

167

Voortgangsrapport

Project "Produkt-gestuurde bewaar technologie" over de periode september 1996 / maart 1997

Drs. S.P. Schouten

VERTROUWELIJK

ato-dlo





ATO-DLO

Voortgangsrapport

Voortgangsrapport Project "Produkt-gestuurde Bewaar technologie" over de periode september 1996 / maart 1997

VERTROUWELIJK

**Agrotechnologisch
Onderzoek Instituut
(ATO-DLO)
Bornsesteeg 59
Postbus 17
700 AA Wageningen
tel. 0317 - 475000
fax. 0317 - 475347**

Drs. S.P. Schouten

Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit rapport mag worden gebruikt, vermeerderd of gedistribueerd zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.

2251269

1. Inhoudelijke vorderingen

1.1 Produktonderzoek algemeen

Het project "Produkt-gestuurde bewaartechnologie" beoogt de ontwikkeling van een nieuw ULO-(Ultra Low Oxygen)bewaarsysteem met de laagst mogelijke zuurstofconcentratie, waarbij behoud van produktkwaliteit maximaal wordt verondersteld. Dit is mogelijk door produktreacties bijv. de toename in ethanolproductie bij overgang van de normale ademhaling naar fermentatie te gebruiken voor regeling van het zuurstofgehalte. Het project beoogt een DCS (Dynamic Control System) voor de langdurige bewaring van hard fruit, koolsoorten en bloembollen.

Voorwaarden voor een DCS zijn o.a., dat de produkten bestand zijn tegen een zekere mate van fermentatie en dat er voordelen zijn t.o.v. huidige systemen. Onderzoek werd verricht op beide punten.

1.2 Fermentatie onderzoek

Onderzoek werd verricht met appels, peren, tulpebollen en koolsoorten. De produkten werden bij temperaturen tussen 0 en 4°C (tulpen bij 20°C) begast met stikstof en gewone lucht gedurende enkele weken. In deze periode werd de bewaarlucht regelmatig geanalyseerd op de aanwezigheid van fermentatie metabolieten en werden er produktmonsters genomen voor beoordeling van de kwaliteit en aanwezigheid van ethanol, aceetaldehyde e.d. De produkten werden geleverd door de deelnemende bedrijven in de DCS stichting.

1.2.1 Cox's O.P.

Het appelras Cox's O.P. werd gedurende 42 dagen bij 4°C begast met lucht en stikstof. Het ethanolgehalte in de lucht was reeds na een etmaal goed meetbaar en bleef gedurende de waarnemingsperiode lineair toenemen. Het verlies van stevigheid en kleur was bij de met lucht begaste appels groter dan met stikstof, terwijl afwijkingen niet werden geconstateerd. De smaak werd getoetst met scores op stevigheid, meligheid, zoet, zuur, aroma en het voorkomen van off-flavour na 4, 13 en 40 dagen begassen gevolgd door een extra periode van 17 dagen in lucht. Hierbij bleek, dat door stikstofbegassing de stevigheid en het zuurgehalte op een hoger niveau bleven, terwijl meligheid en zoetheid lager scoorden. Het aroma werd niet beïnvloed en off-flavours werden na 4 dagen niet, maar wel na 13 dagen vastgesteld.

De conclusie uit dit deelonderzoek is, dat Cox's O.P. met betrekking tot afwijkingen zeer goed bestand is tegen fermentatie. De belangrijkste beperking is gelegen in de ontwikkeling van off-flavours, die zich tussen 4 en 13 dagen stikstofbegassing kunnen ontwikkelen en dan ook onvoldoende verdwijnen. In een DCS zal de ontwikkeling van deze ongewenste smaak beslist moeten worden voorkomen. Dit is geen probleem, daar ethanolconcentraties in de bewaarlucht ten tijde van off-flavour ontwikkeling reeds zeer hoog zijn en dus uitstekend te meten.

1.2.2 Schone van Boskoop

Appelen van dit ras werden 40 dagen begast bij 4°. Het ethanolgehalte in de lucht vertoonde hetzelfde beeld als voor Cox's.P., terwijl ook het gehalte in het weefsel lineair lijkt toe te nemen. Stevigheid en smaak vertoonden eveneens het beeld, dat boven voor Cox's werd aangetroffen. Off-flavours werden pas na 40 dagen overtuigend aangetroffen (na 12 dagen nauwelijks sprake van een off-flavour) en ook nu verdween dit slechts gedeeltematig. Smaakbepalingen werden eveneens verricht na 12 en 40 dagen begassing. De conclusie, die uit dit deelonderzoek kan worden getrokken, is dezelfde als voor het ras Cox's O.P.

