



NUMERO DE PUBLICATION : 1004313A4

NUMERO DE DEPOT : 8700302

Classif. Internat.: C12P

MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

Date de délivrance : 03 Novembre 1992

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d' invention, notamment l' article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d' invention, notamment l' article 28;

Vu le procès verbal dressé le 24 Mars 1987 à 15h30
à l' Office de la Propriété Industrielle

ARRETE :

ARTICLE 1.- Il est délivré à : SOCIETE NATIONALE ELF AQUITAINE
Tour Elf, place de la Coupole 2, La Défense 6, F-92400 COURBEVOIE(FRANCE)

représenté(e)(s) par : KUBORN Jacques, OFFICE HANSENS S.P.R.L., Square
Marie-Louise, 40 Bte 19 - B 1040 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : PROCEDE POUR L' EXECUTION DE REACTIONS ENZYMATIQUES AU SEIN D' UN SOLVANT ORGANIQUE.

INVENTEUR(S) : Gancet Christian, Lot. de la Digue 13, Lons, F-64140 Billere (FR);
Fourmentreaux Philippe, Résidence Berlioz, rue Berlioz, F-64000 Pau (FR); Claude
Guignard, Maison Cadillac, Ossages, F-40290 Habas (FR)

Priorité(s) 26.03.86 FR FRA 8604352

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l' invention, sans garantie du mérite de l' invention ou de l' exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 03 Novembre 1992
PAR DELEGATION SPECIALE :

WUYTS L
Directeur

Procédé pour l'exécution de réactions enzymatiques au sein d'un solvant organique.

La présente invention se rapporte à des réactions enzymatiques réalisées au sein de liquides organiques, c'est-à-dire à des opérations où un substrat donné, en solution ou dispersion dans un solvant organique, est
5 soumis à l'action d'une enzyme. Elle s'applique aux différents types de réactions qui peuvent être réalisées à l'aide d'enzymes, en particulier hydrolyse, dont celle de liaisons ester, transestérifications, interestérifications, synthèses d'esters ou thioesters, amidations, etc.

10 Jusqu'à présent, les nombreuses réactions enzymatiques connues avaient lieu en milieu aqueux, mais lorsque le substrat à traiter est insoluble dans l'eau, comme c'est par exemple le cas des corps gras, il y aurait un intérêt évident à opérer dans un milieu capable de dissou-
15 dre ce substrat. Ainsi a-t-on proposé d'effectuer l'interestérification de matières grasses au sein de l'éther de pétrole qui les dissout (Demande de Brevet Européen 0064855), mais ce solvant est inflammable et déflagrant. Or, le choix du solvant est délicat, parce que celui-ci doit être
20 bien compatible avec l'enzyme, dont il ne doit pas entraver l'action. Récemment, on a trouvé que certains mélanges d'éthers et de cétones conviennent bien, notamment à l'hydrolyse de triglycérides (demande de brevet en France 85 06 388) ; un progrès net est ainsi réalisé, mais on
25 reste encore dans le domaine de matières inflammables et ces mélanges conviennent mal à d'autres réactions, notamment aux estérifications.

La présente invention est basée sur la découverte d'une classe de composés organiques qui, non seulement n'en-
30 travent pas l'action de nombreuses enzymes, mais peuvent même exalter leur action ; ces composés sont ininflammables et inexplosibles et capables de dissoudre différentes substances hydrophobes, en particulier matières grasses.

Ainsi, le procédé pour la réalisation de réac-
35 tions enzymatiques au sein de solvants organiques, suivant

l'invention, est-il caractérisé en ce qu'on emploie un ou plusieurs hydrocarbures fluorés ou halogénofluorés comprenant des halogènes autres que le fluor.

Dans la suite de la présente description, dans le but de simplification, les liquides organiques, employés suivant l'invention, pour servir de milieu réactionnel à l'enzyme, sont appelés hydrocarbures fluorés, mais ce terme recouvre tant les composés seulement fluorés que ceux qui contiennent également d'autres halogènes, en particulier du Cl ou/et du Br.

