



# Desinfecteren van bloembollen en proceswater

PPS Het Nieuwe Verwerken van bloembollen – Onderzoek 2016-2019

Rapport WPR-934



## **Referaat**

In het project Het Nieuwe Verwerken heeft Wageningen University & Research met consortiumpartners gekeken naar alternatieve methoden voor desinfectie van bloembollen, proceswater, apparatuur en fust. Er zijn verschillende middelen en methoden onderzocht. Ozon, Jet 5 en waterstofperoxide lijken, om uiteenlopende redenen weinig perspectief voor desinfectie van bollen en proceswater te hebben. Superkritische CO<sub>2</sub> en koud plasma zijn interessante technieken, maar de ontwikkelingskosten staan toepassing in bloembollen voorlopig in de weg. Voor UV is een goede vertaling naar een in de praktijk werkende toepassing nodig. ECA-water is een techniek welke klaar is voor de praktijk. Voor een goede toepassing is een accurate meting van de concentratie actief chloor noodzakelijk. Factoren die concentratie chloor verlagen, moeten zoveel mogelijk via filtratie weggenomen worden.

## **Abstract**

Within the project Het Nieuwe Verwerken, Wageningen University & Research and partners have looked at alternative methods for disinfection of flower bulbs. Various means and methods have been tested. Ozone, Jet 5 and hydrogen peroxide seem to have little prospect for disinfection of bulbs and process water for various reasons. Supercritical CO<sub>2</sub> and cold plasma are interesting techniques, but the costs of development still hinder application in flower bulbs. For UV, development of a good practical application is required. ECA-water is ready for practice. For proper application, an accurate measurement of the concentration of active chlorine is necessary, and the factors that reduce the concentration of chlorine must be eliminated by filtration as much as possible.

## **Rapportgegevens**

Rapport WPR-934

Projectnummer: 3742 255900

Doinummer: 10.18174/521326

Thema: Bloembollen

Dit project / onderzoek is mede tot stand gekomen door de bijdrage van Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen, KAVB, Anthos/iBulb, machinefabriek Akerboom, Bright Spark, GMN, Greenport Duin- en Bollenstreek en Innovatiefonds Rabobank Bollenstreek.

## **Disclaimer**

© 2020 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw - Bollen

Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, [www.wur.nl/plant-research](http://www.wur.nl/plant-research).

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veelevoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

## **Adresgegevens**

### **Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw - Bloembollen**

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

# Inhoud

	<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>7</b>
	1.1 Aanpak	7
<b>2</b>	<b>Resultaten inventarisatie</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Jet-5 en waterstofperoxide</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>ECA water</b>	<b>13</b>
	4.1 ECA water Laboratoriumproeven	15
	4.1.1 Virus	15
	4.1.2 Schimmels en bacteriën	16
	4.2 ECA water Praktijkproeven	19
	4.2.1 Virus	19
	4.2.2 Schimmels en bacteriën	20
<b>5</b>	<b>Ozon</b>	<b>23</b>
<b>6</b>	<b>UV</b>	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>Koud Plasma</b>	<b>27</b>
<b>8</b>	<b>Superkritische CO<sub>2</sub></b>	<b>29</b>
<b>9</b>	<b>Conclusies</b>	<b>31</b>
	<b>Bijlage 1 Protocol</b>	<b>33</b>
	<b>Bijlage 2 Artikel Bloembollenvisie 2017</b>	<b>35</b>
	<b>Bijlage 3 Artikel Bloembollenvisie 2016</b>	<b>37</b>



# Samenvatting

Door de maatschappelijke vraag naar milieuvriendelijker methoden en door een krimpend chemische middelenpakket, zijn alternatieven voor chemische desinfectiemiddelen zoals formaline nodig. In het project Het Nieuwe Verwerken zijn een aantal middelen en methoden voor desinfectie van bloembollen, proceswater, apparaten en fust geïnventariseerd. Een aantal perspectievolle opties zijn onderzocht, zowel onder lab- als onder praktijkomstandigheden. Ozon, Jet 5 en waterstofperoxide lijken om uiteenlopende redenen weinig perspectief voor desinfectie van bollen en proceswater te hebben. Superkritische CO<sub>2</sub> en koud plasma zijn interessante technieken, maar de kosten voor ontwikkeling staan toepassing in bloembollen voorlopig in de weg. Voor UV is een goede vertaling naar een in de praktijk werkende toepassing nodig.

ECA-water is een techniek die klaar is voor de praktijk en zich al bewezen heeft. Het werkingsmechanisme van ECA is anders dan van sommige andere chemische middelen, er is geen binnendringing in weefsel. Voor een goede toepassing is een accurate meting van de concentratie actief chloor noodzakelijk, en de factoren die concentratie chloor verlagen, moeten zoveel mogelijk via filtratie weggenomen worden.

Het onderzoek is tussen 2016 en 2019 uitgevoerd in het publiek-private Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen project Het Nieuwe Verwerken, door Wageningen University & Research businessunit Glastuinbouw & Bloembollen in samenwerking met consortiumpartners.



# 1 Inleiding

Door de maatschappelijke vraag naar milieuvriendelijker methoden en door een krimpend chemische middelenpakket is aandacht voor alternatieven voor desinfectie van bloembollen, proceswater, apparaten en fust nodig, onder meer door het verdwijnen van formaline als toegelaten middel voor deze toepassingen. Desinfectie, ook wel ontsmetting genoemd, moet niet verward worden met ontsmetting, zoals het woord in de bollenteelt gebruikt wordt. In dat geval gaat het om het aanbrengen van fungiciden om de bol tijdens de teelt te beschermen tegen schimmelaantasting.

In een van de onderdelen van het project Het Nieuwe Verwerken is gekeken naar alternatieve middelen en methoden voor desinfectie. Het doel was om een overzicht te krijgen van veelbelovende opties, en de meest veelbelovende opties nader te onderzoeken in het laboratorium en de praktijk.

## 1.1 Aanpak

Er is gestart met het maken van een inventarisatie van desinfectie middelen en technieken die mogelijk geschikt zijn voor toepassing in de bloembollen. Op basis van deze inventarisatie zijn een aantal opties verder bestudeerd op basis van hun kenmerken, opgaven van deskundigen en indien aanwezig, ervaringen uit de praktijk. Vervolgens zijn beperkt aantal opties onderzocht in het laboratorium en in de praktijk. In Bijlage 1 staat het protocol beschreven, zoals dat in het onderzoek is gebruikt.

Op basis van de resultaten is een aantal conclusies getrokken over de bruikbaarheid van de verschillende technieken.





## 2 Resultaten inventarisatie

Er is een inventarisatie gemaakt van voor bloembollen veelbelovende middelen en technieken. In Tabel 1 zijn de resultaten van deze inventarisatie samengevat. Per optie is aangegeven of er een toelating is, tegen welke organismen het werkzaam is. De technieken zijn gegroepeerd per toepassingsgebied.

Tabel 1

*Technieken voor desinfectie.*

Desinfectietechniek	Toelating	Werking tegen	Opmerkingen
<b>NAT, spoelen, koken, dompelen</b>			
ECA-water	+	bacteriën, schimmel, virus	Niet mogelijk in combinatie met fungiciden (dompelbad)
Natriumhypochloriet	-	bacteriën, schimmel, virus	idem
Chloordioxide	-	bacteriën, schimmel, virus	idem
Waterstofperoxide + perazijnzuur	-	bacteriën, schimmel, virus	Tot enkele jaren geleden toegelaten in vorm van Jet-5
Ozon (opgelost)	-	bacteriën, schimmel, virus	
UV in water	+	bacteriën, schimmel, virus	Voorzuivering water noodzakelijk. Het is effect is sterk afhankelijk van troebelheid van het water.
<b>DROOG, voorafgaand aan het dompelen of schuimen</b>			
Koud plasma	-	bacteriën, schimmel, virus	
Superkritisch CO <sub>2</sub>		bacteriën, schimmel, virus	
Ozon (gas)	-	bacteriën, schimmel, virus	
UV	+	bacteriën, schimmel, virus	Alleen 'beschenen' delen v.d. bol gedesinfecteerd
<b>Plaagbestrijding NAT</b>			
warmwaterbehandeling	+	Bacteriën, aaltjes, mijten	Risico van verspreiding bacteriën en schimmels
<b>Plaagbestrijding DROOG</b>			
Heetstook	+	aaltjes, mijten	Geen verspreiding bacteriën en schimmels
CATT	+	aaltjes, mijten	idem

Op basis van deze inventarisatie is besloten om de volgende methoden en technieken verder te onderzoeken:

- Jet-5 en waterstofperoxide.
- ECA water.
- Ozon.
- UV.
- Koud plasma.
- Superkritisch CO<sub>2</sub>.



