

2012•2013
FACULTEIT BEDRIJFSECONOMISCHE WETENSCHAPPEN
*master in de toegepaste economische wetenschappen:
handelsingenieur: operationeel management en logistiek*

Masterproef

Evaluatie van het valorizatiepotentieel van "electronic readout"
nanotechnologie gebaseerde biosensoren

Promotor :
Prof. dr. Ward DE CEUNINCK
Prof. dr. Marc D'OLIESLAEGER

Copromotor :
Prof.dr.ir Steven VAN PASSEL

Sien Pieraets

*Masterproef voorgedragen tot het bekomen van de graad van master in de toegepaste
economische wetenschappen: handelsingenieur, afstudeerrichting operationeel management
en logistiek*

2012•2013

FACULTEIT BEDRIJFSECONOMISCHE
WETENSCHAPPEN

*master in de toegepaste economische wetenschappen:
handelsingenieur: operationeel management en logistiek*

Masterproef

Evaluatie van het valorizatiepotentieel van
"electronic readout" nanotechnologie gebaseerde
biosensoren

Promotor :
Prof. dr. Ward DE CEUNINCK
Prof. dr. Marc D'OLIESLAEGER

Copromotor :
Prof.dr.ir Steven VAN PASSEL

Sien Pieraets

*Masterproef voorgedragen tot het bekomen van de graad van master in de toegepaste
economische wetenschappen: handelsingenieur, afstudeerrichting operationeel management
en logistiek*

Woord vooraf

Deze masterproef vormt het slotstuk tot het behalen van het diploma Toegepaste Economische Wetenschappen: Handelsingenieur in Operationeel Management en Logistiek (OML) met optie Technologie-, Innovatie- en Milieumanagement (TIM). Mijn afstudeerrichting is logistiek gericht, maar het technologisch en innovatief concept waarover deze masterproef handelt, sprak mij enorm aan. Het schrijven van dit eindwerk was een interessante manier om de mogelijkheden van moderne technologieën te ontdekken en op een economische manier te bekijken.

Deze thesis zou niet tot stand zijn gekomen zonder de hulp van een aantal mensen. Bij deze zou ik dan ook graag mijn promotor, prof. dr. Ward De Ceuninck, en co-promotor, prof. dr. Marc D'Olieslaeger bedanken voor de begeleiding en opbouwende kritiek. Mijn co-promotor, prof. dr. ir. Steven Van Passel, verdient eveneens een woord van dank voor zijn begeleiding en hulp bij het opstellen van de economische analyse en zijn opmerkingen en aanwijzingen. Verder dank ik prof. dr. Patrick Wagner en dr. Marloes Peeters voor de nodige technologische informatie en voor hun geduld bij mijn vele vragen. Vervolgens wil ik ook mijn contactpersoon uit het laboratorium van het UZ Leuven, Koen Desmet, bedanken voor zijn medewerking. Indien de informatie van derden die in deze masterproef wordt weergegeven onjuist is, dan is dit te wijten aan een verkeerde interpretatie van mij.

Als laatste wil ik ook graag mijn familie en vrienden bedanken. Zij hielpen op een indirecte manier mee aan het maken van deze masterproef. Hun steun en aanmoediging zorgden voor de nodige motivering om dit eindwerk tot een goed einde te brengen. Ten slotte wil ik mijn ouders uitdrukkelijk bedanken om mij de mogelijkheid te geven om aan de Universiteit Hasselt te studeren en voor de onvoorwaardelijke steun gedurende de voorbije vijf jaar. Hiervoor mijn grootste dank.

Sien Pieraets

Juli, 2013

Samenvatting

Biosensoren zijn handige instrumenten om biologische stoffen op te sporen en te onderzoeken. Zowel in de medische sector, in de voedingssector als in de milieusector zijn er oneindig veel toepassingen waarbij biosensoren nuttig kunnen zijn. Onderzoek naar biosensoren wordt voornamelijk gestimuleerd door vraag uit de medische sector. Een abnormale concentratie van bepaalde stoffen in het menselijk lichaam kan een aanwijzing zijn voor de aanwezigheid van een ziekte. Het is belangrijk dat er snel een diagnose gesteld wordt, zodanig dat er tijdig opgetreden kan worden. Op geneeskundig vlak kunnen biosensoren helpen bij het vaststellen van een gepaste en snelle diagnose.

Nanotechnologie gebaseerde biosensoren zijn biosensoren die op zeer kleine schaal, nanoschaal, gebouwd en werkzaam zijn. Bij het detecteren van bepaalde stoffen in bloed, welke vaak slechts in zeer kleine hoeveelheid aanwezig zijn, is het noodzakelijk dat de biosensoren zeer lage niveaus kunnen detecteren. Daarnaast zijn deze nanobiosensoren zeer klein waardoor ze gemakkelijk geïntegreerd kunnen worden in draagbare toestellen.

In het Instituut voor Materiaalonderzoek (IMO) is er onderzoek gedaan naar een nanobiosensor voor de detectie van serotonine in het menselijk bloed. Serotonine speelt een belangrijke rol bij een aantal fysische functies in het lichaam. Een te hoge concentratie aan serotonine in het bloed kan de maagfuncties ontregelen en aanleiding geven tot het prikkelbare darmsyndroom (PDS), een te lage concentratie daarentegen heeft een impact op de gemoedstoestand van de persoon in kwestie en kan zelfs de oorzaak zijn van een depressie. Mensen met een depressie verliezen vaak hun interesse in activiteiten en ondervinden een verandering in hun slaapgewoonte en eetpatroon. Dergelijke symptomen zijn zeer subjectief waardoor objectief vaststellen dat deze personen daadwerkelijk depressief zijn moeilijk is. Aan de hand van een serotoninemeting kan een dergelijke diagnose snel gesteld worden en met objectieve resultaten ondersteund worden.

De huidige technologie om serotonine te meten maakt gebruik van vloeistofchromatografie. Het toestel dat hiervoor gebruikt wordt, vereist een grote oppervlakte waardoor deze enkel te vinden is in grote laboratoria en point-of-care toepassingen niet mogelijk zijn. De patiëntstalen dienen steeds opgestuurd worden naar het laboratorium met een wachttijd voor de resultaten als gevolg. De ontwikkeling van een biosensor gebaseerd op nanotechnologie zal het mogelijk maken om stalen ter plekke te onderzoeken en meteen resultaat te krijgen. De sensor ontwikkelt in het IMO maakt gebruik van moleculair ingeprinte polymeren zodanig dat de opsporing van serotonine snel en efficiënt verloopt. De resultaten worden bekomen aan de hand van impedantie spectroscopie, daar deze methode een concentratiebereik op nanomolaire schaal kan detecteren.

In deze masterproef wordt voornamelijk de financiële haalbaarheid van de nanotechnologie gebaseerde biosensor onderzocht. Met een investeringsanalyse wordt gekeken of de nanobiosensor, die op het IMO ontwikkeld is, een economisch rendabel alternatief is voor de huidige techniek, de HPLC-methode, om serotonine te meten. Hiervoor worden twee

evaluatiemaatstaven berekend, namelijk de netto contante waarde (NCW) en de interne rendementsvoet (IR). De NCW is positief wat aangeeft dat de serotoninesensor te verkiezen is boven een serotoninemeting met het HPLC-systeem en ook de berekening van het interne rendement geeft aan dat de serotoninesensor een goed investeringsproject is. De gevoeligheid van deze resultaten wordt onderzocht aan de hand van een partiële sensitiviteitsanalyse en door het uitvoeren van een Monte Carlo-simulatie. Hieruit kan worden besloten dat zelfs bij een wijziging van de waarde van een aantal parameters de NCW steeds positief zal zijn. Het investeringsproject mag dus met grote zekerheid aanvaard worden.

De investeringsanalyse, uitgewerkt in deze masterproef, houdt rekening met de initiële investeringskost en de variabele kosten verbonden aan het uitbouwen van de sensor. De sensitiviteitsanalyse bekijkt de invloed van het aantal bloedstalen dat er jaarlijks afgenomen wordt en waarvan vervolgens het serotoninegehalte wordt gemeten, de impact van een stijging of daling in de uurloonkost en het effect van een verandering in de discontovoet of de vennootschapsbelasting. Indien men de sensor effectief wilt aanbieden dient men echter ook rekening te houden met kosten die verbonden zijn met de lancering van een dergelijke sensor op de markt, zoals marketingkosten. Daarnaast zal, vooraleer de investering ondernomen kan worden door een onderneming, ook naar interne elementen, zoals de beschikbare middelen, gekeken moeten worden. De investeringsanalyse zou in de toekomst dus best nog verder uitgebouwd worden om een gedetailleerder en beter beeld te krijgen van de daadwerkelijke economische rentabiliteit.

Lijst van figuren

Figuur 2.1: Biosensor telling in de literatuur volgens Web of Science (zoekterm: biosensor).....	13
Figuur 2.2: Schematische layout van een typische biosensor	14
Figuur 3.1: Schematische voorstelling van de integratie van biomoleculen en nanomateriaal in een biosensor.....	20
Figuur 4.1: SWOT-analyse.....	24
Figuur 6.1: Schematische voorstelling van moleculaire inprenting.....	29
Figuur 6.2: Schematische voorstelling van de cel voor metingen van bloedplasma met een actief kanaal (MIP-poeder) en een referentie kanaal (NIP-poeder). Het bloedplasma wordt toegediend via een pompsysteem en de temperatuur wordt actief geregeld zodat de installatie een autonome werking heeft	31
Figuur 6.3: Structuur van serotonine (a) en de structuur van zijn metaboliet 5-HIAA (b).....	32
Figuur 6.4: Hoeveelheid gebonden serotonine en vrije serotonine bij MIP en NIP	32
Figuur 6.5: Aantal bindingsplaatsen van MIP's en NIP's met blootstelling aan serotonine	33
Figuur 7.1: Opstelling van een HPLC-systeem.	35
Figuur 9.1: Het effect van het aantal analyses per jaar op de NCW.	48
Figuur 9.2: Het effect van de loonkost per uur op de NCW.	49
Figuur 9.3: Het effect van de uiterste schattingen voor de waarde van de significante parameters op de NCW.....	50
Figuur 9.4: Monte Carlo-simulatie van de NCW met triangulaire verdelingen voor de parameters.	53
Figuur 9.5: Monte Carlo-simulatie van de IR met triangulaire verdelingen voor de parameters. ...	55
Figuur 9.6: Monte Carlo-simulatie van de NCW met normale verdelingen voor de parameters.	56
Figuur 9.7: Monte Carlo-simulatie van de IR met normale verdelingen voor de parameters.....	57

Lijst van tabellen

Tabel 2.1: Een kort overzicht van biosensoren.	11
Tabel 8.1: Berekening van de installatiekosten van de serotoninesensor.....	40
Tabel 8.2: Berekening van de materiaalkosten van de serotoninesensor.....	41
Tabel 8.3: Berekening van de installatiekosten van HPLC.....	43
Tabel 8.4: Berekening van de jaarlijkse afschrijvingsbedragen bij het investeringsproject.....	44
Tabel 8.5: Berekening van de totale jaarlijkse kasstroom van het investeringsproject.....	44
Tabel 9.1: De NCW bij enkele waarden voor het aantal analyses per jaar.....	48
Tabel 9.2: De NCW bij enkele waarden voor de loonkost per uur.....	49
Tabel 9.3: Uiterste schattingen voor de waarde van de significante variabele parameters.....	50
Tabel 9.4: Gevoeligheid van de NCW met triangulaire verdelingen voor de parameters.....	54
Tabel 9.5: Gevoeligheid van de IR met triangulaire verdelingen voor de parameters.....	55
Tabel 9.6: Gevoeligheid van de NCW met normale verdelingen voor de parameters.....	56
Tabel 9.7: Gevoeligheid van de IR met normale verdelingen voor de parameters.....	58

Lijst van formules

Formule 8.1: Berekening van de verdisconteringsfactor	37
Formule 8.2: Berekening van de netto contante waarde	38

Inhoudsopgave

WOORD VOORAF	I
SAMENVATTING.....	III
LIJST VAN FIGUREN	V
LIJST VAN TABELLEN.....	VI
LIJST VAN FORMULES.....	VII
1 INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING.....	1
1.1 INLEIDING	1
1.2 PRAKTIJKPROBLEEM.....	2
1.2.1 Medische sector.....	2
1.2.2 Voedingssector.....	4
1.2.3 Milieusector.....	4
1.2.4 Algemeen.....	5
1.3 CENTRALE ONDERZOEKSVRAAG.....	6
1.4 DEELVRAGEN	7
1.5 AFBAKENING VAN HET ONDERZOEKSDOMEIN.....	7
1.6 ONDERZOEKSMETHODOLOGIE.....	8
2 HET CONCEPT BIOSENSOR.....	11
2.1 HISTORISCHE ACHTERGROND	11
2.2 OMSCHRIJVING EN DEFINITIE.....	13
2.3 CLASSIFICATIE VAN BIOSENSOREN.....	14
2.3.1 <i>Herkenningslaag</i>	15
2.3.1.1 Moleculaire biosensoren.....	15
2.3.1.2 Cellulaire biosensoren.....	15
2.3.1.3 Weefsel biosensoren.....	16
2.3.2 <i>Omzettingslaag</i>	16
2.3.3 <i>Uitlezing</i>	17
3 NANOTECHNOLOGIE GEBASEERDE BIOSENSOREN.....	19
3.1 NANOTECHNOLOGIE	19
3.2 NANOBIOSENSOREN	19
4 SWOT-ANALYSE.....	21
4.1 STERKE PUNTEN.....	21
4.2 ZWAKKE PUNTEN	22
4.3 KANSEN.....	22

4.4	BEDREIGINGEN	23
4.5	CONCLUSIE	23
5	SEROTONINE	25
5.1	SEIZOENSAFHANKELIJKE DEPRESSIE	25
5.2	PRIKKELBARE DARMSYNDROOM	26
6	SEROTONINESENSOR.....	29
6.1	MOLECULAIR INGEPRENTE POLYMEREN.....	29
6.2	IMPEDANTIE SPECTROSCOPIE.....	30
6.3	RESULTATEN	32
7	HPLC.....	35
7.1	PRINCIPE	35
7.2	TYPE CHROMATOGRAFIE	36
7.3	KOLOMEIGENSCHAPPEN	36
7.4	LABORATORIUM UZ LEUVEN.....	36
8	INVESTERINGSANALYSE.....	37
8.1	INLEIDING	37
8.2	JAARLIJKSE UITGAANDE KASSTROMEN	39
8.2.1	<i>Installatiekosten</i>	39
8.2.2	<i>Onderhoudskosten</i>	40
8.2.3	<i>Materiaalkosten</i>	40
8.2.4	<i>Bewerkingskosten</i>	41
8.3	JAARLIJKSE INKOMENDE KASSTROMEN	42
8.3.1	<i>Installatiekosten van HPLC</i>	42
8.3.2	<i>Bewerkingskosten van HPLC</i>	43
8.3.3	<i>Vermeden kosten</i>	43
8.4	JAARLIJKSE AFSCHRIJVINGEN	43
8.5	VERDISCONTEERDE NETTO KASSTROMEN	44
8.6	NETTO CONTANTE WAARDE	45
8.7	INTERNE RENDEMENTSVOET	45
9	SENSITIVITEITSANALYSE	47
9.1	PARTIËLE SENSITIVITEITSANALYSE	47
9.1.1	<i>Relatie tussen het aantal analyses per jaar en de NCW</i>	47
9.1.2	<i>Relatie tussen de loonkost per uur en de NCW</i>	48
9.1.3	<i>Invloed op de netto contante waarde</i>	49
9.1.3.1	<i>Effect van een wijziging in de discountvoet</i>	51

9.1.3.2	Effect van een wijziging in de belastingvoet.....	51
9.1.3.3	Effect van een wijziging in het aantal analyses per jaar	51
9.1.3.4	Effect van een wijziging in de loonkost per uur	52
9.1.4	<i>Conclusie partiële sensitiviteitsanalyse</i>	52
9.2	MONTE CARLO-SIMULATIE	52
9.2.1	<i>Triangulaire verdeling</i>	53
9.2.1.1	Netto contante waarde.....	53
9.2.1.2	Interne rendementsvoet.....	54
9.2.2	<i>Normale verdeling</i>	55
9.2.2.1	Netto contante waarde.....	56
9.2.2.2	Interne rendementsvoet.....	57
9.2.3	<i>Conclusie Monte Carlo-simulatie</i>	58
10	CONCLUSIES	59
10.1	ALGEMEEN	59
10.2	GEVALSTUDIE	59
10.3	OPMERKINGEN	60
	LIJST VAN GERAADPLEEGDE WERKEN	61
	LIJST VAN GERAADPLEEGDE WEBSITES	65
	BIJLAGEN	I

1 Inleiding en probleemstelling

1.1 Inleiding

Biosensoren zijn een van de recente ontdekkingen in de biotechnologie. Sinds deze ontdekking is het onderzoek naar biosensoren enkel gegroeid en kan men spreken van een exponentiële uitbreiding in de laatste jaren. Deze evolutie is een gevolg van de stijgende nood aan meetinstrumenten die de voortdurend veranderende biologische processen kunnen volgen. Biosensoren kunnen hiervoor een oplossing bieden.

De biosensor zorgt voor selectiviteit, zelfs wanneer er andere, potentieel storende, stoffen aanwezig zijn. Dit in combinatie met miniaturisatie, lage kosten en real-time metingen in verschillende gebieden hebben een commerciële interesse opgewekt.

De afgelopen 20 jaar is er een enorme groei geweest in onderzoek naar sensoren, in het algemeen, en naar biosensoren, in het bijzonder. Deze ontwikkeling is een gevolg van de druk vanuit de wetenschap en de vraag vanuit de markt naar sensoren. Ondanks dit alles bestaan er slechts enkele werkelijk commercieel succesvolle biosensoren, waaronder de glucosesensor. De glucosesensor baseert zich op de technologie die door Clark en Lyons meer dan 40 jaar geleden is ontwikkeld en slechts recent begrijpt men werkelijk de voordelen die biosensoren kunnen bieden. Het blijft de vraag of commerciële bedrijven nu voordeel zullen kunnen halen uit de volgende generatie biosensoren. Men stelt dat tussen 80% en 90% van onderzoek en ontwikkeling op het gebied van biosensoren zelden resulteert in een commercieel product. Hoewel een groei in onderzoek naar biosensoren de mogelijkheid om opnieuw een succesverhaal te bekomen, doet stijgen. Met het zicht op toekomstig onderzoek en ontwikkeling ziet het er bijgevolg positief uit voor biosensoren, ondanks slechts een kleine groei in de markt over de afgelopen jaren (Nicu & Leichlé, 2008).

Sensoren vormen de basis van alle instrumentale analyse systemen, maar ze vertegenwoordigen ook de beperkende factors van zulke systemen. Het belangrijkste voordeel is het veelzijdige karakter van biosensoren en de toepassingen die daaruit volgen. Een nadeel zijn economische factoren zoals inflatie, over- of onderproductie en nieuwe technologie waar rekening mee moet worden gehouden.

Levende organismen ontwikkelen en evolueren door informatie uit te wisselen met hun omgeving. De informatie die ze verzamelen zorgt ervoor dat ze aan hun eigen noden kunnen voldoen, zich kunnen voortplanten en overleven. Ze vangen signalen op via receptoren op hun lichaam waardoor ze voedsel kunnen lokaliseren, gevaar bespeuren of een seksuele partner vinden. Mensen zijn al lang bezig met onderzoek naar deze handige gereedschappen, biologische sensoren, om zo onze omgeving te kunnen observeren en proberen te begrijpen. Voorlopig kan men de natuur enkel kopiëren en meetinstrumenten creëren die een observatie in een meetbare eenheid kunnen omzetten. Deze methode van problemen oplossen door de natuur te imiteren heet bio-mimicry of bio-mimetisme. De sensoren die men creëert door de natuur te imiteren, noemt men daarom

biosensoren. Biosensoren helpen om biologische processen te onderzoeken en te begrijpen en hebben daarnaast zowel industriële als medische toepassingen. Het werken met biosensoren is de enige methode om de continue veranderende natuur te controleren. Biosensoren worden al veel gebruikt in de geneeskunde voor de bepaling van pH-waarden en het zuurstof- of koolstofdioxidegehalte. Daarnaast kunnen ze ook gebruikt worden om de concentratie van glucose, ureum en andere metabolieten continu te meten (M. C. Tran, 1993).

Sensoren kunnen informatie bieden over onze fysische, chemische en biologische omgeving. De afgelopen jaren is het onderzoek naar en de ontwikkeling van sensoren dan ook sterk uitgebreid. Voornamelijk onderzoek naar sensoren die gebruik maken van een biologisch component (biosensoren) is sterk gegroeid. Toch blijft er een nood aan nieuwe en betere biosensoren voor toepassingen in gebieden zoals geneeskunde, voeding en milieu. De vraag naar dergelijke biosensoren wordt steeds specifieker en men stelt steeds hogere eisen aan de stabiliteit, de selectiviteit en de sensitiviteit.

1.2 Praktijkprobleem

Biosensoren kunnen gebruikt worden voor de detectie van verschillende problemen die zich voordoen in onze maatschappij. Drugstesten kunnen aan de hand van biosensoren sneller worden afgelegd, vervuilde moleculen in een rivier kunnen sneller worden opgespoord of bepaalde proteïnen, die als biologische marker een indicator zijn voor de medische toestand van een persoon, kunnen onmiddellijk worden opgespoord in een enkele druppel bloed. Biosensoren kunnen een oplossing bieden voor de vraag naar accurate, snelle en goedkope instrumenten om op regelmatige basis te gebruiken. Hieronder volgen een aantal gebieden waarin biosensoren mogelijk kunnen toegepast worden.

1.2.1 Medische sector

Bij ziekte worden abnormale concentraties van bepaalde eiwitten in het lichaam teruggevonden en/of zal er een mutatie optreden in de onderliggende genen die coderen voor deze eiwitten. Het opsporen van deze biologische stoffen in het lichaam wordt steeds belangrijker en bijgevolg is er nood aan een snelle, gevoelige en betrouwbare detectie van deze stoffen (Universiteit Hasselt, z.d.).

Wanneer een persoon ziek is, treden er meestal verschijnselen op zoals hoofdpijn, koorts, misselijkheid, etc. Deze verschijnselen bij elkaar wordt een syndroom genoemd. Bij een syndroom hoort eveneens een afwijkende biochemische reactie en het is deze reactie die door een biosensor gemeten wordt.

Elektronische biosensoren komen reeds vaak voor in de medische wereld. Zo kunnen ze worden gebruikt om hart- en vaatziekten op te sporen. Er bestaat reeds een onderzoeksproject, waarbij BIOMED van de Universiteit Hasselt de leiding neemt, om hiervoor nieuwe biosensoren te ontwikkelen. De diagnostische methodes die tegenwoordig gebruikt worden voor hart- en vaatziekten vast te stellen, zijn tijdrovend en kostelijk. Snelheid is van essentieel belang en men wil dat proces dan ook versnellen. Bijgevolg is het belangrijk dat screening kan gebeuren met methoden die ter plekke (point-of-care) worden toegepast en die steeds sensitief, specifiek, snel en goedkoop zijn. De meeste methoden die tegenwoordig gebruikt worden, zijn wel sensitief en specifiek, maar zijn vrij duur. Biosensoren zijn een sneller en goedkoper alternatief (Universiteit Hasselt, z.d.).

Andere toepassingen, en tevens de meest gekende toepassingen in de geneeskunde, zijn de zwangerschapstest en de glucosemeter. De zwangerschapstest geeft uitsluitel over de vraag, wanneer bij een vrouw de menstruatie uitblijft, of ze al dan niet zwanger is. Een vrouw is biologisch gezien zwanger wanneer een embryo zich in het baarmoederslijmvlies ingenesteld heeft. De zwangerschapstest bevat een teststrip welke aan de hand van urine kan bepalen of iemand zwanger is of niet. Voor een succesvolle zwangerschap dient het baarmoederslijmvlies een week na de innesteling vast te blijven zitten in plaats van los te laten, waardoor normaal de menstruatie zou beginnen. Om dit loslaten tegen te gaan, wordt er een hormoon aangemaakt. Dit hormoon wordt enkel aangemaakt tijdens een zwangerschap. Via de nieren wordt dit hormoon vervolgens uit het bloed gefilterd en komt het terecht in de urine waar het vervolgens meetbaar is vanaf twee weken na de conceptie (Meijer, Majoor, & Quant, 2009). Tegenwoordig zijn er reeds digitale zwangerschapstesten die, naast het weergeven of men al dan niet zwanger is, bij een positief resultaat eveneens weergeeft hoeveel weken men al zwanger is.

De tweede meest gekende biosensor, de glucosesensor, wordt gebruikt om het glucosegehalte in bloed en/of urine te bepalen en zo de diagnose van diabetes te stellen. Om de diabetes onder controle te houden, is het van essentieel belang dat de patiënt zelf regelmatig zijn glucosegehalte meet. Door te streven naar gebruiksvriendelijkheid wordt het gemakkelijker voor diabetespatiënten om zelf hun glucosegehalte te meten en zo hun ziekte onder controle te houden. De interpretatie van de resultaten blijft echter een probleem. De analyse van de resultaten is een cruciale stap, maar deze stap is complex, neemt veel tijd in beslag en is bijgevolg duur (Newman & Turner, 2005).

Het niveau van het hormoon dat wordt aangemaakt tijdens een zwangerschap en het glucosegehalte kan gemeten worden met een traditionele biosensor aangezien het hormoon gemeten wordt in mIU/ml (milli-international units per millimeter) en glucose voorkomt in mM (millimolair, 10^0 mol/m³) concentraties in bloed. Een traditionele biosensor zal tekortschieten voor de detectie van biomarkers voor andere ziekten, zoals voor kanker, want deze komen voor in veel kleinere concentraties, namelijk pM (picomolair, 10^{-9} mol/m³). Een oplossing hiervoor is het gebruik van nanotechnologie gebaseerde biosensoren, aangezien deze met lage concentraties kunnen werken en toch sensitief blijven (Grieshaber, MacKenzie, Vörös, & Reimhult, 2008).

1.2.2 Voedingssector

De controle van de kwaliteit en de versheid van voeding krijgt steeds meer aandacht van zowel de consument als de voedingsindustrie zelf. Hierdoor is er ook in de voedingssector een grote vraag naar biosensoren. Zowel in de voedings- als de drankindustrie is er een nood aan snelle en betaalbare methoden om de kwaliteit van hun producten te verzekeren en de processen te controleren. In de voedingsindustrie gebruikt men meestal chemische en microbiologische analyse om de kwaliteit te evalueren. Deze procedures maken over het algemeen gebruik van technieken zoals chromatografie, spectrofotometrie, elektroforese, titratie of nog andere scheidingstechnieken. Deze methoden zijn duur, traag, hebben nood aan goed opgeleid personeel en in sommige gevallen moet het te analyseren staal voorbehandeld worden (Wagner & Guilbault, 1994).

