



Kwaliteit van tomatenkronen na oogst

Eindrapportage Humistatus werkgroep tomaat

Manon Mensink, Aneesh Chauhan, Najim El Harchioui, Esther Hogeveen

VERTROUWELIJK



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Kwaliteit van tomatenkronen na oogst

Eindrapportage Humistatus werkgroep tomaat

Auteurs: Manon Mensink, Aneesh Chauhan, Najim El Harchioui, Esther Hogeveen

Instituut: Wageningen Food & Biobased Research

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Food & Biobased Research in opdracht van het Ministerie van Landbouw, natuur en voedselkwaliteit en gefinancierd door Stichting TKI Tuinbouw en Uitgangsmaterialen en partners, in het kader van Humistatus: Vochtstatus en -regulatie met nieuwe proces- en koelmethoden (KV1605-043/TU16025) BO-52-002-010 (projectnummer 6234126800).

Wageningen Food & Biobased Research

Wageningen, februari 2020

Vertrouwelijk

Rapport 2019

Versie: definitief

Vertrouwelijk tot en met: januari 2021

Reviewer: Jan Verschoor

Goedgekeurd door: Nicole Koenderink

Opdrachtgever: het Ministerie van Landbouw, natuur en voedselkwaliteit

Financier: Stichting TKI Tuinbouw en Uitgangsmaterialen en partners

© 2020 Wageningen Food & Biobased Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research.

Vertrouwelijk rapport. Uit deze uitgave mag niets worden gereproduceerd en/of openbaar gemaakt zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de directeur van Wageningen Food & Biobased Research. Dit rapport is vanaf oktober 2021 gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/555206> of op www.wur.nl/wfbr (onder publicaties).

Postbus 17, 6700 AA Wageningen, T 0317 48 00 84, E info.wfbr@wur.nl, www.wur.nl/wfbr.
Wageningen Food & Biobased Research is onderdeel van Wageningen University & Research.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, hetzij mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever. De uitgever aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele fouten of onvolkomenheden.

Inhoud

Inhoud	3
Woord vooraf	6
Summary	7
Samenvatting	9
1 Introductie	11
1.1 Aanleiding en doel	11
1.2 Globale aanpak project	11
2 Achtergrond kroonschimmel: Literatuur en praktijkervaring	13
2.1 Kroonschimmel in de praktijk	13
2.2 Schimmels in de na-oogstfase	13
2.3 Groeicondities van schimmels	14
2.4 Klachten en schimmeldruk	15
2.5 Conclusie & discussie	16
3 Invloed van diverse factoren: een verkenning (Experiment 1, april 2017)	17
3.1 Inleiding en doel	17
3.2 Opzet experiment	17
3.2.1 Bepaling partijkarakteristieken	18
3.2.2 Meting vochtverlies en ontwikkeling van kroonschimmel	19
3.2.3 Gegevensverwerking	19
3.3 Karakteristieken startmateriaal	19
3.4 Bepaling infectiegraad	22
3.5 Gewichtsverlies	24
3.6 Ontwikkeling kroonschimmel tijdens bewaring	25
3.7 Verband tussen partijkarakteristieken het vochtverlies en kroonschimmel	26
3.7.1 Vochtverlies	26
3.7.2 Kroonschimmel	27
3.8 Conclusies	27
4 Invloed van type schaal en folie (Experiment 2, september 2017)	29
4.1 Inleiding	29
4.2 Doel	29
4.3 Proefopzet	29
4.3.1 Vochtverlies en ontwikkeling van kroonschimmel	30
4.3.2 Gegevensverwerking	30
4.4 Resultaten	30
4.4.1 Luchtsamenstelling in de PLA verpakking met laserperforatie	30
4.4.2 Wateropname door de kartonschaal	30
4.4.3 Gewichtsverlies van het product	31
4.4.4 Kroonschimmel	32
4.5 Uitgesteld verpakken	33
4.6 Conclusies	34
5 Invloed typen karton (Experiment 3, mei 2018)	35
5.1 Inleiding en doel	35
5.2 Doel	35
5.3 Proefopzet	35

5.3.1	Algemene aanpak	35
5.3.2	Selectie verpakking: voorproef	36
5.3.3	Tomaten: oogst en verpakken	38
5.3.4	Conditie	38
5.3.5	Beoordelingen	38
5.3.6	Statistiek	38
5.4	Resultaten	38
5.4.1	Kroonschimmel	38
5.5	Conclusie en discussie	39
6	Flowpack versus topseal in palletopstelling (Experiment 4, augustus 2019)	40
6.1	Inleiding & doel	40
6.2	Proefopzet	40
6.3	Resultaten	43
6.3.1	Drukplekken	43
6.3.2	Klimaat	43
6.3.3	Vochtverlies	44
6.3.4	Kroonschimmel	44
6.4	Conclusie en discussie	46
7	Hyperspectral imaging to predict sensitivity of calyces to fungus (Experiment HS1, December 2017)	48
7.1	Introduction	48
7.2	Experimental set-up	49
7.2.1	Materials & method	49
7.2.2	Imaging datasets	51
7.3	Results	51
7.3.1	Observed fungal infection on sepals	51
7.3.2	Characterization of types of fungi	52
7.3.3	Data-driven Fungal severity prediction model	53
7.4	Conclusions	55
8	Hyperspectral imaging to predict sensitivity of calyces to fungus (Experiment HS2, October 2018)	56
8.1	Introduction	56
8.2	Experimental setup	56
8.2.1	Tomatoes	56
8.2.2	Conditions	57
8.2.3	Measurements	57
8.2.4	Hyperspectral Imaging Feasibility study	58
8.2.4.1	Data preparation for feasibility study	59
8.2.4.2	Data analysis	60
8.3	Results	60
8.3.1	Observed fungal infection on sepals	60
8.3.2	Results of the hyperspectral imaging feasibility	62
8.4	Conclusions and discussion	63
9	Overzicht kansen en (on)mogelijkheden UV and Ozon-technologie in de tomatenketen	65
9.1	Doel	65
9.2	UV-C	65
9.2.1	Wat is het?	65
9.2.2	Principe van werking (Turtoi, 2018)	65
9.2.3	Resultaten onderzoek bestrijding (kroon)schimmel met UV-C	66
9.2.4	Toepassing in praktijk	67

9.2.5	Conclusie & aanbevelingen UV	68
9.3	Ozon	69
9.3.1	Werking	69
9.3.2	Resultaten beschreven in literatuur	69
9.3.3	Toepassing in praktijk	70
9.3.4	Conclusie & aanbevelingen ozon	71
10	Conclusies, discussie & aanbevelingen	72
10.1	Beperking groei kroonschimmel	72
10.2	Beperken vochtverlies	73
10.3	Voorspellen van gevoelige partijen	73
10.4	Aanbevelingen voor de praktijk en ideeën voor vervolgonderzoek	74
	Literatuur	76

Woord vooraf

Dit rapport is tot stand gekomen na 3 jaar onderzoek in het kader van het PPS-project Humistatus, Werkgroep Tomaat. Het project is uitgevoerd in het kader van de Topsector Tuinbouw en Uitgangsmaterialen. De publiek-private samenwerking in dit project heeft succesvol geleid tot een goede samenwerking en balans tussen praktisch, toegepast en fundamenteel onderzoek. De groep partners was een betrokken enthousiaste groep die gezamenlijk antwoorden en oplossingen wilde vinden op de kroonschimmelproblematiek. En de groep heeft dit ook in gezamenlijkheid gerealiseerd door in goed overleg experimenten uit te voeren, gebruik makende van elkaars faciliteiten en expertise.

De samenwerking met de onderzoekers van BioSense in Servië via het Antares-EU project is ook uniek geweest. Deze samenwerking heeft het mogelijk gemaakt om uitgebreide analyse en modelontwikkeling te doen met behulp van binnen Humistatus gerealiseerde data met de hyperspectrale camera. Bovendien kan de data uit het tweede experiment ook nog verder geanalyseerd worden en het model verbeterd worden. Zo komt een betrouwbare voorspelling van partijen met hoger risico op kroonschimmel dichterbij voor de praktijk, naast de heldere aanbevelingen die de verpakkingsexperimenten hebben opgeleverd.

Namens het Wageningse onderzoeksteam wil ik allen betrokken partners heel hartelijk bedanken voor hun bijdrage aan dit project:

- Ministerie van Landbouw, natuur en voedselkwaliteit en Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen,
- Greenyard (Univeg): Gerrit-Jan Kornet, Erik van der Kamp
- Greenyard (Bakker Barendrecht): Suzanne van der Werff, Rene Geelhoed,
- Prominent/Door Partners: Stef Baetings, Wim van den Berg, Joost Geers
- RijkZwaan: Albert van Os
- Seasun: Trea Hoekstra
- Amcor Flexibles: Luuk Janssen, Rogier van der Slikke
- And many thanks to the researchers from BioSense Institute in Serbia: Marko Panic, Sanja Badr, Zeljana Saric.

Als projectleider wil ik ook alle betrokken onderzoekers ook bedanken voor hun bijdragen.

Esther Hogeveen
Projectleider

Summary

Moisture related problems with fresh fruits and vegetables, such as moulds and weight loss, lead to loss of value in the postharvest chain. For instance with tomatoes, problems arise with fungal infection of calyces, especially under humid and warmer conditions. Remarkably, these problems occur batch wise. Although several studies have been performed in the past on this topic, the industry still cannot control the problem.

In this project the aim is to get more insight in the contribution of various factors (mostly after harvest) to the problems with fungal growth on calyces. Moreover, it is aimed to develop solutions to prevent the problems. One of the potential solutions is a better prediction of batches which are more susceptible to fungal growth. This will help to make a different decision on for instance packaging type and the length of the distribution channel.

Limiting fungal growth on calyces

The experiments in the project resulted in several clear insights on the influence of packaging on fungal growth (and weight loss of product):

- Fungal growth is specifically stimulated in packages in the lower layer of a dual layer crate. Weight loss in these packages is generally lower than the packages in upper layer.
- The type of material of which the tray is made has limited to no effect on fungal growth on the tomato calices in the package. A cardboard tray does result in a little more weight loss of the product.
- The design of the scale does have influence on the growth of the fungus. Perforation and space between packages in the crate lead to less infected sepals.
- The type of foil and degree of perforation only has effect when the perforations are not blocked.
- Delay of packaging after harvest with 2 days resulted in the experiments in an increased growth of the fungus on the sepals.

Post-harvest measures to destroy the present fungal spores, by for instance the use of ozone in packages or treatment with UV-C light do have some potential. However, there are still challenges to have successful implementation against fungi on tomato calyces. For example research is needed to find effective doses in safe way, and compliant with regulations.

Prediction of susceptibility of batches tomatoes for fungal growth on calyces

Several methods have been assessed whether they are suitable to be used after harvest as indicator for batches with high risks on severe fungal infections of calyces. It is possible to stimulate fungal growth on calyces by just placing them in a highly humid environment at relatively high temperature (~ 20°C). However, this method takes several days and quite some sample material.

A first experiment with hyperspectral imaging of tomato calyces after harvest gives promising results on prediction of the severity of fungal growth. There was a correlation between images of sepals without visible fungus present and the observed heaviness of infection after a few days under humid conditions (Pearson 0.75 and R^2 of 0.57). The model uses relatively complex methods for analysis and needs further improvement. With data from a second experiment this work will be continued in the Antares project and results will be shared with Humistatus.

Recommendations for practice and future research

Based on the results of this project the following recommendations can be made regarding packaging and limitation of fungal growth on calyces after harvest:

- ✓ Don't postpone the packaging process after harvest
- ✓ Enable air movement in and around the packages. This will limit infection and create more uniformity between packages
 - Sufficient perforations which are not blocked.
 - Possible solution in double layered crates is a "topseal" package. This prevents the extra fungal growth in the underlayer and creates uniformity. Perforation in the sides of the tray is generally not blocked by foil or other packages.

-
- A cardboard tray can be used with the same risk on fungal growth as plastic. The type of cardboard does not have influence on growth of the fungus.

Companies can limit the problems with fungi on calyces by taking care of the packaging method by creating space/air between the tomatoes. Probably this will not completely solve the problems. There will still be batch differences. To further minimize these problems, future research can help. These are a few recommendations on topics to follow up:

- ✓ Further development and improvement of the hyperspectral imaging method and model as predictive risk indicator for susceptible batches. Project partners recognize the potential of this technology to use it to make specific choices in their packaging and distribution for those batches with high risks.
- ✓ What is the contribution of 'weakening' of the calyces after harvest and the growth of the fungus?
- ✓ Further optimization packaging e.g.:
 - sustainable packaging
 - relation between packaging density and the fungal growth,
 - more insight in role of microclimate around calyx and critical thickness of 'boundary' layer etc.
- ✓ Look for solutions in cultivation (more healthy calyces, less presence of fungal spores). Also linking data from the cultivation conditions to post harvest measurement could possibly help to improve risk prediction.
- ✓ Application of Ozone or UV-C , or other technologies
- ✓ Implications of more sustainable packaging methods on fungal growth and product weight loss.

Samenvatting

Vochtgerelateerde problemen bij versproducten, zoals schimmelgroei en vochtverlies, leiden tot waarde- en/of gewichtsverlies in de keten. Opvallend is dat deze problemen sterk partijspecifiek optreden. Bij tomaten aan de tros is dit het geval met kroonschimmel. Ondanks een aantal studies in het verleden heeft men nog steeds geen grip op de infectie, die zich vooral onder vochtige warme omstandigheden voor doet. Het doel van dit project is om meer inzicht te krijgen in de bijdrage van verschillende factoren, met name in de na-oogstfase, aan de kroonschimmelproblematiek en is het streven om oplossingen hiervoor te ontwikkelen. Een mogelijke oplossingsrichting is om een betere inschatting te kunnen maken welke partijen het meest gevoelig zijn voor schimmelgroei. Zo kan een betere keuze gemaakt worden om deze gevoelige partijen onder de juiste omstandigheden af te zetten.

Beperken van uitgroei kroonschimmel

De experimenten in het project hebben een aantal zeer duidelijke inzichten gegeven betreffende de invloed van verpakkingen op het ontstaan van kroonschimmel (en vochtverlies):

- Kroonschimmelgroei wordt voornamelijk gestimuleerd in verpakkingen in de onderlaag van een dubbellaags krat. Vochtverlies is in deze laag vaak lager.
- Het materiaal van de schalen heeft een beperkt tot geen aantoonbaar effect op schimmelgroei in de verpakking. Een kartonnen schaal onttrekt wel iets meer vocht uit het product.
- Het design van de schaal heeft invloed op schimmelgroei. Meer perforaties en ruimte tussen verpakkingen leiden tot minder schimmel.
- Het type folie, inclusief perforatiegraad, heeft alleen invloed wanneer de perforaties niet afgedekt worden.
- Het 2 dagen uitstellen van het verpakken van tomaten leidde in de experimenten tot een verhoogde schimmelgroei.

Maatregelen om schimmelgroei te bestrijden zoals het gebruik van ozon of UV-licht bieden mogelijk kansen, maar ook diverse uitdagingen en vraagt nog onderzoek betreffende doseringen, effectiviteit, veiligheid, regelgeving etc.

Voorspellen van gevoelige partijen

Een aantal methoden is in het project onderzocht op mogelijk gebruik na oogst als risico-indicator op kroonschimmel voor een partij. Een mogelijkheid is om schimmelgroei op een aantal testsamples te stimuleren, door ze bij hoge luchtvochtigheid en temperatuur te houden. Deze methode kost echter te veel tijd en materiaal. Opnames met een hyperspectraalcamera en een model ontwikkeld met deze data, geeft een eerste indicatie dat dit een kansrijke methode is voor voorspelling van gevoelige partijen. Het model geeft een correlatie tussen een onaangetaste kroonslip na oogst en de zichtbare schimmelgroei na een aantal dagen onder vochtige omstandigheden (Pearson 0.75 en R^2 van 0.57). Het blijkt wel dat er sterke, complexe modelleertechnieken nodig zijn. Hier wordt nog verder aan gewerkt binnen het Antares project met data uit een tweede experiment. Het resultaat zal gedeeld worden met de Humistatus werkgroep.

Aanbevelingen praktijk en vervolgonderzoek

Op basis van deze resultaten kunnen de volgende aanbevelingen betreffende verpakken ter beperking van groei kroonschimmel (na oogst) gedaan worden:

- ✓ *Verpakken niet uitstellen na de oogst*
- ✓ *Maak luchtbeweging/ruimte tussen tomaten en verpakkingen mogelijk: dit beperkt schimmelgroei en zorgt voor meer uniformiteit tussen verpakkingen.*
 - ✓ *voldoende gaten, niet afgedekt of opgesloten*
 - ✓ *mogelijke oplossing dubbellaagse krat: topsealverpakking --> geen extra schimmelgroei in onderlaag, gelijke groei en vochtverlies in boven- en onderlaag. Perforaties blijven open.*
- ✓ *Kartonnen schaal is net zo goed bruikbaar als plastic. Het type karton heeft geen invloed op de schimmelgroei.*

Bedrijven kunnen een groot deel van het kroonschimmelprobleem beperken door in de na-oogstfase te zorgen voor voldoende ruimte, lees luchtbeweging, tussen de tomaten met een goede verpakkingsmethode. Dit zal echter niet het probleem niet compleet oplossen. De partijverschillen zullen blijven bestaan. Om de kroonschimmelproblematiek verder te verminderen kan vervolgonderzoek helpen. Hier is een aantal aanbevelingen:

- Het verder ontwikkelen en verbeteren van de hyperspectrale methode en model, als risico-indicator voor gevoelige partijen. De projectpartners zien mogelijkheden om op basis hiervan specifieke keuzes te maken die het risico op kroonschimmel kunnen beperken bij risicovolle partijen. Bijvoorbeeld een kortere keten of juist een langere keten.
- Onderzoek naar de bijdrage van verzwakking van kronen (na oogst) op uitgroei van schimmels?
- Verdere optimalisatie verpakkingen: o.a. duurzame verpakkingen, relatie verpakkingsdichtheid en schimmelgroei, meer inzicht in rol van het microklimaat rondom de kroon en de verpakking en meer inzicht in de kritische "dikte" van de grenslaag.
- Oplossingen zoeken in de teeltfase, zoals het versterken van de kronen en verminderen van de schimmeldruk. Het koppelen van informatie uit teelt aan na-oogstmeting/beoordeling, om risico- inschatting van een partij te verbeteren.
- Onderzoek naar de toepassing van UV-C/Ozon of evt. andere desinfecterende of 'kroonversterkende' technieken

1 Introductie

1.1 Aanleiding en doel

Vochtgerelateerde problemen bij versproducten, zoals schimmel en fysiologisch bederf, leiden tot waarde- en gewichtsverlies in de keten. Opvallend is dat deze problemen sterk partijspecifiek optreden. Sprekend zijn de kwaliteitsproblemen bij o.a. lange bewaring van appels en peren, maar ook bij andere producten in kortere ketens, zoals tomaten, door vochtgerelateerd bederf (kroonschimmel) in de keten wat leidt tot aanzienlijke verliezen. Het PPS-project Humistatus heeft als overkoepelend doel om minder verliezen in de keten te realiseren door een betere (voorspelbare) kwaliteit, alsmede energiebesparing tijdens de bewaring. Daarbij wordt gezocht naar manieren om partijspecifiek vochtverlies en vochtgerelateerde problemen beter voorspelbaar en beheersbaar te maken. De focus binnen het project ligt op peren en tomaten.

Aan het begin van het project is gekozen om met 2 werkgroepen te werken: Werkgroep Peer en Werkgroep Tomaat. De Werkgroep Tomaat bestaat uit partners actief in veredeling, teelt, handel en toelevering van verpakkingsmateriaal (Greenyard (Univeg), Greenyard (Bakker Barendrecht), Prominent/Door Partners, Seasun, Amcor Flexibles). Dit rapport toont de onderzoeksresultaten van het onderzoek uitgevoerd door de Werkgroep Tomaat, in de periode 2017-2019. Het onderzoek is onafhankelijk uitgevoerd door onderzoekers van Wageningen Food & Biobased Research, met hulp van de diverse partners in de werkgroep. Bedrijven actief in de tomatenketen krijgen met dit rapport inzicht in welke factoren bepalend zijn voor het ontstaan van kroonschimmel in de keten en hoe ze hier meer grip op kunnen krijgen. Toepassing van deze resultaten zal bijdragen aan een vermindering van verliezen in de totale keten, een meer tevreden consument en een betere positie van de Nederlandse tomatensector.

1.2 Globale aanpak project

Belangrijkste doel voor dit project binnen de Werkgroep Trostomaat is om een methode te ontwikkelen voor trostomaat die een indicatie geeft in de gevoeligheid van een partij voor enerzijds het optreden van kroonschimmelinfecties en anderzijds uitdroging van groene delen. Daarnaast willen we praktische kennis opbouwen hoe er in de keten beter gestuurd kan worden met condities en verpakkingen. Dit alles om gezonde kronen in de keten te kunnen behouden.

De Werkgroep Tomaat heeft aan het begin van het project middels deskstudie (literatuur en informatie uit de praktijk) en discussies, de scope van het onderzoek aangescherpt. In Hoofdstuk 2 wordt de achtergrondinformatie over kroonschimmel beschreven. Onder andere op basis van deze informatie zijn de eerste experimenten bepaald.

In het eerste experiment, beschreven in Hoofdstuk 3 in dit rapport, is de invloed van allerlei product- en verpakkingseigenschappen op uitdroging van de groene delen en ontwikkeling van kroonschimmel verkend. In vervollexperimenten zijn in de praktijk en deels onder gecontroleerde omstandigheden bij WFBR experimenten uitgevoerd waarbij naar effecten van variaties in verpakkingstypen en luchtcondities gekeken is (Hoofdstuk 4-6). De combinatie van deze experimenten (uitgevoerd in de praktijk en bij WFBR) met steeds kleine aanpassingen in proefopzet, geeft een betrouwbaar beeld van de grote invloed van de manier van verpakken en plaatsing in een krat op infectie en vochtverlies van tomaten.

Het onderzoek heeft zich verder toegespitst op ontwikkeling van meetmethoden om risicopartijen vroegtijdig te kunnen herkennen. Een verkennend experiment met een hyperspectraal camera bood interessante aanwijzingen dat uitdroging/vocht in een trossteel met deze techniek in kaart gebracht zou kunnen worden. Omdat verder onderzoek veel onderzoekscapaciteit zou vragen, en er binnen

Humistatus slechts beperkt budget beschikbaar is, is er in overleg met de werkgroep een samenwerking gezocht met het EU-project Antares¹. In dit EU-project werkt WUR al samen met een instituut in Servië, BioSense, op het gebied van modellering. Door samenwerking tussen de twee projecten is het mogelijk om binnen Humistatus de experimenten uit te voeren waarbij data verzameld wordt met de hyperspectrale camera en gegevens over infecties van de tomaten na ketensimulatie (beschreven in Hoofdstuk 7-8) en een groot deel van de data-analyse en modelontwikkeling wordt in Servië uitgevoerd onder begeleiding van Wageningse onderzoekers met expertise in Computer Vision en data science. De eerste uitkomsten van het modelwerk worden beschreven in dit rapport, maar zullen via Antares-rapportage en/of wetenschappelijke publicatie verder beschreven worden. De hoofdstukken over de hyperspectrale metingen zijn in het Engels beschreven, in verband met de internationale samenwerking.

Hoofdstuk 9 geeft een overzicht van de huidige stand van zaken, kansen en uitdagingen met betrekking tot de toepassing van desinfecterende technieken zoals Ozon en UV-C. Dit is gedaan op basis van literatuuronderzoek, ervaringen van onderzoekers in Wageningen en beschikbare informatie van een aantal bedrijven actief in deze branche.

Hoofdstuk 10 vat het totale onderzoek samen in conclusies, enige discussie en aanbevelingen voor praktijk en eventueel vervolgonderzoek.

¹ <https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksprojecten-LNV/Expertisegebieden/kennisonline/ANTARES.htm>

2 Achtergrond kroonschimmel: Literatuur en praktijkervaring

2.1 Kroonschimmel in de praktijk

Kroonschimmel bij tomaten is een probleem dat al enige jaren met regelmaat weer naar voren komt in de praktijk. In 2007 is er een consultancy-onderzoek uitgevoerd door Wageningen UR naar het optreden van kroonschimmel (Janse and Boerrigter, 2007). Toen werd al duidelijk middels interviews met o.a. keurmeesters en literatuuronderzoek, dat het probleem niet alleen ontstaat als gevolg van diverse teelt/groeicondities, maar ook als gevolg van handling en condities na oogst in de gehele keten. Het advies was toen om vervolgonderzoek uit te voeren naar de bijdrage van de verschillende elementen die bij deze problematiek een rol spelen, om zo tot praktische maatregelen te kunnen komen.

Diverse initiatieven zijn in de afgelopen jaren opgepakt, maar anno 2017 blijkt het probleem nog steeds niet voldoende beheerst. Onze projectpartners (veredeling, teelt, handel, toeleveranciers) zien kroonschimmel nog steeds in de praktijk. Met name de onvoorspelbaarheid maken het moeilijk beheersbaar. Zij willen, elk met hun eigen rol in de keten, beter grip krijgen op dit probleem, zonder daarbij een ander probleem te creëren, zoals bijvoorbeeld minder vers uitziende groene delen.

In Figuur 1 is een impressie weergegeven van het type opmerkingen dat door de klant bij klachten teruggegeven is aan een van onze projectpartners (in 2017). Het blijkt dat met name kroonschimmel het meest genoemd werd, gevolgd door scheuren en schimmel.



Figuur 1 Impressie van opmerkingen bij klachten over tomaten (2017). De grootte van de letters geeft de frequentie van de opmerking weer.

2.2 Schimmels in de na-oogstfase

In de literatuur worden vermeldingen naar diverse type schimmels gemaakt die terug gevonden worden op tomaten in de na-oogstfase. In het rapport van (Janse and Boerrigter, 2007) wordt verwezen naar een rapport uit 1996 van Buitelaar en Paternotte waarin bewaaronderzoeken zijn uitgevoerd met cherrytomaten, afkomstig van verschillende telers. Hier werd vooral *Penicillium* aangetroffen, soms *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Verticillium* en *Fusarium*.

In een onderzoek bij trostomaten naar na-oogst verliezen veroorzaakt door schimmels werden de volgende schimmels gedetecteerd: *Penicillium olsonii*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria alterna* en in mindere mate *Galactomyces geotrichum* ((Punja et al., 2016). *Penicillium* kwam het meest voor.

2.3 Groeicondities van schimmels

Schimmels die op plantenmateriaal (dood of levend) groeien hebben over het algemeen een hoge luchtvochtigheid nodig:

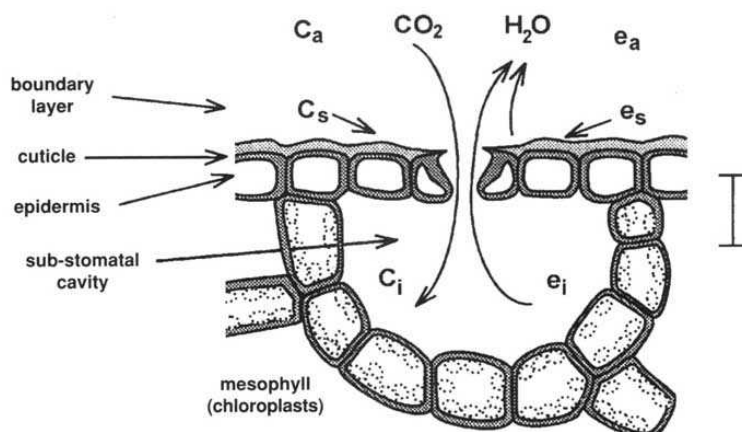
- Voor kieming: minimaal 85-90% RV
- Voor groei: minimaal 88-92%, RV
- Voor sporenvorming: minimaal 90-92% RV.

Voor pathogenen (die levend plantmateriaal aantasten) ligt de ondergrens voor sporulatie tussen 90-98% RV. De maximale sporulatie vindt plaats bij 97-100% RV (Lacey, 1989).

Veel van de genoemde schimmels in Hoofdstuk 2.2 zijn schimmels die zich vooral via sporevorming voortplanten en verspreiden. Sporen worden in grote aantallen gevormd en worden losgelaten van het mycelium van de schimmel (het deel van de schimmel dat de infectie van het plantmateriaal veroorzaakt) via gespecialiseerde structuren (conidia). Het loslaten van de rijpe sporen gebeurt met name door de beweging van de lucht.

Het begin van een besmetting van plantmateriaal wordt vaak geïnitieerd door contact van de gastheer met sporen, die daarna gaan kiemen. Of een spore echt landt, hangt af van de hoeveelheid turbulentie rond de voorwerpen die de spore tegen komt (Dix and Webster, 1995). Sporen landen beter op stengels dan op bladeren door de grotere turbulentie rond de bladeren (Dix and Webster, 1995). De trichomen op de trosstelen en de kroon/calyx kunnen de dikte van de grenslaag rond de steel en de calyx vergroten waardoor de spore makkelijk landt nadat het de grenslaag (stilstaande luchtlaag) heeft bereikt (Dix and Webster, 1995).

Door verdamping via de huidmondjes verliest een blad waterdamp dat mengt met de omgevingslucht. Dit creëert een gradiënt van luchtvochtigheid over de grenslaag. Bij een lage luchtbeweging (windsnelheden onder ongeveer 0.1 m/s) is de luchtvochtigheid in de grenslaag anders, hoger, dan de luchtvochtigheid op enige afstand van het blad. En deze omstandigheden zijn meer stimulerend voor kieming en groei van sporen. Het meten van de luchtvochtigheid van de grenslaag is moeilijk, zo niet onmogelijk, omdat elk meetinstrument de grenslaag zal verstoren (Ferro and Southwick, 1984).



Figuur 2: Dwarsdoorsnede huidmondje in een blad inclusief weergave van de stromen CO₂ en water in het licht. (C_i , C_s , C_a : CO₂ concentratie intern, oppervlak en omgeving; e_i , e_s , e_a : Luchtvochtigheid intern, oppervlak en omgeving.)²

² <http://www.fao.org/3/w5183e/w5183e07.htm>, Fig. 5.2; d.d. 08-10-2019

Onderstaande tabel geeft een overzicht van de omstandigheden waaronder de schimmelsoorten die vaak voorkomen op tomaat kunnen groeien: *Penicillium spp.*, *Alternaria*, *Botrytis* en *Rhizopus* (Lacey, 1989) en *Penicillium olsonii* (López Díaz et al., 2002). De schimmels kunnen groeien bij een brede range van groeitemperaturen en luchtvochtigheden, welke in de keten heel reëel zijn.