Nombreux hydrocarbures fluorés, aliphatiques et aryliques, conviennent à la réalisation de l'invention. Cependant, comme il est préférable d'employer des composés relativement peu visqueux, convenant aux températures modérées auxquelles ont lieu les réactions enzymatiques, les dérivés fluorés préférés sont ceux des hydrocarbures en C_1 à C_8 . Dans la classe des hydrocarbures fluorés aliphatiques les plus appropriés sont en C_1 à C_4 , tandis que les aromatiques ont de préférence 5 à 8 C.

Parmi les hydrocarbures fluorés aliphatiques, particulièrement utiles sont ceux qui correspondent à la formule générale, globale : $C_n H_m F_p X_t$ où n est 1 à 8, m = 0 à n, p étant 1 à 18 et t = 0 à 16, X étant Cl ou Br ou pouvant comprendre à la fois des atomes de Cl et Br.

Des composés fluorés bouillant au-dessous de $100^\circ C$, dont certains au-dessous de $0^\circ C$, correspondent à la même formule globale pour n = 1 à 4, m = 0 à n, p = 1 à 4 et t = 0 à 6.

Parmi les hydrocarbures fluorés, utilisables dans l'invention, se trouve le groupe connu sous la dénomination de "Fréons" ou "Foranes", comprenant des liquides frigorigènes. Même ceux dont la température d'ébullition se situe au-dessous de $0^\circ C$ peuvent servir à la réalisation de l'invention, à condition d'opérer sous pression, ce qui peut être parfaitement viable. Un Tableau 1 de caractéris-

tiques de quelques uns des solvants fluorés utilisables est donné plus loin à titre d'exemples non limitatifs.

On peut citer également les composés tels que : fluoro-dichlorométhane, fluoro-dibromométhane, fluoro-dibromo-
5 éthane, fluoro-tétrabromométhane, fluoro-tétrachloroéthane, fluoro-tribromométhane, fluoro-trichloroéthane, fluoro-bromodichloroéthane, difluoro-chloro-1 éthane, difluoro-dibromo-1,1 éthane, difluoro-1,2 éthane, trifluoro-dibromo-1,2 éthane, etc.

10 Le trichloro-fluorométhane CFCl_3 et le trichloro-trifluoro-éthane $\text{CClF}_2\text{-CFCl}_2$ méritent une mention spéciale pour leur utilité dans l'invention.

Parmi les dérivés fluorés aryliques on peut choisir par exemple parmi les fluorobenzène, fluorochloroben-
15 zènes, fluorotoluènes, difluoro-chloro-toluènes, etc.

La plupart des composés fluorés, proposés suivant l'invention, présentent, en plus des avantages de non inflammabilité et non explosibilité, celui de l'absence de toxicité, qualité très importante pour les préparations
20 touchant à l'alimentation, la pharmacie ou la cosmétique. On trouvera plus loin le Tableau 2 donnant le seuil des concentrations tolérables pour l'homme par voie respiratoire, exprimés en ppm et en mg/m^3 ; ce tableau compare les seuils de toxicité de 14 différents composés volatils
25 avec ceux du trichlorotrifluoroéthane, produit type selon l'invention ; il s'avère que l'organisme animal peut tolérer 100 fois plus de cet hydrocarbure chloro-fluoré que de benzène ou de chloroforme.

Suivant une variante de l'invention, l'hydrocar-
30 bure fluoré est employé en association avec un autre liquide, pour former un solvant mixte, présentant un meilleur pouvoir dissolvant vis-à-vis du substrat à traiter, une température d'ébullition convenable, une certaine capacité d'absorption de l'eau ou/et autre caractéristique physique
35 ou physico-chimique améliorée par rapport aux composants du mélange pris séparément.