Biosensoren vormen voor de voedingsindustrie een goed alternatief om de analyse van industrieproducten te vergemakkelijken. Ze kunnen gebruikt worden om de verschillende stappen in de productie op te volgen en de kwaliteit van de finale producten te controleren. Zo kan men bijvoorbeeld de kwaliteit van wijn en yoghurt controleren aan de hand van een lactaatsensor, de graad van alcohol in alcoholische dranken aan de hand van een ethanolsensor en de fermentatie van voedsel aan de hand van een glucosesensor (M. C. Tran, 1993).

Bepaalde eigenschappen van biosensoren maken dat ze een veelbelovend instrument voor de analyse van voeding zijn. Hierdoor zullen ze in tegenstelling tot klassieke analyse methoden beter aan de vraag van de voedingssector voldoen. De voornaamste voordelen die biosensoren bieden, zijn hoge selectiviteit en specificiteit, relatief lage opzettings- en opslagkosten, mogelijkheid tot miniaturisering en automatisering, en gemakkelijk en draagbaar materiaal zodat er een snelle analyse kan gebeuren (Luong, Groom, & Male, 1991). De ontwikkeling van biosensoren is reeds uitgebreid beschreven, maar het merendeel is beperkt tot het gebruik van biosensoren in gebieden zoals geneeskunde, landbouw en biotechnologie. Dezelfde biosensoren zouden ook gebruikt kunnen worden in de voedingssector. Ondanks het grote aantal publicaties omtrent het onderzoek naar biosensoren toegepast in de voedingssector zijn er slechts enkele commercieel beschikbaar. Er zijn nog steeds hindernissen zoals de beperkte levensduur van de biologische componenten, massaproductie en de gebruiksvriendelijkheid (Mello & Kubota, 2002).

1.2.3 Milieusector

Naast de medische en de voedingssector is er ook aandacht voor biosensoren voor analyse van de omgeving. Door de stijgende bezorgdheid naar vervuiling van de omgeving met giftige chemicaliën schenkt men veel meer aandacht aan milieuproblemen zoals water- en luchtverontreiniging (Bilitewski & Turner, 2000). Er zijn al veel technologieën ontwikkeld om een oplossing te bieden voor deze problemen. Meestal wordt gebruik gemaakt van analytische methoden, gaande van tests uitgevoerd in een laboratorium tot meetinstrumenten die ter plekke kunnen worden gebruikt. Biosensoren bieden een alternatief met meerdere voordelen voor het toezicht op het milieu in vergelijking met andere methoden (Ahmad & Moore, 2009). Hoewel de conventionele analytische methoden de afgelopen jaren verbeterd zijn op vlak van sensitiviteit, betrouwbaarheid,

mogelijkheid tot automatiseren, enz. vereisen het merendeel van deze conventionele methoden nog steeds ingewikkelde en dure instrumenten die enkel door hoogopgeleid personeel bediend kunnen worden. Biosensoren verzekeren een analyse aan de hand van een gemakkelijke en goedkope methode resulterend in een regelmatige, zelfs bijna continue, analyse waardoor ook het risico op gevaarlijke ongelukken of strafrechtelijke vergiftiging van het milieu verminderd wordt (Bilitewski & Turner, 2000). Biosensoren kunnen een continue aanduiding geven van de staat waarin onze omgeving zich bevindt en zijn een goede vervanging voor biologische testen, waarbij dieren worden gebruikt (M. C. Tran, 1993).

1.2.4 Algemeen

Het ontwerp van biosensoren is zeer flexibel en dit maakt het mogelijk om tegemoet te komen aan eisen van verschillende toepassingsgebieden. Onderzoek naar biosensoren wordt gestimuleerd door de noden uit de medische sector en heeft zich zo uitgebreid naar andere sectoren zoals biotechnologie, voeding en milieu. Elk van deze toepassingsgebieden heeft specifieke vereisten omtrent de te bepalen stoffen, het concentratiebereik van deze stoffen en de gewenste snelheid en frequentie van de analyse (Bilitewski & Turner, 2000).

Biosensoren zijn tegenwoordig terug te vinden in laboratoria over de hele wereld en het aantal dat gebruikt wordt voor point-of-care diagnoses stijgt voortdurend. Toch blijven er enkele hindernissen zoals het niet kunnen verkleinen van het omzettingsprincipe en het gebrek aan een productiemethode waarbij de kosten en baten in evenwicht zijn. Veel biosensoren hebben te maken met hoge opstartkosten en zijn zeer complex. Elektrochemische biosensoren daarentegen zijn ontwikkelbaar tegen een lage kost en zijn door de elektronische readout zeer gemakkelijk in gebruik. Toch zijn deze elektronische biosensoren nog niet volledig kunnen doorbreken, door het gebrek aan een voldoende hoge gevoeligheid en unieke identificatie van de op te sporen biologische stof. Zo kan bij een immunosensor de identificatie sterk verschillen door de schommeling van pH-waarden of de ionische sterkte in een biologische vloeistof. Door het gebruik van nanotechnologie kan men dit effect verkleinen door de dimensies van de elektrochemische biosensoren te verkleinen zodat het biologische signaal dat dient opgevangen te worden groter is dan de ruis veroorzaakt door de schommelingen (Grieshaber et al., 2008).

Algemeen hangt de haalbaarheid van het ontwikkelen van biosensoren die men kan commercialiseren af van verschillende factoren. Naast technische moeilijkheden, zijn er ook economische obstakels die overwonnen moeten worden. Om tot een succesvolle biosensor te komen, moet deze voldoen aan een aantal voorwaarden:

1. De biosensor moet onder normale omstandigheden stabiel zijn en weinig variatie tonen tussen verschillende testen.
2. De biosensor moet zo onafhankelijk mogelijk werken van parameters zoals roeren in het mengsel, verschillende pH-waarden of verschillende temperaturen. Dit zorgt ervoor dat er geen of slechts weinig voorbehandeling van het staal nodig is.

3. Het resultaat moet nauwkeurig en reproduceerbaar zijn over een gewenst concentratiebereik.
4. Voor het gebruik van biosensoren in de medische sector, moet de meetsonde van de biosensor klein en biocompatibel zijn.
5. De biosensor moet een real-time analyse kunnen uitvoeren voor een snelle meting.
6. De volledige biosensor moet zo klein mogelijk zijn, makkelijk hanteerbaar, zelf kalibreerbaar, minimale actie van de gebruiker vereisen, produceerbaar zijn in grote aantallen en betaalbaar.

Algemeen gaat men op zoek naar gebruiksvriendelijke en betaalbare sensoren die gemakkelijk kunnen worden toegepast in verschillende toepassingsgebieden of point-of-care diagnoses. Nanotechnologie biedt de mogelijkheid tot implementatie van elektrochemische biosensoren met een breed aanbod van toepassingen. De uitdagingen en hindernissen waar biosensoren momenteel mee kampen zijn een gevolg van het gebrek aan de mogelijkheid tot miniaturisatie, functionele gevoeligheid en eenvoudige uitlezing of readout. Nanotechnologie gebaseerde elektrochemische biosensoren met elektronische uitlezing bezitten deze eigenschappen wel. Daarnaast zijn er al een aantal nanobiosensoren op de markt die duidelijk aantonen dat nanotechnologie een verbetering kan aanbrengen op gebied van biosensoren. De zwangerschapstest en de glucosesensor zullen bijgevolg, door het combineren van elektrochemische biosensoren met nanotechnologie en de stijgende vraag naar betaalbare massaproductie van biosensoren voor eenmalig gebruik, niet langer de enige biosensoren met commercieel succes zijn (Grieshaber et al., 2008).

1.3 Centrale onderzoeksvraag

Uit het praktijkprobleem kan men afleiden dat er een duidelijke nood is aan biosensoren om bepaalde kenmerkende stoffen te detecteren en dit in verschillende sectoren. De vraag blijft echter of de investering in een biosensor economisch rendabel is. Omdat biosensoren een zeer groot onderzoeksgebied inhouden, ga ik mijn onderzoek richten op nanotechnologie gebaseerde biosensoren. Voor de uitlezing van de resultaten van een biosensor heeft men ook verschillende mogelijkheden, maar aangezien elektronische uitlezing meestal de voorkeur krijgt, ga ik enkel onderzoek doen naar electronic readout. De centrale onderzoeksvraag wordt hierdoor als volgt geformuleerd:

“Een technologische en economische analyse van “electronic readout” nanotechnologie gebaseerde biosensoren.”

1.4 Deelvragen

Door het formuleren van deelvragen wordt het beantwoorden van de centrale onderzoeksvraag vereenvoudigd. De deelvragen behandelen telkens een specifiek aspect van de centrale onderzoeksvraag en maken het zo mogelijk om deze op een structurele manier te onderzoeken. De deelvragen zijn opgesteld rond drie onderwerpen: biosensor, nanobiosensor en readout, en luiden als volgt:

- Wat is een biosensor?
- Volgens welke principes werkt een biosensor?
- Wat wordt bedoeld met de readout van een nanobiosensor?
- Waarom is er een voorkeur voor electronic readout?
- Welke elementen bepalen het succes van de huidige biosensoren?
- Welke technologieën zijn momenteel beschikbaar voor nanobiosensoren en welke technologische verwezenlijkingen worden in de (nabije) toekomst op de markt verwacht?
- Welke voordelen en besparingen levert het gebruik van een nanobiosensor op technologisch en economisch vlak?
- Welke hindernissen belemmeren de ontwikkeling en de implementatie van nanobiosensoren?
- Welke factoren beïnvloeden de technologische en economische rentabiliteit van nanobiosensoren?

1.5 Afbakening van het onderzoeksdomein

Om een duidelijk inzicht te krijgen van het onderzoek is het noodzakelijk dat er een aantal afbakeningen gebeuren en dat we enkele begrippen verduidelijken. Een eerste opmerking die gemaakt moet worden, is de afbakening van het type biosensor. Omwille van de grootte van het onderzoeksgebied naar biosensoren, zal ik enkel onderzoek doen naar nanotechnologie gebaseerde biosensoren of '**nanobiosensoren**'. Dit begrip kan gedefinieerd worden als volgt:

Een biosensor is een meetinstrument voor de opsporing van een analyt aan de hand van een biologische component. Een nanobiosensor werkt op dezelfde manier als een biosensor, maar dan op nanoschaal (Topal, z.d.).

Biosensoren ondervinden nog steeds een aantal hindernissen die een algemeen gebruik ervan tegengaan. Nanobiosensoren kunnen meerdere van deze hindernissen overkomen en zelfs een aantal beperkingen van biosensoren oplossen. Nanobiosensoren openen nieuwe en unieke mogelijkheden voor opsporing van analyten waardoor ze meer mogelijkheden bieden om commercieel te exploiteren (Nicu & Leichlé, 2008).

Daarnaast wordt er nog een tweede afbakening gemaakt. In het onderzoek wordt enkel **electronic readout** in beschouwing genomen, aangezien dit de meest geprefereerde vorm van uitlezing is. De reden dat men meestal voor electronic readout kiest, is omdat deze het meest eenvoudig is en de sensor geïntegreerd kan worden in een instrument dat men in de hand kan vasthouden en waarbij de informatie meteen kan afgelezen worden (Thoelen, 2008).

1.6 Onderzoeksmethodologie

Aangezien er al veel onderzoek gedaan is naar biosensoren, is er al een grote hoeveelheid wetenschappelijke literatuur beschikbaar. Vandaar dat het eerste deel van deze masterproef begint met een literatuurstudie. Om deze literatuurstudie uit te voeren, kan uitgegaan worden van primaire, secundaire en tertiaire bronnen. Primaire bronnen zijn gegevens die eigenhandig verzameld zijn, zoals informatie verkregen door het uitvoeren van interviews of enquêtes. Secundaire bronnen zijn bronnen die voortbouwen op informatie uit primaire bronnen en een overzicht geven van de informatie verkregen via primaire bronnen. Tertiaire bronnen zijn voornamelijk publicaties en naslagwerken, gebaseerd op secundaire bronnen en primaire bronnen. In deze masterproef is voornamelijk gebruik gemaakt van tertiaire bronnen.

Voor het vinden van deze bronnen is gebruik gemaakt van universiteitsbibliotheken en catalogi. Hieruit komt het meeste van de wetenschappelijke papers gebruikt voor de literatuurstudie. Verder is er ook gebruik gemaakt van artikels, publicaties en onderzoeksrapporten en de online databases Ebscohost en Google Scholar.

De introductie van een nieuwe technologie of de uitbreiding van een bestaande technologie kan sociale, economische, politieke, ethische en andere gevolgen hebben. Om te helpen bij het nemen van een beslissing hierover is er nood aan een technologie beoordeling of technology assessment (TA). Aan de hand van TA zal een economische evaluatie en een evaluatie van de prestaties van de verschillende alternatieve technologieën kunnen gemaakt worden. De populairste methode om een technologie te evalueren is de Cost Benefit Analysis (CBA) of kosten-baten analyse. Door het uitvoeren van een kosten-baten analyse worden financiële criteria zoals totale besparingen, break-even punt, intern rendement, boekhoudkundig rendement en totale kosten in kaart gebracht (T. a. Tran & Daim, 2008).

In deze masterproef zal een selectie gemaakt worden van één specifieke toepassing van een nanotechnologie gebaseerde biosensor, namelijk een biosensor voor de detectie van serotonine in menselijk bloed. De economische rentabiliteit van deze biosensor zal onderzocht worden aan de hand van een investeringsanalyse waarin afgewogen wordt of de nodige investeringen opwegen tegen de kosten van de huidige techniek om serotonine te meten. Aan de hand van twee evaluatiemaatstaven, namelijk de netto contante waarde en de interne rendementsvoet, zal een besluit getrokken worden of de investering al dan niet economisch aanvaardbaar is. Hierna zal een partiële sensitiviteitsanalyse en een Monte Carlo-simulatie uitgevoerd worden op de investeringsanalyse. Uit de sensitiviteitsanalyse zal duidelijk worden welke variabele parameters een invloed uitoefenen op de netto contante waarde en de interne rendementsvoet. De Monte Carlo-simulatie zal aangeven in welke richting en mate de parameters de netto contante waarde en de interne rendementsvoet laten variëren.

2 Het concept biosensor

De voorbije jaren is het onderzoek en de ontwikkeling op het vlak van sensoren exponentieel toegenomen in termen van financiële investering, gepubliceerde literatuur en het aantal actieve onderzoekers. In dit hoofdstuk zullen verschillende aspecten van de biosensor worden besproken.

2.1 Historische achtergrond

Een zeer ruime betekenis van het woord biosensor is het detecteren van de aanwezigheid van verschillende stoffen aan de hand van biologische materialen. Hieruit volgt dat de eerste biosensoren dateren van 51 jaar voor Christus. In het oude Egypte liet koningin Cleopatra haar slaven eerst van het voedsel proeven om de aanwezigheid van vergif te kunnen opsporen in haar eten en drinken. Een recenter voorbeeld is het gebruik van kanaries om giftige gassen in de tunnels van een koolmijn op te sporen. Onderstaande tabel geeft een kort overzicht van de ontwikkeling van de biosensor in de laatste decennia.

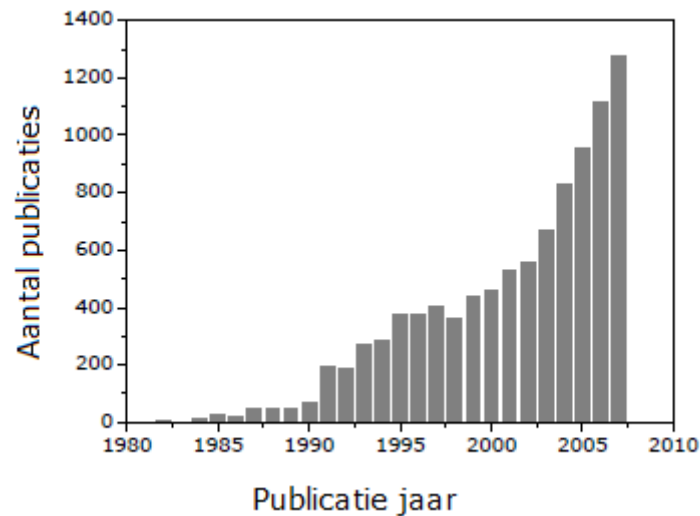
1922	Eerste glazen pH elektrode
1956	Uitvinding van de zuurstof elektrode door Prof. Leland Charles Clark Jr. (Clark, 1953)
1962	Eerste biosensor: een amperometrische enzymelektrode voor glucose (Clark & Lyons, 1962)
1970	Ion-selectieve field-effect transistor (Bergveld, 1972)
1972	Eerste commerciële biosensor: glucose biosensor van Yellow Springs Instruments
1976	Eerste kunstmatige alveesklier: Miles Biostator
1980	Eerste optische pH sensor voor in vivo bloedgassen
1982	Eerste glavezel gebaseerde biosensor voor glucose (Schultz & Mansouri & Goldstein, 1982)
1983	Eerste oppervlakteplasmonresonantie immunosensor
1984	Eerste gemedieerde amperometrische biosensor voor detectie van glucose (Cass, 1984)
1987	Lancering van de MediSense ExacTech™ bloedglucose biosensor
1990	Lancering van de BIAcore SPR-gebaseerde biosensor systeem
1992	i-STAT lanceert draagbare bloedanalyseerder
1996	Abbott verwerft MediSense
1998	Lancering van de LifeScan FastTake bloedglucose biosensor
1998	Fusie van Roche en Boehringer Mannheim om samen Roche Diagnostics te vormen
2001	LifeScan koopt Inverness Medical's glucose testend bedrijf voor \$1.3 miljard
2003	i-STAT wordt overgenomen door Abbott voor \$392 miljoen
2004	Abbott neemt TheraSense over voor \$1.2 miljard
1999-2008	Academische literatuur rapporteert over apparaten die nucleïnezuren, celreceptoren, antilichamen en intacte cellen exploiteren, in combinatie met elektrochemische, optische, piëzo- en thermometrische omzetter

Tabel 2.1: Een kort overzicht van biosensoren (Eggs, 1997; Malhotra & Chaubey, 2003).

Sinds de publicatie van Professor Leland Charles Clark Jr. in 1956 over de zuurstof elektrode staat Clark gekend als de vader van de biosensor. Later, in 1962, beschrijft hij een experiment waarbij glucose oxidase gevangen zit in een Clark zuurstofelektrode, gebruikmakend van een dialysemembraan of semipermeabel membraan. Glucose wordt afgebroken door het enzym, glucose oxidase, waardoor het bijproduct gluconzuur ontstaat. Deze reactie consumeert zuurstof en dus zal de gemeten zuurstofconcentratie dalen, proportioneel met de concentratie glucose. Clark beschreef zo hoe elektrochemische sensoren intelligenter kunnen worden gemaakt door het toevoegen van enzym omzeters als een ingesloten membraan. Clark en Lyons introduceren de term enzymelektrode. Een enzymelektrode kan beschreven worden als elke elektrode met een enzym in de structuur die reageert op de concentratie van een van de substraten of producten van de reactie gekatalyseerd door het enzym. Het enzym is opgesloten in een gel matrix rond de elektrode of in contact gehouden met de elektrode door een semipermeabel membraan ("Oxford Dictionary of Biochemistry," z.d.). Na Clark en Lyons beschrijven Updike en Hicks (Updike & Hicks, 1967) de eerste functionele enzymelektrode gebaseerd op glucose oxidase. Dit werk betekende het begin van een groot onderzoek naar biotechnologische en milieupapplicaties van biosensoren. De gepubliceerde werken handelen voornamelijk over de controle van het glucoseniveau aan de hand van enzymatische biosensoren. Deze biosensoren behoren tot de eerste generatie van biosensoren. Op basis van de omzetting van een biologische reactie naar een meetbaar signaal is er een evolutie in de generatie van biosensoren opgesteld. De eerste generatie biosensoren werden voorgesteld door Clark en Lyons (en toegepast door Updike en Hicks) en kreeg de term enzymelektrode (Malhotra & Chaubey, 2003). In deze eerste generatie veroorzaakt de bindingsreactie een bijproduct, welke zich verspreidt naar de omzettingsslaag en zo een meetbaar antwoord geeft. Dit is duidelijk het geval voor de glucosesensor, waar het bijproduct, gluconzuur, een daling van de zuurstofconcentratie veroorzaakt welke door de Clark elektrode kan gemeten worden. Pas in 1972 worden de ideeën van Clark commerciële realiteit met de lancering van de glucose biosensor door de Yellow Springs Instrument Company. Deze glucose sensor was de eerste van vele biosensor gebaseerde analyseapparaten geproduceerd door bedrijven over de hele wereld. ("Biosensors: Past, Present and Future," z.d.). De tweede generatie van biosensoren maakt gebruik van een tussenmiddel tussen de reactie en de omzetting om een signaal voort te brengen. De zuurstof wordt vervangen door redox actieve stoffen, waardoor de concentratie gemeten kan worden aan de hand van een elektrochemische oxidatie. De eerste om een tweede generatie biosensor op de markt te brengen was MediSense, welke later overgenomen werd door Abbott. Ook hier ging het over een glucose biosensor, maar dan een sensor die thuis gebruikt kon worden. In de derde generatie biosensoren gaat de reactie zelf een meetbaar signaal teweegbrengen. Deze derde generatie biedt dezelfde voordelen als de tweede generatie, maar heeft het bijkomende voordeel dat deze gebruikt kunnen worden voor herhaaldelijke metingen. Het kunnen uitvoeren van meerdere analyses maakt dat de kosten voor het ontwerp van de biosensor verlaagd worden (Malhotra & Chaubey, 2003).

De glucose sensor is de eerste biosensor die de markt bereikte en de aanhoudende ontwikkelingen en variaties in het detecteren van glucose leidt ook nu nog het onderzoek naar biosensoren voor verschillende typen van marker-moleculen. De stijgende trend van het aantal artikels geschreven

over biosensoren kan weergegeven worden in functie van het jaar en is hieronder te zien in de figuur.



Figuur 2.1: Biosensor telling in de literatuur volgens Web of Science (zoekterm: biosensor) (Thoelen, 2008).

Sinds de ontwikkeling van de eerste glucosesensor in de jaren '80 is er een exponentiële groei ontstaan van onderzoek naar biosensoren. De term biosensor is gebaseerd op de werking, welke bondig beschreven kan worden als de combinatie van bestaande technieken zoals amperometrie, potentiometrie, piëzo-elektriciteit, optisch, thermisch, enz., en het gebruik van een biologisch herkenningselement, zoals enzymen, anti-lichaampjes, cellen of zelfs weefsel.

2.2 Omschrijving en definitie

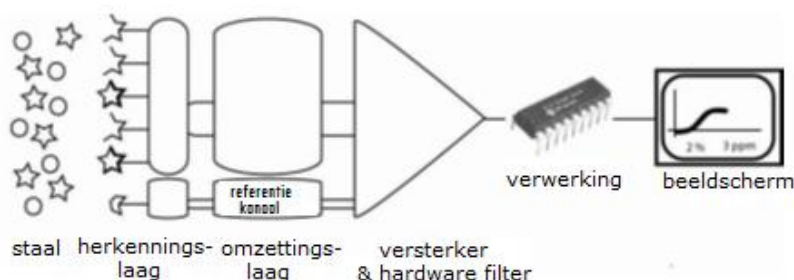
Een sensor wordt gedefinieerd als een meetinstrument met eigenschappen van elektrische aard (lading, spanning, stroom) bij blootstelling aan een fenomeen dat niet elektrisch is. Het elektrisch signaal dat de sensor produceert bevat alle nodige informatie van het proces/fenomeen dat onderzocht wordt. Volgens deze definitie zou men een sensor kunnen beschouwen als een *omzetter*, aangezien het een systeem is dat een fysieke eenheid omzet in een andere, welke een functie is van de eerste eenheid. Dit is een beperkte beschouwing van een sensor, want een omzetter is een kwantitatief toestel terwijl een sensor een veel grotere capaciteit bezit. Een sensor herkent het fenomeen, vertaalt het in een kwantificeerbare eigenschap en vormt dit vervolgens om in een elektrisch signaal met behulp van een omzetter. Het originele fenomeen wordt voorgesteld als een elektrisch signaal en vervolgens kan men technieken van data verzameling, controle en regeling erop toepassen (M. C. Tran, 1993). De eerste sensoren waren gebaseerd op fysica en maten fysische eigenschappen, zoals temperatuur, druk en vochtigheid. Dit leidde tot het ontstaan van semigeleiders zoals men ze vandaag de dag kent. Chemische sensoren meten chemische eigenschappen zoals zuurstof en pH. De nieuwe generatie gebruikt biologische componenten om stoffen op te sporen en deze kunnen veel specifiek en accurater te werk gaan (McKimmie, 2005).

In een biosensor wordt het fenomeen dat onderzocht wordt, herkent aan de hand van een biologisch systeem, een bio-receptor genoemd, welke direct verbonden is met het te onderzoeken monster en de gevoelige component van de biosensor vormt (M. C. Tran, 1993).

Volgens het woordenboek betekent het woord biosensor 'een apparaat dat gebruik maakt van biologische materialen om de aanwezigheid van verschillende chemicaliën in een stof te controleren' ("American Heritage Dictionary," z.d.). Meer algemeen wordt een biosensor gedefinieerd als "een op zichzelf staand geïntegreerde opvanging- en omzettingsapparaat, welke in staat is selectief kwantitatieve of semi-kwantitatieve analytische gegevens via een biologisch herkenningselement te verstrekken" (Nicu & Leichlé, 2008).

2.3 Classificatie van biosensoren

Biosensoren bevatten drie grote onderdelen: de herkenningslaag of de detector, welke de biologische prikkels herkent; de omzettingslaag, welke deze prikkels omzet naar nuttige en meetbare output; en de uitlezing of de output zelf, welke versterking, weergave, enz. in een geschikte vorm weergeeft (Nicu & Leichlé, 2008). Onderstaande figuur geeft een schematische weergave van de lay-out van een typische biosensor (Thoelen, 2008).



Figuur 2.2: Schematische layout van een typische biosensor (Thoelen, 2008).

