



Ontsmetten met Easy Ice Clean ("Coldblast")

"Proof of principle"

Daniël Ludeking¹, Roel Hamelink¹, Marc Willem van Gulik² en Tom Diepenhorst²
¹ Wageningen UR Glastuinbouw ² Easy Ice Clean BV



Referaat

In dit onderzoek is er gekeken naar de potentie en het proof of principle van de Cold Jet techniek van Easy Ice Clean in de tuinbouw. Met dit onderzoek is getracht te beantwoorden of de Cold Jet techniek potentie heeft als alternatieve ontsmettingstechniek voor chemische middelen. De techniek die in dit onderzoek een rol speelde is een techniek die gebruik maakt van droogijs (bevroren CO₂). Droogijspelleten worden onder grote druk op een te reinigen oppervlak gestraald. Als gevolg van de koude shock en de kracht van de straal kunnen oppervlakken worden gereinigd en misschien wel worden ontsmet. Deze techniek kan een milieuvriendelijke oplossing zijn voor het reinigen van oppervlakken zoals tafels, vloeren, materialen en kassen bij uiteenlopende glastuinbouwteelten. Op basis van het uitgevoerde experiment kan worden geconcludeerd dat de droogijsstraal techniek een onvoldoende ontsmettend effect heeft om een alternatief te zijn voor chemische ontsmettingsmiddelen. De techniek heeft potentie in de glastuinbouw bij het schoonmaken van ernstig vervuilde oppervlakken en complexe apparatuur en installaties. Ook installaties en apparatuur die gevoelig zijn voor water (corrosie) kunnen met deze methode wel grondig worden schoon gemaakt. Ook kan de techniek in combinatie met andere aanvullende technieken wel leiden tot een schoon én ontsmet oppervlak.

Abstract

This research evaluates the potential and proof of principle of the use of the Cold Jet Technique of Easy Ice Clean in horticulture. The question has been answered if the Cold Blast technique is a good alternative for chemical disinfection of greenhouse surfaces. The technique is based on a dry Ice (frozen CO₂). The impact of the frozen CO₂ pellets together with cold shock applied under high pressure, might lead to cleaning and possibly to disinfection of treated surfaces. This method is in potential an environmental friendly alternative for chemical disinfection methods. Based on the results of this research we can conclude that the Cold blast technique of Easy Ice Clean is not sufficient for in disinfection of greenhouse surfaces. The technique is potentially sufficient in cleaning surfaces in greenhouses and for example complex installations or installations sensitive to for example moisture. The technique might potentially be interesting in combination with other disinfecting techniques to come to a clean and disinfected surface.

© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Doel van het onderzoek	7
2	Droogijstraaltechniek van Cold Jet	9
	2.1 Achtergronden bij de Cold Jet techniek	9
	2.2 Dosering	10
	2.3 Effecten op het milieu, mens en te behandelen oppervlakken	10
3	Het effect van droogijstralen op de plantpathogene schimmel <i>Pythium aphanidermatum</i>	11
	3.1 <i>Pythium aphanidermatum</i>	11
	3.1.1 Ziektebeeld	11
	3.1.2 Levenscyclus	11
	3.1.3 Oösporen van <i>Pythium aphanidermatum</i> in massakweek	12
	3.2 Uitvoering en resultaten van het experiment	13
	3.2.1 Direct effect van droogijis op oösporen van <i>Pythium aphanidermatum</i>	13
	3.2.1.1 Microscopisch	13
	3.2.1.2 Vitaliteitstoets	13
	3.2.2 Effect van de Easy Ice Clean B.V. behandeling op oösporen van <i>Pythium Aphanidermatum</i>	14
	3.2.2.1 Materiaal en methode	14
	3.2.2.2 Cold Jet dosering	15
	3.2.2.3 Cold Jet apparatuur en nozzle	15
	3.2.2.4 Resultaten	16
	3.2.2.5 Conclusie	17
4	Discussie	19
5	Literatuur	21

Samenvatting

Hygiëne, teeltwisseling en ziektedrukverlaging zijn een voortdurende zorg voor zowel glasgroentetelers als siertelers. Het middelenpakket loopt steeds verder terug, de publieke opinie wenst een duurzaam en residu-vrij product en er speelt in elke teelt wel een hardnekkig teeltgebonden probleem waarvoor alle toegelaten middelen en methodes uit de kast worden gehaald. In dit onderzoek is er gekeken naar de potentie en het proof of principle van de Cold Jet techniek van Easy Ice Clean in de tuinbouw. Met dit onderzoek is getracht te beantwoorden of de Cold Jet techniek potentie heeft als alternatieve ontsmettingstechniek voor chemische middelen.

De onderzochte methode is een techniek waarmee met behulp van droogijs of bevroren CO₂. Droogijspellets worden daarbij onder grote druk op een te reinigen oppervlak gestraald. Als gevolg van de koude shock en de kracht van de straal kunnen oppervlakken worden gereinigd en misschien wel worden ontsmet. Deze techniek kan een milieuvriendelijke oplossing zijn voor het reinigen van oppervlakken zoals tafels, vloeren, materialen en kassen bij uiteenlopende glastuinbouwteelten.

