

Met biomarker naar onderbouwd afzetmoment

De relatie tussen biomarker en bessenkwaliteit in de praktijk

Bastiaan Brouwer, Maxence Paillart, Najim El Harchioui, Hans de Wild, Leo Lukasse

OPENBAAR



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



Met biomarker naar onderbouwd afzetmoment

De relatie tussen biomarker en bessenkwaliteit in de praktijk

Auteurs: Bastiaan Brouwer, Maxence Paillart, Najim El Harchioui, Hans de Wild, Leo Lukasse

Instituut: Wageningen Food and Biobased Research

Dit onderzoek is gefinancierd door en in opdracht van Innovatiefonds Hagelunie en Interpolis.

Wageningen Food & Biobased Research
Wageningen, oktober 2023

Openbaar

Rapport 2490

DOI: 10.18174/639638

WFBR Project nummer: 6239231700

Versie: Definitief

Reviewer: Frank van de Geijn

Goedgekeurd door: Nicole Koenderink

Gefinancierd door en in opdracht van: Innovatiefonds Hagelunie en Interpolis

Dit rapport is: Openbaar

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Wageningen Food & Biobased Research is het niet toegestaan:

- a. dit door Wageningen Food & Biobased Research uitgebrachte rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;
- b. dit door Wageningen Food & Biobased Research uitgebrachte rapport, c.q. de naam van het rapport of Wageningen Food & Biobased Research, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;
- c. de naam van Wageningen Food & Biobased Research te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.

Het onderzoek zoals beschreven in dit rapport is op objectieve wijze uitgevoerd door onderzoekers die onpartijdig zijn ten opzichte van de opdrachtgever(s) en sponsor(s). Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/639638> of op www.wur.nl/wfbr (onder WFBR publicaties).

© 2023 Wageningen Food & Biobased Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research.

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

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

Inhoud

Samenvatting	4
1 Introductie	5
2 Materialen en Methodes	6
2.1 Proef 1 – relatie tussen praktijkmeting kwaliteit en praktijkmeting biomarker	6
2.2 Proef 2 - dynamische bewaring van rode bessen	6
3 Resultaten en discussie	8
3.1 Proef 1 – relatie tussen praktijkmeting kwaliteit en praktijkmeting biomarker	8
3.2 Proef 2 - dynamische bewaring van rode bessen	8
4 Conclusies en aanbeveling	10
Literatuur	11
Dankwoord	12

Samenvatting

In een eerder labonderzoek is een relatie vastgesteld tussen een biomarkerconcentratie en de kwaliteit van rode bes in bewaring. Dit vervolgonderzoek vond plaats in samenwerking met de 11 grootste telers en bewaarders van rode bessen in Nederland en EMS (sensorfabrikant). Het hoofddoel van dit vervolgproject was om de gebruiksvoordelen van deze biomarkerconcentratie te onderzoeken op praktijkschaal in bewaarlocaties van telers door middel van de inzet van een sensor ontwikkeld door EMS. Additioneel, buiten het originele projectplan om, is verder een verkennend experiment uitgevoerd naar de mogelijkheden van dynamische conditionering van rode bessen. De onderzoeksvraag was daarbij: **hoe reageren biomarkerconcentratie en bessenkwaliteit op veranderende CA-gascondities?** Dit kan mogelijk op termijn leiden tot nieuwe dynamische, op productrespons gestuurde, bewaarcondities.

In ongeveer 100 rode-bes-bewaarcellen, verdeeld over 10 praktijklocaties, is de biomarkerconcentratie gemonitord met het sensorsysteem van EMS. Aan het einde van de bewaring is het verband bepaald tussen gemeten biomarkerconcentratie en bessenkwaliteit. Bij de meeste individuele bewaarcomplexen is een positieve correlatie waargenomen. Echter, op basis van de totale database moeten we concluderen dat het sensorsysteem van EMS, zoals verwacht bij een nieuw ontwikkelde sensor, nog geen universeel toepasbaar systeem is. Onderscheid in kwaliteit op basis van een biomarkerconcentratie lijkt nu dus enkel op bedrijfsniveau mogelijk, terwijl structurele verschillen tussen bewaarlocaties het onderling vergelijk nog bemoeilijken.