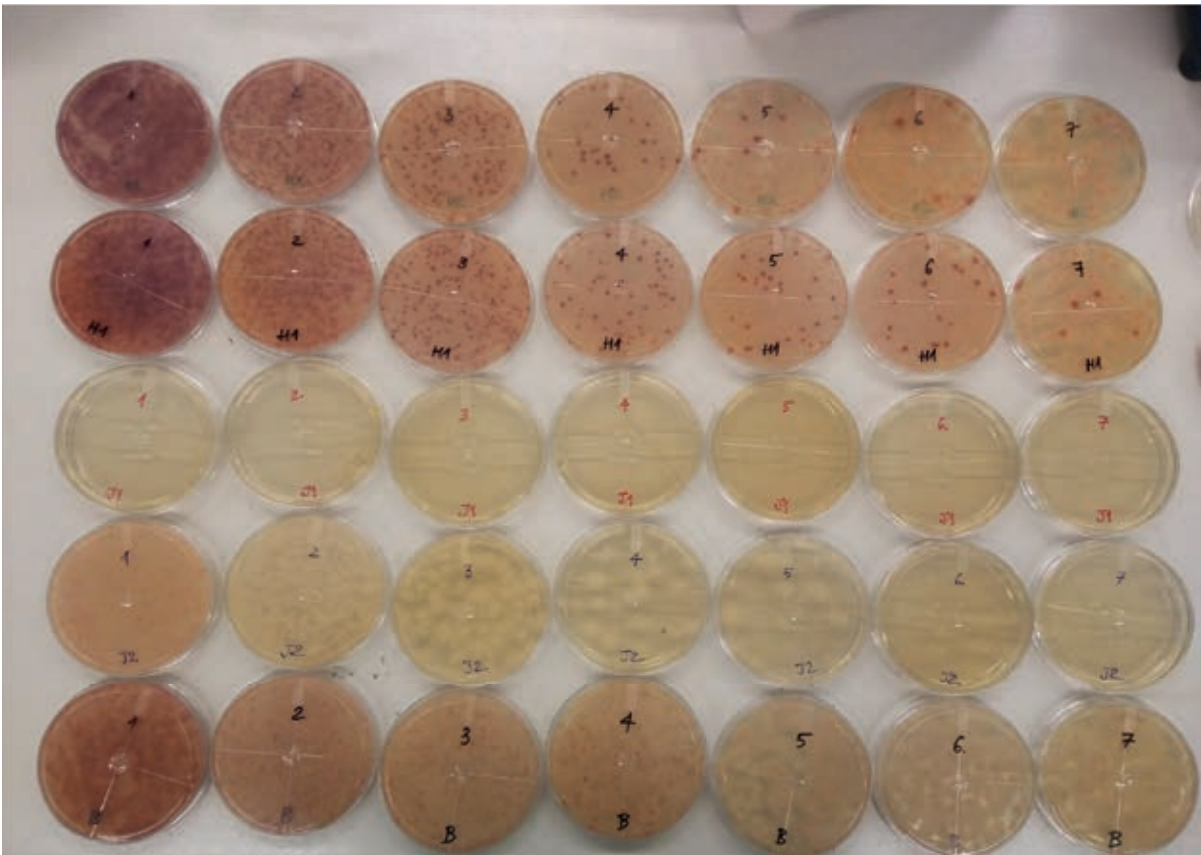
### 3 Jet-5 en waterstofperoxide

Het ontsmettingsmiddel Jet-5 had tot voor kort een toelating in de bollenteelt en is een mix van perazijnzuur en waterstofperoxide. Het wordt gebruikt voor diverse toepassingen en zou ook voor bloembollen als desinfectiemiddel kunnen werken. De werking van Jet-5 en van alleen waterstofperoxide tegen Fusarium is in het kader van dit onderzoek bestudeerd in een laboratoriumproef. Oplossingen met daarin verschillende concentraties Fusarium sporen werden behandeld door toevoeging van verschillende concentraties Jet-5 of waterstofperoxide. Na deze behandeling werden de oplossingen uitgeplaat op medium om de overleving van de sporen te scoren (Tabel 2). Waterstofperoxide bleek de sporen niet te doden. Mogelijk werkt het pas bij een hogere concentratie. Na behandeling met Jet-5 was er een duidelijk effect op het aantal sporen (Figuur 1). Bij de lagere concentratie werd een deel van de sporen gedood en bij de hogere concentratie werd geen schimmelgroei meer gezien. Kortom Jet-5 lijkt op basis van deze laboratorium testen een goed desinfectiemiddel tegen Fusarium te zijn. Op praktijkschaal werd Jet-5 niet getest. De toepassing is niet meer toegelaten dus verder onderzoek is daarom gestaakt. Waterstofperoxide bleek onvoldoende effectief en is ook niet verder onderzocht.

Tabel 2

Geteld aantal kolonies per plaat van het experiment op 31/5/2018 na 4 dagen groei bij 25 °C. ( $\infty$ ) = te veel om te tellen, (-) = geen groei, 'sporen verdun.' = de verdunning van de uitgeplaatte sporenstock.

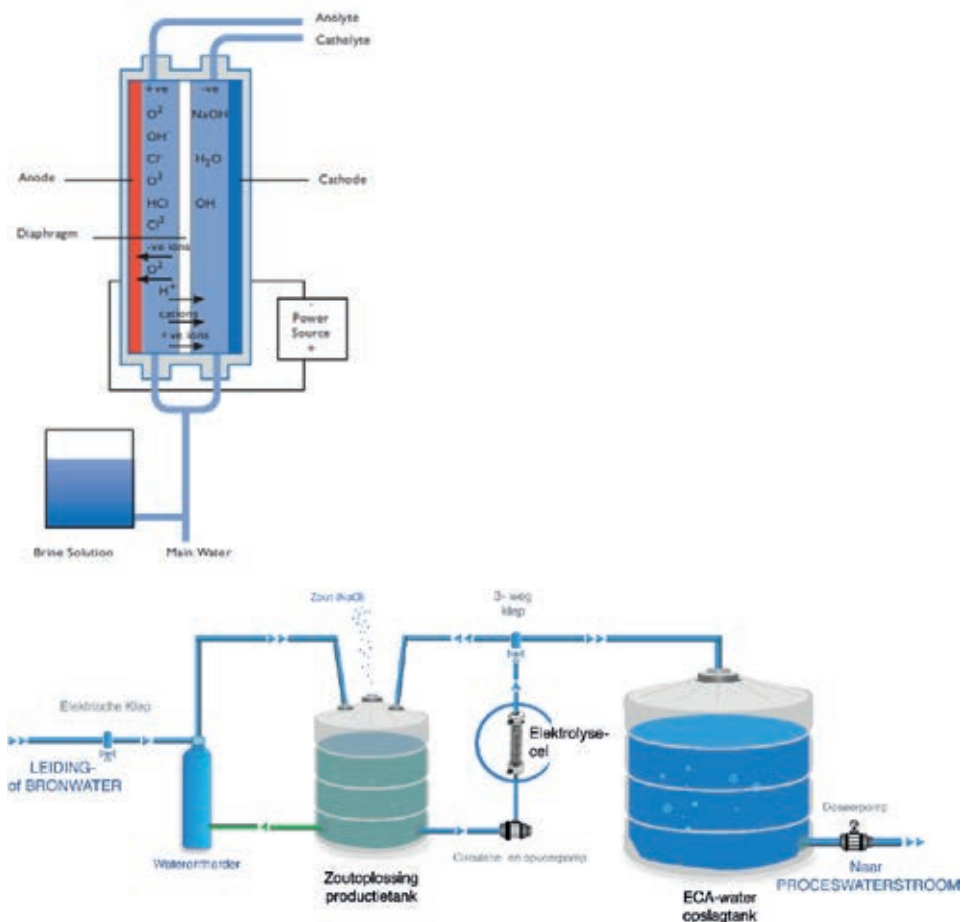
Sporen verdun.	0	-1	-2	-3	-4	-5	-6
(B) Blanco (thio)	$\infty$	$\infty$	$\infty$	624	175	158	81
(J1) Jet5 0,04 M	-	-	-	-	-	-	-
(J2) Jet5 0,004 M	$\infty$	632	197	47	25	12	5
(H1) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0,04 M	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	612	344	105
(H2) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0,004 M	$\infty$	$\infty$	$\infty$	628	154	109	49



**Figuur 1** Uitgeplaatte behandelingen van *Fusarium* op PDA+. De 3<sup>e</sup> en 4<sup>e</sup> rij van boven zijn de behandelingen met Jet-5.

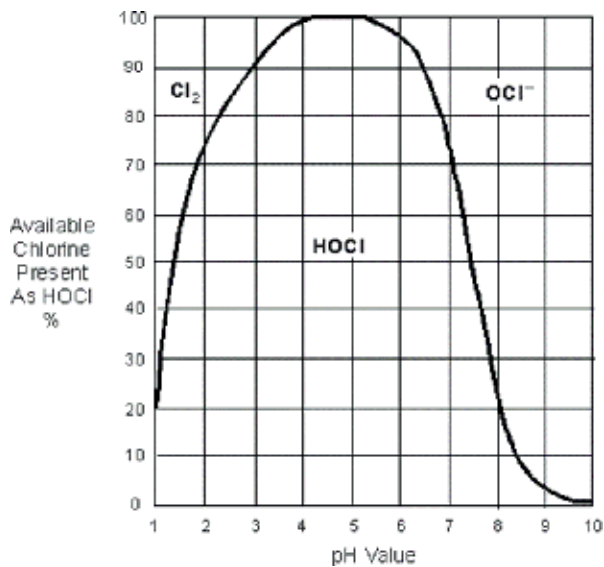
## 4 ECA water

Er is een groot aantal proeven gedaan om de bruikbaarheid van Electro Chemically Activated water (ECA) als desinfectiemiddel te bestuderen. ECA water wordt gemaakt door water met keukenzout (NaCl) in contact te brengen met electrodes waar spanning op staat. Bij de positieve electrode in de zoutoplossing (anode) ontstaat chloorgas, dat vervolgens reageert volgens de reactievergelijking:  $\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HClO} + \text{HCl}$  (chloorgas + water  $\rightleftharpoons$  onderchlorig zuur + zoutzuur). Daarnaast ontstaan zuurstofradicalen. Bij de negatieve electrode (kathode) ontstaan waterstofgas en NaOH (natronloog) (Figuur 2). De verhouding tussen chloorgas en onderchlorig zuur wordt bepaald door de pH van de oplossing. Het is het onderchlorig zuur (HClO) dat de ontsmettende werking heeft.



