

19



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

11 1018568

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1018568

51 Int.Cl.⁷
C08B37/00, A61K31/716

22 Ingediend: 17.07.2001

41 Ingeschreven:
20.01.2003

47 Dagtekening:
21.01.2003

45 Uitgegeven:
03.03.2003 I.E. 2003/03

73 Octrooihouder(s):
Nederlandse Organisatie voor
toegepast-natuurwetenschappelijk onderzoek
TNO te Delft.

72 Uitvinder(s):
Wim van der Wilden te Rotterdam
Ingrid Karin Haaksman te Amersfoort
Peter Frank Ekhardt te Amsterdam
Jan Matthijs Jetten te Zeist

74 Gemachtigde:
Ir. A. van Westenbrugge c.s. te 2517 KZ Den
Haag.

54 **Winning van polysachariden uit plantaardig en microbieel materiaal.**

57 Nuttige polysachariden, zoals β -1,3-glucanen, uit een biologische grondstof kunnen worden gesolubiliseerd en/of geïsoleerd door behandeling van de grondstof met een oxidatiemiddel dat leidt tot oxidatie van primaire hydroxylgroepen in het glucaan. Het oxidatiemiddel is bij voorkeur een katalytische hoeveelheid van een nitroxylverbinding in aanwezigheid van een reoxidator zoals hypochloriet of een oxidatief enzym met zuurstof of waterstofperoxide. Het polysacharide behoudt daarbij zijn nuttige eigenschappen, en is bovendien beter beschikbaar. Indien gewenst kan ook eiwitmateriaal uit de grondstof worden benut.

NL C 1018568

De inhoud van dit octrooi wijkt af van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en). De oorspronkelijk ingediende stukken kunnen bij het Bureau voor de Industriële Eigendom worden ingezien.

Winning van polysachariden uit plantaardig en microbieel materiaal

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze ter behandeling van biologisch materiaal, zoals gistcellen en resten en extracten van plantaardig materiaal met het oog op het winnen en benutten van polysachariden en derivaten daarvan.

- 5 De celwand van diverse gistsoorten zoals bakkersgist (*Saccharomyces cerevisiae*) bestaat voor grotendeels (80-90% van de droge stof) uit polysachariden. Dit zijn meest glucanen en mannanen, en een kleine hoeveelheid chitine. De binnenlaag bevat β -1,3- en β -1,6-glucanen en de buitenlaag bevat mannoproteïnen, die op hun beurt vaak covalent aan de inwendige glucaanlaag zijn gebonden. Verder bevatten gistcelwanden
- 10 wisselende hoeveelheden eiwitten, vetten en anorganisch fosfaat. In industriële gistcelwandpreparaten is het eiwitgehalte vaak hoger (15-30%) en het polysacharidegehalte dienovereenkomstig lager.

- De β -glucanen en mannoproteïnen hebben nuttige eigenschappen. De β -glucanen, die bestaan uit een keten van β -1,3 gekoppelde glucopyranosyl-eenheden met zijdelings
- 15 β -1,6 gekoppelde glucopyranosyl-eenheden versterken het menselijk afweersysteem. Dit leidt tot tumorwerende, antibacteriële, antivirale, stollingsremmende en wondhelende werkingen (Bohn, J.A. en BeMiller, J.N. (1995) *Carbohydrate Polymers*, **28**, 3-14). De mannoproteïnen blijken bruikbaar als emulgator (Cameron, D.R. c.s. (1998) *Appl. Environm. Microbiol* **54**, 1420-1425); die zijn daarbij alleen winbaar door
- 20 enzymatische afbraak van de glucanen en dus zonder benutting daarvan.

- Plantaardig restmateriaal, zoals suikerbietenpulp, suikerrietresten en bierbostel, bevat vaak aanzienlijke hoeveelheden waardevolle polysachariden, zoals β -glucanen, arabinoxylanen en cellulose, die geschikt zouden kunnen zijn als voedingsvezels voor mens en dier, prebiotica, vetvervangers, verdikkingsmiddelen, emulgatoren, bevochtigungs-
 25 gingsmiddelen en degelijke.

