

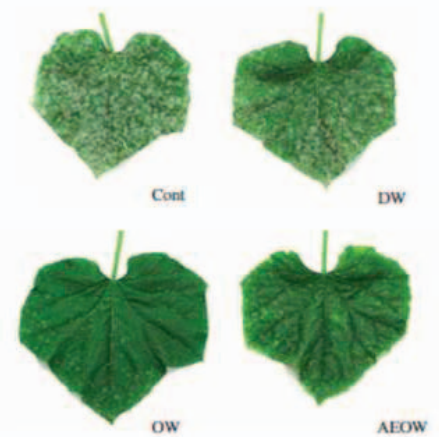
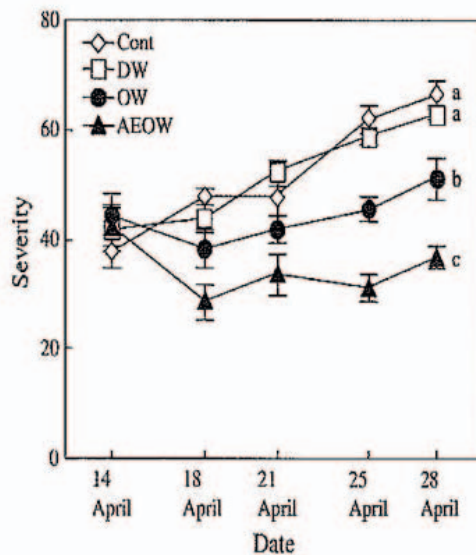


Kennisinventarisatie naar de achtergronden en toepassingen van electrochemisch geactiveerd water in de agrarische sector

Jantineke D. Hofland-Zijlstra¹, Rozemarijn S.M. de Vries¹ & Harry Bruning²

1 Wageningen UR Glastuinbouw, Gewasgezondheid, Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

2 Wageningen Universiteit Agrotechnologie & Voedingwetenschappen, Sectie Milieutechnologie, Postbus 17, 6700 AA Wageningen



Referaat

Wageningen UR Glastuinbouw heeft met financiering van Productschap Tuinbouw de historie en achtergronden van electrochemisch geactiveerd water beschreven en mogelijkheden verkend voor toepassingen binnen de agrarische sector. In Nederland is alleen het gebruik van geactiveerd water als biocide sinds 2009 toegestaan. Geactiveerd water bestaat onder meer uit chloorgas, onderchlorig zuur en hypochloriet. Mede door een hoog oxidatie-reductiepotentiaal (ORP 750-1100 mV) is er een brede werking tegen bacteriën, schimmels, virussen, algen, protozoa en nematoden. Agrarische toepassingen met geactiveerd water zijn beschreven voor zaadontsmetting, reiniging van fust en gereedschappen, verwijderen van biofilms uit leidingen, desinfectie van bloemen, groenten en fruit. Met de recente ontwikkeling van ultrasone verneveling van geactiveerd water is het tevens mogelijk om gewassen droog te behandelen tegen ziekteverwekkers en lucht te ontsmetten. Voor toepassingen in kassen is het wenselijk de corrosieve eigenschappen van het geactiveerde water zoveel mogelijk te verminderen en de capaciteit van de doseerapparatuur op te schalen.

Abstract

Wageningen UR Greenhouse Horticulture, with funding of Dutch Horticultural Board, has described the history and background of electrochemically activated water and explored possibilities for applications within the agricultural sector. In the Netherlands, the use of activated water as a biocide is allowed since 2009. Active ingredients of activated water are chlorine gas, hypochlorous acid and hypochlorite. Together with a high oxidation-reduction potential (ORP 750-1100 mV) there is a broad activity against bacteria, fungi, viruses, algae, protozoa and nematodes. Agricultural applications of activated water are described for seed disinfection, cleaning equipment and packing materials, removal of biofilms from pipes, disinfection of flowers, fruits and vegetables. The recent development of ultrasonic atomization of activated water created new possibilities to treat crops and harvested products against pathogens without excessive volumes of water and disinfect air from pathogens. For applications in protected crops it is desirable that the corrosive properties of the activated water should be minimized and capacities of dispensing equipment must be enlarged.

© 2011 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO).

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

1	Samenvatting	5
2	Inleiding	7
3	Electrochemisch geactiveerd water	9
3.1	Historie	9
3.2	Principe van membraanelectrolyse	9
3.3	Corrosieve eigenschappen	12
4	Antimicrobiële werking	15
4.1	Onderchlorig zuur, pH en ORP	15
4.2	Voorbehandeling met basisch geactiveerd water	16
4.3	Combinaties met pesticiden en uitvloeiers	16
4.4	Welke factoren beïnvloeden antimicrobiële activiteit?	18
5	Toepassingen in agrarische sector	19
5.1	Wat maakt werken met chemisch geactiveerd water interessant?	19
5.2	Zaadbehandeling	20
5.3	Reiniging van fust en gereedschappen	20
5.4	Verwijdering van biofilm in leidingen	20
5.5	Desinfectie van geoogste producten	21
5.5.1	Groenten & Fruit	21
5.5.2	Bloemen	22
5.6	Schimmelbestrijding tijdens de teeltfase	23
5.6.1	Voedingswater (irrigatie)	23
5.6.2	Spuitbehandeling	23
5.6.2.1	Komkommer	23
5.6.2.2	Tomaat	24
5.6.2.3	Gerbera	24
5.6.2.4	Rijst	26
5.6.3	Risico op gewasschade	26
5.6.4	Groeibevordering en kwaliteitsverbetering	27
6	Kansen & Kennishiaten	29
6.1	Toepassingen als biocide	29
6.2	Dompelbehandelingen	29
6.3	Spuitbehandelingen	29
6.4	Mistbehandeling	30
6.5	Bestrijding van bodemziekteverwekkers	31
6.6	Tot slot	31
7	Literatuurlijst	33
Bijlage I	Overzicht van studies naar effecten van geactiveerd water op micro-organismen	35
Bijlage II	Overzicht van studies naar effecten van geactiveerd water op oppervlakten en gereedschappen	38

1 Samenvatting

Wageningen UR Glastuinbouw heeft met financiering van Productschap Tuinbouw de historie en achtergronden van electrochemisch geactiveerd water beschreven en mogelijkheden verkend voor toepassingen binnen de agrarische sector. Dit vormt het eerste onderdeel van het vervolproject Geactiveerd water voor ziektebestrijding onder glas. Producten op basis van electrochemisch geactiveerd water kennen al een lange geschiedenis. In 1902 waren de eerste industriële apparaten in gebruik voor desinfectie van drinkwater en medische instrumenten. Het gebruik voor agrarische doeleinden heeft een veel kortere historie en hierover is nog niet zo veel gepubliceerd. In Nederland is het gebruik als biocide pas sinds 2009 toegestaan (met uitzondering van ontsmetting van drinkwater voor mens en dier), maar zijn de toepassingen als gewasbeschermingsmiddel verboden.

Door membraanelectrolyse van keuzenzout en water worden een aantal chloorproducten gevormd zoals chloorgas, onderchlorig zuur en hypochloriet, maar ook waterstofperoxide en ozon komen vrij. Samen met een hoog oxidatie-reductie-potentiaal (ORP 750-1100 mV) zijn deze stoffen bepalend voor de antimicrobiële werking van de vloeistof. Geactiveerd water heeft een brede werking tegen bacteriën, schimmels, virussen, algen, protozoa en nematoden. Wel zijn er sterke verschillen in gevoeligheid tussen diverse organismen, de ontwikkelingsstadia waarin ze verkeren en de benodigde chloorconcentraties om doding te bewerkstelligen. Het meeste onderzoek is verricht op het gebied van voedselveiligheid. De veelvoorkomende bacteriën, *Escherichia coli* (O157:H7) en *Listeria monocytogenes* blijken bijvoorbeeld zeer gevoelig. Door de brede inzetbaarheid vinden toepassingen plaats in de voedselverwerkende industrie (vlees en groenten), intensieve veehouderij, agrarische en medische sector en in de tandheelkunde.

Onderzoeken naar het gebruik van geactiveerd water voor agrarische doeleinden zijn nog beperkt, maar geven wel zicht op verschillende toepassingen die mogelijk kunnen zijn, zoals zaadontsmetting, reiniging van fust en gereedschappen, biofilms verwijderen uit leidingen, desinfectie van bloemen, groenten en fruit en er is zelfs werking gevonden tegen bodemschimmels. Bij desinfectie van gewassen via spuitbehandelingen is er een risico op gewasschade aanwezig. Dit hangt onder meer samen met de frequentie van behandeling en het gewas(stadium), maar ook met de eigenschappen van het toegepaste actieve water, zoals de chloorconcentratie en ORP.

Toepassen van geactiveerd water via ultrasone verneveling is nog maar sinds een paar jaar mogelijk en daarover staat nog niets beschreven in de internationale literatuur. Deze toepassing biedt nieuwe kansen voor het gebruik van geactiveerd water als zogenaamde droge nevel. In Nederland zijn enkele succesvolle proeven tegen *Botrytis* op gerberabloemen en *Poinsettia*'s uitgevoerd. Voordelen zijn dat er geen kwaliteitsverlies optreedt en dat er geen residu achterblijft. Naast gewas- of productbehandelingen is ook luchtontsmetting mogelijk met mistbehandelingen. Voor toepassingen in bedekte teelten is het wenselijk de corrosieve eigenschappen van het geactiveerde water zoveel mogelijk te verminderen en de capaciteit van de doseerapparatuur op te schalen. Voor gewasbehandelingen zal het tevens van belang zijn dat een behandeling met geactiveerd water veilig kan worden uitgevoerd zonder gezondheidsrisico's.

2 Inleiding

Tijdens het Parapluplan Gerbera bleek het product Aquanox een goede werking te hebben op de bestrijding van Botrytis sporen. Producten op basis van electrochemisch geactiveerd water (NaCl) die op het bedrijf geproduceerd worden, kregen eind 2009 een toelating als biocide. Wageningen UR Glastuinbouw heeft samen met Reinders Vernevelings- en Ontsmettingstechniek in 2010 het project Toepassing van Aquanox in de glastuinbouw uitgevoerd als verkenning van de potentie binnen de glastuinbouwsector (Sleegers, 2010). Dit project werd gefinancierd door Productschap Tuinbouw. Binnen dit project kwamen echter veel vragen los over de werkzaamheid van het product bij verschillende pH's, het verschil met uitgangproducten van andere fabrikanten, op welke manier is de corrosiviteit te verminderen en wat zijn de risico's op gewasschade. Dit vormt de aanleiding voor een bredere kennisinventarisatie in de wetenschappelijke literatuur. Producten op basis van electrochemisch geactiveerd water zijn namelijk niet nieuw. In 1902 waren de eerste industriële apparaten voor waterelectrolyse al in gebruik met name voor desinfectie van drinkwater. Het gebruik voor agrarische doeleinden heeft een veel kortere historie. In dit rapport is gestreefd naar een beknopte weergave van de beschikbare kennis. Deze kennisinventarisatie vormt het eerste onderdeel van het vervolgproject Geactiveerd water voor ziektebestrijding onder glas en is gefinancierd door Productschap Tuinbouw.

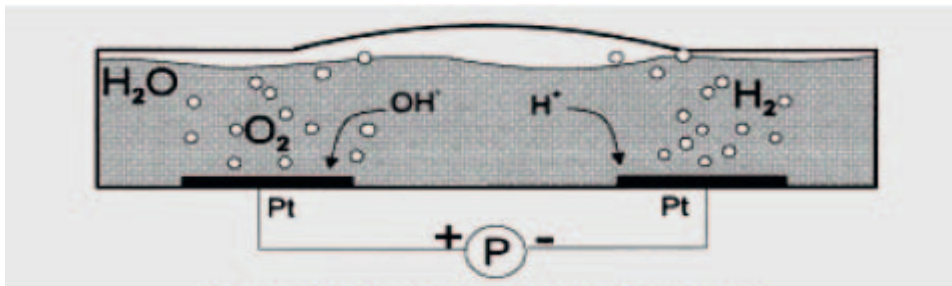
3 Electrochemisch geactiveerd water

3.1 Historie

De geschiedenis van waterelectrolyse gaat terug tot de eerste industriële revolutie in 1800 toen werd ontdekt dat door electrolyse van water waterstof en zuurstofgas is te produceren. In 1902 waren de eerste 400 industriële apparaten voor waterelectrolyse al in gebruik. Rusland gebruikte geactiveerd water vooral voor desinfectie van drinkwater en desinfectie van medische instrumenten in ziekenhuizen (Hricova et al. 2008). Ook Japan werkt sinds de jaren '80 met toepassingen op dit gebied en is tevens de grootste fabrikant van dit soort machines. Over het algemeen kunnen de machines in twee soorten onderscheiden worden, die met twee kamers welke gescheiden worden door een membraan waardoor er zuur en basisch water ontstaat en die met een enkele kamer. De mogelijkheden en chemische samenstelling van de verschillende producten zijn verschillend en deze is afhankelijk van de gebruikte concentratie van zout, de toegepaste stroomsterkte en spanning, elektrolysetijd, snelheid van de waterstroom en de kwaliteit van de elektroden. Bij de meeste machines kunnen de gebruikers zelf het Ampère niveau en/of voltage en de aanwezige chloride concentraties bepalen (Hricova et al. 2008). Door de brede antimicrobiële werking vinden toepassingen plaats op het gebied van drinkwaterzuivering, desinfectie van medische apparatuur en ruimtes, in de voedselverwerkende industrie, intensieve veehouderij, medische toepassingen ter behandeling van bijvoorbeeld huidaandoeningen zoals eczeem of wondheling, of in de tandheelkunde ter bestrijding van bacteriële infecties (Malchesky & Fricker 2003, Yahagi et al. 2000).