**Figuur 2** Productie van ECA water. Boven: het principe, onder: een praktijkinstallatie.

Het is mogelijk om de ontsmettende werking direct te meten in de vorm van de ORP (Oxidatie Reductie Potentiaal) of van de meting van vrij-chloor in de oplossing. Het meten en regelen van de pH is belangrijk om de effectiviteit van ECA te garanderen. Bij toepassing van ECA in een bad met een pH tussen pH3.00 en pH 7.00 is meer dan 80% van het chloor in de actieve vorm van onderchlorig zuur aanwezig. Buiten die range, met name bij een hogere pH gaat de effectiviteit snel achteruit, omdat dan hypochloriet ontstaat dat nauwelijks ontsmettende werking heeft. Bij een te lage pH ontstaat chloorgas dat ook niet ontsmettend werkt en bovendien zeer giftig is (Figuur 3). Ook hardheid van water heeft een effect; een hogere hardheid kan de effectiviteit verlagen.



**Figuur 3** Het percentage onderchlorig zuur (de ontsmettende vorm van chloor) is afhankelijk van de pH van de oplossing.

Het desinfecterende effect van een behandeling met ECA water wordt bepaald door de concentratie chloor en de duur van de behandeling. Bij een lagere concentratie (C) is een langere behandeling (T) nodig voor hetzelfde effect. Concentratie (C) maal Tijd (T) geeft uiteindelijk de CT-waarde weer waarmee de bollen behandeld worden.

ECA water is met name bedoeld om proceswater te desinfecteren en zo verspreiding van ziekten binnen en tussen partijen te voorkomen. De verwerking van bollen kent een aantal watergedragen processen, zoals spoelen, sorteren en wortels snoeien, koken en dompelen. De werkzame stof van ECA water is een reactieve vorm van chloor welke schade aan organisch materiaal veroorzaakt en zodoende schadelijke organismen, waaronder bacteriën en virussen, effectief kan doden.

Er is een complete installatie op de markt om op het bedrijf zelf, ECA water te maken (Figuur 4).



**Figuur 4** De complete installatie voor de bereiding en toepassing van ECA water op een bollenbedrijf.

Er is een grote serie proeven gedaan op laboratorium- en praktijkschaal om te kijken hoe goed ECA water werkt tegen verschillende pathogenen.

## 4.1 ECA water Laboratoriumproeven

### 4.1.1 Virus

De eerste experimenten met ECA water zijn uitgevoerd om te testen of PIAMV (Plantago Asiatic Mosaic Virus) onschadelijk gemaakt kan worden. Dit potexvirus vormt een grote bedreiging voor de lelieteelt en kan zich, als contactvirus, gemakkelijk verspreiden tijdens de verwerking van bollen. Plantmateriaal, besmet met PIAMV is in water gemalen tot een zgn. virussuspensie. Aan een deel hiervan is ECA water toegevoegd en aan een deel niet. Met beide suspensies zijn toetsplanten geïnoculeerd. De controle-suspensie gaf duidelijke symptomen, de met ECA water behandelde suspensie niet. Dit gaf aan dat dit virus door ECA water onschadelijk wordt gemaakt. Hierbij moet worden opgemerkt dat het in het geval van virussen mogelijk is dat het virus onschadelijk is gemaakt door het afbreken van de eiwitmantel of fragmentatie van het RNA, waarbij het echter in theorie mogelijk is dat een PCR toets op (een klein stukje van) het RNA nog wel een positieve uitslag geeft. In het onderzoek is echter gebleken dat bij een positieve uitslag van een PCR toets van een virussuspensie, deze ook infectie van bollen kan veroorzaken. Een suspensie met een negatieve PCR uitslag bleek nooit infectie te kunnen geven.

De effectiviteit van ECA water blijkt afhankelijk van de concentratie van het virus in het water en de behandelduur met ECA water. In een experiment is virussuspensie gemaakt in twee verdunningen. Een PCR toets van deze verdunningen gaf een cq waarde<sup>1</sup> van respectievelijk 22 en 31. In het algemeen geldt een PCR waarde van 20 als zwaar besmet en een waarde van 38 of hoger als onbesmet; de 1<sup>e</sup> verdunning kan dus als "zwaar besmet" worden gezien en de 2<sup>e</sup> als "besmet". In deze suspensies werden leliebollen gedurende 1 minuut ondergedompeld (40 bollen per 8 liter), als simulatie van het verwerken in besmet water. Hierna werden de bollen overgebracht in water met een chloorconcentratie van 0, 5, 20 of 100ppm, om na te gaan of de bollen uitwendig konden worden ontsmet. Na 1 of 5 minuten werd het chloor onwerkzaam gemaakt door toevoeging van een stopbuffer op basis van Natriumthiosulfaat, waarna het water werd getoetst op PIAMV. Uit dit experiment bleek dat na dompeling in de zwaar besmette suspensie en 5 minuten inwerking van het ECA water daarna geen PIAMV meer in het water kon worden aangetoond. Na dompeling in de minder zwaar besmette suspensie bleek de hoeveelheid virus in het aanhangende water zo laag, dat als er daarna gedompeld werd in schoon water met een chloorconcentratie van 0ppm, er in dit water al geen virus meer kon worden aangetoond (Tabel 3).

Tabel 3

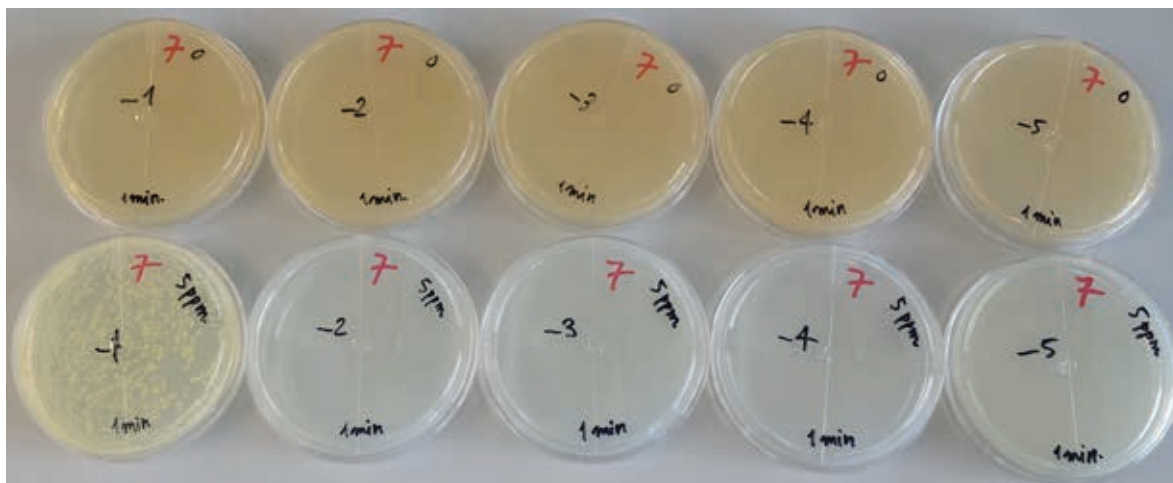
*Cq waarde van de PCR test op PIAMV in een dompelbad met verschillende concentraties chloor, waarin bollen zijn gedompeld, die eerst in een PIAMV virussuspensie met 2 verdunningen waren gedompeld. Een lage cq waarde betekent meer virus. Een cq waarde van 40 betekent dat er geen virus is aangetoond.*

nr	Virus suspensie verdunning		ECA water Chloorconcentratie				PIAMV in ECA bad
	10-3	10-6	0 ppm	5 ppm	20 ppm	100 ppm	cq
1	1 min		5 min				28
2	1 min			5 min			33
3	1 min				5 min		34
4	1 min					5 min	40
5		1 min	5 min				40
6		1 min		5 min			40
7		1 min			5 min		40
8		1 min				5 min	40

<sup>1</sup> Cq value: Cycle Quantification Value: Deze waarde geeft aan hoeveel PCR cycli er nodig waren om een signaal te detecteren boven de grenswaarde.

