

A 30

**Voortgangsrapportage ATO-  
Onderzoekprogramma Groenten en  
Fruit eerste halfjaar 1994**

Dr. H.J. Huizing  
Dr. O. van Kooten, programmaleiders

**ato-dlo**



225 1445

Voortgangsrapportage ATO-Onderzoekprogramma Groenten en Fruit  
eerste halfjaar 1994

Wageningen, oktober 1994  
Dr. H.J. Huizing  
Dr. O. van Kooten, programmaleiders



## INHOUDSOPGAVE

## Pagina

Stevigheid en meligheid tijdens de rijping en veroudering van appels .....	1
Kwaliteit tomaat .....	5
Effecten van licht en lage temperatuur tijdens bewaring, inclusief chlorofylfluorescentie, van voedingstuinbouwprodukten .....	8
Voortgangsrapportage ca bewaring van groente en fruit .....	16
Voedselveiligheid en smaak .....	28
Detectie en bestrijding van bederfveroorzakende micro-organismen .....	31
Onderzoek naar het gebruik van (bio)sensoren ten behoeve van kwaliteitsaspecten van verse en verwerkte plantaardige grondstoffen .....	37
Voedselveiligheid en smaak .....	40
Afbreekbare coatings en folies op basis van tarwegluten .....	42
Modelleren van de invloed van O <sub>2</sub> en CO <sub>2</sub> op groente .....	45
Strategisch dss voor de groenten en fruitsector .....	50
Ontwikkeling van een dss voor het transport van mengladingen .....	52
Ma modellering op het verpakkingsniveau van de doos .....	54
Computer beeld analyse en inwendige en uitwendige kwaliteit van groenten en fruit .....	58

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

Ir. J.W. Donkers

### A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994

#### Probleemstelling

Op het gebied van textuur zijn stevigheidsverlies en de ontwikkeling van meligheid de belangrijkste factoren die kwaliteitsverlies van appels in het handelskanaal bepalen. De problemen treden zowel op tijdens als na het bewaren van appels. Er is grote behoefte aan methoden waarmee meligheid en stevigheid objectief en nondestructief bepaald kunnen worden en aangepaste bewaar technologieën om textuurproblemen te verminderen. Met het oog op het gericht kunnen ontwikkelen van dergelijke methoden en bewaarsystemen is naast empirisch onderzoek ook fundamenteel onderzoek nodig naar de biochemische en fysiologische mechanismen van stevigheidsverlies en ontwikkeling van meligheid bij de appel.

#### Doelstelling

Doel van het onderzoek is tweeledig:

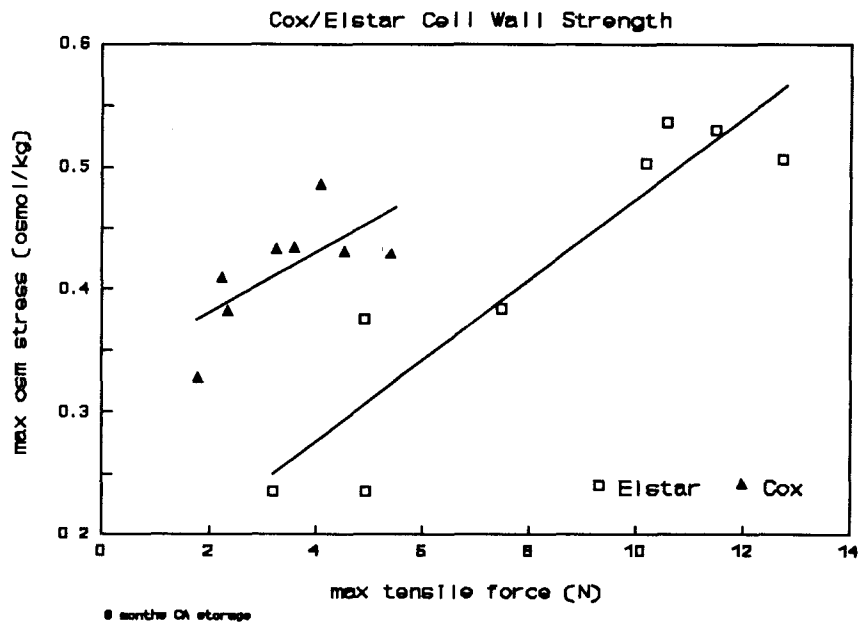
1. objectivering van stevigheid en meligheid met behulp van instrumentele (nondestructieve) meetmethoden.
2. ophelderen van het biochemisch/fysiologisch mechanisme dat stevigheidsverlies en meligheid veroorzaakt.

#### Verslag van de werkzaamheden

##### Inleiding

In het verslag over het tweede halfjaar van 1993 is een nieuw model beschreven waarmee zowel stevigheidsverlies als de ontwikkeling van meligheid kunnen worden beschreven. Volgens dit model wordt stevigheidsverlies veroorzaakt door enzymatische afbraak van de middenlamel van de appelcelwand. Meligheid wordt veroorzaakt door het achterwege blijven of geremd zijn van de afbraak van de primaire celwand.

In hetzelfde verslag zijn tevens experimenten beschreven waarbij celhechting, bepaald door de middenlamel, en celstekte, bepaald door de primaire celwand, zijn gemeten tijdens de nabewaring van verse vruchten. Er werd gebruik gemaakt van twee cultivars, Cox en Elstar, welke worden gekenmerkt door een verschillend verouderingspatroon. Cox ontwikkelt een droge, melige textuur, terwijl Elstar veel minder meligheid vertoont. De gevonden resultaten waren in overeenstemming met het opgestelde model: beide cultivars vertonen een vergelijkbaar beeld voor wat betreft stevigheidsverlies en middenlamel afbraak. Elstar vertoonde afbraak van de primaire celwand, terwijl in het geval van Cox de sterkte van de primaire celwand intact bleef.

Celwandsterktemetingen na 6 maanden CA bewaring

**Fig 1** Verband tussen weefsel treksterkte (middenlamel) en osmotische celsterkte (primaire celwand) van Cox en Elstar appels (6 maanden CA bewaring)

Teneinde meer kennis te verkrijgen over de sterkte en afbraak van de middenlamel en primaire celwand is onderzocht of er tijdens de CA bewaring verloop optrad in deze parameters.

Het resultaat van deze experimenten is weergegeven in figuur 1. Na zes maanden CA bewaring bleek bij Cox de middenlamel voor een groot gedeelte te zijn afgebroken, in tegenstelling tot Elstar.

Evenals bij Elstar was bij Cox een verval in primaire celwandsterkte zichtbaar, in tegenstelling tot de situatie bij verse vruchten. Dit verval is bij Cox kleiner dan bij Elstar.

Uit deze resultaten kan geconcludeerd worden dat, bij gelijke middenlamelsterkte, Cox altijd een hogere primaire celwandsterkte bezit. Deze resultaten zijn in overeenstemming met het beschreven model.

Celwand afbrekende enzymen

De fysiologische processen, die een rol spelen bij de afbraak van de middenlamel en de primaire celwand zijn verder onderzocht door celwand hydrolyserende enzymen te karakteriseren. De onderzochte enzymen zijn polygalacturonase (PG), pectinemethylesterase (PE), cellulase (CE) en  $\beta$ -galactosidase (GA). Het PG en het PE spelen een rol in de afbraak van de middenlamel, CE en GA zijn betrokken in de afbraak van de primaire celwand. De combinatie van verschillende enzymwerkingen bepaalt het uiteindelijke effect op de stevigheid en meligheid van de appel. Uit voornoemde cultivars zijn de verschillende enzymen geïsoleerd en gedeeltelijk gezuiverd, waarna de specifieke celwandafbrekende activiteiten zijn bepaald (tabel 1).

**Tabel 1** Activiteit celwand hydrolyserende enzymen van Cox en Elstar appels (nmol produkt/uur/gram versgewicht).

enzym	Cultivar	Cox		Elstar	
	pluktijdstip	vroeg	laat	vroeg	laat
PE		0.2	0.3	0.3	0.2
CE		31.9	18.5	30.1	20.5
GA		2.9	4.1	7.3	8.3

Zoals te zien in tabel 1 is er weinig verschil tussen beide cultivars voor wat betreft pectinemethylesterase activiteit. Dit was ook niet te verwachten, aangezien PE een rol speelt bij het verlies van stevigheid. Tussen beide cultivars treden geen verschillen op in stevigheidsverlies.

De twee overige enzymen, CE en GA, zijn betrokken bij de afbraak van de primaire celwand. Meligheid wordt veroorzaakt door een verminderde afbraak van deze primaire celwand: een lagere activiteit van deze enzymen is gerelateerd aan een hogere mate van meligheid, waarbij GA het verschil tussen de twee cultivars bepaalt (Cox wordt meliger dan Elstar), terwijl CE ditzelfde doet met het verschil tussen twee pluktijdstoppen (laat geplukte vruchten worden meliger dan vroeg geplukte vruchten).

#### Akoestische methoden

In het afgelopen halfjaar is een keuze gemaakt voor een nondestructieve stevigheidsmeter op basis van de akoestische resonantie techniek. Het instrument meet de uitdoving van bepaalde frequenties van een continu aangeboden signaal. Met het oog op de experimenten van het komende halfjaar zijn calibraties uitgevoerd voor drie belangrijke Nederlandse appelcultivars, te weten Cox, Elstar en Jonagold.

#### B. PUBLICATIES

In voorbereiding.

#### C. WERKZAAMHEDEN TWEEDE HELFT 1994

##### **Opzet**

In het bewaar seizoen 1994-1995 zullen experimenten worden uitgevoerd met de drie cultivars Cox, Elstar en Jonagold. Er wordt materiaal betrokken van twee herkomsten en drie pluktijdstoppen (te vroeg, optimaal en te laat).

Uitgaande van dit materiaal zullen de celwandsterktemetingen van het afgelopen jaar worden herhaald en uitgebreid. Hierdoor wordt een statistische evaluatie van de resultaten mogelijk.

Daarnaast zal worden voortgegaan met de isolatie en karakterisering van celwand

hydrolyserende enzymen en zal worden begonnen met de chemische en morfologische analyse van de appelcelwand.

Tenslotte zullen met de akoestische resonantie meter voornoemde cultivars gevolgd worden gedurende het bewaar seizoen.

### **Confrontatie met de fasering**

In het afgelopen halfjaar is een begin gemaakt met de isolatie en zuivering van celwand hydrolyserende enzymen. De isolatie is nog niet voltooid, waardoor nog geen antilichamen tegen de enzymen zijn aangemaakt. Hierdoor zijn de localisatie experimenten enigszins vertraagd.

Er is gewacht met morfologische karakterisering van de celwand en localisatie van calcium met behulp van electronenmicroscopie tot de betreffende faciliteiten beschikbaar komen op het ATO-DLO. Verwacht wordt dat in het komende halfjaar met deze experimenten gestart kan worden.



## **KWALITEIT TOMAAT**

### **Stevigheid, meligheid en houdbaarheid tomaat**

H.C.P.M. van der Valk, J.E. Robbers en M.M.M. Tomassen

#### **A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994**

##### **Probleemstelling**

Het verlies van stevigheid is de belangrijkste kwaliteitsparameter die de houdbaarheid van de tomaat bepaalt. Onvoldoende stevige tomaten zijn bovendien kwetsbaar tijdens het transport en de handel hecht daarom veel waarde aan de stevigheid. Daarnaast is stevigheid een onderdeel van de sensorische kwaliteit van de vrucht. Stevigheid in de mond is naast knapperigheid en sappigheid een karakteristiek die kenmerkend is voor de smaakgewaarwording van tomaat. In het bijzonder bij sommige typen vleestomaat wordt in toenemende mate meligheid aangetroffen. Dit is een droog korrelig gevoel in de mond. Er zijn aanwijzingen dat het optreden van meligheid en stevigheidsverlies processen zijn die te maken hebben met de celwandafbraak tijdens de rijping. Stevigheidsverlies zou ontstaan door het van elkaar loslaten van de cellen en meligheid door een onvoldoende afbraak van de celwanden, waardoor stevige intacte losse cellen ontstaan. Bij appel zijn hier sterke aanwijzingen voor gevonden (zie verslag Stevigheid en meligheid tijdens de rijping en veroudering van appels).

De verzachting van de tomaat zou vooral te wijten zijn aan toenemende activiteit van celwand-afbrekende enzymen. In het bijzonder de hoge activiteit van het pectine-afbrekende enzym polygalacturonase is opvallend. Dit enzym wordt daarom reeds vele jaren uitgebreid bestudeerd. Men heeft de expressie van dit enzym met moleculair-biologische technieken zo goed als volledig geblokkeerd. Toch worden getransformeerde tomaten zacht. Het enzym is dus of niet bij de verzachting betrokken of de hoeveelheid daadwerkelijk aanwezig enzym is niet regulerend. Het onderzoek op het ATO-DLO heeft zich daarom gericht op een activerende factor (converter) die een essentiële rol zou spelen bij de regulatie van de activiteit van het pectine-afbrekende enzym.

##### **Verslag van de werkzaamheden eerste helft 1994**

###### Karakteriseren van de converter

Er is veel tijd besteed aan pogingen de eiwit en suiker-componenten van de converter van elkaar te scheiden. Met behulp van specifieke enzymen is dit slechts gedeeltelijk gelukt. Een belangrijk probleem hierbij is de grote mate van kleefkracht die de converter vertoont als het in gezuiverde vorm in hoge concentraties aanwezig is. Door deze problemen is de opwekking van de antilichamen uitgesteld.

De N-terminus en een flink stuk van de interne sequentie is bepaald. Er is geen homologie gevonden met de  $\beta$ -subunit, een regelmatig in de literatuur opduikende mogelijk concurrent van de converter. De converter en de  $\beta$ -subunit zijn dus duidelijk twee verschillende eiwitten met mogelijk vergelijkbare karakteristieken.

De convertor is het enige eiwit met de unieke activerende werking op het pectine-afbrekende enzym.

#### Het voorkomen van de CV en het inventariseren van het actieve complex CV-PG2

Er is een speciaal gel-electroforese-systeem ontwikkeld waarmee de verschillende vormen van PG natief kunnen worden gescheiden en de pectine-afbrekende activiteit kan worden gemeten. Hierdoor is het mogelijk geworden naast de molecuulgrootte van de verschillende iso-enzymen ook de specifieke activiteit van de diverse vormen te bepalen. Hiermee is bewezen dat de op molecuulgrootte gescheiden vormen van PG inderdaad pectine afbreken en bovendien op de karakteristieke manier geïnactiveerd worden. Hiermee is het bewijs geleverd dat de "eiwitbandjes" ook "enzym-bandjes" zijn.

#### Regulatie en fysiologische betekenis van de convertor

Gedurende een fase in de extractie-procedure is het convertor-preparaat verontreinigd met een tweede eiwit. Na uitgebreide studies bleek de sequentie sterke homologie te vertonen met het pectine-methylesterase, een tweede voor de pectine-afbraak belangrijk enzym. Dit betekent dat de convertor mogelijk ook bij de binding en stabilisering/activering van dit enzym een rol zou kunnen spelen. Als dit inderdaad zo is zou dit mogelijk betekenen dat zo'n convertor regulatie-mechanisme een meer universeel karakter zou hebben en mogelijk ook bij andere rijpende vruchten (appel!) een rol zou spelen. Dit zou tevens kunnen verklaren waarom de ongetwijfeld in appel aanwezige pectine-afbrekende enzymen zo slecht te meten zijn. In de standaard-meetmethoden wordt de binding tussen het enzym en de convertor mogelijk verbroken, waardoor de activiteit die werkelijk in de vrucht aanwezig is niet gemeten wordt. Hier wordt nu ook bij appel onderzoek naar verricht.

#### Houdbaarheid

In het kader van het onderzoek naar de houdbaarheid van de tomaat is onderzocht op welke manier de tomaat vocht verliest en vooral waar de grootste gasuitwisseling plaatsvindt. Met behulp van laser-detectie is over de hele tomaat lokaal de concentratie ethyleen gemeten. Het bleek dat meer dan 90% van de door de tomaat afgegeven ethyleen ontsnapt via het kroontje of het wondvlak indien het kroontje werd verwijderd. De hoeveelheid ethyleen die werd afgegeven was in beide gevallen gelijk.

Het was opvallend dat zelfs na een snede in de cuticula aan de onderzijde van de tomaat geen verhoogde ethyleen-afgifte optrad. Klaarblijkelijk is de parenchymatische laag relatief ondoorlaatbaar voor ethyleen of er wordt geen of nauwelijks ethyleen geproduceerd door de buitenste lagen van het pericarp. De ethyleenproductie vindt klaarblijkelijk plaats in de gelei-achtige massa of de meer aan de binnenzijde gelegen lagen van het pericarp. Wat de fysiologische betekenis is van het verschijnsel dat de grote ethyleenproductie niet plaats vindt waar de grootste verzachting optreedt dient nader onderzocht te worden.

De resultaten van dit onderzoek zijn geaccepteerd voor publikatie in Plant Physiology.

## **B. WERKZAAMHEDEN 1994**

### **Fasering tweede helft 1994**

Het onderzoek zal zich toespitsen op de moleculaire karakterisering van de convertor; het opwekken van antilichamen ten behoeve van lokalisatie-experimenten en het bepalen van de factoren die de binding tussen de convertor en het enzym bepalen.

Hiermee wordt het karakteriseren van de convertor afgesloten en kan worden gestart met onderzoek naar de fysiologische betekenis van de convertor voor de verzachtende tomaat en de rol die de convertor speelt bij de pectine-afbraak in de proces-technologie.

## EFFECTEN VAN LICHT EN LAGE TEMPERATUUR TIJDENS BEWARING, INCLUSIEF CHLOROFYLFLUORESCENTIE, VAN VOEDINGSTUINBOUWPRODUKTEN

O. van Kooten

### A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994

#### Probleemstelling

In dit project wordt geprobeerd antwoord te vinden op de vragen:

- \* Wat veroorzaakt *lage-temperatuurbederf (LTB)* bij komkommers en paprika's?
- \* Is het mogelijk om op non-destructieve wijze de *houdbaarheid* van komkommers en eventueel andere voedingstuinbouwprodukten te voorspellen?

#### Doelstelling

- \* Door *lage-temperatuurbederf (LTB)* te doorgronden wordt het mogelijk om vast te stellen hoe de initiatoren van het proces gedetecteerd kunnen worden.  
Daarmee wordt het mogelijk om een koeling te creëren, die reageert op de toestand van het produkt. Door de temperatuur te variëren tijdens bewaring kan een langere *houdbaarheid* worden verkregen.
- \* Wanneer de *houdbaarheid* van produkten middels metingen op de veiling kan worden aangegeven, kan de kwaliteit beter worden ingeschat. Er wordt onderzocht of meting van de chlorofylfluorescentie een geschikte methode is om de *houdbaarheid* te voorspellen.

#### Fasering

De eerste helft van 1994 zou worden gewerkt aan de volgende onderwerpen:

- \* Het meten van glutathion in gereduceerde en geoxideerde vorm in stress-komkommers. Eventueel andere bepalingen in de antioxidanten-keten.
- \* Verdere validatie/aanpassing van het LTB-model.
- \* Verder uitwerken van de CF-metingen, in de hoop toch een voorspellende parameter voor de *houdbaarheid* van komkommer te vinden. (Fotosyntheseregulatie van komkommers in relatie tot senescentie)
- \* Meten aan andere produkten wanneer zich de gelegenheid voordoet.

## Terminologie

- \* PSII = fotosysteem II: eiwit complex dat zorgt voor het invangen van licht en voor energie-overdracht van dit licht naar electronentransport.
- \*  $\Phi_2$  = kwantumopbrengst van het elektronentransport door PSII: d.w.z. het aantal elektronen getransporteerd per geabsorbeerd foton.
- \*  $q_p$  = fotochemische doving, d.w.z. de fractie van het geabsorbeerde licht dat niet als fluorescentie vrij kan komen als gevolg van een gereduceerde electron acceptor van fotosysteem 2.
- \* Fv/Fm = efficiëntie van energie-overdracht door PSII in het donker: d.w.z. het aantal fotonen dat het reactiecentrum bereikt per geabsorbeerd foton.
- \* CF = Chlorofyl Fluorescentie

## Verslag van de werkzaamheden

### Lage-temperatuurbederf (LTB)

#### \* **Komkommer:**

*Biochemisch:* In het vorige verslag werd vermeld dat we met de bepaling van glutathion in de gereduceerde (GSH) en geoxideerde (GSSG) vorm hoopten de antioxidantwerking in stress-komkommers te doorgronden en het te kunnen koppelen aan het CF-signaal.

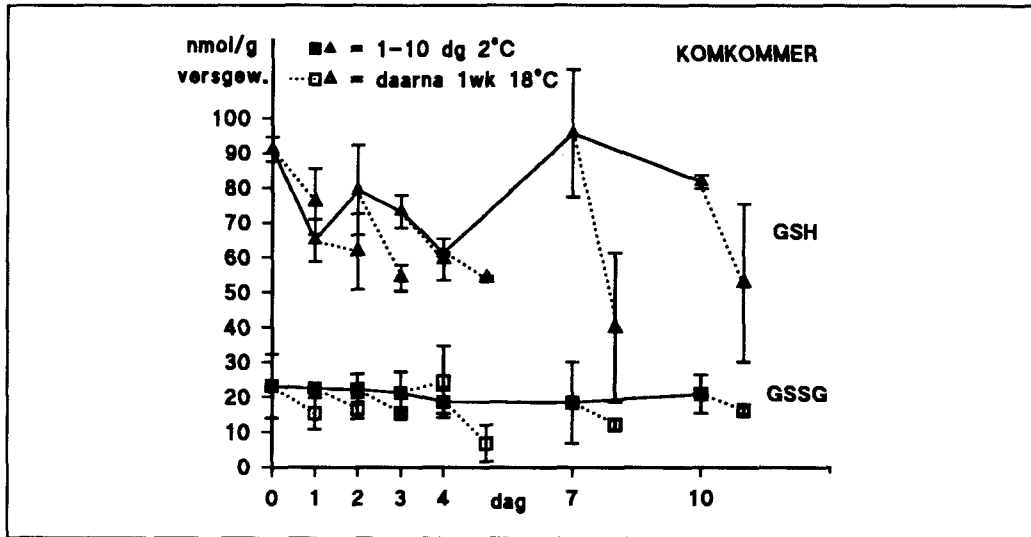
Hiertoe werden komkommers 0 tot 10 dagen bewaard bij 2°C en vervolgens nabewaard bij 18°C. De hypothese was dat tijdens de koudebewaring gevormde radicalen zouden worden weggevangen door GSH, waardoor de hoeveelheid GSH af- en GSSG toeneemt. Na overplaatsing naar een hogere nabewaringstemperatuur zou: of herstel kunnen optreden (weer toename van GSH en afname GSSG) of de radicalen zouden zich sneller vermeerderen dan ze worden weggevangen en dan zou de hoeveelheid GSH af- en GSSG toenemen.

