

Projectnr.: 71.601.04
Chaperonnes, deelproject 4

Projectleider: Dr. M.S. Leloux

Rapport 2001. 007

April 2001

Chaperonnes, deelproject 4
Rapportage Technology Scan

Auteurs: ID – Lelystad: Prof.Dr. R.H. Meloen, Dr. H.B. Oonk, Dr. D.F.M. van de Wiel,
Dr. M. Swanenburg, Drs. V.M.C. Rijsman
RIKILT: Dr. M.S. Leloux, W. Haasnoot
TNO Voeding: Ing. A. van der Gaag, Dr. A.C. Tas, Dr. S. Bijlsma

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 0317-475400
Telefax 0317-417717

Copyright 2001, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwproducten (RIKILT).
Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

auteur(s)

programmaleiders (4x)

in- en externe communicatie (2x)

bibliotheek (3x)

EXTERN:

ID-Lelystad: prof. dr. E. Claessen, dr. H.A.P. Urlings

LEI: ir. J. Teeuw, prof. dr. ir. G. Beers, prof. dr. ir. F. Zacchariasse

TNO Voeding: ir. A. Schwarz-Bovee, ir. E.W. Oosterom, dr. H. Hofstra

LNV directie VVM: dr. B. Rietveld-Piepers, ir. E.F.F. Hecker, ir. G.A. Koopstra

LNV directie FEZ: dr. P.H. Draaisma

LNV directie DL; ir. G.H.M. Wellen

RWV mr.drs. P. Cloo, drs. J. van den Berg

WVS: drs. D.G. Groothuis, drs. H. Verburg, drs. A. Ottevanger

RIVM: dr. W.H. Konemann, dr. A.J. Baars

NVA: dr.ir. W. de Wit, mr. W.J. Wolff

Expertise centrum LNV: ir. C.J.G. Wever, dr. E. van Klink

RWVcentraal: dr. M. Schreurs

RIVM: dr. R.W. Stephany

INHOUD	blz. 1
SAMENVATTING	3
1 INLEIDING	5
2 WERKWIJZE	6
3 CORE EXPERTISE	7
4 RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	30
6 REFERENTIES	
BIJLAGEN	
Bijlage A Deelrapport ID – Lelystad	
Bijlage B Deelrapport RIKILT	
Bijlage C Deelrapport TNO Voeding	
Bijlage D Verslag Senter Brokerage Event “Snelle detectiemethoden”	

SAMENVATTING

In dit rapport worden de activiteiten beschreven die uitgevoerd zijn in het kader van deelproject 4 van het programma Chaperonnes, de Technology Scan.

Het doel van het Chaperonnes-project (Chain of Animal Products with an Early Response, based on New Expertise about Surveillance) is het verrichten van onderzoek naar het ontwikkelen en implementeren van een geïntegreerd, innovatief en strategisch monitorings- en surveillancesysteem voor de varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketen.

De werkzaamheden zijn onderling verdeeld over de instituten ID-Lelystad, RIKILT en TNO Voeding naar aanleiding van de core expertises van ieder instituut.

In deelproject 1 is aangegeven welke gevaren t.a.v. voedselveiligheid op welke plaatsen in de onderzochte ketens (varkensketen en de rundvlees/zuivelketen) zouden moeten worden gemeten. In dit deelproject 4 is geïnventariseerd welke technologieën voor deze metingen beschikbaar zijn of in de toekomst beschikbaar komen

In de resultaten en discussie wordt in tabellen weergegeven welke technologieën onderzocht zijn, waar in de keten ze ingezet kunnen worden en welke analisten met deze technologieën gemeten kunnen worden. Tevens worden de zwakke en sterke punten van de verschillende technologieën beschreven.

Welke technologieplatforms er in de toekomst gebruikt gaan worden, wordt onderbouwt in de conclusies en aanbevelingen. Daarnaast wordt bediscussieerd dat meten alleen niet voldoende is maar dat er een samenhang moet zijn met andere parameters die een rol spelen bij het opzetten van monitorings- en surveillancesystemen. Een gezamenlijke inspanning van de Nederlandse onderzoeksinstituten en bedrijven is van belang om in de toekomst meetsystemen tot onze beschikking te hebben waarmee snelle, betrouwbare en goedkope analyses uitgevoerd kunnen worden.

1 INLEIDING

Het programma Chaperonnes (Chain of Animal Products with an Early Response, based on New Expertise about Surveillance) heeft als doel het verrichten van onderzoek naar het ontwikkelen en implementeren van een geïntegreerd, innovatief en strategisch monitorings- en surveillancesysteem in zowel de zuivel- als de vleesketen. Dit systeem moet zijn gericht op een vernieuwde aanpak met betrekking tot het meten van gevaren zowel op het gebied van diergezondheid, volksgezondheid als ook handelsvrijwaring.

In de eerste fase van het programma is gewerkt aan een kwalitatieve inventarisatie van bestaande risico's in varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketens (Rapport 2000.003, ref. 1). De ketens bedoeld in dit programma starten bij het diervoeder op de boerderij en eindigen bij de consument. In de tweede fase worden de verschillende deelprojecten verder uitgewerkt:

Deelproject 1: Inventarisatie gevaren en vaststellen indicatoren

In deelproject 1 (looptijd jan 2000 – jan 2001) zijn de volksgezondheids-, diergezondheids- en handelsvrijwaringsgevaren, die kunnen voorkomen in de varkensvlees-, rundvlees-, en/of zuivelketen, geïnventariseerd en geclusterd op basis van gemeenschappelijke kenmerken. Er is een basisset indicatoren vastgesteld, die op aangegeven plaatsen in de keten, "kruispunten", waargenomen kunnen worden (rapport 2001.005 en rapport 2001.006, ref. 2).

Deelproject 2: Programma van eisen

Het doel van deelproject 2 (looptijd september 2000 – maart 2001) is het definiëren van een "programma van eisen" ten behoeve van een alternatief monitoringssysteem. Het gaat hierbij om het inventariseren van de randvoorwaarden voor implementatie. (rapport 2001.009, ref 3)

Deelproject 3: Ontwerp van alternatieve systemen

Het doel van deelproject 3 (looptijd eind 2001 – 2002) is het ontwerpen van een alternatief monitoringssysteem, gebaseerd op de indicatoren, zoals vastgesteld in deelproject 1, en het programma van eisen, zoals vastgesteld in deelproject 2.

Deelproject 4: Technology scan

Het doel van deelproject 4 "Technology Scan" (looptijd: mei 2000 – februari 2001) is het inventariseren van mogelijke nieuwe in de ketens toepasbare meettechnieken voor het identificeren en kwantificeren van risico's. Tevens zal een aanbeveling gedaan worden welke technologieën binnen 1-3 jaar als prototype getest kunnen worden.

Het onderzoek voor deelproject 4 is uitgevoerd door ID-Lelystad (projectleider), RIKILT en TNO Voeding. Het deelproject "Technology Scan" is bedoeld om beschikbare en in ontwikkeling zijnde nieuwe technologieën te identificeren en te inventariseren.

In het hoofdstuk "Werkwijze" wordt aangegeven op welke manier de projectgroep vormgegeven heeft aan het project en welke bronnen aangesproken zijn om de gewenste informatie te verkrijgen. Dit is gekoppeld aan de expertises van de individuele deelnemers. De expertises worden daarom ook weergegeven in het hoofdstuk "Core expertise".

De omvang van de resultaten en de daarbij behorende discussie is aanzienlijk. Daarom is ervoor gekozen om de deelrapporten van de verschillende instituten op te nemen als bijlagen en wordt er een beknopt overzicht gegeven in het hoofdstuk "Resultaten en Discussie".

Het rapport wordt afgesloten door het hoofdstuk "Conclusies en Aanbevelingen" waarin een gezamenlijke conclusie wordt gegeven met daaraan gekoppeld aanbevelingen voor vervolg onderzoek binnen het Chaperonnes project.

2 WERKWIJZE

De deelnemers hebben zich georiënteerd op het inventariseren van methoden en technologieën die direct of op langere termijn ingezet kunnen worden bij de monitoring van risico's in de vlees- en zuivelketen. Het gaat hierbij om de hele keten, vanaf veevoer op de boerderij via fokkerij, houderij en slachtlijn tot en met het eindproduct in de winkel en op het bord van de consument. Hiervoor is literatuuronderzoek gedaan, zijn deskundigen geraadpleegd en is informatie verzameld via searches op het internet. Tevens zijn door de deelnemers de volgende congressen en bijeenkomsten bezocht:

Brokerage Event "Snelle detectiemethoden" georganiseerd door Senter, waar nieuwe reeds ontwikkelde snelle methoden werden gepresenteerd.

Biosensors 2000, 24-26 mei 2000, San Diego, USA. Het twee jaarlijkse congres op het gebied van biosensoren.

Workshop Sensortechnologie 2000, The Sense of Contact between research, business & education, 29 en 30 maart 2000, Zeist.

Expertworkshop "Technological Premises for Sensor Technologies" georganiseerd door STC (Sensor Technology Center) 19 februari 2001, Kopenhagen Denmark.

Via projectvergaderingen is de voortgang bewaakt, zijn bevindingen uitgewisseld en werden nieuwe taken voor de komende tijd gedefinieerd.

De projectgroep heeft zich geconcentreerd op bepalingen en meetmethoden voor pathogenen (bacteriën/virussen/parasieten), residuen (sulfonamiden, antibiotica, etc.) en markers voor tracing en tracking (fraude). Naast op korte termijn inzetbare technieken is vooruitgekeken naar technologieën die in maximaal 5-10 jaar vanaf nu toegepast kunnen worden.

Aan het einde van het project zijn meettechnieken geïdentificeerd die in het 3^e jaar van het programma (2001) gebruikt kunnen worden om analysemethodes te ontwikkelen voor het meten van gevaren in de voedselketen.

Uitgaande van de expertises van de aan het project deelnemende instituten zijn de taken verdeeld:
ID-Lelystad: detectie van pathogenen (assay ontwikkeling en array technologie)

RIKILT: detectie van residuen (dierbehandelingsmiddelen, contaminanten en allergenen) en fraude (tracing and tracking).

TNO: implementatie van nieuwe technologieën

Om de technologieën te kunnen vergelijken zijn de volgende parameters door de projectgroep gedefinieerd:

- Capaciteit, aantal monsters per tijdseenheid.
- Analysetijd, dit is de totale tijd van monsternamen, monstervoorbewerking en detectie.
- Investeringskosten van de apparatuur die nodig is voor het uitvoeren van de analyses
- Kosten per analyse, veelal worden hier de kosten genoemd exclusief arbeid.
- Plaats van toepasbaarheid in de keten, er zijn drie fases gedefinieerd n.a.v. deelrapport 1: boerderijfase, verwerkingsfase en de retail.

- Potentieel toepasbaar: binnen welke tijdstermijn een technologie toepasbaar is voor het meten in de keten.

Ieder instituut heeft een eigen deelrapport geschreven over de haar toegewezen taken. Omdat de informatiedichtheid in de deelrapporten erg hoog is, is er voor gekozen om de deelrapporten als bijlage toe te voegen aan de eindrapportage.

Om de resultaten op een leesbare manier te presenteren zijn de hieronder beschreven acties ondernomen.

Als uitgangspunt om de resultaten te ordenen is er gebruikgemaakt van de kruispunten die binnen deelproject 1 zijn gedefinieerd (zie tabel 1 in het hoofdstuk "Resultaten en Discussie").

Door de grote variëteit in de onderzochte technologieën zijn de technologieën gerangschikt in 10 hoofdgroepen. Deze worden weergegeven in tabel 2 van hoofdstuk "Resultaten en Discussie" en afgezet tegen de tijdsschaal waarop een technologie toepasbaar zal zijn. Mede wordt aangegeven in welke fase van de keten de technologie ingezet kan worden.

In tabel 3 van hoofdstuk "Resultaten en Discussie" wordt aangegeven welke gevaren in welke matrices gemeten kunnen worden met de verschillende technologieën. Tabel 4 van hetzelfde hoofdstuk geeft een overzicht van technologieën die gebruikt kunnen worden afgezet tegen de parameters die hierboven genoemd zijn.

3 CORE EXPERTISE

ID-LELYSTAD

ID-Lelystad beschikt over de expertise en faciliteiten voor veterinair zoötechnisch onderzoek op hoog niveau op alle gebieden van de dierlijke productieketen. Dierziekten vormen een grote economische schadepost, omdat ze een gevaar kunnen zijn voor dier- en volksgezondheid als ook handelsbelemmerend werken. ID-Lelystad heeft veel kennis en deskundigheid in huis op het gebied van bacteriologie, virologie, immunologie, pathologie en epidemiologie, genetica en fokkerij, en moleculaire herkenning. Naast fundamenteel-strategisch onderzoek wordt toepassingsgericht onderzoek gedaan ter ontwikkeling van diagnostische testen en (marker)vaccins, vooral gericht op voorkomen en detectie van een besmetting met pathogene organismen (bacteriën, virussen, mycoplasma's, prionen). ID-Lelystad produceert zelf onder andere (marker)vaccins en diagnostische testen, die het resultaat zijn van eigen research. Enkele voorbeelden: vaccins tegen MKZ, het marker-vaccin E2 tegen KVP; diagnostische tests voor varkenspest (CSFV), blaasjesziekte (SVD), parvovirus, Aujeszky (PRV), BRSV, IBRV, BVDV, Leptospira hardjo, BSE; sensitines voor de diagnostiek van runderTBC, aviaire TBC, paratuberculose en Brucellose.

Ruime ervaring is aanwezig op het gebied van moleculaire herkenning, m.b.v. peptide-arrays analyseren en detecteren epitopen en bindingsplaatsen, en het ontwikkelen van mimotopen. Tevens zijn op het ID-Lelystad de eerste synthetische peptide vaccins ontwikkeld (Parvo, GnRH). Op het gebied van de dierlijke productie keten (HACCP) lopen projecten gericht op de veiligheid van vlees, op alternatieve varkenstransport systemen, die salmonella-besmetting voorkomen en op de vleeskuikenketen waar de darmflora gewijzigd wordt door modificatie van het voer. Ook is er ervaring met DNA-arrays. Grootschalige genetische (DNA) detectie van schapen op scrapie-gevoeligheid m.b.v. DNA-chip technologie is nu mogelijk. Ontwikkeling van chips voor multi-diagnostiek van infectieziekten is gaande, voor genomische detectie van pathogeen-specifiek DNA.

RIKILT

Het RIKILT heeft een brede expertise m.b.t. de detectie van residuen (dierbehandelingsmiddelen en (milieu) contaminanten), (allergene) eiwitten en pathogenen in voedingsmiddelen en grondstoffen. Hiervoor zijn de benodigde screenings- (moleculair biologisch, microbiologisch, immunochemisch, histologisch) en bevestigingstechnieken (GC- and LC-MS, NMR) aanwezig en zijn legio methoden ontwikkeld.

Voor de ontwikkeling en uitvoering van diagnostische testen beschikt het instituut over de mogelijkheid om poly- and monoklonale antilichamen te maken en te valideren. Inmiddels zijn antilichamen aanwezig tegen diverse dierbehandelingsmiddelen (sulfonamiden, aminoglycosiden, chlooramfenicol, corticosteroiden, nortestosteron, estradiol, testosteron, ethynylestradiol, progesteron en beta-agonisten) en allergene eiwitten (pinda, eigeel, heelei, hazelnoot, sesamzaad, lupine, soja, tarwe en erwt).

Binnen de groep Immunochemie is ruime ervaring aanwezig m.b.t. de ontwikkeling van immunochemische testen (inclusief de striptest technologie) voor het aantonen van laagmoleculaire stoffen en eiwitten in diverse voedingsmiddelen (melk, vlees, organen, etc) en aanverwante producten (urine, gal, ogen, haar, etc.). Sinds juni 2000 beschikt het instituut over een BIACORE 3000 optische biosensor.

TNO VOEDING

De afdeling Verpakkingen en Sensortechnologie van TNO Voeding bestaat uit vier productgroepen. Twee zijn gerelateerd aan verpakkingsonderzoek en twee aan sensortechnologie. De sensortechnologie groepen (opto-chemische en biochemische sensoren) ontwikkelen sensoren en sensorapplicaties. Hiervoor is kennis in huis van verschillende fysische principes die als basis dienen voor de sensoren: o.a. fluorescentie, luminescentie, absorptie, elektronica, surface plasmon resonantie, interferometrie, bulk acoustic wave, (cyclische)voltametrie, conductometrie, fiber optics. Daarnaast is er expertise op het gebied van coatings (chemische en biochemische) die aangebracht worden op het sensoroppervlak. Naast in de literatuur beschreven coatings worden binnen de twee groepen ook nieuwe coatings ontwikkeld. Vervolgens wordt er veel aandacht besteed aan methode ontwikkeling. Getracht wordt om een sensorapplicatie te ontwikkelen die direct het analiet kan meten. Wanneer dat niet mogelijk is wordt een monstervoorbewerking afgestemd op het gebruikte sensorsysteem. Tevens worden bestaande sensoren en analysesystemen vereenvoudigd en/of aangepast aan de wensen van de klant. Ook helpt TNO voeding mee bij de implementatie van de sensorapplicatie in de meetomgeving.

Een ontwikkeling die sinds een aantal jaren gaande is, is het ontwikkelen van in verpakkingen geïntegreerde "sensoren". Te denken valt hier aan contactloze zuurstof metingen in verpakkingen of stickers in verpakkingen waarmee tijd geïntegreerde metingen gedaan kunnen worden voor parameters als temperatuur, zuurstof, kooldioxide of versheid. De samenwerking met de twee productgroepen van het verpakkingsonderzoek is hierbij essentieel. Deze groepen hebben expertise op het gebied van de doorlaatbaarheid van polymere verpakkingen als ook op het gebied van wetgeving aangaande het gebruik van dit soort indicatoren in voedingsverpakkingen. Aan welke eisen moeten polymeren voldoen omgebruikt te mogen worden in verpakkingen en in verpakkingen gebruikte sensoren.

Doordat steeds meer gecombineerde analyses uitgevoerd worden is het nodig om ook aandacht te besteden aan de dataverwerking. Daarom wordt er in steeds toenemende mate gebruik gemaakt van de expertise van de afdeling Voedingsmiddelen- en voedingsmiddelen-supplementen analyse. Binnen deze afdeling is veel kennis aanwezig op het gebied van complexe data-analyse.

4 RESULTATEN EN DISCUSSIE

Het doel van het Chaperonnes-project is het verrichten van onderzoek naar het ontwikkelen en implementeren van een geïntegreerd, innovatief en strategisch monitorings- en surveillancesysteem voor de varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketen. In deelproject 1 zijn de volksgezondheids-, diergezondheids- en handelsvrijwaringsgevaaren in de ketens geïnventariseerd, geclusterd op basis van gemeenschappelijke kenmerken en zijn plaatsen in de ketens vastgesteld waar meerdere gevaren tegelijk kunnen worden waargenomen (zogenaamde kruispunten, zie Tabel 1).

Tabel 1. Indicatoren op kruispunten in de vlees- en zuivelketen (overgenomen uit concept verslag van deelproject 1)

Kruispunt	Indicatoren	Gevaren	Matrix
Voer	- Aanwezigheid gevaar	- Mycotoxinen - Chemische contaminanten - Antibiotica	- Voer
Boerderij (houden)	- Bedrijfsstatus infectieuze ziekten (gevaar of antilichamen) - Bedrijfsprofiel hygiëne - Symptomen	- Infectieuze dierziekten (vrijwaring) - Infectieuze dierziekten (bedrijfsgebonden) - Dierbehandelingsmiddelen	- Bloed/serum - Urine/mest - Overig diermateriaal - Destructie-materiaal
Boerderij (melken/ opslag melk)	- Bedrijfsstatus infectieuze ziekten (gevaar of antilichamen) - Bedrijfsprofiel hygiëne	- "Alle"	- Melk
Verwerking	- Aanwezigheid gevaar - Bedrijfsprofiel hygiëne (HACCP, GMP) - Indicatoren (temp.)	- "Alle"	- Melk
Slachterij	- Aanwezigheid gevaar of antilichamen - Bedrijfsprofiel hygiëne	- "Alle"	- Steekbloed - Vleesdrip
Retail	- Aanwezigheid gevaar - Ketenprofiel (gevaar/ antilichamen/andere indicatoren)	- Voedselpathogenen - Contaminanten/residuen	- Product.

In de Technology Scan (deelproject 4) werd gekeken naar mogelijke nieuwe in de ketens toepasbare meettechnieken voor het identificeren en kwantificeren van potentiële gevaren in de ketens. De meetpunten werden vastgesteld in de *boerderijfase* (voor de kruispunten voer en boerderij), de *verwerkingsfase* (slachterij en melkfabriek) en *retail*.

Gekeken is naar universele technieken (in principe toepasbaar voor diverse gevaren) die op korte termijn (binnen nu en 1 jaar), langere termijn (1-5 jaar) en in de verdere toekomst (5-10 jaar) toepasbaar kunnen zijn. In de verschillende fasen van de vlees- en zuivelketen zullen verschillende technieken gewenst zijn. Er zijn tien technieken gedefinieerd, die nader worden belicht, en de potentiële toepassingen (op korte, langere en in de verdere toekomst) in de boerderij-, verwerkings- en retail fase zijn weergegeven in Tabel 2.

Tabel 2: Gedefinieerde technieken en de potentiële toepasbaarheid in de boerderijfase (B), de verwerkingsfase (V) en retail (R) op korte termijn (0-1 jaar), langere termijn (1-5 jaar) en de verdere toekomst (5-10 jaar).

Nr.	TECHNIEK	POTENTIEEL TOEPASBAAR (jaar)		
		0-1	1-5	5-10
1	IMMUNOASSAYS	V		
2	RECEPTORASSAYS		B,V	
3	INDICATOREN		R	
4	STRIPTESTEN	B,R		
5	ARIS TECHNOLOGIE	B,V		
6	IMMUNOCHIP		B,V	
7	SENSOREN	V	B	
8	ARRAY SENSOREN			B,V
9	μ TAS			B,V
10	DNA-TECHNIEKEN			B,V

BOERDERIJFASE (B):

Het meten in de boerderijfase wordt gezien als incidenteel (bij calamiteiten).

Op korte termijn is het meten van specifieke gevaren met behulp van striptesten (op basis van de Sol Particle Immuno Assay (SPIA) en de ARIS technologie) mogelijk. Op langere termijn (1-5 jaar) zouden de specifieke striptesten kunnen worden vervangen door receptorassays of door de immunochip waarmee meerdere gevaren gelijk gemeten kunnen worden. Daarna (5-10 jaar) worden mogelijkheden gezien voor (array)biosensoren, μ TAS en de DNA-technieken.

VERWERKINGSFASE (V):

Het meten in de verwerkingsfase wordt gezien als meer structureel en naar meerdere gevaren tegelijk (high through-put, multi-analyte).

Op korte termijn zijn er mogelijkheden voor het meten van specifieke gevaren met behulp van (geautomatiseerde) immunoassays, ARIS technologie en/of gecombineerde biosensor immunoassays. Op langere termijn (1-5 jaar) zouden enkele immunoassays vervangen kunnen worden door receptorassays (groepsspecifiek i.p.v. analiet specifiek) en worden mogelijkheden gezien voor een geautomatiseerde toepassing van de immunochip. In de verdere toekomst (5-10 jaar) zou door toepassing van array sensoren het aantal tegelijkertijd te meten gevaren aanzienlijk kunnen worden uitgebreid. Tegen die tijd worden er ook mogelijkheden gezien voor het toepassen van μ TAS en geautomatiseerde DNA-technieken.

RETAIL (R):

Voor het aantonen van contaminanten/residuen zullen slechts incidenteel metingen worden uitgevoerd waarbij striptesten op korte termijn inzetbaar zouden kunnen zijn. Voor het meten van bederf parameters (micro-organismen en chemische componenten) zou op langere termijn gedacht kunnen worden aan indicatoren (op de verpakking).

TECHNIEKEN:

Het aantal technieken dat gebruikt kan worden voor het meten van specifieke gevaren is groot. Omdat het aantal potentieel te meten gevaren eveneens groot is, is met name gekeken naar universeel toepasbare technieken die in principe gebruikt kunnen worden voor het meten van meerdere totaal verschillende gevaren (b.v. residuen van geneesmiddelen/contaminanten en pathogenen). Hierna worden de mogelijke toepassingen van deze technieken en hun specifieke voor- en nadelen kort beschreven. Meer gedetailleerde beschrijvingen zijn te vinden in de bijlagen.

1. IMMUNOASSAYS

Immunoassays, in verschillende formats, zijn mogelijk voor het aantonen van de meeste gevaren (van pathogenen en virussen tot residuen van contaminanten, etc.) zoals aangegeven in de rapportage van deelproject 1(bijlage 3c). Het meest gebruikt format is de Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) in een microtiterplaat (96-, of 384- wells platen). Een "high through-put" ELISA voor de detectie van sulfadimidine in varkenssera (2400 monsters in 8 uur) is eerder beschreven door Ram e.a. (1991). In principe is het mogelijk om in 1 microtiterplaat meerdere gevaren gelijktijd te meten en apparatuur is commercieel verkrijgbaar om de uitvoering geheel te automatiseren. Een doorontwikkelde technologie op dit principe is het MAS principe dat bij ID-Lelystad is ontwikkeld in samenwerking met meerdere instituten waaronder TNO Voeding.

2. RECEPTORASSAYS

Receptorassays zijn minder universeel toepasbaar dan immunoassays. Voor het meten van residuen van dierbehandelingsmiddelen en (milieu)contaminanten kunnen zij het voordeel hebben dat hiermee groepen van residuen kunnen worden gemeten waardoor het aantal uit te voeren analyses kan worden gereduceerd. Receptorassays zijn beschreven voor het meten van oestrogene stoffen, beta-agonisten en PCB's/dioxinen (Ah receptor). TNO ontwikkeld momenteel nieuwe coatingsprincipes voor de immobilisatie van receptoren aan verschillende oppervlakken.

3. INDICATOREN (stickers)

Indicatoren zijn stickers die in of op een verpakking aanwezig zijn. Door een verandering van de indicator, als gevolg van een chemische of biochemische interactie, kan de consument of de retailer zien of een bepaald product nog voldoet aan de gestelde eisen. Het voordeel van deze indicatoren is dat niet meer gewerkt hoeft te worden met houdbaarheidsdata maar dat het product zelf aangeeft of consumptie mogelijk is ja of nee. Op dit moment kunnen deze indicatoren nog niet in grote hoeveelheden gebruikt worden om dat er nog geen "food approval" is voor de materialen waar de indicatoren van gemaakt zijn. Zowel bij VTT in Finland als ook bij TNO Voeding lopen onderzoeken op het gebied van deze indicatoren.

4. STRIPTESTEN

Strip testen zijn er in diverse formats. De meest eenvoudige test is de éénstaps striptest waarbij alle benodigde reagentia in het testdevice aanwezig zijn. Het enige dat moet worden toegevoegd is het vloeibare monster(extract). Aangezien in dit type testen colloïdale deeltjes (goud, koolstof, latex, etc.) als labels worden gebruikt spreekt men van "sol particle immunoassay" (SPIA). Er zijn toepassingen van SPIA's beschreven voor het aantonen van diergeneesmiddelen in urine en melk, (allergene) eiwitten in voedingsmiddelen en pathogenen. SPIA's zouden op de boerderij of in de retail kunnen worden toegepast voor het meten van specifieke gevaren. Voordelen zijn: bewezen techniek in de humane diagnostiek, snel uitvoerbaar (5-10 min), eenvoudig, geen investering in apparatuur en lange houdbaarheid. De techniek is universeel toepasbaar voor residuen, eiwitten en pathogenen (mits er antilichamen zijn). Een nadeel is de hoge specificiteit. Voor ieder gevaar moet een andere test worden gebruikt.