Buiten het originele proefplan om is tijdens het onderzoek besloten een additionele proef in te zetten. In een verkennend labexperiment zijn 14 containers van 70 L gevuld met 4.0 – 4.5 kg rode bessen. Om praktische redenen gebeurde dit in februari. Gedurende 3 weken is er gevarieerd met O₂/CO₂ concentraties en is de respons van biomarkerconcentratie gemeten. De meetresultaten geven aan dat mildere CA condities (= hoger O₂ en/of lager CO₂) leiden tot een lagere biomarkerconcentratie tijdens korte opslag van rode bessen. Dit is ook wat vanuit de theorie werd verwacht. Omdat de bewaarperiode van deze proef slechts 20 dagen was, werd geen effect op de bessenkwaliteit verwacht. Daarom is de kwaliteit slechts oppervlakkig beoordeeld, en daarbij werden geen verschillen geconstateerd. Het advies is om de proef te herhalen over een langere bewaarperiode, bij extremere wijzigingen in gasconditie, met vers geoogst materiaal, en afgesloten met een zorgvuldige kwaliteitsbeoordeling.

De aanbeveling is om de grootschalige praktijkproef te herhalen, waarin de relatie tussen kwaliteit en biomarker wordt onderzocht. Naar verwachting zal de biomarkermeting beter verlopen, omdat EMS gedurende en na het vorige bewaar seizoen, op basis van opgedane ervaring, meerdere aanpassingen in het meetsysteem heeft gedaan. Het verzamelen van kwaliteitsuitslagen door betrokken bewaarders verliep boven verwachting. Om deze reden kan deze proef met beperkte inspanning worden herhaald om te bepalen of de correlatie in een nieuw bewaar seizoen met aangepaste sensoren sterker is.

Ten tijde van dit schrijven zijn de adviezen reeds besproken met betrokken bewaarders en sensorontwikkelaar. Zij zijn vastberaden om de adviezen over te nemen en de onderzoekslijn voort te zetten in vervolgonderzoeken. Het eerste vervolgonderzoek is al weer gestart.

Voor meer informatie over dit rapport, verwijzen we u naar het colofon.

1 Introductie

Dit rapport geeft een overzicht van de onderzoeksactiviteiten die zijn uitgevoerd in het rode bessen bewaarperiode van 2022-2023, als direct vervolg op het project Fresh on Demand werkpakket DP1 (biomarkers; TU18098). In dit eerdere project is tijdens labonderzoek een relatie vastgesteld tussen biomarkerconcentratie en de kwaliteit van rode bes in bewaring (Brouwer et al., 2022a). Hoofddoel van dit vervolgpakket is om de gebruiksvoordelen van deze biomarkerconcentratie te onderzoeken op praktijkschaal door middel van de inzet van een sensor ontwikkeld door EMS. Opdrachtgevers en financiers van dit onderzoek zijn het Innovatiefonds Hagelunie en Interpolis. De volgende bedrijven hebben hun medewerking verleend en als klankbordgroep gefunctioneerd: Bloed Bessen B.V., Berrybrothers B.V., BTG Fruit B.V., De VitamineMuur, Environmental Monitoring Systems (EMS) B.V., Fruitteeltbedrijf de Bruijn VOF, Maatschap de Merode, Maatschap Verwoert, Maatschap Vos, Van den Broek Kleinfruit B.V., Zachtfruit Schalkwijk B.V., en Zachtfruitkwekerij Simons B.V.