Op basis van het uitgevoerde experiment kan worden geconcludeerd dat de droogijsstraaltechniek een onvoldoende ontsmettend effect heeft om een alternatief te zijn voor chemische ontsmettingsmiddelen. De oösporen van de *Pythium aphanidermatum* overleven in experimenten waar de effecten van de thermobehandeling zijn vastgesteld als in het experiment waar zowel de thermoshock als de impact een rol spelen. We zien dat de behandelde oppervlakken in de meeste gevallen gereinigd worden, maar dat oösporen de behandeling kunnen overleven en op “vangplaten” kunnen worden aangetroffen. De oösporen worden als het ware van het behandelde oppervlak verplaatst naar andere plaatsen. Dit maakt de techniek ongeschikt om toe te passen in kassen met als doel het ontsmetten van kasopstanden, (buisrail-) installaties, goten, paden en vloeren.

De techniek heeft zeker potentie in de glastuinbouw bij het schoonmaken van ernstig vervuilde oppervlakken en complexe apparatuur en installaties. Het behoort zelfs tot de mogelijkheden om transporteerbare installaties en apparatuur met droogijs af te stralen buiten de teeltruimte, waar afgestraalde ziektekiemen geen schade aan kunnen richten. Installaties en apparatuur die gevoelig zijn voor water of gevoelig zijn voor corrosie kunnen met deze methode wel grondig worden schoon gemaakt.

1 Inleiding

Hygiëne, teeltwisseling en ziektedrukverlaging zijn een voortdurende zorg voor zowel glasgroentetelers als siertelers. Het middelenpakket loopt steeds verder terug, de publieke opinie wenst een duurzaam en residu-vrij product en er speelt in elke teelt wel een hardnekkig teeltgebonden probleem waarvoor alle toegelaten middelen en methodes uit de kast worden gehaald. De meeste hygiëne- en schoonmaakmaatregelen zijn gebaseerd op chemische verbindingen die voor materialen, mensen en product schadelijk kunnen zijn. Bij de teeltwisselingen van groentegewassen, maar ook bij het reinigen tussen teelten bij potplanten worden kassen, tafels en vloeren grondig gereinigd met ontsmettingsmiddelen. Deze middelen zijn vaak gebaseerd op chloorverbindingen (natriumhypochloriet), waterstofperoxide (Jet 5) of sterke zuren (Mennoclean). Elk middel heeft zijn specifieke werkingsspectrum, zijn beperkingen, zijn inwerktijden en hebben wel of geen toelating.

Het onderwerp van dit onderzoek is de techniek die 'Cold Jet' wordt genoemd, wordt geproduceerd door het Amerikaanse bedrijf Cold Jet en in Nederland aangeboden door Easy Ice Clean B.V. Het is een methode waarmee met behulp van droogijs-pellets (CO_2) wordt gereinigd. De droogijs-straaltechniek wordt ingezet in bakkerijen en andere voeding producerende of verwerkende industrie. De techniek wordt daar voornamelijk gebruikt voor het schoonmaken van bijvoorbeeld kneedhaken, transportbanden, ovens, moeilijk te reinigen oppervlakken, mallen. Daarnaast wordt de techniek ingezet tegen schimmels in vochtige ruimtes, zoals koelcellen, keukens. In de VS wordt de techniek veel gebruikt om schimmels in houten huizen, vloeren, dakbekleding en funderingen te behandelen. De techniek wordt ook ingezet voor het reinigen van monumenten: standbeelden, ornamenten, gevels, maar ook om graffiti en kauwgom te verwijderen uit het straatbeeld. De techniek wordt ook aangeboden in de tuinbouw. De techniek wordt gebruikt voor het verwijderen van algen en het reinigen van groeilampen in kassen.

De techniek is gebaseerd droogijs of bevroren CO_2 (cryogene techniek). Droogijspellets worden onder grote druk op een te reinigen oppervlak gestraald. Als gevolg van de koude shock en de kracht van de straal kunnen oppervlakken worden gereinigd en misschien wel worden ontsmet. CO_2 is een restproduct van industrie en is volop voorhanden. Deze techniek kan een milieuvriendelijke oplossing zijn voor het reinigen van oppervlakken zoals tafels, vloeren, materialen en kassen bij uiteenlopende glastuinbouwteelten.

1.1 Doel van het onderzoek

Het doel van deze proef is om vast te stellen of de Cold Jet techniek van Easy Ice Clean B.V. een alternatieve toepassing zou kunnen zijn om materialen en oppervlakken te ontdoen van ziektekiemen in plaats van desinfectie met chemische middelen. De daarbij te bereiken resultaten van het onderzoek zijn:

1. Kennis over de toepasbaarheid van de Easy Ice Clean-methode en de Cold Jet techniek als reinigingstechniek tijdens teeltwisselingen in de glastuinbouw.
2. Kennis over de ontsmettende werking van de Cold Jet techniek tegen plantpathogene schimmels.

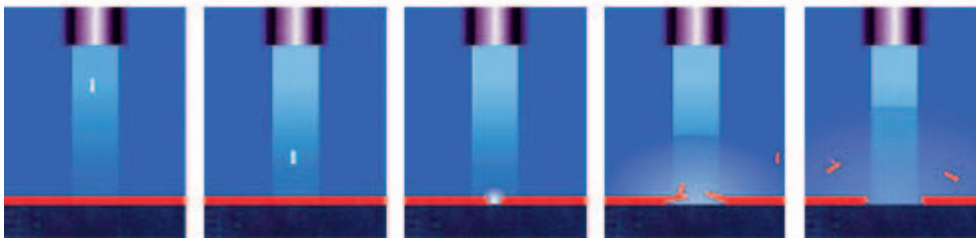
2 Droogijsstraaltechniek van Cold Jet

De methode die wordt gebruikt door Easy Ice Clean B.V. is de techniek die wordt geproduceerd en verkocht door het Amerikaanse bedrijf Cold Jet.

