

Postbus 230 | 6700 AE Wageningen

COKZ
Fokkerstraat 1
3833 LD Leusden

Beste,

Bijgevoegd vinden jullie zoals besproken een korte rapportage over de methoden voor het aantonen van warmtebehandeling bij het bereiden van boerenkaas met ALP en PTR-MS fingerprints op basis van de gegevens tot begin 2022.

Met vriendelijke groet,

Onderzoeker Voedselauthenticiteit

Authenticiteit en Nutrienten

DATUM
18 juli 2022

ONDERWERP
Methoden voor het aantonen
van warmtebehandeling bij het
bereiden van boerenkaas

WFSR-nummer:
2211745/WFSR

POSTADRES
Postbus 230
6700 AE Wageningen

BEZOEKADRES
Wageningen Campus
Gebouw 123
Akkermaalsbos 2
6708 WB Wageningen

INTERNET
<http://www.rikilt.wur.nl>

CONTACTPERSOON

TELEFOON

E-MAIL

Methoden voor het aantonen van warmtebehandeling bij het bereiden van boerenkaas met ALP en PTR-MS fingerprints - Update 2022

Inleiding

In 2017 heeft WFSR (RIKILT) op verzoek van COKZ op basis van beschikbare data een advies geschreven over het detecteren van warmtebehandeling van kaasmelk bij de bereiding van boerenkaas. WFSR rapport "Methoden voor het aantonen van warmtebehandeling bij het bereiden van boerenkaas - Fingerprint en fosfatase-methoden". Sindsdien is meer data ter beschikking gekomen, en deze memo beschrijft de verwerking en observaties op basis van die nieuwe data.

Datasets

COKZ heeft een overzicht van ALP- en Fingerprint data ter beschikking gesteld voor de data verkregen tussen 2018 en (de eerste maanden van) 2022. Deze ALP (Alkalische Fosfatase, uit de Fluorofos bepaling) activiteit-resultaten in deze dataset is verdeeld in 'reguliere' monsters boerenkaas en een kleiner aantal 'speciale' monsters. Het 'reguliere' deel is in beginsel een aselechte afspiegeling van de in Nederland geproduceerde kaas. Deze data is aangevuld met de al eerder ter beschikking gestelde ALP resultaten uit 2015, met een totaal van 600 monsters. De 'speciale' set is bedoeld om de methoden te testen, en bevat zowel rauwmelkse als warmtebehandelde monsters. WFSR heeft voor 59 monsters ook de PTR-MS fingerprint resultaten beschikbaar. Voor alle datasets gelden de aannames dat deze een goede afspiegeling vormen van de boerenkaasproductie in Nederland, én dat de warmtebehandelingsstatus van alle monsters correct is.

Reguliere dataset: ALP

De "Boerenkazen" zijn de kazen uit het reguliere monitoringsprogramma, waarvan uit de aangeleverde informatie niet blijkt dat er thermisatie of pasteurisatie is toegepast. Hieruit zijn enkele zaken af te leiden over de fosfatase activiteiten in kaas (Figuur 1a). De mediaan per jaar tussen 2015 en 2021 verandert nauwelijks, en ligt vrij stabiel rond de 3750 mU/g. De medianen van 2015 (4500) en 2022 (2800) wijken af, mogelijk vanwege het kleinere aantal monsters van resp. 43 en 20 ten opzichte van de 120-140 monsters voor de overige jaren.

De verdeling rond de mediaan lijkt ook relatief stabiel. De 'boxen', die de 1^e-3^e kwartielen aangeven, zijn vrijwel even groot. De 'whiskers' geven een waarde van 1.58 x de interkwantielrange, een uit de robuuste statistiek afkomstige maat voor de spreiding van de data. De onderkant daarvan ligt tussen de 1600 en 2100 mU/g.

Er zijn echter relatief veel uitbijters. Die aan de bovenkant (>8000 mU/g) lijken voor aantonen van warmtebehandeling in kaas minder relevant. Die aan de onderkant zijn echter zeer de moeite waard.