Rode bessen kunnen bij 0.5 °C en onder gecontroleerde atmosfeer (CA) condities van 18-23 % koolstofdioxide (CO₂) en 3 % zuurstof (O₂) tot meer dan 8 maanden worden bewaard. Gedurende de bewaring worden bessen op praktische wijze beoordeeld door met regelmaat bessen uit de bewaring te halen en deze te beoordelen. Aanvullend hierop is de wens om bessenkwaliteit nauwkeurig te monitoren met een methode die voorspellend zou kunnen werken. Hiertoe is gekeken naar de gassen die de rode bessen produceren tijdens bewaring onder verschillende condities. In bewaring op laboratoriumschaal bij 0.5 °C en onder CA condities is een biomarker gevonden die sterk correleert met de kwaliteit van de bessen, onafhankelijk van herkomst en plukdatum (Brouwer et al., 2020, 2021; Brouwer et al., 2022a; Brouwer et al., 2022b). Deze biomarker is al eerder gemeten op praktijkniveau en leek ook daar te correleren met de kwaliteit van de bessen. Echter, een goede praktijkvalidatie met een commercieel beschikbare sensor is nodig om de voordelen van deze manier van kwaliteitsmonitoring op praktijkschaal aan te tonen. Daarnaast leeft binnen de sector het idee dat wellicht de houdbaarheid van bessen kan worden verlengd door af te wijken van standaard constante bewaarcondities. Tegen deze achtergrond zijn in dit onderzoek twee proeven gedaan:

1. Proef 1 – relatie tussen praktijkmeting kwaliteit en praktijkmeting biomarker. Onderzoeksvraag: wat is in commerciële bewaring de relatie tussen gemeten biomarkerconcentraties en de bessenkwaliteit bij uitslag?
2. Additionele Proef 2 – dynamische bewaring van rode bessen. Onderzoeksvraag: Hoe reageren biomarkerconcentratie en bessenkwaliteit op veranderende gascondities tijdens een kleinschalig kortdurend (voor)experiment in het lab? Deze test is later toegevoegd en geen onderdeel van het originele projectplan.

Dit onderzoek is onafhankelijk uitgevoerd en deze rapportage is openbaar.

2 Materialen en Methodes

2.1 Proef 1 – relatie tussen praktijkmeting kwaliteit en praktijkmeting biomarker

De ontwikkelaar van sensoren, EMS, heeft gedurende bewaarperiode 2022-2023 in ongeveer 100 cellen op 10 locaties gemeten met een biomarkersensor. Bij opening van een groot aantal van deze cellen is na bewaring door de telers het sorteersresultaat (uitvalpercentage) vastgesteld.

Wageningen Food en Biobased Research (WFBR) heeft toegang gekregen tot alle biomarkersensor metingen, en tot het sorteersresultaten van een groot aantal cellen.

Wageningen Food en Biobased Research (WFBR) heeft het verband onderzocht tussen het gerapporteerde uitvalpercentage en de biomarkerconcentratie gemeten aan het einde van de bewaring.

2.2 Proef 2 - dynamische bewaring van rode bessen

Additionele proef 2 was geen onderdeel van het originele projectplan. Deze proef moet worden gezien als een eerste verkennend voorexperiment naar de respons van biomarkerconcentratie en bessenkwaliteit op veranderende gascondities. Het plan tot deze proef ontstond in januari, mede omdat toen duidelijk werd dat er nog geschikt proefmateriaal beschikbaar was.

Na 6 maanden bewaring is deze proef gestart op 1 februari 2023. Voor drie oogstmoment (vroeg: 26 juli, optimaal: 4 augustus en laat: 8 augustus) werden batches van 4.0 - 4.5 kg rode bessen in 70 L roestvrijstalen bewaarcontainers geplaatst. Daarbij werden bessen van 5 - 6 verschillende telers zoveel mogelijk gelijkmatig verdeeld over de bewaarcontainers. De bessen waren van vergelijkbare kwaliteit, zonder roze bessen of schimmel. De meting is in duplo uitgevoerd door per geteste combinatie van bewaarconditie en oogstmoment twee 70 L bewaarcontainers te testen: 14 containers in totaal. Zie Tabel 1 voor de verdeling van de testcontainers over de verschillende combinaties van gasconditie en oogstmoment.

