

A45

**Champignononderzoek door het
onderzoeksinstituut ATO-
Agrotechnologie in samenwerking met
het CNC**

Dr. W.M.F. Jongen,
programmaleider

ato-dlo



2251460

**Champignononderzoek door het onderzoeksinstituut ATO-Agrotechnologie in
samenwerking met het CNC**

© 1992. ATO-DLO, Haagsteeg 6, Postbus 17, 6700 AA Wageningen. Overname van tekst is toegestaan onder uitdrukkelijke bronvermelding.

INHOUD	Blz.
1. Voorwoord (Dr. W.M.F. Jongen)	4
2. Veroudering en vitaliteitsverlies van de champignon (A. Braaksma)	5 - 10
3. De invloed van MA-verpakkingen op de kwaliteit van champignons (H.W. Peppelenbos)	11 - 23
4. Enzymatische melanogenese in de champignon (H.J. Wichers)	24 - 27
5. Onderzoek naar factoren die bepalend zijn voor de verwerkings- verliezen van champignons (E. Schijvens)	28 - 31
6. Verwerkingsonderzoek champignon (G.J.M. van Laarhoven)	32 - 34
7. Koelen en bewaren van champignons (J.W. Rudolphij)	35 - 37
8. Champignons; CBA, uitwendige en inwendige kwaliteit (B. van Zwol)	38 - 39
9. DSS strategische planning voor champignons (R.A.C.M. Broekmeulen)	40 - 42

VOORWOORD

Het onderzoeksinstituut ATO-DLO heeft een breed en omvangrijk samenwerkingsprogramma op het gebied van champignon onderzoek met het CNC. Het onderzoek richt zich op kwaliteit in relatie tot na-oogst aspecten en strekt zich uit van bewarings- en verouderingsonderzoek via verwerking en productontwikkeling tot logistiek onderzoek. Een belangrijke doelstelling van het programma is het meetbaar maken van zowel uitwendige als inwendige kwaliteit.

Het programma is onderverdeeld in een aantal deelprojecten waarvan de projectomschrijvingen hier samengevoegd zijn.

Gekoppeld aan de projectomschrijvingen is er een fasering gemaakt waarbij per jaar is aangegeven wat de doelstellingen zijn.

Ik wens U veel leesplezier bij het doornemen.

Dr. W.M.F. Jongen,
programmaleider

VEROUDERING EN VITALITEITSVERLIES VAN DE CHAMPIGNON

A.Braaksma

DOELSTELLING

In de levende cel speelt zich een breed scala van biochemische reacties af, die in hoge mate zijn gereguleerd en bij hun functioneren strikte eisen stellen aan het reactiemedium en de beschikbaarheid van substraten. Deze eisen zijn dermate uiteenlopend, dat het onmogelijk is al deze reacties gelijktijdig en gereguleerd in één mengsel te laten verlopen. Dat dit in de cel toch plaats vindt, komt doordat membranen de celinhoud compartimentaliseren, waarbij de samenstelling en de structuur van de membranen sterk samenhangen met de lokale functie van die membranen.

Zo moet de membraan niet alleen een fysieke afscheiding vormen;

er worden hoge eisen gesteld aan de selectieve doorlaatbaarheid of opname van specifieke stoffen, veelal tegen de heersende concentratiegradiënt in. Vele reacties zijn echter niet alleen indirect afhankelijk van de membranen, maar kunnen alleen plaats vinden aan het oppervlak van de membraan of erin. Veroudering gaat gepaard met veranderingen in membraansamenstelling. Om deze reden wordt de rol van membranen bij de veroudering onder de loupe genomen. Hierbij moet men zich niet alleen tot de normale veroudering beperken, maar ook (ongewenste) versnelde veroudering die na stress (in de naooft fase) optreedt, erbij betrekken.

Het onderzoek is opgedeeld in verschillende deelprojecten

1. Veroudering van de champignon en de rol van membraanintegriteit.
2. Histologische veranderingen in celopbouw en -structuur tijdens de veroudering.
3. De rol van calcium tijdens de veroudering.

Ad 1. Veroudering van de champignon en de rol van membraanintegriteit

Probleemstelling en doel

Uit de literatuur komt naar voren dat veroudering gepaard gaat met veranderingen in membraansamenstelling. Het duidelijkst komt dit tot uiting als de veroudering zo ver is voortgeschreden dat de membraan de celinhoud niet langer meer kan vasthouden en componenten van de celinhoud naar Tevens heeft een gewijzigde membraansamenstelling consequenties voor die processen die voor wat betreft hun werking afhankelijk zijn van een intacte, functionele membraan (6-8). Eén van de belangrijkste parameters om veranderingen in een membraan te volgen is, naast de membraansamenstelling, de mate van membraanvloeibaarheid. Hierbij wordt een schatting gemaakt in welke mate de lipiden zich nog in een kristallijne dan wel een vloeibare gel fase bevinden. Dit bepaalt o.a. de bewegingsvrijheid en permeatie van eiwitten/enzymen in de membraan (9,10) en daarmee

wordt tevens hun functioneren beïnvloed. In dit onderzoek zal het accent liggen op het bepalen van de vloeibaarheid van de membraan en membraansamenstelling in relatie tot een verouderingsparameter.

Motivering en te verwachten effecten

Van schimmels in het algemeen en champignons in het bijzonder, is niets bekend over veranderingen in de membraansamenstelling tijdens de veroudering. Wel is er onderzoek verricht naar veranderingen in andere biochemische processen tijdens veroudering.

Gezien de stand van zaken in het verouderingsonderzoek in het algemeen, is op dit ogenblik geen reden om aan te nemen dat membraanveranderingen ten gevolge van veroudering bij de champignon drastisch zal verschillen van wat in de literatuur bekend is. Echter, er is één duidelijk verschil: bij het geoogste product in het algemeen is sprake van afleving die grotendeels wordt bepaald door uitputting van voedingsstoffen en de eindigheid van de afbraak van eigen weefsel op hierin te voorzien. De champignon maakt een meer geprogrammeerde veroudering na de oogst door. De hoed expandeert door een actief proces en plaatselijke turgorverhoging (hoge eisen aan membranen!). De sporendragende organen (de plaatjes) ontwikkelen zich en uiteindelijk worden ook sporen gevormd, bijna alsof het geen geoogst product betreft.

De werkhypothese is dat in de steel membraancomponenten worden afgebroken, teneinde de hoed en plaatjes van bouwstenen te voorzien voor membraansynthese, dan wel veranderingen in membraansamenstelling opdat de geprogrammeerde veroudering plaats vindt.

Hiermee wordt direct aangesloten op een belangrijk kwaliteitskenmerk, namelijk het nog niet geopend zijn van de hoed.

Werkwijze

Van de verschillende onderdelen van de champignon zal de membraansamenstelling en membraanvloeibaarheid worden bepaald als functie van de veroudering. Een microsomale membraanfractie wordt gescheiden in een aantal fracties (sterolen, vrije vetzuren, fosfolipiden, neutrale lipiden en glycolipiden) middels kolomchromatografie. De fracties worden verder geanalyseerd met behulp van dunne laag chromatografie en de vetzuur samenstelling bepaald door middel van gaschromatografische na methylering.

Daarna zal de membraanvloeibaarheid ook weer als functie van veroudering worden bepaald. Hiervoor zullen FTIR (27) technieken voor de analyse worden aangewend alsmede fluorescente polarisatie met DPH (17,28) en fluorescente sterolen dehydroergosterol cholestatrienol (29). Daar de toepassing van FTIR nog zeer recent is zal, indien noodzakelijk, eveneens gebruik worden gemaakt van ESR in combinatie met DMPO of TIRON als spin-trap (30).

In een later stadium zal worden geprobeerd de activiteit de membraan turnover te bepalen. Voor de toekomst staat isolering van een aantal fracties op het programma, die verrijkt zijn met celorganellen. Hierbij kan gebruik worden gemaakt van (discontinue) suikergradiënten en/of twee fasenscheiding en free flow electroforese (33,34).

De zuiverheid van de verschillende fracties zal aan de hand van marker enzymactiviteiten en morfologische kenmerken worden bepaald (33,35). Ook hiervan zal de membraansamenstelling worden bepaald.

Het zal misschien niet eenvoudig zijn om met name de membraanafbraak tijdens de isolatie te fixeren. Wellicht kan dit door een combinatie van pH met calmoduline antagonisten worden bereikt. Van de afzonderlijke toepassing is bekend dat in ieder geval de afbraak van fosfatidylcholine is te remmen (31,32).

Problemen worden ook verwacht bij het bepalen van de membraan turnover. Veranderingen in

enzym-aanmaak/afbraak ten behoeve van de membraanturnover moet niet alleen zichtbaar zijn in veranderingen in eiwit- en RNA-populatie, maar ook door effecten van remmers op eiwitsynthese of RNA transport/aanmaak (36,37). Nagegaan zal worden hoe belangrijk de rol van de membraanturnover is.

Afhankelijk van de voortgang van het onderzoek en de resultaten zal worden nagegaan in hoeverre deze verkregen inzichten voor de in vivo situatie opgaan met behulp van NMR spectroscopie.

Ad 2. Structurele veranderingen in de champignon tijdens de veroudering, met een accent op membraanstructuren

Probleemstelling en doel

Dit deelproject wordt in zeer nauwe samenwerking met effecten van verwerkingshandelingen op de champignonstructuur uitgevoerd.

In project 02.01.01 wordt reeds melding gemaakt van een selectieve afbraak en synthetiserende activiteiten die tot bepaalde regio's binnen de champignon zijn beperkt. De waargenomen veranderingen zullen onvermijdelijk ook veranderingen in membraansamenstelling met zich mee brengen. In dit opzicht kan dit deelproject een sterk aanvullende en ondersteunende functie hebben voor project 02.01.01.

Motivering en te verwachten effecten

Veranderingen ten gevolge van veroudering in structuur zijn nauwelijks gedocumenteerd. Toch is dit belangrijk, daar veranderingen op het microscopisch niveau vrijwel direct op macroscopisch niveau eveneens tot uiting komen (kwaliteits-kenmerken).

Werkwijze

Van de verschillende verouderingsstadia zullen preparaten worden gemaakt voor lichtmicroscopie. Door verschillende doorsnedes gecombineerd met specifieke kleuringen op membraancomponenten, alsmede door toepassing van een microscoop waarmee gecombineerde FTIR-metingen mogelijk zijn en confocale laser scanning microscopie, hopen we de informatie omtrent membranen verder in situ uit te breiden. In een later stadium zullen naar verwachting tevens electronenmicroscopische technieken worden toegepast.

Ad 3. De rol van calcium in verouderingsprocessen met het accent op membraanintegriteit

Probleemstelling en doel

Calcium staat bekend als second messenger in dierlijke systemen en het activeert/reguleert diverse enzymssystemen. Het feit dat de structuur van het calcium bindend eiwit, calmoduline (22,23), in de evolutie nauwelijks is veranderd ongeacht of een plantaardige of dierlijke herkomst, suggereert eenzelfde functie van calcium als second messenger bij planten, als bij dieren is aangetoond (24).

Tevens is er een duidelijke rol van calcium in celstructuur bekend.