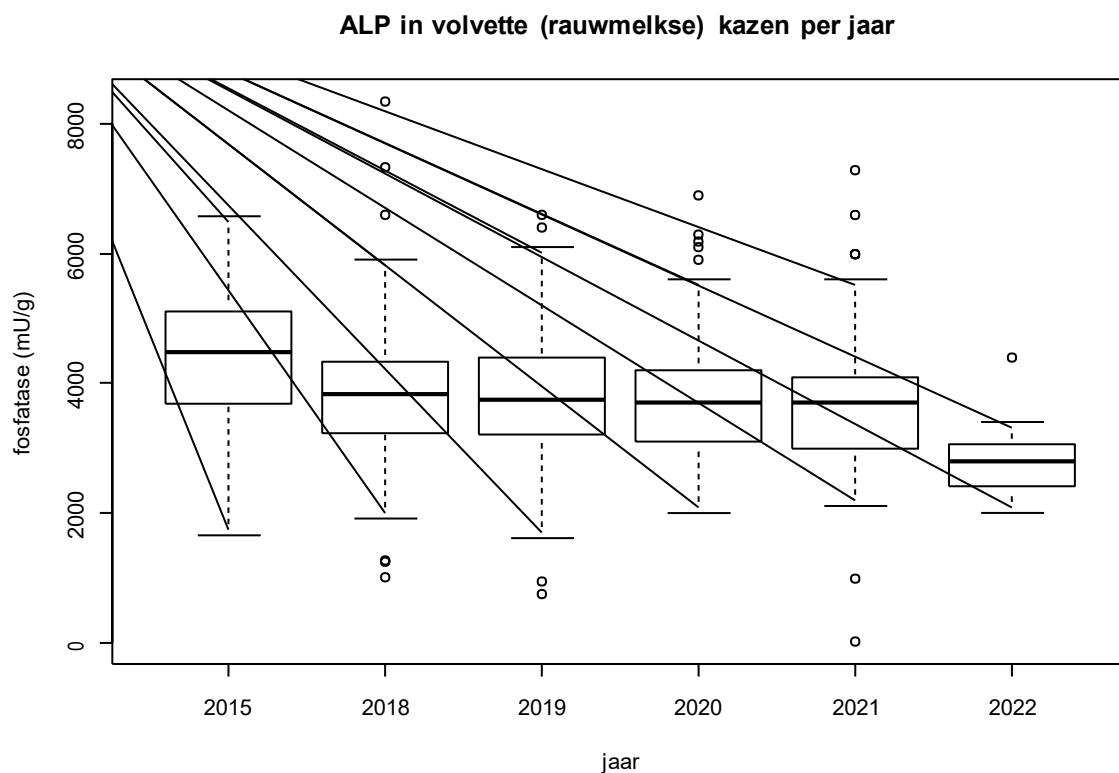
Het gaat om slechts 7 monsters op een totaal van 600, met de volgende waarden (in mU/g): 998, 1250, 1265 (2018), 750, 940 (2019), 9, 990 (2021). WFSR heeft COKZ verzocht om met name naar deze monsters te kijken, en op basis van de bij hen beschikbare achtergrondgegevens aan te geven of deze monsters verantwoord uit de dataset geschrapt zouden moeten worden. Bij de meeste uitbijters bleek dat het geval, en na het verwijderen van 6 kazen wordt het overzicht gegeven in Figuur 1b.

Bij het vaststellen van grenzen voor detectie van warmtebehandeling op basis van ALP activiteit in kaas zijn deze (statistische) uitbijters erg relevant. Zie daarvoor ook de verdelingen mét en zonder deze uitbijters in figuur 2. Eventuele authentieke, niet-warmtebehandelde kazen in deze uitbijters zouden moeten worden meegenomen in de berekening van de kansverdelingen, en dat heeft grote effecten op de schatting van kansen op (in)correcte beslissingen op basis van de fosfatase activiteit.