#### 4.1.2 Schimmels en bacteriën

Een serie proeven is in het laboratorium gedaan om aan te tonen dat schimmels en bacteriën gedood worden door toepassing van ECA. Geteste bacterie- en schimmelziekten waren Dickeya, Witsnot, Geelziek, Woekerziek, Helsvuur, Schubrot en Fusarium. De bacteriën die getest werden bleken zeer effectief bestreden te worden met lage concentraties ECA van enkele delen per miljoen (ppm). In 5 wordt een voorbeeld getoond van een labproef waarin tegen Woekerziek behandeld werd. Hieruit blijkt dat een behandeling van 1 minuut met 5 ppm chloor al een groot effect heeft.



**Figuur 5** Het effect van 1 minuut 5ppm ECA water op het aantal Colony forming units (CFU) van *Rhodococcus fascians* (woekerziek). Boven de onbehandelde verdunningsreeks (telkens 10x van 10<sup>-1</sup> t/m 10<sup>-5</sup>) en onder de met ECA water behandelde verdunningsreeks.

Bij de bestudeerde schimmels was er een verschil tussen de pathogenen in gevoeligheid voor ECA. Bijvoorbeeld *Fusarium* werd volledig bestreden bij een chloorconcentratie vanaf 30ppm, met een behandelingstijd van 1 minuut (Tabel 4), terwijl *Cylindrocarpon* al vanaf een behandeling van 1 minuut met 10ppm volledig bestreden werd in een licht verdunde bacteriesuspensie (Tabel 5). In de eerste proeven werd gevonden dat 1ppm al effectief was. Maar doordat er pH variaties kunnen zijn in waterbaden op basis van leidingwater, kan de effectiviteit van het actieve chloor ook variëren. Daardoor bleek een hogere concentratie ECA nodig om tot een goede ontsmetting te komen. Voor schimmels en bacteriën samen geldt dat bij toenemende concentratie de doding steeds beter is en bij 30ppm is de doding voor de geteste pathogenen >99%.

Tabel 4

Het aantal getelde Colony Forming Unit (CFU) van *Fusarium Oxysporum* na 4 dagen. Verdunningstappen zijn telkens 5x. ∞ betekent te veel om te tellen.

	Verdunningsstap							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Leidingwater	∞	∞	∞	∞	212	51	13	3
ECA 1ppm	∞	∞	∞	224	116	37	7	
ECA 3ppm	∞	∞	512	180	46	20	4	
ECA 10ppm	∞	76	8	2	2	2	0	
ECA 30ppm	0	0	0	0	0	0	0	



Tabel 5

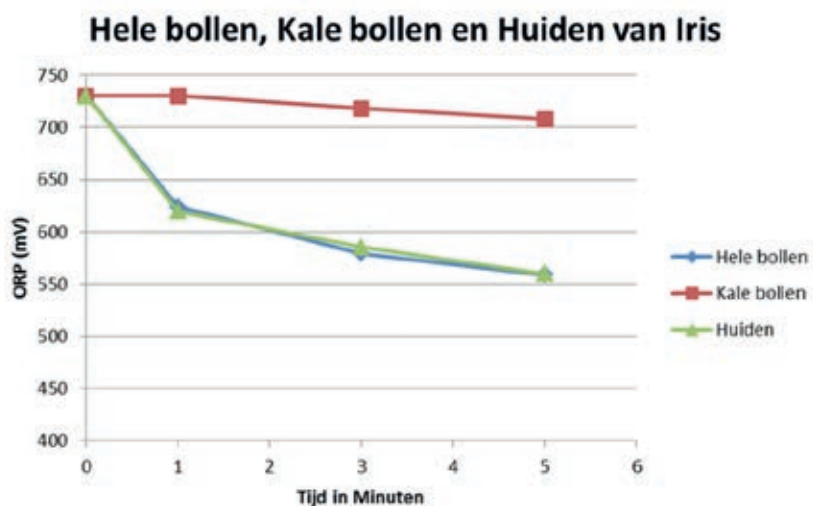
Het aantal getelde Colony Forming Unit (CFU) van *Cylindrocarpon* na 4 dagen. Verdunningstappen zijn telkens 5x. ∞ betekent: te veel om te tellen.

	Verdunningsstap							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Leidingwater	∞	∞	356	110	11	2	5	2
ECA 1ppm	∞	804	114	25	3	4	2	
ECA 3ppm	∞	0	0	11	2	1	3	
ECA 10ppm	100	0	0	0	0	0	0	
ECA 30ppm	0	0	v0	0	0	0	0	

Tijdens het onderzoek viel een paar algemeen geldende zaken op. De meting van het actieve chloor in dompelen ontzmettingsbaden is niet altijd eenvoudig.

Verder is aangetoond dat vervuilingen in proceswater met ECA het chloor-niveau verlagen, omdat de vervuiling weggeoxideerd wordt. Vervuiling zoals zand/klei/potgrond verlagen het niveau, maar ook bollen met veel vellen zoals Muscari hebben een verlagend effect. Bepaalde bollen geven stoffen of materiaal af dat in sterke mate met ECA water reageert, waardoor de effectiviteit minder wordt (Crocus, Allium, Narcis). Bij het koken van narcis, iris en muscari bleek dat het actief chloorgehalte in het bad extreem snel zakt tot vrijwel nul en dat er heel veel chloor toegevoegd moet worden om dit enigszins op peil te houden, om volledige doding van bacteriën te garanderen.

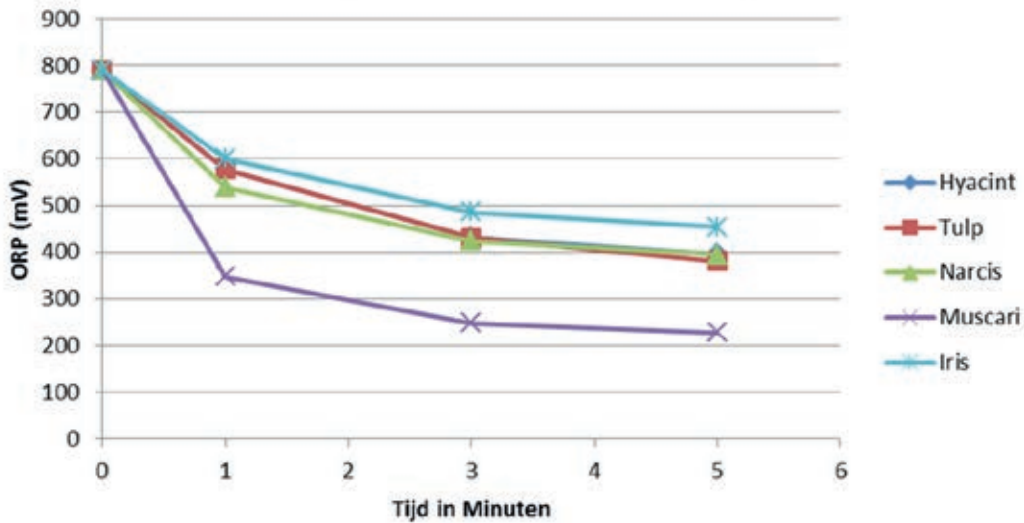
Naast praktijkonderzoek om dit probleem op te lossen (zie pagina 14), is er een aantal labproeven uitgevoerd om de oorzaak van dit snelle wegwegeren van het chloor te achterhalen. In Iris zijn intacte bollen, kale bollen en alleen de huiden aan ECA water toegevoegd. Het bleken de huiden te zijn die de afname veroorzaakten (Figuur 6).



**Figuur 6** De afname van de ORP (maat voor het reactieve vermogen van de oplossing) in de tijd, onder invloed van de toevoeging van intacte bollen, kale bollen, of alleen huiden van Iris.

De huiden van verschillende bolgewassen hadden verschillend effect op de afname van het reactieve vermogen van ECA water. Vooral huiden van muscari gaven een snelle en grote afname van de werking (Figuur 7).

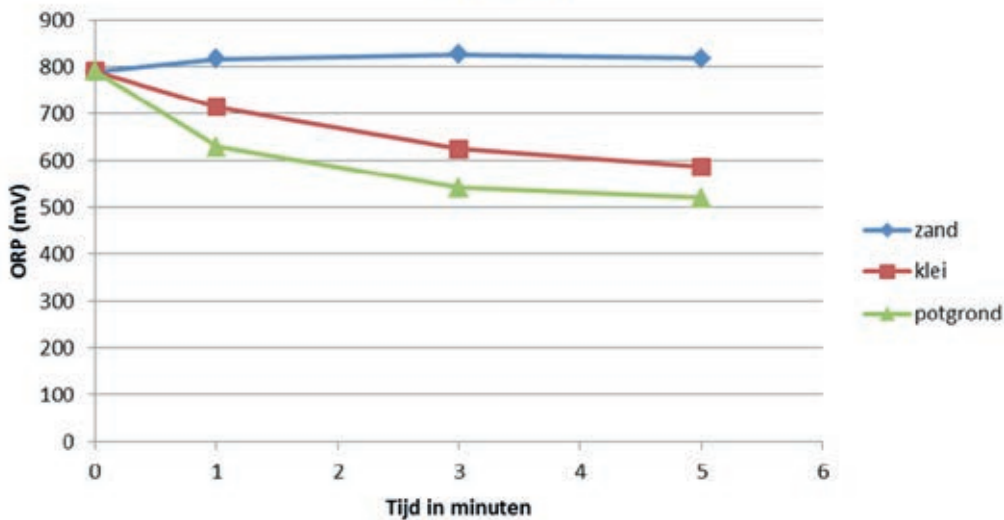
## ORP bij 600mg huiden van diverse gewassen



**Figuur 7** De afname van de ORP (maat voor het reactieve vermogen van de oplossing) in de tijd, onder invloed van de toevoeging van huiden van verschillende bolgewassen.

