

Kartlegging av kunnskap om muligheter for bruk av ozonholdig vann som plantevernmiddel mot gråskimmel i jordbær

NORSØK RAPPORT | VOL.5 | NR. 2 | 2020



TITTEL

Kartlegging av kunnskap om muligheter for bruk av ozonholdig vann som plantevernmiddel mot gråskimmel i jordbær

FORFATTERE(E)

Atle Wibe

| | | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| DATO: 13.01.2020 | RAPORT NO.: 2/2020 Vol 5 | Åpen rapport | PROSJEKT NO.: LD 159146 |
| ISBN: 978-82-8202-097-8 | ISSN: | ANTALL SIDER: Antall sider | NO. OF APPENDICES: 0 |

OPPDRAGSGIVER:

Landbruksdirektoratet

KONTAKTPERSON:

Hilde Haug Simonhjell

STIKKORD:

Ozonert vann, plantevern, jordbær

Ozonated water, plant protection, strawberry

FAGOMRÅDET:

Jordbruk og matindustri

Agriculture and food industry

SAMMENDRAG:

Innen jordbærproduksjon kan det oppstå store avlingstap forårsaket sopp sykdommen gråskimmel. Både konvensjonelle og økologiske produsenter etterspør nye tiltak. Et mulig virkemiddel er bruk av ozonert vann. Ozon er et sterkt oksidasjonsmiddel som brukes til å desinfisere teknisk utstyr for blant annet havbruksnæringa, meieriindustrien og helsevesenet. Det er også en internasjonal interesse for å bruke ozonert vann til å inaktivere patogener fra sopp sykdommer innen matproduksjon. Egen forskning her i Norge viser at det kan være mulig å kontrollere gråskimmel i jordbærfelt på friland ved bruk av ozonert vann. Utprøvinger i Italia viser at ozonert vann også kan brukes for å kontrollere sopp sykdommer på jordbær i veksthus. Imidlertid må det til mer forskning for å utvikle appliseringsmetoden og for å sikre at andre organismer i nærmiljøet ikke tar skade. Lovgivningen som regulerer bruk av ozonert vann til plantevern i matproduksjon er også et hinder før denne metoden kan kommersialiseres.

SUMMARY

In the production of strawberries significant yield losses can be caused by the fungal disease Botrytis. Both conventional and organic berry producers ask for new control measures. A possible measure for plant protection is to use ozonated water. Ozon is a strong oxidation agent that is used for densification in e.g. aquaculture industry, dairy industry and in the health care system. There is also an international interest for using ozonised water to inactivate fungal pathogens in crop production. Own research in Norway has shown that it can be possible to control Botrytis in open field production of strawberry. Testing in Italy has also shown that ozonised water can also be used to control fungal diseases in strawberry grown in greenhouses. However, more research is needed to develop more effective application methods and to secure that other organisms in the close environment will not be negatively affected by this treatment. The legislations regulating the use of ozone in crop production is also an obstacle that must be overcome before this measure can be commercialised.

LAND: Norge
FYLKE: Møre og Romsdal
KOMMUNE: Tingvoll
STED: Tingvoll gard

GODKJENT

Turid Strøm

PROSJEKT LEDER

Atle Wibe

Forord

Muggsoppen gråskimmel (*Botrytis cinerea*) kan forårsake store avlingstap i jordbær. Det finnes kjemiske soppmidler mot gråskimmel, men internasjonalt er det et økende problem at soppen utvikler resistens mot disse. I økologisk landbruk brukes ikke kjemiske soppmidler. Både konvensjonelt og økologisk landbruk har derfor behov for at det utvikles nye metoder for kontroll av gråskimmelsoppen. Denne utredningen belyser muligheten for bruk av ozonholdig vann mot sopp sykdommer som gråskimmel i jordbær. Midler for gjennomføring av utredningen er gitt fra Landbruksdirektoratet, utredningsmidler fra *Forskningsmidlene for jordbruk og matindustri*.

Tingvoll, 13.01.20

Turid Strøm

Innhold

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | Innledning..... | 6 |
| 2 | Hva er ozon?..... | 7 |
| 2.1 | Kjemiske egenskaper | 7 |
| 2.2 | Produksjon av ozon..... | 8 |
| 2.3 | Mekanismer for mikrobiell inaktivering..... | 9 |
| 3 | Lovgivning om bruk av ozon..... | 10 |
| 3.1 | US lovgivning..... | 10 |
| 3.2 | Europeisk lovgivning. | 10 |
| 4 | Sammendrag egen forskning ozonholdig vann til bruk i plantevern | 11 |
| 4.1 | Gråskimmel i jordbær | 11 |
| 4.2 | Tørråte i potet..... | 14 |
| 5 | Forskning i andre land og teknologiutvikling | 17 |
| 5.1 | USA..... | 17 |
| 5.2 | New Zealand | 17 |
| 5.3 | India..... | 17 |
| 5.4 | Italia..... | 17 |
| 5.5 | Spania..... | 19 |
| 6 | Helserisiko og miljøfarer | 20 |
| 7 | Diskusjon | 21 |
| 8 | Konklusjon..... | 22 |
| 9 | Referanser | 23 |

1 Innledning

Innen produksjon av jordbær og mange andre vekster er det store utfordringer med soppsykdommer som gråskimmel i og meldugg. For å kontrollere disse sykdommene så anvendes det i konvensjonelt landbruk betydelig mengder med fungicider. Ved bruk av slike virkemidler står man i fare for at soppene utvikler resistens og da må nye midler utvikles for holde tritt med soppsykdommene. Man står også i fare for at det vil dannes reststoffer etter nedbrytningen av pesticidene. Disse reststoffene kan spres i naturen eller følge med bærproduktene til forbrukerne. Effekten av disse reststoffene på miljøet og folkehelsen er ikke alltid like godt kjent særlig siden effekten av disse stoffene kan virke annerledes i blandinger med andre kjemiske pesticider enn hver for seg. Innen økologisk jordbærproduksjon er ikke kjemiske pesticider tillatt brukt. Imidlertid brukes det kobberløsninger mot soppsykdommer på blant annet økologisk jordbær i mange europeiske land. Dette er heller ikke særlig gunstig da kobber er giftig i høye konsentrasjoner. Slike tungmetaller kan akkumuleres i jorda og bli tatt opp av plantene som vi spiser. I tillegg kan de ha en negativ virkning på miljøet og livsbetingelsene for mange andre organismer.

