(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) **N° de publication :** ***3 014 886***

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **13 62815**

(51) Int Cl[8] : ***C 09 B 61/00*** *(2013.01), C 07 D 473/00, 473/18, A 61 K 8/49, 8/98, A 61 Q 1/02, 5/06*

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 17.12.13.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 19.06.15 Bulletin 15/25.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Se reporter à la fin du présent fascicule*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

( ) **Demande(s) d'extension :**

(71) **Demandeur(s) :** *IFREMER (INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER)* — FR, *INSTITUT DE RECHERCHE SUR LES ZONES COTIERES INC.* — CA et *UNIVERSITE DE MONCTON* — CA.

(72) **Inventeur(s) :** BERGE JEAN-PASCAL, DONNAY-MORENO CLAIRE, BRUZAC SANDRINE, ALBERT DANICA, SUBRAMANIAN BALAJI, DJAOUED YAHIA, GAGNON JACQUES et RAMIN ROLAND.

(73) **Titulaire(s) :** IFREMER (INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER),INSTITUT DE RECHERCHE SUR LES ZONES COTIERES INC., UNIVERSITE DE MONCTON.

(74) **Mandataire(s) :** ICOSA SELARL.

(54) PROCEDE D'EXTRACTION DE PURINE.

(57) La présente invention concerne un procédé d'extraction d'une purine par un surfactant, l'extrait de purine obtenu et l'utilisation dudit extrait.

FR 3 014 886 - A1

PROCÉDÉ D'EXTRACTION DE PURINE

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention concerne l'extraction de purines. Plus spécifiquement, la présente invention concerne un procédé d'extraction de la guanine par un surfactant. Avantageusement, la guanine extraite selon l'invention provient d'un matériau naturel riche en guanine, tel que notamment des écailles de poisson.

ÉTAT DE LA TECHNIQUE ANTÉRIEURE À L'INVENTION

De nombreux groupes taxonomiques, tels que les poissons ou les araignées, utilisent des cristaux de guanine pour générer des couleurs structurelles. Une couleur structurelle interagit avec la lumière pour donner des iridescences ou des reflets ; son aspect dépend donc de l'incidence de la lumière. La présence de guanine au niveau de la peau recouvrant leur écailles donne ainsi aux poissons dits argentés (harengs, sardines…) un aspect métallique.

Du fait de ces propriétés colorantes particulières, les cristaux de guanine extraits des écailles de poissons ont été utilisés dans divers domaines. Ainsi, des cristaux de guanine sont utilisés en joaillerie pour recouvrir des billes de résine ou de verre afin de leur conférer l'aspect nacré et iridescent des perles naturelles. En raison de cette utilisation, des émulsions de cristaux de guanine sont disponibles sous l'appellation générique de « pearl essence » ou d'essence d'orient.

Les cristaux de guanine peuvent également être utilisés dans l'industrie cosmétique dans la formulation de produits de soins ou de shampooings, pour leur conférer une couleur blanche iridescente et perlée.

Des procédés d'extraction de cristaux de guanine à partir d'échantillons biologiques, tels que les écailles de poisson, sont connus depuis longtemps.

Le brevet américain GB 188,774 (1921) décrit un procédé de manufacture de cristaux de guanine, dans lequel le matériel brut comprenant des cristaux de guanine (par exemple des écailles de poisson) est traité avec des enzymes animale et/ou diverses substances détersives, par exemple de la saponine. Ce procédé comprend une sédimentation non sélective, ce qui conduit à la co-purification de molécules indésirables.

Le brevet français FR 600.481 (1924) décrit un procédé de purification de cristaux de guanine, comprenant l'utilisation d'un vernis dont le solvant n'est pas miscible à l'eau, par exemple du tétrachloréthane. Ce procédé permet l'obtention d'une émulsion de cristaux.

Le brevet américain US 308,362 (1929) décrit un procédé d'extraction de cristaux de guanine à partir des écailles de harengs, comprenant l'utilisation d'acide hydrochlorique et de pepsine.

Le brevet US 645,803 (1948) décrit un procédé de préparation de cristaux de guanine, ledit procédé utilisant des liquides non miscibles à l'eau tels que des esters, des éthers ou du chloroforme.

Le brevet US 2005/142083 décrit un procédé d'extraction de cristaux de guanine à partir d'écailles de poisson, ledit procédé comprenant un lavage à l'eau sous agitation, une concentration par sédimentation ou centrifugation, et le mélange avec un agent organique, par exemple des esters aromatiques, de préférence en présence d'un surfactant. Ce procédé présente le désavantage d'utiliser des solvants et des huiles difficiles à éliminer, et du $NaBH_4$, qui est un produit toxique et inflammable.

Les procédés de l'art antérieur présentent le désavantage d'être long à mettre en œuvre et d'utiliser des produits polluants et toxiques, par exemple des solvants organiques. Par ailleurs, les sous-produits de ces procédés sont généralement polluants, et chers à éliminer. Il existe donc un risque de contamination de l'environnement, et de toxicité pour le consommateur, notamment lorsque les cristaux de guanine sont intégrés dans des produits cosmétiques.

La présente invention concerne donc un procédé d'extraction de la guanine qui ne présente pas les désavantages des procédés de l'art antérieur. Ainsi, les inventeurs ont développé un procédé d'extraction dans lequel aucun produit polluant ou toxique (tel que, par exemple, un solvant organique) n'est utilisé, afin de limiter les risques de contamination de l'environnement, et d'augmenter la sécurité du consommateur.

RÉSUMÉ

La présente invention concerne donc un procédé d'extraction d'une purine par au moins un surfactant, de préférence par un surfactant anionique, un surfactant zwitterionique et/ou un surfactant non-ionique.

Selon un mode de réalisation, ladite purine est la guanine, l'hypoxanthine ou un mélange de guanine et d'hypoxanthine. Selon un autre mode de réalisation, ladite purine est sous forme cristalline.

Selon un mode de réalisation, la purine est extraite d'un matériau d'origine animale, de préférence d'écailles de poisson.

Selon un mode de réalisation, le surfactant est un surfactant anionique, de préférence sélectionné parmi le sarkosyl, et le disodium cocoyl glutamate et le dipalmitoylethyl hydroxyethylmonium methosulfate. Selon un autre mode de réalisation de l'invention, le surfactant est un dérivé d'acide aminé, de préférence le surfactant est du sarkosyl.

Selon un mode de réalisation, le procédé comprend en outre une étape de blanchiment par un agent blanchissant, de préférence le peroxyde d'hydrogène. Selon un autre mode de réalisation, le procédé de l'invention comprend en outre une étape de digestion enzymatique, de préférence par une catalase. Selon un autre mode de réalisation, le procédé de l'invention comprend en outre une étape de cristallisation, de préférence dans un solvant, plus préférentiellement dans l'eau.

La présente invention concerne également un extrait de purine obtenu par le procédé tel que décrit ci-dessus.

La présente invention concerne en outre l'utilisation d'un extrait de purine selon l'invention comme agent colorant.

La présente invention a également pour objet une composition comprenant l'extrait de purine selon l'invention.

