

*Notitie***Aan**

Projectteam SMO-project Aanpak endotoxinen bij de bron - 'een schone start'
(060.02640)

Van

Jacques Kastelein en Suzanne Spaan

Kopie aan

Frugi Venta, NAO, Plantum

Onderwerp

Interne notitie - Ontwikkeling endotoxinen gedurende productieproces en
aanknopingspunten voor mitigatie

Utrechtseweg 48

3704 HE Zeist

Postbus 360

3700 AJ Zeist

www.tno.nl

T +31 88 866 60 00

F +31 88 866 87 28

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

E-mail**E-mail**

jacques.kastelein@tno.nl

Doorkiesnummer

+31 88 866 18 77

Doorkiesfax

+31 30 694 44 66

Inhoudsopgave

1	Achtergrond project	1
1.1	Karakterisering van de bron van endotoxinen	3
2	Methode	3
3	Introductie micro-organismen, bacteriën en endotoxinen	3
3.1	Organisch stof en micro-organismen	3
3.2	Bacteriën	5
3.3	Endotoxinen	6
4	Verwerkingsprocessen en aanknopingspunten voor groei	8
4.1	Aardappelverwerkende industrie	8
4.2	Verwerking landbouwzaden (graszaden) en tuinzaden	10
4.3	Sorteren en verpakken van uien	11
5	Conclusies en aanbevelingen	12

1 Achtergrond project

Tijdens de verwerking van de producten in bedrijven in de agrofood-sectoren worden werknemers op grote schaal blootgesteld aan 'organisch stof'. Dit organisch stof, bestaand uit materiaal van plantaardige, dierlijke en microbiologische oorsprong. Inademing van organisch stof, ook in waterlevels, kan leiden tot verschillende problemen met de gezondheid die worden

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

2/15

veroorzaakt door specifieke deeltjes in dit stof, zoals endotoxinen. Endotoxinen zijn onderdeel van de celwand van Gram-negatieve bacteriën en komen vrij als de cel sterft. Inademing van endotoxinen kan leiden tot gezondheidsklachten, met name aan de luchtwegen. Deze gezondheidsklachten resulteren in productieverlaging, afname van de motivatie, ziekteverzuim, en in ernstige gevallen arbeidsongeschiktheid. Een significante groep werknemers, naar schatting 350.000 in Nederland, wordt (potentieel) blootgesteld¹. Klachten aan de luchtwegen zijn dan ook een belangrijke oorzaak van ziekteverzuim in de agrofood-sectoren. Dit bedreigt niet alleen de gezondheid van de medewerkers, maar ook het voortbestaan van de bedrijven. De blootstelling lijkt momenteel onbeheersbaar ondanks het feit dat bedrijven in de agrofood-sectoren al veel maatregelen hebben genomen. In veel gevallen is de grote variatie en de oorzaak van de hoge blootstellingsniveaus onverklaarbaar. Veel bedrijven aarzelen daarom om verder in maatregelen te investeren, aangezien het effect, en daarmee ook de kosteneffectiviteit, te onzeker is. Hier komt nog bij dat in de meeste bedrijven op zéér veel punten in het proces stof, en dus mogelijk endotoxinen, vrijkomt, en dus het risico op blootstelling ontstaat. Aanpak van alle emissiepunten lijkt daarom alleen mogelijk tegen hoge investeringen.

Zowel binnen als buiten Nederland is veel aandacht geweest voor blootstelling aan endotoxinen op de werkplek. Dit onderzoek heeft zich voornamelijk gericht op het in kaart brengen van de persoonlijke blootstelling van werknemers, zonder hierbij te kijken naar de bron van deze blootstelling. Echter, de sectoren zelf zijn vooral op zoek zijn naar antwoord op de vraag *‘waar en hoe het probleem precies ontstaat’*. En daarbij willen ze graag weten of deze kennis aanknopingspunten biedt voor effectieve maatregelen om zo vroeg mogelijk in het productieproces de bron aan te pakken.

Het SMO-project ‘Aanpak van endotoxinen bij de bron - een schone start’ richt zich op het product zoals dat bij verwerkende bedrijven binnenkomt. Het eerste doel is het ontwikkelen van een methodologie voor het karakteriseren van de bron van endotoxinen in of op het plantaardige product. Het tweede doel is het identificeren van kansrijke *mitigatietechnieken*. Dit zijn maatregelen die de endotoxinen verwijderen, inkapselen of onschadelijk maken vóórdat het product verder het verwerkingsproces ingaat. Belangrijk is dat deze mitigatietechnieken (de kwaliteit van) het product niet beïnvloeden. Op deze manier wordt de hoeveelheid aanwezige endotoxinen op het product verlaagd met behoud van

¹ Spaan S, Terwoert J, Marquart H, Meijster T. Evaluatie van sectoren op basis van werk-gerelateerde gezondheidseffecten door stoffenblootstelling. TNO-rapport V9408, TNO, Zeist, 2011.

productkwaliteit. Het kostenaspect wordt ook meegenomen, de kosten moeten acceptabel zijn wil een techniek kansrijk zijn.

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

3/15

1.1 Karakterisering van de bron van endotoxinen

Binnen het project 'Aanpak endotoxinen bij de bron' wordt in werkpakket (WP) 2 meer inzicht gegenereerd in met name de *locatie* van de endotoxinen in of op plantaardige producten, en de mate waarin deze in of op het product 'verankerd' zijn. Hierbij zijn de volgende stappen onderscheiden:

WP 2.1 *Ontwikkelen protocol voor monsternamen en analyse*

Beschreven in TNO rapport TNO 2014 R10379, Protocol voor het verzamelen van (product)monsters, opslag, extractie en analyse op endotoxinen (Final versie 2, 30 juni 2014).