5. ARIS TECHNOLOGIE

Naast snelheid (2-10 min) en eenvoud (homogene test) heeft de ARIS techniek als voordeel dat hij toegepast kan worden zowel in strip testen als in high-throughput systemen (HTS). In een samenwerking tussen ID-Lelystad, Prolion BV, Holland Genetics, WUR en UU wordt onderzoek gedaan naar een on-line meting van (een) melkcomponent(en). In een samenwerking met de Technische Universiteit van München wordt gekeken naar een striptest voor diagnostiek van besmettelijke dierziekten. Er zijn reeds toepassingen op het gebied van medische diagnostiek en analyse van waterverontreiniging.

6. IMMUNOCHIP

In een samenwerkingsverband tussen RIKILT en de Technische Universiteit Delft (TUD) wordt momenteel onderzoek uitgevoerd naar de ontwikkeling van een volstrekt nieuw type immuno chip (proteïn micro-array). Het is de bedoeling dat binnen enkele jaren een array ontwikkeld wordt voor de detectie van 10-20 verschillende gevaren. De array wordt in een testdevice geplaatst die eenvoudige uitvoering en uitlezing mogelijk maakt waardoor het geheel in de boerderijfase uitvoerbaar moet zijn. In een later stadium worden mogelijkheden gezien om immuno chips in geautomatiseerde systemen en μ TAS in te bouwen.

7. SENSOREN

Sensoren zijn instrumenten die een chemische of biochemische interactie aan een oppervlak omzetten in een fysisch signaal. Dit signaal kan een optische, elektrochemische, chemische of fysische grootheid zijn.

7.1 Optische sensoren

Een aantal optische sensoren is commerciëel verkrijgbaar. Marktleider is de firma Biacore AB (Uppsala in Zweden) die optische sensoren levert gebaseerd op het principe van Surface Plasmon Resonance (SPR). Het grote voordeel van SPR is dat een biomoleculaire interactie direct (zonder labeling) zichtbaar is waardoor de techniek universeler toepasbaar is dan b.v. ELISA's. Er zijn applicaties beschreven voor het meten van residuen van geneesmiddelen in voedingsmiddelen, antilichamen, bacteriën, virussen, etc.

In de nieuwe generatie geautomatiseerde biosensoren van Biacore AB (BIACORE 2000 en 3000) zijn de vier flowcellen op de biosensorchip seriëel te koppelen waardoor het mogelijk is meerdere

assays tegelijkertijd uit te voeren. Recentelijk heeft de firma een 8-kanaals biosensor ontwikkeld waarmee 8 verschillende assays tegelijkertijd kunnen worden uitgevoerd.

Texas Instrument levert ook SPR apparatuur. Deze is in geminiaturiseerde vorm verkrijgbaar. Het grote verschil met de BIACORE is dat het klein is en zeer robuust. Vooral het prijs verschil valt op. Daarnaast komt op het gebied van de optische sensoren de siliciumtechnologie sterk op. Een bedrijf als Mierij Meteo levert volledig in silicium geïntegreerde sensoren. Hierdoor worden de sensoren erg klein en in de toekomst implementeerbaar in μ TAS systemen (zie punt 9).

7.2 Elektrochemische sensoren

Een groot voordeel van elektrochemische sensoren is het versterkende effect van de veelal biochemische interactie die op de sensor plaatsvindt. Een voorbeeld hiervan is een enzymmolecuul dat meerdere substraatmoleculen kan omzetten. Bij iedere omzetting wordt een signaal gegenereerd. Bij antilichaam of receptor interacties in combinatie met optische sensoren is dit een 1 op 1 interactie. Voorbeelden van dit type sensoren worden in de bijlagen uitgewerkt waarbij glucose metende sensoren het verst ontwikkeld zijn.

Momenteel worden er ook membranen op elektrochemische sensoren aangebracht met daarin receptoren die ionkanalen openen of sluiten. Dit type sensoren heeft als voordeel dat ze ongevoelig zijn voor α -specifieke interacties die in het monster aanwezig zijn. Momenteel zijn de membranen nog niet stabiel genoeg om direct toegepast te worden voor industriële toepassingen. Dit is wel een ontwikkeling die op de middellange termijn zijn vruchten kan afwerpen.

7.3 Chemische en Fysische sensoren

Naast de chemische en biochemische sensoren zijn er ook fysische sensoren. Te denken valt aan het meten van temperatuur, vochtigheid en pH. Deze sensoren worden nu veel gebruikt in de industrie. De reden daarvoor is dat de sensoren veelal robuust zijn en een lage kostprijs hebben. Een nadeel van dit soort sensoren is dat zij afgeleide parameters meten. Wanneer specifieke gevaren in de keten gemeten moeten worden zullen dit soort sensoren in de toekomst niet voldoende zijn.

8. ARRAY SENSOREN EN TECHNIKEN

In de farmaceutische en klinisch chemische industrie wordt momenteel veel energie gestoken in de ontwikkeling van array sensoren. Het grote voordeel is dat 1 monsters op veel parameters tegelijk getest kan worden. Het nadeel van deze sensoren is dat de productie van deze sensoren nogal kostbaar is. Voorbeelden hiervan zijn:

- fast multidimensional optical sensors (Technische Universiteit Munchen, <http://www.ch.tum.de/wasser/ag-weller/papers03.htm>)
- parallel affinity sensor array (PASA) (Technische Universiteit Munchen, <http://www.ch.tum.de/wasser/ag-weller/projects01.htm>)
- surface-enhanced laser desorption/ionization (SELDI) (CIPHERGEN, <http://www.ciphergen.com/>)

Omdat de financiële marge in de farmaceutische en klinisch chemische industrie groter is dan die in de voedingsmiddelen industrie loont het daar de moeite om array sensoren te gebruiken.

Voor de langere termijn kunnen dit type sensoren erg interessant zijn voor de voedingsmiddelen industrie. Er wordt o.a. door TNO Voeding gewerkt aan de ontwikkeling van generiek te gebruiken coatingsprocedures waardoor de productiekosten van array sensoren drastisch worden verlaagd.

Pepscan Systems BV is bezig om herbruikbare diagnostische platvormen te ontwikkelen, die zich goed lenen om gecombineerd te worden met fysisch-chemische sensoren. Daarnaast lenen array sensoren zich uitstekend voor niet specifieke interactie analyses. Dit is vergelijkbaar met de analysemethode die gebruikt wordt bij elektronische neuzen. Er kan dan gekeken worden hoe een monster met verschillende coatings op de arraysensor reageert. M.b.v. statische berekeningsmethodes (zie hiervoor de bijlage van TNO Voeding) kan dan een uitspraak gedaan worden over de aanwezigheid en de concentratie van specifieke componenten in het monster. Uiteindelijk zal de prijs per analyse met dit soort sensoren erg laag zijn doordat er geen of nauwelijks geen monstervoorbewerking meer nodig is.

9. μ TAS.

μ TAS staat voor micro Total Analysis Systems. Dit zijn geen sensoren maar sensoren kunnen wel geïntegreerd worden in dit soort systemen. Zoals het woord micro al aangeeft zijn dit geminiaturiseerde systemen. Niet alleen de omvang is verkleind maar ook de structuren in het systeem zijn op micro schaal uitgevoerd. Hierdoor zijn maar hele kleine hoeveelheden van het te testen monster nodig. Door de micro dimensie van de kanalen verlopen alle chemische en biochemische interactie veel sneller. De reactietijd neemt af met het kwadraat van de straal van de kanalen van een systeem. Het is daarom mogelijk om "lange" natchemische laboratoriumanalyses of kolomscheidingen in seconden uit te voeren. Dit opent mogelijkheden om dit soort analyses on-site uit te voeren i.p.v. op een laboratorium.

Dit is een ontwikkeling die op de lange termijn speelt, al hoewel delen van deze technologie al op de middellange termijn beschikbaar en bruikbaar zullen zijn in combinatie met hiervoor beschreven sensorprincipes.

10. DNA TECHNIEKEN.

Voor het detecteren van micro-organismen is het van belang om deze snel te kunnen identificeren. Dit is omdat binnen een groep van micro-organismen zowel pathogene als niet pathogene species voorkomen. Om de pathogene micro-organismen goed te kunnen onderscheiden is men aangewezen op DNA technologie.

Hoewel deze technologie op het laboratorium goed uit te voeren is wordt deze nog niet op grote schaal voor voedingsmiddelen onderzoek ingezet. Dit heeft te maken met de monstervoorbewerking en de analyse die beide erg arbeidsintensief zijn. Wellicht is het mogelijk dat op termijn (5-10 jaar) de DNA technologie kosten effectiever in te zetten is door de DNA technologie te combineren met de μ TAS technologie.

MONSTERVOORBEWERKING:

Een belangrijk onderdeel van een analyse is de monstervoorbewerking. Voor de meeste van de huidige analysemethodes is een uitgebreide monstervoorbewerking noodzakelijk. Dit heeft te maken met de manier van detectie. Door het gebruik van chemische of biochemische analyse technieken of sensoren kan de monstervoorbewerking drastisch vereenvoudigd worden. Op de lange termijn kunnen μ TAS systemen behulpzaam zijn bij de monstervoorbewerking doordat μ TAS systemen de voorbereiding in zeer korte tijd kan uitvoeren.. Door de vereenvoudiging en de versnelling van de monstervoorbewerking zal de prijs per analyse drastisch gereduceerd worden.

Om de grote hoeveelheid aan gegevens uit de drie deelrapporten weer te geven zijn twee tabellen gemaakt. In deze tabellen zijn vraagtekens ingevuld daar waar geen gegevens bekend waren. Dit

kan zijn gekomen doordat enerzijds geen gegevens aanwezig zijn of dat de leverancier van de methodes geen informatie heeft verstrekt. Daarnaast zijn niet de gegevens verwerkt zoals beschreven in hoofdstuk 2 van het TNO deelrapport. Dit omdat hier metingen beschreven worden die specifiek toegewezen kunnen worden aan de kruispunten en gevaren die beschreven zijn in het rapport van deelproject 1 "Inventarisatie gevaren en vaststellen indicatoren"

In tabel 3 zijn de onderzochte methodes uitgezet tegen de fase waarin de methode toepasbaar is gekoppeld aan de gevaren en matrices zoals gedefinieerd in het deelrapport 1 van het Chaperonnesproject.

Tabel 4 geeft een overzicht van de methoden uitgezet tegen de parameters zoals deze beschreven zijn in het hoofdstuk "Werkwijze" van dit rapport

METHODEN:	Boerderij fase (voer, houden, melken, melkopslag)	verwerking (slachterij, melkfabriek)	retail	
			gevaaren:	matrix:
indicatoren: zie Tabel 1:				
	gevaaren: - Mycotoxinen - <i>Chem. contaminanten</i> - Antibiotica - Dierbehandeling smiddelen - Pathogenen	Matrix: - Voer - Bloed/serum - Urine - Mest - Overig diermateriaal - Deconstructiemateriaal aal melk	gevaaren: - "Alle" - Steekbloed - Vleesdrip - Melk	matrix: - Product - Voedselproducten - Contaminanten/-residuen
gevalideerde testen vooral voor voedsel *				; div. andere voedingsmiddelen
MAS: multi-analyse systeem, HTS, voor snelle Elisa's	1-5	pathogenen; antibiotica; dierbeh.midd.	bloed	
RECEPTORASSAYS				
SNAP β -lactam test *	0-1	antibiotica	melk	vlees(producten)
div. microbiële inhibitie-testen, w.o. Premi@Test DSM *	0-1	antibiotica	vleesdrip	antibiotica
ATP-hygiëne monitoring	0-1	Pathogen	oppervlakken in slachtfaciliteit en melkfabriek	hygiëne
				melkproduct

METHODEN:	Boerderij fase (voer, houden, melken, melkopslag)	verwerking (slachterij, melkfabriek)	retail		
			gevaaren:	matrix:	
indicatoren: zie Tabel 1:					
	gevaaren:	Matrix:	gevaaren:	matrix:	matrix:
	- Mycotoxinen - Chem. <i>contaminanten</i> - Antibiotica - Dierbehandeling smiddelen - Pathogenen	- Voer - Bloed/serum - Urine - Mest - Overig diermateriaal - Destructiemateri aal	- "Alle"	- Steekbloed - Vleesdrip - Melk	- Product
	potentieel toepasbaar (fase)				
IMMUNOCHIP					
Immuno chip RIKILT/TUD	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	
Immunoanalyse op chip (Univ. Tübingen)	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	
SENSOREN					
Biacore	0-1	voer	antibiotica, dierbeh. midd.	serum, urine, melk	voedings- middelen
Biacore	1-5		"alle": o.a. testen ontwikkeld voor de MAS overzetbaar	"alle"	
Spreeta B	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	
IBIS	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	
IASys	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	

METHODEN:	toepasbaar (jaar) (fase)	Boerderij fase (voer, houden, melken, melkopslag)		verwerking (slachterij, melkfabriek)		retail		
		gevaren:	Matrix:	gevaren:	matrix:	gevaren:	matrix:	
		indicatoren: zie Tabel 1:						
		- Mycotoxinen - Chem. <i>contaminanten</i> - Antibiotica - Dierbehandeling smiddelen - Pathogenen	- Voer - Bloed/serum - Urine - Mest - Overig diermateriaal - Destructiemateriaal	- "Alle"	- Steekbloed - Vleesdrip - Melk	- Voedselpathogenen - Contaminanten/residuen	- Product	
	potentieel							
SIOS B	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"			
amperom. immunosensor (PSI-CH)	1-5	Antibiotica	melk	antibiotica	melk			
DIA/PRO BioChip van Umedik Inc.	5-10					pathogenen	voedingsmiddelen	
BIODAM	5-10	Antibiotica	melk	antibiotica	melk			
FABS biosensor, comb. met AFM	5-10			pathogenen	"alle"			
ARRAY TECHNOLOGIE en								
ARRAY SENSOREN								
"automated dipstick"	5-10	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"			
fast multidimensional optical immunosensor (TUM-DE)	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"			
PASA parallel affinity sensor array (TUM-DE)	1-5	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"			

METHODEN:	Boerderij fase (voer, houden, melken, melkopslag)	verwerking (slachterij, melkfabriek)		retail		
		gevaaren:	Matrix:		gevaaren:	matrix:
		indicatoren: zie Tabel 1:				
		gevaaren: - Mycotoxinen - <i>Chem. contaminanten</i> - Antibiotica - Dierbehandeling smiddelen - Pathogenen	Matrix: - Voer - Bloed/serum - Urine - Mest - Overig diermateriaal - Destructiemateri aal	gevaaren: - "Alle"	matrix: - Steekbloed - Vleesdrip - Melk	matrix: - Product - Voedselpathogenen - Contaminanten/ residuen
	potentieel					
ProteinChip/SeldiTof (Ciophergen)	5-10	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"	
Torsana Biochips, Unique Flow	5-10	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"	
Glassfibers + Bead Array (Illumina)	5-10	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"	
Antibody chips (Pat Brown, Stanford)	5-10	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"	
Antilichaam arrays (Nature Biotech)	5-10	?	?	?	?	
Protein arrays (Science)	5-10	?	?	?	?	
µTAS	5-10	"alle"	"alle"	"alle"	"alle"	

METHODEN:	Boerderij fase (voer, houden, melken, melkopslag)	verwerking (slachterij, melkfabriek)		retail
		gevaaren:	Matrix:	
indicatoren: zie Tabel 1:				
	gevaaren:	Matrix:	gevaaren:	matrix:
	- Mycotoxinen - Chem. <i>contaminanten</i> - Antibiotica	- Voer - Bloed/serum - Urine - Mest	- "Alle" - Steekbloed - Vleesdrip - Melk	- Product
	- Dierbehandeling smiddelen - Pathogenen	- Overig diermateriaal - Deconstructiemateriaal		- Contaminanten/-residuen
DNA TECHNOLOGIE				
Molecular Diagnostics (Microscreen)	1-5 pathogenen	"alle"?		
Tracing and Tracking (TNO Voeding)	1-5		Salmonella-typering	Salmonella-typering
Microdetect DNA/RNA PCR-Elisa (IQ Products)	1-5 pathogenen	"waterig"		
DNA Mass Array/MaldiTof (Sequenom)	5-10 ?	?	?	?
LabCD (Gamera Bioscience)	5-10		pathogenen	
DNA arrays/DNA chips (diverse firma's)	5-10 ?	?	?	?
overige technologieën:				
Vibratiespectroscopie	>10 pathogenen		pathogenen	pathogenen

METHODEN:	Boerderij fase (voer, houden, melken, melkopslag)		verwerking (slachterij, melkfabriek)		retail
	gevaren:	Matrix:	gevaren:	matrix:	
	- Mycotoxinen - <i>Chem. contaminanten</i> - Antibiotica - Dierbehandeling smiddelen - Pathogenen	- Voer - Bloed/serum - Urine - Mest - Overig diermateriaal - Deconstructiemateriaal	- "Alle"	- Steekbloed - Vleesdrip - Melk	- Product
	toetsbaar (jaar) (fase) potentieel				
Atomic Force Microscopy	identif. >10 ?	? ?	identif. ?	identif. ?	?

indicatoren: zie Tabel 1:

-* opmerking: vele boerderijfase-testen zijn nog niet geschikt voor gebruik direct op de boerderij maar kunnen op een (eenvoudig) laboratorium uitgevoerd worden

-B: expliciet wordt vermeld als de test wel geschikt is voor gebruik direct op boerderij

TABEL 4 Technieken vs. parameters

Technologie	capaciteit: aantal monsters per tijd	tijd per analyse	investeringskosten apparatuur	kosten per analyse	fase waarin toepasbaar	potentieel toepasbaar (jaar)
IMMUNO- EN ENZYM-ASSAYS						
ID-Lelystad testkits, o.a. Elisa's	Vaak in 96 well-formaat	enkele uren; meestal meerstaps; bewerkelijk	?	?	B,V	0-1
Elisa buizentest (RIKILT)	20/uur	30 min	f1 2000,=	f1 40,=	B	0-1
Fast-Elisa kits R-Biopharm	30/uur	30 min	f1 10000,=	f1 30,=	B	0-1
Elifa ('membraan'-Elisa)	?	?	?	?	B	0-1
EasiScreen®	30/uur	10 min	f1 0,=	f1 40,=	B	0-1
Elisa kits Diffchamb	Vaak in 96 well-formaat	enkele uren; meestal meerstaps; bewerkelijk			B	0-1
(mini)VIDAS bioMérieux (ELFA)	5x6 of 2x6 strips per run; 8-12 runs per dag mogelijk, dus max. 360 tests per dag	netto 45 min.	VIDAS f110,000.-; miniVIDAS f55,000.-	kosten 1 teststrip: f8.75 (zonder media etc)	R	0-1
diverse firma's verkopen gevalideerde testen vooral voor voedsel	Vaak in 96 well-formaat	enkele uren; meestal meerstaps; bewerkelijk	uitleesapp.	variabel	B,R	0-1
andere methoden bijv. kleuragars en agglutinatie (diverse firma's)	hooguit enkele tientallen per dag	soms voorkweek van monster nodig; test zelf duurt van 45 min tot uren	?	variabel	R	
MAS: multi-analyse systeem, HTS, voor snelle Elisa's	150 per uur; indien apparaat uitvoering	45-75 min.;	schatting: f500.000,-	per monster een centenkwesie;	V	1-5

Technologie	capaciteit: aantal monsters per tijd	tijd per analyse	investeringskosten apparatuur	kosten per analyse	fase waarin toepasbaar	potentieel toepasbaar (jaar)
	in 4 lagen 600 per uur;			weinig reagentia nodig		
RECEPTORASSAYS						
SNAP β -lactam test	?	?	?	?	V	0-1
div. microbiële inhibitie-testen, w.o. Premi@Test DSM	?	?	?	?	B, V, R	0-1
ATP-hygiëne monitoring	?	?	?	?	V, R	0-1
INDICATOREN						
Toxin Alert	nvt	nvt	geen	Centen of delen van centen	R	1-5
STRIPTESTEN						
SPIA (o.a. Eurodiagnostica)	éénstaps striptest, individuele monster bepaling	binnen enkele minuten afleesbaar	FI 0,=	FI 40,=	B, R	0-1
Elisa strip-tests	multistaps, individuele monster bepaling	?	?	?	B	0-1

Technologie	capaciteit: aantal monsters per tijd	tijd per analyse	investeringskosten apparatuur	kosten per analyse	fase waarin toepasbaar	potentiële toepasbaarheid (jaar)
ARIS TECHNOLOGIE B	12 monsters per uur per kanaal, 2 min. per monster in doorstroom-systeem (kanalen parallel te zetten); of diverse typen dipstick éénstaps test, individuele monster bepaling	kleurreactie binnen 2 min. (indien gemeten) of binnen 5 min. (op het oog) afleesbaar; door nieuwe methode is 2 tot 4 seconden (real-time) haalbaar	Apparaat is nog in ontwikkeling, maar zal lang niet zo complex zijn als bijv. Biacore; miniaturisering zal deze technologie betaalbaar houden	Progesteron test: 3 cent per assay aan reagentia.	B, V	0-1 / 1-5
IMMUNOCHIP						
Immunochip RIKILT/TUD	zeer veel; zeer snel	zeer snel; eenvoudige uitlezing	Fl 5000, =	? uiteindelijk goedkoop: zeer weinig dure biomaterialen nodig	B, V	1-5
Immunoanalyse op chip (Univ. Tübingen)	zeer veel; zeer snel	zeer snel; eenvoudige uitlezing	?	? uiteindelijk goedkoop: zeer weinig dure biomaterialen nodig	B, V	1-5
SENSOREN						
Biacore	4 of 8 versch. assays tegelijk per monster; 12-20 monsters per uur per assay	real time; plus regeneratie 5-7 min.	Apparaat kost ca. f450.000,-; chips f220-f570	Nu: 20-100 gulden per monster wordt > 1 euro per assay	(B), V, R	0-1 / 1-5

Technologie	capaciteit: aantal monsters per tijd	tijd per analyse	investeringskosten apparatuur	kosten per analyse	fase waarin toepasbaar	potentiële toepasbaarheid (jaar)
Spreeta	1 assay per chip; chips in serie te zetten; 12-20 monsters per uur per assay	real time: gevolgd door regeneratie in ? min.	50 sensoren met electronica en software f6500	Spreeta sensor f71 per stuk ongecoat	B,V	1-5
IBIS	?	real time: gevolgd door regeneratie in ? min.	IBIS f78.000; autosampler F23.000	Sensor disk f40 per stuk ongecoat	?	1-5
IASys	?	snel; daarna regeneratie mogelijk?	f121.000 - f374.000; cuvetten f130- f192 p.s.	?	?	1-5
SIOS	12-20 monsters per uur per assay; Er zijn 4 assays per chip	snel; is regeneratie mogelijk?	Electronica f15.000; sensoroppervlak f600 ongecoat	?	B	1-5
amperom. immunosensor (PSI-CH)	?	?	?	?	B,V	1-5
DIA/PRO BioChip van Umedik Inc.	?	?	?	?	B,V	5-10
BIODAM	?	?	?	?	B,V	5-10
FABS biosensor, comb. met AFM	?	?	?	?	?	5-10
ARRAY TECHNOLOGIE en						
ARRAY SENSOREN						
"automated dipstick"	zeer veel; zeer snel	zeer snel; eenvoudige uitlezing	?	? uiteindelijk goedkoop: zeer weinig dure biomaterialen nodig	B,V	5-10

Technologie	capaciteit: aantal monsters per tijd	tijd per analyse	investeringskosten apparatuur	kosten per analyse	fase waarin toepasbaar	potentieel toepasbaar (jaar)
fast multidimensional optical immunosensor (TUM-DE)	?	?	?	?	B,V	1-5
PASA parallel affinity sensor array (TUM-DE)	?	?	?	?	B,V	1-5
ProteinChip/SeldiTof (Ciophergen)	zeer veel; zeer snel	zeer snel	nu nog heel duur	?	B,V	5-10
Torsana Biochips, Unique Flow	?	?	?	?	B,V	5-10
Glassfibers + Bead Array (Illumina)	zeer veel; zeer snel	zeer snel; eenvoudige uitlezing	?	uiteindelijk goedkoop: zeer weinig dure biomaterialen nodig	B,V,R	5-10
Antibody chips (Pat Brown, Stanford)	?	?	?	?	?	5-10
Antilichaam arrays (Nature Biotech)	?	?	?	?	?	5-10
Protein arrays (Science)	?	?	?	?	?	5-10
µTAS	zeer veel; zeer snel	zeer snel	nu nog heel duur	uiteindelijk goedkoop	B,V	5-10
DNA TECHNOLOGIE						
Molecular Diagnostics (Microscreen)	?	?	?	?	B	1-5
Tracing and Tracking (TNO Voeding)	?	?	?	?	V,R	1-5
Microdetect DNA/RNA PCR-Elisa (IQ Products)	?	?	?	?	B	1-5

Technologie	capaciteit: aantal monsters per tijd	tijd per analyse	investeringskosten apparatuur	kosten per analyse	fase waarin toepasbaar	potentieel toepasbaar (jaar)
DNA Mass Array/MaldiTof (Sequenom)	zeer veel; zeer snel	zeer snel	nu nog heel duur	nu \$300	?	5-10
LabCD (Gamera Bioscience)	?	?	?	?	V	5-10
DNA arrays/DNA chips (diverse firma's)	zeer veel; zeer snel	zeer snel	nu nog heel duur	?	?	5-10
overige technologieën:						
Vibratiespectroscopie	?	?	?	?	?	>10
Atomic Force Microscopy	?	?	?	?	?	

5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Het doel van het uitvoeren van analyses in de verschillende voedselketens is om de eventuele gevaren die aanwezig zijn te identificeren. Het is gewenst om dit snel, betrouwbaar en kosteneffectief te doen. Daarom zal er geïnvesteerd moeten worden in analysesystemen die dit op korte, middellange en lange termijn kunnen.

Om in de toekomst snel en adequaat te kunnen reageren op gevaren die in de voedselketens kunnen optreden zal de tijd tussen het nemen van het monster en de uitslag van de analyse gereduceerd moeten worden. Dit kan alleen wanneer de analysemethoden naar het monster worden gebracht. Dit impliceert dat de analysemethoden op basis van on-site, on-line of in-line technologieën ontwikkeld moeten worden.

De technologie keuze is mede afhankelijk van de fase van de voedselketen (boerderij, verwerking en retail). Om in de toekomst niet te verzanden in het ontwikkelen van oneindig veel technologieën moet een keuze gemaakt worden in welke technologieën geïnvesteerd moet worden. Een belangrijke voorwaarde hierbij is dat de gekozen technologieën universeel toepasbaar zijn (voor verschillende gevaren dezelfde technologie).

Het meten in de boerderijfase wordt gezien als incidenteel (bij calamiteiten). Een eventueel gevaar moet hierbij snel en zonder veel handelingen kunnen worden waargenomen en liefst zonder grote investeringen voor de boer. Striptesten (gebaseerd op SPIA en/of ARIS technologie) voldoen aan deze voorwaarden. De SPIA technologie is bestaand en bewezen in de humane diagnostiek (b.v. zwangerschapstesten) en er zijn voorbeelden beschreven voor de toepassing in voedselketens (diergeneesmiddelen, pathogenen, allergene eiwitten, etc.). Om deze technologie op korte termijn in de boerderij te introduceren moeten diagnostische fabrikanten worden aangezet om in samenwerking met instituten voor specifieke gevaren striptesten te gaan produceren. Op de langere termijn kan het aantal op de boerderij te meten gevaren worden uitgebreid door b.v. de toepassing van de immunochip.