Tabel 1 Aantal testcontainers per combinatie van gasconditie en oogstmoment.

oogstmoment→ gasconditie↓	26 Jul. (vroeg)	4 Aug. (optimaal)	8 Aug. (laat)
standaard	2	2	2
hoger O2	2	2	0
lager CO2	0	2	2

Tabel 2 visualiseert de tijdlijn van de proef. Na vulling met bessen werden de bewaarcontainers luchtdicht afgesloten en doorgespoeld met door water geleide gasmengsels van 3 % O₂ en 23 % CO₂, met een flow van 400 mL min⁻¹, voor 5 dagen. Ná de 5 dagen zijn de samenstellingen van de gasmengsels aangepast voor een periode van 10 dagen. Hierbij is gekozen voor standaard behandeling, een behandeling met een hoger zuurstofpercentage en een behandeling met lager CO₂ percentage. Hierna werden alle gasmengsels weer teruggebracht naar 3 % O₂ en 23 % CO₂ en zijn de bessen 5 dagen onder deze condities bewaard. Op dagen 5, 10, 15 en 20 zijn de biomarkerconcentraties gemeten.

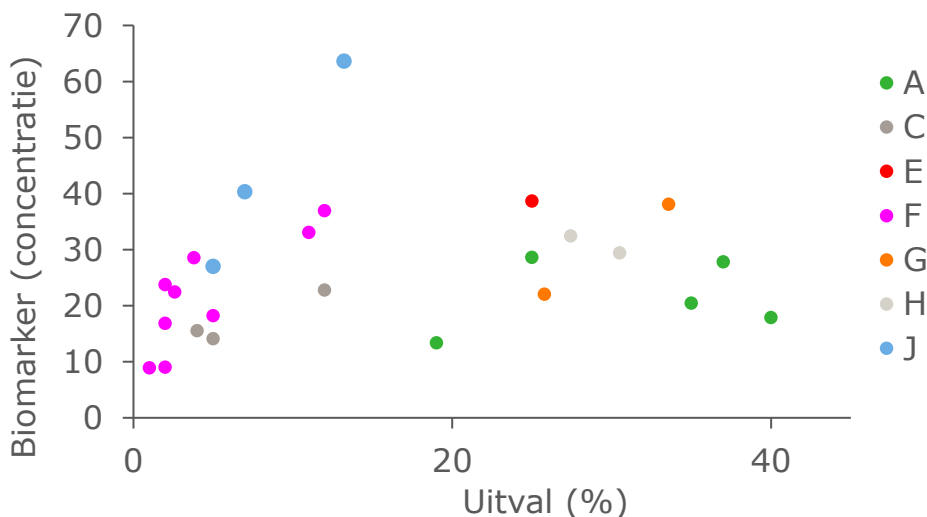
Tabel 2 *Tijdslijn van proef 2 - dynamische bewaring van rode bessen.*

Dag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Bewaarregime standaard	Standaard				Standaard											Standaard				
Bewaarregime hoger O ₂	Standaard (= 3% O ₂ / 23% CO ₂)				Hoger O ₂ (5% O ₂ / 23% CO ₂)											Standaard				
Bewaarregime lager CO ₂	Standaard				Lager CO ₂ (3% O ₂ / 18% CO ₂)											Standaard				
Tijdstippen biomarkermeting					x					x					x					x