- Hoewel de gistcelresten en ander microbieel en plantaardig restmateriaal dus een potentiëel waardevolle grondstof vormen, is de benutting van dit materiaal tot nu toe nauwelijks tot ontwikkeling gekomen. Een belangrijke oorzaak is dat de tot nu toe beschikbare methoden van winning van de polysachariden en eiwitten, zoals autoclaaf-
 30 extractie (zie Torabizadeh e.a. (1996) *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* **29**, 734), te duur zijn.

Gevonden is nu dat polysachariden uit biologische grondstof doelmatig kunnen worden gesolubiliseerd en, indien gewenst, geïsoleerd door lichte oxidatie met zodanige

middelen en onder zodanige omstandigheden dat uitsluitend of vrijwel uitsluitend primaire hydroxylgroepen worden geoxideerd. Gevonden is verder dat de aldus geoxideerde en geïsoleerde polysachariden hun nuttige biologische eigenschappen hebben behouden, en door hun verhoogde oplosbaarheid ruimer toepasbaar zijn dan de
 5 onbehandelde polysachariden.

Onder polysachariden worden hier verstaan sachariden met gemiddeld meer dan 10 monomeereenheden, alsmede derivaten van polysachariden, proteoglycanen, glycoproteïnen en dergelijke. In het bijzonder gaat het om vooraf in water niet of slecht in water oplosbare (minder dan 2 g per 100 g) polysachariden. De ketenlengte (polymerisatiegraad, DP) kan oplopen tot bij voorbeeld 10.000 of meer (molgewicht ca.
 10 2.500.000) en is in het bijzonder 20-3000, meer in het bijzonder 40-1000. De polysachariden zijn in de biologische grondstof aanwezig in hoeveelheden van 1-75 gew.%, in het bijzonder 2-40 gew.% (droog gewicht), waarbij het overige materiaal gewoonlijk eiwit omvat.

De oxidatie van primaire hydroxylgroepen in polysachariden is op zichzelf bekend. Deze oxidatie is onder andere beschreven voor zetmeel, cellulose en andere glucanen en kan bij voorbeeld worden uitgevoerd met stikstofdioxiden ($\text{NO}_2/\text{N}_2\text{O}_4$ of nitriet/nitraat, zie Nederlandse octrooiaanvraag 9301172) en vooral met nitroxylverbindingen in aanwezigheid van een reoxidator zoals hypochloriet, perazijnzuur, perzwavelzuur (zie WO 95/07303, WO 99/57158). De reoxidator voor de nitroxylverbindingen kan ook waterstofperoxide of zuurstof zijn, waarbij bijvoorbeeld een oxidatief enzym zoals een peroxidase, een laccase of een ander fenoloxidase, of een metaalcomplex aanwezig is, zie WO 00/50388 en WO 00/50621). Bij deze wijzen van oxidatie kan in eerste instantie een aldehyde worden gevormd, dat vervolgens wordt
 20 omgezet in een carbonzuur.

De nitroxylverbindingen zijn in het bijzonder 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl (TEMPO) en derivaten (zoals 4-hydroxy-, 4-acetoxy-, 4-aceetamido-TEMPO) en analoge oxazolidine- en pyrrolidineverbindingen. Deze kunnen in katalytische hoeveelheden, bij voorbeeld 0,1-5 mol% ten opzichte van de verwachte hoeveelheid polysacharide (in monosacharide-equivalenten) worden toegepast. Daarbij bepaalt de
 30 hoeveelheid reoxidator (zoals hypochloriet of zuurstof) de uiteindelijke oxidatiegraad van het product. Ook kan de nitroxylverbinding vooraf, bijvoorbeeld met zuurstof of waterstofperoxide en oxidatief enzym) worden geoxideerd tot nitrosoniumverbinding,

die als zodanig in de gewenste hoeveelheid aan het biologische materiaal wordt toegevoegd, en achteraf wordt geregenereerd.

Bij de werkwijze volgens de uitvinding wordt het polysacharide bij voorkeur slechts gedeeltelijk geoxideerd, bij voorbeeld voor 3-30%, wanneer het polysacharide bestemd is voor toepassing in geneesmiddelen of voedingsmiddelen. Indien gewenst voor de beoogde toepassing kan de oxidatie ook verdergaand worden uitgevoerd, bij voorbeeld tot 90% oxidatie van de aanwezige anhydroglycose-eenheden.