Algemeen kan men biosensoren onderscheiden aan de hand van deze concepten en op basis van de toepassing waarvoor de biosensor gebruikt wordt. Het herkenningselement is het meest belangrijke deel van de sensor en biedt een eerste mogelijke onderverdeling in klassen van biosensoren. De herkenningslaag is in staat de doelmolecule in het te onderzoeken staal te 'herkennen'. De herkenningslaag maakt hiervoor gebruik van biologische componenten. Op basis van dit proces en de hiermee verbonden biochemische of biologische componenten, bvb. enzymen, antilichaampjes, of nucleïne zuren, kan bijgevolg een opdeling van de biosensoren gemaakt worden (Nicu & Leichlé, 2008). De genoemde voorbeelden zijn biologische componenten van de eerste klasse van biosensoren, nl. de moleculaire biosensoren. De twee andere klassen op basis van de herkenningslaag zijn de cellulaire en de weefsel biosensoren (Wang et al. 2005). De herkenning van de doelmolecule wordt vervolgens vertaald naar een meetbaar signaal door de omzetter. De omzettingslaag is een tweede component van de biosensor en speelt een belangrijke rol in het opsporingsproces. Meerdere omzettingmethoden zijn beschikbaar, de meest populaire en

gebruikte methoden zijn de elektrochemische, optische, massa-gevoelige en thermische methode (Rodriguez-Mozaz et al. 2005). Deze kunnen verder opgesplitst worden in twee algemene categorieën: niet gelabeld of label-vrij, welke gebaseerd is op een directe meting van het fenomeen, en gelabeld, welke gebaseerd is op de detectie van een specifiek label. Onderzoek naar "label-vrije" biosensoren blijft groeien, hoewel "gelabelde" biosensoren meer voorkomen en zeer succesvol zijn in verschillende gebieden (Nicu & Leïchlé, 2008). Afhankelijk van de keuze van omzetting wordt een bepaald type uitlezing bekomen: een elektrochemische, optische of piëzo-elektrische readout. De keuze van elk type laag hangt af van de verschillende eisen die men stelt aan de biosensor. De kwaliteiten van de sensor kunnen scherp gesteld worden door de keuze van de materialen en readout (Thoelen, 2008). Verder kunnen biosensoren ook geclassificeerd worden aan de hand van hun toepassing. Medische toepassingen zijn tot nog toe de meest lucratieve en belangrijkste toepassingen voor biosensoren, maar daarnaast zijn er nog heel wat toepassingen voor het milieu, in de industrie, of zelfs militaire toepassingen die gebruik maken van biosensoren. Commerciële biosensoren worden zo vaak opgedeeld in twee categorieën, nl. toestellen die in het laboratorium gebruikt worden of draagbare/veld apparatuur (Nicu & Leïchlé, 2008).

2.3.1 Herkenningslaag

Zoals eerder vermeld, is de herkenningslaag een zeer belangrijk onderdeel van de biosensor aangezien hier de biomoleculen herkend worden door de biochemische receptoren. Er zijn zeer veel soorten van herkenningselementen die gebruikt kunnen worden. Afhankelijk van de toepassing wordt er voor een bepaald herkenningselement gekozen. Zo kan er een eerste classificatie van de biosensoren gebeuren.

2.3.1.1 Moleculaire biosensoren

Wanneer de biosensor als herkenningselement gebruik maakt van enzymen, antilichamen, nucleïnezuren of ionkanalen zijn dit algemeen moleculaire biosensoren. Enzymen zijn natuurlijke proteïnen die doelmoleculen kunnen opdelen in subonderdelen zodat deze gemakkelijker kunnen worden gedetecteerd. De glucose sensor is een voorbeeld van een dergelijke enzymatische sensor. Het grote voordeel van deze sensor is de mogelijkheid van de enzymen om reacties te katalyseren zonder dat ze zichzelf verbruiken. Een andere mogelijke biologische component die gebruikt wordt in de herkenningslaag zijn antilichaampjes. Zo worden immunoglobulines gebruikt om proteïnen of andere moleculen waartegen het menselijk lichaam een immuunreactie ontwikkelt op te sporen. Sensoren die gebruik maken van dergelijke immunoglobulines worden immuunsensoren genoemd. Andere moleculaire biosensoren maken gebruik van DNA-fragmenten in de vorm van enkelstrengs DNA, welke kunnen binden (hybridiseren) met complementaire fragmenten en niet zullen binden met niet-complementaire fragmenten. Dit soort biosensoren wordt gebruikt voor genetische tests.

2.3.1.2 Cellulaire biosensoren

Cel gebaseerde biosensoren (Cell-based biosensors, CBBs) gebruiken levende cellen als herkenningselement om functionele informatie van biologisch actieve stoffen te detecteren. De

CBBs, ook wel gekend als cytosensoren (Asphahani et al. 2008) bevatten twee omzettingslagen. De eerste omzettingslaag is cellulair en de tweede omzettingslaag is meestal elektrisch (Aravanis et al. 2001). Het verschil tussen deze cytosensoren en andere types van biosensoren, die als biologische component enzymen of antilichamen gebruiken, is dat CBBs directe metingen maken van fysiologische functies en uitgerust zijn om onbekende agenten (Gilchrist et al. 2001, 2005) op te sporen door metabolische gebeurtenissen en de levensvatbaarheid in levende cellen te controleren (Ahmad & Moore, 2009; O'Connor et al. 2000; Koh and Pishko 2006). Het enige nadeel van deze sensoren is dat de doelmolecule niet rechtstreeks gemeten wordt, maar via de reactie van cellen die gebruikt worden als verslaggevingssystemen. De cellen worden blootgesteld aan de doelmoleculen welke bijvoorbeeld de vrijlating van membraanproteïnen stimuleren. Deze vrijgegeven proteïnen kunnen dan op hun beurt door een immuunsensor opgespoord worden.

2.3.1.3 Weefsel biosensoren

Het gebruik van weefsel als biologische component voor de herkenningsslaag is een opkomende methode in de biotechnologie. Deze manier van werken is redelijk ingewikkeld omdat het nabootsen van de functie van bijvoorbeeld een hormoonreceptor, welke meestal binnen een celmembraan zit, door een chemische reconstructie heel moeilijk is. Pogingen tot het ontwikkelen van een synthetische receptorsensor zijn meestal gebaseerd op moleculair ingeprinte polymeren of MIP's. Hier spreekt men echter niet meer van een biosensor maar van een bio-mimetische sensor. De sensor maakt niet gebruik van biologische receptoren, maar bootst de receptoren na. Het voordeel van een dergelijke sensor is de gemakkelijke synthese ervan en de hoge lange-termijn stabiliteit, zelfs bij niet-fysiologische omstandigheden zoals lage pH waarden, verhoogde temperaturen en organische solventen.

2.3.2 Omzettingslaag

De omzetter van de biosensor zorgt ervoor dat de biologische herkenning omgezet wordt naar een meetbaar signaal dat verder verwerkt en geanalyseerd kan worden. Een opdeling op basis van de gebruikte omzettingstechniek geeft een meer technische indeling van de biosensoren. De meest voorkomende zijn de elektrochemische biosensoren waarbij de omzettingslaag bestaat uit een vloeibare cel met twee elektroden die gemaakt zijn van bijvoorbeeld chemische inerte metalen, geleidende keramieken, koolstof of gedoteerde diamant. Voor deze elektrochemische biosensoren zijn er verschillende mogelijkheden van omzetting in een meetbaar signaal. De potentiometrische biosensoren baseren zich op een verandering in ladingsverdeling wanneer de twee elektroden verbonden worden. Het gemeten voltage, of potentiaal, tussen de twee elektroden is een directe maatstaf van de concentratie van de doelmolecule. Deze sensoren meten de elektrische potentiaal van een elektrode wanneer er geen stroom door vloeit. Verder zijn er voltammetrische sensoren, welke, in tegenstelling tot de vorige, externe voltages tussen de twee elektroden gaat sturen en de resulterende stroom gaat meten. Deze methode wordt gebruikt voor de opsporing van moleculen die een elektrochemische reactie ondergaan als gevolg van een redox reactie die plaatsvindt bij een bepaalde potentiaal. Een amperometrische sensor werkt op dezelfde manier, alleen dat de voltammetrische sensor de waarde van het voltage steeds opvoert en zo het gedrag van de stroom

controleert, terwijl de amperometrische sensor steeds bij een constant voltage, hoog genoeg zodat de redox reactie van de doelmolecule opgaat, werkt. Wanneer een wisselspanning door de elektroden wordt gestuurd, spreekt men van impedimetrische sensoren. De verhouding tussen de spanning en de resulterende stroom is de impedantie of schijnweerstand. Deze weerstand is afhankelijk van de frequentie. De spanningen zijn echter meestal te laag om een redox reactie teweeg te brengen waardoor deze werkwijze hoofdzakelijk toegepast wordt voor de opsporing van elektrisch neutrale of inerte moleculen. Wanneer de omzetting veroorzaakt wordt door warmte worden de sensoren thermometrische biosensoren genoemd. Voor optische biosensoren is de omzetting gebaseerd op licht geproduceerd door een reactie of op licht geabsorbeerd door een verschil tussen de reagentia en andere producten. Voorts worden biosensoren, waarbij het signaal veroorzaakt wordt door effecten teweeg gebracht door de massa van reagentia of producten, massa-gevoelige of ook wel microgravimetrische biosensoren genoemd. Deze werken op basis van het piëzo-elektrisch effect. Kristallen van bepaalde materialen ondergaan mechanische vervormingen onder invloed van elektrische spanning en bij een bepaalde frequentie kan een dergelijk kristal fluctueren rond zijn eigenfrequentie. Wanneer biomoleculen aan een dergelijk oppervlak worden vastgemaakt, zal dit extra gewicht op het oppervlak een kleine daling in eigenfrequentie teweegbrengen. Deze daling is precies meetbaar en hieruit kan vervolgens de toegevoegde massa berekend worden. Ten laatste, wanneer de oplossing een voorbehandeling krijgt met magnetische kralen, welke enkel met de doelmoleculen zullen binden, kunnen variaties in het magnetisch veld worden opgespoord door magnetische biosensoren. Deze methode biedt voordelen ten opzichte van andere methoden doordat deze kan gebruikt worden wanneer de doelmolecule een lage concentratie heeft en deze methode kan mengelingen van gelijkende proteïnen van elkaar onderscheiden.

Afhankelijk van de gewenste omzetting, wordt een geschikt materiaal gekozen. Verder kan het voorkomen dat het materiaal voor moeilijkheden zorgt bij de omzetting. Dan kan een ander materiaal waarbij de omzetting gemakkelijker gaat, gebruikt worden als hulpmiddel voor het oorspronkelijke omzettingmateriaal. Voor de keuze van omzettingmateriaal zijn voldoende materialen ter beschikking en door dit grote aantal en de mogelijkheid tot combinatie van deze materialen zijn er oneindig veel omzettingmaterialen mogelijk (Thoelen, 2008).

2.3.3 Uitlezing

De uitlezing is een gevolg van de gekozen omzettingmethode. Bijgevolg bestaan er vijf klassen van uitlezing, namelijk elektrochemisch, thermometrisch, optisch, massa-gevoelig en magnetisch. De elektronische uitlezing gebeurt zeer snel. De elektrochemische biosensoren plaatsen het herkenningselement rechtstreeks in of op de elektrode wat een snel resultaat mogelijk maakt. Ofwel ontstaat er een elektrisch signaal door een directe interactie met het herkenningselement, ofwel veranderen de diëlektrische eigenschappen door interactie met de receptor waardoor een weerstandsverandering ontstaat aan de interface.

Bij thermometrische biosensoren wordt de warmte geabsorbeerd of geproduceerd tijdens de biochemische reactie, gemeten. De warmte wordt gemeten door temperatuurgevoelige instrumenten. Deze gemeten warmte kan evenredig worden gesteld aan de molaire enthalpie en aan het stoichiometrisch product van de reactie.

De meeste biosensoren maakten oorspronkelijk echter gebruik van optische uitlezing. Door technieken zoals absorptie spectroscopie, fluorescentie spectroscopie en luminescentie spectroscopie kunnen veranderingen in de fotometrische eigenschappen van de omzetter veroorzaakt door de binding van de doelmolecule gemeten worden.

Massa-gevoelige uitlezing is de uitlezing van sensoren die berusten op het piëzo-elektrisch effect. Dit effect is het verschijnsel dat kristallen van bepaalde materialen vervormen wanneer er een elektrische spanning op wordt aangelegd en omgekeerd dat deze een elektrische spanning produceren wanneer ze vervormd worden door een mechanische kracht. Kristalvervorming kan echter ook optreden als gevolg van thermische effecten. Hierdoor zijn piëzo-elektrische sensoren temperatuurgevoelig wat een groot nadeel is.

Magnetische uitlezing is een techniek die enkelvoudige moleculen kan opsporen doordat deze zeer sensitief is. Aan de oplossing die onderzocht wordt, worden magnetische kralen toegevoegd welke zich aan de doelmolecule zullen binden. Als deze oplossing vervolgens door een toestel wordt gedreven dat veranderingen in het magnetisch veld kan waarnemen, kan de magnetische verandering gemeten worden en de grootte van deze verandering is gekoppeld aan de concentratie van de doelmolecule.

Zoals eerder vermeld, krijgt de elektronische uitlezing, electronic readout, meestal de voorkeur. Dit omwille van de reeds vernoemde voordelen zoals de mogelijkheid tot het integreren van elektronische uitlezing in een klein apparaat en het genereren van een numerieke output die zonder verdere verwerking gelezen kan worden. In deze masterproef ga ik me daarom in de volgende paragrafen enkel richten op elektrochemische biosensoren met een elektronische uitlezing. De elektronische uitlezing is niet steeds de meest gevoelige uitlezing, maar wel de meest eenvoudige (Thoelen, 2008).

3 Nanotechnologie gebaseerde biosensoren

3.1 Nanotechnologie

Nanotechnologie werkt op zeer kleine schaal. Het omvat materie van een grootorde op nanoschaal (1 tot 100 nm) (National Nanotechnology Initiative, z.d.). Op nanoschaal kunnen ongebruikelijke fysische, chemische en biologische eigenschappen, en functies optreden die op macroschaal niet geobserveerd worden. Nanomaterialen zijn een unieke klasse van materialen met een brede waaier aan toepassingen in gebieden zoals voeding, cosmetica en geneeskunde. Nanotechnologie kan een oplossing bieden voor technologische problemen waarbij conventionele systemen moeilijkheden ondervinden (Doll, Raman, Dey, Burkhard, & Ag, 2013).

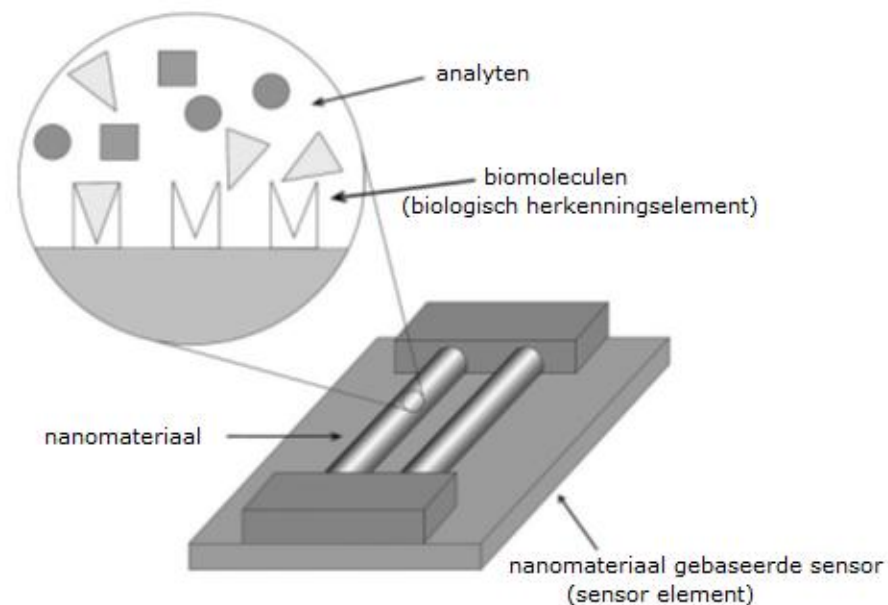
3.2 Nanobiosensoren

Ondanks de resultaten reeds geboekt met de bestaande sensortechnologie, is er nog steeds nood aan biosensoren die in staat zijn om op een directe manier, zeer lage niveaus van chemische of biochemische stoffen op te sporen. Door de vooruitgang op het vlak van microtechnologie en nanotechnologie is het mogelijk om sensoren te ontwikkelen die zeer sensitief zijn en daarnaast het voordeel van miniaturisatie bieden. Microbiosensoren of nanobiosensoren zijn gebaseerd op micro-elektronica en de daarmee gerelateerde micro-elektromechanische systemen (MEMS) en zorgen ervoor dat het toestel eenvoudig geïntegreerd kan worden in draagbare platformen die point-of-care analyses kunnen uitvoeren. De draagbaarheid van de sensor is voor vele toepassingen een belangrijk element. Daarnaast bieden nanobiosensoren ook voordelen op het vlak van productie door hun lage energieverbruik en de mogelijkheid tot massa productie waardoor de kosten verlaagd worden (Carrascosa, Moreno, Álvarez, & Lechuga, 2006).

Nanomaterialen worden in verschillende gebieden van de biomedische wetenschappen vaak gebruikt zoals voor de opsporing van biomoleculen of sensor applicaties. Nanomaterialen bezitten de nodige belangrijke fysieke eigenschappen zoals deeltjesaggregatie, foto-emissie, elektrische en warmte geleidbaarheid, en chemische eigenschappen zoals katalytische activiteiten. De eigenschappen van materialen op nanometrische schaal zijn significant verschillend van materialen op grotere schaal. Het gebruik van toestellen ontwikkeld op nanoschaal levert compacte informatieopslag, zeer kleine sensing elementen, en dataverwerkingselementen met minder dimensies (Pandey, Datta, & Malhotra, 2008). Daarnaast blijkt uit de wet van Moore dat nanotechnologie ook steeds meer nodig is. De wet van Moore stelt namelijk dat door de technologische vooruitgang, doorheen de geschiedenis van computer hardware, het aantal transistors in een geïntegreerde schakeling zal verdubbelen om de 2 jaar. Dit betekent dat de grootte van micro-elektronische toestellen elke 4 jaar nog maar de helft van zijn oorspronkelijke grootte is. In dit opzicht is het duidelijk dat nanotechnologie vitaal is voor elektronische toestellen. De toepassing van nanomaterialen in bio-elektronische toestellen, zoals biosensoren, is

voornamelijk te wijten aan de katalytische eigenschappen die nanopartikels vertonen. Deze eigenschappen zijn anders dan die van bulk materialen door het grote oppervlakte gebied, de hoge rand concentratie, en ongebruikelijke elektronische eigenschappen (Haruta & Date, 2001; Baron et al., 2007; Kumar et al., 2007).

In de zoektocht naar biosensoren met een hogere sensitiviteit en selectiviteit is gebleken dat dit bereikt kan worden door het combineren van biomoleculen en een op nanotechnologie gebaseerd sensor platform. Nanotechnologie heeft reeds bewezen dat het bepaalde biologische reacties kan versterken of omzetten in een signaal geschikt om de concentratie van een gegeven analyt te schatten. Daaruit kan besloten worden dat de vooruitgang in de ontwikkeling van biosensoren voornamelijk te danken is aan de verbeteringen op vlak van nanotechnologie (Jianrong, Yuqing, Nongyue, Xiaohua, & Sijiao, 2004). De techniek om patronen te herkennen aan de hand van sensorreeksen gebaseerd op nanomateriaal is al veelvuldig toegepast (Gardner, Hines, & Tang, 1992). Nochtans worden praktische toepassingen sterk gelimiteerd door lage selectiviteit, voornamelijk voor de opsporing van biologische analyten, hoewel dergelijke sensoren voor chemische detectie een hoge sensitiviteit hebben (Kim et al., 2009; Byon & Choi, 2006). Daarom worden biologische moleculen gebruikt als herkenningselement om deze beperkingen van selectieve opsporing te overwinnen. De gevoeligheid van een sensor in elektrochemische of biologische analyses wordt door nanomaterialen verhoogd. De biomoleculen worden bijgevolg gecombineerd met een sensor op basis van nanomaterialen waardoor de prestaties van de biosensor op selectief en sensitief vlak verbeterd worden (Figuur 3.1) (Song & Park, 2011).



Figuur 3.1: Schematische voorstelling van de integratie van biomoleculen en nanomateriaal in een biosensor (Song & Park, 2011).

4 SWOT-analyse

Alvorens een nieuw product zoals een nanotechnologie gebaseerde biosensor op de markt kan gebracht worden, dient dit eerst grondig geanalyseerd te worden. Alle aspecten van het product moeten duidelijk in kaart worden gebracht en ook de markt waarin het product gelanceerd zal worden. Dit kan door middel van het opstellen van een SWOT-analyse. SWOT is de afkorting van vier Engelse termen, namelijk *Strengths*, *Weaknesses*, *Opportunities* en *Threats*. Met een SWOT-analyse worden dus alle sterke en zwakke punten in kaart gebracht en tevens de kansen en bedreigingen die aanwezig zijn op de markt. Een SWOT-analyse wordt meestal uitgevoerd in een onderneming om een beter begrip te krijgen van de onderneming zelf en om te helpen bij het formuleren van een doelgerichte strategie voor de onderneming. Hier wordt de SWOT-analyse toegepast op een product, namelijk de nanotechnologie gebaseerde biosensor, en zal de analyse een duidelijker beeld geven van de biosensor en de marktpositie via een toelichting van de positieve en negatieve aspecten. In de verdere hoofdstukken van deze masterproef zal een specifieke nanotechnologie gebaseerde biosensor, de serotoninesensor, besproken en economisch geanalyseerd worden. Vooraleer op deze biosensor dieper wordt ingegaan, volgt eerst een kort overzicht van een SWOT-analyse voor het op de markt brengen van een biosensor die gebruik maakt van nanotechnologie.

4.1 Sterke punten

De SWOT-analyse begint steeds met het aangeven van de sterke punten van de onderneming of in dit geval van het product. Hierin wordt gezocht naar het voordeel dat de biosensor kan bieden. Voor ondernemingen wordt dit ook wel eens uitgedrukt als het Unique Selling Proposition (USP). Het USP geeft datgene aan waarin het bedrijf zich onderscheidt van concurrerende bedrijven.

Biosensoren zijn zeer handige instrumenten voor het analyseren en opsporen van biologische en chemische stoffen. Een van de sterke punten van de biosensor is dan ook de selectiviteit waarmee deze een bepaalde stof weet op te sporen, zelfs wanneer er andere gelijkaardige stoffen aanwezig zijn. De meeste biosensoren maken gebruik van antilichamen of enzymen voor de herkenningslaag van de sensor. Deze biosensoren beschikken over een grote affiniteit en selectiviteit, maar tegen moeilijke omstandigheden, zoals hoge temperaturen en lage of hoge pH-waarden, zijn deze niet bestand. Door op nanoschaal te werken en gebruik te maken van een synthetische herkenningslaag kan dit probleem opgelost worden (Thoelen, 2008). De biosensor die in hoofdstuk 6 besproken wordt, werkt met een synthetische herkenningslaag op basis van moleculair ingeprinte polymeren (sectie 6.1).

Als de biosensor met nanomateriaal gebouwd wordt, treedt er tevens een miniaturisatie op wat voordelig is voor de kosten van productie. De miniaturisatie zal er tevens voor zorgen dat de biosensor gebruikt kan worden voor point-of-care toepassingen. Deze worden vooral in de

medische sector gebruikt. Dit zorgt er namelijk voor dat de resultaten snel bekomen worden. Een snelle diagnose betekent dat de patiënt snel behandeld kan worden. In de voorgaande hoofdstukken is de biosensor uitgebreid besproken en zijn nog andere voordelen aan bod gekomen, maar dit zijn de voornaamste sterktes van de nanotechnologie gebaseerde biosensor.

4.2 Zwakke punten

Voor nanotechnologie gebaseerde biosensoren zijn er nog een aantal zwaktes op technisch gebied. Biosensoren, opgebouwd uit nanomateriaal, bezitten vaak een slechte stabiliteit. Hierdoor kan de biosensor meestal slechts eenmaal gebruikt worden (Song & Park, 2011). Dit is een zwak punt van de nanobiosensor, maar voor toepassingen in de medische sector is herbruikbaarheid niet altijd vereist. Wanneer voor een medische analyse een bloedstaal nodig is, zal de biosensor die reeds in contact is geweest met een bloedstaal van een andere patiënt niet opnieuw gebruikt worden. Dit heeft te maken met hygiëne, maar voor de meting van een bepaalde doelmolecule is dit vooral zodat er geen foutieve metingen gebeuren.

Andere eisen die meestal gesteld worden aan een biosensor en wat een zwak punt kan zijn, zijn de gebruiksvriendelijkheid en duurzaamheid. De biosensor dient gemakkelijk te zijn in de omgang, zeker als de nanobiosensor bestemd is voor persoonlijk gebruik door de patiënt, zoals bij de glucose sensor. Met duurzaamheid wordt bedoeld dat de biosensor robuust is en een redelijke houdbaarheid of levensduur heeft.

4.3 Kansen

De sterke en zwakke punten worden bepaald door interne elementen van de biosensor. Voor het onderzoeken van de mogelijke kansen en bedreigingen van de biosensor dient er ook naar externe factoren gekeken te worden. Hierbij kan een PEST analyse van pas komen, een instrument dat helpt bij het analyseren van de Politieke, Economische, Sociaal-culturele, en Technische veranderingen in de omgeving.

Voor de biosensor zijn er op vlak van sensitiviteit, selectiviteit en reactiesnelheid nog enorm veel mogelijkheden tot verbetering. Deze eigenschappen zijn vooral belangrijk voor biosensoren die gebruikt worden in de medische sector. Deze sector biedt dan ook de meeste opportuniteit en toepassingsmogelijkheden voor de ontwikkeling van nanotechnologie gebaseerde biosensoren. Zoals aangehaald bij de sterke punten is er vraag naar draagbare toestellen, die ter plekke (point-of-care) gebruikt kunnen worden. Door gebruik te maken van nanotechnologie kan er gedetecteerd worden op lagere concentraties. Dit is nuttig voor het opsporen van stoffen die slechts in zeer kleine concentraties aanwezig zijn in het menselijk lichaam en opent bijgevolg de deur voor biosensoren voor de opsporing van dergelijke stoffen. Dit zorgt samen met de steeds groeiende

kennis van biologische en 'nieuwe' materialen dat de biosensor voor meer toepassingen gebruikt kan worden en dat het aantal commerciële biosensoren zal toenemen.

4.4 Bedreigingen

De introductie van nanotechnologie gebaseerde biosensoren op de markt en het bekomen van een succesvolle commercialisatie brengt heel wat hindernissen met zich mee. De oorzaak ligt voornamelijk bij het gebruik van nanotechnologie. Niet enkel biosensoren, maar eender welke toepassing die steunt op het gebruik van nanotechnologie ondervindt hindernissen die de commercialisatie van het product in de weg staan. McNeil et al. (2007) gaven 22 hindernissen aan in het rapport opgesteld voor het Amerikaanse departement van handel (US Department of Commerce). Een aantal van deze hindernissen zijn een negatieve publieke waarneming, dure infrastructuur voor productie, en onvoldoende gekwalificeerd personeel in patent kantoren om de nanotechnologie producten te beoordelen (Lee, Lee, Jhon, & Shin, 2013). Naast deze hindernissen zijn er een aantal economische factoren die de implementatie van een nanotechnologie gebaseerde biosensor bedreigen, zoals inflatie of een daling van de marktvraag. Hoewel het onderzoek naar biosensoren enorm is toegenomen en zeker in termen van financiële investering, dient hier toch steeds rekening mee worden gehouden. De lage kostprijs is één van de sterke punten van de biosensor, maar een stijging van de kostprijs van materiaal is steeds mogelijk. Een krimpende markt of een daling van de marktvraag kan voorkomen, hoewel het veelzijdige karakter van de biosensor zorgt dat deze gebruikt kan worden in verschillende sectoren. Bijgevolg zal er steeds vraag zijn naar nieuwe biosensoren. De opkomst van een nieuwe technologie kan echter wel zorgen voor concurrentie op de markt.

