

TENTAMEN PRAKTISCHE VAARDIGHEDEN CHEMIE A – 2011

Uw cliënt, een bedrijf dat zich bezig houdt met het vervaardigen van verpakkingsmaterialen, heeft u uitgenodigd voor een gesprek om u te vertellen over zijn
5 nieuwste uitvinding, een folie die kan worden gebruikt voor het vacuüm verpakken van verse vis. Hij vertelt u dat het gebruik van deze folie leidt tot een aanzienlijk verbeterde houdbaarheid van de verpakte verse vis.

Uw cliënt vertelt u hierbij dat hij zijn nieuwe folie over de hele wereld wil gaan exporteren, naar allerlei verschillende landen waar vis wordt gevangen en verwerkt, waaronder
10 landen in Afrika, Zuid-Amerika en Zuid-Oost Azië. Het is de bedoeling dat de folie dan ter plaatse wordt gebruikt om de verse vis te verpakken, waarna de verpakte vis dan vervolgens terug naar Europa wordt geëxporteerd (bijvoorbeeld in speciale containers voor vervoer van gekoeld voedsel, die ook met prioriteit door de douane op Schiphol worden ingeklaard). Uw cliënt noemt als voorbeeld paling die in Madagascar wordt gevangen en wordt verpakt, en die
15 dan vervolgens naar Nederland wordt vervoerd en hier in Nederlandse supermarkten wordt verkocht als duurzaam alternatief voor IJsselmeerpaling.

Uw cliënt vraagt u om een octrooiaanvraag op te stellen voor zijn nieuwe uitvinding. Hij geeft u hiervoor de onderstaande informatie (waaronder het bijgevoegde proefverslag), alsook het bijgevoegde artikel, dat hij in een vaktijdschrift heeft gevonden.

20 Zoals gezegd is een belangrijke markt voor uw cliënt het vervaardigen van doorzichtige en flexibele kunststof folies die worden gebruikt voor het onder vacuüm verpakken van verse vis (zalmfilet, tonijnfilet, palingfilet, forelfilet, etc.) door middel van de zogenaamde “Vacuum Skin Packaging” of “VSP” techniek.

Bij VSP worden verse visfilets verpakt door de filets eerst uit te leggen op een geschikte
25 drager (zoals een stuk bekleed karton of een kunststof schaalpje). Deze drager zorgt voor een optimale presentatie van de uitgelegde vis en verleent ook stevigheid aan het verpakte product, hetgeen vereist is om het product te kunnen vervoeren en in winkels uit te kunnen stallen (zie Figuur 1).

Het karton met uitgelegde vis wordt vervolgens tussen twee lagen van een doorzichtige en flexibele kunststof folie gebracht. De hierbij gebruikte folie wordt ook wel een “VSP folie” genoemd, en dergelijke VSP folies worden al sinds jaren door uw cliënt en anderen op de markt gebracht en algemeen toegepast in de visverwerkingsindustrie. De folie wordt daarna door
5 middel van afsluiten onder verhitten (“heat-sealing”) aan de vier buitenzijden afgesloten terwijl tegelijkertijd de inhoud van de verpakking vacuüm wordt getrokken. Hierbij vormt de flexibele folie zich rond de contouren van de vis en de drager. De verpakking kan daarna op de juiste grootte worden gesneden en worden bedrukt. Dit alles kan handmatig of machinaal worden uitgevoerd, met standaard machines en apparatuur voor VSP verpakken die al sinds vele jaren in
10 de visverwerkingsindustrie algemeen gangbaar zijn.

Het resultaat is vacuüm verpakte vis zoals tegenwoordig in iedere supermarkt wordt verkocht (zie opnieuw Figuur 1).

Het is het voor dergelijke verpakte visproducten uiterst belangrijk is dat de verpakking ten minste ten dele doorzichtig is (bijvoorbeeld: een doorzichtig venster heeft - zie hiervoor
15 opnieuw Figuur 1). Dit is omdat de consument bij het kopen van verpakte vis een zeer grote waarde hecht aan het kunnen zien van de verpakte vis (anders zal de consument het product niet willen kopen). Hierbij moet het doorzichtige gedeelte van de verpakking (dat wil zeggen: het venster) ook schoon zijn, en geen waas of vlekken hebben (anders zal de consument het product opnieuw niet willen kopen).

Het is verder algemeen bekend is dat rauwe visproducten zeer gevoelig zijn voor bederf, met name door *Listeria monogenocytes*, een bekend pathogeen micro-organisme. *Listeria* is een sterk-resistente, gram-positieve bacterie, die bestand is tegen invriezen, tegen zout en tegen een zuurstofarme omgeving of vacuüm. Besmetting met *Listeria* kan ook niet goed worden
20 tegengegaan door voedingsproducten in de koeling te bewaren: na 1 week bewaren bij 4 °C kan een besmet voedingsmiddel al tien keer meer *Listeria* bevatten.