3 Resultaten en discussie

3.1 Proef 1 – relatie tussen praktijkmeting kwaliteit en praktijkmeting biomarker

Figuur 1 visualiseert het verband tussen de kwaliteitsdata en biomarkerconcentraties aan het einde van de bewaring. Op basis van het eerdere onderzoek bij WFBR (Brouwer et al., 2020, 2021; Brouwer et al., 2022a; Brouwer et al., 2022b) werd verwacht dat de resulterende puntenwolk zich van linksonder naar rechtsboven uit zou strekken, *i.e.* een positieve correlatie tussen biomarkerconcentratie en kwaliteitsverlies. Echter, de puntenwolk als geheel heeft geen duidelijke richting. De opdeling van de data in verschillende telers, weergegeven in verschillende kleuren, toont voor de meeste telers (C, F, G en J) wel een positieve correlatie tussen kwaliteitsverlies en biomarkerconcentratie aan het einde van de bewaring. Teler B en D ontbreken in de figuur, omdat zij hun kwaliteitsdata niet hebben gedeeld. Bij teler A en H was geen correlatie zichtbaar, en daarvoor ontbreekt een goede verklaring.



Figuur 1 Commerciële biomarkerbepalingen aan het einde van de bewaarperiode gekoppeld aan kwaliteitsverlies bij uitslag. Elke teler heeft een eigen kleur.

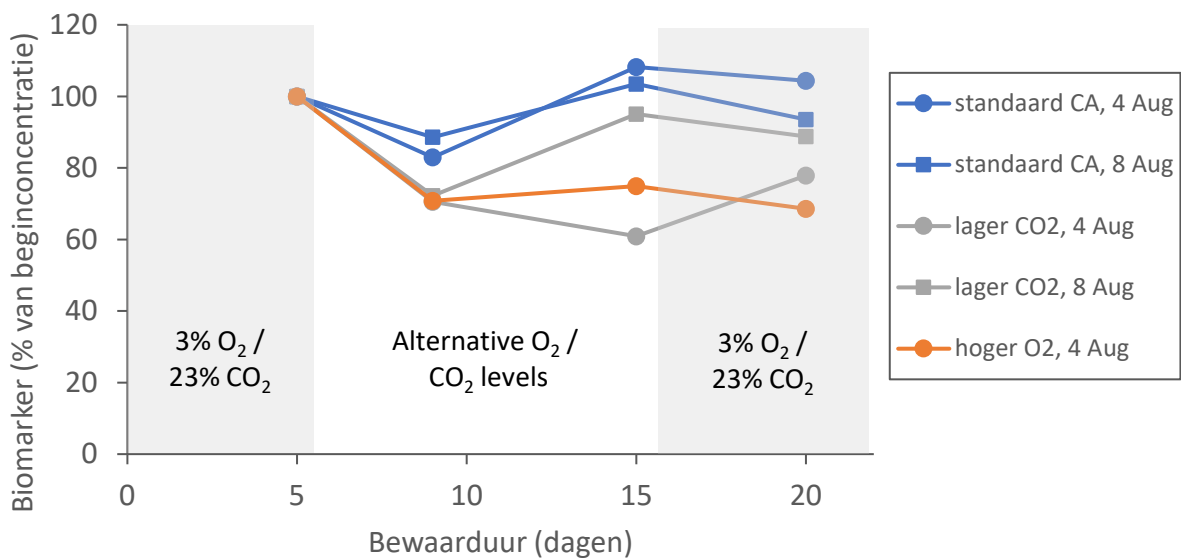
Gaandeweg het bewaarperiode zijn meerdere revisies en kalibraties uitgevoerd aan de biomarkersensor. Dit was te verwachten bij een initieel nieuw ontwikkelde sensor. Ook lijken er structurele verschillen te bestaan tussen de metingen bij de verschillende telers. Dat bemoeilijkt het onderling vergelijken tussen telers. Bij de meeste telers is er wel een positieve correlatie tussen kwaliteitsverlies en biomarkerconcentratie aan het einde van de bewaring. Hierdoor is er perspectief voor de praktische waarde van de sensor, en dit geeft perspectief voor een bredere inzet.