Van calcium is ook bekend dat het een grote rol speelt bij veroudering. Dit is in plantaardige systemen aangetoond bij wefselafbraak (11), chlorofyll afbraak en peroxide accumulatie (12) en verlenging van het vaasleven van bloemen (13). Ook lekkage vanuit verouderend weefsel kan worden geremd door calcium (14,15). Tevens zijn er effecten van calcium op membraan-niveau

bekend. De phospholipase activiteit in vivo wordt beïnvloed (16) en juist dit enzym zou een van de eerste stappen in de afbraak van membranen zijn (17). Voeg daarbij dat veranderingen in vloeibaarheid waarschijnlijk tot stand komen door veranderingen in samenstelling (18), dan moge het belang duidelijk zijn. Overigens is calcium voor phospholipase van dierlijke oorsprong beschreven als cofactor, hetgeen een direct verband aannemelijk maakt.

Calcium blijkt ook in staat fysische effecten in de membraan te weeg te brengen; de afstand tussen de lipide moleculen in zowel artificiële lipide bilayers (19) als in natuurlijke systemen (20) worden verkleind. In het laatste geval zijn de concentraties echter niet meer fysiologisch. In tegenspraak daarmee zijn de bevindingen van Ben-Arie et al (21), die juist het tegenovergestelde effect waarneemt. Hiermee blijft overeind dat er een duidelijk effect van calcium bestaat, maar het hoe, waar en waarom is onduidelijk.

Motivering en te verwachten effecten

Hetgeen nu bekend is omtrent de rol van membranen bij veroudering, in plantaardige systemen, is vrijwel geheel afkomstig vanuit onderzoek aan anjer, roos en cotylen van de erwt, maar niet aan de champignon. Het project zal een tot nu toe onbekend gebied betreden, waarbij gegevens boven tafel kunnen worden gebracht die waardevol zijn vanuit wetenschappelijk oogpunt en tevens als basis kunnen dienen voor verder (meer toegepast) onderzoek, waarbij para-meters voor de mate van veroudering naar voren komen en zodoende zeer bijdragen tot een verhoging van de kwaliteit. Bovendien zal de op te bouwen expertise van groot belang zijn voor andere objecten (bv.appel) waar gunstige calcium effecten van bekend zijn.

Werkwijze

Allereerst zal een nadere literatuur screening plaats vinden teneinde van de allerlaatste technieken op de hoogte te zijn.

Belangrijk zal het bepalen van het vrije calcium en het gebonden calcium in de cel zijn. Specifieke kleurstoffen kunnen hiervoor worden toegepast zoals furanoquin. Wellicht zal een gedeelte van dit onderzoek met (mycelium-) celsuspensie worden uitgevoerd, daar vanuit de literatuur aanwijzingen zijn dat de membraansamenstelling van mycelium en vruchtlichaam zeer sterke overeenkomsten vertonen en calcium effecten in celsuspensies beter te bestuderen zijn.

REFERENTIES

1. Sylvestre & Paulin, *Physiol.Plant.* 70(1987), 530-536
2. Droillard, Paulin, *Massot Physiol.Plant.* 71(1987), 197-202
3. Lurie & Ben-Arie, *Plant Physiol.* 73(1987), 636-638
4. Burger, De Swardt, Engelbrecht *S.Afr.J.Bot.* 52(1982), 195-202
5. Borochof, Mayak, Broun, *J.Exp.Bot.* 33(1982), 1202-1209
6. Shinitzky, In: *Membrane Transport in Erythrocytes* (1980)
7. Lyons, *Ann.Rev. Plant Physiol.* 24(1973),445-466
8. Hugly, Kunst, Browse and Sommerville, *Plant Physiol.* 90(1989), 1134-1142
9. Borochof & Shinitzky, *PNAS* 73(1976), 4526-4530
10. Shinitzky & Inbar, *BBA* 433(1976), 133-149
11. Bramlage, Drake & Baker, *J.Amer.Hort.Sci.* 99(1974), 376-378
12. Ferguson, Watkins & Harman, *Plant Physiol.* 71(1983), 182-186
13. Halevy & Mayak, *Horticult. Reviews* 3(1981), 59-143

14. Cooper & Bangerth, *Science* 207(1980), 19-27
15. Anderson, *Plant Physiol.* 71(1983), 333-340
16. Paliyath, Lynch & Thompson, *Phys.Plant.* 71(1987), 503-511
17. Fobel, Lynch, Thompson, *Plant Physiol.* 85(1987), 204-211
18. Borochoy, Halevy, Shinitzky *Plant Physiol.* 69(1982), 296-299
19. Ohnishi & Ito, *Biochem.* 13(1974), 881-887
20. Boss & Mott, *Plant Physiol.* 66(1980), 835-837
21. Ben-Arie, Lurie & Kende, *Plant Physiol.* 59(1977), 888-893
22. Cheung *Science* 207(1980), 19-27
23. Klee, Crough, Richman, *Ann.Rev.Biochem.* 49(1980), 489-515
24. Watterson, Iverson, Eldik, *Biochemistry* 19(1980), 5762-5768
25. Jasinski, Stemberger, Walsh & Kilara, *Food Microstruc.* 3(1984), 191-196
26. Masaphy, Levanon, Tchelet & Henis, *Appl.Env.Microbiol.* 53(1987)1132-1137
27. Crowe, Hoekstra, Crowe, Anchordoguy, Drobnis, *Cryobiol.* 26(1989), 76-84
28. Wilhelm & Wilhelnova, *Photosynthetica* 15(1981), 55-60
29. Schroeder *Progress in Lipid Res.* 23(1984), 97-113
30. Nilsen, Sagstuen, Aarnes, *J.Plant Phys.* 173(1988), 73-78
31. Moreau, Isett, Piazza, *Phytochem.* 24(1985), 2555-2558
32. Moreau, *Phytochem.* 24(1985), 411-414
33. Findlay & Evans, In: *Biological Membranes* IRL Press 1987
34. *Techniques in Lipid and Membrane Biochemistry* (1982)
35. Bowles, Quail, Morre, Hartman (1979), In: *Plant Organelles Methodological Surveys.* Reid(ed)
36. Mayak, Legge & Thompson *Planta* 153(1981), 49-55
37. Paliyath & Thompson *Plant Physiol.* 83(1987), 63-68

VEROUDERING EN VITALITEITSVERLIES

Onderwerp: Veroudering van de champignon

Looptijd: 4 jaar

DOELSTELLING

Het verkrijgen van inzicht in de (bio)chemische processen die een rol spelen bij veroudering tijdens de na-oogst fase. Speciale punten van aandacht zijn veranderingen tijdens veroudering in membraansamenstelling van het champignonweefsel die indicatief zijn voor de rol van compartimentalisatie op cellulair niveau, de histologische veranderingen die hiermee gepaard gaan, de rol van de ademhaling in relatie tot het koolhydraatmetabolisme en energietoestand op cellulair niveau en de rol van calmoduline/calcium tijdens veroudering.

FASERING

Jaar 1: Het bepalen van membraansamenstelling van vers geoogste en verouderde champignons na de oogst. Het meten van belangrijke fysiologische parameters zoals respiratie en transpiratie.

Jaar 2: Het beschrijven van de histologische veranderingen die met veroudering gepaard gaan. De rol van mannitol zowel als energiebron (ademhaling) als osmoticum (waterhuishouding). Aanzet tot onderzoek naar de rol van calmoduline/calcium. Compartimentalisatie wordt als een belangrijk gegeven beschouwd; de rol ervan bij de verouderende champignon zal nader worden onderzocht. Zo mogelijk verbreding van tot dan toe gevonden resultaten naar fungi die langzamer verouderen. Gedacht wordt aan oesterzwam en shii-take.

Jaar 3/4: Voortzetting van de opgestarte onderwerpen in jaar 2

DE INVLOED VAN MA-VERPAKKINGEN OP DE KWALITEIT VAN CHAMPIGNONS

H.W. Peppelenbos

INLEIDING

De bewaarduur van land- en tuinbouwprodukten kan worden verlengd bij een zorgvuldige instelling van de omstandigheden rond het produkt. Een juiste keuze en handhaving van temperatuur en luchtvochtigheid, maar ook van zuurstof- en kooldioxideconcentraties is hierbij van belang. Handhaven van een bepaalde luchtsamenstelling rond een produkt vindt in de praktijk plaats bij langdurige opslag van appels. Deze vorm van opslag wordt Controlled Atmosphere (CA) bewaring genoemd. Met behulp van een meet- en regelsysteem wordt de gewenste luchtsamenstelling gehandhaafd.

Ook met behulp van verpakkingen is het mogelijk de luchtsamenstelling rond een produkt, bijvoorbeeld champignons, te beïnvloeden. Hierbij spelen twee processen een rol:

- ademhaling (respiratie): een levend produkt gebruikt zuurstof (O_2) en geeft kooldioxide (CO_2) af
- diffusie: een verpakking is in beperkte mate doorlatend voor O_2 en CO_2 .

Als de O_2 -concentratie afneemt wordt de respiratiesnelheid lager. Ook hogere CO_2 -concentraties kunnen de respiratiesnelheid bij verse groenten en fruit remmen (Kader, 1986). Bij champignons bleek vooral de O_2 -concentratie van invloed op de respiratiesnelheid (Lelie et al., 1988).

In een verpakking wordt een evenwichtsituatie (constante O_2 -concentratie) bereikt als de O_2 -opname (ademhaling) gelijk is aan de O_2 -aanvulling (diffusie).

De respiratie-quotiënt (RQ; CO_2 -produktie/ O_2 -opname) ligt bij de meeste produkten tussen 0.8 en 1.2. Omdat bij alle bekende verpakkingsmaterialen de permeabiliteit voor CO_2 2 tot 6 maal hoger is dan voor O_2 (Kader et al., 1989), zal ook de CO_2 -concentratie een evenwichtsnivo bereiken als de respiratie constant is geworden.

Het is nu van belang om respiratie (totaal en RQ) en diffusie (totaal en verhouding) zo op elkaar af te stemmen dat het bereikte evenwichtsnivo in een verpakking overeenkomt met de meest optimale luchtsamenstelling. Deze wijze van bewaren wordt ook wel Modified Atmosphere (MA) genoemd, omdat de luchtsamenstelling wel wordt aangepast maar niet gecontroleerd (als bij CA). Omdat de temperatuur en de luchtvochtigheid rond de verpakking kunnen variëren, kan de evenwichtsconcentratie beïnvloed worden. Daarom is kennis nodig omtrent zowel optimale als suboptimale bewaaromstandigheden van het produkt en de eigenschappen van verpakkingsmaterialen bij verschillende omstandigheden. Overigens zal een verpakking kleine veranderingen van temperatuur en luchtvochtigheid aan moeten kunnen (de gewenste evenwichtsconcentraties moeten niet te snel gaan afwijken) om met succes in de praktijk gebruikt te kunnen worden (Prince, 1989). In een gesloten verpakking (noodzakelijk voor MA) kan een hoge luchtvochtigheid rond het produkt worden gehandhaafd. Om transpiratie/indroging van het produkt te beïnvloeden is het van belang om het dampdruktekort klein te houden. Dit dampdruktekort wordt bepaald door zowel temperatuur als luchtvochtigheid.

Een te hoge luchtvochtigheid vergroot de kans op condensatie; op het produkt kan een laagje vocht ontstaan. Dit kan de microbiële groei stimuleren (Shewfelt, 1986, Prince, 1989). De luchtvochtigheid werd in het verleden bij CA/MA experimenten vaak niet goed gemeten of gecontroleerd. Volgens Lougheed (1987) is het aannemelijk dat een deel van de positieve effecten van CA/MA aan een hogere luchtvochtigheid (in de afgesloten meetopstellingen) toe te schrijven is. Duidelijk is in elk geval dat naast het optimaliseren van zuurstof- en kooldioxide-concentraties in een verpakking ook de luchtvochtigheid binnen bepaalde grenzen moeten worden gehouden.