Hoewel *Listeria* in vrijwel alle voedingsproducten kan voorkomen, is besmetting met *Listeria* is in het bijzonder een probleem bij rauwe visproducten. Dit is omdat rauwe vis - anders dan bijvoorbeeld gekookte vis- of vleesproducten - na verpakken niet goed kan worden gepasteuriseerd (bijvoorbeeld door verhitten op 75-80 °C), omdat hierdoor de consistentie en de

verse smaak van de vis te zeer worden aangetast. Ook invriezen tast de kwaliteit van de vis te sterk aan.

Door de gevoeligheid van besmetting met *Listeria* is de houdbaarheid van verpakte verse vis dan ook beperkt, meestal tot enkele dagen bij bewaren onder koelen (4 °C). Dit betekent dat de vis na verwerken en verpakken (bijvoorbeeld in de visverwerkingsindustrie in Noorwegen, Alaska, Afrika of Zuid-Oost Azië) zo snel mogelijk door middel van speciaal gekoeld transport naar West-Europa en de Verenigde Staten moet worden vervoerd (hetgeen een grote belasting op de vervoers- en distributieketen plaatst) en daarna slechts een beperkte houdbaarheid heeft nadat de vis de schappen in de supermarkt heeft bereikt.

Het is bekend dat nisine, een klein antimicrobieel peptide van 34 aminozuren dat wordt afgescheiden door melkzuurbacterien zoals *Lactococcus lactis*, de groei van gram-positieve bacterien zoals *Listeria monocytogenes* kan tegengaan. Omdat nisine van nature wordt afgescheiden door melkzuurbacterien die worden gebruikt bij het bereiden van gefermenteerde zuivelproducten (zoals kaas en yoghurt) is nisine volledig veilig voor consumptie en officieel goedgekeurd voor gebruik als conserveringsmiddel voor voedselproducten zoals melkproducten en vlees.

Het zou in principe mogelijk zijn om de houdbaarheid van vacuüm-verpakte verse vis te verlengen door de vis voorafgaand aan of tijdens het verpakken ervan te besproeien met een waterige oplossing van nisine. Dit blijkt echter in de praktijk echter niet goed mogelijk, omdat de vis hierbij in contact komt met een waterige oplossing, hetgeen al na korte tijd bewaren de kwaliteit en smaak van het product aantast.

Het is verder ook niet goed mogelijk gebleken om de doorzichtige kunststof VSP folie (die gebruikt wordt om de verse vis te verpakken) te bekleden met een waterige oplossing van nisine (en de bekleding vervolgens te drogen om er zo voor te zorgen dat de verse vis wel met nisine, maar niet met een waterige oplossing in contact komt). Dit is omdat de nisine hierbij, na het drogen van deze waterige bekleding, vlekken of een waas op de folie achterlaat (hetgeen - zoals hierboven gezegd - betekent dat de consument het product niet zal willen kopen).

Uw cliënt heeft ook nog geprobeerd om de houdbaarheid te verbeteren door de drager (in plaats van de folie) te bekleden met nisine (waaronder de bekledingsoplossing die bij de

uitvinding wordt gebruikt) te bekleden. Ook dit bleek echter niet goed mogelijk, omdat zelfs wanneer cyclodextrine wordt gebruikt (als hechtmiddel) het niet goed mogelijk is om de bekleding voldoende aan de drager (van kunststof of bekleed karton) te laten hechten om zo een verbetering van de houdbaarheid te verkrijgen. Deze hechting is zelfs zo slecht dat de
5 nisine/cyclodextrine los laat van de drager wanneer deze wordt vastgepakt of verwerkt. Deze problemen doen zich niet voor wanneer de folie (i.p.v. de drager) wordt bekleed, omdat de cyclodextrine veel beter aan de VSP folie hecht.

Uw cliënt heeft nu, uitgaande van de bekende VSP folies die reeds op de markt zijn, een doorzichtige en flexibele kunststof folie ontwikkeld voor het VSP verpakken van verse vis, die
10 een aanzienlijk verlengde houdbaarheid geeft, met name doordat de folie in staat is om de groei van *Listeria* aanzienlijk te remmen (uw cliënt verwijst u hiervoor naar het bijgevoegde experimentele rapport).

De folie volgens de uitvinding omvat een op zichzelf bekende VSP folie, die op een zijde ervan is bekleed met een bekleding die nisine en cyclodextrine bevat. Cyclodextrine is een
15 hechtmiddel dat bijvoorbeeld wordt gebruikt bij het bekleden van de binnenzijde van blikjes voor frisdrank en bier. Net als nisine is cyclodextrine volledig veilig en goedgekeurd voor gebruik bij voedingsmiddelen (met andere woorden: "food grade"). Verder is cyclodextrine net als nisine goedkoop en algemeen in de handel verkrijgbaar.

De beklede folie kan eenvoudig worden verkregen door op zichzelf bekende doorzichtige
20 folies voor VSP op een zijde ervan te bekleden met de bekleding van cyclodextrine en nisine. Hierbij kan iedere folie worden gebruikt die gangbaar is voor VSP (zoals gezegd, uw cliënt en anderen brengen dergelijke VSP folies al jaren op de markt).