Afbeelding 1 laat echter zien dat tijdens de koudebewaring de hoeveelheid GSH schommelt en GSSG gelijk blijft, terwijl ze tijdens de nabewaring bij 18°C beide afnemen.

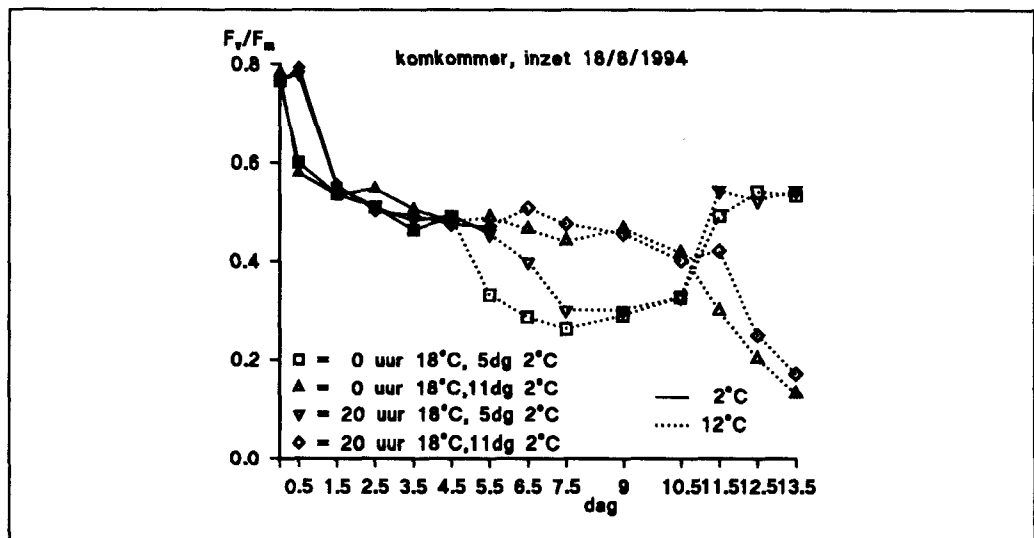
(De enorme spreiding die optreedt zou mogelijk verkleind kunnen worden door de hoeveelheid GSH en GSSG niet per gram versgewicht maar per hoeveelheid chlorofyl uit te drukken.) Daar we echter geen omzetting kunnen waarnemen van GSH naar GSSG of v.v. heeft verdere bepaling van alleen GSH en GSSG geen zin. Te meer daar Hariyadi & Parkin hun GSH-bepalingen, die zo hoopvol leken, ook niet kunnen reproduceren. Om op dit biochemische terrein verder te gaan zullen we meerdere antioxidanten gelijktijdig moeten bepalen.

*Meer praktische toepassing van het model:* Het model gaat ervan uit dat er altijd enige radicalen aanwezig zijn. Door een warme voorbehandeling (18°C à 20°C) zouden de scavengers (anti-oxidanten) sneller de radicalen wegvangen dan bij lagere temperatuur zodat de komkommers met een lagere initiële hoeveelheid aan radicalen de kou in gaan. Hierdoor zou nauwelijks of geen LTB optreden. Afbeelding 2 laat echter zien dat het fluorescentiesignaal gelijk verloopt bij komkommers met en zonder warme voorbehandeling. (Het najlen van het signaal van komkom-

Afbeelding 2



Afbeelding 3



mers die 20 uur zijn voorverwarmd bij 18°C komt doordat deze komkommers 20 uur later bij 2°C werden gezet.) De hoeveelheid zichtbare LTB was ook gelijk.

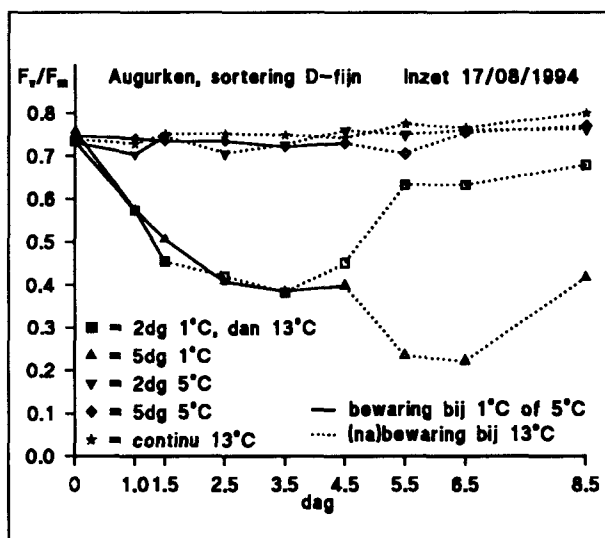
Een andere hypothese is: Radicalen worden o.a. gevormd als gevolg van een temperatuurschok. In dat geval zou een opwarming naar 18°C à 20°C, die de volgende dag wordt gevolgd door afkoeling bij 2°C of 4°C misschien nog meer radicalen geven dan wanneer de komkommers direkt worden afgekoeld van ca. 14°C. naar 2°C of 4°C.

\* Augurk:

In project 3.07.04 wordt gekeken welke parameters de verwerkingskwaliteit van augurken kunnen voorspellen. In dit kader is ook CF gemeten aan twee sorteringen augurken, B en D-fijn. De augurken zijn voor verwerking 2 en 5 dagen bewaard bij 1°C, 5°C en 13°C en vervolgens nabewaard bij 13°C. Het CF-sigitaal van de

augurken reageerde hetzelfde op te koude bewaring als dat van komkommers en ook de beide sorteringen augurk reageerden vrijwel gelijk. Eén dag bewaring bij 1°C gaf al een sterke daling in  $F_v/F_m$  te zien. Na 2 dagen bewaring bij 1°C herstelde het CF-sigitaal nog enigszins na overplaatsing naar 13°C, na 5 dagen niet meer. Bewaring bij 5°C verschilde nauwelijks van dat bij 13°C. (zie afbeelding 3) Hoewel het CF-sigitaal zich na 2 dagen bij 1°C nog deels herstelde was de aanzet tot uitwendig LTB al gegeven. Na 5 dagen bij 1°C was het LTB nog sterker. Na bewaring bij 5°C en 13°C ontstond ook wat rot tijdens de nabewaring, maar hier was veroudering de oorzaak. (zie tabel 1)

Afbeelding 4



Tabel 1

totaal 9 dagen	% LTB	% ander rot
2dg 1°C + 7dg 13°C	30	
5dg 1°C + 4dg 13°C	70	
2dg 5°C + 7dg 13°C		20
5dg 5°C + 4dg 13°C		30
continu 13°C		20

### Houdbaarheid

- \* **Voorspelling houdbaarheid komkommer op basis van chlorofylfluorescentie met behulp van neuraal netwerk.**

### **Inleiding**

Er wordt behandeld een model voor de voorspelling van de houdbaarheid van de komkommer gedefinieerd als snelheid van kleurverloop aan de hand van verscheidene chlorofylfluorescentieparameters.

De chlorofylfluorescentie parameter  $\phi_2$  is een maat voor de efficiëntie van het fotosynthese systeem. De snelheid van aanpassing aan veranderende intensiteit van het omgevingslicht zegt iets over de conditie van de komkommer. Andere relevante parameters zijn  $q_p$  en  $F_v/F_m$ . De te voorspellen grootte is de kleur: na verloop van tijd verloopt de kleur van groen naar geel. De snelheid waarmee dit gebeurt is afhankelijk van de conditie van de komkommer.

### **Methode**

Om komkommers te krijgen van verschillende interne kwaliteit zijn vijf groepen komkommers van zes elementen verschillende periodes bewaard bij 12 °C: 4, 3, 2, 1 en 0 weken. De komkommers waren afkomstig van dezelfde teler maar niet op het zelfde tijdstip geoogst. Hierdoor ontstonden grotere verschillen tussen groepen dan binnen groepen wat betreft kleur en vorm bij binnenkomst.

De fluorescentiemetingen zijn uitgevoerd met de PAM-2000 fluorometer. Kleurmetingen zijn uitgevoerd met behulp van een computer beeld analyse (CBA) systeem. Voor de indicatie van de kleur is de verhouding blauw/rood gebruikt. Zowel fluorescentie- als kleurmetingen zijn drie maal per week uitgevoerd tot 48 dagen na uitstalling. Een groot deel van de komkommers waren op dat moment al uit de meeset verwijderd vanwege rottingsverschijnselen, te lage fluorescentie of een reeds maximale verkleuring.

Voor de voorspelling is gebruik gemaakt van een neuraal netwerk: het supervised feedforward backpropagation model. Hierbij wordt herhaaldelijk een set inputs met een bijbehorende set outputs aangeboden waarbij het netwerk z'n verbindingen zo aanpast dat de fout op de output geminimaliseerd wordt. Belangrijk bij het opzetten van een netwerk is het aantal verborgen lagen en het aantal processing elements (PE's) daarin.

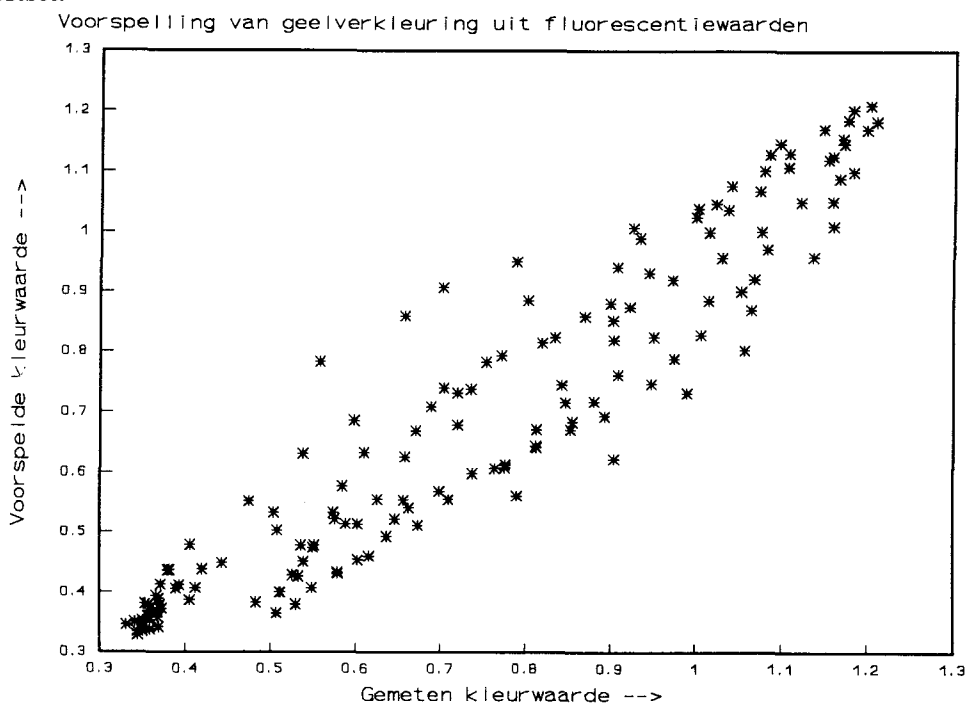
### **Ontwikkeling van het neurale netwerk**

Bij het opzetten van een neuraal netwerk komt men een groot aantal vrijheden tegen. Ten eerste de manier waarop de gegevens aangeboden worden: kale meetwaarden versus gemiddelden of afgeleide waarden (bv. na middeling of na het fitten van de data aan een functie). Ook de keuze en eventueel weglaten van inputwaarden speelt een belangrijke rol in het met succes trainen van een netwerk. Op de tweede plaats is de reeds genoemde structuur van het netwerk belangrijk. Hierbij draait het om de structuur van het netwerk tussen input en output. Bij het



ontwikkelen van het netwerk zijn verscheidene configuraties getest. Van alle kale data (3 fluorescentiemetingen per komkommer met  $3 \cdot 9 = 27$  phi2-waarden, 3 qP-waarden, 3 Fv/Fm-waarden, 1 kleurwaarde totaal 34 inputs) tot een zeer beperkte input (gemiddelde van snelheidsconstante k, qP, Fv/Fm en kleurwaarde, totaal 4 inputs) en van 5 tot 100 PE's in 1 of 2 tussenlagen.

Om een zo groot mogelijk aantal voorbeelden voor het trainen van het netwerk te verkrijgen zijn voor elke dag dat gemeten is de fluorescentiewaarden en de kleurwaarde per komkommer als input gebruikt en de kleurwaarde van de te voorspellen dag als output. Een deel van de gegevens (zo'n 25%) werd gebruikt als testset.



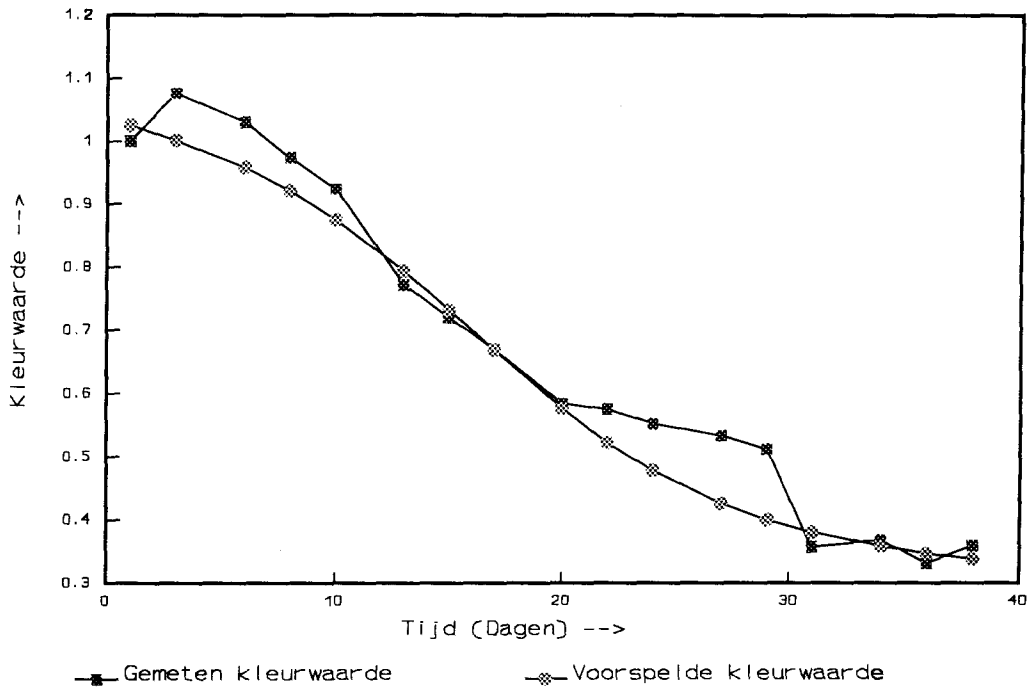
**Figuur 1.**

Het netwerk dat het beste resultaat gaf bestond uit twee tussenlagen met 10 resp. 2 PE's. Als input had het gemiddelden van 3 metingen: 9 phi2-waarden, qP, Fv/Fm, de kleur op de dag van meting en het aantal dagen dat vooruit voorspeld wordt (13 inputs) en als output de kleur op de dag waarop de voorspelling betrekking heeft (1 output). Het totaal aan complete trainingsvoorbeelden was 3127 en 1000 voor de test. De prestatie is uitgedrukt in een correlatiecoëfficiënt (Pearson coëff.) en had de waarde  $R_{xy} = 0.97$  op de trainingsset en  $R_{xy} = 0.94$  op de testset. De RMS (root mean square) was resp. 0.059 en 0.104. In fig.1 staat de voorspelde waarde van de kleur uitgezet tegen de gemeten waarde (voor een deel van de testset). In fig.2 en 3 staat het voorspelde en gemeten kleurverloop van twee komkommers uitgezet.

### Conclusies

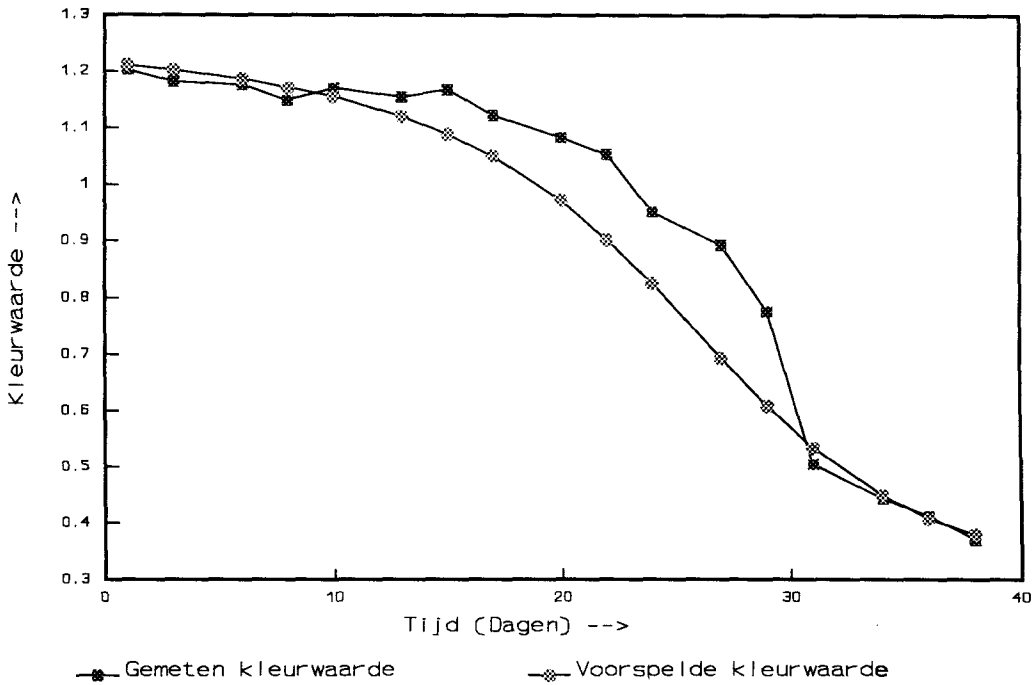
De kritieke kleurgrens ligt bij een kleurwaarde van 0.8. Een RMS van 0.10 komt bij een verkleuringssnelheid van 0.051 per dag overeen met een afwijking van  $0.10/0.051$  2 dagen. Dit betekent dat de houdbaarheid per komkommer met een

Voorspelling van geelverkleuring uit fluorescentiewaarden  
Korokommers na 4 weken bij 12 °C.



Figuur 2.

Voorspelling van geelverkleuring uit fluorescentiewaarden  
Onbehandelde korokommers



Figuur 3.

gemiddelde afwijking van 2 dagen voorspeld kan worden. Op een totale levensduur variërend van zo'n 13 tot 29 dagen is dit vrij nauwkeurig:

$(1-2/(29-13))*100\% = 88\%$  verklaard verschil.

Bij de resultaten van dit experiment dient wel een kanttekening gemaakt te worden. De komkommers uit de test waren afkomstig uit dezelfde partijen als die uit de trainingset en het is niet duidelijk of deze representatief zijn voor alle komkommers. Een andere teler, ras of pluktijdstip zouden invloed kunnen hebben op de verkleuring die niet met het aanwezige model verklaard kunnen worden. Het model dient daarom nog getoetst en eventueel aangepast te worden.

### Confrontatie met de fasering

- \* Met de biochemische parameters die we tot dusver hebben onderzocht, GSH en GSSG, kunnen we minder van de antioxidanten-keten verklaren dan we hadden gehoopt. (Onlangs bleken ook de GSH-bepalingen van Hariyadi & Parkin niet reproduceerbaar.)  
Om meer vat te krijgen op de antioxidantwerking zouden gelijktijdig veel meer antioxidanten (waaronder  $\alpha$ -tocopherol) moeten worden bepaald.
- \* Validatie van het model is in beperkte mate gebeurd. De voorspelling door het model, dat minder LTB zou ontstaan a.g.v. een warme voorbehandeling, bleek niet juist. Het model zou met de huidige data nog moeten worden bijgewerkt.
- \* De CF-metingen, die gedaan zijn om de houdbaarheid van komkommer te voorspellen, zijn met behulp van neurale netwerk technieken verwerkt. Hieruit blijkt dat er wel degelijk een voorspellende waarde zit in deze meting. Er moet nog verder onderzocht worden of deze voorspellende waarde terug te voeren is tot een achterliggend model.

### Werkplan voor de tweede helft van 1994

- \* De hypothese dat door plotselinge afkoeling (verwarming) extra radicalen worden gevormd lijkt reëel. D.m.v. van experimenten met geleidelijke en snelle afkoeling zal worden getest of deze hypothese inderdaad juist is. CF zal worden gemeten en er zal op zichtbaar LTB worden beoordeeld. Afhankelijk van de resultaten zullen de data van deze experimenten nog in het model moeten worden verwerkt.
- \* De verkregen meetset voor komkommers zal verder geanalyseerd worden op het voorspellend vermogen van de CF waarden. Hierbij moet de data via modelanalyse verder uitgewerkt worden.
- \* Een eindrapportage over de afgelopen 4 jaar zal vervaardigd worden.