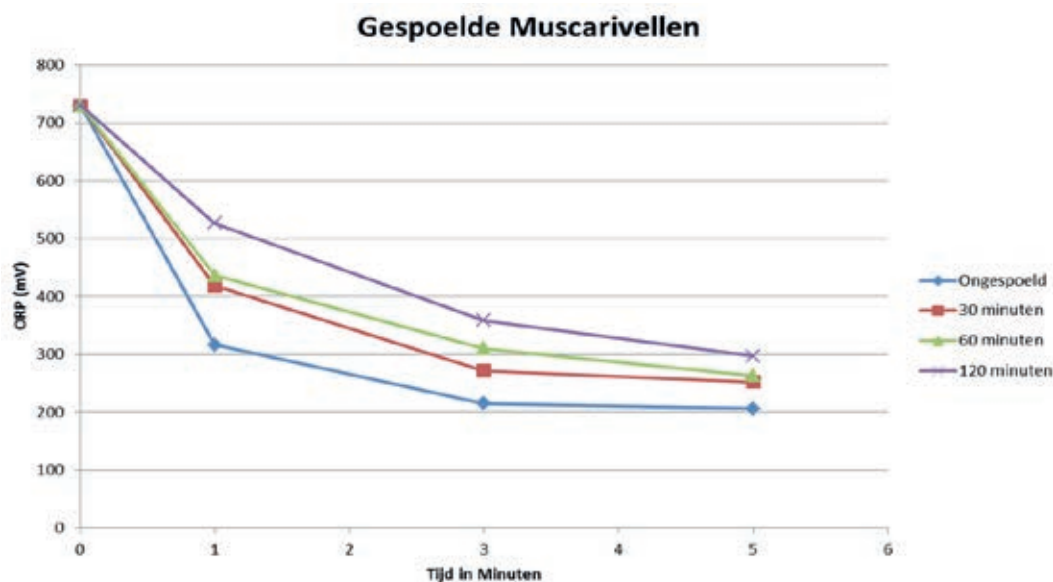
Grondresten aan de bollen kunnen ook een afname geven van de werking van ECA water. Duinzand, met weinig organische stof, geeft geen afname, maar klei met organische stof en vooral potgrond lieten wel afname zien (Figuur 8).

## ORP bij toevoeging 2000g zand, klei en potgrond



**Figuur 8** De afname van de ORP (maat voor het reactieve vermogen van de oplossing) in de tijd, onder invloed van verschillende grondresten.

Het bleek mogelijk om door spoelen in leidingwater, de stoffen die de afname van de werking van ECA water gedeeltelijk te verwijderen (Figuur 9). Dit is echter voor de praktijk geen oplossing, omdat tijdens dit spoelen in gewoon water juist verspreiding van ziekten kan optreden.



**Figuur 9** De afname van de ORP (maat voor het reactieve vermogen van de oplossing) in de tijd, onder invloed van toevoeging van vellen van muscari, die gedurende verschillende tijd gespoeld waren in water.

De gevonden afname is waarschijnlijk niet toe te schrijven aan organische vervuiling in het algemeen, maar aan specifieke stoffen (fenolen) in de vellen en enzymen die vanuit de bollen in het water terecht komen. Er is onderzoek gedaan naar een technische oplossing is om deze vervuilingen weg te vangen om zo het chloor-niveau op peil te kunnen houden. Hiervoor zijn flocculanten ingezet, die vervolgens met een filter verwijderd werden. Dit onderzoek, op een praktijkbedrijf, liet hoopvolle resultaten zien. Bij inzet van flocculanten konden de chloorconcentratie en de pH in het kookbad veel eenvoudiger op peil gehouden worden en was het voldoende om het water nog maar 1x per week te verversen i.p.v. 1x per dag.

Combinatie van ECA water met chemische gewasbeschermingsmiddelen kan problemen geven. Bijvoorbeeld Captan en ECA water werkt niet samen. In een experiment in een kookbad bleek dat enerzijds het chloor sterk wegreageerde onder invloed van Captan en anderzijds de Captan afgebroken leek te worden door het ECA water, omdat het badwater zijn witte kleur verloor en helder werd. Er is verder geen uitgebreid onderzoek gedaan naar interacties, mede omdat de toepassing van ECA water zonder chemische middelen het uitgangspunt was.

Alles meegenomen komen we tot een het volgende advies voor de chloorconcentratie in baden: 20ppm. Dit is een ruime maat, maar het garandeert effectiviteit bij verloop van bijvoorbeeld de pH tijdens het dompelen of ontsmetten. In al het onderzoek is er geen schade van bloembollen door ECA aangetoond, in ieder geval tot concentraties 100ppm, dus bij 20ppm behandelen moet veilig zijn.

Tijdens het onderzoek is er ook een vergelijking gemaakt met  $\text{ClO}_2$  als bron voor actieve chloor. Dit bleek echter niet geschikt als alternatieve chloorbron van ECA, aangezien het een beperkte ontsmettende werking had.

## 4.2 ECA water Praktijkproeven

### 4.2.1 Virus

Er zijn proeven met virus gedaan bij Innoventis waarin een partij leliebollen met PLAMV werd gekookt. Hieruit bleek dat in het kookwater dat gedesinfecteerd werd met ECA nog steeds PLAMV werd gevonden, wat bij nader onderzoek PLAMV in plantaardig materiaal bleek te zijn. In een bad met chemisch ontsmettingsmiddel bleek het virus wel gedood te zijn, ook in het plantaardig materiaal. Gefilterde watermonsters bleken wel vrij van PLAMV te zijn. Hieruit blijkt dat ECA niet in staat is het virus in stukjes plantaardig materiaal, zoals wortelpuntjes, te doden. Maar in het water worden losse virusdeeltjes wel gedood. Materiaal dat in een bad werd behandeld waar vooraf een PLAMV besmette partij in behandeld werd, bleek het volgende jaar niet besmet te zijn. In een andere proef waar bollen gewassen werden met PLAMV besmet water en vervolgens gedompeld werden in ECA behandeld water bleken de bollen vervolgens niet besmet. In de behandeling waar geen ECA behandeld water gebruikt werd, was er wel besmetting.

Er zijn meerdere proeven uitgevoerd, waarin bollen na spoelen, shaven en/of aquagraderen zijn gedompeld in een bak met ECA water, met een chloorconcentratie van 10ppm of hoger. In alle gevallen bleek dat in deze bak geen PIAMV kon worden aangetoond, terwijl dat in het proceswater van spoelen, shaven en/of aquagraderen wèl het geval was.

Tabel 6

*Het aantal kolonievormende eenheden van schimmels en bacteriën en de Cq waarde van een PCR test op PIAMV in het spoelwater en in een dompelbad waarin bollen na het spoelen zijn gedompeld. Een lage cq waarde betekent meer virus. Een cq waarde van 40 is virusvrij. ∞ betekent teveel om te tellen.*

monster	Virus PIAMV	Aantal bacteriëkolonies bij 3 verdunningen			Aantal Schimmelkolonies bij 3 verdunningen		
	cq waarde	1	2	3	1	2	3
Spoelwater bassin	31	∞	∞	∞	9	3	0
Dompelbak15ppm	40	3	0	0	2	0	0

In een proef, waarin PIAMV besmette leliebollen werden gedompeld in ECA water met een chloorconcentratie van 10 ppm, bleek dat er in het water met PCR geen PIAMV kon worden aangetoond. In het lekwater dat na de behandeling uit de kisten droop werd echter wèl PIAMV aangetoond (Tabel 7). De oorzaak hiervan is waarschijnlijk dat het chloor in het ECA water dat achterblijft op de bollen en tussen de schubben, direct wegreageert onder invloed van het organische materiaal van de bol. Het lekwater kan dan weer virusdeeltjes of bacteriën bevatten, die afkomstig zijn uit wondjes of tussen de schubben vandaan. Dit effect is op meerdere praktijkbedrijven vastgesteld.

Tabel 7

*Het aantal kolonievormende eenheden van schimmels en bacteriën en de Cq waarde van een PCR test op PIAMV in het water van een aquagrader, in een dompelbad waarin bollen na het spoelen zijn gedompeld en in het lekwater uit de kisten. Een lage cq waarde betenkt meer virus. Een Cq waarde van 40 is virusvrij. ∞ betekent teveel om te tellen.*

monster	Virus PIAMV	Aantal bacteriëkolonies bij 3 verdunningen			Aantal Schimmelkolonies bij 3 verdunningen		
	cq waarde	1	2	3	1	2	3
Spoelbak aquagrader	29	∞	∞	6	∞	5	0
Dompelbak, 4' 8-10ppm	40	0	0	0	0	0	0
Lekwater uit kist	28	∞	2	0	0	0	0

#### 4.2.2 Schimmels en bacteriën

Er is een groot aantal proeven op praktijkbedrijven gedaan, in verschillende gewassen, waarin het effect van de toepassing van ECA water tijdens het koken is getoetst. In alle gevallen waarbij de chloorconcentratie 10ppm of hoger was werd een volledige doding van schimmels en bacteriën in het kookbad bereikt.