3.2 Proef 2 - dynamische bewaring van rode bessen

Figuur 2 toont het verloop van de gemeten biomarkerconcentraties in 5 van de 7 geteste combinaties van oogsttijdstip en bewaarregime. Twee van de geteste combinaties zijn weggelaten omdat de duplo's elkaar tegenspreken, dit zijn toevallig de beide metingen voor oogsttijdstip 26 juli (kolom 1 in Tabel 1). Omdat de biomarkerconcentraties in de bewaarcontainers al op dag 5 verschillen, is besloten de biomarkerconcentraties op dag 5 naar 100 % (Figuur 2) te normaliseren, zodat vergelijking tussen de partijen mogelijk wordt.

De volgende observaties werden gedaan:

- Bij onveranderde condities (Standaard: 3 % O₂ en 23 % CO₂) veranderden de biomarkerconcentraties nauwelijks (blauwe lijnen in Figuur 2).
- Bij mildere CA condities (= hoger O₂ en/of lager CO₂) is de gemeten biomarkerconcentratie verlaagd (oranje en grijze lijnen in Figuur 2).
- Bij verhoging van O₂ (oranje lijn in Figuur 2) daalde de biomarkerconcentratie tot 70%. Deze verlaging blijft bestaan tot vier dagen na herstel van O₂ en CO₂ naar de standaardconditie (oranje lijn, dag 20, in Figuur 2). Ook bij verlaagd CO₂ concentraties (grijze lijnen in Figuur 2) daalde de biomarkerconcentratie aanvankelijk naar ongeveer 70%, waarna de biomarkerconcentratie weer steeg tot 80 a 90 %. Bij de laat geoogste bessen werd die stijging overigens al gemeten voordat de standaardcondities werden hersteld, bij de optimaal geoogste bessen pas daarna. Voor dat tijdsverschil hebben we op dit moment geen verklaring.



Figuur 2 Effecten van veranderingen in bewaarcondities op biomarkerconcentratie. Oogstmomenten van de bessen waren 4 Aug (cirkel) of 8 Aug (vierkant). Bewaarcondities waren ofwel hetzelfde als tijdens de 6 maanden bewaring (3 % O₂ en 23 % CO₂; blauw), ofwel lager in CO₂ (3 % O₂ en 18 % CO₂; grijs), ofwel hoger in O₂ (5 % O₂ en 23 % CO₂; oranje). Markers zijn de gemiddelden van de duplo's (n=2), genormaliseerd naar de concentratie biomarker op dag 5.

Het valt op dat de biomarkerconcentratie bij alle partijen afneemt tussen dagen 5 en 9, na het aanpassen van de conditie. Het zou dus kunnen dat de partijen nog niet volledig waren geacclimatiserd voordat de condities werden aangepast. Vergelijkbare experimenten in de toekomst zijn er dus bij gebaat om de biomarkerconcentratie ook tijdens acclimatisatie te volgen om te garanderen dat de biomarkerproductie stabiel is.

Omdat de bewaarperiode van deze proef slechts 20 dagen was, werd geen effect op de bessenkwaliteit verwacht. Om die reden is de kwaliteit slechts oppervlakkig beoordeeld, en daarbij werden geen verschillen geconstateerd.

Concluderend: deze proef geeft aan dat mildere CA condities leiden tot een lagere biomarkerconcentratie tijdens korte opslag van rode bessen. Op grond van eerdere proeven (Brouwer et al., 2022b) en vanuit de theorie wordt zo'n verband ook verwacht. Daarom adviseren we herhaling van een dergelijke proef over een langere bewaarperiode, bij extremere wijzigingen in gasconditie, met vers geoogst materiaal, en afgesloten met een zorgvuldige kwaliteitsbeoordeling.