De bekleding kan eenvoudig op de VSP folie worden aangebracht door de VSP folie te besproeien met een waterige bekledingsoplossing van nisine en cyclodextrine, en de aldus
25 verkregen bekleding te drogen.

Het is gebleken dat door het gebruik van cyclodextrine in de bekleding/bekledingsoplossing de hierboven vermelde problemen (die optreden wanneer een waterige oplossing van nisine zonder cyclodextrine als bekledingsoplossing wordt gebruikt, zoals het vormen van vlekken of een waas op de folie) kunnen worden vermeden, zolang aan de volgende

voorwaarden wordt voldaan (uw cliënt verwijst u hiervoor naar Voorbeeld 1 van het bijgevoegde Proefverslag):

- de aangebrachte bekledingslaag mag niet dikker zijn dan 0,5 mm (omdat anders de bekleding na drogen een ondoorzichtige waas op de folie vormt) en mag niet dunner zijn dan 0,2 mm (omdat anders de bekledingslaag te dun is om de groei van *Listeria* tegen te gaan). De dikte van de bekleding kan eenvoudig worden geregeld door de parameters en de apparatuur die gebruikt worden om de folie te besproeien en te drogen op geschikte wijze in te stellen (zie de gedetailleerde beschrijving hieronder). Het gebruik van cyclodextrine in de bekledingsoplossing maakt het hierbij ook mogelijk om een gelijkmatige bekledingslaag met de gewenste dikte te bereiken (het is niet goed mogelijk om een gelijkmatige bekledingslaag op de folie te vormen wanneer een waterige nisine-oplossing zonder cyclodextrine wordt gebruikt, zodat er onaanvaardbare vlekken ontstaan);
- de hoeveelheid cyclodextrine in de waterige bekledingsoplossing mag niet minder zijn dan 15 gew.% (betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing), omdat er anders te weinig cyclodextrine in de bekleding aanwezig is om na drogen een goede bekledingslaag te vormen (zodat de nisine vlekken op de bekledingslaag vormt). Verder mag de hoeveelheid cyclodextrine in de waterige bekledingsoplossing niet meer zijn dan 40 gew.% (betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing), omdat de bekleding anders een ondoorzichtige waas op de folie vormt;
- de hoeveelheid nisine in de waterige bekledingsoplossing mag niet minder zijn dan 5 gew.% (betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing), omdat er anders te weinig nisine in de bekleding aanwezig is om de groei van *Listeria* tegen te gaan. Verder mag de hoeveelheid nisine in de waterige bekledingsoplossing niet meer zijn dan 10 gew.% (betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing), omdat anders de nisine na drogen vlekken in de bekleding vormt.

Het is gebleken dat de aldus verkregen folie met een bekleding van nisine en cyclodextrine volkomen doorzichtig is (zonder enige waas of vlekken) en de groei van *Listeria* gedurende ten minste 25 dagen bij 4 °C kan tegengaan (uw cliënt verwijst u hiervoor opnieuw naar Voorbeeld 1 van het bijgevoegde Proefverslag).

Een ander voordeel is dat de beklede folie gemakkelijk uit bekende VSP folies kan worden gemaakt (eenvoudigweg door een bekende VSP folie te bekleden, waarvoor algemeen bekende bekledingsmachines/processen kunnen worden gebruikt) en vervolgens op dezelfde manier kan worden gebruikt voor het VSP-verpakken van verse vis als de bekende (niet-beklede) VSP folies, ofwel bij handmatig VSP-verpakken van verse vis ofwel in bekende machinale productielijnen voor het filletteren en VSP verpakken van verse vis.

Uw cliënt is er ook in geslaagd, onder volstrekte geheimhouding ⁽¹⁾, een proof-of-concept te verkrijgen voor het gebruik van zijn nieuwe VSP folie in een machinale productielijn voor het verpakken van vis.

Uw cliënt heeft hierbij met name gekeken of zijn beklede VSP folie een hogere mate van “uitval” (in het Engels: "loss") zou geven (d.w.z. het aantal verpakkingen die na het “heat-sealen” niet volledig vacuüm zijn en daarom moeten worden weggegooid) dan de bekende niet-beklede folies. Dit bleek niet het geval te zijn: de mate van uitval bij gebruik van de beklede VSP folie (ongeveer 1,4 %) was volledig vergelijkbaar met de mate van uitval die op dit moment in de visverwerkingsindustrie gangbaar is wanneer bekende niet-beklede VSP folies worden gebruikt (ongeveer 1,5 %). Deze mate van uitval is weliswaar hoog, maar wordt tot op heden binnen de industrie algemeen aanvaard, omdat het tot dusverre nog op geen enkele manier mogelijk is gebleken om de mate van uitval bij VSP verpakken verder terug te brengen.

