraakproduct van 4-methylthio-3-butenyl glucosinolaat (MTB-gluc) na reactie met het enzym myrosinase.

Na methanol-extractie en chromatografie op een DEAE-ionenwisselaar werden de verschillende glucosinolaten van elkaar gescheiden met behulp van reversed-phase HPLC. Opschaling naar semi-preparatief nivo maakte het mogelijk de hoofdpijk te identificeren met behulp van gaschromatografie-massaspektrometrie (GC-MS). Hiertoe werden het materiaal van de hoofdpijk en een standaard-glucosinolaat, sinigrine, gedesulfateerd en vervolgens gesilyleerd. Door vergelijking van de MS-spectra van beide trimethylsilyl-derivaten kon het produkt in de hoofdpijk geïdentificeerd worden als MTB-gluc. Voor het verkrijgen van antilichamen tegen MTB-gluc werd deze verbinding via een hemisuccinaat intermediair gekoppeld aan een drager-eiwit, Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH). Met dit conjugaat werden muizen en konijnen geïmmuniseerd voor het opwekken/bereiden van respectievelijk mono- en polyklonale antilichamen.

Om de kans op het verkrijgen van specifieke antilichamen te vergroten, wordt ook met MTBITC geïmmuniseerd. Hiertoe werd radijssap bereid bij kamertemperatuur om met behulp van het endogene enzym myrosinase MTB-gluc om te zetten in MTBITC. Het MTBITC werd vervolgens gescheiden van resterend MTB-gluc door extractie met dichloormethaan. Het opgezuiverde MTBITC werd geïdentificeerd met GC-MS, mede op basis van literatuur-gegevens. De verbinding werd via de isothiocyanaat groep gekoppeld aan KLH, waarna het conjugaat werd gebruikt voor immunisatie van muizen en konijnen.

#### b. ontwikkeling immunochemische toets bitterheid witlof

Op grond van literatuur-gegevens en recent onderzoek wordt een aantal sesquiterpeen lactonen in verband gebracht met de bittere smaak van witlof: lactucine, 8-deoxy-lactucine, lactucopicrine en/of de glyco-derivaten van deze verbindingen.

Analyse van witlof-extracten met reversed-phase HPLC levert complexe patronen op. Er worden beduidend meer componenten gevonden dan op grond van literatuur-gegevens verwacht werd. Een mogelijke verklaring is de betere

resolutie van de door ons gebruikte kolom. Verder zijn er aanwijzingen (zowel in de literatuur als in ons onderzoek) dat sesquiterpenen tijdens bewaren en afhankelijk van de omstandigheden worden omgezet. Door aanpassing van de samenstelling van het loopmiddel kunnen de verschillende componenten redelijk worden gescheiden. De drie aglycosidische sesquiterpeen lactonen zijn met behulp van GC-MS gelokaliseerd in het HPLC-chromatogram, evenals hun dihydro-derivaten.

Door behandeling van een extract met cellulase worden glycosidische sesquiterpeen lactonen gehydrolyseerd tot de vrije agluconen. Het opgezuiverde materiaal van enkele pieken vroeg in het HPLC-chromatogram, vermoedelijk gluconen, werd behandeld met cellulase en opnieuw op reversed phase HPLC geanalyseerd. Van een tweetal pieken bleek het omgezette materiaal een retentietijd te hebben gelijk aan lactucine, respectievelijk 8-deoxy-lactucine.

Met het oog op de correlatie met de bittere smaak zullen de belangrijkste componenten worden gekoppeld aan KLH voor het opwekken/bereiden van poly- en monoklonale anti-lichamen.

**VERPAKKINGEN**

Projectnummers: 5.06.03, 5.06.06

**Afbreekbare coatings en folies**

H. Tourmois

**Tarwegluten**

In de voorafgaande periode is een standaardrecept ontwikkeld voor de suspensies waaruit coatings en folies op basis van tarwegluten worden bereid. De fysische omstandigheden bij de bereiding van de coatings zijn gestandaardiseerd. In het kader van deze standaardisatie is onder meer de invloed van de droogtijd en -temperatuur op enkele mechanische eigenschappen onderzocht, te weten stress (de maximale treksterkte per oppervlak van de dwarsdoorsnede) en strain (de maximale relatieve verlenging). Deze eigenschappen zijn na conditionering van de coatings bij 20°C en 60% relatieve luchtvochtigheid bepaald met een Instron Universal Testing Machine. De resultaten staan vermeld in Tabel 1. Uit deze tabel blijkt dat de droogtijd (bij 60°C) geen invloed heeft op de stress en de strain; de droogtemperatuur echter wel. Boven een droogtemperatuur van 60°C neemt de treksterkte van de coatings toe en de rekbaarheid af bij toenemende temperatuur.

Tabel 1. De invloed van droogtijd en -temperatuur op coatingseigenschappen

	stress (N/mm <sup>2</sup> )	strain (%)
droogtijd bij 60°C		
3 uur	0,44	617
12 uur	0,48	605
droogtemperatuur		
20°C	0,57	492
60°C	0,60	598
80°C	0,88	486
100°C	1,11	399

L.S.D. (kleinste significante verschil) stress: 0,17 en strain: 84

Verder zijn de effecten van wijzigingen in de receptuur van de coatingssuspensie bestudeerd. Nagegaan is onder andere de invloed van concentratie weekmaker en stabilisator in de suspensie op de mechanische eigenschappen van de coatings.

De resultaten staan vermeld in Tabel 2. Het blijkt dat met toenemende concentratie van de weekmaker de sterkte van de coatings afneemt en de rekbaarheid toeneemt. De additie van de stabilisator (bij 30% weekmaker) leidt tot versterking van de coatings en vermindering van de rekbaarheid ervan. Verschil in concentratie van de stabilisator (4 en 8%) heeft geen effect op de mechanische eigenschappen.

Tabel 2. De invloed van concentratie weekmaker op coatingseigenschappen

concentratie weekmaker	stress (N/mm <sup>2</sup> )	strain (%)
15%	1,32	255
20%	0,95	486
25%	0,85	445
35%	0,53	658
45%	0,54	622
concentratie stabilisator		
4%	1,18	254
8%	1,23	218

L.S.D. (kleinste significante verschil) stress: 0,25 en strain: 93

Sturing van de mechanische eigenschappen van de coatings door middel van aanpassingen in de receptuur en fysische omstandigheden blijkt dus mogelijk te zijn. Verder is uit verkennend onderzoek gebleken dat de coatingssuspensies verspuitbaar zijn en dat de coatings geen nadelig invloed hebben op levende produkten.

Momenteel ligt de nadruk van het onderzoek op:

- de bepaling van waterdoorlaatbaarheid van coatings in afhankelijkheid van de receptuur en de bereidingswijze
- de invloed van variatie in de grondstof op de eigenschappen van de coatings

### Zetmeel plastics

Dit onderzoek is gericht op de ontwikkeling van biologisch afbreekbare folies en coatings en het nagaan van mogelijkheden voor het gebruik van deze materialen in MA- en CA-verpakkingen t.b.v. groente en fruit.

Het doel van het project is 1) ontwikkeling van technologieën voor de vervaardiging van deze materialen en 2) verkrijgen van inzicht in relaties tussen grondstoffen, de moleculaire structuur van de plastics en functionele eigenschappen. In eerste instantie zijn er verschillende methoden voor vervaardiging ontwikkeld: extrusie en gietprocessen voor zowel coatings, films, folies en granulaat. Met granulaat kunnen voorwerpen gemaakt worden (doosjes, flesjes, dekseltjes).

De methoden zijn in het afgelopen jaar verbeterd en er is gestart met het systematisch in kaart brengen van de vele verschillende procesparameters en invloeden van deze parameters op functionele eigenschappen van de produkten.

Met het oog op de ontwikkeling van folies voor MA en CA werd een methode opgezet waarmee op zeer controleerbare wijze films, folies en coatings kunnen worden gemaakt. Met de opstelling kunnen folies van 5-10 µm dikte gemaakt worden met de afmeting van 21 x 30 cm (A4). De droogtijd/temperatuur kan worden ingesteld.

De geproduceerde films zullen verder gebruikt worden voor metingen van gaspermeabiliteit en vochtopname. Deze eigenschappen zullen onderzocht worden in relatie met de structureigenschappen (microstructuur, kristalliniteit, heliceiteit) van de plastics.

Om dit structuuronderzoek mogelijk te maken zijn enkele analysemethoden ontwikkeld m.b.t. molecuulgewichtsverdeling (HPSEC-MALLS) en heliceiteit (FTIR).

Tevens worden analysemethoden opgezet voor het vastleggen van mechanische (treksterkte onder geconditioneerde omstandigheden, elasticiteitsmodulus) en thermische eigenschappen (glastemperatuur, smeltemperatuur).

Met behulp van deze analysemethoden zullen de complexe proces-structuur-eigenschaprelaties worden onderzocht.

Gasdoorlaatbaarheid en vochtopname zullen worden onderzocht als functie van de zetmeelsoort, weekmaker (type en gehalte), procesparameters en structureigenschappen.

Deze experimenten zijn in voorbereiding.



## **Modelleren van MA-verpakkingen van groenten en fruit**

Projectnummer: 1.05.11

H. Peppelenbos

### **A. Verslag 1991**

#### **Probleemstelling**

Bij kamertemperatuur (18 °C, zoals in een supermarkt) gaat de kwaliteit van broccoli snel achteruit (verkleuring van groen naar geel en verlies van stevigheid). Door de stronkjes in PVC te wikkelen wordt de houdbaarheid iets verlengd. Ook in 1991 vond dit nog steeds plaats (vakblad AGF, 1991). Onduidelijk is of de omstandigheden in de verpakking optimaal zijn. Wellicht is er een betere verpakking mogelijk. Daarnaast zijn er ernstige bezwaren tegen het gebruik van PVC (vanuit het oogpunt van het milieu). Het vinden van de optimale bewaaromstandigheden en een milieuvriendelijke verpakking die dit kan bewerkstelligen is dan ook sterk gewenst.

Langdurige bewaring van diverse soorten groenten en fruit is mogelijk bij een zorgvuldige instelling van de omstandigheden rond het produkt. Een juiste keuze en handhaving van temperatuur, luchtvochtigheid, zuurstof- en kooldioxideconcentraties zijn hierbij van belang. Met behulp van verpakkingen is het mogelijk de omstandigheden rond het produkt te beïnvloeden. Omdat een levend produkt zuurstof gebruikt en kooldioxide afgeeft en een verpakking in beperkte mate doorlatend is voor zuurstof en kooldioxide, zullen verschillende aspecten op elkaar afgestemd moeten worden om de meest optimale luchtsamenstelling in de verpakking te kunnen bereiken. Hiervoor is kennis nodig omtrent de optimale en sub-optimale bewaaromstandigheden van het produkt en de eigenschappen van verpakkingsmaterialen bij verschillende omstandigheden. 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 O<sub>2</sub>-concentratie, de CO<sub>2</sub>-concentratie en de mate van indroging (= flow \* luchtvochtigheid), op het verloop van de kwaliteit van verschillende groenten.
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.

### Fasering

Omdat het onderzoek in verschillende fasen is onderverdeeld en er meerdere groenten onderzocht zullen worden, is de jaarplanning schematisch opgezet. Er zijn in eerste instantie drie groenten geselecteerd om MA-onderzoek aan te verrichten: broccoli, prei en witlof. Omdat dit nog geen definitieve keuzes zijn worden de groenten in de planning met groente-1 tot en met groente-3 aangeduid.

Het onderzoek bestaat uit de volgende fasen:

1. CA/MA: wat is de invloed van de gassenstelling op het verloop van de kwaliteit.
2. RESPIRATIE: wat is de ademhaling bij verschillende luchtsamenstellingen en hoe snel past de ademhaling zich aan veranderende omstandigheden aan.
3. VOCHT: hoe gevoelig is het produkt voor uitdroging of een hoge luchtvochtigheid.
4. VERPAKKING: de eigenschappen van verpakkingsmaterialen worden onderzocht (ander project).
5. VALIDATIE: controle experimenten (zijn de resultaten reproduceerbaar en betrouwbaar). Groente en verpakking worden samen onder verschillende omstandigheden getest. Tevens wordt het model beoordeeld.

### Globale Jaarplanning 1991-1995:

JAAR	BROCCOLI	GROENTE-2	GROENTE-3
1991	CA/MA VOCHT		
1992	RESPIRATIE VERPAKKING	CA/MA VOCHT	
1993	VALIDATIE	RESPIRATIE VERPAKKING	CA/MA
1994		VALIDATIE	VOCHT RESPIRATIE VERPAKKING
1995			VALIDATIE

Modellering vindt voortdurend plaats waarbij de resultaten van de experimenten worden gebruikt.

### Gedetailleerde Planning 1991

De belangrijkste kwaliteitscriteria voor broccoli zijn kleur en stevigheid. Om een goede vergelijking tussen verschillende experimenten mogelijk te maken is het gebruik van objectieve meetmethoden noodzakelijk.