WP2.2 *Onderzoek aan de bron.*

Beschreven in TNO-rapport 2104 R10455 Endotoxinen-niveaus op productmonsters van aardappelen, uien en zaden in het kader van kansrijke mitigatietechnieken (Final versie 2, 30 juni 2014).

WP 2.3 *Ontwikkeling gehalte endotoxinen op de producten, binnen het bedrijf*

Beschreven in deze notitie. Onderzocht wordt de invloed van processen als drogen, koelen, wassen, opslag, en factoren als temperatuur, vochtgehalte, en de aanwezigheid van schillen en stof op de grond, op de vermeerdering van micro-organismen en het ontstaan van endotoxinen.

2 Methode

Voor het in kaart brengen van beschikbare relevante informatie over micro-organismen, bacteriën en endotoxinen die vrijkomen tijdens de verwerking van agrarische producten is een literatuurstudie uitgevoerd. Verschillende (internet)bronnen zijn geraadpleegd. Verder is ook gebruik gemaakt van de procesbeschrijvingen die eerder binnen dit project voor de drie deelnemende sectoren zijn opgesteld.

3 Introductie micro-organismen, bacteriën en endotoxinen

3.1 Organisch stof en micro-organismen

Organisch stof, een algemene term die wordt gebruikt om te verwijzen naar plantaardig, dierlijk en microbiologisch materiaal, bestaat uit een complex mengsel van infectieuze en niet-infectieuze agentia. Blootstelling aan organisch stof is geassocieerd met verschillende gezondheidseffecten die worden veroorzaakt door specifieke agentia in het stof. Voorbeelden van deze agentia zijn endotoxinen afkomstig van bacteriën, (1→3)-β-D-glucanen afkomstig van

schimmels, eiwitten afkomstig uit dierlijke urine, aflatoxinen en bacteriële enzymen.

Micro-organismen zijn microscopisch kleine levende wezens zoals bacteriën, schimmels, virussen en eencellige dieren. Ze zijn onmisbaar voor het leven maar kunnen ook ziekten of plagen veroorzaken. Bacteriën zijn ééncellige micro-organismen die een gemiddelde diameter hebben van 1 micrometer. Bacteriecellen kunnen verschillende vormen hebben: bolvormig, rechte of gebogen staafjes, of spiraalvormig. Sommige bacteriën veroorzaken ziekten bij mensen of dieren (pathogeen). Anderen zijn onschuldig (niet-pathogeen) en leven in de mens, waar ze veel natuurlijke processen van het lichaam ondersteunen, zoals bijvoorbeeld de spijsvertering in de darm. Schimmels zijn organismen die leven van organische stoffen, en variëren van zeer complexe vormen (zoals paddenstoelen) tot ééncellige vormen (zoals gist). De meeste schimmels zijn onschuldig, maar sommige soorten die in of aan ons lichaam groeien kunnen infecties veroorzaken. Deze infecties lopen uiteen van huid- of haarinfecties tot zeer ernstige longinfecties.

De snelheid waarmee micro-organismen zich vermeerderen wordt bepaald door de delingstijd (de tijd die verloopt tussen twee delingen van het organisme, ook wel generatietijd of verdubbelingstijd genoemd). Deze is sterk afhankelijk van de aard van het micro-organisme. Elk type micro-organisme heeft zijn eigen delingstijd, welke alleen onder optimale groeiomstandigheden wordt gerealiseerd. Er zijn bacteriesoorten die zich onder gunstige omstandigheden elke 20 minuten kunnen delen. Bacteriën kunnen verschillende eisen stellen aan de omgeving om er te kunnen groeien. Voldoet de omgeving hier niet aan, dan zullen bepaalde bacteriën zich niet vestigen of niet groeien. Omgekeerd kunnen gunstige omgevingsfactoren de groei en vermenigvuldiging weer stimuleren. Deze omgevingsfactoren zijn aanwezigheid van water, voedingsstoffen, temperatuur, tijd, licht, zuurstof en zuurgraad (pH). Water, voedingsstoffen en temperatuur zijn in de meeste gevallen de belangrijkste groeifactoren, en van deze drie is de aanwezigheid van water de meest essentiële factor. Optimale groeiomstandigheden variëren echter sterk per micro-organisme.^{2,3}

De beste temperatuur voor de groei van micro-organismen ligt tussen de 7°C en de 65°C. Zo hebben de meeste pathogene bacteriën hun optimum tussen 35 en

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

4/15

² Houba R, Maas J, Siebert H, Wielaard P. Dossier Biologische agentia. 30 maart 2009 (beschikbaar via www.arbokennisnet.nl).

³ Spaan S, Schinkel J, Wouters IM, Tjoe Nij E, Preller L, Heederik D, Tieleman E. Werkplekatmosfeer – Richtlijnen voor de beoordeling van de blootstelling aan endotoxinen in de lucht. TNO-rapport P6741, TNO Kwaliteit van Leven, Zeist, 2008.