TABLEAU 1
Caractéristiques des solvants
fluorés

5	Formule	"Fréons" ou "Foranes" n°	$\theta_{EB} \text{ } ^\circ\text{C}^a$	Pression de vapeur à 30°C, ^b bar
	CF_4	14	-128,0	-
10	CF_3Cl	13	- 81,4	40
	CF_2Cl_2	12	- 29,8	7,4
	CFCl_3	11	+ 23,8	1,3
	CF_2ClBr	12B1	- 4,0	3,3
15	CF_3Br	13B1	- 57,8	18,2
	CHClF_2	22	- 40,8	11,9
	CHF_3	23	- 82,1	
	CF_3CF_3	116	- 78,2	40
20	CClF_2CF_3	115	- 38,7	11
	$\text{CClF}_2\text{CClF}_2$	114	+ 3,8	2,50
	$\text{CClF}_2\text{CFCl}_2$	113	+ 47,6	0,54
	$\text{CCl}_2\text{FCCl}_2\text{F}$	112	+ 92,8	-
	CH_3CHF_2	152	- 24,7	-
25	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5\text{CF}_3$	-	+101	-

a pression absolue 1 bar

30 b seuil de pression pour maintenir le solvant à l'état
liquide

TABLEAU 2

Echelle des toxicités comparées de quelques solvants (1982)

Solvant	Seuil de concentration tolérable dans l'air	
	ppm	mg/m ³
5		
Bromure de méthyle	5	-
Tétrachlorure de carbone	5	35
Chloroforme	10	50
Benzène	10	50
10 Ammoniac	25	-
Perchloréthylène	50	335
Trichloréthylène	50	270
White spirit	100	-
Chlorure de méthylène	100	350
15 Hexane	100	360
Trichloro-1,1,1 éthane	350	1900
Butane	800	-
Ethanol	1000	1900
<u>Trichlorotrifluoroéthane</u>	1000	7600
20 Dioxyde de carbone	5000	9000

Ainsi peut-on avoir à utiliser un mélange d'un ou de plusieurs hydrocarbures fluorés avec des liquides comme hydrocarbures aliphatiques ou aryliques, alcools, cétones, éthers, esters, etc. Par exemple, les composés fluorés cités plus haut, ou ceux du Tableau 2, peuvent-ils être pris en mélanges avec de l'éther de pétrole, de l'hexane, de l'octane, du benzène, du toluène, du dioxane, de l'acétone, de la méthyl-éthyl cétone, de l'isopropanol, de l'acétate d'éthyle, etc., ces composés n'étant cités qu'à titre d'exemples non limitatifs. Selon la compatibilité des solvants mélangés la proportion de composé fluoré est en général de l'ordre de 20 à 95% en poids.

Il est à noter que, grâce à l'ininflammabilité de nombreux composés fluorés, les mélanges susindiqués peu-

vent gagner considérablement en sécurité, même s'ils contiennent des composés inflammables à vapeurs explosives.

Bien que les composés fluorés suivant l'invention puissent être employés dans différents cas d'enzymes libres, celles-ci étant dispersées dans le liquide organique, le domaine particulièrement intéressant de leurs applications est celui où l'enzyme est fixée sur un support. Cela concerne tant les systèmes d'enzymes sur support minéral, sur échangeurs d'ions ou polymères, que sur tissus naturels, tels que mycellium, support cellulosique de plante ou autre.

Les hydrocarbures fluorés, appliqués selon l'invention, conviennent dans les différentes techniques enzymatiques connues, notamment en discontinu, en continu dans des colonnes ou réacteurs, sur lit fluidisé et autres.