Uw cliënt vertelt u dat zijn nieuwe VSP folie ook hiervoor een oplossing biedt. Hij heeft namelijk bij zijn proof-of-concept gevonden dat de mate van uitval met een factor van ten minste 10 kan worden teruggebracht (naar minder dan 0.2 %) als de folie zowel (i) tijdens of direct na (dat wil zeggen, binnen 5 tot 10 seconden na) het aanbrenge van de bekledingsoplossing op de folie, als ook (ii) tijdens of direct na (dat wil zeggen, binnen 5 tot 10 seconden na) het heat-sealen gedurende enkele seconden (dat wil zeggen 1 tot 3 seconden) wordt bestraald met ultraviolet licht met een golflengte tussen 380 nm en 420 nm en bij een intensiteit van ten minste 5 W/cm² tot 10 W/cm² (andere golflengten, een korte bestralingstijd of een lagere intensiteit geven niet de gewenste verbetering van de mate van verlies, terwijl een langere bestralingstijd of

¹ U dient er bij het beantwoorden van deze tentamenopgave vanuit te gaan dat deze proof-of-concept onder gepaste geheimhouding is uitgevoerd en dan ook **niet publiek** is.

hogere intensiteit de folie doen verkleuren - uw cliënt verwijst u hiervoor naar Voorbeeld 2 van het bijgevoegde Proefverslag). Dit alles kan eenvoudig worden uitgevoerd/bereikt met algemeen bekende en gangbare UV-lampen/apparatuur die op dit moment worden gebruikt voor het uitharden van UV-hardbare inktsoorten.

5 Omdat deze verlaagde uitval een belangrijk commercieel voordeel is (productielijnen voor het VSP verpakken van vis kunnen tot wel 600 verpakte producten per uur afleveren) heeft uw cliënt de folie voor bestralen en na bestralen uitgebreid onderzocht en vergeleken met een folie die niet was bestraald (uw cliënt verwijst hiervoor opnieuw naar Voorbeeld 2 van het bijgevoegde Proefverslag). Uw cliënt heeft hierbij geen enkel waarneembaar fysisch of chemisch
10 verschil kunnen vinden tussen de bestraalde en niet-bestraalde folies, behalve dan de reeds vermelde verlaagde uitval, die uw cliënt toeschrijft aan het feit dat de cyclodextrine (dat zoals gezegd op zichzelf bekend is als hechtmiddel voor het aanbrengen van bekledingslagen op blikjes voor frisdrank en bier) door de twee bestralingsstappen beduidend beter aan de VSP folie hecht en zo tot de lagere uitval leidt.

15 De werkwijze van uw cliënt omvat derhalve de volgende stappen:

a) Het bekleden van een VSP folie op een zijde ervan met waterige oplossing die 5 tot 10 gew.% (betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing) nisine en 15 tot 40 gew.% (betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing) cyclodextrine bevat en het drogen van de aldus beklede folie, zodanig dat na drogen een bekledingslaag met een
20 dikte tussen 0,2 en 0,5 mm op de folie wordt verkregen.

Zoals gezegd kan hiervoor iedere op zichzelf bekende VSP folie worden gebruikt. Het aanbrengen en drogen van de bekledingslaag kunnen op een op zichzelf bekende wijze worden uitgevoerd, bijvoorbeeld met de hand of met gebruikelijke bekledings- en droogapparatuur (bijvoorbeeld door besproeien of door bekleden met een wals en door
25 drogen met infraroodlampen of met een luchtmes). In het laatste geval kunnen de bekledings- en droogapparatuur eenvoudig worden toegevoegd aan een gebruikelijke vol-continue of semi-continue productielijn voor het vervaardigen van VSP folies. Deze apparatuur en technieken zijn algemeen bekend en het is voor iedere deskundige eenvoudig en standaard

vakkennis om deze stappen zo in te stellen dat na drogen een bekledingslaag met de gewenste dikte wordt verkregen.

5 De gedroogde bekledingslaag is met voordeel niet plakkerig of kleverig, zodat de folie bij de onderstaande stap c) eenvoudig kan worden opgerold voor opslag en transport naar de eindgebruiker.

Zoals hierboven gezegd zijn de hoeveelheden nisine en cyclodextrine in de bekledingsoplossing en de dikte van de bekledingslaag essentieel en verplicht, omdat anders niet de gewenste doorzichtige en schone bekledingslaag op de folie wordt verkregen.

10 b) Eventueel tijdens of direct na (dat wil zeggen binnen 5 tot 10 seconden na) het uitvoeren van stap a), het gedurende enkele seconden (dat wil zeggen 1 tot 3 seconden) bestralen van de VSP folie met de bekledingslaag met ultraviolette straling met een golflengte tussen 380 en 420 nm bij een intensiteit tussen 5 en 10 W/cm².