Tabel 1 Groeiomstandigheden van *Penicillium spp.*, *Alternaria*, *Botrytis* en *Rhizopus* (Lacey, 1989)

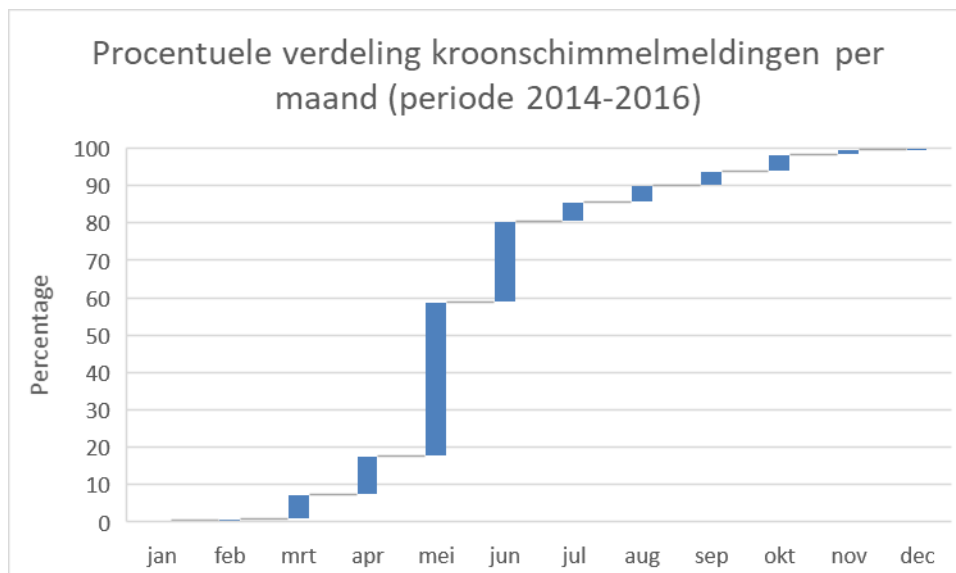
	T-range (°C)	T-optimum (°C)	RV-minimum (%)	RV-optimum (%)
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	-2 tot 32	23	81-83	>98
<i>Penicillium brevicompactum</i>	12 tot 30	23	78-82	100
<i>Penicillium digitatum</i>	6 tot 37	20 tot 25	90	100
<i>Penicillium expansum</i>	-6 tot 35	25 tot 26	82-83	100
<i>Penicillium roquefortii</i>	<5 tot 35	25	83	100
<i>Alternaria alternata</i>	0 tot 35	20 tot 25	88	100
<i>Rhizopus stolonifer</i>	5 tot 34	26 tot 29	93	100
<i>Botrytis cinerea</i>	-2 tot 35	22 tot 35	93-95	100

Tabel 2 Groeiomstandigheden van *Penicillium olsonii* ((López Díaz et al., 2002)

	T-range (°C)	T-optimum (°C)	RV-minimum (%)	RV-optimum (%)
<i>Penicillium olsonii</i>	10 tot ?	?	86	92

2.4 Klachten en schimmeldruk

Op basis van data gedeeld door een van de partners zijn de kwaliteitskeuringen, met opmerkingen geanalyseerd die betrekking hebben tot kroonschimmel (Figuur 3). Hieruit blijkt de maand mei er met name uit te springen. De hoeveelheid aanvoer van tomaten is hier niet in meegenomen, dit kan een enigszins vertekend beeld opleveren als er meer tomaten in mei aangevoerd worden dan in andere maanden.



Figuur 3 Cumulatieve procentuele verdeling kroonschimmelmeldingen over de maanden (periode 2014-2016)

Uit andere data die met ons gedeeld is door een van de projectpartners, verkregen uit het meten van sporendruk middels bemonstering van lucht met petrischalen op diverse bedrijven, kunnen we geen heldere conclusie trekken met betrekking tot sporendruk door het jaar heen. De monsters zijn niet overal met dezelfde regelmaat genomen en de gemeten waarden fluctueren sterk. Daarom is het onduidelijk hoe deze data geïnterpreteerd mag worden. Er kunnen meerdere redenen zijn voor

sporendruk fluctuatie: bijvoorbeeld de sporendruk fluctueert daadwerkelijk in de kas (natuurlijk of door gewasbescherming), of de monsternamemethode is niet ideaal (bijvoorbeeld grote verschillen door locatie waar je sample neemt).

In een Canadese studie wordt gerapporteerd dat de hoeveelheid schimmels op tomatenvruchten en samenstelling van de schimmelpopulatie fluctueert van week tot week (gemeten in twee kassen, gedurende twee jaar) (Punja et al., 2016). De grootste bron van schimmels op de vruchten bleek de stengel en de calyx. De genoemde schimmels kwamen ook allemaal voor in het snoeiafval in de gangpaden (Punja et al., 2016).

2.5 Conclusie & discussie

Kroonschimmel bij tomaat is nog steeds een probleem in de praktijk. Meerdere typen, met name sporenvormende schimmels kunnen het probleem zijn. De sporen van deze schimmels moeten landen op een gastheer om uiteindelijk te kunnen infecteren. Dit landen kunnen ze beter bij weinig turbulentie en meer stilstaande lucht (een dikkere grenslaag) rondom de gastheer. Dit is meer het geval bij stengels en waarschijnlijk ook kronen, dan bij bladeren.

Wanneer een schimmelspore landt op de epidermis van een kroonslip, krijgt het te maken met het microklimaat dat daar heerst. De omstandigheden daar bepalen of de spore kan kiemen en uitgroeien. Rond de epidermis bestaat een grenslaag met een gradiënt in RV. Bij de groene delen is dat ca 100% direct aan het oppervlak tot aan de heersende RV in de kas. De dikte van deze grens(gradiënt)laag is sterk afhankelijk van de luchtstroomsnelheid. Het verschil in RV kan meer oplopen bij een dikkere grenslaag (stilstaande lucht). In een verpakking is de luchtsnelheid heel beperkt waardoor de omstandigheden voor kieming wat betreft beschikbaarheid van water erg gunstig zijn. Optimalisatie van de verpakking in samenhang met stapeling en doos (om ongewenste afsluiting perforaties in verpakking te voorkomen) lijkt dan ook potentie te hebben om de kroonschimmelproblematiek beter te kunnen beheersen.

Alle schimmelsoorten die genoemd worden in relatie tot tomaat, groeien bij de temperaturen waaronder tomaten normaal gesproken verpakt en getransporteerd worden ($\sim 14^{\circ}\text{C}$), met optima die hoger liggen ($\sim 20\text{-}30^{\circ}\text{C}$). Verlaging van ketentemperatuur kan problematiek reduceren.

In mei zijn er meer klachten over schimmels. Op basis van data van metingen bij bedrijven komt dit niet heel expliciet naar voren.

3 Invloed van diverse factoren: een verkenning (Experiment 1, april 2017)

3.1 Inleiding en doel

Het eerste experiment was een verkenning naar effecten van diverse factoren zoals herkomst, type vrucht/ras, verpakking op kroonschimmel en de mate van uitdroging van groene delen. Een ander doel was om verschillende partijkarakteristieken te bepalen en te kijken of er correlaties te vinden zijn met de mate van kroonschimmelinfectie en/of uitdroging.

3.2 Opzet experiment

In het eerste experiment naar de ontwikkeling van kroonschimmel op tomatomaat werd de invloed van type product, ras en herkomst, en de invloed van de verpakking onderzocht.

Daartoe werden tomaten van 2 rassen, Rivolet en Briolet, van verschillende herkomsten onverpakt en verpakt bewaard in een geconditioneerde ruimte bij 18°C, 70% RV, met 12 uur licht per dag (12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Daarnaast werden van elke herkomst tomaten geplaatst in een omgeving met stilstaande lucht en 100% RV om een beeld te krijgen van de maximale besmettingsgraad bij deze temperatuur. Bij aanvang, en na 4 en 7 dagen bewaring, werden de kroonschimmels beoordeeld op de groei/aanwezigheid van schimmel. Daarbij werd ook het gewichtsverlies van de verpakking gemeten. De onverpakte monsters lagen op hun schaal in het IFCO-kraat. Verpakte monsters lagen in twee lagen in het kraat. Bij de metingen is steeds onderscheid gemaakt tussen de onderste en de bovenste laag. Voor het experiment werden tomaten geleverd door de projectpartners, uit belichte of onbelichte teelt. In Tabel 3 staat het overzicht van de geleverde partijen.

Tabel 3: Geleverde partijen 'Briolet' en 'Rivolet'

Code	Ras	Herkomst	Teelt	Keurdatum	Oogstdatum
A	Briolet	Prominent 1	onbelicht	20170424	
B		Prominent 2	belicht	20170421	
C		Prominent 3	onbelicht	20170424	
D		Rijk Zwaan	onbelicht		20170424
E	Rivolet	Prominent 4	belicht	20170421	
F		Prominent 4	onbelicht	20170421	
G		Seasun B.V.	belicht		20170424
H		Seasun B.V.	onbelicht		20170424
J		Bakker	?		

De tomaten van partijen A t/m H waren verpakt in een standaard flowpack met kunststof schaal en een geperforeerde folie. Partij D, Briolet afkomstig van Rijk Zwaan, werd verpakt op de verpakkinglijn van Seasun, met een hoger vulgewicht dan de andere Briolet partijen. Partij J, Rivolet afkomstig van Bakker Barendrecht, waren losse tomaten met kroon maar zonder steel, in een kartonschaal en folie, met een hoger vulgewicht dan de andere Rivolet partijen.



Figuur 4: Voorbeeld van een verpakte partij Brioso (links) en Rivolo (rechts)



Figuur 5: Gebruikte schalen voor Brioso (linker twee) en Rivolo (rechter twee)

De partijen werden verzameld bij Prominent, door leden van het projectteam gezamenlijk beoordeeld en vervolgens naar Wageningen gebracht.

De volgende karakteristieken van elke partij werden vastgelegd en worden in de volgende paragrafen besproken:

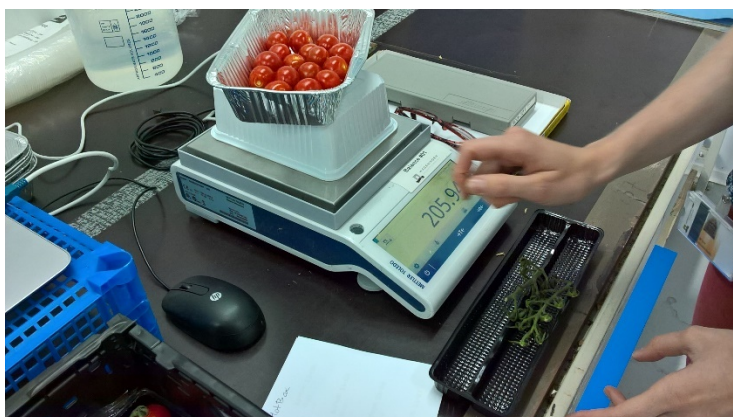
- Vulgewicht (Figuur 8) en aantal vruchten per verpakking (Figuur 9)
- Het aantal bruine kroonslippen per verpakking bij Brioso (Figuur 10)
- Verhouding vrucht en steel (Figuur 11)
- Vochtgehalte van de steel (Figuur 12)
- Aantal wondvlakken van de steel (Figuur 13, Figuur 14)

3.2.1 Bepaling partijkarakteristieken

Voor het bepalen van de karakteristieken van de partij werden de volgende parameters gemeten:

- Totaal versgewicht, zonder verpakkingsmateriaal (Figuur 6)
- Versgewicht van de vruchten en het aantal vruchten
- Versgewicht en drooggewicht van de steel
- Aantal wondvlakken

Het drooggewicht van de steel werd gemeten na 48 uur drogen bij 80°C (Figuur 7).



Figuur 6: Weging van het versgewicht van de vruchten uit een verpakking



Figuur 7: Het drogen van de stelen bij 80°C in de droogstoof

3.2.2 Meting vochtverlies en ontwikkeling van kroonschimmel

Voor het bepalen van het vochtverlies is elke verpakking gewogen op de volgende momenten:

- bij aanvang van het experiment,
- na de eerste drie dagen van de bewaring
- na 7 dagen bewaring (het einde van de bewaarperiode).

Om de ontwikkeling van kroonschimmel te volgen is bij aanvang het aantal kroonslippen per verpakking bepaald en het aantal kroonslippen met schimmelaantasting. Bij Briosio is ook gelet op het aantal kroonslippen met een bruine punt. Na de bewaring is met het projectteam de schimmelaantasting beoordeeld.

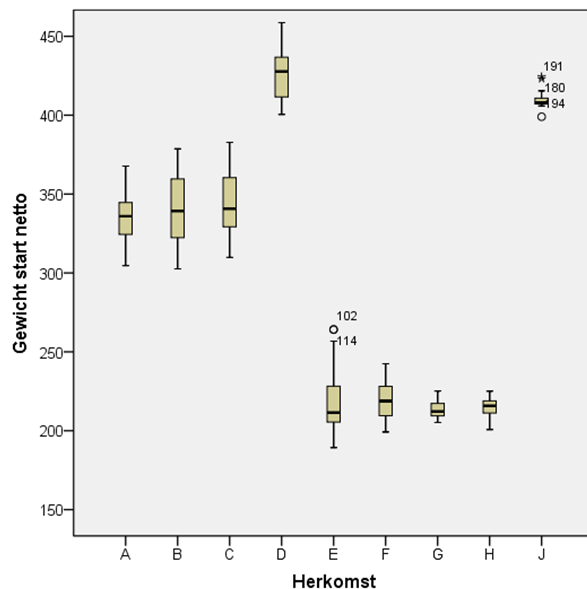
3.2.3 Gegevensverwerking

De resultaten worden met staafdiagrammen of lijnen weergegeven met de gemiddelde waarden per factor en het 95% betrouwbaarheidsinterval, berekend in Microsoft® Excel® 2016 MSO (16.0.4849.1000, 32-bits editie).

De relatie tussen kwaliteitsparameters zijn weergegeven in correlatietabellen die berekend zijn in Excel.

3.3 Karakteristieken startmateriaal

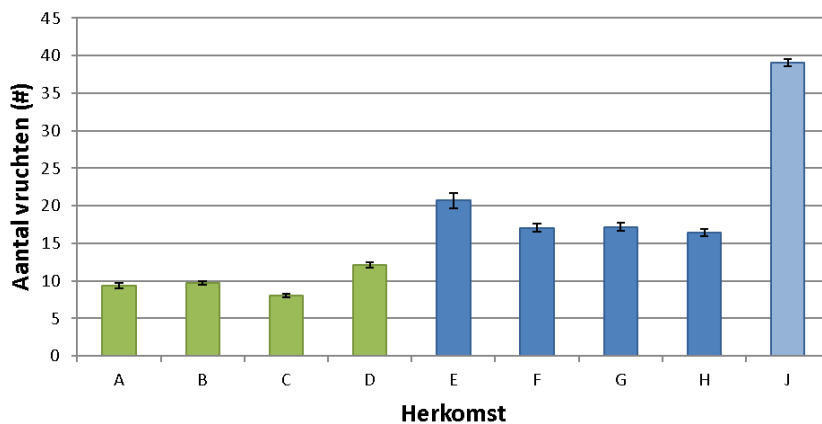
Figuur 8 laat het gemiddelde vulgewicht zien, bij aanvang van het experiment. Partij D heeft in vergelijking met de andere Briosio-partijen een veel hoger vulgewicht, bijna 100g meer per verpakking. Het vulgewicht van de Rivolo-partijen E t/m H is zeer constant, waarbij partij E relatief veel spreiding laat zien. Partij J wijkt sterk af.



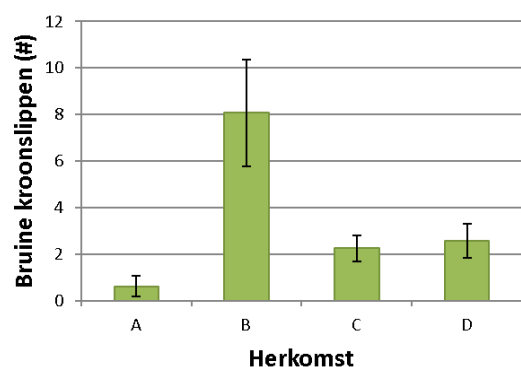
Figuur 8: Netto gewicht (g) per partij in een boxplot, met gemiddelde en spreiding van de partijen A t/m J

Brioso bevat gemiddeld 8 tot 10 vruchten per verpakking (Figuur 9). Rivolo heeft meer vruchten dan Brioso per verpakking. Bij de herkomsten E t/m H zijn er gemiddeld 16 tot 20 vruchten per verpakking. Partij J springt eruit met circa 40 vruchten.

Meer vruchten betekent ook meer kroonslippen. De kroonslippen van Rivolo zijn opgekruld, waardoor eventuele afwijkingen aan de puntjes niet zichtbaar zijn. De kroonslippen van Brioso zijn vlak en daardoor zijn de punten goed zichtbaar. Partij B viel op door bruine punten aan de kroonslippen (Figuur 10).

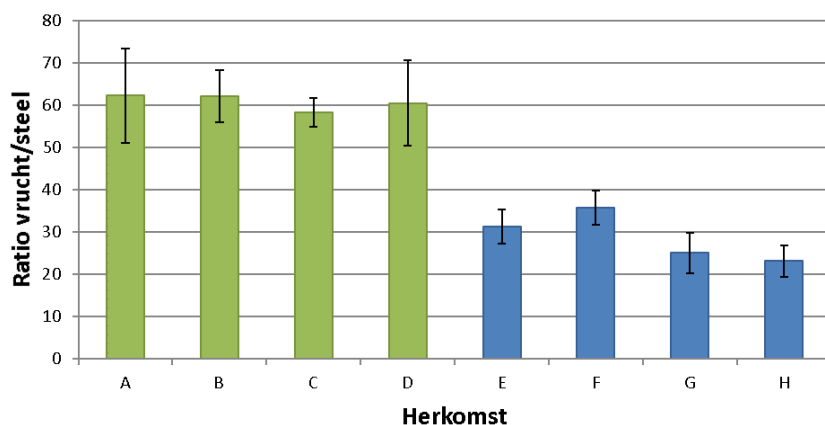


Figuur 9: Het gemiddeld aantal vruchten per verpakking van alle partijen, met het 95% betrouwbaarheidsinterval



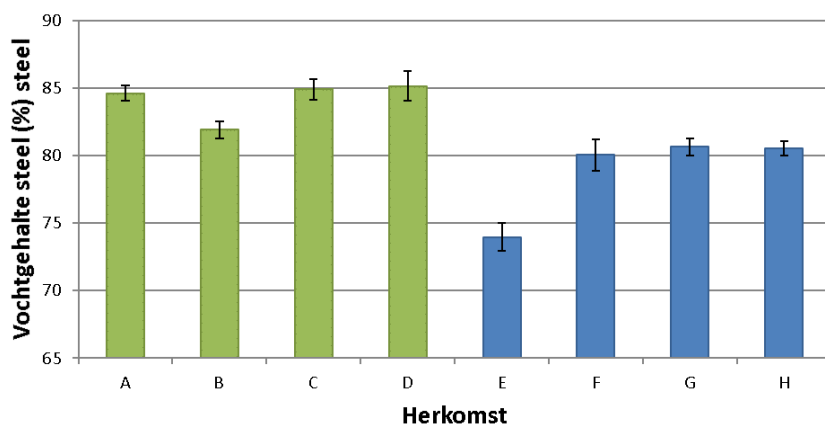
Figuur 10: Het gemiddeld aantal (#) bruine kroonslippen per verpakking bij de partijen Briosio, met het 95% betrouwbaarheidsinterval

In Figuur 11 is te zien dat er vooral een rasverschil is in de verhouding tussen de hoeveelheid vruchten (g) en de hoeveelheid steel (g). Briosio heeft een hogere ratio dan Rivolo, wat inhoudt dat Briosio minder steel heeft ten opzichte van de vruchten dan Rivolo.



Figuur 11: Verhouding tussen het gewicht van de steel en de vruchten op basis van versgewicht van alle partijen, behalve J, met het 95% betrouwbaarheidsinterval

Het vochtgehalte van de steel (Figuur 12) laat rasverschillen, maar ook herkomstverschillen zien. Briosio heeft een hoger vochtgehalte dan Rivolo. Bij Briosio heeft herkomst B het minste vocht. Het was ook Herkomst B met de meeste bruine kroonslippen. Het is niet duidelijk of hier sprake is van een oorzakelijk verband. Bij Rivolo heeft herkomst E het laagste vochtgehalte. Partij E werd bij de start omschreven als een 'oude tak'.

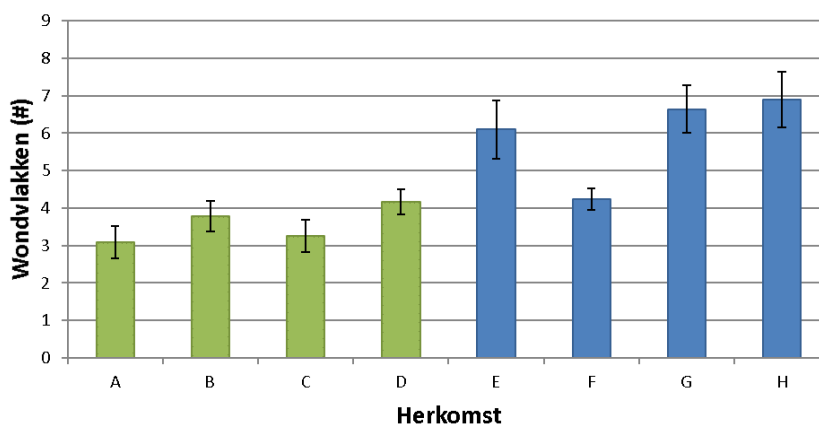


Figuur 12: Vochtgehalte (%) van de stelen van alle partijen, behalve J, met het 95% betrouwbaarheidsinterval



Figuur 13: Illustratie van de telling van het aantal wondvlakken bij Rivolo, in dit specifieke voorbeeld zijn 17 wondvlakken te tellen

Het aantal takken in de verpakking en het aantal weggeknijpte vruchten verhoogt het aantal wondvlakken (Figuur 13). Figuur 14 laat het gemiddeld aantal wondvlakken per verpakking zien. Het aantal wondvlakken in een verpakking lag bij Rivolo hoger dan bij Briosi, met uitzondering van herkomst F.



Figuur 14: Gemiddeld aantal wondvlakken (#) per verpakking in alle partijen, behalve J, met het 95% betrouwbaarheidsinterval.

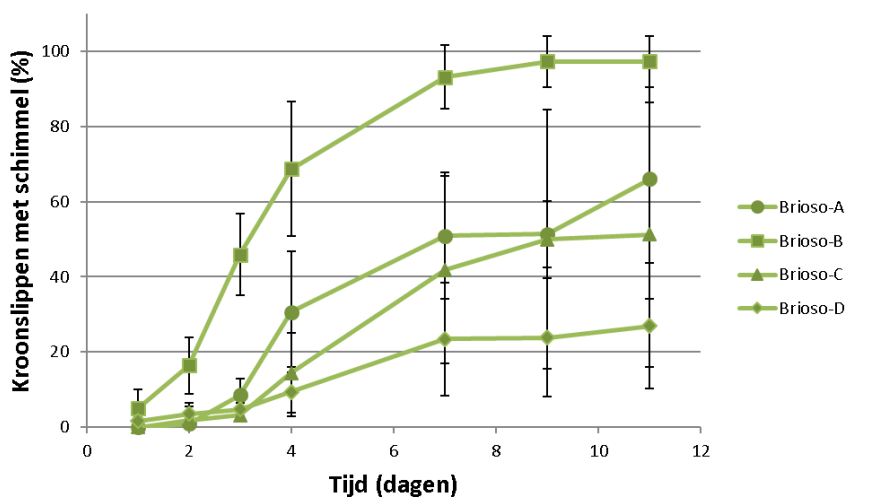
3.4 Bepaling infectiegraad

Van elke partij werden tomaten van 4 verpakkingen in een perspex bak bewaard onder dezelfde temperatuur- en lichtcondities, maar onder zeer hoge luchtvochtigheid (RV~ 100%) en beperkte luchtcirculatie, om de ontwikkeling van de kroonschimmel te volgen (Figuur 15). Op deze manier krijgen alle aanwezige sporen op de kroonslippen een kans om te kiemen en uit te groeien, en dit geeft een indicatie van de maximale schimmelontwikkeling van een partij, ook wel infectiegraad genoemd.



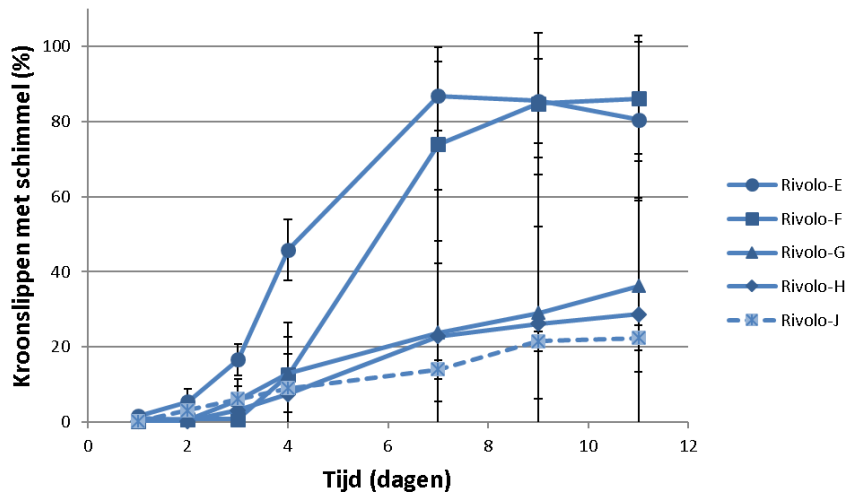
Figuur 15: Monsters in de perspex bak met hoge luchtvochtigheid en zonder luchtcirculatie

Alle Brioso-partijen zijn besmet, maar er zijn duidelijke verschillen tussen de herkomsten. Partij B laat een snelle stijging van het aantal kroonslippen met schimmel (Figuur 16) en nadert de 100% kroonslippen met schimmel na een week bewaring. Partij B had bij aanvang al wat schimmelaantasting en werd door de keurmeesters als risicopartij aangemerkt. Partij D heeft de laagste initiële besmetting en blijft de minst besmette partij. De verschillen tussen de herkomsten worden na 3 dagen bij hoge RV zonder luchtbeweging duidelijk en blijven zo. De figuur laat ook een grote spreiding in besmetting tussen de verpakkingen van een partij zien.



Figuur 16: Maximale ontwikkeling van kroonschimmel (% geïnfecteerde kroonslippen) bij 4 partijen Brioso (A-D), tijdens bewaring bij 100%RV, zonder luchtcirculatie, met het 95% betrouwbaarheidsinterval

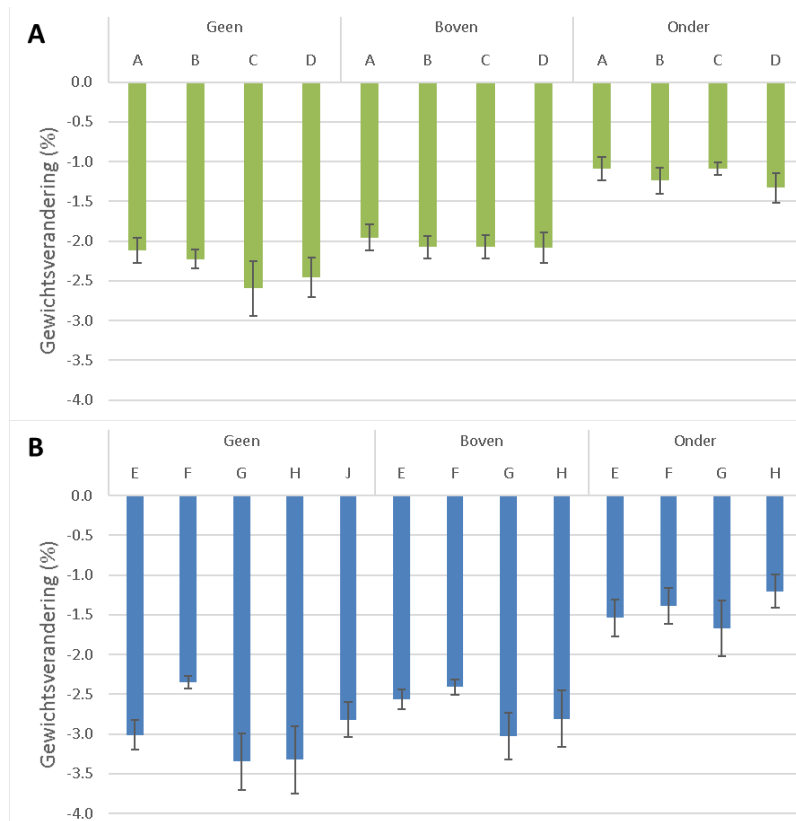
Figuur 17 laat de ontwikkeling van kroonschimmel in Rivolo-partijen zien. Partijen E en F laten een snelle stijging van het percentage kroonslippen met schimmelaantasting zien. De besmettingsgraad van deze partijen is bijna 100%. Partij E werd bij aanvang van het experiment omschreven als 'oude tak' en vertoonde al wat schimmeligroei. Partij F daarentegen werd niet aangemerkt als 'risicopartij'. De partijen G en H hadden een beduidend lagere besmettingsgraad. Bij partij J leek de besmettingsgraad relatief laag met circa 20%, maar dat was de aantasting die van bovenaf zichtbaar was. Toen bij de eindbeoordeling alle kronen, ook van onderliggende vruchten werden onderzocht, bleek de besmettingsgraad met gemiddeld 50% veel hoger te liggen.