Optische sensoren zijn eveneens universeel toepasbaar en kunnen op korte en middellange termijn worden ingezet. Door de hoge prijs van de nu op markt zijnde apparatuur zijn dergelijke geautomatiseerde systemen alleen geschikt voor "high trough-put" en "multi-analyte" testsystemen in de verwerkingsfase. Echter, optische meetsystemen kunnen steeds kosteneffectiever geproduceerd worden en op de langere termijn worden toepassingen richting de boerderij voor mogelijk gehouden.

Door de combinatie van optische sensoren en de chemische of biochemische selectieve laag, die op het sensoroppervlak is aangebracht, kan de monstervoorbewerking drastisch gereduceerd worden. Dit heeft reductie van de analyseprijs tot gevolg.

Voor de lange termijn zullen twee ontwikkelingen van belang zijn, array sensoren en μ TAS systemen. Universiteiten concentreren zich sterk op deze twee technieken. Door samenwerking tussen de universiteiten en toegepaste onderzoeksinstituten te bevorderen, zal het in de toekomst eenvoudiger zijn om deze twee technieken te implementeren in de opgezette monitorings- en surveillancesystemen.

Ontwikkelingen die plaatsvinden op de korte en middellange termijn op het gebied van sensoren zullen hier ook aan bijdragen. Daarom is het wenselijk om voor de korte- en middellange termijn te investeren in coatings-, monstervoorbewerkings- en analysemethoden die ook bruikbaar zijn voor array sensoren en μ TAS systemen.

Onderwerpen die buiten de scope van deelproject 4 liggen maar wel van belang zijn voor een veilige voedselketen zijn:

- **Wetgeving**
Pas wanneer de overheid bepaald dat gevaren gemeten dienen te worden, zal de producent metingen gaan uitvoeren. Daarom is het ook van belang om deze factor mee te laten wegen op het moment dat er een keuze gemaakt moet worden welke analyse ontwikkeld moet worden .
- **Onafhankelijke bevestigingsmethoden**
Veel on-site, on-line en in-line analyses zijn opgezet als screeningsmethodes. Daarom zal het altijd nodig zijn om onafhankelijke laboratoriumtesten te blijven ontwikkelen ter bevestiging van de resultaten van de screeningsanalyses.
- **Goede registratiesystemen**
Om er zeker van te zijn dat afgekeurd materiaal niet alsnog de voedselketen in kan komen, zal een goed werkend registratiesysteem nodig zijn. Niet alleen om bestaande monsters te kunnen traceren, maar ook om een verdacht monster naast de gegevens van ander monsters te kunnen zetten om daaruit af te kunnen lijden of ergens fraude of onregelmatigheden voorkomen.
- **Goede dataverwerking systemen**
Om op snelle en betrouwbare wijze een analyseuitslag te krijgen is het van belang dat de dataverwerking van de resultaten geen belemmering is voor het gehele analyseproces. Daarom zal ook gekeken moeten worden op welke manier data gegenereerd wordt en hoe data efficiënt verwerkt kan worden.

Toekomst

Om in de toekomst tot snelle en betrouwbare on-site, on-line en in-line analyses te komen is het van belang dat de expertises van de verschillende onderzoeksinstituten binnen Nederland worden samengebracht. Uit het hoofdstuk "Core expertises" is duidelijk te zien dat de expertises van ID-Lelystad, het RIKILT en TNO Voeding elkaar versterken. Het voorstel is om in het vervolgtraject van het Chaperonnes project deze instituten onderling te laten samenwerken op het gebied van het opzetten van monitorings- en surveillancesystemen voor de gehele voedselketen. Daarbij moet niet de samenwerkingen tussen de hiervoor genoemde onderzoeksinstituten en de Nederlandse universiteiten en bedrijven uit het oog verloren worden. De universiteiten zijn van belang omdat deze de technologie van de toekomst ontwikkelen welke door de onderzoeksinstituten toepasbaar gemaakt moet worden. De bedrijven zullen uiteindelijk de analysesystemen moeten produceren en verkopen.

De schrijvers van de Technologie Scan zijn zich er van bewust dat meten niet een doel op zichzelf is. Wel kan met de juiste meetstrategie tijd en geld gewonnen worden. Meten van gevaren zal daarom altijd een onderdeel moeten zijn van een HACCP beheersplan voor de varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketen. De eerder genoemde punten dienen een onderdeel van dit beheersplan te zijn. Slechts op deze wijze kan een garantie afgegeven worden dat meten waarde heeft voor onze voedselveiligheid.

REFERENTIES

1. Leloux, M.S., CHAPERONNES Chain of animal products with early response, based on new expertise about surveillance, RIKILT rapport 2000.003, Wageningen.
2. Leloux, M.S., Swanenburg M., Rijsman V.M.C., Teeuw J., Mengelers M.J.B., Noordam M.Y., Schwarz-Bovee A., Oosterom E.W., CHAPERONNES, deelproject 1, Deel 1, De systematiek om tot indicatoren voor gevaren in de voedselketen te komen, RIKILT rapport 2001.005, Wageningen.
Leloux, M.S., Swanenburg M., Rijsman V.M.C., Teeuw J., Mengelers M.J.B., Noordam M.Y., Schwarz-Bovee A., Oosterom E.W., CHAPERONNES, deelproject 1, Deel 2, Prioritering van gevaren in de voedselketens en aandachtspunten ten aanzien van de monitoring van gevaren. RIKILT rapport 2001.006, Wageningen.
3. Smelt A.J., Mengelers M.J.B., Oosterom E.W., Schwarz-Bovee E.H.G., Swanenburg M., Teeuw J. CHAPERONNES, deelproject 2, programma van eisen voor een monitoringssysteem voor de zuivel-, rundvlees- en varkensvleesketen in Nederland, RIKILT rapport 2001.009, Wageningen.

Chaperonnes
Technologie Scan
deelproject 4 (ID-Lelystad BV)

1. **INLEIDING**

ID-Lelystad BV beschikt over de expertise en faciliteiten voor veterinaire zoötechnisch onderzoek op hoog niveau op alle gebieden van de dierlijke productieketen. Dierziekten vormen een grote economische schadepost, omdat ze een gevaar kunnen zijn voor dier- en volksgezondheid als ook handelsbelemmerend werken. ID-Lelystad heeft veel kennis en deskundigheid in huis op het gebied van bacteriologie, virologie, immunologie, pathologie en epidemiologie, genetica en fokkerij, en moleculaire herkenning. Naast fundamenteel-strategisch onderzoek wordt toepassingsgericht onderzoek gedaan ter ontwikkeling van diagnostische testen en (marker)vaccins, vooral gericht op voorkomen en detectie van een besmetting met pathogene organismen (bacteriën, virussen, mycoplasma's, prionen). ID-Lelystad produceert zelf onder andere (marker)vaccins en diagnostische testen, die het resultaat zijn van eigen research. Enkele voorbeelden: vaccins tegen MKZ, het marker-vaccin E2 tegen KVP; diagnostische tests voor varkenspest (CSFV), blaasjesziekte (SVD), parvovirus, Aujeszky (PRV), BRSV, IBRV, BVDV, Leptospira hardjo, BSE; sensitines voor de diagnostiek van runder TBC, aviaire TBC, paratuberculose en Brucellose.

Ruime ervaring is aanwezig op het gebied van moleculaire herkenning, m.b.v. peptide-arrays en het analyseren en detecteren van epitopen en bindingsplaatsen, en het ontwikkelen van mimotopen. Tevens zijn op het ID-Lelystad de eerste synthetische peptide vaccins ontwikkeld (Parvo, GnRH).

Op het gebied van de dierlijke productieketen (HACCP) lopen projecten gericht op de veiligheid van vlees, op alternatieve varkenstransport systemen, die salmonella-besmetting voorkomen en op de vleeskuikenketen waar de darmflora gewijzigd wordt door modificatie van het voer. Ook is er ervaring met DNA-arrays. Grootschalige genetische (DNA) detectie van schapen op scrapie-gevoeligheid m.b.v. DNA-chip technologie is nu mogelijk. Ontwikkeling van chips voor multi-diagnostiek van infectieziekten is gaande, voor genomische detectie van pathogeen-specifiek DNA.

1.1 **Ontwikkelingen**

Er blijkt nu een aantal ontwikkelingen gaande die met name de diagnostiek ingrijpend zal veranderen. Samengevat zullen diagnostische testen sneller, goedkoper en in veelvoud uitgevoerd kunnen worden. Het logische gevolg is dat uiteindelijk aan b.v. de slachtlijn elk individueel dier getest kan worden op meer variabelen (b.v. antilichamen tegen blaasjesziekte, mond- en klauwzeer, varkenspest, etc.). Dit kan in real time en tegen acceptabele kosten: op dit moment variëren de schattingen van de kostprijs tussen de 2,50 DFL tot 7,50 DFL voor 25 bepalingen per dier. Absolute garanties kunnen hiermee gecreëerd worden m.b.t. de vleeskwaliteit.

Deze ontwikkeling kan grofweg in tweeën verdeeld worden:

- 1) on site testen (op de boerderij door de veearts)
- 2) multianalyse aan b.v. de slachtlijn m.b.v. een apparaat dat in het slachthuis zelf gestationeerd wordt, waarbij de testen tijdens de slacht gedaan worden en de resultaten online gekoppeld worden aan de individuele karkassen.

Kenmerk van beide is: snelheid (real time), multianalyse (meerdere testen tegelijk) en bescheiden kostprijs.

1.2 **Tijdpad**

on site testen zijn inmiddels voorhanden in de vorm van dipsticks. monstervoorbereiding is hierbij niet nodig. Dipsticks zullen in de toekomst evolueren tot "lab on a chip" die meerdere analyses tegelijkertijd kunnen uitvoeren. De verwachting is dat dit binnen 2 tot 5 jaar gerealiseerd zal zijn.

multianalyse op korte termijn

Op dit moment zijn er twee systemen die binnen afzienbare tijd (nu tot 2 jaar) geïmplementeerd zouden kunnen worden: de MAS en de SPR gebaseerde systemen.

De MAS is ontwikkeld door het ID en PVE en behoeft nog tenminste één jaar plus 200.000 Dfl om tot een werkend prototype te geraken.

De Biacore (SPR) zou direct toegepast kunnen worden maar er moeten nog voorzieningen worden getroffen om echte multianalyse mogelijk te maken. De kosten zullen ook hoger uitvallen dan bij de MAS. Voordeel is echter dat de Biacore gebacked wordt door een grote kapitaalkrachtige industrie die er veel aangelegen is om in deze tak "in te breken".

Als alternatief zou het ID samen met TNO voeding iets vergelijkend kunnen ontwikkelen, waarbij de kostprijs mogelijk een stuk lager kan uitvallen.

Bij zowel de MAS als de SPR is geen monstervoorbereiding nodig.

multianalyse op middellange termijn (1 tot 4 jaar)

Bij het ID is de technologie aanwezig om zonder monstervoorbereiding kleine moleculen in melk te meten. Dit systeem, de ARIS, kan nog verder verbeterd worden door elektronisch het eindpunt te bepalen (seconden) en mogelijk door te miniaturiseren. Verder leent het zich uitstekend om op vrij simpele wijze omgezet te worden tot een multianalyse systeem, mits gebruik gemaakt kan worden van peptiden als antigens. Door omstandigheden heeft het ID direct toegang tot vrij unieke technologie om dit laatste te realiseren via haar dochter Pepscan Systems BV.

ARIS multianalyse kenmerkt zich door snelheid, robuustheid en zeer lage kosten, niet in de laatste plaats door de afwezigheid van de noodzaak tot monstervoorbereiding.

multianalyse op langere termijn (2 tot 6 jaar)

Op dit moment is het erg moeilijk om te zeggen welke ontwikkeling hier een hoofdrol zal spelen. (Het is zelfs niet uitgesloten dat een technologisch veel minder geavanceerde ontwikkeling die er eerder was, b.v. SPR of MAS, zichzelf heel lang kan overleven).

Er zijn drie ontwikkelingen waar te nemen:

- 1) op array's gebaseerde testen
- 2) op glasfiber bundels gebaseerde testen
- 3) op fysisch chemische techniek gebaseerde testen als Maldit-Toff.

- 1) De array technologie gebaseerde testen komen allemaal voort uit de technologie ontwikkeld voor genomics en proteomics. Multianalyse kan hier waarschijnlijk probleemloos op meeliften. Op dit moment zijn er nog een groot aantal uitleestechnieken (SPR, interferometrie, polymeertransistoren, nanoclusters, etc.), waarvan het overduidelijk is welke het gaat worden.
- 2) De glasfiber technologie is gebaseerd op bundels van glasfiber, waarbij op elke fiber in principe één assay gedaan kan worden door onderdompeling in het monster. Bundels van 20.000 fibers die elektronisch uitgelezen worden zijn op dit moment de standaard. Deze techniek is snel; in hoeverre ze gevoelig genoeg is, is op dit moment niet duidelijk.
- 3) Fysisch chemische technologieën, b.v. Maldi-Toff, rukken inmiddels flink op. Door dramatische toename van de gevoeligheid en detectie (bioinformatica) gepaard aan dramatische daling van de prijs en omvang zou deze technologie, die inmiddels ook op array format wordt toegepast, nog wel eens een geduchte concurrentie van 1) en 2) kunnen worden.
Opnieuw is onduidelijk of dit ook werkelijk zal gebeuren.

Kortom, zowel op korte als wat langere termijn zijn er op het gebied van de diagnostiek dramatische veranderingen te verwachten met verstrekkende consequenties voor garanties m.b.t. veiligheid en kwaliteit van het voedsel.

Om in deze ontwikkeling mee te kunnen doen is een samenwerking vereist tussen platform technologieën (SPR, ARIS, array's), testtechnologieën (b.v. varkenspest, blaasjesziekte, BSE, etc.) en chemische technologieën die robuuste antigenen kunnen produceren (b.v. Pepscan). Voor Nederland lijkt een natuurlijke combinatie van TNO-voeding (platform technologie), ID-Lelystad BV (testen, consumables, valuatie) en Pepscan Systems BV (robuuste antigenen) voor de hand te liggen.

2. **BESCHIKBARE TECHNIEKEN**

De mate van beschikbaarheid van analysetechnieken hangt samen met a) het toepassingsgebied (boerderij, slachthuis, melkfabriek, retail) en b) het ontwikkelingsstadium (is de methode technisch uitontwikkeld, hoeveel tijd is er nog nodig voor het praktisch toepasbaar maken).

2.1 **Toepassingsgebieden**

Diagnostische testen voor het aantonen van antigenen of antilichamen zijn doorgaans gebaseerd op ELISA methoden. De ELISA techniek heeft echter als nadeel dat er altijd meerdere incubatiestappen nodig zijn, dat het gebonden analyt gewassen moet worden en dat er toevoegingen nodig zijn van reagentia zoals substraat, chromogeen, etc. Dit resulteert onveranderlijk in bepalingen met een relatief lange duur (enkele uren), het gebruik van ingewikkelde (soms ook kostbare) apparatuur, relatief grote bewerkelijkheid, relatief hoog chemicaliën verbruik, etc. Er bestaat daarom grote behoefte aan snelle ("real time") diagnostische testen die gekenmerkt worden door eenvoud in de uitvoering (éénstapstest), snelheid (minder dan 10 minuten), gemakkelijke uitleesbaarheid (b.v. kleurverandering), robuustheid ("fool-proof") en relatief lage kosten.

Boerderij

Op de boerderij is vooral behoefte aan "on site" testen, waarvoor de SPIA-dipstick en de ARIS-dipstick techniek momenteel het meest uitontwikkeld zijn. De monstervoorbereiding is voor beide technieken minimaal, hetgeen bij toepassing op de boerderij ook een vereiste is. Op de langere termijn lijken de "lab-on-a-chip" technieken hier een goede toepassing te kunnen vinden. Het gaat hierbij om testen op diergeneesmiddelen, bacteriële verontreinigingen, allergenen, toxinen of chemische contaminanten.

Slachthuis/melkfabriek

Voor toepassing op het slachthuis zijn massa-screenings-technieken vereist, die gericht zijn op "high-throughput" d.w.z. hoge snelheid en meerdere parallelle analysemogelijkheden.

Alle varkenshouders zijn sinds 1993 verplicht elke vier maanden bij hun varkens twaalf bloedmonsters te laten afnemen om aan te tonen dat deze varkenshouderij vrij is van dierziekten. Dit is de zogenaamde Regeling Bedrijfscontrole Dierziekten (RBD regeling).

De invoering van deze regeling ondervond nogal wat weerstand omdat het werd bestempeld als dieronvriendelijk. Ook zijn de kosten per analyse, die bij de Gezondheidsdienst voor Dieren wordt uitgevoerd, voor één dierziekte hoog. Het bloedtappen dat door een veearts moet worden uitgevoerd komt op f 10,= per monster; gecombineerd met de analysekosten geeft dit een totaal van f 20,= à f 30,= per monster.

Het tappen van de bloedmonsters bij de varkenshouderij is behalve kostbaar ook zeer arbeidsintensief. De assistentie van de boer is bij het bloedtappen onmisbaar. Deze voor varkens en varkenshouder zeer ongewenste situatie was de aanleiding om te zoeken naar een efficiëntere methode voor de uitvoering van de RBD regeling.

Naar de mate van uitontwikkeling komen het multianalyse systeem (MAS), de Specifieke Plasmon Resonantie techniek (Biacore) en de real-time ARIS (Amplification Reactivation Immuno Assay System) techniek als eerste in aanmerking.

Hierbij speelt de benodigde monstervoorbereiding mee die bij de MAS (volbloedmeting) en de real-time ARIS techniek (homogene test) minimaal is. Op iets langere termijn komen ook andere technieken in aanmerking, zoals

- ◆ array technieken (interferometrie, transistor assay, nanocluster techniek)
- ◆ glasfiber technieken
- ◆ fysisch chemische technieken (Maldi-Toff MS)

De toepassing in deze fase van de keten is gericht op diagnostiek van o.a. aangifteplichtige ziekten (blaasjesziekte, Aujeszky, varkenspest), dierbehandelingsmiddelen (sulfonamiden), toxinen, chemische contaminanten, etc.

2.2 Mate van uitontwikkeling

SPIA-dipstick

De meest eenvoudige test is de éénstaps striptest waarbij alle benodigde reagentia in het testdevice aanwezig zijn. Het enige dat moet worden toegevoegd is het vloeibare monster of monsterextract. [Aangezien in dit type testen colloïdale deeltjes (goud, koolstof, latex, silicium) als

labels worden gebruikt, wordt ook wel gesproken van een sol particle immunoassay (SPIA)]. SPIA-dipsticks zouden op de boerderij kunnen worden toegepast voor het meten van risico's in het veevoer (mycotoxinen), het meten van specifieke geneesmiddelen in melk (de boer weet wat hij gebruikt), het nasporen (tracing) en volgen (tracking) van een bacteriële besmetting (bacteriën in faeces [extract]) of een virale besmetting (antilichamen in bloed). SPIA-dipsticks zijn reeds ontwikkeld voor het aantonen van sulfamidine in urine, streptomycine in melk, allergene eiwitten in voedingsmiddelen, salmonella en E-Coli (na een concentratiestap).

ARIS-dipstick

ARIS testen zijn reeds ontwikkeld voor "meting in het veld" van een aantal medicijnen/drugs zoals phenitoin, theophylline en phenobarbital, digoxine, waterverontreinigende stoffen en progesteron. Het zijn "dipstick" testen welke eenvoudig in de te testen vloeistof kunnen worden gedoopt, waarna de kleur zich begint te ontwikkelen. De intensiteit van de kleur is recht evenredig met de concentratie van de te meten stof. (In het geval van antilichaamdetectie is de kleurintensiteit omgekeerd evenredig met de antilichaam concentratie). De voornaamste beperking van de ARIS methodiek is tot dusver steeds de maximale molecuulgrootte geweest die nog gemeten kan worden (MW <2000). Dit sluit de meting uit van grote antigenen, of de detectie van antilichamen tegen (grote) antigenen zoals virussen of bacteriën. Een oplossing voor dit probleem, waardoor de detectie van antilichamen en andere hoogmoleculaire stoffen mogelijk wordt, is onlangs beschreven in het EG projectvoorstel "Peptide-ARIS" (5th Framework Programme: Quality of Life).

SPR

Voor het tegelijkertijd aantonen van meerdere componenten zijn multianalyse assays nodig. Een mogelijkheid om dit te doen is middels meerkanaals biosensoren. De firma Biacore AB (Uppsala, Zweden) levert optische biosensoren berustend op het Surface Plasmon Resonance (SPR) principe. Het grote voordeel van SPR is dat een biomoleculaire interactie direct (zonder labeling) zichtbaar is.

De Surface Plasmon Resonantie (SPR) techniek is gebaseerd op een reflectie-verandering van een lichtbundel t.g.v. antigen-antilichaam reactie op een analyse-oppervlak. Dit oppervlak bestaat uit een glazen plaatje gecoat met een ultra-dun goudlaagje, dat geplaatst wordt op een prisma. Op het goudlaagje is een laagje gecoat van het antigen van interesse. Opvallend laser licht zal door het testglasje worden weerkaatst, behalve bij een bepaalde invalshoek. Bij deze hoek wordt namelijk de energie van het laser licht geabsorbeerd door elektronische oscillaties van de goud moleculen. De invalshoek waarbij het laser licht wordt geabsorbeerd i.p.v. gereflecteerd, is nu afhankelijk van de mate van antigen-antilichaam binding die boven op het goudlaagje plaatsvindt. Voor de detectie van sulfadimidine in melk werd met een totale runtijd (inclusief regeneratie van de re-usable sensorchip) van ca. 20 min. een detectiegrens in melk bereikt van ca. 1 ng/ml. Het ontwikkelen van snelle (2-3 min.) immunobiosensor applicaties voor het aantonen van sulfadiazine en sulfadimidine in geval van varkens kon worden gebruikt om vlees en weefsels te kunnen controleren op MRL niveau (100 ng/g).

In de nieuwe generaties biosensoren van Biacore AB (BIACORE 2000 en 3000) zijn de vier flowcellen op de biosensorchip serieel te koppelen waardoor het mogelijk is meerdere assays tegelijkertijd uit te voeren.

De MAS is een techniek die gebaseerd is op het volledig automatisch uitvoeren van de klassieke ELISA-techniek, waarbij meerdere analyses (tot 25 in totaal) gelijktijdig kunnen worden uitgevoerd. De MAS kan in principe 600 monsters per uur verwerken, waarbij de analysetijd per test ligt tussen de 30 en 120 minuten. De MAS is zo ontworpen dat het als module onderdeel kan vormen van een multifunctioneel, multimodulair analysesysteem. De geproduceerde gegevens kunnen worden gekoppeld aan de registratiegegevens van het individuele dier, waardoor bij een positieve diagnose te allen tijde de herkomst van het zieke dier vastgesteld kan worden.

Het multianalysesysteem (MAS) is een volledig geautomatiseerd analysesysteem op basis van het mini Pepscan systeem, dat aan de slachtlijn snel een aantal immunoassays per monster kan uitvoeren.

Het mini Pepscan systeem is een door ID-DLO ontwikkeld systeem waarmee op een plastic, vaste drager met op het oppervlak geïmmobiliseerde functionele groepen, eiwitten via chemische koppelingen gesynthetiseerd kunnen worden. Deze eiwitsynthese wordt uitgevoerd in zeer kleine reactievatjes (inhoud $\pm 4 \mu\text{l}$) welke in een matrix op creditcardformaat zijn gegroepeerd.

De huidige analyses die worden uitgevoerd in het kader van de RBD regeling worden alleen uitgevoerd in een standaardformaat analyseplaat. Dit zijn de zogenaamde 96-wells ELISA platen (8,5 x 12,5 cm, inhoud per well $\pm 250 \mu\text{l}$). Wanneer in een grote varkensslachterij (meer dan 1 miljoen slachtingen per jaar) alle dieren bemonsterd zouden gaan worden, dan komt dit neer op ca. 6000 monsters per dag; i.e. ca. 100 platen per dag per analyse. Door de relatief grote afmetingen van de analyseplaat is voor de automatisering van een dergelijk systeem een grote ruimte noodzakelijk, welke meestal niet voorhanden is in een slachterij, en er wordt veel plastic afval geproduceerd. Automatisering op deze manier is ook zeer kostbaar wat er toe zal bijdragen dat niet alle bedrijven een dergelijk systeem zullen aanschaffen. Daarom is een oplossing gezocht in het verkleinen van de uitvoering van de analyses. Als uitgangspunt is het gebruik van de kleine $4 \mu\text{l}$ wells gekozen. Voor de automatisering van de diverse assays in deze geminiaturiseerde vorm is geen commerciële apparatuur verkrijgbaar. Het grootste voordeel van deze miniaturisering is waarschijnlijk gelegen in de kostenreductie die wordt verkregen, doordat van kostbare reagentia slechts zeer kleine hoeveelheden nodig zijn.

Voordat het MAS in de praktijk kan worden ingevoerd zal er een uitgebreide validatieproef met dit systeem in een slachterij moeten plaatsvinden. Een aantal assays zal nog moeten worden verbeterd (KVP), sommige nog ontwikkeld (Aujeszky), en andere nog geoptimaliseerd voor de implementatie in het MAS (diverse sulfa's).

Real-time ARIS.

De real-time ARIS techniek is een nieuwe methode, die in staat wordt geacht om "real-time" (d.w.z. met een responsetijd van enkele seconden) een uitslag te geven betreffende de aanwezigheid van hormonen, chemische contaminanten, antilichamen specifiek gericht tegen bepaalde pathogenen, etc. De techniek is "homogeen", hetgeen inhoudt dat monstervoorbereiding niet of nauwelijks nodig is. De real-time ARIS is gebaseerd op een zogeheten stop-flow-techniek, waarbij het monster in twee opeenvolgende stappen gemengd wordt met de test componenten. De hierop volgende enzymatische omzetting resulteert in een reactie product dat zich o.a. elektronisch laat uitlezen, waardoor de snelheid van de analyse bijzonder vergroot wordt. Tot nu toe was de ARIS techniek beperkt tot een molecuulgrootte van ca. 2000. Door toepassing van het bij het ID-DLO ontwikkelde Pepscan technologie kunnen grote eiwitten teruggebracht worden tot kleine robuuste

moleculen waardoor de de ARIS ook gebruikt kan worden voor het aantonen van hoog-moleculaire verbindingen of complete pathogenen.

Het principe van de test is, dat functioneel glucoseoxidase enzym (GOX) wordt gevormd door het samenbrengen van apo-enzym (APO) en van co-enzym (FAD). Aan dit FAD is een specifieke ligand gekoppeld zonder dat dit de enzymactiviteit aantast. Het APO gedeelte kan worden geïsoleerd en het FAD moet worden gemodificeerd alvorens het gekoppeld kan worden aan het ligand. De conjugering van het ligand (= antigeen of analyt) kan worden bewerkstelligd met standaard chemische methoden.

Het principe van deze bepalingsmethodiek is algemeen toepasbaar. Daarom kan deze ARIS methodiek, gebaseerd op de koppeling van een ligand, antigen, medicijn, peptide, etc. aan FAD, gebruikt worden voor vele andere diagnostische testen, mits de binding tussen het antilichaam en de te meten stof voldoende sterk is. De detectiegrens van dit type tests ligt op het niveau van 1-5 nanogram per ml.

Zowel de MAS als de real-time ARIS techniek zijn goed te miniaturiseren, waardoor een reductie wordt verkregen van zowel de kosten-per-test als van het ruimtebeslag. Het testvolume ligt in de orde van enkele microliters.