15 Hoewel deze stap b) optioneel is, is gebleken dat het toevoegen van deze stap (in combinatie met de tweede bestralingsstap e) zoals hieronder beschreven) de mate van uitval ("loss") bij VSP verpakken met een factor van meer dan 10 terug kan brengen (zie Voorbeeld 2 van het bijgevoegde Proefverslag).

20 Deze stap b) kan worden uitgevoerd met algemeen bekende ultraviolette lampen met de gewenste golflengte en intensiteit. Dergelijke UV lampen zijn algemeen bekend en worden op dit moment algemeen gebruikt in de grafische industrie voor het uitharden van UV hardbare inkt (bijvoorbeeld in machines voor op hoge snelheid afdrukken van foto's), waarbij een soortgelijke golflengte en intensiteit worden gebruikt. Het is derhalve voor iedere deskundige eenvoudig en standaard vakkennis om gebruikelijke UV lampen voor het uitharden van UV-hardbare inkt op de juiste wijze in te stellen en toe te voegen aan een gebruikelijke vol-continue of semi-continue productielijn voor het vervaardigen van VSP
25 folies, bijvoorbeeld direct volgend op de bij stap a) gebruikte droogapparatuur.

Zoals blijkt uit Voorbeeld 2 van het bijgevoegde Proefverslag zijn de golflengte, de intensiteit, de minimale bestralingstijd en de combinatie met de tweede bestralingsstap e) essentieel en verplicht wanneer men de gewenste verbetering van de uitval wil bereiken.

De maximale bestralingstijd en intensiteit zijn ook essentieel, omdat is gebleken dat een langere bestralingstijd of een hogere intensiteit de VSP folie onaanvaardbaar verkleuren.

- 5 c) Het oprollen van de beklede VSP folie voor opslag en voor transport naar de eindgebruiker, gevolgd door het transporten van de folie naar de eindgebruiker (de visfabriek waar de folie gebruikt gaat worden voor het verpakken van verse vis).

Zoals gezegd is een belangrijk voordeel hierbij dat de folie met de bekleding niet kleverig is en dus gemakkelijk kan worden opgerold voor transport en uitgerold voor gebruik.

- 10 d) Het VSP verpakken van verse vis tussen twee lagen van de aldus verkregen VSP folie, zodanig dat tijdens het verpakken de beklede zijden van de twee gebruikte VSP folies met elkaar in contact komen (waarbij de verpakken vis tussen deze twee lagen VSP folie wordt ingesloten) en zodanig dat de beklede zijde van ten minste een van de gebruikte VSP folies in contact komt met de te verpakken verse vis.

15 Zoals gezegd zal de verse vis hierbij meestal zijn uitgelegd op een kunststof schaal, een stuk bekleed stuk karton of een andere geschikte drager (zoals ook reeds vermeld is het niet goed mogelijk om de drager met cyclodextrine en nisine te bekleden vanwege onvoldoende hechting). Wanneer ook de gewenste verbetering van de mate van verlies moet worden bereikt moeten bij deze stap beide folies bekleed zijn (en bestraald zoals bij stap b) en de beklede zijden met elkaar in contact worden gebracht tijdens de heat-sealing stap.

20 Zoals ook reeds gezegd kan het VSP verpakken van vis in de VSP folie volgens de uitvinding verder op dezelfde manier worden uitgevoerd als het VSP verpakken van vis in de bekende VSP folies zonder bekleding die op dit moment in de visverwerkingsindustrie algemeen worden toegepast. Dit kan handmatig gebeuren of met geschikte machines en productielijnen, zoals algemeen in de visverwerkingsindustrie worden toegepast.

Eventueel kan de folie hierbij ook worden bedrukt.

- 25 e) Eventueel tijdens of direct na (dat wil zeggen binnen 5 tot 10 seconden na) het uitvoeren van stap d), het gedurende enkele seconden (dat wil zeggen 1 tot 3 seconden) bestralen van de VSP verpakking met ultraviolette straling met een golflengte tussen 380 en 420 nm bij een intensiteit tussen 5 en 10 W/cm².

Hoewel ook deze stap e) optioneel is, is gebleken dat het toevoegen van deze stap (in combinatie met de bestralingsstap b) zoals hierboven beschreven) de uitval bij VSP verpakken met een factor van meer dan 10 terug kan brengen (zie Voorbeeld 2 van het bijgevoegde Proefverslag).

- 5 Zoals bij stap b) kan ook deze stap e) met algemeen bekende ultraviolette lampen met de gewenste golflengte en intensiteit worden uitgevoerd, en het is voor iedere deskundige opnieuw eenvoudig en standaard vakkennis om deze stap zo in te stellen dat de gewenste intensiteit en bestralingstijd worden verkregen. Deze stap kan opnieuw handmatig worden uitgevoerd, of de lampen kunnen eenvoudig kunnen worden toegevoegd aan een
- 10 gebruikelijke vol-continue of semi-continue productielijn voor het VSP verpakken van vis, bijvoorbeeld direct volgend op de bij stap d) gebruikte VSP-verpakkingsapparatuur.