## **VOORTGANGSRAPPORTAGE CA BEWARING VAN GROENTE EN FRUIT**

Drs S.P. Schouten

### **A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994**

#### **Probleemstelling**

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

#### **Doelstelling**

De doelstellingen van het onderzoek kunnen als volgt worden omschreven:

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

#### **Fasering**

In de eerste helft van 1994 waren experimenten gepland met appels en spruitkool. Spitskool en Radicchio rosso werden opnieuw toegevoegd. Nagegaan onder welke combinaties van CA condities en temperatuur het beste kwaliteitsbehoud werd gerealiseerd kon worden.

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

##### Inleiding

Het onderzoek, dat in het kader van dit project is verricht, is tweeledig. Enerzijds is inventariserend onderzoek verricht met een aantal produkten. Hierbij gaat het om de praktische vraag naar mogelijkheden om bestaande bewaar - en distributiemethode te verbeteren (Radicchio rosso, komkommer, suikermais, waspeen, witlofwortel, asperge). Anderzijds is er onderzoek verricht met de bedoeling iets meer te weten te komen over de fysiologie tijdens bewaring (ethyleenhuishouding appels en kool). Echter ook bij dit laatste onderzoek spelen praktische vragen een belangrijke rol.

##### Werkwijze

Het onderzoek is uitgevoerd in kunststof containers, waarin de gewenste luchtsamenstelling wordt bereikt en gehandhaafd door een combinatie van de eigen ademhaling plus het bijmengen van de gewenste gassen. De beoordeling van de

produkten na bepaalde achtereenvolgende bewaarperioden geschiedde door visuele beoordelingen van kleur, groei, parasitair bederf en afwijkingen. Verder werden instrumenteel bepaald: gewichtsverlies, refractie, ademhaling, ethyleenproductie en trekresultaat (witlof). In een aantal gevallen is ook de invloed van bewaarcondities op smaakaspecten vastgesteld.

### Resultaten

#### **Appel**

##### *a. CA condities appelen*

Bij een bepaalde lage zuurstofspanning gaan appelen tot gisting over en kan het produkt volledig verloren gaan. Dit leidt er toe, dat men in de praktijk een relatief grote veiligheidsmarge hanteert. De absoluut laagste zuurstofgrens voor appelen (ongeveer 0.5-1%) is aanzienlijk lager dan de praktijk toepast, namelijk 1.2-1.3%. Dit onderzoek is gericht op de minimale CA-condities die kunnen worden toegepast zonder enige vorm van schade.

Het onderzoek in dit seizoen is geconcentreerd rond de vraag, of met een zo laag mogelijk O<sub>2</sub> gehalte kwalitatief voordeel is te behalen. Verder dient de vraag te worden beantwoord naar herstellmogelijkheden van één of meerdere cycli van een milde vorm van gisting, welke in een dergelijk systeem kan optreden. Van deze ophoping mag worden verwacht, dat de vruchten die hoeveelheid ethanol weer kwijt kunnen raken door diffusie en/of door enzymatische afbraak.

Ten behoeve van de doelstelling werd een hoofdonderzoek uitgevoerd aangevuld met enkele kortlopende proeven, beide met het ras Jonagold. Op kleine schaal werd in het doorstroomsysteem geëxperimenteerd, terwijl het hoofdonderzoek in het statisch bewaarsysteem werd verricht.

##### *Kortlopende onderzoek in doorstroomsysteem*

Vier experimenten werden uitgevoerd, waarbij de vraag naar de invloed van (0 tot 0.2%) op de vorming van ethanol en de relatie met de kwaliteit centraal werd gesteld.

In het eerste experiment werd vastgesteld, dat een verblijf van 2 dagen in pure stikstof bij 18°C een ophoping van 20-30 mg/100 g vers weefsel tot gevolg had. Tijdens een nabewaring van deze appelen gedurende 1 week bij 15°C in lucht trad er een aanzienlijke daling op tot 5-10 mg/100 g vers. Gevolgen voor de stevigheid had de behandeling niet, ook niet na de nabewaring in lucht.

De tweede proef was een soortgelijk experiment als de eerste. Er werd echter nu 2 weken bewaard in stikstof bij 1-2°C. Er bleek sprake van een vrijwel lineair verloop van de ophoping van ethanol bij bewaring in N<sub>2</sub>. Met betrekking tot de stevigheid is er op de twee weken durende bewaring geen sprake van achteruitgang.

In een derde experiment werd getracht de effecten van de tweede proef te herhalen door ruim 7 weken de vruchten in 0.2% zuurstof bij 1-2°C op te slaan.

Op gezette tijden werden de vruchten op stevigheid gemeten en de ethanolconcentratie bepaald. Na de opslag in 0.2%O<sub>2</sub> werden vruchten 2 weken nabewaard bij 15°C in lucht en 6 weken in 1%O<sub>2</sub> bij 1-2°C. De laatste nabewaring bootst in feite

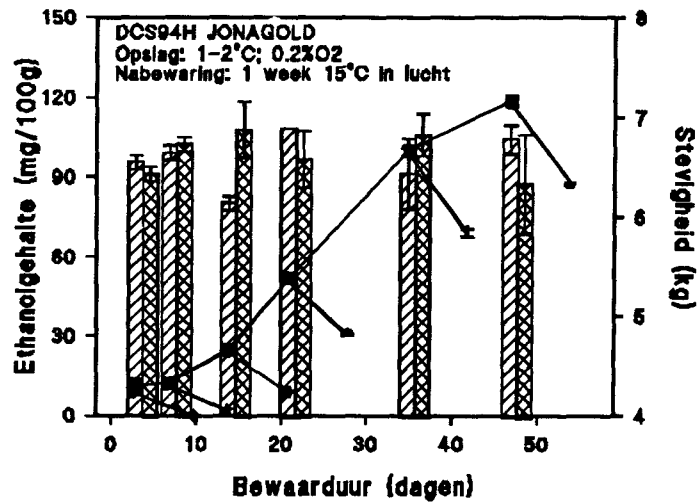


Fig 2: Invloed van 7 weken in 0.2% O<sub>2</sub> bij 1-2°C op ethanolophoping en stevigheid van Jonagold appels direct na de bewaring en na een nabewaring van 1 week bij 15°C in lucht.

een praktijksituatie na. De resultaten zijn als volgt samen te vatten.

Ten opzichte van het tweede experiment bleek de ophoping van ethanol aanzienlijk trager te verlopen. De twee weken in N<sub>2</sub> leverde een concentratie van ongeveer 75 mg/100 g vers gewicht op. De 7 weken in 0.2% O<sub>2</sub> gaf een concentratie van bijna 120 mg/100 g vers gewicht te zien (Fig 1). Ruwweg kan worden gesteld, dat het kleine verschil in zuurstofconcentratie toch een ongeveer twee maal tragere opbouw van het ethanolgehalte tot gevolg had.

Ethanol verdwijnt tijdens de nabewaring bij 15°C met een zekere snelheid, die vele malen minder is wanneer verder wordt bewaard bij 1-2°C in 1%O<sub>2</sub>.

De stevigheid werd nauwelijks merkbaar beïnvloed (Fig 1), terwijl in het vruchtvlees en op de schil van de vruchten geen afwijkingen werden geconstateerd.

Deze waarnemingen wijzen op een vrij grote tolerantie van Jonagold appels voor zeer extreem lage zuurstofspanningen. Afwijkingen werden niet gevonden en de stevigheid (en ook de kleur) werd niet beïnvloed. Blijkbaar kunnen Jonagold appels zonder bezwaar enige tijd verblijven in een atmosfeer met een te lage zuurstofspanning.

In de vierde en laatste proef werden Elstar en Jonagold appels 2 weken bewaard in 0.2, 0.4, 0.6 en 1.0% zuurstof. Ademhaling, ethyleen- en ethanolproductie werden 2 maal gemeten. De resultaten m.b.t. de ademhaling zijn in figuur 2 weergegeven.

De ademhaling van Jonagold lijkt in de toetsreeks niet te worden beïnvloed, terwijl Elstar een stijging vertoont in ieder geval bij 0.2%O<sub>2</sub>. Dit beeld komt overeen met de ethanolproductie. Jonagold vertoont een zekere stijging tussen 0.4 en 0.2%O<sub>2</sub>. Deze toename is voor Elstar echter veel groter. Mogelijk is voor Elstar reeds een stijging ingezet tussen de 0.4 en 0.6%O<sub>2</sub> (Fig 2). De ethyleenproductie werd eveneens verschillend beïnvloed: de ethyleenproductie van Elstar onderging geen grote verschuivingen tussen 1.0 en 0.2%O<sub>2</sub>. Dit was voor Jonagold wel het geval. De produktie werd tussen 0.6 en 0.2 verlaagd van 4 tot 0.5 µg.kg.uur<sup>-1</sup>.

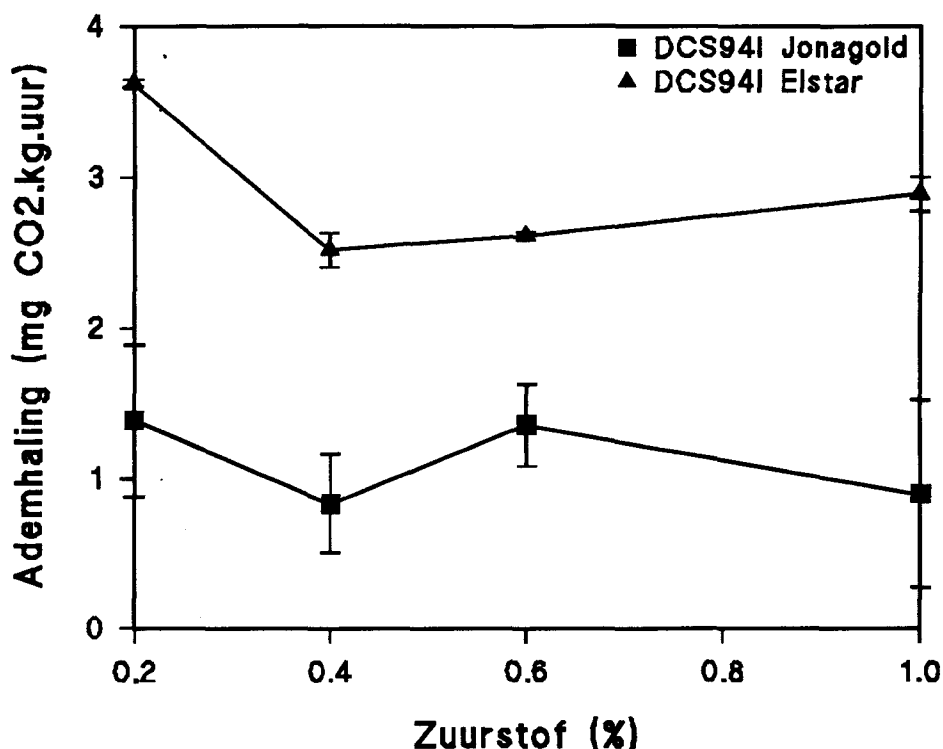


Fig 2: Invloed van de zuurstofconcentratie op de ademhaling van Elstar en Jonagold appels tijdens 2 weken opslag bij 1-2°C.

Samengevat: de kwaliteit wordt niet beïnvloed door ethanolophoping en bij zeer lage O<sub>2</sub> spanning is er een duidelijke toename te zien van de ethanolproductie.

*Onderzoek in het statisch bewaarsysteem.*

Jonagold appels werden in dit systeem gedurende 10 maanden bewaard bij 1-2°C in <0.5%

CO<sub>2</sub> + 1%O<sub>2</sub>. Gedurende de bewaring werden de appels 1 maal, 2 maal en 4 maal een periode van 3 dagen bij 1-2°C in stikstof geplaatst. Dit had een ethanolophoping van 10-15 mg/100 gram vers gewicht tot gevolg (zie voorgaande experimenten in het doorstroomsysteem). Na elke cyclus werden de vruchten steeds weer in 1% zuurstof teruggebracht en er werd een maand gewacht voor een beoordeling. De kwaliteitsbeoordeling vond plaats eind mei en eind juli, direct na de bewaring en na een extra periode van 1 en 2 weken bij 15°C. Gedurende de bewaring werd enkele maanden lang regelmatig de ademhalingsactiviteit gemeten.

In de ademhalingsactiviteit werden geen sterke toenames vastgesteld als gevolg van de behandelingen met stikstof. De beoordeling na de bewaring is voorzover dit de stevigheid betreft, weergegeven in figuur 3.

De bewaring lijkt geringe verschillen tot gevolg te hebben. Deze verschillen zijn in elk geval na de warme nabewaring verdwenen. Er is geen sprake van een versneld verlies van stevigheid in de nabewaring.

Ook de kleur van de appels onderging als gevolg van de stikstofbehandelingen geen veranderingen en inwendige afwijkingen werden in de vruchten niet vastgesteld. De hoeveelheid rot en scald was dermate gering, dat op basis van die

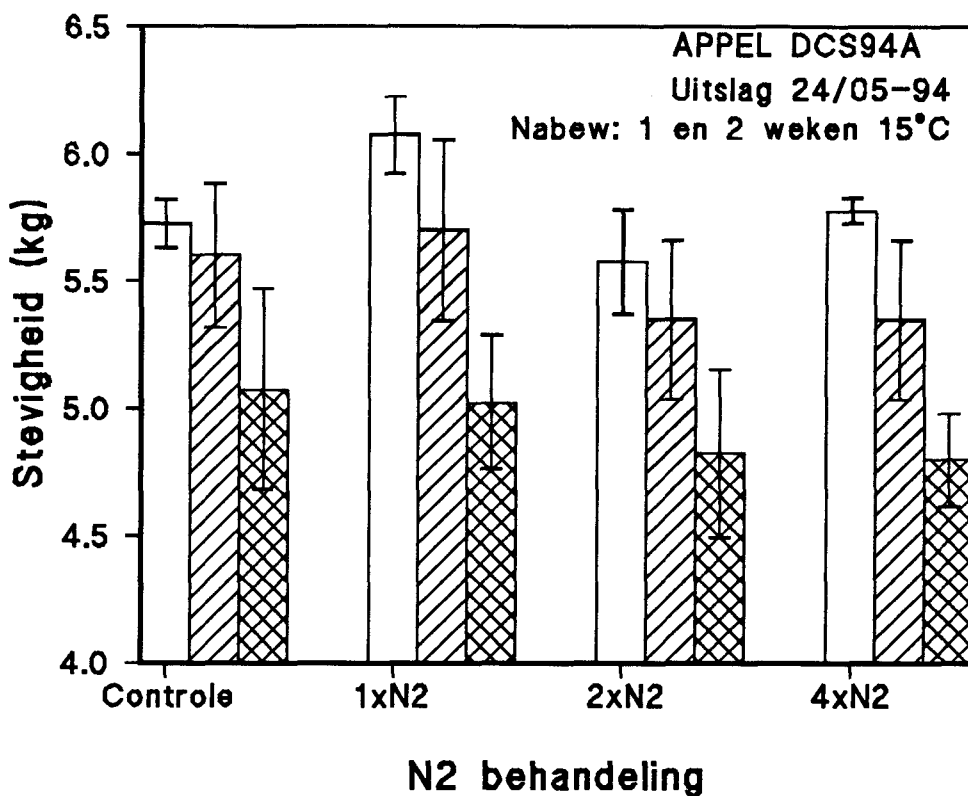


Fig 3: Invloed van stikstofbehandelingen op de stevigheid van Jonagold tijdens opslag bij 1-2°C en 1%O<sub>2</sub> + <0.5%CO<sub>2</sub>.

waarnemingen geen conclusies kunnen worden getrokken.

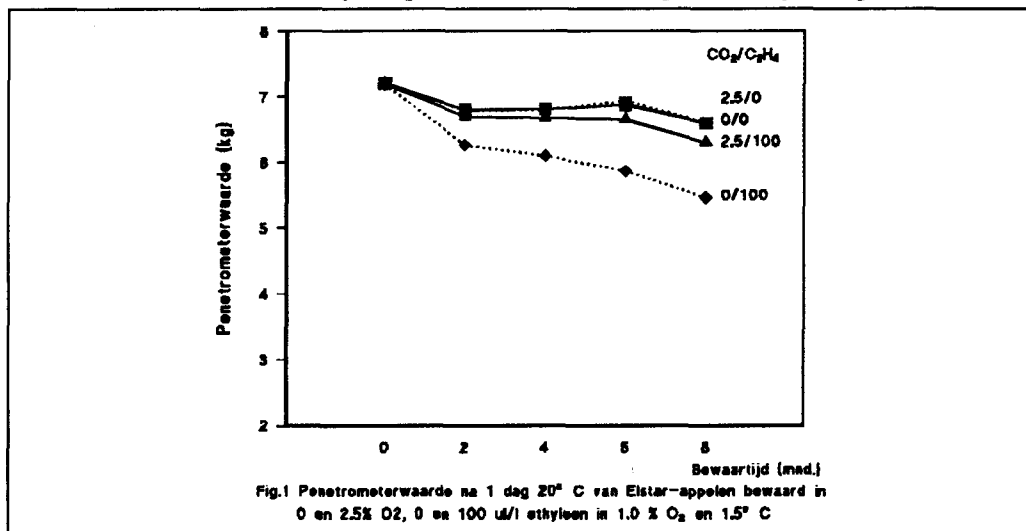
De voorlopige conclusie uit dit deel van het onderzoek is, dat herhaalde tussentijdse blootstelling aan stikstof voor de kwaliteit van Jonagold appels geen gevolgen lijkt te hebben. Een kanttekening hierbij is, dat de stikstofbehandelingen pas konden worden uitgevoerd na januari. Dit kan mogelijk de uitslag van het onderzoek hebben beïnvloed.

Als conclusie uit het volledige onderzoek geldt, dat Jonagold zeer tolerant is t.a.v. uiterst lage zuurstofgehalten. Weliswaar wordt ethanol opgehoopt, maar dit leidt niet tot afwijkingen. De stevigheid lijkt nauwelijks te worden beïnvloed, zelfs niet door wekenlang verblijf in 0.2%O<sub>2</sub>. De gehanteerde CA-adviezen hebben een ruime veiligheidsmarge. Uit dit onderzoek is gebleken dat Jonagold geen schade ondervindt van een tijd lang te zijn blootgesteld aan laag O<sub>2</sub>, ver beneden de geadviseerde waarde.



## Ethyleen en CA-bewaring

In het onderzoek, uitgevoerd in het seizoen 1993-1994, was het doel om bij optimale CA-omstandigheden de interactie vast te stellen tussen koolzuur en ethyleen. Pre-climacteriele Elstar-appelen werden bewaard bij 0 en 2.5% CO<sub>2</sub>, 0 en 100 µl/l ethyleen en 1% O<sub>2</sub> in 1.5°C. Tijdens de bewaarperiode, tot en met juni, werden elke 2 maanden ethyleenproductie, ademhaling en stevigheid gemeten.



Figuur 4

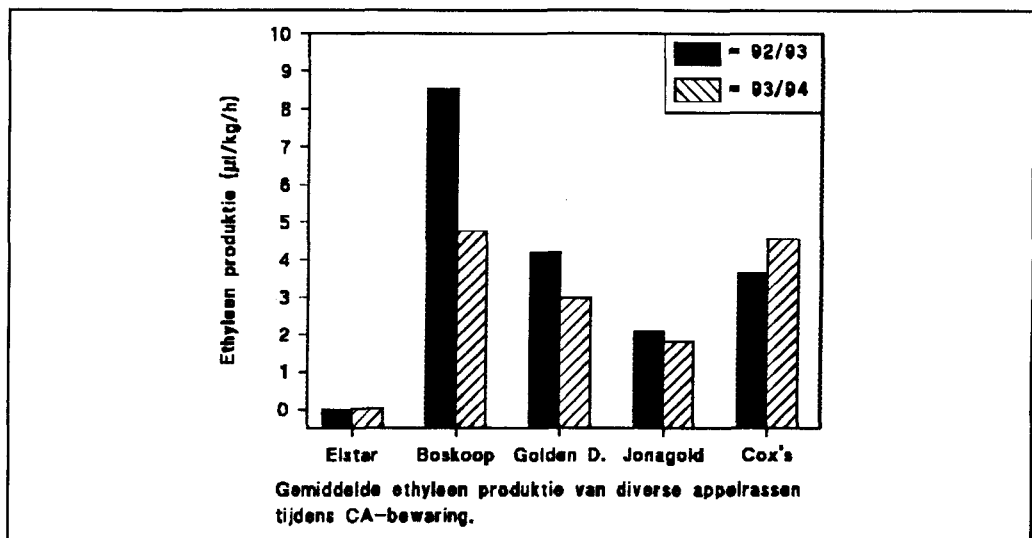
Uit de stevigheidsmetingen (Figuur 4) werd duidelijk dat appelen bewaard in 0 µl/l nauwelijks stevigheidsverlies vertoonden tijdens de bewaring. In deze bewaarcondities was er geen invloed van koolzuurgas. In beide bewaaromstandigheden werd nauwelijks ethyleenproductie gemeten gedurende de hele bewaarperiode, waaruit blijkt dat het produkt in de preclimacteriele fase is gebleven.

Bij continue begassing met ethyleen nam de stevigheid duidelijk wel af vooral in combinatie met 0% CO<sub>2</sub>. In deze bewaaromstandigheden was de respiratie ook duidelijk hoger.

De uitkomsten tonen nogmaals aan dat Elstar-appelen gedurende gehele bewaarperiode in de pre-climacteriële fase gehouden kunnen worden, waardoor nauwelijks stevigheidsverlies optreedt. Anderzijds wordt aangetoond dat koolzuurgas als component van CA-bewaring een belangrijke invloed heeft op de ethyleenhuishouding van de vrucht. Hierbij is de invloed op het ethyleenactieproces ook duidelijk gekwantificeerd.