Le domaine d'application de l'invention est très vaste, puisqu'en général les hydrocarbures fluorés peuvent être employés avec toutes sortes d'enzymes et substrats. Lorsque ces derniers sont hydrosolubles, cette application ne s'impose pas car il est en général économique de travailler en milieu aqueux. Par contre, l'invention prend beaucoup d'intérêt dans les traitements enzymatiques de produits insolubles ou peu solubles dans l'eau ; c'est le cas notamment des graisses, huiles, cires, phospholipides, notamment lécithines, stéroïdes, lipo-protéines, etc.

Ainsi, l'invention s'applique-t-elle à toutes les classes d'enzymes, protéases, oxydases, hydrolases, notamment estérases, lipases, phosphatases, transférases, etc.

Des applications industrielles fort intéressantes résident dans le traitement de corps gras par des lipases en vue de l'hydrolyse ou de la synthèse de liaisons ester, de l'interestérification ou de la transestérification de matières grasses. Il en est de même pour des liaisons thioester ou amide.

Les conditions de température et de concentration, généralement connues dans le domaine des réactions enzymatiques, s'appliquent de même à la présente invention. Ainsi, le plus souvent conviennent des températures de 5 10° à 80°C, et surtout 30° à 50°C. Dans le cas des estérifications d'acides gras, les concentrations préférées en acide se situent vers 0,05 à 1,5 M ou mieux de 0,1 à 1 mole par litre.

Les exemples non limitatifs, qui suivent, illustrent l'invention sur différents cas de réactions enzymatiques d'intérêt industriel. La plupart des essais ayant été effectués avec la lipase produite par le champignon Rhizopus arrhizus (ATCC 24 563), voici le mode de préparation de cette enzyme.

15 Le Rhizopus est cultivé en fermenteur dans le milieu suivant :

	- huile de colza	20 g/l
	- "Corn Steep Liquor"	50
	- KH_2PO_4	2
20	- KCl	0,5
	- NaNO_3	0,5
	- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5

Le pH initial est de 4,6. La croissance a lieu pendant 3-5 jours à 25-30°C. Le mycélium est alors essoré, lavé à l'eau 25 distillée, et séché, soit à l'étuve sous vide à température modérée, soit par lyophilisation.

Le mycélium sec est dégraissé par extraction, puis broyé, tamisé et conservé au sec.

L'activité lipasique du mycélium ainsi préparé se situe entre 0,9 et 4 unités/mg (sur trioléine en émulsion). 30

Les exemples 1 à 42 montrent diverses préparations utilisant la lipase préparée comme indiqué ci-dessus, sauf l'exemple 17 portant sur l'enzyme produite par Geotrichum Candidum cultivé de la même façon. Les exemples 35 29 à 42 donnent les résultats d'une série d'essais compara-

tifs, montrant l'avantage des hydrocarbures fluorés sur divers autres liquides organiques, dans l'estérification d'acides gras.

EXEMPLES 1 à 15

5 Estérification de l'acide oléique avec différents alcools au sein de trichlorotrifluoro-éthane

Dans chaque cas on opère sur 10 ml de solution d'un alcool et d'acide oléique, dans du $\text{Cl}_2\text{FC-CF}_2\text{Cl}$ (Fréon ou Forane 113), dans lequel on a dispersé 0,1 ou 0,2 g de 10 mycélium dévitalisé, anhydre, de Rhizopus arrhizus préparé comme indiqué plus haut, ainsi que respectivement 0,1 ou 0,2 g de tamis moléculaire, pour absorber l'eau formée par 15 l'estérification. Ainsi, selon les cas, la proportion de mycélium est de 10 ou de 20 g par litre de milieu réactionnel ; elle est égale à celle de tamis moléculaire. La réaction a lieu à 30°C pendant la durée indiquée pour chaque cas, au Tableau des résultats ci-après.

Le Tableau indique les concentrations en alcool et en acide oléique en moles/litre.