Figuur 17: Maximale ontwikkeling van kroonschimmel(% geïnfecteerde kroonslippen) bij 5 partijen Rivolo (E-H,J), tijdens bewaring bij 100%RV, zonder luchtcirculatie, met het 95% betrouwbaarheidsinterval

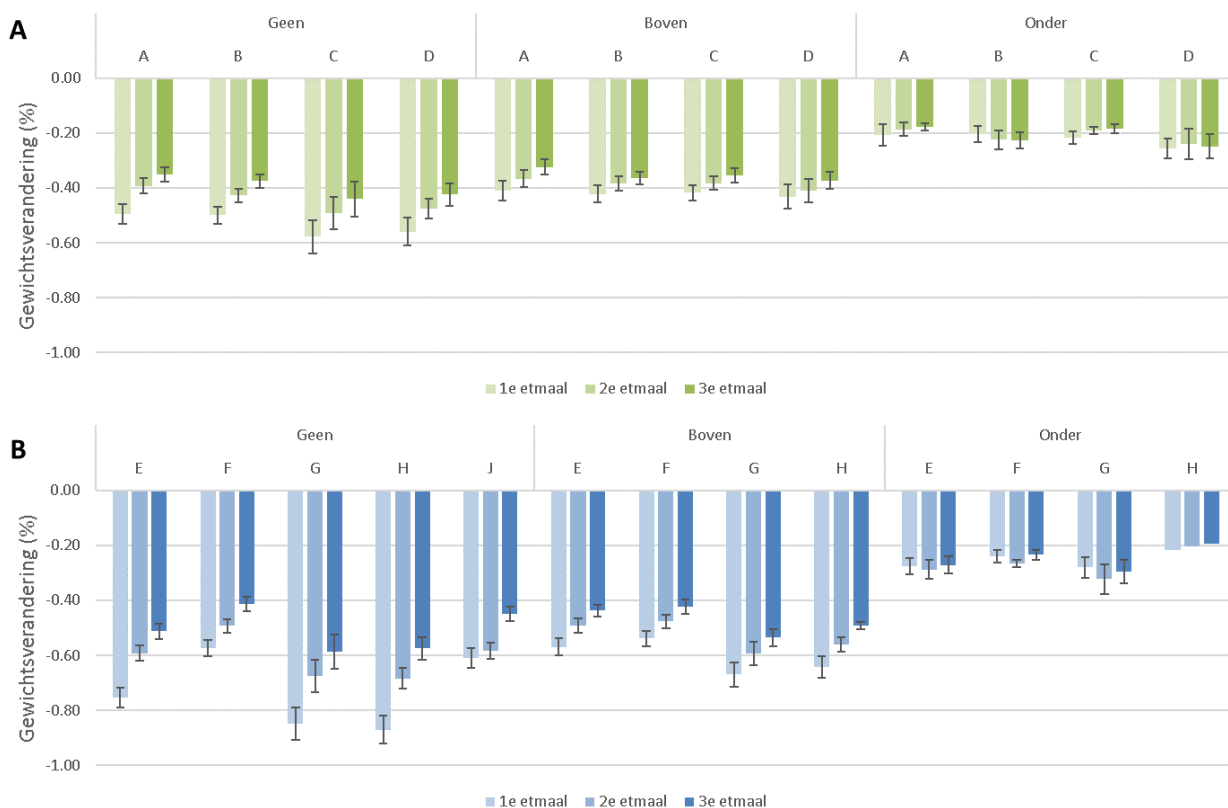
3.5 Gewichtsverlies

Rivolo verliest tijdens de week bewaring meer gewicht, met name vocht, dan Briosio (Figuur 18). Het gewichtsverlies is het laagst in de onderlaag van de verpakte monsters. Zonder verpakking verliezen de monsters net wat meer gewicht dan in de bovenste laag in het krat met verpakking. Bij Rivolo zijn de verschillen tussen de herkomsten wat groter dan bij Briosio.



Figuur 18: Gewichtsverandering (% , met het 95% betrouwbaarheidsinterval) van verschillende partijen Briosio (A; A-D) en Rivolo (B; E-H,J) na 7 dagen bewaring bij 18°C zonder verpakking (geen) en in de onder of bovenlaag in een krat met verpakking,

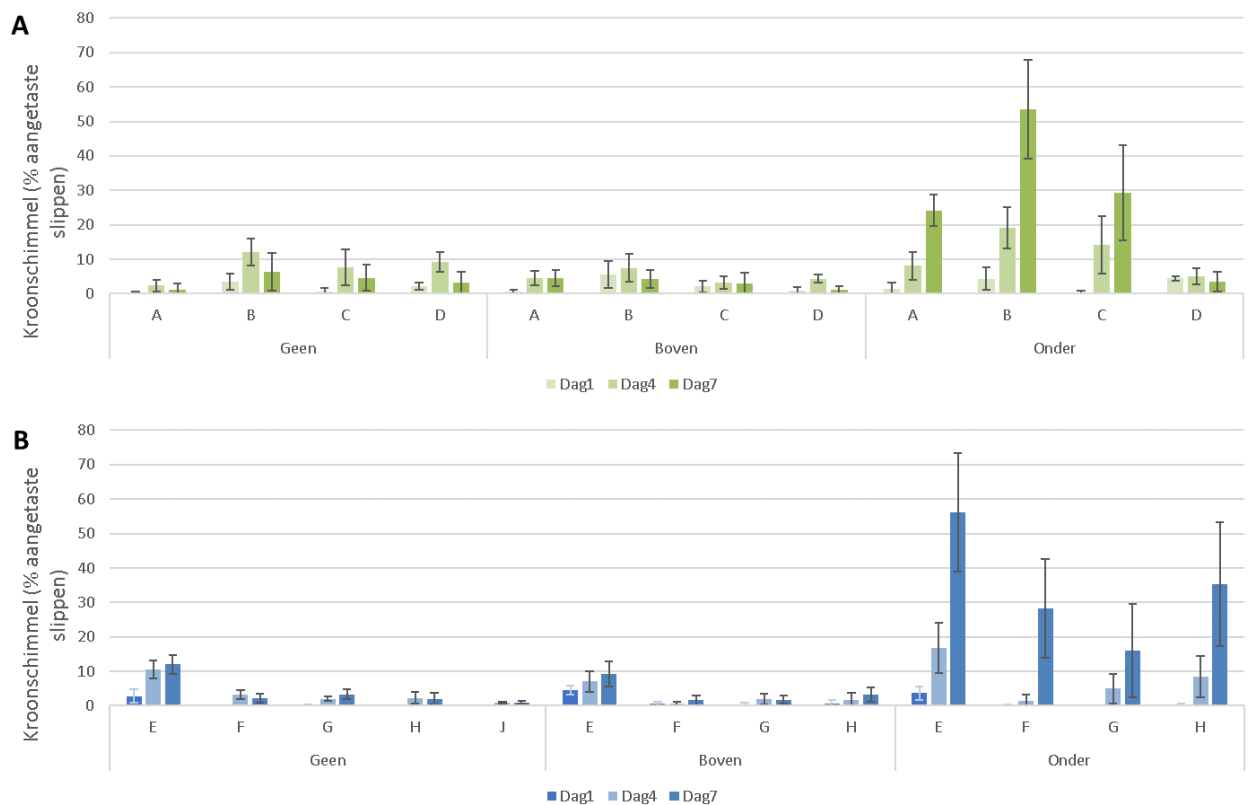
Figuur 19 laat het gewichtsverlies tijdens de eerste drie dagen per etmaal zien. Bij alle partijen is het gewichtsverlies het grootst tijdens de eerste dag van de bewaring. In de twee opvolgende dagen is het vochtverlies minder dan in de voorgaande dag. Dat geldt overigens niet voor verpakte tomaten op de onderlaag in het krat. Deze verpakkingen verliezen op de drie gemeten dagen evenveel gewicht. Het verschil in gewichtsverlies tussen de onder- en bovenlaag in het krat verpakt met folie, is groter dan het verschil zonder folie en met folie op de bovenste laag.



Figuur 19: Gewichtsverandering (% met het 95% betrouwbaarheidsinterval) van verschillende partijen Briosio (A; A-D) en Rivolo (B; E-H,J), tijdens de eerste 3 etmalen van bewaring bij 18°C zonder verpakking (geen) en in de onder of bovenlaag in een krat met verpakking

3.6 Ontwikkeling kroonschimmel tijdens bewaring

Tijdens de bewaarperiode van een week zijn de monsters drie maal beoordeeld op kroonschimmel. Daarbij is het percentage aangetaste kroonslippen bepaald. Figuur 20 laat zien dat bij zowel Briosio als Rivolo, kroonschimmel met name in de onderlaag van de verpakkingen in het krat ontwikkelt. Partij B heeft de meeste kroonschimmel en D het minste bij Briosio. Bij Rivolo toont partij E de zwaarste infectie; de overige partijen tonen allen een minder zware schimmelgroei. Variatie tussen verpakkingen op de onderlaag binnen een partij is groot.



Figuur 20: Ontwikkeling van kroonschimmel (% aangetaste kroonslippy, met het 95% betrouwbaarheidsinterval) tijdens bewaring bij 18°C. Partijen(Brioso (A; A-D) en Rivolo (B; E-H,J)) zijn onverpakt (geen) of verpakt en geplaatst in de onder- of bovenlaag in het krat.

3.7 Verband tussen partijkarakteristieken het vochtverlies en kroonschimmel

3.7.1 Vochtverlies

In Tabel 4 zijn de correlaties te zien tussen de karakteristieken van de partijen bij aanvang van het experiment en het vochtverlies tijdens de bewaring van verpakte tomaten op de bovenste laag in het krat. De twee rassen zijn hier samen genomen. In de bovenste laag zijn verschillen in vochtverlies tussen de partijen het best zichtbaar. De correlatiecoëfficiënten geven aan dat er een verband bestaat tussen het aantal wondvlakken en het gewicht van de steel en het vochtverlies ($R < 0.8$). Het vochtverlies is groter wanneer er meer steel aanwezig is en het vochtverlies is groter wanneer er meer wondvlakken zijn.

Tabel 4: Correlatietabel met correlatiecoëfficiënt R van de partijkarakteristieken, vochtverlies en schimmelaantasting van verpakte tomaten op de bovenste laag in het krat. Hoe donkerderblauw hoe sterker het positieve verband. Hoe donkerderrood, hoe sterker het negatieve verband.

Bovenste laag	Start gewicht vers	Aantal vruchten	Aantal kroonslippen	Aantal wondvlakken	Drooggewicht steel	Water gehalte steel (%)	Schimmel dag1 (%)	Schimmel dag4 (%)	Schimmel dag7 (%)	Gewicht verandering dag1 (%)	Gewicht verandering dag2 (%)	Gewicht verandering dag3 (%)	Gewichtverandering week (%)
Startgewicht (vers)	-												
Aantal vruchten	-0.775	-											
Aantal kroonslippen	-0.767	0.998	-										
Aantal wondvlakken	-0.493	0.502	0.493	-									
Drooggewicht steel	-0.731	0.820	0.813	0.687	-								
Water gehalte steel (%)	0.711	-0.649	-0.656	-0.375	-0.529	-							
Schimmel dag1 (%)	0.064	-0.038	-0.026	-0.134	0.020	-0.297	-						
Schimmel dag4 (%)	0.215	-0.166	-0.149	-0.156	-0.104	-0.069	0.470	-					
Schimmel dag7 (%)	-0.158	0.144	0.152	-0.050	0.170	-0.301	0.362	0.564	-				
Gewicht verandering dag1 (%)	0.724	-0.691	-0.682	-0.803	-0.833	0.438	0.158	0.226	-0.009	-			
Gewicht verandering dag2 (%)	0.658	-0.641	-0.633	-0.821	-0.829	0.359	0.139	0.164	0.008	0.952	-		
Gewicht verandering dag3 (%)	0.601	-0.600	-0.593	-0.817	-0.812	0.347	0.154	0.178	0.064	0.948	0.957	-	
Gewichtverandering week (%)	0.629	-0.593	-0.586	-0.808	-0.820	0.354	0.132	0.132	0.013	0.956	0.973	0.986	-

3.7.2 Kroonschimmel

In Tabel 5 zijn de correlaties gepresenteerd tussen de karakteristieken van de partijen bij aanvang van het experiment en het vochtverlies tijdens de bewaring van verpakte tomaten op de onderste laag in het krat. In de onderste laag zijn verschillen in ontwikkeling van kroonschimmel tussen de partijen het best zichtbaar. De correlatiecoëfficiënten geven aan dat er geen sterke (lineaire) relatie is tussen troskenmerken of gewichtsveranderingen en de ontwikkeling van kroonschimmel.

Tabel 5: Correlatietabel met correlatiecoëfficiënt R van de partijkarakteristieken, vochtverlies en schimmelaantasting van verpakte tomaten op onderste laag in het krat. Hoe donkerderblauw hoe sterker het positieve verband. Hoe donkerderrood, hoe sterker het negatieve verband.

Onderste laag	Start gewicht vers	Aantal vruchten	Aantal kroonslippen	Aantal wondvlakken	Drooggewicht steel	Water gehalte steel (%)	Schimmel dag1 (%)	Schimmel dag4 (%)	Schimmel dag7 (%)	Gewicht verandering dag1 (%)	Gewicht verandering dag2 (%)	Gewicht verandering dag3 (%)	Gewichtverandering week (%)
Startgewicht (vers)	-												
Aantal vruchten	-0.684	-											
Aantal kroonslippen	-0.670	0.999	-										
Aantal wondvlakken	-0.552	0.595	0.586	-									
Drooggewicht steel	-0.632	0.788	0.783	0.751	-								
Water gehalte steel (%)	0.625	-0.680	-0.688	-0.321	-0.503	-							
Schimmel dag1 (%)	0.400	0.035	0.064	-0.186	0.024	-0.132	-						
Schimmel dag4 (%)	0.097	-0.149	-0.145	-0.062	-0.056	0.050	0.223	-					
Schimmel dag7 (%)	-0.189	0.110	0.113	0.040	0.050	-0.169	0.060	0.696	-				
Gewicht verandering dag1 (%)	0.198	-0.300	-0.299	-0.338	-0.309	0.444	-0.071	0.315	0.394	-			
Gewicht verandering dag2 (%)	0.287	-0.383	-0.385	-0.177	-0.355	0.576	-0.016	0.327	0.308	0.776	-		
Gewicht verandering dag3 (%)	0.223	-0.308	-0.308	-0.242	-0.373	0.546	-0.141	0.174	0.331	0.805	0.833	-	
Gewichtverandering week (%)	0.297	-0.380	-0.381	-0.270	-0.399	0.584	-0.061	0.301	0.376	0.883	0.930	0.931	-

3.8 Conclusies

Alle partijen die in dit experiment zijn getest, waren besmet met kroonschimmel. Er waren verschillen tussen de partijen in de maximale infectiegraad die varieerde van 20 tot 100%.

De verpakking heeft in combinatie met de plaats in het krat een grote invloed op de ontwikkeling van kroonschimmel. De onderlaag vertoonde hoge infectiegraden (tot ~ 50% van de kroonslippen geïnfecteerd), terwijl de bovenlaag verpakkingen en onverpakte tomaten relatief lage infecties (<10%) toonde. Dit gold voor beide rassen en alle herkomsten. Condities (microklimaat rond de tomaten) hebben dus een zeer sterke invloed. Dit verschil tussen de lagen is ook aanwezig qua vochtverlies. De tomaten in de onderlaag van het krat verliezen veel minder gewicht dan de tomaten in de bovenlaag. Onverpakt verliest het meest.

De troseigenschappen blijken een relatie met vochtverlies te vertonen: het drooggewicht van de steel en het aantal wondvlakken zijn sterk bepalende factoren voor de hoeveelheid gewichtsverlies. Er is echter geen relatie tussen deze kenmerken en de kroonschimmelinfectie.

4 Invloed van type schaal en folie (Experiment 2, september 2017)

4.1 Inleiding

Naar aanleiding van de resultaten van het eerste experiment is een verpakkingsproef op locatie uitgevoerd. Het resultaat uit het eerste experiment toont aan dat juist een “opgesloten” onderlaag voor de grootste problemen met schimmel zorgt. Het verpakken in twee lagen in een standaardkrat zal belangrijk blijven vanwege economische redenen. De markt vraagt wel om steeds duurzamere manieren van verpakken, o.a. minder en duurzamere materialen. Echter onbekend is of deze materialen verschillende uitwerking hebben op het stimuleren of juist beperken van schimmelgroei.

Het tweede experiment is gericht op het onderzoeken in hoeverre het type schaal (plastic, karton) en type folie een effect heeft op infectie en vochthuishouding en ook op het verkleinen van de verschillen in een dubbellaags krat. Mogelijk heeft de wateropname van het karton een bufferende werking. Daarmee kan het de ontwikkeling van kroonschimmel remmen of juist stimuleren, of is er geen effect.

Ook is het chemisch composteerbare folie PLA vergeleken met de standaardfolie. Om het effect van de perforatiegraad in de standaardfolie te kunnen scheiden van het effect van het materiaal, werd de PLA ook voorzien van macroperforatie.

Omdat de tomaten in de eerste proef het 1^e etmaal het meeste gewicht verloren wordt ook onderzocht of het verpakkingsmoment uitstellen, remmend kan werken op de ontwikkeling van kroonschimmel. Dit zou kunnen betekenen dat de vochtafgifte van de tomaat zelf aan de omgeving een invloed heeft op de uitgroei van de schimmel.

4.2 Doel

Het doel van dit experiment is een antwoord te krijgen op volgende onderzoeksvragen:

1. Wat is het vochtverlies van het product in de verschillende typen verpakking en hoeveel vocht neemt de kartonschaal op?
2. Hoe is de ontwikkeling van kroonschimmel in de geteste verpakkingen, is er een effect van de folie of het type schaal?
3. Heeft uitstellen van het verpakken met 1 of 2 dagen een effect op de ontwikkeling van kroonschimmel tijdens de bewaring?

4.3 Proefopzet

Twee rassen tomaten, Strabena en Rivolo, zijn 2 dagen bewaard bij 14°C gevolgd door 7 dagen 18°C (bij een ongeregelde RV).

Als verpakking zijn varianten schalen en folies gebruikt.

- Twee soorten schalen:
 - Kunststof
 - Karton
- Drie folies:
 - PLALas: PLA met laserperforatie (gasmetingen ter controle op mogelijk MA-effect)
 - PLAMac: PLA met macroperforatie
 - StandMac: Standaard folie met macroperforatie

Bij de PLA met laserperforatie zijn ter controle metingen van de luchtsamenstelling gedaan omdat mogelijk gewijzigde gascondities ontstaan door de lage perforatiegraad.

De verpakkingsdichtheid van Strabena was gemiddeld 269.0 g, met 11.5 vruchten. Bij Rivolo bevatte een verpakking gemiddeld 254.4 g met 20.6 vruchten.

4.3.1 Vochtverlies en ontwikkeling van kroonschimmel

Voor het bepalen van het vochtverlies is elke verpakking gewogen bij aanvang van het experiment en aan het einde van de bewaarperiode.

Om de ontwikkeling van kroonschimmel te volgen is bij aanvang het aantal kroonslippen per verpakking bepaald en het aantal kroonslippen met schimmelaantasting. Na de bewaring is met het projectteam de schimmelaantasting beoordeeld.

4.3.2 Gegevensverwerking

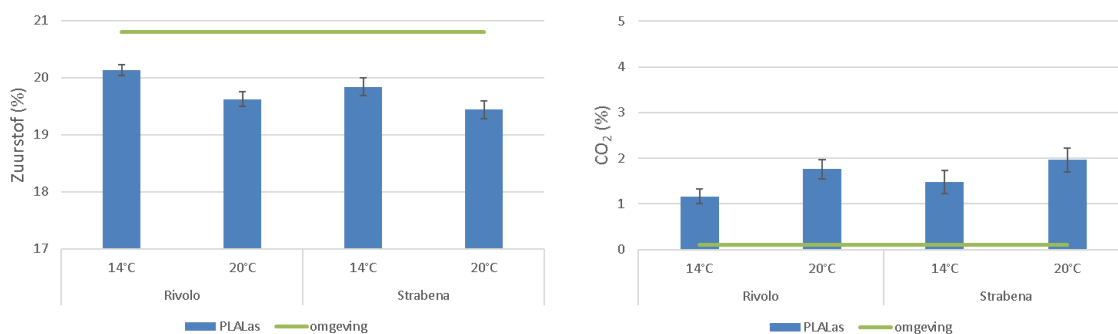
De resultaten worden met staafdiagrammen weergegeven met de gemiddelde waarden per factor en het 95% betrouwbaarheidsinterval, berekend in Microsoft® Excel® 2016 MSO (16.0.4849.1000, 32-bits editie).

Voor het toetsen van de verschillen tussen de verpakkingsvarianten is gebruik gemaakt van Analysis of Variance (ANOVA) in Genstat editie 19 (19.1.0.21390, 64-bits editie, www.vsnl.co.uk): unbalanced ANOVA met een Fisher's unprotected LSD post hoc test met het significantieniveau op 5%.

4.4 Resultaten

4.4.1 Luchtsamenstelling in de PLA verpakking met laserperforatie

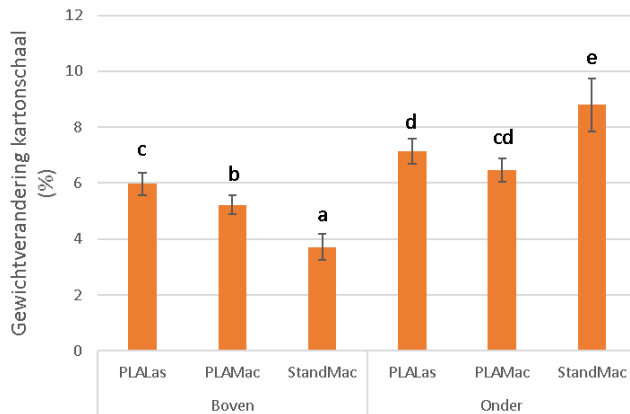
In de verpakkingen met PLA met laserperforatie wordt de luchtsamenstelling iets veranderd: de zuurstof concentratie is iets verlaagd en de kooldioxide concentratie iets verhoogd ten opzichte van de omgevingslucht (Figuur 21). Dat is het gevolg van de ademhalingsactiviteit van het product en de luchtdoorlaatbaarheid van de folie. De verandering is echter gering tot wat er normaal gesproken gezien wordt als een MA-verpakking (Modified Air verpakking) die van invloed is op productkwaliteit of schimmelgroei.



Figuur 21: Luchtsamenstelling, O₂(%) en CO₂ (%), in de PLA verpakking met laserperforatie, met beide rassen trostomaat. Groene lijn geeft de concentratie in de lucht aan (omgeving)

4.4.2 Wateropname door de kartonschaal

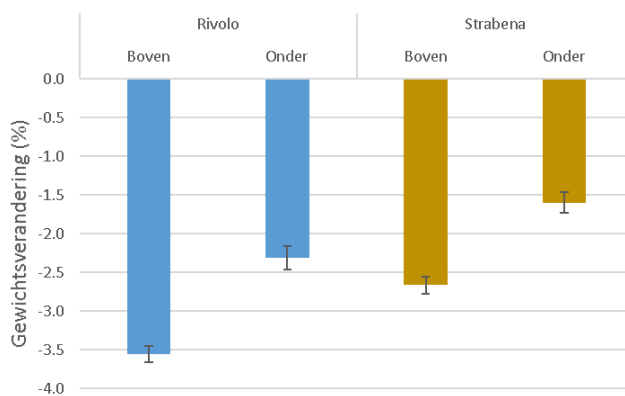
Een groot verschil bij toepassing van de kartonschaal in plaats van een plastic schaal, is de wateropname door het karton. In de bovenlaag neemt het karton minder vocht op dan in de onderlaag (Figuur 22). Het grootste verschil tussen boven- en onderlaag is bij de toepassing van de standaardfolie met macroperforatie: In de bovenlaag neemt deze, met gemiddeld 3.7% (0.51 g), het minste water op en in de onderlaag het meeste water, met gemiddeld 18.8% (1.24 g).



Figuur 22: Gewichtsverandering van de kartonschaal (% met het 95% betrouwbaarheidsinterval) tijdens de bewaarperiode, beide rassen gemiddeld, op de boven- en onderlaag in het krat. Waarden met afwijkende letters zijn significant verschillend ($\alpha = 0.05$)

4.4.3 Gewichtsverlies van het product

Uit de metingen van het gewichtsverlies (Figuur 23) blijkt dat Rivolo gemiddeld meer gewicht verliest dan Strabena en dat de bovenste laag in het krat meer gewicht verliest dan de onderste laag. Deze verschillen zijn bij toetsing significant ($\alpha = 0.05$)

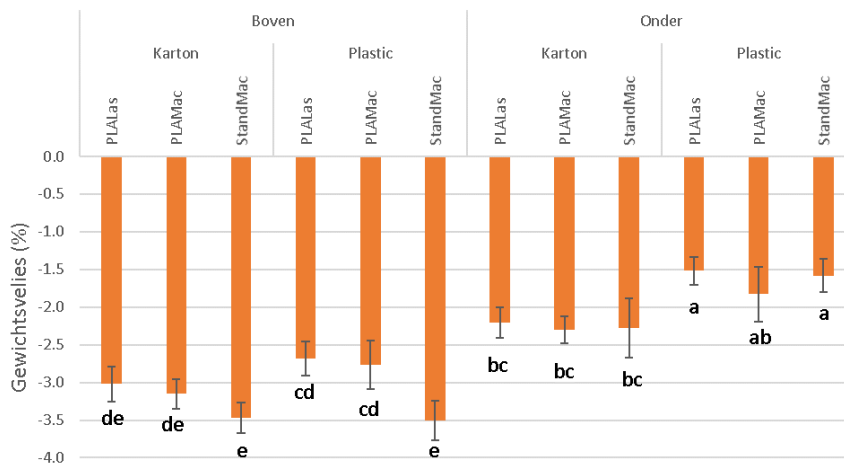


Figuur 23: Gewichtsverlies van het product (% met het 95% betrouwbaarheidsinterval) tijdens de bewaarperiode van Rivolo en Strabena op de boven- en onderlaag in het krat.

Bij het vergelijken van de verpakkingvarianten, zijn de verschillen tussen de gebruikte materialen niet eenduidig. De hoofdeffecten van schaal en folie zijn significant verschillend:

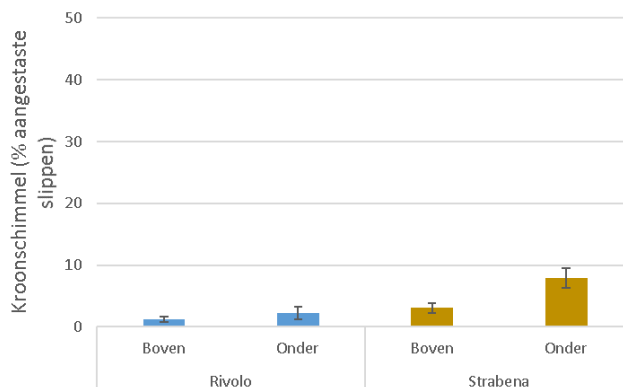
- Met een kartonschaal verliest het product meer gewicht
- Bij gebruik van de standaard folie en PLA folie, beide voorzien van macroperforatie, verliest het product meer gewicht dan bij toepassing van de PLA met laserperforatie.

Echter, de resultaten laten een interactie zien tussen schaal, folie en de laag in het krat, waardoor conclusies op de hoofdeffecten niet mogen worden getrokken (Figuur 24). Uit deze resultaten kan dus niet worden welke combinatie van folie en schaal het minste of meeste gewichtsverlies oplevert, omdat dit afhankelijk is van de laag in het krat.



Figuur 24: Gewichtsverlies van het product (%) in de verpakkingvarianten, rassen gemiddeld, met het 95% betrouwbaarheidsinterval. Waarden met afwijkende letters zijn significant verschillend ($\alpha 0.05$)

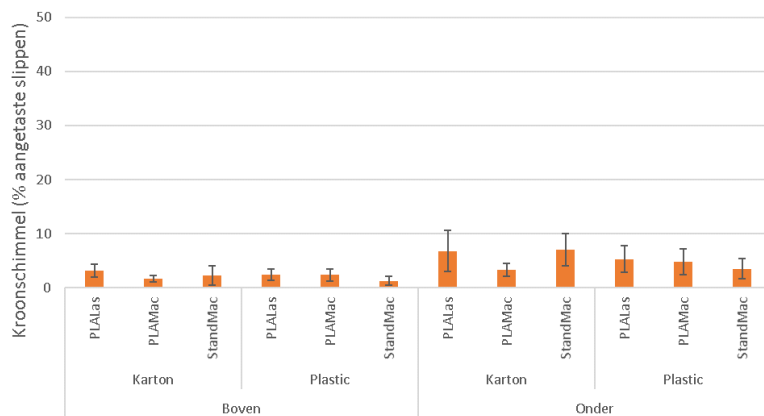
4.4.4 Kroonschimmel



Figuur 25: Ontwikkeling van kroonschimmel (% aangetaste kroonslippen, met het 95% betrouwbaarheidsinterval) tijdens de bewaarperiode van Rivolo en Strabena op de onder- en bovenlaag in het krat.

Uit de meting van de kroonschimmel na bewaring blijkt dat de besmettingsgraad met een totaal gemiddelde van 3.6% bij dit experiment erg laag is. In Figuur 19 staat het gemiddelde aantastingscijfer weergegeven voor Rivolo en Strabena in de boven- en onderlaag in het krat. Ook nu heeft de onderlaag wat meer aantasting dan de bovenlaag. En Strabena laat iets meer schimmelaantasting zien dan Rivolo, en dan met name in de onderlaag van het krat. Dit zijn statistisch significante effecten.

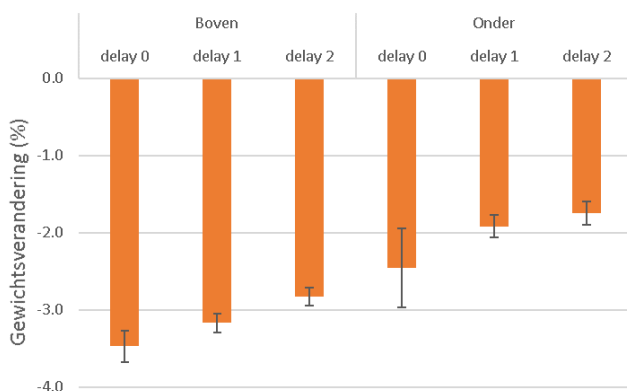
Bij het vergelijken van de verpakkingvarianten, zijn de verschillen tussen de gebruikte materialen niet significant. Bij deze besmettingsgraad van het product kan niet worden geconcludeerd dat de verpakking, zowel schaal als folie, van invloed is op de schimmelontwikkeling tijdens de bewaring. Ook kan niet worden afgeleid of de vochtopname door de kartonschaal een remmende of stimulerende invloed heeft op de ontwikkeling van kroonschimmel.