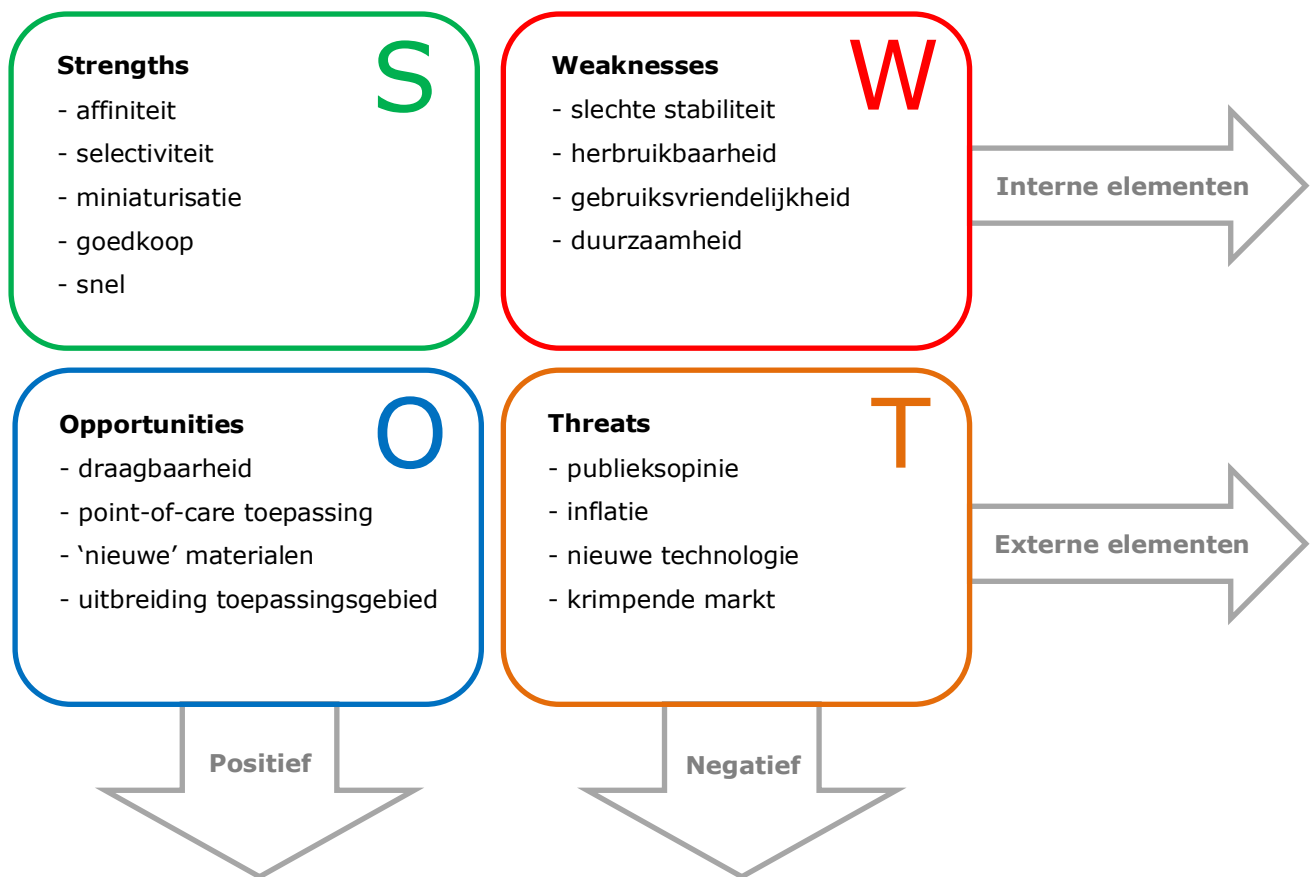
4.5 Conclusie

De biosensor kent enorm veel voordelen en het is duidelijk dat in verschillende gebieden zoals geneeskunde, milieu en voeding voldoende mogelijkheid is voor de introductie van nieuwe biosensoren. Tegenwoordig worden er steeds hogere eisen gesteld voor de affiniteit, selectiviteit en stabiliteit van biosensoren. Bij de ontwikkeling van een nieuwe biosensor is het belangrijk dat gezocht wordt naar een zo hoog mogelijk resultaat voor deze drie parameters. In de hoofdstukken die volgen wordt een nanotechnologie gebaseerde biosensor voor de opsporing van serotonine (hoofdstuk 5) besproken. Hierin komt naar voor hoe op een relatief eenvoudige manier een biosensor bekomen wordt die zowel goedkoop, als snel en gevoelig is.

Afhankelijk van de toepassing waarvoor de biosensor zal dienen, moet gestreefd worden naar een bepaalde stabiliteit. Nanotechnologie heeft een negatief effect op de stabiliteit, waardoor verdere optimalisatie van de nanobiosensor noodzakelijk is indien herbruikbaarheid vereist is. Bij de materiaalkeuze zal gezocht worden naar materialen met een lage kostprijs. Het is echter even

belangrijk dat de biosensor van duurzame materialen gemaakt wordt, zodanig dat de biosensor robuust is. Het gebruiksgemak van de biosensor is een eigenschap waar belang aan gehecht moet worden. Door miniaturisatie is het mogelijk om de biosensor te integreren in een draagbaar apparaat waardoor point-of-care toepassingen mogelijk zijn.

Ten slotte moeten de economische factoren die op de markt spelen in het oog worden gehouden vooraleer de biosensor geïmplementeerd wordt. Het gebruik van nanotechnologie zal voor- en tegenstanders hebben, maar door reclame te maken voor het product en te zorgen dat het bekendheid krijgt, zal de opneming in de markt vlotter verlopen.



Figuur 4.1: SWOT-analyse.

5 Serotonine

Biosensor technologie werd voor het eerst in de medische sector gebruikt voor het thuis controleren van bloedglucose bij diabetespatiënten. Ondertussen bevatten veel instrumenten in een ziekenhuis een biosensor en worden deze gebruikt voor het meten en controleren van kritische parameters. Door het toevoegen van biosensoren aan de instrumenten die gebruikt worden, kunnen parameters door het ziekenhuispersoneel meteen worden afgelezen terwijl ze naast de patiënt staan. Vroeger diende er een staal bloed of urine worden afgenomen en naar het laboratorium worden gestuurd voor onderzoek, wat de nodige wachttijd met zich meebracht. Een aantal van de parameters welke momenteel binnen enkele minuten gemeten kunnen worden zijn: bloedgassen, hemoglobine, natrium, calcium, chloride, magnesium, glucose, en lactaat (Connolly, 2004). De beslissing om dergelijke instrumenten te gebruiken moet gebaseerd zijn op een grondige afweging van factoren zoals de medische nood, de verbetering van de patiëntzorg, de verzekerde kwaliteit en de kosten van het implementeren (Connolly, 2004). Een andere parameter waarvoor het gebruik van een biosensor voordelig zou zijn, is serotonine. Serotonine is één van de neurotransmitters¹ die geproduceerd worden door het lichaam wanneer dit over voldoende tryptofaan beschikt. Deze neurotransmitter oefent een invloed uit op verschillende functies van het menselijk lichaam. Het serotoninegehalte in het bloed draagt bij tot het welzijn en de gevoelens van mensen. Afhankelijk van het niveau van serotonine kunnen veranderingen optreden in gemoedstoestand, emoties, slaapgewoonte en eetlust. Hierdoor speelt serotonine een grote rol in de controle van fysische functies en het daaruit volgende gedrag (Sharma, Garg, Singh, & Mondal, 2013).

5.1 Seizoensafhankelijke depressie

Een verstoring van het niveau van het serotoninegehalte in het bloed heeft meerdere gevolgen. Zo kan een verstoring mede verantwoordelijk zijn voor schizofrenie, depressie, compulsieve stoornissen en leerproblemen (Michel et al., 2005). Er is tevens ook gebleken dat een verlaagd serotoninegehalte samenhangt met seizoensafhankelijke depressie (*Seasonal affective disorder*) of kortweg SAD (Schloss, & Williams, 1998; Johansson et al., 2001). SAD is een verstoring van de gemoedstoestand tijdens bepaalde seizoenen van het jaar. Mensen met SAD vertonen depressieve symptomen tijdens de winter, of minder voorkomend tijdens de zomer, waardoor SAD ook vaak winterdepressie wordt genoemd. De voornaamste symptomen van SAD zijn een verandering van eetpatroon, gewichtstoename, een verlaging van het energieniveau, vermoeidheid, concentratiemoeilijkheden, irritatie, een verhoogde gevoeligheid voor sociale afwijzing en het wegblijven bij sociale activiteiten. De ziekte kent meerdere gradaties, zo ontwikkelen de meer ernstige gevallen dezelfde symptomen als mensen met een effectieve depressie, zoals het verlies van interesse of plezier in activiteiten, groeiende gevoelens van hopeloosheid of hulpeloosheid en

¹ Neurotransmitters zijn chemische stoffen die een rol spelen in het overbrengen van de zenuwprikkel ("neurotransmitter," z.d.).

zelfs fysieke klachten, zoals hoofdpijn en maagpijn. De meest extreme gevallen kunnen zelfs aanleiding geven tot zelfmoordgedachten (Lam, & Levitan, 2000).

Bij één tot drie procent van de volwassen bevolking, wonend in gematigde klimaten, wordt winterdepressie vastgesteld. De meerderheid van de gevallen zijn vrouwen (Magnusson, & Boivin, 2003). Aangezien SAD een subtype van chronische depressie is, wordt de diagnose vastgesteld wanneer aan bepaalde criteria voldaan is. Hieronder valt de criteria of de patiënt reeds een geschiedenis heeft van depressie, of minimum twee jaar chronische winterdepressie met remissie in de lente of de zomer. Patiënten met SAD vertonen naast de symptomen die voorkomen bij een ernstige depressie eveneens atypische symptomen, zoals het overdadig eten, slapen, gewichtstoename en vermoeidheid, welke zelden voorkomen bij een ernstige depressie (Sharma et al., 2013). Het vaststellen van deze symptomen is eerder subjectief. Er is reeds geconcludeerd dat serotonine wisselt over de seizoenen en bijgevolg een duidelijke rol speelt in het optreden van SAD. Het meten van het serotoninegehalte in het bloed is een objectieve beoordeling voor de diagnose van SAD, daar uit meerdere studies is gebleken dat een daling in serotonine een versterkend effect heeft op het voorkomen van de aandoening (Sharma et al., 2013). Serotonine is gevoelig voor licht, zuurstof en pH-veranderingen. Voor de analyse van de serotonineconcentratie in het bloed dienen daarom speciale voorzorgsmaatregelen getroffen te worden zoals het voorbehandelen van het bloedstaal. Verschillende opspoortechnieken zoals solventextractie en ion uitwisselingschromatografie vereisen een uitgebreide voorbehandeling van het te onderzoeken bloedstaal. De meest gebruikte techniek is daarom vloeistofchromatografie (*High-Performance Liquid Chromatography, HPLC*), hoewel deze zeer kostelijk is en niet geschikt voor routine testen (Peeters et al., 2012).

5.2 Prikkelbare darmsyndroom

Serotonine beïnvloedt tevens motorische reacties van de darmen door de enterische² zenuwen te activeren, welke directe controle hebben over het maagdarmstelsel (Michel et al., 2005). Carcinoïde buikloop, buikloop als bijkomend symptoom door de aanwezigheid van een neuro-endocriene tumor in de darm, en het buikloop-overheersende prikkelbare darmsyndroom (*Irritable bowel syndrome, IBS*), afgekort PDS, zijn ziekten die optreden wanneer er een overmaat aan serotonine in het bloed aanwezig is. Carcinoïde buikloop komt echter zelden voor in tegenstelling tot chronische buikloop verbonden met PDS. Patiënten met PDS vertonen een verstoorde hersenen-maag regulatie waardoor de maagfuncties, viscerale³ perceptie en de slijmvliesfunctie veranderen (Camilleri, 2011). Een veranderde motoriek van de dunne darm ligt aan de grondslag van PDS, wat afgeleid kan worden uit de symptomen zoals obstipatie, moeilijke stoelgang, of diarree. PDS, waarbij de beweeglijkheid van de darm chronisch verstoord is, wordt daarom ook wel

² Gelegen in de wand van de darmen, maken deel uit van het autonoom (onwillekeurig) zenuwstelsel (Boron, & Boulpaep, 2008).

³ Met betrekking tot de ingewanden ("visceraal," z.d.).

spastische darm genoemd. Andere symptomen van PDS zijn regelmatig optredende pijn aan de onderbuik en ongemak door het veranderen van de stoelgang (Katiraei & Bultron, 2011).

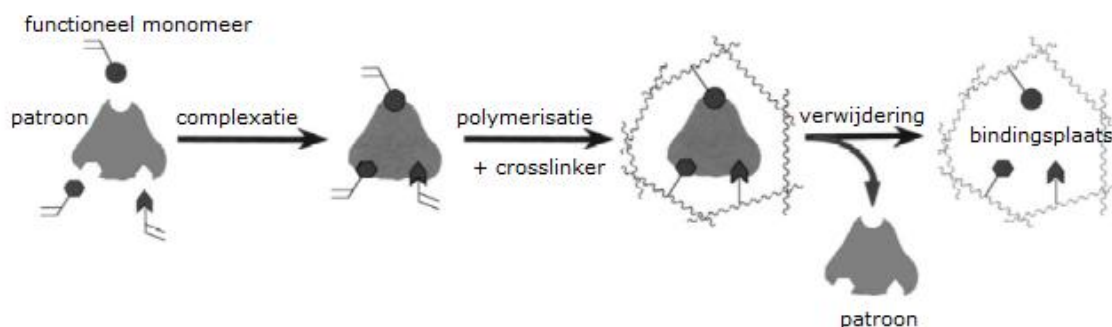
Hevige pijn aan de onderbuik treedt op bij 10% tot 15% van de schoolgaande kinderen, waarvan in 17% tot 24% van de gevallen de pijn dermate toeneemt dat deze de dagelijkse activiteiten verstoort, en bij 13% tot 15% wordt de slaap hierdoor verstoord. In slechts 47% van de gevallen verdwijnt deze pijn aan de onderbuik naarmate de patiënt ouder wordt, wat betekent dat de meerderheid ook nog op latere leeftijd last heeft. Uiteindelijk wordt bij 18% van deze patiënten daadwerkelijk het prikkelbare darmsyndroom vastgesteld (Katiraei & Bultron, 2011). Ongeveer de helft van de PDS patiënten ondervindt naast bovenvermelde symptomen ook andere maag-darm klachten, zoals een gestoorde spijsvertering (57%) en zuurbranden (40%). Om tot de diagnose van PDS te komen, dienen andere aandoeningen van het maag-darmkanaal uitgesloten te worden. Omwille van de moeilijkheid om, aan de hand van standaard diagnose instrumenten, tot de vaststelling van PDS te komen en aangezien PDS verschilt van persoon tot persoon en van kinderen tot volwassenen, wordt, afhankelijk van de leeftijd van de patiënt of de duur en de aard van de symptomen, gebruik gemaakt van aanvullende diagnostiek variërend van laboratoriumonderzoek tot endoscopie (Katiraei & Bultron, 2011; Stehouwer et al., 2010). Het overgrote deel van serotonine in het bloed zit opgeslagen in enterochromaffiene cellen (EC) welke in grotere maten aanwezig zijn bij patiënten met het prikkelbare darmsyndroom. Het toedienen van stoffen die de aanmaak van serotonine tegengaan, is reeds bewezen een duidelijke verbetering in pijn aan de onderbuik teweeg te brengen (Katiraei & Bultron, 2011). Zowel bij het stellen van de diagnose als bij het zoeken naar de gepaste medicatie zal het meten van het serotoninegehalte een grote hulp zijn.

6 Serotoninesensor

Uit het vorige hoofdstuk kan afgeleid worden dat serotonine een belangrijke rol speelt in het menselijk lichaam en de goede werking van het maag-darmstelsel. De huidige methode om het gehalte serotonine te meten in het bloed is aan de hand van hoge druk vloeistofchromatografie of *High-Performance Liquid Chromatography*, afgekort HPLC. Daar deze methode zeer kostelijk is en tijd consumerend, heeft het Instituut voor Materiaalonderzoek (IMO) onderzoek gedaan naar een andere methode die gebruik maakt van moleculair ingepte polymeren (MIP) als synthetische receptoren in combinatie met impedantie spectroscopie om de tekortkomingen van HPLC te overkomen.

6.1 Moleculair ingepte polymeren

Biomaterialen hebben eigenschappen die specifiek gericht zijn op moleculaire herkenning. Wetenschappers streven er naar om deze eigenschappen na te bootsen, daar moleculaire herkenning de basis is van alle biologische processen die te maken hebben met het opsporen van een bepaalde doelmolecule. Zo kan er een synthetische receptor gemaakt worden, welke op maat gemaakt kan worden om een welbepaalde doelmolecule te herkennen en welke onder verschillende omstandigheden goed blijft functioneren (Thoelen, 2008). Deze synthetische receptor wordt ontwikkeld aan de hand van moleculaire inprenting, waarbij in synthetische polymeren specifieke herkenningsplaatsen kunnen worden gevormd door gebruik te maken van een specifiek patroon. In biosensoren kunnen deze herkenningsplaatsen vervolgens de bindingsplaatsen, welke ze nabootsen, vervangen. De herkenningsplaatsen worden op maat gemaakt en zijn bijgevolg zeer specifiek. Moleculaire ingepte polymeren zijn tevens voordelig voor de industrie omwille van hun robuust karakter, stabiliteit en lage kost (Haupt & Mosbach, 1998).



Figuur 6.1: Schematische voorstelling van moleculaire inprenting (Takeuchi & Haginaka, 1999).

Figuur 6.1 illustreert het principe van moleculaire inprenting. In de eerste stap wordt de doelmolecule via complexe formatie gevormd uit het patroonmolecule en polymeriseerbare monomeren welke functionele groepen dragen. Deze functionele groepen of monomeren kunnen interageren met de doelmolecule. Om te zorgen voor een goede organisatie van de

bindingsplaatsen, worden in deze stap de functionele monomeren reeds gestructureerd rond de patroonmolecule geplaatst. Bij de volgende stap gebeurt er een polymerisatie⁴ van de functionele groepen zodanig dat de opstelling, welke optimaal is voor de binding van het doelmolecule in een volgende stap, behouden blijft. Hierbij wordt een crosslinker gebruikt om de verschillende polymeerketens van de functionele groepen met elkaar te verbinden. In de laatste stap wordt ten slotte het patroon verwijderd. Het eindresultaat zijn op maat gemaakte bindingsplaatsen voor de patroonmolecule (Takeuchi & Haginaka, 1999). Deze bindingsplaatsen komen zowel in grootte als in vorm overeen met die van het patroon en ook de opstelling van de functionele groepen zijn complementair aan de patroonmolecule. De bindingsplaatsen zijn specifiek en kunnen vervolgens binden met andere nauw verwante structuren (Haupt & Mosbach, 1998).

Het gebruik van moleculair ingeprinte polymeren biedt buiten specifieke herkenning nog heel wat andere voordelen voor de detectie van serotonine. Zo kunnen MIP's gesynthetiseerd worden aan een lage kost, voor lange tijd opgeslagen worden, hun receptor eigenschappen behouden bij verschillende temperaturen, pH-waarden, en ionische sterkten en de herkenning van de doelmolecule is omkeerbaar waardoor MIP-gebaseerde sensoren meerdere malen gebruikt kunnen worden (Peeters et al., 2012).

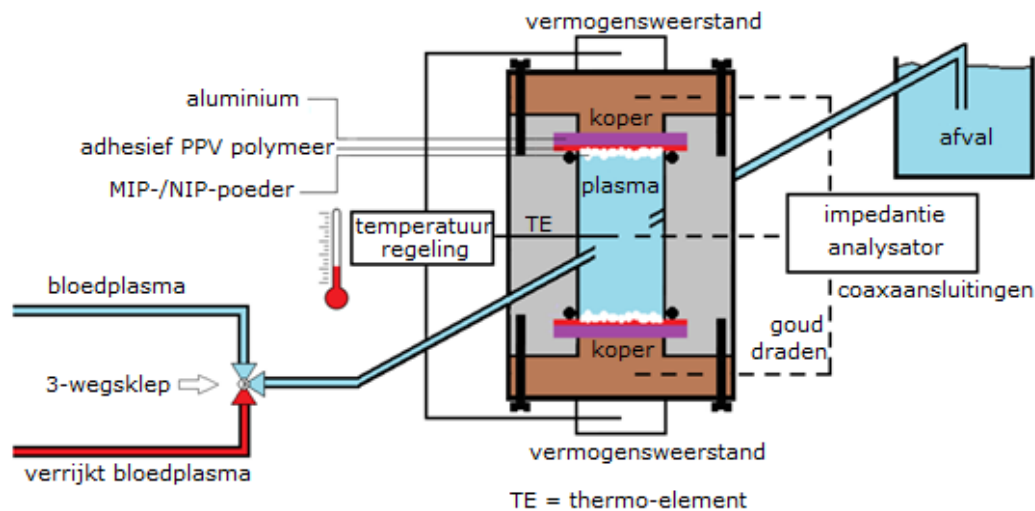
6.2 Impedantie spectroscopie

Het concentratiebereik van serotonine ligt bij gezonde mensen tussen 5 en 20 nM. Tot dusver was het niet mogelijk om het serotoninegehalte in bloedstalen te meten in het relevant concentratiebereik aan de hand van elektrochemische technieken. HPLC, de andere veel gebruikte techniek, heeft andere tekortkomingen zoals het benodigd gesofisticeerd materiaal en de kostprijs. Het gebruik van moleculair ingeprinte polymeren als synthetische receptoren is bijgevolg een andere en betere mogelijkheid om serotonine in het bloed op te sporen (Peeters et al., 2012).

Onderzoek naar MIP's voor de herkenning van serotonine is recent en schaars. Toch zijn er reeds verschillende technieken gerapporteerd, maar deze technieken bleken nog steeds niet geschikt voor point-of-care toepassingen. Peeters et al. lossen dit op door de MIP-receptoren te combineren met elektronische uitleestechnieken. Bij het onderzoek naar de uitlezing van nicotine of histamine in het bloed maakten Peeters et al. gebruik van MIP-gebaseerde impedimetrische sensoren met een opsporingslimiet van 2nM in een buffer oplossing. Verschillende uitleestechnieken, zoals voltagemeting en kwartkristalmicrobalansen (*quartz crystal microbalances, QCM*), zijn in staat een concentratiebereik van millimolaire schaal (mM) te detecteren, maar aangezien serotonine typisch op een nanomolaire schaal aanwezig is, wordt voor impedantie spectroscopie gekozen als uitleesmethode (Peeters et al., 2012).

⁴ De verbinding van moleculen van eenzelfde soort zodanig dat een hoogmoleculaire structuur ontstaat zonder dat de elementaire bouw verandert ("polymerisatie," z.d.).

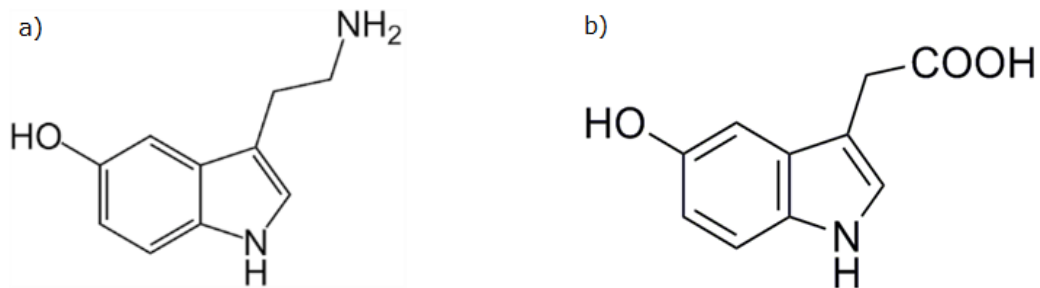
De meting van serotonine in bloedplasma gebeurt aan de hand van een impedantie sensor, schematisch voorgesteld in figuur 6.2. De cel bevat een elektrode voor het MIP-kanaal en een elektrode voor het referentie kanaal of NIP (niet-moleculair ingeprinte polymeren). Het MIP- of NIP-poeder wordt vervolgens op de elektroden gestempeld door middel van een adhesief polymeer (*polyphenylene vinylene, PPV*) door warmtetoevoeging. Via een drie-wegsklep worden twee bloedstalen in de cel geïnjecteerd. Het bloed waarvan het serotoninegehalte gemeten wordt, wordt op voorhand tien minuten in een centrifuge geplaatst, zodanig dat bloedplasma bekomen wordt. Voor de analyse wordt elk bloedstaal opgedeeld in zes delen. Telkens wordt één deel behouden als referentiestaal, terwijl de andere delen handmatig met 50, 100, 150, 200 en 250 nM serotonine worden verrijkt.



Figuur 6.2: Schematische voorstelling van de cel voor metingen van bloedplasma met een actief kanaal (MIP-poeder) en een referentie kanaal (NIP-poeder). Het bloedplasma wordt toegediend via een pompsysteem en de temperatuur wordt actief geregeld zodat de installatie een autonome werking heeft (Peeters et al., 2012).