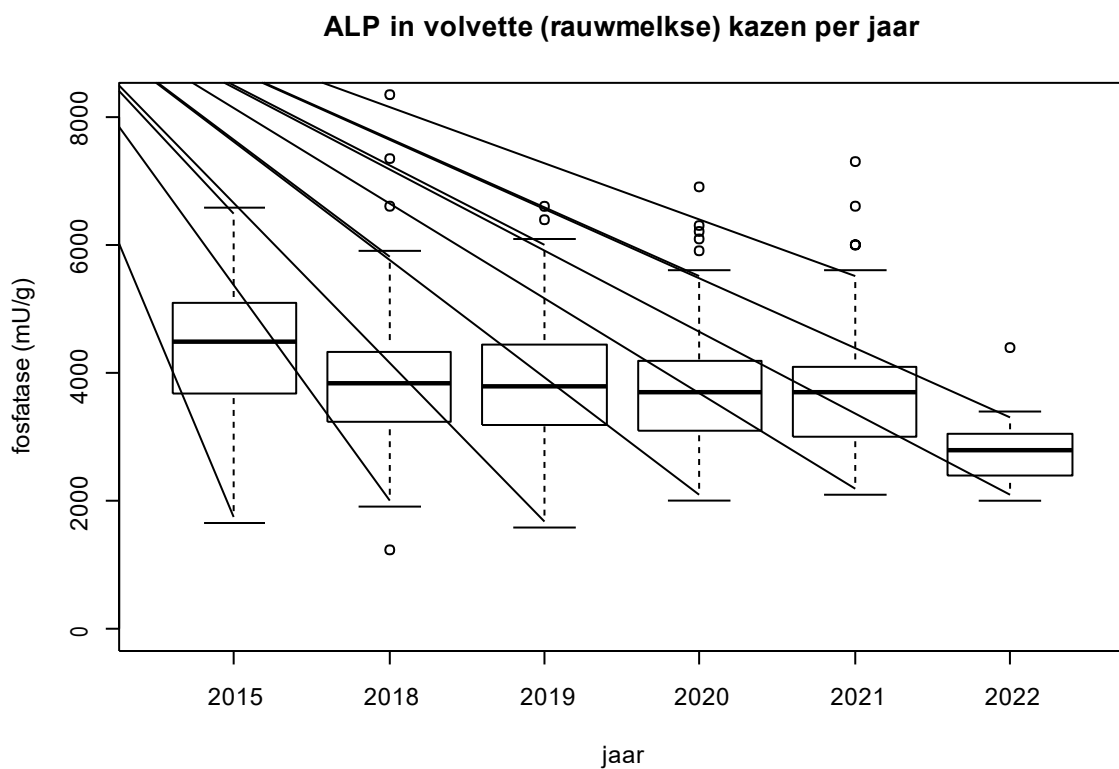
DATUM
18 juli 2022

PAGINA
3 van 8

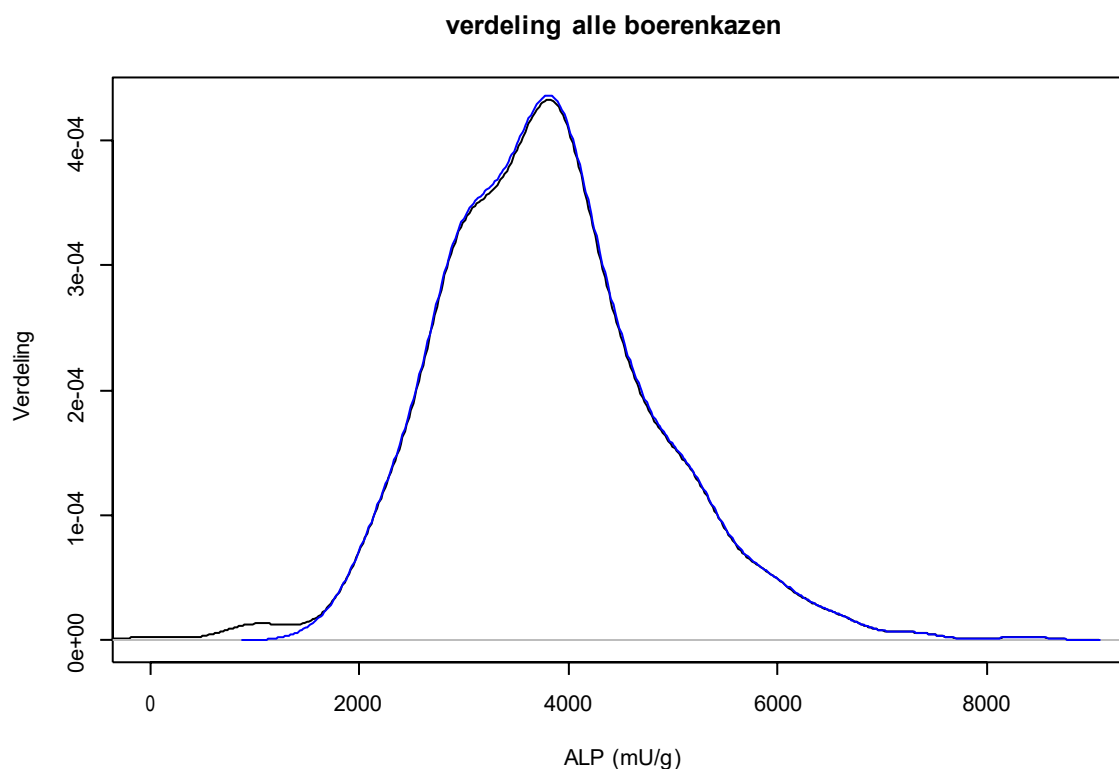
De limieten zowel op basis de originele data (indicatief) en op basis van de data na herziening door COKZ en zijn weergegeven in Tabel 1, en zijn berekend uit de curves zoals weergegeven in Figuur 2.