La présente invention concerne également un extrait de purine pur à au moins 20%, caractérisé en ce qu'il n'est pas synthétisé chimiquement ou obtenu par voie chimique. Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine présente un taux de cendres inférieur à 20%; et/ou moins de 2% d'acides aminés en masse par rapport à la masse totale de l'extrait. Selon un autre mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine est caractérisé en ce que sa couleur mesurée selon le modèle CIE Lab (aussi dénommé L*a*b) présente une composante L (clarté) supérieure ou égale à 85, de préférence supérieure ou égale à 88, et plus préférentiellement supérieure ou égale à 90. Selon un mode particulier de réalisation, l'extrait de purine peut en outre être caractérisé par le fait que sa couleur mesurée selon le modèle CIE Lab (aussi dénommé L*a*b) présente les caractéristiques suivantes :

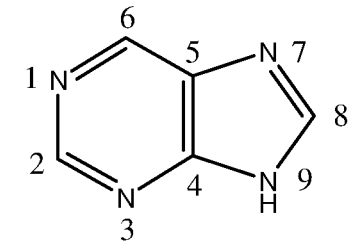
- une composante a (gamme de l'axe rouge-vert) variant de -1 à 1 ; et/ou
- une composante b (gamme de l'axe jaune-bleu) variant de 0 à 15.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, l'extrait présente un taux de peroxyde d'hydrogène résiduel inférieur à 50 mg/L.

DÉFINITIONS

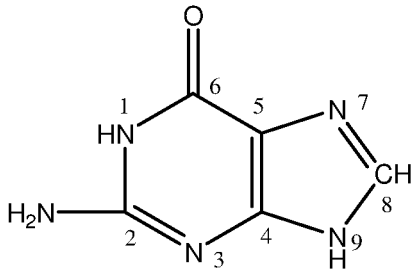
Dans la présente invention, les termes suivants ont la signification suivante:

- « **Purine** » : La purine est une molécule azotée hétérocyclique constituée d'un cycle pyrimidine fusionné à un cycle imidazole. Il existe 6 isomères de constitution usuels de la purine : 9H-purine, 7H-purine, 6H-purine, 3H-purine, 2H-purine et 1H-purine. La structure de la 9H-purine est représentée ci-dessous :



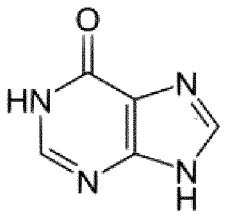
Au sens de la présente invention, le terme « purine » désigne également les dérivés de la purine, parmi lesquels peuvent être cités l'adénine, la guanine, la xanthine, l'hypoxanthine, la théobromine, la caféine, l'acide urique et leurs mélanges.

- « **Guanine** », ou 2-amino-1,9-dihydro-6H-purin-6-one : base azotée purique de formule générale brute $C_5H_5N_5O$, existant sous 6 formes tautomères dont 4 stéréo-isomères (1,9H, 1,7H, 3,9H et 3,7H) et 2 tautomères avec un groupe fonctionnel différent (7,11H et 9,11H : oxo- en hydroxy-). La formule de la 1,9H-guanine est représentée ci-dessous :



La guanine est un colorant blanc accepté dans les produits cosmétiques.

- « **Hypoxanthine** » ou 6-oxypurine : base azotée purique de formule générale brute $C_5H_4N_4O$ ayant pour formule développée la formule suivante :



- « **Acides aminés** » : classe de composés chimiques possédant un groupe carboxyle et un groupe amine, dans lequel le groupe amine est lié à l'atome de carbone adjacent au groupe acide carboxylique (liaison peptidique). Les acides aminés ont

ainsi pour formule générale $H_2N–CHR–COOH$, où *R* représente la chaîne latérale qui identifie l'acide aminé. Un dérivé d'acide aminé désigne un composé chimique pouvant être obtenu à partir d'un acide aminé, par exemple par réaction enzymatique. Un dérivé d'acide aminé comprend une liaison peptidique. De préférence, le dérivé d'acide aminé selon l'invention comprend une extrémité lipophile, typiquement N-terminale, de préférence C6-24 alkyle, acide carboxylique ou ester. De préférence, le dérivé d'acide aminé selon l'invention comprend une extrémité hydrophile, typiquement C-terminale, de préférence acide carboxylique ou ester.

- Par « **alkyle** », on entend une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, de 6 à 24 atomes de carbone.
- Le terme « **acide carboxylique** » (–C(O)OH) désigne une molécule comprenant un ou plusieurs groupement(s) carboxyle(s).
- La fonction « **ester** » désigne un groupement d'atomes formé d'un atome lié simultanément à un atome d'oxygène par une double liaison et à un groupement alcoxy du type -O-R'.
- Par « **alcoxy** », on entend tout groupe O-alkyle ou O-aryle.
- Le terme « **aryle** », signifie un système mono- ou polycyclique de 5 à 20 atomes de carbone possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques parmi lesquels on peut citer le groupe phényle, le groupe biphényle, le groupe 1-naphtyle, le groupe 2-naphtyle, le groupe tétrahydronaphtyle, le groupe indanyle, et le groupe binaphtyle. Le terme aryle signifie aussi tout cycle aromatique comprenant au moins un hétéroatome choisi parmi un atome d'oxygène, d'azote ou de soufre.
- « **Surfactant** » ou « **Tensioactif** » : composé amphiphile qui modifie la tension superficielle entre deux surfaces. Selon un mode de réalisation de l'invention, le surfactant est un « **surfactant ionique** », i.e. un surfactant qui présente une charge nette à pH 7, qui peut être soit positive (« **surfactant cationique** »), soit négative (« **surfactant anionique** »). À l'inverse, selon un autre mode de réalisation, le surfactant est un « **surfactant non ionique** », qui n'est pas chargé à pH 7.

- « **Composé amphiphile** » : composé qui présente une partie lipophile, et une partie hydrophile.
- « **Environ** », placé devant un nombre, signifie plus ou moins 10% de la valeur nominale de ce nombre.
- « **Biodégradable** » : Se dit d'une substance qui peut, sous l'action d'organismes vivants, se décomposer en éléments divers dépourvus d'effet dommageable sur le milieu naturel (définition du JORF n°0087 du 12 avril 2009 page 6438).

DESCRIPTION DÉTAILLÉE

La présente invention concerne un procédé d'extraction d'une purine par un surfactant, de préférence d'une purine insoluble dans l'eau. Plus particulièrement, ledit procédé d'extraction n'utilise pas de liquides ou solvants organiques. Des exemples de solvants organiques sont les solvants hydrocarbonés tels que les alcanes, alcènes, benzène, toluène, xylène ; les solvants oxygénés tels que les alcools, cétones, acides, esters, éthers, DMF, DMSO et HMPT ; et les solvants halogénés tels que les hydrocarbures halogénés (fluorés, chlorés, bromés ou iodés) : perchloroéthylène, trichloréthylène, dichlorométhane, chloroforme, tétrachlorométhane...

Selon un mode de réalisation de l'invention, la purine est sélectionnée dans la liste comprenant la guanine, l'adénine, la xanthine, l'hypoxanthine, la théobromine, la caféine, l'acide urique et leurs mélanges. Avantageusement, la purine est la guanine, l'hypoxanthine ou un mélange de guanine et d'hypoxanthine.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la purine est sous forme cristalline. En conséquence, selon ce mode de réalisation, le procédé de l'invention est un procédé d'extraction de cristaux de purine.