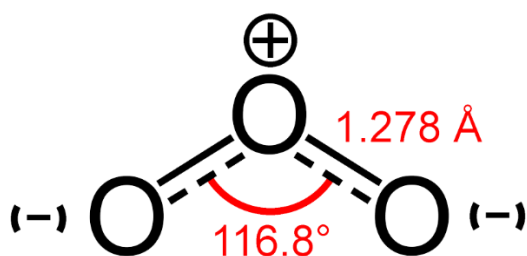
Et mulig alternativ til bruk av pesticider og kobber kan være ozonholdig vann. Slik det blir belyst i denne rapporten kan ozonholdig vann bli brukt uten negative påvirkning av miljø og helse. Det virker umiddelbart og etterlater ingen reststoffer. Ozonholdig vann brukes i dag til desinfeksjon av f.eks. brønnbåter til havbruksnæringa, fiskeforedlingsbedrifter, meierier og restauranter.

Ozon ble oppdaget av Schönbein i 1839 og ble først gang brukt kommersielt til rensing av vann i Frankrike i begynnelsen av nittenhundredetallet (Hill og Rice 1982). Nå finnes det flere tusen vannrenseanlegg i hele verden inkludert i Norge som benytter seg av denne renseteknikken.

2 Hva er ozon?

2.1 Kjemiske egenskaper

Ozon (O_3) er et molekyl bestående av tre oksygen atomer (fig. 1). Det blir dannet naturlig fotokjemisk i stratosfæren, i sterke elektriske spenningsfelt, i fotokjemisk smog og ved hjelp av ultrafiolett (UV) sterilisasjonslamper og gamma-strålingsapparater (Mustafa 1990). Den karakteristiske friske og klare lukten som kan fremkomme etter et tordenvær skyldes nydannet ozon i vår atmosfære.



Figur 1. Molekylstruktur ozon (Greenwood & Earnshaw 1997)

Den sterke reaksjonsevnen til ozon skyldes ozonets molekylstruktur. De tre oksygenatomene som danner ozonmolekylet er bundet i en vinkel på $116,8^\circ$ med en båndlengde på $1,278 \text{ \AA}$. Molekylet er en resonanshybrid med alternerende dobbeltbindinger og danner en diamagnetisk dipol. Molekylet er elektronelskende (elektrofilt), meget reaktivt, er lettere løselig i vann enn vanlig oksygen (O_2) og er mest stabilt i sur løsning.

Ozon-gass i konsentrert form er en lyseblå gass men ved atmosfæriske trykk (praktiske konsentrasjoner) er den fargeløs. Imidlertid kan lukten av ozon sanses ved en langt lavere konsentrasjon. Ozon har smeltepunkt ved $-192,5^\circ\text{C}$ og kokepunkt $-111,9^\circ\text{C}$. Gassen kondenseres ved -112°C og danner en mørk blå veske. Ozon er litt tettere ($2,14\text{g/L}$) enn luft ($1,28 \text{ g/L}$) ved 0°C og 1 atmosfærisk luftrykk. Ozons løselighet i vann er avhengig av temperatur der løseligheten minker ved økende temperatur. Ved 0°C er løseligheten $0,640 \text{ L ozon/L vann}$. Ved 60°C ozon uløselig i vann (Hill og Rice 1982)

Ozon reagerer med andre substanser på to ulike måter: direkte reaksjon med organiske forbindelser og indirekte reaksjoner ved frie hydroksyl radikaler. Den direkte reaksjonen er ofte relativt langsom men svært selektiv. Den indirekte reaksjonen ved frie hydroksylioner er svært reaktiv men mindre selektiv (Masschelein 1992).

Ved romtemperatur er ozon en ustabil gass. Ozon degraderes lett (Manley and Niegowski 1967) men har en lengre halveringstid i gassform enn løst i vann (Rice 1986). Når ozon er løst i vann har renheten av vannet betydning for stabiliteten til molekylet. Om ozon degraderes til oksygen ganske fort i rent vann, går det enda raskere om vannet er urent. Omtrent 50% prosent av ozonet blir nedbrutt i løpet av 20 minutter ved 20 °C i destillert eller springvann mens bare 10% av ozonet brytes ned i løpet av 85 minutter ved 20 °C dobbel-destillert vann.

For å bringe ozon i kontakt med målsubstansen i vannfasen, må først ozon blir tilført vannet ved bruk av en gass-veske-generator. Nedbrytningen av ozon i vann er karakterisert ved en rask initial reduksjon, fulgt av en ny fase hvor konsentrasjonen av ozon avtar med førsteorden kinetikk (von Gunten 2003). Reaksjonen som skjer er noe vanskelig å forklare, ikke bare fordi flere ulike reaksjoner kan finne sted samtidig men også fordi ozon kan reagere enten indirekte (nedbrytning via kjedereaksjonsmekanismer med produksjon av frie radikaler) eller direkte (via selektive reaksjoner med substanser i vannmassene) (Masschelein 1992). Denne kombinerte effekten gjør ozon til et veldig sterkt oksidasjonsmiddel i kontakt med andre stoffer. Effektiviteten av oksidasjonsprosessen forårsaket ozon er vanligvis basert på effekten av både de direkte og indirekte mekanismene som igjen er avhengig av vannets egenskaper, spesielt pH, innhold av organiske forbindelser og vannets alkalitet (vannets evne til å nøytralisere syrer).

I kontakt med organiske komponenter reagerer ozon i mange ulike komplekse reaksjoner som en følge av dannelsen av en rekke ulike reaktive oksidasjonsstoffer. Bindinger mellom karbon-hydrogen (C-H) og svovel-hydrogen (S-H) hos alkaner, alkener, aminer og svovelhydriyl komponenter blir angrepet av ozon (Mustafa 1990, Adachi 2001). Aminosyrer kan bli angrepet direkte ved det primære nitrogen-atomet i aminet eller en ved en R-gruppe. Ozonering av lipider fører til dannelsen av peroxider (Mustafa 1990, Adachi 2001). Proteiner reagerer noe ulikt med ozon. Noen blir oksidert som cysteine og diverse aromatiske aminosyrer (phenylalanin, tryptofan og tyrosin) mens andre lar seg ikke bli påvirket selv ved lang tids eksponering (Cataldo 2003). Imidlertid blir ikke hovedstrukturen av aminosyrene nedbrutt av ozonreaksjonene.