3.2 Principe van membraanelectrolyse

Een elektrochemisch geactiveerde oplossing wordt gemaakt door water onder spanning te zetten aan een positieve en negatieve geladen pool waardoor ionentransport optreedt. Uit waterstofionen (H^+) en hydroxideionen (OH^-), die beide van nature in water voorkomen, wordt aan de negatieve pool, kathode genoemd, waterstof (H_2) geproduceerd en aan de positieve pool, anode genoemd, zuurstof (O_2) (Figuur 1.).



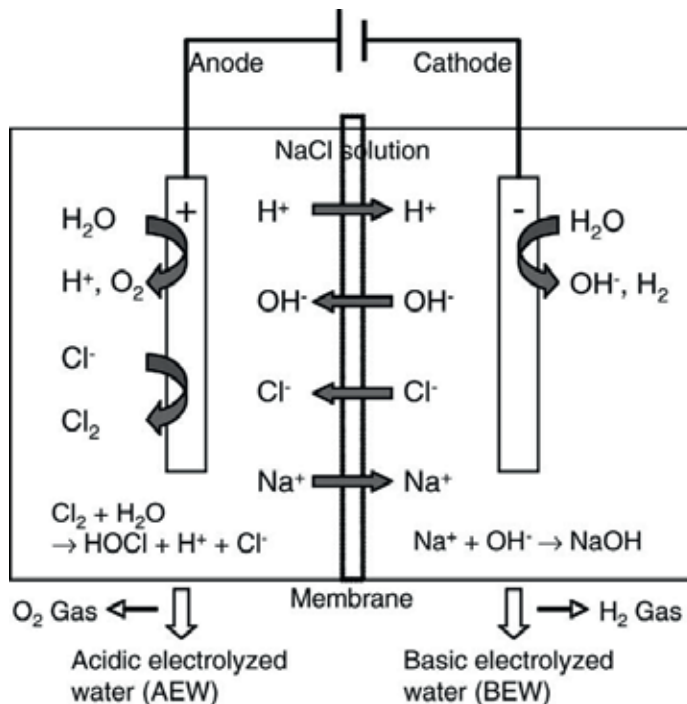
Figuur 1. Schematisch overzicht van een electrochemische cel met water als uitgangspunt (Zoulias, et al. 2002).

Door keukenzout (NaCl) aan het water toe te voegen ontstaat er een nog sterkere oxidatiereactie, waardoor ondermeer de biocidewerking toeneemt. Hierbij wordt gebruik gemaakt van membraanelectrolyse (Figuur 2.). Membraan elektrolyse is een proces waarbij beide elektrodereacties (aan de kathode reductie en aan de anode oxidatie) zorgen voor het transport van geladen deeltjes, de ionen. Het membraan scheidt het reactievat in een kathode- en een anodecompartiment. Bij membraan elektrolyse is de elektrode reactie essentieel voor het eigenlijke scheidingsproces (Hricova et al. 2008). Het doel van het membraan is om de stoffen die ontstaan aan de anode en kathode te scheiden in twee verschillende vloeistofstromen. De voltage tussen de elektrodes is meestal ingesteld tussen 9 en 10 Volt (Hricova et al. 2008). Het te behandelen water passeert in zijn geheel de elektrolysecel. In de water elektrolyse kunnen de geproduceerde stoffen in gasvormige fase zijn, zoals zuurstof en waterstof of chloor, of in opgeloste toestand, zoals zuren (H⁺) en basen (OH⁻) en onderchlorig zuur (HOCl) (Hricova et al.2008, Al-Haq et al.2005). Tabel 1. geeft een overzicht van de eigenschappen van de vloeistoffen die geproduceerd worden aan de anode en de kathode. Aan de anode worden ook chloorradicalen Cl[•] gevormd. Door hun hoge reactiviteit hebben deze een zeer korte levensduur. Ze reageren meteen tot Cl₂ of, in de aanwezigheid van organische opgeloste stoffen tot organo-chloorverbindingen. In de aanwezigheid van opgelost ammonium worden er aan de anode chlooramines gevormd. Deze hebben een desinfecterende werking en een scherpe geur (zwembadlucht).

De elektrolyse van natriumchloride (keukenzout) voor de productie van chloor en natronloog is het meest belangrijke elektrolysemembraan proces voor de industrie wereldwijd. Membraan elektrolyse wordt ook gebruikt voor de productie van natrium hypochloride, ozon, chloor en onderchlorig zuur voor desinfectie van drinkwater. In water met ozon bijvoorbeeld kunnen micro-organismen niet overleven (Filippi 1999).

Tabel 1. Eigenschappen van vloeistof geproduceerd in de anode en kathode-cel (Hricova et al.2008 , Al-Haq et al. 2005). AEW is de Engelse afkorting voor zuur geactiveerd water en BEW staat voor basisch geactiveerd water.

Anode (AEW)	Kathode (BEW)
Vrije radicalen (OH, O), actieve zuurstof (O ₂ ⁻), waterstofperoxide (H ₂ O ₂), ozon (O ₃), opgelost zuurstof (O ₂ aq.) zuurstofgas (O ₂), chloorgas (Cl ₂), opgelost chloor (Cl ₂ aq.), onderchlorig zuur (HOCl), hypochloriet (ClO ⁻), zoutzuur (HCl), waterstofionen (H ⁺)	Na ⁺ , OH ⁻ , H ₂ -gas
Oxidatiereacties	Reductiereacties
Lage pH (2-3)	Hoge pH (10-13)
ORP > 1100 mV	ORP: -800 tot -900 mV
Sterke chloorproductie & scherpe geur	Geurloos
Zeer reactief met organische deeltjes	Zeepachtig, ontvet, verlaagt opp.vlaktespanning
Sterke corrosie van rvs (304 en 316)	Minder corrosieve werking tov lagere pH's. Corrosief voor zink, aluminium en ijzer. RVS is ongevoelig

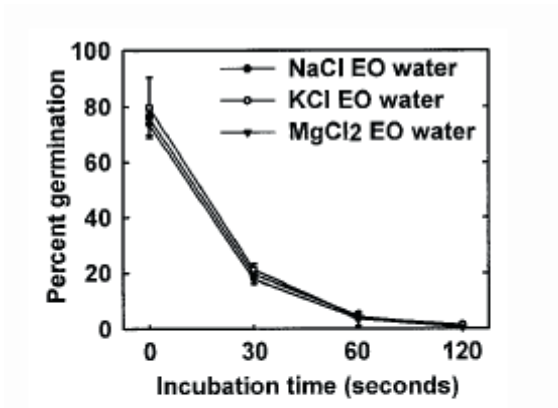


Figuur 2. Schematisch overzicht van een electrochemische cel met een keukenzoutoplossing als uitgangsubstantie (Hricova et al. 2008, Al-Haq et al. 2005). Tijdens het elektrolyse proces valt een keukenzout (NaCl) oplossing (opgelost in demineraliseerd water) uiteen in chloride (Cl^-) en natrium (Na^+) ionen. Hydroxide (OH^-) en waterstof (H^+) ionen bevinden zich van nature in water. Negatief geladen ionen zoals Cl^- en OH^- bewegen zich naar de anode waar de elektronen worden afgegeven en deze zuurstof (O_2), chloorgas (Cl_2), hypochloride ion (OCl^-) onderchlorig zuur (HOCl) en zoutzuur (HCl) vormen. Positief geladen ionen zoals H^+ , gevormd uit de splitsing van water in H^+ en OH^- , bewegen zich naar de kathode om elektronen op te nemen en waterstof gas (H_2) wordt gevormd. OH^- dat overblijft vormt met het aanwezige Na^+ opgelost natriumhydroxide (NaOH). De oplossing valt uiteen in een zure oplossing van de anode (AEW) met een pH van 2 tot 3, een hoog oxidatie reductie potentiaal (ORP) van >1100 mV, en bevat een hoeveelheid zure, beschikbaar actief chloor van 10 tot 90 ppm, en een basische elektrolyse water oplossing (BEW) van de kathode met een pH van 10 tot 13 en een ORP van -800 tot -900 mV. Het basische water heeft een oppervlaktespanningsverlagende en ontvettende werking.

Neutralisatie van zure vloeistof is mogelijk door het water na passeren van de anode (vorming actief chloor en zuurstofradicalen) via een reactiekamer te mengen met de kathodevloeistof met OH^- ionen, zodat de pH weer wordt geneutraliseerd of bij het gebruik van één enkele reactiekamer. Dit neutraal geëlektrolyseerd water (NEW) heeft een pH van 7 tot 8 en een oxidatie-reductiepotentiaal (ORP) van 750 mV (Hricova et al. 2008, Mueller et al. 2003). Voor een aantal toepassingen wordt met dit NEW water gewerkt vanwege de minder corrosieve eigenschappen en langere houdbaarheid.

Is er verschil in toepassing van verschillende zouten?

Electrochemisch geactiveerd water kan in principe gemaakt worden van verschillende zouten zoals natrium- (NaCl), kalium- (KCl) en magnesiumchloride (MgCl_2). Er zijn geen verschillen geconstateerd in pH of oxidatie-reductie potentiaal in de geactiveerde wateroplossing als deze is gemaakt van verschillende zouten. In een laboratorium experiment met sporen van *Botrytis cinerea* en de roestschimmel, *Puccinia antirrhini* uredinio werd geen verschil in effectiviteit gevonden (Figuur 3.). Magnesiumchloride produceert meer vrij chloor (dat is chloor in de vorm van Cl_2 , HOCl en ClO^-), maar geeft ook meer risico op fytotoxiciteit ten opzichte van natrium- en kaliumchloride (Buck et al. 2002).



Figuur 3. Kieming van roestsporen (*Puccinia antirrhini*) na behandeling met electrochemisch geactiveerd water met een zure pH (2-3) gemaakt met drie verschillende zoutoplossingen (NaCl, KCl en MgCl₂·6H₂O). Kieming werd beoordeeld 24 uur na incubatie op wateragar. Data is weergegeven als gemiddelde plus standaarddeviatie van vier groepen met tenminste 200 roestsporen (Buck et al. 2002).

3.3 Corrosieve eigenschappen

De corrosiegevoeligheid van electrochemisch geactiveerd water op diverse metalen oppervlakten is een belangrijk punt. Tabel 2. geeft een overzicht van de gevoeligheid van diverse metalen en plastics voor roestvorming (Malchesky & Fricker 2003). Zoals blijkt uit de tabel is roestvrij staal gevoelig voor geactiveerd water. Niet alleen treedt verkleuring op, maar bij de zwakkere soort (17-4P11) ook putcorrosie tot 3 mm diep. RVS 316 bevat 10% nikkel en is daardoor minder gevoelig voor de putcorrosie, wel treedt een sterkere verkleuring op. Bij aluminium en messing treedt eveneens een flinke verkleuring op van het metaal. De gevoeligheid van RVS, aluminium en messing is bij geactiveerd water sterker dan bij bleekwater. Kunststoffen zoals latex handschoenen en silicone worden minder elastisch en scheuren. Niet gevoelige materialen zijn: gegalvaniseerd aluminium, PVC en polyethyleen.

Volgens Piet Westen (gepensioneerd corrosiedeskundige van Akzo Nobel, Slegers 2011) is chroomstaal eveneens een zeer gevoelig metaal met risico op putcorrosie en scheurspanningscorrosie na blootstelling aan geactiveerd water. Hij waarschuwt ook voor de corrosieve werking van de nevels op aluminium, zink, geverfde onderdelen en veel toegepaste plastics als polyethyleen (PE), polypropyleen (PP) en epoxy welke bros worden na veelvuldige blootstelling.

De belangrijkste factoren die een rol spelen bij corrosie zijn: blootstellingstijd, temperatuur van de vloeistof (versnelt corrosie proces), pH en concentratie vrij chloor. Malchesky & Fricker (2003) hebben gewerkt met actief water met een zeer hoge chloorconcentratie (300 ppm). Voor reiniging van koelwater in de industrie en scheepvaart wordt met tussenpozen met geactiveerd water gewerkt met concentraties van 5-10 ppm. Deze heeft een goede biocidewerking maar is nauwelijks corrosief (Slegers, 2011).

De corrosieve eigenschappen van geactiveerd water zijn te verminderen door bepaalde stoffen voor, tijdens of na het electrolyseproces toe te voegen. Bij een Amerikaans patent worden als belangrijke anti-corrosieve stoffen genoemd: fosfaten, azolen (op basis van stikstof), sulfaten (op basis van zwavel), (di)chroom, borium, molybdaat, vanadium en wolfram (Malchesky & Fricker 2003). In Tabel 2. staan tevens de resultaten vermeld als er fosfaat aan het actieve water is toegevoegd. Dit vermindert sterk de gevoeligheid van RVS, aluminium en messing voor verkleuring en putcorrosie. De effecten van de toevoegingen kunnen verschillend zijn voor de diverse materialen.