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

5/15

40°C.⁴ Door te koelen en vriezen ($\leq 7^{\circ}\text{C}$) kan de groei van micro-organismen worden vertraagd of gestopt. Door verhitting ($\geq 65^{\circ}\text{C}$) wordt een groot deel van de micro-organismen gedood. Verder is voor de groei van micro-organismen water nodig. Veel water geeft een goede groei, terwijl weinig water de groei remt. De Aw-waarde (ook wel wateractiviteit genoemd; een maat voor de hoeveelheid vrij water aanwezig in een product) is een belangrijke maat voor de groei van micro-organismen. Hoe lager de Aw-waarde, hoe moeilijker het wordt voor het micro-organismen om zich te ontwikkelen.^{5,6}

In principe loopt iedere werknemer die in contact komt met organisch materiaal (plantaardig, dierlijk, menselijk en/of microbiologisch) het risico om blootgesteld te worden aan biologische agentia en/of infectieziekten. In combinatie met de aanwezigheid van de juiste groeifactoren en verspreidingsmogelijkheden kan dit resulteren in een hoge blootstelling aan micro-organismen, met de daarbij behorende (gezondheids-)risico's.^{2,3}

3.2 Bacteriën

Bacteriën zijn eencellige organismen. Bacteriën zijn zo klein dat zij alleen onder een microscoop zichtbaar zijn. Een eigenschap van bacteriën is dat zij zich snel kunnen vermeerderen. Ze zitten overal maar ze zijn met het blote oog niet zichtbaar, de gemiddelde grootte van een bacterie is één micrometer, 1/1000 millimeter. De meeste bacteriën zijn onschuldig of zijn zelfs nuttig voor mens en dier, maar sommigen veroorzaken gezondheidseffecten.^{7,8}

Bacteriën groeien en delen. Hoe beter de omstandigheden voor de bacterie zijn, hoe sneller ze groeien en delen. Iedere deling betekent dat er uit één bacterie twee nieuwe ontstaan, die zich ieder ook weer in tweeën delen, etc. Bij gunstige omstandigheden kan bijvoorbeeld een E. colibacterie zich in 20 minuten delen. Dat wil zeggen dat één bacterie, over 20 minuten twee bacteriën zijn, over 40 minuten $2 \times 2 = 4$ en over een uur $4 \times 2 = 8$. Na 24 uur zijn dat er ruim een triljard.

Bacteriën zijn bijna overal te vinden, en de meeste bacteriën zijn niet schadelijk voor de gezondheid. Er zijn zeer veel verschillende bacteriesoorten, maar voor de meeste bacteriën zijn de omstandigheden optimaal als de omgeving vochtig en warm is, er een bepaalde zuurgraad (pH) heerst, er voldoende zuurstof is en er

⁴ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Bacteri%C3%ABn>

⁵ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Aw-waarde>

⁶ Microbiologie van Voedingsmiddelen – methoden, principes en criteria. Noordervliet Media B.V., 2013 (ISBN 978-90-72072-77-1)

⁷ <http://www.voedingscentrum.nl/encyclopedie/bacterien.aspx>

⁸ <http://biochemica.chemischgoedje.nl/artikel.php?artikelid=32>

voedingsstoffen aanwezig zijn, zoals bijvoorbeeld suiker. Bij deze gunstige omstandigheden kan de bacterie zich het snelst vermenigvuldigen.⁹

De *vorm* van de bacteriën wordt gebruikt voor de systematische indeling, zonder dat daardoor tegelijk ook relaties in verwantschap worden aangegeven. Op basis van vorm en ligging kan men al veel bacteriën van elkaar onderscheiden.¹⁰ Zo onderscheidt men kokken (bolvormig), staven (grote variatie in lengte, doorsnede en vorm), en spiraalvormigen (kurkentrekkerstructuur of kommavorm). De manier waarop de cellen ten opzichte van elkaar liggen kan ook verschillen, doordat na de deling de cellen vaak op karakteristieke wijze bij elkaar blijven liggen. De celwand van bacteriën bestaat uit peptidoglycaan. Door middel van een Gram-kleuring kan zichtbaar worden gemaakt of deze laag dik of dun is.^{11,12,13} De celwand ligt naast het binnenin gelegen celmembraan. We onderscheiden Gram-positieven en Gram-negatieve bacteriën:

- Gram-positieve bacteriën hebben een dikke wand van peptidoglycaan. Gram-positieve bacteriën hebben meestal geen extra membraan aan de buitenkant van het omhulsel, maar een aantal soorten heeft wel een extra omhullend laagje.
- Gram-negatieve bacteriën hebben een dunne wand van peptidoglycaan. Deze bacteriën hebben gewoonlijk een extra membraan aan de buitenkant van het omhulsel. Gram-negatieve bacteriën zijn bijvoorbeeld aanwezig op het bladoppervlak van planten en in dierlijke uitwerpselen.

3.3 Endotoxinen

Endotoxinen zijn een integraal deel van het buitenste membraan van de celwand van Gram-negatieve bacteriën. Ze zijn opgebouwd uit eiwitten, lipiden en lipopolysacchariden (LPS), en alomtegenwoordig in het milieu. Met het oog op de verwijderbaarheid van endotoxinen en waar daarbij de nadruk op zou moeten/kunnen liggen wordt hieronder meer informatie over de eigenschappen van endotoxinen gegeven.