Selon un mode de réalisation de l'invention, ledit cristal de purine comprend de la guanine et de l'hypoxanthine. Selon un mode de réalisation, le ratio guanine:hypoxanthine dans le cristal varie de 50:50 à 99.9:0.1, de préférence varie de 60 :40 à 99 :1, encore plus préférentiellement de 75:25 à 97:3.

De tels cristaux comprenant de la guanine et de l'hypoxanthine peuvent être d'origine animale, et peuvent notamment être synthétisés par certains poissons. Les pourcentages relatifs de guanine et d'hypoxanthine varient selon les espèces animales considérées.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé selon l'invention concerne l'extraction de purine d'un matériau comprenant une purine, de préférence d'un matériau naturel, plus préférentiellement d'origine animale.

Des exemples de matériaux naturels d'origine animale comprenant une purine, de préférence des cristaux de guanine/hypoxanthine incluent, sans y être limités, les écailles de poissons sombres, tels que, par exemple, les harengs, les saumons, les sardines, les carpes Koï, etc… ; les vessies natatoires (aussi connues sous le nom de vessies gazeuses) de certains poissons ; les excréments d'oiseaux ; certains insectes ; certaines araignées, telles que, par exemple, *Tetragnatha montana*, *Latrodectus pallidus* et *Argiope lobata*. Avantageusement, le matériau naturel d'origine animale comprenant des cristaux de guanine/hypoxanthine est formé d'écailles de poissons, de préférence d'écailles de harengs.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant une purine peut avoir été congelé avant d'être soumis au procédé selon l'invention.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant une purine peut être homogénéisé ou lysé avant d'être soumis au procédé selon l'invention. Des méthodes d'homogénéisation ou de lyse d'un substrat avant extraction sont bien connues de l'homme du métier. Des exemples de telles méthodes incluent, sans y être limitées, des méthodes de lyse de cellules ou de tissus pour l'extraction subséquente de protéines et/ou d'acides nucléiques, telles que, par exemple, la lyse de cellules par un tampon contenant du SDS ou une protéinase K, la lyse de cellules par sonication, la lyse de cellules par l'utilisation d'un polytron et/ou de détergent(s).

Selon un mode de réalisation de l'invention, lorsque le procédé de l'invention a pour objet d'extraire une purine soluble dans l'eau, le procédé comprend en outre une étape de précipitation de ladite purine. Les techniques de précipitation des purines solubles

dans l'eau sont spécifiques de chaque purine, et sont bien connues de l'homme du métier. Selon un autre mode de réalisation, lorsque le procédé de l'invention a pour objet d'extraire une purine soluble dans l'eau, ledit procédé peut comprendre une étape d'ultracentrifugation, dont les paramètres pourront être déterminés aisément par l'homme du métier.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le surfactant selon l'invention est un surfactant anionique.

Des exemples de surfactants anioniques qui peuvent être utilisés dans le procédé de l'invention incluent, sans y être limités, le sarkosyl (Sodium lauroyl sarcosinate), le disodium cocoyl glutamate, le dipalmitoylethyl hydroxyethylmonium methosulfate, le dodécylsulfate de sodium (SDS), le 3, 7, 12-Trihydroxy-5β-cholan-24-oic acid, monosodium salt (ou cholate de sodium), et le (3α, 5β, 12α, 20R)- 3, 12-dihydroxycholan-24-oic acid, monosodium salt (ou désoxycholate de sodium) et leurs mélanges.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, le surfactant est un surfactant zwitterionique.

Des exemples de surfactants zwitterioniques qui peuvent être utilisés dans le procédé de l'invention incluent, sans y être limités, le N-Decyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate (ou SB 3-10 ou décyl-sulfobétaïne), le N-Dodecyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate (ou SB 3-12 ou dodécyl-sulfobétaïne), le N-Tetradecyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate (ou SB 3-14) et le 3-[(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate (ou CHAPS) et leurs mélanges.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, le surfactant est un surfactant non-ionique.

Des exemples de surfactants non-ionique qui peuvent être utilisés dans le procédé de l'invention incluent, sans y être limités, le dodécyl-octaéthylèneglycol (C12E8), le nonanoyl-méthylglucamine (MEGA 9), l'octylglucoside, le dodécyl-diméthylamine

oxyde (LDAO), le Triton X-100, le Triton X-114, le Tween- 20, le Tween-60, le tween-80 et leurs mélanges. Selon un mode de réalisation de l'invention, le surfactant est un dérivé amphiphile d'un acide aminé, de préférence est un dérivé amphiphile de la glycine ou de l'acide glutamique. Des exemples de surfactants qui sont des dérivés amphiphiles d'un acide aminé incluent, sans y être limités, le sarkosyl et le disodium cocoyl glutamate et leurs mélanges.

Selon un mode de réalisation de l'invention, un mélange de surfactants est utilisé.

De préférence, le surfactant est le sarkosyl, le disodium cocoyl glutamate ou le dipalmitoylethyl hydroxyethylmonium methosulfate, plus préférentiellement le surfactant est le sarkosyl.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le surfactant est en solution, de préférence est en solution aqueuse.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la concentration de surfactant dans la solution varie de 0.01 à 10% en masse par rapport au volume total de la solution, de préférence de 0.1 à 5% m/v, plus préférentiellement est de environ 1% m/v.

Selon le procédé de l'invention, l'extraction de la purine est réalisée par mélange du matériau comprenant la purine avec un surfactant.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant la purine et le surfactant, de préférence la solution de surfactant, sont mélangés selon un ratio matériau:surfactant variant de 1:1 à 1:10, de préférence de 1:2 à 1:5, encore plus préférentiellement d'environ 1:2.66.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extraction est réalisée sous agitation, de préférence de 100 à 1500 rpm, plus préférentiellement de 500 à 1000 rpm, encore plus préférentiellement à environ 700 rpm.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extraction est réalisée à température ambiante, de préférence entre 15 et 25°C.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant une purine et le surfactant sont laissés en contact pendant une période variant de 1 minute à 2 heures, de préférence de 10 minutes à 1 heure, encore plus préférentiellement pendant environ 30 minutes.

La présente invention a également pour objet un extrait de purine dans un surfactant, obtenu selon le procédé décrit ci-dessus.

La présente invention concerne également un extrait sec de purine, obtenu à partir de l'extrait de purine dans un solvant de l'invention. Selon un mode de réalisation, l'extrait sec de purine est obtenu par centrifugation de l'extrait de purine dans un solvant, optionnellement suivie du séchage du culot de centrifugation.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait sec de purine possède un pourcentage d'humidité inférieur ou égal à 70% en masse d'eau par rapport à la masse totale de l'extrait, de préférence inférieur ou égal à 50% m/m, plus préférentiellement inférieur ou égal à 40%, 20%, 10%, 5%, et encore plus préférentiellement inférieur ou égal à 2% m/m.

Selon un premier mode de réalisation de l'invention, l'extrait sec de purine possède un pourcentage d'humidité variant de 20 à 70%, de préférence de 30 à 60%, encore plus préférentiellement de 40 à 50%, en masse par rapport à la masse totale de l'extrait sec.