20 Ex.n°	Alcool	Concentr.en mol/litre:		g de mycélium par l	Durée h	Conversion % de l'acide
		alcool	acide oléique			
	1 méthanol	0,1	0,1	10	2,5	86
	2 "	1	0,5	20	3	62
25	3 éthanol	0,1	0,1	10	2,5	91
	4 "	1	0,5	20	3	70
	5 octanol	0,1	0,1	10	2,5	83
	6 "	1	0,5	20	3	73
	7 butanol	1	0,5	20	3	76
30	8 alcool cinnamique	"	"	"	"	76
	9 " iso-amylique	"	"	"	"	83
	10 " octa-décanol	"	"	"	"	75
	11 " hexadécanol	"	"	"	"	79
	12 " oléique	"	"	"	"	77
35	13 décanol-1	"	"	"	"	78
	14 propanol-1	"	"	"	"	67
	15 glycérol	"	"	"	18	62

Il apparaît que la conversion est plus élevée pour des concentrations plus faibles, 0,1 mol/l, même après des temps un peu plus courts et avec moins de mycelium, que pour des concentrations de 1 mol/l.

- 5 Toujours est-il que le procédé de l'invention permet de réaliser des estérifications de 62 à 91% de l'acide avec divers alcools, ce qui constitue un résultat industriel très intéressant.

EXEMPLE 16

- 10 On opère comme dans les exemples 7 à 14 avec de l'isopropanol en tant qu'alcool et de l'acide myristique à la place de l'acide oléique. La conversion de l'acide est de 12%.

EXEMPLE 17

- 15 Dans l'exemple 16 le mycélium de Rhizopus est remplacé par celui de Geotrichum candidum. La conversion de l'acide gras ressort à 7,6%.

EXEMPLES 18 à 20

- 20 En procédant comme dans les exemples 1, 3 et 5 (concentrations 0,1 M, durée 2^h1/2) on a remplacé le Fréon ou Forane 113 par du Fréon ou Forane 11, c'est-à-dire du trichloro-fluoro-méthane CFC₃. Les conversions de l'acide oléique ont alors été :

- | | | |
|----|--------------------------|-------|
| | avec de l'octanol | 85,4% |
| 25 | " du décanol | 88,3 |
| | " de l'octadécanol | 86,9 |

EXEMPLE 21

Estérification en continu

- 30 Le réacteur est constitué de deux colonnes contenant chacune 5,5 g d'un mycélium de Rhizopus arrhizus dévitalisé pour 10 ml de silice, séparées par une colonne de tamis moléculaire servant de desséchant.

- Le volume mort des colonnes remplies de mycélium est de l'ordre de 15 ml pour un débit de l'ordre de 12 ml/h, ce
35 qui correspond à un temps de séjour de 75 mn par colonne.

Le mélange réactionnel a la composition : acide oléique 0,5 M/l, octanol 0,5 M/l, solvant trichlorotrifluoroéthane. Le taux de conversion de l'acide oléique est de 96,3% en continu.

5 EXEMPLES 22 et 23

Thioestérification

Le mode opératoire est le même qu'à l'exemple 15, c'est-à-dire comme pour les exemples 6 à 14, mais durant 18 heures, les alcools étant remplacés par des mercaptans.

10 On obtient alors les taux de conversion de l'acide oléique suivants :

Ex. 22 : avec du butane-thiol 24%

Ex. 23 : avec de l'hexane-thiol 23%.

EXEMPLE 24

15 Transestérification

Le mélange réactionnel est constitué de 10 ml de trichlorotrifluoroéthane (Fréon ou Forane 113) contenant 1 g de suif et 1 g d'acide laurique.

A ce mélange on ajoute 0,2 g de mycélium de R. arrhizus et

20 on place sous agitation à 30°C pendant 20 heures.

Après séparation du mycélium, le mélange est isolé et analysé par chromatographie gazeuse des dérivés triméthylsilyl des acides gras.

La proportion d'acides gras libérés du suif par transesté-
25 rification est de 44,1%.