Figuur 26: Ontwikkeling van kroonschimmel (% aangetaste kroonslippen) in de verpakkingsvarianten, rassen gemiddeld, met het 95% betrouwbaarheidsinterval.

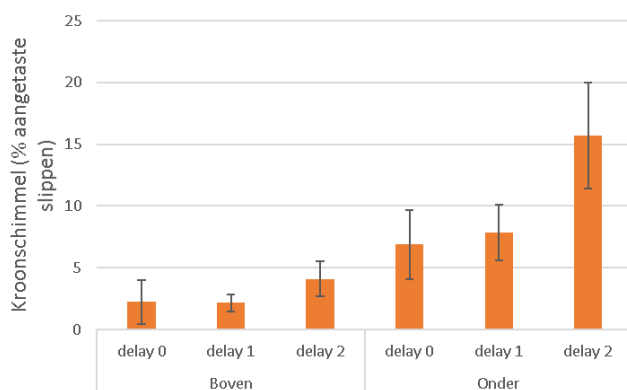
4.5 Uitgesteld verpakken

Het gewichtsverlies tijdens de bewaring (7 dagen bij 18°C, Figuur 27) nam af bij uitstel van het verpakken met 1 of 2 dagen. Aangezien het product in de tijd tot verpakken al vocht heeft verloren, en er niet gemeten is bij start van de periode uitstel, kan uit deze resultaten niet worden geconcludeerd wat het effect van uitgesteld verpakken is op het productgewicht.



Figuur 27: Gewichtsverlies van het product (% met het 95% betrouwbaarheidsinterval) in de standaardverpakking op de boven- en onderlaag in het krat, rassen gemiddeld.

Het verpakken gedurende twee dagen uitstellen, leidt in dit experiment tot een hogere schimmelaantasting van de kroonslippen (Figuur 28). Het uitstellen met 1 dag levert geen verschil op met direct verpakken. Die schimmelaantasting vindt vooral plaats in de onderste laag van de krat.



Figuur 28: Ontwikkeling van kroonschimmel (% aangetaste kroonslippen, met het 95% betrouwbaarheidsinterval) in de standaardverpakking op de boven- en onderlaag in het krat, rassen gemiddeld.

4.6 Conclusies

De volgende antwoorden op de onderzoeksvragen zijn gevonden:

1. Wat is het vochtverlies van het product in de verschillende typen verpakking en hoeveel vocht neemt de kartonschaal op?

De wateropname van het karton is afhankelijk van het soort folie en de plaats in het krat, op de onder- of bovenlaag. De wateropname was in deze proef gemiddeld minimaal 0.5 g en maximaal ongeveer 1.2 g per verpakking. Dat is minimaal 0.2 tot maximaal 0.5% van het vulgewicht bij start.

Het vochtverlies van het product is ook afhankelijk van het soort folie en de plaats in het krat, maar ook van het soort schaal. Uit de resultaten kan niet worden geconcludeerd welke combinatie van folie en schaal het minste of meeste gewichtsverlies oplevert, omdat dit afhankelijk is van de laag in het krat. Het grote beeld laat zien dat het product:

- gemiddeld meer gewicht verliest in een kartonschaal, dan in plastic
- gemiddeld meer gewicht verliest bij gebruik folie met macroperforatie (standaard of PLA), dan met laserperforatie (PLA).

2. Hoe is de ontwikkeling van kroonschimmel in de geteste verpakkingen, is er een effect van de folie of het type schaal?

De aantasting door kroonschimmel was in dit experiment laag, al liet Strabena meer kroonschimmel zien dan Rivolo. Daardoor kan niet worden geconcludeerd dat de verpakking, zowel schaal als folie, van invloed is op de schimmelontwikkeling tijdens de bewaring. Ook kan niet worden afgeleid of de vochtopname door de kartonschaal een remmende of stimulerende invloed heeft op de ontwikkeling van kroonschimmel.

3. Heeft uitstellen van het verpakken met 1 of 2 dagen een effect op de ontwikkeling van kroonschimmel tijdens de bewaring?

Het uitstellen van het verpakken met 2 dagen heeft een stimulerend effect op de ontwikkeling van kroonschimmel tijdens de bewaring.

5 Invloed typen karton (Experiment 3, mei 2018)

5.1 Inleiding en doel

Het experiment in Hoofdstuk 4 is op kleinere schaal herhaald in praktijkproeven uitgevoerd door Greenyard. In deze experimenten is opnieuw bevestigd dat de onderlaag het grootste probleem vormt voor schimmeligroei. Een beetje meer ruimte tussen de lagen, door bijvoorbeeld met afstandhouders te werken blijkt al positief te werken. Er is echter uit het vorige experiment ook een beeld ontstaan dat tomaten in kartonnen schalen een hoger percentage kroonschimmel tonen (in de onderlaag) dan plastic schalen. Echter, er waren lage besmettingsgraden in de experimenten en er werd gewerkt met niet precies gelijke schaaltypen. Bovendien is er met 1 kartontype gewerkt. Daarom is de conclusie dat het materiaal, het karton, schimmeligroei bevordert, niet te trekken uit dit experiment.

Om beter inzicht te krijgen in de vraag of karton en de verschillende typen karton een belangrijke invloed hebben op het bevorderen van kroonschimmel in een verpakking is een speciale projectbijeenkomst georganiseerd om meer te leren over eigenschappen van karton, door in gesprek te gaan met de onderzoekers, die meegewerkt hebben aan het ontwikkelen van verpakkingsmateriaal met tomatenplantvezels (Pereira da Silva and Keijzers, 2013). Deze bijeenkomst heeft uiteindelijk geleid tot het experiment dat beschreven wordt in dit hoofdstuk.

De vraag is op welke manier het materiaal van de schaal bijdraagt aan de vochthuishouding van de tomaat en de uitgroei van kroonschimmel. De gebruikte plastic schalen in de praktijk zijn qua materiaal inactief betreffende vocht. De mate van vochtuitwisseling tussen verpakking en omgeving wordt bepaald door het design van de verpakking en het aantal en de grootte van de perforaties. Bij karton is dit anders. Het materiaal kan vocht opnemen en afgeven. De mate waarin dit gebeurt hangt af van eigenschappen zoals dikte, hoeveelheid vezels, fractie as, en de eventuele verschillende functionele lagen bij meerlaagskarton (incl. lijmlagen, inkt, coating etc.). Er moet ook rekening gehouden worden met mogelijke invloed van het design, de maatvoering van de schaal. De hypothese is dat de vochtopname/afgifte eigenschappen van het karton invloed heeft op de luchtvochtigheid in de verpakking en daarmee op schimmeligroei.

5.2 Doel

Doel van het experiment: Aantonen of kartonnen schalen (een schaal die actief is in vochthuishouding) effect hebben op kroonschimmelvorming, in vergelijking met een inactieve (plastic) verpakking en of dit verschillend is per type karton.

5.3 Proefopzet

5.3.1 Algemene aanpak

Tomaten werden verpakt in 3 verschillende typen verpakkingen met vergelijkbaar design/afmetingen (1 standaard kunststof schaal, 2 typen karton met verschillende vochtopname-/afgifte eigenschappen). De tomaten kregen een transport/ketensimulatie bij geconditioneerde omstandigheden, waarna gewichten en kroonschimmelinfecties bepaald werden.

5.3.2 Selectie verpakking: voorproef

Een karton gemaakt met dezelfde vezels maar met een hogere dichtheid (met dezelfde dikte) kan een ander vochtgedrag vertonen. In een voorproef zijn verschillende kartonnen materialen getest op hun vochtafgifte/opname gedrag.

Er zijn door Greenyard (en verpakkingsleverancier) 5 verschillende massiefkartonsoorten en 1 golfkarton geleverd voor de test (Tabel 6).

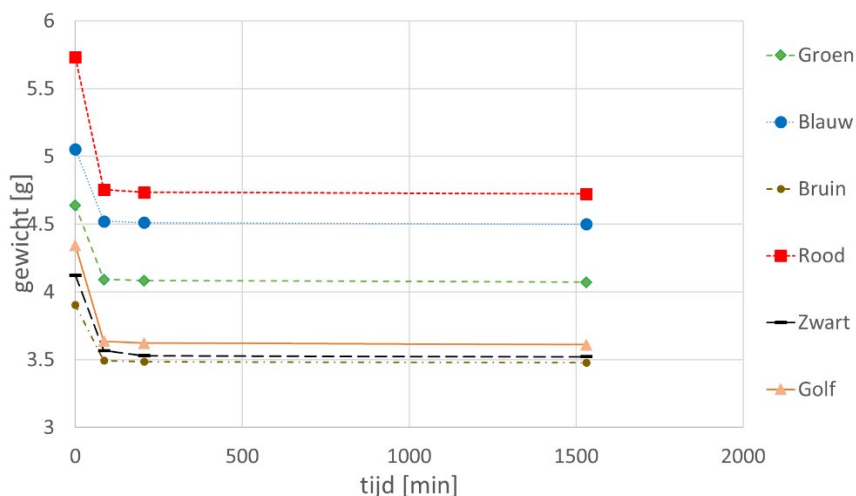
Omdat de geleverde soorten karton heel waarschijnlijk opgebouwd zijn met andere vezels is een vergelijking alleen maar goed te maken als naast de absolute vochttoename er ook naar opname snelheid gekeken wordt.

Tabel 6 Codering van de verschillende kartontypen

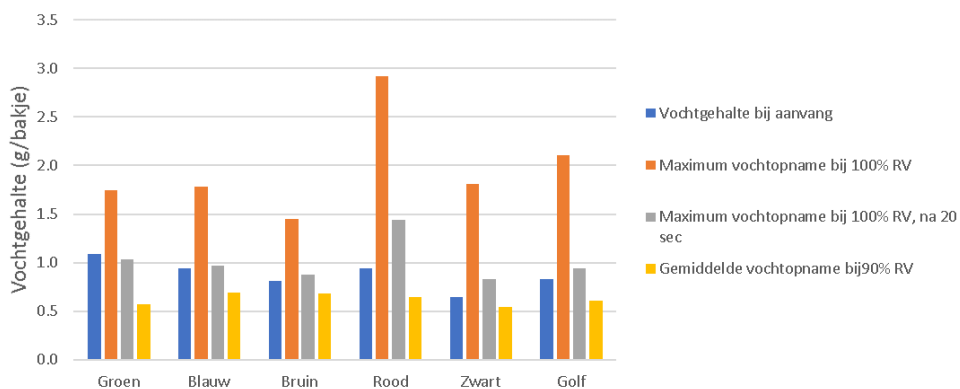
	Code	Beschrijving
1	Groen	Gt-2, twee zijden bedrukt
2	Blauw	Euroboard, special kraft, Gt-4 laags
3	Bruin	Kraft Pak, binnen en buiten Kraft papier, niet geverfd, niet gecoat
4	Rood	Gestreken triplex (Gt), 3 lagen
5	Zwart	Grease Gard Food (GGF), Smurfit Kappa karton, eenzijdig voorzien van een zwarte biologische coating die voedselveilig en biologisch afbreekbaar is. De andere zijde is zwart gedrukt.
6	Golfkarton	N-flute, golfkarton voor stevigheid

Uit drie testvellen van ieder type karton zijn in totaal 5 rondjes per type gestanst van 100 cm². Het gramgewicht van de stukjes karton is verschillend (gewicht van karton per m²) en wordt als een gegeven gezien. Het karton is geconditioneerd bij 23°C en 50% RV om het begingewicht te bepalen. Daarna is het karton gedurende meerdere dagen geconditioneerd in een klimaatkast bij respectievelijk 90% en 100% RV. De vochtafname en afnamesnelheid is bepaald door het karton vanuit de klimaatkast terug in de klimaatruimte met 50% RV te brengen.

Figuur 29 laat zien dat er een hele snelle afgifte blijkt te zijn voor alle typen karton. Bij meting van gewichtsafname vanuit een 100% RV situatie naar 50% RV blijkt dat al na een uur alle karton typen op hun minimale gewicht zitten. De absolute hoeveelheid vocht dat opgenomen en afgegeven kon worden, verschilde wel. Dit is ook in Figuur 30 terug te zien. Het rode type karton kan veel vocht opnemen, en bruin toont de laagste opname/afgifte. Daarom zijn deze twee typen geselecteerd om het experiment mee uit te voeren. Het zwarte karton laat op uurschaal geen grote verschillen zien qua vochtopname. Een coating kan wel de sterkte van het materiaal verbeteren (dat is hier niet gemeten).



Figuur 29 Gewichtsafname van de 6 kartontypen tijdens conditionering van 100% RV naar 50% RV, bij 23 °C. De legenda verwijst naar de kleurcodes van het karton in Tabel 6.



Figuur 30: Vochtopname-capaciteit bakje per type karton bij 90 en 100% RV

De gele balk geeft het vocht dat standaard aanwezig is in een kartonnen schaal. De andere drie balken geven aan hoeveel meer vocht er in komt als je het in een vochtige omgeving brengt. Je ziet dat het rode karton het meeste vocht kan opnemen, het bruine en zwarte karton het minste. Het lijkt erop dat de coating van het karton er wel voor zorgt dat de sterkte als het nat wordt beter blijft, maar niet op uurschaal de vochtopname beïnvloedt.

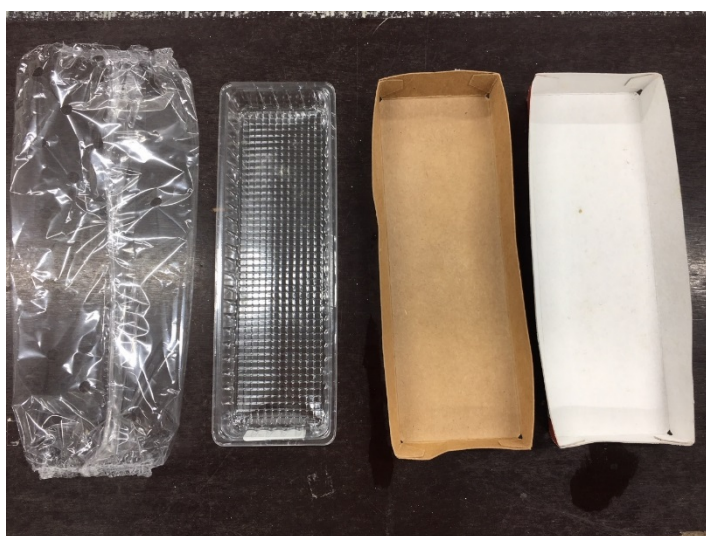
De uiteindelijke keuze voor schalen is als volgt:

1. **Plastic schaal** (254 x 85 x 25mm)
2. **Rood:** Gestreken triplex (Gt) (3 lagen), meeste vochtopname/afgifte in voortest)
3. **Bruin:** Kraft Pak: Kraft papier niet geverfd, niet gecoat (minste vochtopname/afgifte in voortest)

De bakjes zijn speciaal gemaakt voor het experiment. Er blijken uiteindelijk 2 afwijkingen ten opzichte van het plan:

- Type "Bruin" is wel van een coating voorzien tegen het "nesten". Zo wordt het in de praktijk ook gebruikt. Besloten is om hier wel de proef mee te starten.
- De kartonnen schalen waren uiteindelijk groter dan de plastic schalen, door een misverstand waardoor de buitenmaat van de plastic schaal is gebruikt (met rand) voor de binnenmaat van het karton, wat zorgt voor een flink grotere kartonnen schaal (Figuur 31).

De schalen zijn allen verpakt met een standaard PP-folie met dezelfde macro-perforatie, zonder etiket.



Figuur 31: Gebruikte verpakkingsmaterialen v.l.n.r: PP-folie met macroperforatie, plastic schaal (doorzichtig), Bruin, Rood.

5.3.3 Tomaten: oogst en verpakken

In week 21 2018 zijn tomaten geoogst uit 2 kassen (Seasun, Kapelle); een partij mini cherry trostomaten (Rivolo) en mini pruimtrostomaat (Strabena). De tomaten zijn een dag later bij Seasun verpakt. Per schaaltype en cultivar zijn 3 kratjes (IFCO 4310) in twee lagen gevuld met verpakkingen. De verpakkingen bevatten ongeveer 250 gram tomaten. Voor de plastic verpakkingen waren dit 10 schaaltesjes per krat. Voor de kartonnen verpakkingen bleken er door het maatverschil slechts 8 te passen.

5.3.4 Condities

Na verpakken bij Seasun zijn de tomaten naar Wageningen getransporteerd (2 uur 18°C). Hier is de ketensimulatie gestart: 2 dagen 14°C en 7 dagen 18°C, 80% RV. De RV is bewust iets hoger gekozen dan in het eerdere experiment om iets meer infectie te stimuleren. De duur/temperatuur is gelijk gehouden aan praktijkproeven. Van beide rassen zijn ter controle 10 trossen bij 100% RV gelegd en 18°C.

5.3.5 Beoordelingen

Bij aankomst in Wageningen zijn de verpakkingen gelabeld met een uniek nummer en is er een check uitgevoerd op al aanwezige kroonschimmel. Voor de bepaling van de besmettingsgraad zijn na 2 en 4 dagen de (geïnfecteerde) kroonslippen geteld. Aan het einde van de ketensimulatie is per verpakking het totaal aantal kroonslippen en het aantal geïnfecteerde kroonslippen geteld.

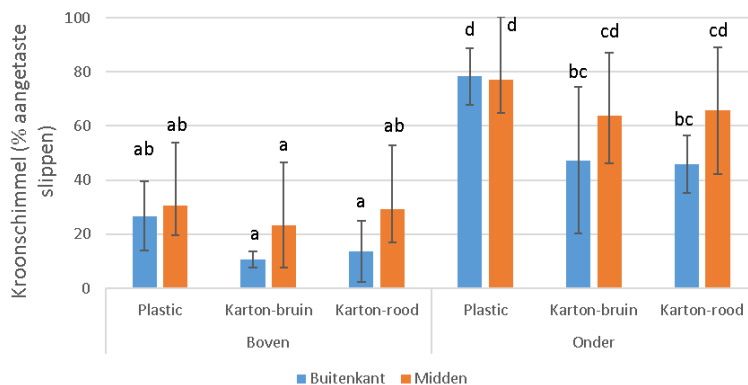
5.3.6 Statistiek

De resultaten zijn statistisch getoetst in Genstat editie 19, versie 19.1.0.21390 (64-bit). Hiervoor is een 'unbalanced ANOVA' (Analysis of Variance) gebruikt met een post hoc test om de aard van de significantie vast te stellen. De post hoc test is de Fisher's Unprotected LSD met een significantieniveau van 5% (α 0.05).

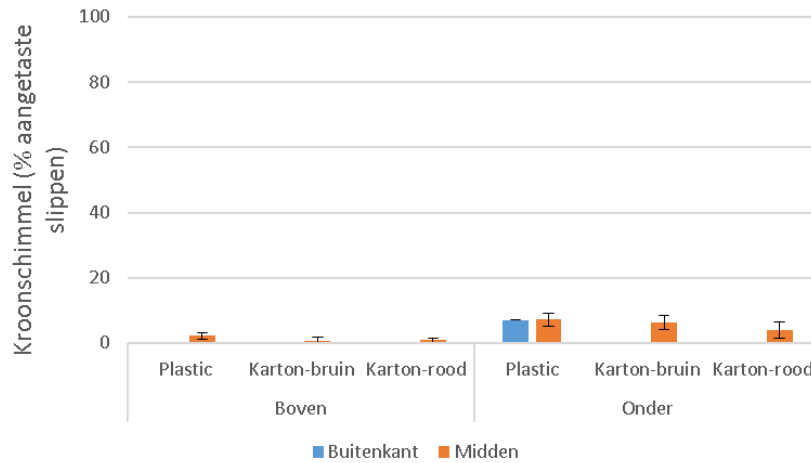
5.4 Resultaten

5.4.1 Kroonschimmel

Dit experiment was er stevige ontwikkeling van kroonschimmel op Strabena te zien (Figuur 32), echter slechts zeer beperkt op Rivolo tomaten (Figuur 33). Bij bepaling van de besmettingsgraad bleek dit voor beide rassen 100% te zijn, echter op de Rivolo waren dit slechts hele kleine puntjes, moeilijk zichtbaar.



Figuur 32: Percentage geïnfecteerde kroonslippen bij Strabena, per verpakking, type schaal en boven- of onderlaag in het krat en positie buitenkant van het krat of één van de midden posities, met het 95% betrouwbaarheidsinterval. Waarden met gelijke letters zijn niet significant verschillend (Fisher's Unprotected LSD, met α 0.05)



Figuur 33: Percentage geïnfecteerde kroonslippen bij Rivolo, per verpakking, type schaal en boven- of onderlaag in het krat en positie buitenkant van het krat of één van de midden posities, met het 95% betrouwbaarheidsinterval.

Bij beide cultivars blijkt de onder- of bovenlaag de belangrijkste factor, die voor een ruime verdubbeling van het percentage geïnfecteerde kroonslippen in de verpakking zorgt. Het effect van het type schaal is beter bij Strabena te beoordelen, omdat daar sprake was van meer aantasting. Het effect van het type schaal is minder groot dan plaatsing op de onder- of bovenlaag. De tomaten in beide kartonschalen hebben significant minder aangetaste kroonslippen dan in de plastic schaal. Er is geen verschil tussen de twee type kartonschalen.

Verpakkingen die aan de buitenkant van het kratje geplaatst zijn, zijn ten opzicht van verpakkingen in het midden, minder geïnfecteerd. Het verschil is klein, maar wel significant.

5.5 Conclusie en discussie

In dit experiment is het verschil in besmetting tussen beide rassen groot. Daarnaast is het effect van de laag in het kratje op de ontwikkeling van de kroonSchimmel overheersend aan het effect van verpakking. De kartonnen verpakkingen hebben een lager aantal geïnfecteerde kroonslippen, met name is dit zichtbaar in de onderlaag. Het is een klein verschil. Hier kunnen een aantal verklaringen voor zijn:

- Het is een effect van het materiaal, het karton. Echter er zijn geen verschillen gemeten tussen de 2 typen karton ondanks de verschillen in hun vochtopname/afgifte eigenschap.
- De lagere verpakkingsdichtheid in de kartonnen verpakkingen ten opzichte van de plastic schaal zorgt voor een minder stimulerend klimaat voor de schimmel.
- De vouwgaatjes in de kartonnen schalen (die nodig zijn om een kartonnen schaal te kunnen produceren) zorgen voor luchtuitwisseling, waardoor de schimmel minder groeit dan in de plastic schalen.

Overall zijn de verschillen tussen de type materialen klein en dit experiment bevestigt niet de ervaringen uit praktijkproef dat karton een stimulerende invloed heeft op groei van kroonSchimmel.

6 Flowpack versus topseal in palletopstelling (Experiment 4, augustus 2019)

6.1 Inleiding & doel

Uit de vorige hoofdstukken komt herhaaldelijk naar voren dat ventilatie/luchtbeweging belangrijk is tegen kroonschimmel. In een palletopstelling is het echter de vraag hoe groot het effect is van maatregelen in de verpakking ter verbetering van ventilatie. Ook wordt er nog gezocht naar een praktische, economische en duurzame manier om meer luchtbeweging in een dubbellaags krat te realiseren.

Om dit te onderzoeken is er een experiment uitgevoerd met een aantal variaties verpakkingen. In het experiment wordt onderzocht wat het effect is van 2 varianten topseal-verpakking en een standaard flowpack, op de ontwikkeling van kroonschimmel en het vochtverlies van het product, in een afzetketen met winkelfase. Ook wordt het effect van perforatie van de opstaande kanten van de schaal onderzocht.

Onderzoeksvragen zijn:

1. Heeft het type verpakking invloed op ontwikkeling van kroonschimmel en het vochtverlies?
2. Hoe groot is de invloed van de perforatie in de opstaande kanten van de karton schaal op de infectiegraad en het vochtverlies?
3. Heeft het type verpakking invloed op het verschil tussen de infectiegraad en het vochtverlies van de boven- en onderlaag in het krat?

6.2 Proefopzet

Er zijn 3 verpakkingstypen in het experiment (Figuur 34):

1. Flowpack met kartonnen schaal en macroperforatie in de bovenzijde van de folie, perforatiegraad 25 tot 30 perforaties per verpakking, $\varnothing 8\text{mm}$: 1250-1500 mm^2 per verpakking
2. Topseal dicht (op 4 kleine vouwgaatjes na), perforatiegraad ca. 50 mm^2 per verpakking, karton 315 g/m^2
3. Topseal met 10 perforaties, $\varnothing 11\text{mm}$, in de opstaande kanten (én de 4 kleine vouwgaatjes), perforatiegraad 1000 mm^2 per verpakking, karton 315 g/m^2



Figuur 34: Trostomaten verpakt voor het experiment in a) flowpack, b) topseal zonder perforatie en c) topseal met perforatie in de opstaande kanten

De 2 typen topsealkartonnen schalen zijn beschikbaar gesteld door Greenyard (proefexemplaren ontwikkeld voor eigen ontwikkeling duurzame verpakkingen). De topsealverpakking bestaat uit een kartonnen schaal afgedekt met een folie die op de rand wordt geseald. De folie, die op de rand wordt geseald, is een niet-geperforeerde PA/PE combinatie (Opalen 55 AF, Amcor/Bemis Packaging Benelux, Belgium). De karton schaal heeft 4 kleine vouwgaatjes in de hoeken met de bodem, als gevolg van

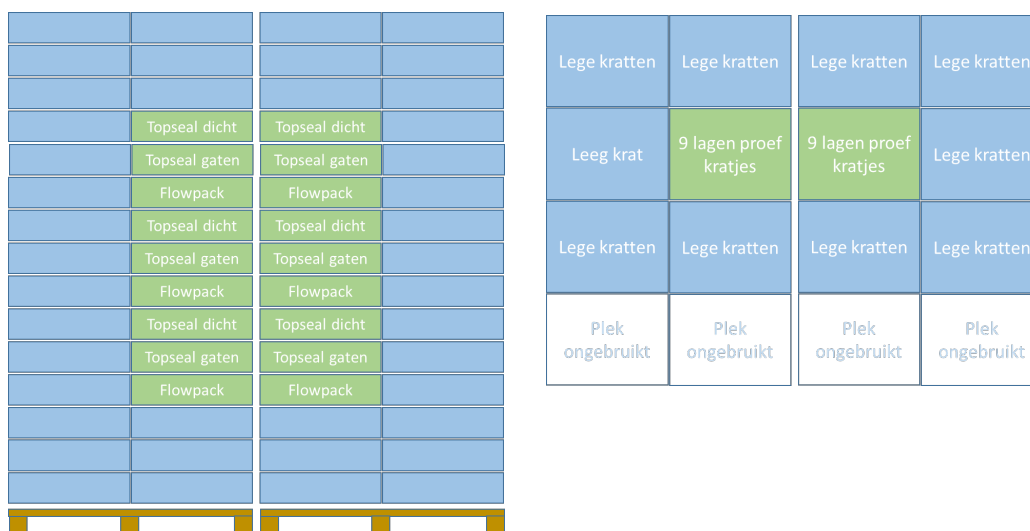
het productieproces. Er is een variatie op deze schaal gemaakt, die is voorzien van gaten in de opstaande kanten. De gaten laten een horizontale luchtstroom door de verpakking toe. Figuur 35 laat beide topsealschalen in meer detail zien.



Figuur 35: De karton schaal van de topseal verpakking met (boven) en zonder (onder) perforatie in de opstaande kanten

Alle type schalen in de test worden bewaard in het standaard IFCO-4310 krat, met twee lagen verpakkingen. Omdat in de praktijk en uit eerdere experimenten een duidelijk verschil is te zien tussen beide lagen in het krat, zijn beide lagen in dit experiment afzonderlijk beoordeeld. In de praktijk worden de kratjes in de afzetketen gestapeld op Euro-pallets (80x120 cm, 15 lagen van 8 kratten) die tegen elkaar staan. In deze test wordt uitgegaan van de *worst case* positie van de kratten, namelijk in het centrum van twee pallets die tegen elkaar staan. Per verpakkingstype staan twee kratten naast elkaar in het pallet, 3 lagen per type. De kratten met de verpakkingen in het experiment zijn geheel omringd door lege kratten, die de luchtcirculatie belemmeren (Figuur 36). De verpakkingen zijn getest in een keten van 9 dagen:

- 2 dagen 14°C en 80% RV in palletopstelling
- 4 dagen 18°C en 80% RV in palletopstelling
- 3 dagen 18°C en 80% RV in een winkelopstelling



Figuur 36: Schematische weergave van de proefopstelling met twee pallets: a) vooraanzicht en b) bovenaanzicht

De tomaten in de proef zijn van het ras Rivolo van locatie Seasun in Kapelle, Nederland. De tomaten zijn op de dag van oogst verpakt in de 3 typen verpakkingen. De flowpack is ingepakt op de standaard verpakkinglijn bij Seasun, de topsealverpakkingen zijn dichtgemaakt met de Proseal topsealmachine van Sismatec. Inhoud van de verpakkingen:

- Flowpack: 232.6 ± 5.5 g
- Topseal dicht: 295.8 ± 9.2 g
- Topseal gaten: 296.9 ± 9.3 g

Beide topseal-verpakkingen zijn direct na verpakking, vervoerd naar WFBR, Wageningen en bij 14°C in een koelcel in de palletopstelling geplaatst (Figuur 37). De tomaten in de flowpack zijn na

verpakking nog 1 dag in Kapelle gebleven (bij 14°C in de verpakkingshal) en de volgende ochtend naar Wageningen vervoerd. De verpakkingen zijn die ochtend allemaal gewogen en in de palletopstelling geplaatst (Figuur 38).