Selon un second mode de réalisation de l'invention, l'extrait sec de purine possède un pourcentage d'humidité inférieur ou égal à 10%, de préférence inférieur ou égal à 5%, de préférence inférieur ou égal à 2%, en masse par rapport à la masse totale de l'extrait sec.

En conséquence, selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé selon l'invention comprend en outre une étape de centrifugation de l'extrait de purine dans un surfactant selon l'invention.

Selon un mode de réalisation, la vitesse de centrifugation varie de 3 000 à 10 000 rpm, de préférence de 4 500 à 7 500 rpm, plus préférentiellement la vitesse de centrifugation

est d'environ 6 000 rpm. Selon un mode de réalisation, la vitesse de centrifugation varie de 5 000 à 20 000 g environ, de préférence de 8 000 à 13 000 g environ, plus préférentiellement est d'environ 11 000 g.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le débit de centrifugation varie de 1 à 1000 mL/minute, de préférence de 20 à 500 mL/minute, encore plus préférentiellement le débit de centrifugation est d'environ 120 mL/minute. Selon un mode de réalisation de l'invention, le débit de centrifugation varie de 1 à 1 000 L/heure, de préférence de 50 à 250 L/heure, encore plus préférentiellement le débit de centrifugation est d'environ 100 L/heure.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la centrifugation est réalisée à une température variant de plus de 0°C à 25°C, de préférence de 2°C à 10 °C, encore plus préférentiellement d'environ 4°C.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la centrifugation est réalisée en une étape. Selon un autre mode de réalisation, la centrifugation est réalisée en plus d'une étape, par exemple en 2 étapes.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait sec de purine correspond au culot de centrifugation. Selon un mode de réalisation de l'invention, le culot de centrifugation possède un pourcentage d'humidité variant de 20 à 70%, de préférence de 30 à 60%, encore plus préférentiellement de 40 à 50%, en masse d'eau par rapport à la masse totale du culot.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le culot de centrifugation est séché, par exemple par séchage à l'étuve, à une température variant de 20 à 70°C, de préférence de 30 à 60°C, plus préférentiellement de 45 à 50°C, pendant une période de 1h à 3 jours, de préférence de 12 à 48 heures, plus préférentiellement de 16 à 24 heures.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait sec de purine correspond à l'extrait séché à l'étuve. Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait séché à l'étuve possède un pourcentage d'humidité inférieur ou égal à 10%, de préférence

inférieur ou égal à 5%, de préférence inférieur ou égal à 2%, en masse d'eau par rapport à la masse totale de l'extrait séché à l'étuve.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé de l'invention comprend, préalablement à l'extraction, une étape de lavage du matériau de départ comprenant une purine.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant une purine est lavé à l'eau, de préférence à l'eau froide. Avantageusement, de 1 à 10 volumes, de préférence de 2 à 5 volumes, plus préférentiellement de 3 à 4 volumes d'eau sont utilisés par volume de matériau.

Selon un mode de réalisation de l'invention, ladite étape de lavage est réalisée sur un tamis, afin d'éliminer le maximum d'éléments contaminant le matériau comprenant de une purine. La taille des tamis à utiliser dépend de la nature du matériau comprenant une purine, et peut être facilement estimée par l'homme du métier.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant de la purine est formé d'écailles de poisson, de préférence d'écailles de harengs, et le tamis présente un maillage de 1 à 10 mm, de préférence de 2 à 5 mm, encore plus préférentiellement d'environ 3 mm, afin d'éliminer, par exemple, les restes de poissons ou les algues contaminant le matériau.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé de l'invention comprend, après l'étape d'extraction, une ou plusieurs étapes de tamisage de l'extrait de purine dans un surfactant. Ces étapes optionnelles permettent de retenir les impuretés solides de l'extrait, telles que les restes de matériau dont la purine a été extraite (ci-après désigné « matériau traité »), alors que l'extrait de purine est récupéré dans le tamisât.

La taille des tamis à utiliser dépend de la nature du matériau comprenant de la purine, et peut être facilement estimée par l'homme du métier.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant de la purine est formé d'écailles de poisson, de préférence d'écailles de harengs, et le tamis présente un maillage de 1 à 10 mm, de préférence de 2 à 5 mm, encore plus préférentiellement d'environ 3 mm, afin de retenir les écailles dont la purine a été extraite (constituant le matériau traité).

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau traité est lavé après le tamisage, afin de récupérer le maximum de purine. Selon un mode de réalisation, le lavage est effectué à l'eau sur le tamis, de préférence dans un volume variant de 0.1 à 10 volumes pour 1 volume de matériau traité, de préférence de 0.5 à 5 volumes, plus préférentiellement d'environ 1 volume pour 1 volume de matériau traité.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le tamisât est à nouveau filtré sur un filtre de maillage plus fin.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant de la purine est formé d'écailles de poisson, de préférence des écailles de harengs, et le tamis utilisé lors de la seconde étape de tamisage présente un maillage de 10 µm à 1 mm, de préférence de 50 µm à 500 µm, encore plus préférentiellement d'environ 100 µm, afin notamment de retenir les particules de grande taille, présentes dans l'extrait, telles que, par exemple, des particules de mélanine présentes dans l'extrait.

L'invention a également pour objet le matériau traité du procédé selon l'invention.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé de l'invention comprend en outre une étape de blanchiment de la purine extraite selon de le procédé de l'invention. Avantageusement, l'étape de blanchiment est réalisée avant l'étape de séchage du culot résultant de la centrifugation de l'extrait de purine dans un solvant.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'étape de blanchiment comprend la re-suspension du culot ou de l'extrait sec de purine selon l'invention, dans un agent blanchissant, et l'incubation de la suspension, de préférence sous agitation (par exemple grâce à un barreau magnétique).

Des exemples d'agents blanchissant qui peuvent être utilisés incluent, sans y être limités, le peroxyde d'hydrogène, le permanganate de potassium, le peroxyde de benzoyle, l'acide oxalique, les rayons ultraviolets, les mélanges de permanganate de potassium et d'acide oxalique et le peroxyde d'hydrogène associé à un traitement aux rayons ultraviolets.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'agent blanchissant est une solution de peroxyde d'hydrogène dont la concentration varie de 0.1 à 10% en volume de peroxyde d'hydrogène par rapport au volume total de la solution, de préférence de 1 à 5% v/v, plus préférentiellement d'environ 2% en volume de peroxyde d'hydrogène par rapport au volume total de la solution. Selon un mode de réalisation de l'invention, l'agent blanchissant est une solution de peroxyde d'hydrogène dont la concentration varie de 0.1 à 10% en masse de peroxyde d'hydrogène par rapport au volume total de la solution, de préférence de 1 à 5% m/v, plus préférentiellement d'environ 1.5% m/v.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le temps d'incubation varie de 1h à 48 heures environ, de préférence de 2 à 24 heures environ, plus préférentiellement de 12 à 20 heures environ, et encore plus préférentiellement est d'environ 16 heures.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'incubation est réalisée à température ambiante, de préférence entre 15 et 25°C.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'étape de blanchiment de la purine est suivie d'étapes successives de lavages et de centrifugation afin de réduire la quantité d'agent blanchissant dans l'extrait à une concentration inférieure à 50 mg/L, de préférence inférieure à 20 mg/L, plus préférentiellement inférieure à 10 mg/L. Selon un mode de réalisation de l'invention, les lavages sont réalisés à l'eau, et suivis d'une centrifugation.