LPS is een amfoteer (met zuren en basen reagerend) en thermostabiel macromolecuul, dat verantwoordelijk is voor de meeste biologische eigenschappen van bacteriële endotoxinen. LPS bestaat uit een hydrofiel polysaccharidedeel en een covalent gebonden hydrofoob lipide-deel ('lipide A', een phosphoglycolipide), en wordt daardoor als ook als amfifiel (wateroplosbaar (polysacchariden) en vetminnend (lipiden)) geclassificeerd. In water aggregeren

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

6/15

⁹ http://www.rivm.nl/Onderwerpen/Z/Ziek_door_dier/Besmettingsroutes/Ons_voedsel/Over_bacteri%C3%ABn

¹⁰ http://nl.wikipedia.org/wiki/Bacterie#Onderscheid_naar_vorm

¹¹ http://nl.wikipedia.org/wiki/Bacterie#Onderscheid_naar_celwand

¹² <http://nl.wikipedia.org/wiki/Gram-kleuring>

¹³ <http://wetenschap.infonu.nl/techniek/40428-bacterien-nader-bekeken-de-gram-kleuring.html>

Datum

30 juni 2014

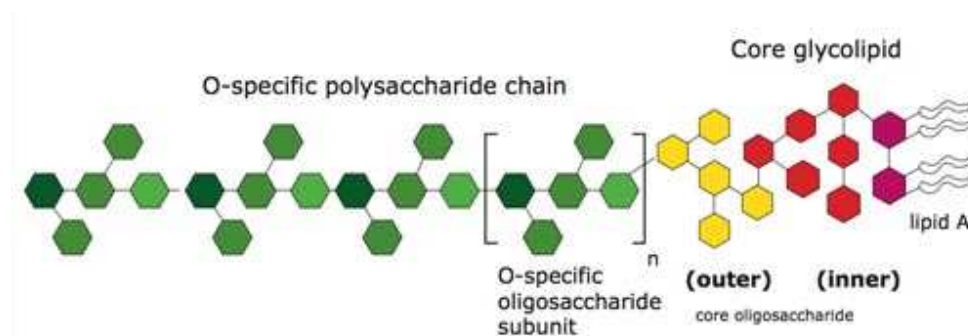
Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

7/15

de LPS-moleculen met het lipide A-deel afgeschermd binnenin de micellen, en het polaire oligo- of polysacharidedeel aan de buitenkant, wat deze moleculen wateroplosbaar maakt. Het polysacharidedeel kan worden opgedeeld in twee domeinen, de kern (suikers) en een O-specifieke zijketen. De O-specifieke zijketen vertoont de grootste diversiteit in structuur van alle LPS-onderdelen, en is opgebouwd uit een reeks van identieke polysachariden. De kern is opgedeeld in een binnenste kern, bevestigd aan lipide A, en een buitenste kern, bevestigd aan de O-specifieke polysachariden. Over het algemeen is er weinig variatie in structuur van de kern tussen bacteriesoorten. Het lipide-A deel verankert de LPS in de buitenste laag van de celwand, en vertoont de minste variatie in structuur van alle onderdelen van LPS over alle bacteriële families.^{14,15} Toxiciteit is geassocieerd met het lipide-A deel, terwijl immunogeniciteit is geassocieerd met het polysacharide-deel van de LPS-moleculen.^{16,17} In Figuur 1 wordt een schematische weergave van LPS gepresenteerd.



Figuur 1: Structuur van endotoxinen van Gram-negatieve bacteriën.¹⁸

Het 'actieve' onderdeel van endotoxinen, lipide A, is dus een onderdeel van de buitenste membraan. Endotoxinen zijn matig antigeen, thermostabiel, minder giftig en met een minder specifieke werking dan exotoxinen (eiwitten die worden geproduceerd en uitgescheiden door Gram-negatieve en Gram-positieve bacteriën).^{19,20}

¹⁴ Heine H, Rietschel ET, Ulmer AJ. *The biology of endotoxin*. Mol Biotechnol, 2001; 19 (3): 279-296

¹⁵ Raetz CR, Whitfield C. *Lipopolysaccharide endotoxins*. Annu Rev Biochem, 2002; 71: 635-700

¹⁶ *Endotoxins: Health-based recommended occupational exposure limit*. 1998, Health Council of the Netherlands: Rijswijk. p. 1-79

¹⁷ Todar K. *Bacterial Endotoxin*. Todar's online textbook of bacteriology [website], 2008. Cited 21 May 2008. Available from: <http://www.textbookofbacteriology.net/>

¹⁸ <http://www.biomin.net/en/solutions/endotoxin-risk-management/>

¹⁹ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Endotoxine>

²⁰ <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/HostParasiteInteractions/ExovsEndo.htm>

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

8/15

Endotoxinen komen vrij bij het afsterven/lysis van de bacterie.^{21,22,2} Lysis van bacteriën ontstaat bij een tekort aan voedingsstoffen, water (uitdroging) en een verandering van de zuurgraad.