Het grote voordeel van het gebruik van de impedantie sensor is dat concentratieseries, waarbij het bloedplasma telkens verrijkt is met een hogere concentratie serotonine, zeer snel kunnen gemeten worden zonder de vloeistof in de cel te veranderen. Deze manier van serotoninemeting is bijgevolg geschikt voor routine metingen. De sensor-cel zelf, in verkleinde opstelling, heeft een intern vloeistofvolume van 110 μl en is gemaakt van polymethylmethacrylaat (PMMA) of beter gekend als Plexiglas. Verder bevat de sensor-cel ook een verwarmingselement (of thermo-element) zodanig dat de cel zelfstandig werkzaam is en niet afhankelijk van een extern instrument voor de temperatuurregeling. Tijdens de metingen zorgt het verwarmingselement ervoor dat de temperatuur constant blijft rond 37°C. De cel is symmetrisch opgesteld met een MIP-elektrode en een NIP-elektrode, dat dient als referentiekanaal. Beide elektroden zijn verbonden met een gouden draad, welke dient als gemeenschappelijke tegenelektrode. Deze opstelling zorgt ervoor dat bij complexe matrices, zoals bloed, de specifieke signalen gemeten worden en niet de niet-specifieke

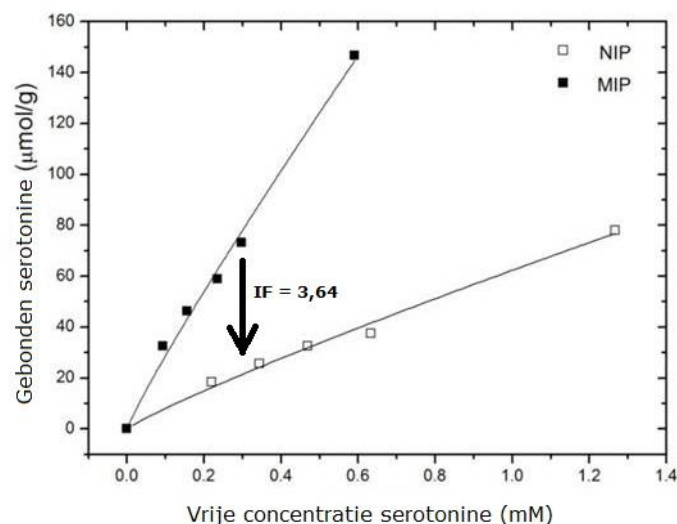
signalen van concurrerende moleculen, zoals de metaboliet⁵ van serotonine 5-HIAA, welke een even sterk of zelfs sterker signaal kunnen uitzenden. Daarnaast worden telkens verschillende metingen gedaan zodanig dat eventuele niet-specifieke herkenning gecompenseerd wordt (Peeters et al., 2012).



Figuur 6.3: Structuur van serotonine (a) en de structuur van zijn metaboliet 5-HIAA (b) (Peeters et al., 2012).

6.3 Resultaten

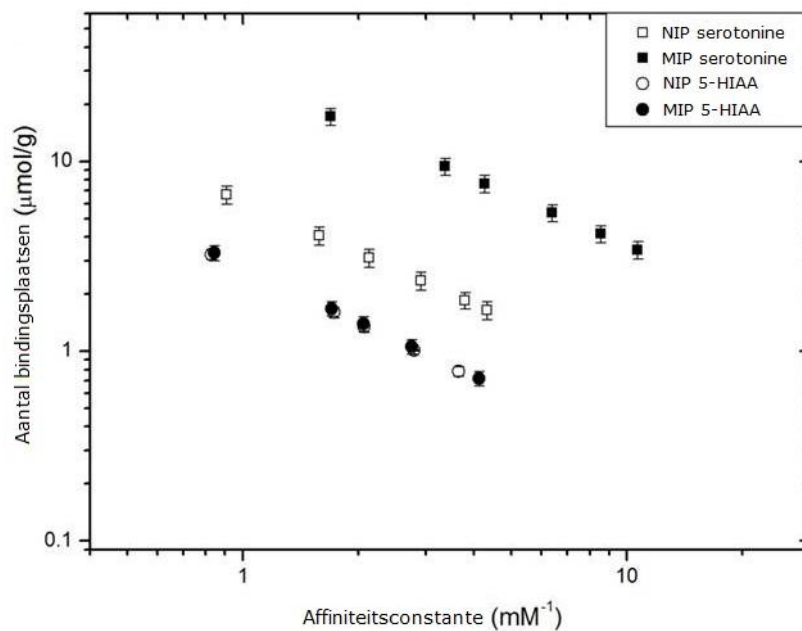
Om te zorgen dat de affiniteit en de selectiviteit voor serotonine van de moleculair ingeprinte polymeren voldoende hoog is, wordt de synthese van de MIP geoptimaliseerd door middel van de optimale combinatie van twee functionele monomeren, methacrylzuur (methacrylic acid, MAA) en acrylamide (AA). De inprentfactor (IF) dient als maatstaf voor de affiniteit en komt overeen met de hoeveelheid doelmoleculen per gram gebonden aan MIP gedeeld door de hoeveelheid gebonden aan de NIP. De hoogste inprent factor (IF = 3,64) werd bereikt bij MIP's gesynthetiseerd uit de combinatie van MAA en AA met een 1:3 ratio (Figuur 6.4).



Figuur 6.4: Hoeveelheid gebonden serotonine en vrije serotonine bij MIP en NIP (Peeters et al., 2012).

⁵ Het tussen- of eindproduct ontstaat nadat een chemische stof in een biologisch systeem stofwisselingsprocessen heeft ondergaan ("metaboliet," z.d.).

Door de MIP's en de NIP's vervolgens tevens aan de natuurlijke metaboliet van serotonine 5-HIAA (Figuur 6.3 (b)) bloot te stellen, wordt de selectiviteit van de moleculaire herkenning getest. De resultaten tonen aan dat de binding van deze moleculen met zowel de MIP's als de NIP's verwaarloosbaar klein is. Dit wordt weergegeven in figuur 6.5, waar het aantal bindingsplaatsen van de MIP's en NIP's voor een aantal affiniteitsconstanten weergegeven wordt. Deze waarden liggen zowel voor de MIP's als de NIP's, blootgesteld aan serotonine, beduidend hoger dan deze met blootstelling aan de metaboliet, de binding met serotonine is bijgevolg hoger (Peeters et al., 2012). Verder is het ook duidelijk zichtbaar dat de MIP's hogere resultaten behalen dan de NIP's. In de praktijk zal daarom voornamelijk met MIP-poeder gewerkt worden.



Figuur 6.5: Aantal bindingsplaatsen van MIP's en NIP's met blootstelling aan serotonine (Peeters et al., 2012).

Aangezien bloed een complex mengsel is, wordt gebruik gemaakt van affiniteitschromatografie, waarbij een enkele verbinding uit een complex mengsel geïsoleerd wordt door een specifieke covalente binding, om de hoeveelheid serotonine te meten. Het bloedplasma wordt via de 3-wegsklep in de open sensor-cel geleid. Hier gaan enkel de serotoninemoleculen worden gebonden. Nadat de andere moleculen zijn weggespoeld, wordt de gebonden serotonine gespoeld zodanig dat de covalente verbinding verbroken wordt. Na filtratie kan zo de vrije concentratie aan serotonine gemeten worden aan de hand van UV-vis spectroscopie en kan de hoeveelheid gebonden serotonine per gram MIP of NIP berekend worden (Peeters et al., 2012).

Uit onderzoek blijkt dat de waarden voor het serotoninegehalte in menselijk bloed, bekomen op deze wijze, dezelfde zijn als de waarden die voortkomen uit een HPLC-meting. De serotoninesensor is bijgevolg een waardig alternatief voor de huidige chromatografische technieken. Daarnaast laat de sensor toe dat de temperatuur gecontroleerd kan worden tijdens de verwerking van het bloedplasma, waardoor het plasma op een veiligere manier behandeld wordt. Verder zorgt het gebruik van de impedantie analysator ervoor dat het toestel op alleenstaande basis kan werken wat nuttig is voor point-of-care toepassingen (Peeters et al., 2012).

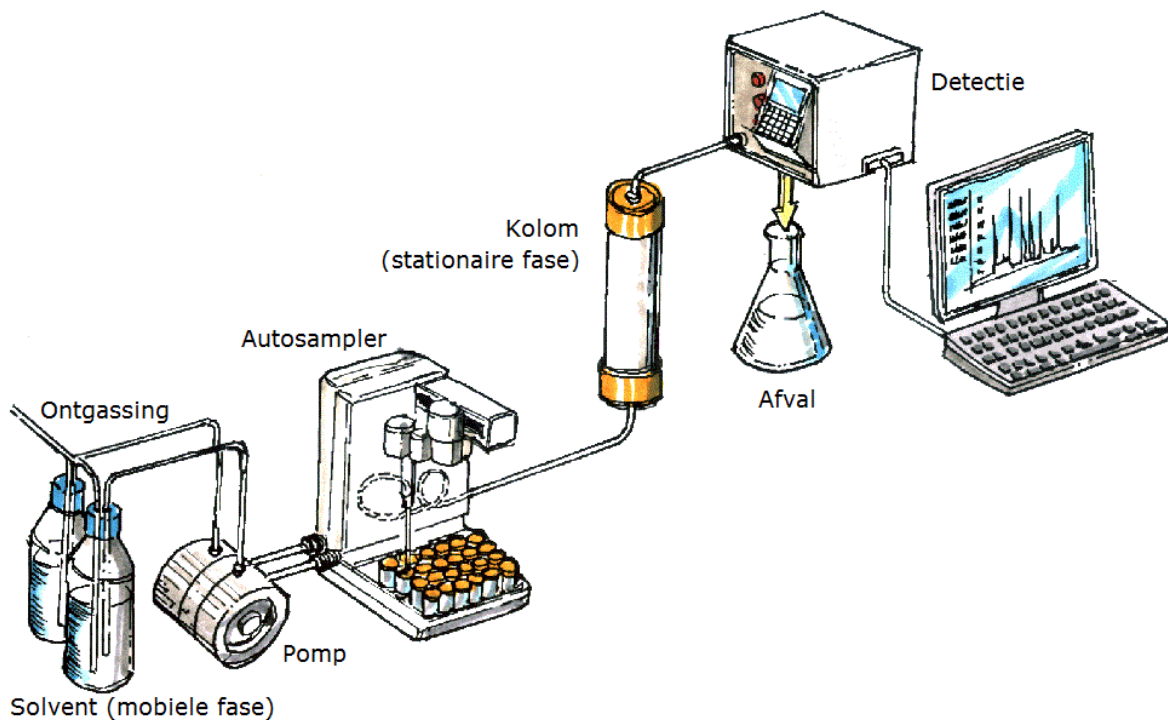
Deze voordelen wijzen er allemaal op dat het gebruik van de serotoninesensor zal geprefereerd worden boven de huidige techniek. De vraag is echter of de sensor ook op financieel vlak een betere methode is dan het gebruik van HPLC. Alvorens hierop een antwoord wordt gezocht, wordt er eerst dieper ingegaan op de huidige techniek.

7 HPLC

De huidige methode die gebruikt wordt om het serotoninegehalte in bloed te meten maakt gebruik van hoge druk vloeistof chromatografie of afgekort HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*). HPLC is een scheidingsmethode waarbij hoge druk wordt gebruikt om het monster dat onderzocht wordt, door een kolom te pompen en zo een bepaalde molecuule te detecteren in een stof.

7.1 Principe

Bij een HPLC-systeem wordt het te analyseren staal geïnjecteerd via een injector. De injectiekraan kan vervangen worden door een autosampler, welke de stalen nauwkeuriger injecteert dan handmatige injecties. De autosampler maakt het tevens mogelijk om meerdere stalen na elkaar te meten zonder dat menselijke interventie noodzakelijk is. Vervolgens worden de monsters meegevoerd met een solvent (mobiele fase) en komen in de kolom terecht (stationaire fase). Dit gebeurt met een dergelijke snelheid dat er geen diffusie optreedt van het te analyseren staal in het solvent. De kolom is opgevuld met kleine bolletjes die chemisch gebonden zijn opdat deze een interactie aangaan met de mobiele fase en de doelcomponenten van het te analyseren staal. In de kolom wordt het te analyseren staal vervolgens gescheiden op basis van polariteit (Rouessac, 2007).



Figuur 7.1: Opstelling van een HPLC-systeem.

7.2 Type chromatografie

Met het HPLC-systeem zijn verschillende mogelijkheden om het monster te scheiden. Afhankelijk van het type chromatografie dat gebruikt wordt, verschilt de samenstelling van de draagvloeistof, het type kolom, de doorstroomsnelheid en de lengte van de leidingen. Normal Phase chromatografie werkt met polaire bolletjes in de kolom en een apolaire mobiele fase. De bolletjes hebben hierdoor een sterkere interactie met de stationaire fase. De apolaire componenten vloeien daardoor sneller door de kolom. Een ander type van chromatografie is Reversed Phase chromatografie. Reversed Phase wil zeggen dat de polariteit omgekeerd is aan de polariteit bij Normal Phase chromatografie. Concreet betekent dit dat de bolletjes in de kolom apolair zijn en de mobiele fase polair. Deze omgekeerde polariteit zorgt ervoor dat de polaire componenten sneller langs de kolom doorkomen dan de apolaire componenten. De volgorde van de doorstroming van de componenten is daardoor omgekeerd dan bij Normal Phase chromatografie (Rouessac, 2007).

7.3 Kolomeigenschappen

De eigenschappen van de kolom hebben een invloed op de scheiding van de te analyseren stof. De diameter van de kolom, de lengte van de kolom, de deeltjesgrootte en de polariteit van de bolletjes zijn belangrijk. Indien de concentratie van de te analyseren stof hoog is, wordt best een kolom met een grote diameter gebruikt zodanig dat de kolom niet overbelast wordt. Een grote diameter zorgt eveneens voor een hogere detectielimiet. Een kolom met een kleine diameter is geschikt voor stalen met een lage concentratie aan de te analyseren stof. De lengte van de kolom bepaalt mee de scheiding. Langere kolommen zullen een betere scheiding als resultaat hebben, net zoals een kolom met kleine deeltjes. Grote deeltjes worden gebruikt indien de snelheid van de meting belangrijker is dan de kwaliteit van de scheiding (Rouessac, 2007).

7.4 Laboratorium UZ Leuven

Het toestel dat gebruikt wordt in het laboratorium van het UZ Leuven is een Thermo Finnigan Surveyor MS pump met autosampler en Mistral kolomoven. Voor een serotoninemeting wordt Reversed Phase chromatografie gebruikt. Het HPLC-systeem bepaalt de compositie van het staal, maar om de concentraties te bekomen is er een detector nodig. Hier zijn opnieuw verschillende mogelijkheden. Aan het UZ Leuven wordt gewerkt met een spectrofluorimeter als detectie, welke gebruik maakt van fluorescentie om de concentratie te bepalen (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 5 juli 2013).

8 Investeringsanalyse

In dit deel zal de economische kant van de ontwikkeling van de serotoninesensor behandeld worden. Om een uitspraak te kunnen doen over de economische rentabiliteit zal gebruik gemaakt worden van twee evaluatiemaatstaven, namelijk de netto contante waarde (NCW) en de interne rendementsvoet (IR). Bij een investeringsanalyse is het belangrijk dat de tijdswaarde van geld niet verwaarloosd wordt. De waarde van een euro die men nu bezit is hoger dan de waarde van een euro die men pas later zal ontvangen. De reden hiervoor is dat men de euro van nu kan beleggen bij een bank waardoor deze een interestinkomen oplevert (Mercken, 2010). Aangezien de NCW en de IR rekening houden met de tijdswaarde van geld maken we gebruik van deze maatstaven en niet van andere meer populaire maatstaven zoals de terugverdiëntijd.

8.1 Inleiding

De netto contante waarde (NCW) gaat de economische rentabiliteit na door te bepalen of de toekomstige netto kasstromen geproduceerd door het project voldoende zijn om de initiële investering terug te verdienen. De netto kasstromen zijn het resultaat van het verschil van de verwachte totale uitgaande en inkomende kasstromen en worden berekend voor elk jaar van de levensduur van het investeringsproject. Daarnaast wordt ook rekening gehouden met belastingen en zullen de netto kasstromen onderworpen worden aan een vennootschapsbelasting. Indien de som van deze jaarlijkse netto kasstromen groter is dan het initiële investeringsbedrag zal de netto contante waarde positief zijn en zal het project aanvaard worden.

Zoals eerder vermeld, houdt de NCW rekening met de tijdswaarde van geld. Huidige kasstromen hebben een hogere koopkracht dan toekomstige kasstromen. Dit betekent dat de toekomstige kasstromen pas vergeleken kunnen worden met huidige kasstromen nadat ze verdisconteerd zijn. Verdisconteren betekent het berekenen van de huidige geldwaarde en gebeurt door te vermenigvuldigen met een verdisconteringsfactor. Door de netto kasstromen van elk jaar te vermenigvuldigen met de verdisconteringsfactor van datzelfde jaar, worden de verdisconteerde netto kasstromen berekend. Deze kasstromen bezitten dezelfde koopkracht als huidige kasstromen en kunnen vervolgens vergeleken worden. De verdisconteringsfactor voor elk jaar wordt berekend aan de hand van onderstaande formule.

$$A_{n-r} = (1 + r)^{-n}$$

Formule 8.1: Berekening van de verdisconteringsfactor (Mercken, 2010).

In deze formule stelt A_{n-r} de huidige geldwaarde voor van een euro in het jaar n bij een interestvoet r . De interestvoet r wordt ook wel eens aangeduid als rentevoet, discountvoet of kapitaalkost. In deze investeringsanalyse wordt er uitgegaan van een perfecte kapitaalmarkt.

Hierbij worden er enkele veronderstellingen gemaakt, zoals een constante rentevoet gedurende de levensduur van het project, om de berekeningen te vereenvoudigen. Bij deze veronderstelling stelt r het minimum vereiste rendement van het investeringsbedrag voor of de opportunity cost, de opbrengst die zou voortvloeien indien men het investeringsbedrag belegt bij een kredietinstelling, van het project. Om te voldoen aan het principe van de tijdswaarde van geld dient de discountvoet positief te zijn. Bij een positieve discountvoet zal de koopkracht van de huidige kasstromen hoger zijn dan de koopkracht van de toekomstige kasstromen. De discountvoet wordt vastgelegd op 6%.

De netto contante waarde wordt vervolgens berekend door de totale som van de verdisconteerde netto kasstromen in vermindering te brengen met het initiële investeringsbedrag. De netto contante waarde is positief indien de som van de verdisconteerde netto kasstromen groter is dan de investeringskost. Indien de investeringskost groter is, resulteert dit in een negatieve NCW. De NCW wordt berekend aan de hand van formule 8.2. De uitkomst, een positieve of negatieve NCW, zal aangeven of het project al dan niet ondernomen wordt.

$$NCW_r = \sum_{t=1}^n [(1 - b) * (O_t - Q_t) + b * \widehat{A}_t] * A_{t-r} - I_0$$

Formule 8.2: Berekening van de netto contante waarde (Mercken, 2010).

De berekening van de NCW bevat meerdere stappen. Allereerst worden de netto kasstromen berekend door de kasopbrengsten O_t te verminderen met de kaskosten Q_t waarbij t telkens staat voor het jaar waarin de kasstromen voorkomen. Dit zijn de kasstromen vóór belastingen. Momenteel bedraagt de Belgische vennootschapsbelasting 33,99%. In de formule wordt de vennootschapsbelasting voorgesteld door b . Wat overblijft ná belastingen wordt bekomen door de netto kasstromen vóór belastingen te vermenigvuldigen met $(1-b)$. Deze belastingheffing heeft enerzijds een negatief effect, want de netto kasstromen worden verminderd, en anderzijds een positief effect door de afschrijvingen. Afschrijvingen zijn een extra kost in de boekhouding waardoor de winst vermindert, maar bijgevolg ook de belastingen. Deze vermindering van de belastingen wordt het belastingschild van de afschrijvingen genoemd. Dit is de volgende stap in de berekening van de NCW. Het belastingschild van de afschrijvingen is simpelweg de vermenigvuldiging van de jaarlijkse afschrijvingen \widehat{A}_t met de vennootschapsbelasting b . De netto kasstromen na belastingen en de belastingschild van de afschrijvingen worden vervolgens samengeteld en verdisconteerd met de verdisconteringsfactor A_{t-r} waarbij t opnieuw staat voor het desbetreffende jaar. Bij de voorlaatste stap worden deze jaarlijkse verdisconteerde netto kasstromen gesommeerd over t , met $t=1$ tot n waarbij n de hele levensduur van het project voorstelt. Ten slotte wordt deze som verminderd met het initiële investeringsbedrag I_0 en wordt de netto contante waarde van het investeringsproject bekomen.

Een positieve NCW geeft aan dat het uitvoeren van het project economisch verantwoord is en dat dit voordelig zal zijn voor de onderneming, terwijl een negatieve NCW erop wijst dat het project verlieslatend is en dus verworpen dient te worden. Indien de NCW gelijk is aan nul zal het

uitvoeren van het project noch een positief, noch een negatief effect hebben op de onderneming. De NCW-methode kent meerdere voordelen ten opzichte van andere evaluatiemaatstaven. Het belangrijkste voordeel, dat er rekening wordt gehouden met de tijdswaarde van geld, is reeds veelvuldig aan bod gekomen. Daarnaast neemt de NCW alle relatieve kasstromen op in de berekening, is de beslissingsregel of het project al dan niet aanvaard wordt voor elke soort van investering dezelfde, wordt de netto contante waarde uitgedrukt in actuele monetaire termen en kan er met een vereist rendement gewerkt worden dat risicoafhankelijk is. Natuurlijk heeft de NCW-methode ook enkele nadelen. Zo geeft de NCW-methode in vergelijking met de methode van de terugverdientijd geen indicatie van de snelheid waarmee de rentabiliteit gerealiseerd wordt (Mercken, 2010).

De andere maatstaf die in deze investeringsanalyse zal bekeken worden, is de interne rendementsvoet (IR) of ook wel eens interne opbrengstvoet (IOV) genoemd. De IR is de discontovoet waarbij de netto contante waarde van een investeringsproject gelijk is aan nul. De interne rendementsvoet wordt uitgedrukt als een percentage en indien dit hoger is dan de discontovoet, zullen de verdisconteerde netto kasstromen hoog genoeg zijn om de investering terug te verdienen en wordt het investeringsproject aanvaard. Het voordeel van IR is dus dat er een idee gegeven wordt van het rendement van de investering. Het verschil tussen dit rendement en de discontovoet kan vervolgens bekeken worden als een veiligheidsmarge dat aangeeft hoeveel de discontovoet mag stijgen opdat het investeringsproject aanvaardbaar blijft. Het nadeel van deze evaluatiemaatstaf is dat de IR niet gebruikt kan worden wanneer de discontovoet niet constant is gedurende de levensduur van het project. Daarnaast kan het voorkomen dat de NCW geen nulpunten heeft, wat betekent dat de IR niet berekend kan worden aangezien de interne rendementsvoet niet bestaat. In tegenstelling tot de NCW-methode is de beslissingsregel niet steeds dezelfde. De IR wordt namelijk bij een leningsproject tegenovergesteld geïnterpreteerd dan bij een investeringsproject. Ten slotte wordt er geen rekening gehouden met het startmoment en met de schaal van het project (Mercken, 2010).

8.2 Jaarlijkse uitgaande kasstromen

Vooraleer de netto contante waarde berekend kan worden moeten de netto kasstromen berekend worden. De netto jaarlijkse kasstroom is het verschil van de uitgaande en de inkomende jaarlijkse kasstroom. Eerst worden de uitgaande kasstromen berekend. Deze kasstromen bestaan uit de installatiekosten, onderhoudskosten, materiaalkosten en bewerkingskosten.

8.2.1 Installatiekosten

De installatiekosten zijn de kosten verbonden aan het aanschaffen van toestellen nodig voor de ontwikkeling van het project. Dit zijn bijgevolg eenmalige investeringsuitgaven. De installatiekosten voor de ontwikkeling van de serotoninesensor bestaan uit de aanschafwaarden

van vier toestellen: een spin coater, een bakplaat, een impedantie analysator en een UV oven. De aanschafwaarde van de impedantie analysator is geen vaststaand bedrag, maar wordt berekend door de kostprijs van de verschillende elektronische onderdelen aan te rekenen en de arbeidskosten van de samenstelling van deze onderdelen. Voor de fabricage van de impedantie analysator zijn ongeveer 20 werkuren nodig en de loonkost waarmee gerekend wordt, is €50/uur. In onderstaande tabel staan alle aanschafbedragen van de benodigde apparatuur. In de bijlage is de volledige, meer gedetailleerde, tabel met alle installatiekosten terug te vinden. De totale aanschafwaarde voor de verschillende toestellen bedraagt €8.000. Hierbij dient echter de opmerking worden gemaakt dat de kostprijs van de impedantie analysator opgesplitst is in €700 effectieve aanschafwaarde en €1.000 arbeidskosten. Wanneer in een latere stap van de investeringsanalyse de afschrijvingen gaan berekend worden, wordt er geen rekening gehouden met de arbeidskosten. De berekening van de afschrijvingen komt aan bod in sectie 8.4.

Toestel	Kostprijs
spin coater	€ 5.000
bakplaat	€ 300
impedantie analysator	€ 1.700
UV oven	€ 1.000
Totaal	€ 8.000

Tabel 8.1: Berekening van de installatiekosten van de serotoninesensor (prof. dr. Patrick Wagner & dr. Marloes Peeters, persoonlijke communicatie, 26 maart 2013).

8.2.2 Onderhoudskosten

Deze toestellen worden veelvuldig gebruikt en dienen bijgevolg regelmatig worden gekalibreerd. Jaarlijks resulteert dit in een kost van €500. Daarnaast kan het gebeuren dat er een toestel in panne valt, in de berekening tellen we hiervoor een jaarlijkse kost van €250 (dr. Marloes Peeters, persoonlijke communicatie, 26 juni 2013). De totale onderhoudskosten bedragen bijgevolg €750 (= €500 + €250) per jaar.

8.2.3 Materiaalkosten

De installatiekosten en onderhoudskosten zijn jaarlijkse vaste kosten. Daarnaast zijn er ook variabele kosten die afhankelijk zijn van het aantal sensorchips dat er dienen gemaakt te worden. In principe is de sensor herbruikbaar, maar in medische analyses is dit niet aangeraden. Wanneer een sensorchip reeds gebruikt is voor de meting van een bloedstaal van patiënt X, zal deze niet opnieuw worden gebruikt voor de meting van een bloedstaal van patiënt Y. Voor elke bloedanalyse wordt er een nieuwe sensorchip voorzien zodanig dat foutieve resultaten, die optreden wanneer een sensorchip reeds in contact is geweest met een ander bloedstaal, kunnen uitgesloten worden. De analyse van serotonine in totaal bloed wordt weinig aangevraagd. In het laboratorium van het UZ Leuven wordt in batch eenmaal per week een serotonine analyse uitgevoerd. In dit labo worden

aanvragen van Gasthuisberg (UZ Leuven) en aanvragen van het Ziekenhuis Oost-Limburg (ZOL) behandeld (dr. Peter Hallet, persoonlijke communicatie, 16 juli 2013). De analyse wordt van een klein aantal bloedstalen in batch uitgevoerd, meestal gaat het zelfs maar over één bloedstaal. In 2010 is er een serotoninemeting gebeurt van 56 bloedstalen, in 2012 waren dit nog maar ongeveer 40 bloedstalen (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 5 juli 2013). In de verdere analyse en berekening van de investeringsanalyse zal uitgegaan worden van een wekelijkse meting, ofwel 52 analyses per jaar. Aan de hand van het aantal analyses per jaar kunnen de jaarlijkse materiaalkosten berekend worden. Dit zijn de kosten van een aluminiumplaatje, adhesief polymeer (polyphenylene vinylene, PPV) en MIP poeder. Deze elementen worden in grote hoeveelheden eenmaal per jaar aangekocht. De drie elementen hebben een kost van respectievelijk €25, €100 en €100 per jaar. Per bloedanalyse is een sensorchip nodig. De jaarlijkse kostprijs delen door 52 (sensorchips of analyses) geeft bijgevolg de kostprijs per analyse. Dit is weergegeven in tabel 8.2 en in de bijlage is de volledige tabel terug te vinden. Het opstellen van de sensorchip aan de hand van deze elementen neemt een half uur tijd in beslag, dit half uur wordt tevens aangerekend bij de materiaalkost. Er wordt opnieuw met een loonkost van €50/uur gewerkt (dr. Marloes Peeters, persoonlijke communicatie, 26 juni 2013). In totaal resulteert dit in een materiaalkost van €29,33 per analyse en vervolgens een jaarlijkse materiaalkost van €1.525 voor 52 analyses.