In ander onderzoek is nagegaan wat de ethyleen productie van diverse fruitrassen tijdens optimale CA-omstandigheden. Dit betrof Boskoop, Cox', Conference, Elstar, Jonagold en Golden Delicious. Het produkt geplukt op het optimale tijdstip en 10 dagen later en was afkomstig van 3 herkomsten. Maandelijks werd de ethyleen productie gemeten in het CA-doorstroomsysteem.

Het onderzoek werd op dezelfde manier uitgevoerd als in 1992-1993. In Figuur 5 zijn de resultaten van beide seizoenen gecombineerd. Opvallend er is dat tussen de rassen grote verschillen bestaan in ethyleen productie. Elstar blijft constant heel laag, de andere rassen dermate hoog, dat gesproken kan worden van een climacte-



Figuur 5

riële productie. De productie van ethyleen lijkt in het seizoen 93-94 wat lager te zijn dan in het andere bewaarseizoen, met uitzondering van het ras Cox's Orange Pippin. Alleen tijdens de beginfase van de bewaring is de ethyleen productie van Conference, Jonagold en Golden duidelijk lager.

Verder is opvallend dat het pluktijdstip nauwelijks invloed had op het patroon van ethyleen productie. Bij alle rassen was het productieniveau van de twee pluktijdstippen gelijk en was er nauwelijks verschil in het moment tijdens de bewaring dat de ethyleenproductie een substantiële stijging laat zien. Ook de ethyleenproductie per herkomst vertoont o.h.a weinig verschil. Alleen tijdens de beginfase van de bewaring begint bij een aantal rassen de ethyleen productie per herkomst op een verschillend tijdstip.

### CA bewaring spruitkool

#### *Onderzoek in het statisch bewaarsysteem bij 0-1°C*

Koolsoorten reageren op CA condities in het algemeen zeer positief. Spruitkool maakt op deze regel geen uitzondering. Betrekkelijk weinig is echter bekend over interacties tussen CA condities en ethyleen bij lage temperatuur. Tegen deze achtergrond werd onderzoek gestart.

Partijen stammen van het ras Estate werden op 19 november, 21 december en 21 januari geoogst en opgeslagen in containers in het statisch bewaarsysteem bij 0-1°C in lucht en in 5%CO<sub>2</sub> + 1%O<sub>2</sub>. Vanaf de laatste inslag werd per container een kist appels bijgeplaatst als ethyleengenerator. Onderzocht werd, welke invloed ethyleen onder deze omstandigheden heeft op ademhaling, kleurverlies, bladabscissie en rotontwikkeling.

De resultaten kunnen als volgt worden samengevat. De ademhaling wordt tijdens de bewaring door de ethyleengenerator gestimuleerd. Dit heeft plaats in lucht maar ook in de toegepaste CA conditie (Fig. 6). De aanwezigheid van appels in de bewaarcontainers (lucht) versnelde aanzienlijk kleurverlies en bladabscissie. De CA

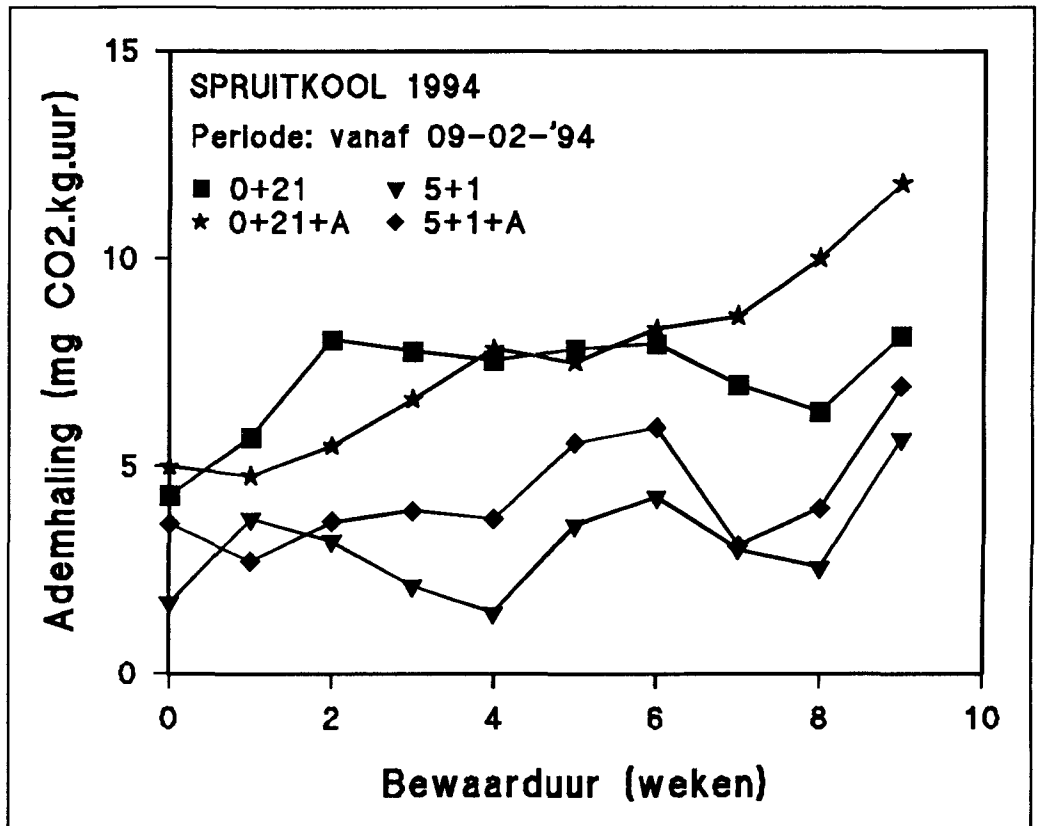


Fig 6: Invloed van bewaarcondities bij 0-1°C en de aanwezigheid van appels (A) op de ademhaling van spruitkool.

conditie gaf een zeer goede bescherming tegen deze problemen.

Het oogstmoment is voor de spruiten van belang. Naarmate ze later worden geoogst, zijn kleurverlies en bladabscisie duidelijk ernstiger. Het verschil is opmerkelijk, doordat de later geoogste spruiten minder lang zijn bewaard namelijk 1 en 2 maanden.

Voor de bewaring in de praktijk betekenen deze waarnemingen, dat de spruiten zeker niet te laat moeten worden geoogst. In dit werk bij hoge temperatuur stond de interactie tussen zuurstof en ethyleen centraal.

Een goed criterium voor het juiste oogstmoment is op dit moment niet te geven. Opmerkelijk was, dat de spruiten hoog aan de stam het minste kleurverlies vertoonden. Verder blijkt uit de waarnemingen, dat een zekere hoeveelheid ethyleen tijdens bewaring gevaarlijk is, wanneer het bewaring in lucht betreft. In CA bewaring zijn de spruiten zeer goed beschermd. Zelfs in zeer langdurige opslag was het verschil tussen lucht en CA bewaring met een ethyleengenerator nog betrekkelijk klein, hoewel ten nadele van de aanwezigheid van appels.

#### *Bewaaronderzoek bij 15°C*

Naast bovenstaand onderzoek werd op kleine schaal ook geëxperimenteerd met geoogste spruiten in het doorstroomsysteem. Tevens werd de invloed van de ethyleenconcentratie zelf onderzocht. Uit twee proeven naar de invloed van de interactie tussen zuurstof en ethyleen bleek, dat voor kleur de interactie niet maar

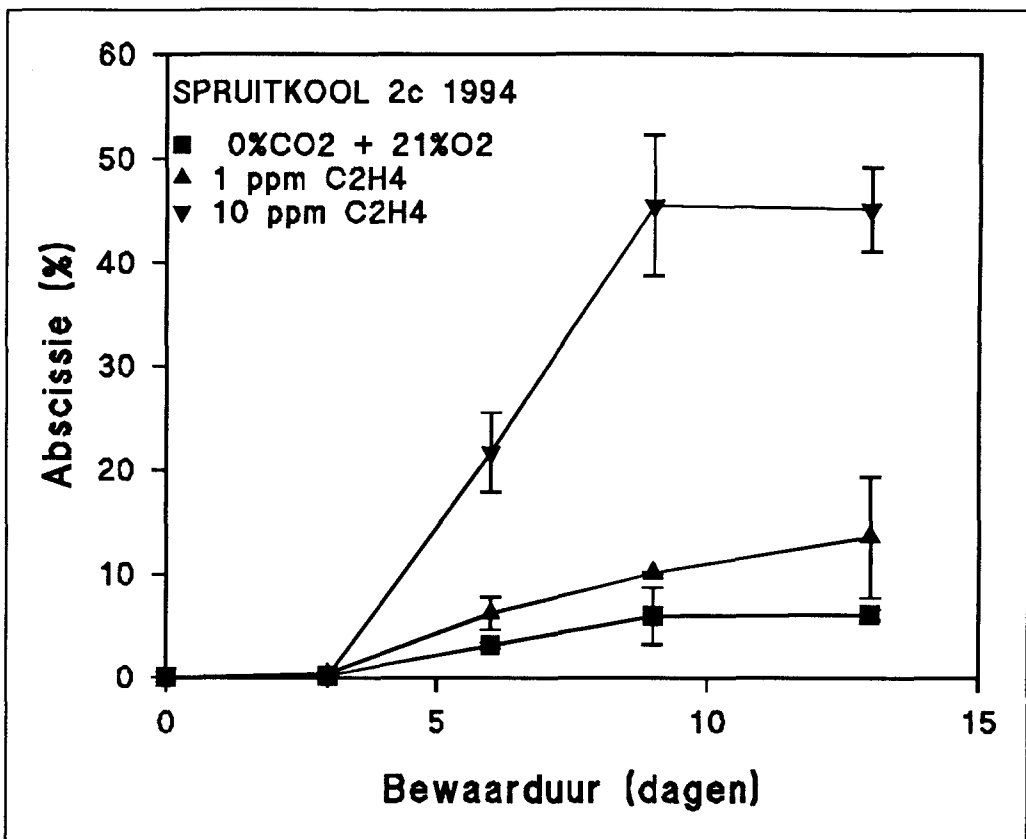


Fig 7: Invloed van de ethyleenconcentratie op de abscissie van blaadjes van spruitkool tijdens bewaring bij 15°C in lucht.

voor abscissie de interactie aantoonbaar is.

Verder bleek hierbij, dat de ethyleenconcentratie ook grote invloed uitoefent. Naarmate de ethyleenconcentratie hoger is, nemen de effecten op ademhaling, kleurverlies en abscissie (Fig. 7) sterk toe. Opnieuw bleek ook, dat de spruiten zeer goed beschermd zijn tegen kwaliteitsverlies, wanneer lage zuurstofspanningen (0.5 tot 1.5%) worden toegepast.

Oriënterend onderzoek naar de invloed van N<sub>2</sub> begassing op spruitkool bevestigde het bij Jonagold waargenomen lineaire (zie Figuur 1) karakter van de opbouw van ethanol. De invloed van de N<sub>2</sub> behandelingen bij 0-1°C bleek de kwaliteit van de spruiten te beïnvloeden. Het meest opvallend was een vertraagde reactie op ethyleen tijdens nabewaring in lucht met ethyleen bij 15°C. De bladabscissie werd namelijk aanzienlijk onderdrukt zie Figuur 8.

De conclusie van het spruitenonderzoek van 1993/1994 is, dat dit produkt zeer gevoelig is voor ethyleen. CA condities, met name lage zuurstof gehalten beschermen in hoge mate het produkt tegen een snel kwaliteitsverlies en tegen de werking van ethyleen. Er zijn interacties tussen ethyleen en zuurstof met betrekking tot bladabscissie maar niet voor de kleur.

Het is verder niet uitgesloten, dat het kwaliteitsbehoud van spruitkool kan worden

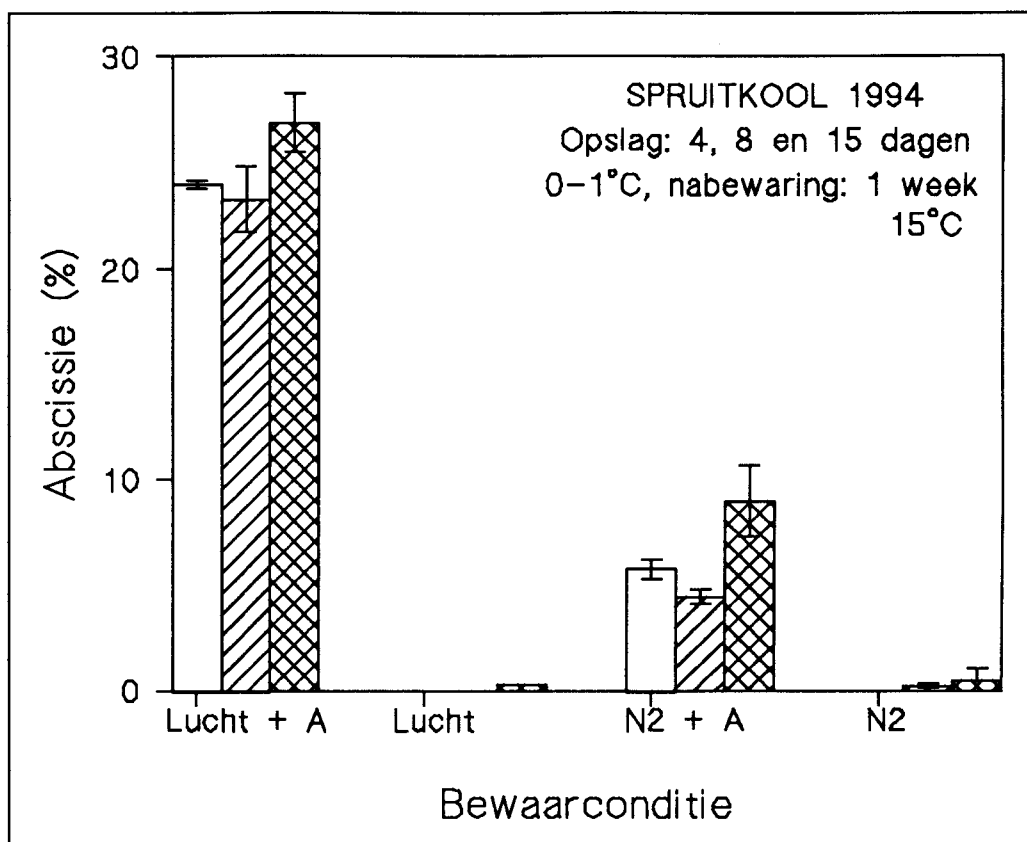


Fig. 8: Invloed van een N<sub>2</sub> begassing bij 0-1°C, gevolgd door 1 week in lucht bij 15°C in aanwezigheid van appels.

bevordert door korte behandelingen met stikstof, die de ethyleengevoeligheid bleken te onderdrukken.

#### ULO bewaring van spitskool

In het kader van onderzoek met koolsoorten werd in verband met de grote belangstelling uit de praktijk spitskool aan het onderzoek toegevoegd. Het produkt is voor langdurige bewaring tot nu toe financieel zeer interessant gebleken. Naarmate het bewaar seizoen vordert, worden steeds goede prijzen genoteerd. In de koolgebieden begint men daadwerkelijk te investeren in bewaaraccomodatie en gevraagd wordt of het sluitkooladvies (5%CO<sub>2</sub> + 2.5%O<sub>2</sub>) ook van toepassing is op spitskool. Belangstelling is er voor de effecten van met name lagere zuurstofconcentraties.

In het voorgaande seizoen werd duidelijk, dat verlaging van de zuurstofconcentratie inderdaad voordelen heeft ten opzichte van het nog geldende advies. In dit bewaar seizoen wordt dit onderzoek herhaald. De gekozen zuurstofgehalten zijn 1.5, 1.0 en 0.5% steeds gecombineerd met 5% koolzuur.

Bepaald werden de kleur, rotontwikkeling en schoningsverlies na ruim 2, 3.5 en 5.5 maanden. De resultaten met betrekking tot de schoningsverliezen zijn in onderstaande tabel weergegeven.

De kolen bleven onder CA condities veel groener en ze ontwikkelden ook minder rot. Als gevolg hiervan waren de schoningsverliezen ook aanzienlijk geringer. De

verschillen tussen de CA condities onderling zijn relatief klein. Dit heeft te maken met de volledige verwijdering van een gedeeltelijk verkleurd blad of een blad met een klein rotplekje. Ook na de extra periode bij hogere temperatuur (uitstalomstandigheden) bleef het schoningsverlies van CA bewaard produkt in het algemeen lager dan van kolen bewaard in lucht. Dit onderzoek werd aanleiding het advies voor spitskool vast te stellen op 5%CO<sub>2</sub> + 1%O<sub>2</sub> bij een temperatuur van 0-1°C.

Invloed van de luchtsamenstelling op het schoningsverlies van spitskool							
bewaard bij 0-1°C en gevolgd door 1 week bij 15°C.							
Bewaarconditie	68 dagen	68 dagen	103 dagen	103 dagen	161 dagen	161 dagen	
(%CO <sub>2</sub> + %O <sub>2</sub> )		+ 1 week		+ 1 week		+ 1 week	
0 + 21	16,2	25,2	25,3	25,7	53,3	25,5	
5 + 1.5	9,8	18,8	13,6	16,9	36,3	29,2	
5 + 1.0	9,6	18,6	14,6	14,0	28,7	30,3	
5 + 0.5	9,9	19,9	12,2	12,5	35,9	18,4	

#### CA bewaring van Radicchio rosso

Enkele jaren geleden werd oriënterend onderzoek met dit produkt verricht. Hierbij werd de indruk verkregen, dat Radicchio gunstig kan reageren op verlaging van de zuurstofspanning. Een groot probleem bleek aanwezig in het voorkomen van rand. Deze bladeren gaan rotten, waardoor onevenredig veel blad moet worden weggeschoond en hierdoor een onjuist beeld ontstaat van de schoningsverliezen. Inmiddels zijn er tegen dit euvel betere rassen ontwikkeld.

Van het ras Rubello werd een hoeveelheid produkt opgeslagen in combinatie met boven genoemde spitskool. Getoetst worden dus 0.5, 1.0 en 1.5% zuurstof steeds in combinatie met 5% koolzuur.

Na 6 weken opslag bleek er iets minder rot aanwezig bij de kroppen bewaard onder CA condities. Na 12 weken was de beoordeling voor de CA condities iets gunstiger. Bovendien lijken bij de laatste beoordeling bruinverkleuring en rotontwikkeling iets af te nemen met het dalen van de zuurstofconcentratie.

De conclusie voor Radicchio is dan ook, dat CA condities maar een geringe verbetering teweegbrengen in het behoud van kwaliteit. Er moet niet worden verwacht, dat bij 0-1°C met CA condities een verdere spectaculaire verbetering van het bewaarresultaat kan worden bereikt.

### **Confrontatie fasering**

Toegevoegd werd onderzoek met spitskool en Radicchio rosso. Voor het overige werd de fasering gevolgd.

## VOEDSELVEILIGHEID EN SMAAK

### Glycoalkaloiden in nachtschaden

E.A.J. Keukens

#### A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994

##### Probleemstelling

Glycoalkaloiden zijn natuurlijke toxinen die voorkomen in nachtschaden waarvan aardappel, tomaat, paprika en aubergine bekende consumptiegewassen zijn. Er is voornamelijk onderzoek gedaan naar de glycoalkaloiden die in de aardappel voorkomen. Van deze glycolakaloiden ( $\alpha$ -solanine en  $\alpha$ -chaconine) is bekend dat ze toxisch zijn voor de mens indien hoge concentraties worden geconsumeerd. De symptomen variëren van gastro-intestinale problemen als buikpijn en misselijkheid tot neurotoxische verschijnselen. De ontwikkeling van de glycoalkaloiden gehalten in de aardappel komen niet alleen tot stand tijdens de teelt fase maar ook tijdens verwerking en bewaring. Belangrijke factoren hierbij zijn licht, temperatuur, luchtvochtigheid en beschadiging. Over de glycoalkaloid uit tomaat, de  $\alpha$ -tomatine, is minder bekend over de gehalten en de ontwikkeling tijdens bewaring en rijping. Wel staat vast dat het gehalte zich tijdens rijping van het groene stadium naar het rode stadium verlaagd. Over de glycoalkaloiden uit paprika en aubergine is zeer weinig bekend. Met behulp van een  $\alpha$ -specifieke kleurmethode is in het verleden een hoog gehalte aan glycoalkaloiden aangetoond. Bij deze methode kunnen echter enige vraagtekens worden gezet aangezien kleuring waarschijnlijk ook optreedt bij aanverwante structuren zoals saponinen en sterolen. Betere detectie methoden zijn dan ook vereist.

##### Doelstelling

Doel van dit project was tweeledig:

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

##### Fasering

De in een eerder stadium opgelopen vertraging heeft tot gevolg gehad dat de doelstelling niet volledig is gehaald.

##### Verslag van de resultaten

###### Tomaat

Om de het gehalte  $\alpha$ -tomatine in tomaten nauwkeurig te kunnen bepalen, was het eerst noodzakelijk een zowel kwalitatieve als kwantitatieve analysemethode te



ontwikkelen. De voorheen gebruikte methoden berustten voornamelijk op kleurreacties waarvan vooral de specificiteit onvoldoende was. Daarom werd een HPLC methode ontwikkeld die specifiek de concentratie  $\alpha$ -tomatine bepaalt. Tevens heeft deze methode als voordeel dat de analysetijd drastisch is verkort terwijl de recovery door de relatief simple opwerking veel hoger is dan bij de kleurreactie. Met behulp van deze methode zijn 14 tomatenrassen geanalyseerd op het  $\alpha$ -tomatinegehalte in groene, oranje en rode tomaten alsook het blad. De onderlinge verschillen tussen de rassen waren aanzienlijk, vooral in de groene tomaten. Bij alle rassen was er sprake van een duidelijke afname van het tomatinegehalte tijdens rijping wat in vrijwel alle gevallen resulteerde in zeer lage hoeveelheden in rode tomaten. De afbraak van tomatine liep niet synchroom in alle rassen; in sommige vond afbraak hoofdzakelijk plaats tijdens rijping van groen naar oranje terwijl in andere rassen dit juist plaats vond tijdens de rijping van oranje naar rood. Voor analyse werden de kroontjes van de tomaten verwijderd. Aangezien kroontjes een hoog gehalte en geen afbraak van tomatine vertonen, zouden ze het gehalte aanzienlijk verhogen. Het is dus zinvol bij verwerking van tomaten de kroontjes te verwijderen. De gehalten in bladeren bleken vele malen hoger te zijn dan die van tomaten. Ze bleken echter niet te correleren met de respectievelijke gehalten in tomaten. Bij bewaarexperimenten bleek de degradatie van tomatine langzamer te verlopen bij bewaring in de cel ten opzichte van rijping aan de plant. Ook vergeleken met de verschillende kleurstadia bleef de afbraak in de groen geplukte tomaten enigszins achter. Daarom zou er een zekere voorzichtigheid in acht moeten worden genomen met het oogsttijdstip om hoge gehalten in rode tomaten uit te sluiten.