2.2 Produksjon av ozon

Ozon for bruk i matindustrien kan produseres på to ulike måter; enten ved å lede oksygenholdig gass til en UV-kilde eller til et høyenergetisk elektrisk felt hvorav den sistnevnte er mest vanlig. Det finnes også andre måter å produsere ozon på, men disse metodene er ikke like godt utviklet for kommersielt bruk. Ved å kombinere elektrisk ozonproduksjon med et vannpumpesystem kan ozongassen ledes inn i vann som kan brukes til plantevern eller matprosessering. En slik ozongenerator vil kreve 6-8 kWh for å produsere 1 kg med ozon. Det gjør produksjonskostnadene for ozon i vann relativt lave.

2.3 Mekanismer for mikrobiell inaktivering

Ozon har et bredt spekter av antimikrobiell aktivitet i springvann og avløpsvann og er derfor ansett som et potent baktericidalt- og virucidalt middel. I USA er det påkrevet at vannforsyninger må bruke tilstrekkelig høy konsentrasjon av desinfeksjonsmidler over tilstrekkelig tid for å destruere en definert mengde med mikroorganismer (Botzenhart et al. 1993). I studier av inaktivering av sporer til den motstandsdyktige bakterien *Bacillus subtilis* fant Botzenhart et al. (1993) at ozon var mer effektivt som desinfeksjonsmiddel enn klorindioksid som er mer vanlig å bruke. Ozon er veldig ustabil både i gassfase og i vannløsning, danner hydroksyl (HO^0), hyperoksy ($\cdot\text{HO}_2$) og superokside radikaler ($\cdot\text{O}_2^-$). Den høye reaktiviteten til ozon er tilskrevet oksidasjonsstyrken til disse frie radikalene (Manousaridis et al. 2005).

Effekten av ozon på ulike bakterier har blitt studert på en rekke organismer, blant annet Gram-positive og Gram-negative bakterier så vel som sporer og vegetative celler (Ishizaki et al. 1986, Restaino et al. 1995).

Inaktivering ved bruk av ozon er en kompleks prosess som involverer at ozon reagerer på ulike typer cellemembraner og deler av cellevegger (eks. umetta fett) sammen med innhold i cellene (eks. enzymer og nukleinsyrer). Ozon kan reagere med membran glykoproteiner og/eller glykolipider (Guzel-Seydim et al. 2004), membranbundet enzymer (Murray et al. 2005) og oksidasjon av oksygen bundet med dobbeltbindinger i cellene (Scott 1975) og trolig ved å destruere proteiner og DNA (Komanapalli & Lau 1996). To hovedmekanismer for destruksjon av målorganismer er identifisert: (1) ozon oksiderer sulfhydryl-grupper (-SH) og aminosyrer i enzymer, peptider og proteiner til mindre peptider og (2) ozon oksiderer flerumettede fettsyrer til sure peroxider (Victorin 1992). Ved ozoneksponering vil da den ytre sporekappen bli degradert slik at celleveggen blir eksponert. Ozon vil da kunne hindre vekst av cellen uten at DNA nødvendigvis blir ødelagt (Young & Setlow 2004).

Inaktiveringsmekanismen skyldes da både direkte oksidering av molekylært ozon men også av reaksjoner fra de frie radikalene som blir produsert ved nedbryting av ozon.

Også virus kan inaktiveres av ozon i vann. Virus av typen bacteriophage f2, influensa, bovine, polio og hepatitt er vist å kunne uskadeliggjøres ved bruk av ozon (Bolton et al. 1982, Roy et al. 1982; Akey & Walton 1985, Kim et al. 1980, Hall & Sobsey 1993). Hvordan ozon virker inn på virus er ikke beskrevet, men det antas at det er de samme biokjemiske reaksjonene som inaktiverer bakterier.

3 Lovgivning om bruk av ozon

3.1 US lovgivning.

Ozon er godkjent av *US Food and Drug Administration* (FDA) til behandling av matvarer og prosessutstyr og brukt med suksess til behandling av ost og friske produkter, dekontaminering av emballasje, desinfeksjon av prosessvann, prosessutstyr og matvarelager. Ozon er også godkjent som et antimikrobielt middel, enten i gassform eller løst i vann, for direkte kontakt med matvarer (FDA2001). Ozon er også tillatt av *US Department of Agricultural* for å bruke på alle kjøtt- og fjærfeprodukter. Bruk av insekticider og fungicider reguleres av *US Environmental Protection Agency* (EPA). Siden ozon er en ustabil gass passer det ikke inn i deres definisjoner for kjemikalier. Derfor er det bestemt at ozongeneratorer i likhet med UV-lamper skal godkjennes og merkes om de blir brukt ved matproduksjon eller matprosessering istedenfor å knytte godkjenningen direkte til ozon som innsatsfaktor.

3.2 Europeisk lovgivning.

Ozon ble som tidligere nevnt brukt så tidlig som på begynnelsen av nittenhundretallet til vannbehandling. For tiden er interessen for ozon som et antimikrobielt middel innen matprosessering knyttet til fordeler med ozon fremfor klor og andre kjemiske desinfeksjonsmidler. Tidligere har fokuset vært mer knyttet til rengjøring og desinfeksjonsprosesser. Imidlertid er disse fordelene ofte oversett av matindustrien, men ny lovgivning som IPPC Directive 96/61/EC kan være med på å påvirke denne trenden. Blant mange ulike prosesseteknikker anvendt innen matprosesseringen er det bare bestråling og ionisasjonsmetoder som har spesifikk lovgivning og krav om merking. For andre metoder, inkludert bruk av ozon, finnes det ingen spesifikke lovgivninger. Imidlertid må to generelle regler følges:

1. Merkedirektiv (2000/13). Merknad på merkelapp om spesifikk behandling av produktet – fravær av merknad vil mislede forbruker.
2. Lovgivning for nye matprodukter (258/97) som omhandler blant annet frihandel av nye matprodukter, generelt om mattilsetninger og matsikkerhet.