Praktische achtergronden

De belangrijkste kwaliteitscriteria voor champignons die door de handel en de consument worden onderscheiden zijn:

- kleur (witte hoeden zonder vlekken)
- stevigheid
- ontwikkelingsstadium (met name het gesloten zijn van de hoeden).

De champignon is een produkt dat na oogsten snel aan kwaliteit verliest. De champignon wordt bruiner, er kunnen (bacterie)vlekken op de hoed ontstaan, de stevigheid neemt af en de hoed gaat open.

De optimale bewaaromstandigheden zijn 0-1 °C en 90-95% relatieve luchtvochtigheid (Sprenger Instituut, 1987). De temperatuur in winkels is meestal 18 °C, en in koelmeubels ongeveer 8 °C. De verkoop van champignons vindt plaats in gesloten verpakkingen (bakje met folie), open verpakkingen (bakje met een deksel met gaatjes) of los. In de laatste twee gevallen zal de luchtvochtigheid rond de champignons ongeveer 60% zijn. Duidelijk is dat er geen sprake is van optimale omstandigheden. Een gesloten verpakking met een goede luchtsamenstelling zou voordelen kunnen bieden. Uit de literatuur is bekend dat lagere O₂- en hogere CO₂-concentraties de achteruitgang van verschillende kwaliteitsfactoren bij champignons vertraagt. De optimale concentraties verschillen echter per onderzoek (zie tabel 1).

TABEL 1: Literatuurgegevens optimale O₂- en CO₂-concentraties

O ₂	CO ₂	positieve invloed op	auteur
0	50	sommatie van 11 kwaliteitsfactoren	Sveine et al., 1965
1.5 tot 2	10 tot 15	stevigheid	Czapski en Bakowski, 1966
2	10 tot 12	hoedgroei, steelgroei	Nichols en Hammond, 1973
9	25 tot 50	hoedgroei, steelgroei, proteaseactiviteit	Murr en Morris, 1975b
0.1 tot 1	15	hoedopening	Isenberg, 1979
10	10	hoedopening	Salunkhe en Desai, 1984
2 tot 10	10	hoedgroei, steelgroei	Nichols, 1985
12 tot 15	6 tot 10	hoedopening, kleur (Hunter reflectiewaarde)	Burton et al., 1987

Meer onderzoek naar wat werkelijk de optimale luchtomstandigheden voor champignons zijn lijkt noodzakelijk. Een belangrijk onderdeel hierbij vormt onderzoek naar de samenhang tussen de invloed van O₂/CO₂ en luchtvochtigheid, en tussen het verloop van de verschillende kwaliteitscriteria.

Naast het handhaven van de kwaliteit is het verpakkingsonderzoek ook gericht op vervanging van de huidige verpakking van champignons. In het recente verleden werd veel gebruik gemaakt van PVC. Vanwege de belangrijke nadelen van dit verpakkingsmateriaal (ondermeer het vrijkomen van dioxines bij verbranding) wordt er gezocht naar geschikte alternatieven. Momenteel wordt polyethyleen gebruikt als folie. De eigenschappen van dit materiaal lijken echter niet optimaal te zijn voor het bereiken van de juiste MA- en luchtvochtigheidscondities. Om (nieuwe) verpakkingsmaterialen te kunnen beoordelen op hun geschiktheid is het noodzakelijk dat bekend is welke omstandigheden in een champignonverpakking gewenst zijn.

Wetenschappelijke achtergronden

Vaak wordt aangenomen dat de afname van de respiratie de belangrijkste reden is voor de positieve effecten van CA op groenten en fruit (bijvoorbeeld Ballantyne, 1989). Dit lijkt een te grote vereenvoudiging, aangezien ook groei en ontwikkeling (anatomische en morfologische veranderingen), transpiratie, ethyleenproductie en microbiologische afbraak een rol spelen bij kwaliteitsverlies van groente en fruit (Kader, 1986).

Ook voor andere processen dan respiratie is zuurstof noodzakelijk, zoals de oxidatie van fenolen. Onbekend is echter bij welke concentraties zuurstof voor deze processen beperkend wordt.

Kooldioxide lijkt de kleur, stevigheid, groei van hoed en steel, en microbiële groei op de champignon te beïnvloeden. Welke processen daarbij een rol spelen is deels bekend

(zoals de verkleuring als gevolg van PPO-activiteit). Hoe deze processen door CO₂ beïnvloed worden is echter onduidelijk. Er lijkt vooral een tekort aan kennis te zijn over het gebied tussen visuele aspecten (de kwaliteitsindikatoren) en cellulaire processen. Het is daarom van groot belang om niet alleen van concentraties rond het produkt uit te gaan, maar ook de interne O₂- en CO₂-concentraties te meten (Burton, 1974).

Verskil in optimale externe concentraties bij diverse produkten kan deels worden veroorzaakt door een verschil in diffusieweerstand tussen de omgevingslucht en de plaats waar de O₂ en CO₂ werkzaam zijn. Mogelijke oorzaken hiervoor zijn ondermeer verschillen in morfologie, anatomie en membraanweerstand.

In het algemeen wordt de diffusiesnelheid van een stof tussen twee compartimenten bepaald door het concentratieverschil en de diffusieweerstand, volgens

$$F(x) = x(a) - x(b) / R$$

$F(x)$ = flux van stof x (mg CO₂.m⁻².s⁻¹)

$x(a)$ = concentratie van stof x in compartiment a (mg CO₂.m⁻³)

R = weerstand over diffusie oppervlak (s.m⁻¹)

Voor CO₂ geldt dat onder normale luchtomstandigheden $x(a)$ (intracellulair) groter is dan $x(b)$ (buitenlucht). Als $x(b)$ hoger wordt, dan heeft dat een lagere diffusiesnelheid tot gevolg. Als de aanmaak van CO₂ (respiratie) echter niet evenveel afneemt als de afname van de afvoer, moet de interne CO₂-concentratie toenemen. Dit is ook gevonden door Burton (1974). De vraag is nu welke invloed deze hogere concentratie heeft in de cel.

De verhouding tussen intern CO₂ en extern CO₂ (Ci/Ca) in groene plantaardige weefsels in licht is normaal gesproken ongeveer 0.7. In het donker, als er geen CO₂-fixatie plaatsvindt, kan de verhouding oplopen tot ongeveer 2. Ook in niet-groene respirerende weefsels, zoals van champignon, zal deze verhouding hoger zijn dan 1. Bij lage CO₂-concentraties als 0.05% in de omgevingslucht kan de interne concentratie oplopen tot 0.10% (Ci/Ca = 2). Bij een concentratie van 10% zou de interne concentratie tot 20% kunnen oplopen.

CO₂ is een potentieel zuur gas. Omdat rond cellen zich een celwand met een waterfilm bevindt, lost het externe CO₂ op. Afhankelijk van de pH van die waterfilm, kan er H₂CO₃, H⁺ + HCO₃⁻ en/of 2H⁺ + CO₃⁺ gevormd worden. De vorm waarin het CO₂ zich bevindt is bepalend voor de manier waarop het door de celmembraan getransporteerd wordt; via diffusie en/of via ioncarriërs (Pfanzen en Heber, 1986). Afhankelijk van de buffercapaciteit van de cel, en de verschillende celorganellen, heeft een verhoogd CO₂-gehalte in de cel gevolgen voor de pH. Aannemelijk is dat bij hoge externe CO₂-concentraties de pH afneemt (verzuring).

Turner (1977) suggereert een invloed van CO₂ via de pH op de groei van champignons. Bekend is dat de activiteit van enzymen (PPO, ion-carriërs) pH-afhankelijk is.

Het is interessant om uitgaande van interne concentraties de gevonden invloeden op kleur, stevigheid en groei nog eens te bekijken. Hierbij komen diffusie, iontransport (ion-carriers) en pH (intracellulair en van waterfilm rond de cel) aan de orde.

Kleur

Bij een inleidend experiment, waarbij champignons aan hoge en lage concentraties zuurstof en kooldioxide werden blootgesteld, deed zich een opmerkelijk verschijnsel voor. Bij hoge concentraties kooldioxide (10%) bleek de buitenzijde van de hoed sterk te verkleuren. Bij lage concentraties (0.2%) bleef de buitenzijde wit. De binnenzijde van de hoed van de bij 10% CO₂ bewaarde champignons bleek echter wit te zijn, en de bij 0.2% CO₂ bewaarde geel-bruin. De PPO-activiteit in de hoed was hoger in de bij 0.2% CO₂ bewaarde champignons.

Ook Nichols en Hammond (1973) vonden bij CO₂-concentraties van 10-12% en hoger een toename van de externe verkleuring van de hoed. Zij merken verder op dat externe verkleuring niet overeen hoeft te komen met interne verkleuring.

Er bleek er geen verschil in PPO-activiteit tussen champignons die bij 2% en bij 21% O₂ bewaard werden. Dit komt overeen met Kader et al. (1989), die vonden dat de PPO-activiteit pas geremd wordt door O₂ bij concentraties rond 0%.

Deze waarnemingen leveren een aantal vragen op:

- is er een verschil in CO₂-concentratie tussen de schil en het weefsel in de hoed van de champignon?
- hoe groot is de diffusieweerstand voor gassen in de champignon?
- verandert deze weerstand in de tijd?
- heeft CO₂ invloed op de PPO-activiteit?
- wat is de invloed van pH op PPO?

Groei en ontwikkeling

De groei van de stengellengte en de hoeddiameter van (geogoste en niet geogoste) champignons is te beschrijven met een sigmoïde curve. De oogst vindt meestal plaats in het steilste deel van de grafiek (Gruen, 1963, Murr en Morris, 1975a). In een zich normaal ontwikkelende champignon nemen de lamellen sterk toe in grootte. Het drooggewicht verdubbelt bijna, zowel absoluut gezien als procentueel ten opzichte van het totale drooggewicht van de champignon (Hammond en Nichols, 1975). De lamellen zijn dus als sink te beschouwen.

Bij een geogoste champignon vindt er geen aanvoer meer plaats van substraat door het mycelium. Het koolhydraatgehalte (mannitol, trehalose, glucose) neemt binnen een dag na oogst sterk af in de lamellen, maar blijft daarna stabiel (Hammond en Nichols, 1975). Toch gaat de ontwikkeling van de lamellen gewoon door. Er moeten dus stoffen aangevoerd worden uit andere delen van het vruchtlichaam (hoed, steel).

Gevonden is dat bij hoge CO₂-concentraties de ontwikkeling geremd wordt (Isenberg, 1979, Burton et al., 1987). De groei van de hoed werd door 5% CO₂ (en hoger), en door 0% O₂ geremd. De stengelgroei werd door 0% O₂ en 25 en 50% CO₂ geremd (Murr en Morris, 1975b, Turner, 1977). Een mogelijke oorzaak van deze remming is een afname van het transport in de champignon. Deze aanname levert de volgende vragen op:

- is er een invloed van CO₂ op de permeabiliteit van de celmembraan of de ioncarriërs (bijvoorbeeld onder invloed van een pH-verandering)?
- is er een afname van te transporteren stoffen (o.a. mannitol) a.g.v. CO₂-invloed?