Er is **geen vermindering van microbiële activiteit** na electrolyse door toevoeging van anti-corrosiebestanddelen. Dit is onder meer getest op de bacterie, *Bacillus subtilis* in combinatie met geactiveerd water en toevoegingen op basis van fosfaten (Malchesky & Fricker 2003).

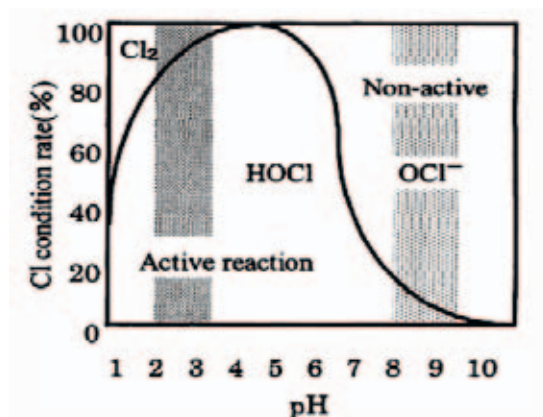
Tabel 2. Gevoeligheid van verschillende metalen en kunststoffen voor electrochemisch geactiveerd water, 300 ppm actief chloor (naar Malchesky & Fricker 2003). De metalen zijn minimaal 24 cycli blootgesteld en de kunststoffen 600-720 cycli. Eén cyclus komt overeen met een blootstellingsduur aan de vloeistof van één uur.

Materialen	Verkleuringseffecten bij ECA water (+fosfaat toevoeging)	Verkleuringseffecten bleekwater (natriumhypochloriet)
<p>Gevoelige materialen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aluminium, 6061-T6 - Aluminium 1100 (Calgon Vestal) - Messing - CDA 110 (Calgon Vestal; 99,9% koper) CDA 443 (75% koper, 28% zink) - Latex handschoenen - Polyurethaan - Silicone (O-ring) - RVS 17-4P11 - RVS 316L - RVS 316 (Calgon Vestal) 	<ul style="list-style-type: none"> - 70% opp.verkleuring (5%) - 50% opp.verkleuring - 50% opp.verkleuring (10%) - 50% opp.verkleuring - 50% opp.verkleuring - minder elastisch - witte label licht verkleurd - vertoont scheuren - < 5% opp. verkleuring; putjes, 3 mm (2%, geen putcorrosie) - < 10% opp. verkleuring (5%) - < 10% opp. verkleuring 	<ul style="list-style-type: none"> - 70% opp. verkleuring - 70% opp. verkleuring - 70% opp. verkleuring - 50% opp.verkleuring - 50% opp.verkleuring - behoud van elasticiteit niet getest - vertoont scheuren - < 5% opp. verkleuring; putjes (3 mm) - < 2% opp. verkleuring; putjes (2 mm) - < 2% opp. verkleuring; putjes (2 mm)
<p>Niet-gevoelige materialen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Geanodiseerd aluminium 6061-T6 - Geanodiseerd aluminium (Calgon Vestal)/gegalvaniseerd? - Borosilicaatglas - Ethyleen propyleen - Ethyleen- propyleen diamine (EPDM) - Fluorosilicone (Viton O-ring) - Polycarbonaat - Polyethyleen (hoge dichtheid) - Polytetrafluoroethyleen - PVC (Tygon tubing) - PVC (Tygon tubing-medical grade) - PVC (UPVC) 	<p>geen van de materialen verkleurt</p>	<p>geen van de materialen vertoont verkleuring</p>

4 Antimicrobiële werking

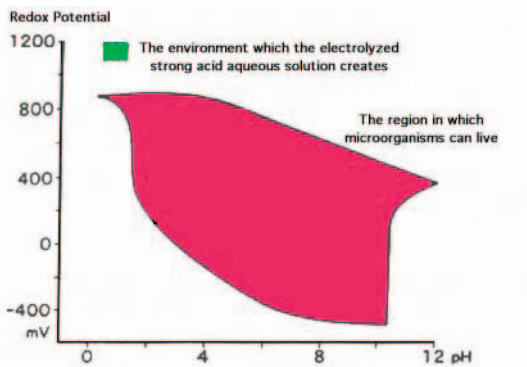
4.1 Onderchlorig zuur, pH en ORP

De antimicrobiële werking van electrochemisch geactiveerd water wordt bepaald door een aantal eigenschappen van het uitgangspunt: concentratie vrij chloor in de vorm van Cl_2 , HOCl en OCl^- , oxidatie-reductie potentiaal (ORP) en pH. Een hoge ORP en lage pH van zuur geactiveerd water werkt versterkend op onderchlorig zuur om microben te doden (Hricova et al. 2008). De aanwezigheid van verschillende chloorionen verandert met verschillen in pH (Figuur 4.). Chloor tast membranen van micro-organismen aan, maar ook aantastingreacties met nucleïne-zuren en belangrijke enzymen zijn mogelijk (Hricova et al. 2008, Buck et al. 2002, Al-Haq et al. 2005). Onderchlorig zuur (HOCl) is waarschijnlijk het meest agressief. Dit dringt binnen in het celmembraan en produceert hydroxyl-radicalen (OH), welke de metabolische systemen van microben kunnen ontregelen. De concentraties van actief chloor is gerelateerd aan de oorspronkelijk toegevoegde hoeveelheid keukenzout (NaCl) (Hricova et al.). 2008, Al-Haq et al. 2005).



Figuur 4. Het vrij chloor profiel verandert met verschillen in pH. Bij lage pH (2-3) vindt productie van chloorgas plaats en onderchlorig zuur (HOCl), vanaf pH 5 bestaat het merendeel uit onderchlorig zuur en vanaf een neutrale pH vindt vooral omzetting plaats van hypochloriet (OCl^-) (Al haq et al. 2005).

In Figuur 5. is de relatie weergegeven tussen het ORP en pH van electrochemisch geactiveerd water. Een hoge ORP van meer dan 850-1200 mV zorgt voor een hoge antimicrobiële werking (Hricova et al. 2008). Micro-organismen groeien optimaal tussen 200-800 mV, maar bij hogere ORP waarden wordt de bacteriegroei sterk geremd. Een lage pH van de vloeistof remt eveneens sterk de bacteriële groei en maakt het buitenste membraan van bacteriecellen gevoeliger voor onderchlorig zuur (HOCl) aantastingen. Niet alle bacteriën zijn echter even gevoelig voor lage pH's. *Escherichia coli* en *Listeria monocytogenes* blijken bij actieve chloorconcentraties van 2ppm of meer volledig te worden gedood, onafhankelijk van de pH (Al-Haq et al. 2005). Al-Haq et al. (2005) vond dat een hoge ORP (en niet vrij chloor) het belangrijkste is voor de inactivatie van *E.coli*. De hoge ORP verandert waarschijnlijk de elektronen huishouding in de cel. Oxidatie door een hoge ORP van het geactiveerde water kan de cel membranen beschadigen en zo inactivatie van bacteriële cellen veroorzaken.



Figuur 5. Figuur laat de invloed van de oxidatie-reductie potentiaal (ORP) en pH van electrochemisch geactiveerd water zien op de bacteriegroei. Bij hoge ORP-waarden boven 800 mV en lage zuurgraad is nagenoeg geen bacterieleven meer mogelijk (Al-Haq et al. 2005).

In de literatuur is veel informatie te vinden over testen met geactiveerd water onder laboratoriumcondities. Hierbij zijn de schimmels of bacteriën onder kunstmatige condities op voedingsbodems opgekweekt. In Bijlage 1 en 2 zijn overzichten te vinden van de diversiteit van organismen, benodigde inwerktijden en concentraties actief chloor. Veel studies zijn verricht naar bacteriën die te maken hebben met voedselveiligheid zoals *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* en *Salmonella* soorten. De meeste bacteriën blijken zeer gevoelig voor geactiveerd water, waaronder *Erwinia*'s die ook in (glas)tuinbouwsector voor veel ziekteproblemen kunnen zorgen. Wel is er duidelijk verschil in benodigde chloorconcentraties (10-90 ppm) en de duur van de inwerktijden (variërend tussen 6 seconden en 30 minuten). Bijlage 3 geeft tevens de reinigende werking van geactiveerd water op oppervlaktes weer.

4.2 Voorbehandeling met basisch geactiveerd water

Bij sommige toepassingen (bijv. op vers gesneden vlees of sla) bleek voorbehandeling met basisch geactiveerd water een betere werking te geven van de behandeling met zuur geactiveerd water. Ondermeer door het gevoeliger maken van de bacteriecellen voor de desinfecterende vloeistof (Hricova et al. 2008).

4.3 Combinaties met pesticiden en uitvloeiers

Onder laboratoriumcondities is gekeken naar effecten van combinaties tussen fungiciden of insecticiden en geactiveerd water (pH 2-3, ORP, 1100 mV) op sporen van *Botrytis cinerea* (Mueller et al. 2003). De meeste *Botrytis* sporen sporuleerden nog goed (97-99%) na een mengbehandeling met gedestilleerd water, terwijl bij de meeste fungiciden en insecticiden weinig sporen meer kiemden als deze werd gecombineerd met geactiveerd water (Tabel 3.). Het isolaat van *Botrytis* was gevoelig voor fenhexamid en piperalin (beiden fungicides), alle andere pesticiden hadden geen effect op de sporulatie wanneer zij gemixt waren met water. Fenhexamid, thiophanate methyl en acephate waren de enige pesticiden waarbij de conidia nog steeds sporuleerden als ze gemixt waren met geactiveerd water. Uit deze test blijkt dat geactiveerd water zijn werking niet hoeft te verliezen als deze gecombineerd wordt met pesticiden. Geactiveerd water blijkt wel gevoelig voor menging met thiofaaat methyl (Topsin-M) bij een dosis van 1.8 g/l en acefaaat (0.4-0.8 g/l). Zowel de hoeveelheid als de chemische samenstelling bepalen in hoeverre een pesticide goed te combineren is met geactiveerd water (Mueller et al. 2003).

Tabel 3. Percentage kiemende sporen van *Botrytis cinerea* na behandeling met pesticiden gemengd met gedestilleerd water of electrochemisch geactiveerd water (Mueller et al. 2003).

Pesticide treatment	Rate (a.i./liter water)	Germination (%) ^a			
		Trial 1		Trial 2	
		dH ₂ O	EO water	dH ₂ O	EO water
Checks					
No treatment	...	97 ± 1.0 ^b	0 ± 0.0	99 ± 0.6	0 ± 0.0
Triton X-100	...	98 ± 0.1	0 ± 0.0	98 ± 0.7	0 ± 0.0
Fungicides					
Azoxystrobin	0.15 g	98 ± 1.1	0 ± 0.0	98 ± 0.8	0 ± 0.0
	0.30 g	99 ± 1.1	0 ± 0.0	98 ± 0.5	0 ± 0.0
Fenhexamid	0.90 g	7 ± 3.3	4 ± 2.0	4 ± 1.7	4 ± 1.4
	1.80 g	0 ± 0.0	0 ± 0.0	0 ± 0.0	0 ± 0.0
Myclobutanil	0.30 g	98 ± 1.7	0 ± 0.0	98 ± 1.1	0 ± 0.0
	0.60 g	98 ± 0.9	0 ± 0.0	99 ± 0.4	0 ± 0.0
Piperalin	0.30 ml	22 ± 2.5	0 ± 0.0	97 ± 1.9	0 ± 0.0
	0.60 ml	2 ± 1.6	0 ± 0.0	29 ± 3.5	0 ± 0.0
Thiophanate methyl	0.90 g	97 ± 1.0	0 ± 0.0	98 ± 0.4	0 ± 0.0
	1.80 g	97 ± 0.3	97 ± 1.2	98 ± 0.4	98 ± 0.9
Triadimefon	0.30 g	98 ± 0.8	0 ± 0.0	98 ± 0.4	0 ± 0.0
	0.60 g	98 ± 1.3	0 ± 0.0	98 ± 0.8	0 ± 0.0
Insecticides					
Abamectin	0.30 ml	98 ± 0.8	0 ± 0.0	97 ± 0.4	0 ± 0.0
	0.60 ml	97 ± 0.9	0 ± 0.0	99 ± 0.3	0 ± 0.0
Acephate	0.40 g	98 ± 1.2	97 ± 0.6	98 ± 0.2	98 ± 0.3
	0.80 g	97 ± 2.3	97 ± 0.9	98 ± 0.6	98 ± 0.6
Imidacloprid	0.15 ml	98 ± 0.5	0 ± 0.0	99 ± 0.8	0 ± 0.0
	0.30 ml	98 ± 1.1	0 ± 0.0	98 ± 0.7	0 ± 0.0
Spinosad	0.50 ml	99 ± 0.8	0 ± 0.0	97 ± 0.7	0 ± 0.0
	1.00 ml	97 ± 0.9	0 ± 0.0	98 ± 0.2	0 ± 0.0

^a Percent germination was calculated from the mean of four replications after 18 h of incubation on potato dextrose agar at 25°C. Germination was assessed microscopically for a minimum of 200 conidia per replication.