2.1 Achtergronden bij de Cold Jet techniek

De techniek is vergelijkbaar met zand-, zout- en plasticbeadsstralen. Het medium, in dit geval droogijsspellets, wordt geaccelereerd en gedragen door een luchtstroom tot supersonische snelheden. Echter in vergelijking met de eerder genoemde materialen zand, zout en plasticbeads is droogijs vele malen zachter en heeft het als bijkomend effect dat naast kinetische energie ook thermische energie wordt gebruikt om het te reinigen oppervlak te behandelen.

De combinatie van kinetische energie en thermische energie zorgt voor een impact op het te behandelen oppervlak, waarbij de droogijsspellet direct verdampt tot CO₂ in de gasfase. Hierbij wordt het ingenomen volume in enkele millisecondes zo'n 800 keer vergroot, wat resulteert in een mini-explosie op het punt waar de droogijsspellet "inslaat". De deeltjes hebben op moment van impact een temperatuur van -79 °C, dat betekent dat er ook een koude shock van het behandelde oppervlak plaatsvindt. De geraakte deeltjes (organisch of anorganisch) krijgen daarmee in zeer korte tijd enorme krachten van eerst krimpen en daarna uitzetten te verduren. De combinatie van beide krachten en het daarbij behorende effect moet zorgen voor de reiniging en ontsmetting van oppervlakken.



Figuur 1. Schematische weergave van droogijsstralen (www.coldblast.nl).

De methode lijkt een schone en duurzame methode. De CO₂ die wordt gebruikt is een restproduct van de industrie uit het Rotterdams havengebied en daarnaast wordt alleen gebruikgemaakt van de kracht van het stralen en specifieke eigenschappen van het droog-ijs. Er worden geen chemische middelen toegevoegd. Het droogijs verdampt en wordt pure CO₂ in de gasfase zonder residu of emissie.

De kracht van de straal (impact), de koude-shock en de koude zelf (-79 °C) moeten het dodend effect genereren tegen de ziekteverwekkers in tuinbouwgewassen. Echter hierover is nog onvoldoende kennis beschikbaar en is dit onderzoek nader bekeken. Er is een publicatie van Millar (2004) waarin de werking van de techniek tegen humaan pathogene bacteriën *Listeria*, *Salmonella* en *E. coli* wordt beschreven. Echter deze bacteriën zijn over het algemeen makkelijk te doden en hebben geen hardnekkige (overlevings)structuren zoals bij de problemen die we in de glastuinbouw kennen met schimmels, bacteriën of virussen.

2.2 Dosering

De dosering is afhankelijk van 4 factoren:

1. Hoogte van de luchtdruk (Bar)
2. Hoeveelheid droogijs (kg/minuut)
3. Toegepaste nozzle. De nozzle is naast de luchtdruk bepalend voor de versnelling van de droogijspellets.
4. Afstand van de nozzle ten opzichte van te behandelen object.

Er is dit experiment gekozen voor vaste combinaties van luchtdruk en droogijs. Er is behandeld met één nozzle op een vaste afstand.

2.3 Effecten op het milieu, mens en te behandelen oppervlakken

Het benodigde droogijs (bevroren CO₂) is een restproduct, dat betekent dat een zogenaamde afvalstroom een tweede leven krijgt. Echter kijkende naar een 'carbon footprint' kunnen we zeggen dat deze ongunstig uitvalt. Omdat er CO₂ wordt gebruikt bij deze techniek kunnen we zeggen dat er CO₂-emissie plaatsvindt als gevolg van het toepassen van deze techniek. Dat deze CO₂ wordt geproduceerd door de industrie speelt op moment van emitteren geen rol meer. Uiteindelijk worden de emissierechten door de industrie met de CO₂ meegeleverd. De industrie verwerkt daarmee haar afval op een duurzame manier en de Cold Jet-techniek is de 'vervuiler'. De techniek zorgt er uiteindelijk er voor dat de CO₂ in het milieu terecht komt. Dit probleem speelt ook bij het toepassen van CO₂ uit de industrie in tuinbouwgewassen (OCAP). Ook daar wordt CO₂ hergebruikt, echter komen de emissierechten in principe ook voor rekening voor de tuinbouw (in dit geval van OCAP is daar een uitzonderingspositie voor gemaakt).

Bij het gebruik van de techniek worden geen andere toevoegingen of chemische middelen gebruikt. Dat betekent dat er geen residu achterblijft. De techniek is wel gevaarlijk voor de toepasser. Contact met droogijs kan als gevolg van bevroering ernstige brandwonden veroorzaken. De Cold Jet techniek wordt aangeboden als dienstverlening door Easy Ice Clean B.V. De mensen die de behandeling uitvoeren zijn specialisten en daarmee is het Arbo-aspect voor de telers afgedekt. Er wordt gewerkt op uurtarief waarbij het verbruik van CO₂ en het gebruik van de machines in zijn verdisconteerd. Volgens indicatieve opgaaf van Easy Ice Clean B.V. gaat het om een uur tarief van 300 EURO. Deze prijs geldt voor het reinigen van lampen. Dit gaat om lastig te reinigen voorwerpen. De methode wordt nog niet aangeboden in de toepassing zoals Wageningen UR Glastuinbouw die heeft onderzocht.