Een toename van de groei (van de steel) werd gevonden bij 2 en 5% O₂ en 5% CO₂ (Murr en Morris, 1975b, Turner, 1977). De gevonden groei kan niet het gevolg zijn van een toename van de turgor; na de oogst verliezen champignons juist vocht. Mogelijke oorzaken zijn:

- een andere organisatie van de hyfen
- een verandering van de hyfen zelf; ze worden langer

Voor dit laatste is het noodzakelijk dat een deel van het aanwezige materiaal anders verdeeld wordt, of dat er nieuw celwandmateriaal wordt aangemaakt. Hammond (1979) vindt dat het percentage celwandmateriaal ten opzichte van het drooggewicht toeneemt tijdens bewaring.

Chitine is een belangrijk element in de celwand van champignons (ongeveer 43%, Hammond en Wood, 1985). De productie van chitine wordt noodzakelijk geacht voor de groei van de steel en de ontwikkeling van de hoed. Wood et al. (1985) vonden dat een precursor van chitine (N-acetylglucosamine) in de celwand van groeiende stengelcellen werd ingebouwd.

Bij verouderende champignons is een toename van de protease-activiteit gevonden (Murr en Morris, 1975a en 1975b). Ze suggereren dat de eiwitten die als gevolg hiervan vrijkomen benut zouden worden voor de verdere ontwikkeling van de champignon. Het verlies aan aminozuren en eiwitten als gevolg van proteaseactiviteit lijkt inderdaad te worden gecompenseerd door een toename van de hoeveelheid chitine (Hammond, 1979).

Opvallend is verder dat bij hogere CO₂-concentraties (25 en 50%) de protease-activiteit onderdrukt werd, wat overeen kwam met een remming van de stengelgroei (Murr en Morris, 1975b).

Dit levert een aantal vragen op:

- wat is de invloed van O₂ en CO₂ op de enzymen betrokken bij chitine-opbouw en -afbraak?
- wat is de invloed van CO₂ op protease?
- hoe worden deze enzymen beïnvloedt (pH)?

Stevigheid

Champignons kennen een vrij open structuur met veel intercellulaire holtes. Een groot deel van het celoppervlak staat in verbinding met de buitenlucht. De champignon verliest na oogsten veel vocht; de specifieke vochtafgifte ligt tussen de 24 en 57.10⁻¹⁰ g(H₂O).g⁻¹(champignon).Pa⁻¹.s⁻¹ (Sprenger Instituut, 1987). Burton et al. (1987) vond na vier dagen bewaren bij 18 °C en 90-95% relatieve luchtvochtigheid (r.v.) een verlies aan versgewicht van 13.5%. Champignons die verpakt waren (in folies met verschillende hoeveelheden microporen) verloren in dezelfde tijd 3 tot 5% versgewicht.

Gormley (1969) vond in een uitdrogingsexperiment (15-21°C, r.v. onbekend) een verband tussen het droge-stof gehalte en de stevigheid (gemeten met de shear-press). Hij stelt dat de stevigheid bepaald wordt door het percentage droge-stof en de samenstelling van de droge stof. Czapski en Bakowski (1966) vonden bij 2°C en 90% r.v. een afname in de tijd van zowel het versgewicht als het droge-stof gehalte. Ook de stevigheid nam na 4 dagen af (gemeten met een 'toothed' plunjer). Onduidelijk is of het vochtverlies of de afname van de droge-stof hiervoor verantwoordelijk is. Waarschijnlijk geeft het meten van de turgescentie van de champignoncellen meer duidelijkheid omtrent de invloed van het vochtgehalte op de stevigheid.

Czapski en Bakowski (1966) vonden dat champignons die bij 10-15% CO₂ en 2% O₂ bewaard waren een kleinere afname van zowel vers- als drooggewicht (ten opzichte van in normale lucht bewaarde champignons). Ook de stevigheid nam veel minder sterk af in de tijd. De vraag is nu hoe CO₂ en O₂ de transpiratie beïnvloeden. Is dit het gevolg van een:

- invloed op de membranen?
- beïnvloeding van de structuur van de cellen/hyfen?

Naast de turgor lijkt ook de samenstelling van de celmembraan en de celwand van invloed te zijn op de stevigheid. Chitinegehalte en stevigheid kunnen met elkaar in verband worden gebracht.

Bij bewaring van champignons gedurende een aantal dagen is een toename van de stevigheid gevonden (Czapski en Bakowski, 1966, Gormley, 1969, Beelman et al., 1987). Hammond (1979) vond dat het chitine-gehalte in de celwanden na 4 dagen met 50% was toegenomen (bewaring bij 18°C). Het is interessant om zowel de relatie tussen het chitinegehalte en stevigheid te onderzoeken, als de invloed van CO₂ op het chitinegehalte (zie ook 'groei en ontwikkeling').

Modellen

Een eerste aanzet voor een MA-model is gegeven door Lelie et al. (1988). Dit (statische) model berekent de evenwichtsconcentraties O₂ en CO₂ in champignonverpakkingen bij een constante temperatuur. Bij veel produkten zal na het verpakken de temperatuur variëren (transport, opslag, winkel) en hoger zijn dan de ideale opslagtemperatuur. Een praktisch bruikbaar MA-model moet deze omstandigheden kunnen simuleren. Verder berekent het model van Lelie niet wat de invloed is van MA op de kwaliteit van de champignons.

Momenteel is er belangstelling voor een dynamisch model, om te kunnen berekenen hoe de kwaliteit in de tijd verloopt (Floros, 1990).

Ook het model van Zagory (1988) zou een basis kunnen zijn voor het te ontwikkelen MA-model. Dit model heeft echter dezelfde tekortkomingen als het model van Lelie.

In het verleden is CA/MA onderzoek aan veel verschillende soorten produkten gedaan. De centrale vraag hierbij was vooral of bewaring in CA/MA omstandigheden voordelen opleverde ten opzichte van bewaring in normale omgevingslucht. Momenteel is er steeds meer belangstelling voor de vraag hoe zuurstof en kooldioxide de kwaliteit van een produkt beïnvloeden. Onderzoek vindt dan op twee nivo's plaats. Op produktnivo wordt de kwaliteit zelf beoordeeld (kleur, stevigheid). Daarnaast worden de processen gevolgd die de kwaliteit beïnvloeden. Deze processen vinden op celnivo plaats.

Om nu beide nivo's aan elkaar te kunnen koppelen, dus om met behulp van optredende processen het kwaliteitsverloop te kunnen verklaren, ligt de ontwikkeling van een verklarend model voor de hand. Voordeel van het ontwikkelen van een dergelijk model, naast het doen van onderzoek, is dat hiaten in de kennis van het te modelleren systeem snel duidelijk worden. Dit werkt sturend op het onderzoek zelf. Bovendien kent een verklarend model een grotere algemene geldigheid dan een beschrijvend model, wat van waarde kan zijn voor CA/MA-onderzoek (en modellering) van andere produkten dan champignon.

Als simulatietaal lijkt PROSIM veelbelovend. Deze taal is in staat om zowel continue processen (groei) als discrete processen (openen hoed champignon) te simuleren.

Het lijkt zinvol om in het model als maat voor de ouderdom van de champignon het ontwikkelingsstadium te nemen en niet de absolute ouderdom (in dagen). Murr en Morris (1975a) vonden een verband tussen ontwikkelingsstadium en veranderingen in kleur en stevigheid. Hammond en Nichols (1975) vonden een verband tussen het ontwikkelingsstadium en de respiratiesnelheid.

Het is van belang om het ontwikkelingsstadium goed te kunnen meten. Tot dusver wordt dit visueel bepaald met behulp van een onderverdeling in 7 stadia (Hammond en Nichols, 1976). In

stadium 4 begint de hoed zich te openen. Nadeel hiervan is dat de voor verkoop bestemde champignons, object van dit onderzoek, stadium 2 of 3 hebben. Het zou beter zijn een objectieve maat in een groter meetgebied te hebben. Een mogelijke maat is de relatieve grootte van de lamellen ten opzichte van de hoed (bij een doorgesneden champignon). Testen waarbij beide oppervlaktes bepaald worden met computer-beeld-analyse waren veelbelovend.

Het MA-model zal uiteindelijk in staat moeten zijn om:

- aan te geven wat de optimale bewaaromstandigheden voor een produkt zijn
- aan te geven hoe de kwaliteit van een produkt verandert bij bepaalde omstandigheden
- aan te geven aan welke eisen een verpakking moet voldoen (om optimale omstandigheden rond het produkt te verkrijgen)

DOEL

Doel van dit onderzoek is het analyseren van de invloed van verschillende luchtcondities (zuurstof-, kooldioxide- en waterdampgehalte) op de verouderingsprocessen van de champignon; wat is de samenhang tussen deze processen en hoe kunnen ze worden beïnvloed.

Daarnaast wordt een model ontwikkeld dat het verloop van de kwaliteit van champignons bij verschillende omstandigheden kan aangeven. Het gaat dan met name om de invloed van de omgevingsfactoren als O₂-concentratie, CO₂-concentratie, relatieve luchtvochtigheid en temperatuur op de kwaliteit (cq verschillende kwaliteitskenmerken).

WERKWIJZE

De fasering is als volgt:

- A. Een literatuurstudie naar het produkt, CA en MA-bewaring
- B. Een studie naar bestaande modellen
- C. Het ontwikkelen van een voorlopig model:
 - selecteren van de belangrijkste elementen van het systeem
 - aangeven van de belangrijkste relaties tussen die elementen

- opstellen van hypothesen voor de experimenten
- D. Het opzetten van pilot-studies om:
- de mogelijkheden van de meetsystemen te beoordelen
 - de verwerkingsprogrammatuur voor data te schrijven
- E. Het uitvoeren van verschillende typen experimenten:
1. Het verloop van de kwaliteit bij verschillende concentraties zuurstof en kooldioxide en bij verschillende temperaturen. Het blootstellen van het produkt aan constante omstandigheden is in feite een simulatie van mogelijk op te treden evenwichtstoestanden in verpakkingen.
 2. De invloed van hoge en lage luchtvochtigheid bij verschillende temperaturen (dus de mate van indroging) op de kwaliteit

Mogelijke metingen (bij 1 en 2):

- kleur (computer-beeldanalyse)
 - ter onderbouwing van kleurontwikkeling worden metingen uitgevoerd van de activiteit van PPO
 - aantal en grootte van (bacterie-)vlekken op de hoed
 - stevigheid (instron)
 - versgewicht en drogestof-gehalte
 - groei van de hoeddiameter en de stengellengte
 - grootte van de lamellen ten opzichte van de hoed (mogelijke maat voor het ontwikkelingsstadium)
3. De respiratiesnelheid bij verschillende constante concentraties zuurstof en kooldioxide en bij verschillende temperaturen. Daarnaast wordt de snelheid waarmee de ademhaling zich aan een veranderende lichtsamenstelling aanpast onderzocht. Dit is in feite een simulatie van een produkt in een verpakking.

Mogelijke metingen:

- O₂-opname en CO₂-produktie
 - ontwikkelingsstadium
 - mannitolgehalte
4. Achtergrondonderzoek stevigheid en groei: de invloed van zuurstof en kooldioxide en de invloed van indroging (afgeleide van luchtvochtigheid, temperatuur en luchtverversing) wordt onderzocht.