4 Conclusies en aanbeveling

Conclusies uit proef 1 – relatie tussen kwaliteit en biomarker in de praktijk:

Bij de meeste individuele bewaarcomplexen is er een positieve correlatie tussen kwaliteitsverlies en biomarkerconcentratie bij uitslag.

Conclusies uit additionele proef 2 - dynamische bewaring van rode bessen:

In dit eerste verkennende kortdurende voorexperiment naar de respons van biomarkerconcentratie en bessenkwaliteit op veranderende O₂/CO₂ concentraties reageert de biomarkerconcentratie conform verwachting: lagere biomarkerconcentratie bij mildere CA condities (= hoger O₂ en/of lager CO₂). Een effect op bessenkwaliteit is niet waargenomen, maar daarvoor was de proefperiode te kort.

Aanbeveling:

Proef 1 verdient herhaling. Gedurende het bewaar seizoen werden, zoals verwacht bij een nieuw ontwikkelde sensor, een aantal afwijkingen gevonden in de geïnstalleerde biomarkersensoren. Al tijdens het bewaar seizoen heeft EMS daarop geacteerd en meerdere revisies en herkalibraties uitgevoerd. Na afloop van de proef, in mei/juni 2023, heeft EMS alle sensoren ingenomen, nog enkele wijzigingen doorgevoerd, rigoureus getest in het lab en daarna teruggeplaatst. Daarom mag worden verwacht dat de metingen vanaf nu constanter en nauwkeuriger zullen zijn. De inzameling van kwaliteitsuitslagen door de betrokken telers verliep boven verwachting. Deze proef kan met beperkte inspanning worden herhaald, en het is zeer de moeite waard te analyseren of de correlatie in een nieuw bewaar seizoen sterker is, wanneer de meetfout kleiner wordt.

Additionele proef 2 verdient een degelijk vervollexperiment. Het advies is om de proef te herhalen over een langere bewaarperiode, bij extremere wijzigingen in gasconditie, met vers geoogst materiaal, en afgesloten met een zorgvuldige kwaliteitsbeoordeling.

Literatuur

Brouwer B, Martinez JB, Lukasse L (2022a) Fresh on Demand DP1: Biomarkers – Voorspellen van kwaliteit van rode bessen in bewaring op basis van volatile organic compounds. WFBR report **2371**, <https://doi.org/10.18174/583277>

Brouwer B, Paillart M, Harchioui NE, Wild Hd, Lukasse L (2022b) Fresh on Demand DP1: Biomarkers – Bewaring en monitoring van rode bessen; seizoen 2021-2022. WFBR report **2263**, <https://doi.org/10.18174/566437>

Brouwer B, Paillart M, Mishra P, Lukasse L (2020) Fresh on Demand DP1: Biomarkers – Bewaring en monitoring van rode bessen: seizoen 2019-2020. WFBR report **2089**, <https://doi.org/10.18174/532055>

Brouwer B, Paillart M, Mishra P, Lukasse L (2021) Fresh on Demand DP1: Biomarkers – Bewaring en monitoring van rode bessen; seizoen 2020-2021. WFBR report **2190**, <https://doi.org/10.18174/553591>

Dankwoord

Wij danken Innovatiefonds Hagelunie en Interpolis voor de financiering van dit onderzoek. Wij danken alle leden van de klankbordgroep (Bloed Bessen B.V., Berrybrothers B.V., BTG Fruit B.V., De VitamineMuur, Environmental Monitoring Systems EMS B.V., Fruitteeltbedrijf de Bruijn VOF, Maatschap de Merode, Maatschap Verwoert, Maatschap Vos, Van den Broek Kleinfuit B.V., Zachtfruit Schalkwijk B.V., en Zachtfruitkwekerij Simons B.V.) voor hun positieve houding, het meedenken, en het zeer goed faciliteren van dit onderzoek.

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



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

Rapport 2490

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.800 medewerkers (6.000 fte) en 12.900 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