Array technologie

Op dit moment wordt er al uitgebreid onderzoek gedaan op dit gebied. Bijvoorbeeld wordt er gewerkt aan:

- fast multidimensional optical immunosensors (Technische Universiteit Munchen, <http://www.ch.tum.de/wasser/ag-weller/papers03.htm>)
- parallel affinity sensor array (PASA), Technische Universiteit Munchen, <http://www.ch.tum.de/wasser/ag-weller/projects01.htm>)
- surface-enhanced laser desorption/ionization (SELDI) (CIPHERGEN, <http://www.ciphergen.com/>)

Zowel op korte als lange termijn zal de array-technologie een belangrijke insteek zijn voor het onderzoek van ID-Lelystad.

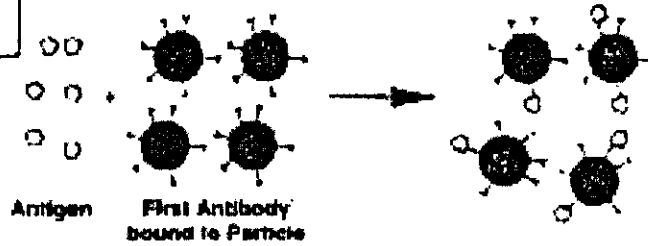
3. **CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN**

- 1) Op korte termijn dient SPR of MAS geïmplementeerd te worden aan de slachtlijn. Indien de keus op Biacore valt verdient het aanbeveling om uit defensieve overwegingen (kostprijs) de SPR multianalyse van TNO-voeding samen met ID-Lelystad uit te werken.
- 2) Op iets langere termijn lijkt de "real-time ARIS" een unieke kans om op het gebied van de multianalyse een robuuste, snelle en zeer kosten effectieve methode te implementeren. De uniekheid zit er in dat de noodzakelijke combinaties van technologieën in Nederland voorhanden zijn en al met elkaar samenwerken.
- 3) De middellange termijnontwikkelingen (arrays, glasfiber en fysisch chemische technieken) moeten scherp in de gaten gehouden worden middels een adequaat "hands-on" beleid, b.v. relatief kleine onderzoeken in dit "core gebied", al of niet in samenwerking met derden, die het mogelijk maken snel te evalueren wat er gebeurt om er eventueel snel op in te kunnen spelen.
- 4) Samenwerking van ID Lelystad BV met een instelling die de technologische platforms beheerst (b.v. TNO-voeding) en de technologie om de noodzakelijke robuuste antigenen te maken (Pepscan Systems BV) dient sterk gestimuleerd te worden.

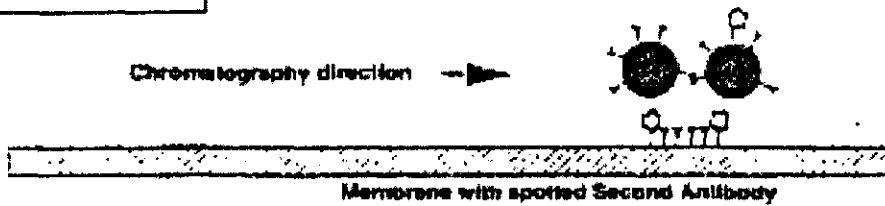
SOL PARTICLE IMMUNOASSAY (SPIA)

SANDBWICH ASSAY FORMAT

INITIAL REACTION

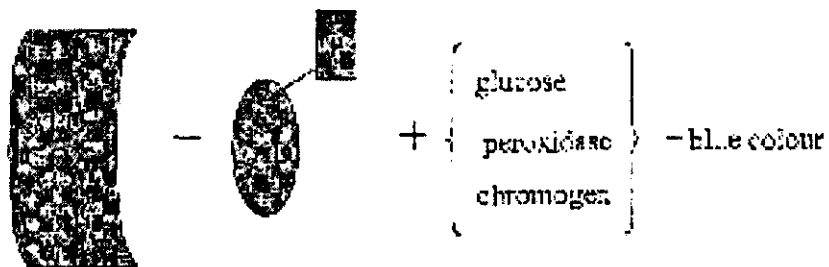


TEST DEVICE

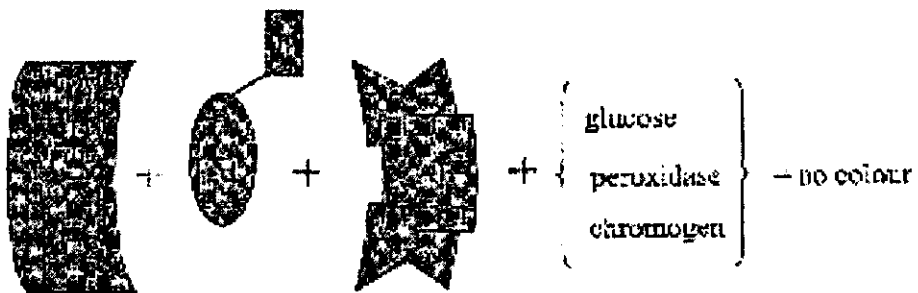


Chromatographic dipstick device to determine hCG with colloidal carbon particles

Test when no specific antibody is present:



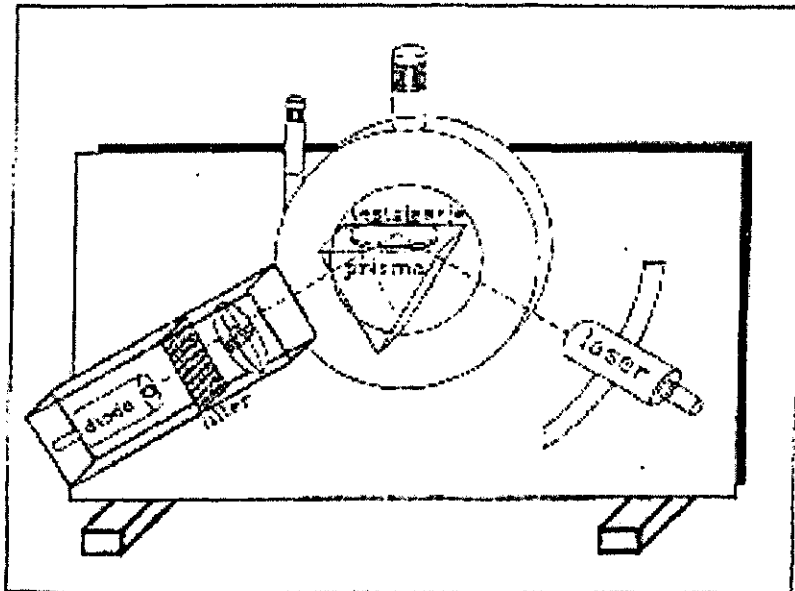
Test when specific antibody is present:



P = Peptide

AB = Antibody

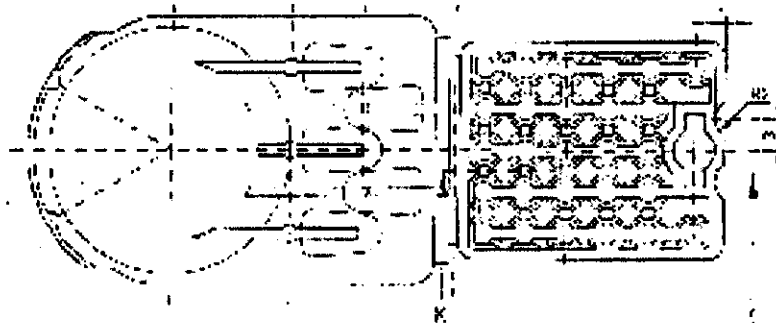
Surface Plasmon Resonance (SPR)



De SPR-meetopstelling in de Kretschmann-configuratie.

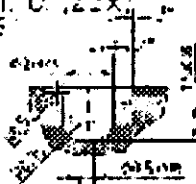
MAS

3c front-view



CROSS-SECTION K-K

Detail D (25x)
scale 5



Scale 1:1

Detail E (2x)
Scale 5:1



Scale 1:1 Round storage

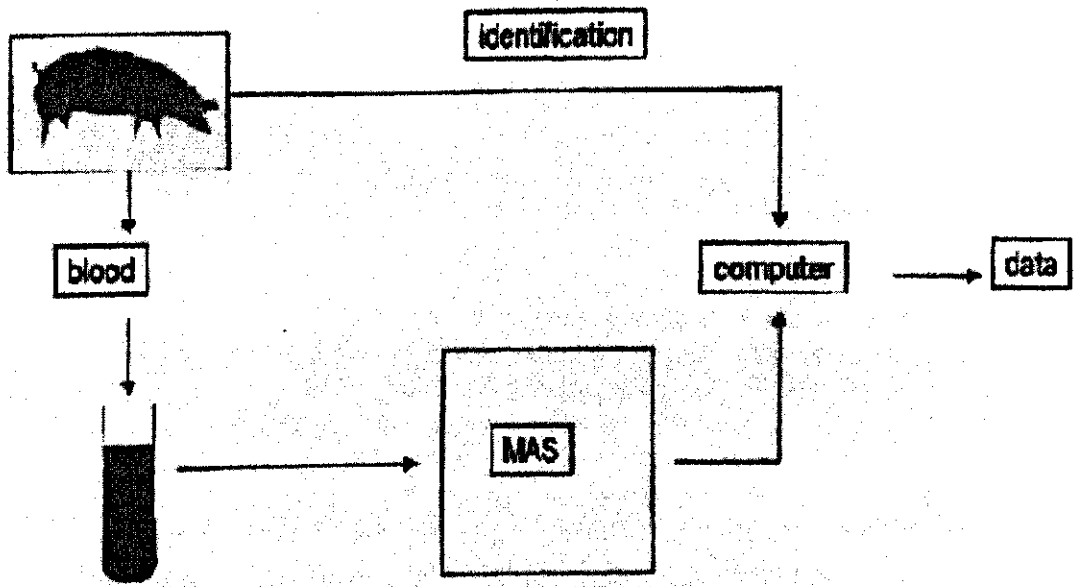
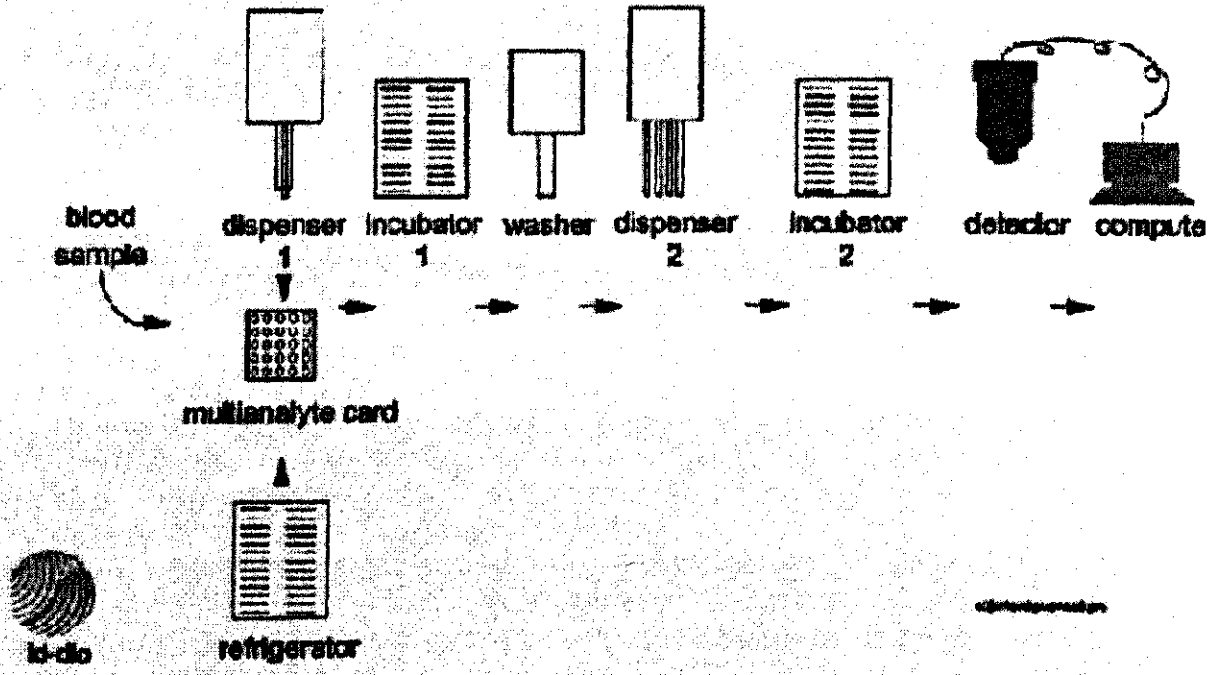


Part 2 (where not terminated):

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40

DESIGNED BY ANALYSTS PART 1	CHECKED BY ANALYSTS PART 1	DATE 1950	REVISED BY ANALYSTS PART 1	DATE 1950	DRAWING NO. 1000	SHEET NO. 4
-----------------------------------	----------------------------------	--------------	----------------------------------	--------------	---------------------	----------------

components multianalyte system



C O N C E P T

DEELRAPPORTAGE VAN DE TECHNOLOGY SCAN UITGEVOERD DOOR HET RIKILT

SAMENVATTING

In de tweede fase van het programma Chaperonnes is een Technology Scan (deelproject 4) gaande waar gekeken wordt naar mogelijke nieuwe in de ketens toepasbare meettechnieken voor het identificeren en kwantificeren van risico's.

In dit deelrapport is de aandacht gericht op buiten het laboratorium toepasbare meettechnieken voor het aantonen van residuen en frauduleuze toevoegingen. Gekeken is naar universele technieken die op korte en langere termijn geschikt te maken zijn voor zowel de detectie van hoog- als laag-moleculaire stoffen. Voor het meten van risico's in de boerderijfase en in retail moet een eenvoudig meetsysteem worden gevonden. Het meest eenvoudige meetsysteem is de éénstaps striptest (Sol Particle Immunoassay (SPIA)) waarbij alle reagentia in de test aanwezig zijn en het resultaat visueel kan worden beoordeeld (geen investering in apparatuur). Een dergelijke test kan in 5-10 min worden uitgevoerd en een ongebruikte test is lang houdbaar. De technologie en de "know-how" om dergelijke testen te ontwikkelen is binnen het RIKILT aanwezig. Binnen de humane diagnostiek is de werkzaamheid van dergelijke sneltesten bewezen. De reden dat ze nog niet in de veterinaire en voedingsdiagnostiek worden toegepast is dat er tot nu toe geen markt voor was. Een nadeel van dergelijke testen is de specificiteit waardoor voor ieder risico een aparte test moet worden gemaakt.

Op langere termijn (over enkele jaren) zouden de ervaringen opgedaan bij de SPIA kunnen worden vertaald naar de in ontwikkeling zijnde disposable Immunochip waarbij een veelvoud van testen (array) tegelijkertijd uitgevoerd zou kunnen worden.

Voor het meten in de verwerkingsfase zijn "high through-put" en "multi-analyte" meetmethoden gewenst. Het toepassen van meerkanaals optische biosensoren is een optie die op korte termijn toepasbaar is. De apparatuur (4- en 8-kanaals biosensoren) is commercieel verkrijgbaar. In voeding zijn echter nog slechts een beperkt aantal applicaties voorhanden en het toepasbaar maken van deze techniek zal de nodige aandacht vergen. Voor een deel is dit onderzoek gepland in de nieuwe LNV programma's Voedselveiligheid (390) en Zoonosen (389). Voor het ontwikkelen van bovenstaande meetmethoden is een reeks van antilichamen nodig. Voor een deel zijn die binnen WUR aanwezig. Ontbrekende antilichamen zullen deels via bestaande netwerken kunnen worden verkregen en deels opgewekt moeten worden. Op biomoleculaire interacties (antilichamen, receptoren, etc.) gebaseerde methoden worden gezien als screeningsmethoden en verdachte monsters dienen veelal binnen het laboratorium bevestigd te worden. Bij een toename van de controle in de keten ontstaat een toename van de monsterstroom naar het laboratorium en aanbevolen wordt om mogelijkheden te onderzoeken om (massaspectrometrische) bevestigingsmethoden te versnellen en te verbreden (multi-analyte).

1. INLEIDING

Het programma Chaperonnes heeft als doel te komen tot een vernieuwde aanpak m.b.t. monitoring op risico's t.a.v. diergezondheid, volksgezondheid en handelsvrijwaring in zowel de zuivel- als vleesketen. In de eerste fase van het programma is gewerkt aan een kwalitatieve inventarisatie van bestaande risico's in varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketens (Rapport 2000.003). De ketens bedoeld in dit programma starten bij het diervoeder op de boerderij en eindigen bij de consument. Om het verloop van risico's (gevaren) in voedselketens te kunnen beschrijven is een database ontwikkeld waaruit gebieden met betrekking tot diergezondheid en voedselveiligheid waar momenteel bij beleid en onderzoek lacunes zijn (de zgn. blinde vlekken) en risicoprioritering moeten komen. De invulling van de database is nog niet afgerond en een risicoprioritering heeft nog niet plaats gevonden.

Een belangrijk onderdeel binnen de tweede fase van het programma is de Technology Scan (deelproject 4) waar gekeken wordt naar mogelijke nieuw in de ketens toepasbare meettechnieken voor het identificeren en kwantificeren van risico's. Het onderzoek wordt uitgevoerd door ID-Lelystad (projectleider), RIKILT en TNO. Tijdens de eerste projectbijeenkomst (8 juni 2000) is geïnventariseerd welke ideeën er leven binnen het projectteam.

Afgesproken werd dat de aandacht uit zou gaan naar:

- bepalingen voor pathogenen (bacteriën/virussen/parasieten), residuen (sulfonamiden, antibiotica, etc.) en markers voor tracing en tracking (fraude).
- Vooruit te kijken naar technologieën die in maximaal 5 jaar vanaf nu toegepast kunnen worden.
- Technieken te identificeren die in het 3^e jaar van het programma (2001) beschikbaar zijn om uit te testen

Taakverdeling:

- ID richt zich op de detectie van pathogenen (assay ontwikkeling en array technologie)
- TNO richt zich op het implementeren van nieuwe technologieën
- RIKILT kijkt naar toepassingen voor residuen (dierbehandelingsmiddelen, contaminanten en allergenen) en fraude (tracing and tracking).

Verder geeft iedere partij aan waar de core expertise ligt.

De meeste aandacht is uitgegaan naar mogelijk nieuwe testmethoden die buiten het laboratorium toepasbaar zijn. Omdat immunochemische testen daarvoor het meest geschikt worden geacht is daar de nadruk op gelegd. Daarnaast is ook gekeken naar nieuwe massaspectrometrische technieken die in het laboratorium toepasbaar zijn.

2. CORE EXPERTISE RIKILT

Het RIKILT heeft een brede expertise m.b.t. de detectie van residuen (dierbehandelingsmiddelen en (milieu) contaminanten), (allergene) eiwitten en pathogenen in voedingsmiddelen en grondstoffen. Hiervoor zijn de benodigde screenings- (moleculair biologisch, microbiologisch, immunochemisch, histologisch) en bevestigingstechnieken (GC- and LC-MS, NMR) aanwezig en zijn legio methoden ontwikkeld.

Voor de ontwikkeling en uitvoering van diagnostische testen beschikt het instituut over de mogelijkheid om poly- and monoklonale antilichamen te maken en te valideren. Inmiddels zijn antilichamen aanwezig tegen diverse dierbehandelingsmiddelen (sulfonamiden, aminoglycosiden, chlooramfenicol, corticosteroiden, nortestosteron, estradiol, testosteron, ethynylestradiol, progesteron en beta-agonisten) en allergene eiwitten (pinda, eigeel, heelei, hazelnoot, sesamzaad, lupine, soja, tarwe en erwten).

Binnen de groep Immunochemie is ruime ervaring aanwezig m.b.t. de ontwikkeling van immunochemische testen (inclusief de striptest technologie) voor het aantonen van laagmoleculaire stoffen en eiwitten in diverse voedingsmiddelen (melk, vlees, organen, etc) en aanverwante producten (urine, gal, ogen, haar, etc.). Sinds juni 2000 beschikt het instituut over een BIACORE 3000 optische biosensor.

3. TECHNOLOGY SCAN VOOR RESIDUEN EN FRAUDE

Volgens afspraak is gekeken naar mogelijke nieuw te implementeren technieken voor het aantonen van residuen (b.v. dierbehandelingsmiddelen [diergeneesmiddelen en groeibevorderaars], (milieu)contaminanten, allergenen, etc.) en naar het aantonen van frauduleuze toevoegingen. Tot nu toe worden meetmethoden niet toegepast in de verwerkingsfase (productieprocessen) en slechts incidenteel op de boerderij (b.v. beta-agonisten buizentest). Nagenoeg al het onderzoek vindt plaats in laboratoria en meestal achteraf. De logistiek van monsternamen, transport naar het laboratorium en het inplannen maakt de controle extra lang en kostbaar. Indien mogelijk zou het ter plekke meten efficiënter en kostenbesparend moeten werken.

Het tegelijkertijd controleren op alle mogelijke risico's zal praktisch gezien nooit kunnen en ten allen tijden zullen prioriteiten gesteld moeten worden aan de hand van de 4 w's: wat meten we, wanneer, waar en waarom?

Bij de ketencontrole kunnen verschillende fasen worden onderscheiden:

- BOERDERIJFASE
- VERWERKINGSFASE
- RETAIL

O.i. is er een groot verschil bij de controle in de verwerkingsfase (high through-put, multi-analyte) vergeleken bij de controle in de andere fasen (incidenteel en gericht).

In dit verslag wordt onderscheid gemaakt tussen:

- Boerderijtesten (+ retail)
- "On-line" testen (verwerkingsfase)
- Laboratoriumtesten

3.1 BOERDELIJTESTEN

Voor het meten van risico's op de boerderij (maar ook door de detailhandel of door de consument) moeten testen zeer eenvoudig en zo mogelijk snel uit te voeren zijn. Hierbij is gekeken naar microbiologische, enzymatische en immunochemische testen.

3.1.1 ELISA's:

Voor het meten van beta-agonisten in urine van potentieel behandelde dieren werd een op ELISA gebaseerde buizentest ontwikkeld (Haasnoot e.a. 1996) die in de stal binnen 20 minuten uitvoerbaar is. Deze test wordt nog steeds incidenteel door de Algemene Inspectie Dienst (AID) gebruikt bij het opsporen van misbruik van deze groeibevorderaars. Een nadeel van deze test is dat het een meerstapstest is (monsterintroductie, toevoegen reagentia, wassen en toevoegen kleurreagens) waarbij fouten geïntroduceerd kunnen worden. Een ander nadeel is dat een dergelijke versnelde ELISA minder gevoelig is dan de vergelijkbare laboratorium-testen.

De firma R-Biopharm (Darmstadt, Duitsland) heeft een serie versnelde (microtiterplaat) ELISA's (FAST assays) op de markt gebracht voor de detectie van een reeks van mycotoxinen waarmee monsters binnen 30 min kunnen worden geanalyseerd. Ook hier geldt dat meerdere stappen nodig zijn en een versnelling van de test resulteert in een mindere gevoeligheid. Deze ELISA's zijn meer bedoeld voor eenvoudig toegeruste laboratoria dan voor toepassing op de boerderij.

Strip-test-ELISA's zijn beschreven voor diverse toepassingen en in verschillende formats. De Seager en Van Peteghem (1996) ontwikkelde een strip-test voor de detectie van een mycotoxine (Fusarium T-2 toxine) in tarwe. Ostermaier e.a. (1995) beschrijven een strip-test voor de detectie van drie sulfonamiden in melk. Schnappinger e.a. (1996) gebruikte een op membraan gebaseerde ELISA (ELIFA) voor de snelle detectie van streptomycine en dihydrostreptomycine in melk. De meest bekende op ELISA gebaseerde testen zijn de commercieel verkrijgbare EasiScreen® testen van de firma Editek (Burlington, USA). Zij leveren testen voor het aantonen van mycotoxinen (aflatoxinen, ochratoxine, T2 toxine en zearalenon) en antibiotica (chlooramfenicol, sulfadimidine, sulfadimethoxine en gentamicine). Al deze competitieve strip-testen zijn multi-staps methoden.

3.1.2 SPIA's:

De meest eenvoudige test is de éénstaps strip-test waarbij alle benodigde reagentia in het testdevice aanwezig zijn. Het enige dat moet worden toegevoegd is het vloeibare monster (extract). Aangezien in dit type testen colloïdale deeltjes (goud, koolstof, latex, silicium) als labels worden gebruikt, wordt ook wel gesproken van een sol particle immunoassay (SPIA).

Toepassingen van SPIA's zijn beschreven voor het aantonen van:

- sulfadimidine in urine tot het lage ppb niveau (Verheijen e.a., 1998)
- (dihydro)streptomycine in rauwe melk op MRL niveau (100-200 ng/ml; Verheijen e.a., 2000).
- (allergene) eiwitten in voedingsmiddelen (Verheijen en Haasnoot 2000)
- *Salmonella* en *E.coli* O157 (Transia en Neogen). De detectiegrenzen zijn ca. 10^5 - 10^6 cellen/ml en de testen zijn dus alleen toepasbaar na een verrijkingstap, dan wel bij de detectie van cellen in faeces van besmette dieren ($>10^6$ cellen per g).

SPIA's zouden op de boerderij kunnen worden toegepast voor het meten van risico's in het veevoer (mycotoxinen), het meten van specifieke geneesmiddelen in melk (de boer weet wat hij gebruikt), het nasporen (tracing) en volgen (tracking) van een bacteriële besmetting (bacteriën in faeces(extract)) of een virale besmetting (antilichamen in bloed).

Voordelen van SPIA's zijn:

- bewezen techniek in de humane diagnostiek
- testen zijn snel (5-10 min)
- eenvoudig uitvoerbaar
- geen investering in apparatuur voor de gebruiker
- lange houdbaarheid van de testen
- universeel toepasbaar voor het aantonen van residuen, eiwitten en pathogenen (mits er antilichamen zijn).

Een nadeel van dit soort testen is de hoge specificiteit. Voor ieder risico moet een aparte test worden gebruikt.

3.1.3 Immunochip:

In een samenwerkingsverband tussen het RIKILT en de Technische Universiteit Delft (TUD), vakgroep Analytische Biotechnologie (Prof. Dr. T. Schalkhammer), wordt momenteel gewerkt aan de ontwikkeling van een volstrekt nieuw type immunochip (protein micro-array). De werking van deze chip is gebaseerd op een gepatenteerde techniek, de Surface Enhanced Absorption (SEA). Bij de huidige DNA- en eiwit micro-arrays bestaat het chipoppervlak uit glas en wordt voor

detectie meestal gebruik gemaakt van fluorescentielabels. Dit type van detectie maakt dergelijke assays niet alleen duur, maar ook ongeschikt voor gebruik in het veld omdat er grote en geavanceerde apparatuur nodig is om de micro-arrays uit te lezen. Bij de SEA-immunochip bestaat het chipoppervlak uit een spiegel laag van opgedampt chroom en worden nano-metaalclusters als signaaltransducers gebruikt. Het gebruik van dergelijke nano-metaalclusters maakt het mogelijk om de array met een zeer eenvoudige, draagbare scanner (ter grootte van een peperkoek), gekoppeld aan een lab-top uit te lezen. Voor DNA is bewezen dat met dit systeem een gevoeligheid kan worden bereikt die een faktor 10 hoger ligt dan voor vergelijkbare fluorescentiesystemen. Het is de bedoeling dat binnen enkele jaren een array ontwikkeld wordt voor de detectie van 10-20 eiwitten waarbij de gehele processing van de chip plaatsvindt volgens een micro-total analysis system (μ TAS) op de chip zelf. De verwachting is dat dit systeem ook zeer geschikt is voor de detectie van bacteriën en virussen.

3.1.4 Receptor en microbiële inhibitie assays

De SNAP beta-lactam test is een "enzyme-linked receptor binding assay" die penicilline G en andere beta-lactams detecteert in rauwe melk. De test kan binnen 15 min worden uitgevoerd maar vereist speciale apparatuur (verwarmingsblok en een reader) en is daardoor minder geschikt voor toepassing op de boerderij.