Mogelijke metingen:

- ontwikkelingsstadium
- droge-stof gehalte
- stevigheid
- turgor cellen
- osmotische potentiaal
- mannitolgehalte
- pH in cel en van waterfilm apoplast

- concentraties O₂ en CO₂ in de champignon
 - chitine hoeveelheid
 - hoeveelheid en activiteit van chitinase, chitinesynthetase en protease
5. Achtergrondonderzoek kleur: op welke wijze beïnvloeden zuurstof en kooldioxide de bruinverkleuring (samenwerking Wichers).

Mogelijke metingen:

- pH
 - kleur
 - hoeveelheid substraat voor PPO (bijvoorbeeld tyrosine)
 - activiteit en hoeveelheid PPO
 - hoeveelheid 'kleurstof' (quinonen/l-dopa/melanine)
 - concentraties O₂ en CO₂ in de champignon
6. Achtergrondonderzoek microbiële groei: Omdat de microbiële activiteit bijdraagt aan de achteruitgang van de kwaliteit van champignons is het van belang deze activiteit te remmen. Uit de literatuur (Burton et al., 1987) en inleidende experimenten lijkt de microbiële groei op champignons samen te hangen met de CO₂-concentratie. Onderzoek kan worden gedaan naar de invloed van pH, CO₂, O₂, temperatuur en de hoeveelheid fenolen op de bacteriële groei (samenwerking Gorris?).
- F. Onderzoek naar de eigenschappen van diverse verpakkingsmaterialen.
- G. Ontwikkeling/aanpassing model
- H. Validatie-onderzoek; de controle van het model en de bijbehorende data door middel van een onafhankelijk experiment. Diverse verpakkingsmaterialen (die vooraf op diffusie-eigenschappen zijn geselecteerd) worden samen met champignons aan verschillende omstandigheden blootgesteld.

Mogelijke metingen:

- kleur
- aantal en grootte van (bacterie-)vlekken op de hoed
- stevigheid
- versgewicht en droge-stof gehalte
- groei van de hoeddiameter en de stengellengte
- relatieve grootte lamellen ten opzichte van de rest van de hoed

LITERATUUR

- Ballantyne A., 1989. Modified atmosphere packaging of vegetables. Acta Hort., 244, pp 153-162
- Beelman R.B., Okereke A., Guthrie B., 1987. Evaluation of textural changes related to postharvest quality and shelf life of fresh mushrooms. Proc. Int. Sym. Sci. Tech. Aspects of cultivating edible fungi, Elsevier Science Publ. B.V., Amsterdam

- Burton W.G., 1974. Some biophysical principles underlying the controlled atmosphere storage of plant material. *Ann. Appl. Biol.*, 78, pp 149-168
- Burton K.S., Frost C.E., Nichols R., 1987. A combination plastic permeable film system for controlling post-harvest mushroom quality. *Biot. Lett.*, 9, pp 529-534
- Czapski J., Bakowski J., 1966. effect of storage conditions on the quality of cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.). *Acta Agrobot.*, 39, pp 221-234
- Floros J.D., 1990. Controlled and modified atmospheres in food packaging and storage. *Chem. Eng. Prog.*, pp 25-32
- Gormley T.R., 1969. Texture studies on mushrooms. *J. Fd Technol.*, 4, pp 161-169
- Gruen H.E., 1963. Endogenous growth regulation in carpophores of *Agaricus bisporus*. *Plant Physiol*, 38, pp 352-366
- Hammond J.B.W., Nichols R., 1975. Changes in respiration and soluble carbohydrates during the post-harvest storage of mushroom (*Agaricus bisporus*). *J. Sci. Fd Agric.*, 26, pp 835-842
- Hammond J.B.W., Nichols R., 1976. Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing.: changes in soluble carbohydrates during growth of mycelium and sporophore. *J. Gen. Microbiol.*, 93, pp 309-320
- Hammond J.B.W., 1979. Changes in composition of harvested mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Phytochem.*, 18, pp 415-418
- Hammond J.B.W., Wood D.A., 1985. Metabolism, biochemistry and physiology. In: *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*, Flegg P.B., Spencer D.M. and Wood D.A. (eds), 1985 John Wiley & Sons, pp 63-80
- Isenberg F.M.R., 1979. Controlled atmosphere storage of vegetables. *Hort. Rev.*, 1, pp 337-394
- Kader A.A., 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technol.*, 40, 99-100 & 102-104
- Kader A.A., Zagory D., Kerbel E.L., 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical reviews in food science and nutrition*, 28, pp 1-30
- Lelie H.J., Maaker J. de, Otma E.C., Schets M.A.A.M., Rudolphij J.W., Sonneveld C., 1988. Ontwikkeling van een model voor MA-kleinverpakkingen voor groenten en fruit. *Sprenger Instituut Rapport no. 2356*
- Loughheed E.C., 1987. Interactions of oxygen, carbon dioxide, temperature and ethylene that may induce injuries in vegetables. *HortSci.*, 22, pp 791-794
- Murr D.P., Morris L.L., 1975a. Effect of storage temperature on postharvest changes in mushrooms. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 100, pp 16-19
- Murr D.P., Morris L.L., 1975b. Effect of storage atmosphere on post-harvest growth of mushrooms. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 100, pp 298-301
- Nichols R., Hammond J.B.W., 1973. Storage of mushrooms in pre-packs: the effect of changes in carbon dioxide and oxygen on quality. *J. Sci. Fd Agric.*, 24, pp 1371-1381
- Nichols R., 1985. Post-harvest physiology and storage. In: *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*, Flegg P.B., Spencer D.M. and Wood D.A. (eds), John Wiley & Sons, pp 195-210
- Pfanz H., Heber U., 1986. Buffer capacities of leaves, leaf cells, and leaf cell

- organelles in relation to fluxes of potentially acidic gases. *Plant Physiol.*, 81, pp 597-602
- Prince T.A., 1989. Modified atmosphere packaging of horticultural commodities. In: *Controlled/Modified Atmosphere/Vacuum Packaging of Foods*, Brody A.L. (ed), Food & Nutrition Press, Trumbull Conn.
 - Salunkhe D.K., Desai, B.B., 1984. *Postharvest biotechnology of vegetables*, Volume II. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fl.
 - Shewfelt R.L., 1986. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food Techn.*, (5), pp 70-80 & 89
 - Sprenger Instituut, 1987. *Produktgegevens groente en fruit*. mededeling no. 30
 - Sveine E., Klougart A., Riber Rasmussen C., 1965. Ways of prolonging the shelf-life of fresh mushrooms. *Mushroom Science VI*, pp 463-474
 - Turner E.M., 1977. Development of exised sporocarps of *Agaricus bisporus* and its control by CO₂. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 69, pp 183-186
 - Wood D.A., Craig G.D., Atkey P.T., Newsam R.J., Gull K., 1985. Ultrastructural studies on the cultivation processes and growth and development of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Food Microstructure*, 4, pp 143-164
 - Zagory D., Kader A.A., 1988. Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Techn.* 9-1988, pp 70-76

FASERING

- Jaar 1:**
- Ontwikkeling objectieve meetmethoden kwaliteit (kleur, stevigheid, bacterie-groei grootte)
 - Het verloop van de kwaliteit bij verschillende concentraties zuurstof en kooldioxide en bij verschillende temperaturen. Het blootstellen van het product aan constante omstandigheden is in feite een simulatie van de mogelijk op te treden evenwichtstoestanden in verpakkingen.
- Jaar 2:**
- Ontwikkeling model: relatie externe factoren - kwaliteit
 - De invloed van verschillende luchtvochtigheden bij verschillende temperaturen (beter nog: de invloed van een verschil in dampdruktekort) op de kwaliteit.
 - De respiratiesnelheid bij verschillende constante concentraties zuurstof en kooldioxide en bij verschillende temperaturen. Daarnaast wordt de snelheid waarmee de ademhaling zich aan een veranderende luchtsamenstelling aanpast onderzocht. Dit is in feite een simulatie van een product in een verpakking.
- Jaar 3:**
- Ontwikkeling model: relatie kwaliteit - interne processen
 - Achtergrondonderzoek stevigheid en groei: hoe beïnvloeden zuurstof, kooldioxide en dampdruktekort de verschillende aspecten van stevigheid (turgor, celwandsamenstelling).
 - Achtergrondonderzoek kleur: op welke wijze beïnvloeden zuurstof en kooldioxide de bruinverkleuring.

Jaar 4:

- Combinatie verpakkingsmodel en kwaliteitsmodel
- Validatie-onderzoek: de controle van het model en de bijbehorende data door middel van een onafhankelijk experiment. Diverse verpakkingsmaterialen (die vooraf op diffusie-eigenschappen zijn geselecteerd) worden samen met champignons aan verschillende omstandigheden blootgesteld.
- Aanpassing (eventueel) van het model

ENZYMATISCHE MELANOGENESE IN DE CHAMPIGNON

H.J. Wichers

SAMENVATTING

Een van de belangrijke kwaliteitsproblemen die spelen bij de bewaring en verwerking van groenten en fruit betreft de zgn. melanogenese, of ook wel bruinverkleuringsreacties.

Een waarschijnlijke verklaring voor deze verschijnselen is de enzymatische oxidatie van mono- of dihydroxyfenolen door polyfenoloxidasen (PPO's) of peroxidases.

De ontwikkeling van rassen of methodologie (voor kweek en/of bewaring) waarbij melanogenese geen of een minder grote rol speelt kan gericht zijn op een tweetal benaderingen:

1. De activiteit van de betrokken enzymen kan worden uitgeschakeld of vertraagd
2. Het contact tussen enzymen en substraten kan worden vertraagd of voorkomen.

In het project wordt de (relatieve) rol van verschillende enzymen onderzocht. Voor dit doel zijn bij het ATO reeds een aantal assay's voor de verschillende types PPO's en voor peroxidases geïmplementeerd. Het verschijnen van deze enzymen in het weefsel, in verschillende weefseltypen en eventueel op subcellulair nivo tijdens de kweek zal worden bestudeerd om inzicht te verkrijgen in de enzymatische component van de melanogenese.

Met betrekking tot de substraten voor PPO's en peroxidases wordt de kwalitatieve (HPLC, chromatografie) en kwantitatieve samenstelling (Folin-Ciocalteus reactie) van de respectievelijke pools vastgesteld. Verder wordt de verdeling van substraten over verschillende weefsels en op subcellulair nivo en de fysiologie daarvan (transport, compartimentatie) vastgesteld. Verklarend inzicht kan worden verkregen uit onderzoek naar de subcellulaire lokalisatie van substraten in relatie tot die van de betrokken enzymen.

Een strategie gericht op uitschakeling van de activiteit van PPO's of peroxidases zal worden ontwikkeld en kan fysiologisch (bijv. gericht op de toevoeging van specifieke enzyminhibitoren tijdens de kweek of op het voorkomen van de biosynthese van bepaalde substraten) of moleculair-biologisch gericht zijn (bijv. gericht op de ontwikkeling van DNA-probes voor screening tijdens de veredeling of op het uitschakelen van sleutelenzymen in de biosynthese van substraten of de voor de enzymen coderende m-RNA's m.b.v. anti-sense-DNA).

Meerjarenplanning PPO-onderzoek in Agaricus

Onderwerp: Enzymatische melanogenese van de champignon

DOELSTELLING

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

In de eerste 3 jaren zal de nadruk liggen op biochemisch en fysiologisch onderzoek naar de betrokken enzymen en hun substraten (paragrafen 1 en 2 van de taken). Twee jaar na de start van het onderzoek zullen methoden worden ontwikkeld om de bruinverkleuring zowel *in vitro* als *in vivo* te bestrijden.