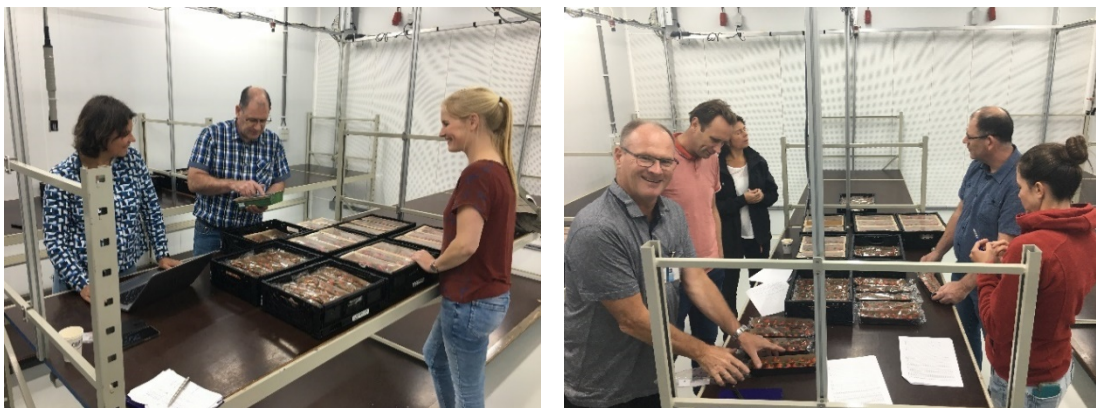


Figuur 37: Opbouwen van de proefopstelling met de verpakkingen het centrum van de twee pallets, op laag 4 t/m 12



Figuur 38: Etiketteren en wegen van de verpakkingen

Ter controle op de besmettingsgraad en schimmelontwikkeling, wordt een monster van het startmateriaal in een perspex box bij 20°C onder hoge 100% RV bewaard. Na twee dagen bewaring bij 14°C worden de pallets verhuisd naar een ruimte op 18°C en worden ze op dezelfde manier tegen elkaar geschoven. Na 4 dagen bij 18°C wordt het pallet afgebroken en worden de verpakkingen individueel gewogen en wordt de ontwikkeling van kroonschimmel beoordeeld, terwijl de verpakking gesloten blijft. De verpakkingen gaan op hun oorspronkelijke plek terug in het krat voor de winkelfase. Bij de start en het einde van de winkelfase (dag 6 en 9) wordt per verpakking het vochtverlies gemeten en het aantal kronen met kroonschimmel geteld (Figuur 39).



Figuur 39: Beoordeling bij de start (links) en het einde (rechts) van de winkelfase, respectievelijk op dag 6 en 9

6.3 Resultaten

6.3.1 Drukplekken

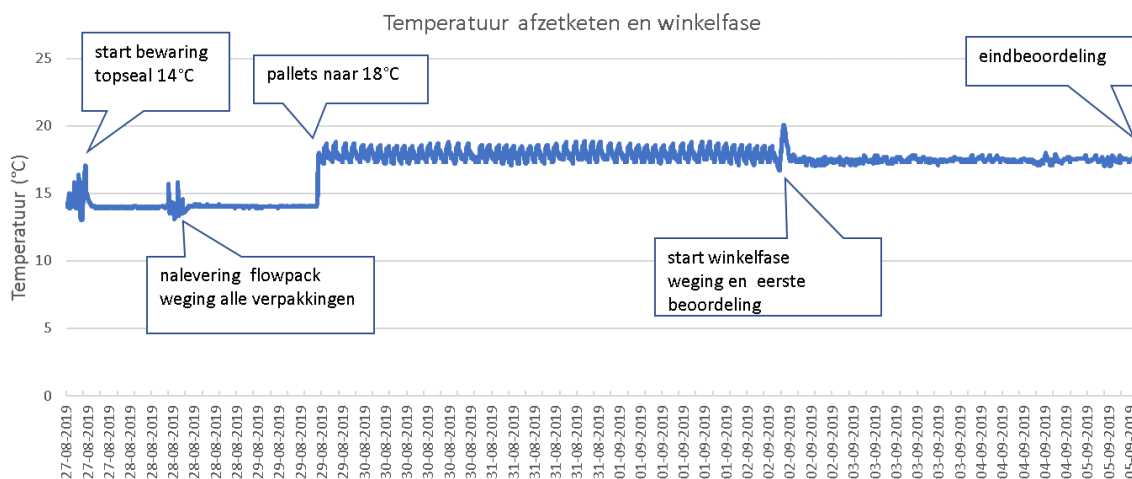
De topsealverpakking is minder flexibel en geeft minder mee wanneer kromme takken worden verpakt. Daardoor ontstaan drukplekken van kroon en vrucht tegen de folie (Figuur 40). Omdat in deze proef een warme plaat werd gebruikt in plaats van alleen een warme rand, hebben met name vruchten wat schade opgelopen. In een enkel geval is de folie beschadigd op de plaats waar een kroon of steel de folie raakt. Wanneer deze verpakking commercieel in productie wordt genomen zal het verhitten van alleen de sealrand de schade verminderen, maar mogelijk niet de drukpunten voorkomen.



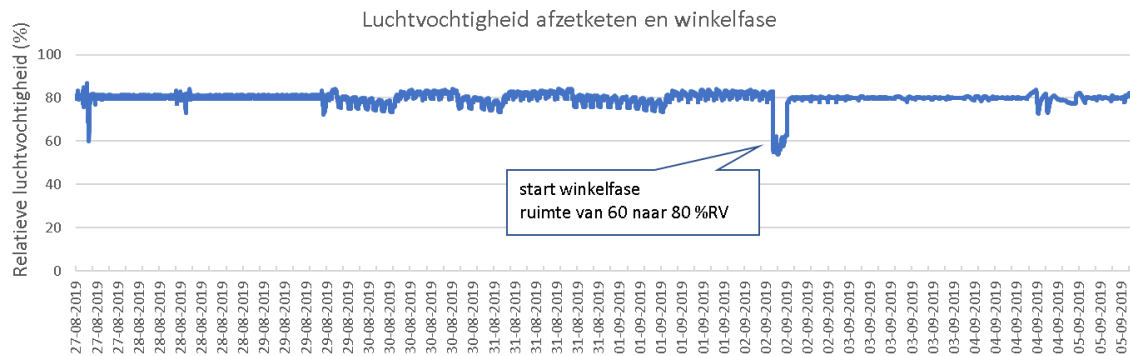
Figuur 40: Schade aan vruchten en folie bij de topsealverpakking

6.3.2 Klimaat

De klimaatcondities bij WFBR zijn tijdens het experiment gelogd. Onderstaande figuren geven een impressie van de gemeten condities (Figuur 41, Figuur 42). Er zijn geen opvallende afwijkingen.



Figuur 41: Temperatuurverloop (°C) tijdens het bewaarexperiment bij WFBR

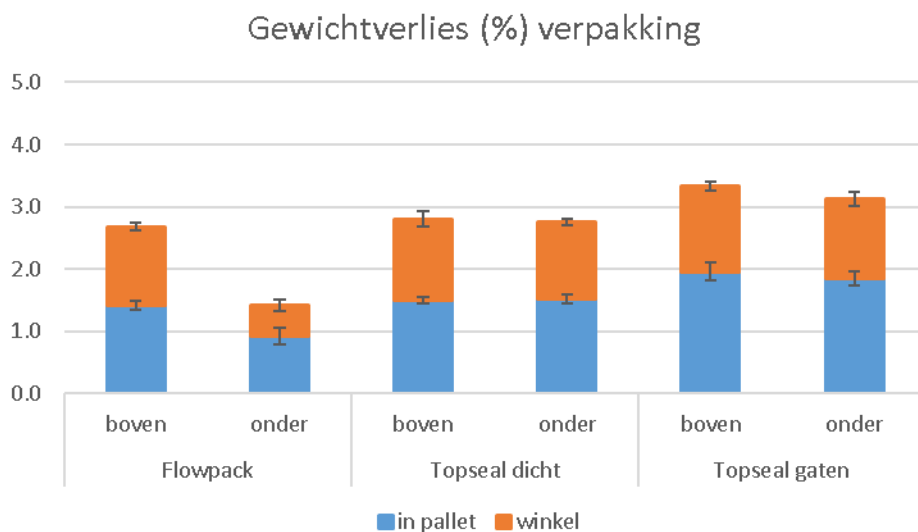


Figuur 42: Relatieve luchtvochtigheid (%) tijdens het bewaarexperiment bij WFBR

6.3.3 Vochtverlies

Het gewichtsverlies van de verpakking wordt weergegeven in Figuur 43. Vooral de onderlaag van de flowpack verpakking laat een lager vochtverlies zien. De verschillen tussen boven- en onderlaag bij de topsealverpakkingen zijn veel kleiner.

De vochtverliesmeting startte na 1 dag bewaring bij 14°C. Daardoor is het vochtverlies tijdens de periode van 2 dagen bij 14°C in werkelijkheid ongeveer 2 maal zo hoog als gemeten. Het effect van vochtopname door de schalen (uit omgeving en/of uit het product) hebben we niet goed voor alle behandelingen kunnen bepalen. Voor de topsealverpakking bleek het vochtpercentage bij start 6.5% en op het einde 11%. Van het andere materiaal hebben we geen startmeting (en ook niet van het pure startgewicht van de tomaten). Hierdoor kunnen de vochtverlieswaarden tussen de behandelingen niet met elkaar vergeleken worden.

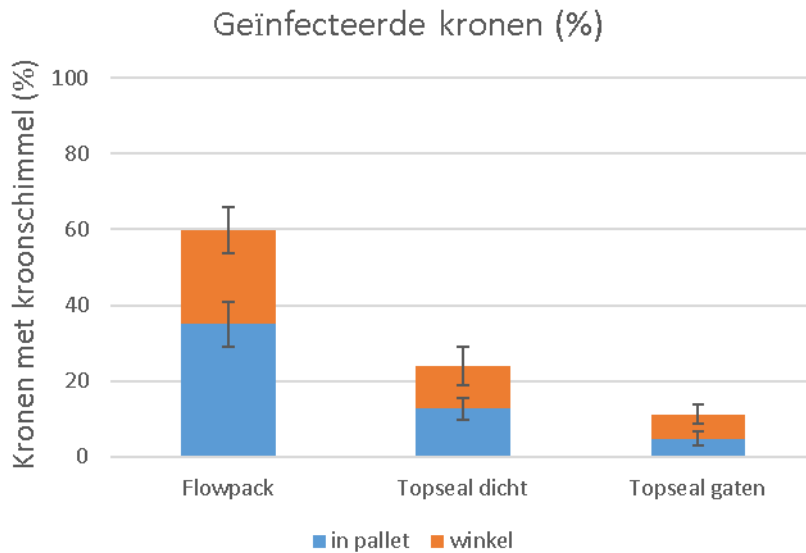


Figuur 43: Het percentage gewichtverlies met het 95% betrouwbaarheidsinterval in de boven- en onderlaag van de verpakkingstypen ontstaan in de palletopstelling (blauw), in de winkel (oranje)

6.3.4 Kroonschimmel

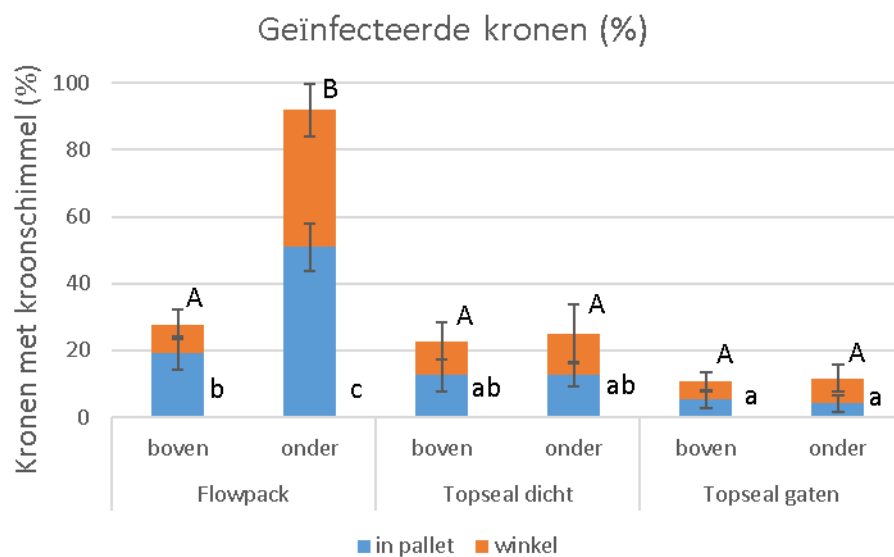
Na een week bij 20°C 100% RV bleek 71% van de tomaten een kroon met kroonschimmel te hebben (de besmettingsgraad). Er blijkt in de palletopstelling geen verschil in aantasting te zijn tussen de kratte in het linker en rechter pallet. Bij de analyse van de invloed van de verpakking hoeft hier dus geen rekening mee gehouden te worden. Vergelijkbare kratjes in de twee pallets worden als replica beschouwd.

Gemiddeld genomen is er een groot verschil in groei van de schimmel tussen de drie verpakkingstypen (Figuur 44). In de flowpack wordt het meest kroonschimmel gezien.



Figuur 44: Het percentage kronen met kroonschimmel (met het 95% betrouwbaarheidsinterval) in de drie verpakkingstypen, ontstaan in de palletopstelling (blauw) en in de winkel (oranje)

Echter, er is een interactie tussen de laag in het kratje en het verpakkingstype: de verschillen tussen de lagen zijn afhankelijk van het verpakkingstype. In de volgende figuur is het percentage geïnfecteerde kronen per verpakking uitgesplitst per laag in het kratje.



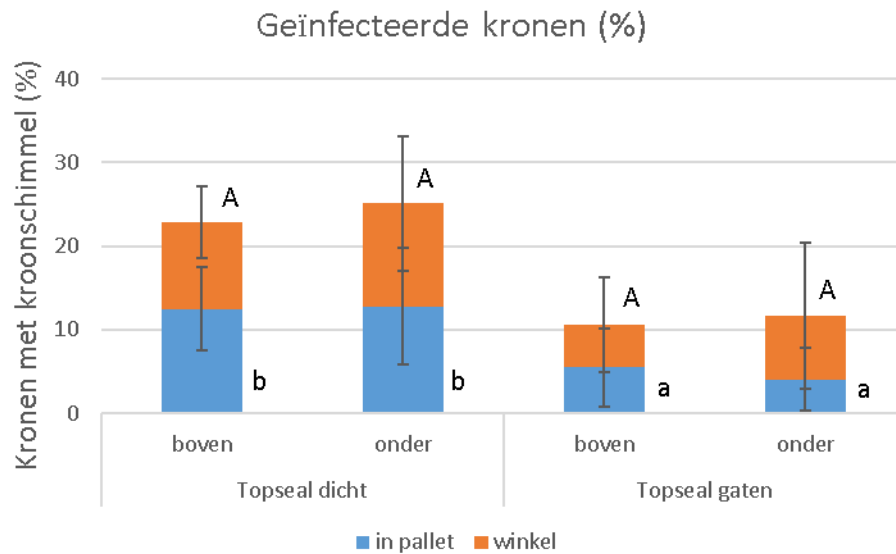
Figuur 45 : Het percentage kronen met kroonschimmel (met het 95% betrouwbaarheidsinterval) in de boven- en onderlaag van de verpakkingstypen ontstaan in de palletopstelling (blauw) en in de winkel (oranje). Waarden met gelijke letter (kleine of hoofdletter) zijn significant niet verschillend (Tukey posthoc test met $\alpha=0.05$). Kleine letter getoets op data na de palletfase, hoofdletter is getoets op de extra infectie tijdens de winkelfase.

De schimmelgroei in onderlaag met flowpack springt er, met een totaal ongeveer 90% na de hele afzetketen, bovenuit.

Door het grote verschil in schimmelgroei tussen de onderlaag van de flowpack en de andere verpakkingen, lijken de verschillen tussen de andere verpakkingen gering en niet significant.

Als we dit apart toetsen is er wel een significant verschil na de palletfase tussen de schimmelgroei in de topsealverpakking met of zonder gaten (Figuur 46). In de verpakking met gaten is de infectie na de bewaring in de palletopstelling significant lager. In de winkelfase blijven deze verpakkingen zonder

gaten een hogere infectie tonen, maar het verschil wordt niet groter. Het verschil door de gaten in de kartonschaal blijft wel significant



Figuur 46: Het percentage kronen met kroonschimmel (met het 95% betrouwbaarheidsinterval) in de boven- en onderlaag van de topseal-verpakkingen zonder en met gaten, ontstaan in de palletopstelling (blauw) en in de winkel (oranje). Waarden met gelijke letter (kleine of hoofdletter) zijn significant niet verschillend (Tukey posthoc test met $\alpha=0.05$).

6.4 Conclusie en discussie

De volgende conclusies kunnen getrokken worden op basis van de resultaten van dit experiment:

- De kronen in de onderlaag van het krat met de flowpack verpakking hebben significant meer schimmelgroei dan de bovenlaag én beide lagen in de topsealverpakkingen met en zonder gaten, zowel na de palletfase als de winkelfase.
- De topsealverpakking met gaten heeft minder infectie na de palletfase dan de verpakking zonder gaten. Tijdens de winkelfase blijft dit verschil bestaan, maar wordt niet versterkt.
- Beide topsealverpakkingen (met en zonder gaten) tonen geen verschillen in gewichtsverlies en/of infectie tussen boven en onderlaag, zoals wel het geval is bij de flowpack verpakking.

Dit experiment laat zien dat de topsealverpakkingen zoals hier gebruikt, het voordeel geven van een uniform resultaat bij dubbellaags verpakken in een krat. Zowel het vochtverlies als de hoeveelheid infectie was nagenoeg gelijk in boven en onderlaag. Bij de flowpackverpakking, waar geen ruimte is tussen de verpakking van de bovenlaag en de tomaten van de onderlaag, waardoor ook de gaten van het folie gedicht worden, is een groot verschil in schimmelgroei en vochtverlies te zien met de onderlaag, waar op bijna alle kronen schimmel zit. De drukplekken op de tomaten bij topsealverpakking vragen wel aandacht.

De lagere infectie bij topseal met gaten in vergelijking met topseal zonder gaten (al ontstaan tijdens de palletfase) toont aan dat ook in een palletopstelling, waarbij luchtbeveging door de kratjes mogelijk beperkt wordt, ventilatiegaten aan de zijkant van de verpakking voor minder infectie kunnen zorgen.

Opmerkelijk is dat het percentage kronen met schimmel in de flowpack op de onderste laag in het krat, met gemiddeld >90%, hoger is dan bij de tomaten die bij hoge temperatuur en 100% RV in de perspex box hebben gestaan (71%). Terwijl we hier verwachten dat alle aanwezige sporen op de kronen kiemen en leiden tot infectie. Deze schimmelgroei in de onderlaag is zelfs hoger dan de hoogste waarde van het berekende 95% betrouwbaarheidsinterval (85%). Het kan dat er toevallig meer sporen waren op de trossen in deze flowpacks dan de trossen in de perspex box

(bijvoorbeeld door te geringe randomisatie van de samples).. Een andere mogelijke verklaring is dat de tomaten/kronen in de onderlaag van de verpakking verder verzwakt zijn, in vergelijking tot de trossen die bij 100% RV lagen. Dit zou bijvoorbeeld door beknelling of door het verpakkingsproces kunnen komen. Ook is een mogelijke verklaring het feit dat het de verpakte tomaten die tijdens de palletfase in het donker hebben gelegen, terwijl de tomaten in de perspex box een aantal dagen meer licht hebben gehad. Hierdoor hebben de groene delen langer kunnen assimileren (fotosynthese) waardoor de kroonslippen gezonder gebleven zijn. Tijdens de telling van de infecties na de winkelfase werd door de projectpartners opgemerkt, dat de takken en kroonslippen van de trossen in de perspex box, afgezien van schimmelgroei, er heel fris uitzagen. Dit kan de hypothesen van sterkere kronen in de perspex box ondersteunen. Een laatste mogelijke hypothese is dat de grenslaag dikker is bij de tomaten in de onderlaag van het krat dan in de box, door beperktere luchtbeweging. Dit geeft dus mogelijk een kleiner dampspanningsdeficiet in het microklimaat rondom de tomaat.

7 Hyperspectral imaging to predict sensitivity of calyces to fungus (Experiment HS1, December 2017)

7.1 Introduction³

Spectroscopy is the study of the interaction of light (electromagnetic spectrum) with materials. The interaction of electromagnetic waves with a material gives us the “spectral signature/fingerprint” of that material by measuring the amount of light emitted, reflected or transmitted from a material. Hyperspectral imaging (HSI) is a technology which combines conventional imaging and spectroscopy to attain both spatial and spectral information. HSI has emerged as a powerful technology in the field of non-destructive plant and food analysis. In this project, the aim was to examine if HSI can help to identify earliest stages of sepal damage before manifestation of pathogenic fungi. Currently there is no a-priori way to identify which sepals are damaged before the fungus becomes visible.

A first pilot experiment showed an interesting example of how visualization of relationships between wavelengths can be made by making false colour images from selected wavelengths. In the pictures below you see the normal pictures on top in Figure 1. And Figure 2 shows the images taken with a Near Infra-Red camera, given a false colour to a combination of wavelengths seen by the camera. In this case the combination shows parts which have lower water content (the tips of the crown, the dehydrated stems are more blue-coloured).



Figure 1: Pictures with regular camera in a telephone

³ As indicated in Chapter 1.2, this chapter is written in English, because the work is done in cooperation with the Antares project with Serbian colleagues.

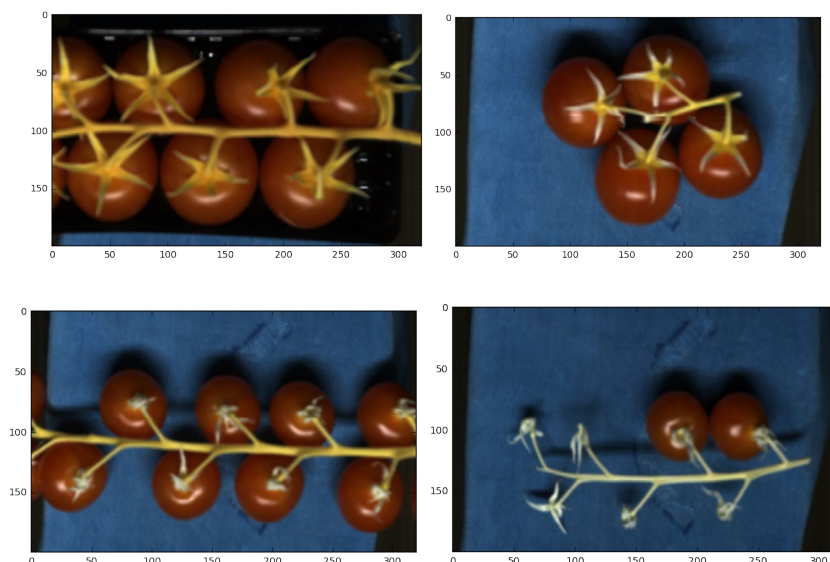


Figure 2: False colour images based on hyperspectral images taken with NIR camera

Based on this first proof-of-concept we hypothesize that spectral information of the calyx can provide us with early information on weakness or start of fungal infection. Therefore, the goal of the experiment described in this chapter is to collect hyperspectral images of tomato calyces and use the images to develop different models for prediction of sensitivity of the calyx/early warning of fungal infection.

The aim is to take images of a large number of tomatoes (with calyx) from different origins and submit them to fungal growth stimulating conditions, and to create a variation in fungal growth on the calyx of tomatoes. In this chapter the experimental set up is described for the collection of data of the tomatoes. The results of fungal infection under various conditions are shortly described and discussed. The actual hyperspectral image acquisition and analysis is briefly described here, but details will be written in a publication, as part of the cooperation with BioSense Institute in the EU-Antares project.

7.2 Experimental set-up

7.2.1 Materials & method

At 5 different tomato growers in the Netherlands, 6 batches of tomatoes (Brioso cv.) have been collected, harvested at 12th of December 2017. The first four locations provided tomatoes from a crop which was at the end of its production period and was grown without supplemental light (labelled A-D). At the 5th location two batches were taken: one from a greenhouse where the crop was also at the end of the production period (labelled E), whereas the other tomatoes were from a greenhouse using supplemental light, and from a crop that just started producing tomatoes (labelled F).

Tomatoes were collected and transported at room temperature to Wageningen Food & Biobased Research at the 13th of December. Here they were stored for a night at 15°C, until the next day.

Tomatoes from each batch were divided into 5 smaller trusses (1-5), each truss containing 4 tomatoes, using the tomatoes that are positioned most close to the place where the truss was attached to the tomato stem. They were labelled with blue tape and placed in white cups (Figure 3). From batches A-D and F an extra white cup was filled with 3-4 tomatoes from the tip of the truss, marked as X. Some of these tomatoes could visually be observed that they were less red.

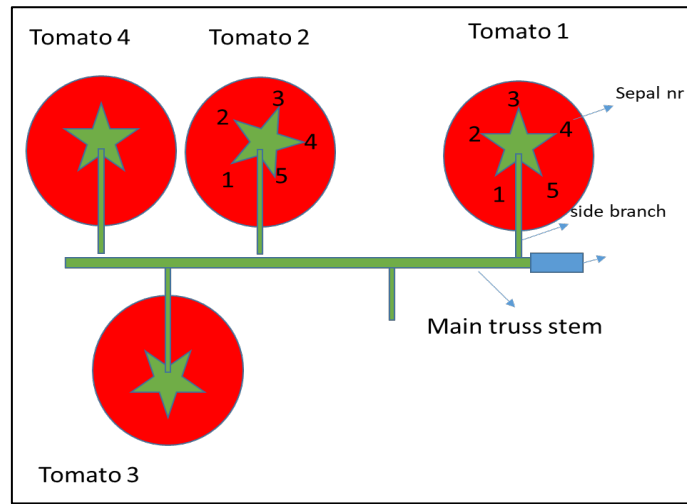


Figure 3: Labelling method and explanation for researchers of BioSense to be able to link hyperspectral data, visual observation and RGB-images

All trusses, tomatoes, sepals are labelled in such a way that in later stage the collected data of each sepal can be linked to each other. After labelling, hyperspectral images of each truss (with primarily 4 tomatoes) were taken using NIR Specim FX-17⁴ camera which covers the spectral range from 900nm-1700nm and 224 spectral bands (Figure 4).

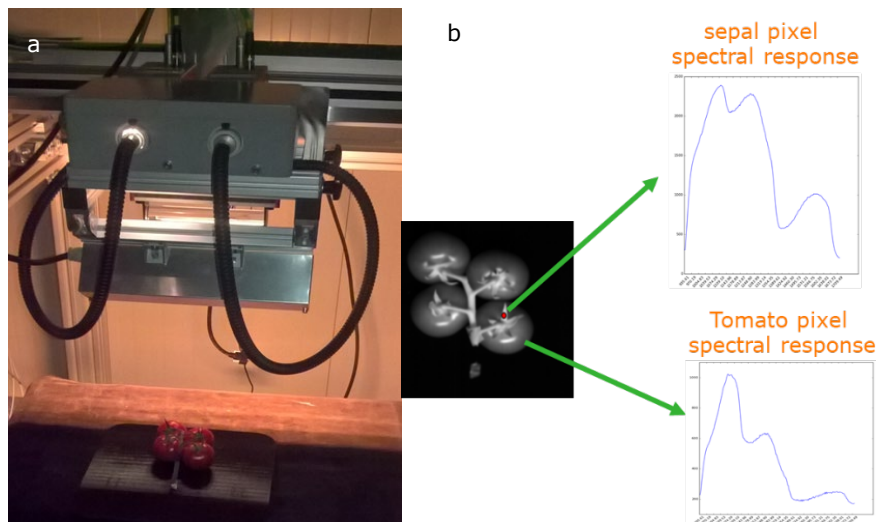


Figure 4: (a) Setup for capturing hyperspectral images using Specim FX-17 NIR camera; (b) Difference in spectral response of a point/pixel on the sepal vs the pixel on a tomato

Also RGB images were taken with a standardized camera set up (MAKO G-192C POE, Allied Vision, Stadtroda, Germany) positioned in a LED light cabinet (Designed by WFBR and build by IPSS Engineering, Wageningen, the Netherlands). During data-analysis these RGB-images are used to determine at each picture per sepal the area of infection and this data will be used as ground truth for the analysis from the hyperspectral data from the first day of the experiment.

After image taking the cups with tomatoes were placed in a perspex box with fungal growth stimulating conditions (20°C, 100% RH), with a day/night light regime.

At 18th of December a visual observation was done by two researchers to count healthy and infected sepals of each calyx and provide an estimation of infected crown area.

To get an idea on the type of fungi that is infecting the tomatoes, samples were taken from the fungus and inoculated on MEA agar plates and incubated for 5 days at 22°C.

⁴ <https://www.specim.fi/products/specim-fx17/>

7.2.2 Imaging datasets

The hyperspectral and color cabinet imaging led to two interlinked imaging datasets:

- The NIR dataset: hyperspectral images (SPECIM FX17 camera) of the tomatoes from the first day of experiment
- Color cabinet dataset: A **reference dataset**, from the last day of experiment, the fungus has infected most of the sepals

These datasets contain complete information corresponding to the tomatoes, however we are essentially only interested in the data corresponding to sepals. The objective being to correlate the sepal fungal severity on the last day to the sepal spectral response from the first day.

Overall, there are 689 samples in these images. The reference dataset from the last day provides visually observable data corresponding to eventual fungal infection for each sepal. An expert visually graded the infection severity per sepal in Wageningen. This is a subjective measurement which could benefit from judgement from multiple persons (leading to a less subjective measurement). Therefore a crowd rating event was organized at BioSense (Serbia) where each sepal was rated by 12 persons on the scale of 0-5 (0 being no infection and 5 being severe infection) (Figure 5). Final rates of the infection (per sepal) were obtained using weighted combination of individual rates. **This led to the fungal infection severity data for each of 689 sepals.**



Figure 5: Crowd rating event

For the hyperspectral data, it was also necessary to extract the spectra corresponding only to the sepals. For this purpose, each sepal was manually segmented using a software tool, and from the spectral responses of each sepals, mean spectra (mean over spectra from all pixels of the sepal) and the standard deviation of the sepal spectra was computed. **This gives a single summarized feature of size 448 (224 bands from mean spectra and 224 bands from the standard deviation) per sepal for each of 689 sepals.**

7.3 Results

7.3.1 Observed fungal infection on sepals

Visual observation showed for origins A-E a 100% infection rate of all sepals of all calyces. Only origin F showed some less degree in infection and had several sepals which were healthy and also the total area of the sepals was much less infected. The RGB images presented in Figure 6 give an indication of the heaviness of the infection. There is variation in heaviness of infection per tomato, per sepal visible.