Zoals blijkt uit Voorbeeld 2 van het bijgevoegde Proefverslag zijn de golflengte, de intensiteit, de minimale bestralingstijd en de combinatie met de tweede bestralingsstap e) essentieel en verplicht wanneer men de gewenste verbetering van de uitval wil bereiken.

- 15 De maximale bestralingstijd en intensiteit zijn ook essentieel, omdat is gebleken dat een langere bestralingstijd of een hogere intensiteit de VSP folie onaanvaardbaar verkleuren.

f) Het transporteren van de verpakte vis naar de verkoper of eindgebruiker.

Zoals gezegd kan dit worden uitgevoerd met standaard containers voor het luchtvervoer van gekoeld voedsel, die ook met prioriteit door de douane op luchthavens worden ingeklaard.

- 20 De verbeterde houdbaarheid (van ongeveer 10 dagen bij 4 °C zonder de bekleding tot meer dan 25 dagen bij 4 °C met de bekleding) is hierbij een belangrijk voordeel, omdat meer tijd kan worden gebruikt voor transport (hetgeen een lagere belasting op de transportketen plaatst) en/of omdat het verpakte product een langere houdbaarheid heeft op het moment dat het de schappen in de winkels bereikt.

- 25 Uw cliënt vraagt u om een octrooiaanvraag op te stellen voor zijn nieuwe uitvinding, die rekening houdt met de wijze waarop zijn product in de praktijk in de handel zal worden gebracht (en dus bescherming geeft voor zijn handelsproduct), en tevens rekening houdt met hoe zijn product door zijn afnemers (d.w.z. fabrieken die de vis in de folie verpakken) zal worden

gebruikt. Daarnaast geeft uw cliënt aan dat zijn leverancier voor VSP-apparatuur interesse heeft om zijn apparatuur geschikt te maken voor de nieuwe uitvinding, wanneer deze een succes wordt.

PROEFVERSLAG

5 Voorbeeld 1: Tegengaan van de groei van *Listeria* door een bekleding van nisine en cyclodextrine

Een standaard doorzichtige polyethen folie voor het VSP-verpakken van verse vis werd bekleed met een waterige bekledingsoplossing van cyclodextrine en nisine (met verschillende hoeveelheden nisine en cyclodextrine). Daarna werd de bekleding gedroogd tot deze droog was.

10 Vervolgens werd de beklede zijde van de folie besproeid met een suspensie van *Listeria spec.* in een geschikt voedingsmedium. De folie werd vervolgens bij 4°C bewaard. Na 5, 10, 15, 20 en 25 dagen werd de folie onderzocht op de aanwezigheid van kolonies van *Listeria*, alsook op het uiterlijk van de folie (al of geen vlekken, en doorzichtig of ondoorzichtig).

Verskillende gehalten aan nisine en cyclodextrine, en verschillende dikten van de bekledings-
15 laag, werden onderzocht. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 1 (alle gewichtspercentages zijn betrokken op het gewicht van de gebruikte bekledingsoplossing, met water tot 100 gew.%). Hieruit kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- Wanneer de hoeveelheid cyclodextrine in de bekledingsoplossing minder is dan 15 gew.%, dan is het uiterlijk van de folie onaanvaardbaar (vlekken van nisine).
- 20 • Wanneer de hoeveelheid cyclodextrine in de bekledingsoplossing meer is dan 40 gew.%, dan is het uiterlijk van de folie onaanvaardbaar (de bekleding is ondoorzichtig/vormt een waas).
- Wanneer de hoeveelheid nisine in de bekledingsoplossing minder is dan 5 gew.%, dan wordt geen remming van groei van *Listeria* verkregen (vergeleken met de referentie zonder nisine).
- Wanneer de hoeveelheid nisine in de bekledingsoplossing meer is dan 10 gew.%, dan is het
25 uiterlijk van de folie onaanvaardbaar (vlekken van nisine).
- Wanneer de bekledingslaag dunner is dan 0,2 mm, dan wordt geen remming van groei van *Listeria* verkregen (vergeleken met de referentie zonder nisine).

- Wanneer de bekledingslaag dikker is dan 0,5 mm, dan is het uiterlijk van de verkregen folie onaanvaardbaar (de bekleding is ondoorzichtig/vormt een waas).

De verkregen folies die een verbetering van de houdbaarheid gaven en qua uiterlijk ook
5 aanvaardbaar waren zijn in highlight aangegeven in de Tabel.