Van de Cold Jet techniek zijn geen slijtage of corrosieve effecten bekend. De techniek is zeer goed te sturen en wordt ook gebruikt om bronzen beelden met vergulde delen mee te reinigen, waarbij het verguldsel onaangetaast blijft. Hoogwaardige materialen zoals die in Nederlandse kassen worden toegepast, zoals glas, pvc, rubbers en aluminium zullen geen effect ondervinden van de behandeling met droogijsstralen, als dus de aanbieders.

3 **Het effect van droogijstralen op de plantpathogene schimmel *Pythium aphanidermatum***

Het doel van dit experiment is aan te kunnen tonen dat de techniek van Easy Ice Clean B.V. een dodend effect heeft op plant pathogenen. In dit experiment is gewerkt met rustsporen van de schimmel *Pythium aphanidermatum*, één van de hardnekkigste en actuele problemen in de glastuinbouw. Deze sporen van de schimmel zijn zeer persistent en geven, indien gedood, een goede indicatie over de mogelijke effecten van droogijstralen op andere plant pathogenen.

3.1 ***Pythium aphanidermatum***

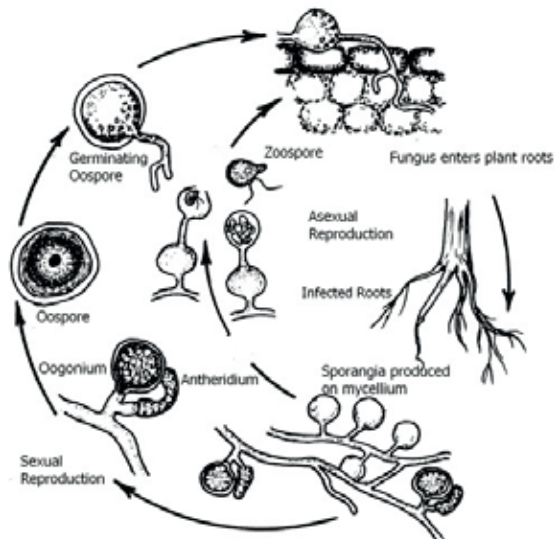
Pythium aphanidermatum is een zeer veel voorkomend plant pathogeen en behoort tot de groep van Oömyceten. Deze Oömyceten behoren niet tot de “echte schimmels” en hebben daarom een afwijkende levenswijze ten opzichte van de Ascomyceten. Er zijn veel verschillende soorten *Pythium*. *Pythium aphanidermatum* is slechts één soort. De ernst van de aantasting in een gewas hangt af van de *Pythium*-soort, de omstandigheden en het gewas. *Pythium aphanidermatum* is relatief agressief in komkommer, vooral bij hogere temperaturen en bij de teelt op steenwol. Daarentegen kan de schimmel in een chrysantenteelt ook in grond ernstige problemen veroorzaken.

3.1.1 Ziektebeeld

De aantasting van *Pythium aphanidermatum* start via een infectie van de wortels. Veelal na een beschadiging, koud gietwater of andere, voor de plant, ongunstige omstandigheden. Bij veel gewassen wordt het wortelgestel vervolgens inactief en laat de 'wortelschors' los van de kern van de wortel. Als de aantasting doorgaat, wordt het hele wortelstelsel aangetast en rot weg. De aantasting kan doortrekken naar de stengelvoet, waar dan een rotte plek optreedt. Uiteindelijk kan de plant verwelken en afsterven. Dit proces is afhankelijk van de omstandigheden en plantweerstand. In proeven met komkommer blijkt dat deze in extreme gevallen al binnen enkele dagen na de aantasting dood kan gaan. In de praktijk, bijvoorbeeld bij chrysant, blijven aangetaste planten in groei achter.

3.1.2 Levenscyclus

De verschillende *Pythium*-soorten verschillen onderling van elkaar in morfologie, pathogeniteit en epidemiologie. Iedere soort heeft zijn eigen optimale temperatuur voor groei en aantasting. *P. aphanidermatum* heeft een optimum temperatuur tussen 35 en 40 °C. *Pythium spp.* kan zwemsporen (zoösporen), rustsporen (oösporen) en schimmeldraden produceren waarmee ze de wortels van planten aantasten. De zoösporen kunnen, met behulp van een flagel of zweephaar, zwemmen. Deze sporen worden aangetrokken door wortellexudaten. Vooral signaalstoffen en wortellexudaten die worden geproduceerd als gevolg van een verwonding of een algehele slechte conditie van de wortel zorgen voor activatie van *Pythium*-sporen. Bij infectie vormen de sporen een kiembuis, waarmee ze de wortel binnendringen. Kort daarop vormen zich op aangetaste wortels sporendragers met daarop zoösporangïën, waarin zoösporen worden gevormd. Het vrijkomen en de verspreiding van zoösporen uit de zoösporangia wordt gestimuleerd door temperatuurwisselingen en veel vocht. Daarnaast ontstaan in een later stadium van de aantasting zeer persistente oösporen. Deze dikwandige rustsporen worden gevormd in de zwaar aangetaste wortels en ook in de voet van de stengel. Deze structuren kunnen jarenlang zonder waardplant in grond of in water onder ongunstige omstandigheden overleven. Rustsporen kunnen direct kiemen of zoösporangïën produceren, waaruit weer zoösporen voortkomen, die de ziektecyclus rond maken.