Na de oxidatie tot het gewenste niveau kan het geoxideerde polysacharide eenvoudig worden geïsoleerd, bij voorbeeld door scheiding van het reactiemengsel in een oplosbare fractie, die het geoxideerde polysacharide tezamen met zouten en ander gemakkelijk afscheidbare componenten bevat, en een onoplosbare fractie, die vooral uit eiwitten en ander voor de toepassing van het polysacharide ongewenst biologisch materiaal bevat.

De werkwijze volgens de uitvinding is niet alleen geschikt voor het isoleren van glucanen uit celwanden van gisten, schimmels, bacteriën en ander micro-organismen, maar ook van soortgelijke glucanen of andere polysachariden uit ander biologisch materiaal waarin de polysachariden samen met eiwitmateriaal en andere moeilijk scheidbare componenten aanwezig zijn. Voorbeelden daarvan zijn grassen, suikerbietenresten, bietenpulp (arabinoxylanen en arabinogalactanen), bierbostel, plantencelwanden en andere plantaardige resten. Het grote voordeel van de werkwijze volgens de uitvinding is dat geen of weinig voorscheiding van andere biologische componenten uit het uitgangsmateriaal nodig is.

Wel is nodig dat de te solubiliseren en/of te isoleren polysachariden primaire hydroxylgroepen bezitten, zoals in 1,2-, 1,3- en 1,4-verknoopte polyhexoaldopyranosiden, 2,1- en 2,6-verknoopte polyhexoketofuranosiden, 1,2- en 1,3-verknoopte polyaldopentofuranosiden e.d.

Hoewel met minder voorkeur, kan de gedeeltelijke oxidatie van de polysachariden ook aan andere dan primaire hydroxylgroepen plaatsvinden, zoals door 2,3-oxidatie in het geval van (arabino)xylanen en (arabino)galactanen en andere polysachariden die eenheden -CHOH-CHOH- bevatten, waarbij deze eenheid in twee aldehydgroepen en/of carboxylgroepen wordt omgezet. Deze oxidatie kan geschieden met bijvoorbeeld hypochloriet of perjodaat/chloriet zoals op zichzelf bekend voor de oxidatie van polysachariden. In dit geval wordt de oxidatie bij voorkeur aan slechts 1-10 % van de beschikbare anhydroglycose-eenheden uitgevoerd, ter voorkoming van te veel

ketenverkorting en te sterke verandering van de ruimtelijke structuur van het polysacharide. Eventueel kan deze oxidatie worden gecombineerd met oxidatie van primaire hydroxylgroepen zoals boven beschreven.

De geoxideerde polysachariden, in het bijzonder β -1,3-glucanen volgens de
 5 uitvinding zijn bruikbaar als gezondheidsbevorderend middel of geneeshulpmiddel, in het bijzonder als immuunversterkend middel. Zij kunnen ook worden gebruikt als voedingscomponent, hetzij vanwege de calorische waarde, bij voorbeeld in diervoeders, hetzij vanwege de waarde als voedingsvezel of als prebioticum in voedingsmiddelen of nutraceutica voor mens of ander (zoog)dier. Voor dergelijke toepassingen kunnen zijn
 10 in hoeveelheden van bijvoorbeeld 10 mg tot 2 g per kg lichaamsgewicht, in het bijzonder 50 mg – 1 g per kg, worden toegediend. Verder zijn zij bruikbaar als bindmiddelen, absorptiemiddelen, bevochtigingsmiddelen voor cosmetica of lichaamsverzorging, verdikkingsmiddelen, emulgatoren, metaalcomplexanten en dergelijke. Voor die toepassingen kunnen zij als zodanig, gemengd met dragers of vulmiddelen, in
 15 waterige oplossing, al of niet combinatie met andere werkzame stoffen, worden toegepast, in preparaten in hoeveelheden van bijvoorbeeld 0,1-500 g, in het bijzonder 1-100 g per kg preparaat.