Omdat broccoli een groene groente is biedt het gebruik van de fluorescentietechniek mogelijkheden om het kleurverloop van groen naar geel non-destructief te volgen. Omdat het functioneren van het fotosysteem gemeten wordt en dit functioneren doorgaans afneemt voordat het chlorofyl wordt afgebroken, bestaat de mogelijkheid dat aan de hand van deze metingen een voorspelling gedaan kan worden over de termijn waarbinnen de verkleuring zal plaatsvinden. Verder zal de stevigheid van de stengel met behulp van compressiemetingen (Instron) worden gevolgd. Voordat de bewaarexperimenten plaatsvinden worden deze meetmethoden getest (plaats en grootte monster, herhaalbaarheid, opgeleverde informatie).

1. Literatuuronderzoek naar de invloed van zuurstof en kooldioxide op broccoli
2. Onderzoek naar objectieve meetmethoden van de kwaliteit
  - temperatuur (°C): 18
  - R.V. (%): 70, 99
  - O<sub>2</sub> (%): 21
  - CO<sub>2</sub> (%): 0.05
3. Experiment invloed zuurstof en kooldioxide
  - temperatuur (°C): 18
  - R.V. (%): 99
  - O<sub>2</sub> (%): 2, 21
  - CO<sub>2</sub> (%): 0.05, 3, 10
4. Onderzoek invloed van luchtvochtigheid (indroging) op kwaliteit
  - temperatuur (°C): 18
  - indroging: verschillend (d.m.v. wel/niet bevochtigen en hoge/lage flow)
  - O<sub>2</sub> (%): 21
  - CO<sub>2</sub> (%): 0.05

De metingen die aan het produkt verricht zullen worden zijn:

1. vers- en drooggewicht (droge-stof gehalte, vochtverlies)
2. stevigheid
3. kleur
4. ontwikkelingsstadium (bloei, visuele beoordeling)
5. voorkomen van schimmels of bacteriën (visuele beoordeling)
6. ademhalingssnelheid

## 7. ethyleenproductie

Omdat de verkleuring van broccoli voornamelijk wordt beïnvloed door ethyleen en van andere produkten bekend is dat hoge CO<sub>2</sub>-concentraties de productie en/of werking van ethyleen remmen, zal tijdens de bewaring de ethyleenproductie van broccoli gemeten worden.

### Verslag van de werkzaamheden 1991

#### 1. Ontwikkeling objectieve meetmethoden kwaliteit

Ter aanvulling/vervanging van de huidige subjectieve kwaliteitscriteria (zie b.v. Wang, 1979) zijn voor de belangrijkste kwaliteitskenmerken van broccoli (kleur en stevigheid), een aantal meetmethoden op hun bruikbaarheid onderzocht. Dit zijn chlorofylfluorescentie- en plunjercompressie-metingen.

Het meten van de chlorofylfluorescentie levert informatie op over hoe het fotosynthese-apparaat met het aangeboden licht omgaat. Vergeling, in feite afbraak van chloroplasten, is met fluorescentiemetingen te volgen. Door middel van optimalisatie van de meting (tijdsduur, lichtintensiteit, voorbehandeling) wordt nagegaan of er al verschillen meetbaar zijn in fluorescentie voordat verkleuring (vergeling) daadwerkelijk plaatsvindt. Een dergelijke meetmethode is erg waardevol voor een model dat het verloop van de kwaliteit berekent en voorspelt.

Uit een bewaarexperiment bleek dat de verschillen in fluorescentie vrij klein waren voordat vergeling plaatsvond en erg groot daarna. Toch was het verloop van die eerste kleine verschillen steeds gelijk. Om de waarde van deze meetmethode echt te kunnen aangeven, zal het bewaarexperiment herhaald worden, waarbij een groter aantal stronkjes gevolgd zal worden.

Stevigheid wordt tot dusver subjectief (met een panel) of met de Shear-press methode gemeten. Hoewel met de laatste methode (kleine) verschillen gemeten zijn (Lipton en Harris, 1974) is onduidelijk wat de oorzaak van deze verschillen is: turgorverlies of celwandafbraak. Omdat in het onderzoek ook naar de invloed van de luchtvochtigheid (en de mate van indroging) wordt gekeken, is gezocht naar een andere meetmethode.

Nadat verschillende meetmethoden met de Instron duw-trekbank getest zijn, blijkt vooral met behulp van plunjercompressie het turgorverlies van broccoli goed te volgen te zijn.

#### 2. Onderzoek naar de invloed van zuurstof en kooldioxide op de kwaliteit

Na literatuuronderzoek is duidelijk geworden dat de optimale bewaaromstandigheden voor broccoli goed bekend zijn. Naast een zo laag (0-1°C) mogelijke

temperatuur (Klieber, Wills, 1991) wordt ook een hoge relatieve luchtvochtigheid (95-99% r.v.) geadviseerd (Forney et al., 1989, Klieber, Wills, 1991).

Lage zuurstofconcentraties onderdrukken de respiratie (Lieberman en Hardenburg, 1954, Lebermann et al., 1968), de ethyleenproductie (Lieberman en Spurr, 1955), de geelverkleuring en de chlorofylafbraak (Lieberman en Hardenburg, 1954, Lebermann et al., 1968, Lipton en Harris, 1974, Makhlof et al., 1989) en verlengt de houdbaarheid (Klieber en Wills, 1991).

Verhoogde kooldioxideconcentraties onderdrukken de geelverkleuring en chlorofylafbraak (Lieberman en Hardenburg, 1954, Wang, 1979, Makhlof et al., 1989, Klieber en Wills, 1991) en de schimmelgroei (Wang, 1979, Aharoni et al., 1977). Ook de combinatie van laag zuurstof en hoog kooldioxide levert dezelfde effecten op (Poapst et al., 1985, Yang en Henze, 1988, Deschene et al., 1991).

De concentraties waarbij dergelijke effecten werden waargenomen, zijn 0-3% zuurstof en 5-40% kooldioxide. Bij zeer lage zuurstofconcentraties (lager dan 1%) en zeer hoge kooldioxideconcentraties (hoger dan 6%) kunnen echter sterke geurproblemen ontstaan (Kasmire et al., 1974, Lipton en Harris, 1974, Wang, 1979, Ballantyne et al., 1988).

Uit experimenten van Brackett (1989) blijkt dat broccoli in verpakkingen met lager zuurstof en hoger kooldioxide langer houdbaar is. Ballantyne et al. (1988) vindt echter geen voordelen. De evenwichtconcentraties die hij vindt, zijn 2-3% zuurstof en 2-3% kooldioxide.

Als de resultaten uit de literatuur gecombineerd worden (waarbij wordt aangenomen dat de verschillen tussen cultivars en seizoenen niet heel groot zijn), lijken de optimale concentraties voor de bewaring van broccoli ongeveer 1-2% zuurstof en 3-6% kooldioxide te zijn.

Een uitgebreid bewaarexperiment waarbij verschillende zuurstof- en kooldioxideconcentraties getest werden, leek dan ook niet zinvol. Wel is een klein experiment uitgevoerd waarbij het verloop van de kleur en de stevigheid bij twee zuurstof- (2%, 21%) en drie kooldioxideconcentraties (0.05%, 3%, 10%) gevolgd werd. De resultaten kwamen overeen met de literatuur (geelverkleuring geremd, geen invloed op de stevigheid) met als verschil dat er bij 10% kooldioxide na drie dagen bewaren geen geurproblemen waren.

### 3. Onderzoek naar de invloed van luchtvochtigheid (indroging) op de kwaliteit

Tot dusver is vooral gekeken naar de invloed van de luchtvochtigheid (Forney et al., 1989, Klieber en Wills, 1991) en niet naar de mate van indroging op de kwaliteit (de combinatie van luchtvochtigheid, temperatuur en luchtverversingsnelheid). Forney et al. (1989) hebben verpakte broccolistronkjes bij verschillende luchtvochtigheden (40-45% en 90-95% r.v.) van de omgevingslucht bewaard. Er ontstonden verschillende evenwichtconcentraties in de verpakkingen. Bij de lagere r.v. ontstond een hogere zuurstof- en een lagere kooldioxideconcentratie. De respiratie (zuurstofverbruik en kooldioxideproductie) was echter hoger.

Mogelijk werd de doorlatendheid van de verpakking zelf beïnvloed. Verder was bij de lage r.v. het gewichtsverlies groter en waren de stronkjes slapper.

In een eigen experiment is broccoli bij verschillende omstandigheden in een doorstroomsysteem (bevochtiging, luchtverversing) bewaard. Daarnaast zijn verpakte (PVC) en onverpakte stronkjes in een ruimte gezet met een r.v. van 65%. De temperatuur was 18°C en de zuurstof- en kooldioxideconcentraties gelijk aan normale buitenlucht (zoals in een supermarkt).

Er bleek een duidelijke relatie tussen uitdroging en stevigheid te zijn. Vooral het verschil tussen verpakte en onverpakte broccoli was erg groot. De stevigheid van de verpakte broccoli was na 5 dagen bewaren nauwelijks veranderd, terwijl de stevigheid van de onverpakte broccoli sterk was afgenomen. Overigens was er al na 1 dag bewaren een verschil tussen verpakt en onverpakt meetbaar (Instron compressie metingen). Daarnaast bleek ook de mate van uitdroging en de snelheid van de geelverkleuring met elkaar verband te houden (hoe droger hoe geler). Mogelijk dat in een nieuw experiment dit effect nauwkeuriger kan worden gevolgd.

#### 4. Modellering

Met de ontwikkeling van het model is een begin gemaakt. Het verloop van gasconcentraties in een verpakking als gevolg van respiratie en diffusie kan worden berekend. De constanten die in de formules gebruikt worden, zijn echter niet helemaal volledig en betrouwbaar. Respiratiemetingen (bij diverse concentraties) en diffusiemetingen van diverse verpakkingsmaterialen moeten de ontbrekende kennis aanvullen. Een volgende stap is het inbouwen van de invloeden van de ontstane concentraties op de kwaliteit van broccoli in de verpakking.

#### **Vergelijking fasering 1991 met resultaten 1991**

Er is minder tijd aan CA/MA-experimenten besteed dan vooraf noodzakelijk werd geacht. Hiertoe is besloten na een uitgebreide literatuurstudie. Daarnaast is meer tijd besteed aan de ontwikkeling van objectieve meetmethoden. Dit was noodzakelijk omdat dergelijke meetmethoden er voor broccoli niet waren, en bij modelvorming nauwkeurige en herhaalbare gegevens gewenst zijn. Verder ligt het onderzoek op schema.

## B. Werkzaamheden 1992

### Aanpak

Dit jaar zullen er nauwkeurige respiratiemetingen plaatsvinden bij CA-condities. Tot dusver vonden respiratiemetingen op verschillende manieren plaats. Veel gebruikt is de 'head-space' methode, waarbij eerst de concentratie wordt gemeten, waarna een volume met produkt wordt afgesloten. Na een bepaalde periode wordt opnieuw de concentratie gemeten. Het verschil in kooldioxideconcentratie gedeeld door de tijd en het gewicht van het produkt levert de respiratiesnelheid op (Lebermann et al., 1968, Makhlof et al., 1989). Nadeel van deze methode is dat respiratie beïnvloed wordt door zuurstof en kooldioxide. Als de concentratieverschillen te groot worden, kan niet worden uitgesloten dat de respiratiesnelheid aan het begin van de meting (voor afsluiten) anders is dan aan het eind.

Een andere methode is het laten vastleggen van kooldioxide door een absorptiemateriaal, zoals KOH (Liebermann, Hardenburg, 1954, Aharoni et al., 19?? ). Na een bepaalde periode wordt de KOH met een zuur getitreerd (HCl). Het grootste nadeel van deze methode is dat de respiratiesnelheid niet bij verschillende kooldioxideconcentraties kan worden gemeten.

Met een nieuw te gebruiken apparaat (Chrompack CP 2001) wordt CO<sub>2</sub>-accumulatie, maar ook O<sub>2</sub>-afname gemeten. Het apparaat is in staat verschillen van 0.01% te meten, waardoor het verschil dat ontstaat heel klein is, evenals de beïnvloeding van de respiratie als gevolg van dat verschil. Er is per meting maar een heel klein monstervolume nodig, waardoor zonder veel drukverlies meerdere monsters in de tijd genomen kunnen worden. Daarom is het niet noodzakelijk om een vaste tijdperiode te wachten met meten (totdat het verschil groot genoeg is voor de tot dusver gebruikte onnauwkeurige apparatuur), maar tot een maximaal verschil is ontstaan.

Metingen van eigenschappen van verschillende verpakkingsmaterialen zullen dit jaar een aanvang nemen. Deze metingen zullen worden uitgevoerd door H.A.M. Boerrigter en R.G. Evelo.

Een nieuw te onderzoeken groente zal nog moeten worden gekozen. Mogelijkheden zijn prei en witlof. Net als bij broccoli zal, voordat experimenten zullen plaatsvinden, een literatuurstudie worden uitgevoerd. Ontbrekende informatie ten aanzien van de invloed van zuurstof, kooldioxide en luchtvochtigheid (indroging) wordt dan duidelijk. Op grond daarvan zullen de experimenten worden opgezet. In principe zal in deze experimenten de invloed van de genoemde factoren, op de voor de gekozen groente belangrijkste kwaliteitsfactoren, worden onderzocht.

## Fasering

De fasering 1991-1995 wordt gevolgd.