Noe forskjell kan det være mellom ulike medlemsland i EU da lovverket ikke er helt harmonisert. Imidlertid må det antas at det må komme en spesifikk godkjenning fra EU-kommisjonen før ozonholdig vann kan brukes kommersielt på matplanter før høsting. Det som kan bli løsningen er at ozonholdig vann godkjennes av kommisjonen som en «prosessstøtte/behandlingshjelp» og ikke nødvendigvis som et tilsetningsstoff eller plantevernmiddel. Dette vil gjøre det enklere å ta i bruk ozon som et hjelpemiddel til å kontrollere soppangrep på ulike jordbruksvekster både i felt og på lager.

4 Sammenheng egen forskning ozonholdig vann til bruk i plantevern

4.1 Gråskimmel i jordbær



Foto 1. Jordbær hardt angrepet av gråskimmel

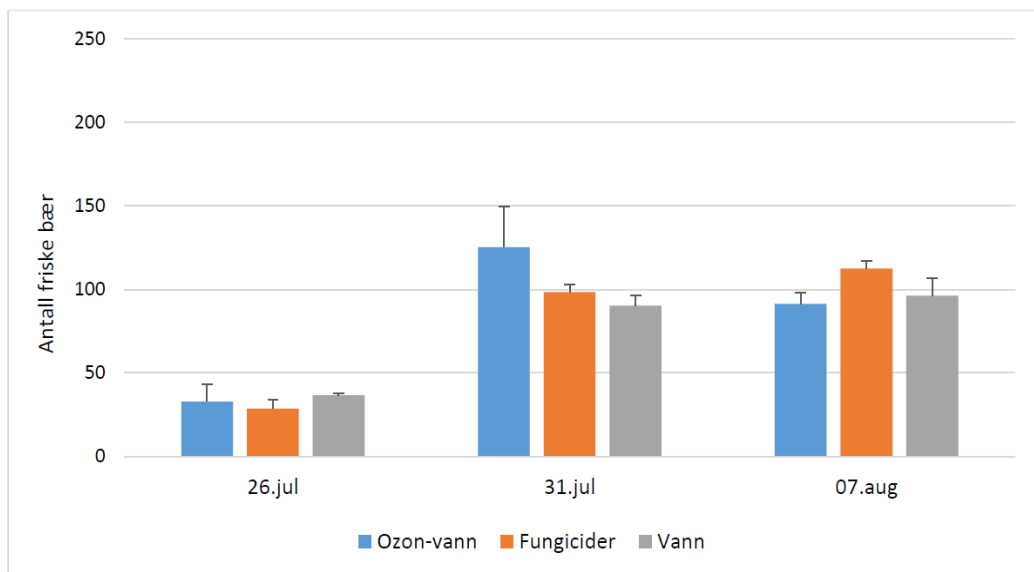
I 2017 ble det gjennomført forsøk på å teste ozonholdig vann mot gråskimmel i jordbær, et prosjekt finansiert av Regionale Forskningsfond Midt-Norge. Partnere i prosjektet var NORSØK, Norsk landbruksrådgivning avd. Trøndelag, REDOX AS og feltvert Arne Moxness, Forfon gård, Steinkjer.

For å sjekke om jordbærplante i det hele tatt tålte å bli sprøytet med ozonholdig vann uten å bli skadet eller drept ble det gjennomført et lite innledende forsøk. Tre ulike vekstposser (ca. 1 m) med 20 jordbærplanter ble sprøytet med henholdsvis rent vann, vann med 5 ppm ozon og vann med 10 ppm ozon (foto 2). Behandlingen ble gjentatt etter fem dager. Plantene ble observert over en måneds tid og det ble ikke registret at de ozonbehandlede plantene var blitt svekket av behandlingen.



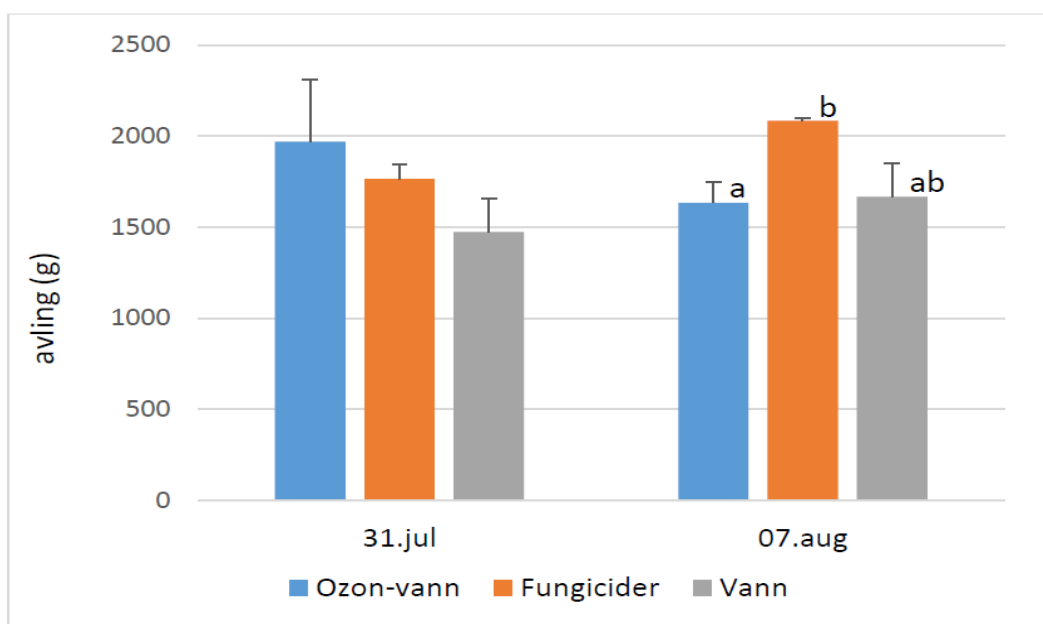
Foto 2. Jordbærplanter i vekstposer under behandling med ozonert vann