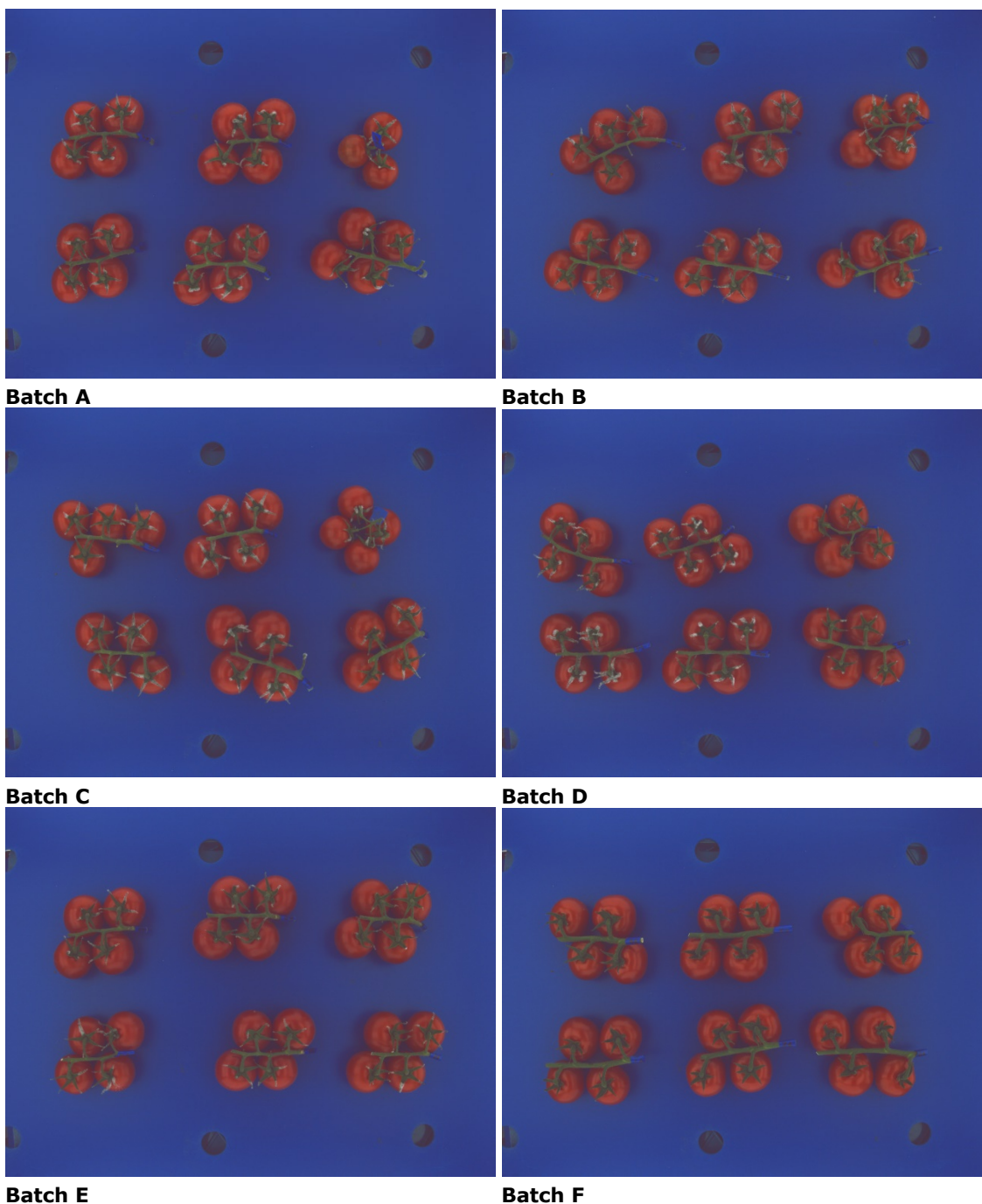


Figure 6: RGB images of the tomatoes per batch, after 4 days in the hotbox

All sepals from batches A-E are infected. Batch F has only 37% of the sepals infected. The severity of the infection (percentage of total sepal surface) was roughly estimated per tomato truss. Origins B-C showed most infected surface ($\sim 60\text{--}70\%$), followed closely by D ($\sim 50\%$) and A ($\sim 40\%$) and then E ($\sim 25\%$) and F ($\sim 2\%$). The research team in Serbia has determined more precisely per sepal the infected surface per sepal and used this information for preparation of the model using hyperspectral images of each sepal and to link this to the eventual infected area.

7.3.2 Characterization of types of fungi

To get an idea of the type of fungus that was present in these samples, we took three different samples (Figure 7). Moulds look similar on agar plates (Figure 8). There could be some more sporulation on plate A. Presumably the mould strain is *Penicillium sp.* or *Cladosporium sp.*

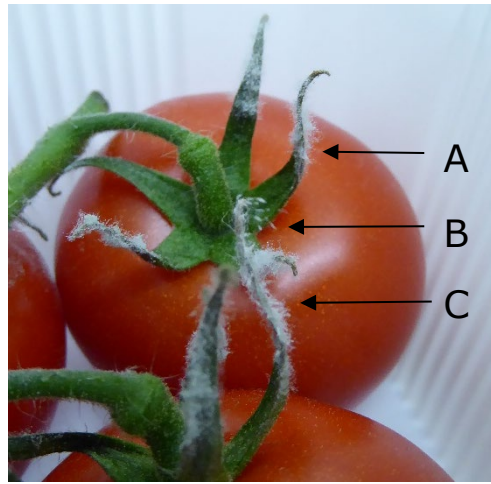


Figure 7: Indication of fungal sampling locations



Figure 8: Fungal growth of spores collected from tomato calyx on agar plates

7.3.3 Data-driven Fungal severity prediction model

The key objective of this experiment was to identify if HSI could help in predicting the susceptibility of a sepal to fungal infection earlier than is visually observable. To find the correlation, two different types of state of the art machine (ensemble) learning methods (Figure 9) – Random Forests and XGBoost – were investigated. These models were trained on the spectral **features** of the sepals where the aim was to find correlation between these features and the **reference** fungal severity observed on the final day of the experiment (see Section 7.2.2 for a description of the features and the reference data).

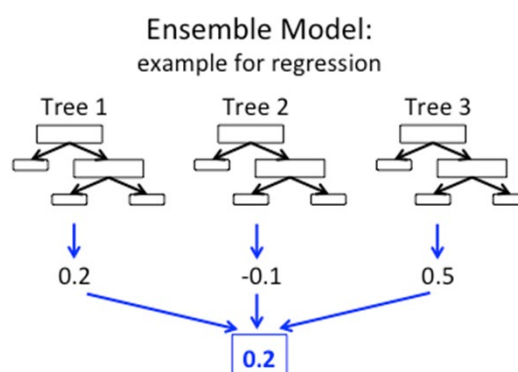
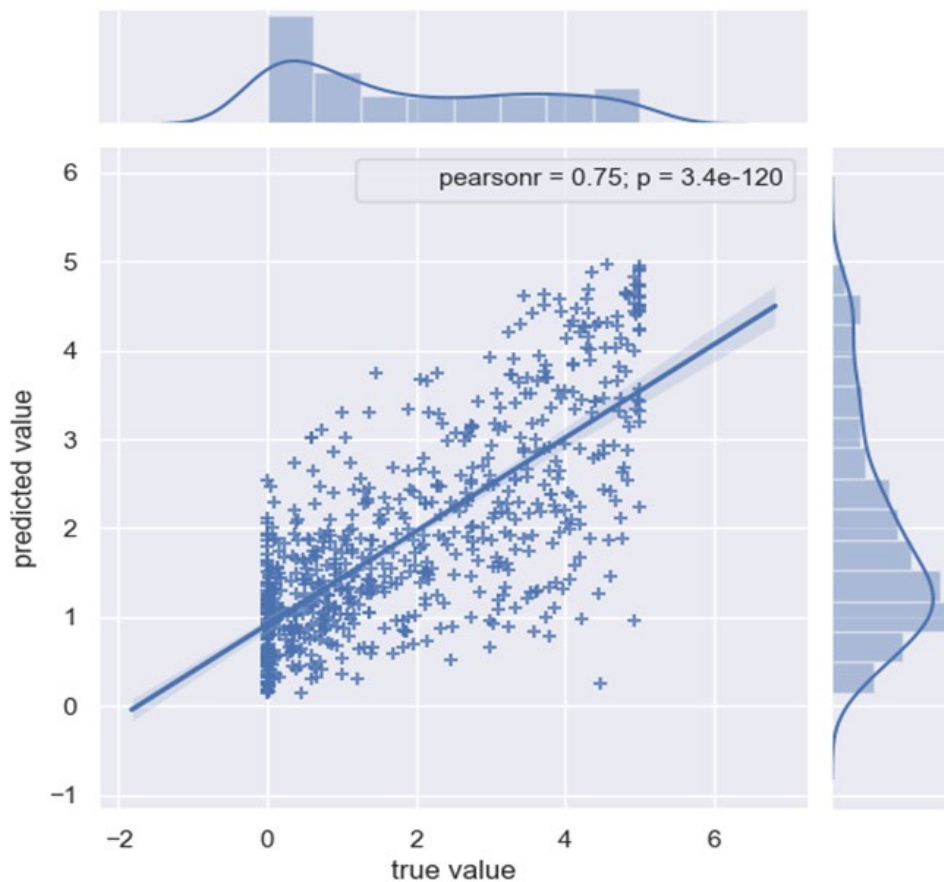


Figure 9: Example for regression using an ensemble model

Table 1: Predictive model performances

Model / Cross-validation	10-fold cross-validation	Group K-fold (group = tomato origin)
Random Forest	R2 score = 0.57 Pearson corr. = 0.75	R2 score = 0.47 Pearson corr. = 0.69
XGBoost	R2 score = 0.53 Pearson corr. = 0.73	R2 score = 0.45 Pearson corr. = 0.67

The results from two training scenarios and two types of approaches are presented in Table 1. Overall, Random Forest regressor out performs XGBoost, and 10-fold cross validation leads to a more robust model than validation over tomato origin. That is, for the obtained results, knowledge of origins does not add to the robustness of the model and a better model is obtained where samples for training do not take origin information into account. Figure 10 shows the scatter plot of true severity versus the predicted severity for the most successful model. The results demonstrate that the predicted fungal severity correlate well with ground truth estimates - Pearson 0.75 - and a high proportion of the variance is explained.

**Figure 10: Scatter plot of true sepal severity vs prediction from the best trained model**

The best model was then used for identifying the spectral bands contributing most to the prediction. Figure 11 plots the feature importance of the spectral bands, as derived from the Random Forest model. It can be seen from these images that the spectral range between 1400-1500nm is highly significant for predicting the infection rate. In practical terms this means that not all spectral bands are necessary for prediction, and a cheaper sensor, with these selected bands, could be created.

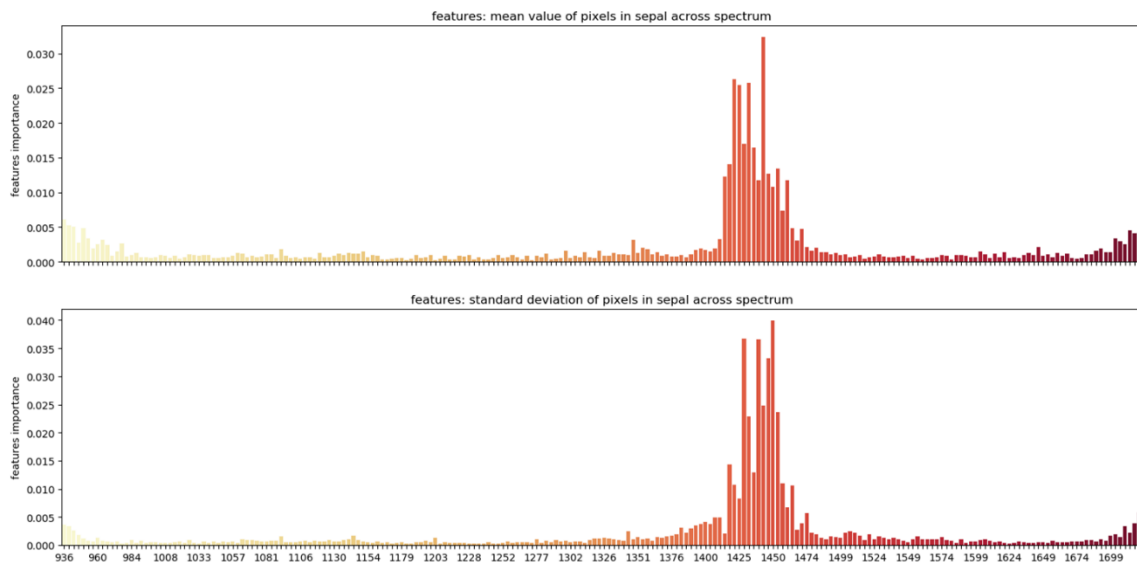


Figure 11: Feature importance of spectral bands

7.4 Conclusions

In this experiment we succeeded to collect hyperspectral images from healthy tomato calyces from 6 origins after harvest. Also we succeeded, by leaving the tomatoes in a fungal growth stimulating environment, to create infected sepals. The infections turned out to be on almost all sepals, but varying in severity. The data is used to build models for prediction of severity of infection.

The models built for predicting severity from hyperspectral images lead to a strong correlation with the ground truth (severity measured on the last day) – Pearson 0.75 and R^2 of 0.57.

The feature importance of the spectral bands, as derived from the model shows that the spectral range between 1400-1500nm is highly significant for predicting the infection rate. In practical terms this means that not all spectral bands are necessary for prediction, and a cheaper sensor, with these selected bands, could be created.

Hyperspectral imaging continues to be a promising direction to take, and these results show that access to more data there will potentially improve the predictive models.

8 Hyperspectral imaging to predict sensitivity of calyces to fungus (Experiment HS2, October 2018)

8.1 Introduction

Goal of this experiment is to collect new hyperspectral images of tomato calyces and use for further development of different models for prediction of sensitivity/early warning of fungal infection.

The aim is to create in this experiment more clear variation in fungal growth on the calyx of tomatoes from different origins. This variation in number of infected sepals was lacking in the first time of collection of images (Chapter 7) and is needed for developing robust models. As fungal pressure in greenhouses is unknown, we have chosen a set up with more variation/conditions to have a better chance on realizing variation in infection.

In this chapter the experiment for the collection of data of the tomatoes is described, including set-up and the results of fungal infection under the different conditions. The actual hyperspectral image acquisition and analysis is not described in detail here, but will be written in publication.

A hyperspectral imaging feasibility analysis was performed using the data of this experiment as an extra method to get more confidence in knowing whether HSI is the 'right' technology for predicting sensitivity of calyx to fungus. Objective of the study was to investigate if there is clear difference in hyperspectral signature between healthy and fungus infected sepals. Results of this analysis are reported in this chapter.

8.2 Experimental setup

8.2.1 Tomatoes

Fresh *Brioso* tomato trusses from different growers, located in the west of the Netherlands, were collected directly after harvest and transported by a representative from Prominent to the laboratory in Wageningen (October 2018). The trusses from each grower were coded with a letter ranging from A to G. The origins A-E are all relatively old crops that were already in production for several months. Origin F was a young crop, first production, origin G is from a greenhouse where many cultivars are grown together for demonstration where it is known that fungal pressure is generally low. Six trusses from each grower were selected, which showed no visual fungal infection and were undamaged. Except for Code G, from which fifteen trusses were selected. From the selected trusses, six tomatoes (with sepals and pedicel) were picked (starting with the tomato closest to the stem) and were labelled from *a* to *f*. Each junction of every tomato was gently waxed with stopcock grease (45°C) (Figure 12) to prevent dehydration. Waxing was performed in a controlled atmosphere of 15°C and 90% RH. Afterwards, every tomato was put in a cup with an unique number to keep track on each tomato.



Figure 12 Example of labelling individual tomatoes (left) and waxed cut stem of a *Brioso* tomato

8.2.2 Conditions

Tomatoes were subjected to one of the following two conditions (Figure 13):

- 1) "Optimal humidity" for fungus ; a closed transparent box in a shelflife room (18°C) and 100% relative humidity (RH);
- 2) "Sub-optimal" humidity for fungus on a table in the same shelf life room (18°C) and 90% RH with air movement speed ranging from 0.13 to 0.26 m/s.

The temperature is chosen slightly lower than the first experiment to target a little slower development of the fungus, with more chance to see more variation between tomatoes and batches. Within both treatments, part of the tomatoes were used for hyperspectral image taking + picture taking in light cabinet (HS), the other part of tomatoes were left "untreated", except for picture taking in light cabinet, and served as extra control (nonHS).

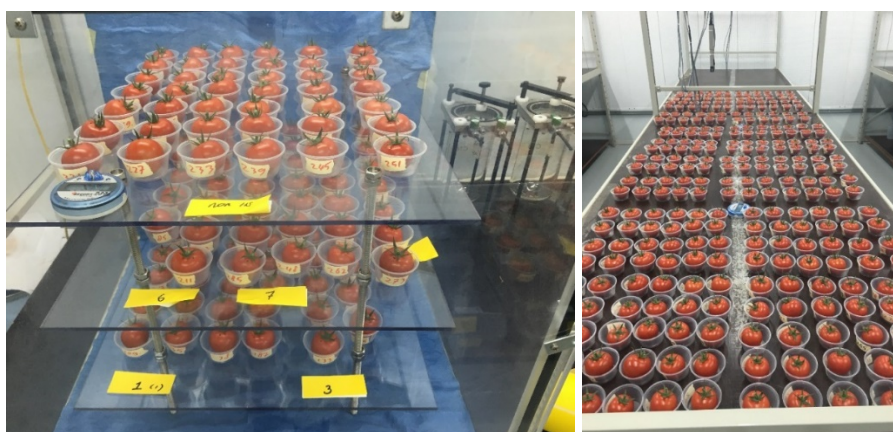


Figure 13: Set up left: "Optimal humidity", right: "Sub-optimal humidity"

8.2.3 Measurements

At arrival (day 0), labelled cups (with and without tomatoes) were weighed using a balance (MS6002TS/00, Mettler-Toledo GmbH, Giessen, Germany). Subsequently, the total number of sepals of each tomato was registered. Also, sepals with any kind of tip damage greater than ~1mm were registered. After the visual observations, all tomatoes were put in a shelf-life room with controlled conditions of 15°C and 90% RH.

At day 1, we captured hyperspectral images (VISNIR and NIR) of individual tomatoes. Note that this is different from the first experiment where each image consisted of 4 tomatoes. The reason being that capturing individual tomatoes allows for a higher resolution image. See Figure 14 for the imaging setup. Afterwards, color images of the tomatoes were captured in a standardized colour cabinet, which was calibrated using a colour rendition chart (Colour checker classic, X-rite Europe GmbH, Regensburg, Switzerland). Afterwards, one division of tomatoes ($n = 144$) were put under optimal fungus growing conditions. The other division ($n = 143$) were put under sub-optimal conditions for the fungus in the shelf-life room and kept in these conditions for 12 days.

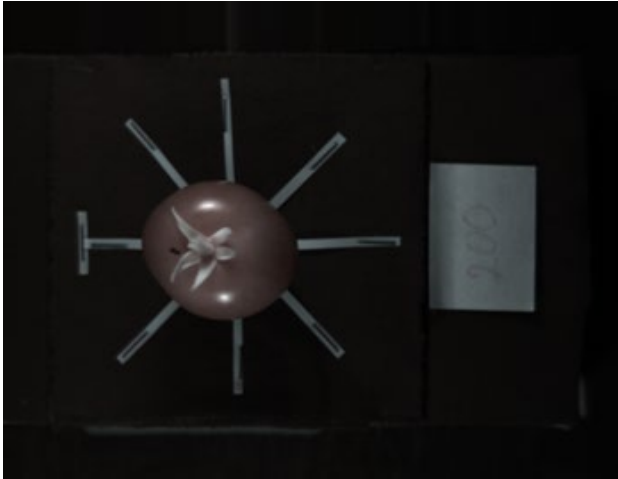


Figure 14: Top view (from the hyperspectral camera) shows the imaging setting which includes a 'star-formation' template and the tomato placed in the middle of it. The 'T' on the left side of the template aligns with a marker on the tomato from where sepals can be counted clockwise. In addition, the tomato label is placed on the right.

The tomatoes were individually assessed and scored for the total number of infected sepals by the fungus per tomato at day 6 (end of day), 7 (end of day after taking hyperspectral images) and 13 (morning). Assessment was performed by the same person every time to minimize subjectivity. The weight of the cups with tomato was weighed again at day 7. Hyperspectral as well as colour images were acquired again on day 7.

A total overview of measurements is given in Table 2.

Table 2: Overview of measurements per day

Measurement moment	Measurement
Day 0	Cup and tomato weighing; tip damage count (visual observation)
Day 1	Hyperspectral images, Pictures light cabinet
Day 6	Fungal infection count (visual observation)
Day 7	Cup and tomato weighing; fungal infection count; picture light cabinet, Hyperspectral images
Day 13	Fungal infection count

8.2.4 Hyperspectral Imaging Feasibility study

The data-driven modelling approach, described in Section 7.3.3, correlates hyperspectral data with observation of fungus. Although good results were obtained, this approach didn't give a confident answer whether HSI is the 'right' technology for predicting sensitivity of calyx to fungus. In order to address this, a feasibility study was devised where hyperspectral data from a set of 'ideal' tomatoes (from HS Experiment 2) was investigated. Objective of the study was to investigate if there is clear

difference in hyperspectral signature between healthy and fungus infected sepals. For the purpose of this study, a set of 16 tomatoes were selected such that:

- 8 tomatoes represented extreme (healthy/unhealthy) cases where no fungus was observed on the first day but a definitive fungal presence was observed on the final day of hyperspectral data collection; and
- 8 tomatoes where no fungal presence was observed on the first as well as the final day of the data collection.

For representative examples, see Figure 15.

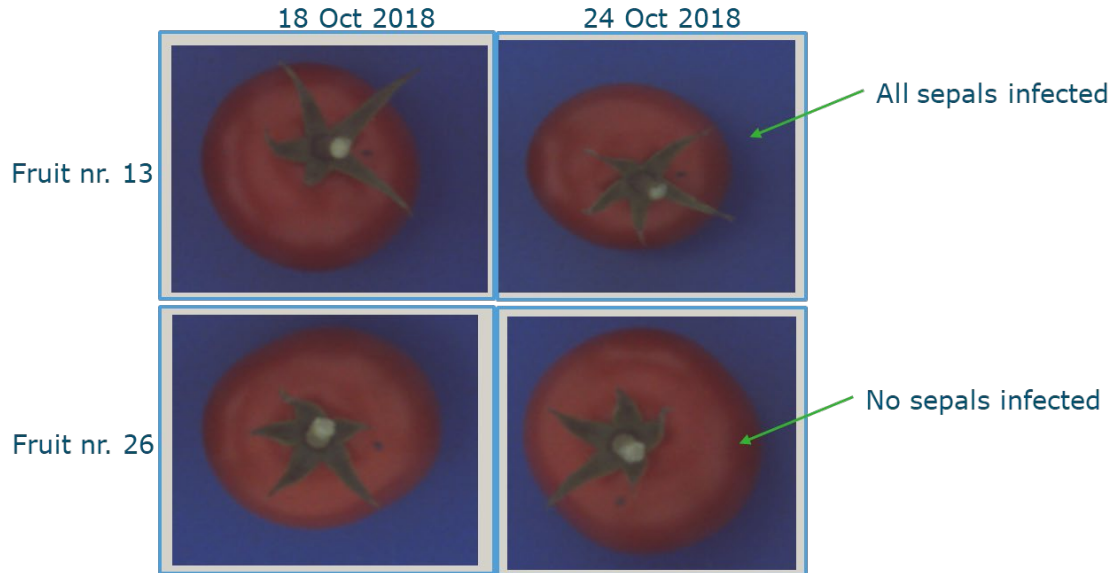


Figure 15: Examples of selected tomatoes

The feasibility study involved comparing hyperspectral responses of individual “extreme” tomatoes (healthy, unhealthy) on the first and the final day of the experiment. The hypothesis was that the spectral response of the sepals when the tomato is healthy (first day) should differ from when it is infected (last day) and should remain the same if the tomato remains healthy till the last day.

8.2.4.1 Data preparation for feasibility study

The objective of this study is to focus on the sepals, not the complete tomato. Therefore it is necessary to extract the spectral data corresponding only to the sepals. For this purpose, a machine learning algorithm called *K-means*, was applied to automatically process the spectral image and extract only the points belonging to the sepals. The algorithm works on the principle of automatically clustering the spectral data which is most similar. For our images, there are 4 clusters corresponding to the tomato, sepals, template (on which tomato is placed) and the rest of the background. The application of *K-means* allows to automatically identify these 4 clusters, as shown in Figure 16.

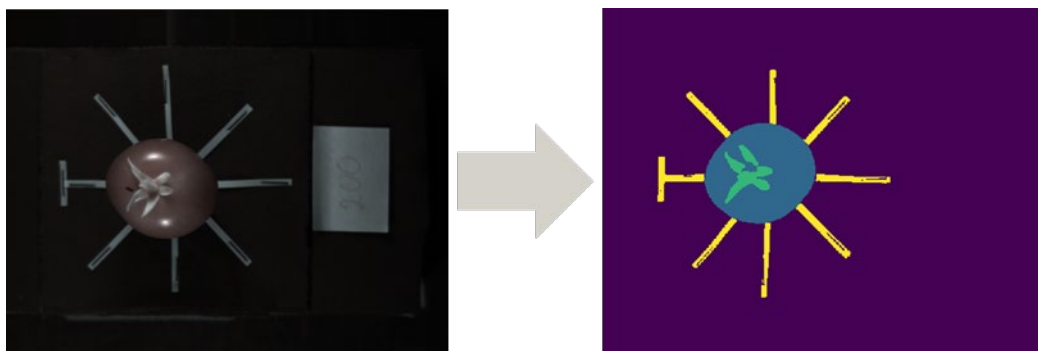


Figure 16: Unsupervised spectral data clustering (k-means based) for spectral image segmentation into sepals, tomato, template and background. The original image (right) and color coded pixel clusters (left).

Once the clusters have been identified, the next step is to automatically extract the points belonging only to sepals. See Figure 8 for demonstrative examples of sepal extraction.

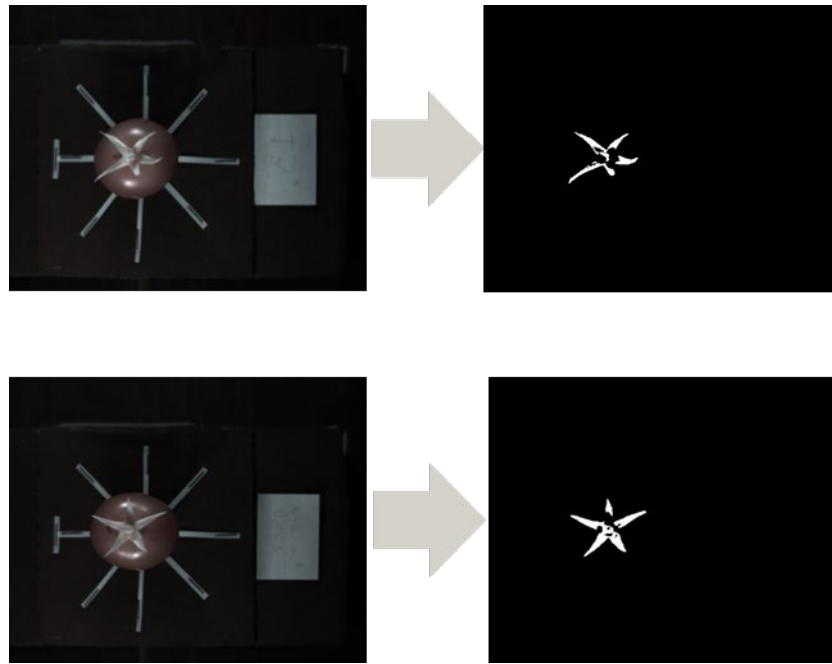


Figure 17: A couple of examples demonstrating the results after automatically extracting sepal data from the spectral image

8.2.4.2 Data analysis

The data preparation step described in Section 8.2.4.1 provides the spectral data corresponding to the sepals. This data is then be analysed to address the key question – are there observable changes in spectra of the sepals from the same tomato when it is healthy in comparison to when it has fungus?

In order to study this, a mathematical technique called Non-negative Matrix Factorization (NMF) was used to study and hyperspectral data. NMF is a spectral unmixing technique which identifies the most significant spectra, referred to as *components*, in a hyperspectral image. Results are presented in the next section.

8.3 Results

In this part the results of the visual observations of tomatoes will be presented. The raw data of visual inspection of individual tomatoes has been provided to colleagues at BioSense Institute, Novi Sad, Serbia, to process further and link to the hyperspectral images.

8.3.1 Observed fungal infection on sepals

Figure 18 shows different sepal infection levels per origin. As variation between growers was seen after 6 days, it was decided to take hyperspectral images again at day 7. However, at day 6 and 7, the overall infected area of sepals was still very low and difficult to identify, both at 90% as for 100% RH (Figure 19). Therefore the visual observation was continued until day 13.

Grower A-E show highest infections, while F and G were least infected, most clearly visible after 13 days at 100% RH. The tomatoes that were not used to take hyperspectral images (nonHS 100%) show little lower infection rates than the ones that were used for taking pictures. At 90% RH the infection level was very low for all origins, after 6 days and also still limited after 13 days.

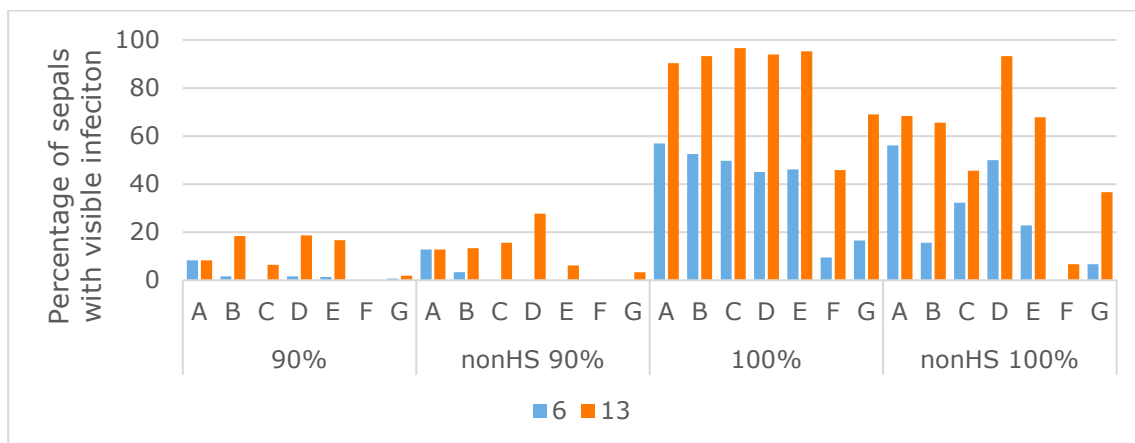


Figure 18: Fungal infection (Percentage of sepals with infection of total nr sepals per tomato) per grower (A-G), observed on 2 days (day 6 and 13) at 90% RH, either with the handling for hyperspectral imaging (90%) or without (nonHS 90%); and at 100% RH with handling for hyperspectral imaging (100%) or without (nonHS 100%). Each bar represents the average of % infected sepals of minimal 12 tomatoes per origin for the HS treatments, 6 tomatoes for the non-HS images.