Figuur 1a. Overzicht (boxplot) van fosfatase activiteiten in volvette boerenkazen uit de serie per jaar.



Figuur 1b. Overzicht (boxplot) van fosfatase activiteiten in volvette boerenkazen uit de serie per jaar na herziening van de data door COKZ.



Figuur 2: Verdelingen van de ALP activiteiten in boerenkazen met (zwarte lijn) en zonder (blauwe lijn) de uitbijters in het lage ALP-gebied. De oppervlakte onder de verdelingen is gebruikt om het effect van verschillende grenzen op de classificatie te berekenen.

Tabel 1: berekende limieten (mU/g) bij verschillende kansen op onterecht afkeuren van authentieke boerenkazen. Limieten zijn gebaseerd op het totaal van 600 kazen die als "regulier" zijn bemonsterd.

Kans op onterechte afkeur	Originele data	Na herziening COKZ
0.1%	60	1210
0.5%	902	1629
1%	1285	1796
2%	1801	1981

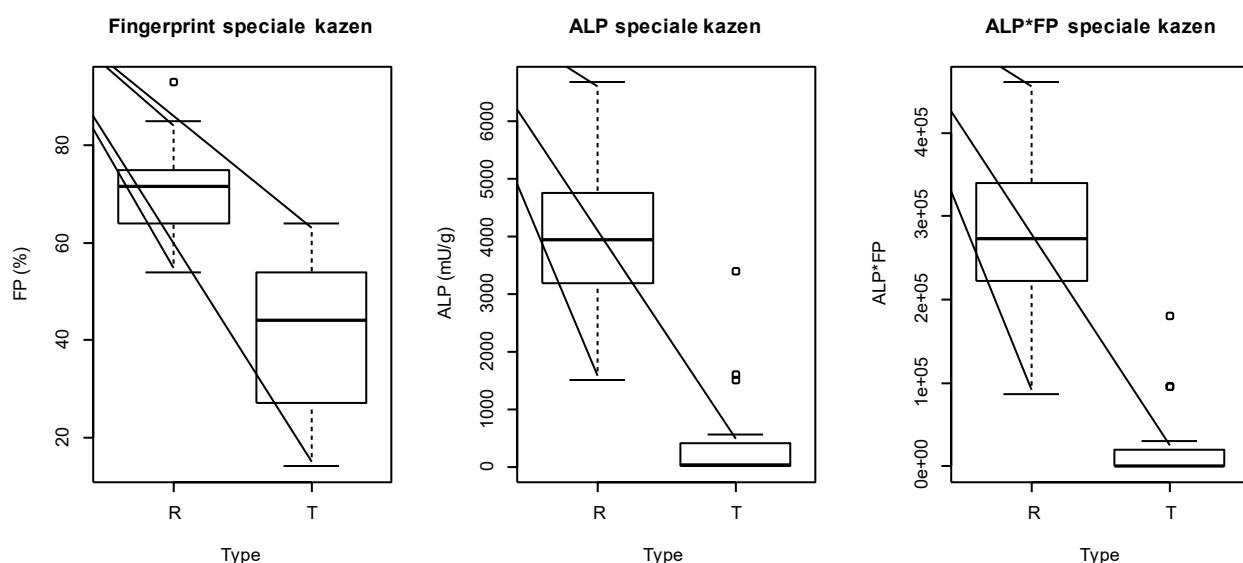
"Speciale dataset": Fingerprint en ALP.