Onderdelen sensorchip	bedrag
Aluminiumplaatje	€ 0,48
adhesief polymeer (PVV)	€ 1,92
MIP poeder	€ 1,92
fabricage	€ 25,00
Totale materiaalkost per analyse	€ 29,33
TOTAAL	€ 1.525

Tabel 8.2: Berekening van de materiaalkosten van de serotoninesensor (dr. Marloes Peeters, persoonlijke communicatie, 26 juni 2013).

8.2.4 Bewerkingskosten

Net zoals de materiaalkosten zijn de bewerkingskosten afhankelijk van het aantal bloedanalyses die jaarlijks gebeuren. De bewerkingskosten zijn namelijk de kosten voor het afnemen van een bloedstaal bij de patiënt, het bloedstaal voorbereiden met wat additieven, centrifugeren en de serotoninemeting starten. Al deze activiteiten kunnen in principe door één persoon gebeuren en worden daarom in rekening gebracht als de kost van het tewerkstellen van één laborant gedurende 1 uur. Met een loonkost van €50/uur betekent dit dat de bewerkingskosten per analyse €50 of jaarlijks €2.600 (= €50 * 52) bedragen. De kostprijs van de additieven, zoals antioxidant en anti-klontermiddel, is verwaarloosbaar klein. De centrifugeermachine wordt slechts gedurende 10 minuten gebruikt en wordt voor veel andere analyses gebruikt waardoor ook deze kost verwaarloosbaar is en niet opgenomen wordt in de kostenberekening van de materiaalkosten (prof. dr. Patrick Wagner, persoonlijke communicatie, 6 augustus 2013).

8.3 Jaarlijkse inkomende kasstromen

De serotoninesensor zit nog deels in de ontwikkelingsfase en is nog niet op de markt gebracht. Het genereert bijgevolg nog geen opbrengsten door verkoop aan andere ondernemingen. De inkomende kasstromen zullen worden berekend als vermeden kosten (prof. dr. Steven Van Passel, persoonlijke communicatie, mei 2013). Door de serotoninesensor te gebruiken in plaats van de HPLC-machine om het bloed te analyseren, zullen de kosten verbonden met de HPLC-methode vermeden worden. De inkomende kasstromen zijn dus de kosten van de HPLC-methode. Hieronder vallen de installatiekosten van de HPLC-machine en de bewerkingskosten. De HPLC-methode maakt enkel gebruik van de machine waardoor er geen extra materiaalkosten zijn. Onderhoudskosten zijn er wel, maar aangezien de machine niet enkel voor de meting van serotonine gebruikt wordt, zullen de onderhoudskosten niet vermeden worden wanneer overgeschakeld wordt naar de serotoninesensor en zullen deze niet opgenomen worden bij de inkomende kasstromen van de serotoninesensor.

8.3.1 Installatiekosten van HPLC

De HPLC-methode gaat het serotoninegehalte in een bloedstaal meten aan de hand van een HPLC-machine. Het laboratorium van het UZ Leuven maakt hiervoor gebruik van een HPLC (Thermo Finnigan Surveyor MS pump met autosampler en Mistral kolomoven) met als detectie een spectrofluorimeter. Dit zijn twee toestellen, maar worden echter beschouwd als één systeem (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 8 juli 2013). Het type HPLC dat in het UZ Leuven gebruikt wordt, wordt niet meer gemaakt. Tegenwoordig bestaan er verschillende types van een HPLC-systeem met enkele vrijheidsgraden omtrent het type HPLC pomp en kolomoven. Om de installatiekost te bepalen van de HPLC-methode wordt er daarom uitgegaan van een kostprijs van €40.000 voor een compleet hedendaags HPLC-systeem (Thermo Fisher Scientific, persoonlijke communicatie, 10 juli 2013). In de investeringsanalyse wordt op jaarbasis gewerkt. Om de jaarlijkse kost van de machine te bepalen, wordt de totale kostprijs gedeeld door de geschatte levensduur (of afschrijvingstermijn). De machine wordt echter niet alleen voor serotonine gebruikt, vitamine B1 dosage gebeurt het meest op het toestel, ongeveer 2.000 keer per jaar. Overige metingen waarvoor de machine gebruikt wordt, zijn verwaarloosbaar in aantal (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 5 juli 2013). Het percentage dat de machine voor serotoninemetingen gebruikt wordt, kan beschouwd worden als een soort verdeelsleutel. De jaarlijkse kost van de machine verbonden aan serotoninemetingen is bijgevolg de jaarlijkse kostprijs van de machine vermenigvuldigd met deze verdeelsleutel. Onderstaande tabel geeft de verschillende rekenstappen en het resultaat, namelijk €144,81.

Machine	
kostprijs HPLC-spectrofluorimeter	€ 40.000
afschrijvingstermijn	7
jaarlijkse kostprijs	€ 5.714,29
Gebruik	
aantal vitamine B1 dosages per jaar	2.000
aantal serotoninemetingen per jaar	52
verdeelsleutel	0,025341131
Totaal	€ 144,81

Tabel 8.3: Berekening van de installatiekosten van HPLC (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 5 juli 2013).

8.3.2 Bewerkingskosten van HPLC

Om de bewerkingskosten te bepalen is opnieuw gekeken naar de verschillende handelingen die nodig zijn alvorens de meting door de machine gebeurt. Deze zijn gelijkaardig aan die bij het gebruik van de serotoninesensor. Er wordt eerst een bloedstaal afgenomen, overgegoten in een tube die een mespuntje (30 mg) ascorbinezuur (vitamine C) bevat en goed gemengd. Het staal moet na afname snel koel worden behandeld en ingevroren omwille van stabiliteitsproblemen. De benodigde hoeveelheid ascorbinezuur en andere reagentia is net zoals bij de serotoninesensor verwaarloosbaar klein. Bijgevolg wordt de kost ervan niet opgenomen in de analyse (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 7 augustus 2013). Per bloedstaal is er net zoals bij de serotoninesensor slechts één laborant nodig, maar deze heeft twee uur en 30 minuten nodig om het bloedstaal voor te bereiden. Rekenend met dezelfde loonkost betekent dit een bewerkingskost van €125 (= €50/u * 2,5u) per analyse en in totaal €6.500 (= €125 * 52) per jaar.

8.3.3 Vermeden kosten

Het totaal van de kosten van de HPLC-methode is vervolgens de som van de installatiekosten en bewerkingskosten en bedraagt €6.644,81. In de bijlage is een overzicht van de berekeningen terug te vinden. Dit bedrag wordt in de investeringsanalyse opgenomen als de jaarlijkse vermeden kosten of jaarlijkse inkomende kasstromen.

8.4 Jaarlijkse afschrijvingen

Alvorens de verdisconteerde netto kasstromen kunnen berekend worden en vervolgens de netto contante waarde, moeten eerst de jaarlijkse afschrijvingsbedragen bepaald worden. Zoals eerder vermeld, zorgen de afschrijvingen voor een belastingschild waarbij rekening moet gehouden worden. Er zijn meerdere afschrijvingsmethoden, maar in deze investeringsanalyse wordt er gewerkt met een lineaire afschrijving. Dit betekent dat ieder jaar hetzelfde bedrag wordt

afgeschreven (Mercken, 2013). De afschrijvingen worden berekend als een constant percentage van de aanschafwaarde van alle vaste activa, namelijk de toestellen ondergebracht bij de installatiekosten. Het afschrijvingsbedrag per toestel is af te lezen in onderstaande tabel.

Toestel	Aanschafwaarde	Afschrijvingsbedrag
Spin coater	€ 5.000	€ 500
Bakplaat	€ 300	€ 150
Impedantie analysator	€ 700	€ 140
UV oven	€ 1.000	€ 500
Totaal	€ 7.000	€ 1.290

Tabel 8.4: Berekening van de jaarlijkse afschrijvingsbedragen bij het investeringsproject (dr. Marloes Peeters, persoonlijke communicatie, 26 juni 2013).

De spin coater wordt afgeschreven op 10 jaar, de impedantie analysator op 5 jaar en de bakplaat en UV oven op 2 jaar. Het totale jaarlijkse afschrijvingsbedrag van de investering in de serotoninesensor bedraagt dan €1.290.

8.5 Verdisconteerde netto kasstromen

De laatste stap voor de netto contante waarde berekend kan worden, is het bepalen van de verdisconteerde jaarlijkse netto kasstromen. In tabel 8.5 wordt de jaarlijkse netto kasstroom berekend. De tabel is opgesteld met de gegevens die terug te vinden zijn in sectie 8.2 en 8.3.

Onderhoudskosten	€ 750
Materiaalkosten	€ 1.525
Bewerkingskosten	€ 2.600
Totale uitgaande kasstroom	€ 4.875
Vermeden kosten	€ 6.644,81
Totale inkomende kasstroom	€ 6.644,81
Totale jaarlijkse kasstroom	€ 1.769,81

Tabel 8.5: Berekening van de totale jaarlijkse kasstroom van het investeringsproject.

Op deze jaarlijkse kasstroom dient een vennootschapsbelasting van 33,99% betaald te worden, wat jaarlijks €601,56 bedraagt. Het belastingschild van de afschrijvingen bedraagt jaarlijks €438,47. De jaarlijkse netto kasstroom wordt vervolgens berekend door de totale jaarlijkse kasstroom in mindering te brengen met de vennootschapsbelastingen en hierbij het jaarlijkse belastingschild op te tellen. Deze jaarlijkse netto kasstroom van €1.606,72 moet dan nog verdisconteerd worden voor elk jaar van de duur van het project. De langste afschrijvingstermijn is 10 jaar, daarom wordt de duur van het project vastgelegd en de netto contante waarde berekend op 10 jaar. De jaarlijkse netto kasstroom wordt verdisconteerd door te vermenigvuldigen met de

correcte verdisconteringsfactor (formule 8.1). Voor elk jaar wordt de verdisconteerde netto kasstroom bekomen en het totaal van deze 10 bedragen is €11.825,60. De volledige berekening is terug te vinden in de bijlage.

8.6 Netto contante waarde

De netto contante waarde wordt berekend door de som van de verdisconteerde netto kasstromen in mindering te brengen met het initiële investeringsbedrag van €8.000 (tabel 8.1). Het resultaat is een netto contante waarde van €3.825,60. Hieruit kunnen we concluderen dat investeren in de ontwikkeling van de serotoninesensor, bij een constante discontovoet van 6% en over een investeringsperiode van 10 jaar, economisch verantwoord is en zelfs voordeel oplevert.

8.7 Interne rendementsvoet

De netto contante waarde is groter dan nul. Aangezien de interne rendementsvoet (IR) de discontovoet is waarbij de NCW gelijk is aan nul kunnen we hieruit reeds afleiden dat de IR groter zal zijn dan de gebruikte discontovoet van 6%. Aan de hand van de jaarlijkse netto kasstromen wordt de IR berekend en deze bedraagt 15,21%. Dit wil zeggen dat de discontovoet tot 15,21% mag stijgen alvorens de NCW zakt tot €0. Dit geeft dezelfde conclusie als de berekening van de NCW, namelijk dat het investeringsproject aanvaardbaar is.

9 Sensitiviteitsanalyse

De uitgevoerde investeringsanalyse bevat een aantal verwachtingen. De berekening van de netto contante waarde is gebaseerd op deze verwachtingen. Deze verwachte NCW zal nooit dezelfde zijn als de NCW die in werkelijkheid gerealiseerd zal worden. Daarom wordt er een sensitiviteitsanalyse uitgevoerd om rekening te houden met risico en onzekerheid. Een sensitiviteitsanalyse kan gedaan worden door verschillende scenario's op te stellen met een reeks waarden voor bepaalde parameters die invloed hebben op de NCW. De uitkomst voor de NCW in de verschillende scenario's geeft het effect weer van de verandering van een bepaalde parameter op de NCW. Deze manier van werken staat bekend als de partiële sensitiviteitsanalyse, omdat telkens de waarde van één parameter veranderd wordt terwijl de andere parameters ongewijzigd blijven.

9.1 Partiële sensitiviteitsanalyse

De investeringsanalyse resulteerde in een positieve NCW. De partiële sensitiviteitsanalyse zal nagaan met hoeveel een bepaalde parameter mag wijzigen, ceteris paribus, alvorens de NCW negatief wordt. De belangrijkste parameters, waarvan de waarde onzeker is en invloed heeft op de NCW, zijn het aantal analyses dat er jaarlijks uitgevoerd worden en de loonkost per uur. Later in deze sectie wordt ook naar de invloed van een wijziging in de discontovoet en de vennootschapsbelasting gekeken.

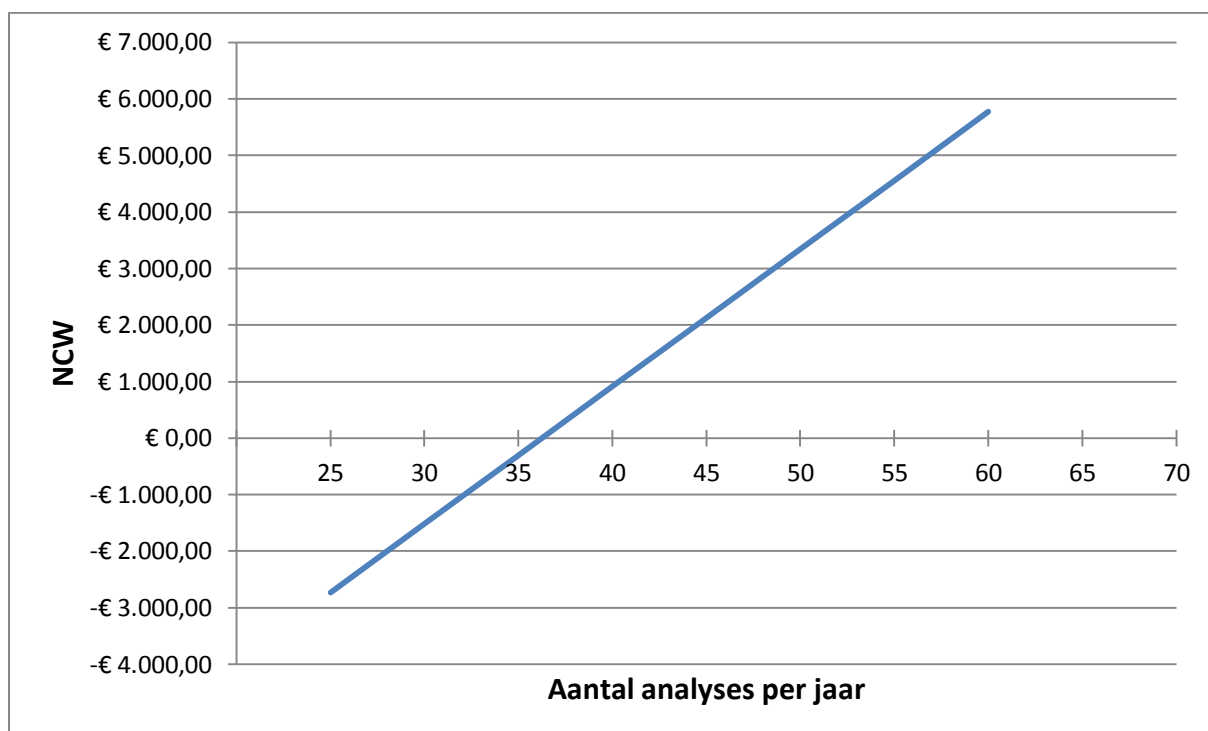
9.1.1 Relatie tussen het aantal analyses per jaar en de NCW

Het aantal serotoninemetingen of analyses dat jaarlijks gebeurt, heeft een enorme invloed op de NCW. Een verandering van het aantal analyses veroorzaakt een wijziging van de materiaalkosten en de bewerkingskosten en bijgevolg de uitkomst van de netto contante waarde. Bij de berekening van de installatiekosten van HPLC wordt het aantal analyses gebruikt om de verdeelsleutel voor het gebruik van het toestel te bepalen. Aangezien het HPLC-systeem meerdere bloedstalen in batch kan meten, wordt hier het aantal analyses constant gehouden. Dit wil zeggen dat we aannemen dat de machine één keer per week gebruikt wordt voor serotoninemetingen, ongeacht het aantal stalen.

Met de functie 'Doelzoeken' in Excel kan berekend worden hoeveel het aantal analyses mag dalen opdat de NCW zakt tot €0. Het resultaat is 36,25 of afgerond 36 analyses per jaar. Gebeuren er jaarlijks minder analyses, zal de NCW negatief zijn. Een hoger aantal zal een positieve NCW geven. In figuur 9.1 wordt dit effect grafisch voorgesteld. Voor een aantal waarden van het aantal analyses per jaar is de NCW berekend en deze zijn weergegeven in tabel 9.1.

aantal analyses per jaar	NCW
25	-€ 2.733,23
30	-€ 1.518,63
35	-€ 304,03
40	€ 910,56
45	€ 2.125,16
50	€ 3.339,76
55	€ 4.554,36
60	€ 5.768,96

Tabel 9.1: De NCW bij enkele waarden voor het aantal analyses per jaar.



Figuur 9.1: Het effect van het aantal analyses per jaar op de NCW.

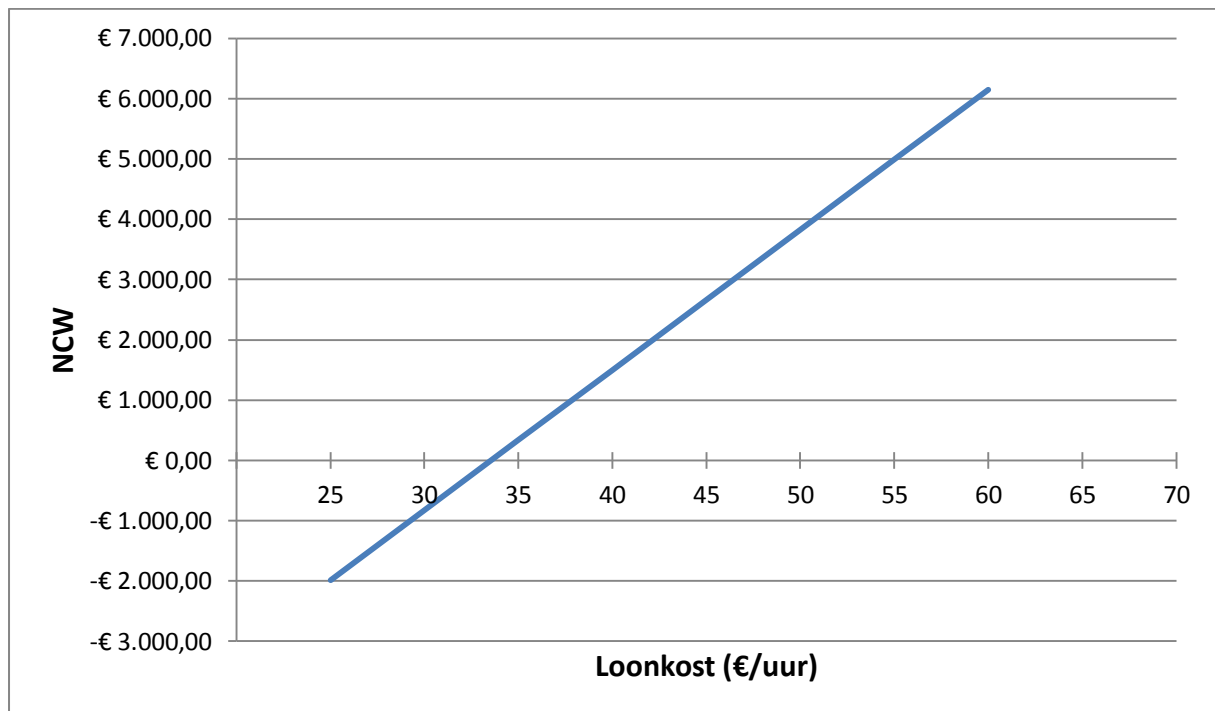
Op de horizontale as wordt het aantal analyses per jaar weergegeven en op de verticale as de daarmee overeenstemmende NCW. De grafiek toont aan dat er een lineaire relatie is tussen het aantal analyses er jaarlijks gebeuren en de NCW. De richtingscoëfficiënt van de rechte in figuur 9.1 bedraagt 242,92. Dit wil zeggen dat wanneer er jaarlijks 1 analyse meer gebeurt, de NCW stijgt met €242,92. Wanneer er 1 analyse minder plaatsvindt, zal de NCW dalen met dit bedrag.

9.1.2 Relatie tussen de loonkost per uur en de NCW

Hetzelfde wordt gedaan voor de parameter loonkost per uur. De loonkost wordt gebruikt bij de berekening van de installatiekosten, de materiaalkosten, de bewerkingskosten bij de serotoninesensor en de bewerkingskosten bij HPLC. In tabel 9.2 is voor een aantal mogelijke loonkosten per uur de NCW berekend en in figuur 9.2 zijn deze grafisch voorgesteld.

loonkost per uur	NCW
25	-€ 1.990,31
30	-€ 827,13
35	€ 336,05
40	€ 1.499,24
45	€ 2.662,42
50	€ 3.825,60
55	€ 4.988,78
60	€ 6.151,97

Tabel 9.2: De NCW bij enkele waarden voor de loonkost per uur.



Figuur 9.2: Het effect van de loonkost per uur op de NCW.

De grafiek geeft opnieuw een lineaire relatie aan. Op de x-as wordt de loonkost per uur aangegeven en op de y-as de NCW. De lineaire relatie betekent dat als de loonkost stijgt, ook de NCW stijgt. De richtingscoëfficiënt van deze rechte is 232,64. Dit kan geïnterpreteerd worden als een stijging van de NCW met €232,46 wanneer de loonkost per uur met €1,00 stijgt. De loonkost waarbij de NCW gelijk is aan nul bedraagt €33,56 per uur. Elke loonkost lager dan dit bedrag zal een negatieve NCW tot gevolg hebben.

9.1.3 Invloed op de netto contante waarde

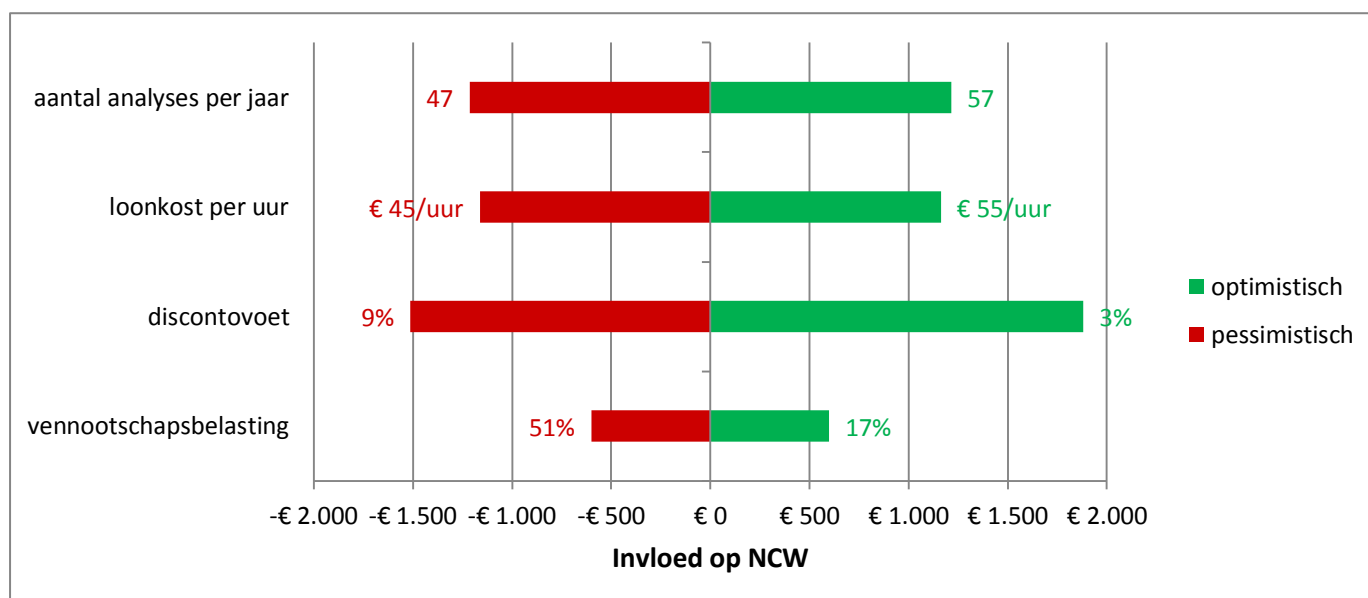
De vorige twee secties geven al een eerste indicatie van de gevoeligheid van de NCW en het effect van het jaarlijks aantal analyses en de uurloonkost. Om de interpretatie van de investeringsanalyse en de NCW nog meer te ondersteunen, wordt de NCW tevens voor twee extra schattingen van een aantal significante parameters berekend. Deze twee schattingen zijn telkens een optimistische en

een pessimistische schatting. De significante parameters waarvoor dit gedaan wordt, zijn het aantal analyses per jaar, de loonkost per uur, de discontovoet en de vennootschapsbelasting. In tabel 9.3 wordt de optimistische en pessimistische schatting weergegeven en de verwachte waarde waarmee gewerkt is in de investeringsanalyse.

variabele parameter	pessimistisch	verwachte waarde	optimistisch
aantal analyses per jaar	46,8	52	57,2
loonkost per uur	€ 45	€ 50	€ 55
discontovoet	9%	6%	3%
vennootschapsbelasting	51%	34%	17%

Tabel 9.3: Uiterste schattingen voor de waarde van de significante variabele parameters.

Voor de pessimistische en optimistische schatting van het aantal analyses per jaar en de loonkost per uur is er gewerkt met 10%. De pessimistische schatting is dan de waarde die de bovengrens aangeeft van het laagste deciel en de optimistische schatting geeft de ondergrens aan van het hoogste deciel. Voor het aantal analyses per jaar en de loonkost per uur zal dan naar verwachting 80% van de gevallen tussen deze waarden liggen. Voor de twee andere parameters, de discontovoet en de vennootschapsbelasting, zijn de twee uiterste schattingen berekend met een stijging of daling van 50% om meer realistische waarden te bekomen. De discontovoet bedraagt vervolgens in het slechtste geval 9% en in het beste geval maar 3%. De vennootschapsbelasting stijgt in een worst case scenario tot 51% en best case scenario bedraagt deze 17%. Het effect van de pessimistische en optimistische schattingen van deze parameters wordt grafisch voorgesteld in figuur 9.3.