In een praktijkproef met Narcis werd tijdens het kookproces gemeten in het bad. Voor het behandelen met ECA werden er veel bacteriën en veel schimmels gevonden in het bad. Nadat aan het bad ECA water was toegevoegd (verschillende concentraties >4ppm) bleken watersamples van het bad vrij van bacteriën en schimmels. Daarnaast werd na behandeling van bollen ook de uitlek uit bollen gemeten. Het lekwater bleek wel bacteriën te bevatten, maar was in bijna alle gevallen wel vrij van schimmel. Blijkbaar geven de besmette bollen nog bacteriën af maar deze worden wel direct gedood in het bad door het ECA water.

Voor woekerziek is ook onderzoek uitgevoerd, maar voor woekerziek geldt hetzelfde als voor PLAMV. Het proceswater wordt goed ontsmet, echter het lekwater en achterblijvende deeltjes organisch materiaal in het bad blijven besmet met de bacterie. Omdat ECA water niet in de bol dringt heeft het geen bestrijdende werking op woekerziek.

Naast alle proeven is ook de effectiviteit van ECA bij praktijktoepassingen gevolgd. Hieruit bleek dat water in een praktijksituatie niet altijd geheel ontsmet wordt door de ECA behandeling. Met name bacteriën kunnen nog deels overleven, terwijl schimmels meestal zeer goed worden bestreden. Naarmate de toegepaste concentratie ECA hoger is, is het aantal bacteriën lager. Bij de eerder vastgestelde chloorwaarde van 20ppm vindt volledige afdoding van bacteriën en virussen plaats.



## 5 Ozon

De toepassing van Ozon zou zowel droog als nat (opgelost) kunnen. De verwachting is dat een lange blootstelling aan Ozon nodig is om enige desinfecterende werking te geven op plaagorganismen. Eventueel zou een toepassing in een bewaarcel interessant kunnen zijn, maar daarvoor zijn hoge concentraties Ozon nodig en die vormen dan wel een risico voor werknemers. Er is geen onderzoek naar Ozon gedaan vanwege deze praktische problemen.





## 6 UV

Een methode die al lang in gebruik is in diverse toepassingen is UV. De desinfecterende werking van dit hoog energetische licht is geschikt voor toepassing in droge en natte omstandigheden. De toepassing in bloembollen kan bestaan uit het uitwendig desinfecteren van droge bollen en oppervlakten van apparatuur en het ontsmetten van proceswater. Bij UV licht wordt onderscheid gemaakt tussen UV-A, UV-B en UV-C. UV-A is ultraviolette straling met een golflengte tussen ca. 315 en 400 nm ("lange golven"). UV-B heeft een golflengte tussen 280 en 315 nm. UV-C heeft een golflengte tussen 100 en 280 nm ("kortgolvlige straling") en heeft het grootste desinfecterende effect.

In laboratoriumproeven werd de werking van UV straling tegen bacteriën, schimmel en virus getest. Woekerziekte-bacteriën (*Rhodococcus*) en *Fusarium oxysporum* werden gekweekt op mediumplaten voor deze proeven. Voor de virussen (TVX en PLAMV) werden besmette bollen vormalen en vervolgens werd oplossing met virus op de bodem van lege petrischalen uitgesmeerd. Deze platen met ziekteverwekkers werden aan verschillende doses UV-C blootgesteld. Vervolgens werden de platen geïncubeerd om bacterie- en schimmelkolonies te laten vormen. Van de virusplaten werden veegmonsters genomen voor q-PCR analyse en voor een biotoets waarin planten geïnculeerd werden om te controleren op mogelijke infecties.

De resultaten van het UV lab-onderzoek, samengevat:

- UV-C dood *Rhodococcus fascians* voor > 99,8% vanaf een dosis van 20 mJ/cm<sup>2</sup>.
- UV-C dood *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae* voor > 99,8% vanaf een dosis van 100 mJ/cm<sup>2</sup>.
- UV-C lijkt het virus PLAMV voor 100% te doden vanaf een dosering van 600 mJ/cm<sup>2</sup>. Bij een dosis van 300 mJ/cm<sup>2</sup> is nog enige overleving, d.w.z. het virus is niet volledig geïnactiverd.
- UV-C geeft schade aan TVX gezien het feit dat toetsplanten na een dosering van 300 of 600 mJ/cm<sup>2</sup> slechts een lichte reactie geven. Maar het virus wordt niet volledig geïnactiverd.
- Voor beide virussen geldt dat het virus na UV-bestraling met een q-PCR-toets aantoonbaar is terwijl het virus dan geheel of gedeeltelijk geïnactiverd kan zijn. De q-PCR toets is niet betrouwbaar om vast te stellen of virus is geïnactiverd, maar niet geheel vernietigd, door een UV-bestraling. Daarvoor moeten toetsplanten worden gebruikt.

Uit de resultaten komt naar voren dat Woekerziektbacteriën goed te doden zijn met UV-C. De schimmel *Fusarium* kon ook goed bestreden worden, maar er was een hogere dosis nodig om een goed resultaat te halen. Voor doding van de virussen was nog een hogere dosis nodig waarbij PLAMV gevoeliger leek dan TVX. Zelfs bij de hoge dosis was er nog overleving van TVX, maar de reactie op de toetsplant was lichter dan op de controle. Al met al lijkt het erop dat UV in staat is om ziekteverwekkers in de bollenteelt zoals *Rhodococcus* en *Fusarium* te doden. Voor het inactiveren van virussen lijkt deze methode alleen bruikbaar in erg hoge dosis, en bij directe belichting.

Een belangrijk punt bij het gebruik van UV is dat de desinfectie alleen plaatsvindt op plaatsen waar het licht doordringt. In troebele, vervuilde oplossingen is de verwachte werking dan ook minder, en filtratiestappen zijn dan ook vaak nodig om werking te garanderen. Bij gebruik van UV op droge bollen, is het van belang de bollen van alle kanten te bestralen. Onder de huid van de bol heeft UV geen werking.



# 7 Koud Plasma

Een relatief nieuwe methode is Koud plasma, waarbij een gas in een reactieve vorm gebracht wordt bij kamertemperatuur. Verschillende gassen kunnen hiervoor gebruikt worden, waarbij elk gasmengsel een andere werking geeft. Koud plasma wordt onder andere in de voedingsindustrie gebruikt om te ontsmetten. Doordat het een droge toepassing heeft is het interessant om op bloembollen te gebruiken in de bewaring of verwerking.

Er is onderzoek gedaan naar de werking (proof of principle) van koud plasma op bacteriën, schimmel en mijten. *Fusarium oxysporum* en *Dickeya* bacteriën werden gekweekt op mediumschalen en Tulpengalmijt werd gekweekt op knoflooktenen. De behandelingen met plasma werden uitgevoerd door de objecten onder de plasmabron te plaatsen en aan plasma van perslucht of stikstof bloot te stellen. Er werd gevarieerd in soort gas, de tijdsduur van blootstelling en de afstand tot de bron.

Het was mogelijk om met koud plasma van perslucht schimmelsporen (*Fusarium*) en bacteriën *Dickeya*) te doden. Als stikstof plasma werd gebruikt werd er geen doding aangetoond. Op Tulpengalmijt bleek koud plasma geen duidelijk effect te hebben.

Ondanks positieve resultaten voor bacteriën en schimmel blijven er nog wel veel vragen over praktische uitvoerbaarheid. Er zijn namelijk een aantal factoren zoals tijd van blootstelling, afstand tot de bron en het gebruik van andere gassen die uitgezocht moeten worden voor toepassing in de praktijk. Ook is er nog geen goede methode om de concentratie van het geïoniseerde gas te meten en dat maakt vergelijken van onderzoeksresultaten erg moeilijk. Kortom er moet nog veel onderzoek gebeuren voor deze techniek rijp is voor de praktijk. Daarnaast moet de techniek nog een toelating krijgen.



## 8 Superkritische CO<sub>2</sub>

Er zijn veel toepassingen van superkritische CO<sub>2</sub> en er zijn leveranciers van toepassingen. Er lijken ook goede toepassingsmogelijkheden te zijn voor bloembollen. Het bijzondere van superkritische CO<sub>2</sub> is dat bollen ermee behandeld kunnen worden zonder nat te worden, waardoor er geen risico is voor verspreiding van ziekten. Er is een opzet gemaakt voor een onderzoek, maar deze opzet welke samen met een commerciële partij is gemaakt (FeyeCon) is niet doorgegaan vanwege de hoge kosten. Vooralsnog is hiermee superkritische CO<sub>2</sub> is als techniek als niet haalbaar gebleken voor de praktijk.