Microbiële inhibitietesten als de De Brilliant Black Reduction Test (BR Test) en de Delvotest zijn al lang op de markt. Deze testen zijn geschikt voor het meten van een breed scala aan antibiotica in melk en zijn relatief eenvoudig uit te voeren in een beperkt laboratorium.

Een meer recente test is de PremiTest (DSM Food Specialties, Delft) die geschikt is bevonden voor het meten van diverse antimicrobiële middelen in vlees, organen en urine binnen een tijdsbestek van 3 uur (Arts e.a. (2000)). Deze test wordt door de fabrikant aanbevolen voor gebruik in slachthuizen en detailhandel.

3.1.5 Biosensoren:

Binnen een EU-project (FAIR3-CT96-2059) met de titel "Biosensor development for the rapid detection of antibiotics in milk (BIODAM)" wordt onderzoek uitgevoerd naar de ontwikkeling van disposable biosensorchips en eenvoudige meetapparatuur voor de detectie van diverse antibiotica en sulfonamiden in melk. De doelstelling binnen dit project is om metingen te kunnen verrichten in de melkketen (boerderij tot melkfabriek). De biosensor is gebaseerd op een immunochemische interactie en fluorescentiedetectie.

Hoewel toepassingen voor sulfonamiden zijn beschreven (Voinin e.a. 2000) en het principe universeel toepasbaar is, is dit systeem nog niet commercieel verkrijgbaar en zal dit naar verwachting nog een aantal jaren duren.

3.2. "ON-LINE" TESTEN

Voor het direct meten in productieprocessen (slachterijen, melkfabrieken) zijn "high through-put" en "multi-analyte assays" nodig.

Een "high through-put" ELISA voor de detectie van sulfadimidine in varkenssera (2400 monsters in 8 uur) wordt beschreven door Ram e.a. (1991).

Voor het tegelijkertijd aantonen van meerdere componenten zijn multi-analyte assays nodig.

Een mogelijkheid om dit te doen is middels meerkanaals biosensoren. De firma Biacore AB (Uppsala, Zweden) levert optische biosensoren berustend op het Surface Plasmon Resonance (SPR) principe. Het grote voordeel van SPR is dat een biomoleculaire interactie direct (zonder labeling) zichtbaar is. Sternesjö e.a. (1995) waren de eerste die een dergelijke biosensorapplicatie ontwikkelde voor de detectie van sulfadimidine in melk. Hierbij werd sulfadimidine op de sensorchip geïmmobiliseerd en een inhibitie assay opgezet met anti-

sulfadimidine toegevoegd aan de monsters. Met een totale runtijd (inclusief regeneratie van de reusable sensorchip) van ca. 20 min werd een detectiegrens in melk bereikt van ca. 1 ng/ml. Crooks e.a. (1998) en Elliott e.a.(1999) gebruikten een BIACORE 1000 systeem en vergelijkbare inhibitie assays voor het ontwikkelen van snelle (2-3 min) immunobiosensor applicaties voor het aantonen van sulfadiazine en sulfadimidine in gal van varkens. Een actie niveau van 600 ng/g in varkensgal kon worden gebruikt om vlees en weefsel te kunnen controleren op MRL niveau (100 ng/g).

In de nieuwe generaties biosensoren van Biacore AB (BIACORE 2000 en 3000) zijn de vier flowcellen op de biosensorchip serieel te koppelen waardoor het mogelijk is meerdere assays tegelijkertijd uit te voeren. Een dergelijke applicatie is beschreven voor het detecteren van een reeks van sulfonamiden (Haasnoot e.a. (2000)). Hierbij werd uitgegaan van een mengsel van drie monoklonale antilichamen en hun antigenen geïmmobiliseerd in drie verschillende flowcellen. Met deze combinatie werden drie inhibitie assays tegelijkertijd uitgevoerd en vertoonden alle relevante sulfonamiden in buffer een significante inhibitie (2 ng/injectie).

In een EU-project getiteld "The use of Optical Biosensors for the Detection of Veterinary Drug Residues in Foods - a demonstration project" (Foodsense; FAIR-CT98-3630) is door Biacore AB een 8-kanaals biosensor (onafhankelijk van elkaar (parallel)) ontwikkeld waarmee 8 verschillende assays tegelijkertijd kunnen worden uitgevoerd. Binnen dit project zijn toepassingen voor groeibevorderaars in urine, sulfonamiden in gal (in de slachtlijn) en melk en enro- en ciprofloxacine in melk gedemonstreerd.

3.3. LABORIUMMETHODEN

Massaspectrometrische methoden.

3.3.1. Bekende residuen.

State-of-the-art tandem MS systemen zoals GC/MS/MS en LC/MS/MS zijn zeer geschikt voor de vereiste kwantificering en confirmatie van residuen. Nieuwe benaderingen zijn geïntegreerde monstervoorbehandelingsystemen zoals disposable vaste fase extractie (SPE) systemen en 96-well robotic clean-up systemen *on-line* gekoppeld aan LC/MS/MS en aan large volume injectie (LVI) GC/MS/MS systemen. Winst in termen van high-throughput en efficiency is evident terwijl de *on-line* koppeling bovendien een maximaal gebruik van het extract en dus een optimale gevoeligheid garandeert. In dit zelfde kader is een nieuwe ontwikkeling het koppelen van meerdere LC systemen aan een en dezelfde LC/MS/MS via een zogenaamde multiplex electrospray (MUX) interface. In het geval van een triple-quadrupool massaspectrometer zoals toegepast in de residuanalyse kunnen maximaal twee LC systemen gekoppeld worden aan een MS/MS, terwijl in het geval van time-of-flight LC/MS systemen tot aan acht LC systemen gekoppeld kunnen worden met een MS.

Op het gebied van nieuwe MS technologie is de opkomst van time-of-flight massaspectrometrie (TOF MS) van belang. De scansnelheid is zeer snel en doordat de massascheiding plaatsvindt in de tijd in plaats van door filtering zoals in quadrupool systemen bereiken de gevormde ionen uiteindelijk de detector zonder verliezen zodat een grote gevoeligheidswinst geboekt wordt: ter indicatie de gevoeligheid in full-scan is ca. 50x hoger dan in een quadrupool massaspectrometer. Bovendien is de nauwkeurigheid van de massameting dusdanig hoog dat massa's in drie decimalen significant gemeten worden (exacte massameting) waardoor niet alleen een massa verkregen wordt maar ook de brutoformule, vergelijkbaar als in traditionele hoge resolutie massaspectrometers (HRMS). Voor de confirmatie in de residuanalyse is dit van grote betekenis: GC/TOF MS is op termijn een goedkoop en gebruikersvriendelijk alternatief voor complexe GC/HRMS systemen en LC/TOF MS levert de full-scan spectra en brutoformules in plaats van de signalen van één of enkele vooraf geselecteerde ionen.

Een andere ontwikkeling is de koppeling van geminiaturiseerde scheidingssystemen met electrospray ionisatie MS (ESI MS). Omdat de ESI MS zich gedraagt als een concentratiegevoelige detector is een forse gevoeligheidswinst mogelijk door een zelfde monster te injecteren in een μ LC systeem in plaats van een conventioneel LC systeem. Voorwaarde is dan wel dat een zelfde hoeveelheid monster op de microkolom gebracht kan worden, bijvoorbeeld door gebruik te maken van preconcentrerings technieken.

De introductie van eenvoudige low-cost LC/MS systemen is met name relevant voor de opwerking van monsters voor residu analyse: een fractieverzamelaar wordt hierbij aangestuurd door een signaal van de MS waardoor er gecontroleerd en fijnmazig uitgevangen kan worden. Hierdoor is het niet langer noodzakelijk om fractioneringopstellingen in te regelen met relatief hoge concentraties van standaarden van de te bepalen componenten en wordt dus, afgezien van het selectiever uitvangen, een bron van contaminatie weggenomen.

3.3.2. Onbekende residuen.

(a) Biochemische residuen zoals eiwitten, peptiden en koolhydraten.

De biomoleculaire massaspectrometrie heeft zich het laatste decennium sterk ontwikkeld dankzij de opkomst van ESI MS enerzijds en de opkomst van matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) MS anderzijds. De massa van een eiwit kan met redelijke nauwkeurigheid massaspectrometrisch worden bepaald. Voor de verdere identificatie wordt gebruik gemaakt van peptide-mapping, een techniek waarbij een eiwit met specifieke enzymen wordt afgebroken (bijv. trypsine) en de peptide brokstukken vervolgens met ESI of MALDI MS worden gemeten. Het massapatroon van de aldus verkregen peptides wordt vervolgens vergeleken met databanken en daarmee krijgt men een idee van de identiteit van het desbetreffende eiwit. Sequentieanalyse van de gevormde peptiden door middel van MS/MS verhoogt de betrouwbaarheid van de identificatie en is essentieel in het geval van onbekende eiwitten die niet in databases voorkomen. Combinatie van klassieke 2D-gelelektroforese met MALDI MS maakt het mogelijk om een totaalbeeld te verkrijgen van een of meerdere eiwitten uit een grote verzameling. Deze technieken zijn van groot belang voor het uitbreiden van residuonderzoek naar biochemische stoffen. Bij het gangbare onderzoek en in monitoringsprogramma's ontsnappen dit soort stoffen aan de residuanalyse terwijl, zoals bijvoorbeeld gebleken is in de humane doping, er in toenemende mate sprake is van het gebruik van biochemische sterk op endogene stoffen gelijkende componenten zoals EPO en somatotropine groeihormoon (GH). Het gebruik van somatotropine als groeibevorderaar is in de EU verboden maar controle op misbruik is er niet of nauwelijks. Behalve in de residuanalyse zijn deze technieken ook van groot belang in het kader van voedselveiligheids onderzoek van GMO's, high-throughput analyse van eiwit en metaboliëtenprofielen is daarbij essentieel.

(b) Niet-biochemische onbekende residuen.

Over het algemeen is de massaspectrometrische identificatie van onbekende residuen niet mogelijk vanwege de lage gehalten. De introductie van TOF MS systemen biedt echter goede mogelijkheden doordat ook op laag niveau een full-scan massaspectrum of MS/MS spectrum verkregen kan worden. Een hybride LC/MS/MS systeem bestaande uit een quadropool time-of-flight combinatie (QTOF) is in staat om automatisch on-the-fly te switchen van single MS mode naar MS/MS mode. Op die manier wordt in een enkele meting met hoge gevoeligheid zowel full-scan kwalitatieve als kwantitatieve informatie verkregen, zelfs van bijna volledig overlappende onbekende chromatografische pieken.

4. DISCUSSIE

Voor het meten van risico's in de boerderijfase en retail moet een universele (toepasbaar voor residuen, eiwitten en pathogenen) en eenvoudige meetmethode worden gevonden die snel uitvoerbaar is. De éénstaps striptesttechnologie (SPIA) voldoet aan deze criteria en voor de

uitvoering zijn voor de gebruiker geen investeringen noodzakelijk. In de humane diagnostiek is de werking van deze technologie bewezen. De technologie en de know-how om testen te ontwikkelen is in het RIKILT aanwezig. De reden dat er in de veterinaire en voedingsdiagnostiek nog geen gebruik van wordt gemaakt is dat er tot nu toe geen markt (voldoende vraag) voor was.

Het nadeel van deze testen is de specificiteit (voor ieder risico een aparte test).

In een periode van enkele jaren zou mogelijkwerwijs kunnen worden overgestapt op de immunochip waarmee op verschillende componenten tegelijkertijd gecontroleerd zou kunnen worden.

Voor het meten in de verwerkingsfase (productieprocessen) is er de mogelijkheid om gebruik te maken van meerkanaals (4-8) optische biosensoren. Deze technologie is commercieel verkrijgbaar en in principe direct toepasbaar. Applicaties in voeding zijn nog slechts beperkt aanwezig en additioneel onderzoek is gewenst.

Voor de langere termijn zou gekeken kunnen worden naar de toepassing van goedkopere biosensoren.

Op antilichamen en receptoren gebaseerde methoden worden gezien als screeningsmethoden en verdachte monsters dienen veelal binnen het laboratorium bevestigd te worden. Bij een toename van de controle in de keten ontstaat een toename van de monsterstroom naar het laboratorium en aanbevolen wordt om mogelijkheden te onderzoeken om (massaspectrometrische) bevestigingsmethoden te versnellen en te verbreden (multi-analyte).

Referenties:

- Arts, C.J.M., Geijp, E.M.L., Stark, J en Witkamp, R.F. (2000) The PremiTest, a broad-spectrum screening test for the detection of antimicrobial compounds in meat, organs and urine. Proceedings of the EuroResidue IV conference, 8-10 May, Veldhoven, The Netherlands, pp 186-192.
- Crooks, S.R.H., Baxter, G.A., O'Connor, M.C. en Elliott, C.T. (1998) Immunobiosensor- an alternative to enzyme immunoassay screening of two sulfonamides in pigs. *Analyst*, **123**, 2755-2757.
- De Seager, S. en Van Peteghem, C. (1996) Dipstick enzyme immunoassay to detect fusarium T-2 toxin in wheat. *Appl. Environm. Microbiol.*, **62**, 1880-1884.
- Elliott, C.T., Baxter, G.A., Crooks, S.R.H. en McCaughey, W.J. (1999) The development of a rapid immunobiosensor screening method for the detection of residues of sulphadiazine. *Food and Agricultural Immunology*, **11**, 19-27.
- Haasnoot, W., Streppel, L., Cazemier, G., Salden, M., Stouten, P., Essers, M, en van Wichen, P. (1996) Development of a tube enzyme immunoassay for on-site screening of urine samples for the presence of beta-agonists. *Analyst*, **121**, 1111-1114.
- Haasnoot, W., Kohen, F., du Pré, J., Cazemier, G., Kemmers-Voncken, A., Bienenmann-Ploum, M. en Verheijen, R (2000) Application of generic monoclonal antibodies against sulfonamides in optical biosensors. Proceedings of the EuroResidue IV conference, 8-10 May, Veldhoven, The Netherlands, pp 501-505.
- Ostermaier, S., Schneider, E., Usleber, E., Märtlbauer, E. en Terplan, G. (1995) Rapid enzyme immunoassays for the detection of three sulfonamides in milk. *Food Agric. Immunol.*, **7**, 253-258.
- Ram, B.P., Singh, P., Martins, L., Brock, T., Sharkov, N. and Allison, S. (1991) High-volume enzyme immunoassay test system for sulfamethazine in swine. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **74**, 43-46.
- Schnappinger, P., Schneider, E., Märtlbauer, E. en Terplan, G. (1996) Rapid detection of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk by enzyme-linked immunofiltration assay. *Food Agric. Immunol.*, **8**, 269-272.
- Sternesjö, A., Mellgren, C. en Björk, L. (1995) Determination of sulfamethazine residues in milk by a surface plasmon resonance-based biosensor assay. *Analytical Biochemistry*, **226**, 175-181.
- Verheijen, R., Stouten, P., Cazemier, C. en Haasnoot, W. (1998) Development of a one step strip test for the detection of sulfadimidine residues. *Analyst*, **123**, 2437-2441.
- Verheijen, R., Osswald, I.K., Dietrich, R. en Haasnoot, W. (2000) Development of a one step strip test for the detection of (dihydro)streptomycin residues in raw milk. *Food Agric. Immunol.*, **12**, 31-40.

Verheijen, R. en Haasnoot, W. (2000) Development of one step strip tests for residue analysis. Proceedings of the Euroresidue IV conference, 8-10 May, Veldhoven, The Netherlands, pp. 1103-1107.

Voirin, G., Sigrist, H., Haasnoot, W. en Liley, M. (2000) A fluorescence waveguide sensor for the detection of antibiotic residues in milk. Proceedings of the Euroresidue IV conference, 8-10 May, Veldhoven, The Netherlands, pp. 1108-1112.

M:projecten/technology scan.doc

Bijlage C Deelrapport TNO Voeding

Projectnummer: 010.51113.01.04

Projecttitel: Technology Scan (Chaperonnes)

Projectleider: Bram van der Gaag

Auteurs: Bram van der Gaag, Sabina Bijlsma en Albert Tas

Februari 2001

DEELRAPPORTAGE VAN DE TECHNOLOGY SCAN UITGEVOERD DOOR TNO Voeding

Inleiding

Wanneer er analyses of continue metingen uitgevoerd worden om de kwaliteit van een productieproces of een product te monitoren in de voedingsmiddelen industrie is het van belang dat de analyseprijs per monster laag is. De prijs per analyse wordt bepaald door de factoren: afschrijving van apparatuur, verbruiksgoederen en arbeid. Arbeid levert de grootste bijdrage aan de prijs per analyse/meting. Daarom is het van belang om deze factor te minimaliseren. Dit kan door automatisering van de analyse of door het afstemmen van de monstervoorbewerking op de gebruikte detectietechniek. In sommige gevallen kan de snelheid van analyse ook van belang zijn en is het gewenst om een groot aantal monsters per tijdseenheid te kunnen analyseren.

In het algemeen kan gezegd worden dat wanneer de frequentie van meten verhoogt wordt de betrouwbaarheid van de kwaliteitsbewaking beter. Echter de kwaliteitsbewaking van een productieproces of een product bestaat niet uit alleen het meten van monsters in de keten. Het meten staat niet op zichzelf maar dient deel uit te maken van een integraal beheersplan (HACCP) voor de keten.

In dit deel van het verslag worden sensoren en ideeën beschreven die momenteel gebruikt kunnen worden voor het analyseren van voedingsgerelateerde parameters of die dat op korte (1 jaar), middellange (1 – 5 jaar) en op lange termijn (5 – 10 jaar) kunnen.

Er is onderscheid te maken tussen twee groepen van sensoren. De eerste groep van sensoren meet gewenste en ongewenste analieten in een monster. Te denken valt hieraan o.a. toxinen, hormonen, pesticiden, antibiotica, vitamines, ureum, eiwitten, micro-organismen. De tweede groep van sensoren meet afgeleide parameters zoals pH, temperatuur, O₂, glucose, lactaat etc, die indicatief zijn voor de aan- of afwezigheid van (bio)chemische processen in het monster, wat weer indicatief is voor de status van het monster (of proces).

Het verslag is als volgt ingedeeld. Ten eerste worden de sensoren besproken die gewenste of ongewenste analieten in een monster kunnen meten. Er is een onderverdeling gemaakt naar het fysische principe dat ten grondslag ligt aan de sensor (optische of elektro-chemisch) (Hoofdstuk 1). Daarna wordt de groep besproken die afgeleide parameters bepaalt ook weer onderverdeelt in optische en elektro-chemische principes (Hoofdstuk 2). Het verslag wordt vervolgt met het bespreken van toekomstige sensorprincipes en methodes die een bijdrage kunnen leveren aan het meten in de keten (Hoofdstuk 3). De conclusies worden weergegeven in Hoofdstuk 4. Als laatste wordt de expertise van TNO Voeding beschreven in Hoofdstuk 5.

1. Detectie van gewenste en ongewenste componenten

Onder deze groep van analieten wordt verstaan die componenten die wel of niet aanwezig mogen zijn in het productieproces of product. De concentratie van deze analieten vertelt ook direct iets over de gesteldheid van het product. Minimale en maximale concentraties kunnen in wetgeving vastgelegd worden en vervolgens kan de naleving van de wet gecontroleerd worden. Deze controle kan plaatsvinden onder eigen verantwoordelijkheid van de producent en/of door een controlerende instantie.

1.1 Optische biosensoren

Onder optische (bio)sensoren wordt verstaan sensoren waar een opto-fysisch principe aan ten grondslag ligt. Op het sensoroppervlak is een selectieve (bio)chemische laag aangebracht (de coating). Wanneer een te meten analiet uit het monster (gas of vloeistof) bindt aan de selectieve laag zal er een verandering optreden van het optische signaal. De verandering van dat signaal heeft een correlatie met de concentratie van het analiet in het monster. Wanneer deze correlatie bekend en eenduidig is kan de concentratie van een analiet in een monster bepaald worden.

1.1.1 BIACORE

Biacore AB Benelux

Vertegenwoordiger: Ron Wolbert

Stationsplein 2

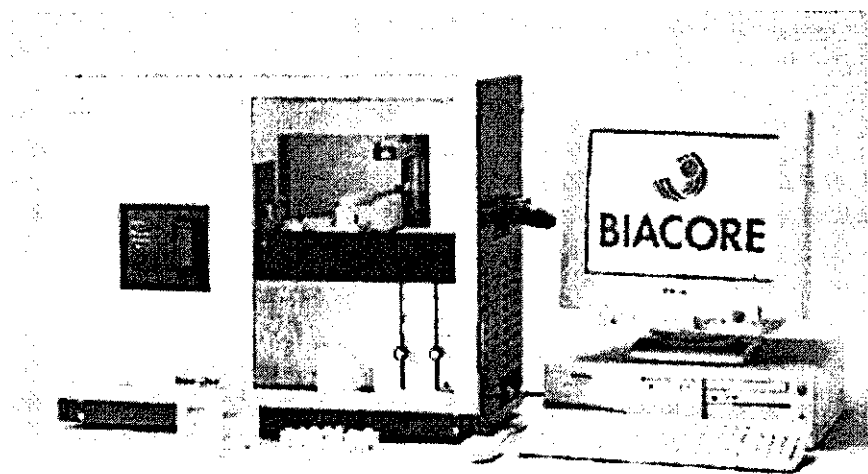
4811 BB Breda

Tel: 076-5225552

Fax: 076-5224442

E-mail: ron.wolbert@biacore.com

Internet: www.biacore.com



Voor de voedingsmiddelenmarkt heeft Biacore de BIACOREQuant op de markt gebracht. De basis voor dit apparaat is de BIACORE 1000. Dit is een sensor systeem gebaseerd op het fysische principe van Surface Plasmon Resonance[19]. Er worden momenteel twee commercieel verkrijgbare analyses verkocht door Biacore. Het gaat hier om de analyse van foliumzuur en biotine in gesupplementeerde voedingsmiddelen. Daarnaast zijn in de literatuur artikelen te vinden waarbij een

BIACORE 1000 of 2000 gebruikt worden om gewenste en ongewenste componenten in voedingsmiddelen te analyseren. Antibiotica, hormonen, bacteriën, pesticiden en toxinen zijn analieten waar analyses voor opgezet zijn [1-14]. Dit zijn allemaal analyses die gebaseerd zijn op inhibitie of competitie omdat m.b.v. SPR alleen molecuul massa's van meer dan 2000 D direct gemeten kunnen worden. De gevoeligheid van de analyses wisselt per applicatie en loopt van 0,1 tot 100 ng/ml.

De tijd per analyse varieert tussen de 3 en 10 minuten per monster. Het aantal analieten dat gedetecteerd wordt is afhankelijk van het gebruikte systeem. Maximaal kunnen 4 verschillende analieten tegelijk bepaald worden in hetzelfde monster. Biacore ontwikkeld momenteel in het kader van een EG-project een apparaat dat maximaal 8 verschillende analieten kan bepalen in hetzelfde monster.

Het sensoroppervlak dat gebruikt wordt voor de analyses kan meerdere malen gebruikt worden. Ieder sensoroppervlak (sensor chip) bevat 4 delen waarop gemeten kan worden. Afhankelijk van de matrix waarin gemeten wordt, de monstervoorbewerking die uitgevoerd wordt en de het vermogen om het oppervlak te regenereren kunnen per sensor chip 400 tot 2000 bepalingen gedaan worden.

Voor de farmaceutische markt wordt een systeem ontwikkeld waar 64 bepalingen tegelijkertijd gedaan kunnen worden. Dit zal binnen 5 jaar uitgebreid worden naar een matrixachtige opzet waarbij 100 bij 100 = 10.000 bepalingen tegelijkertijd gedaan kunnen worden. Deze ontwikkeling is voor de voedingsmiddelenanalyses ook interessant echter naar onze mening zal het nog een tijd duren (langer dan 5 jaar) voordat zoiets commercieel beschikbaar komt voor dit marktsegment.

De prijs per analyse is afhankelijk van de hoeveelheid analyses die per tijdseenheid uitgevoerd worden. De prijs ligt ongeveer tussen de 20 en 100 gulden per monster. Hierin is dan ook de monstervoorbewerking, de afschrijving, de verbruiksgoederen en de arbeid verwerkt.

De afmeting van de apparatuur zijn 750 x 340 x 600 mm (B x D x H). Daarnaast staat nog een computersysteem.

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van apparatuur en verbruiksgoederen gegeven van de verschillende Biacore apparaten zoals weergegeven in de prijslijst:

Biacore 1000 Fl 345.400,00

Biacore 2000 Fl 448.800,00

Sensor Chips Fl 200,00 – Fl 570,00 per stuk (Prijs is afhankelijk van de coating)

1.1.2 IBIS

Eco Chemie B.V.

Vertegenwoordiger: Aart Schild

Smart Business Park C2

Kanaalweg 18/J

3526 KL Utrecht

Tel: 030-2893154

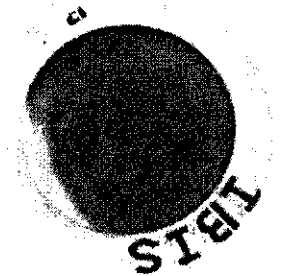
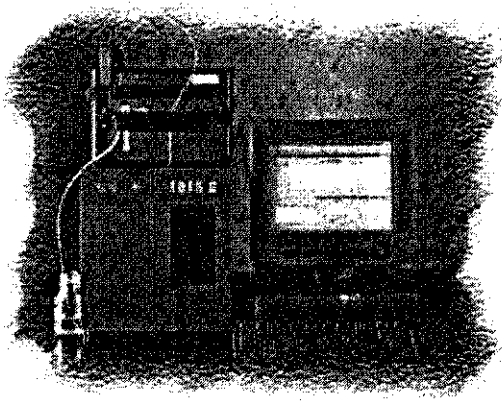
Fax: 030-2880715

E-mail: autolab@ecochemie.nl

Internet: www.ecochemie.nl

IBIS Technologies B.V.
Vertegenwoordiger: Gerard Engberts
Postbus 1212
7500 BE Enschede
Tel: 053-43624 64
Fax: 053-43087 25
E-mail : info@ibis-spr.nl
Internet: www.ibis-spr.nl

Windsor Scientific Limited
264 Argyll Avenue
Slough Trading Estate
Slough
Berkshire
SL1 4HE
United Kingdom
Tel: +44-1753-822522
Fax: +44-1753-822002
E-mail: Windsor_Scientific@compuserve.com
Internet: www.windsor-ltd.co.uk



Technisch gezien is dit een vergelijkbaar apparaat als de apparatuur van Biacore. Over het algemeen geldt voor dit apparaat hetzelfde als beschreven bij Biacore, ECHTER worden er geen commerciële applicaties aangeboden bij dit apparaat. Het is bedoeld voor research doeleinden waarbij het zwaartepunt ligt in het medische onderzoek. De IBIS werkt niet met een doorstroomcel maar met een cuvet. Hierdoor is het aanbieden van een monster aan het sensoroppervlak anders dan bij de BIACORE. Het gevolg is dat de gevoeligheid van de analyses iets minder is dan die bij de BIACORE met dezelfde analyseopzet. De gevoeligheid van de analyses lopen van 1 tot 100 ng/ml. Wel is het mogelijk om een doorstroomstelsel op deze apparaten te ontwikkelen.

De afmeting van het apparaat is 310 x 310 x 360 mm (B x D x H). Daarnaast staat nog een computersysteem.

Ter indicatie wordt hieronder de prijzen van het apparaat en verbruiksgoederen zoals opgegeven door Eco Chemie:

IBIS	Fl 78.000,00
Autosampler	Fl 23.000,00
Sensor disk	Fl 40,00 per stuk (De gebruiker moet zelf hier nog een coating op aanbrengen)

1.1.3 SPREETA

Texas Instrument Inc.