^b Data presented as means ± standard error.

Toevoegen van producten die de oppervlaktenspanning kunnen verlagen, zoals Tween kunnen de werking van geactiveerd water beïnvloeden. Tabel 4. laat zien dat Tween 20 vanaf 1% een verminderde sporendodende werking geeft als deze wordt toegevoegd. Triton X-100 is al vanaf een lage concentratie (0.1%) funest voor de werking van geactiveerd water (Buck et al. 2002).

Tabel 4. Invloed van zeepachtige stoffen op de werking van electrochemisch geactiveerd water en kieming van *Botrytis*-sporen na behandeling (Buck et al. 2002).

Surfactant, concentration (%)	Treatment time and germination ^z				
	0	30	60	120	240
Tween 20					
0.1	99.3 a	0.9 a	0.6 a	0.7 a	0.3 a
1	99.8 a	4.5 b	4.0 b	4.5 b	3.8 b
10	99.2 a	99.2 c	99.4 c	99.6 c	99.7 c
Triton X-100					
0.1	99.5 a	99.1 c	99.4 c	99.2 c	99.6 c
1	99.6 a	99.4 c	99.2 c	99.2 c	99.6 c
10	98.7 a	99.5 c	99.4 c	99.3 c	99.6 c

^z The percentage of conidia that germinated was assessed microscopically after 24 h for a minimum of 200 spores from each of four 100-µl aliquots of each treatment solution. Data followed by a different letter within a column are significantly different ($P = 0.05$).

4.4 Welke factoren beïnvloeden antimicrobiële activiteit?

Temperatuur, beweging (ronddraaien) en contact met organische stoffen zijn van invloed op de antimicrobiële activiteit van geactiveerd water. De aanwezigheid van organisch materiaal reduceert de chloorverbindingen en ORP sterk. Chloorverbindingen reageren met eiwitten om organocholamines te vormen en deze hebben een zwakkere antimicrobiële activiteit in vergelijking met vrij chloor (Hricova et al. 2008).

Bij toepassing onder hogere temperaturen neemt de werking van geactiveerd water toe. Celmembranen van Gram-negatieve bacteriën zijn dan meer vloeibaar, zodat het water sneller de cel kan binnendringen.

Bij blootstelling van de vloeistof aan de lucht neemt de chloorconcentratie snel af door verdamping van het chloorgas. Dit proces wordt bevorderd door de vloeistof in beweging te brengen. Al-Haq et al. (2005) gaf aan dat chloorgas nagenoeg verdwenen is in een oplossing na 30 uur, als deze werd geroerd, of na 100 uur, als de oplossing niet werd geroerd. Als de vloeistof tijdens de inwerktijd met een bacteriesuspensie wordt geroerd dan versterkt dat de microbiële werking, doordat de bacteriecellen beter in contact komen met de chloorverbindingen.

In gesloten condities kan de chloorconcentratie verminderen door het spontaan uiteenvallen van chloorverbindingen. Dit proces wordt bevorderd onder invloed van diffuus licht en agitatie (in beweging brengen van de vloeistof). Bijna 60% van de chloor in de oplossing was verdwenen na 1400 uur diffuus licht en onder donkere omstandigheden was na 1400 uur 40% van de chloor verdwenen (Al-Haq et al. 2005). Daarom wordt bewaring in donkere flessen aanbevolen. Lage opslagtemperaturen (4 °C) stabiliseren chloorverbindingen en ORP (Hricova et al. 2008). Bij het regelmatig ronddraaien van de oplossing in gesloten condities blijft deze langer houdbaar (Hricova et al. 2008). Na 120 min roeren van de oplossing bleef de ORP constant (Al-Haq et al. 2005).

5 Toepassingen in agrarische sector

5.1 Wat maakt werken met chemisch geactiveerd water interessant?

Chemisch geactiveerd water heeft diverse voordelen ten opzichte van de gangbare middelen op basis van chloor (bleekwater = natriumhypochloriet) of waterstofperoxide (H_2O_2) (Cloete 2007, Al-Haq et al. 2005, Hricova et al. 2008).

1. Allereerst zijn bepaalde chloorverbindingen stabiel waardoor geactiveerd water een sterkere werking (vijf keer) heeft ten opzichte van andere chloorproducten. Hierdoor is er ook met lagere concentraties te werken.
2. Productie vindt plaats op het bedrijf zelf (on-site). Hierdoor is het altijd beschikbaar.
3. Na aanschaf van het productieapparaat zijn de kosten laag, omdat slechts onthard water en keukenzout nodig zijn.
4. Geen transport, werkhandelingen en opslag nodig van geconcentreerde chloorproducten.
5. Geen residu. Het vervalt na gebruik terug tot water, zonder grote productie van grote hoeveelheden chloorgas.
6. Product heeft brede werking tegen micro-organismen.
7. Lage kans op resistentieontwikkeling van micro-organismen.
8. Milieuvriendelijk. Geen restafval van chloor. Met name de machines die zo min mogelijk katholite als restproduct produceren (neutrale of basische pH).
9. Gewasbehandelingen met ultrasone verneveling ($< 5\mu m$) houden het gewas droog. Hierdoor wordt inbrengen van extra vocht in de kas voorkomen (en energie bespaard om dit weer droog te stoken, minder risico op schimmelontwikkeling) en daarnaast sluit een nat gewas zijn huidmondjes, waardoor het minder assimileert en dit kan ten koste gaan van productie.
10. Gewasbehandelingen met ultrasone verneveling hebben een goede indringing in het gewas.
11. Vermindering van fungicidegebruik mogelijk. Door aanvullende bespuitingen met geactiveerd water zal het minder vaak nodig zijn om met fungiciden in te grijpen.
12. Product is te combineren met fungiciden, insecticiden en uitvloeiers.

Toepassingen met chemisch geactiveerd water hebben wel een aantal beperkingen waar rekening mee gehouden moet worden bij het gebruik.

1. Risico van roestvorming op metalen en broos worden van kunststoffen.
2. Gewasschade. Vooral bij zuur geactiveerd water met lage pH (2-3).
3. Gebruik van NaCl als zout is niet geschikt voor reiniging van leidingen vanwege problemen met ophoping van natriumwaarden en noodzaak van spuien.
4. Aanschaf van een electrolysemachine is een investering van een paar duizend euro's waar financiële ruimte voor moet zijn. Vervoer van flessen met geactiveerd water is niet toegestaan. Het moet op het bedrijf zelf geproduceerd worden. Gebruik maken van een apparaat van de buurman is niet toegestaan.
5. Afhankelijk van electrolysemachine, deze moet betrouwbaar zijn en niet storingsgevoelig.
6. De benodigde inwerktijd is afhankelijk van de gewasstructuur, maar duurt meestal meer dan 5 of 10 minuten, voordat alle bladeren geraakt zijn.
7. Risico's voor gebruikers. Bij gebruik van zuur geactiveerd water komt chloorgas vrij, dit is schadelijk bij inademing (met name bij vloeistoffen met zure pH's). Contact met de vloeistof geeft huidirritatie. Hiervoor zijn beschermende maatregelen nodig.
8. Antimicrobiële werking verminderd in de loop van de tijd. Hierdoor is lengte van bewaring beperkt (3 weken tot enkele maanden afhankelijk van type electrolyseproces). Maar doordat het toch on-site geproduceerd wordt hoeft dit geen probleem te zijn, het kan steeds vers gemaakt worden.
9. Katholyte als restproduct. Dit product is te gebruiken als ontvettend reinigingsmiddel.

5.2 Zaadbehandeling

Het onderdompelen van tomatenzaden van geïnfecteerd fruit voor 1-3 minuten in geactiveerd water reduceerde de populaties van *X. campestris* pv. *vesicatoria* significant van de oppervlakte van het zaadje zonder dat de zaadkieming werd beïnvloed (Abbasi & Lazarovits 2006).

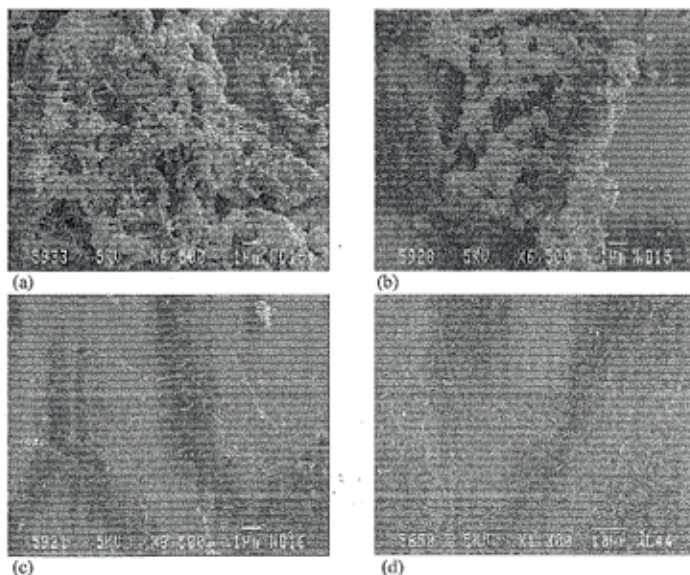
Een andere studie toont aan dat tarwezaad na behandeling van 20 min met geactiveerd water niet meer geïnfecteerd werden door schimmels zoals *Aspergillus*, *Cladosporium* en *Penicillium* spp. (Al-Haq et al. 2005).

5.3 Reiniging van fust en gereedschappen

Oppervlakten van fust en gereedschappen kunnen direct of indirect micro-organismen verspreiden of overbrengen. In de voedselverwerkende industrie is al veel ervaring opgedaan met de reinigende werking van geactiveerd water. Bijlage 2 geeft een overzicht van de werking op verschillende oppervlakten en gereedschappen. De dieptewerking is afhankelijk van de gladheid van het product. Snijplanken van plastic zijn bijvoorbeeld beter te desinfecteren dan snijplanken die gemaakt zijn van hout.

5.4 Verwijdering van biofilm in leidingen

Leidingen kunnen snel verstopt raken door ophoping van bacteriecellen in polymeerachtige structuren (glycocalyx). Het geactiveerde water blijkt een goede reducerende werking te hebben op bacteriën, zoals *Listeria monocytogenes*, zodat biofilms op roestvrijstaal binnen vijf minuten is verdwenen (Kim et al. 2001), zie ook Bijlage 2. De hoogste inactivatie vindt plaats binnen de eerste seconden en de extra tijd is nodig om de binnenste bacteriecellen te bereiken van de biofilm. Door opnamen met een elektronenmicroscop is dit reinigingseffect door Cloete (200?) heel mooi in beeld gebracht (Figuur 6.). Door te werken met concentraties vanaf 10% werd de verstopte leiding weer goed schoon.



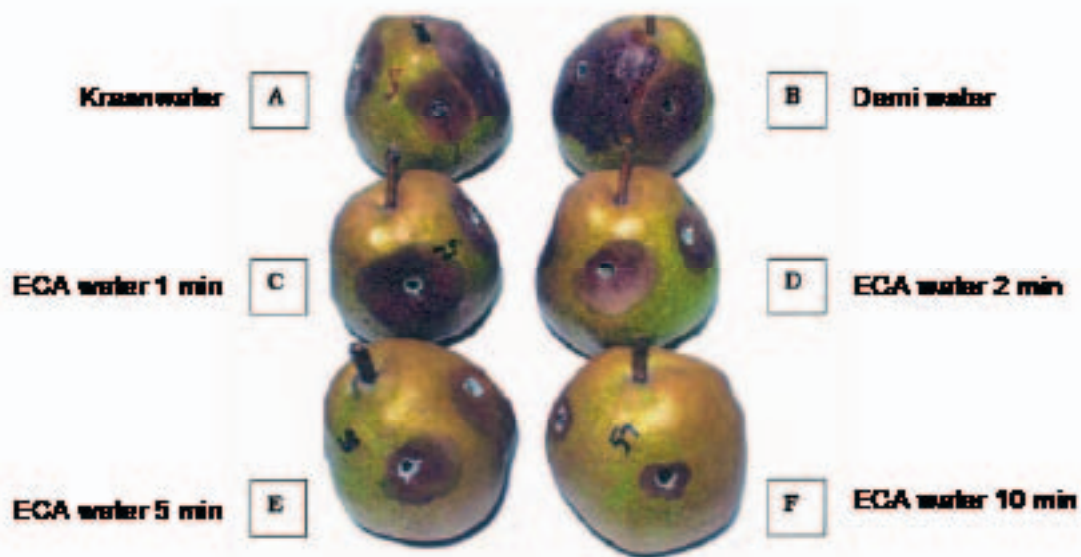
Figuur 6. Biofilm in controlebehandeling (a), en na behandeling met verschillende verdunningen van zuur geactiveerd water met water 1:100 (b), 1:10 (c) en 100% (d). Bron: Cloete (200?).

5.5 Desinfectie van geogste producten

5.5.1 Groenten & Fruit

Naoogstbehandeling ter bestrijding van bacteriën op groenten en fruit werkt goed bij tomaten, appels en peren vanwege een goede inwerking op gladde oppervlaktes. De werking is minder op ruwere oppervlakten en in aanwezigheid van organisch materiaal. Het gebruik van geactiveerd water op verschillende voedselproducten tasten de kleur, geur, textuur of smaak niet aan (Hricova et al. 2008).