## 9 Conclusies

- ECA-water is een techniek welke klaar is voor de praktijk en zich al bewezen heeft. Het is wel belangrijk om te beseffen dat het werkingsmechanisme van ECA-water anders is dan bij sommige andere chemische middelen (geen binnendringing in weefsel). Voor een goede toepassing is een accurate meting van de concentratie van actief chloor noodzakelijk en moet bij behandeling van bepaalde bolgewassen de factoren die concentratie chloor verlagen, zoveel mogelijk via filtratie weggenomen worden.
- UV is een techniek welke ook gebruikt kan worden, maar een goede vertaling naar een in de praktijk werkende toepassing is nodig.
- Ozon, Jet 5 en waterstofperoxide lijken, om uiteenlopende redenen weinig perspectief voor desinfectie van bollen en proceswater te hebben.
- Superkritische CO<sub>2</sub> en koud plasma zijn interessante technieken met potentie, maar de kosten voor ontwikkeling staan toepassing in bloembollen voorlopig in de weg.





# Bijlage 1 Protocol

**Protocol Monstername Dompel-, Spoel- en Kookbaden** voor het bepalen van doding/overleving van schimmels, bacteriën en virussen

**PPO, Oktober 2016**

- Gebruik plastic of glazen potjes met een volume tussen 20 en 50 ml.
- Zo schoon mogelijke potjes. Eventueel gebruikte potjes moeten 'wasmachineschoon' zijn. Potjes die open op de plank hebben gestaan zullen vrijwel zeker Penicillium- of andere sporen bevatten.
- Neem een monster van 10 à 30 ml.
- Zorg voor een goed gemengd monster. Als het bad enige tijd heeft 'stilgestaan' eerst goed roeren (tenzij je een onderscheid maakt tussen bovenstaande vloeistof en uitgezakt slib).
- Bij chloorproeven (ECA of ClO<sub>2</sub>) na de geplande blootstellingsduur direct na het nemen van de monster de **stopbuffer** toevoegen. Zorg dat je de vereiste hoeveelheid hebt klaarstaan voordat je het monster neemt. Gebruik hiervoor gesteriliseerde 'Difco Neutralizing Buffer'. Op de volgende bladzijde meer informatie over deze buffer. De essentie is dat hij 0.16 gram Natriumthiosulfaat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) per liter bevat. Deze stof breekt het actieve chloor af. Je kunt deze buffer ook zelf aanschaffen. Denk eraan om de oplossing te autoclavieren.
- De stopbuffer heeft een gering dodend effect op bacteriën en schimmels. Daarom niet meer toevoegen dan strikt noodzakelijk. Houd de volgende verhouding aan:

100 ml monster met 10 ppm Chloor, 14 ml stopbuffer toevoegen

100 ml monster met 100 ppm Chloor, 140 ml stopbuffer toevoegen

Enz.

(voor 1 mg chloor is 2.2 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nodig)

- Na monstername potje goed sluiten en in koelkast bewaren.
- Zo koel mogelijk vervoeren.

## **Difco Neutralizing Buffer**

### **Summary and Explanation**

Neutralizing Buffer has the ability to inactivate the bactericidal and bacteriostatic effect of chlorine as well as quaternary ammonium compounds. Neutralizing Buffer is recommended for use in the microbiological examination of surfaces in standard methods for the examination of dairy products and foods.<sup>1,2</sup> Neutralizing Buffer is also recommended for the digestion and decontamination of mycobacterial specimens.<sup>3</sup>

### **Principles of the Procedure**

Monopotassium phosphate provides the buffering capability. Sodium thiosulfate inactivates the effect of chlorine compounds. The aryl sulfonate complex neutralizes the effects of quaternary ammonium compounds.

### **Formula**

#### **Difco™ Neutralizing Buffer**

Approximate Formula\* Per Liter

Monopotassium Phosphate .....	42.5 mg
Sodium Thiosulfate .....	0.16 g
Aryl Sulfonate Complex .....	5.0 g

*\*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.*

### **Directions for Preparation from**

#### **Dehydrated Product**

1. Dissolve 5.2 g of the powder in 1 L of purified water.
2. Autoclave at 121°C for 15 minutes.
3. Test samples of the finished product for performance using stable, typical control cultures.  
Incubate at 32 ± 1°C for 42-48 hours. Observe for inactivation of the bactericidal activity as indicated by the growth pattern.



# Techniek helpt Het Nieuwe Verwerken stapje voor stapje verder

Het project Het Nieuwe Verwerken is ongeveer een jaar aan de gang. Onderzoeker Henk Gude van Wageningen UR maakt de balans op van het eerste jaar en constateert dat er stappen worden gemaakt om bollen beter te verwerken. Met dank aan nieuwe technieken en nieuwe toepassingen van bekende technieken.

Tekst: René Bouwmeester  
Fotografie: René Faas

**I**n Het Nieuwe Verwerken werken bedrijfsleven en onderzoeksinstituten samen aan een betere manier om bloembollen te verwerken en te bewaren. Daarbij is het hele proces van verwerken doorgelicht; van de oogst, het drogen en de opslag tot het herplanten. Inmiddels zijn verschillende verbeterpunten aan de oppervlakte gekomen, waarmee het verspreiden van ziekten kan worden tegengegaan of waarmee zieke bollen uit het proces kunnen worden gehaald.

De onderzoekers van Wageningen UR, locatie PPO Lisse, stellen voor het spoel- en kookwater van de bollen tussen de oogst en het drogen te desinfecteren. Reinigen met ECA-water zorgt bij die handeling voor een verlaging van de ziektedruk. Tussen het drogen en de opslag kan een stap in het proces worden toegevoegd om bacterie- en schimmelziekten op de bollen te signaleren en te verwijderen met bijvoorbeeld hoogwaardige cameratechnieken of elektronische 'neuzen'. Na de opslag kunnen de bollen wederom in ECA-water worden gedesinfecteerd alvorens fungiciden worden aangebracht door schuimen of coaten.

Een belangrijke stap die aan het proces is toegevoegd, is het spoelen en desinfecteren met ECA-water na de oogst. ECA staat voor Electro-Chemically Activated. Het betekent dat toegevoegd zout in het water door elektrolyse wordt omgezet in onder meer chloor. Dit chloor werkt desinfecterend waardoor ziekteverwekkers als bacteriën, schimmels en virussen doodgaan en zich niet verspreiden in het spoelwater.

## ONTSMETTENDE WERKING

Onderzoeker Henk Gude van Wageningen UR plaatst wel een kanttekening bij de toepassing van chloor. Chloor reageert met organische vervuiling en verliest daarmee zijn ontsmettende werking. De hoeveelheid chloor moet dus op peil blijven. Ook de pH moet in een veilig en werkzaam gebied worden gehouden. Boven pH 8 verliest het chloor zijn ontsmettende werking en onder pH 5 ontwijkt chloorgas. Om die reden is een goede afzuiginstallatie ook van belang. Simpelweg chloor toevoegen aan het water heeft vaak niet het gewenste effect en kan zelfs gevaarlijk zijn. Bright Spark, leverancier van de desinfectie-installaties, beschikt over een toevoeging waarmee het chloor geleidelijk vrijkomt, zodat de werkingsduur wordt verlengd.

Gude is positief over de werking van ECA-water, maar erkent dat er geen een-op-een vervanger van formaline bij zit. Dat kunnen mensen ook niet verwachten, vindt hij. "Telers zijn geneigd dit resultaat te vergelijken met toepassingen met formaline. Maar formaline is verboden en dat komt niet meer terug. De overheid is daar heel stellig in. We moeten de resultaten van deze testen vergelijken met een systeem zonder formaline en dan is dit het beste dat er op dit moment is."

Een bijkomend knelpunt is dat sommige bolgewassen zorgen voor een snelle afname van het chloorgehalte. Wageningen UR heeft hier onderzoek naar gedaan en het blijkt dat met name de bolhuiden een rol spelen bij de afname. De bol zelf heeft geen invloed op de afname. Een leliebol heeft geen huid en het chloorgehalte neemt bij deze bollen dan ook weinig af. Muscari, narcis, tulp en hyacint kennen juist een snelle afbraak van chloor. Het is belangrijk bij de toepassing van deze chloorbehandeling dat de installatie ook de afbraak van het chloor bijhoudt en de pH-waarde op niveau houdt.

### **KOUD PLASMA**

Desinfectie met Bright Spark is vooral geschikt voor natte omstandigheden, maar sommige bolgewassen zoals hyacint en tulp wil je eigenlijk liever niet natmaken. Voor die bolgewassen zoekt Wageningen UR naar droge desinfectietechnieken. Ozon is een mogelijke kandidaat, maar uit onderzoek moet nog blijken of kortstondige blootstellingen aan hoge concentraties het gewenste effect hebben en door de bollen worden verdragen.

Toepassing van 'koud plasma' biedt meer perspectief, zo blijkt uit proeven. Hierbij wordt lucht in een sterk elektrisch veld gebracht, waardoor het een lading krijgt en licht gaat geven als een 'bliksem in het klein'. Deze geïoniseerde lucht heeft een desinfecterende werking. Bij blootstelling voor de duur van een minuut werden in oriënterende experimenten bijna alle fusariumsporen gedood.