Etter forprosjektet ble det lagt til rette for et åpent feltforsøk der det skulle bli gjennomført en sammenligning av behandling av jordbærplanter av typen Sonata med enten rent vann, vann med ca. 10 ppm ozon og vann med konvensjonelle plantevernmidler (fungicider av typen Luna Sensation, Switz, Rovral og Serenade). Behandlingen ble gjennomført med bruk av vanlige traktormonterte åkersprøyter. Hver behandling ble gitt til tre rader (10,0 m-12,5 m) med jordbærplanter i tilfeldig rekkefølge så forsøksfeltet bestod av ni rader tilsammen. Alle behandlingene ble gjentatt fire ganger i løpet av vekstsesongen hvorav den siste fant sted 7. juli. Etter behandlingene ble det foretatt høsting 26. juli, 31. juli og 7. august av halvmodne og modne bær. Det ble registrert antall friske bær, bær smittet med gråskimmel, gjennomsnitt vekt på bærene og totalavling. Det var kun få av registreringene som viste statistisk signifikante forskjeller. Imidlertid ble det observert interessante trender i materialet. Ved registrering 31. juli ble det registrert et større antall friske bær på de plantene som ble sprøytet med ozonholdig vann enn i på de andre plantene som ble sprøytet med henholdsvis rent vann eller fungicider (fig. 2). Ved den tredje høstingen var det mindre forskjeller mellom gruppene.



Figur 2. Gjennomsnitt antall friske halvmodne og modne jordbær i ni kontrollsoner med tre ulike behandlinger (tre gjentak) ved tre ulike høstetidspunkt.

Ved registrering 7. august var det flere bær som var smittet med gråskimmel på plantene som ble sprøytet med springvann eller ozonholdig vann enn planter sprøytet med konvensjonelle plantevernmidler. Da hadde det gått en hel måned siden siste behandling og effekten av ozonbehandlingen var for lengst slutt. Ved 31. juli ble det registret litt større bær fra plantene som ble sprøytet med fungicider enn fra de som fikk annen behandling. Imidlertid var avlingen større fra plantene som fikk ozonbehandling enn fra de andre plantene (fig. 3).



Figur 3. Avling (g) av halv-modne og modne friske jordbær i ni kontrollsoner med tre ulike behandlinger (tre gjentak) ved to ulike høstetids-punkt.

Ved 7. august var det mindre forskjeller på gjennomsnittsvekten på bærene fra plantene med ulik behandling. Totalavlingen fra plantene som ble behandlet med fungicider var da noe større enn fra plantene sprøytet med enten springvann eller ozonert vann.

I dette forsøket ble alle de ulike behandlingene utført samme dag og sprøyteregimet tilpasset bruk av pesticider. Det medførte få behandlinger og et relativt langt opphold mellom siste behandling og høstedata. Dette er påkrevet for å redusere mengden rester av pesticidene i sluttproduktet. I praktisk jordbær dyrking og bruk av ozonholdig vann som plantevernmiddel vil et slikt opphold ikke være nødvendig. Man kan også behandle plantene langt oftere uten risiko for reststoffer. Det skyldes at ozon i vann har en så rask halveringstid (20-30 min) at det kan brukes uten frykt for uheldig reststoffer i bærene. Man kan behandle plantene ukentlig hele sommeren helt fram til høstedata. Om man i dette forsøket hadde økt frekvensen av ozonbehandlingene og forlenget behandlingstiden så er det antatt at effekten av ozonbehandlingene ville ha blitt sterkere.

Konklusjon fra disse forsøkene er at det bør arbeides videre med å utvikle praktiske løsninger hvor ozonholdig vann kan bli et alternativ til bruk av fungicider ved produksjon av jordbær. For flere detaljer om forsøket se Wibe 2017.

4.2 Tørråte i potet

I prosjektet ORGANIC PLUS (2018-2022) som er et Horizon 2020 prosjekt, ble det i 2019 gitt mulighet for å teste ut om man kan bruke ozonholdig vann for å kontrollere tørråte i potet. Dette prosjektet har som målsetning å finne nye veier for å fase ut uønskede innsatsfaktorer i økologisk landbruk i Europa, deriblant kobberprodukter som brukes mye i flere europeiske land. Prosjektet koordineres fra Universitetet i Coventry, UK, og har 26 partnere inklusiv NORSØK.

NORSØK gjennomførte forsøk med ozonholdig vann til potet for å begrense tørråte i potet vekstsesongen 2019.

For å sikre at settepoteten var smittet med patogener fra denne soppen ble det anskaffet potetblader med smitte av tørråte. Disse bladene ble vasket i vann og dette vaskevannet ble så sprøytet på settepotene. Før de ble infisert var $\frac{3}{4}$ av settepotene vasket i vann, den resterende $\frac{1}{4}$ var ubehandlet. To dager etter infiseringen ble to av de tre gruppene som var vasket og infisert med patogener senket ned i vannkar med ca. 6 ppm ozon i henholdsvis 10 sekunder eller 3 minutter.



Foto 3. Behandling av settepotet med ozonholdig vann

Dette gjorde at vi hadde fire grupper med settepoteter med ulik behandling

1. Uvasket
2. Vasket
3. Vasket, behandlet med ozonholdig vann for 10 sekunder
4. Vasket, behandlet med ozonholdig vann for 3 minutter

Da potetriset begynte å spire ble så bladverket sprøytet ukentlig med ozonholdig vann (ca 5 ppm) ved hjelp av en ryggsprøyte (Foto 4).



Foto 4. Sprøyting av ozonholdig vann på potetris infisert med tørråte

I løpet av vekstsesongen ble følgende parametere registret: spireevne, bladlengde, infeksjonsgrad og avling. Resultatene fra forsøkene er enda ikke ferdig analysert så feltobservasjoner om forskjeller mellom behandlingen kan ikke underbygges med beregnede statistiske forskjeller. Imidlertid ser det ut til at spireevnen til settepotene ikke var vesentlig forskjellig mellom gruppene. For bladlengden ser det ut til at blader sprøytet med ozonert vann var noe lengre hos gruppen der settepoteten som ble behandlet med ozonert vann i 3 minutter og for gruppen av settepotet som var uvasket. For de to andre gruppen (2. og 3.) var det ingen forskjell mellom de som ble sprøytet med ozonert vann og de som ble sprøytet med vann uten tilsetning.