Figure 19: Tomatoes in hotbox at day 6. Some fungal infection is visible, but only at the tips of sepals

The results on day 7 are presented next to day 6 in Figure 20 for the 100% treatment show that directly after taking the hyperspectral images the counting result was lower than on day 6, but it was seen most clearly for the tomatoes which were not used for hyperspectral image taking. A possible reason is that variation in counting occurred because infections were almost not visible, due to the very minimal infected surface. Observations on day 13 show that the fungus still continued to infect more sepals, so an actual reduction of fungal infection at day 7 is not likely.

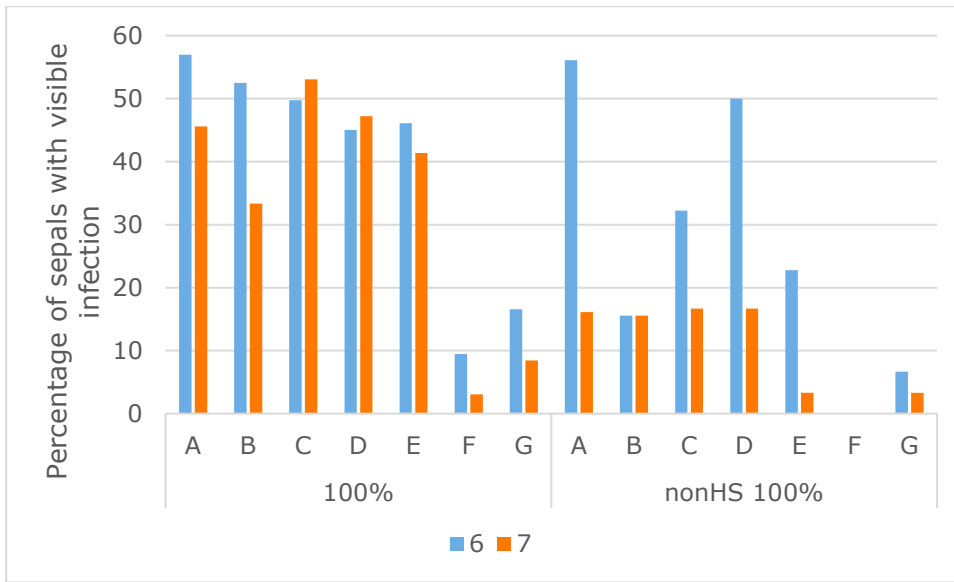


Figure 20: Fungal infection (Percentage of sepals of total nr sepals per tomato with infection) per grower (A-G), on days (6 and 7) at 100% RH with handling for hyperspectral imaging (100%) or without (nonHS 100%)

8.3.2 Results of the hyperspectral imaging feasibility

Non-negative Matrix Factorization (NMF) was applied to the hyperspectral data in order to extract the most significant spectral components (Figure 21, Figure 22). Please note that the rest of the discussion and conclusions are based on visual observation of the NMF derived key components, and no further analytical tools were used to compare these components.

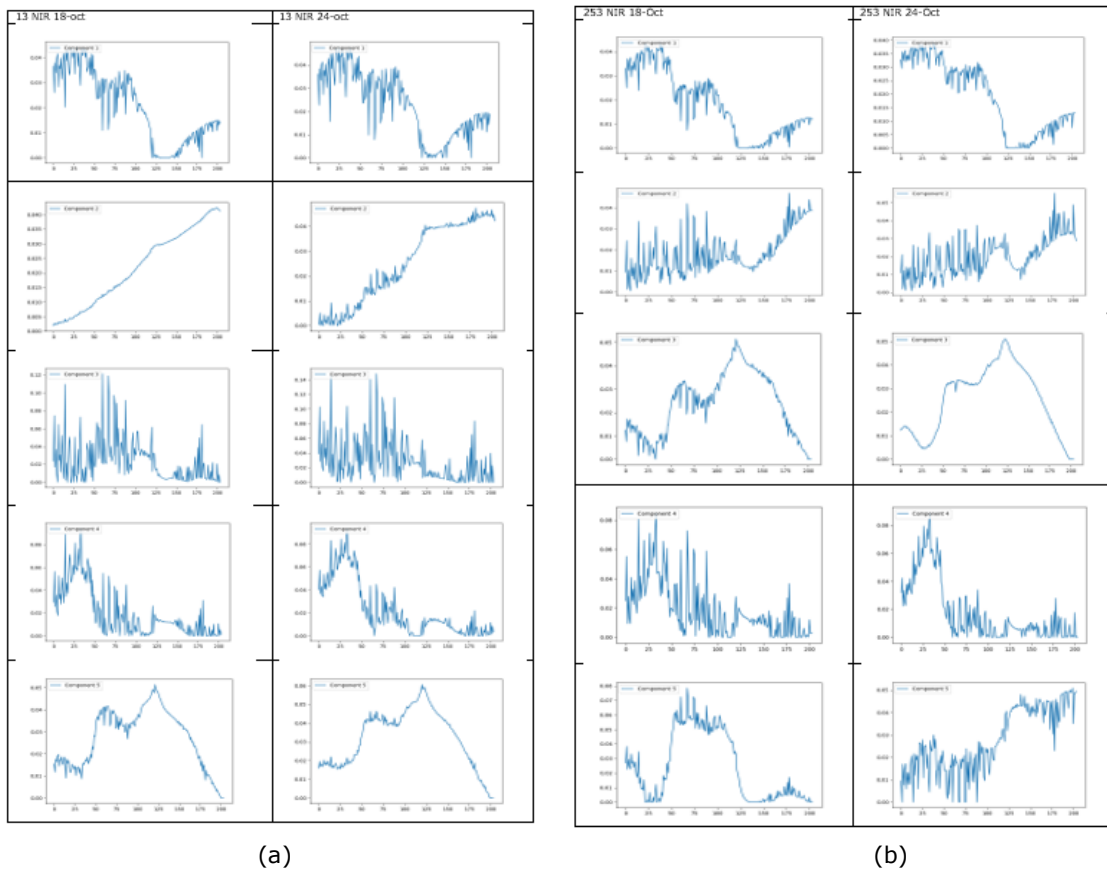


Figure 21: Plot of first 5 components, from top to bottom, extracted from sepals of a tomato on the first day (sepals were healthy) and the last day (fungal infection was observed) of the experiment for tomatoes with ids 13 (a) and 253 (b).

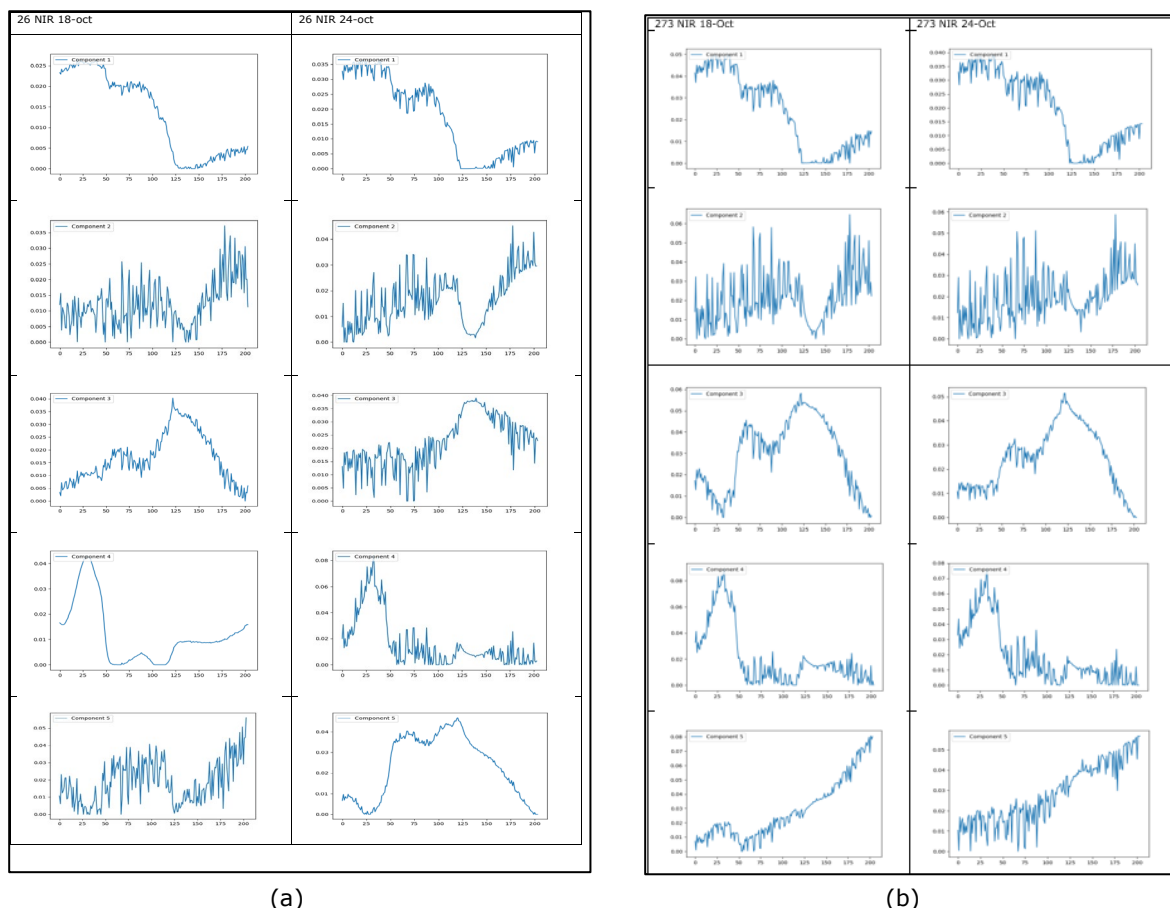


Figure 22: Plot of first 5 components, from top to bottom, extracted from sepals of a tomato on the first day (sepals were healthy) and the last day (healthy) of the experiment for tomato with ids 26 (a) and 273 (b)

It was observed that most useful information from the spectral data was contained in the first 5 components. Therefore, as part of evaluation, for each tomato, NMF was applied on sepals from the first day and the final day. Figure 21 and Figure 22 plot the first five key components for four tomatoes (id's 13, 253 and 26, 273) on the first and the last days of the experiment. Tomatoes 13 and 253 showed presence of fungus on the last day of hyperspectral data collection whereas Tomato 26 and 273 remained healthy.

It can be observed that there are differences between the components observed on the first day with respect to the final day irrespective of whether the sepals was healthy or infected. However, the general trend per component is not significantly different between the two days of the experiment. That is, the plots on the first day follow a similar pattern as on last day. This is true for both figures except component 5 for Tomato 26. In order to corroborate our initial hypothesis, it was expected that the general trend of different components will be markedly different between plots of healthy and unhealthy sepals, on the other hand, plots will show similar trend if the sepals remain healthy. This expectation is not supported by the obtained results. It was noted that no significant trend differences lies between the NMF components extracted from the healthy and unhealthy sepals from the same tomato. Whereas, no marked similarity was identified between components from healthy sepals on the first day versus the last day.

8.4 Conclusions and discussion

The data collection experiment succeeded in generating an extra hyperspectral data set with differences in number of infected sepals between origins. The infection severity was rather low this time (low infected area of sepals) compared to the first experiment.

The different humidity/ventilation conditions created a clear extra variation in infection. It shows that small differences in relative humidity and air speed can have a big impact on infection rate: at 18°C, 90% RH + air speed of 0.13 to 0.26 m/s growth of fungus on the calyx was about 4 times less compared to a 100% RH with no air movement. The fact that there was also an increased infection seen after 13 days for the tomatoes which were moved for taking hyperspectral images compared to the ones which were kept in 100% RH also says something about the sensitivity of the fungus or the calyx to the conditions. It is hypothesized that the heat of the lamps is influencing the calyx and/or stimulating the fungus to grow or the extra handling is causing extra infection.

As for the feasibility study on identifying if Hyperspectral imaging is the right tool for the problem, results gave a strong indication that there is not a strong evidence to support that hyperspectral imaging is the correct technique to give a definitive answer to predictive relation in sensitivity of calyx to fungus. Results demonstrated that hyperspectral data failed to capture the difference between the healthy and unhealthy sepals. In particular, except for some exceptional cases, no visible correlation was observed between healthy and unhealthy spectra. The results from the exceptional cases cannot be generalized to all tomatoes. These results support that stronger (and more complex) modelling methods are needed to find the correlation in this dataset. The modelling work as was done in Chapter 7 will be continued on this dataset in the Antares project. Results will be communicated with the Humistatus tomato partners.

Other technology than hyperspectral imaging could also still be worthwhile to explore for feasibility to predict the infection, e.g. chlorophyll fluorescence measurements.

9 Overzicht kansen en (on)mogelijkheden UV and Ozon-technologie in de tomatenketen

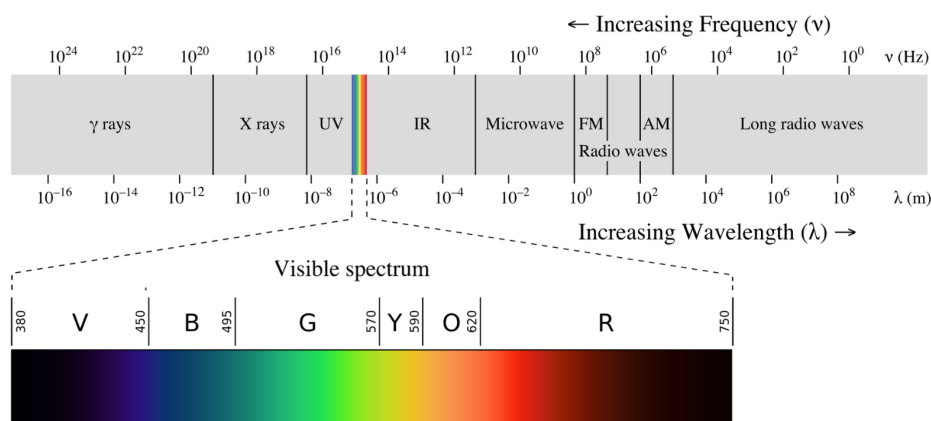
9.1 Doel

De betrokken partners in de werkgroep tomaat hebben gedurende het project de behoefte geuit om een overzicht te krijgen van de kansen en (on)mogelijkheden van toepassing van ozon of UV-technologie in de tomatenketen ter voorkoming of bestrijding van kroonschimmel. Het overzicht is opgesteld vanuit een korte literatuur/internetscan en gesprekken met een aantal WUR-experts.

9.2 UV-C

9.2.1 Wat is het?

UV licht is een deel van het spectrum van elektromagnetische straling, van 10nm tot 400nm (zie Figuur 47). Het UV-gedeelte kan in verschillende delen worden opgesplitst. UV-A/B/C worden als niet-ioniserende straling gerekend. Het ioniserende deel houden we hier buiten beschouwing. UV-C bevindt zich in het golflengte gebied van 100-280nm.



Figuur 47: Electromagnetisch spectrum (Wikipedia, Philip Ronan, Gringer)

9.2.2 Principe van werking (Turtoi, 2018)

UV-C is het gedeelte van de straling dat door de ozonlaag uit het zonspectrum gefilterd wordt, maar wat wel voldoende krachtig is om micro-organismen te doden. Het UV-licht zorgt bij blootstelling voor beschadiging van nucleïnezuren in het DNA en RNA in de cellen van een organisme. Dit kan er voor zorgen dat het organisme inactief wordt en/of zich niet meer kan vermeerderen.

Alleen dat deel van het organisme dat zich op het oppervlak bevindt en dat geraakt wordt door het UV-licht wordt beschadigd of gedood. Het deel dat in de plant groeit of in de "schaduw" ligt en niet in aanraking komt met UV zal niet direct beschadigd worden.

De dosis UV-C (intensiteit en blootstellingsduur) en het oppervlak waar het organisme zich op bevindt, zijn de belangrijkste factoren welke bepalen of een organisme geïnactiveerd wordt. Andere factoren die invloed hebben op de gevoeligheid van een organisme voor het UV licht zijn o.a.: de gebruikte golflengte, leeftijd van de populatie, temperatuur waaronder de organismen groeien.

Een typische inactivatie dosis om de populatie schimmels een orde grootte te verkleinen (D_{10} UV dosis) is 30-300 mJ/cm² oftewel 0.3-3 kJ/m². Voor bacteriën is de benodigde dosis zo'n 10x lager. Omdat in verschillende artikelen verschillende eenheden gebruikt worden hebben we hieronder een omreken tabel gepresenteerd waarin vergelijkbare waarden naast elkaar gezet zijn.

Tabel 7: Vergelijking van diverse eenheden straling

1 mW.s.cm ⁻²	1 mJ.cm ⁻²	10 J.m ⁻²	0.01 kJ.m ⁻²
10 mW.s.cm ⁻²	10 mJ.cm ⁻²	100 J.m ⁻²	0.1 kJ.m ⁻²
370 mW.s.cm ⁻²	370 mJ.cm ⁻²	3700 J.m ⁻²	3.7 kJ.m ⁻²

Behandelduren in de diverse onderzoeken spreken van 10 seconden tot 10 minuten blootstelling, en in praktijk wordt er ook gesproken van herhaalde behandelingen (tijdens de teelt of in bewaring). Het afdoden van sporen van schimmels vraagt de hoogste dosering.

Bij lagere doses UV-C kunnen er ook in het product (groente/fruit) reacties plaatsvinden zoals de productie van anti-schimmelstoffen die de celwanden van een schimmel kunnen afbreken en rijping kunnen vertragen (zie voorbeelden in hoofdstuk hieronder). Dit geïnduceerde effect wordt hormesis genoemd. Te hoge doses UV-C kan schade geven op vruchten/groenten/bladeren.

Micro-organismen hebben verschillende manieren ontwikkeld om zich tegen UV-licht te beschermen en om te herstellen:

1. Pigmenten die UV licht kunnen absorberen
2. DNA-reparatie na beschadiging
 - a. Fotoreactivatie (herstel van DNA door belichting met zichtbaar licht)
 - b. Donker-herstelmechanisme (vervanging van beschadigde nucleotiden door nieuwe)
3. Groei in biofilms, waarbij een laag polysacchariden bescherming geeft tegen fysische en chemische factoren.

Micro-organismen kunnen na herstel opnieuw groeien en dit kan zelfs in snellere mate dan vóór de UV-behandeling. Voor volledige bestrijding moet de dosis dus dusdanig hoog zijn dat het niet meer gerepareerd kan worden.

9.2.3 Resultaten onderzoek bestrijding (kroon)schimmel met UV-C

Er zijn diverse onderzoeken gedaan naar ontsmetting van oppervlakten groente en fruit met gebruik van UV-C. We noemen hier een aantal onderzoeken die zich richtten op toepassing van een na-oogstbehandeling om schimmels tegen te gaan en/of verlengen van shelf-life met UV-C. Over het algemeen hebben deze onderzoeken zich gericht op het gebruik van UV-C direct na oogst en behandeling net voor een langere bewaarperiode. Voor afdoding zijn relatief hoge doses nodig en alleen het organisme op het oppervlak, wat direct in contact komt met het licht, kan gedood worden. Dit is niet altijd voldoende om verdere groei van de schimmel op/in het product te voorkomen. Daarom is er in een aantal onderzoeken gekeken naar het induceren van weerstand van het product tegen de infectie middels de UV-C behandeling.

De volgende onderzoeken zijn voorbeelden van positieve resultaten op tomaten en paprika's met een UV-C behandeling na oogst:

- Een UV-C behandeling bij tomaten had een reductie van *Alternaria* infectie tot gevolg ten opzichte van onbehandeld product. De behandeling had ook een vertragend effect op rijping (tomaten bleven steviger en waren minder rood). Echter dit effect was met name op groene tomaten, toepassing van de behandeling op rijpere tomaten bij oogst gaven een minder positief effect op beperking van rot (Liu et al., 1993). Te hoge doses gaven ook ongewenste verkleuring van het vruchtvlees
- Aantasting van tomaten tijdens bewaring door *Botrytis* werd beperkt door UV-C behandeling na de oogst (Charles et al., 2008).
- Bij verschillende studies met paprika's hielp een na-oogst behandeling met UV-C om rot te voorkomen of te verminderen en ook kouschade kan hierdoor verminderen (o.a. (Mercier et al., 2001), (Vicente et al., 2005).

- Een studie van (Pinheiro et al., 2015) claimt een reductie van bacteriële aantallen op de tomaat bij UV-C belichte tomaten ten opzichte van onbehandelde tomaten. Deze resultaten vertonen echter hoge variaties en dit blijkt geen significant verschil te zijn.

In 2011 is er een onderzoek geweest waarbij tijdens de teelt van tomaten een UV-C behandeling is uitgevoerd en na oogst de tomaten geïnfecteerd zijn met *Penicillium digitatum* (een schimmel die ook op kronen infecteert) en tijdens bewaring gekeken is naar rijping (kleur en stevigheid) en uitgroei van de infectie (Obande et al., 2011). De UV-behandelde tomaten bleken langzamer te kleuren en minder snel te verzachten. Ook waren de lesions (infecties) kleiner. Een dosis van 8 kJ/m² (trossen waren 400 seconden belicht met UV, in het donker en 8 uur na behandeling geoogst) bleek hier effectiever dan 3 kJ/m².

Om de effectiviteit van behandelingen te verbeteren is er ook gekeken naar de manier van belichten (bovenkant vrucht, onderkant vrucht, aantal keren draaien etc.) (Obande and Shama, 2011). Hier kwam naar voren dat belichting van de bovenkant (waar steelaanhechting zit) het meeste effect gaf bij appel, mandarijn en perzik, bij verschillende schimmels (Stevens et al., 2005).

Effecten specifiek op kronen bij tomaten kunnen we niet terugvinden in de literatuur. Wel is bij aardbei ook vertraging gezien van bruin worden van de kelkbladeren bij aardbeien, wat gezien wordt als een teken van uitdroging, na een behandeling met UV-C dosis tot 100 mJ/cm², bij hogere dosis wordt schade gezien. Schimmelgroei bij aardbeien wordt beperkt vanaf 50 mJ/cm², dus een dosis van 100 mJ/cm² lijkt hier optimaal (Lammertyn et al., 2004).

9.2.4 Toepassing in praktijk

Praktijkonderzoek en commerciële aanbieders.

Qua haalbaarheid/perspectief van toepassing UV-C in de glastuinbouw, akkerbouw zijn in het verleden door Wageningse onderzoekers al verschillende studies gedaan ((Lamers and Rozen, 2009), (Hofland-Zijlstra et al., 2009), waaronder ook voor toepassing UV-C in tomatenteelt. Er werd in 2009 gesproken door onderzoekers over "het gebruik van UV-C kan een goede aanvulling zijn op andere gewasbeschermingsmaatregelen, met name bij een regelmatige toepassing van minimaal 3 keer per week."

In België bij Proefcentrum Hoogstraten wordt op dit moment gewerkt aan ontwikkeling van apparatuur en van geschikte doseringen UV-C per toepassing (o.a. teelt tomaten en aardbeien)^{5,6}. Doel is te zorgen voor goede geïntegreerde gewasbescherming, geen schade op het gewas en ontwikkeling van een praktische toepassingsrobot.

Voor gerbera's zijn in 2010 diverse onderzoeken gedaan om tot een praktijkadvies voor na-oogst behandeling tegen Botrytis met UV-C te komen, waarbij ook gekeken is naar inpassing in een sorteermachine van firma Havatec. Voor onderzoek is vaak gebruik gemaakt van 75-100W TL-achtige lampen. Echter voor inpassing in een sorteerinstallatie, met het doel om 10.000 bloemen per uur te kunnen realiseren, was 9 m lengte aan lampen nodig. Dit bleek onpraktisch. Uiteindelijk heeft men gekozen voor een opstelling met 2 UV-middendruklampen van 1000W. Deze lampen produceren een veel breder spectrum wat mogelijk een invloed heeft op het resultaat. De effecten bleken gering en er waren problemen met warmteafgifte van de lampen (in dit geval 2 UV-middendruklampen 1000W) (Os et al., 2010). Toch is Havatec hier wel verder mee gegaan en inmiddels zouden er diverse installaties in de praktijk zijn.

In Nederland is een commerciële partij actief die o.a. UV-C apparatuur voor gebruik in tuinbouw ontwikkelt en verkoopt, CleanLight. Zij prijzen vooral de werking als gewasbescherming tegen meeldauw en Botrytis aan. Praktijktoeepassing richt zich volgens Cleanlight niet op het afdoden van sporen, omdat dit vaak ook schade aan het gewas/product geeft. Ze hebben ook een unit ontwikkeld

⁵ <https://www.nweurope.eu/projects/project-search/uv-robot-innovative-uv-robotics-to-improve-existing-ipm-strategies/> (bezocht op 30/10/2019)

⁶ <https://www.proefcentrum.be/onderzoek/projecten/uv-robot> (bezocht op 30/10/2019)

voor op bollensorteerlijnen. Er zijn wel meer aanbieders van UV-lampen te vinden op internet, maar het is niet duidelijk of dit ook bedoeld is voor behandeling van verse producten.

Regelgeving

Wij als onderzoekers kunnen slechts beperkt iets zeggen over vraagstukken met betrekking tot regelgeving (wij zijn geen juristen!). We hebben in onze search geen officiële documenten gevonden dat er een officiële toelating is voor het gebruik van UV-C bij tomaten in Nederland of de EU.

Regelgeving op het gebied van gebruik van fysische technische behandelmethode op voedingsproducten lijkt niet zo eenduidig. Er zijn geen duidelijke toelatingsprocedures zoals bijv. bij biociden/ gewasbeschermingsmiddelen. Het basis uitgangspunt is altijd dat een producent verantwoordelijk is voor het leveren van veilige producten en het kunnen aanleveren van bewijslast dat zijn product en productiemethode veilig is voor consument (en medewerkers). Dus als tomatenleverancier moet je bij gebruik van UV of een andere techniek kunnen onderbouwen dat de tomaten veilig voor de volksgezondheid zijn.

Er zijn in de EU wel een aantal regelgevingen die mogelijk van toepassing zijn op het gebruik van UV en die we daarom vermelden. Een daarvan is de regelgeving met betrekking tot 'Novel Foods'. Deze is opgesteld voor in de EU "nieuwe" (sinds 1997) voedingsmiddelen en hun productieprocessen, die mogelijk een substantiële invloed kunnen hebben op o.a. structuur van het product, voedingswaarde, metabolisme, veiligheid voor consumenten. Hiervoor moet een aanvraag gedaan worden om officieel toegelaten te worden als "Novel Food". Er zijn recent een aantal UV-behandelde producten opgenomen op de lijst (melk, brood, champignons en gisten)^{7,8}. Hier wordt de UV-behandeling toegepast om vitamine D gehalten in de producten te verhogen.

Een andere mogelijk belangrijke regelgeving is die van doorstraling van voedsel. (Turtoi, 2018) beschrijft dat in de EU het gebruik van UV- licht gezien wordt als "bestraling" en daarom aan bepaalde voorwaarden moet voldoen om toelating te overwegen. Er wordt echter door deze onderzoeker geen goede referentie naar een bron genoemd. Wij hebben de bewering niet duidelijk terug kunnen vinden in de EU regelgeving. Als dit wel zo is, dan moet er om straling te willen gebruiken een technische behoefte zijn, het mag geen gezondheidsrisico's met zich meenemen, het moet voordeel hebben voor consumenten, en het moet geen vervanging zijn van al bestaande hygiënemaatregelen of goede productieprocessen. Bovendien moet bestraald voedsel gelabeld zijn.

De NVWA is de instantie in Nederland waar je als producent het best kan aankloppen als je verdere vragen hierover hebt.

Technische en economische haalbaarheid

Bij bewezen werking worden de kosten voor de behandeling grotendeels bepaald door hoe makkelijk voldoende lampen in te bouwen zijn in de sorteerlijn, het energieverbruik (ook over de tijd). Daarnaast wordt in diverse rapporten aangegeven dat het toepassen van het UV-licht in het donker het meest effectief zou zijn ((Turtoi, 2018) omdat fotoreactivatie dan voorkomen wordt. Dit zou om een andere technische inpassing vragen, die meer impact heeft op ruimte/logistiek tijdens verwerking. Belangrijk is ook om te bepalen of tijd een beperkende factor is om voldoende volume te kunnen behandelen binnen korte tijd, met de gewenste effectiviteit. Verder zijn er, afhankelijk van hoe het systeem gebouwd wordt, veiligheidsmaatregelen voor personeel nodig.

9.2.5 Conclusie & aanbevelingen UV

Onderzoek heeft uitgewezen dat UV-C een duidelijke anti-microbiële werking heeft, maar dat dit wel voor elk organisme en applicatie een andere dosis vraagt. Aangezien kroonschimmel bij tomaat meerdere soorten schimmels kunnen zijn (met verschillende hoeveelheden pigmenten en typen celwanden), zal de optimale dosis bestaan uit een range die beperkt wordt door de dosis waar de tomaat schade ondervindt.

⁷ https://ec.europa.eu/food/safety/novel_food_en (bezocht op 30/10/2019)

⁸ <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R2470&from=EN> (bezocht op 30/10/2019)

Concreet onderzoek naar effecten op kroonschimmel bij tomaat zijn niet gepubliceerd, meeste resultaten beschrijven reductie van infecties tijdens bewaring van tomaten zonder kroon. De verwachting is dat er een aantal factoren is die directe inactivatie/doding van schimmel middels UV-C bij tomatenkronen belemmeren:

- Het licht zal niet alle kanten van de kroon bereiken. Schimmeldelen aan de "schaduwzijde" van de kroon zullen niet bereikt worden.
- Schimmeldelen die al het weefsel in zijn gegroeid zullen niet bereikt worden.
- De dosis om sporen te inactiveren/doden is relatief hoog, waardoor schade aan de tomaat een risico vormt.