Ook kan het eiwitmateriaal uit de biologische grondstof vaak nuttig worden gebruikt. Wanneer de polysachariden zijn afgescheiden, kan het resterende materiaal, na
 20 eventuele verdere zuivering als eiwitmateriaal worden benut. In het geval van glycoproteïnen, zoals de mannoproteïnen die in de gistcelwanden aanwezig zijn, kunnen deze ook met de werkwijze volgens de uitvinding deels worden geoxideerd en gesolubiliseerd en eventueel gefractioneerd van de polysachariden worden geïsoleerd.

25 *Voorbeeld 1: Oxidatie van geïnactiveerde, droge gist met hypochloriet/TEMPO*

Geïnactiveerde, droge gist (20 gram, hieronder startmateriaal genoemd) werd met 2 M loog op pH 11 gebracht en gedurende een uur geroerd. Vervolgens werd de pH met 4 M zoutzuur op 10 gebracht. Aan het monster werden 200 mg TEMPO en 100 mg natriumbromide toegevoegd. De reactie startte na het gedoseerd toevoegen van 150 ml
 30 (0,129 mol) van een oplossing van natriumhypochloriet in water, waarbij de pH met behulp van een pH-stat constant gehouden werd op pH 10. De reactie werd gestopt nadat 246 ml 0,5 M (0,123 mol) loogoplossing was verbruikt. De oplossing werd neergeslagen met ethanol (eindconcentratie 75%), vervolgens gefiltreerd over een P3 filter, gespoeld met 75 % ethanol en aan de lucht gedroogd. Vervolgens werd het

product opgelost in 400 ml water en gecentrifugeerd (30 minuten, 10.000 rpm). Het verkregen supernatant wordt de wateroplosbare fractie genoemd en werd vervolgens gevriesdroogd. De opbrengst was 11,2 gram, overeenkomend met 56 % van het startmateriaal.

- 5 Het gehalte aan totaal uronzuur (6-COOH van hexopyranose-eenheden) is bepaald met de methode volgens Blumenkrantz *et al.* (*Anal. Biochem.* (1973) 54, 484), waarbij wordt gehydrolyseerd met boorzuur (0,0125 M) in geconcentreerd zwavelzuur en vervolgens 3-hydroxybifenyyl wordt toegevoegd en de extinctie wordt gemeten bij 520 nm. Daarnaast zijn de gehalten aan glucose, glucuronzuur en mannuronzuur bepaald met
- 10 DIONEX HPAEC, door eerst het materiaal volledig te hydrolyseren.

	Startmateriaal	Wateroplosbare fractie
Drooggewicht (g)	20	11,2
Glucose (g)	7,9	0,9
Glucuronzuur (g)		8,0
Mannuronzuur (g)		0,4

Voorbeeld 2: Oxidatie van geïnactiveerde, droge gist met laccase/TEMPO

- Geïnactiveerde, droge gist (10 g) en TEMPO (2,5 g) werden opgenomen in 1 liter 20
- 15 mM succinaat-buffer, pH 5,5 en op 38 °C gebracht. Het reactievat werd geroerd en doorborreld met zuurstof. De reactie werd gestart door toevoeging van 60 units laccase (*Trametes versicolor* laccase, Wacker Chemie; TEMPO Units). Tijdens de reactie, met een totale duur van 6 uur, werden ieder uur 20 Units laccase toegevoegd en werd de pH constant gehouden met een pH-stat. Na afloop van de reactie werd het product
- 20 gecentrifugeerd en werd van het supernatant, de wateroplosbare fractie, het drooggewicht bepaald. Dit bleek 3,1 gram te zijn, overeenkomend met 31% van het startmateriaal.