Vertegenwoordiger: Richard Carr

13536 N Central Expressway, MS 945

Dallas, Texas 75243

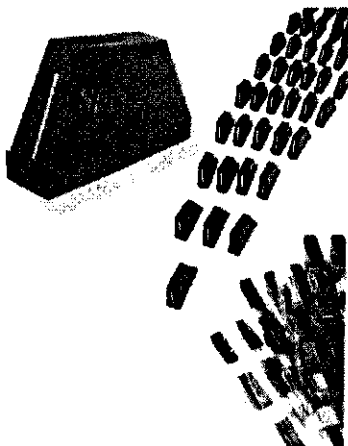
United States of America

Tel: +1-972-9954561

Fax: +1-972-9958787

E-mail: carr@ti.com

Internet: www.ti.com/spreeta



Dit is een sensor dat gebaseerd is op dezelfde technologie als die van de BIACORE en de IBIS. Het verschil tussen de SPREETA en de andere twee apparaten is dat de SPREETA geminiaturiseerd is. Deze SPREETA is door de afdeling Sensortechnologie van TNO.Voeding getest op technische aspecten. Technisch gezien is de gevoeligheid van de SPREETA vergelijkbaar met die van de BIACORE en de IBIS. Hoe de gevoeligheid van biochemische analyses is met deze apparatuur is nog niet bekend maar zal op dit moment minder zijn dan die van de BIACORE en de IBIS. Dit komt omdat de doorstroomcel van de SPREETA niet geoptimaliseerd is en er nog geen standaard berekeningsroutines zijn om de signalen te verwerken. Texas Instrument heeft ook een ander doel met deze sensor dan dat Biacore en de IBIS producenten hebben. Zij willen de SPREETA inzetten in productie processen en niet gebruiken voor research doeleinden. Als voorbeeld is te geven dat zij hun sensor inbouwen in mengsystemen waarbij twee vloeistofstromen gemengd moeten worden. De sensor wordt hier gebruikt als een gevoelige brekingsindexmeter en kan dan

Staphylococcus Enterotoxine A [22] en het gebruik van deze sensor in fermentatieprocessen [21, 26] en chromatografie [25]. Het dynamische bereik van de atrazine detectie ligt tussen de 0,1 ug/L en 10 mg/L voor grondmonsters.

De apparatuur bevat een cuvetsysteem voor de metingen. Er zijn twee uitvoeringsvormen waarbij een keuze is tussen 1 of 2 cuvetten per apparaat.

Vooralsnog wordt dit apparaat alleen in de klinische research gebruikt en zijn er geen plannen om een andere markt in te gaan. Wel heeft de fabrikant aangegeven bereid te zijn om het huidige apparaat aan te passen aan het meten in een industriële omgeving. Naar onze mening is dat mogelijk maar zal dat erg kostbaar zijn. Wel is bekend dat Unilever in Vlaardingen een IAsys heeft maar het is niet duidelijk wat voor analyses er mee gedaan worden.

Een nadeel van dit apparaat is dat er nogal veel drift in de basislijn is. Door wiskundige berekeningen wordt dit verloop eruit gehaald. Op zich is dit niet erg maar de gebruiker wordt hiervan niet op de hoogte gebracht. Het effect is dat de software ongewenste interacties wegmoffelt en niet zichtbaar maakt. Het gevolg hiervan is dat bij de methode ontwikkeling hier geen rekening meegehouden kan worden waardoor niet betrouwbare resultaten worden afgegeven.

De afmeting van het basisapparaat is 450 x 450 x 450 mm (B x D x H). De afmeting voor het geautomatiseerde systeem is 550 x 500 x 800 mm (B x Dx H). Daarnaast staat nog een computersysteem.

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van de apparaten en verbruiksgoederen gegeven:

IAsys Basis met 1 cuvet	Fl 121.000,00
IAsys Basis met 2 cuvetten	Fl 187.000,00
IAsys Auto advance	Fl 374.000,00
Single cuvet	Fl 130,00 per stuk
Twin cuvet	Fl 192,00 per stuk

1.1.5 SIOS

Mierij Meteo

Vertegenwoordiger: Rene Heideman

Weltevreden 4c

3731 AL De Bilt

Postbus 97

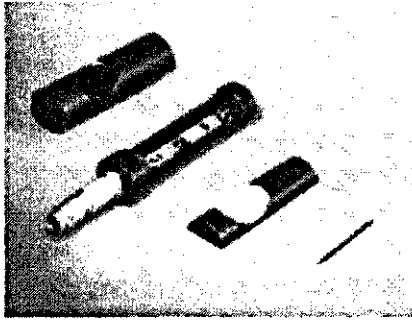
3730 AB De Bilt

Tel.: 030-2200064

Fax.: 030-2204264

E-mail: r.g.heideman@el.utwente.nl

Internet: www.mierijmeteo.demon.nl



SIOS staat voor Sensitive Optical Integrated Sensor. Het optisch fysische principe van deze sensor is Mach-Zehnder Interferometrie (MZI)[17]. Net zoals bij Surface Plasmon Resonance (SPR) meet deze sensor brekingsindexveranderingen aan het sensoroppervlak. MZI is technisch gezien gevoeliger dan SPR waardoor het mogelijk wordt om brekingsindexverandering te meten t.g.v. molecuulmassa's van 20 D en groter. Mierij Meteo verkoopt op dit moment alleen een vochtigheidssensor op basis van het hiervoor beschreven principe. Wel is het systeem beschikbaar voor research doeleinden waarbij TNO Voeding twee apparaten tot haar beschikking heeft en onderzoekt wat de toepasbaarheid van deze sensor is voor de voedingsmiddelenmarkt. TNO Voeding heeft al wel een toepassing voor de farmaceutische markt onderzocht. Het betreft hier de directe detectie van een binding tussen een 1000 D peptide met een aan het sensoroppervlak geïmmobiliseerde membraan gebonden receptor [27]. Daarnaast zijn er artikelen verschenen waarbij atrazine direct gedetecteerd is m.b.v. een MZI-sensor [15, 16].

De sensor is nu uitgevoerd met vier sensoren per houder. Omdat de sensor volledig geïntegreerd is in silicium kan deze sensor op korte termijn uitgebouwd worden naar een multi analyse apparaat. Te denken is aan een 100 kanaalssysteem waarvan de afmetingen minimaal zullen zijn (kleiner dan een CD-ROM schijf).

De afmeting van het huidige apparaat is 10 x 100 mm (\varnothing x L). De elektronica heeft afmetingen van 106 x 227 x 60 (B x D x H). Daarnaast staat nog een computersysteem.

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van de apparaten en verbruiksgoederen gegeven:

Elektronica	Fl 15.000,00
Sensoroppervlak	Fl 600,00 (De gebruiker moet zelf hier nog een coating op aanbrengen)

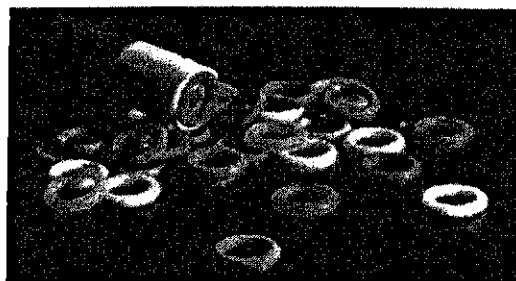
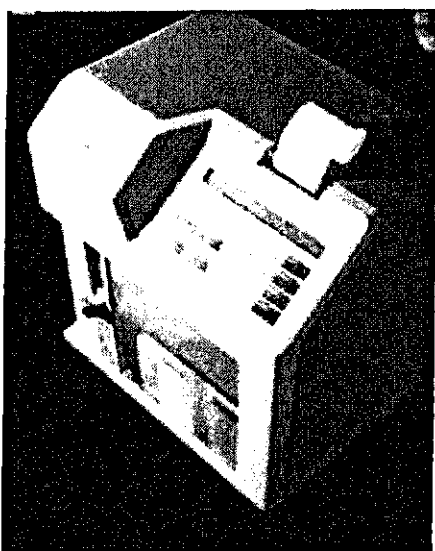
1.2 Elektrochemisch

Onder elektrochemische sensoren wordt verstaan sensoren waar een elektrisch principe aan ten grondslag ligt. Op het sensoroppervlak is een selectieve biochemische laag aangebracht met daarin enzymen (de coating). Wanneer een te meten analiet uit het monster (vloeibaar) bindt aan de enzymen wordt het analiet omgezet. Bij deze omzetting zijn of elektronen betrokken of er worden ionen geproduceerd of verbruikt. In alle gevallen is dit te meten doordat er een stroom gaat lopen of een potentiaal verschil gaat optreden. De verandering van het signaal heeft

een correlatie met de concentratie van het analiet in het monster. Wanneer deze correlatie bekend is kan de concentratie van een analiet in een monster bepaald worden.

1.2.1 Yellow Springs Inc.

Dhr. Legters
Salm en Kipp b.v.
Merwedeweg 5
Postbus 55
3620 AB Breukelen
Tel: 0346-262814
Fax: 0346-264814
E-mail: sales@salm-en-kipp.nl
Internet: www.salm-en-kipp.nl en www.ySI.com



Yellow Spring heeft een serie biochemistry analysers op de markt. Deze zijn gebaseerd op elektrochemische sensoren en worden gebruikt voor het monitoren van fermentatieprocessen en het analyseren van analieten in voedingsgrondstoffen en voedingsmiddelen. De volgende analieten kunnen met deze apparatuur gemeten worden: Glucose (0-25 g/L), Sucrose (0-25 g/L), Lactose (0-25 g/L), Lactaat (0-2,67 g/L), Galactose (0-25 g/L), Glutamaat (0-10 mmol/L), Choline (0-450 mg/L), Glutamine (0-8 mmol/L), Ethanol (0-3,2 g/L), Waterstof peroxide (0-600 mg/L) en Methanol (0-2,5 g/L) [28].

Een probe wordt in de fermentor geplaatst met aan het uiteinde een membraan. In het membraan is het enzym voor het betreffende analiet geïmmobiliseerd. Wanneer het analiet aanwezig is zal er waterstofperoxide gevormd worden wat vervolgens gedetecteerd wordt met een elektrode. Voor de verschillende analieten zijn verschillende membranen met geïmmobiliseerde enzymen beschikbaar. De houdbaarheid van deze membranen liggen afhankelijk van het analiet tussen de 5 en 21 dagen.

Applicaties zijn beschreven voor het meten van een of meerdere hiervoor beschreven analieten in de volgende aan voedingsmiddelen gerelateerde matrices: melasse,

aardappelen, siroop, melkpoeder, graanproducten, maïs, erwten, vleeswaren, bier, sperziebonen, ijs, kaas en pindakaas.

De analysetijd bedraagt 60 sec

De afmeting van het apparaat is 356 x 254 x 356 mm (B x D x H).

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van de apparaten en verbruiksgoederen gegeven:

Elektronica Fl 15.000,00

Sensoroppervlak Fl 600,00

1.2.2 ProcessTrace

Trace Biotech AG

Labotec N.V./S.A. Holland

Dhr. Brunzeel

Albertdonk 14

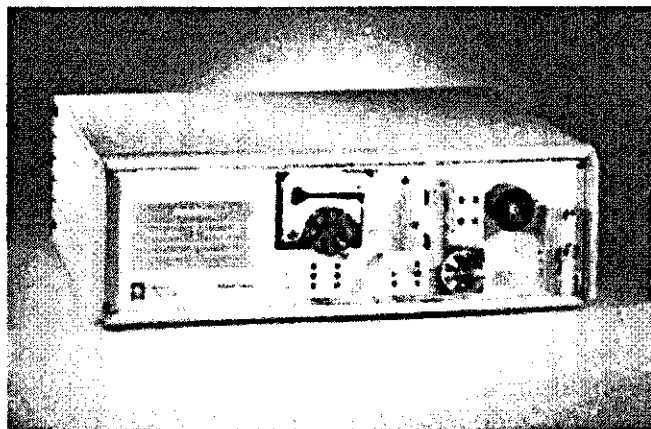
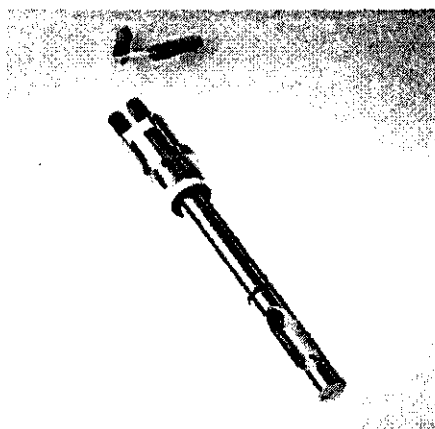
4707 XZ Roosendaal

Tel: 0165-547999

Fax: 0165-547939

E-mail: info@trace-ag.de

Internet: www.trace-ag.de



De ProcessTrace is een vergelijkbaar apparaat als beschreven bij Yellow Spring (YSI). Het verschil t.o.v. de YSI apparatuur is dat de sensor niet in de probe zit maar in een aparte kast. Via de probe, die in de fermentor zit, wordt een monster genomen wat vervolgens in de analyser geanalyseerd wordt. Daarom heeft men hier geen membranen in de probe maar een sensoroppervlak in de analyser. Ook bij deze monitor wordt uiteindelijk waterstofperoxide gemeten. Er zijn momenteel 3 analieten die bepaald kunnen worden, glucose, lactaat en methanol. De volgende 4 analieten zijn in voorbereiding en worden binnen kort op de markt gebracht, lactose, glutamine, glutaminezuur en glycerol.

Het meetbereik dat opgegeven wordt is van 0,05-40 g/L. Er kunnen tot 30 monsters per uur bepaald worden. Het monstervolume is 1,5 ml per minuut. De levensduur van de sensoren is 14 dagen of 5000 metingen (komt overeen met 2 keer per uur, 7 dagen meten).

De afmeting van het apparaat is 470 x 400 x 160 mm (B x D x H).

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van de apparaten en verbruiksgoederen gegeven:

ProcessTrace lab	Fl 32.600,00
Probe	Fl 5.000,00
Verbruiksgoederen (Chemicalien + sensor)	Fl 0,08 – 0,20 per analyse

1.2.3 AppliSens

Hans van den Berg
de Brauwweg 13

3125 AE Schiedam

Postbus 149

3100 AC Schiedam

Tel: 010-2983555

Fax: 010-4379648

E-mail: applisens@applikon.com

Internet: www.applikon.com

Applisens heeft voor research doeleinden een glucose monitor in het programma opgenomen die in samenwerking met TNO Voeding is ontwikkeld. De monitor is bedoeld voor het monitoren van fermentatieprocessen. Er wordt verwacht dat de monitor binnen een jaar als volwaardig product op de markt komt. Het verschil t.o.v. van de hiervoor beschreven glucosesensoren is dat de detectie niet berust op de vorming van waterstofperoxide maar dat direct de elektronen gemeten worden die betrokken zijn bij de enzymatische reactie. Het voordeel is dat deze sensor onafhankelijk is van de zuurstof concentratie in het monster. Wanneer geen zuurstof in voldoende mate aanwezig is geven de sensoren van YSI en Trace problemen. Daarbij is de stabiliteit van het sensoroppervlak veel groter dan van de andere systemen. Het sensoroppervlak geeft een stabiel signaal gedurende een half tot een jaar. Een ander voordeel is dat het systeem de mogelijkheid heeft om 8 fermentoren te gelijk te monitoren.

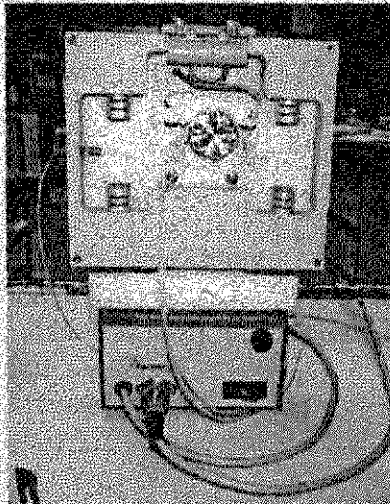
Bij drie simultaan lopende fermentatie van 72 uur, met een meetfrequentie van 3 monsters per uur gedurende drie maanden zijn de totale kosten (afschrijving, verbruiksgoederen en arbeid) fl 2.300,00. Dit komt neer op 12 cent per analyse.

Een sensor voor de detectie van lactaat zal ontwikkeld gaan worden als de glucose analyser commercieel verkocht gaat worden.

De afmeting van het apparaat is 170 x 80 x 158 mm (B x D x H).

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van de apparaten en verbruiksgoederen gegeven:

Analyser	Fl 12.500,00
filter	Fl 100,00
Probe	Fl 700,00 – 1250,00
Sensoroppervlak	Fl 120,00
Voeding	Fl 262,00
Software	Fl 2500,00 (voor maximaal 8 fermentoren)
Vloeistoffen	Fl 25 – 30 per 175 ml (50 – 60 analyses)



2 Detectie van afgeleide parameters

Onder deze groep van analieten wordt verstaan die componenten die geproduceerd of verbruikt worden door micro-organismen of (bio)chemische reacties. Een voorbeeld hiervan is de aanwezigheid van zuurstof in verpakte levensmiddelen. Normaal gesproken is zuurstof niet aanwezig. Bij lekkage van de verpakking zal wel zuurstof in de verpakking aanwezig zijn. Zuurstof is een behoefte voor de groei van micro-organismen. Daarom is de aanwezigheid van zuurstof in de verpakking een waarschuwing voor het feit dat het product niet onder de gewenste omstandigheden bewaard is geweest.

De concentratie van deze parameters geven aan dat er wat aan de hand is maar geven niet aan wat het probleem precies is. Wel zijn het indicatoren die aangeven dat er iets mis is met de kwaliteit van het geteste monster.

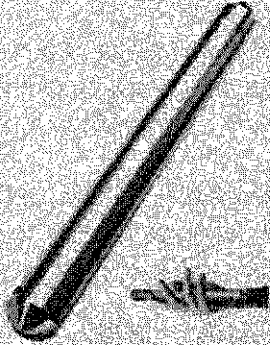
2.1 Optische sensoren

2.1.1 Zuurstof

Zuurstof kan met optische sensoren gemeten worden. Het fysische principe van de sensor is fluorescentie. Wanneer zuurstof bindt aan het fluorofoor zal de levensduur van het fluorofoor kleiner worden. De fluorescentie levensduur is evenredig met de zuurstof concentratie. Een groot voordeel van deze techniek is dat de zuurstof niet verbruikt wordt om de meting uit te voeren. Hierdoor zijn deze sensoren geschikt om lage concentraties zuurstof te meten. TNO Voeding implementeert verschillende varianten van deze sensor in het gehele voedingsproductie proces of gebruikt deze sensoren om voor voedingsmiddelen research. Als voorbeeld kan genoemd worden het meten van zuurstof in bodemwater. In samenwerking met van Essen Instrument in

Delft is een diver ontwikkeld die aan de gestelde eisen voldoet. Hiervoor is het nodig dat er een laag energie verbruik is en dat de sensor erg klein en robuust moet zijn.

Van Essen Instruments
Delftechpark 20
2628 XH Delft
Tel: 015-2755000
Fax: 015-2755055
E-mail: vanessen@vanessen.com
Internet: www.vanessen.com



Dit soort sensorprincipes is uitermate geschikt voor niet invasieve meetmethodes. Waarbij de gevoelige coating in een verpakking aanwezig is en van buiten af de zuurstof concentratie in de verpakking afgelezen kan worden: non-invasive oxygen detectie.

Naast TNO die costum made zuurstof sensoren maakt zijn er ook bedrijven in Europa die dit soort sensoren verkopen. Een voorbeeld van een bedrijf die een optische zuurstof sensor voor invasieve doeleinden verkoopt is :

PreSens Precision Sensing GmbH
Spitalplatz C191
D-86633 Neuburg a.d. Donau
Duitsland
Tel: +49-177-2101593
Fax: +49-177-992101593
E-mail: presens@t-online.de
Internet: www.presens.de

De afmeting van het apparaat is 250 x 300 x 150 mm (B x D x H).

Ter indicatie worden hieronder de prijzen van de apparaten en verbruiksgoederen gegeven:

Microx 1 monitor	F1 17.600,00
Microx 8 monitor	F1 48.400,00
Sensorprobes	F1 175,00 – 440,00

2.1.2 Kooldioxide

Het bedrijf Presens (zie ook 2.1.1) verkoopt ook kooldioxide sensoren op basis van fluorescentie levensduur metingen. Door het wijzigen van de coating op het sensoroppervlak is de specificiteit voor kooldioxide geïntroduceerd.

Daarnaast worden ook apparaten op basis van Nabij Infrarood (NIR) verkocht. De gevoeligheden liggen gemiddeld genomen tussen de 0 en de 5.000 ppm of van 0 tot 20% (afhankelijk van welke range nodig is) Een nadeel van dit soort sensoren is dat in bepaalde gevallen, bijvoorbeeld voor ventilatie doeleinden, ze een nogal hoog energieverbruik hebben en relatief duur zijn. Leveranciers van dit soort sensoren zijn:

Vaisala

Postbus 26

Fin-00421 Helsinki

Finland

Tel: +358-9-89491

Fax: +358-9-8949485

Internet: www.vaisala.com

Prijs: ???

MSA Instruments

Kernweg 20

1627 LH Hoorn

Tel: 0229-250303

Fax: 0229-211340

Prijs: Fl 2.700,00 – 3.200,00

Sensor Devices

Hohe Strasse 11

D-44139 Dortmund

Duitsland

Tel: +49-231-914474-0

Fax: +49-231-914474-25

E-mail: sensor-devices@t-online.de

Internet: home.t-online.de/home/sensor-devices

Prijs: Fl 380,00 – 825,00

Testo

Postbus 1026

1300 BA Almere

Randstad 21-53

1314 BH Almere

Tel: 036-5487000

Fax: 036-5487009

Internet: www.testo.nl

Prijs: Fl 1080,00

Fuji + Bacharach

Envico Control B.V.

Postbus 8

2380 AA Zoeterwoude

Tel: 071-5809308

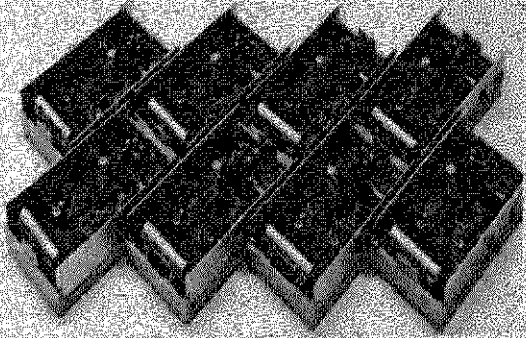
Fax: 071-5802154

E-mail: envico@worldonline.nl
Internet: www.envico.nl
Prijs: Fl 2.058,00 (Fuji)
Prijs: Fl ??? (Bacharach)

ATAL B.V.
Gebouw Carplaza
Postbus 783
1440 AT Purmerend
Tel: 0299-418965
Fax: 0299-418967

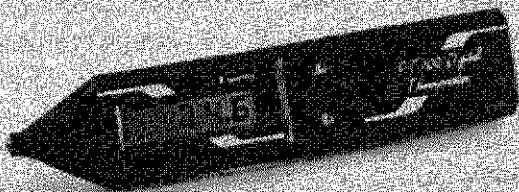
E-mail: atal@fotoinfo.nl
Internet: www.fotoinfo.nl/atal
Prijs: Fl 995,00

TNO Voeding heeft apparaten ontwikkeld die een laag energie verbruik hebben en die ook goedkoop zijn. Bedrijven kunnen in overleg met TNO een licentie verkrijgen voor het verkopen van dit apparaat.



2.1.3 Temperatuur

Er zijn verschillende principes van temperatuur metingen. Twee principes waar temperatuur sensoren op gebaseerd zijn zijn weerstandsmetingen en contactloze IR-detectie. Een voorbeeld van de weerstandsmetingen zijn de PT100 temperatuursensoren.



Er zijn verschillende bedrijven in Nederland die dit type van sensoren verkopen. Afhankelijk van de uitvoeringsvorm kosten deze sensoren tussen de Fl 10,00 – 500,00. Een van de bedrijven is Testo (zie punt 2.1.2)

Daarnaast zijn er ook sensoren op basis van IR-detectie. Dit is een sensor die contactloos de temperatuur kan meten. Ook hiervan zijn verschillende bedrijven in Nederland die dit soort sensoren verkopen. Testo is weer een van deze bedrijven (zie punt 2.1.2)

2.2 Elektro-chemische sensoren

2.2.1 Zuurstof

zuurstof verbruik, Jan ten Veen

2.2.2 pH

Glaselectrodes

isfet

selectieve membranen

2.2.3 ionen

isfet

selectieve membranen

Ureum, urease, conductometrie

2.3 Verpakkingsindicatoren / Product History Indicators

Een andere methode om afgeleide parameters te monitoren in de keten zijn de verpakkingsindicatoren. Met deze indicatoren is het voor producenten en consumenten mogelijk om na te gaan of een product nog voldoet aan de gestelde eisen. Er zijn verschillende stickers in omloop die gebaseerd zijn op de detectie van verschillende parameters zoals temperatuur, zuurstof en kooldioxide. In ontwikkeling zijn parameters als vluchtige amines en waterstofsulfide. Een groot voordeel van deze indicatoren is dat ze breed toepasbaar zijn en erg goedkoop (paar centen per stuk). Een nadeel op dit moment is dat buiten de temperatuursindicatoren alle andere indicatoren in contact moeten zijn met het verpakte product. De Nederlandse en Europese wetgeving is hierop nog niet ingesteld en er lopen nu onderzoeken naar de implementatie en de acceptatie van deze indicatoren in verpakkingen. De afdeling Verpakkingen en Sensortechnologie van TNO Voeding participeert in een EG-project voor dit onderwerp (FAIR CT 98-4170, Actipak) [29, 30]. Het doel van het EU FAIR-project 'Actipak' is om actieve en intelligente verpakkingen op veel verschillende aspecten te testen (veiligheid, effectiviteit, consumenten acceptatie, wetgevingsaspecten etc.) en op basis van de resultaten voorstellen te schrijven voor aanpassingen aan de Europese en nationale wetgeving zodat de nabije toekomst actieve en intelligente verpakkingsmaterialen wel toegepast mogen worden. Het is een 3 jarig project wat loopt van jan. 1999 - dec. 2001.

In Europa zijn de TTIs (Time Temperature Indicators) in de winkel te vinden alleen in Frankrijk op met name de wat luxere vis producten bij de winkelketen Monoprix en recentelijk in Nederland bij AH op verse zalmproducten. Elders in de wereld zijn al meer indicatoren in de winkels te vinden. Europa loopt achter vanwege de wetgeving. In Europa is er geen specifieke wetgeving voor actieve en intelligente verpakkingsmaterialen. De meeste indicatoren en ook actieve verpakkingen voldoen niet aan de huidige wetgeving voor levensmiddelcontact materialen en mogen dus niet gebruikt worden.

2.3.1 Temperatuur

Bij de temperatuur indicatoren wordt gekeken of gedurende een bepaalde tijdsperiode de temperatuur onevenredig te hoog is geweest. Daarom worden deze indicatoren aangeduid als TTIs (Time Temperature Indicators).

Lifelines Technology, Inc.

Contactpersoon: Mr. S. Fields

116 American Road

Morris Plain, NJ 07950

USA

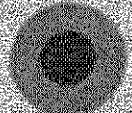
Tel: +1 973 984-6001

Fax: +1 973 984-1520

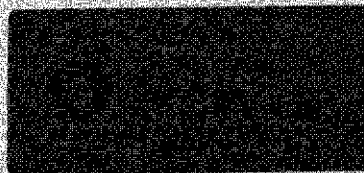
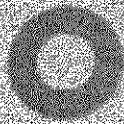
Internet: www.lifelinestechology.com

Dit is de producent van de indicator die AH nu in de winkel heeft liggen. Het product wordt vermarkt als fresh-check indicator. De fresh check indicator is ontwikkeld voor verschillende producten zoals vlees en vis.