### **Paprika**

Bij de isolatie van glycoalkaloiden uit paprika zijn verschillende methodes en vele soorten paprika's onderzocht. De uiteindelijk gebruikte methode waarbij voor de detectie gebruik werd gemaakt van de uiterst gevoelige GC-MS bleek uitstekend geschikt voor de identificatie van glycoalkaloiden. Desondanks werden er geen glycoalkaloiden aangetroffen in paprika, ondanks publicaties die het tegendeel claimen. In laatstgenoemde onderzoeken werd echter gebruik gemaakt van relatief specifieke kleurmethode die reageren op een bepaalde structuur die in meerdere moleculen voorkomt. Een dergelijke structuur werd ook met behulp van de GC-MS aangetoond. Deze verbinding is echter geen glycoalkaloid maar een saponine, genaamd tigogenine. Tigogenine is zo sterk gerelateerd aan glycoalkaloiden dat dit zeker ook zal reageren in de kleurreactie. Paprika's bevatten naar ons inzicht dus geen glycoalkaloiden.

### **Aubergine**

De isolatiemethode voor glycoalkaloiden in paprika's werd ook toegepast bij het onderzoek naar glycoalkaloiden in aubergines. Met behulp van GC-MS werd het glycoalkaloid aglycon solasodine aangetoond. Dit aglycon komt veel voor in planten van de nachtschade familie. Twee bekende glycoalkaloiden met solasodine als aglycon zijn solasonine en solamargine. Of deze beide ook voorkomen in aubergine is niet bekend. De structuur van de suikergroepen hebben we helaas niet op kunnen helderen. In recente onderzoek werd solasonine echter aangetoond in aubergines. Over de gehalten van dit glycoalkaloid in verschillende rassen en de ontwikkeling tijdens rijping is zeer weinig bekend. Meer kennis op dit gebied is zeer belangrijk om eventuele risico's voor schadelijke effecten te kunnen vermijden.

## B. VERSCHENEN PUBLIKATIES

E.A.J. Keukens, M.E.C.M. Hop and W.M.F. Jongen (1994) A rapid high-performance liquid chromatographic method for the quantification of  $\alpha$ -tomatine in tomato, J. of Agricultural and Food Chemistry, in press.

## DETECTIE EN BESTRIJDING VAN BEDERFVEROORZAKENDE MICRO-ORGANISMEN

L.G.M. Gorris

### A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994

#### Probleemstelling

Verse groente en fruit zijn na de oogst onderhevig aan bederf dat wordt veroorzaakt door hun gecontinueerde fysiologische activiteit (ademhaling, rijping) en de ontwikkeling van bederfveroorzakende micro-organismen. Nagegaan zou moeten worden of bederf te beperken of zelfs te voorkomen is door middel van milde conserveringsmethoden (koeling, matig vacuüm bewaring, modified atmosphere (MA) verpakking, toepassing van natuurlijke biociden en microbiële antagonisten) die het natuurlijke karakter van de verse producten het minst beïnvloeden. Er is tevens behoefte aan snelle detectie van relevante bederfveroorzakende micro-organismen om de algehele of specifieke microbiële kwaliteit van groente en fruit efficiënt te kunnen registreren.

#### Doelstellingen

- 1) Het toepassen van gekoelde matig vacuüm bewaring en modified atmosphere bewaring voor het optimaal verlengen van de houdbaarheid van groente en fruit producten. Impliciet aan het toepassingsgericht onderzoek zijn de studie van het werkingsmechanisme en de evaluatie van de microbiële veiligheid van beide bewaarsystemen.
- 2) Het ontwikkelen van snelle en gevoelige detectiesystemen voor de microbiële kwaliteit in algemene zin (aspecifieke toets) en voor specifieke bederfveroorzakende micro-organismen.

#### Fasering

- jaar 1: Nagaan populatie dynamica van bederfveroorzakende microflora tijdens gekoelde matig vacuüm bewaring van groente en fruit producten.  
Studie effecten gekoelde matig vacuüm bewaring op humaan pathogene bacteriën
- jaar 2: Studie mechanisme en veiligheid van gekoelde bewaring onder matig vacuüm bewaring of in MA-verpakking
- jaar 3: Ontwikkeling snelle detectie methode voor relevante bederfveroorzakende micro-organismen  
Voortzetting studie mechanisme en veiligheid van gekoelde bewaring onder matig vacuüm en in MA-verpakking
- jaar 4: Combinatie bioconservering met gekoelde matig vacuüm bewaring en MA-verpakking.

## Werkzaamheden eerste helft 1994

In de verslagperiode werd aandacht gegeven aan twee onderwerpen:

- 1) Effecten van gascondities in MAP verpakkingen op de groei van bederfor-  
ganismen en pathogene bacteriën
- 2) Het gebruik van bioconservering met melkzuurbacteriën als milde methode  
van conservering in combinatie met MAP verpakken, met name het nagaan  
van het activiteitspectrum van bacteriocine-producerende melkzuurbacteriën

### 1. *Effecten van gascondities in MAP verpakkingen op de groei van bederfor- ganismen en pathogene bacteriën*

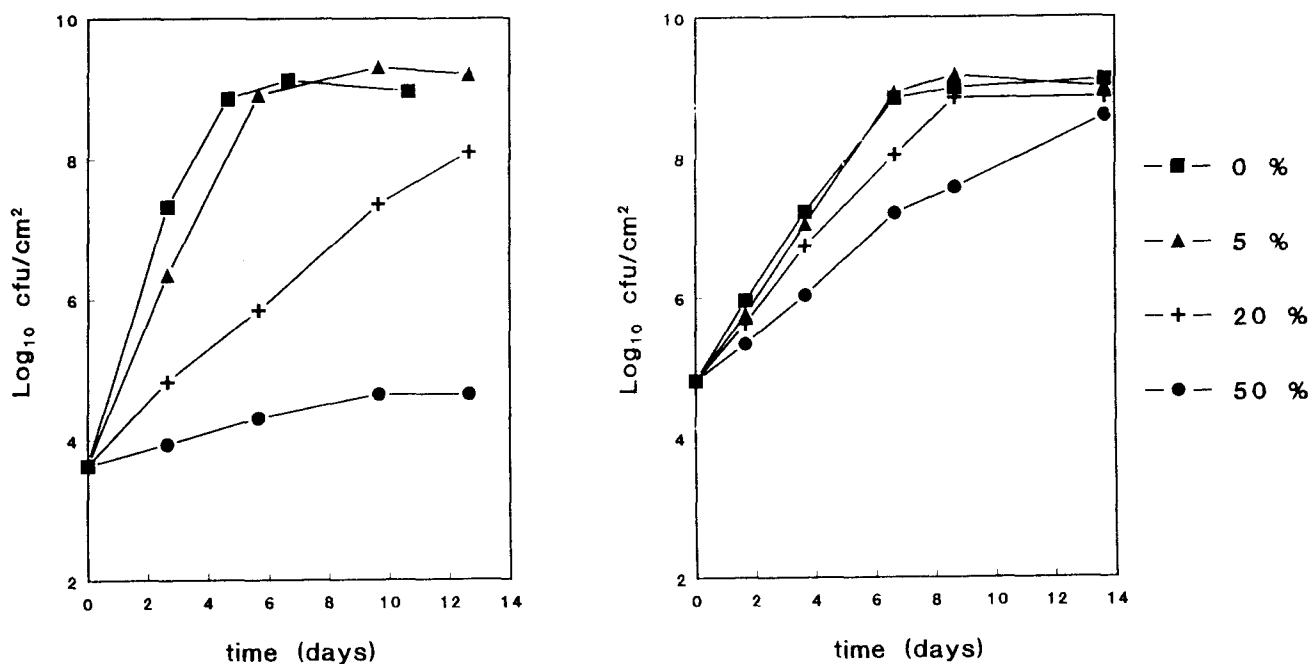
Matig Vacuüm (MV) en bewaren of verpakken onder gemodificeerde gasatmosfeer (Modified Atmosphere, MA) zijn milde conserveringsmethoden die zeer geschikt zijn om het uitstalleven van een groot aantal soorten groenten en fruit te verlengen, tenminste als het uitstalleven wordt afgemeten aan de sensorische kwaliteit (smaak e.d.) en de uitwendige, visuele kwaliteit. Gedurende de bewaring blijven de produkten ademen waardoor O<sub>2</sub> wordt verbruikt en CO<sub>2</sub> wordt gevormd. De O<sub>2</sub> spanning zal geleidelijk dalen, terwijl CO<sub>2</sub> spanning stijgt. Daalt de O<sub>2</sub> te ver dan kan dit leiden tot anaërobie en kunnen pathogenen zoals *Clostridium botulinum* gaan groeien. Om groei van *C. botulinum* te voorkomen dient een minimale O<sub>2</sub> spanning van 1-2% in de verpakking te resteren. Een aantal andere pathogenen, zoals *Aeromonas hydrophila* en *Listeria monocytogenes*, zijn redelijk goed in staat bij een lage O<sub>2</sub> spanning en lage temperatuur te groeien, vooral omdat dan de competitie met de normale bederf-flora (*Pseudomonas* soorten) sterk verminderd is t.o.v. de situatie in normale lucht.

Dat de genoemde pathogenen onder MV omstandigheden snel kunnen groeien is in het voorgaande verslag al aangegeven. Er is toen gepleit voor de ontwikkeling van een extra beveiliging ter onderdrukking van de pathogenen. Met name de antagonistische eigenschappen van melkzuurbacteriën, die van nature aanwezig zijn op groenten, zouden mogelijk een bijdrage kunnen leveren tot een verbeterde produktveiligheid.

In het tweede onderzoeksthema "bioconservering met melkzuurbacteriën" willen we daarom bewust gebruik maken van deze epiphyten om de pathogenen te onderdrukken. Er is bekend onder dat melkzuurbacteriën bij sterk verlaagde zuurstofspanningen goed kunnen groeien. Wat het effect is op de andere organismen werd in de huidige verslagperiode onderzocht. Beoogd wordt pathogenen onder bepaalde gascondities te onderdrukken a.g.v. substraat competitie door bederfororganismen of melkzuurbacteriën. Melkzuurbacteriën kunnen, naast competitie, een meer specifieke remming van pathogenen bewerkstelligen door metaboliëten zoals lactaat, en in het bijzonder bacteriocinen (kleine anti-microbiële eiwitten). Selectieve groeibevordering van de melkzuurbacteriën door manipulatie van de gasfase samenstelling kan hier uitkomst bieden.

Van een groot aantal bederf-organismen (van produkt geïsoleerd) en pathogenen is

de invloed nagegaan van de samenstelling van de gasfase. In figuur 1 zijn, ter illustratie van twee uiterste effecten die werden gevonden, de effecten te zien bij het bederf-organisme *Pseudomonas viridiflava* en de pathogeen *Listeria monocytogenes*. Er werd gebruik gemaakt van een nieuw ontwikkeld solid-medium model-systeem dat een nabootsing is van oppervlakte groei op groente. Het is duidelijk te zien dat de *P. viridiflava* goed groeit bij zeer lage  $O_2$ -spanning (1,5%), maar dat die groei sterk afneemt bij  $CO_2$ -spanningen boven 5%. *L. monocytogenes* blijkt daarentegen veel minder geremd te worden in de groei-snelheid door verhoogd  $CO_2$ . In feite geeft dit aan dat de pathogeen onder omstandigheden van 1,5%  $O_2$  en >5%  $CO_2$  zeer goed kan concurreren met *P. viridiflava*. Melkzuurbacteriën daarentegen hebben een vergelijkbare of zelfs grotere groei-kracht dan *L. monocytogenes* onder deze omstandigheden en zijn daarom goede kandidaten om een bioconserverings-systeem mee te ontwikkelen.



**Figuur 1.** Groei van (links) *Pseudomonas viridiflava* en (rechts) *Listeria monocytogenes* onder 1,5%  $O_2$  in aanwezigheid van verschillende concentraties  $CO_2$  bij 8°C.

2) **Het gebruik van bioconservering met melkzuurbacteriën als milde methode van conservering in combinatie met MAP verpakken, met name het nagaan van het activiteitspectrum van bacteriocine-producerende melkzuurbacteriën**

Bioconservering met behulp van melkzuurbacteriën is in feite bij groenten reeds een traditionele methode. Deze bioconservering vormt bijvoorbeeld onderdeel van de bereiding van zuurkool uit witte kool. Alle melkzuurbacteriën produceren zuren, vaak alleen melkzuur, soms ook azijnzuur. Sommige stammen scheiden zogenaamde bacteriocines uit. Bacteriocines zijn kleine, eiwit-achtige stoffen die de groei van andere micro-organismen remmen. De groeiremmende of afdodende werking van bacteriocines berust op interactie van deze eiwitten met de celmembraan van het doelwit organisme.

Het best bekende bacteriocine is nisine dat door bepaalde stammen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* wordt uitgescheiden. Vaak hebben bacteriocinen een zeer beperkt werkingspectrum en remmen ze alleen zeer nauw verwante (melkzuur)bacteriën. Een aantal melkzuurbacteriën produceert echter bacteriocinen die de groei van diverse soorten Gram(+)-bacteriën kunnen remmen. Juist deze bacteriocinen zouden geschikt zijn als de boven aangegeven extra beveiliging omdat ze Gram(+)-pathogenen zoals *L. monocytogenes*, *C. botulinum*, *Staphylococcus aureus* en *Bacillus subtilis* afdoende remmen.

Voor de toepassing van bioconservering komen twee systemen in aanmerking:

- een waarbij gebruik wordt gemaakt van de endogene flora melkzuurbacteriën, die reeds op het produkt aanwezig is en die zuren en/of bacteriocines uitscheiden
- een waarbij melkzuurbacteriën of hun metaboliëten (zuren en bacteriocines) aan het produkt toegevoegd worden.

In het eerste systeem wordt de groei van de gewenste melkzuurbacteriën zo selectief mogelijk gestimuleerd door de gassenstelling te manipuleren (zie boven). In het tweede systeem kan gebruik worden gemaakt van melkzuurbacteriën die nisine of andere bacteriocines produceren om gericht de Gram(+) pathogenen te onderdrukken.

Gelet op de ontwikkeling van (een van) beide systemen is er in de voorgaande verslagperiode nagegaan of interessante bacteriocine-producerende melkzuurbacteriën van nature op produkt (taugé, witlof) aanwezig zijn (voor en na MV bewaring). Er werden een groot aantal isolaten gescreend, waarbij slechts een klein aantal (6 van 900) bacteriocine producent bleek.

De isolaten werden in de huidige verslagperiode, zo mogelijk, geïdentificeerd. Het bleek te gaan om stammen van de volgende soorten:

*Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc*, *Enterococcus muntii* en *Pediococcus*

Van de verschillende bacteriocine-producenten is in een agar-diffusie assay het activiteiten spectrum t.a.v. enkele relevante microorganismen vastgesteld. Als voorbeeld geeft Tabel 1 het spectrum voor een isolaat van witlof. Hieruit blijkt dat

het bacteriocine relatief breed werkt. Het remt een groot aantal melkzuurbacteriën en andere GRAM(+) kokken. Ook twee van de drie stammen van *L. monocytogenes* en alle stammen *C. botulinum* die waren getest bleken gevoelig te zijn. Al met al lijkt de producerende melkzuurbacterie een voor de nagestreefde toepassing (specifieke remming van de pathogenen) waarschijnlijk geschikt organisme. Zoals verwacht, waren GRAM(-) staven en schimmels niet gevoelig, hetgeen een bevestiging is voor het feit dat de remming wordt veroorzaakt door een bacteriocine dat op de celmembraan werkt.

Test organisme	Aantal stammen getest	Aantal stammen gevoelig
Melkzuurbacteriën	17	9
GRAM(+) kokken	5	3
GRAM(-) bacteriën	5	0
Schimmels	2	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	3	2
<i>Clostridium botulinum</i>	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	9	0

### **Confrontatie met fasering**

Het onderzoek aan de veiligheid van modified atmosphere bewaarsystemen en de introductie van bioconservering als extra veiligheidsfactor verloopt redelijk volgens planning. In de huidige verslagperiode werd een aantal interessante bacteriocine producenten geïdentificeerd waarmee in de tweede helft 1994 challenge experimenten kunnen worden uitgevoerd. Daarmee verschuiven deze challenge testen in de planning enkele maanden, maar hebben we de gelegenheid genomen de geïsoleerde melkzuurbacteriën in voldoende detail te karakteriseren.

In de verslagperiode is verder volgens planning gewerkt aan de ontwikkeling van een snelle, specifieke detectie van *Erwinia* bacteriën. Met name aan de specificiteit van de meting en het gebruik bij mengmonsters. De resultaten worden momenteel uitgewerkt en zullen in het volgende verslag gerapporteerd worden.

### **B. Publicaties**

- Aytaç, S.A. & L.G.M. Gorris. Survival of *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on Fresh Vegetables Stored Under Moderate Vacuum. World Journal of Microbiology & Biotechnology 10 (in press).
- Gorris, L.G.M., 1994. Safety and quality of refrigerated ready-to-eat food preserved by mild techniques. VTT Symposium "Minimal Processing of Foods", pp37-45.
- Gorris, L.G.M., 1994 Bacteriocins: potential applications in food preservation. in: Food preservation by combined methods. L. Leistner & L.G.M. Gorris (eds.).

- European Commission, EUR 15776, ISBN 90-900-7303-5, pp79-84.
- Gorris, L.G.M., 1994. Improvement of the safety and quality of refrigerated ready-to-eat foods using novel mild preservation techniques. In: Minimal Processing of Foods and Process Optimization : An Interface. R.P. Singh, F.A.R. Oliveira (eds.), CRC Press Inc, Boca Raton, U.S.A. pp57-70
  - Gorris, L.G.M. & M.H.J. Bennik, 1994. Potential applications of bacteriocins in food preservation. ZFL 45 (10) (*in press*)
  - Gorris, L.G.M. & L. Leistner, 1994. Voedselconservering middels 'Horden'-technologie. Voedingsmiddelentechnologie 27 (21), 15-17.
  - Gorris, L.G.M. & Y. de Witte. Quality and safety aspects of refrigerated storage under moderate vacuum of vegetables and fruits. Food Preservation 2000, R. Bell & I.A. Taub (eds.), Science and Technology Co, Hampton, Virginia, U.S.A. (*in press*).
  - Gorris, L.G.M., Y. de Witte & M.H.J. Bennik, 1994. Refrigerated storage under moderate vacuum. ZFL 45 (6), 63-66.
  - Gorris, L.G.M., Y. de Witte & E.J. Smid, 1994. Storage under moderate vacuum to prolong the keepability of fresh vegetables and fruits. Acta Horticulturae 368, 479-486.
  - Smid, E.J., A.H.J. Jansen & L.G.M. Gorris. Detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *Erwinia chrysanthemi* in potato tubers using polymerase chain reaction. Plant Pathology (*submitted*)

### C. Werkzaamheden tweede helft 1994

#### a. Aanpak

In de tweede helft van 1994 zullen challenge testen worden uitgevoerd met relevante pathogene bacteriën (*L. monocytogenes*, *C. botulinum*, e.a.) op groenten in MV of MAP in aanwezigheid van (al of niet) bacteriocine-producerende melkzuurbacteriën. Doel is de wijze van toediening van de "beschermkulturen", de effectieve dosis en eventuele gevolgen voor de produktkwaliteit vast te stellen. Er wordt uitgegaan van de bacteriocine producerende melkzuurbacteriën die eind 1993 werden geïsoleerd van groente en die *in vitro* in staat zijn deze pathogenen te onderdrukken. Ten aanzien van de effectiviteit van bacteriocine producenten bij toepassing op MAP groente is het essentieel te weten wat de invloed van omgevingsfactoren (substraat, temperatuur, gas) op de groei en bacteriocine-productie van deze organismen is. Derhalve zal zowel met modelproducten (sap) als met intacte producten (witlof, taugé) worden gewerkt. Belangrijk is wel dat de melkzuurbacteriën die toegevoegd worden ook kunnen uitgroeien en de relevante pathogenen onderdrukken. De melkzuurbacteriën moeten derhalve aangepast zijn aan de geldende ecologische omstandigheden (koelkasttemperatuur, micro-aërofyale atmosfeer, type groente, concurrerende microflora) en in voldoende aantallen worden opgebracht.



## **ONDERZOEK NAAR HET GEBRUIK VAN (BIO)SENSOREN TEN BEHOEVE VAN KWALITEITSASPECTEN VAN VERSE EN VERWERKTE PLANTAARDIGE GRONDSTOFFEN**

V.L. Dolman, C.C.W. Bonnemayer, C. van Dijk

### **A. VERSLAG OVER DE EERSTE HALFJAAR 1994**

#### **Probleemstelling**

Zwelscheurtjes bij een tomaat vormen een negatief kwaliteitsaspect omdat ze een verhoogde vochtafgifte veroorzaken met als gevolg een verminderde houdbaarheid van de tomaat.