Omstandigheden die het vrijkomen van stof bevorderen, bevorderen ook het vrijkomen van endotoxinen. Aanwezigheid van vocht wordt vaak geassocieerd met geringere stofbelasting, maar in geval van micro-organismen kan het juist tot groei leiden.²

In het kader van gezondheidseffecten wordt over het algemeen gekeken naar 'massa' (hoeveelheid endotoxinen per m³ lucht), o.a. voor vergelijking met de voorgestelde grenswaarde, en niet naar meer specifieke karakteristieken zoals deeltjesgrootteverdelingen. Endotoxinen verspreiden zich over het algemeen in de omgeving gebonden aan bacterieresten en stofdeeltjes of waterdeeltjes (aerosolen) (tot een totale grootte van 10 µm), en worden over het algemeen bepaald in de inhaleerbare fractie van verzamelde stof(lucht)monsters. Endotoxinen-niveaus worden uitgedrukt in 'Endotoxin Units' (EU), waarbij 10 EU ≈ 1 ng. Hoewel over de deeltjesgrootte van endotoxinen geen informatie beschikbaar is, kan men er wel vanuit gaan dat wanneer een Gram-negatieve bacterie ongeveer 1-2 µm groot is, na lysis de celwanddelen veel kleiner zullen zijn (aangenomen wordt 10 tot 100 nm).

De aanwezigheid aan endotoxine is geassocieerd met de aanwezigheid van micro-organismen, met name van Gram-negatieve bacteriën. De aanwezigheid van micro-organismen wordt door een aantal factoren bepaald. Omgevingen waarin bacteriën zich (exponentieel) kunnen vermeerderen leiden in de regel tot een sterk verhoogde blootstelling. Te denken valt aan natte processen waarbij in het proceswater voedingsmiddelen aanwezig zijn en de temperatuur groei bevordert of minimaal toelaat.

Gemeten endotoxinen-niveaus in de lucht worden regelmatig gezien als een indicatie (meer algemene maat) voor blootstelling aan bacteriën op de werkplek.

4 Verwerkingsprocessen en aanknopingspunten voor groei

4.1 Aardappelverwerkende industrie.

Aardappelen worden bij de teler na het rooien opgeslagen in bunkers/schuren. Tijdens deze opslag worden de aardappels gedroogd en geventileerd om rot te voorkomen. Vaak worden de aardappelen in verband met langdurige opslag behandeld met een kiemremmer. In de zomerperiode worden aardappelen niet

²¹ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Lyse>

²² <http://www.rps.nl/diensten/microbiologie/endotoxinen>

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

9/15

opgeslagen maar direct van het land verwerkt. De aardappelen komen van de teler binnen bij de verwerker in bulkauto's of in kisten. Afhankelijk van het type aanvoer (in kisten of als bulk) en verwerkingsproces kunnen de aardappelen gelost worden op een transportband. De aardappelen kunnen ook in de kisten eerst nog opgeslagen worden. Bij het lossen op transportbanden vinden grote stofemissies plaats. Om deze stofemissies te beperken worden de aardappelen op de transportband 'gewassen/bevochtigd' met water en daarna weer gedroogd.

Ervan uitgaande dat op de aardappelen hoge concentraties bacteriën aanwezig zijn, is de hoeveelheid endotoxinen ook hoog. Tijdens het droogproces bij de teler zullen de aanwezige bacteriën afsterven en meer endotoxinen (aanwezig in de reststof) vormen.

Bij de aardappelverwerker kunnen de restbacteriën en endotoxinen tijdens het storten op de transportband in grote getalen in de lucht terechtkomen.

Door de aardappelen op de transportband te bevochtigen dan wel te wassen met water kan de emissie van endotoxinen in de lucht worden beheerst. Echter, de aanwezigheid van vocht is een belangrijke parameter voor de mogelijke uitgroei van de bacteriën die nog aanwezig zijn op de aardappelen, evenals van de bacteriën die zich in het waswater bevinden. Het waswater wordt in veel gevallen gerecirculeerd waardoor er ophoping van bacteriën en endotoxinen ontstaat. Dit 'vuile' waswater zorgt er daarmee voor dat er een standaard vervuiling van bacteriën en endotoxinen achterblijft op de aardappelen. Belangrijk is dus dat na bevochtigen/wassen, de aardappel snel verwerkt (sorteren, gescheiden en drogen) wordt om uitgroei van bacteriën te beperken. Uitgroei van bacteriën geeft na afsterven (na drogen) weer een toename aan endotoxinen.

De temperatuur in de verwerkingsruimten is tussen de 10 en 20°C. Het verwerkingsproces is relatief kort (enkele uren) waardoor uitgroei van bacteriën bij genoemde temperatuur beperkt wordt. De verwerkingsruimten en de machines worden droog gereinigd.

(Kritische) processtappen in het gehele verwerkingsproces zijn:

- Storten van de aardappel op de transportband (i.v.m. stofemissie)
- Wassen van de aardappel (vervuiling van het waswater)
- Recirculatie van het waswater (ophoping van bacteriën en endotoxinen in het waswater)
- Storten van de aardappel op droogbaan, leeslijn, transportband naar opslag (i.v.m. stofemissie)

- Legen van de bunkers m.b.v. losbanden/transportbanden richting de inpakmachines (i.v.m. stofemissie)

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

10/15

4.2 Verwerking landbouwzaden (graszaden) en tuinzaden.

Oogsten van graszaden gebeurt door zwaddorsen, waarbij het gras enige tijd op het land blijft liggen waarna het wordt gedorst, en door middel van maaidorsen waarbij het gras na maaien direct wordt gedorst. Het oogsten en dorsen van grassen vindt plaats bij de boer op het veld.

Het vochtgehalte van het zaad na zwaddorsen is lager (ligt langer te drogen op het land) dan het vochtgehalte van het zaad na maaidorsen. Het vochtgehalte na de oogst varieert van 7 tot 30%. Bij opslag kan de temperatuur van het gedorste zaad oplopen tot wel 60°C wat de kwaliteit van het zaad niet ten goede komt (afname in kiemkracht en schimmelvorming). Belangrijk is om het zaad te ventileren om de temperatuur en het vochtgehalte (<12%) laag te houden.