## Literatuur

- Anon., 1991, Wijziging broccoli-verpakking. Vakblad AGF, 18 april, p 13.
- Aharoni N., Philosoph-Hadas S., Barkai-Golan R., 1977. Modified atmospheres to delay senescence and decay of broccoli. ??, pp 169-177.
- Ballantyne A., Stark R., Selman J.D., 1988, Modified atmosphere packaging of Broccoli florets. *Int.J.Food Sci.Techn.*, 23, pp 353-360.
- Brackett R.E., 1989, Changes in the microflora of packaged fresh broccoli. *J.Food Quality*, 12, pp 169-181.
- Deschene A., Paliyath G., Lougheed E.C., Dumbroff E.B., Thompson J.E., 1991. Membrane deterioration during postharvest senescence of broccoli florets: modulation by temperature and controlled atmosphere storage. *Posth.Biol.Techn.*, 1, pp 19-31.
- Forney C.F., Rij R.E., Ross S.R., 1989. Measurement of broccoli respiration rate in film-wrapped packages. *HortScience*, 24, pp 111-113.
- Kasmire R.F., Kader A.A., Klaustermeyer J.A., 1974. Influence of aeration rate and atmospheric composition during simulated transit on visual quality and off-odor production by broccoli. *HortScience*, 9, pp 228-229.
- Klieber A., Wills R.B.H., 1991, Optimisation of storage conditions for 'Shogun' broccoli. *Scientia Hort.*, 47, pp 201-208.
- Lebermann K.W., Nelson A.I., Steinberg M.P., 1968. Post-harvest changes of broccoli stored in modified atmospheres. *Food Technology*, 22, pp 488-493.
- Liebermann M., Hardenburg R.E., 1954. Effect of modified atmospheres on respiration and yellowing of broccoli at 75 degrees F. *Proc. Amer.Soc.Hort.Sci.*, 63, pp 409-414.
- Lieberman M., Spurr R.A., 1955. Oxygen tension in relation to volatile production in broccoli. *Amer.Soc.Hort.Sci.Proc.*, 65, pp 381-386.
- Lipton W.K., Harris C.M., 1974, Controlled atmosphere effects on the market quality of stored broccoli (*Brassica oleracea* L., *Italica* group). *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 99(3), pp 200-205.
- Makhlof J., Castaigne F., ArulJ., Willemot C., Gosselin A., 1989. Long-term storage of broccoli under controlled atmosphere. *HortScience*, 24, pp 637-639.
- Poapst P.A., 1985. Long storage of broccoli. *Acta Hort.*, 157, pp 160.
- Wang C.Y., Effect of short-term high CO<sub>2</sub> treatment on the market quality of stored broccoli. *J. Food Sci.*, 44, pp 1478-1482.
- Yang Y.J., Henze J., 1988. Einfluss der CA-Lagerung auf äussere und innere Qualitätsmerkmale von Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), II. Veränderungen der Chlorophyll- und Carotenoidgehalte. *Gartenbauwissenschaft*, 53, pp 41-43.



## Verpakking groenten en fruit

Projectnummer: 7.02.31

R.G. Evelo

### A. Verslag 1991

#### **Probleemstelling**

Alle groenten- en fruitprodukten worden, voordat zij bij de consument aankomen, op een of andere wijze verpakt. De keuze van het verpakkingsconcept ( b.v. maatvoering, gebruikte materialen) is er op gericht dat het produkt zo goed mogelijk de afzetketen doorloopt. Gelet op de milieudiscussie rond verpakkingen en ontwikkelingen op het gebied van materialen is er de noodzaak nieuwe en bestaande verpakkingsvormen te evalueren t.a.v. produktkwaliteit en milieu.

#### **Doelstelling**

Dit project beoogt de interactie van het produkt met de verpakking en het klimaat (temperatuur, relatieve luchtvochtigheid, zuurstof-, kooldioxide- en ethyleenconcentraties) te beschrijven. Hiervoor worden systemen ontwikkeld waarmee uiteindelijk een evaluatie van verpakkingsconcept t.a.v. de produktkwaliteit kan worden gemaakt. Het is gewenst op basis van verschillende interacties met het klimaat het onderzoek te splitsen in twee delen.

- A) voorspellen van gasconcentraties in een gesloten verpakking
- B) afkoelgedrag van openverpakkingen met de koelmethode als variabele.

#### **Fasering**

Het onderzoek over het afgelopen jaar valt uiteen in drie delen:

- Onderzoek naar het microklimaat in een open kartonnen verpakking, toegepast op rode paprika in een palletstapeling (B)
- Het bepalen van een deel van de ademhalingsmatrix voor Elstar appels t.b.v. het Modified Air (MA) verpakkingsmodel (A)
- Het ontwikkelen en operationeel maken van een meetopstelling voor onderzoek aan het systeem de gesloten consumenten verpakking (A)

#### Het microklimaat in een open verpakking

Het doel van het experiment was het vaststellen van de rol van de verpakking op het microklimaat en de consequentie voor de kwaliteit van het produkt. De eerste stap in dit onderzoek is het vaststellen van het microklimaat in de doos. Onder het microklimaat in een open verpakking verstaan we hier de temperatuur, de

relatieve luchtvochtigheid (RV), en de luchtcirculatiesnelheid. Door de beperkte luchtcirculatie door de gaten van een doos is het niet noodzakelijk dat het microklimaat gelijk is aan het macroklimaat buiten de dozen. Deze circulatie wordt in een palletstapeling nog meer belemmerd en is o.a. afhankelijk van het stapelpatroon.

Als produkt voor deze proef hebben we rode paprika's genomen, want deze zijn gevoelig voor uitdroging. De verwachting was dat er bij het afnemen van de luchtsnelheid langs de doos de RV in de doos zal stijgen. Een stijging van de RV in de doos zou tot een verlaging van het gewichtsverlies van de paprika's kunnen leiden, maar ook kwaliteitsverlies door extra rot als gevolg van condensatie. De RV wordt gemeten met capacatieve vochtsensoren. Voor de relatie tussen uitdroging (het gewichtsverlies), condensatie en kwaliteit zijn aparte experimenten verricht die elders worden besproken.

In het experiment blijkt dat onder de normale condities van geforceerde langstroomkoeling met een snelheid van ca. 1 m/s langs de dozen, de RV in de dozen ca. 5 % hoger is bij een temperatuur van 8°C en een RV van 90% in het macroklimaat. Het blijkt dat het verschil tussen de RV van het microklimaat en het macroklimaat ook afhankelijk is van de doos in de pallet binnen een horizontale laag. De twee dozen met drie zijden vrij, vertonen een betere luchtuitwisseling dan de andere zes, in dezelfde laag van de pallet. Deze een hebben hierdoor een iets lagere RV (ca. 4%) dan de andere zes.

#### Ademhalingsmatrix van Elstar

In het kader van de MA-modellering voor groenten en fruit is een begin gemaakt met het meten van de ademhaling van Elstar appels onder diverse gassamenstellingen. De experimenten richten zich op de afhankelijkheid van de ademhaling en de hardheid van Elstar voor verschillende concentraties kooldioxide. Bij 1.5% en 21% zuurstof is een reeks kooldioxide concentraties opgelegd. Dit bij 4 °C en 15 °C. Het experiment geeft zoals verwacht aan dat de respiratie bij lage zuurstof concentratie wordt geremd. De aanwezigheid van CO<sub>2</sub> kan ook de ademhaling remmen, echter boven de 10% neemt de respiratie weer toe. Het effect van de CO<sub>2</sub> is bij 1.5% O<sub>2</sub> kleiner t.o.v. 21% O<sub>2</sub>.

De hardheid wordt gemeten m.b.v. een penetrometer. Bij een O<sub>2</sub>-percentage van 1.5% is er geen invloed van de CO<sub>2</sub>-concentratie op de hardheid. Bij 21% zuurstof zijn de appels, bewaard bij lage concentraties, zachter dan bij hoge concentraties.

Om dit onderzoek te relateren aan reële situaties zijn de gascondities in commercieel verkrijgbare verpakkingen gemeten (zie Tabel 1).

Het combineren van deze gegevens met het ademhalingsexperiment laat zien dat de CO<sub>2</sub>-concentratie in de verpakking een factor 3 hoger mag zijn om zo de ademhaling te remmen en de hardheid tijdens de afzet beter te behouden. Dit kan men bereiken door een verpakkingsfolie te selecteren met een lagere CO<sub>2</sub>-permeabiliteit.

Diffusie apparatuur en modelverpakkingen

Het MA-onderzoek richt zich op de regeling en beschrijving van het klimaat in de verpakte ruimte. Bij een MA-verpakking (gesloten verpakking) verstaan we onder het klimaat de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>- concentraties, de RV en de temperatuur.

Bij een MA-verpakking met groenten of fruit is dit klimaat in de verpakking niet gelijk te zijn aan het klimaat buiten de verpakking.

De verpakking en het produkt benaderen we als een systeem. Onderzocht worden verschillende deelaspecten van de interactie van de verpakking met het produkt en het klimaat. Daarnaast komen specifieke produkt- en materiaaleigenschappen naar voren. In dit kader is de eerder genoemde ademhalingsmatrix van Elstars te plaatsen. Er zijn ook ademhalingsgegevens verzameld over aardbeien en asperges. Hiernaast onderzoeken we enkele materiaaleigenschappen die van belang zijn voor de interactie tussen het produkt en de verpakking.

De diffusiekarakteristiek van het verpakkingsmateriaal is zo'n eigenschap. Deze diffusie-eigenschappen moeten voor de verschillen de gassen en verschillende verpakkingsmaterialen (folies en coatings) separaat worden gemeten. Hiervoor is het afgelopen jaar apparatuur ontwikkeld waarmee het mogelijk is de diffusie voor CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> en C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> onder een groot bereik van RV- en temperatuurinstellingen te bepalen. Hierdoor zijn we in staat om onder omstandigheden zoals deze zich in de praktijk voordoen te meten. Tevens zijn er faciliteiten ontwikkeld om het waterdamptransport door het verpakkingsmateriaal te meten.

De verpakte produkt is een complex systeem waarin verschillende grootheden diverse interacties met elkaar hebben. Zo zijn de diffusie- en de respiratiesnelheid in het algemeen afhankelijk van de temperatuur. Deze heeft ook grote invloed op de mate van indroging van het produkt, omdat de maximale hoeveelheid waterdamp die de lucht kan bevatten sterk temperatuurafhankelijk is.

De temperatuur is slechts een van de grootheden die met de verschillende processen interacties heeft. Dergelijke complexe interacties hebben hun invloed op de totstandkoming van de evenwichtssituatie van de gassenstelling. Een lage zuurstofconcentratie zal de respiratie remmen waardoor er minder zuurstof door het produkt wordt geproduceerd. Afhankelijk van het zuurstoftransport door het verpakkingsmateriaal, die ook weer afhankelijk is van de zuurstofconcentratie zal deze laatstgenoemde stijgen dan wel dalen. Deze stijging dan wel daling hebben weer hun invloed op de zuurstofproductie van het produkt en het zuurstoftransport door het verpakkingsmateriaal.

Om uiteindelijk de verschillende interacties, waarvan enkele hierboven zijn aangegeven, te kunnen beschrijven, hebben we modelverpakkingen ontwikkeld.

Tabel I: Gemiddelde CO<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> na 1 week bewaring bij 15°C

		CO <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Elstar	2.8	
16.4		
Golden del. 2.1	17.3	
Granny's	1.6	18.5
Trio-pack	1.9	18.0

Deze bestaat uit een ruimte waarin groente c.q. fruit zich bevindt. In deze ruimte kunnen de diverse gassen en RV condities gemeten en/of geregeld worden. Deze ruimte kan onder goed gedefinieerde omstandigheden worden afgesloten met diverse verpakkingsfolies. Dit geeft een krachtig meetinstrument voor het uitvoeren van dit onderzoek. Theoretische beschouwingen kunnen hier met experimenten worden getoetst.

De interacties tussen de temperatuur, de diffusie-eigenschappen van het verpakkingsmateriaal en de respiratie kunnen separaat benaderd worden, waardoor uiteindelijk een modelmatige beschrijving van het complete systeem mogelijk moet gaan worden. Hiermee is een begin gemaakt.

Met dit model kunnen uiteindelijk de gascondities in de verpakking voor diverse folies als verpakkingsmateriaal worden berekend en deze kunnen in de door ATO-DLO ontwikkelde meetapparatuur onder praktijkomstandigheden worden getoetst.

### **Confrontatie met de fasering**

Ten aanzien van de fasering gemaakt bij de start van dit project wordt weer een tweedeling gemaakt t.a.v. de soorten interacties.

#### **Gesloten verpakkingen en gascondities**

- De invloed van de CO<sub>2</sub> op de ademhaling van de Elstar appels is onderzocht en er is een deel van de ademhalingsmatrix van Elstar voor twee temperaturen verzameld. In plaats van het produkt witlof zijn voor asperges en aardbeien ook ademhalingsgegevens gemeten. Hier is afgeweken van de oorspronkelijke produktkeuze om tot een optimale afstemming van het onderzoek en gebruik van apparatuur binnen het ATO-DLO te komen.
- Er is een opstelling gerealiseerd om de permeabiliteit van verpakkingsfolies onder praktijkomstandigheden te meten. Om het systematisch onderzoek naar gesloten verpakkingen verder te ondersteunen, is deze opstelling uitgebreid met 'modelverpakkingen' waarmee de interactie tussen het produktklimaat en de verpakkingsfolie grondig kan worden onderzocht.