EXEMPLES 25 à 27

Amidation

Le mode opératoire est de même que dans les exemples 6 à 14, plus haut, l'alcool y étant remplacé par des
30 amines, soit 1 mol d'amine avec 0,5 mol d'acide oléique par litre ; 20 g de mycélium enzymatique par litre et autant de tamis moléculaire. Le liquide fluoré est le $\text{Cl}_2\text{FC}-\text{CF}_2\text{Cl}$. Les conversions de l'acide oléique sont :

Exemple 25 : avec la dodécylamine 81%
35 " 26 : " l'éthanolamine 28
" 27 : " l'hexaméthylène-diamine 14

EXEMPLE 28Méthanolyse en continu

Le réacteur est constitué par une colonne contenant 5,6 g de mycélium préparé comme précédemment et 10 ml de silice. La température est de 30°C et le temps de séjour de 75 mn.

Le mélange réactionnel comprend du trichlorotrifluoroéthane (Fréon ou Forane 113), contenant en poids du mélange 11,4% de suif raffiné, 2,5% de méthanol et 86,1% de ce composé 10 fluoré.

En régime continu, le taux d'acides gras libérés, sous la forme d'esters méthyliques, atteint 7,9%.

EXEMPLES 29 à 42Estérification avec différents solvants

Aux fins de comparaison l'estérification du n-octanol par de l'acide oléique est effectuée dans les mêmes conditions, avec une série de différents solvants de cet acide gras. Les conditions sont celles des exemples 1, 3 et 5, c'est-à-dire teneurs par litre 0,1 mole pour l'acide 20 comme pour l'alcool, 10 g de mycélium R. arrhizus et 10 g de tamis moléculaire ; 30°C, durée 2^h30.

Voici les conversions % d'acide oléique trouvées.

<u>Exemple n°</u>	<u>Solvant</u>	<u>Conversion %</u>
29	Trichloro-trifluoro-éthane (F113)	83
25 30	Trichloro-fluoro-méthane (F11)	85,4
31	Tétrachloro-difluoro-éthane (F112)	85
32	Perfluoroheptane	81
33	Diphényléther	76
34	Phtalate de dibutyle	68
30 35	Méthyl-t-butyl-éther	56,6
36	Diméthoxy-propane	44,9
37	Phosphate de tributyle	44,2
38	1,2-diéthoxy-éthane	19,4
39	Dioxane	11,3
35 40	Méthyl-octyl cétone	0
41	Diméthyl-formamide	0
42	Diméthyl-sulfoxyde	0

On peut voir que les hydrocarbures fluorés des exemples 29-32 donnent des résultats bien meilleurs que les autres solvants. Certains solvants (exemples 40-42) ne permettent pas du tout de réaliser l'estérification.

5 EXEMPLE 43

Interestérification

Le mélange réactionnel est constitué de suif et d'huile de tournesol, dans le rapport pondéral 70/30 respectivement, en solution dans le trichlorotrifluoroéthane à 10 25%, v/v. Le réacteur est constitué d'une colonne contenant 5,5 g de mycelium de Rhizopus arrhizus dévitalisé pour 10 ml de silice, avec dessiccation préalable du mélange réactionnel sur tamis moléculaire.

Après un temps de séjour de 60 mn, on obtient un taux d' 15 interestérification de 100 % pour une productivité de l'ordre de 1,5 kg de corps gras interestérifié par heure et par kg de mycelium sec, l'opération étant conduite en continu.