Na de oogst wordt het zaad gedroogd en kan het zaad opgeslagen worden. De doorlooptijd van de zaden, met tussentijdse opslag, is gemiddeld 6-8 maanden. De temperatuur van de zaden in de 'koele' periode ligt tussen de 5 en 10°C en in de 'warme' periode tussen de 18 en 25°C. Daar de zaden 'droog' opgeslagen worden is de kans op uitgroei van de nog aanwezige bacteriën klein.

De temperatuur in de productieruimten is tussen de 10 en 20°C. De absolute vochtigheid van de zaden is <12% (>12% wordt afgekeurd). Het gaat hier over het algemeen om droge processtappen en lage productietemperaturen. Verder vindt de opslag van (tuin)zaden veelal onder geconditioneerde omstandigheden plaats, waarbij zowel het binnenkomende als het tussen- en eindproduct opgeslagen wordt bij ± 15-18°C en 30% RV. Door genoemde lage vochtigheid zal uitgroei van nog aanwezige bacteriën op de zaden niet of weinig plaatsvinden. Hierbij moet wel worden opgemerkt dat wanneer de nog aanwezige bacteriën op de zaden afsterven er endotoxinen gevormd kunnen worden.

Inname van zaden bij de verwerkende bedrijven gebeurt vaak door storten vanuit een vrachtwagen in stortputten. Tijdens dit storten ontstaan 'stofwolken' waarbij hoge concentraties aan endotoxinen zijn gemeten. Vanuit de stortput gaan de zaden via een transportband naar de verwerkingsafdeling in de fabriek, waar de zaden worden overgestort in kisten (valhoogten van 1 meter). Ook hierbij ontstaan opnieuw stofwolken. De zaden in de kisten worden gedroogd door lucht door de kisten te blazen in de drogerij. Droging vindt plaats bij ca. 38°C. Dit proces mag niet te lang duren in verband met de kwaliteit/kiemkracht van de zaden. Het verwerkingsproces is relatief kort (enkele uren) waardoor uitgroei van bacteriën wordt beperkt. Het reinigen van de werkomgeving en apparatuur

gebeurt droog door veegwagens, bezems en 'perslucht'. Er wordt over het algemeen niet nat gereinigd.

Kritische processtappen in het gehele verwerkingsproces zijn:

- Storten van de zaden in stortputten (i.v.m. stofemissie)
- Storten van de zaden in kisten (i.v.m. stofemissie)
- Drogen van de zaden in de drogerij (i.v.m. temperatuur en stofemissie; echter, aangezien de zaden na aankomst in de drogerij gedroogd worden en het verwerkingsproces bij lage temperatuur en vochtigheid plaats vindt zal verdere uitgroei van micro-organismen weinig tot niet plaats vinden)
- Schonen van de zaden (i.v.m. stofemissie)
- Mengen van de zaden (i.v.m. stofemissie)
- Verpakken in zakken en bigbags (i.v.m. stofemissie)

4.3 Sorteren en verpakken van uien

Het oogsten van uien vindt in augustus/september plaats. De loofverwijdering vindt op het land plaats. Na het rapen worden de uien opgeslagen in een schuur. De uien worden gedroogd in een droogruimte bij een temperatuur van 25-30°C. Na het drogen wordt de temperatuur verlaagd tot 2-7°C. Wanneer de uien op bewaar temperatuur zijn, worden de uien dagelijks geventileerd. De uien kunnen afhankelijk van de afname dagen tot maanden opgeslagen liggen bij de teler. Vanaf de teler worden de uien met vrachtwagens naar de verwerker/sorteerder vervoerd. Bij de verwerker worden de uien gestort/gelost op een transportband of aangeleverd in kisten. De kisten kunnen gelost worden op een transportband of nog opgeslagen worden.

Het verwerkingsproces is relatief kort (enkele uren) waardoor uitgroei van bacteriën beperkt wordt. Tijdens het lossen van de uien vindt veel stofemissie plaats.

Wanneer de uien niet droog zijn worden deze bij de verwerker na-gedroogd in kisten bij 28-30°C. Dit drogen gaat op het gevoel. Uien moeten 'knisperen'. Na drogen worden de kisten door kantelen gelost op een transportband (naar de voorsorteerder). Voorsorteren met behulp van snarensorteerders. Afstaarten gebeurt met behulp van een zeef met daaronder draaiende messen. Gezien het feit dat de staart van een ui redelijk vochtig is, is de verwachting dat dit een onderdeel van de ui is waar relatief veel groei van bacteriën plaats zal vinden. Ook is de temperatuur in de afstaartruimte vaak redelijk hoog wat gunstig is voor de groei van bacteriën. Het reinigen van de procesomgeving en apparatuur gebeurt door vegen en stofzuigen. Nat reinigen is niet wenselijk.

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

11/15

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

12/15

De temperatuur in de productieruimten is vaak gelijk aan de buitentemperatuur met een minimum van 6-8°C. De temperatuur van de uien ligt 2-3°C boven de temperatuur van de productieruimte om condens te voorkomen. De temperatuur van het product schommelt met het seizoen. Het gaat hier om droge processtappen en over het algemeen (relatief) lage productietemperaturen (wellicht met uitzondering van midden zomer). De vochtigheid van de uien is laag in verband met schimmelgroei. Uitgroei van aanwezige bacteriën op de uien zal daarom niet of weinig plaatsvinden. Hierbij moet wel opgemerkt worden dat wanneer de nog aanwezige bacteriën op de uien afsterven er endotoxinen gevormd kunnen worden.