Fresh-Check
Indicator



De tint van de
center is donker
aan slag



3M

Laboratoires 3M Sante

Contact: Mrs. M Leroux (en anderen)

Boulevard de l'Oise

95029 Cergy Pontoise Cedex

France

Tel: +33 130 31 8512

Fax: +33 130 31 8578

3M is een groot concern ook in USA. In de USA hebben ze een indicator ontwikkeld voor ground beef. Nu zijn ze ook bezig indicatoren te ontwikkelen voor andere toepassingen waaronder vis.

Vitsab (Dochter van Cox Technologies, zie punt 2.3.)

Contact: Mr. P. Ronnow

VISUAL INDICATOR TAG SYSTEMS AB

Stenyxegatan 21

S-213 76 MALMÖ

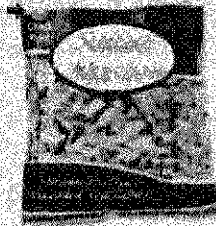
Sweden

Phone: +46 40 215020

Fax: +46 40 212420

Internet: www.vitsab.com

Vitsab ontwikkeld ook TTIs. Voorheen heette deze TTIs I-point, maar sinds het bedrijf bijna failliet is gegaan en overgenomen is door Cox Technologies heet het nu Vitsab indicatoren. Vitsab heeft verschillende indicatoren voor verschillende producten, met name kort houdbare erg bederfelijke producten.



2.3.2 Zuurstof

Mitsubishi Gas Chemical Company

Mr. Y. Sakakibara
Mitsubishi Building 5-2
Marunouchi 2-chome, Chiyoda-ku
Tokyo 100-8324
Japan

Tel: +81 3 3283 4842

Fax: +81 3 3287 1785

Mitsubishi Gas is een onderdeel van Mitsubishi. De zuurstof indicator is ontwikkeld om te controleren of de zuurstof absorbers, die zij tevens produceren, goed werken.

VTT Biotechnology

Mr. E. Hurme
P.O. Box 1500 FIN-02044 VTT
Finland
Tel: +358 40 525 7426
Fax: +358 9 455 2103
E-mail: Eero.Hurme@vtt.fi
Internet: www.vtt.fi

VTT heeft een zuurstof indicator ontwikkeld die kan worden toegepast voor gasverpakte producten. De indicator verandert van kleur als het percentage zuurstof boven de 3% komt

2.3.3 Kooldioxide

Cryovac Sealed Air

Mr. D. Dainelli
Packaging Technical Center
Cryovac S.p.A.
Via Trento 7
I-20017 Passirana di Rho, ML
Tel +39 0293321

De indicator kan met name gebruikt worden in gasverpakte producten, soort lek indicator, want hij verandert van kleur onder een bepaald percentage CO₂.

Cox technologies

Contactpersoon: Frank R. Conn

1930 East Woodlawn Road
Suite M
Charlotte, NC 28209
Verenigde Staten van Amerika
Tel: + 1 (704) 523-1774
Fax: +1 (704) 904-1161
Internet: www.coxtec.com

Cox Technologies heeft allerlei data loggers etc. ontwikkeld. Ze zijn nu bezig met de ontwikkeling van een versheids indicator (Fresh Tag) voor vis die reageert op de product van vluchtige amines. Dit concept is nog niet commercieel verkrijgbaar.

2.3.4 Micro-organismen en eiwitten

Naast de indicatoren die chemische parameters meten is er nu ook een bedrijf dat indicatoren ontwikkeld voor de detectie van micro-organismen en eiwitten. Voor deze indicatoren gelden dezelfde positieve en negatieve punten als besproken bij de chemisch gebaseerde indicatoren. Het is een op antilichamen gebaseerde technologie waardoor het mogelijk wordt om micro-organismen en eiwitten te detecteren. Operationeel zijn de indicatoren voor *E. coli*, *Salmonella* en *Listeria*. Deze kunnen nog niet in verpakkingen gebruikt worden om dat er nog geen food approval is voor dit soort indicatoren.

Toxin Alert

6354 Viscount Road
Mississauga
Ontario L4V 1H3
Canada
E-mail: gfurzer@toxinalert.com
Internet: www.toxinalert.com

3. Toekomst

In dit hoofdstuk zullen een aantal ontwikkelingen besproken worden die in de (nabije) toekomst veranderingen te weeg kunnen brengen in het in-line, on-line en off-line analyseren van voedingsmiddelen gerelateerde componenten.

3.1 Micro Total Analysis Systems

Met Micro Total Analysis Systems (Micro-TAS) worden systemen bedoeld die erg klein zijn maar die dezelfde functionaliteit hebben als bestaande analyse systemen. Daarom worden dit soort systemen ook wel "Lab-on-a-chip" genoemd. De grootte van dit soort systemen ligt tussen een credit card en een spelde knop. De markt verwachtingen voor micro-TAS is erg hoog gespannen. In 1997 is een wereldomzet van \$ 17 miljoen gerealiseerd terwijl men voor 2003 een wereldomzet verwacht van \$38 miljard. Dit geeft aan dat er wereldwijd ook veel in deze technologie geïnvesteerd wordt [31-36,39, 41,42].

Er zijn een aantal voordelen van micro-TAS. Om te beginnen is het op silicium gebaseerde technologie. Hierdoor is het mogelijk om met een productieproces zowel het analysesysteem als de elektronica te maken. Hierdoor wordt ook ruimte bespaart zodat het totale systeem ook erg klein kan zijn.

Het volgende voordeel heeft betrekking op het woord "micro". De structuren in het systeem, de kanalen, mixers, pompen, kolommen, detectoren enz., hebben allemaal een doorsnede van enkele tot honderden micrometers. Hierdoor hoeven maar kleine monstervolumes gebruikt te worden terwijl dit geen invloed heeft op de nauwkeurigheid van de analyse. Daarnaast verloopt de analyse veel sneller. Daar waar een huidige HPLC analyse 15 tot 25 minuten duurt kan dat met een micro-TAS in een paar seconden gedaan worden. Wanneer ook de monstervoorbewerkingstijd meegenomen wordt is dat voor de huidige HPLC 8 tot 16 uur terwijl dat met micro-TAS teruggedrongen kan worden tot seconden uitlopend tot enkele minuten.

Een derde voordeel is dat de oppervlakte- of volumeeenheid van een analysesysteem erg klein is. Daarom is het ook mogelijk om een systeem te ontwikkelen dat meerdere analieten te gelijktijd kan analyseren. Het is ook mogelijk om in een systeem verschillende type analyses samen te voegen. Te denken valt aan bijvoorbeeld het analyseren van melk op de aanwezigheid van antibiotica m.b.v. een op antilichamen gebaseerde sensor in combinatie met een eiwitbepaling op basis van een Kjeldal bepaling.

Als vierde en laatste voordeel kan gezien worden dat er verschillende uitvoeringsvormen van micro-TAS gemaakt kunnen worden. Dit vergroot het aantal mogelijkheden van plaatsen en momenten in de voedselketen om voor ons gewenste parameters te meten.

Als nadeel kan aangemerkt worden dat de kosten van silicium gebaseerde micro-TAS nogal hoog zijn. Daarom worden ook steeds meer van dit soort systemen in plastics uitgevoerd. De kosten per systeem worden daardoor drastisch verlaagd. TNO Industrie en TNO Voeding werken binnen TNO samen aan deze ontwikkeling waarbij zij nieuwe productieprocessen voor micro-TAS aan het ontwikkelen zijn afgestemd op meetbehoeftes uit de markt [37,38,40].

De volgende bedrijven zijn bezig met het maken van micro-TAS of gebruiken micro-TAS in hun systemen.

3.1.1 Sandia National Laboratories

PO Box 5800

Albuquerque, NM 87185

New Mexico

USA, (505) 845-0011,

E-mail: lgperri@sandia.gov

Internet: www.sandia.gov



Sandia ontwikkeld in samenwerking met het Amerikaanse ministerie van defensie een strijdgas analyser. Het volume van het micro-TAS systeem is 1 kubieke centimeter.

3.1.2 Agilent Technologies

Corporate address:

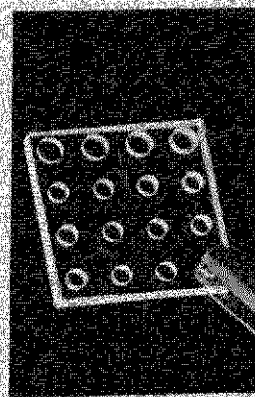
P.O. Box #10395

Palo Alto, CA 94303

California

Verenigde Staten van Amerika

Internet: www.agilent.nl



Agilent heeft ook een divisie "Lab-on-a-chip" waarin zij voor hun eigen apparatuur micro-TAS ontwikkelen

3.1.3 YSI (zie 1.2.1)

YSI maakt ook in hun analysers gebruik van micro-TAS om de verschillende analyses uit te voeren.

3.2 Optische sensoren, pH en vocht

3.3 Sensor array spectrometrie, spectrometrie en multi variate methodes

Dit soort sensoren leveren complexe signalen. Het uiteindelijke antwoord van een analyse wordt berekend vanuit de signalen die geleverd worden door een array van sensoren of van uit een verkregen spectrum. Een array sensor is bijvoorbeeld een elektronische neus zoals geproduceerd door o.a. Alfa-MOS en Neotronics. Onder spectrometrische sensoren vallen o.a. technieken als FTIR, DOAS en LIDAR (allemaal open weg spectrometrische technieken) waarmee de gassamenstelling van luchtmonsters bepaald kunnen worden. Het rekenen aan dit soort signalen gebeurt met multi variate methodes. In onderstaande paragrafen wordt dieper ingegaan op deze methodes.

3.3.1 Introduction

Pattern recognition techniques are essential tools in the evaluation of data from broad sensor arrays. This is certainly true for broad non-specific sensor arrays which yield large number of signal intensities. For that type of data, complex signal ratios are the key to compound-specific identification and quantification. In principle, various multivariate data analysis methods are available for the evaluation of complex data. The goal of this literature study was to find suitable pattern recognition methods for the evaluation of sensor array data, which are preferably easy-to-handle, robust and suitable for in-line applications. Moreover, training of such methods for classification purposes should not be too time consuming. Choice of appropriate multivariate

analysis techniques depends on the type information required: i) a tool for the classification of substances and ii) the determination of concentrations of substances. The literature search was carried out using the following additional keywords: safety, quality, antibiotics, pathogenics and hormones. Papers were selected, ranked according to the relevance to the subject and summarized. In addition, in a separate chapter "Discussion and conclusions" several aspects of pattern recognition methods are discussed, such as advantages/disadvantages, optimization of class borders and what has to be done in the future to make the methods applicable. In addition, an overall conclusion is formulated.

3.3.2 Summary of results

The rating of the relevant papers (1990-2000)

Type A - Relevant paper

Type B - Less relevant paper

Type C - May be a relevant paper in the future

- 1) T.F. Kaltenbach and G.W. Small, "Development and optimization of piecewise linear discriminants of the automated detection of chemical species", *Analytical Chemistry*, 1991, 63, 936-944. (*Research article, type A*) *Summary*: In this paper, the piecewise linear discriminant analysis (PLDA) technique (iterative) is described. Several methods for obtaining piecewise linear discriminants are available. PLDA approximates a non-linear surface using multiple linear discriminants to form a piecewise approximation of a non-linear surface. A disadvantage of PLDA is that because of its iterative nature the computation time may take a lot of hours. This makes the technique limited in practice. PLDA is demonstrated by means of the application to remote sensing data of SF₆ collected with a passive Fourier transform infrared spectrometer. Before pattern recognition is applied to the obtained sensor data, the data are filtered using a finite impulse response matrix (FIRM). Next, a test data set was constructed by means of selecting 3000 patterns from 12141 interferograms from 17 experimental runs. Finally principal component analysis (PCA) and PLDA are both applied to the filtered data set. Optimization of the positioning of the discriminant functions was carried out using a Simplex algorithm. *In this paper PCA and PLDA are both described very well. A nice application is reported.*
- 2) C.L Hammer et al., "Artificial neural networks for the automated detection of trichloroethylene by passive Fourier transform infrared spectrometry", *Analytical Chemistry*, 2000, 72, 1680-1689. (*Research article, type B*) *Summary*: In this paper, pattern recognition methods have been applied to the automated classification of trichloroethylene signatures from passive Fourier transform infrared remote sensing interferogram data. The methods used are piecewise linear discriminant analysis (PLDA) and an artificial neural network (ANN), the so-called back-propagation network (BNN). Both methods are non-linear modeling methods. However, the BNN has a greater ability to model the more complex relations, which may be present in the data considered. The data described consisted of sets of training, monitoring and prediction interferograms. The training set was used to compute BNN's. The monitoring set was used to test the BNN's computed. Finally, the prediction set was used to validate the network classification performance. Although elegant results are obtained using BNN's the computation time may be very large, because several variables have to be

optimized. After optimization, ANOVA techniques are required to study the main and interaction effects from the results obtained with BNN. For the reasons mentioned the PLDA method is recommended although the results obtained may be worse compared to the results obtained with BNN's. *This paper compares the performance of PLDA and NN. Unfortunately, the paper focuses only on the quantification of TCE.*

- 3) J. Seemann et al., "Classical and modern algorithms for the evaluation of data from sensor-arrays", *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 1997, 359 (1), 100-106 (*Review, type A*) *Summary*: In this paper, the sensitivity of different coated sensor elements in an array configuration has been investigated by means of reflectometric interference spectroscopy (RifS). This method monitors changes in the optical thickness during the interaction of the analyte with the sensitive layer. The linearity of the sensor is only guaranteed in a limited concentration range. Therefore, model-free multivariate techniques have been applied e.g. neural networks (NN's). The performance of the NN and partial least squares (PLS) has been compared. Due to the lack of a suitable model for the non-linearity of some sensors, the NN provides better quantitative results. Optimizing the topology of a neural network helps to look inside the black box of a trained neural network. *This paper describes the investigation of the sensitivity of sensors.*
- 4) R.E. Shaffer and G.W. Small, "Genetic algorithms for the optimization of piecewise linear discriminants", *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1996, 35 (1), 87-104. (*Review/Research article, type A*) *Summary*: In this paper, genetic algorithms (GAs) are applied to the optimization of piecewise linear discriminants. The application of GAs has several advantages: (i) no knowledge or gradient information about the response surface is required (ii) discontinuities present on the response surface have little effect on the overall optimization performance and (iii) they are resistant against getting stuck in local minima. In the study, three different types of GAs have been investigated: binary-coded (GAB), real-coded (GAR) and Simplex-GA hybrid (SGA). Although SGA is intended to be a hybrid version of the two algorithms it is very similar to GAR and not to Simplex optimization. The data employed consisted of FTIR interferograms. SGA and GAR performed better than GA. At page 90 and 91 a clear overview of discriminant analysis is given. At page 92-94 a clear overview of genetic algorithms is given. PLDA is relatively resistant against overtraining. *This paper gives an extensive overview of the theory of discriminant analysis, optimization methods and genetic algorithms. Therefore, the research paper has the nature of a review.*
- 5) P. Wide et al., "An air-quality sensor system with fuzzy classification", *Measurement-Science-and-Technology*, 1997, 8(2), 138-146. (*Research article, type B*) *Summary*: A sensor system for the measurement of air quality is described. The sensor data are analyzed using fuzzy control and fuzzy signal processing especially the fuzzy fusion technique. In fuzzy fusion a number of characteristics of sampled measurements are used. These properties are calculated for each sensor. A particular air quality category is represented as a table of fuzzy sets. In this case such an approach is useful because of the properties of the sensors used. The mean errors are unknown and the signals obtained cannot be presented by a Gaussian probability density function. *This paper describes a nice application of fuzzy fusion, but it is too complicated for general use in the data treatment of sensor arrays.*

- 6) F.W. Koehler et al., "Calibration transfer in the automated detection of acetone by passive Fourier transform infrared spectrometry", *Applied Spectroscopy*, 2000, 54(5), 706-714. (*Research article, type A*) *Summary*: In this paper, acetone is determined qualitatively by means of Fourier transform infrared spectrometry. Two spectrometers from different manufactures are used. The first spectrometer is used to collect data that are used to construct a training pattern recognition model. The second instrument is used to collect data to which the model is applied. This is the field of calibration transfer. In the paper, robust pattern recognition models are built through the addition of a small number of background measurements obtained with the second instrument. The data obtained with both spectrometers are first filtered by means of a time-varying finite impulse response matrix filter. Piecewise linear discriminant analysis (PLDA) is the pattern recognition technique used. The training set is used to optimize the placement of the discriminants which can be used to predict the classification of patterns in a similarly prediction data set. The patterns with a discriminant score above zero are classified as analyte-active whereas the patterns with a discriminant score below zero are classified as analyte-inactive. The advantage of PLDA in this case is that the placement of the discriminants is optimized in such a way that the discriminant boundary lies as close as possible to the group of patterns from the analyte inactive class (sensitivity). This makes it easier to standardize the second instrument by means of collecting only the analyte-inactive data. *This paper is very important because of the manner in which PLDA is optimized.*
- 7) M.J. Mattu et al., "Quantitative analysis of sulfur dioxide with passive Fourier transform infrared remote sensing interferogram data", *Applied Spectroscopy*, 2000, 54(3), 341-348. (*Research article, type B*) *Summary*: In this paper, quantitative analysis of sulfur dioxide (SO₂) is performed under experimental conditions that simulate a stack emission. The analysis combines a pre-processing digital filtering step and partial least squares (PLS) regression. The experimental design used allows the impact of variation in the temperature of the SO₂ to be evaluated for its effect on the calibration models. The results obtained confirm that a linear model can be used to approximate the relationship between filtered interferogram intensities and the concentrations of SO₂ emissions for data collected with temperature differences $\leq 30^{\circ}\text{C}$. *This paper is the only paper with a calibration nature. Multivariate calibration techniques are used for the quantitative analysis of SO₂.*
- 8) A.S. Bangalore et al., "Automated detection of trichloroethylene by Fourier transform infrared remote sensing measurements", *Analytical Chemistry*, 1997, 69(2), 118-129. (*Research article, type B*) *Summary*: Passive Fourier transform infrared (FT-IR) remote sensing measurements are used to implement the automated detection of trichloroethylene (TCE) vapor in the presence of a variety of infrared background signatures. By means of the use of a combination of bandpass digital filtering and piecewise linear discriminant analysis, this detection procedure has been applied to short segments of the interferogram data collected. Interferogram data were acquired with three types of passive remote sensing measurements:¹ (1) open-air terrestrial, (2) passive cell terrestrial and (3) passive cell laboratory measurements. These three approaches were used in order to obtain variation in both TCE concentrations and the infrared backgrounds observed.

¹ "Cell" and "open-air" denote whether the TCE was contained in a cell or released in the open-air. "Laboratory" and "terrestrial" indicate whether the infrared background was a laboratory blackbody or a naturally occurring infrared background.

Interferograms containing TCE signatures are termed "TCE-active" interferograms, while interferograms containing no TCE are termed "TCE-inactive" or "background" interferograms. Inspected TCE-active and background interferograms were used to assemble two separate training and prediction data sets. The two training data sets were used to optimize the digital filtering and pattern recognition parameters of the TCE detection algorithm. The prediction data sets were used as independent test sets for use in determining the rate of positive and false detection's by the optimized detection algorithm. In this study the digital filter technique used is an implementation of a finite impulse response (FIR) digital filter. Pattern recognition was used to study clustering of segments in the data space according to the TCE presence in order to make a yes/no decision regarding the presence of TCE information in any filtered interferogram.

Achieving the greatest sensitivity in discriminating the TCE-active and TCE-inactive patterns requires a pattern recognition method that can accommodate non-linear boundaries. Therefore piecewise linear discriminant analysis (PLDA) was used in this study. PLDA was implemented in the TCE detection by means of a stepwise procedure to compute the individual discriminants that approximate the non-linear separating surface between the TCE-active and TCE-inactive classes. *This paper describes hardly any theory and is only focussed on TCE detection.*

- 9) M. Masila et al., "Pattern recognition studies of halogenated organic compounds using conducting polymer sensor arrays", *Electroanalysis*, 1998, 10(5), 312-320. (*Research article, type B*) *Summary*: In this paper, direct measurement of volatile and semivolatile halogenated organic compounds was carried out using arrays of conducting polymer sensors. Cluster analysis was used to discriminate between polychlorinated organic phenol vapor response vectors in 2-dimensional space and to identify clusters to which unknown vectors are likely to belong. After data acquisition, the raw data were manipulated to obtain a database to be used in the determination of the Euclidean distances between the two given patterns and the normalized sensor responses. The sensor response was divided throughout by the average or maximum sensor response or by making the response of each sensor to have a mean of zero and standard deviation of one over all chemicals sensed. *This paper shows that the distinguishing characteristics of cluster analysis are limited.*
- 10) B. Hibbert, "Data analysis of multi-sensor arrays", *Electroanalysis*, 1998, 10(16), 1077-1080. (*Review, type A*) *Summary*: This paper concentrates on multivariate analysis methods that are suitable for the classification of substances. Before any multivariate analysis methods is applied it is very important to pay attention to data pre-processing. Hence, autoscaling or mean centering may be required. After a certain data-scaling step popular methods of data analysis are principal component analysis (PCA), linear discriminant analysis (LDA), cluster analysis and artificial neural networks (ANN's). However, ANN's are the first choice of classification for complex, non-linear systems. Using ANN's the trainingset must span all possible combinations of input parameters and all classification sets. *In this paper an overview of different data preprocessing techniques and methods for data analysis are listed.*
- 11) T.A. Nguyen, "The use of chronoamperometry and chemometrics for optimization of conducting polymer sensor arrays", *Electroanalysis*, 1999, 11(18), 1327-1332. (*Research article, type A*) *Summary*: In this paper, conducting electroactive polymer (CEP) materials as amperometric sensors are used as flow injection analysis (FIA) amperometric detectors to determine potassium and methylamine. Datapretreatment consisted of autoscaling the data. PCA was applied for data

interpretation. The separation between K^+ and MA^+ groups in a scoreplot is indicative of the degree of selectivity attainable. *This paper is important, because of the relatively simple technique (PCA) that is used for classification. However, in our opinion, the results obtained can be improved further by means of applying PCA-discriminant analysis (PCA-DA).*

- 12) F. Sales et al., "Multivariate standardization for correcting the ionic strength variation on potentiometric sensor arrays", *The Analyst*, 2000, 125(5), 883-888. (Research article, type C) *Summary:* In this paper, selective-ion potentiometric sensors have been combined with multivariate calibration to quantify $K(I)$ and $Ca(II)$ in natural waters. The ionic strength of the medium is a problem for potentiometric measurements when quantifying unknown samples whose ionic composition may be different from that of the calibration samples used in building the model and the calibration model is not robust enough to model ionic strength. It is studied whether it is possible to establish and validate a calibration model with the available system of electrodes without having to pre-treat the samples with an adjuster and if this is not possible whether applying a correction step to measure samples directly without pre-treatment with an ionic strength adjuster (ISA). The standardization process consists of two steps. In the first step the Kennard-Stone algorithm has been applied to select transference samples. This algorithm calculates the multivariate Euclidean distance between all the samples and selects them in such a way that they are uniformly distributed along the space they define. Piecewise direct standardization (PDS) has been used in the second step to correct the measurement of the samples under the new experimental conditions. With this technique, the signal from each sensor under the first conditions is related to the signals from a group of sensors under the second conditions. In this way, many variations in the signal are considered. *This paper may be very important in the future. If an instrument breaks down and is repaired or a new instrument is bought it is necessary to update, for example, calibration models. However, updating calibration models may be very time-consuming. Therefore, it may be convenient to transfer the calibration model using certain multivariate techniques.*
- 13) D.M. Wilson, "Rank extraction in tin-oxide sensor arrays", *Sensors-and-Actuators-B-Chemical*, 2000, 62(3), 199-210. (Research article, type A) *Summary:* In this paper,² methods for processing data and extracting rank-related features from arrays of tin-oxide sensors are used. The effectiveness of rank extraction for discriminating among breath alcohol mixtures and associated interferences is evaluated using cluster analysis techniques (principal component analysis (PCA) and full-dimensional cluster analysis (FDCA)) and neural networks (NN's). PCA and FDCA are used as suitable tools to determine which data sets can be used to train well in a NN. In detail the procedure followed in the paper is for each analysis: A) Compute the so-called centroid proximity metric (CPM), B) compute the two-dimensional PCA and C) train and test two different NN's. The first NN is a so-called fully connected multi-layer perceptron with one hidden layer using extended delta-bar-delta back-propagation (EDBD-BP) in order to train the NN. The second NN is a so-called RBF network, which is trained in the same way as the first neural network. Note that in this paper the focus is on the second and third principal components and not on the first and

² In this paper, a lot of references are given to successful applications of sensor arrays for the discrimination of breath alcohol constituents, consumer mixtures such as beers, food flavors, paper quality, coffees, automotive exhaust constituents and various water pollutants.

second, because variances caused by concentration and baselines are dominantly present in the first and second principal component. *This paper (rather complex) is very important because different cluster analysis techniques are applied.*

- 14) S. Bell et al., "Neural network recognition of chemical class information in mobility spectra obtained at high temperatures", *Analytical Chemistry*, 2000, 72, 1192-1198. (*Research article, type B*) *Summary*: In this paper, high-temperature mobility spectra have been obtained for 154 chemicals representing 16 chemical classes. Neural networks (back-propagation) have been used to probe the regions of chemical information in mobility spectra from the large library of spectra measured. A genetic algorithm has been used to create a representative subset of points from the mobility spectrum as input for the neural network. *This paper is less important, because it only describes the application of neural networks and a genetic algorithm to high-temperature mobility spectra.*

3.3.3 Discussion and conclusions

• *General*

PCA, which is fast and easy, seems to be less applicable for the data treatment of sensor arrays. PLDA and NN are more suitable methods. Below advantages and disadvantages of PLDA and NN are summarized. Also optimization methods and future prospects are summarized.

• *Advantages PLDA/NN*

- 1) Applicable to any pattern recognition problem in which the relation between the data classes is complex.
- 2) Applicable to non-linear data obtained from non-linear responses of the array (capability of handling non-linear data).
- 3) After extensive training, fast classifications algorithms are obtained. Of all NN's available, the back-propagation (BP) network seems the most successful one.

• *Disadvantages PLDA/NN*

- 1) Computation time, because it may take hours before a NN or PLDA has been trained. It is possible to train faster, but the algorithm may get stuck in local minima.
- 2) NN's are very complicated to understand from an interpretation point of view because it is not easy to trace back the various array responses. Therefore, NN's have to be considered as more or less "black-box methods" with respect to input and output.
- 3) In practice, a large representative set of samples is needed for training.

• *Comparison PLDA/NN*

- 1) PLDA is a non-black box method.
- 2) Using PLDA gives a better visual check compared to NN.

• *Optimization methods for PLDA*

- 1) Simplex (fast).
- 2) Genetic algorithms (may require a large computation time).

• *Future prospects*

Not much attention is paid yet to the validation of the different methods discussed. Hence, in future the following items need to be developed further:

- 1) Specificity

- 2) Accuracy
- 3) Precision
- 4) Detection limit
- 5) Quantitation limit
- 6) Linearity
- 7) Robustness

3.3.4 Overall conclusion

In practice, PCA is the first tool to be used for the classification of data obtained from sensor arrays. If PCA does not give the desired results, PCA-DA or PLDA is the next choice. For very complex problems, it is possible that NN's have to be used.