### **SUPERKRITISCHE CO<sub>2</sub>**

Het zogeheten 'superkritische CO<sub>2</sub>' biedt eveneens mogelijkheden. Dit is koolzuurgas dat onder hogedruk en bij hoge temperatuur een soort vloeistof wordt, maar toch een gas blijft. Het is mogelijk om er bollen in te dompelen zonder dat die nat worden. Aan dit gas kunnen andere gasvormige, desinfecterende stoffen worden toegevoegd. Het superkritische CO<sub>2</sub> trekt vervolgens door de bol heen, zonder de structuur van de bol te veranderen. "We hopen dit jaar een proef te doen", zegt Gude.

De volgende stap is het herkennen van zieke bollen die uit de bewaring komen. Wageningen UR doet de komende twee maanden een proef met tulpenbollen. Het doel is om latent zieke bollen te leren onderscheiden met behulp van elektronische hulpmiddelen als elektronische neuzen en hoogwaardige cameratechnieken. "Zure bollen zijn meestal herkenbaar", zegt Gude. "Ze ruiken anders en geven sporen af. Maar er zijn ook bollen waarbij een schimmel naar binnen is gegroeid. Dat gebeurt altijd in de oogsttijd omdat er dan nog geen anti-schimmelbehandeling is geweest. Bij het drogen sterft de schimmel aan de buitenzijde, maar aan de binnenkant wordt de schimmel ingekapseld door de bol. Daarmee wordt de schimmel onbereikbaar voor ozon of chloor. In onze visie is dit latente zuur de oorzaak van de uitbraak van zuur in het afgelopen seizoen. Er is ons dus veel aan gelegen om die latent zure bollen eruit te vissen."

Wageningen UR heeft contact gelegd met Cosine uit Warmond om te bepalen of hun cameratechnieken zieke van gezonde bollen kunnen onderscheiden. Het idee is dat licht dat in diverse golflengtes op een bol wordt geschieden anders weerkaatst bij zieke bollen. Ook zijn zieke bollen warmer dan gezonde bollen en dat is mogelijk met infraroodtechniek op te sporen.

Ook het aanbrenge van fungiciden voor het planten is voor verbetering vatbaar. Het dompelbad brengt emissieproblemen met zich mee, meent Gude. "We willen uiteindelijk van het dompelbad af omdat je dan altijd een restant met middelen overhoudt. Daarnaast leveren gedompelde bollen altijd een risico op voor verspreiding van middelen door druppelen. Het streven is om fungiciden op de bol aan te brengen met zo min mogelijk water. Dat kan met schuim of coaten."

### **SCHIMMELVIJANDIG MILIEU**

Voor de schuimbehandeling heeft onderzoekspartner Machinefabriek Akerboom een machine ontwikkeld waarmee goede resultaten worden geboekt. Een 100 procent bedekking is niet noodzakelijk, zegt Gude. "Het gaat erom een schimmelvijandig milieu om de bol in de grond te creëren."

Er doen zich wel problemen voor bij het schuimen van narcis en hyacint, zegt Gude. "De huid van deze bollen zit vrij los en bij de verwerking kan het gebeuren dat het hele vel loslaat inclusief het aangebrachte middel. Dat geeft een emissieprobleem en je bent de bescherming kwijt." In het onderzoek is nu aandacht voor een toevoeging aan het schuim waardoor de middelen op de bol blijven zitten. Gude sluit niets uit, en gebruikt zelfs behanglijm. "Het staat niet op de nominatie om serieus toe te passen, maar we proberen alles uit."

- BLOEMBOLLENVISIE • 6 juli 2017

## ONDERZOEK

# Chloormiddelen geanalyseerd

Tijdens het spoelen, koken en dompelen bestaat het risico op de verspreiding van ziekten. Verspreiding is te voorkomen door een continue desinfectie van proceswater. Het gebruik van formaline is niet meer mogelijk. Chloormiddelen zouden in de toekomst een alternatief kunnen vormen. Momenteel heeft geen van de besproken chloormiddelen een toelating.

Tekst: Henk Gude en Casper Slootweg,  
Wageningen Plant Research, Lisse  
Foto: PPO

**C**hloor is een sterke oxidator. Een oxidator onttrekt elektronen aan andere stoffen, waardoor deze veranderen van samenstelling. Denk hier bijvoorbeeld aan het roesten van ijzer. Ook ziekteverwekkers worden door chloor aangepakt, waardoor ze geen aantasting meer kunnen veroorzaken. Schimmels en bacteriën gaan dood en virussen kunnen geen infectie meer veroorzaken.

Als chloor wordt toegevoegd aan water ontstaan onderchlorig zuur en hypochloriet. Onderchlorig zuur heeft een goede ontsmettende werking en hypochloriet veel minder. De verhouding tussen de twee stoffen is afhankelijk van de pH. Bij een pH van 4,5 à 6,5 ontstaat het meeste onderchlorig zuur en heeft de oplossing een goede ontsmettende werking, bij hogere pH meer hypochloriet en een minder goede ontsmetting. Bij pH lager dan 4,5 komt chloorgas vrij. Giet daarom NOOIT geconcentreerd zuur in een bad met chloor.

Chloorverbindingen zijn zeer reactief en reageren graag met organisch materiaal. Eenmaal gereageerd is de werking verdwenen.

### WELKE CHLOORMIDDELEN

Er zijn verschillende middelen op basis van chloor die diverse toepassingen kennen, zoals zwembadwater, ontsmetting van groente, schoonmaakmiddelen:

- Commercieel verkrijgbare Chloorbleekloog (Natriumhypochloriet) is een middel met een extreem hoge pH dat gebruikt wordt als schoonmaakmiddel. Bij toepassing zal de pH vaak dalen, waardoor onderchlorig zuur ontstaat en een ontsmettende werking bereikt wordt;
- ECA water (Engels: Electro-Chemically Activated water) wordt gemaakt door elektrolyse van water met keukenzout (Natriumchloride), waarbij, afhankelijk van de pH, hypochloriet of onderchlorig zuur ontstaat;

- Een variant op ECA water, waarbij het chloorgas opgevangen wordt en vervolgens opgelost wordt in water zonder zout;

- Chloordioxide, een effectieve ontsmetter die minder gevoelig is voor de pH.

ECA water lijkt de beste manier om chloor als ontsmettend middel te gebruiken. Het gebruik van chloorbleekloog voor waterontsmetting moet worden afgeraden omdat de pH lastig te reguleren is, en dus een goede werking niet gegarandeerd is, en het risico op vrijkomend chloorgas groot is.

### ONDERZOEK

In verschillende projecten wordt de toepassing van ECA water in de bollensector onderzocht. In het project 'Het Nieuwe Verwerken\*' wordt in eerste instantie op labschaal gekeken welke concentratie chloor nodig is om voor de bollen belangrijke ziekteverwekkers onschadelijk te maken. Uit de eerste resultaten blijkt dat lage concentraties chloor al een goede doding van schimmels en bacteriën geven en virussen onschadelijk maken. Daarnaast worden in dit project water-

monsters onderzocht van piloottoepassingen van ECA water. In het project 'Systeemaanpak lelie-teelt' wordt onderzoek gedaan naar het gebruik van ECA water om virusverspreiding bij de verwerking van lilies te voorkomen.

### TOEPASSING

Bij het gebruik van ECA water is het van groot belang de concentratie chloor en de pH op peil te houden om een goede ontsmetting te bereiken. Omdat het proceswater in de bollenteelt vaak nogal vervuild is, reageert de chloor snel weg en moet er dus bijgedoseerd worden. De apparatuur van Bright Spark, Van Gent van der Meer Nuyens (GMN) en Akerboom is op dit moment de enige die voorziet in het automatisch op peil houden van de concentratie chloor en in het controleren van de pH. Ook in praktijksituaties blijkt ECA water in staat om effectief bacteriën en schimmels te doden en virussen onschadelijk te maken, zij het dat de benodigde concentratie x toedieningsduur beduidend hoger is dan in labsituaties vanwege de aanwezigheid van organische vervuiling. Het gebruik van ECA water zal de ziekteproblemen in de bloembollenteelt niet oplossen, maar kan, mits goed toegepast, een hulpmiddel zijn om verspreiding van ziekten en kruisbesmetting tussen partijen te voorkomen.

*\*Het Nieuwe Verwerken is een project dat wordt uitgevoerd door een consortium bestaande uit Wageningen UR, Bright Spark, Akerboom Machinefabriek, GMN, KAVB en Anthos, met financiële steun van de partners, het Ministerie van Economische Zaken en het Innovatiefonds Rabobank Bollenstreek.*



In het Bright Spark/Akerboom/GMN-systeem wordt het chloorniveau automatisch op peil gehouden. De lucht rondom het systeem wordt afgezogen, zodat het personeel niet blootgesteld wordt aan eventuele chloordampen





To explore  
the potential  
of nature to  
improve the  
quality of life



**HNV**  
Het Nieuwe Verwerken

Wageningen University & Research,  
BU Glastuinbouw - Bloembollen  
Postbus 20  
2665 ZG Bleiswijk  
Violierenweg 1  
2665 MV Bleiswijk  
T +31 (0)317 48 56 06  
F +31 (0) 10 522 51 93  
[www.wur.nl/glastuinbouw](http://www.wur.nl/glastuinbouw)

Rapport WPR-934

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 5.000 medewerkers en 12.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.