1.2.3 Elstar

Het onderzoek met dit ras (mogelijk door de inzet van de gastmedewerker Dr R.K. Prange van Atlantic Food and Horticulture Research Centre in Nova Scotia, Canada) was geconcentreerd op de gevoeligheid voor fermentatie in de tijd. Tussen September 1996 en Maart 1997 werden drie experimenten uitgevoerd met Elstar uit een partij, die bij ULO condities werd bewaard. De appelen werden 20 dagen begast als boven beschreven. Bij de kwaliteitsmetingen werd tevens vergeleken met appelen bewaard onder ULO condities. Er werd steeds een lineaire toename van het ethanolgehalte in de tijd waargenomen. Afwijkingen werden in geen van de experimenten geconstateerd. De ontwikkeling van off-flavour, getest na een uitstalperiode na het begassen, werd na ongeveer 6 dagen begassen vastgesteld in het eerste experiment. Deze periode werd langer in de volgende proeven bijv. In het derde experiment kon na 20 dagen nog geen duidelijke off-flavour worden vastgesteld. De stevigheid na de uitstalperiode bleef in de met stikstof begaste appelen steeds op een hoger niveau dan de appelen bewaard in lucht of ULO. Dit duidt op aanpassing en is een argument voor het introduceren van DCS.

1.2.4 Conference peren

Een soortgelijk experiment als met appelen werd gestart in maart en is nog gaande. De ethanolconcentratie in de bewaarlucht bleek opnieuw vrijwel lineair toe te nemen. Tot dusverre (14 dagen begassen) werden nog geen (smaak)afwijkingen vastgesteld.

1.2.5 Spitskool

Spitskolen werden gedurende maximaal 35 dagen met stikstof en lucht begast bij 0-1°C. De toename van het alcoholgehalte in de lucht vertoonde hetzelfde beeld als de andere gewassen. De smaak na 3 dagen en een uitstalperiode werd nauwelijks beïnvloed, terwijl er na 14 dagen de met stikstof begaste kool iets meer nasmaak en aroma vertoonde. Dit effect verdween echter tijdens de uitstalling bij hogere temperatuur. Na 35 dagen plus uitstalperiode bleek de met stikstof begaste kool iets steviger, zoeter en iets meer smaak en aroma te hebben. Off-flavour werd alleen duidelijk vastgesteld na 35 dagen begassen. Fermentatie afwijkingen werden alleen aangetroffen na 35 dagen begassen plus de uitstalperiode. De afwijking was een roze verkleuring rond het groeipunt in de kool en verzonken zwarte plekkjes in het buitenblad. Verder werden glazige plekken in blad en stronk waargenomen.

Spitskool kan dus langdurig aan fermentatie condities worden onderworpen voordat zich afwijkingen in smaak of in het weefsel van de kool manifesteren. Verder kan worden verwezen naar de conclusie onder het deelonderzoek met Cox's O.P. appelen.

1.2.6 Spruitkool

Met spruitkool werd een soortgelijk experiment als spitskool uitgevoerd gedurende 15 dagen. De spruiten werden na de begassing gedurende een week bij 18°C bewaard in lucht, waarin peren als ethyleengenerator waren toegevoegd. De vergeling van de spruiten en het loslaten van de blaadjes van de stonk werden na een week beoordeeld. De ethanolproductie was tijdens de bewaring onder stikstof zeer hoog. De smaak werd getest na 2 en 7 dagen begassen, maar gaf weinig verschillen te zien. Off-flavour ontwikkelde zich reeds na 2 dagen begassen en was overtuigend aanwezig na 7 dagen. De off-flavour verdween slechts ten dele na de uitstalperiode. De vergeling en de abscissie werden door de aanwezigheid van peren bevorderd en de voorafgaande stikstofbegassing had op vergeling geen en op de abscissie een reducerende invloed. Dit suggereert, dat met stikstof de gevoeligheid van ethyleen verlaagd kan worden.

Spruitkool kan dus slechts een beperkte duur fermentatie omstandigheden verdragen zonder off-flavour ontwikkeling. Dit is geen beperking voor DCS, daar na 2 dagen al sprake was van ongeveer 12 ppm ethanol in de headspace. Een dergelijk hoge concentratie ethanol is zeer goed vast te stellen. Een voordeel van begassing met stikstof lijkt een verlaging van de ethyleengevoeligheid.