Naast de 600 'reguliere' kazen zijn er sinds 2018 69 kazen specifiek bemonsterd voor het evalueren van de methode. Van deze kazen zijn de ALP activiteiten gemeten (door Qlip), en voor 59 kazen daarvan zijn ook de Fingerprint scores (op basis van PTR/MS profilering, WFSR) bekend. WFSR heeft voor nog 4 extra kazen de fingerprint scores geanalyseerd en gerapporteerd, maar de betreffende codes ontbreken in het in 2022 gestuurde overzicht. Van de andere zes kazen konden de fingerprints wegens technische problemen niet worden geanalyseerd.

Deze set van 69/59 bevat naast reguliere boerenkazen ook gethermiseerde en gepasteuriseerde kazen, en monsters die met ALPs tussen 850 en 2000mU/g als

'mogelijk warmtebehandeld' zijn geclassificeerd door COKZ. Bovendien is de set een stuk kleiner in aantal. Om deze redenen is deze niet geschikt om limieten op te baseren, maar bedoeld om prestaties van de methoden te vergelijken. Ook in deze set waren uitbijters te vinden, en na een controle van de data door COKZ zijn 10 monsters verwijderd uit de dataset.

Om een indruk van de verschillende methoden op deze set grafisch weer te geven zijn wederom boxplots gemaakt, uitgesplitst in categorie: R (rauwmelks) en T (warmtebehandeld), waarbij de "T" categorie bestaat uit uitsluitend die kazen die als gethermiseerd of gepasteuriseerd zijn aangeleverd. Dit is gedaan voor de ALP activiteiten, de fingerprint scores, en de combinatie (product) van beide getallen (Figuur 3).



Figuur 3: Boxplots voor de set 'speciale' kazen, per methode en per categorie: R (rauwmelks) en T (warmtebehandeld).

Om de prestaties te vergelijken moeten uiteraard limieten worden gekozen. Voor ALP is een gehalte van 1200 mU/g gekozen (tabel 1), een gehalte waarbij een minimale kans op onterechte afkeur van werkelijk rauwmelkse kazen bestaat – in de situatie dat de waargenomen uitbijters niet zijn meegenomen in de populatie. Voor de FP is een grenswaarde van 54% gebruikt, en voor het product ALP*FP een waarde van 96000.

Een overzicht van de prestaties, na weglating van de door COKZ aangegeven monsters, is weergegeven in tabel 2. De onderliggende ruwe data met uitslagen en beoordelingen van alle individuele monsters is weergegeven in bijlage 1. Bij de gekozen grenzen presteren zowel ALP als fingerprint uitstekend in het correct herkennen van rauwmelkse kazen, alle 32 monsters uit de set zijn correct herkend. ALP presteert een fractie beter in het detecteren van warmtebehandelde kazen: 14 van de 17 monsters, 82%, waar de fingerprint 13 van 17 (76%) van de warmtebehandelde monsters correct classificeert. De combinatie van methoden, als product van de twee uitslagen, lijkt wat beter in het detecteren van warmtebehandeling, hier worden 16 van de 17 kazen correct herkend. Daar staat tegenover dat een enkel monster dat in de individuele methoden als rauwmelks is geclassificeerd in combinatie wel als warmtebehandeld is geclassificeerd. Dat illustreert het effect van de combinatie van methoden, waarbij monsters die in twee

aparte methoden aan dezelfde kant dicht in de buurt van de grens zitten in combinatie toch boven de limiet kunnen zijn.

Tabel 2: Correcte classificaties per methode, in absolute monsteraantallen en als percentages.

Methode	Type	Correct	incorrect	% correct
ALP	Rauw	32	0	100%
	Therm	14	3	82%
FP	Rauw	32	0	100%
	Therm	13	4	76%
ALP*FP	Rauw	31	1	97%
	Therm	16	1	94%

Discussie en conclusie

Bij de genoemde prestaties wordt met nadruk opgemerkt dat de classificering is vergeleken met de typering van de kazen zoals deze zijn aangeleverd en later zijn herzien. Het is voor WFSR niet met zekerheid vast te stellen of alle monsters inderdaad de aangegeven warmtebehandelingsstatus hadden. Dat geldt, ook na herziening van de data, overigens in zekere mate ook voor COKZ.