#### **Doelstelling**

Het project is gericht op het ontwikkelen van een non-destructieve meetopstelling die in ons in staat stelt zwelscheurtjes te detecteren en te kwantificeren. Tevens dient te worden aangegeven wat de mogelijkheden en beperkingen van een dergelijk systeem zijn

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

In de vorige verslagperiode is duidelijk de noodzaak gebleken om reflectie-eigenschappen van tomaatoppervlak (gaaf en gescheurd) te meten.

Met confocale laser scanning microscopie is de vorm en (laterale) afmeting van met name kleine, jonge zwelscheurtjes onderzocht. Hierbij is het van belang om de tomaat intact te laten aangezien het verminderen van de interne spanning in de tomaat de structuur van de tomaathuid beïnvloedt. Derhalve is er een alternatief voor de standaard microscoopobjectafel gerealiseerd.

Belangrijkste resultaat is dat zwelscheurtjes in een vroeg stadium slechts één à twee cellen breed zijn. Dit impliceert dat een zwelscheurdetectiesysteem ook de celstructuur zal 'zien', hetgeen zeer storend is.

Om zwelscheurdetectiesystemen te kunnen testen is het gewenst om zwelscheurtjes eenduidig zichtbaar te maken. Dit mag destructief zijn voor de tomaat. Er is geëxperimenteerd met diverse fluorescerende kleuringen en diverse absorberende kleurstoffen. Dit heeft geleid tot een betrouwbare kleuringsmethode.

Teneinde kwalitatief en semi-kwantitatief de invloed van verschillende belichtingswijzen (hoekverdeling, spectraal bereik, polarisatie) op de zichtbaarheid van zwelscheurtjes te onderzoeken is een meetopstelling gebouwd. De hierbij ontwikkelde software om tegelijk een CCD-camerabeeld en een doorsnede ervan zichtbaar te maken is van groot praktisch nut gebleken. De belangrijkste resultaten zijn als volgt.

In diffuse belichting zijn zwelscheurtjes vrijwel onzichtbaar. Dat is jammer, omdat diffuse belichting de enige hoekverdeling heeft die gemakkelijk gerealiseerd kan worden onafhankelijk van de locale oriëntatie van het tomaatoppervlak. Ook bij het handmatig keuren van tomaten op de aanwezigheid van zwelscheurtjes verdient het dan ook aanbeveling dit niet in een diffuus verlichte omgeving te doen, maar met

een gelocaliseerde lichtbron.

Voor gecollimeerde belichting zijn de ervaringen met het prototype tomatenruweidmeter in de vorige verslagperioden bevestigd en aangescherpt. Voor detectie in het locale hoofdvlak van scheurtjes die min of meer loodrecht op het hoofdvlak staan vinden we drie verschillende hoekdomeinen waarin scheurtjes respectievelijk (i) intensiteitspieken geven, (ii) intensiteitsdips geven, en (iii) nauwelijks van de achtergrond zijn te onderscheiden. De pieken verschillen typisch een factor 2 à 3 van de achtergrond en zijn derhalve goed detecteerbaar. De dips zijn soms moeilijk te onderscheiden tussen de sterke intensiteitsvariëaties t.g.v. de celstructuur.

De achtergrondintensiteit in de beelden kan worden gereduceerd door groen of blauw licht te gebruiken, of door zowel lineair gepolariseerd te belichten als lineair gepolariseerd te detecteren.

Zowel gaaf als gescheurd tomaatoppervlak vertoont een zeer diep Brewsterminimum in de reflectie. Dit duidt erop dat de reflectie waarschijnlijk goed beschreven kan worden met een Cox & Munk of een Torrance & Sparrow model, eventueel uitgebreid met een Lambertiaanse component afkomstig van het inwendige van de tomaat, hetgeen het inschatten van de mogelijkheden en beperkingen van een zwelscheurdetectiesysteem sterk vergemakkelijkt. Er zijn aanwijzingen gevonden dat goudspikkels i.t.t. zwelscheurtjes in een Brewsterconfiguratie nog steeds zichtbaar zijn. Dit kan een basis bieden om goudspikkels te onderscheiden van zwelscheurtjes.

Onze onderzoeksresultaten tot nu toe leiden tot een belangrijke conclusie. Voor de zichtbaarheid van zwelscheurtjes is de hoekverdeling van het invallende licht t.o.v. de locale oriëntatie van het tomaatoppervlak van cruciaal belang. Deze oriëntatie varieert op complexe wijze over een tomaat, en verschilt van tomaat tot tomaat. *Derhalve zal optimalisatie van de belichting alleen niet tot een adequaat zwelscheurdetectiesysteem leiden.*

Er zijn twee manieren om verder te gaan: (i) via beeldverwerkingstechnieken gebruik maken van de typische vorm van zwelscheurtjes (lang en smal), of (ii) verschillende grootheden simultaan meten en via kennis van reflectie-eigenschappen de onzekerheid in locale oriëntatie elimineren. Beide manieren zijn verkend, met als leidraad de wens dat de onvermijdelijke toename in complexiteit snelle on-line toepassing niet in de weg mag staan.

Om met beeldverwerking voldoende snelheid te halen lijkt geavanceerde patroonherkenning in software geen realistische optie. In plaats daarvan beperken we ons tot een kleine verzameling beeldoperaties die direct door de hardware kunnen worden uitgevoerd. Op deze wijze is een algoritme ontwikkeld dat onder bepaalde ideale condities in staat is om in een beeld langgerekte structuren te herkennen en te kwantificeren, ongeacht of dit donkere structuren op een heldere achtergrond zijn of andersom. Deze aanpak lijkt veelbelovend. Nader onderzoek is nodig om vast te stellen in hoeverre de werkingscondities verruimd kunnen worden.

Een geheel nieuw detectie-concept is ontwikkeld, speciaal toegesneden op het gebruiken van simultaan gemeten grootheden. Een laserbundel tast snel het tomaatoppervlak af. Een groot aantal (niet-beeldvormende) detectoren 'kijkt' naar de tomaat vanuit zoveel mogelijk verschillende richtingen. Voor gaaf tomaatoppervlak zal, bij voldoende grote hoekseparatie van de detectoren, slechts een enkele detector een 'hoog' signaal geven. Welke detector dat is hangt af van de (onbekende) locale oriëntatie van het oppervlak. Aangezien reflectie aan een zwelscheurtje een meer diffuus karakter heeft zullen in dat geval diverse detectoren een 'hoog'

signaal geven. Dit maakt het mogelijk om uit de detectorsignalen snel te classificeren: gaaf en ongescheurd.

Bij het zojuist beschreven detectie-concept is een laser essentieel omdat alleen dan een voldoende smalle en toch intense lichtbundel mogelijk is om zwelscheurtjes op te lossen. De cohaerentie van laserlicht veroorzaakt storende speckle. Het belang hiervan dient onderzocht te worden, evenals de benodigde hoekseparatie van detectoren.

#### **Fasering tweede helft 1994**

Het is duidelijk geworden dat zwelscheurdetectie minder eenvoudig is dan tijdens de eerste ontwikkelingen werd verwacht. Het onderzoek leidt in de richting van complexere systemen.

De huidige ontwikkelingen zijn dan ook doorgesproken met deskundigen uit de praktijk van zowel veiling als fabrikanten/ontwikkelaars van tomatensorteerlijnen.

Een test-opstelling ontwikkelen zal worden ontwikkeld voor het aftasten van een tomaat door een laserbundel. Doel hiervan is om nadere informatie te verkrijgen over de haalbaarheid van een dergelijke aanpak van zwelscheurdetectie.

## VOEDSELVEILIGHEID EN SMAAK

A. van Amerongen

### A. VOORTGANGSVERSLAG EERSTE HALFJAAR 1994

#### Ontwikkeling immunochemische toets scherpte radijs

De scherpe smaak van radijs wordt veroorzaakt door 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanaat (MTBITC). MTBITC is een afbraakprodukt dat ontstaat na reactie van het enzym myrosinase met 4-methylthio-3-butenyl glucosinolaat (MTBGSL).

Volgens de fasering heeft bulk-productie plaatsgevonden van het monoklonale antilichaam (MAb) 20-C5G1E3. Hiervoor is gebruik gemaakt van een roller-bottle systeem, waarmee in enkele weken milligrammen antilichaam kunnen worden geproduceerd. Van MAb 20-C5G1E3 is de affiniteitskonstante voor binding met MTBITC bepaald. Met behulp van een mikrotiterplaat-methode kon een affiniteitskonstante van  $7 \times 10^5 \text{ Mol}^{-1}$  worden bepaald, een waarde die gelijkwaardig is aan affiniteitskonstanten van andere MAb-hapteen complexen (literatuur gegevens). Met dit monoklonale antilichaam bleek een 20-maal gevoeliger ELISA te kunnen worden ontwikkeld dan met het beste polyklonale serum (serum 394-5).

Op verzoek van het CBT werd deelgenomen aan enkele grote radijsproeven (juni - oktober 1994). In deze proeven werd het MTBITC gehalte van verschillende rassen bepaald met de specifieke ELISA (MAb 20-C5G1E3). Tevens werd ter validering van de ELISA-resultaten van elk monster een HPLC-bepaling uitgevoerd. Tijdens deze experimenten bleek dat de ELISA nog onvoldoende was gestandaardiseerd. Op grond van de resultaten worden momenteel een aantal parameters onderzocht. Inmiddels zijn de hoeveelheid toegevoegd myrosinase (bereiding ijklijn), de hoeveelheid vitamine-C (voor optimalere myrosinase werking) en de pre-inkubatie-tijden van ijklijn en radijssapmonster gestandaardiseerd. Ook is bepaald of MTBITC mogelijk via het isothiocyanaat gedeelte koppelt aan eiwitten tijdens de testprocedure. Radijssap werd al dan niet gescheiden in hoog-moleculaire en laag-moleculaire fracties. Vergeleken met controle-waarden kon worden gekonkludeerd dat er tijdens de inkubatie-periode geen koppeling van MTBITC aan eiwit plaatsvindt.

Teneinde de MTBITC specifieke ELISA te standaardiseren en te valideren zullen op korte termijn nog enkele parameters worden onderzocht.

#### Ontwikkeling immunochemische toets bitterheid witlof

De bittere smaak van witlof wordt veroorzaakt door sesquiterpeen lactonen. De sesquiterpeen lactonen kunnen worden onderscheiden op basis van hun structuur: lactucopicrine en lactucine-achtigen. In vorige voortgangsverslagen is de ontwikkeling van specifieke monoklonale antilichamen en polyklonale sera tegen lactucine en lactucopicrine vermeld. Bitterstof gehaltes in witlofkroppen werden bepaald met het monoklonale antilichaam 4H10A10H6, specifiek voor lactucopicrine, en met het polyklonale serum 455, gericht tegen lactucine-achtigen. Daartoe zijn de ELISA's geoptimaliseerd voor de herkenning van de bitterstoffen in witlofextracten. Met beide antilichaam-preparaten is het mogelijk om concentraties van 2 ng/ml te detecteren in witlofextracten. Deze herkenning in extracten wijkt niet af van de

herkenning van gezuiverde bitterstoffen.

In samenwerking met het PAGV zijn 13 witlofrassen onderzocht van vijf verschillende lokaties en twee stikstofbemestingen. Van 185 monsters zijn de gehalten lactucine-achtigen en lactucopicrine bepaald. De ELISA's bleken zeer goed bruikbaar om een dergelijk groot aantal monsters in relatief korte tijd te meten. De meetgegevens zullen nog statistisch worden verwerkt.

Met de ontwikkelde ELISA's zal de lokalisatie en verdeling van de bitterstoffen in witlofkroppen worden onderzocht. Tevens kan de invloed van bewaren en/of verwerking op het gehalte aan bitterstoffen worden bepaald.

## AFBREEKBARE COATINGS EN FOLIES OP BASIS VAN TARWEGLUTEN

J.M. Vereijken, P. Kolster, H.J. Kuiper, C.H.J.Th. Dietz en J.C. Kok

### A. VERSLAG EERSTE HALFJAAR 1994

#### Inleiding

Het doel van dit onderzoek is de ontwikkeling van biodegradeerbare coatings en folies die gebaseerd zijn op tarwegluten. In overeenstemming met de fasering heeft in de afgelopen periode de nadruk gelegen op de bestudering van de effecten van cross-linking op mechanische eigenschappen en de vochtdoorlaatbaarheid van de glutencoatings/folies. Verder heeft, in overeenstemming met de fasering, het onderzoek naar de invloed van water op polymeertechnologische eigenschappen van gluten veel aandacht gekregen.

In afwijking van de fasering heeft onderzoek naar de gaspermeabiliteit van de coatings/films een lage prioriteit gekregen. Gebleken is dat de permeabiliteit van de coatings/films voor zuurstof en kooldioxyde relatief laag is (vergelijkbaar met die van polyethyleenfolie). Omdat het watergehalte van de coatings de eigenschappen (zowel de permeabiliteit als mechanische eigenschappen) ervan sterk beïnvloedt, heeft onderzoek hiernaar meer nadruk gekregen.

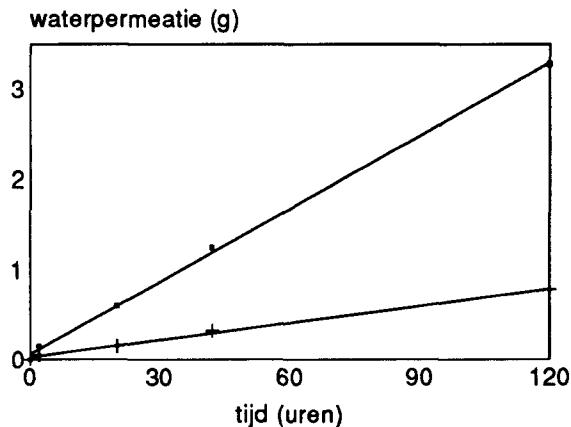
#### Cross-linking

Er zijn in de afgelopen periode diverse cross-linkers toegepast. De gevonden effecten op de eigenschappen van de coatings zijn afhankelijk van het type cross-linker. In Tabel 1 is een voorbeeld van de effecten van cross-linking op mechanische eigenschappen van glutencoatings weergegeven.

Tabel 1. Verandering in mechanische eigenschappen van glutencoatings door cross-linking.

eigenschap	percentage cross-linker (%)			LSD
	0	2,5	5	
stress	1,1	2,1	2,7	0,3
strain	369	316	358	82

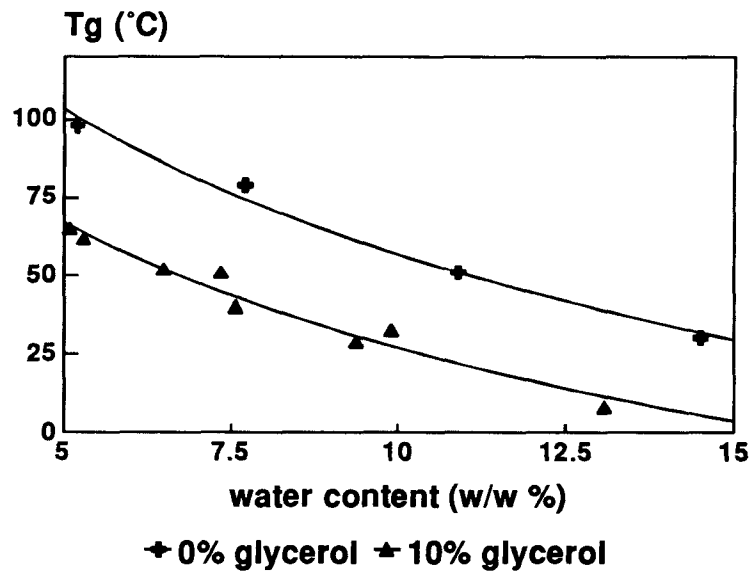
Uit de resultaten blijkt dat de sterkte van de coatings door cross-linking in belangrijke mate toeneemt (in dit voorbeeld met bijna een factor 3) zonder dat dit ten koste gaat van de rekbaarheid van de coatings. Gevonden is verder dat de zwelling van de glutencoatings/folies in water door cross-linking met minimaal 30% kan worden gereduceerd. Verder kan de vochtdoorlaatbaarheid van de glutencoatings door cross-linking worden verminderd. Een voorbeeld daarvan staat in Figuur 1. Zoals uit deze figuur blijkt wordt de vochtdoorlaatbaarheid van de glutencoatings/folies in dit geval door cross-linking met een factor 5 gereduceerd.



Figuur 1. De vochtdoorlaatbaarheid van een glutencoating met (+) en zonder (o) cross-linking.

### Waterrelaties

In het kader van het onderzoek naar de invloed van water op de polymeertechnologische eigenschappen van tarwegluten heeft de nadruk gelegen op de effecten van water (en andere weekmakers) op de glastransitietemperatuur (Tg). De Tg is die temperatuur waarbij een polymeer overgaat van een brosse glastoestand naar een vervormbare rubbertoestand. Om bijvoorbeeld bij 25°C flexibele glutencoatings te verkrijgen moet de glastransitietemperatuur lager zijn dan 25°C. De glastransitietemperatuur van een polymeer kan worden verlaagd door het toevoegen van een weekmaker. In Figuur 2 is het effect van een tweetal weekmakers, te weten water en glycerol, op de Tg van tarwegluten weergegeven. Het blijkt dat de Tg van de gluteneiwitten bij een watergehalte van ongeveer 15% rond 25°C ligt. In veel gevallen bevat een glutencoating minder water, waardoor deze dan bros is. Zoals uit Figuur 2 blijkt is het mogelijk om de Tg van gluten te verlagen door het gebruik van weekmakers zoals glycerol. Het toevoegen van 10% glycerol geeft een verlaging van de Tg van 25°C. De toevoeging van deze hoeveelheid glycerol heeft tot effect dat de Tg van tarwegluten ongeveer 25°C is bij een watergehalte van 10%.



Figuur 2. Effect van water en glycerol op de Tg van tarwegluten.

## B. PUBLIKATIES

Geen

## C. PLANNING TWEEDE HALFJAAR 1994

Omdat de wateradsorptie een grote invloed heeft op de eigenschappen van de glutencoatings/folies ligt in de komende periode de nadruk van het onderzoek op het reduceren van de wateradsorptie. Mogelijkheden die onderzocht worden zijn onder meer het hydrofobiseren van gluten door modificaties en het gebruik van hydrofobe weekmakers.



## MODELLEREN VAN DE INVLOED VAN O<sub>2</sub> EN CO<sub>2</sub> OP GROENTE

H. Peppelenbos

### A. VERSLAG EERSTE HALFJAAR 1994

#### Inleiding

Asperge is een produkt dat kan worden gekenmerkt door een korte leverperiode. Bovendien loopt na de oogst de kwaliteit van asperge snel terug. Negatieve aspecten als bruin- en roodverkleuring, taatheid en vezeligheid treden dan in toenemende mate op. Bij 18 °C is na enkele dagen (3-4) de kwaliteit niet acceptabel meer.

Uit bewaaronderzoek bleek dat naast koelen ook een gewijzigde luchtsamenstelling het kwaliteitsverlies vertraagde. Bij 2°C en CA werden met name de toename van de vezeligheid en schimmelgroei geremd (Schouten, 1994). Bij de afzet van asperges is koeling niet altijd mogelijk, en daarom kan een invloed van een dergelijke gewijzigde gassamenstelling, bijvoorbeeld in MA-verpakkingen, interessant zijn. Er zijn een aantal onderzoeken bekend waarbij de invloed van MA-verpakken op de kwaliteit van asperge werd onderzocht. Dit betrof altijd groene asperge. Verschillende auteurs vinden een positieve invloed van MA-verpakken, met name op zaken als taatheid en vezeligheid. Bijvoorbeeld Everson *et al* (1992) vonden dat bij 20°C en 1-2% O<sub>2</sub> en 11% CO<sub>2</sub> de taatheid het minst toenam.

Bij te hoge CO<sub>2</sub> concentraties (hoger dan 25%) worden vaak smaakafwijkingen gevonden. Schouten (1994) vond bij 1°C al bij 20% CO<sub>2</sub> ethanol. Bij lage O<sub>2</sub> concentraties worden vaak smaak- en geurafwijkingen gevonden. In de literatuur worden voor (groene) asperges meestal 5% O<sub>2</sub> en 10% CO<sub>2</sub> als optimale concentraties aangehouden (Kader *et al*, 1989).

Er is geen informatie bekend over de invloed van MA op bruin- en roodverkleuringen bij witte asperges. Omdat deze kwaliteitskenmerken nog belangrijker zijn dan textuur, is het interessant om daar onderzoek naar te doen.

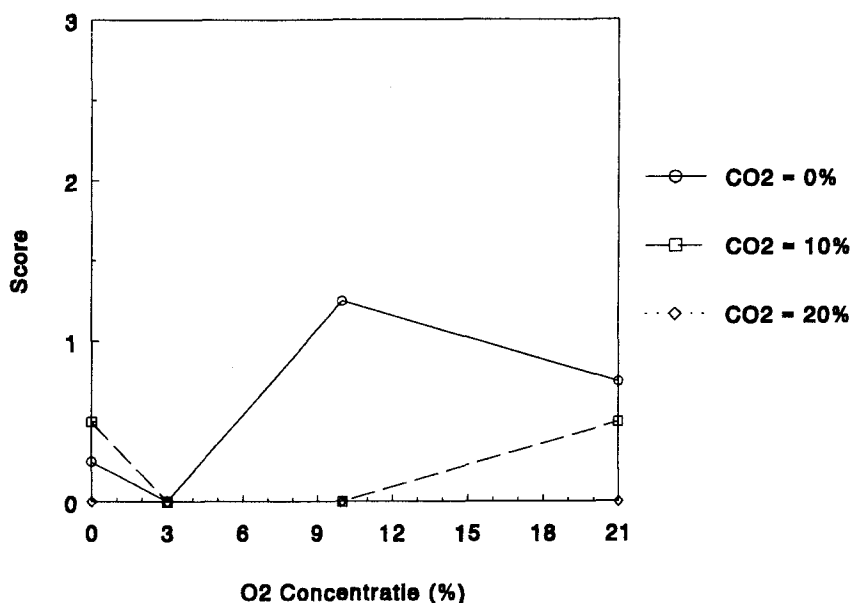
#### Doelstelling 1994

1. Het bepalen van de invloed van de O<sub>2</sub>-concentratie en de CO<sub>2</sub>-concentratie op het verloop van de kwaliteit van witte asperge.
2. De ontwikkeling van een model dat de gascondities rond een verpakt produkt kan berekenen en kan aangeven welke verpakking (welk materiaal) geschikt is om de kwaliteit zo lang mogelijk te handhaven.