Mogelijk dat een geïnduceerde weerstand van de tomaat tegen groei van schimmels door het licht, een effectievere behandeling is. Hier zijn wel wat positieve resultaten op tomaat van gepubliceerd, met lagere doses UV-C. Echter dit is onder afwijkende omstandigheden onderzocht, gericht op bewaarrot van groener geoogste tomaten, zonder kronen.

Het kan de moeite waard zijn hier verder onderzoek naar te doen, echter voor kroonschimmel opnieuw een uitdaging vanwege de verschillende type schimmels die de kroon kunnen infecteren en waarvan aanwezigheid in de kas varieert.

Voor succesvolle inpassing in de praktijk zal er ook aandacht besteed moeten worden aan de werkbaarheid van de benodigde aanpassingen aan een tomatensorteerlijn (logistiek, veiligheid werknemers etc.). Er zijn wel commerciële aanbieders die ervaring hebben met het technisch inbouwen in sorteerlijnen. De vraag of de na-oogst fase de meest effectieve en economische toepassing is om kroonschimmel te bestrijden, of dat dit toch beter tijdens de teelt uitgevoerd wordt, is ook nog niet uitgekristalliseerd. Onderzoek in Hoogstraten geeft hier mogelijk meer inzicht in de komende jaren.

9.3 Ozon

9.3.1 Werking

Ozon (O_3) is een sterk oxiderende stof die in gasvorm of in water kan worden toegepast. De desinfecterende werking berust op een reeks reacties waarbij zeer reactieve vrije radicalen en reactieve intermediairs ontstaan die reageren met, onder andere, de membranen van de micro-organismen. De effectiviteit hangt af van het materiaal dat behandeld moet worden, specifieke eigenschappen van de micro-organismen en condities zoals temperatuur, luchtvochtigheid, pH en aanwezigheid van eventuele andere stoffen zoals (zuren, zepen, suikers) (review: (Carletti et al., 2013).

Ozon is een instabiel molecuul en valt uiteen in zuurstof en water, afhankelijk van met name temperatuur. Dit gaat sneller in water dan in lucht (Miller et al., 2013). Ozon kan dus niet bewaard worden en moet ter plaatse gegenereerd worden. De afbraak van ozon laat geen residu achter (Tzortzakakis, 2016).

9.3.2 Resultaten beschreven in literatuur

In Miller et al. (2013) wordt een uitgebreid overzicht van zo'n 15 pagina's gegeven van vele onderzoeken naar het gebruik van verschillende behandelingen met ozon bij verse groenten en fruit en sappen en de effecten op de kwaliteit en effectiviteit tegen bacteriën, schimmels en gisten. Uit dit overzicht blijkt dat er in de afgelopen jaren ook uitgebreid onderzoek gedaan is aan tomaat. Er wordt melding gemaakt van reductie van bacterie- en schimmelpopulaties zoals *Botrytis*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*, *Escherichia coli* en *Mucor piriformis* op tomaat na inoculatie. Het effect van ozon op besmetting die vanuit de teelt op het product aanwezig is, is onduidelijk.

In geen van de studies is specifiek gekeken naar het effect van ozon op kroonschimmel bij tomaten. Al stelt Suslow (2004) wel dat bij ozonconcentraties voor effectieve ziektebestrijding,

fytoxiciteit is waargenomen bij onder andere tomaat, in de vorm van verdroging en verbruining van de kroon en de steel.

Recent hebben Wang et al. (2019) onderzoek gepubliceerd naar het effect van ozonbehandeling op de kwaliteit van cherrytomaten. De auteurs concluderen dat behandeling van cherrytomaten met gasvormig ozon (3.43 en 6.85 ppm gedurende 4 uur) in concentraties die Salmonella populaties reduceren, een achteruitgang van de kwaliteit van de tomaten oplevert. De behandelingen hadden een negatief effect op het uiterlijk en er was sprake van de ontwikkeling van een 'off-odour'. Verder was er sprake van verlies van stevigheid en een verlaging van het lycopene en vitamine C gehalte na de ozonbehandeling. Daarbij was het effect van ozon op aanwezige schimmels en gisten niet eenduidig.

Er zijn verschillende berichten over de invloed van de ozonbehandeling op kwaliteitsaspecten van de tomaat. Mogelijk worden tegenstrijdigheden veroorzaakt door de grote verschillen in concentraties en blootstellingstijden aan ozon tussen de onderzoeken. Ook het instabiele karakter van ozon maakt het lastiger om behandelingen met elkaar te vergelijken.

Naast de antimicrobiële werking van ozon is ook de afbraak van ethyleen een bekend verschijnsel. En bij producten die beter niet blootgesteld kunnen worden aan ethyleen, is het gebruik van ozon nuttig, aannemende dat de concentraties niet schadelijk zijn voor dat product. Er zijn ozongenerators die de sporen inactiveren en ethyleen scrubben in de luchtstroom door het apparaat, met als voordeel dat de ozonconcentratie in de ruimte laag blijft.

9.3.3 Toepassing in praktijk

Regelgeving

In 1997 werd ozon de GRAS status verleend, Generally Recognized as Safe. Ozon kan sindsdien worden gebruikt als een antimicrobieel additief voor alle soorten voedsel in de Verenigde Staten (FDA (2001) (Rice and Graham (2001))). Het gebruik ervan in de voedselverwerking is goedgekeurd in veel landen waaronder de Verenigde Staten, Japan, Australië, Frankrijk en Canada, maar niet zwart op wit in Nederland (zie paragraaf regelgeving bij UV) . Groot voordeel van desinfectie van voedingsmiddelen met ozon is dat er na behandeling geen residuen zijn. De toepassing wordt daarom ook meer beschouwd als een proces dan als een chemisch supplement (Oner and Demirci, 2016).

Veiligheid en effectiviteit

Mensen kunnen ozon ruiken vanaf 0.01 tot 0.04 ppm en het is irriterend voor ogen en keel vanaf 1 ppm (Reddy et al., 2017). Ozon is schadelijk voor mensen en bijzonder corrosief voor apparatuur bij een langdurige blootstelling aan meer dan 4 ppm (mg/L of µl/L). De toxiciteit van ozon wordt veroorzaakt door het ontstaan van de reactieve zuurstofverbindingen (Tzortakis, 2016).

De Occupational Safety and Health Administration (OSHA) in de VS heeft de volgende grenswaarden voor blootstelling aan ozon vastgelegd (Rice and Graham, 2001):

- PEL = Permissible Exposure Limit = 0.1 ppm tijd gewogen gemiddelde over 8 uur,
- STEL = Short Term Exposure Limit = 0.3 ppm, niet meer dan 15 minuten blootstelling en niet meer dan 3 keer per dag.

De MAC (= maximaal aanvaardbare concentratie) waarde voor normale blootstelling in Nederland (8 uur per dag, 5 dagen per week) is 0.06 ppm⁹. De korte termijn maximale blootstellingsconcentratie is 0.3 ppm bij een blootstelling tot aan 15 minuten¹⁰.

Van concentraties, die gedurende lange perioden zonder irritatie kunnen worden ingeademd, kan niet worden verwacht dat zij doeltreffende sanitaire werking hebben op groente- en fruit oppervlakken of in opslagruimten. De toepassing van ozon in concentraties in de lucht die effectief de sporen van pathogenen doodt, overschrijdt de MAC van 0.06 ppm en vereist daarom maatregelen ter bescherming van werknemers.

⁹ https://www.lenntech.nl/ozon_data.htm#ixzz6B5QjGkcG

¹⁰ https://www.lenntech.nl/ozon_data.htm#ixzz6B5QjGkcG

Smilanick et al. (1999) beschrijven in een review het gebruik van ozon in lucht van bewaarfaciliteiten. Er worden in de literatuur zowel voorbeelden genoemd van het profijt als wel het gebrek aan profijt van het gebruik van ozon in de lucht van groente en fruit bewaarplaatsen.

Voor tomatomaat zou een 'in-package' behandeling met ozon praktisch kunnen zijn. Een voorbeeld van zo'n behandeling is het Anacail systeem¹¹. Dit bedrijf claimt dat een concentratie van 500 ppm ozon in de verpakking genereerd kan worden in 1 seconde. Na 10 minuten is de ozon in de verpakking geheel gedegeneerd en kan de verpakking veilig worden geopend. Het voordeel hiervan is dat er op een veilige manier tijdelijk een hoge concentratie gecreëerd kan worden dat de schimmel en sporen in de verpakking kan afdoden en mogelijk niet of beperkt fytotoxisch is. Er zal met een gasdichte of mogelijk een Modified Atmosphere verpakking gewerkt moeten worden om de ozon in de verpakking te houden. Karton is niet of minder geschikt bij het gebruik van ozon (hoeveelheid aanwezige organische stof beïnvloedt effectiviteit). Een voordeel van in-package ozon toepassing kan wel zijn dat de groene delen van de tomaat beter tegen uitdroging beschermd zullen zijn. Risico is dat bij te geringe werking van het ozon juist schimmelmoei bevorderende condities gecreëerd worden door de stilstaande vochtige lucht in de verpakking.

Experimentele resultaten op tomaten zijn nog beperkt. Voordat dit of een ander systeem toegepast kan worden, is uitgebreider onderzoek nodig naar het effect van de ozonbehandeling op de tomaten, het kroontje en de steel, met dosis-respons-curves. Onderzoeksvaariabelen zijn onder andere cultivar, soort teelt, fase in het groeiseizoen, verschillende groeistadia van schimmels. Ook moet er aandacht besteed worden aan het realiseren van de gewenste doses in de praktijk: hoe om te gaan met verschillende type verpakkingen, hoeveelheden organisch materiaal etc. Belangrijk is om ook de invloed op de sensorische kenmerken van de tomaat te onderzoeken en op gezondheidbevorderende inhoudsstoffen als lycopene en vitamine C (Wang et al., 2019). Uitvoering van dergelijk onderzoek vraagt o.a. het betrouwbaar kunnen meten van verloop van ozonconcentraties. Dit moet in een beschermde atmosfeer met goede apparatuur uitgevoerd worden (Persoonlijk commentaar Jan Verschoor, WUR, 2019).

Het economische en praktische plaatje van een dergelijk systeem zal sterk afhangen van de specifieke aanbieder. Het kunnen inbouwen in verpakkingsmachines, ruimte, capaciteit etc. zijn allemaal van invloed. Naast de investeringskosten voor aanschaf en inbouw moet rekening gehouden worden met een licentiebedrag per verpakking (Anacail).

9.3.4 Conclusie & aanbevelingen ozon

Het gebruik van ozon als middel tegen kroonschimmel op tomaten biedt mogelijkheden. Een gerichte toepassing van ozon in een verpakking lijkt voor deze toepassing potentieel het meest effectief en meest veilig. Echter er is meer onderzoek voor nodig om tot geschikte doses te komen voor verschillende tomaten en kroonschimmel infecties. Mogelijk verergeren de schimmelproblemen als de techniek niet goed toegepast wordt, terwijl de tomaten dan in een gesloten verpakking zitten. Ook moet er aandacht besteed worden hoe de optimale dosis (duur/concentratie) goed en betrouwbaar gerealiseerd kan worden in verschillende verpakkingen.

¹¹ <https://www.anacail.com/> (visited 22/11/2019)

10 Conclusies, discussie & aanbevelingen

10.1 Beperking groei kroonschimmel

Er zijn verschillende experimenten uitgevoerd om meer grip te krijgen op de conditie van tomatenkronen en de uitgroei van kroonschimmel in de na-oogstfase. Onderstaande tabel vat resultaten samen van experiment 1-4 betreffende de effecten van de verschillende verpakkingsparameters op kroonschimmel.

Tabel 8: Effecten verpakkingsparameters op uitgroei schimmel

	Exp. 1:	Exp. 2:	Exp. 3:	Exp. 4:
Positie in krat	Onderlaag > bovenlaag	Onderlaag > bovenlaag	Onderlaag > bovenlaag Midden > buitenkant	Onderlaag > bovenlaag bij flowpack Onderlaag = bovenlaag bij topseal verpakkingen
Materiaalkeuze schaal	(N.v.t.: gelinkt aan herkomst)	Niet aan te tonen (lage uitgroei)	Geen verschil tussen kartontypen Kunststof > karton (Klein verschil)	Kunststof flowpack onderlaag > topseal dicht > topseal open Kunststof flowpack bovenlaag = topseal dicht > topseal open
Folietype en perforatie	(N.v.t.: gelinkt aan herkomst)	Niet aan te tonen (lage uitgroei)	N.v.t.	N.v.t.
Design schaal (afmetingen en perforatie schaal)	(N.v.t.: gelinkt aan herkomst)	n.v.t.	Kunststof flowpack (dicht, hogere verpakkingsdichtheid) > kartonnen schaal (lagere verpakkingsdichtheid). (Klein verschil)	Topseal dicht > Topseal open (perforatie zijkant schaal) Topseal verpakking vergroot uniformiteit tussen verpakkingen i.v.m. flowpack
Moment van verpakken na oogst	N.v.t.	2 dagen later > direct verpakken	N.v.t.	N.v.t.

De belangrijkste conclusies die we uit deze resultaten kunnen trekken zijn:

- **Kroonschimmelgroei wordt voornamelijk gestimuleerd in verpakkingen in de onderlaag van een krat.**
Hoe zwaar of licht de infectiedruk ook is, de onderlaag geeft steeds een hogere besmettingsgraad dan de bovenlaag. Alle herkomsten en rassen tonen dit effect.
- **Materieelkeuze van de schalen heeft een beperkt tot geen aantoonbaar effect op schimmelgroei in de verpakking.**
- In experiment 3 en 4 hadden de tomaten in de kunststofschaal gemiddeld meer schimmelgroei dan in de kartonnen verpakkingen. In experiment 3 was het verschil in schimmelgroei echter gering tussen de kunststofschaal en kartonnen schalen met verschillende vochtopname- en afgifte eigenschappen. Er werd bovendien geen verschil gemeten tussen verschillende kartontypen.
- **Het design van de schaal heeft invloed op schimmelgroei.**
In exp. 4 is duidelijk aangetoond dat de topsealverpakkingen met perforatie aan de zijkant significant minder schimmelgroei heeft dan zonder deze perforatie. En dit effect is zelfs in een palletopstelling aantoonbaar. Daarnaast zorgen de opstaande randen voor ruimte tussen boven- en onderlaag van de verpakkingen in het krat, wat de versterking van problemen in de

onderlaag voorkomt, zoals bij flowpacks gezien wordt. Het design van de schaal heeft overigens invloed op de verpakkingsdichtheid en daardoor mogelijk effect op de schimmel.

- **Het 2 dagen uitstellen van het verpakken van tomaten leidde in de experimenten tot een verhoogde schimmelgroei in plaats van een verwachte lagere groei.**

Uit de literatuurscan blijkt dat het gebruik van UV-C en ozon als methode om schimmelgroei te voorkomen/beperken kansen biedt, maar ook diverse uitdagingen. De juiste doseringen om effectief kroonschimmelgroei te beperken zonder schadelijke effecten voor de tomaat zijn nog niet bekend. Daarnaast zijn er op het gebied van regelgeving, veiligheid en technisch/economische onderbouwing de nodige aandachtspunten.

10.2 Beperken vochtverlies

Effecten op gewichtsverlies van het product waren in de meeste experimenten tegengesteld aan de effecten op kroonschimmel. Factoren als positie in krat (bovenlaag>onderlaag), perforatie in folie (macroperforatie>laserperforatie), schaaltype (karton>kunststof) als ook partijenmerken (herkomst/ras/wondvlakken) en moment van verpakken, hadden invloed op het vochtverlies van het product. Het gebruik van topsealverpakkingen in onder- en bovenlaag in een krat zorgde dat het vochtverlies van trossen gelijk was in zowel boven- als onderlaag, in tegenstelling tot het gebruik van de flowpacks. De aanwezigheid van perforatie aan de zijkant van de verpakking zorgde voor meer vochtverlies.

10.3 Voorspellen van gevoelige partijen

De basishypothese in het project is dat de kwaliteit van de groene delen van de tomaat een bepalende factor is voor het ontstaan van kroonschimmel en het uitdrogen van groene delen. Het idee was om dit te kunnen meten na de oogst, waardoor beter in te schatten is per partij (of zelfs per tros) welke maatregelen genomen moeten worden om kwaliteitsproblemen op dit vlak te voorkomen.

De zwaarte van kroonschimmelbesmettingen worden in de praktijk als wisselend ervaren en dit bleek ook zo te zijn bij de diverse experimenten (zie Tabel 9). Er was variatie tussen experimenten, rassen en herkomsten. Enerzijds was er variatie in het percentage geïnfecteerde kroonslippen en anderzijds in de ernst van de aantasting.

Tabel 9: Typering gemiddelde infectiegraad per experiment (% geïnfecteerde kroonslippen), na aantal dagen bij 100% RV en 18 of 20°C

Ras	Aantal herkomsten	Omschrijving infectiegraad
Experiment 1 (April)		
Brioso	4 (3 onbelicht, 1 belicht)	Hoog en variabel
Rivolo	5 (3 locaties, 3 onbelicht, 2 belicht)	Hoog en variabel
Experiment 2 (September)		
Strabena	1	Laag
Rivolo	1	Laag
Experiment 3 (Mei)		
Strabena	1	Hoog
Rivolo	1	Hoog, maar zeer lage uitgroei
Experiment 4 (Augustus)		
Rivolo	1	Hoog
Experiment Hyperspectraal 1 (December)		
Brioso	6 (5 onbelicht, 1 belicht)	Hoog (op een enkele herkomst na)
Experiment Hyperspectraal 2 (Oktober)		
Brioso	7 (6 onbelicht, 1 belicht)	Hoog en variabel, maar zeer lage uitgroei

Om meer grip te krijgen op deze variatie zijn meerdere potentiële methoden/indicatoren onderzocht op het voorspellende karakter voor de gevoeligheid van een partij voor kroonschimmel. De volgende conclusies over deze mogelijke indicatoren kunnen getrokken worden uit de resultaten van de experimenten:

- **Snelle stimulering schimmelgroei door hoge luchtvochtigheid en temperatuur**

Door tomaten in een omgeving met hoge RV en temperatuur te leggen kan schimmelgroei gestimuleerd worden om een beeld te krijgen hoe gevoelig een partij is.

Binnen een aantal dagen krijgt men op deze manier een beeld van de heftigheid van de schimmelgroei. Belangrijkste nadeel van deze methode is dat de uitkomst pas na een aantal dagen bekend is zodat praktische toepassing niet haalbaar is.

- **Negatief verband tussen gewichtsverlies en kroonschimmel**

Vochtverlieseigenschappen van een tros/partij gebruiken als indicator voor schimmelgroei lijkt op basis van de resultaten in de experimenten niet kansrijk.

Factoren die vochtverlies beperken zijn meestal stimulerend voor schimmelgroei. Er is sprake van een negatief verband. Er is echter geen sterke correlatie gevonden tussen vochtverlies van een tros in een verpakking en de mate van schimmelgroei in de verpakking later in de keten, waardoor vochtverlies geen voorspellende waarde heeft.

- **Troskenmerken**

Troskenmerken zoals het drooggewicht van de stengel en het aantal wondvlakken blijken een correlatie te vertonen met het vochtverlies van trossen, maar niet met schimmelgroei.

Het is niet uitgesloten of dit een ras-effect of partij-effect is.

- **Opnames met een hyperspectraalcamera**

Op basis van het eerste experiment met opnames van tomatenkronen met een hyperspectraalcamera is een model ontwikkeld dat een correlatie toont tussen een kroonslip na oogst (zonder kroonschimmel) en de geobserveerde mate van infectie van de slip na een aantal dagen bij vochtige omstandigheden (– Pearson 0.75 en R^2 van 0.57).

Dit is een eerste indicatie dat analyse van hyperspectrale beelden een kansrijke methode is voor voorspelling van gevoelige partijen. Het resultaat geeft nog geen inzicht of dit op basis van een verschil in vatbaarheid is, of hoeveelheid aanwezige sporen of een combinatie van beide. De uitkomsten van een versimpelde studie op basis van data uit een tweede experiment tonen aan dat de correlatie niet op basis van simpele modelleermethoden gevonden kan worden. Sterke, complexe modelleertechnieken, zoals in het eerste experiment ontwikkeld zijn noodzakelijk. De data uit het tweede experiment zal daarom verder geanalyseerd worden met die methoden.

10.4 Aanbevelingen voor de praktijk en ideeën voor vervolgonderzoek

Aanbeveling voor verpakken ter beperking van uitgroei van kroonschimmel, na de oogst:

- ✓ Verpakken niet uitstellen
- ✓ Creëer luchtbeweging/ruimte tussen tomaten: beperking schimmel en uniformiteit
 - ✓ voldoende gaten, niet afgedekt of opgesloten
 - ✓ mogelijke oplossing dubbellaagse krat: topsealverpakking
- ✓ Kartonnen schaal net zo goed bruikbaar als plastic. Het type karton heeft geen invloed op de schimmelgroei.

Algemeen advies voor beperking van uitdroging groene delen (al is grens voor acceptabel vochtverlies van de groene delen niet bekend):

- ✓ Verpakken
- ✓ Verpakken niet uitstellen na de oogst
- ✓ Topsealverpakking bevordert uniformiteit tussen lagen in krat
- ✓ Beperk wondvlakken

De resultaten in dit project tonen aan dat met keuze voor de verpakkingsmethode een hele grote slag geslagen kan worden door te zorgen voor voldoende ruimte/luchtbeweging tussen de tomaten. Mocht het probleem dan nog niet voldoende onder controle zijn, en is er nog steeds sprake van partijen met kroonschimmelproblemen of juist te veel uitdroging van groene delen, dan is het nuttig om de volgende onderwerpen verder op te pakken.

- **Wat is de bijdrage van verzwakking van kronen (na oogst) op uitgroei van schimmels?**
 - Waarom leidt het uitstellen van verpakken tot meer uitgroei van schimmel? Komt dit door langere blootstelling aan sporen, verzwakking van de kronen door uitdroging, of zijn de microklimaatcondities in een krat juist direct stimulerend voor de schimmel, of vindt er andere beschadiging plaats (druk van andere tomaten)?
- **Methode met analyse van hyperspectrale opnamen voor partij-indicatoren verder ontwikkelen**
 - Model verbeteren, selectie bepaalde golflengte, snelheid, economische aspecten, verschillende rassen etc.
 - Beter begrijpen welke processignalen in de kroon het model oppikt (schade, vocht, sporen, etc.)
- **Verdere optimalisatie verpakkingen**
 - Relatie verpakkingsdichtheid en schimmelgroei
 - Verduurzaming verpakkingen en bepaling eventuele effecten op schimmelgroei en vochtverlies product.
 - Meer inzicht in rol van het microklimaat en design van de verpakking. Bijv. meer inzicht in de kritische "dikte" van de grenslaag, of ook kijken of ophoping van metabolieten zoals ethyleen een rol kan spelen?
- **Partij-informatie uit teelt koppelen aan na-oogstmeting/beoordeling voor risico inschatting partij.**
 - Uitwisseling gegevens over partij: gewasgezondheid, sterkte trossen, ziektedruk, sporensamples kas, etc.
 - Ontwikkeling objectieve maat 'kwaliteit van kronen' in de kas.
 - Verbetering bepaling sporendruk op verschillende locaties in kas
- **Toepassing van UV-C/Ozon (of eventuele andere technieken zoals een korte hittebehandeling)**
 - Effectiviteit en dosering, economische en technische haalbaarheid etc.
- **Bepaling acceptatiegraad uitdroging groene delen**
 - Een duidelijke schaal wanneer uitdroging effect heeft op het aankoopgedrag van een consument is er niet. Op dit moment is dit ook van ondergeschikt belang aan kroonschimmel. Dit kan veranderen als men te veel doorslaat naar het nemen van "uitdrogende" maatregelen tegen kroonschimmel.

Literatuur

- Carletti L, Botondi R, Moschetti R, Stella E, Monarca D, Cecchini M, Massantini R** (2013) Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food, Agriculture & Environment* **11**: 585-589
- Charles MTrs, Mercier J, Makhlouf J, Arul J** (2008) Physiological basis of UV-C-induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit :I. Role of pre- and post-challenge accumulation of the phytoalexin-rishitin. *Postharvest Biology and Technology* **47**: 10-20
- Dix NJ, Webster J** (1995) *Fungal Ecology*. Chapman & Hall, London
- FDA** (2001) Federal Register. **66**: 33829-34082
- Ferro DN, Southwick EE** (1984) MICROCLIMATES OF SMALL ARTHROPODS - ESTIMATING HUMIDITY WITHIN THE LEAF BOUNDARY-LAYER. *Environmental Entomology* **13**: 926-929
- Hofland-Zijlstra J, Slooten Mv, Bohne S, Kok L** (2009) Beheersing stengelaantasting door *Botrytis* in tomaat met UV-C gewasbescherming. Rapport 240. *In*. Wageningen UR Glastuinbouw Bleiswijk
- Janse J, Boerrigter HAM** (2007) Kroonschimmel bij tomaat: consultancyonderzoek. *In* Wageningen UR Glastuinbouw, AFSG Quality in chains,
- Lacey J** (1989) PRE-HARVEST AND POST-HARVEST ECOLOGY OF FUNGI CAUSING SPOILAGE OF FOODS AND OTHER STORED PRODUCTS. *Journal of Applied Bacteriology* **67**: S11-S25
- Lamers J, Rozen Kv** (2009) De mogelijkheden van UV-C straling voor de bestrijding van ziekten en plagen in de akkerbouw: een literatuurstudie. PPO nr. 3250096400-1. *In*. Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. AGV, Wageningen
- Lammertyn J, Marquenie D, Nicolai B, De Ketelaere B, Molenberghs G** (2004) Generalized linear mixed model for multicategorical responses: the effect of UV treatment on strawberry sepal quality. *Acta Horticulturae*
- Liu J, Stevens C, Khan VA, Lu JY, Wilson CL, Adeyeye O, Kabwe MK, Pusey PL, Chalutz E, Sultana T, Droby S** (1993) APPLICATION OF ULTRAVIOLET-C LIGHT ON STORAGE ROTS AND RIPENING OF TOMATOES. *Journal of Food Protection* **56**: 868-872
- López Díaz TM, González CJ, Moreno B, Otero A** (2002) Effect of temperature, water activity, pH and some antimicrobials on the growth of *Penicillium olsonii* isolated from the surface of Spanish fermented meat sausage. *Food Microbiology* **19**: 1-7
- Mercier J, Baka M, Reddy B, Corcuff R, Arul J** (2001) Shortwave ultraviolet irradiation for control of decay caused by *Botrytis cinerea* in bell pepper: Induced resistance and germicidal effects. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **126**: 128-133
- Miller FA, Silva CL, Brandão TR** (2013) A review on ozone-based treatments for fruit and vegetables preservation. *Food Engineering Reviews* **5**: 77-106
- Obande MA, Shama G** (2011) The use of biosimetry to measure the UV-C dose delivered to a sphere, and implications for the commercial treatment of fruit. *Journal of Food Engineering* **104**: 1-5
- Obande MA, Tucker GA, Shama G** (2011) Effect of preharvest UV-C treatment of tomatoes (*Solanum lycopersicon* Mill.) on ripening and pathogen resistance. *Postharvest Biology and Technology* **62**: 188-192
- Oner M, Demirci A** (2016) Ozone for food decontamination: Theory and applications. *In* Handbook of Hygiene Control in the Food Industry. Elsevier, pp 491-501
- Os EAv, Hofland-Zijlstra JD, Hamelink R, Leeuwen Gv** (2010) Bestrijding van *Botrytis* in gerbera tijdens de teelt en in de na-oogstfase. Deelproject 4 van Parapluplan Gerbera: kasklimaat, energie en botrytis bij gerbera; oorzaak, verband en maatregelen. Rapport GTB-1057_JV. *In*. Wageningen UR Glastuinbouw, Wageningen
- Pereira da Silva FI, Keijsers ERP** (2013) Tomaten verpakken in tomatenbladverpakkingen. *In* WUFB Research, ed, Vol Report nr. 1400, Wageningen
- Pinheiro J, Alegria C, Abreu M, Gonçalves EM, Silva CLM** (2015) Use of UV-C postharvest treatment for extending fresh whole tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) shelf-life. *Journal of Food Science and Technology* **52**: 5066-5074
- Punja ZK, Rodriguez G, Tirajoh A, Formby S** (2016) Role of fruit surface mycoflora, wounding and storage conditions on post-harvest disease development on greenhouse tomatoes. *Canadian Journal of Plant Pathology* **38**: 448-459
- Reddy SVR, Rao DS, Sharma R** (2017) Ozone Treatments. *In* Novel Postharvest Treatments of Fresh Produce. CRC Press, pp 217-240
- Rice RG, Graham DM** (2001) US FDA regulatory approval of ozone as an antimicrobial agent-what is allowed and what needs to be understood. *Ozone News* **29**: 22-31

-
- Smilanick JL, Crisosto C, Mlikota F** (1999) Postharvest use of ozone on fresh fruit. *Perishables Handling Quarterly* **99**: 10-14
- Stevens C, Khan VA, Wilson CL, Lu JY, Chalutz E, Droby S** (2005) The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay. *Crop Protection* **24**: 756-759
- Suslow T** (2004) Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops. UCANR Publications
- Turtoi M** (2018) Ultraviolet Light Treatments. *In* S Pareek, ed, *Novel Postharvest Treatments of Fresh Produce*. CRC Press
- Tzortzakis N** (2016) Ozone: A Powerful Tool for the Fresh Produce Preservation. *In* *Postharvest Management Approaches for Maintaining Quality of Fresh Produce*. Springer, pp 175-207
- Vicente AR, Pineda C, Lemoine L, Civello PM, Martinez GA, Chaves AR** (2005) UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biology and Technology* **35**: 69-78
- Wang L, Fan X, Sokorai K, Sites J** (2019) Quality deterioration of grape tomato fruit during storage after treatments with gaseous ozone at conditions that significantly reduced populations of *Salmonella* on stem scar and smooth surface. *Food Control* **103**: 9-20

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



Wageningen Food & Biobased Research
Bornse Weilanden 9
6708 WG Wageningen
www.wur.nl/wfbr
info.wfbr@wur.nl

Rapport 2019

Vertrouwelijk

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.