Daarnaast wordt opgemerkt dat de combinatie van methoden een verbetering geeft ten opzichte van de enkelvoudige methoden, maar dat de verbetering 'relatief klein' is, en bovendien geen perfecte classificatie geeft. Dat laatste heeft ook met de onzekerheid rondom de methoden te maken.

Een advies over het correct handelen in de praktijk blijft uiteraard lastig vanwege de genoemde onzekerheid. Het relatief kleine aantal monsters waarvoor zowel ALP als fingerprintdata beschikbaar is maakt beoordeling van de fingerprintmethode als losse methode, en in combinatie met ALP, nog moeilijk hard te geven. De monsterset voor alleen ALP is vrij uitgebreid, maar zelfs daar moet worden opgemerkt dat de limieten gebaseerd op verdelingen rond de 'staarten', het 0-2% onterecht afkeurniveau nog steeds behoorlijk gevoelig zijn voor de aanwezigheid van slechts één of enkele monsters met een relatief laag niveau. Het lijkt echter wel realistisch dat bij een te hanteren grens rond de 1600 mU/kg er slechts sporadisch werkelijk rauwmelkse monsters onterecht zouden worden afgekeurd. Daarbij gelden bovendien de aannames zoals genoemd voor de datasets over representativiteit en correctheid van de warmtebehandelingsstatus van de monsters nog.

Toepassen van de fingerprintmethode zou naar alle waarschijnlijkheid wat extra zekerheid kunnen geven, ALP en de fingerprint zijn naar ons beste inzicht volledig onafhankelijke methoden, die bovendien beiden onafhankelijk van elkaar geschikte markers zijn voor het aantonen van warmtebehandeling in kaasmelk. De kans dat een rauwmelks monster puur op basis van toeval (normale natuurlijke variatie) gelijktijdig in beide methodes resultaten laat zien die duiden op warmtebehandeling is daarom kleiner dan voor één van beide methoden apart.

Bijlage 1: Overzicht van 'speciale' kaasmonsters, codes, beschrijvingen, ALP en FP scores, en evaluatie voor de 3 methoden. Grenzen zoals beschreven in de tekst.