Conclusies

1. Werkwijze voor het solubiliseren en/of isoleren van polysachariden uit een biologische grondstof die naast de polysachariden ook ander biologisch materiaal bevat, *met het kenmerk* dat men de grondstof behandelt met een oxidatiemiddel dat leidt tot oxidatie van uitsluitend of vrijwel uitsluitend primaire hydroxylgroepen in het glucaan.
2. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij het oxidatiemiddel een katalytische hoeveelheid van een nitroxylverbinding omvat.
3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij het oxidatiemiddel een hypohalogeniet omvat.
4. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij het oxidatiemiddel een peroxidase, een laccase of een polyfenoloxidase omvat.
5. Werkwijze volgens een der conclusies 1-4, waarbij men een zodanige hoeveelheid oxidatiemiddel toepast dat 3-30 hydroxylgroepen per 100 anhydroglycose-eenheden tot carboxylgroepen kunnen worden geoxideerd.
6. Werkwijze volgens een der conclusies 1-5, waarbij de biologische grondstof tevens een eiwitmateriaal omvat.
7. Werkwijze volgens een der conclusies 1-6, waarbij men geen voorafgaande scheiding tussen de polysachariden en ander biologisch materiaal uitvoert.
8. Werkwijze volgens een der conclusies 1-7, waarbij men na de oxidatie de behandelde polysachariden van ander biologisch materiaal, in het bijzonder eiwitten, scheidt door oplossen in een waterig medium.
9. Werkwijze volgens conclusie 8, waarbij men tevens de eiwitten, eventueel in geoxideerde vorm, solubiliseert en/of isoleert.
10. Werkwijze volgens een der conclusies 1-9, waarbij de polysachariden β -glucanen omvatten, waarvan de anhydroglucose-eenheden voor een deel via 1,3-bindingen zijn gekoppeld.

11. Werkwijze volgens conclusie 10, waarbij men gistcellenresten als bron van de polysachariden toepast.
12. Werkwijze volgens een der conclusies 1-9, waarbij de polysachariden arabinoxylanen omvatten.
- 5 13. Werkwijze volgens conclusie 12, waarbij men bietenpulp of graanresten als bron van de polysachariden toepast.
- 10 14. Geoxideerd β -glucaa waarvan de anhydroglucose-eenheden tenminste voor een deel via 1,3-bindingen zijn gekoppeld en waarvan 3-30, bij voorkeur 3-15 primaire hydroxylgroepen per 100 anhydroglucose-eenheden tot carboxylgroepen zijn geoxideerd.
- 15 15. Geoxideerd β -glucaa volgens conclusie 14, met een ketenlengte van 10-3000, bij voorkeur 20-1000 anhydroglucose-eenheden.
16. Toepassing van een geoxideerd polysacharide volgens conclusie 14 of 15, of bereid volgens een der conclusies 1-13 als bevochtigingsmiddel of emulgator.
- 15 17. Toepassing van een geoxideerd polysacharide volgens conclusie 14 of 15, of bereid volgens een der conclusies 1-13 als immuunstimulerend middel of als prebioticum.

SAMENWERKINGSVERDRAG (PCT)

RAPPORT BETREFFENDE NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAAL TYPE

IDENTIFICATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE		KENMERK VAN DE AANVRAGER OF VAN DE GEMACHTIGDE NO 44567 yk	
Nederlands aanvraag nr. 1018568		Indieningsdatum 17 juli 2001	
		Ingeroepen voorrangsdatum	
Aanvrager (Naam) TNO			
Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type		Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr. SN 37459 NL	
I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven)			
Volgens de internationale classificatie (IPC) Int. Cl.7: C08B37/00 C07H3/06			
II. ONDERZOCHETE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK			
Onderzochte minimum documentatie			
Classificatiesysteem		Classificatiesymbolen	
Int. Cl.7:	C08B		
Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie, voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen			
III. ☐ GEEN ONDERZOEK MOGELIJK VOOR BEPAALDE CONCLUSIES (opmerkingen op aanvullingsblad)			
IV. ☐ GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING (opmerkingen op aanvullingsblad)			

**VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN
INTERNATIONAAL TYPE**

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1018568

A. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP
IPC 7 C08B37/00 C07H3/06

Volgens de Internationale Classificatie van octrooien (IPC) of zowel volgens de nationale classificatie als volgens de IPC.

B. ONDERZOCHETE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK

Onderzochte minimum documentatie (classificatie gevolgd door classificatiesymbolen)
IPC 7 C08B

Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie, voor dergelijke documenten, voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen

Tijdens het internationaal nieuwheidsonderzoek geraadpleegde elektronische gegevensbestanden (naam van de gegevensbestanden en, waar uitvoerbaar, gebruikte trefwoorden)
WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN

Categorie °	Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie nr.
X	DATABASE WPI Week 199502 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1995-008765 XP002194095 "Prepn. of water-soluble glucan(s) - by chemical conversion of water-insol. glucan(s)." & HU 66 315 A (HUMAN OLTOANYAGTEMERLO & GYOGYSZERGYARTO), 28 November 1994 (1994-11-28) samenvatting --- -/--	1,3,5,14

☒ Verdere documenten worden vermeld in het vervolg van vak C.