Infeksjonsgraden ble evaluert to ganger i løpet av vekstsesongen. Ved den først registrering av tørråteforekomst på bladverketsom fant sted 30. august 2019, var det ca. 7 % større infeksjonsgrad på bladene som ble sprøytet med springvann i forhold til de som ble sprøytet med ozonert vann. Det gjaldt for alle gruppene med settepotet, uavhengig av forbehandling av settepotetene. Ved den andre evalueringen 6. september var det bare 1-2 % forskjell i infeksjonsgrad mellom sprøytebehandlingen. Imidlertid var det på det tidspunktet svært høy infeksjonsgrad (90-100%) på alle bladene.

Det var liten forskjell på avlingene mellom de ulike gruppene. Det var tendens til størst avling i gruppen som ble forbehandlet med ozonert vann i 3 minutter og fikk bladene sprøytet med ozonert vann gjennom hele sommeren.

En foreløpig konklusjon er at behandling av settepoteter infisert med tørråte ikke lar seg behandle med ozonert vann. Tørråte på potetris fra infiserte settepoteter blir heller ikke hemmet i vesentlig grad ved sprøyting med ozonert vann.

5 Forskning i andre land og teknologiutvikling

Det finnes få dokumenterte vitenskapelige studier om bruk av ozonert vann til plantevern i dyrkningssystemer av jordbær eller andre nytteplanter før høsting. Derfor er det ikke mulig å henvise til artikler som er skrevet om dette. Det eneste som er funnet er en beskrivelse av bruk av ozon for integrert plantevern ved dyrkning av vindruer forfattet av R. Bhadra (2015). Imidlertid er det en rekke studier på bruk av ozongass og ozonert vann ved prosessering av matprodukter etter høsting. En sammenstilling av publikasjoner fra slike studier kan finnes i en bok redigert av O'Donnell et al. (2012). Selv med en mangel på vitenskapelig dokumentasjon er det flere firmaer rundt om i verden som holder på å utvikle utstyr for bruk av ozonert vann til plantevern. Her er noen eksempler:

5.1 USA

I USA har firmaet AgroOzein kommet langt i bruken av ozonholdig vann for plantevern. Deres hovedfokus har vært å bruke ozonert vann i forbindelse med dyrkning av vindruer. De har utviklet utstyr der både ozongenerator og vannspreder som er montert på en traktor eller ei spesiallaget vogn. Ifølge deres egne utsagn så har de fått meget gode resultater ved at sopprelterte sykdommer har blitt holdt nede. Druene får veldig god kvalitet og egner seg godt til vinproduksjon. (Se <https://www.agriozein.com/>).

5.2 New Zealand

På New Zealand driver firmaet AgO3 også på å utvikle ozongeneratorer som tilpasses traktormontert sprøyteutstyr. Hovedfokus for AgO3 er plantevern mot f.eks. meldugg i vinranker. De rapportere også gode resultater med en redusert fremvekst av sopprelterte sykdommer på vinrankene når man appliserer ozonholdig vann på plantene. (Se <https://www.ago3.co.nz/>).

5.3 India

I India promoterer firmaet Creative OZ-AIR (I) PVT LTD ozongeneratorer for bruk til å produsere ozonholdig vann for vanningsanlegg. De hevder at ozonholdig vann er «ekstremt» nyttig for vanning av frukttrær, vinranker og andre vekster for å hindre de fra dødelige sykdommer. De hevder videre at ozon stimulerer til raskere vekst og større avling som oppnås på en kortere tid enn ved vanlig dyrkning. Det fører til mindre behov for vanning og næringsforsyning (nesten 50% reduksjon) siden omløpstiden blir så mye kortere. (Se <http://www.oz-air.com/agriculture.html>).

5.4 Italia

I Italia har vi firmaet Medical Equipment Technology (MET) som har prøvd ut bruk av ozonholdig vann på flere ulike vekster deriblant agurk, tomater, spinat, basilikum og

jordbær. De har gode erfaringer med å bruke ozonholdig vann i tåkeanlegg i drivhus (foto 5.). Det har til sammenligning med konvensjonelle dyrkningsmetoder gitt mindre sykdommer og større avlinger. Brudd og kuttskader på plantene som er sårbare for bakterieinfeksjoner har hatt mindre infeksjoner og leget raskere. (Se <http://www.o3met.com/en/>).



Foto 5. Jordbærplanter i et drivhus med tåkeanlegg i Italia. Tåkeanlegget brukes til å applisere ozonert vann på plantene for å hindre utvikling av sopp sykdommer.

Ved konvensjonell dyrking i Italia sprøytes jordbærplanten mer enn 15 ganger med pesticider for å hindre meldugg (MET 2016, intern rapport). Hos en konvensjonell bær dyrker som testet ut bruk av ozonert vann reduserte bruken av syntetiske plantevern midler til to ganger i løpet av hele vekstsesongen. Sykdomsutbrudd forårsaker soppinfeksjoner ble holdt under kontroll og avlingen ble normal stor. Da ble det gitt behandling med ozonert vann med 2-3 dagers mellomrom i juni og juli. I august ble behandlingen gitt med 4-5 dagers mellomrom.

I en kontrollert studie sammenlignet MET effekten av tåkesprøyting med ozonert vann med effekten av fungicidet Nimrod®. Da ble det observert eventuell fremvekst av meldugg på 3000 tilfeldige blader fra jordbærplanter, dyrket i tunneller/vekshus som ble behandlet med enten ozonert vann, Nimrod® eller gitt ingen behandling (kontroll). Observasjonene ble gjentatt ni ganger i fra 22 juni 2016 til 12 september 2016. Ved alle observasjonene ble det registret liten fremvekst av meldugg på bladene som ble behandlet med pesticider eller ozonert vann. Over 95% av disse bladene var fri for meldugg. Det ble ikke registret noen forskjell på behandlingene. På bladene i kontrollgruppa var det sterk fremvekst av meldugg ved at mellom 40 og 50 % av alle bladene var ved enhver tid befengt med denne sopp sykdommen. Det ble konkludert med at behandling med ozonert vann mot meldugg på

jordbærplanter i veksthus er svært lovende ved å være like effektivt som bruk av pesticider. Behandlingen kan bli brukt imot soppsykdommer i veksthus hvor de kan være vanskelig å kontrollere.

Det skal også nevnes at MET i 2019 har fått bevilgning fra Horizon 2020 for å eksperimentere og implementere denne plantevernmetoden.