Barcode	Jaar	Monstergegevens	Product (uit koemelk)	ALP (mU/g)	Fingerprint score (%)	ALP correct	FP correct	ALP*FP correct
5010122057	2018	KW 93195	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3944	58	✓	✓	✓
5010122059	2018	KW 56751	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 3563	64	✓	✓	✓
5010145672	2018	db 45734	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4867	64	✓	✓	✓
5010212907	2018	goudse boerenkaas 48+ CN 24952	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4209	74	✓	✓	✓
5010226776	2018	goudse boerenkaas 48+ BU 80743	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4455	68	✓	✓	✓
5010226820	2018	goudse boerenkaas 48+ DG 26539	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 5371	62	✓	✓	✓
5010238083	2018	DA 82777	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 6672	69	✓	✓	✓
5010242257	2018	gbk48 cs25657	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3367	79	✓	✓	✓
5010242265	2018	gbk48 ct30006	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4816	72	✓	✓	✓
5010261970	2018	kx 04930	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3342	77	✓	✓	✓
5010261982	2018	dg 40422	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3113	71	✓	✓	✓
5010265115	2018	KV 16816	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4679	70	✓	✓	✓
5010266024	2018	BU 14899	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3874	72	✓	✓	✓
5010266077	2018	DC 86434	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 5104	75	✓	✓	✓
5010266174	2018	BD05087	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3469	55	✓	✓	✓
5010269551	2018	ks 90342	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4874	73	✓	✓	✓
5010269706	2018	dn 25152	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 1596	54	✓	✓	✗
5010269730	2018	kv 52016	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 4404	72	✓	✓	✓
5010275047	2018	dd 03445	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 2812	59	✓	✓	✓
5010275049	2018	df 53718	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 3246	63	✓	✓	✓
5010275114	2018	dg 57542	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 5596	75	✓	✓	✓
5010275118	2018	kx 45207	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 3943	65	✓	✓	✓
5010275484	2018	ky 77731	Rauwmelkse, volvette kaas (>2000mU/g)	D 5316	69	✓	✓	✓
5010297659	2020	goudse boerenkaas 48+ chili LE 24329	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 4300	83	✓	✓	✓
5010305275	2019	lc 43946	Rauwmelkse, volvette kaas	1800	64	✓	✓	✓
5010310730	2019	dy 25926 goudse boerenkaas met fenegriek	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	3900	74	✓	✓	✓
5010310733	2019	ld 45466 met truffel	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	4600	55	✓	✓	✓
5010313513	2020	CA 26233	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	1800	78	✓	✓	✓
5010313740	2020	DT 71927	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	1500	85	✓	✓	✓
5010314852	2020	eg 18061 komijn	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 4400	93	✓	✓	✓
5010321159	2020	ed 32791 kruidensoort mosterd	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 3100	72	✓	✓	✓
5010226942	2020	goudse boerenkaas 48+ LD 30162 fenegriek	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 2800	85	✓	✓	✓
5010264802	2018	LGAC 525103 BAK 250	Gepasteuriseerde kaas	1	21	✓	✓	✓
5010270168	2018	WD 58965 GETHERMISEERDE 50+	Gethermiseerde kaas	37	44	✓	✓	✓
5010273137	2018	GSUP34801/93	Gepasteuriseerde kaas	8	34	✓	✓	✓
5010273138	2018	GSUP36357/61	Gepasteuriseerde kaas	1	26	✓	✓	✓
5010273581	2018	DAOW 74134 bak 58	Gepasteuriseerde kaas	1	26	✓	✓	✓
5010275006	2018	fcxo 273110 bak 14 soort 2757	Gepasteuriseerde kaas	1	33	✓	✓	✓
5010275009	2018	fcxo 276362 bak 1 soort 3338	Gepasteuriseerde kaas	3	27	✓	✓	✓
5010275582	2018	1128 bk10 FCDB822442	Gepasteuriseerde kaas	1	14	✓	✓	✓
5010310719	2019	kaas van de boerderij gethermiseerd wg 90311	Gethermiseerde kaas	1600	60	✗	✗	✓
5010310722	2019	vd 66213 kaas vd boerderij gethermiseerd	Gethermiseerde kaas	410	41	✓	✓	✓
5010310741	2019	lk1948az kaas van de boerderij gepasteuriseerd	Gepasteuriseerde kaas	6	51	✓	✓	✓
5010313641	2020	Kaas van de boerderij 50+ gethermiseerd WG 92	Gethermiseerde kaas	3400	51	✗	✓	✗
5010314512	2020	wh 90502 kaas van de boerderij gethermiseerd	Gethermiseerde kaas	550	31	✓	✗	✓
5010314514	2020	wi57428 kaas van de boerderij gethermiseerd	Gethermiseerde kaas	34	29	✓	✓	✓
5010314798	2020	wh 15067 kaas vd boerderij gethermiseerd met t	Gethermiseerde, volvette kaas met kruiden	260	62	✓	✗	✓
5010321162	2020	wg 91618 gethermiseerd	Gethermiseerde kaas	1500	64	✗	✗	✓
5010321500	2020	wh 07676 kaas van de boerderij gethermiseerd	Gethermiseerde kaas	410	50	✓	✓	✓
na onderzoek door COKZ weggeleten								
5010261974	2018	cz 98754	Rauwmelkse, volvette kaas met kruiden	C 1701	43			
5010261978	2018	df 90669	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	1862	45			
5010265054	2018	Goudse boerenkaas 48+, BS91066	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	1364	53			
5010266044	2018	TB 17601; koe	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	101	56			
5010269838	2018	df 89392	Rauwmelkse, afgeroomde kaas (>300-~2000	1111	69			
5010275242	2018	b 10888	Rauwmelkse, afgeroomde kaas (>300-~2000	1140	23			
5010288403	2019	dt 85269	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	1100	75			
5010289930	2019	dn16473	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	1300	63			
5010309581	2020	boeren gd 48+ ef00907	Rauwmelkse, volvette kaas (>850-~2000mU/g	960	91			
5010310589	2019	dw 89359	Rauwmelkse, volvette kaas	940	56			