#### **Open verpakking en afkoelmethode**

- Dit onderzoek heeft een accent gekregen op de variatie van doorstroomkoeling in een pallet, afhankelijk van de locatie hierin. In verband met de afstemming is gekozen voor paprika i.p.v. prei en appels. Het onderzoek richtte zich op doorstroomkoeling en niet op langstroomkoeling. Daarom is hier nog geen aandacht aan warmtegeleiding gegeven.

## B. Publikaties

- M.F.M. Janssens, H.A.M. Boerrigter, J.J. Polderdijk, J.G. Meijer, R.G. Evelo, R. Bons, E.C. Wilkinson en R. vd Vuurst-de Vries, in CA-containertransport van rode paprika's naar de VS, ATO-rapport 183.
- H.A.M. Boerrigter, R.G. Evelo, Poster: Appels verpakt beter houdbaar, op Proefstationdagen voor de fruitteelt. Wageningen.

## C. Werkplan 1992

### Aanpak

Het onderzoek in 1992 zal zich richten op de gesloten verpakking. Het doel is enkele modules te ontwikkelen voor een computermodel die richting kunnen geven aan het verdere verpakkingsonderzoek. Deze modules beschrijven belangrijke processen in het systeem van de gesloten verpakking. Ze omvatten:

- Een beschrijving van de ademhaling onder verschillende MA-condities bij diverse temperaturen, gebaseerd op de ademhalingsexperimenten zoals deze zijn uitgevoerd aan Elstar, aardbeien en asperges.
- De diffusie van zuurstof en kooldioxide door de verpakkingsfolie en de temperatuursafhankelijkheid, en indien nodig de RV. Dit wordt theoretisch onderbouwd en m.b.v. experimenten gevalideerd.
- Hiernaast zullen modules worden ontwikkeld waarmee het effect van perforaties (lekken etc.) in de verpakking en eventuele scrubbers voor de diverse gassen en vocht kunnen worden geanalyseerd. De mogelijkheden hiervoor zullen in diverse experimenten worden getoetst. Hierbij zal ook worden gekeken naar de produktkwaliteit.

### Fasering

- In het komende jaar zullen diffusiemetingen van O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> en C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> aan verschillende folies op basis van pe-laminaten bij diverse realistische temperaturen van de agrarische sector worden uitgevoerd.
- Met behulp van deze metingen kan men het temperatuursafhankelijke gedrag van het MA-model toetsen.
- Het MA-verpakkingsmodel zal (voor producten waar voldoende ademhalingsgegevens van bekend zijn) in een stadium komen waarbij de evenwichtsconditie in de verpakking kan worden voorspeld, gegeven de permeabiliteitseigenschappen van de folie. Dit model is gebaseerd op de beschrijving van diffusie en ademhaling. De temperatuursafhankelijkheid van de ademhaling wordt m.b.v. Arrhenius beschreven. De toepassing van scrubbers voor het wegvangen van vocht en of ethyleen zal ook in de berekeningen worden meegenomen.

- Met dit model zullen o.a. de tot nu toe verzamelde gegevens van Elstar appels worden getoetst. Indien er leemtes zijn wat de ademhalingsmetingen betreft, zullen aanvullende ademhalingsmetingen aan Elstar worden verricht. Dit in samenwerking met ander projecten binnen het ATO-DLO.
- Deze berekeningen met dit MA-model zullen aan de hand van verschillende experimenten worden getoetst.

### **Afwijkingen van de oorspronkelijk fasering**

In de oorspronkelijke fasering wordt in het onderzoek in 1992 een zeer zwaar accent op de gesloten verpakking gelegd. Dit blijft zo. Op grond van het gelegde accent op doorstroomkoeling bij open verpakkingen is het nu niet wenselijk een meetmethode voor de warmtegeleiding te ontwikkelen. Deze tijd wordt nu grotendeels in de gesloten verpakking gestopt. Hiernaast zal waarschijnlijk een kleinschalig experiment met langstroomkoeling worden uitgevoerd. De produktkeuze zal verderop in dit jaar worden gemaakt in overleg met andere onderzoekers om zo tot een optimale afstemming te komen.

## **SYSTEEMKUNDE**

### **DSS voor de optimale bewaring van hardfruit**

Projectnummer: 7.01.32

A.P.H. Saedt

#### **A. Verslag over 1991**

##### **Probleemstelling**

Grote hoeveelheden hardfruit (appels en peren) worden vanaf de oogst in september en oktober maandenlang in koelhuizen bewaard. Een koelhuis van enige omvang beschikt over meer dan honderd koelcellen. De koelhuischef moet elk seizoen deze cellen zo goed mogelijk toewijzen aan honderden partijen appels en peren, die voor bewaring worden aangeboden.

Hij moet daarbij voor elke cel een klimaatregime, een inslagperiode en een uitslagperiode vaststellen, die zoveel mogelijk overeenkomen met de klimaatbehoefte, de verwachte aanvoerperiode en de gewenste uitslagperiode van de bewaarpartijen, die hij in deze cel gaat plaatsen.

Bij de bewaarplanning moet hij zowel contracten en afspraken met klanten nakomen als rekening houden met bewaar technische beperkingen.

##### **Doelstelling**

Doel van het project is het ontwikkelen van een Decision Support Systeem (DSS), bestaande uit een tactisch en een operationeel gedeelte. De tactische module ondersteunt de bewaarplanning en de operationele module geeft de gevolgen aan van gewenste afwijkingen op de reeds genomen beslissingen tijdens de bewaring.

##### **Fasering**

juni 1991:

- nadere uitwerking van de probleemstelling door middel van gesprekken
- keuze van in te passen kwaliteitsvoorpellingsmodellen
- wiskundige modellering voor het DSS

december 1991:

- eerste prototype van een DSS

december 1992:

- operationeel DSS, voldoende om ermee toepassingsproeven op grotere schaal uit te voeren.

december 1993:

- toepassingsproeven afgerond

### **Verslag van de werkzaamheden**

Begin 1991 is dit project gestart. Op basis van de resultaten van schriftelijk vastgelegde, intern gevoerde gesprekken, is de praktijk geconfronteerd met een voorgestructureerde probleemstelling. Met behulp van gesprekken met drie koelhuischefs is de basis gelegd voor een formeel model, dat de planningprocedures zo goed mogelijk beschrijft.

Al tijdens de bouw van het wiskundige model, dat aan het te ontwerpen beslissingsondersteunende systeem ten grondslag moet liggen, blijkt dat het bewaarplanningprobleem een zeer grote omvang vertoont. Bij een praktijksituatie waarbij 200 cellen beschikbaar zijn voor 200 telers die hun produkt in 30 variaties (combinaties van ras en rijpheidsstadium) aanvoeren, moeten in het ergste geval aan meer dan 50 000 000 beslissingsvariabelen waarden toegekend worden.

Ervan uitgaande dat het bewaarplanningprobleem in de praktijk toch jaarlijks voor elk koelhuis "opgelost" wordt, zijn opnieuw twee diepte-interviews aangegaan met bewaarplanners. Nu echter, is alle aandacht gericht geweest op de door hen gehanteerde planningprocedures met de bedoeling om deze zo nauwkeurig mogelijk in termen van het eerder genoemde wiskundige model formeel te beschrijven. Vervolgens gaan we deze praktijkprocedures met behulp van het model trachten te verbeteren.

De bewaarplanners plannen per ras en per ruimingsperiode. Dat betekent dat zij van tevoren groepen van cellen aan rassen toewijzen en deze vervolgens van geschikte openingsperioden voorzien.

Deze beperkte variant leidt in het wiskundige model tot een probleem dat ruim 10 000 keer kleiner is dan het bovengeschetste probleem en dat toch een optimalisering toelaat ten opzichte van de huidige planningprocedure.

De conclusie lijkt gewettigd dat, ondanks de aanvankelijk sombere constatering van een veel te groot probleem, er nu een praktisch bruikbaar model beschikbaar is om als basis te dienen voor een DSS Bewaarplanning.



Gedurende het najaar 1991 is een begin gemaakt met de ontwikkeling van een systeem voor de bewaarplanning van appels en peren. Daartoe wordt samengewerkt met twee fruitveilingen, annex koelhuizen, waar praktijkproeven met het systeem verricht gaan worden.

Er wordt onderscheid gemaakt tussen een model voor integrale bewaarplanning en een model voor stapsgewijze bewaarplanning. Integrale bewaarplanning lost het planningsprobleem in één stap op, maar brengt in de praktijk te grote rekenproblemen met zich mee. Daarom is het te ontwikkelen DSS gebaseerd op het tweede model.

Uitgaande van de tijdig gemelde aanvoerpartijen, waarbij niet alleen de partij-grootte, maar ook de wensen ten aanzien van inslag- en uitslagperiode worden opgegeven, wordt het bewaarplan in de volgende stappen opgesteld:

1. In een **BESTEMMINGSPLAN** voor de cellen wordt vastgelegd welke rassen er eventueel in bewaard gaan worden. Per ras ontstaat op deze wijze een (ras)groep van cellen, die voor die voor bewaring van het betreffende ras bestemd zijn.
2. Per rasgroep van cellen wordt een **PLAATSINGSPLAN** opgesteld waarin zoveel mogelijk voldaan wordt aan de telerswensen ten aanzien van inslag- en uitslagperioden. Tevens kan ook rekening gehouden worden met de wens van de veiling om de verwachte aanvoer enigszins te stabiliseren en met de wens van het koelhuis om de kosten voor koelen en scrubben te beperken.

Bij de bepaling van zowel bestemmingsplan als plaatsingsplan wordt met een aantal beperkingen rekening gehouden. Enkele beperkingen worden hierna genoemd.

Op de eerste plaats moeten de contracten worden nagekomen, die met de telers zijn afgesloten. Voor de planning is het belangrijk dat in deze contracten is vastgelegd hoeveel een teler per seizoen minimaal mag laten bewaren in het koelhuis.

Ook moet voldaan worden aan beperkingen die voortvloeien uit het toepassen van gescrubde CA-bewaring. Een groep van cellen die op dezelfde scrubinstallatie zijn aangesloten, mag niet teveel "scrubbehoevende" partijen bevatten.

Een CA-cel moet voorts een minimale hoeveelheid te bewaren materiaal bevatten om als zodanig goed te functioneren.

Sommige telers willen hun aangevoerde materiaal over meer cellen gespreid laten bewaren om daarmee hun risico's te verminderen. Bovendien ontstaat op

deze wijze tijdens de uitslagperioden meer spreiding in de benodigde arbeid voor sorteren en verpakken van het bewaarde materiaal.

### **Confrontatie met de fasering**

Geheel in overeenstemming met het werkplan voor 1991 is het systeem nu zover ontwikkeld dat het in een nog ruwe en onvolledige vorm reeds mogelijk is om een bewaarplan op te stellen. Met behulp van een optimizer/computerprogramma worden goede oplossingen bepaald en met behulp van een daaraan gekoppeld databaseprogramma worden invoer, tussenresultaten en uitvoer behandeld.

### **B. Verschenen publikaties**

geen

### **C. Werkplan 1992**

In 1992 wordt bij tenminste één koelhuiscomplex de eerste praktijkproef verricht met bewaargegevens over het voorafgaande seizoen. De probleemgrootte wordt daarbij opgeschaald naar 100-200 cellen en meer dan 100 aanvoerders.

Ondanks de modelvereenvoudiging van integrale naar stapsgewijze bewaarplanning en ondanks optimalisatie van de bestandsstructuren blijkt een voorbeeld met 40 cellen, 10 rassen en 20 telers toch drie uur rekenen te vergen op een 386-PC met numerieke coprocessor. Op praktijkschaal zal enige hardware-aanpassing nodig zijn om de rekentijden binnen de perken te houden.

Gedurende het voorjaar zal tijdens een landelijke bijeenkomst het systeem aan het oordeel van de koelhuismanagers onderworpen worden. Bovendien zullen diverse presentaties en publikaties bekendheid moeten geven aan het DSS-Bewaarplanning.

In de tweede helft van 1992 wordt onderzocht hoe het systeem op bestaande koelhuisadministraties kan worden afgestemd, zodat de uitwisseling van informatie tussen het DSS Bewaarplanning en de administratie zoveel mogelijk gestroomlijnd gaat verlopen.

## **Kwaliteitsmodellering van groenten en fruit**

Projectnummer: 7.01.31

P. Tijskens

### **A. Verslag over 1991**

#### **Inleiding**

De sectie kwaliteitsverloopmodellen houdt zich binnen de afdeling Systemkunde bezig met het ontwikkelen van computer- en simulatiemodellen waarmee op een vereenvoudigde manier het verloop van produktkwaliteit gedurende bewaring en transport, ongeacht het onderdeel in de keten, beschreven en voorspeld kan worden. De ontwikkelde modellen zijn gebaseerd op gegevens uit de literatuur en uit eigen onderzoek, ondersteund door theoretische verbanden en bestaande inzichten, en gecalibreerd met behulp van statistische technieken als regressie analyse, non-lineaire regressie analyses en variantie-analyse.