Op peer is de werking van geactiveerd water getest tegen de schimmel *Botryosphaeria berengeriana*. Beschadigd fruit werd 4 uur na besmetting met een sporensuspensie ondergedompeld in geactiveerd water en weggezet onder vochtige bewaarcondities. Een behandeling van 10 minuten gaf een sterke vermindering van schimmelgroei (Figuur 7.).



Figuur 7. Werking van geactiveerd water tegen schimmel op peer. Beschadigd fruit werd 4 uur na besmetting met een sporensuspensie van *Botryosphaeria berengeriana* ondergedompeld in geactiveerd water en daarna bewaard bij 20 graden en meer dan 90% RV om schimmelgroei te stimuleren. Een behandeling van 10 minuten gaf een sterke vermindering van schimmelgroei (Al-Haq et al. 2002).

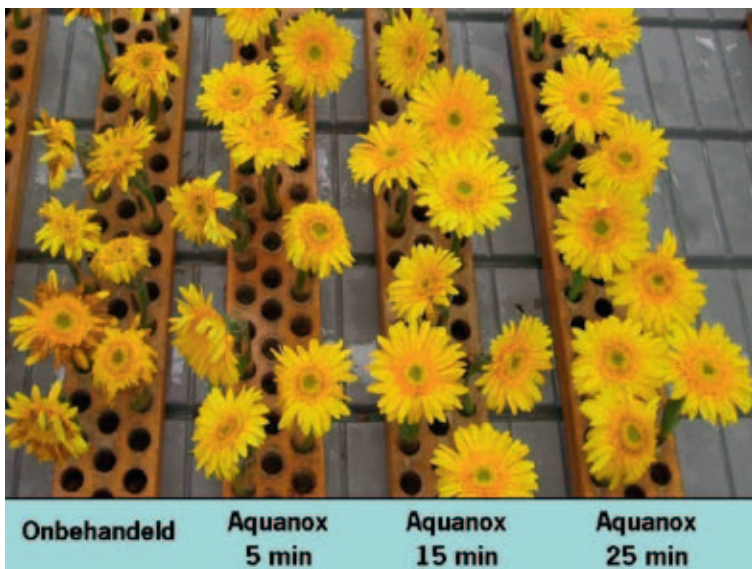
In perziken was de schimmelgroei vertraagd voor twee dagen als deze behandeld waren met zuur geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV) en de groei was vertraagd voor 1 dag in perziken behandeld met basisch geactiveerd water (pH 11-12, ORP 795 mV), terwijl de controlegroep direct was geïnfecteerd en vele symptomen toonden. De ziektedruk in de behandelde perziken was resp. 20%, 22% en 70% (Yamaki, 1998; Japanse referentie in Al-Haq et al. 2005).

Onderdompeling van spinazie in geactiveerd water met 100-120 ppm actief chloor (pH 7) gaf een volledige remming van de bacteriën: *Escherichia coli*, *Salmonella* en *Listeria* soorten en een verlenging van houdbaarheid van producten. Residu werd niet teruggevonden op de behandelde producten met geactiveerd water, terwijl een behandeling met 0.5% natriumhypochloriet wel meetbaar residu achterliet. Onderdompeling van slakroppen in geactiveerd water bleek nauwelijks effectief ter bestrijding van bacteriën (Guentzel et al. 2008).

5.5.2 Bloemen

De werking van zuur electrochemisch water (pH 2-3, 1100mV) is getest tegen sporen van *Botrytis cinerea* tijdens de bewaring van gerberabloemen op de bloemenveiling van FloraHolland. De bloemen die met het product Aquanox waren behandeld (1 of 2x gedurende 45 minuten) lieten beduidend minder pokken zien dan de onbehandelde gerbera's. Behandelde bloemen van de cultivar Maroussia toonden 97% minder pokken ten opzichte van de controlebehandeling en behandelde bloemen van de cultivar Pinky Eye 77% minder pokken (Anoniem 2007). Uit eerdere testen bleek ook dat het behandelen van afzonderlijke bloemen beter werkt dan wanneer de bloemen gebundeld zitten in bossen of emmers waardoor het indringend vermogen sterk wordt teruggedrongen.

Bij Wageningen UR Glastuinbouw zijn daaropvolgend in het kader van het Gerbera Parapluplan eveneens testen gedaan met ultrasone verneveling op verenkelde bloemen. Deze testen gaven ook een goede werking te zien tegen *Botrytis*-sporen op lintbloemen van gerbera waarbij meer dan 95% van de sporen werden gedood na 15 minuten (Figuur 8.). De inwerktijd kon worden teruggebracht tot 1 minuut als de bloemen in een kleinere ruimte (met omgekeerde trechter) individueel behandeld werden met de ultrasone nevel (Van Os et al. 2010).



Figuur 8. Behandeling van verenkelde gerberabloemen met zuur geactiveerd water (pH 2-3, 1100mV). Na 15 minuten waren meer dan 95% van de Botrytis gedood en veroorzaakten geen lesies meer (Van Os et al. 2010).

5.6 Schimmelbestrijding tijdens de teeltfase

Het aantal publicaties over toepassingen van geactiveerd water tijdens de teeltfase is beperkt. Diverse experimenten zijn uitgevoerd door Japanse onderzoekers die de meeste resultaten voornamelijk in het Japans gepubliceerd hebben als artikelen in tijdschriften, als proefschrift of in abstracts van workshops of conferentiebundels. Soms zijn hiervan wel Engelse samenvattingen beschikbaar waarin de belangrijkste resultaten van de proeven vermeld staan. De wijze waarop de experimenten zijn uitgevoerd valt echter niet meer goed te achterhalen. Hieronder staan een aantal toepassingen beschreven die in de teeltfase plaatsvonden als spuitbehandeling of meegegeven aan het voedingswater.

5.6.1 Voedingswater (irrigatie)

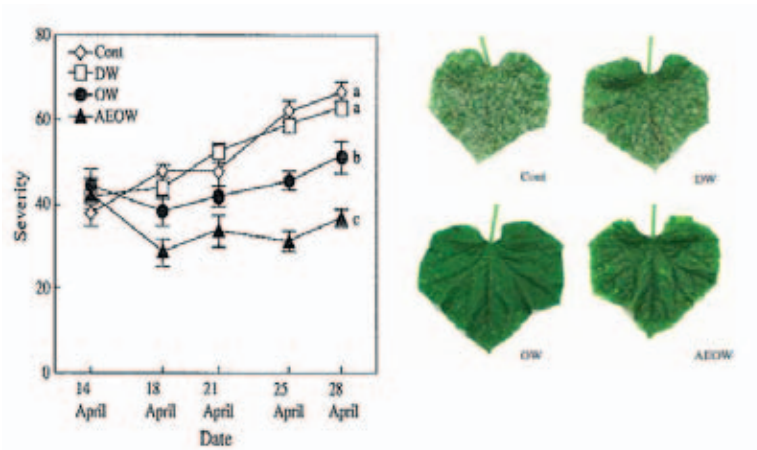
In de teelt van citrus is ervaring opgedaan met het injecteren van electrochemisch geactiveerd water in micro-irrigatie systemen (Grech & Rijkenberg 1992). De sporen van *Phytophthora* en van *Fusarium* die in het water aanwezig waren, werden volledig gedood door de behandeling met geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV). Bodem- en wortelpopulaties van *Phytophthora* onder de citrusbomen in het veld werden in geringere mate aangetast. In de kas hadden de behandelde planten van 200 µg/ml en 500 µl/mg een significante vermindering van *Phytophthora* in de bodem. Geen symptomen van fytotoxiciteit zijn waargenomen.

5.6.2 Spuitbehandeling

5.6.2.1 Komkommer

Een aantal onderzoeken zijn beschreven waar electrochemisch geactiveerd water wordt gebruikt ter bestrijding van echte meeldauw in komkommer. Fujiwara et al (2009) vond dat spuitbehandelingen met zuur geactiveerd water met 0.1 g/l KCl (pH 2.7, ORP 1370) de ziektedruk sterk verminderde ten opzichte van de controlebehandeling en ozon geactiveerd water. Wel waren meer dan 50% van de bladeren beschadigd geraakt na de eerste bespuiting met zuur geactiveerd water (Figuur 9.).

Ook Yamaki (1998, Japanse referentie in Al-Haq et al. 2005) vond dat geactiveerd water (pH 2-3) de meeldauwgroei vertraagd met ongeveer twee weken vanaf 18 dagen na planting ten opzichte van een onbehandelde controlebehandeling.



Figuur 9. Grafiek geeft het verloop weer van de echte meeldauw infectie op komkommerbladeren behandeld met gedestilleerd water (DW), ozon geactiveerd water (OW; pH 6, ORP 1270, actief chloor 0 ppm, zuurstof 18 ppm, ozon 8 ppm), zuur geactiveerd water met KCl (AEOW; pH 2.7, ORP 1370, actief chloor 34 ppm, zuurstof 13 ppm) en onbehandeld. Standaardfouten staan vermeld en verschillende letters geven betrouwbare verschillen aan ($P < 0.01$, LSD test). Op de komkommerbladeren is het verschil in meeldauwinfectie goed terug te zien tussen de behandelingen. Bij de behandeling met zuur geactiveerd water trad gewasschade op (Fujiwara et al. 2009).

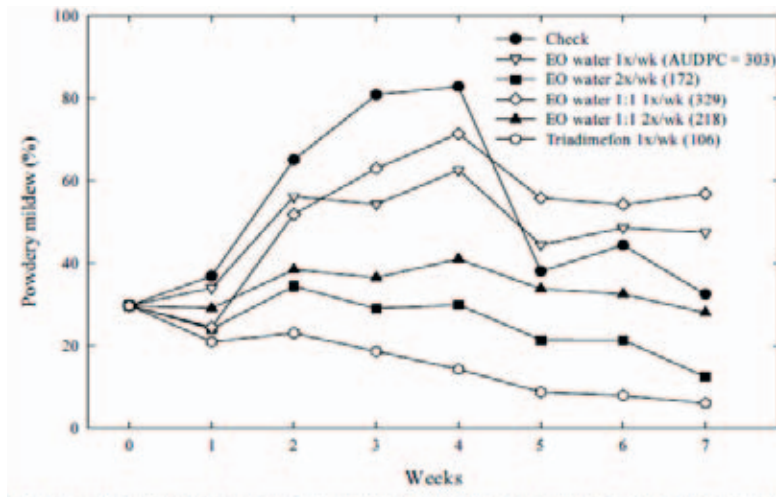
In Nederland heeft Proeftuin Zwaagdijk in 2009 proeven gedaan met Aquanox (pH 2-3, ORP 1100mV) in een volgroeid komkommergewas waar al een spontane besmetting met echte meeldauw was opgetreden (Commandeur, 2006). Aquanox werd verneveld op de planten om de drie dagen gedurende 2,5 uur (200 cc/plant). In vergelijking met de onbehandelde controleplanten zagen de behandelde planten er frisser en groener uit met meer en langere scheuten. De meeldauwaantasting was niet toegenomen in tegenstelling tot de onbehandelde controleplanten. Vergelijkbare effecten werden gevonden voor de aanwezige Fusariumaantasting. Op het gewas werden geen symptomen van fytotoxiciteit waargenomen.

5.6.2.2 Tomaat

In tomaat zijn bladbespuitingen met geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV) uitgevoerd tegen de bacterie, *Xanthomonas campestris pathovar vesicatoria* op tomatenplanten in een bedekte teelt. Een één of tweemaalige behandeling gaf een lichte vermindering van de bladvlekken (25%) en een reductie van 0.7 log bacteriecellen per gram droog gewicht ten opzichte van de controlebehandeling met water. Preventieve behandelingen 48 uur voorafgaand aan de inoculatie met bacteriesuspensie leken effectiever dan curatieve behandelingen. Behandeling met geactiveerd water gaf geen productie-verlies. Gewasschade werd niet waargenomen, waarschijnlijk door het lage zoutgehalte van het actieve water (8 mmol/l). De effectiviteit van spuitbehandelingen met geactiveerd water in het veld kan verminderen door een hoge ziektedruk en bij zeer vochtig weer (bijv. plensregens) (Abbasi & Lazarovits 2006).