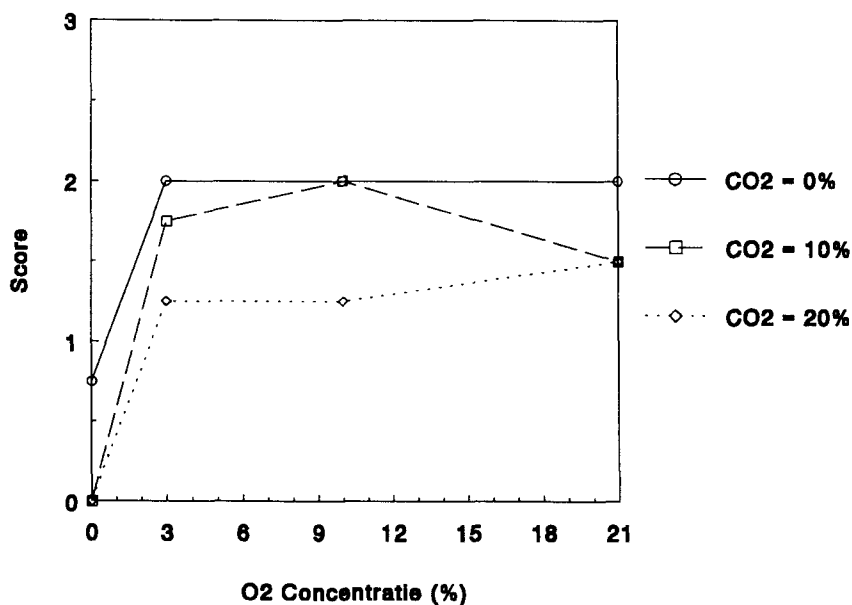
#### Verslag van de werkzaamheden in eerste helft 1994

Er zijn twee experimenten met asperge uitgevoerd waarbij asperge gedurende 1 week werd bewaard bij omstandigheden die in een verpakking kunnen optreden. De temperatuur was 18 °C en de relatieve luchtvochtigheid was hoger dan 95%. Bij deze omstandigheden werd de invloed van zuurstof en kooldioxide op de kwaliteit en de ademhalingsactiviteit van asperge onderzocht. De O<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub> concentraties in de behandelingen zijn geselecteerd op basis van literatuur. De concentraties 0% O<sub>2</sub>

en 20% CO<sub>2</sub> zijn gekozen om maximale invloeden in te kunnen schatten, en om de ademhaling van asperges hoed in kaart te kunnen brengen. De aangeboden concentraties waren combinaties van 21, 10, 3, en 0% O<sub>2</sub> met 0.1, 10, en 20% CO<sub>2</sub>. De kwaliteitsparameters bruin- en roodverkleuring en schimmelgroei werden visueel beoordeeld.



Figuur 1. Roodverkleuring



Figuur 2. Schimmelgroei

Er werd ook gecontroleerd op geur (afwijkingen) en smaak (vezeligheid en afwijkingen). Voor de sensorische bepaling van vezeligheid werd een proefpanel gebruikt met 8 personen. De asperges werden vooraf geschild en gestoomd. Het panel kreeg gecodeerde monsters uit 8 behandelingen (21-0, 21-10, 21-20, 10-0, 10-20, 3-0, 3-10 en 3-20 O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>). Deze monsters moesten door de leden van het panel worden gerangschikt op mate van vezeligheid. Eventuele afwijkingen in smaak moesten apart worden genoteerd.

Ook de ademhaling van de asperges werd gemeten en gevolgd in de tijd. Zowel de zuurstofopname als de kooldioxide-afgifte werden gemeten bij alle aangelegde gassamenstellingen.

Uit de experimenten blijkt dat bij 18 °C hoge CO<sub>2</sub> concentraties de roodverkleuring tegengaan. Vooral 20% kooldioxide heeft een duidelijke invloed (zie figuur 1). Ook schimmelgroei wordt bij 20% CO<sub>2</sub> duidelijk geremd. Ten aanzien van de onderzochte concentraties O<sub>2</sub> heeft alleen 0% O<sub>2</sub> een positieve invloed op de voornoemde kwaliteitskenmerken. Bij deze lage concentratie werden er echter altijd geurafwijkingen waargenomen. Dit was eenmaal ook bij 3% O<sub>2</sub> het geval. Er is geen invloed van CO<sub>2</sub> op geur waargenomen.

Het smaakpanel kon in beide experimenten een invloed van de gassamenstelling op vezeligheid waarnemen. Er was geen rechtlijnig verband tussen O<sub>2</sub> of CO<sub>2</sub> concentratie en vezeligheid (bijvoorbeeld: hoe hoger de CO<sub>2</sub> concentratie, des te minder vezeligheid). Bepaalde combinaties bleken echter duidelijk minder vezelig dan andere. Dat was in het eerste experiment de combinatie 3% O<sub>2</sub> en 20% CO<sub>2</sub>, en in het tweede experiment de combinatie 10% O<sub>2</sub> en 20% CO<sub>2</sub>. De gevonden positieve invloed van gassamenstelling in de literatuur op vezeligheid bij groene asperges wordt hiermee bevestigd. Een bittere smaak werd vooral waargenomen bij de asperges die in normale lucht waren bewaard. De asperges die bij 3% O<sub>2</sub> bewaard waren smaakten beter dan de rest.

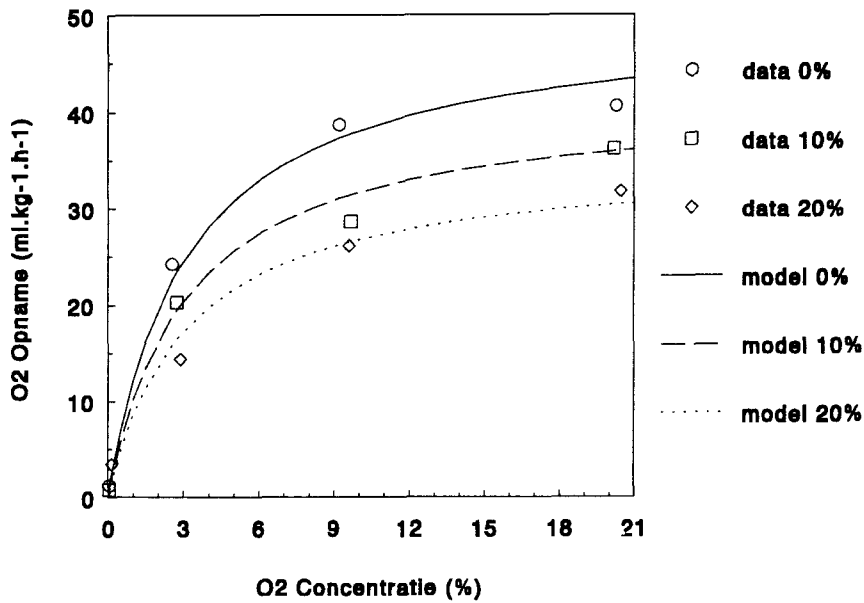
Uit de ademhalingsmetingen aan asperges bleek een duidelijke invloed van CO<sub>2</sub> op de O<sub>2</sub> opname (zie figuur 3). Bij 0% O<sub>2</sub> bleek de CO<sub>2</sub> produktie weer toe te nemen (ten opzichte van 3% O<sub>2</sub>). Dit is een gevolg van de anaerobe ademhaling, wat resulteert in ethanol en CO<sub>2</sub>. Beide zaken konden met het bestaande ademhalingsmodel worden gemodeleerd (figuren 3 en 4).

### Conclusies

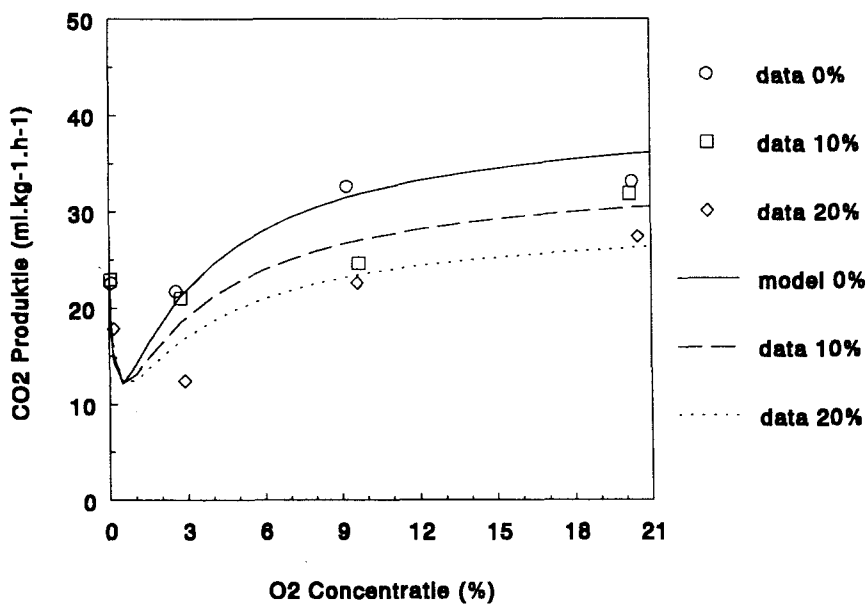
Uit de experimenten blijkt dat van de gekozen CO<sub>2</sub> concentraties 20% CO<sub>2</sub> de meest gunstige invloed heeft. Zowel roodverkleuring als schimmelgroei werden tegengegaan. Uit de resultaten is echter geen O<sub>2</sub> optimum voor alle kwaliteitskenmerken af te leiden. Bruinverkleuring en schimmelgroei werden niet geremd bij 3% O<sub>2</sub> of hoger, terwijl bij 0% O<sub>2</sub> geurafwijkingen waargenomen zijn. Omdat de smaak bij 3% O<sub>2</sub> als beste naar voren kwam, is de gevonden geurafwijking bij 3% waarschijnlijk een incident. De minste vezeligheid werd in het eerste experiment bij 3% O<sub>2</sub> en 20% CO<sub>2</sub> gevonden, en in het tweede bij 10% O<sub>2</sub> en 20% CO<sub>2</sub>.

Op basis van deze gegevens is geen eenduidig advies voor MA-verpakkingen mogelijk. Wellicht is 2-3% O<sub>2</sub> en 20% CO<sub>2</sub> een goede keus, omdat sommige kenmerken dan positief beïnvloedt worden (roodverkleuring, schimmelgroei,

vezeligheid) terwijl andere kenmerken nog niet negatief beïnvloedt worden (geur, smaakafwijkingen).



Figuur 3. De invloed van O<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub> op O<sub>2</sub> opname



Figuur 4. De invloed van O<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub> op CO<sub>2</sub> afgifte (0%: CO<sub>2</sub> = 0%) (0%: CO<sub>2</sub> = 0%)

### **Werkzaamheden tweede helft 1994**

De condities die naar voren komen uit het bewaaronderzoek, 5-6% O<sub>2</sub> en 20% CO<sub>2</sub>, zijn moeilijk realiseerbaar in een MA-verpakking. Met name zijn dergelijke hoge CO<sub>2</sub> concentraties zijn niet te realiseren als O<sub>2</sub> nog zo hoog moet blijven. Een alternatief voor MA-verpakken is dan gasverpakken. Bij gasverpakken wordt tijdens het verpakken een gasmengsel aan de verpakking toegevoegd. Omdat het ATO momenteel geen mogelijkheden heeft voor een dergelijke verpakkingswijze, kunnen er geen testen met ontwerpverpakkingen worden gedaan.

### **Literatuur**

- Everson H.P., Waldron K.W., Geeson J.D., Browne K.M., 1992. Effects of modified atmospheres on textural and cell wall changes of asparagus during shelf life. *Int.J.Food Sci.Techn.*, 27, pp 187-199
- Schouten S.P., 1994. CA geschikt voor verpakking en transport. *Groente + Fruit*, 24, pp 9
- Kader A.A., Zagory D., Kerbel E.L., 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Crit.Rev.Food Sci.Nutr.*, 28, pp 1-30

## STRATEGISCH DSS VOOR DE GROENTEN EN FRUITSECTOR

Rob Broekmeulen

### A. VOORTGANG EERSTE HALFJAAR 1994

Integrale goederenstroombesturing is een logistiek vraagstuk en houdt in dat op de juiste momenten de juiste beslissingen over opslag, transport, bewerking en verwerking dienen te worden genomen. Technologie, produktkennis en (distributie-)logistiek zijn onderling sterk verweven. De gevolgen voor bedrijfsvoering, met name op sectorniveau, dienen inzichtelijk te worden gemaakt.

Om uitspraken te kunnen doen over de effecten van beslissingen die effect hebben op sectorniveau is het noodzakelijk dat inzicht wordt verkregen in de processen op tactisch en operationeel niveau. Daarom zijn er twee deelprojecten (PALLET+ en FUST) geformuleerd. De eerste is gericht op het distributiecentrum als belangrijk knooppunt in ketens, het tweede op fuststromen door de gehele sector heen.

#### PALLET+

Het probleem in het deelproject PALLET+ is hoe logistiek gezien een groentecentrale (dit kan elke situatie zijn waarbij produkt binnenkomt, voor kortere tijd verblijft en weer vertrekt; bijvoorbeeld een veiling, groothandel of groentecentrale van supermarkten) ingericht en benut wordt. De uitgangssituatie in dit project is een groentecentrale met een hal voor het opstellen van pallets en een aantal koelcellen. De vraag is nu welke produkten op welke plaats komen, afhankelijk van produkteigenschappen, en logistiek gezien zo gunstig mogelijk. Het gaat dus om zowel het ontwerp, de inrichting als de besturing van een groentecentrale.

In het eerste halfjaar van 1994 is het systeem voorlopig afgerond. Door een tweetal bedrijven uit de sector is met ATO-DLO contact gezocht over de vraag of advies gegeven kon worden over herinrichting van hun groentecentrale met behulp van het systeem. Omdat de sector heeft bijgedragen aan dit onderzoek, is het systeem gratis voor de betreffende bedrijven ingezet. Ten aanzien van de extra inspanning om deze specifieke situaties door te rekenen is met de bedrijven een regeling getroffen. Het is ook voor dit project van groot belang dat aansluiting wordt gevonden bij de praktijk. Door het uitwerken van deze twee vragen is veel inzicht verkregen in de bruikbaarheid van het systeem. Het bleek vooral dat de gevraagde gegevens voor het systeem te gedetailleerd waren. Op basis hiervan wordt het systeem nu aangepast om met meer geaggregeerde informatie toch goede uitkomsten te geven. Momenteel wordt met deze aangepaste versie voor een grote importeur/exporteur op diens verzoek een nieuw te bouwen distributiecentrale doorgerekend. Het systeem krijgt in dit laatste loopjaar van het project dus daadwerkelijk betekenis voor de praktijk.

## FUST

Het deelproject FUST houdt zich bezig met de retourfuststromen in de groenten- en fruitsector. Er wordt aandacht besteed aan de logistieke, economische en milieueffecten van het verpakkingsbeleid. Met name de keuze eenmalig-meermalig en problemen rondom retourzendingen en schoonmaken komen in de modellen aan de orde. Het systeem bestaat uit drie lagen:

- selectie van het gewenste fusttype (eenmalig, meermalig, nestbaar, etc...) voor elke produkt-markt-combinatie.
- lokatie van eventuele retourshops en schoonmaakdepots en allokatie van fuststromen in het hierbij ontstane netwerk.
- organisatie van de fuststromen zoals de voorraadhoogte in de depots, de frequentie van het vervoer en het type transport.

Dit systeem is dus gericht op de sector en bovendien produkt en keten overstijgend. Het systeem is gebaseerd op een lineair programmeringsmodel, en is dus optimalisatiegericht. Er zijn veel contacten geweest met de praktijk. Op basis van overleg is een aantal vragen gesteld, die door het systeem dienen te worden beantwoord. Door vertrek van een van de projectmedewerkers is er enige vertraging ontstaan in het doorrekenen van de vragen. Daarnaast heeft het veel moeite en capaciteit gekost om de juiste vraagstelling te bepalen en vervolgens om de benodigde gegevens te verkrijgen. Gaande dit proces bleek dat ook dit model op enkele punten te gedetailleerde informatie vereiste. Momenteel wordt het model aangepast, zodanig dat met meer globale informatie kan worden omgegaan. In de tweede helft van 1994 zal dat de geformuleerde vraagstelling weer doorgerekend worden.

## B. PUBLIKATIES

## C. WERKPLAN KOMENDE PERIODE

In de tweede helft van 1994 zal met Pallet voor twee bedrijven de inrichting van de groentecentrale worden doorgerekend. Op basis van de ervaringen wordt dan het systeem verder aangepast. Vanaf september zal het systeem volop operationeel zijn voor de praktijk, waarbij met ieder bedrijf een regeling wordt getroffen voor de voor hen specifiek gemaakte kosten. Het systeem als zodanig wordt gratis voor de bedrijven ingezet.

Wat betreft FUST zal de vraagstelling zoals geformuleerd door de praktijk worden beantwoord. Tevens zal bekeken worden of het systeem adequaat ingezet kan worden voor de praktijk. Hierover lopen contacten met o.a. het CBT.

## ONTWIKKELING VAN EEN DSS VOOR HET TRANSPORT VAN MENGLADINGEN

Ir. J.W.P.M. Vogels, Ir. M.F.M. Janssens, R.G. Bons.

### A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994

#### Probleemstelling:

De planning van het transport van gemengde ladingen is een complex proces, niet alleen door de veelheid van factoren die een rol spelen, maar ook doordat discrete processen (belading) en continue processen (klimaat, produktkwaliteit) in principe niet gescheiden kunnen worden. Dit probleem vergt een systematische aanpak, waarbij door een combinatie van modelvorming op het gebied van belading, klimaat en produktkwaliteitsimulatie, distributie en concrete experimenten, oplossingen berekend kunnen worden. De oplossingsmethoden moeten worden gecombineerd in een Decision Support System (DSS) dat exporteurs kan ondersteunen bij de planning van hun dagelijkse transporten.

#### Doelstelling:

Voor het oplossen van het planningsprobleem is gekozen voor het combineren van ontwikkelde modules in één DSS. De berekende oplossing voldoet daarbij aan de doelstellingen die een exporteur zich gesteld heeft. Een aantal van deze doelstellingen luiden:

- voldoe aan de eisen van de klant(en);
- zorg voor een zo hoog mogelijke bezettingsgraad van de containervloot;
- zorg ervoor dat de afleverkwaliteit van de producten zo hoog mogelijk is;
- minimaliseer de kosten van export.

#### Verslag van de werkzaamheden:

##### Verbetering routeplannings algoritme

De bestaande routeplanning in het prototype van het DSS kenmerkte zich door zijn onvoorspelbare gedrag. Deels kwam dit door de gebruikte algoritme. Dit algoritme werd gevormd door een "random search" methode aangevuld met een objectfunctie waarin kosten en baten tegen elkaar afgewogen werden. Deze random search methode werd gevoed door de standaard random generator die in C beschikbaar is. Deze blijkt twee nadelen te hebben. Als eerste is de verdeling van de toevalsgetallen niet gelijk verdeeld. Het tweede punt is dat het proces niet reproduceerbaar. Om deze beide punten te ondervangen is gebruik gemaakt van een in de literatuur beschreven en in de praktijk veel gebruikte generator die beide nadelen niet heeft. Daarnaast is ook een tweede algoritme toegevoegd aan de route planning, "thresholding" genaamd. In tegenstelling tot de random search methode zoekt dit algoritme telkens naar de stap die de grootst mogelijke verbetering van de objectfunctie geeft. Als laatste is er door een beter databeheer een enorme snelheidswinst geboekt. Deze winst bedraagt maar liefst zo'n 1000%. Concreet betekent dit dat een routeprobleem met 40 locaties nu in 20 à 30 seconden opgelost kan worden.



Het voorgaande algoritme heeft als beperking dat slechts de routing vanuit een centraal depot naar de klanten berekent kan worden. Uit de praktijk kregen we steeds meer te horen dat dit lang niet altijd het geval hoeft te zijn. Vaak zullen produkten bij de diverse veilingen of opslagplaatsen, die over het land verspreid zijn, opgehaald moeten worden. Hierna is het nog mogelijk dat de produkten op een centraal depot een behandeling moeten ondergaan.

Hiermee wordt het routeringsprobleem een stuk ingewikkelder en is niet met standaard routeringsalgoritmes op te lossen. Hiervoor lijkt nu een geschikte oplossing gevonden te zijn.

Met behulp van lineaire programmering met kolom generatie lijkt het mogelijk een model van het probleem te maken en op te lossen.

## B. PUBLIKATIES

- Ir. Jan W.P.M. Vogels en Ir. Matt F.M. Janssens, 1993. "Ontwikkeling van een Beslissing Ondersteunend Systeem voor distributie van Gemengde Ladingen" Voordrachten VIAS -Symposium '94, Agro-Informaticareeks nr. 8 (mei 1994)

### Presentaties:

Ontwikkeling van een Beslissing Ondersteunend Systeem voor distributie van Gemengde Ladingen, VIAS Symposium, mei '94 Ede.

## C. WERKPLAN TWEEDE HELFT 1994

### Routeplanning met oppik-probleem

Het tweede half jaar van 1994 wordt gebruikt om het routeringsprobleem met oppikken van produkten te ontwikkelen. Naast modellering zal het algoritme gebouwd worden en geverifieerd.