1.2.7 Tulpenbollen

Begassing met lucht en stikstof werd met tulpenbollen uitgevoerd in september 1996 bij 20°C gedurende 20 dagen. De bollen werden vervolgens gekoeld bewaard en in het februari geforceerd. De geproduceerde bloemen werden gewogen en gemeten. Vervolgens werden de bloemen op de vaas gezet voor de bepaling van hun vaasleven. De ethanolproductie bleek zeer hoog in stikstof. De bloemen bleken door stikstofbegassing gedurende 1-2 dagen iets zwaarder en langer te zijn t.o.v. met lucht begaste bollen. Dit effect draaide echter om na 20 dagen begassen. Het vaasleven van de bloemen van gedurende 2 en 6 dagen met stikstof begaste bollen was iets langer dan begassing met lucht. Bij 20 dagen begassen was het vaasleven de "stikstofbollen" echter beduidend korter.

De conclusie uit dit deelonderzoek is, dat zelfs bij hoge temperatuur de tolerantie voor fermentatie condities bij tulpen aanzienlijk is en geen probleem zal vormen voor een DCS.

1.3.1 Vergelijking ULO met DCS voor appelen

Elstar appelen uit 4 boomgaarden, geoogst op een normaal en een laat tijdstip m.h.o. langdurige bewaring, werden opgeslagen bij 1-2°C onder standaard ULO condities (1.2% O₂ + 2.5% CO₂) en onder DCS condities (laagst mogelijke O₂ concentratie op basis van luchtethanolgehalte + <0.5% CO₂). De vruchten werden gekoeld en direct daarna werd de zuurstofspanning verlaagd naar 1.2%. Het zuurstofgehalte werd vervolgens in de DCS containers voorzichtig met 0.1% per dag verlaagd. Zodra het ethanolgehalte significant toenam, werd de zuurstofspanning met 0.2% verhoogd. In het experiment bleek het een aantal weken te duren voor het ethanolgehalte toenam tot maximaal 1 ppm. De afname van het ethanolgehalte verliep vervolgens zeer langzaam. Op dit moment heeft een tweede stijging van het ethanolgehalte plaats en ook dit verloopt zeer langzaam. De indruk dringt zich op, dat de vruchten "wennen" aan het extreem lage zuurstofgehalte. Eind januari werd de eerste van de 3 geplande controles uitgevoerd op

de kwaliteit. De vruchten van de late oogst bleken onder DCS condities minder stevigheid te hebben verloren. Na een uitstalperiode bleken de "DCS-vruchten" van beide oogsttijdstippen steeds beter in stevigheid te scoren. In de smaaktesten na uitslag en na de extra uitstalperiode bleken de DCS vruchten harder, knapperiger, minder zoet en zuurder te zijn dan de "ULO-vruchten". De aroma's waren op gelijk niveau en off-flavours bleken afwezig. De zeer voorlopige conclusie uit dit onderzoek is, dat de "DCS-vruchten" in een betere conditie zijn gebleven dan de "ULO-vruchten". Hoewel een uiteindelijke conclusie pas kan worden getrokken na de laatste controles, kan dit resultaat als zeer positief voor DCS worden beschouwd.

1. 3.2 Vergelijking ULO met DCS voor leliebollen

Met leliebollen (Aziatische hybride: Cordelia en een Oriental: Star Gazer) werd een soortgelijk experiment als voor Elstar appels gestart bij 0-1°C in januari 1997. De procedure van zuurstofverlaging was identiek en ook nu bleek het moeilijk de bollen tot ethanolproductie van enige omvang te brengen. Ten tijde van deze verslaggeving was reeds geruime tijd de zuurstofspanning tussen 0 en 0.5% in de DCS containers (ULO containers : 1.2% zuurstof + <0.5% koolzuur) en slechts in een van de vier containers is sprake van een duidelijke toename van het luchtethanolgehalte. Kwaliteitsmetingen werden tot dusverre nog niet verricht.

Samenvatting productonderzoek na 1 jaar

Uit de tot nu toe uitgevoerde fermentatie testen kan het volgende worden afgeleid. De tolerantie van de producten voor fermentatie wordt bepaald door de ontwikkeling van off-flavour (appelen en kool), wefelselafwijkingen (kool) en reducties in de opbrengst (bollen). Deze tolerantie kan in het algemeen zeer hoog worden genoemd, gelet op de duur van de begassing met stikstof, die nodig is om fermentatie afwijkingen te induceren. Verder kan fermentatie ook licht positieve effecten teweegbrengen: iets beter behoud van stevigheid en zuurgehalte (appelen), kleur (appelen, spruiten), minder meligheid (appelen) en iets grotere bloemopbrengst en vaasleven (tulpen, lelies) zijn hiervan voorbeelden. In alle gevallen is er ten tijde van de ontwikkeling van fermentatieafwijkingen reeds sprake van een zodanig hoge ethanolconcentraties in de bewaaratmosfeer, dat meting en regeling ruim voordat zich afwijkingen kunnen ontwikkelen, geen probleem hoeft te zijn. Hiermee is aan de eerste voorwaarde voor een DCS, een zekere bestendigheid tegen een lichte vormen van fermentatie, ruimschoots voldaan.