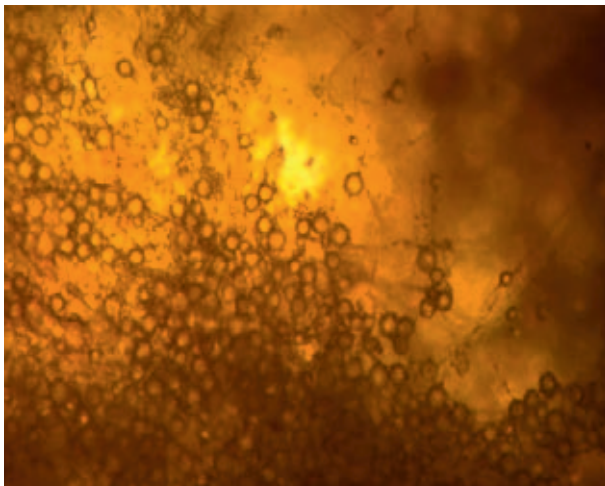


Figuur 2. Levenscyclus van *Pythium* spp. (<http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/pythium.htm>).

Figuur 3. Microscopische opname van een oösporen (1000x vergroot).

3.1.3 Oösporen van *Pythium aphanidermatum* in massakweek

De in het experiment gebruikte oösporen *Pythium aphanidermatum* zijn afkomstig uit een massakweek van Wageningen UR Glastuinbouw. Het isolaat is oorspronkelijk afkomstig uit komkommer. De massakweek gedaan op vloeibaar V8 medium. Na 3 weken op de schudmachine bij kamertemperatuur en onder donkere omstandigheden zijn enorme aantallen oösporen gevormd. Na 3 weken is het medium in de een foodprocessor gehomogeniseerd. Deze oplossing is gebruikt als inoculum bij het uitgevoerde experiment



Figuur 4. Oösporen in een kluit van schimmeldraden in een massakweek (100x vergroot).

3.2 Uitvoering en resultaten van het experiment

3.2.1 Direct effect van droogijs op oösporen van *Pythium aphanidermatum*

Om vast te kunnen stellen of er een direct effect is op de toetsmushroom *Pythium aphanidermatum* is een klein experimentje uitgevoerd voorafgaand aan het uiteindelijk voorgestelde experiment. Interessant is om te weten wat het effect is van een behandeling waarbij de oösporen van *Pythium* korte tijd worden bloot gesteld aan $-79\text{ }^{\circ}\text{C}$ en daarna weer snel opwarmen naar kamertemperatuur. Kunnen uitzetten en krimpen als gevolg van de korte bevroering met droogijs zorgen voor scheuren van celwanden van de dikwandige sporen, lysis en uiteindelijk sterfte van de sporen.

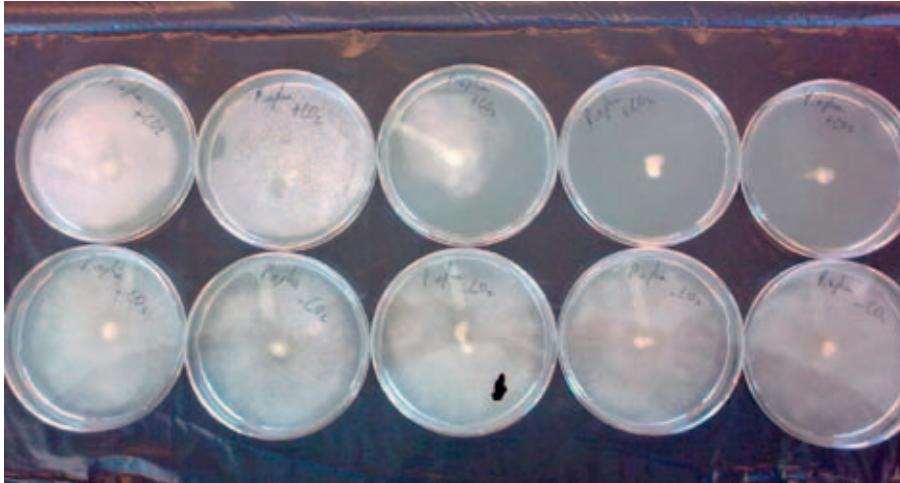
3.2.1.1 Microscopisch

Het experiment is direct onder de microscoop uitgevoerd om te kijken wat het effect is op de structuur van de oöspore. Er is een preparaat gemaakt met daarop de oösporen van *Pythium aphanidermatum*. Aan het preparaat is een kleine hoeveelheid droogijs-gruis toegevoegd. Onder de microscoop is het proces gevolgd. Er is duidelijk waarneembaar dat het op het prepraatglas aanwezige schimmelmateriaal snel bevriest. Kristallen worden gevormd en vervolgens verdwijnen deze weer na verdamping van de CO_2 . Tijdens dit proces dat een aantal keren is uitgevoerd, is er vooral gekeken naar het effect op de fysieke structuur van een oöspore. Microscopisch is er geen effect vast te stellen van de thermoshock en het uitzetten krimpen als gevolg van de korte bevroering. De celwanden blijven intact en de sporen zijn onbeschadigd na de behandeling.