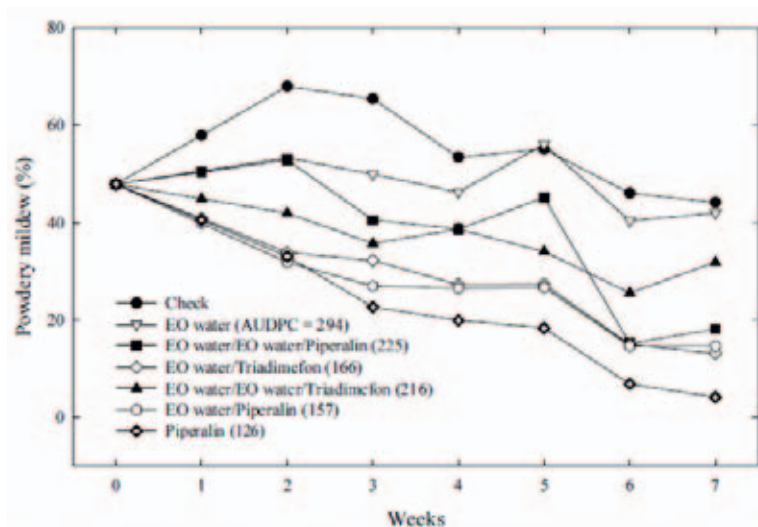
5.6.2.3 Gerbera

Het effect van elektrochemisch geactiveerd water (pH 2-3, ORP) is getest tegen echte meeldauw op gerbera's (Figuur 10.). Voor het experiment werd gebruik gemaakt van vier jaar oude gerberaplanten. Eénmalige spuitbehandelingen met geactiveerd water per week gaf al een geremde ontwikkeling van de meeldauw (20-25%). Bij verhoging van de frequentie naar twee keer per week werd de meeldauwgroei twee keer zo sterk geremd (60%). De onverdunde oplossing werkte sterker dan de 50%-oplossing.



Figuur 10. Verloop van echte meeldauw aantasting op potgerbera's. Smitbehandelingen werden uitgevoerd met verschillende verdunningen (1:1 = 50% geactiveerd water en 50% kraanwater) en hoeveelheden electrochemisch geactiveerd water (EO water) en een fungicidebehandeling (Triadimefon) gedurende 7 weken. Datapunten geven gemiddelde waarden weer van twee experimenten met vier herhalingen per behandelingen. Na 4 weken werd de onbehandelde controlebehandeling 2x per week met geactiveerd water behandeld (Buck et al. 2002).

Smitbehandelingen in combinatie met fungicides gaven eveneens een goede remming van de meeldauwontwikkeling (Figuur 11.). Dit experiment toont aan dat door toepassing van geactiveerd water minder actieve stof van fungicides nodig is voor eenzelfde remmende werking op meeldauw. Eén behandeling met geactiveerd water had geen negatief effect op het aantal bloemen, maar de planten die twee keer per week waren bespoten met geactiveerd water vertoonden wel lichte vormen van fytoxiciteit zoals rimpelige en broze bladeren.



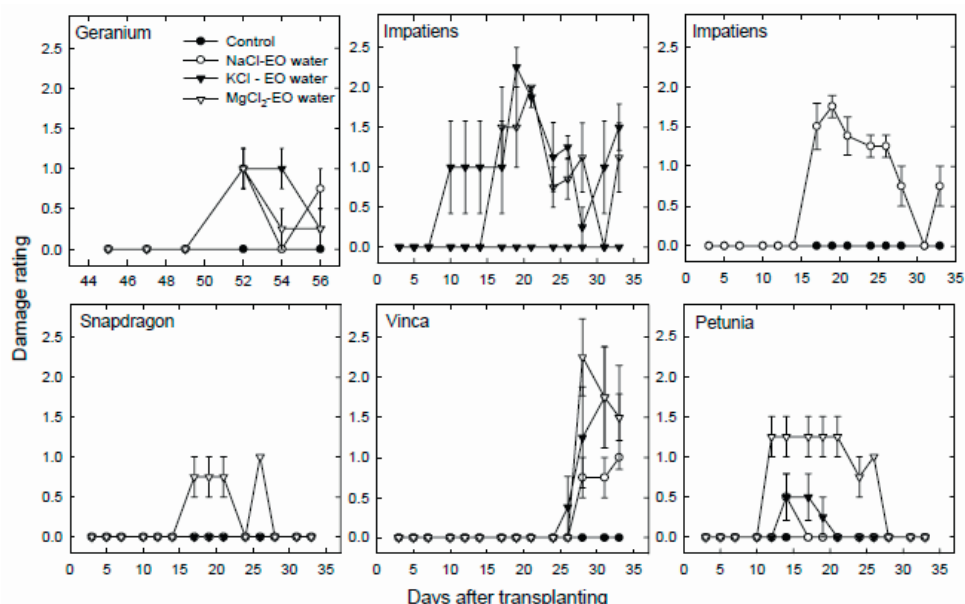
Figuur 11. Verloop van echte meeldauw aantasting op potgerbera's behandeld met verschillende combinaties van fungiciden en electrochemisch geactiveerd water (EO water). Datapunten geven gemiddelde waarden weer van twee experimenten met vier herhalingen per behandelingen. Na 3 weken werd de onbehandelde controlebehandeling 1x per week met geactiveerd water behandeld (Buck et al. 2002).

5.6.2.4 Rijst

In rijst zijn spuitbehandelingen met zuur (pH 2-3) en basisch (pH 10-13) geactiveerd water uitgevoerd tegen de schimmel, *Magnaporthe grisea*. Behandelingen werden één dag voor of na inoculatie uitgevoerd. Beide typen geactiveerd water vertoonden een goede preventieve werking ten opzichte van de controlebehandeling. Als de schimmel de plant al had geïnfecteerd hadden behandelingen weinig effect meer (Masahiko et al. 2001).

5.6.3 Risico op gewasschade

Bij het spuitbehandelingen met geactiveerd water is er een risico op gewasschade. Dit is in de eerdere paragrafen al een de orde gekomen bij de bespreking van de resultaten in potgerbera en komkommer (Buck et al. 2002, Fujiwara et al. 2009, Yamaki 1998). Een uitgebreid onderzoek naar risico's op gewasschade is uitgevoerd door Buck et al. (2003). Hierbij zijn 15 verschillende soorten kiemplanten in een bedekte teelt op een eb- en vloedsysteem beoordeeld op gevoeligheid voor behandelingen met geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV). Zie Figuur 12. In het eerste experiment werden de behandelingen twee keer per week uitgevoerd en dit gaf geen schade bij *Alyssum*, *Begonia*, *Celosia*, *Coleus* (siernetel), *Dianthus* (anjer), *Geranium*, *Gomphrena* (kogelamarant), *Impatiens* (vljigt liesje), *Lobelia*, *Afrikaantjes*, *Viool*, *Petunia*, *Salvia* (salie), *Leeuwenbekje*, *Torenia*, *Verbena*, *Vinca* (maagdenpalm) en *Zinnia*. In het tweede experiment werd de frequentie verhoogd naar drie keer per week gedurende 4-7 weken. Hierbij was geen zichtbare fytotoxiciteit aanwezig op 7 van de 12 geteste soorten en de andere soorten vertoonden alleen een lichte gevoeligheid. Fytotoxiciteit groter dan 3 (op een 0-10 schaal) was niet gedetecteerd. Kleine witte vlekken ontstonden na behandeling op bloemen van *geranium* (*Pelargonium x hortorum*), *Impatiens* (*Impatiens walleriana*) en *Vinca* (*Catharanthus roseus*, maagdenpalm). Lichtelijke necrose was geobserveerd op sommige bladeinden van *Petunia* (*petunia x hybrida*) en *leeuwenbekje* (*Antirrhinum majus*). Geactiveerd water gemaakt met magnesiumchloride (MgCl) gaf meer toxiciteit dan water geproduceerd met kaliumchloride of natriumchloride (Buck et al. 2003). In een eerder artikel van Buck et al. (2002) wordt aangetoond dat geactiveerd water het blad van geraniums niet aantast. Een verklaring voor de gewasschade kan zijn de gevoeligheid voor zouten (2 mol/l) in het geactiveerde water zijn of de hoge ORP (Buck et al. 2002).



Figuur 12. Gewasschade veroorzaakt door electrochemisch geactiveerd water met NaCl, KCl of MgCl₂. Kraanwater was de controlebehandeling. Planten kregen drie keer per week spuitbehandelingen met de verschillende de watertypes. Gewasschade werd genoteerd op en schaal van 0 (geen schade) tot 10 (dood). Datapunten zijn weergegeven als gemiddelde waarden met de standaardfout van vier herhalingen (blokken) die elk bestaan uit zes planten (Buck et al. 2002).

5.6.4 Groeibevordering en kwaliteitsverbetering

In watersystemen met een kruidachtige plant, (Japanese honewort, *Cryptotaenia japonica*) is gekeken naar groeibevorderende eigenschappen van zuur electrochemisch geactiveerd water gemaakt op basis van KCl (Nobuo et al. 2003). Bladeren werden bespoten met diverse verdunningen met geactiveerd water waar wel of geen extra voedingsoplossingen aan waren toegevoegd. Er was ook een behandeling aanwezig met een neutrale pH met hoge concentraties chloor 3 en 13 mg/l. In vergelijking met de bijhorende controlebehandeling die een vergelijkbare waarde had van de voedingsoplossing vertoonden de planten die behandeld waren met geactiveerd water een toename in stengellengte, toename in vers en droog gewicht en een diepere bladkleur. In zowel de behandelde planten met zuur geactiveerd water als met chloorachtige verbindingen was het gehalte aan vrije aminozuren en totale fenolen hoger. Het lijkt aannemelijk dat de groeirespons het resultaat is van een stressreactie. Het geactiveerde water verhoogt de osmotische druk waarop de plant reageert met aanmaak van vrije aminozuren en fenolachtige verbindingen. De intensiteit van de bewerkstelligde stress was gerelateerd aan de concentratie van geactiveerd water en aanwezige gehalte van chloorverbindingen.

Als er gekeken wordt naar effecten van geactiveerd water op wondheling bij muizen dan blijken reactieve zuurstofdeeltjes (ROS) hierbij betrokken te zijn. Onderchlorig zuur blijkt hierin minder van belang te spelen. Het werkingsmechanisme van ROS op fysiologische processen is nog niet duidelijk en dient verder te worden opgehelderd (Yahagi et al. 2000).

6 Kansen & Kennishiaten

Deze kennisinventarisatie laat duidelijk zien dat electrochemisch geactiveerd water een brede werking heeft tegen verschillende micro-organismen en op verschillende manieren in de agrarische sector is in te zetten. Op dit moment zijn alleen de toepassingen als biocide toegestaan en wordt er gewerkt aan verkenningen voor toepassingen als gewasbeschermingsmiddel. Hieronder volgt een korte opsomming van de kansen en kennishiaten.

6.1 Toepassingen als biocide

De eerste toepassing in Rusland betrof desinfectie van drinkwater en medische instrumenten. Zuivering van drinkwater voor mens en dier met geactiveerd water is in Nederland niet toegestaan, maar wel reiniging van allerlei soorten proceswater die vervuild zijn geraakt met bacteriën, schimmels en algen (drainwatersilo, regenwaterbassin). Reiniging van leidingen ter verwijdering van biofilms is goed gedocumenteerd en wordt ook in Nederland succesvol toegepast. Behandeling van fusten, gereedschappen en bewaarruimtes (luchtbehandeling) lijken in potentie eveneens tot de mogelijkheden te behoren, mits er rekening gehouden wordt met de corrosieve werking van het geactiveerde water. Dit kan betekenen aanpassen van het behandelde materiaal (afgestemd op de eigenschappen van het uitgangspanduct) of dat er een mogelijkheid is om goed na te behandelen met water.

6.2 Dompelbehandelingen

Dompelbehandelingen van zaden lijkt te werken tegen de bacterie, *Xanthomonas* op tomatenzaad en tegen schimmels op tarwezaden zonder dat de kiemkracht achteruit gaat. Onderdompeling van relatief gladde vruchten zoals peer en perzik geeft 50% vermindering van vruchtrot. Bacteriegroei (o.a. *E. coli* O157: H7) op slakroppen en spinazie is eveneens te remmen door de producten onder te dompelen. Op diverse vruchtgroenten zoals tomaat, paprika en komkommer kan uitval in de naoogstfase door bacteriën en schimmels eveneens een belangrijke schadepost betekenen. Ook hier zou behandeling van de vruchten vermindering kunnen geven van uitval. De gevallen die beschreven staan in de literatuur claimen echter geen 100% dodende werking. Een dompelbehandeling geeft dus nog geen garanties met betrekking tot een verhoogde voedselveiligheid. Dompelbehandeling van bloemen is in sommige gevallen wellicht ook mogelijk als de bloem niet te gevoelig is voor kwaliteitsvermindering. Toch zal hier in de meeste gevallen een nevelbehandeling de voorkeur verdienen, zodat de bloem droog blijft.

6.3 Smitbehandelingen

In de teeltfase is er door buitenlandse onderzoekers al enige ervaring opgedaan met spuitbehandelingen ter bestrijding van schimmel- en bacterieziekten. Deze werkten vooral met het zure geactiveerde product. Dit kan een reden zijn waarom er problemen met gewasschade werden ondervonden, omdat de ORP waardes hiervan hoger liggen ten opzichte van producten met een neutrale of basische pH. Studies waarin met neutraal of basisch water is gewerkt in de teeltfase zijn nog maar heel beperkt uitgevoerd. Bij de studie in rijst werd zowel bij het zure als neutrale geactiveerde water geen gewasschade gemeld (Tamaki et al. 2001) en een studie met ozon geactiveerd water met een hogere pH van 6 gaf eveneens geen schade op komkommer (Fujiwara et al. 2009). De biocidewerking schijnt voor beide producten vergelijkbaar te zijn bij raadpleging van de literatuur. Uit eigen onderzoek naar bestrijding van echte meeldauw in potroos is gebleken dat ook product met een neutrale pH gewasschade kan geven bij frequente dosering van elke dag of om de dag zelfs als deze gecombineerd werd met een uitvloeier (Hofland-Zijlstra et al., 2011). Hierbij zal ook de druppelgrootte, verblijftijd van de druppel op het blad, chloorconcentratie en wellicht de hoge ORP een rol hebben gespeeld bij het optreden van gewasschade.