Kritische processtappen in het gehele verwerkingsproces zijn:

- Sorteren van de uien in de schuur (i.v.m. stofemissie)
- Sorteren van de uien in kisten (i.v.m. stofemissie)
- Sorteren van de uien op transportbanden (i.v.m. stofemissie)
- Drogen van de uien (i.v.m. temperatuur)
- Voorsorteren en afstaarten van de uien (i.v.m. stofemissie; de 'staart' van de ui is mogelijk de plaats waar reeds aanwezige micro-organismen kunnen uitgroeien. Aangezien de uien reeds bij de teler gedroogd worden en het verwerkingsproces bij lage temperatuur en vochtigheid plaatsvindt, zal verdere uitgroei van micro-organismen weinig tot niet plaatsvinden)
- Sorteren van de uien (i.v.m. stofemissie)
- Verpakken in zakken (i.v.m. stofemissie)
- Droog reinigen van productieruimten en onderhoud (i.v.m. stofemissie)

5 Conclusies en aanbevelingen

De informatie uit deze notitie zal worden gebruikt als input bij de identificatie en verder ontwikkeling van mogelijke (succesvolle) mitigatie-technieken om endotoxinen bij de bron (bij binnenkomst van het product) aan te pakken.

In de verschillende stappen in de verschillende verwerkingsprocessen is de verwerkingstemperatuur (<20°C), de vochtigheid (<70% RH) en de verblijftijd (enkele uren) tijdens de verwerking van het product dusdanig dat uitgroei van nog aanwezige micro-organismen (en dus Gram-negatieve bacteriën) op het product tot een minimum beperkt blijft. Tijdens het verwerkingsproces worden door genoemde omstandigheden de nog aanwezige micro-organismen en dus ook bacteriën verder afgedood, waarbij endotoxinen vrijkomen. Over het algemeen komen endotoxinen in de (werk)omgeving gebonden aan bacterieresten, stofdeeltjes (vaak groter zijn dan 1 µm) dan wel waterdeeltjes

(aerosolen) voor, die zich in de omgeving kunnen verspreiden. Endotoxinen zijn in principe negatief-geladen deeltjes, goed in water oplosbaar en thermostabiel.

Een stap waar ophoping van micro-organismen en endotoxinen plaats zou kunnen vinden is de wasstap tijdens de aardappelverwerking. Recirculeren van proceswater zou kunnen zorgen voor ophoping van micro-organismen en endotoxinen in dit proceswater. Dit zorgt mogelijk ook voor nabesmetting van het product. In de aardappelverwerking wordt verder soms gebruik gemaakt van de verneveling van water in verband met het tegengaan van opwervelend stof, waardoor de vochtigheid van de aardappels ook toeneemt, en meer uitgroei op termijn mogelijk is.

In het projectvoorstel was opgenomen dat er eventueel nog monsters zouden verzameld gedurende het verwerkingsproces, om zo de eventuele toename van endotoxinen gedurende het verwerkingsproces in kaart te brengen. Echter, gezien het feit dat verdere uitgroei van micro-organismen tijdens het verwerkingsproces niet waarschijnlijk is, en het beschikbare budget inclusief het aantal monsters dat kon worden verzameld niet toereikend is om dit afdoende in kaart te kunnen brengen is besloten om dit onderdeel achterwege te laten.

In de lucht bevinden zich allerhande deeltjes, waaronder fijn stof en ultrafijn stof. Dit bestaat onder andere uit organische en anorganische deeltjes. Deze deeltjes fungeren als transportmiddel voor o.a. bacteriën, virussen, schimmels en endotoxinen. Het gaat hierom stofdeeltjes die vaak groter zijn dan 1 µm, en door hun omvang af te vangen zijn met behulp van bijvoorbeeld filtratietechnieken. Filtratiesystemen zoals bijvoorbeeld een elektrostatisch filter vangen deeltjes af vanaf 0,01 µm, systemen zoals cyclonen vangen deeltjes af vanaf 2 µm (met een efficiëntie van >95%).^{23,24,25,26}

Potentiele risico's met betrekking tot blootstelling aan micro-organismen en endotoxinen zullen zich voornamelijk voordoen op die momenten dat de producten worden gestort (bijvoorbeeld uit de bulkauto of vanuit de kisten). Om deze potentiele blootstelling tijdens de verwerking zoveel mogelijk te voorkomen kan worden overwogen om de transportbanden (aan het begin van het proces) te omkappen dan wel af te schermen en hierin een onderdruk te creëren, zodat

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

13/15

²³ <http://www.filtermat.nl/Frame-Trion-nl.htm>

²⁴ <http://www.groenkennisnet.nl/veehouderij-en-luchtkwaliteit/Pages/Elektrostatischfilterendoekenfilter.aspx>

²⁵ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Hydrocycloon>

²⁶ http://www.fiberfiltration.com/content/files/V&T_hydrocyclone_NL.pdf

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

14/15

micro-organismen en endotoxinen zich moeilijker zouden kunnen verspreiden. Deze lucht kan dan geforceerd worden afgezogen en apart worden afgevoerd. Wanneer de producten bij de verwerker aankomen, kunnen deze worden voorbehandeld om aanhangend stof/aarde te verwijderen. Wassen met water of coaten van de producten is echter in geval van uien veelal geen optie, omdat deze kunnen gaan schimmelen wanneer deze nat worden. Hetzelfde geldt wellicht voor zaden. Door de grote hoeveelheid aanwezig organisch materiaal zal ook het gebruik van zeep niet veel effect hebben.