Toxicologisch onderzoek naar eventuele bijwerkingen van methoden ter voorkoming van bruinverkleuring zal worden verricht wanneer dat opportuun is.

TAKEN

1 Enzymologie

- 1.1 - iso-enzym patronen van verschillende rassen
- 1.2 - Fasering van de expressie van de verschillende (iso)enzymen tijdens de ontwikkeling van de champignon
- 1.3 - Remming van de verantwoordelijke enzymen (*in vitro* en *in vivo*)
- 1.4 - Verdeling van de verschillende (iso)enzymen over de weefsels van de champignon, ook tijdens de ontwikkeling
- 1.5 - Subcellulaire lokalisatie van de (iso)enzymen, ook tijdens de ontwikkeling
- 1.6 - Isolatie en karakterisering van één of meerdere van de verantwoordelijke enzymen (zowel bio-(MW, kinetiek enz.) als fysisch-chemisch (ESR, evt. NMR aan zuivere enzymen, enzym/substraat en aan enzym/inhibitor-komplexen)

Beantwoording van deze vragen legt de basis voor zowel een fysiologische als een moleculair-biologische benadering van de problematiek.

2 Endogene substraatpools

In het bijzonder zal de subcellulaire lokalisatie van de substraten in relatie tot de subcellulaire lokalisatie van de enzymen aandacht krijgen. Zowel voor dit aspect als voor de bepaling van de subcellulaire enzym-lokalisatie moeten dus celfractioneringsmethoden worden ontwikkeld:

- 2.1 - Ontwikkeling van methoden voor isolatie en karakterisering van subcellulaire fracties van *Agaricus*

De kwalitatieve en kwantitatieve samenstelling van de substraatpools tijdens de ontwikkeling van de champignon zal worden gevolgd.

- 2.2 - De kwalitatieve samenstelling van de substraatpools kan worden onderzocht met behulp van HPLC met m.n. elektrochemische detectie en met behulp van papier elektroforese of dunne laagchromatografie met detectie met behulp van PPO's
- 2. - De kwantitatieve samenstelling is te meten met bijvoorbeeld het Folin-Ciocalteu's-reagens.

3 Remming van melanogenese in vivo: verlaging van de enzymactiviteit

3.1 Fysiologisch

- 3.1.1 - Kiezen van dusdanige kweekcondities dat er minder van de betreffende enzymen wordt aangemaakt (bijv. op media met laag kopergehalte).
- 3.1.2 - Kweken op media waaraan (niet-toxische) remstoffen zijn toegevoegd. Geschikte remmers worden in eerste instantie geselecteerd uit *in vitro*-assays en zullen vervolgens worden onderzocht op hun *in vivo*-effektiviteit. Deze experimenten zullen in eerste instantie worden uitgevoerd m.b.v. *in vitro*-gekweekt mycelium.

3.2 Moleculair-biologisch

Er zijn in principe twee routes om de genen voor de verantwoordelijk enzymen in kaart te brengen:

- 3.2.1 - Op basis van (een gedeelte van) de aminozuurvolgorde van een gezuiverd enzym kan een DNA-probe worden geconstrueerd die kan worden gebruikt om d.m.v. hybridisatie-experimenten het mRNA of het betreffend enzym uit een restrictie-enzymdigest te isoleren;
- 3.2.2 - M.b.v. antilichamen tegen het betreffend enzym kan een expressiebank van de mRNA-pool worden gescreend zodat polysomen kunnen worden geïsoleerd.

4 Toxicologie

- 4.1 - Screening remstoffen en/of behandelde champignons op toxiciteit (vnl. Ames-test)
- 4.2 - Screening reactieproducten van PPO met substraten op toxiciteit.

FASERING

Jaar 1-2,5:

- Taak 1 (enzymologie): subtaken 1.1, 1.2, 1.3, 1.6
- Taak 2 (substraten): 2.3

Jaar 2-3:

- Taak 1: 1.1, 1.4, 1.5, 1.6
- Taak 2: 2.1, 2.2

Jaar 3-4:

- Taak 1: 1.1, 1.5, 1.6
- Taak 3
- Taak 4

De momenteel beschikbare menskracht (in totaal ± 0.75 fte) laat niet toe dat bovenstaand programma in z'n geheel in 4 jaar wordt uitgevoerd. De prioriteit wordt daarom momenteel bij taken 1 en 2 gelegd. Door het indienen van (deel)projecten bij subsidierende instanties (Min. van EZ, EG etc.) wordt getracht versterking voor het onderzoek te realiseren. Ondersteuning vanuit het bedrijfsleven is hierbij van groot belang.

ONDERZOEK NAAR FAKTOREN DIE BEPALEND ZIJN VOOR DE VERWERKINGS- VERLIEZEN VAN CHAMPIGNONS

E. Schijvens

Onderwerpen: Technologische, Histologische en (Bio)-chemische aspecten bij de verwerking van champignons

Looptijd : 4 jaar

DOELSTELLING

Onderzoek naar de eigenschappen van de champignon en de procesomstandigheden tijdens de verwerking, die effect hebben op het verwerkingsverlies. Kennis van de factoren die voor het verwerkingsverlies van belang zijn kan:

1. Een leidraad zijn bij het kiezen van de teeltomstandigheden en de ontwikkeling van rassen die minder verlies bij de verwerking hebben
2. Optimalisatie van het verwerkingsproces mogelijk maken
3. De ontwikkeling van nieuwe champignonprodukten stimuleren

INLEIDING

Bij verwerking van champignons treedt ongeveer 40 % gewichtsverlies op. Dit verlies is afhankelijk van de grondstof en de procesvariabelen. Veel onderzoek is gedaan om de effecten van allerlei variabelen (procesomstandigheden, ras, teelt) op dit verlies vast te stellen. Relatief weinig onderzoek is uitgevoerd om de optredende effecten te verklaren. Het onderzoek is erop gericht de effecten te verklaren die grondstof-eigenschappen en proces-variabelen hebben op het gewichtsverlies van de champignon. Dit zal gebeuren door een aanpak vanuit verschillende invalshoeken die moet resulteren in een modelmatige benadering. Verklaringen van de effecten zullen leiden tot criteria voor de ontwikkeling van nieuwe rassen en/ of teeltmethoden in combinatie met verwerkingsmethoden.

I Onderzoek naar de voorspellende waarde van "kookproeven" voor de gewichtsverliezen bij verwerking

Doel: Het vaststellen van die kookbehandeling die tijdens het verdere onderzoek model staat voor de standaard verwerkingsprocedure, waarmee door metingen aan de grondstof het verwerkingsrendement voorspeld kan worden.

Uitvoering: Een statistisch relevant aantal partijen (ca 25), met verschillende verwerkingseigenschappen wordt onder standaardomstandigheden ver-

werkt. Daarnaast worden diverse kookbehandelingen uitgevoerd die in meer of mindere mate vergelijkbaar zijn met het standaard verwerkingsproces.

Uit regressie analyse moet blijken welke kookbehandelingen de beste relatie vertonen met het standaard verwerkingsproces.

II Histologisch onderzoek

Doel: Op grond van de drie-dimensionale opbouw van het weefsel, voor en na de bewerking, het geven van een kwalitatieve en kwantitatieve verklaring omtrent de verschillen in gewicht-verlies, zoals die bestaan tussen rassen, teeltmethoden en de ontwikkelingsstadia in relatie tot de verwerkingsmethoden en processen.

Het te gebruiken monstermateriaal bestaat uit:

1. Drie type paddestoelen: Shiitake, Franse grotchampignon, gewone champignon
2. Diverse vluchten en bewaarstadia
3. Monsters afkomstig uit diverse stadia van verwerking

Uitvoering:

- Lichtmicroscopie: Vaststellen van de vorm, grootte en onderlinge ligging van de hyfen.
- Electronenmicroscopie: Vaststellen van de orientatie van chitine microfibrillen. De wijze waarop de chitine microfibrillen georiënteerd liggen heeft te maken met de starheid en rigiditeit van de hyfen. (Vermeulen Ultramicroscopy, 1987, Mendoza 1987).
EM foto's met diverse voorbehandelingen om polysacchariden in netwerk op te lossen.
- Confocale Scanning Laser Microscoop: In vivo onderzoek van de ruimtelijke structuur en driedimensionale structuur van de champignon. Lengte, diameter, van de hyfen en de ligging ten opzichte van elkaar (bundels, crosslinks). Vorm en grootte van de poriën tussen de hyphen. De beelden van de CSLM opname zullen met CBA worden bewerkt om grootte en aantal van hyfen en poriën te kwantificeren.

III Chemisch onderzoek naar de celwandsamenstelling

Doel: Door het bestuderen van de celwandsamenstelling verklaringen te vinden voor de verschillen in gewichtsverliezen tussen rassen, teeltmethoden en verwerkingsvarianten.

Uitvoering: De celwanden van schimmels zijn opgebouwd uit een buitenlaag van wateroplosbare glucanen van zeer uiteenlopende samenstelling. Daaronder bevindt zich een vrij dikke laag van in heet water of alkali oplosbare

componenten zoals beta-glucanen. Het dichtst bij de plasma membranen liggen de chitine fibrillen ingebed in een amorfe matrix van beta-glucanen. De in koudwater en de in heetwater oplosbare fracties zijn waarschijnlijk belangrijk voor de gewichtsverliezen tijdens de verwerking. Deze celwand fracties zullen worden geïsoleerd door middel van verschillende voorbehandelingen (koud water, heet water, zuur en alkali behandelingen) en met behulp van GC/HPLC worden onderzocht op hun suiker samenstelling.

De verhouding tussen chitine en beta-glucanen zal waarschijnlijk een relatie hebben met de rigiditeit van de hyfen en daarmee met de gewichtsverliezen. Dit zal van de verschillende typen paddestoelen (Shiitake, Franse grotchampignon en gewone champignon) worden bepaald. De samenstelling van de celwand, zoals de hoeveelheid celwand gebonden eiwit (glycoproteïns) welke van invloed zal zijn voor het waterbindend vermogen van de champignons, zal worden bepaald.

IV Onderzoek rigiditeit en flexibiliteit, elasticiteit voor en na turgor verlies

Doel: Het vinden van directe relaties tussen de chemische samenstelling van de celwanden (hoeveelheid chitine), het voorkomen en orientatie van de chitine microfibrillen en de mechanische eigenschappen van het weefsel. Anderzijds, het vinden van de relaties tussen de mechanische eigenschappen van het weefsel en de gewichtsverliezen bij verwerking.

Uitvoering: Het is waarschijnlijk dat de stevigheid van de hyfen nadat de turgor t.g.v. verhitting is weggefallen, een belangrijke factor is bij het gewichtsverlies van champignons. Uit textuur metingen (elasticiteit en relaxatie tijd) aan champignons/paddestoelen die uiteenlopen in gewichtsverliezen en van behandelingen die invloed hebben, zal worden vastgesteld of de rheologische eigenschappen, verband houden met verschil in gedrag tussen rassen en bewerking. Ook zullen de eventueel bij het verhitten optredende krachten (actieve of passieve krimp) worden bepaald.

V Modelmatige ondersteuning (samenwerking Tijskens, Timmermans)

Doel: Uit de modelmatige ondersteuning moet blijken welke aspecten waar en wanneer en in welke verhouding van belang zijn of verklarend zijn voor het gewichtsverlies tijdens de verwerking.