Het onderzoek naar voordelen van DCS ten opzichte van de huidige ULO bewaarmethode heeft voor appelen een wel is waar wat premature conclusie opgeleverd. Het betere behoud van stevigheid, kleur en het zuurgehalte en de afwezigheid van off-flavour, reeds geconstateerd in de maand januari, wettigen de conclusie, dat de "DCS-appelen" in een betere conditie zijn gebleven dan de "ULO-appelen". Aan de tweede voorwaarde voor een DCS, voordelen ten opzichte van de huidige methode, wordt dus ook, althans voor appelen, in ruime mate voldaan. Afgewacht dient te worden, hoe dergelijke vergelijkingen voor bloembollen en koolsoorten zullen uitwerken. Dit neemt echter niet weg, dat optimisme voor het DCS systeem alleszins gerechtvaardigd is.

1.4.1 Model ethanol

In het kader van de samenwerking met de vakgroep Agrotechniek en Fysica van de LUW werd onderzoek verricht door de student H.R. Timmer. In voorafgaand onderzoek was gebleken, dat de afname van het ethanolgehalte na fermentatie niet alleen verklaard kon worden door bijv. ventilatie. Timmer stelde vast, dat er in het appelweefsel na een fermentatieperiode ook onder lage zuurstofgehalten afbraak van ethanol optreedt. Verder werd onderzocht in Elstar appelen, tot welke concentratie ethanol mag oplopen voor een panel in staat is off-flavour vast te stellen. De afbraakterm van ethanol en de maximaal toelaatbare ethanolconcentratie (als stuurvariabele) werden binnen het reeds bestaande ULO model gebracht. Hierdoor ontstond een eerste prototype van een DCS op basis van een maximaal toelaatbare ethanolconcentratie in het product, dat geregeld wordt door toediening van zuurstof.

1.4.2 Ethanol sensor

Op dit moment is de Chrompack GC operationeel op het ATO. Met behulp van een zestienklep is snelle analyse van gasmonsters van meerdere bewaareenheden mogelijk. Voor toepassing in de praktijk is een vereenvoudigde versie van de huidige software voor dataverwerking wenselijk. Metingen van ethanol (EA) en acetaldehyde (AA) op sub-ppbv

niveau, o.a. in combinatie met andere gassen, is mogelijk gebleken met een laserfotoakoestisch systeem. Als gebruikersfaciliteit is dit systeem zeer geschikt, maar voor praktijktoepassingen vooralsnog te ingewikkeld.

Gassensoren op basis van infrarood absorptie worden geleverd door o.a. Hartmann en Braun (HB). Op dit moment wordt berekend wat de gevoeligheid voor EA is. HB heeft interesse getoond voor de ontwikkeling van een praktijkinstrument. Hetzelfde geldt voor ECN in Petten en voor Dr. Cowell in Bristol. ECN bestudeert de optie van het concentreren van ethanol en vervolgens detectie met een GC; Dr. Cowell ontwikkelt een biosensor, die ethanol in de gasfase kan meten. Testmetingen met de verschillende instrumenten moeten gaan uitwijzen welke het best geschikt is voor toepassing bij verschillende produkten onder variabele bewaaromstandigheden.

2. Vorderingen t.o.v. planning en doelstelling

De planning van het onderzoek geeft aan, dat er in het eerste jaar fermentatie onderzoek met 6 producten dient te worden verricht, inclusief ethanol bepalingen. Verder dient vergelijkend onderzoek met 3 gewassen te worden uitgevoerd en technisch onderzoek te worden verricht.

Er zijn tot op heden reeds 9 gewassen gescreend op hun fermentatiegedrag en is er dus sprake van een aanzienlijke voorsprong ten opzichte van de planning. Dit geldt ook voor de bepalingen naar luchtethanol concentraties. Een deel van de bepalingen van ethanol in de weefsels is gereed en op dit moment wordt hieraan verder gewerkt middels diepvriesmonsters.