Selon un mode de réalisation, la vitesse de centrifugation varie de 3 000 à 10 000 rpm, de préférence de 4 500 à 8 000 rpm, plus préférentiellement la vitesse de centrifugation est d'environ 7 000 rpm.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le débit de centrifugation varie de 1 à 1000 mL/minute, de préférence de 20 à 500 mL/minute, encore plus préférentiellement le débit de centrifugation est d'environ 210 mL/minute.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la centrifugation est réalisée à une température variant de plus de 0°C à 25°C, de préférence de 2°C à 10 °C, encore plus préférentiellement d'environ 4°C.

Selon un mode de réalisation de l'invention, les étapes de lavage et de centrifugation sont répétées jusqu'à atteindre la concentration voulue d'agent blanchissant dans l'extrait. Avantageusement, la concentration voulue est une concentration inférieure à 50 mg/L, de préférence inférieure à 20 mg/L, plus préférentiellement inférieure à 10 mg/L.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le culot de centrifugation est séché, par exemple par séchage à l'étuve, à une température variant de 20 à 70°C, de préférence de 30 à 60°C, plus préférentiellement de 45 à 50°C, pendant une période de 1h à 3 jours, de préférence de 12 à 48 heures, plus préférentiellement de 16 à 24 heures.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le culot de centrifugation est séché par lyophilisation.

Un autre objet de l'invention est un extrait sec blanchi de purine, obtenu selon le procédé décrit ci-dessus.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé de l'invention comprend en outre une étape de cristallisation de la purine extraite selon le procédé de l'invention. Avantageusement, l'étape de cristallisation est réalisée après l'étape de blanchiment telle que décrite ci-dessus.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la cristallisation est réalisée à une température de 60 à 140°C environ, de préférence de 90 à 110°C environ, plus préférentiellement d'environ 100°C.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la cristallisation est réalisée dans un solvant, de préférence dans l'eau. Selon un mode de réalisation de l'invention, le solvant, de préférence l'eau, est ajoutée dans un rapport extrait de guanine : solvant de 1 : 0.1 à 1 : 10 environ, de préférence de 1 : 0.5 à 1 : 5 environ, encore plus préférentiellement de 1 : 0.5 à 1 : 3 environ.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la cristallisation est réalisée pendant 1 minute à 5 heures environ, de préférence pendant 10 minutes à 3 heures environ, plus préférentiellement pendant 30 minutes à 2 heures environ.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'étape de cristallisation conduit à la formation d'une mousse blanche flottante (« écume ») comprenant de la guanine, qui peut être récupérée, par exemple par filtration. Selon un mode de réalisation, la filtration est réalisée dans un filtre de 10 à 500 µm environ, de préférence de 50 à 250 µm environ, plus préférentiellement d'environ 100 µm.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la filtration est une filtration sous vide à chaud.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le filtrat chaud obtenu après la filtration sous vide à chaud est récupéré, il est ensuite laissé reposer pour qu'il refroidisse lentement, et la guanine qui s'était solubilisée durant l'étape de la cristallisation précipite et peut être récupérée, par exemple par filtration sous vide à froid. Avantageusement, le pourcentage de guanine récupérée varie de 0.25 à 2% par rapport à la masse de guanine initialement utilisée pour l'étape de cristallisation.

Selon un mode de réalisation, la guanine récupérée après la filtration est de nouveau recristallisée dans un solvant, de préférence dans l'eau. Selon un mode de réalisation de l'invention, le solvant, de préférence l'eau, est ajoutée dans un rapport extrait de guanine : solvant de 1 : 0.1 à 1 : 10 environ, de préférence de 1 : 0.5 à 1 : 5 environ, encore plus préférentiellement de 1 : 0.5 à 1 : 3 environ.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la recristallisation est réalisée à une température de 60 à 140°C environ, de préférence de 90 à 110°C environ, plus préférentiellement d'environ 100°C.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la recristallisation est réalisée pendant 1 minute à 5 heures environ, de préférence pendant 10 minutes à 3 heures environ, plus préférentiellement pendant 30 minutes à 2 heures environ.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'étape de recristallisation conduit à la formation d'une mousse de guanine flottante, qui peut être récupérée, par exemple par filtration, de préférence par filtration sous vide à chaud. Selon un mode de réalisation, la filtration est réalisée dans un filtre de 10 à 500 µm environ, de préférence de 50 à 250 µm environ, plus préférentiellement d'environ 100 µm.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le filtrat chaud obtenu après la filtration sous vide à chaud est récupéré, il est ensuite laissé reposer pour qu'il refroidisse lentement, et la guanine qui s'était solubilisée durant l'étape de la recristallisation précipite et peut être récupérée, par exemple par filtration sous vide à froid.

Selon un mode de réalisation de l'invention, une autre étape de recristallisation peut être répétée si nécessaire dépendamment du degré de pureté désiré de la guanine.

Selon un mode de réalisation, la mousse blanche flottante comprenant la guanine est ensuite séchée. De préférence, l'étape de séchage est réalisée à une température de 20 à 100°C environ, plus préférentiellement de 35 à 75°C environ, et encore plus préférentiellement d'environ 50°C, pendant 5 à 72 heures environ, de préférence pendant 12 à 48 heures environ, plus préférentiellement pendant 16 à 24 heures environ.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé selon l'invention comprend en outre une étape de digestion enzymatique du matériau comprenant la purine.

Selon un mode de réalisation, cette étape de digestion enzymatique est réalisée après l'étape de blanchiment, si le peroxyde d'hydrogène est utilisé.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la digestion enzymatique est réalisée par une enzyme sélectionnée parmi les catalases. Des exemples de catalases sont les catalases monofonctionnelles, les catalases-péroxydases bifonctionnelles et les catalases contenant du manganèse. De préférence, la catalase est d'origine bactérienne.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la digestion enzymatique est réalisée à une concentration en enzyme de 0.00001% à 5%, de préférence de 0.00005% à 3%, encore plus préférentiellement de 0.0001% à 2%, à une température de 0 à 100 °C, de préférence de 2 à 80°C, encore plus préférentiellement de 4 à 75 °C, pendant une durée de 1 min à 36 heures.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé d'extraction de l'invention permet l'obtention d'un extrait de purine dans un solvant, et comprend ou consiste en les étapes suivantes :

- optionnellement lavage du matériau comprenant la purine ;
- extraction de la purine par un surfactant ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de cristallisation ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de digestion enzymatique ; et
- optionnellement une ou plusieurs étapes de tamisage et lavage du matériau traité.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé d'extraction de l'invention permet l'obtention d'un extrait sec de purine, et comprend ou consiste en les étapes suivantes :

- optionnellement lavage du matériau comprenant la purine ;
- extraction de la purine par un surfactant ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de tamisage et lavage du matériau traité ;
- une ou plusieurs étapes de centrifugation de l'extrait de purine dans un solvant ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de cristallisation ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de digestion enzymatique ; et
- optionnellement une ou plusieurs étapes de séchage du culot de centrifugation.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé d'extraction de l'invention permet l'obtention d'un extrait sec blanchi de purine, et comprend ou consiste en les étapes suivantes :