Dit nieuwe algoritme zal de brede inzetbaarheid van het DSS vergroten.

## **MA MODELLERING OP HET VERPAKKINGSNIVEAU VAN DE DOOS**

R.G. Evelo, H.A.M. Boerrigter

### **A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994**

#### **Probleemstelling**

Een bijzondere toepassing van een verpakking is het creëren van een gunstig microklimaat rond het produkt bij z.g.n. Modified Atmosphere (MA) verpakking. Bij dit type verpakking is het produkt door een dunne folie van het buitenklimaat afgescheiden. Hierdoor kunnen de O<sub>2</sub>- en CO<sub>2</sub>-concentraties in de verpakking wijzigen. Het ontstaan van dergelijke gewijzigde gassamenstelling levert grote kwaliteitsvoordelen voor bv. broccoli en appels. De probleemstelling specifiek voor de MA-verpakking luidt : welke folie is het meest geschikt bij een bepaalde afzetketen gelet op de produkt kwaliteit, milieu bezwaren van de verpakking, etc.

#### **Doelstelling**

Door de interactie van het produkt met de verpakking en het klimaat te onderzoeken kunnen verbeterde verpakkingsconcepten worden geformuleerd. Hiervoor worden de verschillende aspecten van het produkt en de verpakking elk afzonderlijk en in combinatie onderzocht. Het onderzoek richt zich op het voorspellen van de gasconcentraties in een gesloten verpakking en de beïnvloeding van enkele kwaliteitskenmerken zoals stevigheid en verkleuring. Er wordt gezocht naar het volledig vervangen van pvc rek-wikkelfolie in MA-toepassingen en verdere optimalisatie van produkt kwaliteit voor met name broccoli en Elstar appels.

#### **Fasering**

De structuur van dit project volgt de hieronder beschreven lijn. Bij aanvang van het project is begonnen met het ontwerpen en bouwen van een onderzoekstelling speciaal gericht op MA verpakkingen. Tegelijkertijd is aan de hand van produktproeven de gewenste gassamenstelling voor Elstar appels tijdens korte bewaring bepaald. Vanaf 1992 is ook broccoli in de proefopzet meegenomen en zijn diverse verpakkingsvarianties getoetst. Parallel hieraan wordt een computermodel ontwikkeld dat de gassamenstelling in de verpakking kan berekenen (het MA model). Hiervoor worden appels en broccoli als test produkten genomen. In 1993 is dit uitgebreid met ademhalingsgegevens van tomaten.

Voor het 1<sup>ste</sup> helft van 1994 stonden de volgende activiteiten gepland:

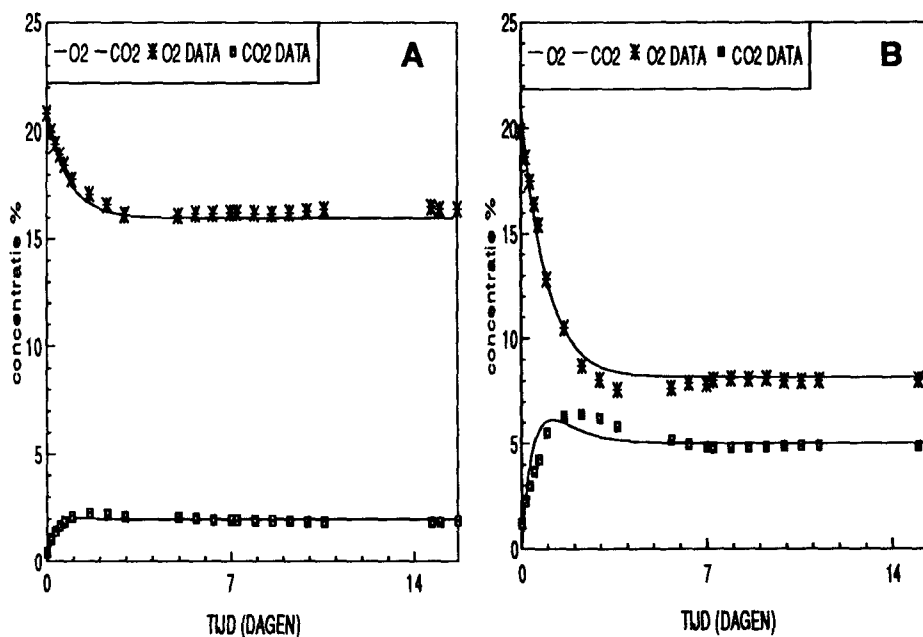
- diverse technische verbeteringen van het MA model. Dit zal het bedieningsgemak en de rekensnelheid van het model ten goede komen.
- modelstudie naar de gewenste specificaties van verpakkingsfolie voor broccoli.
- CA respiratie metingen aan asperges.
- verpakkingsexperimenten met asperges.
- gasverpakkingsexperimenten met Elstar appels.
- vakblad artikel met de appel experimenten

## Verslag van de werkzaamheden

### Elstar appels

Gedurende verschillende seizoenen zijn bewaarexperimenten van circa 3 weken met Elstar appels uitgevoerd. Hieruit is de conclusie getrokken dat de stevigheid van Elstar appels bij korte bewaring bij hoge temperatuur langer behouden blijft bij verhoogde CO<sub>2</sub> concentraties. Als optimum is het interval van 8 -10 % geformuleerd. De respiratie wordt op dat niveau het meeste geremd en het effect op de stevigheid is maximaal. Bij nog hogere CO<sub>2</sub> concentraties stijgt de ademhaling weer en neemt het effect op de stevigheid weer af. Het afremmen van het stevigheidsverlies door een verhoging van de CO<sub>2</sub> concentratie is ook aangetoond in diverse MA verpakkingen.

Deze verslagperiode zijn CA bewaarexperimenten weer herhaald maar nu gefocuseerd op de temperatuursinvloed. De temperatuursafhankelijkheid van de ademhaling dient goed te worden vast gelegd om het gedrag van Elstar appel in de verpakking in het afzetkanaal te beschrijven. Deze kennis wordt gebruikt in het MA model. Het resultaat van deze experimenten is i) een parameterisatie van de ademhaling voor het MA model en ii) een bevestiging van het effect van de CO<sub>2</sub> concentratie op de stevigheid zoals al in eerdere experimenten gevonden.



Figuur 1: (A) 275 gr elstar appels, oppervl.=620 cm<sup>2</sup> pe folie, Vol=1829 ml, T=18°C;(B) 950 gr elstar appel, oppervl.=620 cm<sup>2</sup> pe folie, Vol.=3792 ml, T= 18°C.

Hiernaast zijn experimenten met Elstar appels in de modelverpakkingen verder uitgevoerd, dit als aanvulling op eerder uitgevoerde testen. In de modelverpakkingen kan de gassamenstelling gedurende de dynamische fase worden onderzocht. In de vorige rapportage is aangegeven dat deze fase in hoge mate de stevigheidsverloop van de Elstar appel bepaald. De experimenten zijn vervolgens met het MA

model gesimuleerd. Figuur 1 laat zien dat er een goede overeenstemming is tussen het model en de werkelijkheid. Een wetenschappelijke verslaglegging over de systeemkundige benadering van dit verpakkingsonderzoek met als voorbeeld Elstar appel is geaccepteerd door het J. of Packaging Technology and Science.

Aangezien er verpakkingsproeven met Elstar zijn uitgevoerd gedurende verschillende seizoenen kan de gevoeligheid van het MA model t.a.v. produktvariatie in de tijd worden onderzocht. Het blijkt dat het model, via de produktparametrisatie, eenvoudig kan worden aangepast om deze variaties te beschrijven. Een enkele testmeting is voldoende om de produktvariatie in kaart te brengen en het model voor de seizoensinvloeden aan te passen. Dit betekent dat het MA model door een kleine aanpassing in elk seizoen is te gebruiken.

#### MA Model

De gebruikersvriendelijkheid van het model is binnen de bestaande ontwikkelomgeving aanzienlijk verbeterd. Er is besloten om dit nog verder te vergemakkelijken. In figuur 1 is aangegeven dat het model goed voldoet voor de Elstar appel verpakkingen. Het accent voor de ontwikkeling van dit model richt zich op de invloed van temperatuurvariaties met produkten als appel, asperges en witlof.

#### Asperges

Er is een MA-verpakkingsproef uitgevoerd. De CA respiratiemetingen met asperges zijn uitgevoerd door H.W. Peppelenbos en elders in dit verslag gerapporteerd. Deze gegevens zullen ook voor de validatie van het MA model worden gebruikt. Het ligt in de lijn van de verwachting dat ook de indroging een belangrijk effect op de houdbaarheid, kwaliteit van de asperge zal hebben. Hierdoor zijn de experimenten zodanig opgezet dat de vochtinhouding een belangrijke rol, naast de instelling van de gassamenstelling in dit onderzoek zal spelen.

#### Resultaten

Het MA model is gevalideerd voor Elstar appels. Het model kan op een eenvoudige wijze op de seizoensvariaties van Elstar appels worden aangepast.

### **B. PUBLIKATIES**

Integral approach for optimizing modified atmosphere packages of Elstar apples: a combination of product and packaging constraints. J. Packaging Technology and Science, 7 (1994), 195-204.

### **C. WERKPLAN TWEDE HALFJAAR 1994**

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

Ten opzicht van de fasering zoals aangekondigd in de vorige rapportage is er het een en ander verschoven. De werkzaamheden voor broccoli zijn niet uitgevoerd, terwijl de activiteiten voor Elstar appels aanzienlijk zijn uitgebreid. De publikatie over Elstar appels is ingediend bij een wetenschappelijk tijdschrift, er is nog geen artikel van voor het vakblad verschenen.

### **Werkplan tweede halfjaar 1994**

Voor dit tijdvak staan de volgende activiteiten gepland.

- in samenwerking met het CBT wordt de ontwikkelde broccoli verpakking verder in de praktijk getest.
- gasverpakkingsexperimenten met Elstar appel
- uitwerken van de asperge experimenten uitgevoerd 1<sup>ste</sup> helft 1994
- verkennende CA en MA experimenten met witlof
- verder optimaliseren van het MA model, betreffende functionaliteit en gebruiksvriendelijkheid.

## **COMPUTER BEELD ANALYSE EN INWENDIGE EN UITWENDIGE KWALITEIT VAN GROENTEN EN FRUIT**

A.A. Hulzebosch, A.J.M. Timmermans, B.H. van Zwol

### **A. VERSLAG OVER EERSTE HALFJAAR 1994**

#### **Probleemstelling**

Bij de beoordeling van groente en fruit bestaat op verschillende plaatsen in de afzetketen behoefte aan automatische classificatie en sortering. Met een optisch meetsysteem kunnen kwaliteitseigenschappen objectief, snel en non-destructief worden gemeten. Op basis van de nauwkeurige meting kan een produkt in verschillende kwaliteitsklassen worden ingedeeld.

#### **Doelstelling**

Dit project richt zich op de toepassing van Computer Beeld Analyse (CBA) bij de beoordeling van de kwaliteit van groente en fruit (vers). Onderzocht wordt of deze techniek met succes kan worden toegepast bij verschillende produkten. De nadruk zal worden gelegd op de ontwikkeling van methoden om bepaalde kwaliteitsparameters objectief te kunnen meten en het ontwikkelen van classificatiemethoden om aan de hand van de verkregen meetresultaten een indeling in kwaliteitsklassen te bewerkstelligen. De ontwikkelde methodieken moeten toepasbaar zijn in praktijksituaties.

#### **Fasering**

Voor de eerste helft van 1994 waren de volgende werkzaamheden gepland:

- Ontwikkeling van systeem voor classificatie van o.a. komkommers op basis van kleurverschillen;
- Ontwikkeling van een patroonherkendend systeem voor classificatie met automatische kenmerkselectie.

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

##### *Objectieve kleurmeting*

Kleur is een belangrijke kwaliteitseigenschap die moeilijk door een mens objectief vastgesteld kan worden. Kleur levert informatie over bijvoorbeeld ontwikkelingsstadium van een produkt (versheid) en de aanwezigheid van aantastingen. Voor consumenten is de kleur van een produkt, naast een algemene indruk over de presentatie, de belangrijkste motivatie voor een bepaald produkt te kiezen. Bij het meten van kleur van een produkt met behulp van een kleurencamera zijn een aantal punten van belang:

- \* instelling van camera (diafragma, vergroting, white en black balance, etc.);
- \* configuratie van de belichting (type lampen, golfenlengte, intensiteit, uniformiteit, etc.);

Om objectief kleur van een bepaald produkt te kunnen meten is het noodzakelijk deze aspecten onder controle te hebben. Hiervoor is een standaard protocol opgesteld voor instelling van de camera. Dit protocol omvat een calibratiemethode op objecten met een vaste kleur en een correctieberekening op de opgenomen beelden. Het is namelijk vrijwel onmogelijk met een camera altijd dezelfde instellingen te verkrijgen. Tijdens de procedure wordt op basis van de calibratieplaatjes de camera dusdanig ingesteld dat grootte en kleurgevoeligheid zo dicht mogelijk liggen bij de initiële of standaard instellingen. Voor de kleine verschillen die bestaan tussen standaard en huidige waarden wordt een correctieberekening uitgevoerd op het gehele beeld. Door toepassing van deze methode is het dus mogelijk kleur objectief en reproduceerbaar te meten. Via een wiskundige optimalisatietechniek zijn formules afgeleid, om de kleurmeting met de camera te converteren naar ander kleurdimensies, zoals het Lab systeem.

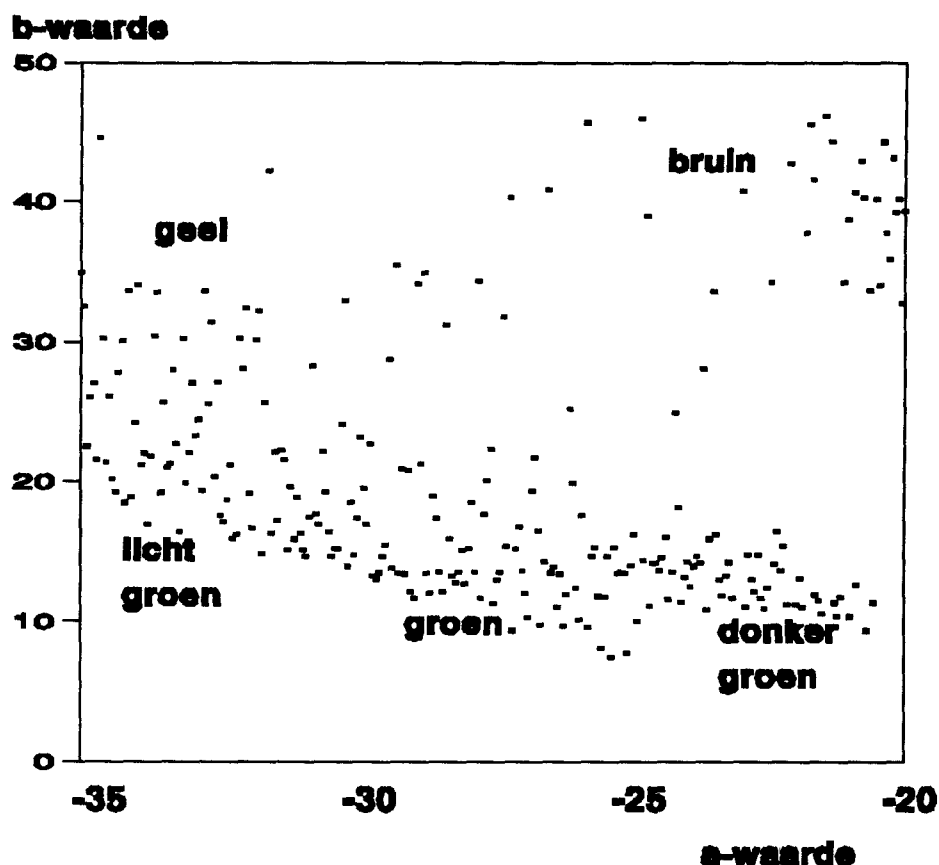
#### *Experimenten en produkten*

De kleurmeting is in de eerste helft van 1994 toegepast op verschillende produkten. In combinatie met verpakkings-, bewarings- en verwerkingsexperimenten zijn uitvoerige metingen uitgevoerd aan o.a. witlof, komkommers, spruitkool, tomaten, sperziebonen en broccoli. Ieder genoemd produkt heeft een andere kleur en verkleuringspatroon. Dit betekent dat voor ieder produkt andere analysemethoden toegepast worden om kleur objectief vast te leggen. Doelstelling van de meetmethoden is om het kleurstadium van het produkt vast te leggen in een of meerdere kleurgetallen. Deze kleurgetallen zijn bijvoorbeeld voor tomaat vergelijkbaar met de C.B.T. kleurenkaart die in de praktijk toegepast wordt. Met CBA zijn deze kleurstadia met grotere nauwkeurigheid vast te stellen, zodat bijvoorbeeld de stadia met een cijfer achter de komma bepaald kan worden (schaal 1 t/m 12). Behalve de waardering voor gemiddelde kleur kunnen ook kleurafwijkingen, kleurpatronen en aanwezigheid van defecten worden gemeten.

Voor het analyseren van de kleur en kleurafwijkingen worden afhankelijk van het produkt verschillende technieken gebruikt. Om de gemiddelde kleur te bepalen wordt gebruik gemaakt van histogramanalyse van de Rood, Groen en Blauw beelden die de camera produceert. De gemiddelde kleur wordt dan bepaald door de mediaan of de gemiddelde waarde van het histogram. Kleurpatronen worden berekend door uit de histogrammen getallen over spreiding en vorm van het histogram te bepalen. Voor het herkennen en definiëren van kleurafwijkingen en defecten wordt gebruik gemaakt van een zelflerende statistische methode. Hierbij worden clusters van kleurgroepen berekend, aan de hand van getoonde voorbeelden. Hiermee worden bijvoorbeeld bij witlof bruin-, rood- en groenverkleuring onderscheiden op de stronk. Van een produkt zoals broccoli was het tot op heden moeilijk kleur objectief vast te leggen. Door toepassing van deze CBA methode kan de kleur gekwantificeerd worden. Onderstaande figuur laat de ontwikkeling van het kleurpatroon van een broccoli-stronk zien tijdens veroudering. Op de assen van de grafiek staan de a en b waarden uitgezet uit het Lab kleursysteem. Ieder punt in de grafiek komt overeen met een uitgevoerde meting. Op basis van deze grafiek kan een kleurschaal voor broccoli afgeleid worden.

Voor alle andere genoemde produkten zijn dergelijke experimenten uitgevoerd. Het is voor al deze produkten mogelijk kleur en verkleuringen objectief te meten. Deze

### Objectieve kleurmeting van broccoli met computer beeld analyse in Lab kleursysteem



Kleurverandering van broccoli gemeten met computer beeld analyse

methoden worden ingezet bij fysiologisch en verpakkingsonderzoek, maar kunnen ook in de praktijk toegepast worden.

#### *Automatische Kenmerkselectie*

Behalve kleur en percentage verkleuring zijn geometrische kenmerken van belang voor kwaliteitsbeoordeling van een produkt. Grootte, lengte, dikte, vormeigenschappen zijn voorbeelden van kenmerken die voor een produkt van belang zijn. In de afgelopen jaren zijn diverse meetmethoden ontwikkeld, waarmee de geometrische eigenschappen gemeten kunnen worden. Het is afhankelijk van het produkt welke kenmerken relevant zijn voor het produkt. Een automatische kenmerkselectiemethode is ontwikkeld om de lijst van relevante kenmerken te selecteren voor een bepaald produkt. In een haalbaarheidsfase worden voorbeelden van produkten getoond aan het systeem en alle 25 kenmerken gemeten. De produkten worden door produktexperts in klassen ingedeeld. De automatische statistische kenmerkselectie software berekent welke van de 25 kenmerken gebruikt moeten worden voor de klasse-indeling van het produkt. Getracht wordt om het aantal kenmerken terug te brengen tot ongeveer vijf. Het terugbrengen van de kenmerken betekent dat de meting sneller uitgevoerd kan worden.



### Confrontatie met de fasering

Er zijn geen afwijkingen met de fasering geconstateerd. Volgens de planning voor deze periode zou vooral aan komkommers worden gemeten. Door de beschikbaarheid van andere produkten voor fysiologisch onderzoek zijn ook andere produkten beoordeeld.

### B. PUBLIKATIES

Geen

### C. WERKZAAMHEDEN TWEEDE HELFT 1994

In deze periode zullen resultaten van het onderzoek verder geoptimaliseerd worden en tot een afgerond geheel leiden. In de tweede helft van 1994 zullen de metingen van kleur en verkleuring voortgezet worden. Doelstelling is om voor zoveel mogelijk produkten (o.a. tomaten, broccoli, komkommers en witlof) standaard meetmethoden beschikbaar te hebben om objectief kleur en verkleuring te kunnen meten. Deze meetmethoden zullen ingezet worden voor fysiologische experimenten. In de vorm van een wetenschappelijk artikel zullen methode en resultaten gepubliceerd worden.

Een prototype sorteersysteem voor beoordeling van uitwendige kwaliteit van witlof en paprika wordt gebouwd. Dit prototype bestaat uit een vision systeem, dat alle relevante uitwendige kwaliteitskenmerken kan bepalen. Een dergelijk prototype dient als presentatiemachine voor uitontwikkeling tot een praktisch sorteersysteem. Op korte termijn wordt actief op de Nederlandse markt gezocht naar potentiële samenwerkingspartners om de ontwikkelde technieken en gereedschappen uit te zetten in de praktijk. Samenwerkingspartners zijn bijvoorbeeld mechanisatiebedrijven met duidelijke wortels in de groente en fruit sector, ervaring met elektronica of cameratechnieken en belangstelling voor productie van vision systemen. Bedrijven zullen hiervoor aangeschreven worden en via een vastgestelde procedure worden geselecteerd.