Tabel I (de commercieel aanvaardbare folies zijn in highlight aangeduid)

hoeveelheid cyclodextrine (*)	hoeveelheid nisine (*)	dikte van de bekledingslaag na drogen	aanwezig van <i>Listeria</i> bij 4°C	uiterlijk van de folie
minder dan 15 gew.%	minder dan 5 gew.%	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Al na 10 dagen	onaanvaardbaar (vlekken)
15, 20, 25, 30, 35 of 40 gew.%	minder dan 5 gew.%	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Al na 10 dagen	doorzichtig/goed
meer dan 40 gew.%	minder dan 5 gew. %	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Al na 10 dagen	onaanvaardbaar (ondoorzichtig/waas)
minder dan 15 gew.%	5, 6, 7, 8, 9 of 10 gew.%	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	onaanvaardbaar (vlekken)
15, 20, 25, 30, 35 of 40 gew.%	5, 6, 7, 8, 9 of 10 gew.%	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	doorzichtig/goed
meer dan 40 gew. %	5, 6, 7, 8, 9 of 10 gew.%	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	onaanvaardbaar (ondoorzichtig/waas)
minder dan 15 gew.%	meer dan 10 gew. %	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	onaanvaardbaar (vlekken)
15, 20, 25, 30, 35 of 40 gew.%	meer dan 10 gew. %	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	onaanvaardbaar (vlekken)
meer dan 40 gew. %	meer dan 10 gew. %	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	onaanvaardbaar (vlekken)
15, 20, 25, 30, 35 of 40 gew.%	5, 6, 7, 8, 9 of 10 gew.%	minder dan 0,2 mm	Al na 10 dagen	doorzichtig/goed
15, 20, 25, 30, 35 of 40 gew.%	5, 6, 7, 8, 9 of 10 gew. %	0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm of 0,5 mm	Pas na 25 dagen	doorzichtig/goed
15, 20, 25, 30, 35 of 40 gew.%	5, 6, 7, 8 9 of 10 gew.%	meer dan 0,5 mm	Pas na 25 dagen	onaanvaardbaar (ondoorzichtig/waas)
25 gew. % (referentie)	0 gew. % (referentie)	0,3 mm (referentie)	Al na 10 dagen (referentie)	doorzichtig/goed

Opm.: Gewichtspercentages betrokken op het totale gewicht van de bekledingsoplossing, waarbij de bekledingsoplossing met water tot 100 % wordt aangevuld.

Voorbeeld 2: Verbeteren van de mate van uitval door bestralen met UV licht.

Bij dit Voorbeeld 2 werd een standaard doorzichtige polyetheen folie voor het VSP-verpakken van verse vis gebruikt die op een zijde ervan was bekleed (zoals beschreven in Voorbeeld 1) met een bekleding van 30 gew.% cyclodextrine en 8 gew.% nisine (beide betrokken op het gewicht van de bekledingsoplossing, met water tot 100 gew.%) met een dikte van 0,35 mm.

Deze folie werd toegepast in een standaard productielijn voor het VSP verpakken van zalmfilets (500 verpakkingen per uur). De folies met de bekleding waren commercieel volledig aanvaardbaar (d.w.z. doorzichtig zonder waarneembare vlekken of waas).

Net als bij Voorbeeld 1 waren de beklede folies in staat om de groei van *Listeria* op de zalmfilets gedurende ten minste 25 dagen bij 4 °C tegen te gaan (vergeleken met 10 dagen voor een verpakking met de VSP folie zonder bekleding – resultaten niet weergegeven).

Ook werd gekeken naar de mate van uitval (“loss”), d.w.z. verpakkingen die na het heat-sealen niet goed vacuüm waren. Zoals blijkt uit Tabel II was het mogelijk om de mate van uitval met een factor 10 te verbeteren door de folie te bestralen met ultraviolet licht met een golflengte van 380, 400 of 420 nm en met een intensiteit van 5, 7 of 10 W/cm² gedurende een tijd van 1 tot 3 seconden. Dit moet dan wel worden gedaan zowel (i) bij of kort na (d.w.z. binnen 5 tot 10 seconden na) aanbrengen van de bekleding; als ook (ii) bij of kort na (d.w.z. binnen 5 tot 10 seconden na) het “heat sealen” van de verpakking (zie Tabel II: bestralen alleen bij het aanbrengen van de bekleding, of bestralen alleen bij het heat-sealen van de verpakking, gaf geen verbetering van de uitval).

Verder leiden het gebruik van een golflengte van minder dan 380 nm of meer dan 420 nm, van een intensiteit van minder dan 5 W/cm², of van een bestralingstijd van minder dan 1 seconde, niet tot een verbetering van de uitval (zie opnieuw Tabel II).

Het gebruik van een intensiteit van meer dan 10 W/cm², of van een bestralingstijd van meer dan 3 seconden, leidde tot een onaanvaardbare verkleuring van de folie.

In Tabel II werd het bestralen uitgevoerd bij een golflengte van 380, 400 of 420 nm en bij een intensiteit van 5, 7 of 10 W/cm² en gedurende een tijd van 1 tot 3 seconden, tenzij anders vermeld (zie hiervoor ook de voetnoten bij de Tabel).

Bij nader onderzoek werd, behalve de verlaagde uitval, geen enkel waarneembaar fysisch of chemisch verschil gevonden tussen de bestraalde en niet-bestraalde folies. Aangenomen wordt dat de twee bestalingsstappen er toe leiden dat de cyclodextrine (nog) beter aan de VSP folie hecht en zo tot de lagere uitval leidt.