Uitvoering: Voor de modelmatige ondersteuning zal de champignon worden beschreven als een spons van hyfen met lucht als continue fase (open systeem) dat in staat is omringend vocht op te nemen of eigen vocht af te staan. Een systeem met een 3 dimensionale structuur waarbij de constructie, porositeit en rigiditeit (celwand en textuur onderzoek) en het waterbindend vermogen (chemisch samenstelling celwand) in onderlinge samenhang het gewichtsverlies bepalen.

een 3 dimensionale structuur waarbij de constructie, porositeit en rigiditeit (celwand en textuur onderzoek) en het waterbindend vermogen (chemisch samenstelling celwand) in onderlinge samenhang het gewichtsverlies bepalen.

FASERING

- Jaar 1:**
- Doorlichten van het verwerkingsproces om vast te stellen welke proces stappen relevant zijn in het verwerkingsverlies, doormiddel van Technologisch onderzoek
 - Inventariseren welke eigenschappen van de champignon belangrijk zijn voor verwerkingsverlies doormiddel van Histologische en Biochemisch onderzoek
- Jaar 2/3:**
- Achtergrondsonderzoek ter verklaring van de effecten die de relevante processtappen veroorzaken
 - Inpassen van de gunstige processtappen in het verwerkingsproces op Pilot-plantniveau
 - Achtergrondsonderzoek ter verklaring van de effecten die de relevante eigenschappen van de champignon hebben op het verwerkingsverlies
- Jaar 4:**
- Opschalen van de verwerkingslijn waarin de rendementsverhogende processtappen zijn opgenomen
 - Relatie leggen tussen de voor het verwerkingsverlies relevante eigenschappen van de champignon met teeltomstandigheden en rassenkenmerken

VERWERKINGSONDERZOEK CHAMPIGNON

G.J.M. van Laarhoven

Onderwerp: Ontwikkeling van champignonprodukten

Looptijd: 4 jaar

DOELSTELLING

Ontwikkelen van technologieën om champignonprodukten te maken met behoud van karakteristieke champignon-eigenschappen.

Probleemstelling, aard en doel der activiteiten

Er bestaat slechts een geringe verwerking van champignons buiten het bekende gebied van de conserven, half conserven, diepvries. Uitbreiding van het assortiment van champignonsprodukten is gewenst om een breder afzetgebied te hebben en daardoor de afzet te vergroten. Champignonprodukten bestaan grotendeels uit verwerkte champignons waaraan een hoeveelheid andere ingrediënten is toegevoegd om specifieke eigenschappen te bereiken en eventueel de grondstofprijs te verlagen.

Nieuwe produkten die perspectieven bieden zijn "convenience foods" als snacks en produkten voor garnering. Eigenschappen van deze produkten zijn : kant-en-klaar of eenvoudig te bereiden en te consumeren, een lekker en gezond imago en een aantrekkelijk uiterlijk. Door de hoge grondstofprijs van champignons zal een het imago die van een specialiteit zijn, in een verpakking van een beperkte hoeveelheid.

Doel van het project is het ontwikkelen en onderzoeken van basistechnologieën waarmee champignonprodukten gemaakt kunnen worden.

Een voorwaarde om dit te bereiken is kennis omtrent de samenstelling en de structuur van grondstof en het eindprodukt. Onderzocht worden de mogelijkheden tot het behouden van karakteristieke eigenschappen als de oorspronkelijke structuur, uiterlijk en smaak en het scheppen van nieuwe eigenschappen, overeenkomstig oorspronkelijke eigenschappen.

Motivering en te verwachten effecten

Er bestaat een tendens om te streven naar gezondere voeding en voedingsmiddelen. Voorbeelden vormen vegetarische produkten met een lager vet- en cholesterolgehalte. Het verwerken van champignons met een hoog eiwitgehalte en lage energieinhoud biedt mogelijkheden in produkten, die een imago van gezond en lekker bezitten. Door toepassing van nog te ontwikkelen of verbetering van bestaande processen kunnen nieuwe champignonprodukten, waarvoor een markt is, geproduceerd worden. Door succesvolle produkten zal de afzet van champignons toenemen.

Werkwijze

Grondstof

De eisen die aan de champignons gesteld kunnen afwijken van die, gesteld aan de verse afzet gesteld worden. Voor produkten met een coating is bijvoorbeeld de kleur minder van belang en is en door snijden kunnen de oorspronkelijke afmetingen veranderd worden. Het is mogelijk een geheel verkleinde champignon als grondstof te gebruiken. Deze produkten worden in bepaalde gevallen gemengd met "neutrale" basis-grondstoffen als zetmeel en bloem, noodzakelijk om extrusie mogelijk te maken en als structuurvormend materiaal te fungeren of de prijs te verlagen.

Produkten en technieken

Om nieuwe technieken te ontwikkelen en te onderzoeken wordt een breed scala van mogelijkheden bestudeerd. Een indeling is mogelijk naar belangrijke produkteigenschappen en gehanteerde technieken.

Een eerste indeling is op droge stof gehalte, met produkten die binnen ruime grenzen het oorspronkelijk vochtgehalte bezitten en produkten die grotendeels gedroogd zijn. Een tweede indeling is op structuur, die of oorspronkelijk is of deels veranderd. Als laatste worden produkten ingedeeld op samenstelling die of grotendeels oorspronkelijk is of waaraan nieuwe componenten zijn toegevoegd.

Om eigenschappen van de grondstoffen en de eindprodukten te onderzoeken wordt gebruik gemaakt van methoden om de structuur te bestuderen en vast te leggen als CSLM en NMR Imaging. Voor de aroma's en eventueel de kleur zal soortgelijk onderzoek plaatsvinden. Daarnaast zullen fysische metingen en sensorisch onderzoek nodig zijn om de kwaliteiten van de produkten vast te stellen.

LITERATUUR

Roberts, B.A. Crisp Fruit or Vegetable snack product and process.

FASERING

- Jaar 1:**
- optimaliseren van de werkwijze voor een gefrituurd, diepgevroren champignonprodukt
 - vaststellen van invloed van processtappen op rendement, structuur en sensorische eigenschappen
 - sensorische beoordeling opzetten
- Jaar 2/3:**
- bestuderen van andere mogelijke produkten en optimaliseren van de werkwijzen
 - onderzoek naar de achtergronden van invloed van processen als blancheren en vriezen op de produkteigenschappen
 - ontwikkelen van methode voor textuurmeting en vastleggen structuur gegevens
 - opzet van modelbeschrijving waarin relatie champignon-proces-cham-

- Jaar 4:**
- pignonprodukt beschreven wordt
 - uitwerken van optimale technologieën om volwaardige produkten te maken
 - verklaring en modelleren van invloed van processtappen op eigenschappen van het eindprodukt

KOELEN EN BEWAREN VAN CHAMPIGNONS

J.W. Rudolphij

BESCHRIJVING

Het produkt champignon komt met een temperatuur van ca. 18 oC in de afzetketen en zou bij voorkeur direct na de pluk afgekoeld moeten worden. Kosten en op dat moment beschikbare tijd maken dit voornemen vrijwel onhaalbaar, zodat elders in de afzetkanalen het gewenste afkoelproces moet worden ingepast. In het bijzonder voor de weekenden en perioden met feestdagen moet worden voorzien in opslagkoeling. De champignon behoort tot de bederfelijke produkten, die op dagbasis aan de detailhandel worden geleverd. Dit impliceert, dat de beschikbare tijd voor koelen in de afzetkanalen beperkt is; in het bijzonder wanneer koelprocessen zijn gebonden aan verzamelen en overslagpunten in de kanalen. Wanneer ook de transporttijd voor koeling beschikbaar komt ontstaan ruimere mogelijkheden. Tegen deze achtergrond is er behoefte aan inzicht in het effect van verschillende mogelijke koelprocessen en koelinrichtingen bij champignons. Criteria daarvoor zijn: koeltijd, optredend vochtverlies, kans op bruinverkleuring van het produkt. Omdat verdamping van water uit het produkt een belangrijk deel van het koeleffect uitmaakt staan koeltijd en vochtverlies in relatie tot elkaar. Zo ook koeltijd en warmteoverdrachtsvermogen. Laatstgenoemde wordt voornamelijk bepaald door produkt, produktgrootte (i.c. bulkdichtheid), grootte van de transportéénheid, openheid van de verpakking, luchtsnelheid. Voor bestudering van het gecombineerd effect van deze keuzefactoren is inmiddels een koelruimtemodel, in een vergevorderd stadium van ontwikkeling, aanwezig. Het resultaat van voorgenomen koelproeven zal tevens dienen ter verificatie van dat model.

DOELSTELLING

Een koelproces zal in de praktijk gemakkelijker kunnen worden ingepast in de handelingen binnen een afzetketen wanneer de koeltijd kort is. Het doel van het onderzoek is dan ook te komen tot koelprocessen met een korte koeltijd. Het feit, dat de gevoeligheid van champignons voor bruinverkleuring toeneemt in een omgeving met hoge luchtsnelheid, is voor het uitvoeren van afkoelprocessen een complicerende factor. Tegen deze achtergrond is er behoefte aan inzicht in het effect van verschillende mogelijke koelprocessen en koelinrichtingen bij champignons.

WERKWIJZE

1. - serie koelproeven gericht op het verschil in effect van koelen d.m.v. verdampers en waterlucht-warmtewisselaars (open verpakking; natte en droge koelcel Bomse steeg).
2. - serie koelproeven gericht op het effect van luchtsnelheid en opstelling van trans-

portéénheden ten opzichte van de richting van de luchtstroom (open verpakking; bloembollencel).

3. - serie koelproeven gericht op het effect van openheid van verpakkingen (één , twee opstellingen; bloembollencel)
4. - serie koelproeven gericht op het effect van vacuumkoeling en in het bijzonder op beperking van het vochtverlies bij dat proces (ATO- proefinstallatie en praktijkinstallatie)
5. - serie koelproeven gericht op het effect van de sturing van de verdampers bij opslagkoeling (bloembollencel)
6. - ten behoeve van de verificatie van het koelruimtemodel bepaling van de warmteproductie (indirect via ademhalingsbepalingen) en vochtafgiftetefficiënt (klimaatkast) van champignons als functie van temperatuur respectievelijk luchtsnelheid, dampdrukdeficit, veroudering van het produkt. Gerekend wordt op aansluiting, wat betreft deze bepalingen, bij proeven binnen andere projecten van de afdeling.

FASERING

Jaar 1: Aanpassing van het koelruimtemodel KOBA voor toepassing bij champignons. Het koelcelmodel KOBA wordt uitgebouwd door opname van meerdere typen warmtewisselaars (verdampers, water-lucht-warmtewisselaar, glycol warmtewisselaar, elektrische verwarming).

Eind 1991 wordt een begin gemaakt met een serie van 10 koelproeven gericht op het verschil tussen koeling met droge lucht (verdampers) en met hoog vochtige lucht (water-lucht-warmtewisselaars) op de koeltijd en de bruinverkleuring van champignons. Tegelijkertijd wordt de relatie luchtsnelheid - luchtvochtigheid - mate van bruinverkleuring experimenteel bepaald. Devolledige set meetgegevens zal in 1992 beschikbaar komen voor uitwerking.

Resultaat : KOBA model dat voor afkoelprocessen geeft : koelvermogen, temperatuurverloop van produkten bij onbeperkt of beperkt koelvermogen, koeltijd, vochtverlies, energieverbruik.