Het doel van deze modellen is drieledig:

- inzetten in ketenoptimalisatie en -beschrijvingsmodellen
- inzetten bij lokale schakels in de keten
- sturen en verdiepen van het onderzoek naar het gedrag/de kwaliteit van een produkt

#### **Probleemstelling**

Gedurende de afzet van groente en fruit verloopt de kwaliteit van Tuinbouwprodukten continue op de weg van producent naar consument. De uiteindelijke kwaliteit van een produkt, zoals het de consument wordt aangeboden, hangt af van de uitgangskwaliteit, de condities waaraan een produkt wordt blootgesteld en de blootstellingsduur. Inzicht in de huidige afzetketen en in het kwaliteitsverloop van produkten onder gedefinieerde omstandigheden zijn van belang voor realisatie van een hoge eindkwaliteit bij aflevering van de produkten aan de consument.

Om ervoor te kunnen zorgen dat het produkt in optimale conditie bij de consument aankomt, moet in elke schakel van de keten de kwaliteit van het produkt geschat c.q. beschreven kunnen worden. Hiervoor is het o.a. noodzakelijk simulatiemodellen te bouwen die het kwaliteitsverloop beschrijven.

#### **Doelstelling**

De KVM-groep ontwikkelt modellen die de achteruitgang in kwaliteit van groente en fruit onder gedefinieerde omstandigheden kunnen voorspellen. Deze

modellen zullen worden ingebouwd in een keten-optimalisatiemodel, om daarmee de gehele keten, of gedeelten daarvan, te optimaliseren. Hiertoe zal de keten verkend en in kaart gebracht moeten worden.

Met de modellen kunnen ook zogenaamde "what if" situaties doorgerekend worden voor iedere schakel afzonderlijk. Dit betekent dus dat de kwaliteitsverloopmodellen als afzonderlijk hulpmiddel toegepast kunnen worden.

Kwaliteitsverloopmodellen kunnen tevens het onderzoek naar het gedrag en kwaliteit van een produkt helpen sturen en verdiepen.

In dit project wordt getracht een generiek model op te stellen voor groente en fruit. Het voordeel van een generiek model is de flexibiliteit om verschillende produkten met een model te beschrijven. Hiertoe dient echter een concept opgestelde te worden dat de belangrijkste kwaliteitskenmerken produkt-onafhankelijk determineert en beschrijft.

### **Fasering**

De voorgestelde fasering is in grote lijnen aangehouden.

### **Verslag Werkzaamheden**

#### Conceptvorming

- De werkhypothese waarop de bouw van het model wordt gebaseerd, is in concept geformuleerd. Dit concept wordt gedurende de ontwikkeling van het model aangepast en bijgewerkt op basis van (nieuwe) gegevens uit literatuur en onderzoek. Ook de mathematisch formulering voor het concept is op papier gezet. Ook deze formulering wordt aangepast gedurende de bouw van het model, naar aanleiding van problemen de mathematische formulering zo eenvoudig mogelijk, maar toch de werkelijkheid benaderend, op te zetten.
- De centrale gedachtengang in het concept is de mogelijkheid tot loslaten c.q. scheuren van de cellen onderling. De mate waarin dit proces optreedt, is afhankelijk van de (biologische) ouderdom van het produkt, de initiële condities, en de verhouding in enzymactiviteit t.o.v. de verschillende opbouwende componenten c.q. biopolymeren. Hierdoor worden zowel de textuureigenschappen (stevigheid, knapperigheid, slap worden, enz.) als de mogelijkheid tot het waarnemen van inhoudsstoffen door insluiting in intacte losse cellen, verminderd.
- Het al of niet optreden van het verschijnsel scheuren, is uiteraard afhankelijk van de initiële condities en opbouw van het produkt (b.v. pektine, cellulose, turgor, vezels enz). Ook maakt het onderscheid mogelijk tussen bv. produkten die hun stevigheid hoofdzakelijk uit turgor halen (zacht fruit) of meer uit structuur (hard fruit).

### Modelbouw

- In de afgelopen periode is vooral aandacht besteed aan de processen die het centrale punt in de hele filosofie, nl. het scheuren van de cellen langs elkaar door de middenlamellen, sturen en/of beïnvloeden. Deze processen moeten een afhankelijkheid van zowel de veroudering als vergroten van celturgor door vochtopname of verminderd vochtverlies, veroorzaken:
- De veroudering  
De veroudering wordt, wat dit aspect betreft, benaderd in de afbraak van pektine (in de middenlamellen) door polygalacturonase (endo-PG), en van cellulose in de celwand zelf door cellulase. De verhouding in relatieve afbraak, in enzymepatroon, en in temperatuursafhankelijkheid van de reactiesnelheidsconstanten, bepaalt dan welk type veroudering er optreedt. De afbraak van de biopolymeren heeft zijn weerslag op de mechanische eigenschappen van de produktonderdelen, en van het produkt als geheel. De exacte relatie tussen deze twee grootheden is niet duidelijk: er wordt al tientallen jaren onderzoek verricht naar het verband tussen pektine en cellulose in al hun vormen alsmede de stevigheid.
- De vochthuishouding  
Een concept voor de vochthuishouding van produkten is opgezet, gebaseerd op de gangbare concepten van waterpotentiaal, osmotische druk en turgordruk (gekozen is voor de waterpotentiaalbenadering voor de omgevende lucht om de koppeling met de osmotische druk mathematisch mogelijk te maken). Uit deze afleidingen en hun mathematische formulering volgt dat bij zeer hoge RV in de omgevende lucht, afhankelijk van de osmotische druk, en dus van de specifieke bouw van het produkt, opname van vocht moet kunnen plaatsvinden. Tevens is het niet onwaarschijnlijk dat in dit gebied de vochttopname niet in gasfase plaatsvindt, maar in vloeibare fase. Dit brengt met zich mee dat de snelheid van vochttopname ca. 20x zo groot is als de vochtafgifte. Wanneer de druk in de cel groot genoeg is t.o.v de bindingskracht van de biopolymeren, wordt scheuring veroorzaakt. Ook dit fenomeen is reeds (rudimentair) in het model opgenomen. Ter bevestiging van dit concept zijn proeven uitgevoerd (zie Experimenten) met verschillende produkten in water en in geconditioneerde omgeving. De resultaten spreken de opgezette ideeën niet tegen.
- Infectie en vochthuishouding  
In de literatuur wordt sporadisch de grote invloed van de extreem hoge RV op b.v. groei en ontkieming van schimmel en bacteriesporen aangegeven. Ook deze overwegingen zijn van contemplatieve aard: de RV is in dat gebied (98% tot 99.995%) niet te meten. Voor produkten die gevoelig zijn voor bacterie-aantasting, zal dit toch meegenomen moeten worden. De grote opnamesnelheid van vloeibaar vocht kan tevens een verklaring opleveren voor bekende verschijnselen, zoals scheuren van produkten die een relatief korte tijd in water gelegen hebben.

- Het is niet noodzakelijk dat het hierboven beschreven scheurproces daadwerkelijk optreedt om een effect te hebben op de perceptie van kwaliteitsbepalende inhoudsstoffen. Het proces geeft ook een indicatie van de mogelijkheid tot c.q. gemak van scheuren langs of door de cellen, bij het aanleggen van een externe druk op het produktweefsel bij b.v. kauwen of meten van de stevigheid. In deze context geeft het meer de potentie tot waarnemen van kwaliteit aan.

Wanneer we deze systematiek leggen over de verschillende produkten, (groente en fruit) komen we grofweg tot de volgende mogelijkheden tot variatie en differentiatie tussen de produkten:

Vaste inwendige eigenschappen	Variabele inw. eigensch.	Uitwendige parameters
Pektine	PG	Temperatuur
Cellulose	Cellulase	Rel. Vochtigheid
grootte cellen	turgor	overige bewaaromst.
dikte middenlamel	cel- en	bewaarduur
porositeit	structuurspanning	
spec. vochtgiftige		

Voor alle chemische componenten (bv. pektine, cellulose, PG, cellulase enz.) is een vierledige mogelijkheid tot differentiatie: de (initiële) hoeveelheid, enzymactiviteit c.q. hoeveelheid, de (basis-) reactiesnelheid, en de temperatuurafhankelijkheid van deze snelheid.

Dit overzicht geeft duidelijk aan, hoe groot de mogelijkheden zijn om te differentiëren in aard en type produkt.

In een interne publikatie is een overzicht samengesteld van de limiterende, en dus belangrijke, kwaliteitskenmerken en onderliggende processen voor een groot aantal produkten. Voor alle produkten worden algemene senescence (textuur) en vochtverlies als belangrijk aangemerkt.

### Experimenten

Gewichtsverlies van diverse tuinbouwprodukten bij 60, 80 en 100% RV, en vochtopname gedurende bewaring in water.

Het gewichtsverlies van bospeen (zonder loof) en tomaten is gevolgd bij 18 °C en 60, 80 (in koelcellen) of 100% RV (in klimaatcel). Bij 100% RV werd bewaard om te onderzoeken of produkten vocht kunnen opnemen uit de luchtvochtigheid. Tevens is bij komkommer, paprika en Elstar appels de mogelijkheid tot wateropname onderzocht.

Bospeen verliest zeer gemakkelijk gewicht maar neemt ook zeer gemakkelijk water op tot ca. 10%. Tomaten verliezen nauwelijks gewicht en nemen ook nauwelijks water op (0,5 tot 1%). Het gewichtsverlies verloopt sneller naarmate de RV lager is. Bij 100% RV (klimaatkast met hoge luchtsnelheid) werd uitdroging waargenomen. Deze bijna even groot als bij 80% RV (gewone

koelcel, lage luchtsnelheid). De luchtsnelheid is dus van grotere invloed op de vochtafgifte dan het dampdrukdeficiet. Opname van vocht gedurende bewaring (in lucht) is dus niet waargenomen.

Tomaten die nauwelijks vocht hebben verloren, barsten na enkele dagen in water gelegen te hebben.

Komkommers nemen gemakkelijk water op, paprika en appel daarentegen nauwelijks.

#### CA-bewaring Paprika

Er is onderzoek gedaan naar de invloed van CA-bewaring (15 dagen bij 8 °C, 3% CO<sub>2</sub> - 3% O<sub>2</sub> of normale lucht, gevolgd door 7 dagen nabewaring bij 20 °C, 70% RV) bij diverse luchtvochtigheden (80 - 100 %) op de kwaliteit van rode paprika's.

De omgevingscondities werden gerealiseerd m.b.v. het ATO-doorstroomsysteem. Het CA-effect was gering en ontstond pas gedurende de nabewaring. CA-bewaring leidde tot minder vruchtrot tijdens de nabewaring en tot meer steelrot en/of steelschimmel.

Vruchtrot ontstond vooral tijdens de nabewaring en meer naarmate de RV tijdens de bewaring hoger was geweest. Er ontstond vooral veel vruchtrot na CA-bewaring bij verzadigde lucht.

De gewichtsverliezen en het percentage slappe paprika's namen toe naarmate de RV tijdens de bewaring lager was geweest, terwijl ook herkomstfactoren, in het bijzonder de mate van zwelscheuraantasting, van invloed waren. Smaakafwijkingen zijn niet waargenomen.

#### Spin off

##### \* Vochtafgifte

Het modelleren van de vochtuishouding, heeft tot een mogelijk interessant gezichtspunt geleid:

- Aannemende dat gastransport (zowel vocht als lucht) in het produkt via dezelfde kanalen plaatsvindt, zou de mogelijkheid tot ademhaling (diffusie van O<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub>) gerelateerd moeten zijn aan de specifieke vochtafgifte van het produkt. Wanneer we er van uitgaan dat de inwendige partiële gasdruk evenredig is met de snelheid van gastransport, zullen produkten met een lage specifieke vochtafgifte een lage inwendige O<sub>2</sub>-druk (en een hoge CO<sub>2</sub>) een grotere gevoeligheid vertonen aan het toepassen van CA-bewaring: bij een lage inwendige O<sub>2</sub>-druk werkt het metabolisch proces reeds aan de rand van zijn mogelijkheden, een verdere verlaging van de druk brengt het produkt zeer snel in het anaërobe deel van de ademhaling. Deze gedachtengang maakt het in principe mogelijk (indien waar) produkten in te delen in wel of niet CA-bewaarbaar, op basis van eenmalig te meten grootheden.
- Door dichtslaan van de gastransportkanalen door (inwendig) condens bij hoge RV, zal de kwaliteit na CA-bewaring mogelijk negatief beïnvloed worden.
- Het bewaren van produkten bij zeer hoge RV zal een gunstig effect vertonen

op het vochtverlies, de turgor en de stevigheid (van groente en zacht fruit), doch een nadelig effect op produkten die melig kunnen worden (appel, peer, tomaat enz). Ook de ontwikkeling van bacterie en schimmelinfectie is gekoppeld aan de inwendige RV. De toepassing van hoge RV-bewaring (natte bewaring) dient dan ook aan meer kwaliteitskenmerken getoetst te worden om de meest optimale omstandigheden te kunnen vaststellen.

\* Diffusie model

Om het proces van vochtafgifte en pektine afbraak door enzymen beter te begrijpen en te generaliseren, is een diffusiemodel opgezet en uitgetest. Dit model is zeer algemeen en flexibel opgezet. De principes zijn beschreven in een interne publikatie.