Er kan aan worden gedacht om de producten wervelend door een kolom (bijvoorbeeld een wervelbed of een nauta menger met zeef) te leiden met een tegenstroom van lucht. De 'zwarte stofdeeltjes' zakken via een zeef naar de bodem van de kolom, de lichte deeltjes worden door de lucht meegenomen en kunnen met behulp van bijvoorbeeld een cycloon uit de lucht worden gehaald (het idee van een sproeidroger). Het product wordt door een worm-transportband uit de kolom geleid voor verdere verwerking. Op deze manier kan het product worden opgeschoond. Ook zou via een overkapte schudzeef/open transportband via de zeef/band lucht kunnen worden doorgeblazen. De 'zwarte stofdeeltjes' zakken via de zeef naar de beneden (onder de zeef), de lichte deeltjes worden door de lucht meegenomen en kunnen met behulp van bijvoorbeeld een cycloon uit de lucht gehaald.

Een cycloon is een separator, een apparaat dat door middel van middelpuntvliedende krachten een mengsel van materialen scheidt op basis van dichtheidsverschillen, bijvoorbeeld om stof uit een luchtstroom te halen.²⁷ Een cycloon is in de regel goedkoper maar minder efficiënt dan een elektrofilter of een doekenfilter. Een elektrostatisch filter kan ook worden gebruikt om fijne deeltjes uit de lucht te verwijderen.^{28,29} Een elektrostatisch filter, kortweg E-Filter, maakt gebruik van de oplading van deeltjes. De deeltjes worden eerst opgeladen door een sproei-elektrode met hoge positieve lading (ioniseren) en vervolgens afgevangen met een geaarde verzamelelektrode. Elektrisch geladen deeltjes (zoals negatief-geladen endotoxinen) worden langs grote elektrisch geladen platen geleid. Omdat de deeltjes door hun elektrische tegenpool worden aangetrokken, plakken ze aan deze platen vasten worden op deze manier afgevangen. Het platenpakket kan eenvoudig schoongemaakt worden. Een

²⁷ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Hydrocycloon>

²⁸ http://nl.wikipedia.org/wiki/Elektrostatisch_vliegasfilter

²⁹ Trion elektrostatische filters, <http://www.filtermat.nl/Frame-Trion-nl.htm>

elektrostatisch filter heeft een hogere efficiëntie en hogere kosten dan een cycloon, maar een lagere efficiëntie en lager kosten dan een doekenfilter.³⁰

Een andere mogelijkheid is het gebruik van ionisatiesystemen. Een ionisator geeft lading aan deeltjes waardoor deze gaan samenklonteren. Deze grotere deeltjes zijn eenvoudig af te vangen via filters. Bij ionisatie produceert de ionisator negatief geladen ionen. Een ion is een luchtdeeltje. De negatief geladen ionen trekken de overwegend positief geladen vuildeeltjes aan. Ze klonteren samen en het negatief geladen ion geeft zijn lading door aan het vuildeeltje, dat nu ook negatief geladen wordt. De samengeklonterde deeltjes zijn zwaarder dan lucht, waardoor ze neerdalen. Wanneer een ionisator over een filtersysteem beschikt zullen de deeltjes in het filter opgevangen worden.^{31,32,33}

Een speciaal ontwikkelde elektrode wordt met behulp van isolatoren gemonteerd op een geaard oppervlak genaamd counter-electrode. De elektrode wordt voorzien van positieve hoogspanning waardoor er een sterk elektrisch veld ontstaat. Daardoor ontstaan er positieve ionen die de positieve lading overgeven aan de deeltjes in de lucht, met als gevolg dat zij zich gaan bewegen richting de counter-elektrode. Zodra dit deeltje tegen de counter-elektrode aanbotst vindt er een ontlading plaats en hecht het zich hieraan vast. Bij die ontlading ontstaat een "Vanderwaals-binding" waardoor het fijn stof gaat samenklonteren en grof stof wordt. Daarmee is het fijn stof definitief onschadelijk gemaakt.^{34,35}

Het is natuurlijk de vraag of de genoemde technieken op industriële schaal toepasbaar zijn. Bedrijven verwerken tonnen product per jaar, waarbij stof, inclusief micro-organismen en endotoxinen, vrijkomt. Binnen dit project binnen WP 3 verder onderzoek gedaan naar de haalbaarheid van deze en andere mitigatie-technieken om endotoxinen bij de bron aan te pakken.

Datum

30 juni 2014

Onze referentie

RAPID 14-0023

Blad

15/15

³⁰ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Doekenfilter>

³¹ <http://nl.wikipedia.org/wiki/Ionisator>

³² <http://www.progenion.nl/ionisator>

³³ http://www.airsain.nl/Luchtkwaliteit-Depressiviteit-LightAir_Ionflow_50F_ionisator_voor_schone_lucht_door_ionisatie

³⁴ Environmental Nano Solutions (ENS), Gassel, Nederland.

³⁵ <http://www.exair-benelux.com/Statistische-Electriciteit-Eliminatie/ionisatie-staven.html>