Figuur 9.3: Het effect van de uiterste schattingen voor de waarde van de significante parameters op de NCW.

Bij de interpretatie van deze grafiek is het belangrijk om op te merken dat op de horizontale as de impact op de NCW van de uiterste waarden wordt weergegeven en niet de NCW zelf. De groene

balk stelt telkens de optimistische waarde van de parameter voor en de rode balk de pessimistische waarde. De grootste invloed is het gevolg van een daling van de discontovoet.

9.1.3.1 Effect van een wijziging in de discontovoet

Een daling van de discontovoet naar 3% veroorzaakt een stijging van de NCW met €1.880,05 waardoor de NCW stijgt tot €5.705,65. Bij een discontovoet van 9% daalt de NCW met €1.514,22 zodanig dat deze nog maar €2.311,38 bedraagt. In sectie 8.7 gaf de interne rendementsvoet reeds aan dat de NCW pas negatief wordt als de discontovoet voorbij 15,21% zou stijgen. Een dergelijke stijging is onwaarschijnlijk ten opzichte van de verwachte waarde van 6%. Het is dus aannemelijk dat de NCW steeds positief zal blijven ongeacht een verandering in de discontovoet.

9.1.3.2 Effect van een wijziging in de belastingvoet

De parameter die het minst invloed heeft op de NCW is de vennootschapsbelasting. Een stijging of daling van dit percentage met 50% laat de NCW maar variëren met ongeveer €600,00. In de bijlage zijn alle waarden terug te vinden voor deze pessimistische en optimistische schattingen. Een verhoging van de belastingvoet kan pas leiden tot een negatieve NCW wanneer de overheid een draconische belastingvoet van 142,32% zou invoeren. Dit is opnieuw een onrealistisch scenario. Er kan bijgevolg gesteld worden dat de aanvaarding van het investeringsproject niet zal afhangen van een verandering in de belastingvoet.

9.1.3.3 Effect van een wijziging in het aantal analyses per jaar

Een verandering van het aantal analyses per jaar zal, zoals aangegeven in sectie 9.1.1, een evenredige reactie in de NCW teweeg brengen. De positieve lineaire relatie zorgt ervoor dat een stijging of een daling van het aantal analyses per jaar een verandering van de NCW in dezelfde richting tot gevolg heeft. Dit komt omdat het economische voordeel van de serotoninesensor zich voornamelijk bij de materiaal- en bewerkingskosten bevindt. Hoe minder bloedstalen er dienen onderzocht te worden, hoe minder voordeel de lagere materiaal- en bewerkingskosten op jaarbasis leveren. Deze relatie is zichtbaar bij de berekening van de NCW bij een pessimistische en optimistische waarde voor het jaarlijks aantal analyses. Deze waarden worden berekend door de verwachte waarde van 52 analyses respectievelijk 10% te verlagen en 10% te verhogen. Dit betekent 46,8 analyses voor het pessimistisch scenario en 57,2 voor het optimistische scenario. Aangezien bloedstalen niet gedeeltelijk kunnen geanalyseerd worden, worden deze waarden afgerond naar 47 en 57 analyses per jaar. Bij deze waarden voor het aantal analyses gaat de NCW €1.214,60 respectievelijk dalen en stijgen. Dit komt overeen met een verandering van 31,75% in de negatieve of positieve richting. In deze masterproef wordt gewerkt met een verwachting van 52 bloedstalen per jaar. In de praktijk zullen er niet elke week stalen zijn voor de serotonine analyse, andere weken kunnen er dan weer twee of drie bloedstalen zijn. In 2010 zijn er in het laboratorium van het UZ Leuven in totaal 56 bloedstalen geanalyseerd op serotonine, terwijl dit er in 2012 nog maar amper 40 waren (Koen Desmet, persoonlijke communicatie, 5 juli 2013). Het pessimistische scenario zou bijgevolg nog verlaagd kunnen worden naar 40 analyses per jaar. De NCW daalt dan tot €910,56.

9.1.3.4 Effect van een wijziging in de loonkost per uur

In sectie 9.1.2 toonde de grafiek dat er een positieve lineaire relatie is tussen de loonkost per uur en de NCW. De berekening van de NCW bij een pessimistisch en optimistisch scenario bevestigen dit. Een stijging van de uurloonkost met 10% heeft een stijging van de NCW met 30,41% tot gevolg. Op dezelfde manier daalt de NCW met ongeveer 30% wanneer de loonkost per uur van €50/uur daalt naar €45/uur. De NCW gaat naar nul als de loonkost daalt tot €33,56/uur (sectie 9.1.2). Dit klinkt onlogisch. Een stijging in de kosten heeft meestal een daling van de NCW tot gevolg. In onze investeringsanalyse wordt het omgekeerde waargenomen. De verklaring hiervoor ligt bij de berekening van de bewerkingskosten en meer specifiek bij de benodigde laborantentijd. De serotoninesensor heeft minder laborantentijd nodig, één uur (sectie 8.2.4), om de serotoninemeting van een bloedstaal uit te voeren dan het gebruik van het HPLC-systeem, twee uur en 30 minuten (sectie 8.3.2). Dit verschil uit zich in een voordeel voor de serotoninesensor wanneer de loonkost per uur stijgt. Dit is echter enkel van toepassing indien de uurloonkost minimaal €33,33/uur bedraagt.

9.1.4 Conclusie partiële sensitiviteitsanalyse

De partiële sensitiviteitsanalyse geeft dus aan dat de hierboven vermelde parameters een invloed uitoefenen op de NCW, maar zowel in de optimistische als in de pessimistische scenario's bleef de NCW steeds positief. De discontovoet zal de hoogte van de interne rendementsvoet pas bereiken indien deze met 153,5% stijgt. Een dergelijke onrealistische stijging zal niet voorkomen en de NCW zal dus niet negatief worden door een wijziging in de discontovoet. Hetzelfde geldt voor de belastingvoet. Veranderingen in het aantal analyses per jaar en de loonkost per uur hebben een grotere invloed op de NCW, maar ook bij deze parameters resulteert zelfs het pessimistische scenario in een positieve NCW. Deze partiële sensitiviteitsanalyse ondersteunt de conclusie dat het investeringsproject economisch rendabel is.

9.2 Monte Carlo-simulatie

De partiële sensitiviteitsanalyse geeft enkel inzicht in de gevoeligheid van de verandering van één parameter, terwijl de andere parameters constant blijven. In werkelijkheid kunnen deze parameters echter tegelijkertijd variëren. Aan de hand van een Monte Carlo-simulatie kan het effect van de gelijktijdige verandering van een aantal parameters op de NCW bestudeerd worden. Ook voor de interne rendementsvoet kan een dergelijke simulatie worden uitgevoerd om de gevoeligheid van de IR te analyseren. Een Monte Carlo-simulatie gaat verschillende scenario's opstellen waarvoor de NCW of de IR berekend wordt. Deze scenario's worden bepaald met toevallig gekozen waarden voor een aantal parameters. De simulatie wordt 10.000 keren uitgevoerd en de resultaten kunnen vervolgens weergegeven worden in een waarschijnlijkheidsverdeling (Mercken, 2013). Voor de Monte Carlo-simulatie in deze masterproef is een beroep gedaan op een software, namelijk de bekende Crystal Ball Excel add-in. De eerste stap in het uitvoeren van een Monte

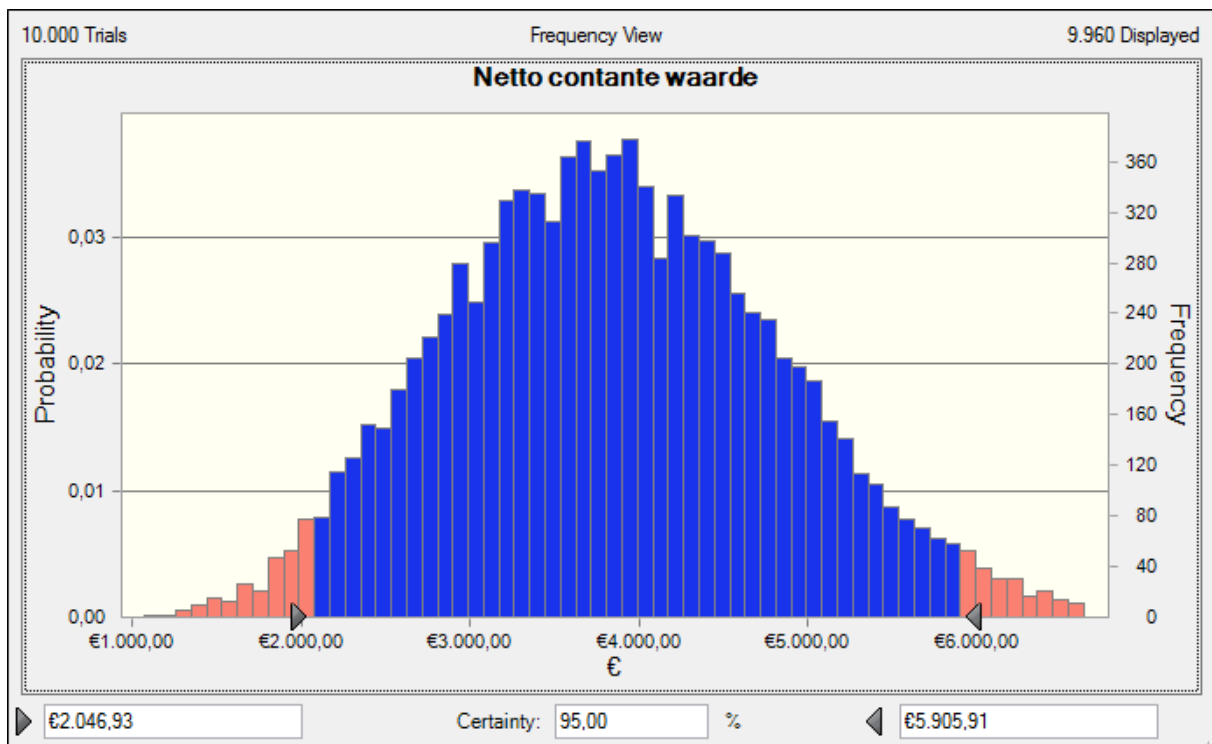
Carlo-simulatie is het bepalen van de variabele parameters. Hiervoor worden de parameters gebruikt die bij de partiële sensitiviteitsanalyse de meeste invloed uitoefenden, namelijk de discontovoet, het aantal analyses per jaar en de loonkost per uur. De volgende stap is het bepalen van de kansverdeling van de parameters. Bij de partiële sensitiviteitsanalyse is de invloed van de verschillende parameters bekeken door het uitrekenen van een pessimistisch en een optimistisch scenario. Hierbij werd telkens de waarde van één parameter gewijzigd, terwijl alle andere parameters gelijk blijven (*ceteris paribus*). In de Monte Carlo-simulatie kan hetzelfde gedaan worden door een triangulaire kansverdeling in te stellen voor de parameters, maar het resultaat is hier gebaseerd op de gelijktijdige verandering van de waarden van de parameters.

9.2.1 Triangulaire verdeling

De triangulaire verdeling bestaat uit drie waarden: het minimum, de meest verwachte waarde, en het maximum. De meest verwachte waarden zijn een discontovoet van 6%, jaarlijks 52 analyses en een loonkost van €50/uur. Voor het minimum en het maximum wordt gebruik gemaakt van de pessimistische en optimistische scenario's. Dit geeft voor het aantal analyses per jaar een triangulaire verdeling met een minimum van 46,8 analyses en een maximum van 57,20 analyses. Het minimum en het maximum van de loonkost bedraagt €45/uur en €55/uur en de discontovoet ligt tussen minimaal 3% en maximaal 9%.

9.2.1.1 Netto contante waarde

De Monte Carlo-simulatie wordt eerst uitgevoerd voor de NCW en er wordt een grafische voorstelling (figuur 9.4) bekomen van het resultaat voor 10.000 toevallig gekozen scenario's.



Figuur 9.4: Monte Carlo-simulatie van de NCW met triangulaire verdelingen voor de parameters.

Het resultaat benadert een normaalverdeling. De partiële sensitiviteitsanalyse gaf reeds aan dat de NCW voor elke afzonderlijke wijziging van een parameter met niet meer dan €2.000 zou variëren. Uit de Monte Carlo-simulatie kan een gelijkaardig besluit genomen worden. Zoals zichtbaar in figuur 9.4 zal de NCW met 95% zekerheid tussen €2.046,93 en €5.905,91 liggen, wat overeenkomt met respectievelijk een daling van €1.778,67 en een stijging van €2080,31 ten opzichte van de verwachte waarde (NCW = €3.825,60). De simulatie geeft tevens aan dat een negatieve NCW uitgesloten is. Dit is echter enkel geldig wanneer de parameters de triangulaire verdeling volgen. Indien de parameters een andere verdeling volgen, bestaat de mogelijkheid op een negatieve NCW (sectie 9.2.2.1).

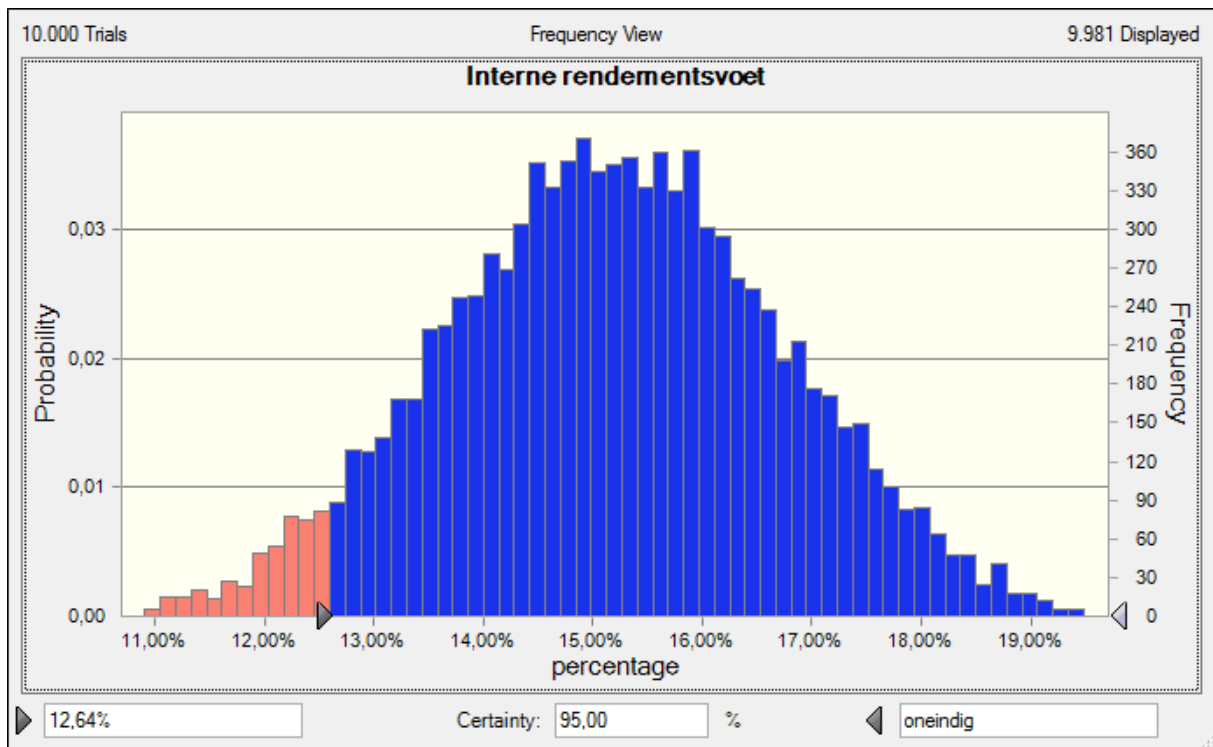
Parameter	Gevoeligheid NCW
Discontovoet	- 49,2%
Aantal analyses per jaar	27,1%
Loonkost per uur	23,7%

Tabel 9.4: Gevoeligheid van de NCW met triangulaire verdelingen voor de parameters.

Het is natuurlijk interessant om te weten voor welke parameter de NCW het meest gevoelig is. Bijkomende informatie over de grootte van de invloed van een parameter op de NCW is nodig voor bepaalde aanbevelingen te kunnen doen. De grootte van de invloed van elke parameter is weergegeven in tabel 9.4. De discontovoet bepaalt met 49,2% zo goed als de helft van de verandering in de NCW. Het minteken dat bij dit percentage staat (tabel 9.4) geeft aan dat de discontovoet een negatief effect heeft op de NCW. Een stijging van de discontovoet, zal een daling van de NCW veroorzaken. De invloeden van het aantal analyses per jaar en de loonkost per uur zijn vergelijkbaar met elkaar. Beide hebben ze een positief effect op de NCW. Hieruit kan geconcludeerd worden dat hoe meer analyses er jaarlijks gedaan moeten worden, hoe voordeliger de investering in de serotoninesensor wordt. Het positieve effect van het aantal analyses kan verklaard worden door de lage variabele kosten bij de serotoninesensor. Het positieve effect van de loonkost per uur kan verklaard worden door het verschil in aantal laboranturen nodig voor de bloedanalyse. Bij HPLC telt de laborantentijd 2 uur en 30 minuten, terwijl dit bij de serotoninesensor maar 1 uur is. Deze gevoeligheid van de NCW is gelijkaardig aan de resultaten bekomen in de partiële sensitiviteitsanalyse.

9.2.1.2 Interne rendementsvoet

Hetzelfde kan gedaan worden voor de interne rendementsvoet. De variabele parameters zijn hier opnieuw het aantal analyses per jaar en de loonkost per uur en de triangulaire verdelingen krijgen dezelfde waarden voor de minima, maxima en meest waarschijnlijke verwachting. De discontovoet wordt niet opgenomen als parameter aangezien de IR een berekening is van de discontovoet waarbij de NCW gelijk is aan nul. De simulatie doorloopt, net zoals bij de simulatie voor de NCW, 10.000 toevallig gekozen scenario's (met verschillende combinaties van de parameterwaarden) en geeft een grafische voorstelling van het resultaat (figuur 9.5).



Figuur 9.5: Monte Carlo-simulatie van de IR met triangulaire verdelingen voor de parameters.

Na 10.000 keer de IR te berekenen voor verschillende scenario's wordt er een normaalverdeling bekomen. Het bereik van deze verdeling is 9,61% breed, namelijk van 10,29% tot 19,89%. Het interne rendement zal, met een triangulaire verdeling voor de parameters, nooit lager dan 10% bedragen. Met 95% zekerheid kan zelfs gesteld worden dat de interne rendementsvoet minimum 12,64% zal bedragen.

Parameter	Gevoeligheid IR
Aantal analyses per jaar	56,3%
Loonkost per uur	43,7%

Tabel 9.5: Gevoeligheid van de IR met triangulaire verdelingen voor de parameters.

Bovenstaande tabel geeft de gevoeligheid van de IR ten opzichte van de twee parameters. De variatie van IR (figuur 9.5) wordt voor iets meer dan de helft (56,3%) bepaald door het aantal analyses per jaar, de overige variatie (43,7%) wordt veroorzaakt door de uurloonkost.

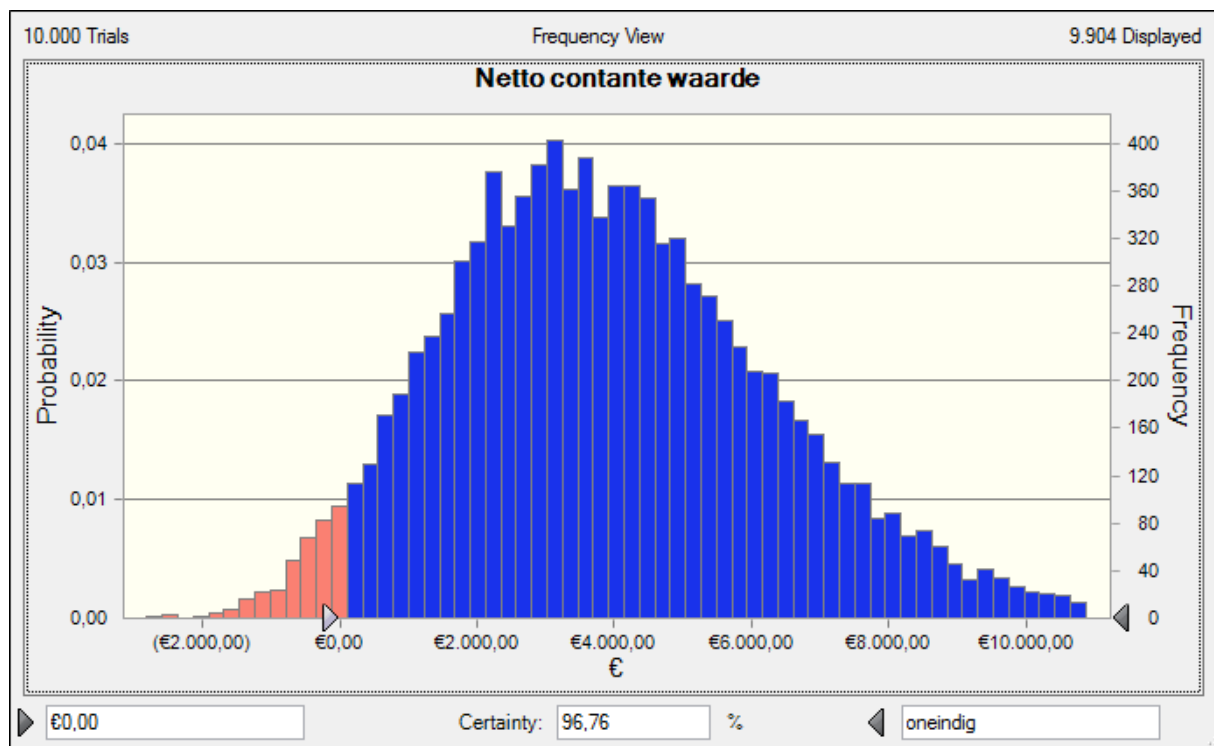
9.2.2 Normale verdeling

Omdat de triangulaire verdeling gebaseerd is op de verwachte waarde en we verder over weinig informatie beschikken, gaan we een tweede Monte Carlo-simulatie uitvoeren maar deze keer uitgaande van een normale verdeling voor de drie parameters. Een normaalverdeling is afhankelijk van twee waarden, namelijk het gemiddelde en de standaardafwijking. Het gemiddelde stellen we telkens gelijk aan de verwachte waarde. Deze bedraagt voor de drie parameters respectievelijk 52

analyses per jaar, €50 per uur en 6%. De standaardafwijking wordt voor de eerste twee parameters berekend als 10% van de gemiddelde waarde. Dit is 5,20 voor het aantal analyses per jaar en 5,00 voor de loonkost per uur. De standaardafwijking van de discontovoet wordt gezet op 3%. De Monte Carlo-simulatie wordt 10.000 keer herhaald en we krijgen een grafische voorstelling van het resultaat. De simulatie wordt, net zoals bij de triangulaire verdeling, achtereenvolgens voor de netto contante waarde en de interne rendementsvoet uitgevoerd.

9.2.2.1 Netto contante waarde

De grafische voorstelling die het resultaat weergeeft van de simulatie wordt hieronder weergegeven in figuur 9.6. Het resultaat benadert een normale verdeling.



Figuur 9.6: Monte Carlo-simulatie van de NCW met normale verdelingen voor de parameters.

Het volledige bereik gaat van - €2.783,57 tot €19.503,33 met een gemiddelde waarde van €4.005,90. Deze gemiddelde waarde ligt dicht bij de verwachte waarde €3.825,60 uitgekomen bij de berekening in de investeringsanalyse. Een negatieve NCW is niet uitgesloten, maar de kans dat dit gebeurt, is klein. De simulatie geeft aan dat met 96,76% zekerheid de NCW groter is dan €0,00 (figuur 9.6). Het investeringsproject bevat dus weinig risico.

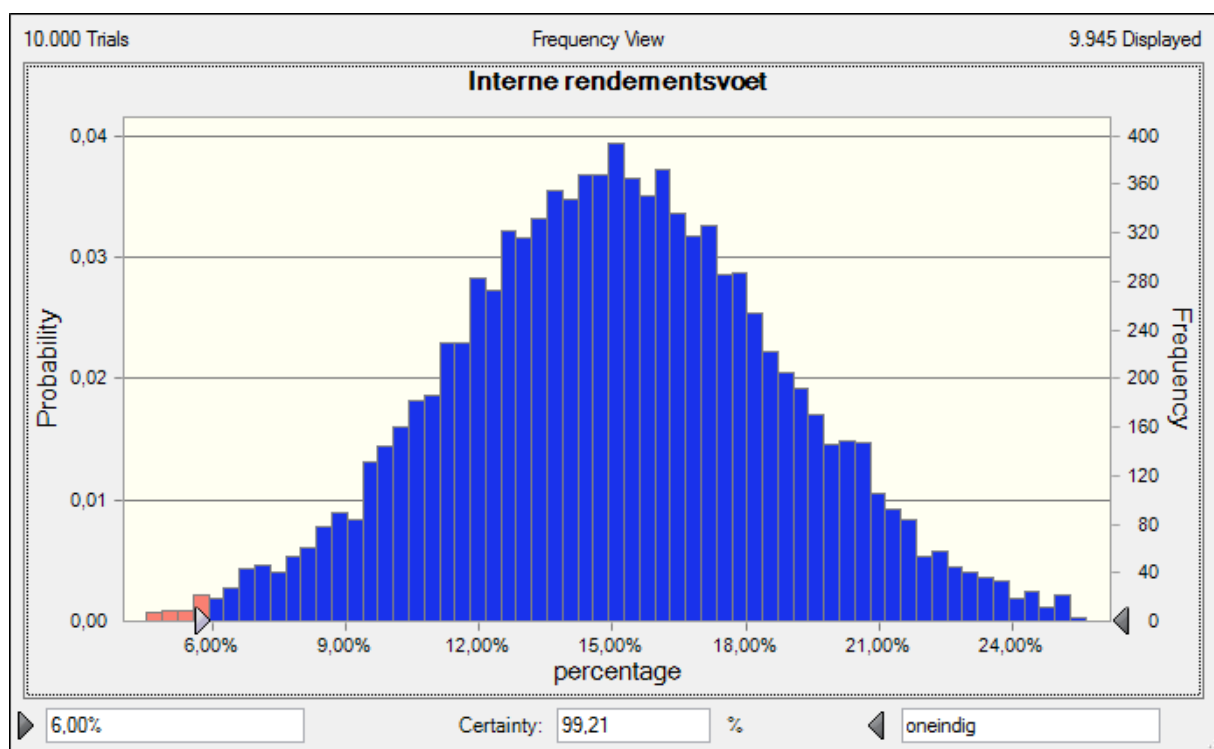
Parameter	Gevoeligheid NCW
Discontovoet	- 48,3%
Aantal analyses per jaar	28,9%
Loonkost per uur	22,8%

Tabel 9.6: Gevoeligheid van de NCW met normale verdelingen voor de parameters.