- Op basis van dit model is in samenwerking met E. Biekman (afd 3) een maceratiemodel opgezet dat voldoende waarde vertoont om in de praktijk getest te worden. Dit zal in de komende periode uitgevoerd worden. Ook hier is de relatie biopolymeren/mechanische sterkte van uitermate belang. Tevens is op basis van dit model een aanzet gemaakt om heterogene katalyse te kunnen beschrijven: de redoxreactie van een enzyme aan een vaste wand. Uit de eerste resultaten blijkt dat het de moeite waard is deze weg verder te bewandelen.

## B. Publikaties

Polderdijk A.A, van der Valk H., Tijskens P., Robbers J. 1991.

Stevigheidsmeter voorspelt houdbaarheid. Groente & Fruit nr 22, 31 mei, 20-21.

Polderdijk A.A, van Schaik A.

Bruine en holle vruchten bij Conference, oorzaak nog niet duidelijk. Belgische Fruitrevue. mei 1991, 256-258.

Polderdijk J.J., J.G. Meijer, H.A.M. Boerrigter, E.C. Wilkinson, 1991.

Controlled atmosphere bewaring van rode paprika's bij diverse relatieve luchtvochtigheden. ATO-rapport 180, 18 blz.

Janssens M.F.M., H.A.M. Boerrigter, J.J. Polderdijk, J.G. Meijer, R.G. Evelo, R. Bons, E.C. Wilkinson, R. van de Vuurst- de Vries, 1991.

CA-containertransport van rode paprika's naar de VS. ATO-rapport 183, 85 blz..

Interne publikaties / discussie nota's.

L. Tijskens:

Filosofie & Werkhypothesen Kwaliteit Groente en Fruit. 15 jan 1991.

L. Tijskens:

Werkhypothesen Kwaliteit Groente en Fruit. Mathematische formulering. 28 jan 1991.



L. Tijskens, A. Polderdijk:

Overzicht Produkt specifieke kwaliteitskenmerken, 24 juni 1991

L.Tijskens:

Diffusie, een modelmatige aanpak. 14 okt 1991.

## C. Plannen voor komende periode

### Aanpak

In een aantal bewaarproeven, zal voor een aantal produkten nagegaan worden (b.v. appel, tomaat, komkommer, waspeen) hoe de vochtafgifte c.q. opname is bij een aantal RV's, en aansluitend hoe deze min of meer uitgedroogde produkten zich gedragen bij zeer hoge RV en in water. Tevens wordt de stevigheid beoordeeld of gemeten om de relatie met vochtafgifte c.q. turgor uit te diepen.

In samenwerking met afdeling 3 (Biekman) wordt de mogelijkheid bekeken proeven op te zetten om de relatie turgor-stevigheid en biopolymeren-textuur te verduidelijken met behulp van sterktemetingen aan pektinegelen in goed gedefinieerde in vitro omstandigheden (pektine de-esterificatie en -afbraak).

Een aanvang zal worden gemaakt met het opzoeken van meetgegevens uit de literatuur (zeer beperkt beschikbaar), en het inpassen in, c.q. calibreren van het ontwikkelde model.

Samenwerking is gezocht op het gebied van gegevensuitwisseling met AFRC East Malling en AFRC Norwich, mede in het kader van een aangevraagd EEG project.

Het model wordt verder uitgebreid naar potentiële scheurbaarheid bij consumptie (kauwen), invloed van porositeit, en ontwikkelen van produkt specifieke inhoudsstoffen.

Een algemene kwaliteitsfilosofie, d.i. de relatie tussen produktkenmerken en consumptie- c.q. gebruikskwaliteit of acceptatie, wordt in samenwerking met de overige groepen in de sectie kwaliteitsverloopmodellen opgesteld.

### Fasering

Juli 1992:

- Uitvoering bewaarexperimenten
- Statistische uitwerking experimentele gegevens
- Start invulling produkt specifieke kwaliteitseigenschappen (b.v. kleur, inhoudsstoffen enz.)
- Verdere ontwikkeling generiek gedeelte (textuur-stevigheid-kwaliteit)

**Dec 1992:**

- **Uitvoering bewaarexperimenten**
- **Statistische uitwerking experimentele gegevens**
- **Resultaten van experimenten ingebouwd in prototype**
- **Algemene kwaliteitsfilosofie in bruikbare vorm afgerond**

## DSS voor Strategisch Sectorbeleid

Projectnummer: 7.01.31

R.A.C.M. Broekmeulen

### A. Verslag over 1991

#### **Probleemstelling**

In de groenten- en fruitsector hebben de beleidsmakers en -medewerkers behoefte aan een systeem waarmee in de diverse schakels inrichtings- en besturingsvraagstukken kunnen worden geanalyseerd en opgelost. Groenten en fruit vertonen een grote spreiding in kwaliteit (eigen aan produkten van biologische oorsprong) en zijn onderhevig aan bederf. Hierdoor wijkt de problematiek sterk af van de industriële productie en zijn de daar ontwikkelde modellen en methoden/technieken niet bruikbaar in de groenten- en fruitsector.

#### **Doelstelling**

Doel van dit project is het bestuderen van de bestaande en alternatieve afzetketens voor groenten en fruit in het kader van een 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. De ketenbesturing moet door de structuur van de sector zodanig plaatsvinden dat de lokale vrijheid van de individuele bedrijven minimaal wordt aangetast. De volgende aspecten zijn voor de integrale goederenstroombesturing van belang:

- kwaliteitsverloopmodellen;
- koeltechnologische modellen;
- verpakkingsmodellen;
- inrichtings- en besturingsmodellen op basis van een keteninventarisatie van zowel goederen als informatiestroom.

Hiervoor zal op een termijn van 4 jaar een beslissingsondersteunend systeem (BOS of Decision Support System, DSS) voor beleidsmakers in de sector worden ontwikkeld. Met behulp van het beoogde DSS moet een beleidsmaker vragen met een lange-termijn karakter over de integrale goederenstroom kunnen analyseren en oplossen. Het is voor dit doel noodzakelijk dat beslissingen op sectorniveau kunnen worden vertaald naar de effecten op tactisch en operationeel niveau in de sector m.b.v. de ontwikkelde modellen. Het DSS zal voor dit doel worden uitgerust met de nieuwste modellen en technieken uit de OR en de AI, toegesneden op de groenten- en fruitsector.

### **Fasering**

Aan de hand van de inventarisatie van de structuur en de werkwijze van de afzetketen van groenten en fruit zal het eerste half jaar een uitgebreide probleemanalyse worden uitgevoerd. De benodigde gegevens voor de analyse zullen worden verkregen uit rapporten over de sector, publikaties in vakbladen en gesprekken met deskundigen. Deze probleemanalyse zal worden geïntegreerd in demonstratieprojecten die worden uitgevoerd in de sector. Het resultaat van de probleemanalyse is een elementair sectormodel dat als basis kan dienen voor concrete projecten in de sector.

Zo spoedig mogelijk na het beschikbaar komen van een hanteerbaar model zal begonnen worden met het ontwikkelen van een prototype voor integrale goederenstroombesturingsvraagstukken in de sector. Het nut van prototypen is tweeledig:

- Enerzijds krijgt de sector inzicht in de mogelijkheden die het in ontwikkeling zijnde DSS kan bieden als beleidsinstrument.
- Anderzijds houdt het onderzoek voeling met wat voor vragen en problemen de praktijk geconfronteerd wordt en of deze problemen met het DSS beschreven en geanalyseerd kunnen worden (directe terugkoppeling).

Parallel aan de ontwikkeling van prototypen, die beperkt in omvang en mogelijkheden zullen zijn, zullen de diverse onderdelen van het sectormodel geïmplementeerd worden in het beoogde DSS. De geschatte duur voor het bouwen van prototypen is twee jaar, terwijl het DSS voor de sector één jaar in beslag zal nemen. Ieder half jaar zullen er echter nieuwe, verbeterde versies van het prototype beschikbaar zijn, zodat de sector voldoende mogelijkheden houdt om het ontwikkeltraject bij te sturen. De op- en aanmerkingen op de prototypen zullen, indien mogelijk, verwerkt worden in het uiteindelijke ontwerp van het DSS.

Door het geplande regelmatige overleg met de sector zal de laatste fase van het project, waarin het DSS zal worden geïntroduceerd in de sector en het model zal worden gevalideerd, slechts een half jaar in beslag hoeven te nemen.

### **Verslag van de werkzaamheden**

Op basis van een analyse van de structuur van de sector is een aanpak geselecteerd om een DSS systeem te introduceren bij de beleidsmakers in de sector. Hierbij staat het aantonen van het nut en de mogelijkheden van een strategisch DSS voorop.

Voor een goede uitwisseling van ideeën met de praktijk zijn demonstratieprojecten noodzakelijk. Deze demonstratieprojecten werken slechts deelaspecten uit van de doelstelling van het project, maar de eindproducten kunnen in een latere fase

geïntegreerd worden in het strategisch DSS. De volgende twee projecten zijn verder geconcretiseerd (aanvang mei 1991):

- FUST:  
Modellering van de fustproblematiek voor de export van groenten en fruit
- PALLET:  
Palletlocatie in een groentecentrale

In het demonstratieproject FUST wordt aandacht besteed aan de logistieke, economische en milieu-effecten van het verpakkingsbeleid. Met name de keuze eenmalig-meermalig en problemen rondom retourzendingen en schoonmaken komen in de modellen aan de orde. In een eerste fase is tijd besteed aan probleemanalyse en zijn simulatiemodellen opgesteld om meer inzicht te verkrijgen in deze complexe materie. De implementatie van deze simulatiemodellen in het simulatiepakket Taylor was echter problematisch, o.a. door onvolkomenheden in het pakket. Daarom is de implementatie van de simulatiemodellen uitgesteld tot de realisatie van een simulatiemodule in een latere fase van het project. In een tweede fase is een transportmodel opgesteld voor de retourfuststromen. In dit transportmodel zijn modellen geïntegreerd voor de allocatie van schoonmaakdepots aan veilingen en het toewijzen van fusttypen aan afzetgebieden. Het transportmodel is geïmplementeerd in een prototype van een DSS (met grafische gebruikersinterface) en maakt gebruik van lineaire programmering voor het berekenen van de optimale oplossing. De modellen hanteren geschatte gegevens over o.a. fusthoeveelheden.

Het probleem in het demoproject PALLET is hoe logistiek gezien een groentecentrale (dit kan elke situatie zijn waarbij een produkt binnenkomt, voor kortere tijd verblijft en weer vertrekt; bijvoorbeeld een veiling, groothandel, groentecentrale van supermarkten) ingericht en benut wordt. De Ausgangssituatie in dit project is een groentecentrale met een hal voor het opstellen van pallets en een aantal koelcellen. De vraag is nu welke produkten op welke plaats komen, afhankelijk van produkteigenschappen, en logistiek gezien zo gunstig mogelijk. Het probleem is opgesplitst in een lineair toewijzingsprobleem dat de diverse typen produkten aan een (koel)ruimte toewijst en een quadratisch toewijzingsmodel dat voor de pallets met produkten een lokatie vaststelt binnen de toegewezen ruimte. In het eerste model wordt rekening gehouden met opslagduur, temperatuur en produktinteracties zoals de effecten van geur en ethyleen. Bij de plaatsing van de pallets in het tweede model wordt voornamelijk rekening gehouden met de (fluctuaties in de) voorraadhoogte, de verpakkingsvorm en de afstanden in de groentecentrale. Eind juni is de dataverzameling voor de beide toewijzingsmodellen begonnen. Eind november zijn de modellen plus de verzamelde praktijkgegevens geïmplementeerd in een prototype van een DSS (met een gebruikersvriendelijke, grafische interface).

### **Confrontatie met de fasering**

Eind 1991 kan gesteld worden dat de oorspronkelijke fasering is gehaald. Het verdient echter aanbeveling om nauwere contacten met de sector aan te knopen om te controleren of de gevolgde aanpak aansluit bij de praktijk van de groenten- en fruitsector. In het verdere onderzoek zal steeds meer aandacht moeten worden besteed aan bedrijfsanalyses, marktkenmerken en kwaliteitsdefinities om de ontwikkelde modellen te kunnen valideren en normeren.

### **B. Publikaties**

Geen

### **C. Werkzaamheden 1992**

#### **Aanpak**

Het komende jaar zal voornamelijk aandacht worden besteed aan het verder uitbouwen van de demonstratieprojecten. Dit moet aan het einde van de projectduur resulteren in een DSS dat de effecten van strategisch sectorbeleid kan doorrekenen naar het tactische en operationele niveau. Tijdens het ontwikkelen zullen waar mogelijk bedrijfsanalyses, marktkenmerken en kwaliteitsdefinities in de sector worden opgenomen in de modellen en systemen. Bij de bouw van de prototypen wordt de einddoelstelling van het project nauwlettend in de gaten gehouden.

Voor het slagen van het demonstratieproject FUST is het essentieel dat het DSS uitspraken kan doen over benodigde aantallen fust en voorraadhoogten van de verschillende fusttypen bij de veilingen. Hiervoor moet het DSS worden uitgebreid met simulatiemodellen omdat het huidige steady-state model niet geschikt is voor het analyseren van het dynamische gedrag van de retourfuststromen. In het huidige lineaire programmeringsmodel zullen tevens de effecten worden opgenomen van het standaardiseren van fusttypen en de onderlinge uitwisselbaarheid van fusttypen voor de diverse produktgroepen.