Uit de kennisinventarisatie blijkt dat uitgangproducten zijn te combineren met uitvloeiers en fungiciden zonder dat de biocidewerking verminderd. Hierbij moet er nog wel getest worden welke gangbare middelen goed te combineren zijn met geactiveerd water, aangezien er duidelijke verschillen tussen middelen kunnen optreden. Middelen op basis van de werkzame stof thiofanaat-methyl blijken in een hoge concentratie (1.8 g/l) de werking van geactiveerd water teniet te doen.

6.4 Mistbehandeling

Het zal de voorkeur verdienen om gewassen te behandelen met ultrasone nevel om hiermee de risico's op gewasschade zoveel mogelijk te verkleinen. De techniek van ultrasone verneveling heeft nieuwe wegen geopend voor toepassingen van geactiveerd water doordat het gewas droog kan worden behandeld. Hierover is nog niks bekend in de internationale literatuur, alleen in Nederlandse zijn enkele testen gedaan in de naoogstfase tegen *Botrytis* op gerberabloemen en *Poinsettia*'s. Dit lijkt een veelbelovende toepassing. Hierbij is het wel belangrijk om de lengte van de behandeling af te stemmen op de inhoud van de ruimte die behandeld wordt om te voorkomen dat de nevel condensvorming (en gewasschade) geeft op het product. De fijne druppeltjes moeten lang genoeg in de lucht blijven hangen om het micro-organisme te raken, maar snel genoeg weer vervluchtigd zijn voordat plantencellen beschadigd raken onder invloed van chloorconcentratie en hoge ORP.

Voor een optimale inwerking van de nevelbehandeling is het van belang dat het micro-organisme voldoende is te raken. Dit zal mede afhankelijk zijn van de structuur en openheid van het gewas waarop de ziekteverwekker aanwezig is. Daarnaast ook of de ziekteverwekker zich als niet gekiemde spore nog op de oppervlakte bevindt of al gekiemd is en voedingscellen heeft gemaakt die zich in het plantenweefsel bevinden en van daaruit de plant is binnengedrongen. Zodra een schimmel of bacterie een plant al heeft geïnfecteerd, zijn alleen de uitwendige delen nog te raken en heeft de behandeling weinig effect. Daarom is het van belang om behandelingen zoveel mogelijk al in een vroeg stadium (preventief) uit te voeren voordat een ziekteverwekker de plant is binnengedrongen. Voor beheersing van de sporendruk is het eveneens nodig om de behandeling regelmatig te herhalen, omdat vanuit een geïnfecteerde plek steeds opnieuw sporendragers en bacteriecellen worden aangemaakt.

De huidige doseermachines die voor het doseren van ultrasone nevel ontwikkeld zijn, hebben op dit moment nog hun beperkingen. De capaciteit is beperkt om grote ruimtes (ha's) te behandelen in korte tijd. Voor behandeling in de teeltfase, bijvoorbeeld ter bestrijding van meeldauw, zal de doseerapparatuur moeten worden opgeschaald zodat de behandelings efficiëntie kan worden vergroot. Een kritisch punt zal ook de benodigde arbeid zijn en in hoeverre een toepassing is te automatiseren.

Bij toediening in de teelt zal het tijdstip van toediening ook van belang zijn. Aan het eind van de dag bijvoorbeeld loopt de relatieve luchtvochtigheid in de kas geleidelijk aan weer op, zodat er minder lang verneveld zal hoeven worden om een rv tussen de 85-90% te bereiken. In de ochtend wordt ernaar gestreefd om zo snel en geleidelijk mogelijk overtollig vocht kwijt te raken waardoor het niet logisch is om dan een behandeling uit te voeren. Ook de invloed van licht kan een versturende factor zijn op de werking van het geactiveerde water. Hoe groot die effecten zijn bij verneveling is echter nog niet duidelijk. Toch lijkt het de voorkeur te verdienen om directe instraling van zonlicht tijdens een behandeling zoveel mogelijk te vermijden.

Een punt van zorg bij ruimtebehandelingen is dat de behandelingsruimte of kas zo min mogelijk en liefst geen hinder mag ondervinden van de corrosieve eigenschappen van het geactiveerde water. Dit kan door de behandelingsruimte corrosiebestendig te maken, door bijvoorbeeld alleen met PVC-achtige kunststoffen te werken. Ook is het mogelijk om de eigenschappen van het water minder corrosief te maken door bijvoorbeeld met producten te werken die zo weinig mogelijk zout bevatten of door toediening van fosfaten. Uit de literatuur blijkt dat dit mogelijk is zonder dat de biocidewerking verminderd. Dit betreft echter de behandeling van medische instrumenten. Nog onbekend is wat de gevolgen zijn van toevoegingen voor eventuele gewasbehandelingen.

6.5 Bestrijding van bodemziekteverwekkers

Eén van de vragen is in hoeverre bodemziekten zoals Phytophthora, Pythiums en Fusarium te bestrijden zijn in substraat-teelten door bijvoorbeeld geactiveerd water mee te doseren aan het voedingswater. Dit zal onder meer afhangen van hoeveel schimmelstructuren vrij rondzweven in het water en welke fractie meer gebonden is aan de wortels. Uit de kennisinventarisatie blijkt dat de vrij rondzwevende sporen goed geraakt worden, maar dat de sporen die zich hebben gehecht aan de wortels minder gevoelig zijn. Ook is het de vraag wat de effecten zullen zijn op gunstige schimmels zoals Trichoderma of Gliocladium. Van deze schimmels weten we dat deze goed met jonge wortelpunten kunnen meegroeien. Op basis hiervan is de verwachting dat de negatieve effecten van geactiveerd water op deze antagonisten beperkt zal zijn. Hiervoor is het nodig om meer kennis te verzamelen onder verschillende praktijkcondities.

6.6 Tot slot

Wageningen UR Glastuinbouw heeft met het onderzoek naar Toepassingen Aquanox in de Glastuinbouw samen met Reinders- Vernevelings- en Ontsmettingstechniek een eerste verkenning gedaan naar de diversiteit van de toepassingsmogelijkheden. De brede werking tegen allerlei relevante ziekteverwekkers in de glastuinbouw werd bevestigd zonder direct nadelige risico's voor natuurlijke plaagbestrijders. Wel werd het duidelijk dat toepassingen vaak effectiever zijn bij meer-malige toedieningen per week. Verhoging van de frequentie geeft meer risico's op gewasschade bij spuitbehandelingen en bij toediening van nevelbehandelingen als er onverhoopt toch condensatie op het gewas optreedt. Optimalisatie van de samenstelling van het geactiveerde water en benodigde doseerapparatuur is nodig om toepassingen als gewasbeschermingsmiddel breder mogelijk te maken in de teeltfase. Voor gewasbehandelingen zal het tevens van belang zijn dat een behandeling met geactiveerd water veilig kan worden uitgevoerd zonder gezondheidsrisico's. Binnen het project Geactiveerd water voor ziektebestrijding onder glas (gefinancierd door Productschap Tuinbouw) zal hieraan verder gewerkt worden samen met verschillende leveranciers van geactiveerd water.

7 Literatuurlijst

- Abbasi, P.A. and G. Lazarovits (2006).
Effect of acidic electrolyzed water on the viability of bacterial and fungal plant pathogens and on bacterial spot disease of tomato. *Canadian Journal of Microbiology* 52:915-923.
- Al-Haq, M.I., Y. Seo, S. Oshita and Y. Kawagoe (2002).
Disinfection effects of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. *Food Research International* 35:657-664.
- Al Haq, M.I., S. Junichi and S. Isobe (2005).
Application of electrolyzed water in agriculture and food industries. *Food Science Technology Research* 11:135-150.
- Anoniem (2007).
Aquanox helpt Botrytis te voorkomen. *Vakblad voor de Bloemisterij* 5:36.
- Buck, J.W., M.W. van Iersel, R.D. Oetting and Y-C. Hung (2002).
In vitro fungicidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water. *Plant Disease* 86:278-281.
- Buck, J.W., M.W. van Iersel, R.D. Oetting and Y-C Hung (2003).
Evaluation of acidic electrolyzed water for phytotoxic symptoms on foliage and flowers of bedding plants. *Crop Protection* 22:73-77.
- Cloete, E. (200?).
Electrochemically activated water as a non-polluting biofilm control technology. University of Pretoria, South-Africa.
- Commandeur, R. (2006).
Bestrijding meeldauw (*Sphaerotheca fusca*) in komkommerplanten. Onderzoeksrapport Proeftuin Zwaagdijk, pp 6.
- Filippi, A. (1999).
The disinfecting action of ozonated water and of hydrogen peroxide/silver ions in vitro. *Ozone Science and Engineering* 22:441-445.
- Fujiwara, K., T. Fujii and J-S. Park (2009).
Comparison of foliar spray efficacy of electrolytically ozonated water and acidic electrolyzed oxidizing water for controlling powdery mildew infection on cucumber leaves. *Ozone: Science and Engineering* 31:10-14.
- Gosh, S.K., P.K. Das and N.C. Sukul (1975).
Lethal effect of electrolysis on nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Specialia Experimenta* 32:572-573.
- Grech, N.M. and F.H.J. Rijkenberg (1992).
Injection of electrolytically generated chlorine into citrus micro-irrigation systems for the control of certain waterborne root-pathogens. *Plant Disease* 76:457-461.
- Guentzel, J.L., K. Liang Lam, M.A. Callan, S.A. Emmons and V.L. Dunham (2008).
Reduction of bacteria on spinach, lettuce and surfaces in for service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. *Food Microbiology* 25:36-41.
- Hofland-Zijlstra, J.D., R. Hamelink, A. Grosman en E. de Groot (2011).
Toepassingen van Aquanox in de Glastuinbouw. Rapport Wageningen UR Glastuinbouw (nog niet gepubliceerd).
- Hricova, D., R. Stephan and C. Zweifel (2008).
Electrolyzed water and its application in the food industry. *Journal of Food Protection* 71:1934-1947.
- Iwasawa, A. (1993).
Antiviral effects of acidic electrolyzed water. *Clinical Microbiology* 20:231-236.
- Kawasaki, S., T. Kawasaki, Y. Hayashi, K. Yoshida, S. Isobe and K. Isshiki (2003).
Inactivation of Norwalk-like viruses (NLV) by electrolyzed acid water. *Bokin Bobai, Journal of Antibacterial and Antifungal agents* 31:529-533 (Japans artikel met een Engelse samenvatting).
- Kim, C., Y-C Hung and R. E. Brackett (2000).
Roles of Oxidation-Reduction Potential in Electrolyzed Oxidizing and Chemically Modified Water for the Inactivation of Food-Related Pathogens. *Journal of Food Protection* 63:19-24.

Malchesky, P.S. and C.M. Fricker (2003).

United States Patent, Chemical modification of electrochemically activated solutions for improved performance, US 6.623.695 B2.

Masahiko, T. , K. Satoru and S. Yasufumi (2001).

A study on the control of rice blast disease by electrolyzed water. *Environmental Control in Biology* 39:95-101 (Japans artikel met een Engelse samenvatting).

Mueller, D.S., Y-C. Hung, R.D. Oetting, M.W. Van Iersel and J.W. Buck (2003).

Evaluation of electrolyzed oxidizing water for management of powdery mildew on gerbera daisy. *Plant Disease* 87:965-969.

Nobuo, A., Y. Yukie and A. Kazuhiro (2003).

Spray application of electrolyzed water on leaf surfaces for growth promotion and quality improvement of Mitsuba (Japanese Honewort, *Cryptotaenia japonica* Hassk in solution culture. *Food Preservation Science* 29: 203-209.

Sleegers, J. (2010).

Goed resultaat met Aquanox tegen meeldauw en Botrytis. *Vakblad voor de Bloemisterij* 51/52:46-47.

Sleegers, J. (2011).

Elektrolysewater niet zonder risico's. *Vakblad voor de Bloemisterij* 5: 32-33.

Van Os, E.A., J.D. Hofland-Zijlstra, R. Hamelink and G.J.L. van Leeuwen (2010).

Parapluplan Gerbera "Beheersing van Botrytis door efficiënter energiegebruik": Bestrijding van Botrytis in gerbera tijdens de teelt en in de na-oogstfase: Deelproject 4 van Parapluplan Gerbera: kasklimaat, energie en Botrytis bij gerbera; oorzaak, verband en maatregelen. Wageningen. Wageningen UR Glastuinbouw. Rapporten GTB-1057_JV.

Yahagi, N., M. Kono, K. Kitahara, A. Ohmura, O. Sumita, T. Hashimoto, K. Hori, C. Ning-Juan, P. Woodson, S. Kubota, A. Murakami, T. Shinichi (2000).

Effect of electrolyzed water on wound healing. *Artificial Organs* 24: 984-987.

Yamaki, Y.T. (1998).

Disease control with functional water. In Workshop: sustainable development in horticulture in Asia and Oceania. November 10, 1998. University of Tokyo, Japan p. 10-15 (referentie overgenomen uit Al-Haq et al. 2002).