3.2.1.2 Vitaliteitstoets

Ondanks het feit dat de sporen geen schade oplopen als gevolg van de bevroering (3.2.1.1) kan het zijn dat de vitaliteit van de oösporen wel achteruit gaat als gevolg van de thermoshock. Om daar een uitspraak over te kunnen doen is daarom op laboratoriumschaal een klein experiment uitgevoerd waarbij in reageerbuisjes kleine hoeveelheden (plukjes) schimmelweefsel (mycelium en oösporen) uit de massakweek zijn gedaan en behandeld zijn met droogijs. Per reageerbuisje is een pellet (droogijs in staafvorm) toegevoegd aan het schimmelweefsel. Na behandeling is het behandelde schimmelweefsel uitgeplaat op een specifiek medium voor *Pythium*. De uitgroei is gescoord als indicator voor de vitaliteit. Het experiment is uitgevoerd in 5 herhalingen en vergeleken met een onbehandelde controle.

Na 3 dagen blijft de groei in vergelijking met de onbehandelde controle achter. Er is minder groei op de petrischalen die zijn behandeld met droogijs dan op de petrischalen waar onbehandeld schimmelmateriaal op uit is geplaat. Echter 5 dagen na behandeling zijn er geen verschillen meer waarneembaar. De groei van de schimmels is geremd, maar uit dit experiment lijkt het directe effect van de temperatuurschok op het schimmelweefsel onvoldoende voor een directe doding.



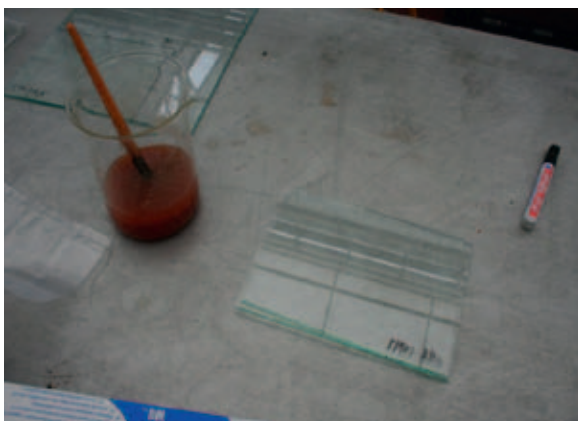
Figuur 5. Groei van *P. aphanidermatum* op petrischalen. De bovenste 5 schalen zijn met droogijs behandeld, de onderste 5 schalen niet.

3.2.2 Effect van de Easy Ice Clean B.V. behandeling op oösporen van *Pythium Aphanidermatum*

3.2.2.1 Materiaal en methode

Op 10 augustus 2011 is het experiment uitgevoerd in de bedrijfshal van Wageningen UR Glastuinbouw in Bleiswijk. Tijdens het experiment is een straalkabine gebruikt, die voor het project is aangeschaft door Wageningen UR Glastuinbouw. De benodigde apparatuur van Cold Jet is door Easy Ice Clean B.V. opgesteld. De diverse droogijsbehandelingen zijn uitgevoerd door Easy Ice Clean B.V.

Glazen platen van 10x15 cm zijn direct ter plaatse geïnoculeerd met bereide rustsporensuspensie van *Pythium aphanidermatum*. De glasplaatjes zijn voor inoculatie met de oösporensuspensie gemarkeerd. De glasplaatjes zijn niet hergebruikt en komen direct van de glashandel. Met een zacht kwastje is het hele oppervlak van het glasplaatje grondig ingesmeerd. Vervolgens zijn de glazen plaatjes aan de achterzijde van een straal cabine bevestigd. Om te controleren of de oösporen tijdens de behandeling misschien van de glazen plaat af worden geblazen zijn steeds bij elke behandeling op 4 plaatsen (boven, onder, links en rechts) in de kast petrischaaltjes met voedingsbodem voor de schimmel bevestigd.



Figuur 6. inoculatie van de glasplaten met oösporensuspensie.



Figuur 7. Straalkabine, met geïnoculeerde glasplaat tegen de achterwand en vangplaten op de vier wanden van de cabine.

Deze geïnoculeerde (met sporensuspensie bestreken) glazen platen zijn met dubbelzijdig plakband aan de achterwand van een straalcabine bevestigd. De glazen plaatjes zijn in diverse doseringen (combinatie van luchtdruk en droogijs) behandeld met de Cold Jet techniek. Ter controle zijn ook behandelingen met lucht zonder toevoeging van droogijs uitgevoerd. De behandelingen met Cold Jet techniek zijn in drievoud uitgevoerd, de behandelingen met lucht in tweevoud. Per herhaling is een aparte glasplaat gebruikt. Behandelde glasplaten zijn direct in een passend plastic zakje gestopt. Petrischalen voor het afvangen van eventueel afgeblazen sporen zijn na de behandeling direct gesloten. Na elke behandeling is de spuitcabine gereinigd, door deze goed uit te spuiten.

De glazen platen zijn na behandeling met een steriel wattenschijfje afgenomen, waarna het wattenschijfje over een voedingsbodem is uitgestreken. Dit ter controle op eventuele achtergebleven oösporen. Na uitvoering van de behandeling zijn alle petrischalen met voedingsbodem geïncubeerd bij 22°C.

Om vast te stellen of oösporen van *Pythium aphanidermatum* gedurende inoculatie en bewaring vitaal blijven zijn 2 glazen platen ingesmeerd met de oösporen suspensie en na de behandelingen uitgeplaat volgens bovenstaande methode.