De doelstelling van het demonstratieproject PALLET zal worden verruimd tot de beheersing (en eventuele optimalisatie) van de gehele logistieke dienstverlening van een groentecentrale. Aspecten als orderafhandeling, om- en verpakken van produkten en transport zullen nader worden onderzocht in een haalbaarheidsstudie. De resultaten van deze haalbaarheidsstudie zullen voor de betrokkenen in de praktijk zichtbaar worden gemaakt in een demonstratiesysteem.

## **Fasering**

### Deelproject PALLET+

In het voorjaar van 1992 zal een uitgebreide bedrijfsanalyse worden uitgevoerd bij een groentecentrale. Hierbij zullen een groot aantal gegevens beschikbaar komen over de werkwijze van deze en vergelijkbare schakels (veilingen, verscentrales) die bruikbaar kunnen zijn voor de nadere invulling van de keteninventarisatie.

#### juni 1992

##### *oplevering en presentatie bedrijfsanalyse*

Aan de hand van de resultaten van de bedrijfsanalyse zal een uitgebreider prototype worden gebouwd waarin een groot aantal logistieke functies van een groentecentrale worden ondersteund.

#### november 1992

##### *demonstratie van het prototype van PALLET+*

### Deelproject FUST

Met behulp van de gegevens over fustgebruik uit de bedrijfsanalyse van PALLET+ en de gegevens van het CBT zal het lineaire programmeringsmodel uitgebreid worden met de effecten van standaardisatie van fusttypen en de uitwisselbaarheid van fusttypen tussen produktgroepen.

#### juni 1992

##### *oplevering prototype FUST V2.0 waarin het uitgebreide model is opgenomen*

Na het ontwikkelen van een module voor discrete simulatie zal het systeem FUST geschikt zijn om het dynamisch gedrag van de fuststromen te analyseren (voorraadhoogten, omvang fustbestand pool en benodigde transportcapaciteiten).

#### december 1992

##### *oplevering FUST V3.0 voor bestudering van fuststromen in de tijd*

## **Afwijking van de oorspronkelijke fasering**

Het komende jaar wordt geen afwijking van de oorspronkelijke fasering verwacht. Door de voortdurende oplevering van prototypen blijft het project exact op schema en kunnen de resultaten continue gevalideerd en teruggekoppeld worden.

Voorlopig zal de nadruk blijven liggen op het uitvoeren van de demonstratieprojecten en het verder uitbouwen van het ontwikkelplatform AiDA (nodig voor de implementatie van de prototypen). Aspecten als bedrijfsanalyses en dataverzameling zullen worden uitgevoerd voor de deelprojecten en zullen in een latere fase

van het project worden geïntegreerd in het elementaire sectormodel.



## **DSS voor mengladingsen**

Projectnummer: 7.02.30

M. Janssens

### **A. Verslag over 1991**

#### **Probleemstelling**

Groente- en fruitprodukten hebben over het algemeen verschillende eisen ten aanzien van het optimale bewaarklimaat. Logistiek gezien echter, is de combinatie van produkten (mengladingsen) tijdens het transport vaak noodzakelijk. Momenteel is de instelling van de koelinstallatie bij het transport van mengladingsen gebaseerd op een gemiddelde van de optimale bewaartemperaturen van de afzonderlijke produkten. De belading van het transportmiddel vindt veelal plaats aan de hand van vuistregels (last in - first out) zonder daarbij het effect van de positie op het klimaat en produktkwaliteit te betrekken. De praktijk belading en instelling van de koelmachine is daarom in veel gevallen niet optimaal.

#### **Doelstelling**

Het onderzoek heeft tot doel een Decision Support System te ontwikkelen dat planners in bedrijven helpt bij het nemen van beslissingen ten aanzien van de procesinstellingen van het bewaarklimaat en de belading van het transportmiddel. Gegeven is hierbij een lading groente en fruit die van plaats A naar plaats B moet worden getransporteerd. Hiertoe staan één of meerdere transportmiddelen (vrachtwagen of containers) ter beschikking.

Het systeem geeft een advies ten aanzien van het beladingschema en de instelling van de koelmachine gebaseerd op logistieke aspecten (stopplaatsen, reistijd) klimaatgegevens (zowel binnen als buiten) en de verandering van de produktkwaliteit.

#### **Fasering**

De fasering voorziet de ontwikkeling van het DSS in 4 jaar. In deze periode wordt het systeem ontwikkeld uitgaande van een globale indeling in :

- a. DSS / Userinterfase;
- b. Modelontwikkeling (klimaat + stapeling);
- c. Experimenten.

Het systeem moet in staat zijn om de waarde van de berekende belading te optimaliseren. De waarde van de gemengde lading is gerelateerd aan de kwali-

teit, economische waarde en de bewaar/transporttijd. Voor het simulatiemodel zijn daarom drie software routines cruciaal :

- a. een routine om de belading van de produkten in een gekoelde ruimte te kunnen bepalen
- b. een routine om de waarde van de belading te kunnen bepalen
- c. een optimalisatieroutine

Een beladingsroutine is in staat om een gekoelde ruimte zo optimaal mogelijk te beladen met produkten (pallets of deelladingen) van verschillende afmetingen. Voor dit doel zijn het afgelopen jaar met succes een drietal routines op een Personal computer geïmplementeerd. Twee daarvan zijn 2 dimensionale routines voor de indeling van oppervlakken, één is een 3-d algoritme voor de indeling van volumes. Met behulp van deze routines kan vervolgens de waarde van de verkregen belading bepaald worden.

### **Twee dimensionaal**

**Knip:**

Dit programma is gebaseerd op het algoritme van Gilmore en Gomory (7).

Het programma verdeelt een rechthoek (de moederplaat) in een sortiment van kleinere rechthoeken met verschillende afmetingen en verschillende waarden, waarbij de totale waarde van de gesneden sortimenten zo hoog mogelijk moet worden. Een beperking in het programma is, dat alleen gewerkt kan worden met "guillotine sneden". Dit zijn sneden die de moederplaat - of een reeds gesneden stuk van de moederplaat - in tweeën delen.

Het maakt gebruik van Dynamische Programmering. Hierdoor wordt een oplossing gevonden die een goede benadering is van de optimale stapeling.

**Vier:**

Dit programma maakt gebruik van het algoritme van Reinders (9).

Dit programma bepaalt alle mogelijke manieren waarop een sortiment gesneden kan worden en vult de moederplaat met deze patronen. Ook hier moet de totale waarde van de gesneden sortimenten zo hoog mogelijk worden. Dit programma is gebaseerd op een heuristiek. Hierdoor worden niet alle mogelijkheden nagegaan en zal de oplossing een benadering van een optimale stapeling zijn. Een beperking in het programma is dat alleen gewerkt kan worden met "guillotine sneden". Een voordeel van "vier" boven "knip" is de veel kortere rekentijd.

### **Drie-dimensionaal**

**Pack:**

Dit programma is gebaseerd op het algoritme van Gehring (6).

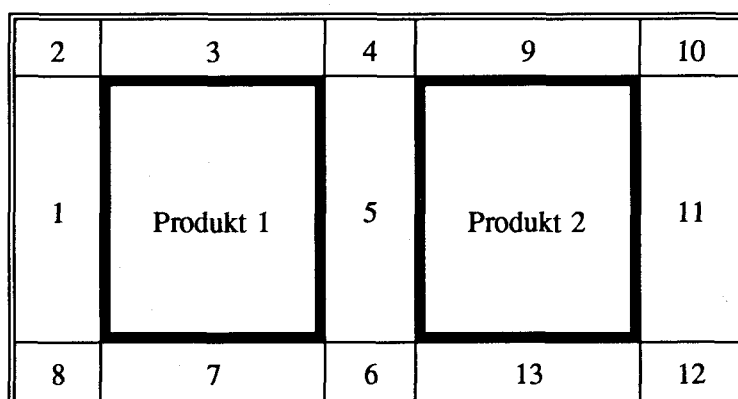
Het programma plaatst blokken in een ruimte waarbij de blokken gesorteerd

worden naar afnemende inhoud. De ruimte wordt verdeeld in deelruimtes, die de lengte hebben van het grootste aanwezige blok in de lijst. Het grootste blok wordt telkens het eerst geplaatst. Waarna de ruimte, die overblijft naast en boven het blok, gevuld wordt met andere eventueel kleinere blokken. Alle geplaatste blokken worden uit de lijst verwijderd. Zodra een deelruimte geheel gevuld is, wordt aan een nieuwe deelruimte begonnen.

Het programma is gebaseerd op een heuristiek en zal een benadering van de optimale stapeling leveren. Een voordeel van de heuristiek is de veel kortere benodigde rekentijd.

Om het verloop van de kwaliteit van het produkt in de tijd te kunnen simuleren is een eerste aanzet gegeven om de temperatuurverdeling in een container te kunnen bepalen, gebaseerd op een eenvoudig luchtverdeelmiddel.

Dit model gaat uit van een stationaire (niet in de tijd veranderende) luchtverdeling. De transportruimte wordt opgedeeld in grote elementen (zie figuur 1). Per element worden fysieke behoudswetten voor massa (luchtverdeling) en energie (temperatuurverdeling) toegepast om de luchtverdeling (snelheid) die stationair is, en het verloop van de temperatuur in ruimte (produkt en lucht) en tijd te kunnen berekenen. Deze methode is snel maar zeer grof, en behoeft toetsing aan experimenten.



figuur 1: Voorbeeld van twee pallets in een vrachtwagen.

Voor validatie van het luchtverdeelmiddel en om het effect van de belading en initiële temperatuur te kunnen bepalen, is een experimentenreeks gestart. Deze loopt van november '91 tot april '92. Hiervoor is een simulatiecontainer op kleine schaal (l x b x h = 2.0 m x 0.9 m x 0.8 m) gebouwd waarin de klimaatcondities die tijdens het werkelijke transport optreden zo goed mogelijk worden nagebootst. De experimenten worden uitgevoerd met kropsla en paprika, die een verschillende optimale bewaartemperatuur hebben (0 resp. 8 °C).

Deze simulatie is uitgevoerd met behulp van een schaalmodel van een 20 ft container, waarin de pallets met produkt worden voorgesteld door stapels dozen

met produkt.

Als doelstelling voor de proef is gekozen :

- Is de plaats van de verschillende produkten in de transportruimte en ten opzichte van elkaar van invloed op de produktkwaliteit?

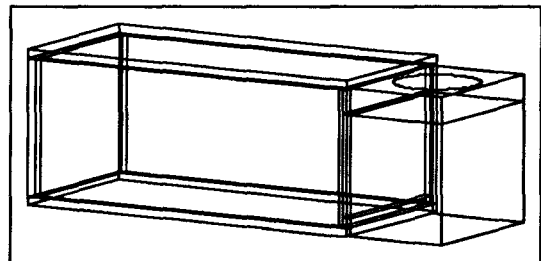
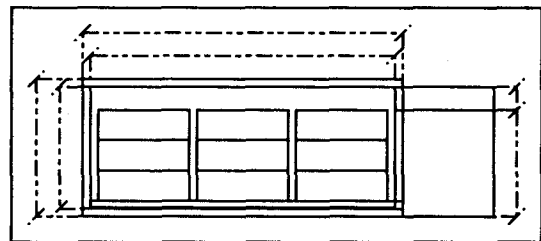
De invloed van ethyleen op de kwaliteit is in deze proef niet meegenomen. Er is in de opzet van de proef rekening gehouden met de keuze van produkten om problemen hiermee te voorkomen.

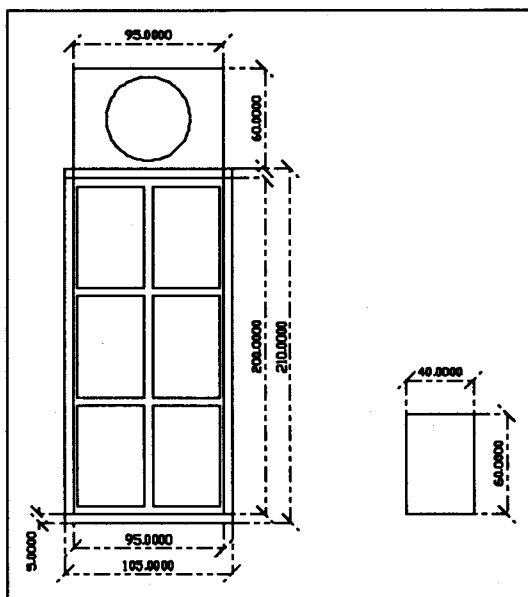
De variabelen bij de simulatie zullen zijn: de initiële temperatuur van het produkt, de stapeling van de produkten en de temperatuurinstelling in de geconditioneerde ruimte.

Er is gekozen voor een schaalmodel van een 20 ft-container, één waarbij pallets worden voorgesteld door een stapel dozen met afmetingen 60 \* 40 \* 20 (L \* B \* H) met het gewenste produkt. Dit zal per stapel 2 à 3 dozen produkt betekenen. Om de gewenste luchtstroming in de opstelling te verkrijgen wordt gebruikt gemaakt van een ventilator in combinatie met inlaat en een uitlaatopening. De opstelling kan zowel een vrachtauto als een container simuleren.