- optionnellement lavage du matériau comprenant la purine ;
- extraction de la purine par un surfactant ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de tamisage et lavage du matériau traité ;
- centrifugation de l'extrait de purine dans un solvant ;
- incubation du culot de centrifugation dans un agent blanchissant ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de cristallisation ;
- optionnellement une ou plusieurs étapes de digestion enzymatique ;
- lavages et centrifugations de l'extrait de purine ; et
- séchage.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé de l'invention comprend en outre une étape de réduction de l'odeur résiduelle de l'extrait de purine. Avantageusement, cette étape est réalisée lorsque le matériau dont est extraite la guanine est d'origine animale, de préférence provient de poissons.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la réduction de l'odeur résiduelle résulte du traitement de l'extrait de purine par un hydrure métallique complexe, tel que, par exemple, le borohydrure de sodium. Une telle étape de réduction d'odeur résiduelle d'un extrait de purine est décrite dans la demande de brevet US2005/142083.

Avantageusement, pour éviter toute contamination microbienne, par exemple toute contamination bactérienne ou fongique, de l'extrait de purine selon l'invention, le matériau comprenant la purine est conservé au froid jusqu'à l'extraction. Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau comprenant la purine est conservé à moins de 4°C, de préférence est congelé.

Selon un mode de réalisation de l'invention, afin d'éviter toute contamination microbienne de l'extrait de purine, une étape supplémentaire de microfiltration du

dernier tamisât est réalisée, de préférence avec un tamis dont la taille du maillage est de moins de 60 µm, plus préférentiellement de moins de 50 µm, encore plus préférentiellement de moins de 40 µm. Selon ce mode de réalisation, le procédé de l'invention comprend en outre une étape de microfiltration telle que décrite ci-dessus.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait selon l'invention comprend en outre un agent conservateur. Des exemples d'agents conservateurs incluent, sans y être limités, l'acide citrique, l'acide benzoïque ou d'autres agents naturels de conservation décrits par Tiwari et al (Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation, J. Agric. Food. Chem., 2009, 57(14), pp 5987-6000). Tiwari et al. décrivent par exemple des agents antimicrobiens d'origine végétale, animale ou microbienne.

Des exemples d'agents antimicrobiens d'origine végétale incluent, sans y être limités, des huiles essentielles de feuilles (par exemple de romarin, sauge, basilic, origan, thym ou marjolaine), de fleurs ou de bourgeon (par exemple de clou de girofle), de bulbe (par exemple d'ail ou d'oignon), de graines (par exemple de carvi, fenouil, nutgem ou persil), de rhizome (par exemple d'asafoetida) ou de fruits (par exemple de poivre, de piment ou de cardamome), de cannelle ou de citral; des composés issus des végétaux, tels que, par exemple, le carvacrol, le thymol, le citral, l'eugénol et leurs précurseurs ; les isothiocyanates ; la vanilline ; les extraits de citron ; l'aldéhyde cinnamamic ; les terpènes tels que, par exemple, les monoterpènes phénoliques, les terpènes volatiles ; les extraits de thé ou d'ail.

Des exemples d'agents antimicrobiens d'origine animale incluent, sans y être limités, le lysozyme ; la lactoperoxydase ; les peptides antimicrobiens tels que, par exemple, la magainine, le MSI-78, le PR-39, le sphéniscine, la pleurocidine, la dermaseptine, le K4S4, la cecropine P1, la melittine, le LL-37, la clavanine et la curvacine ; les défensines ; la lactoferrine ; le chitosan ; les lipides tels que, par exemple, l'acide eicosapentanoïque (EPA) et l'acide docosahexaenoïque (DHA).

Des exemples d'agents antimicrobiens d'origine microbienne incluent, sans y être limités, des acides organiques ; le peroxyde d'hydrogène ; le diacétyle ; les

bactériocines telles que, par exemple, la nisine, la diplococcine, l'acidophiline, le bulgarican, l'helveticine, la lactacine et la plantaricine ; la reutérine ; la pédiocine.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention est un extrait sec de cristaux de guanine/hypoxanthine, et présente au moins une des caractéristiques suivantes :

- taux de cendres inférieur à 20%, de préférence inférieur à 15%, plus préférentiellement inférieur ou égal à 12% en masse par rapport à la masse totale de l'extrait ; et/ou
- absence d'acides aminés, ou présence de traces d'acides aminés. Selon un mode de réalisation de l'invention, la présence de traces d'acides aminés correspond à la présence de moins de 2% d'acides aminés en masse par rapport à la masse totale de l'extrait, de préférence de moins de 1% m/m, encore plus préférentiellement de moins de 0.5% en masse par rapport à la masse totale de l'extrait ; et/ou
- couleur (composante L (clarté)) mesurée selon le modèle CIE Lab (aussi dénommé L*a*b) supérieure ou égale à 85, de préférence supérieure ou égale à 88, plus préférentiellement supérieure ou égale à 90 ; et/ou
- taux de peroxyde d'hydrogène résiduel inférieur à 50 mg/L, de préférence inférieur à 20 mg/L, encore plus préférentiellement inférieur à 10 mg/L.

Selon un mode particulier de réalisation, l'extrait sec de cristaux de guanine/hypoxanthine peut présenter, outre la valeur de la composante L susdécrite, les caractéristiques suivantes :

- composante a (gamme de l'axe rouge-vert) variant de -1 à 1, de préférence de -0.75 à 0.75, plus préférentiellement de -0.5 à 0.5 ; et/ou
- composante b (gamme de l'axe jaune-bleu) variant de 0 à 15, de préférence de 2 à 12, encore plus préférentiellement de 3.5 à 9.5.

Des méthodes pour mesurer le taux de cendres d'un produit sont connues de l'homme du métier. Un exemple non limitatif de telle méthode comprend le séchage à l'étuve à une température de plus de 100°C, de préférence de plus de 500°C, encore plus

préférentiellement d'environ 650°C, pendant plus d'une heure, de préférence plus de 6 heures, plus préférentiellement pendant la nuit.

Des méthodes d'évaluation de la présence ou de l'absence d'acides aminés dans un échantillon sont connues de l'homme du métier. Un exemple de telle méthode inclut, sans y être limité, une chromatographie en phase gazeuse, par exemple à l'aide du kit EZ FAAST commercialisé par Phenomenex (Torrance, USA).

Des méthodes d'évaluation de la couleur d'un produit selon le modèle CIE Lab sont bien connues de l'homme du métier. Un exemple de telle méthode inclut, sans y être limité, l'utilisation d'un colorimètre, tel que, par exemple un colorimètre portable de marque MiniScan EZ (HunterLab, VA, USA).

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention est pur à plus d'environ 80%, de préférence à plus d'environ 85%, encore plus préférentiellement à plus d'environ 88%. Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention n'est pas synthétisé chimiquement.