3.4 Coatings

Coatings zijn voor het grootste deel verantwoordelijk voor de specificiteit van de sensor waarmee gemeten wordt. De mate van specificiteit van de coating bepaald op welke manier het sensorsignaal geïnterpreteerd moet worden. Dit kan verduidelijkt worden met het volgende voorbeeld: Hormonen kunnen met affiniteitssensoren gedetecteerd worden. Op het sensoroppervlak van zo'n sensor worden biologische moleculen, antilichamen of receptoren, geïmmobiliseerd die hormonen kunnen herkennen. Antilichaam zijn eiwitten die specifiek een hormoon kunnen herkennen. De specificiteit kan zo hoog zijn dat bijvoorbeeld alleen maar clenbuterol herkent wordt uit de groep van beta-agonisten. Wanneer daarentegen receptoren gebruikt worden voor de herkenning zal er geen onderscheid gemaakt kunnen worden tussen de verschillende beta-agonisten maar zullen alle beta-agonisten herkent en gemeten worden.

In de toekomst zullen coatings van sensoren een belangrijke rol spelen in de manier waarop er gemeten gaat worden. Hieronder worden een aantal ontwikkelingen besproken die voor coat ontwikkeling van belang zijn.

3.4.1 Generieke biologische coatings principes

De prijs voor de ontwikkeling van een biochemische sensor wordt momenteel hoofdzakelijk bepaald door de ontwikkeling van de biochemische coating van het sensoroppervlak. Dit is een zeer tijdrovende aangelegenheid. Daarom wordt er o.a. bij TNO Voeding maar ook door anderen op de wereld onderzoek gedaan naar de ontwikkeling van coatings procedures die voor meerdere applicaties van toepassing zijn. Het voordeel van deze ontwikkeling ligt niet alleen in het feit dat het ontwikkelingstraject korter en goedkoper is maar ook dat de levensduur van de sensor verlengt wordt. Een voorbeeld van zo'n coating is de immobilisatie van natuurlijke membraan fragmenten met daarin receptoren. TNO Voeding heeft een applicatie ontwikkeld waarbij de V2-receptor op deze manier geïmmobiliseerd is waarna vervolgens de agonist van deze receptor, AVP, gedetecteerd is [27].

3.4.2 Regeneerbaar vrije sensoren

Een andere tijdrovende inspanning voor de ontwikkeling van biochemische sensoren is het weer gebruiksklaar maken van het sensorsysteem (regeneratie). Bij de regeneratie worden chemicalien gebruikt als verdunde zoutzuur of loog oplossingen. Het biologisch materiaal dat aan het sensoroppervlak geïmmobiliseerd is is niet altijd ongevoelig voor deze chemicalien. Een oplossing om dit probleem te omzeilen is bijvoorbeeld het toepassen van een generiek coatingsprincipe zoals beschreven in 3.4.1.

Een andere benadering is om te zorgen dat er regeneratie nodig is. Een voorbeeld hiervan is beschreven en gepatenteerd door David Issachar [43]. Hierin wordt een methode beschreven waarbij op het sensoroppervlak zowel het receptormolecuul als een analiet van het te detecteren analiet is geïmmobiliseerd. Wanneer er analiet in het te meten monster aanwezig is zal het de gebonden analoog verdringen en zelf aan het receptormolecuul binnen. Op dat moment is de totale massa die gebonden is hoger dan wanneer deze niet aanwezig is. Deze massaverandering is dan het signaal dat de sensor afgeeft. Een sensor op basis van deze immobilisatiemethode wordt door Issachar RCRU's genoemd. RCRU staat voor Reversible Competitive Recognition Unit.

Dit soort ontwikkeling zullen het in de toekomst mogelijk maken om biochemische sensoren te ontwikkelen die eenvoudiger in gebruik zijn.

3.4.3 Partitie gebaseerde coatings

Dunne polymere coatings kunnen dienen als bemonsterings-techniek voor organische verbindingen. Dit wordt ondersteund door honderden wetenschappelijke publicaties gedurende de laatste 10 jaar op het gebied van de 'solid phase microextraction' (SPME) [44-50]. Het promotie-onderzoek van twee TNO'ers heeft het mogelijk gemaakt om SPME te gebruiken als meettechniek voor de bepaling van de biologische beschikbaarheid, en de baseline toxiciteit in milieumonsters. Deze expertise wordt nu gebruikt om sensoren te ontwikkelen voor de bepaling van baseline toxiciteit.

Tot nu toe is de molaire concentratie bepaald met behulp van gas chromatografie gekoppeld aan massa-spectrometrie. Deze techniek is echter zeer duur, kennisintensief en alleen toepasbaar in goed uitgeruste laboratoria. Binnen TNO Voeding is de nodige expertise opgedaan met de detectie van BTEX (Benzeen, Tolueen, Ethylbenzeen en Xyleen) vervuiling met behulp van een partitie gebaseerde polymere coating en fiber technologie.

Door de combinatie van partitie gebaseerde coatings en sensoren kan een grote groep van sensoren ontwikkeld worden die lange tijd zonder interventie van de mens (er is geen regeneratie en monstervoorbewerking nodig) metingen kan verrichten.

4. Conclusies

Dit deelrapport maakt duidelijk dat mondiaal er veel commerciële en wetenschappelijke aandacht is voor snelle metingen van gewenste en ongewenste componenten in ons voedsel. De grote diversiteit aan meetsystemen laat zien dat er vele oplossingen gezocht zijn om analyses eenvoudiger, goedkoper en sneller uit te voeren. Tevens is te zien dat de technologie zich ontwikkeld in de richting van multi analiet detectie. Dit is ook nodig omdat met de huidige status van de technologie de kosten per analyse nog erg hoog zijn. Veel van de analysemethoden worden al wel ingezet voor klinische analyses. Dit komt omdat de financiële marges in deze sector groter zijn dan in de voedingsmiddelenindustrie. Door meerdere analyses tegelijkertijd met hetzelfde apparaat uit te kunnen voeren worden de kosten per analiet lager. Dit zal zeker bijdragen aan de verbetering van de voedselveiligheid omdat meerdere monsters geanalyseerd kunnen worden zonder dat de totale analysekosten zullen stijgen.

In hoofdstuk 3 “Toekomst” is aandacht besteed aan technologieën die in de nabije en verre toekomst invloed zullen hebben op de manier waarop analyses uitgevoerd gaan worden. Voor het bewaken van de voedselveiligheid zijn uiteindelijk snelle en betrouwbare meetsystemen nodig die of een grote hoeveelheid analieten tegelijk kunnen meten of die door middel van data interpretatie een uitspraak kunnen doen over de status van het geteste monster. Een derde benadering is om relaties te vinden tussen verschillende analieten. Wanneer de aanwezigheid van een analiet representatief is voor een groep van analieten dan zou volstaan kunnen worden met het meten van een indicatief analiet. Een groep van analieten kan ook gedetecteerd worden door de coating van sensoren dusdanig aan te passen dat de specificiteit laag is. Een voorbeeld hiervan is het gebruik van receptoren om groepen van pesticiden en toxinen aan te tonen.

De specificiteit en selectiviteit van de analyses hangt veelal af van de coating die aangebracht is op de sensor en de monstervoorbewerking die uitgevoerd wordt. Voor toekomstige analyses zal het daarom van belang zijn dat zowel geïnvesteerd wordt in de ontwikkeling van meettechnologieën, coatings, monstervoorbewerking en dataverwerking.

Dat nieuwe analysesystemen van essentieel belang zijn voor de voedselveiligheid in de toekomst is duidelijk. Om tot betrouwbare en snelle analysesystemen te komen zal niet alleen geïnvesteerd moeten worden in de meetsystemen zelf maar ook aandacht besteed moeten worden aan de implementatie van de meetsystemen in HACCP beheersplannen. Hiervoor zal het ook nodig zijn dat er een goede registratie van de resultaten plaatsvindt.

Veelal zullen de analysesystemen gebruikt worden voor screeningsdoeleinden. Het is daarom ook van belang dat de ontwikkelingen op het gebied van instrumentele analyses, voor de onafhankelijke bevestiging van de screeningsresultaten, niet worden vergeten. De bevestigingsmethodes zijn nodig i.v.m. de wetgeving op voedselveiligheid. Indien de wetgeving aangepast wordt is dit punt van meer of minder belang.

Om in de toekomst tot een geïntegreerd en strategisch monitorings- en surveillancesysteem voor de varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketen te komen is het van belang dat de onderzoeksactiviteiten hiervoor gebundeld gaan worden. De onderzoeksinstituten die vorm gegeven hebben aan de technology scan vullen elkaar op de hierboven beschreven punten goed aan en zouden goed vorm kunnen geven aan de ontwikkeling van zoen monitorings- en surveillancesysteem voor de varkensvlees-, rundvlees- en zuivelketen.

5. Expertise TNO Voeding

De afdeling Verpakkingen en Sensortechnologie van TNO Voeding bestaat uit vier productgroepen. Twee zijn gerelateerd aan verpakkingsonderzoek en twee aan sensortechnologie. De sensortechnologie groepen (opto-chemische en biochemische sensoren) ontwikkelen sensoren en sensorapplicaties. Hiervoor is kennis in huis van verschillende fysische principes die als basis dienen voor de sensoren: o.a. fluorescentie, luminescentie, absorptie, elektronica, surface plasmon resonantie, interferometrie, bulk acoustic wave, (cyclische)voltmetrie, conductometrie, fiber optics. Daarnaast is er expertise op het gebied van coatings (chemische en biochemische) die aangebracht worden op het sensoroppervlak. Naast in de literatuur beschreven coatings worden binnen de twee groepen ook nieuwe coatings ontwikkeld.

Vervolgens wordt er veel aandacht besteed aan methode ontwikkeling. Getracht wordt om een sensorapplicatie te ontwikkelen die direct het analiet kan meten. Wanneer dat niet mogelijk is wordt een monstervoorbewerking afgestemd op het gebruikte sensorsysteem. Tevens worden bestaande sensoren en analysesystemen vereenvoudigd en/of aangepast aan de wensen van de klant. Ook helpen wij mee bij de implementatie van de sensorapplicatie in de meetomgeving.

Een ontwikkeling die sinds een aantal jaren gaande is, is het ontwikkelen van in verpakkingen geïntegreerde "sensoren". Te denken valt hier aan contactloze zuurstof metingen in verpakkingen of stickers in verpakkingen waarmee tijd geïntegreerde metingen gedaan kunnen worden voor parameters als temperatuur, zuurstof, kooldioxide of versheid. De samenwerking met de twee productgroepen van het verpakkingsonderzoek is hierbij essentieel. Deze groepen hebben expertise op het gebied van de doorlaatbaarheid van polymere verpakkingen als ook op het gebied van wetgeving aangaande het gebruik van dit soort indicatoren in voedingsverpakkingen. Aan welke eisen moeten polymeren voldoen omgebruikt te mogen worden in verpakkingen en in verpakkingen gebruikte sensoren.

Doordat steeds meer gecombineerde analyses uitgevoerd worden is het nodig om ook aandacht te besteden aan de dataverwerking. Daarom wordt er in steeds toenemende mate gebruik gemaakt van de expertise van de afdeling Voedingsmiddelen- en voedingsmiddelensupplementen analyse. Binnen deze afdeling is veel kennis aanwezig op het gebied van complexe data-analyse.

Literatuur

- 1 Application of a surface plasmon resonance biosensor in the analysis of antibiotic residues in milk, Sternesjö, Å., Mellgren, C. and Björck, L., International Dairy Federation - Residues of Antimicrobial Drugs and Other Inhibitors in Milk, 1995, 234-238.
- 2 Hygromycin B antibody production and characterization by a surface plasmon resonance biosensor, Medina, M. B., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 1997, 389-394.
- 3 Optical immunobiosensor assay for determining enrofloxacin and ciprofloxacin in bovine milk, Mellgren, C. and Sternesjö, Å., Journal of AOAC International, 81, 1998, 394-397.
- 4 Use of biosensors for rapid drug residue analysis without sample deconjugation or clean up: a possible way forward, Elliott,-CT; Baxter,-GA; Hewitt,-SA; Arts,-CJM; van-Baak,-M; Hellenas,-K-E; Johansson,-A, Analyst, 123(12), 1998, 2469-2473.
- 5 Evaluation of an immunobiosensor for the on-site testing of veterinary drug residues at an abattoir. Screening for sulfamethazine in pigs, Baxter,-GA; O'Connor,-MC; Haughey,-SA; Crooks,-SRH; Elliott,-CT, Analyst, 124(9), 1999, 1315-1318.
- 6 The development of a rapid immunobiosensor screening method for the detection of residues of sulphadiazine, Elliott,-CT; Baxter,-GA; Crooks,-SRH; McCaughey,-WJ, Food-Agric-Immunol., 11(1), 1999, 19-27.
- 7 Immunobiosensor - an alternative to enzyme immunoassay screening for residues of two sulfonamides in pigs, Crooks,-SRH; Baxter,-GA; O'Connor,-MC; Elliott,-CT, Analyst, 123(12), 1998, 2755-2757

- 8 Evaluation of an immunobiosensor for the on-site testing of veterinary drug residues at an abattoir. Screening for sulfamethazine in pigs, Baxter,-GA; O'Connor,-MC; Haughey,-SA; Crooks,-SRH; Elliott,-CT, *Analyst*, 124(9), 1999, 1315-1318.
- 9 Detection of pesticide in drinking water using real-time biospecific interaction analysis (BIA), Minunni, M. and Mascini, M., *Analytical Letters*, 26, 1993, 1441-1460.
- 10 Comparison of conventional immunoassays (RIA, ELISA) with surface plasmon resonance for pesticide detection and monitoring, Revoltella, R. P., Laricchia-Robbio, L. and Liedberg, B., *Multidisciplinary Assessment of Contaminants in the Environment and of Risks for Human Health*, Springer Verlag, 1996.
- 11 Comparison of conventional immunoassays (RIA, ELISA) with surface plasmon resonance for pesticide detection and monitoring, Revoltella, R. P., Laricchia-Robbio, L. and Liedberg, B., *Biotherapy*, 11, 1998, 135-145.
- 12 The use of sensors in food and feed production; Bram van der Gaag, Kees G.J. Koopal; *BIOforum International* 3/98, volume 2, october, 121-124.
- 13 Mycotoxin analysis: validated and rapid methods, Bram van der Gaag en Ton van Osenbruggen, *New Food*, Vol 2, Issue 2, 49-51, 1999.
- 14 Multi analyte biosensor for the detection of mycotoxins, *Biosensors 2000*, 24-26 mei 2000, San Diego, USA.
- 15 The waveguide Mach-Zehnder interferometer as atrazine sensor, Schipper,-EF; Rauchalles,-S; Kooyman,-RPH; Hock,-B; Greve,-J, *Anal-Chem.* 15 Mar 1998; 70(6): 1192-1197.
- 16 New detection method for atrazine pesticides with the optical waveguide Mach-Zehnder immunosensor, Schipper,-EF; Bergevoet,-AJH; Kooyman,-RPH; Greve,-J, *Anal-Chim-Acta.* 10 Apr 1997; 341(2-3): 171-176.
- 17 Remote opto-chemical sensing with extreme sensitivity: design, fabrication and performance of a pigtailed integrated optical phase-modulated Mach-Zehnder interferometer system, Heideman,-RG; Lambeck,-PV, *Sens-Actuators,-B.* 14 Dec 1999; B61(1-3): 100-127.
- 18 Resonant mirror-based optical immunosensor: application for the measurement of atrazine in soil, Skladal,-P; Deng,-AP; Kolar,-V, *Anal-Chim-Acta.*, 8 Nov 1999; 399(1-2): 29-36.
- 19 A novel hydrogel matrix on gold surfaces in surface plasmon resonance sensors for fast and efficient covalent immobilization of ligands, Löfås, S. and Johnsson, B., : *Journal of the Chemical Society Chemical Communications*, 1990, 21, 1526-1528.
- 20 An Optical Biosensor System for Molecular Interaction Studies, Davies R.J., and Pollard-Knight D., *American Biotechnology Laboratory*. July 1993: 52-54.
- 21 Optical Biosensors to Quantify Product for Fermentation Monitoring, Hoare M., Gill A. and Lowe P.A. (1996) *Genetics Engineering News*. Vol 16.
- 22 Real time biosensor analysis of staphylococcal enterotoxin A in food, Rasooly L., and Rasooly A..(1999)*Int. J. Food Microbiol.* Vol 49: 119-27.
- 23 Effect of methanol on the interaction of monoclonal antibody with free and immobilized atrazine studied using the resonant mirror-based biosensor, Skladal P.(1999) *Biosens Bioelectron* Vol 14(3): 257-263.
- 24 Resonant mirror-based optical immunosensor: application for the measurement of atrazine in soil, Skladal P., Deng A., Kolar V. (1999)*Analytica Chimica Acta.* Vol 399: 29-36.

- 25 An Optical Biosensor for real-time chromatography monitoring: Breakthrough determination, Bracewell D.G., Gill A., Hoare M., Lowe P.A., and Maule C.H. (1998) *Biosensors Bioelectronics*: Vol 13 847-853.
- 26 Bioprocess monitoring: an optical biosensor for rapid bioproduct analysis, Gill A., Bracewell D.G., Maule C.H., Lowe P.A., and Hoare M. (1998) *J Biotechnol.* Vol 65: 69
- 27 Generic and reversible immobilization of natural membrane fragments on biosensor surfaces, A. van der Gaag, S. van Hovell tot Westerflier, E. Stigter, C. Yea, E. Verheij, M. Gaspari, Biosensors 2000, 24-26 mei 2000, San Diego, USA. -80.
- 28 Application notes van YSI.
<http://www.ysi.com/ysi/indweb.nsf/3368fe05033192ec852566670071cbaa/762e2a9c84834cb7852566aa00659efe?OpenDocument>
- 29 Literature Review of FAIR-project Actipak (CT 98-4170), An in-depth review of technologies, legislation, market and consumer needs and trends in active and intelligent packaging in relation to current European food packaging regulations, M.D. van Beest, M.A.H. Rijk, N. de Kruijf, L. Vermeiren, F. Devlieghere, J Debevere, M. Smolander, E. Hurme, R. Ahvenainen, TNO rapport van project 50271.01.01.
- 30 Principles of smart packaging, M. Smolander, *Packaging Technology*, March/April 200, 9-12.
- 31 Microsystemen laten markt industrie exploderen, Nico Baaijens, *Chemisch Weekblad* 7, 8 april 2000, 16-18.
- 32 Automated microchip platform for immunoassay analysis. Lee,-WE; Jemere,-AB; Attiya,-S; Chiem,-NH; Paulson,-M; Ahrend,-J; Burchett,-G; Bader,-DE; Ning,-Y; Harrison,-DJ, *J-Capillary-Electrophor.* Jan-Apr 1999; 6(1-2): 51-59.
- 33 Chemical mapping of imprinted plastic microchannel surfaces using group-specific fluorescent probes, Branham,-ML; MacCrehan,-WA; Locascio,-LE, *J-Capillary-Electrophor.*, Jan-Apr 1999; 6(1-2): 43-50.
- 34 Solid-phase extraction on microfluidic devices., Kutter,-JP; Jacobson,-SC; Ramsey,-JM, *J-Microcolumn-Sep.* Feb 2000; 12(2): 93-97.
- 35 Trapping of bead-based reagents within microfluidic systems: on-chip solid-phase extraction and electrochromatography, Oleschuk,-RD; Shultz-Lockyear,-LL; Ning,-YB; Harrison,-DJ, *Anal-Chem.* 1 Feb 2000; 72(3): 585-590.
- 36 Active micromixer for microfluidic systems using lead-zirconate-titanate (PZT)-generated ultrasonic vibration., Yang,-Z; Goto,-H; Matsumoto,-M; Maeda,-R, *Electrophoresis.* Jan 2000; 21(1): 116-119.
- 37 Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane), McDonald,-JC; Duffy,-DC; Anderson,-JR; Chiu,-DT; Wu,-HK; Schueller,-OJA; Whitesides,-GM, *Electrophoresis.* Jan 2000; 21(1): 27-40.
- 38 Polymer microfabrication methods for microfluidic analytical applications, Becker,-H; Gaertner,-C, *Electrophoresis.* Jan 2000; 21(1): 12-26.
- 39 Microfluidic assays of acetylcholinesterase inhibitors, Hadd,-AG; Jacobson,-SC; Ramsey,-JM, *Anal-Chem.* 15 Nov 1999; 71(22): 5206-5212.
- 40 Handling of picolitre liquid samples in a poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic device, Hosokawa,-K; Fujii,-T; Endo,-I, *Anal-Chem.* 15 Oct 1999; 71(20): 4781-4785.
- 41 *Fundamentals of microfabrication*, M. Madou, CRC Press, Boca Raton, FL, 1997.
- 42 *Micro Total Analysis Systems*, A van den Berg en P. Bergveld (eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Nederland, 1994.

- 43 Analyte specific chemical sensor with a ligand and an analogue bound on the sensing surface, D. Issachar, US Patent 5,156,972.
- 44 Vaes, W. H. J., C. Hamwijk, E. Urrestarazu Ramos, H. J. M. Verhaar and J. L. M. Hermens. 1996. "*Partitioning of organic chemicals to polyacrylate-coated solid phase microextraction fibers: kinetic behavior and quantitative structure-property relationships*", *Anal. Chem.* 68:4458-4462.
- 45 Vaes, W. H. J., E. Urrestarazu Ramos, H. J. M. Verhaar, W. Seinen and J. L. M. Hermens. 1996. "*Measurement of the free concentration using solid-phase microextraction: binding to protein*". *Anal. Chem.* 68:4463-4467.
- 46 Vaes, W. H. J., E. Urrestarazu Ramos, C. Hamwijk, I. van Holsteijn, B. J. Blaauboer, W. Seinen, H. J. M. Verhaar and J. L. M. Hermens. 1997. "*Solid phase microextraction as a tool to determine membrane/water partition coefficients and bioavailable concentrations in in vitro systems*". *Chem. Res. Toxicol.* 10:1067-1072.
- 47 Urrestarazu Ramos, E., S. N. Meijer, W. H. J. Vaes, H. J. M. Verhaar and J. L. M. Hermens. 1998. "*Using solid phase microextraction to determine partition coefficients to humic acids and bioavailable concentrations of hydrophobic chemicals*". *Environ. Sci. Technol.* 32:3430-3435.
- 48 Mayer, P., W. H. J. Vaes and J. L. M. Hermens. 2000. "*Absorption of Hydrophobic Compounds into the Poly(dimethylsiloxane) coating of Solid-phase Microextraction (SPME) fibers: High Partition Coefficients and Fluorescence Microscopy Images*". *Anal. Chem.* 72:459-464.
- 49 Oomen, A. G., P. Mayer and J. Tolls. 2000. "*Nonequilibrium solid phase microextraction (SPME) for determination of the freely dissolved concentration of hydrophobic organic compounds: matrix effects and limitations*". *Anal. Chem.* 72, 2802-2808.
- 50 Mayer, P., W. H. J. Vaes, F. Wijnker, K. C. H. M. Legierse, R. Kraaij, J. Tolls and J. L. M. Hermens. 2000. "*Sensing dissolved sediment porewater concentrations of persistent and bioaccumulative pollutants using disposable solid phase microextraction fibers*". *Environ. Sci. Technol.* (in press).

Verslag

Auteur: Ria Oonk

Senter Brokerage Event Snelle Detectie Methoden (SDM), 20 sept. 2000, De Reehorst, Ede

Plenaire lezingen:

1) Inleidend overzicht door Nicolette Klijn, **NIZO**.

Goed en overzichtelijk verhaal waarom SDM nodig zijn. Er zijn al SDM op basis van IgG's, enzym-assays en DNA probes, vaak zowel sneller als specifiek, maar vaak wel veel duurder en complexer, dan klassieke assays.

Waarom de implementatie van reeds ontwikkelde SDM nog erg traag is:

-onbekendheid; -validatie is niet adequaat en vaak te traag; -wetgeving dient aangepast te worden, deze vormt vaak belemmering op toelating SDM; -kostenbeheersing: integraal analyse plan voor de productieketen nodig voor het bepalen van relevante parameters in de keten

Ik heb de handout van haar verhaal.

2) **VEZET** (gesneden groentes) en **Microscreen** (P. Tan):

Labcontrole in het bedrijf is minimaal (weinig samples mogelijk; 1 analist; eenvoudig labje) en resultaat veel te laat bekend om nog iets te kunnen traceren. Gewenst: Zeer gevoelige test die binnen een dag (grondstof analyse; groente komt 'sochtends binnen) of 1 h (volgen productieproces: snijden/wassen/verpakken) uitslag geeft over entero's (<1000/g) en E. coli O157 of Salmonella (<1/g). Microscreen heeft samen met VEZET een ontwikkelingsplan opgesteld en een test ontwikkeld voor E. coli O157. Het is een Q-PCR. DNA wordt in een gesloten systeem onderworpen aan RT-PCR, waarna het target hybridiseert met een molecular beacon die fluoresceert na hybridisatie. Duur totaal vanaf bemonstering ca. 6 uur. Kosten 4-10 € per test. *Lijkt mij veel te duur voor de branche; maar dit is natuurlijk een "modelsysteem"*

3) W. de Wit, **LNV, Dir. Industrie en Handel**

-Voedselveiligheid als concurrentiefactor.

NOTA "Voedsel en Groen", Brinkhorst. De Agribusiness positie moet concurrentiekracht laten zien.; Omslag in houding: niet meer vanuit de primaire sector gedacht, maar marktgericht en de primaire sector dient te volgen.

Wageningen (..Ede/..Lelystad) → Food Valley

Er zijn of komen nieuwe ondersteuningsprogramma's voor kennis en innovatie op het gebied van SDM.

Ook moet er veel meer richting Brussel gelobbyed worden want de wetgeving is traag en is nu een remmende factor voor de implementatie van SDM.

(Jan Mulder, Europarlementariër VVD): er ligt nog 10 of 25 miljoen ecu aan subsidies te wachten, (waarvoor?: ?kwaliteitssystemen, ?SDM ontwikkeling).

Vanwege de hoge arbeids- en grondkosten etc. moet Nederland zich meer richten op producten met meerwaarde, niet op bulk.

Er zou een EU/Nederlandse "FDA" moeten komen; meer synergie tussen de huidige "voedselcontrole" organen.

4) WP Bijl, **NEN** over het EU project **Microval**

EU-Validatiesysteem voor microbiol. testkits voor voedingsmiddelen. Normstelling, certificatie, accreditatie.

5) HJ Beckers, **Nestlé**:

Voedingsmiddelenindustrie wil graag SDM, want onderdeel van HACCP is verificatie achteraf dat alles OK was. Dit duurt nu veel te lang. Omdat de gebruikers zelf meestal niet in staat zijn om nieuwe SDM te valideren, dienen aanbieders van SDM hun assays te valideren volgens internationale normen.

6) WJ Zwolve, **Senter** gaf een overzicht van wat Senter is en doet. *Handouts in de Sentermap*

- Diverse parallele sessies

Ik heb de sessie van IQ corporation bijgewoond. Microdetect™ is een PCR - DNA-Elisa methode die heel specifiek en heel gevoelig binnen 4-6 h uitslag geeft bijv. Legionella in water.

- Verder waren er vele stands van firma's die testen op de markt brengen, advisering/consultancy, het validatie traject verzorgen en van een aantal onderzoeksinstituten. (Door een misverstand had ID-Lelystad geen stand)

Alle beschikbare testen die ik gezien heb meten één parameter tegelijk. Geen multi-analyse systemen gezien. Wel is een abstract (ben niet bij het praatje geweest) van Van der Vossen van TNO Voeding over het gebruik van DNA arrays voor 'tracing and tracking' d.w.z. het achteraf kunnen traceren van Salmonella besmetting door typering van de Salmonella stam.