Container: Bij een transportcontainer wordt de lucht onder het produkt ingeblazen. De lucht wordt door middel van een bodem met I-profielen gedeeltelijk naar achter geleid. De uitvoer van lucht is bovenin vooraan de container. De belangrijkste luchtstroming is een opwaartse.

Vrachtwagen: Bij een vrachtwagen wordt de lucht bovenin vooraan de container ingeblazen. Deze wordt dan soms met behulp van doeken of een vals plafond, naar achter geleid. De uitlaat van lucht is voorin onder de inlaat. De belangrijkste luchtstroming is van achteren naar voren.





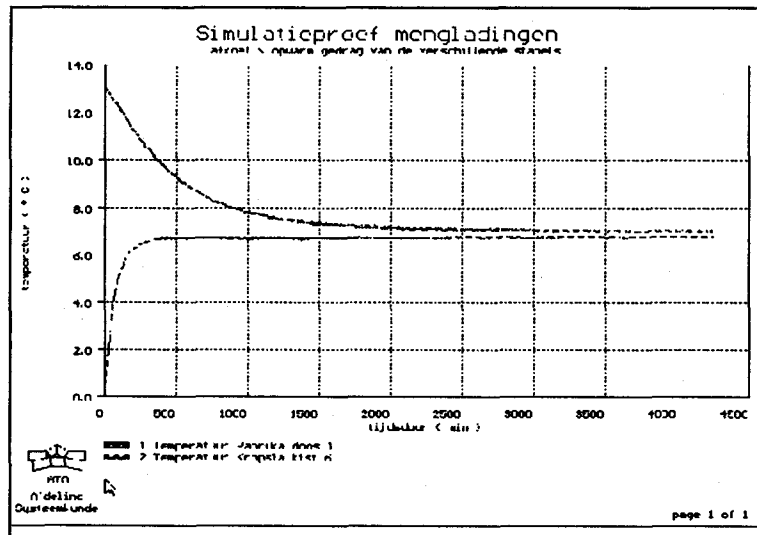
figuur 2: De simulatiecontainer met de opstelling voor de experimenten.

De opstelling wordt geplaatst in een geconditioneerde ruimte waarin temperatuur en de relatieve luchtvochtigheid te beheersen zijn. Verwacht wordt dat de stapeling, en vooral het verschil in initiële temperatuur van de produkten, een effect heeft op de kwaliteit van de produkten na het transport. Om dit te toetsen worden er een aantal experimenten uitgevoerd met een tweetal produkten, waarbij de stapeling, de ingestelde temperatuur

en de initiële temperatuur gevarieerd zullen worden.

Vooraf wordt het netto gewicht van de produkten per doos gemeten.

Tijdens de gehele duur van de proef wordt de temperatuur van de inlaatlucht, de uitlaatlucht, de lucht tussen het produkt en de produkttemperatuur gemeten. De produkttemperatuur wordt in elke doos gemeten door een sensor in het produkt te brengen. Ook wordt tijdens de gehele duur van de proef de RV van de inlaatlucht en de uitlaatlucht en van de lucht tussen het produkt gemeten. Na de proef worden wederom de netto gewichten van de produkten per doos gewogen. Voor de visuele kwaliteitsbeoordeling worden de produkten uitgesteld bij kamertemperatuur of bij de in de praktijk gebruikelijke temperatuur. In figuur 3 wordt als voorbeeld het temperatuurverloop van de produkten in een doos paprika en een kist kropsla weergegeven.



figuur 3: Opwarm / afkoelgedrag bij simulatieproef.

### B. Publikaties

Janssens et al: CA-container-transport van paprika's naar de VS. ATO rapport no. 183.

### C. Werkplan 1992

In 1992 zal de lopende experimentenreeks worden voortgezet en, indien dit voor de modelvorming nodig is, uitgebreid. De resultaten worden gebruikt voor de opzet van een eenvoudig rekenmodel voor de bepaling van lucht- en temperatuurverdeling in een transportmiddel. Dit model zal vervolgens worden gebruikt om een kwaliteitsevaluatie en waardebeoordeling van de lading van producten te berekenen. De beladingsroutines worden verder verfijnd. Een optimaliseringsroutine die de waarde van de lading optimaliseert door de belading te variëren, moet ontwikkeld worden. Tevens zal zorg worden besteed aan het samenvoegen van de modules tot een gebruikersvriendelijk systeem.

## **Computer Beeld Analyse bij groenten en fruit**

Projectnummer: 7.02.21

A. Hulzebosch

### **A. Verslag over 1991**

#### **Probleemstelling**

Een probleem bij het bepalen van de kwaliteit van groente- en fruitprodukten is de objectiviteit en de nauwkeurigheid van sommige beoordelingen zoals het schatten van de grootte van een oppervlak met een bepaalde kleur. Dit leidt tot verschillende beoordelingen van eenzelfde produkt door verschillende experts. Computer Beeld Analyse kan gebruikt worden om dit probleem (gedeeltelijk) op te lossen. Tevens kan hiermee in principe snel worden gemeten.

#### **Doelstelling**

Dit onderzoeksproject dat in 1991 gestart is, richt zich op de toepassing van Computer Beeld Analyse bij de beoordeling van de kwaliteit van groente en fruit (vers). Onderzocht wordt of deze techniek met succes kan worden toegepast bij verschillende produkten. Bovendien worden meetmethoden ontwikkeld om met Computer Beeld Analyse de kwaliteit te kunnen bepalen van groente en fruit. Een paar produkten zullen in detail worden bekeken en onderzocht wordt welke kwaliteitskenmerken van een produkt met voldoende nauwkeurigheid kunnen worden bepaald.

#### **Fasering**

juni 1991:

- Het literatuuronderzoek is afgerond, zodat een min of meer definitieve produktkeuze kan worden gemaakt. Bovendien zal dan duidelijk moeten zijn welke technieken in aanmerking komen om inwendige gebreken te detecteren. Eerste resultaten van vormmetingen en aanzet tot het meten van kleur.

december 1991:

- Eerste resultaten van vormmetingen en aanzet tot inzet van kennistechnologie.

december 1992:

- Gebruik van meerdere camera's en kleurencamera bij vorm en kleurbepalings. Onderzoek aan het inwendige van witlof en paprika met röntgentechniek.

december 1993:

- Verder onderzoek naar de mogelijkheden van inwendig onderzoek met röntgentechniek en/of NMR. Toepassen van vorm en kleur- en vorm metingen op andere produkten.

### **Verslag van de werkzaamheden**

In het eerste jaar is een literatuuronderzoek verricht naar bestaande technieken die gebruik maken van Computer Beeld Analyse bij de kwaliteitsbepaling van groente en fruit. Tevens is gekeken naar technieken om de inwendige kwaliteit te kunnen bepalen. De belangrijkste technieken, die overigens ook in de medische wereld worden toegepast, zijn: NMR, röntgen- en ultrasone technieken. NMR-imaging is een afbeeldingstechniek waarbij m.b.v. een magnetisch veld wordt bewerkstelligd dat bepaalde atoomkernen energie gaan uitzenden in het (ongevaarlijke) radiofrequente gebied. Deze techniek is in de loop van het jaar beschikbaar gekomen op het ATO. Een groot probleem is echter dat voorlopig alleen van zeer kleine produkten opnamen kunnen worden gemaakt omdat we in dit project graag opnamen van het gehele produkt willen maken.

Met röntgen-technieken kan men waarschijnlijk een aantal kwaliteitskenmerken goed meten. Dit is uiteraard afhankelijk van het gekozen produkt. Een nadeel is het gebruik van schadelijke straling. De vraag is of dit bij de toepassing op bijvoorbeeld veilingen niet op te grote bezwaren zal stuiten. Voor onderzoeksdoeleinden lijkt het echter een techniek te zijn die veel mogelijkheden biedt om vooral informatie omtrent de inwendige kwaliteit te verkrijgen.

Ultrasone technieken leveren, zo is gebleken uit eigen waarneming en die van anderen, geen bruikbare beelden op.

Er is een onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheid om voosheid in radijzen te kunnen bepalen. Hiervoor werden opnamen gemaakt van doorgesneden voze radijzen. Er is een histogramanalyse uitgevoerd. Door het maken van een histogram kan bepaald worden hoe vaak de verschillende grijswaarden (van donker tot licht) in het opgenomen beeld voorkomen. Hieruit bleek dat het mogelijk is om op basis van gemeten grijswaarden een uitspraak te doen over de aanwezigheid van voosheid. Een dergelijke methode kan, indien deze verder wordt ontwikkeld, worden gebruikt om automatisch en objectief de mate van voosheid te bepalen d.m.v. een steekproef uit een grotere partij.

Verder is er onderzoek gedaan naar de vormherkenning van de paprika. Op dit moment worden paprika's in sorteermachines gesorteerd op gewicht en/of maximale schouderbreedte. Voor de bepaling van de schouderbreedte vanuit de paprikabeelden is in ieder geval een herkenning van de positie en een bepaling van de vorm nodig. Er is een algoritme ontwikkeld om voor een paprika met steel een vormherkenning uit te voeren. Hierdoor is het mogelijk om de maximale schouderbreedte van een paprika met steel te bepalen.



### **Confrontatie met de fasering**

Spectroscopische metingen zijn niet uitgevoerd. Begin 1991 was er het plan om een spectroradiometer aan te schaffen. In de loop van dat jaar is besloten dit niet te doen vanwege de hoge kosten en te kiezen voor andere investeringen om kleur te kunnen meten. Eind 1991 is een kleurencamera aangeschaft. Hiermee zullen in 1992 kleureigenschappen gemeten worden van o.a. paprika.

### **B. Publikaties**

Poster: A.J.M. Timmermans, A.A. Hulzebosch, B.H. van Zwol, Modelgestuurde beeldverwerking.

### **C. Werkplan 1992**

#### **Aanpak**

Om een goede kwaliteitsbepaling mogelijk te maken wordt er onderzoek gedaan op de volgende terreinen.

- a. Optimalisatie van beeldacquisitie: hoe kan een zo goed mogelijk beeld worden verkregen van het betreffende groente- of fruitprodukt.
- b. Om het aangeleverde beeld te kunnen analyseren wordt de nodige software gebruikt die deels reeds aanwezig is en deels zelf moet worden ontwikkeld. De analyse levert een aantal parameters op dat de kwaliteit van het opgenomen produkt representeert.
- c. Met deze parameters kan een indeling in kwaliteitsklassen worden gemaakt. Hierbij wordt gebruik gemaakt van statistische methoden om tot de statistisch beste indeling in klassen te komen.

Het onderzoek naar de kwaliteitsbepaling van de paprika zal worden voortgezet. Belangrijke kwaliteitscriteria zijn de aanwezigheid van brandvlekken en neusrot. Voor de controle op deze afwijkingen moet het hele oppervlak van de paprika bekeken worden. Dit heeft tot gevolg dat een opstelling met meerdere camera's al dan niet gecombineerd met een mechanische positieverandering nodig is. Een paprika is echter niet symmetrisch rond, zoals bijvoorbeeld een appel waardoor een soepele rolbeweging niet mogelijk is. Voor de belichting zal een diffuse lichttunnel het meest geschikt zijn. Voor het bepalen van kleurverschillen en vlekken zal een nieuw aan te schaffen kleurencamera worden gebruikt. In het vervolgonderzoek moet de vormherkenning verder worden verfijnd en getest op een aantal paprika's. Ook zal gekeken worden of de grootte van de lobben kan worden gekwantificeerd. Dit levert belangrijke informatie op over de driedimensionale vorm van de paprika op.

Indien een röntgenapparaat beschikbaar komt zal zowel het inwendige van de paprika als de witlof worden onderzocht. Getracht zal worden de pitlengte hiermee te bepalen. Bij de paprika kan getracht worden om de wanddikte van de vrucht te bepalen.

### **Fasering**

juni 1992:

- Optimalisatie van opname van paprika in de nieuwe belichtingskast. Ervaring opdoen met het gebruik van meerdere camera's om het hele oppervlak te kunnen scannen.  
Automatisering van de bepaling van het zetmeelgehalte van een appel.

december 1992:

- Detectie van vlekken op de paprika met meerdere camera's en kleurencamera.  
Afronden vormherkenning voor paprika.  
Indien besloten wordt tot de aanschaf van een röntgenapparaat zullen er oriënterende metingen worden verricht om de pitlengte bij witlof en de wanddikte bij de paprika te bepalen.

### **Afwijking van oorspronkelijke fasering**

Hoewel er in eerste instantie gekozen is voor het onderzoeken van meerdere produkten, is het afgelopen jaar besloten om intensiever te werken aan één specifiek produkt. Hierdoor kan beter worden gewerkt aan meerdere kwaliteitsparameters van één produkt waardoor een betere totale kwaliteitsbepaling tot stand kan worden gebracht. Als eerste is gekozen voor de paprika omdat dit produkt een toenemend economisch belang heeft en omdat er een aantal interessante kwaliteitscomponenten te meten zijn (zoals bijzondere vorm, verschillende kleuren).