Des méthodes de détermination de la pureté d'un extrait sont bien connues de l'homme du métier. Des exemples de méthodes de détermination de la pureté incluent, mais ne sont pas limités à, la détermination de la température de fusion, chromatographie en phase liquide (HPLC), spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-Vis.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait selon l'invention est exempt de toute contamination microbienne. Selon un mode de réalisation de l'invention, la contamination microbienne de l'extrait selon l'invention peut être détectée selon une méthode adaptée de la méthode pour dénombre les bactéries aérobies totales dans des produits et des ingrédients alimentaires au moyen de plaques de dénombrement aérobie PETRIFILM^{MD} 3M^{MD} (Méthode de la DGPS, MFHPB-33 publiée en février 2001, dont le contenu est incorporé par référence). D'autres méthodes de détection d'une contamination microbienne dans un échantillon tel qu'un extrait sont bien connues de l'homme du métier, et peuvent être utilisées dans le cadre de la présente invention.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la contamination bactérienne de l'extrait selon l'invention est inférieur à 100 CFU/mL (où CFU est l'abréviation de colony-forming unit), i.e. le nombre d'organismes microbiens viables est inférieur à 100 par mL de produit ; de préférence inférieur à 50 CFU/mL, plus préférentiellement inférieur à 10 CFU/mL.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait selon l'invention est biodégradable.

Selon un mode de réalisation de l'invention, tous les sous-produits du procédé de l'invention sont biodégradables. Les sous-produits de l'invention sont constitués, par exemple, par le matériau traité, le surfactant et les solutions de peroxyde d'hydrogène.

Selon un mode de réalisation de l'invention, les sous-produits du procédé d'extraction peuvent être recyclés. Selon un mode de réalisation de l'invention, le matériau traité peut être réutilisé, par exemple dans d'autres procédés d'extraction.

Selon un mode de réalisation dans lequel le matériau comprenant de la purine est formé d'écailles de poissons, le procédé selon l'invention comprend en outre une étape d'extraction de l'hydroxyapatite, du collagène et/ou de la gélatine du matériau traité. Un exemple de méthode pour isoler le collagène des écailles de poisson est décrit dans l'article Pati et al (Bioresour Technol., 2010, 101(10) :3737-42).

La présente invention concerne également l'utilisation d'un extrait de purine selon l'invention.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention est utilisé comme colorant.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine est un extrait sec de cristaux de guanine/hypoxanthine, et peut être utilisé comme colorant blanc ou nacré. Des exemples d'utilisation d'un extrait sec de cristaux de guanine/hypoxanthine selon

l'invention incluent, sans y être limités, l'utilisation comme colorant dans des peintures, des vernis, des crèmes, des boutons, du maquillage, des textiles, des shampooings, du verre, des mascaras, des plastiques, films de revêtement…

La présente invention concerne également une composition comprenant un extrait de purine selon l'invention.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la composition comprend une quantité d'extrait de purine variant d'environ 0.01% à environ 95% en masse par rapport à la masse totale de la composition, de préférence d'environ 1% à environ 25% m/m, encore plus préférentiellement d'environ 5% à environ 10% en masse par rapport à la masse totale de la composition.

Le procédé d'extraction selon l'invention présente les avantages suivants :

- utilisation de matière première actuellement considérée comme un déchet lorsque les écailles de poissons sont utilisées ;
- pas d'utilisation de produits toxiques ou polluants tels que des liquides ou solvants organiques ;
- le produit selon l'invention est pur, et notamment :
    - selon un mode de réalisation de l'invention, il contient un faible pourcentage de cendres, qui correspondent à la source de minéraux ; et
    - selon un mode de réalisation de l'invention, il ne contient pas d'acides aminés ou de protéines, qui peuvent être allergènes ;
- tous les produits et sous-produits du procédé sont biodégradables.

Le procédé selon l'invention peut donc être caractérisé de procédé « vert », selon la définition de la chimie verte donnée par l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis (EPA Agency). Selon l'EPA, les 12 principes de la chimie verte sont les suivants : (1) prévention des déchets ; (2) économie d'atomes ; (3) mise en place de synthèses chimiques moins dangereuses ; (4) utilisation de produits chimiques plus sûrs ; (5) utilisation de solvants plus sûrs ; (6) minimiser les besoins en énergie ; (7) utilisation de matières premières renouvelables ; (8) réduire les dérivés dont la

production entraîne des déchets et une consommation d'énergie ; (9) privilégier la catalyse ; (10) utilisation de produits chimiques biodégradables ; (11) analyse en temps réel de la pollution ; et (12) chimie fondamentalement plus sûre, pour prévenir les incidents chimiques. Anastas et Zimmerman donnent également une définition de l'ingénierie verte dans l'article « Design through the 12 principles of green engineering » (Environmental science & technology, 2003).

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé selon l'invention présente un rendement compris entre 1g de purine (extrait sec) pour 10 kg de matériau comprenant une purine et 1kg pour 10kg, de préférence compris entre 10g pour 10 kg et 500g pour 10 kg, encore plus préférentiellement un rendement d'environ 100g de purine pour 10 kg de matériau comprenant une purine.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le procédé selon l'invention permet l'extraction d'environ 100g de guanine (extrait sec) de 10 kg d'écailles de poisson, ce qui correspond à un rendement d'environ 1%.

Par ailleurs, du fait de l'absence de l'utilisation de produits chimiques ou de solvants, le matériau traité peut être réutilisé afin d'extraire d'autres composés, tels que, par exemple, le collagène ou la gélatine des écailles de poissons.

La présente invention concerne également un extrait de purine pur à au moins 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, caractérisé en ce qu'il n'est pas synthétisé chimiquement.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention présente un taux de cendres inférieur à 20%, de préférence inférieur à 15%, plus préférentiellement inférieur ou égal à 12% en masse par rapport à la masse totale de l'extrait ; et/ou moins de 2% d'acides aminés en masse par rapport à la masse totale de l'extrait, de préférence de moins de 1% m/m, encore plus préférentiellement de moins de 0.5% en masse par rapport à la masse totale de l'extrait.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention présente une clarté L mesurée selon le modèle CIE Lab (aussi dénommé L*a*b) supérieure ou égale à 85, de préférence supérieure ou égale à 88, plus préférentiellement supérieure ou égale à 90, encore plus préférentiellement supérieure ou égale à 94.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention présente les caractéristiques suivantes :

- composante a (gamme de l'axe rouge-vert) variant de -1 à 1, de préférence de -0.75 à 0.75, plus préférentiellement de -0.5 à 0.5 ; et/ou
- composante b (gamme de l'axe jaune-bleu) variant de 0 à 15, de préférence de 2 à 12, encore plus préférentiellement de 3.5 à 9.5.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention présente les caractéristiques suivantes :

- composante a (gamme de l'axe rouge-vert) variant de 0 à 1, de préférence de 0.3 à 0.7, plus préférentiellement de 0.35 à 0.65 ; et/ou
- composante b (gamme de l'axe jaune-bleu) variant de 0 à 15, de préférence de 4 à 8, encore plus préférentiellement de 5.4 à 6.9.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'extrait de purine selon l'invention présente un taux de peroxyde d'hydrogène résiduel inférieur à 50 mg/L, de préférence inférieur à 20 mg/L, encore plus préférentiellement inférieur à 10 mg/L.

BRÈVE DESCRIPTION DES FIGURES

Figure 1 : Profil en acides aminés déterminé par chromatographie en phase gazeuse. (A) échantillon de référence. (B) : échantillon obtenu par le procédé de l'invention.