☒ Leden van dezelfde octrooifamilie zijn vermeld in een bijlage

° Speciale categorieën van aangehaalde documenten

- *A* document dat de algemene stand van de techniek weergeeft, maar niet beschouwd wordt als zijnde van bijzonder belang
- *E* eerder document, maar gepubliceerd op de datum van indiening of daarna
- *L* document dat het beroep op een recht van voorrang aan twijfel onderhevig maakt of dat aangehaald wordt om de publikatiedatum van een andere aanhaling vast te stellen of om een andere reden zoals aangegeven
- *O* document dat betrekking heeft op een mondelinge uiteenzetting, een gebruik, een tentoonstelling of een ander middel
- *P* document gepubliceerd voor de datum van indiening maar na de ingeroepen datum van voorrang

- *T* later document, gepubliceerd na de datum van indiening of datum van voorrang en niet in strijd met de aanvraag, maar aangehaald ter verduidelijking van het principe of de theorie die aan de uitvinding ten grondslag ligt
- *X* document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet als nieuw worden beschouwd of kan niet worden beschouwd op inventiviteit te berusten
- *Y* document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet worden beschouwd als inventief wanneer het document beschouwd wordt in combinatie met één of meerdere soortgelijke documenten, en deze combinatie voor een deskundige voor de hand ligt
- *G* document dat deel uitmaakt van dezelfde octrooifamilie

Datum waarop het nieuwheidsonderzoek van internationaal type werd voltooid

28 Maart 2002

Verzenddatum van het rapport van het nieuwheidsonderzoek van internationaal type

Naam en adres van de instantie

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

De bevoegde ambtenaar

Mazet, J-F

VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN
INTERNATIONAAL TYPE

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1018568

C.(Vervolg). VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN

Categorie *	Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie nr.
X	DATABASE WPI Week 197851 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1978-92128a XP002194096 "Beta-1,3-glucan derivs. prodn. - by oxidising at least one methylol gp. in the molecule to a carboxyl gp." & JP 53 130755 A (JAPAN TOBACCO & SALT PUBLIC), 15 November 1978 (1978-11-15) samenvatting ----	14,15
X	WO 95 07303 A (NEDERLANDSE ORGANISATIE VOOR TOEGEPASTNATUURWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK) 16 Maart 1995 (1995-03-16) samenvatting bladzijde 5, regel 1 - regel 19 conclusies ----	14,15
X	NL 1 010 341 C (INSTITUUT VOOR AGROTECHNOLOGISCH ONDERZOEK (ATO-DLO)) 5 Juni 2000 (2000-06-05) samenvatting bladzijde 1, regel 21 - regel 27 conclusies ----	14,15
X	NAOHITO OHNO ET AL.: "Solubilization of yeast cell-wall B-(1->3)-D-glucan by sodium hypochlorite oxidation and dimethyl sulfoxide extraction" CARBOHYDRATE RESEARCH, deel 316, 1999, bladzijden 161-172, XP004171909 bladzijde 163, linker kolom, regel 32 -rechter kolom, regel 24 ----	1,3,6,7, 10,11, 14,15,17
A	ARJAN E. J. ET AL.: "Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans" CARBOHYDRATE RESEARCH, deel 269, 1995, bladzijden 89-98, XP001066334 samenvatting -----	1-3

**VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN
INTERNATIONAAL TYPE**

Informatie over leden van dezelfde octrooifamilie

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1018568

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie	
HU 66315	A	28-11-1994	HU 66315 A2	28-11-1994
JP 53130755	A	15-11-1978	JP 1290346 C	29-11-1985
			JP 60014761 B	16-04-1985
WO 9507303	A	16-03-1995	NL 9301549 A	03-04-1995
			WO 9507303 A1	16-03-1995
NL 1010341	C	18-04-2000	NL 1010341 C2	18-04-2000