MET har også utviklet en vogn med vanntank, ozongenerator og sprøytebommer for bruk i åpne dyrkningsfelt (foto 6) som er egnet å bruke der det ikke er mulig med tåkeanlegg som i drivhus.



Foto 6. Ozongenerator med vanntank og sprøytebommer påmontert en traktorvogn, utstyr for plantevern i jordbærfelt og andre vekster. Utstyret er utviklet ved MET, Italia.

Ved bruk av dette utstyret blir ozongassen blandet i vannet på sprøytebommene like før det sprøytes over plantene. Det gir en mer stabil levering av det virksomme stoffet fremfor å blande ozongassen i vanntanken.

Dette betyr at det er mulig å skaffe teknisk utstyr som er egnet for bruk ved behandling av jordbærplanter i kommersiell jordbærproduksjon.

5.5 Spania

Også i Spania er det interesse for bruken av ozonholdig vann i plantevern. På et seminar arrangert i Manresa, 12. desember 2019 av Institutt for jordbruk, husdyr, fiskeri og mat som er en del av landbruksdepartementet i Katalonia, ble NORSØK invitert til å presentere muligheten og bruken av ozonholdig vann i plantevern. Seminaret hadde fokus på redusert bruk av kobberprodukter under økologisk dyrkning.

6 Helserisiko og miljøfarer

I februar 2019 ble det utarbeidet et sikkerhetsdatablad om ozonert vann av Sensor Chemcontrol AS, Kongsberg, Norge. Dette databladet tar for seg en ozonkonsentrasjon på 5 mg O₃/L vann tilsvarende 5 ppm O₃ i vann som er en relevant arbeidskonsentrasjon til bruk i plantevern. Her fremkommer det under *Avsnitt 2: Fareidentifikasjon* at ozonholdig vann ikke er et farlig stoff eller en farlig blanding i henhold til bestemmelse (EF) No 1272/2008. Det er heller ikke knyttet andre farer til stoffet (omfattes ikke av REACH vedlegg XIII regelverket for PBT eller vPvB stoffer). Om man tar for seg ozon i konsentrert form som er en ingrediens av løsningen, så fremkommer det at stoffet er et oksiderende stoff som er meget giftig for vannmiljøet, kan gi alvorlig øyeskade, forårsake organskader ved langvarig og gjentatt eksponering, virke etsende på huden og luftveiene og i verste fall dødelig ved innånding. Ved produksjon av ozon til plantevernformål vil gassen umiddelbart bli blandet i rent vann. Det gjør at faregraden reduseres betraktelig. Imidlertid kan blandingen innåndes, og da må man sørge for frie luftveier. Det er ikke betraktet som sannsynlig at det vil oppstå skade ved hudkontakt men det er anbefalt å skylle grundig med rennende vann. Tilsølte tøy bør tas av. Ved øyekontakt skal man skylle i flere minutter og lege kontaktes hvis besvær vedvarer. Ved svelging skal man gi noe å drikke, for eksempel vann, melk, saft. Brekninger skal ikke fremkalles. Det gis råd om å kontakte Giftinformasjonen for vurdering av faren i hvert enkelt tilfelle. Produktet er ikke brann- eller eksplosjonsfarlig. Ozonert vann er ikke klassifisert som hverken allergifremkallende eller mutagent dvs. arvestoffskadende. Ingen av ingrediensene i produktet er klassifisert som kreftfremkallende eller reproduksjonsskadelig. Så under normal bruk, er ingen helsemessige effekter forventet. Imidlertid ved praktisk arbeid med ozonholdig vann bør man tildekke bar hud, bruke beskyttelseshansker og vernebriller. Ved bruk av ozonert vann i tåkeanlegg i veksthus bør veksthuset avstenges 1-2 timer etter behandling for å være sikker på at ikke man innåndes ozonholdig vann når man oppholder seg i veksthuset. Ved en eventuell feil på ozongeneratoren kan det oppstå lekkasje av ozongass. Derfor er det tilrådelig å plassere generatoren i godt ventilerte omgivelser som for eksempel utendørs.

7 Diskusjon

Nye plantevernmetoder er etterspurt fra produsenter og forbrukere, der ozonholdig vann kan være et alternativ til pesticider. Ozon sine kjemiske egenskaper og reaksjonsmekanismer gjør det til et interessant virkemiddel. Stoffets sterke oksidasjonsegenskaper gjør det veldig reaktivt sammenlignet med andre virkestoffer. Oksidasjonsprosessen foregår på ulike måter, enten ved direkte nedbryting av ozonmolekylet eller ved at det dannes frie hydroksyl radikaler som er svært reaktive. Prosessene går raskt og etterlater ingen uheldige restprodukter. Siden ozon er ustabil og har en relativ kort halveringstid kan den ikke lagres. Ozongassen må derfor lages på stedet der den skal brukes vha. en ozongenerator. Flere bedrifter i ulike land har derfor startet utviklingen av utstyr bruk av ozonholdig vann til plantevern for landbruket. Imidlertid er lovgivningen i Europa per dagsdato et hinder for å ta i bruk dette virkemidlet som plantevernmiddel til planter før høsting. Egen studie av effekten av ozonholdig vann på gråskimmel i jordbær indikerte at behandlingen reduserte utviklinga av sykdommen på linje med bruk av fungicider. Andre egne studier på bruk av ozonholdig vann viser at dette virkemidlet kan være mindre egnet mot andre soppsykdommer som tørråte på potet.

Interessen for bruk av ozonholdig vann til plantevern internasjonalt ser ut til å vokse. Det er ikke publisert forskningsresultater i vitenskapelige journaler om bruk av ozonholdig vann under dyrking av matvarer. Det som foreligger er studier for matprosessering og konservering. Imidlertid, foreligger det en del forskningsresultater i internrapporter fra bedrifter som MET i Italia. Disse resultatene viser blant annet en positiv effekt av bruk av ozonholdig vann for kontroll av meldugg på jordbær dyrket i veksthus. Dette har vært med på å legge til grunnlaget for finansiering av ny forskning fra Horizon2020.