Zoulias, E., E. Varkaraki, N. Lymberopoulos, C.N. Christodoulou and G.N. Karagiorgis (2002).

A review on water electrolysis. Cluster Pilot Project for the Integration of Renewable Energy Sources into European Energy Sectors Using Hydrogen. European Union 5th Framework Programme ENK-CT-2001-00536 (RES2H2).

Bijlage I Overzicht van studies naar effecten van geactiveerd water op micro-organismen

Tabel Ia. Gebaseerd op het artikel van Al-Haq et al. 2005 en aangevuld met schimmels die op planten of op afgesneden bladeren behandeld zijn met electrochemisch geactiveerd water (*, Fujiwara et al. 2009, Guentzel et al. 2008, Abassi & Lazarovits 2006, Buck et al. 2002, Yamaki 1998).

Organisme	Aantal referenties
Bacterien:	
Bacillus cereus	4
Campylobacter jejuni	4
Enterobacter aerogenes	1
Erwinia carotovora	1
Escherichia coli O157:H7	12
Listeria monocytogenes	10
Pseudomonas solanacearum	1
Salmonella enteritidis	4
Salmonella typhimurium	2
Staphylococcus aureus	2
Streptococcus	1
Streptomyces scabies*	1
Xanthomonas	1
Xanthomonas campestris pv vesicatoria*	1
Overigen	4
Schimmels:	
Aspergillus	3
Botrytis cinerea	1
Burkholderia glumae	1
Botryosphaeria	3
Cladosporium	1
Colletotrichum	2
Curvularia	1
Fusarium	1
Fusarium oxysporum f sp.lycopersici*	1
Helminthosporium	1
Magnaporthe	2
Monilinia	1
Oidium citrulli*	1
Penicillium	1
Phytophthora nicotianae var. parasitica	1
P. citrophthora	1
Sphaerotheca fuliginea*	4
Tilletia indica	5
Overigen	
Virussen:	
Oa. Norwalk-achtige virussen	3
Algen, Protozoa, Nematoden:	
Tylenchulus semipenetrans	1

Tabel 1b. Effect van inwerktijden van electrochemisch geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV, actief chloor 54-56 ppm) op sporenkieming en bacterie en gistoverleving (Buck et al. 2002).

Test organism	Treatment time and germination or survival [*]			
	0	30	60	120
<i>Alternaria</i> sp. #1	5	0	0	0
<i>Alternaria</i> sp. #2	5	0	0	0
<i>Alternaria panax</i>	5	1	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	5	0	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	5	0	0	0
<i>Botrytis allii</i>	5	0	0	0
<i>Botrytis cinerea</i>	5	0	0	0
<i>Cladosporium</i> sp.	5	0	0	0
<i>Colletotrichum</i> sp. #1	5	0	0	0
<i>Colletotrichum</i> sp. #2	5	0	0	0
<i>Curvularia lunata</i>	5	3	2	0
<i>Didymella bryoniae</i>	5	0	0	0
<i>Epicoccum nigrum</i> #1	5	4	3	3
<i>Epicoccum nigrum</i> #2	5	4	3	3
<i>Fusarium moniliforme</i>	5	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp.	5	0	0	0
<i>Helminthosporium</i> sp. #1	5	5	5	5
<i>Helminthosporium</i> sp. #2	5	4	1	1
<i>Monilinia fructicola</i>	5	0	0	0
<i>Pestalotia</i> sp.	5	0	0	0
<i>Phomopsis longicolla</i>	5	0	0	0
<i>Rhodosporidium toruloides</i> Y-1091	5	0	0	0
<i>Rhodosporidium toruloides</i> Rg-1	5	0	0	0
<i>Stagonospora nodorum</i>	5	0	0	0
<i>Thielaviopsis basicola</i>	5	0	0	0
<i>Trichoderma spirale</i>	5	0	0	0
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	5	0	0	0
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	5	1	1	1
<i>Pantoea ananatis</i>	5	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	5	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	5	0	0	0

* Germination of at least 200 conidia was assessed microscopically after a 24-h incubation in the dark in dilute nutrient solution. Fungal germination was recorded on a 0-to-5 scale relative to the untreated time 0 control, where 0 = no germination, 1 = 1 to 20% of control, 2 = 21 to 40% of control, 3 = 41 to 60% of control, 4 = 61 to 80% of control, and 5 = 81 to 100% of the control. Bacterial and yeast population sizes were determined by dilution plating and converted to a 0-to-5 scale, where 0 = no growth, 1 = 1 to 20% of control, 2 = 21 to 40% of control, 3 = 41 to 60% of control, 4 = 61 to 80% of control, and 5 = population size of time 0 control.

Tabel 1c. Overzicht van studies naar effecten van geactiveerd water op micro-organismen in suspensies (Hricova et al. 2008). AEW is zuur geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV) en NEW is basisch geactiveerd water (pH 7-8, ORP 750).

Microorganism	EW type	Reduction (log CFU ml ⁻¹)	Temp (°C)	Exposure time (min)	pH	ORP (mV)	Active chlorine (ppm)	Reference
<i>Aeromonas liquefaciens</i>	AEW	>7.0	NA ^a	0.5	2.8	1,125	43	108
<i>Alcaligenes faecalis</i>	AEW	>7.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
<i>Bacillus</i> spp.	AEW	2.3	25	1	2.2	NA	40	72
<i>B. cereus</i>	AEW	8.0	24	0.5	2.5	1,123	10	40
Spores	AEW	3.5	24	2	2.5	1,123	10	40
Cells and spores	AEW	>6.0	NA	5	2.8	1,125	43	108
<i>B. subtilis</i>	AEW	>6.0	NA	5	2.2	1,153	49	47
<i>Campylobacter jejuni</i>	AEW	>7.0	23	0.2	2.6	1,082	50	86
<i>Citrobacter freundii</i>	AEW	>7.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AEW	>9.0	23	0.5	2.8	1,163	25	88
<i>Enterobacteriaceae</i>	AEW	>6.0	NA	1	2.2	NA	40	72
<i>Enterococcus faecium</i>	AEW	>8.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
	AEW	8.0	22	15	3.0	1,100	40	28
	NEW	>6.0	25	10	6.5	850	20	32
<i>Escherichia coli</i>	AEW	>8.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
	NEW	>6.0	23	5	8.2	745	93	20
	NEW	>6.0	25	10	6.5	850	20	32
<i>E. coli</i> O157:H7	AEW	8.9	24	0.2	2.6	1,160	56	40
	AEW	>8.0	23	5	2.4	1,155	82	106
	AEW	8.0	35	2	2.4	1,155	82	106
	AEW	8.0	45	1	2.4	1,155	82	106
	AEW	>7.0	22	1	2.5	1,130	45	84
	NEW	>7.0	23	5	8.0	>700	60	21
<i>Flavobacter</i> spp.	AEW	>8.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
	AEW	>6.0	NA	1	2.2	NA	40	72
<i>Listeria monocytogenes</i>	AEW	9.2	24	0.2	2.6	1,160	56	40
	AEW	>8.0	23	0.1	2.5	1,150	50	67
	AEW	>7.0	22	1	2.5	1,130	45	84
	AEW	>7.0	4	10	2.6	1,158	48	106
	AEW	>7.0	23	5	2.6	1,158	48	106
	AEW	>7.0	35	2	2.6	1,158	48	106
	AEW	>7.0	45	1	2.6	1,158	48	106
	AEW	>6.0	NA	1	2.4	1,170	44	8
	NEW	>7.0	23	5	8.0	>700	60	21
	NEW	>6.0	25	10	6.5	850	20	32
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	AEW	8.0	22	15	3.0	1,100	40	28
<i>Proteus mirabilis</i>	AEW	8.0	22	5	3.0	1,100	40	28
<i>P. vulgaris</i>	AEW	>8.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AEW	>8.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
	AEW	8.0	22	30	3	1,100	40	28
	AEW	>6.0	NA	5	2.2	1,153	49	47
	NEW	>7.0	23	5	8.0	>700	60	21
<i>Salmonella</i> Enteritidis	AEW	>7.0	23	5	2.4	1,151	82	106
	NEW	>6.0	23	5	8.2	745	93	20
<i>Salmonella</i> Typhimurium	NEW	>6.0	25	10	6.5	850	20	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	AEW	>9.0	23	0.5	2.8	1,163	25	88
	AEW	>8.0	NA	0.5	2.8	1,125	43	108
	AEW	8.0	22	5	3.0	1,100	40	28
	AEW	4.1	23	0.5	3.2	1,116	10	86
	NEW	>7.0	23	5	8.0	>700	60	21
	NEW	>6.0	25	10	6.5	850	20	32
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	AEW	>6.6	NA	0.3	3.2	1,104	10	90
<i>V. vulnificus</i>	AEW	>6.6	NA	0.3	3.2	1,104	10	90
<i>Aspergillus parasiticus</i> spores	AEW	3.0	NA	15	2.5	1,164	20-30	103
<i>Candida albicans</i>	AEW	8.0	22	5	3.0	1,100	40	28
<i>Penicillium expansum</i> spores	AEW	4.0	NA	5	3.5	1,027	18	79
	AEW	4.8	NA	0.5	3.1	1,133	60	80

^a NA, not available.

Bijlage II Overzicht van studies naar effecten van geactiveerd water op oppervlakten en gereedschappen

Tabel II. Overzicht van studies naar effecten van geactiveerd water op oppervlakten en gereedschappen (Hricova et al. 2008). AEW is zuur geactiveerd water (pH 2-3, ORP 1100 mV) en NEW is basisch geactiveerd water (pH 7-8, ORP 750).

Material, surface	Microorganisms	EW type	Reduction (log CFU)	Temp (°C)	Exposure time (min)	pH	ORP (mV)	Active chlorine (ppm)	Reference(s)	
Ceramic tile	Aerobic bacteria	AEW	2.4/cm ²	NA*	1	2.6	1,156	55	37, 38	
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	AEW	2.2/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	AEW	1.8/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	AEW	>5.0/cm ²	NA	0.8	2.7	1,151	40	18	
Ceramic tile chips	<i>Listeria monocytogenes</i>	AEW	4.2/25 cm ²	NA	5	2.5	1,150	50	67	
Cutting boards										
Bamboo	<i>V. parahaemolyticus</i>	AEW	3.5/cm ²	NA	5	2.7	1,151	40	18	
Plastic	<i>Escherichia coli</i>	NEW	5.0/50 cm ²	NA	1	7.8	775	64	22	
	<i>E. coli</i> O157:H7	AEW	8.0/100 cm ²	35	20	2.6	1,162	90	107	
		AEW	8.0/100 cm ²	45	10	2.5	1,157	93	107	
		AEW	8.0/100 cm ²	55	5	2.3	1,147	45	107	
		NEW	5.0/50 cm ²	NA	1	7.8	775	64	22	
		AEW	5.3/100 cm ²	35	10	2.4	1,156	66	107	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NEW	5.0/50 cm ²	NA	1	7.8	775	64	22
		<i>S. aureus</i>	NEW	5.0/50 cm ²	NA	1	7.8	775	64	22
		<i>V. parahaemolyticus</i>	AEW	>5.0/cm ²	NA	1	2.7	1,151	40	18
		<i>E. coli</i>	NEW	4.0/50 cm ²	NA	5	7.8	775	64	22
		<i>L. monocytogenes</i>	NEW	4.0/50 cm ²	NA	5	7.8	775	64	22
		<i>P. aeruginosa</i>	NEW	4.0/50 cm ²	NA	5	7.8	775	64	22
		<i>S. aureus</i>	NEW	4.0/50 cm ²	NA	5	7.8	775	64	22
	Wood	<i>V. parahaemolyticus</i>	AEW	5.7/cm ²	NA	5	2.7	1,151	40	18
Glass	<i>E. aerogenes</i>	AEW	2.2/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
	<i>E. coli</i> O157:H7	NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
	<i>L. monocytogenes</i>	NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
	<i>P. aeruginosa</i>	NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
	<i>S. aureus</i>	NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
		AEW	1.7/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
Gloves	<i>L. monocytogenes</i>	AEW	4.5 to 5.5/cm ²	23	5	2.6	1,125	40	68	
Stainless steel	<i>E. aerogenes</i>	AEW	2.4/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
	<i>E. coli</i> O157:H7	NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
	<i>L. monocytogenes</i>	AEW	3.7/25 cm ²	NA	5	2.5	1,150	50	67	
		NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
		AEW	4.3/10 cm ²	24	0.5	2.4	1,163	47	7	
		AEW	5.2/10 cm ²	24	2	2.4	1,163	47	7	
		AEW	5.8/83 cm ²	23	0.2	2.6	1,160	56	42	
		AEW	>10/83 cm ²	23	5	2.6	1,160	56	42	
		NEW	>6.0/50 cm ²	23	1	8.0	>700	60	21	
		AEW	1.8/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
Vitroous china	<i>V. parahaemolyticus</i>	AEW	>5.0/cm ²	NA	0.5	2.7	1,151	40	18	
	<i>E. aerogenes</i>	AEW	2.3/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	
	<i>S. aureus</i>	AEW	1.9/cm ²	23	5	2.6	1,181	53	88	

* NA, not available.