Revendications

1. Procédé pour réaliser une réaction enzymatique, le substrat traité se trouvant au sein d'un liquide organique, caractérisé en ce que ce liquide est un hydrocarbure fluoré pouvant renfermer des halogènes autres que le fluor.
- 5 2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que l'hydrocarbure fluoré est aliphatique, pouvant renfermer des atomes Cl ou/et Br.
3. Procédé suivant la revendication 2, caractérisé en ce que l'hydrocarbure fluoré répond à la composition générale $C_n H_m F_p X_t$ où n est 1 à 8, m = 0 à n, p est
10 1 à 18 et t 0 à 16, X étant Cl ou Br ou pouvant comprendre à la fois des atomes de Cl et Br.
4. Procédé suivant la revendication 3, caractérisé en ce que le composé fluoro bout au-dessous de 100°C
15 et, dans sa formule, n est 1 à 4, m = 0 à n, p = 1 à 4 et t = 0 à 6.
5. Procédé suivant une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'hydrocarbure fluoré est le trichlorofluoro-méthane ou le trichloro-trifluoro-éthane.
- 20 6. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que l'hydrocarbure fluoré est arylique, en particulier en C_5 à C_8 .
7. Procédé suivant une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'hydrocarbure fluoré est
25 employé en mélange avec un autre liquide organique, en particulier hydrocarbure, alcool, ester, éther ou cétone, de préférence à raison de 20 à 95% en poids de composé fluoré dans le mélange.
8. Application du procédé suivant une des revendications précédentes à diverses réactions enzymatiques,
30 utilisant en particulier des hydrolases, oxydases, phosphatases, protéases, transférases, estérases, notamment lipases, caractérisée en ce que l'enzyme est immobilisée et

en suspension dans l'hydrocarbure fluoré, le substrat étant dissous ou dispersé dans ce liquide.

9. Application suivant la revendication 8, caractérisée en ce que la réaction enzymatique porte sur une
5 matière grasse en solution dans l'hydrocarbure fluoré.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BE 8700302
BO 3376

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
A	FR-A-2 177 051 (TANABE SEIYAKU) 2 Novembre 1973 * revendications * ---	1	C12P7/64 C12P1/00 C12P13/02
A	US-A-4 166 006 (W.HERTL) 28 Août 1979 * revendications * ---	1	
A	ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES vol. 413, 27 Décembre 1983, NEW YORK, US pages 545 - 547; B.MATTIASSON ET AL.: 'Use of perfluorochemicals for oxygen supply to immobilized cells' * le document en entier * ---	1	
A	EP-A-0 061 023 (HAARMANN&REIMER) 29 Septembre 1982 * page 4; revendications * ---	1	
A	EP-A-0 064 855 (UNILEVER) 17 Novembre 1982 * revendications * ---	1	
A	EP-A-0 118 928 (DUPHAR) 19 Septembre 1984 * revendications * ---	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4)
A	EP-A-0 135 123 (HOECHST) 27 Mars 1985 * revendications * -----	1	C12P C12N C12B
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
LA HAYE		DELANGHE L. L. M.	
27 AVRIL 1992			
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1

EPO FORM 1503 03.82 (P0448)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BE 8700302
BO 3376

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

27/04/92

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR-A-2177051	02-11-73	JP-C- 788460	29-09-75
		JP-A- 48096782	10-12-73
		JP-B- 50000908	13-01-75
		DE-A- 2314631	04-10-73
		GB-A- 1409944	15-10-75
		US-A- 3850753	26-11-74
US-A-4166006	28-08-79	Aucun	
EP-A-0061023	29-09-82	DE-A- 3108927	23-09-82
		JP-B- 3067671	23-10-91
		JP-A- 57170192	20-10-82
		US-A- 4451565	29-05-84
EP-A-0064855	17-11-82	AU-B- 551956	15-05-86
		AU-A- 8338782	24-11-82
		CA-A- 1178549	27-11-84
		WO-A- 8203873	11-11-82
		US-A- 4863860	05-09-89
EP-A-0118928	19-09-84	AU-B- 566136	08-10-87
		AU-A- 2391084	09-08-84
		CA-A- 1208585	29-07-86
		JP-A- 60002190	08-01-85
EP-A-0135123	27-03-85	DE-A- 3330328	14-03-85
		JP-A- 60066975	17-04-85