3.2.2.2 Cold Jet dosering

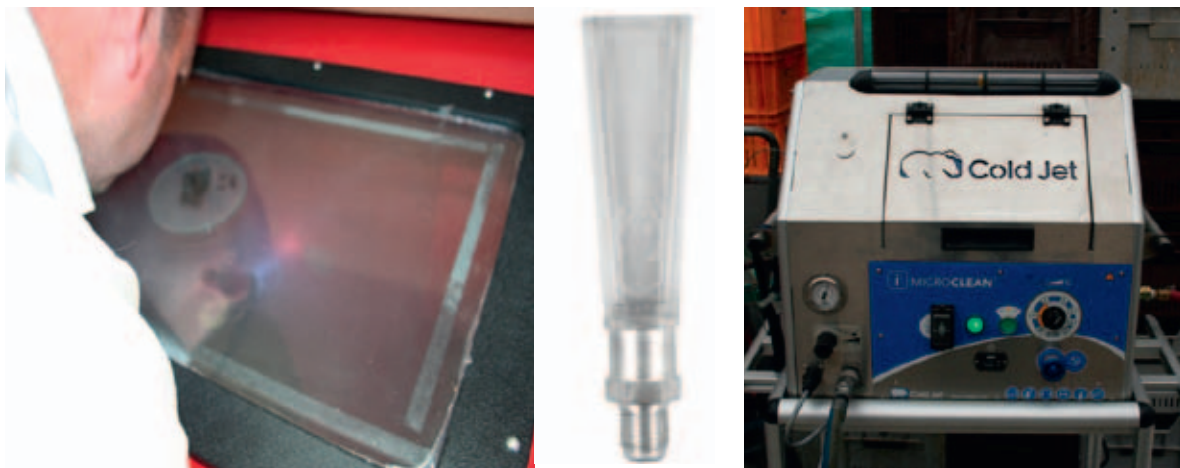
Er is gekozen voor een vaste verhouding tussen druk en aantal kg droogijs/min.

Cold Jet (Bar)		Lucht	
Luchtdruk (Bar)	Droogijs (Kg/min)	Luchtdruk (Bar)	Droogijs (Kg/min)
2	1	2	0
3.1	2	3.1	0
4	3	4	0
6	4	6.2	0

Tabel 1. Toegepaste druk en droogijs dosering.

3.2.2.3 Cold Jet apparatuur en nozzle

Bij het experiment is een luchtcompressor gebruikt van het type Kaesser M13EA. Deze compressor leverde de luchtdruk voor de Cold Jet I3 MicroClean. Er is gewerkt met een Blast swath nozzle MC88.



Figuur 8. Toepassing van droogijsstralen op geïnoculeerde glasplaat.

Figuur 9. Gebruikte Nozzle MC88 (www.coldjet.com).

Figuur 10. Gebruikte Cold Jet I3MicroClean installatie.

3.2.2.4 Resultaten

Behandeling	Druk (Bar)	Herhaling	Vangplaat links	Vangplaat rechts	Vangplaat boven	Vangplaat onder	Behandelde glasplaat
Cold Jet	2	1	-	+	-	+	-
Cold Jet	2	2	-	-	+	+	-
Cold Jet	2	3	-	-	-	+	-
Cold Jet	3.1	1	-	-	-	+	-
Cold Jet	3.1	2	-	-	-	+	-
Cold Jet	3.1	3	+	+	+	+	+
Cold Jet	4	1	+	-	-	+	-
Cold Jet	4	2	-	-	+	+	+
Cold Jet	4	3	-	-	-	+	-
Cold Jet	6.2	1	-	-	-	-	-
Cold Jet	6.2	2	-	+	+	+	+
Cold Jet	6.2	3	+	-	-	-	-
lucht	2	1				-	+
lucht	2	2				-	+
lucht	3.1	1				-	-
lucht	3.1	2				+	+
lucht	4	1				-	+
lucht	4	2				+	-
lucht	6.2	1				-	+
lucht	6.2	2				+	+
controle vers	nvt	1					+
controle ingedroogd	nvt	1					+

Tabel 2. Uitgroei van *Pythium aphanidermatum* bij de diverse behandelingen met Cold Jet en lucht. (+ *Pythium* aanwezig op de petrischaal, - *Pythium* niet aanwezig op de petrischaal, nvt niet van toepassing).

In Tabel 2. zijn de resultaten af te lezen van de waarnemingen aan de petrischalen met voedingsbodem. Er is per schaal waargenomen en vastgesteld of er wel of geen uitgroei van *Pythium aphanidermatum* is. Uit de tabel blijkt dat bij een behandeling met Easy Ice Clean B.V. in vrijwel alle gevallen overlevende oösporen van *Pythium aphanidermatum* op de vangplaten die bevestigd waren aan de wanden van de straalcabine zijn aangetroffen. Zeker de vangplaat op de bodem van de straalcabine, die gepositioneerd was onder de te behandelen glasplaat is in bijna alle gevallen groei van *Pythium aphanidermatum* terug gevonden. Alleen bij een behandeling met 6 bar was dit bij 2 van de 3 herhalingen niet het geval. Dit betekent dat de oösporen van de *P. aphanidermatum* tijdens de behandeling met de Cold Jet techniek van de glazen plaat af worden geblazen en elders weer terecht zijn gekomen. Bij alle behandelingen zijn in enkele gevallen ook vitale oösporen van *P. aphanidermatum* aangetroffen op de vangplaten die links, rechts of bovenin de spuitcabine waren bevestigd. Bij de behandeling met een dosering 2 bar en 1 kg droogijs per minuut is op de geïnoculeerde glazen plaat geen *P. aphanidermatum* meer terug gevonden.