Jaar 2 : Meting van effecten en het verzamelen van fysische kentallen voor invulling van het KOBA model. Ten eerste betreft dit het effect van de luchtvochtigheid op het koelproces en de produkt-kwaliteit; proeven gericht op het verschil in effect van koelen d.m.v. verdampers en water-lucht-warmtewisselaars. Ten tweede het effect van luchtsnelheid en openheid van verpakkingen. Ten derde enkele koelproeven gericht op het effect van vacuumkoeling; in het bijzonder op beperking van het vochtverlies bij dat proces.

Jaar 3 : Uitwerking en verificatie van modelresultaten.

LITERATUUR

Rüdiger, E.: Lagerung von Champignons bei Naszkühlung. Der Champignon, juli (1990), 24 - 25.

Klein, Alb. GmbH & Co.: Kühlung von erntefrischen Champignons unter Vakuum. Der Champignon, juli (1990), 20 - 21.

Rudolphij, J.W.: Koelinstallatie en produktkwaliteit. Koeltechniek nr. 3, maart (1988), 9 - 15.

CHAMPIGNONS; CBA EN UITWENDIGE EN INWENDIGE KWALITEIT

Bauke van Zwol

BESCHRIJVING

De uitwendige kwaliteit van verse champignons wordt in eerste instantie gekenmerkt door uitwendige aspecten als kleur en verkleuringen, grootte en vorm. De inwendige kwaliteit lijkt voor de afzet geen problemen op te leveren (Boerrigter, Rudolphy 1991). Een destructieve bepaling van inwendige aspecten (kleur en stadium lamellen) is voor fysiologisch onderzoek nodig (Peppelenbos).

De kleur van de hoed en eventuele verkleuringen op de hoed zijn de belangrijkste kwaliteitskenmerken van de Nederlandse champignon. Het meten van de kleur en de verkleuringen is mogelijk via het grijswaarden niveau van de champignons in de zwart/wit opname, mits de opnameomstandigheden hierbij exact constant gehouden worden. De grootte en vorm van de hoed, de lengte van de steel, gevliedheid en de mate van hoedopening is een kwaliteits aspect van belang voor het indelen van de champignons in kwaliteitsklassen. Voor het goed uitvoeren van deze metingen is de positie van de champignon erg belangrijk.

Voor het fysiologisch onderzoek en voor de beoordeling van verwerkte champignons zijn vooral de kleur, vorm en grootte van de lamellen van belang. Met CBA kunnen deze aspecten objectief worden vastgesteld.

Een goede en objectieve beoordeling van de kwaliteit van champignons bij de handel op veilingen en bij de levering aan de industrie zal de gehele afzetketen ten goede komen. Met een te ontwikkelen kwaliteitscontrole apparaat moeten uiteindelijk deze metingen ook onder praktische omstandigheden kunnen worden uitgevoerd.

WERKWIJZE

Op basis van het in 1990 uitgevoerde onderzoek naar de kleur en verkleuringen op de hoed van de champignon, zal het onderzoek worden voortgezet met:

- metingen aan afzonderlijke champignons
- metingen aan schijfjes champignon, voor de inwendige kwaliteit
- metingen aan veilingbakjes of champignons in bulk

Voor het uitvoeren van deze metingen zal een meetopstelling worden ontwikkeld waarin de vereiste constante opname omstandigheden kunnen worden gerealiseerd.

Voor het bepalen van de inwendige kwaliteit zijn de grootte, vorm en kleur van de lamellen van belang. Ook bij deze kleurmetingen zijn constante opname- omstandigheden vereist. Voor het vaststellen van de kwaliteitskenmerken zullen meetroutines worden ontwikkeld.

Voor het onderzoek naar de overige kwaliteitsaspecten, zoals de vorm en grootte van de hoed, de lengte van de steel, gevliedsheid en mate van hoedopening zullen meetroutines worden ontwikkeld, waarbij in de beeldopname de champignons reeds op de juiste wijze zijn neergelegd.

Om ook onder andere omstandigheden goed te kunnen meten is het nodig de juiste positie (ligging van de champignon) te kennen.

Ook hiervoor zal een meetroutine moeten worden ontwikkeld voordat een goede meting kan worden uitgevoerd.

Bij metingen aan champignons in veilingkistjes of in bulk zal naast optimalisatie van belichting en bepaling van de positie van de champignon, door combinatie van opnames uit meerdere posities onderzocht worden of er op deze wijze uitspraken kunnen worden gedaan over de kwaliteit van de champignons.

FASERING

Juni 1991: - realisatie van meetopstellingen voor het meten van kleur en verkleuringen bij champignons.

Resultaat:

- flexibele belichtingskast voor uniforme belichting
- calibratieroutines voor belichting

Dec 1991: - ontwikkelde meetroutines voor het uitvoeren van kleurmetingen aan afzonderlijke champignons.

Juni 1992: - ontwikkelde meetroutines voor het positie onafhankelijk beoordelen van hoeddiameter, steellengte en -dikte, mate van hoedopening

Dec 1992: - ontwikkelde meetroutines voor het gecombineerd meten van kleur en verkleuringen, afmetingen van hoed en steel. (routinematig meten van vrijliggende champignons)

Juni 1993: - uitspraken over principiële oplossingen voor het meten van champignons in bulk, zoals twee-zijdige belichting of opnames vanuit verschillende cameraposities.

Dec 1993: - beschrijving van een meetopstelling voor kwaliteits-beoordeling van champignons.

LITERATUUR

- (1) Sathoe J.: **Kwaliteitsverandering in partijen champignons in opslag als functie van tijd en bewaaromstandigheden**; SI-rapport 1943; Wageningen 1976
- (2) **Productgegevens groente en fruit**; SI-mededeling 30; wageningen 1987

DSS STRATEGISCHE PLANNING VOOR CHAMPIGNONS

R.A.C.M. Broekmeulen

BESCHRIJVING

Probleemstelling

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

Doelstelling

Doel van dit project is het bestuderen van de bestaande en alternatieve afzetketens voor champignons in het kader van een integrale goederenstroombesturing. Hiervoor zal op een termijn van 4 jaar een beslissingsondersteunend systeem (BOS of Decision Support System, DSS) voor beleidsmakers in de sector worden ontwikkeld. Met behulp van het beoogde DSS moet een beleidsmaker vragen over de integrale goederenstroom kunnen analyseren en oplossen.

Aspecten van de afzetketens waaraan wordt gedacht zijn het vergroten van de exportactieradius van het verse produkt zodat nieuwe afzetmarkten kunnen worden bereikt en het verdringen van concurrenten op die verre markten door het realiseren van een goede prijs/kwaliteitverhouding. Dit laatste aspect vraagt inspanningen van de hele sector op het gebied van kwaliteitsverbetering en kostenminimalisatie (o.a. door het inzetten van optimale koeltechnologie en het introduceren van nieuwe verpakkingen).

Het DSS zal voor dit doel worden uitgerust met de nieuwste modellen en technieken uit de OR en de AI, toegesneden op de champignonsector.

WERKWIJZE

In het onderzoek staat het aantonen van de mogelijkheden voor de sector van een strategisch DSS voorop. Dit betekent dat er zo spoedig mogelijk begonnen wordt met het bouwen van prototypes die de resultaten van het wetenschappelijke onderzoek naar bruikbare modellen op een inzichtelijke wijze kunnen vertalen naar de mensen in de praktijk. Tijdens het ontwerp en de implementatie van het beoogde DSS zal waar nodig aanvullend meer theoretisch, fundamenteel gericht onderzoek worden uitgevoerd om de validiteit van de resultaten van de modellen te kunnen onderbouwen. In dit kader past ook het ontwikkelen van gereedschappen op het gebied van de wiskunde en de informatietechnologie. Deze methoden en technieken dragen er zorg voor dat complice-

rende factoren zoals wisselende kwaliteit en bederf succesvol ingepast kunnen worden in het sectormodel en dat de modellen waar het DSS op rust kan worden doorgerekend (middels simulatie en/of optimalisatie).

Om te voorkomen dat het onderzoek de voeling met de praktijk verliest, zal regelmatig overleg moeten plaatsvinden met de opdrachtgevers en andere belanghebbenden in de sector. Dit heeft naast een sturend effect ook een positieve uitwerking op de betrokkenheid van beleidsmakers (lees: gebruikers) bij het eindproduct. Daarnaast zal gedurende het gehele project continue informatie moeten worden uitgewisseld met collega onderzoekers.

FASERING

Aan de hand van de inventarisatie van de structuur en werkwijze van de afzetketen van champignons door H.A.M. Boerrigter en J.W. Rudolphij zal het eerste half jaar een uitgebreide probleem-analyse worden uitgevoerd. De benodigde gegevens voor de analyse zullen worden verkregen uit rapporten over de sector, publicaties in vakbladen en gesprekken met deskundigen.

Juni 1991: oplevering probleemanalyse

In een tweede fase die ongeveer één jaar in beslag zal nemen wordt een elementair model gebouwd waarmee de goederenstroom van champignons in de gehele sector (integraal) kan worden beschreven en geanalyseerd. Het (wiskundige) model van het afzetkanaal voor het verse produkt dat eerder werd ontwikkeld kan hierbij als eerste aanzet voor de modellering dienen.

December 1991: presentatie modelaanpak
start van de ontwikkeling van een prototype

Juni 1992: oplevering uitgebreide modelbeschrijving plus eventuele aanpak oplossing
Zo spoedig mogelijk na het beschikbaar komen van een hanteerbaar model zal begonnen worden met het ontwikkelen van een prototype voor de Integrale Goederenstroom Besturing van Champignons (IGB_C). Het nut van een prototype is tweeledig:

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

December 1992: demonstratie van de eerste versie van het prototype

Parallel aan de ontwikkeling van het prototype, dat beperkt in omvang en mogelijkheden zal zijn, zullen de diverse onderdelen van het sectormodel geïmplementeerd worden in het beoogde DSS. De geschatte duur van deze derde fase is twee jaar. Ieder half jaar zullen er echter nieuwe, verbeterde versies van het prototype beschikbaar zijn

zodat de sector voldoende mogelijkheden houdt om het ontwikkeltraject bij te sturen. De op- en aanmerkingen op het prototype zullen, indien mogelijk, verwerkt worden in het uiteindelijke ontwerp van het DSS.

Juni 1993, december 1993: oplevering van verbeterde versies van het prototype
Juni 1994: oplevering van het DSS met een hoge functionaliteit

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

December 1994: presentatie eindrapport

LITERATUUR

Anghem, A.A. (1989) "Modelling by Example: Neue Wege zur Entscheidungsunterstützung mittels interaktiver Modellierung", Dissertation ETH Nr. 8864.

Broekmeulen, R.A.C.M. (1990) "LUst: de uitwerking van een eenvoudige wens", *Agro-Informatica* 3,1:22-24.

Can, H.J.L. van (1990) "Modellering van de afzetketen van champignons", *Afstudeerverslag LUW*.

Eglese, R.W. (1990) "Simulated Annealing: A Tool for Operational Research", *EJOR* 46:271-281.

Glover, F. & Greenberg, H.J. (1989) "New approaches for heuristic search: A bilateral linkage with artificial intelligence", *EJOR* 39:119-130.

Goldberg, D.E. (1988) "Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning", Addison-Wesley.

Hillier, F.S. & Lieberman, G.J. (1990) "Introduction to Operations Research", McGraw-Hill, 5th edition; p16-25.