De kansverdeling geeft aan dat de NCW met meer dan 95% zekerheid positief zal zijn. Dit wijst erop dat het een goede investering is zelfs wanneer het aantal analyses per jaar, de loonkost per uur en de discontovoet variëren. Tabel 9.6 geeft aan hoe groot het effect van wijzigingen aan de parameter is op de waarde van de NCW. Zoals verwacht zal de netto contante waarde het meest gevoelig zijn voor een verandering van de discontovoet. 48,3% van de variatie in de uitkomst van de NCW is te wijten aan een verandering in de discontovoet. De discontovoet heeft dus het meeste effect op de NCW. Een negatief effect weliswaar, want hoe hoger de discontovoet hoe lager de NCW. De andere twee parameters bepalen bijgevolg de andere helft van de variatie. Het aantal analyses per jaar heeft een lichtjes groter effect, namelijk 28,9%, ten opzichte van de loonkost per uur (22,8%).

9.2.2.2 Interne rendementsvoet

Het resultaat is, net zoals voor de NCW, een normaalverdeling (figuur 9.7).



Figuur 9.7: Monte Carlo-simulatie van de IR met normale verdelingen voor de parameters.

De verwachte waarde uit de investeringsanalyse is 15,21% en uit de resultaten van de simulatie blijkt dat dit een zeer aannemelijke waarde is. De simulatie bekommt een gemiddelde van 15,04% met een standaardafwijking van slechts 0,04%. Het volledige bereik ligt tussen 1,50% en 28,07%. In figuur 9.7 is tevens te zien dat met 99,21% zekerheid de interne rendementsvoet 6% of groter zal zijn. Dit bewijst nogmaals dat het investeringsproject voordelig zal zijn.

Parameter	Gevoeligheid IR
Aantal analyses per jaar	56,3%
Loonkost per uur	43,7%

Tabel 9.7: Gevoeligheid van de IR met normale verdelingen voor de parameters.

Bijkomende informatie omtrent de gevoeligheid voor de afzonderlijke parameters is weergegeven in tabel 9.7. Logischerwijze levert dit dezelfde conclusies op als de sensitiviteitsberekening van de netto contante waarde. Het aantal analyses per jaar bepaalt 56,3% van de variatie in de IR en de loonkost bijgevolg 43,7%. Zowel het aantal analyses per jaar, als de loonkost per uur heeft een positief effect. Een stijging in het aantal analyses of een verhoging van de loonkost zal in het voordeel pleiten van de investering in de serotoninesensor.

9.2.3 Conclusie Monte Carlo-simulatie

De resultaten van de Monte Carlo-simulatie leiden tot dezelfde conclusie als de partiële sensitiviteitsanalyse. Toch is het belangrijk om deze simulatie uit te voeren. In werkelijkheid bestaan er allerlei interdependenties tussen de verschillende parameters en hier wordt in de partiële sensitiviteitsanalyse geen rekening mee gehouden. De simulatie is een techniek die hier wel rekening mee houdt en wordt uitgevoerd om de sensitiviteitsanalyse aan te vullen. De resultaten kunnen dan met meer zekerheid geïnterpreteerd worden. Daarnaast wordt een Monte Carlo-simulatie best toegepast indien er parameters zijn die door het toeval beïnvloed kunnen worden. Bij het investeringsproject van de serotoninesensor zijn bijna alle parameters probabilistisch van aard. De Monte Carlo-simulatie geeft tevens de gevoeligheid voor elke parameter wat duidelijke aanbevelingen oplevert. Zo is het duidelijk dat de grootste gevoeligheid ligt bij de waarde van de discontovoet. Dit is uiteraard een parameter waar zelf geen verandering in kan gebracht worden, maar er kan wel extra rekening mee worden gehouden. Hetzelfde geldt voor het aantal analyses per jaar en de loonkost, maar hun invloed is minder groot dan die van de discontovoet.

10 Conclusies

10.1 Algemeen

In de huidige maatschappij en de steeds veranderende omgeving zijn biosensoren een uitstekend hulpmiddel voor het snel en efficiënt opsporen van specifieke stoffen. Vooral in de medische wereld bieden biosensoren een oplossing voor tijds- en kostproblemen. Het gebruik van nanotechnologie bij de ontwikkeling van biosensoren zorgt voor een vooruitgang op vlak van snelheid. Een nanotechnologie gebaseerde biosensor kan geïntegreerd worden in een draagbaar toestel waardoor deze voor point-of-care toepassingen gebruikt kan worden. Zeker in een ziekenhuis is het belangrijk dat een analyse snel en ter plekke kan plaatsvinden.

Nanotechnologie gebaseerde biosensoren die daarbij tevens gebruik maken van een elektronische uitlezing brengen een lage kost met zich mee en zijn gebruiksvriendelijk. De elektronische uitlezing gebeurt snel en het resultaat kan meteen weergegeven worden op een computer of elektronisch beeldscherm.

Nanotechnologie gebaseerde biosensoren met "electronic readout" bieden meerdere voordelen en zijn de moeite waard om in te investeren. De resultaten van de gevalstudie, waarin via een economische analyse het potentieel van de serotoninesensor bepaald wordt, beamen dit.

10.2 Gevalstudie

De serotoninesensor, die in het Instituut voor Materiaalonderzoek is ontwikkeld, is technisch en economisch onder de loep genomen. Op technisch vlak voldoet deze sensor aan de eisen die gesteld worden voor de affiniteit en selectiviteit door gebruik te maken van MIP-poeder en impedantie spectroscopie als elektronische uitlezing. De serotonine aanwezig in een bloedstaal zal geïsoleerd worden zodanig dat er een correcte meting optreedt. Onderzoek heeft aangetoond dat dezelfde resultaten bekomen worden als een meting met HPLC (Peeters et al., 2012). De serotoninesensor kan dus gebruikt worden ter vervanging van het HPLC-systeem.

De economische rentabiliteit van de serotoninesensor wordt onderzocht door middel van de berekening van de netto contante waarde en de interne rendementsvoet. De NCW is positief (€3.825,60) wat aangeeft dat investeren in de serotoninesensor rendabel zal zijn. In de investeringsanalyse is gewerkt met een constante discontovoet van 6%, wat enigszins onrealistisch is daar dit percentage in werkelijkheid conjunctuurgevoelig is. De analyse van de interne rendementsvoet geeft echter aan dat deze discontovoet mag stijgen tot 15,21% vooraleer de investering noch voordeel noch nadeel oplevert. De investeringsanalyse geeft dus reeds aan dat de serotoninesensor een rendabel investeringsproject is en de resultaten van zowel de partiële sensitiviteitsanalyse als de Monte Carlo-simulatie bevestigen deze conclusie.

10.3 Opmerkingen

De resultaten die volgen uit de investeringsanalyse zijn positief, maar hier dienen enkele kritische bemerkingen bij gemaakt te worden. Zoals eerder vermeld, zijn er een aantal veronderstellingen gemaakt bij de berekening van de kosten. De cijfers die bekomen worden zijn gebaseerd op schattingen en zullen bijgevolg niet helemaal overeenkomen met de werkelijke bedragen.

De serotoninesensor staat nog maar in zijn kinderschoenen waardoor er nog geen gegevens zijn van opbrengsten gegenereerd door het op de markt brengen van de serotoninesensor. De opbrengsten worden in de investeringsanalyse geïnterpreteerd als vermeden kosten. Deze vermeden kosten zijn gebaseerd op de kosten van de huidige techniek waarmee serotonine gemeten wordt. De HPLC-methode maakt gebruik van een HPLC-systeem, wat in een ziekenhuis dagelijks gebruikt wordt voor de analyse van verschillende stoffen. De implementatie van de serotoninesensor in een ziekenhuis betekent dan ook niet dat het HPLC-systeem niet meer nodig is. De economische vergelijking van de serotoninesensor met HPLC moet dus kritisch geanalyseerd worden.

Verder zijn er ook een aantal aspecten van een investeringsanalyse die in deze masterproef niet aan bod zijn gekomen. Het aanbieden van de serotoninesensor aan ziekenhuizen of andere ondernemingen en het introduceren op de markt brengt heel wat marketingkosten met zich mee. Hoge marketingkosten kunnen een aanzienlijk effect hebben op de netto contante waarde. Een aantal andere variabelen waarmee rekening dient gehouden te worden zijn de grootte van mogelijke inkomsten, de snelheid of vertraging waarmee de nieuwe biosensor opgenomen wordt in de markt, ontwikkelingskosten, commercialisatie en markttoetredingskosten, sterkten van het bedrijf dat de biosensor implementeert, mogelijke reacties van concurrenten, afhankelijkheid van normen, en de graad van onzekerheid. Tot slot is er ook geen rekening gehouden met eventuele subsidies ter ondersteuning van het onderzoek.

Lijst van geraadpleegde werken

Ahmad, A., & Moore, E. J. (2009). Comparison of Cell-Based Biosensors with Traditional Analytical Techniques for Cytotoxicity Monitoring and Screening of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Environment. *Analytical Letters*, 42(1), 1–28.

Aravanis, A. M., DeBusschere, B. D., Chruscinski, A. J., Gilchrist, K. H., Kobilka, B. K., & Kovacs, G. T. A. (2001). A genetically engineered cell-based biosensor for functional classification of agents. *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 571-577.

Asphahani, F., Thein, M., Veiseh, O., Edmondson, D., Kosai, R., Veiseh, M., Xu, J., & Zhang, M. (2008). Short communication: Influence of cell adhesion and spreading in impedance characteristics of cell-based sensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 23(8), 1307-1313.

Baron, R., Willner, B., & Willner, I. (2007). Biomolecule-nanoparticle hybrids as functional units for nanobiotechnology. *Chemical Communications*, 323-332.

Boron, F. W., & Boulpaep, E. L. (2008). *Medical physiology*. Philadelphia: Saunders Elsevier.

Byon, H. R., & Choi, H. C. (2006). Network single walled carbon nanotube-field effect transistors (SWNT-FETs) with increased schottky contact area for highly sensitive biosensor applications. *Journal of the American Chemical Society*, 128, 2188-1289.

Camilleri, M. (2011). LX-1031, a tryptophan 5-hydroxylase inhibitor, and its potential in chronic diarrhea associated with increased serotonin. *Neurogastroenterology and Motility*, 23(3), 193–200.

Carrascosa, L. G., Moreno, M., Álvarez, M., & Lechuga, L. M. (2006). Nanomechanical biosensors: a new sensing tool. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(3), 196–206.

Connolly, P. (2004). The potential for biosensors in cardiac surgery. *Perfusion*, 19(4), 247–9.

Doll, T. A. P. F., Raman, S., Dey, R., Burkhard, P., & Ag, A. P. (2013). Nanoscale assemblies and their biomedical applications.

Eggs, B. R. (1997). Biosensors - An Introduction. *Biosensors & bioelectronics*, 12(1), 1–2.

Gardner, J. W., Hines, E. L., & Tang, H. C. (1992). Detection of vapours and odours from a multisensor array using pattern-recognition techniques Part 2. Artificial neural networks. *Sensors and Actuators B*, 9, 9-15.

- Gilchrist, K. H., Barker, V. N., Fletcher, L. E., Debusschere, B. D., Ghanouni, P., Giovangrandi, L., & Kovacs, G. T. A. (2001). General purpose, field-portable cell-based biosensor platform. *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 557-564.
- Gilchrist, K. H., Giovangrandi, L., Whittington, R. H., & Kovacs, G. T. A. (2005). Sensitivity of cell-based biosensors to environmental variables. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1397-1406.
- Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J., & Reimhult, E. (2008). Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. *Sensors*, 8, 1400-1458.
- Haruta, M., & Date, M. (2001). Advances in the catalysis of gold nanoparticles. *Applied Catalysis A: General*, 222-427.
- Haupt, K., & Mosbach, K. (1998). Plastic antibodies: developments and applications. *Trends in biotechnology*, 16(11), 468-75.
- Jianrong, C., Yuqing, M., Nongyue, H., Xiaohua, W., & Sijiao, L. (2004). Nanotechnology and biosensors. *Biotechnology advances*, 22(7), 505-18.
- Johansson, C., Smedh, C., Partonen, T., Pekkarinen, P., Paunio, T., Ekholm, J., Peltonen, L., Lichtermann, D., Palmgren, J., Adolfsson, R., & Schalling, M. (2001). Seasonal affective disorder and serotonin-related polymorphisms. *Neurobiology of Disease*, 8, 351-357.
- Katiraei, P., & Bultron, G. (2011). Need for a comprehensive medical approach to the neuro-immuno-gastroenterology of irritable bowel syndrome. *World journal of gastroenterology: WJG*, 17(23), 2791-800.
- Kim, T. H., Lee, S. H., Lee, J., Song, H. S. et al. (2009). Single-carbon-atomic-resolution detection of odorant molecules using a human olfactory receptor-based bioelectronic nose. *Advanced Materials*, 91-94.
- Kumar, S., Harrison, N., Richards-Kortum, R., & Sokolov, K. (2007). Plasmonic nanosensors for imaging intracellular biomarkers in live cells. *Nano Letters*, 7, 1338-1343.
- Lam, R. W., Levitan, R. D. (2000). Pathophysiology of seasonal affective disorder: a review. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 25, 469-480.
- Lee, C.-J., Lee, S., Jhon, M. S., & Shin, J. (2013). Factors influencing nanotechnology commercialization: an empirical analysis of nanotechnology firms in South Korea. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(2), 1444.
- Magnusson, A., & Boivin, D. (2003). Seasonal affective disorder: an overview. *Chronobiology International*, 20, 189-207.

Malhotra, B. D., & Chaubey, A. (2003). Biosensors for clinical diagnostics industry. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 91(1-3), 117-127.

McKimmie, K. (2005). What's a biosensor, anyway? *Indiana Business Magazine*, 18-23.

McNeil, R. D., Lowe, J., Mastroianni, T., Cronin, J., & Ferk, D. (2007). *Barriers to nanotechnology commercialization. A final report prepared for US Department of Commerce*. Springfield: The University of Illinois.

Meijer, E., Majoor, B., & Quant, E. (2009). *Biosensoren*. Eindhoven: Stichting Leerplan Ontwikkeling.

Mello, L. D., & Kubota, L. T. (2002). Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries, 77, 237-256.

Mercken, R. (2010). *De investeringsanalyse. Een beleidsgerichte analyse*. Antwerpen – Apeldoorn: Garant.

Michel, K., Zeller, F., Langer, R., Nekarda, H., Kruger, D., Dover, T. J., Brady, C. A., Barnes, N. M., & Schemann, M. (2005). Serotonin excites neurons in the human submucous plexus via 5-HT₃ receptors. *Gastroenterology*, 128, 1317-1326.

Newman, J. D., & Turner, A. P. F. (2005). Home blood glucose biosensors: a commercial perspective. *Biosensors & bioelectronics*, 20(12), 2435-53.

Nicu, L., & Leichlé, T. (2008). Biosensors and tools for surface functionalization from the macro- to the nanoscale: The way forward. *Journal of Applied Physics*, 104(11), 111101.

O'Connor, S. M., Andreadis, J. D., Shaffer, K. M., Ma, W., Pancrazio, J. J., & Stenger, D. A. (2000). Immobilization of neural cells in three-dimensional matrices for biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 14, 871-881.

Pandey, P., Datta, M., & Malhotra, B. D. (2008). Prospects of Nanomaterials in Biosensors. *Analytical Letters*, 41(2), 159-209.

Peeters, M., Troost, F. J., Grinsven, B. Van, Horemans, F., Alenus, J., Murib, M. S., Keszthelyi, D., et al. (2012). MIP-based biomimetic sensor for the electronic detection of serotonin in human blood plasma. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 602-610.

Rodriguez-Mozaz, S., Lopez de Alda, M. J., Marco, M. P., & Barcelo, D. (2005). Biosensors for environmental monitoring: A global perspective. *Talanta*, 65, 291-297.

Rouessac, F., & Rouessac, A. (2007). *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.

Schloss, P., & Williams, D. C. (1998). The serotonin transporter: a primary target for antidepressant drugs. *Journal of Psychopharmacology*, 12, 115-121.

Sharma, K., Garg, V. K., Singh, A. K., & Mondal, S. C. (2013). Role of serotonin in seasonal affective disorder, 49–55.

Song, H. S., & Park, T. H. (2011). Integration of biomolecules and nanomaterials: towards highly selective and sensitive biosensors. *Biotechnology journal*, 6(11), 1310–6.

Stehouwer, C. D. A., Koopmans, R. P., & van der Meer, J. (2010). *Interne geneeskunde*. Houten: Springer Media.

Takeuchi, T., & Haginaka, J. (1999). Separation and sensing based on molecular recognition using molecularly imprinted polymers. *Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications*, 728(1), 1–20.

Thoelen, R. (2008). A MIP, Molecularly Imprinted Polymer, based impedimetric sensor for the detection of small MW molecules. *Doctoraatsproefschrift*, 32(0).

Topal, C. O. (z.d.). Nanobiosensor.

Tran, M. C. (1993). *Biosensors*. Springer.

Tran, T. a., & Daim, T. (2008). A taxonomic review of methods and tools applied in technology assessment. *Technological Forecasting and Social Change*, 75(9), 1396–1405.

Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). The Enzyme Electrode. *Nature*, 214(5092), 986–988.

Wang, P., Xu, G., Qin, L., Xu, Y., & Li, R. (2005). Review: Cell-based biosensors and its application in biomedicine. *Sensors and Actuators B*, 108, 576-584.

Lijst van geraadpleegde websites

American Heritage Dictionary. Opgevraagd op 15 mei, 2012, via <http://ahdictionary.com/word/search.html?q=biosensor&submit.x=27&submit.y=26>

Biosensors for Environmental Monitoring. (2000). Opgevraagd op 15 mei, 2012, via <http://books.google.com/books?id=nWGS0DXIg3cC&pgis=1>

Biosensors: Past, Present and Future. Opgevraagd op 4 mei, 2013, via <http://www.cranfield.ac.uk/health/researchareas/biosensorsdiagnostics/page18795.html>

Metaboliet. Opgevraagd op 12 juli, 2013, via <http://www.encyclo.nl/begrip/metaboliet>

National Nanotechnology Initiative. Opgevraagd op 25 mei, 2013, via <http://www.nano.gov/>

Neurotransmitter. Opgevraagd op 25 juni, 2013, via <http://www.encyclo.nl/begrip/neurotransmitter>

Ontwikkeling van biosensoren. Opgevraagd op 18 mei, 2012, via <http://www.uhasselt.be/biosensor>

Oxford Dictionary of Biochemistry. Opgevraagd op 4 maart, 2013, via <http://www.answers.com/topic/enzyme-electrode>

Polymerisatie. Opgevraagd op 1 juli, 2013, via <http://www.encyclo.nl/begrip/polymerisatie>

Visceraal. Opgevraagd op 27 juni, 2013, via <http://www.encyclo.nl/begrip/visceraal>

Bijlagen

Investeringsanalyse

Tabel 1: Berekening van de installatiekosten van de serotoninesensor.

Toestel	aanschafwaarde	aantal	loonkost	afschrijvingstermijn
spin coater	€ 5.000			10
bakplaat	€ 300			2
impedantie analysator elektronische delen	€ 700			5
fabricage analysator	€ 1.000	20 uur	€ 50/uur	
UV oven	€ 1.000			2
Totale installatiekost per jaar	€ 8.000			
afschrijvingen per jaar	€ 1.290			

Tabel 2: Berekening van de onderhoudskosten van de serotoninesensor.

Onderhoud	kostprijs
Toestellen jaarlijks kalibreren	€ 500
Toestellen panne	€ 250
Totale onderhoudskost per jaar	€ 750,00

Tabel 3: Berekening van de materiaalkosten van de serotoninesensor.

Fabricage chip	bedrag	aantal	loonkost	jaarkost
Aluminiumplaatje	0,480769231			€ 25,00
adhesief polymeer (PVV)	1,923076923			€ 100,00
MIP poeder	1,923076923			€ 100,00
fabricage	25	30 minuten	€ 50/uur	
Totale materiaalkost per analyse	€ 29			
Totale materiaalkost per jaar	€ 1.525			

Tabel 4: Berekening van de bewerkingskosten van de serotoninesensor.

personeel	bedrag	aantal	loonkost
laborant	€ 50	1 uur	€ 50/uur
Totale bewerkingskost per analyse	€ 50		
Totale bewerkingskost per jaar	€ 2.600		

Tabel 5: Berekening van de installatiekosten van HPLC.

Machine	bedrag
kostprijs HPLC-spectrofluorimeter	€ 40.000
afschrijvingstermijn	7
jaarlijkse kostprijs	€ 5.714,29
Gebruik	aantal
aantal vitamine B1 dosages per jaar	2000
aantal serotonine metingen per jaar	52
verdeelsleutel	0,025341
Totale installatiekost per jaar	€ 144,81

Tabel 6: Berekening van de bewerkingskosten van HPLC.

personeel	bedrag	aantal	loonkost
laborant	€ 125	2,5 uur	€ 50/uur
Totale bewerkingskost per analyse	€ 125		
Totale bewerkingskost per jaar	€ 6.500		

Tabel 7: Berekening van de totale kost van HPLC.

Type kosten	bedrag
installatiekosten	€ 144,81
bewerkingskosten	€ 6.500
Totale vermeden kosten	€ 6.644,81

Tabel 8: Berekening van de verdisconteerde netto kasstromen bij het investeringsproject.

Jaar	totale jaarlijkse kasstroom	vennootschapsbelastingen	belastingschild van afschrijvingen	verdisconteringsfactor	verdisconteerde netto kasstroom
1	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	94,34%	€ 1.515,77
2	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	89,00%	€ 1.429,98
3	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	83,96%	€ 1.349,03
4	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	79,21%	€ 1.272,67
5	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	74,73%	€ 1.200,63
6	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	70,50%	€ 1.132,67
7	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	66,51%	€ 1.068,56
8	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	62,74%	€ 1.008,08
9	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	59,19%	€ 951,02
10	€ 1.769,81	€ 601,56	€ 438,47	55,84%	€ 897,18
Totaal					€ 11.825,60

Tabel 9: Berekening van de netto contante waarde van het investeringsproject.

som verdisconteerde kasstromen	€ 11.825,60
initiële investeringsbedrag	€ 8.000,00
Netto contante waarde	€ 3.825,60

Tabel 10: Volledige weergave van de investeringsanalyse van de serotoninesensor.

vennootschapsbelasting	33,99%
discontovoet	6%

Jaar	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
installatiekosten	€ -8.000,00										
onderhoudskosten		€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00	€ 750,00
materiaalkosten		€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00	€ 1.525,00
bewerkingskosten		€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00	€ 2.600,00
totale uitgaande kasstroom	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00	€ 4.875,00
afschrijvingen installaties		€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00	€ 1.290,00
vermeden kosten		€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81
totale inkomende kasstroom	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81	€ 6.644,81
totale jaarlijkse kasstroom	€ -8.000,00	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81	€ 1.769,81
netto kasstroom na belastingen	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25	€ 1.168,25
belastingenschild van afschrijvingen		€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47	€ 438,47
jaarlijkse netto kasstroom	€ -8.000,00	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72	€ 1.606,72
verdisconteerde netto kasstroom	€ 1.515,77	€ 1.429,98	€ 1.349,03	€ 1.272,67	€ 1.200,63	€ 1.132,67	€ 1.068,56	€ 1.008,08	€ 951,02	€ 897,18	
Netto contante waarde	€ 3.825,60										
Interne rendementsvoet	15,21%										

Partiële sensitiviteitsanalyse

Tabel 11: Berekening van de pessimistische en optimistische waarden voor de variabele parameters.

variabele parameter	pessimistisch	verwachte waarde	optimistisch	NCW = 0
aantal analyses per jaar	47	52	57	36,2515807
loonkost per uur	45	50	55	33,5554544
discontovoet	9%	6%	3%	15,21%
vennootschapsbelasting	51%	34%	17%	142,32%

Tabel 12: Berekening van de NCW voor de verschillende scenario's.

NCW	pessimistisch	verwachte waarde	optimistisch
aantal analyses per jaar	€ 2.611,00	€ 3.825,60	€ 5.040,20
loonkost per uur	€ 2.662,42	€ 3.825,60	€ 4.988,78
discontovoet	€ 2.311,38	€ 3.825,60	€ 5.705,65
vennootschapsbelasting	€ 3.224,91	€ 3.825,60	€ 4.425,59

Tabel 13: Berekening van de verandering in NCW.

Δ NCW	pessimistisch	optimistisch
aantal analyses per jaar	-€ 1.214,60	€ 1.214,60
loonkost per uur	-€ 1.163,18	€ 1.163,18
discontovoet	-€ 1.514,22	€ 1.880,05
vennootschapsbelasting	-€ 600,69	€ 599,99

Auteursrechtelijke overeenkomst

Ik/wij verlenen het wereldwijde auteursrecht voor de ingediende eindverhandeling:

Evaluatie van het valorizatiepotentieel van "electronic readout" nanotechnologie gebaseerde biosensoren

Richting: **master in de toegepaste economische wetenschappen: handelsingenieur-operationeel management en logistiek**

Jaar: **2013**

in alle mogelijke mediaformaten, - bestaande en in de toekomst te ontwikkelen - , aan de Universiteit Hasselt.

Niet tegenstaand deze toekenning van het auteursrecht aan de Universiteit Hasselt behoud ik als auteur het recht om de eindverhandeling, - in zijn geheel of gedeeltelijk -, vrij te reproduceren, (her)publiceren of distribueren zonder de toelating te moeten verkrijgen van de Universiteit Hasselt.

Ik bevestig dat de eindverhandeling mijn origineel werk is, en dat ik het recht heb om de rechten te verlenen die in deze overeenkomst worden beschreven. Ik verklaar tevens dat de eindverhandeling, naar mijn weten, het auteursrecht van anderen niet overtreedt.

Ik verklaar tevens dat ik voor het materiaal in de eindverhandeling dat beschermd wordt door het auteursrecht, de nodige toelatingen heb verkregen zodat ik deze ook aan de Universiteit Hasselt kan overdragen en dat dit duidelijk in de tekst en inhoud van de eindverhandeling werd genotificeerd.

Universiteit Hasselt zal mij als auteur(s) van de eindverhandeling identificeren en zal geen wijzigingen aanbrengen aan de eindverhandeling, uitgezonderd deze toegelaten door deze overeenkomst.

Voor akkoord,

Pieraets, Sien

Datum: **22/08/2013**