Tijdens de behandelingen met alleen lucht is alleen op de bodem van de straalcabine een petrischaal bevestigd. Bij een aantal behandelingen is hier ook daadwerkelijk groei van *P. aphanidermatum* aangetroffen. Op de meeste van de glazen platen kon na behandeling met lucht kon *Pythium aphanidermatum* worden aangetoond.

3.2.2.5 Conclusie

Een behandeling van Easy Ice Clean B.V. met de Cold Jet techniek bij een luchtdruk van 2 bar en met toevoeging van 1 kg droogijs/minuut is voldoende om ervoor te zorgen dat op de behandelde glasplaten geen overlevende oösporen van *Pythium aphanidermatum* meer zijn aangetroffen. Bij de hogere doseringen van met een luchtdruk 3, 4 en 6 bar en respectievelijk 2, 3 en 4 kg droogijs per minuut is in een enkel geval nog wel *Pythium aphanidermatum* op de glasplaat worden aangetoond. Verder is bij alle behandelingen *P. aphanidermatum* wel teruggevonden op de vangplaat onder de glasplaat. Hieruit mag worden geconcludeerd dat de oösporen van *P. aphanidermatum* van de glasplaat af zijn geblazen, maar onvoldoende zijn gedood als gevolg van de behandeling. Van een ontsmettende werking is daardoor dan ook geen sprake. Bij een behandeling met lucht zonder toevoeging van droogijs voldeed geen van de toegepaste doseringen (2, 3, 4 en 6 bar) om de glazen plaat vrij van *P. aphanidermatum* te krijgen. Alleen bij een dosering van 2 bar is geen *P. aphanidermatum* van de glazen plaat afgeblazen en op de vangplaten teruggevonden.

4 Discussie

Op basis van het uitgevoerde experiment kan worden geconcludeerd dat de droogijstraal techniek een onvoldoende ontsmettend effect heeft om een alternatief te zijn voor chemische ontsmettingsmiddelen. De oösporen van de schimmel zijn hardnekkig en dienen in de biologie van de schimmel om voor de schimmel ongunstige perioden te overbruggen. Dit betekent ook dat de structuur ook is uitgerust om veel te kunnen verdragen. Uit zowel een experiment waar de effecten van de thermobehandeling zijn vastgesteld als in het experiment waar zowel de thermoshock als de impact een rol spelen zien we dat de behandelde oppervlakken in de meeste gevallen gereinigd worden, maar dat oösporen de behandeling kunnen overleven en op de “vangplaten” kunnen worden aangetroffen. De oösporen worden als het ware van het behandelde oppervlak verplaatst naar andere plaatsen. Dit maakt de techniek ongeschikt om toe te passen in kassen met als doel het ontsmetten van kasopstanden, (buisrail-)installaties goten, paden en vloeren.

Met deze conclusie kan de techniek niet “zomaar” van tafel worden geschoven. De techniek heeft zeker potentie bij het schoonmaken van ernstig vervuilde oppervlakken en complexe apparatuur en installaties. Het behoort zelfs tot de mogelijkheden om transporteerbare installaties en apparatuur met droogijds af te stralen buiten de teeltruimte, waar afgestraalde ziektekiemen geen schade aan kunnen richten. Installaties en apparatuur die gevoelig zijn voor water of gevoelig zijn voor corrosie kunnen met deze methode mogelijk wel grondig worden schoon gemaakt.

Daarnaast bestaat de mogelijkheid om de Cold Jet techniek te combineren met andere vormen van (fysische) ontsmetting zoals bijvoorbeeld UV-c straling. De combinatie van technieken kan zorgen voor het gewenste en mogelijk een synergetisch effect.

In dit experiment is er uitsluitend gewerkt met het plant pathogeen *Pythium aphanidermatum*, daarom kan er geen conclusie worden getrokken over de ontsmettende werking tegen andere organismen. Echter op basis van biologie en ervaring kunnen conclusies wel worden geëxtrapoleerd: Andere schimmels met vergelijkbare levenswijze met mogelijk nog hardnekkigere sporen, zoals *Phytophthora* en *Fusarium*, zullen naar verwachting ook onvoldoende worden afgedood. Extreem hardnekkige plant pathogene virussen zoals Komkommertbontvirus (CGMMV) en Pepinomozaïekvirus (PepMV) zullen niet worden gedood als gevolg van een behandeling. Het is ten eerste gebruikelijk om virussen bij -80 °C te bewaren en de structuren zijn zeer klein en ongevoelig voor ontsmettingsmiddelen. Echter om de hier gestelde aannames te bevestigen zal de techniek ook op deze en andere organismen moeten worden getest.

5 Literatuur

Millar, I. 2004.

FINAL TECHNICAL REPORT: COLD JET - A NOVEL TECHNIQUE FOR CLEANING AND DECONTAMINATING FOOD PROCESSING AREAS, EQUIPMENT, CARCASSES AND FOODS. http://foodbase.org.uk/admintools/reportdocuments/179-1-313_B02006_ColdJet_REVISED_Final_Technical_Report_1t.pdf

<http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/pythium.htm>

<http://www.coldjet.com>