Vergelijkend onderzoek tussen een DCS systeem en een bestaand ULO systeem loopt op dit moment voor appelen en leliebollen, terwijl de voor het eerste jaar geprogrammeerde spuitkool doorgeschoven is naar het tweede jaar. De resultaten van met name appelen zijn gunstig en overwogen kan worden tests in praktijkcellen, die voor het derde onderzoekjaar zijn gepland, reeds nu te beginnen.

Aan meetmethoden voor ethanol werd in het eerste halfjaar reeds enige aandacht besteed. Opties voor meetmethoden worden verder onderzocht. M.b.t. technisch onderzoek werd verder gewerkt aan een algemeen CA model (basis ademhaling) waarin de ethanolproductie met afbraakterm werd ingevoegd evenals een maximaal toelaatbare ethanolconcentratie. Feitelijk is dit het eerste prototype van een DCS.

Gesteld mag worden, dat het uitgevoerde werk in overeenstemming is met de planning.

Het uitgevoerde onderzoek is in overeenstemming met de eerste doelstelling (geschiktheid bepalen van DCS bewaarstechnologie voor verschillende produkten). Gebleken is, dat alle producten zodanig tolerant zijn voor fermentatie. Verder bleek het behoud van kwaliteit beter in DCS, waardoor de kansen op een DCS zijn toegenomen.

3. Bestede en verwachte inzet collectiviteit

In de verslagperiode bedroeg de personele inzet van de deelnemende bedrijven 369,5 uur. Tegen een uurtarief van fl 50,= per uur is dit een bedrag van fl 18.475,=. Ten opzichte van het oorspronkelijk plan (fl 40.000,= voor het eerste jaar van het project) is dit globaal in overeenstemming.

4. Gemaakte en verwachte kosten

De gesommeerde kosten van de deelnemers in het project in de periode 1/9/96 - 1/4/97 bedroegen fl 133.868,=. Vergelijking met de begroting leert, dat grote verschillen niet aanwezig zijn.

De personele inzet van het ATO in de genoemde periode was 1211 uur, hetgeen tegen DLO tarieven een bedrag oplevert van fl 66.910,=. De begroting voor het halfjaar geeft een bedrag aan van fl 120.000,=. De verdere materiële kosten van het ATO bedroegen in de verslagperiode fl 6.862,=.

5. Realisatie van mijlpalen, aanvragen om octrooi

Mijlpalen na 1 jaar van onderzoek zijn: inzicht in productreacties op fermentatie en vergelijking DCS met de modernste bewaarmethode, verhouding ethanolgehalte in weefsel en in lucht en een DCS computerprogramma. Gesteld mag worden, dat de milestones zijn gehaald.

6. Wijzigingen in het onderzoek

Het onderzoek ligt, gelet op de doelstelling en de kosten, op koers. Ten opzichte van de gemaakte plannen is er voorgesteld enige bijsturing te doen, zoals reeds verwoord onder 2.

7. Knelpunten

Het tot nu toe uitgevoerde onderzoek is in overeenstemming met de fasering.

8. Aanvullend en/of nieuw onderzoek

Samenwerking werd gestart met de afdeling Molecuul- & Laserfysica van de Katholieke Universiteit in Nijmegen. Deze afdeling is onder andere gespecialiseerd in sensorontwikkeling t.b.v. het meten van uiterst lage concentraties van gasvormige stoffen. Een STW subsidie werd verkregen voor een project, dat zich de meting van zeer lage concentraties metabolieten tijdens de bewaring van fruit tot doel stelt. In dit kader zal naast het huidige DCS onderzoek additioneel fundamenteel onderzoek worden gedaan naar fermentatie- en ademhalingsprocessen in relatie met andere fysiologische processen, zoals vetperoxidatie en ethyleensynthese. Vetperoxidatie leidt tot afbraak van celmembranen en uiteindelijk tot daadwerkelijke schade in het produkt; het gas ethaan kan mogelijk als indicator dienen. Ethyleen is een indicator voor stress. Het is te verwachten dat emissie hiervan vooraf gaat aan afgifte van ethaan. De eerder genoemde lasersystemen moeten hierin meer inzicht verschaffen.

Voor het testen van de praktisch te ontwikkelen ethanol sensor zijn de Chrompack GC en de lasersystemen geschikte referentie instrumenten. Het inbouwen van een testperiode is aan te bevelen.

9. Conclusie m.b.t. de haalbaarheid van de doelstelling

Op basis van de tot dusver behaalde resultaten is optimisme ten aanzien van de doelstelling gerechtvaardigd.