Den helsemessige risikoen for mennesker av å bruke ozonholdig vann til plantevern ved jordbærproduksjon er liten. Imidlertid bør en ozongenerator stå i godt ventilerte omgivelser, helst ute, i tilfelle lekkasje. Om man bruker tilpasset sprøyteutstyr ved behandling av jordbærplanter på friland bør man helst dekke til naken hud og bruke vernebriller. Ozonholdig vann kan virke irriterende på hud, luftveier og i øynene. Om man bruker ozonholdig vann i tåkeanlegg i lukket veksthus bør veksthuset avstenges 1-2 timer etter behandling. Det er ikke kjent om ozonert vann har noen økotoksikologisk effekt da halveringstiden er så kort.

8 Konklusjon

Applisering av ozonert vann på jordbærplantene i vekstsesongen kan være et alternativ til bruk av fungicider ved produksjon av jordbær. Det er behov for testing i større målestokk før det kan trekkes en sikker konklusjon. Både hyppighet av sprøyting og dosering under norske forhold må testes gjennom systematisk utprøving. Dersom metoden skal tas i bruk i kommersiell dyrking må det utvikles funksjonelt sprøyteutstyr og lage veiledere for praktisk gjennomføring. Videre må lovverket endres slik at det er tillat bruk. Når middelet er tillat brukt i konvensjonell drift kan arbeidet med å få det godkjent i økologisk landbruk. Videre bør det undersøkes grundigere om bruk av ozon på planter i vekst kan ha langvarig negativ effekt på andre organismer som kan bli eksponert for ozonholdig vann ved sprøyting av jordbærplantene.

9 Referanser

- Adachi, D. (2001) Virus inactivation by ozone, Master of Science thesis, University of Toronto
- Akey, D.H., Walton, T.E. (1985) Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Applied and Environmental Microbiology* 50(4): 882-886
- Bhadra, R. (2015) Using ozone for integrated pest management in viticulture. *Engineering and Technology for Sustainable World*. 22(4):15-17
- Bolton, D.V., Zee, Y.V., Osebold, J.W. (1982) The biological effects of ozone on representative members of five groups of animal viruses. *Environmental Research* 27(2) 476-484
- Botzenhart, K., Tarcson, G.M., Ostruschka, M. (1993) Inactivation of Bacteria and Coliphages by Ozone and Chlorine Dioxide in a Continuous Flow Reactor. *Water Science & Technology*, (27) 363-370
- Cataldo, F. (2003) On the action ozone on proteins. *Polymer Degradation and Stability*, (82) 105-114. Greenwood, N. N., Earnshaw A., (1997) *Chemistry of the Elements* (second ed.), Butterworth-Heinemann, pp. 607-608
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K., Seydim A.C. (2004) Use of ozone in the food industry. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37:453–460
- Hall, R. M., Sobsey, M. D. (1993). Inactivation of hepatitis A virus and MS2 by ozone and ozone–hydrogen peroxide in buffered water. *Water Science Technology*, 27(3-4), 371–378.
- Hill, A., G., Rice, R., G., (1982) Historical background, properties and applications, in Rice, R.G. and Netzer, A. (eds) *Handbook of ozone technology and application*, Vol. 1, Ann Arbor Science Publisher, pp 1-37.
- Ishizaki, K., Shinriki, N., Matsuyama, H. (1986) Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone. *Journal of Applied Microbiology*, 60: 67-72.
- Kim, C. K., Gentile, D. M., & Sproul, O. J. (1980). Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(1), 210–218.
- Komanapalli, I.R., Lau, B.H.S. (1996) Ozone-induced damage of *Escherichia coli* K-12. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 46: 610-614
- Manley, T.C. and Niegowski, S.J., (1967) *Ozone*, in *Encyclopedia of Chemical Technology*, 2 edn, New York, NY: John Wiley & Sons, pp 410-432
- Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E.K., Tsiotsias, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2005) Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. *Food Microbiology*, 22: 1–9.

- Masschelein, W.J. (1992) *Unit processes in Drinking Water Treatment*, New York, NY: Marcel Dekker AG.
- Mustafa M.G. (1990) Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radical Biology and Medicine* (9) 245-265
- O'Donnell, C., Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Rice, R.G. (eds) (2012) *Ozone in food processing*. Blackwell Publishing. Chichester, UK. 298 pp.
- Restaino, L., Frampton, E.W, Hemphill, J.B., Palnikar, P. (1995) Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 61(9): 3471-3475
- Rice, R.G. (1986) Application of ozone in water and wastewater treatment, in Rice, R.G. Bollyky L.J. and Lacy, W.J. (eds). *Analytical Aspects of Ozone Treatment of Water and Wastewater*, Chelse, MI: Lewis Publisher, pp 7-26.
- Roy, D., Englebrecht, R.S., Chian, E.S.K. (1982) Comparative inactivation of six enteroviruses by ozone, *Journal of the American Water Works Association*, 74: 660-664
- Scott, D.B.M. (1975) The effect of ozone on nucleic acids and their derivatives. W.J Blogoslawski, R.G Rice (Eds.), *Aquatic Application of Ozone*, International Ozone Institute, New York, NY, pp 1-15
- Victorin, K. (1992) Review of the genotoxicity of ozone. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 277(3): 221-238
- von Gunten, U. (2003) Ozonation of Drinking Water: Part I. Oxidation Kinetics and Product Formation. *Water Research*, 37, 1443-1467
- Wibe, A. (2017) Ozonvann mot gråskimmel i jordbær. NORSØK RAPPORT 18 pp, Vol 2/Nr 7/2017
- Wibe, A. (2017) Ozonvann mot gråskimmel i jordbær. NORSØK rapport 2(7), 18 sider.
- Young, S.B, Setlow, P. (2004) Mechanisms of *Bacillus subtilis* spore resistance to and killing by aqueous ozone. *Journal of Applied Microbiology*, 96:1133–1142



Norsk senter for økologisk landbruk, NORSØK er ei privat, sjølvstendig stifting.

Stiftinga er eit nasjonalt senter for tverrfagleg forskning og kunnskapsformidling for å utvikle økologisk landbruk. NORSØK skal bidra med kunnskap for eit meir berekraftig landbruk og samfunn. Fagområda er økologisk landbruk og matproduksjon, miljø og fornybar energi.

**Norsk senter for økologisk landbruk, NORSØK / Gunnars veg 6 / NO-6630 TINGVOLL/
Telefon: +47 930 09 884 / E-post: post@norsok.no / www.norsok.no**