Tabel II (condities die een verbetering van de uitval gaven zijn in highlight aangeduid)

Bestralen met UV licht bij of kort na aanbrengen van de bekleding	Bestralen met UV licht bij of kort na het "heat sealen" van de verpakking	Verbetering van de uitval vergeleken met de referentie ?
<u>Nee (referentie)</u>	<u>Nee (referentie)</u>	1,4 % (referentie)
<u>Ja</u>	<u>Ja</u>	<u>Ja</u> (0,11 %)
<u>Ja</u>	<u>Nee</u>	<u>Nee</u> (1,5 %)
<u>Nee</u>	<u>Ja</u>	<u>Nee</u> (1,6 %)
<u>Ja</u> , maar bij een golflengte van minder dan 380nm of meer dan 420 nm (*)	<u>Ja</u>	<u>Nee</u> (1,4 %)
<u>Ja</u>	<u>Ja</u> , maar bij een golflengte van minder dan 380nm of meer dan 420 nm (*)	<u>Nee</u> (1,5 %)
<u>Ja</u> , maar met een intensiteit van minder dan 5 W/cm ² (**)	<u>Ja</u>	<u>Nee</u> (1,3 %)
<u>Ja</u>	<u>Ja</u> , maar met een intensiteit van minder dan 5 W/cm ² (**)	<u>Nee</u> (1,4 %)
<u>Ja</u> , maar met een tijd van minder dan 1 seconde (***)	<u>Ja</u>	<u>Nee</u> (1,3 %)
<u>Ja</u>	<u>Ja</u> , maar met een tijd van minder dan 1 seconde (***)	<u>Nee</u> (1,5 %)
<p>(*) Dit betekent dat het bestralen werd uitgevoerd bij een intensiteit van 5, 7 of 10 W/cm² en gedurende 1, 2 of 3 seconden, maar bij een golflengte van minder dan 380nm of meer dan 420 nm.</p> <p>(**) Dit betekent dat het bestralen werd uitgevoerd bij een golflengte van 380, 400 of 420 nm en gedurende 1, 2 of 3 seconden, maar bij een intensiteit van minder dan 5 W/cm².</p> <p>(***) Dit betekent dat het bestralen werd uitgevoerd bij een golflengte van 380, 400 of 420 nm en bij een intensiteit van 5, 7 of 10 W/cm², maar gedurende minder dan 1 seconde.</p> <p>Opmerkingen:</p> <p>Een intensiteit van meer dan 10 W/cm² leidde steeds tot onaanvaardbaar verkleuren van de folie</p> <p>Een bestralingstijd van meer dan 3 seconden leidde steeds tot onaanvaardbaar verkleuren van de folie</p>		

FIGUUR 1



5

Coated foil for VSP packaging of fish

Filleted fresh fish products are very susceptible to spoilage by gram-positive bacteria such as *Listeria*.

- 5 We have found that a standard commercially available transparent polyethylene foil for vacuum skin packaging (VSP) of filleted fish can be coated with an aqueous solution of food-grade cyclodextrine and nisin, and that the coating thus obtained on the foil (i.e. after drying) can inhibit the growth of *Listeria*.

10 We have tested various amounts of cyclodextrine and nisine, and coating layers of varying thickness. Some representative amounts of cyclodextrine and nisine (in wt.% of the coating composition, with water added to make 100 wt.%) that were found to give the desired results (inhibition of the growth of *Listeria* for at least three weeks at 4 °C, and a transparent and non-sticky coating without visible stains) are given in the Table below.

Amount of nisin	Amount of cyclodextrin	Thickness of coating layer	Inhibition of <i>Listeria</i> at 4 °C	Coating obtained
7 wt.% of coating composition	30 wt.% of coating composition	0,3 mm	at least three weeks	fully transparant, non-sticky and without visible stains
9 wt.% of coating composition	25 wt.% of coating composition	0,5 mm	at least three weeks	fully transparant, non-sticky and without visible stains
8 wt.% of coating composition	35 wt.% of coating composition	0,2 mm	at least three weeks	fully transparant, non-sticky and without visible stains
5 wt.% of coating composition	40 wt.% of coating composition	0,4 mm	at least three weeks	fully transparant, non-sticky and without visible stains

15

One of these coated foils (30 wt.% cyclodextrin, 7 wt.% nisin, 0,3 mm thick) was also successfully used for vacuüm skin packaging (VSP) of fresh tuna fillets in standard high-throughput VSP equipment (providing 600 heat-sealed vacuüm-packages per hour).

5 The presence of the coating had no influence on the quality, taste or appearance of the product, and also for the packaged fish the growth of *Listeria* was fully inhibited for at least three weeks.

The loss (packages that were not fully vacuüm after heat-sealing) in this packaging process was about 1,5 percent, which is comparable to standard loss rates in the industry when commercially available non-coated VSP foils are used in standard production lines for VSP packaging of fish.