Figure 2 : Spectres micro-RAMAN (A) des guanines de référence (Bioingemar et SIGMA), (B) de la guanine extraite et blanchie au peroxyde d'hydrogène selon le procédé de l'invention, et (C) de la guanine extraite et blanchie au peroxyde d'hydrogène selon le procédé de l'invention après lavage avec 10% d'acide citrique.

Figure 3 : Image FE-SEM (A) de la guanine extraite et blanchie au peroxyde d'hydrogène selon le procédé de l'invention, et (B) de la guanine extraite et blanchie au peroxyde d'hydrogène selon le procédé de l'invention après lavage avec 10% d'acide citrique.

Figure 4 : Analyse de la blancheur de la guanine extraite selon le procédé de l'invention (Lot 1 à Lot 5), ou de guanine témoin (Bioingemar et SIGMA).

EXEMPLES

La présente invention sera mieux comprise et interprétée au vu des exemples ci-dessous.

Exemple 1 : Procédé d'extraction

Les écailles de hareng ont été récoltées à partir des bateaux de pêche de hareng. Les premières analyses de la guanine des écailles par spectroscopie RAMAN ont démontré la présence de guanine dans les écailles en provenance de l'usine.

Matériel

Classe de matériel	**Description**
équipement	- bioréacteurs de 7L avec agitateurs (NBS-Bioflo110) - centrifugeuse à débit continu (ThermoSorvall-Contifuge Stratos) - plaque tournante - étuve
matière première	- écailles de harengs congelées (Connors bros)
produits chimiques	- sarkosyl 30% (m/v) (Charles Tenant Co-Hamposyl L30) - peroxyde 35% (m/v) (Sigma-349887)
autres	- tamis (mesh 3 mm et 100 um) - chaudières de 20L PTFE - spatules/nacelles - barres magnétiques, béchers - bandes indicatrices Quantofix peroxyd 100 (Sigma-37206-1EA)

Méthode

Le procédé d'extraction comprend les étapes suivantes :

1. Un sac d'environ 10 kg d'écailles de hareng est décongelé à température pièce.

2. Un volume de 1.5 L d'écailles est utilisé par réacteur de 7L Bioflo110, les écailles sont lavées avec 3-4 volumes d'eau froide. Ce lavage est effectué en plaçant les écailles dans un tamis (mesh 3 mm) et en les rinçant avec un jet d'eau de débit moyen.

3. Pour chaque portion d'écailles de 1,5L, une solution eau/sarkosyl 1% (m/v) est ajoutée afin d'obtenir un volume final de 5,5L par réacteur. Un moteur agitateur est installé sur l'appareil et une agitation de vitesse 700 rpm est appliquée au mélange pour une durée de 30 minutes. Cette incubation est effectuée à température pièce.

4. Le mélange obtenu est tamisé (mesh 3 mm) afin de retirer le maximum d'impuretés solides, majoritairement des écailles de hareng. Le écailles dans le tamis sont rincées à l'eau avec 1 volume d'eau (par volume d'écailles) afin de récupérer le maximum de guanine. Une seconde étape de tamisage est effectuée sur la solution avec un filtre de nylon (mesh 100 µm) afin de retirer les plus grosses particules noires qui sont dans le mélange.

5. L'extrait de guanine est ensuite centrifugé à une vitesse de 6000 rpm et un débit de 120 ml/min. La température du rotor est maintenue à 4°C. Le rotor peut retenir environ 400 g de culot.

6. Le culot récupéré est pesé, puis re-suspendu dans une solution de peroxyde d'hydrogène 2% (v/v). Cette incubation est effectuée toute la nuit avec agitation (barre magnétique) à température ambiante.

7. La solution peroxyde/guanine est diluée au 1/3 avec de l'eau et centrifugée à une vitesse de 7000 rpm et un débit de 210 ml/min. La température du rotor est maintenue à 4°C. Le culot doit être rincé à l'eau jusqu'à l'obtention d'une valeur en peroxyde de <10 mg/L (<10 ppm).

8. Le culot récupéré est ensuite pesé et séché à l'étuve à une température de 45-50°C pendant une période de 16 à 24h.Une fois le produit séché il est homogénéisé avec l'aide d'un mortier et le produit final est pesé et analysé.

Exemple 2 : Caractérisation du produit obtenu par le procédé de l'invention

Méthodes

L'échantillon de guanine obtenu par le procédé de l'exemple 1 ci-dessous a été caractérisé de la façon suivante :

Dosage de la matière minérale

Un dosage de cendres a été réalisé sur l'échantillon de guanine en comparaison avec l'échantillon de référence Bioingémar. Le dosage des cendres a été réalisé par séchage à l'étuve à 650°C sur la nuit, suivi par une pesée.

Analyse du profil en acides aminés

Le profil en acides aminés a été déterminé en chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un kit EZ FAAST (PHENOMENEX).

Analyse spectrométrique RAMAN et microscopie par balayage

Analyse par micro-spectroscopie RAMAN et par microscopie électronique par balayage
L'analyse par micro-spectroscopie Raman des échantillons de guanine extraite des écailles de hareng, d'un échantillon de guanine commercial (Sigma ; échantillon #1) et d'un échantillon de guanine extrait des écailles de saumon et commercialisé par Bioingemar (échantillon#2) a été effectuée en utilisant un laser avec une longueur d'onde de 632.8 nm.

Ce choix a été fait dans le but de détecter les modes de vibration propres aux modes de réseau qui apparaissent dans l'intervalle de longueurs d'onde inférieures à 200 cm^{-1}. De plus, l'analyse micro Raman a été effectuée en utilisant les objectifs 100x et 10x. L'objectif 100x est employé pour interroger une région très étroite de l'échantillon (environ 1µm de diamètre), tandis que l'objectif 10x est employé pour l'analyse d'une plus grande zone de l'échantillon. Par conséquent, les spectres Raman obtenus avec l'objectif 100x sont concentrés seulement sur des parties de l'échantillon où on voit une certaine opalescence ; alors que les spectres Raman obtenus avec l'objectif 10x sont

concentrés sur une vaste zone de l'échantillon impliquant les endroits où les impuretés sont présentes.

Des analyses par microscopie électronique par balayage ont été réalisées en utilisant le système à très haute résolution S4800 de Hitachi. Le système facilite l'obtention d'imager d'échantillons sur des substrats non conducteurs en utilisant un mode de basse tension accélératrice. Typiquement, la distance de travail a été de 3,2 mm, la tension d'accélération était de 700 à 1000 V avec un courant d'émission de 2300 à 5000 nA, et le grossissement était 20k à 110k. Les échantillons de guanine extraite des écailles de hareng ont été montés sur des tiges en aluminium de 15 mm de diamètre.

Analyse des paramètres colorimétriques dans le système Lab

Les paramètres colorimétrqiues des produits ont été mesurés à l'aide d'un colorimètre portable de marque MiniScan EZ (HunterLab,VA, USA). Les valeurs de L*a*b* dans le système CIELab76 ont été mesurés comme indicateur. La valeur de clarté L est corrélée à la blancheur de la particule. Plus elle est proche de 100 et plus la particule est blanche. Selon un autre protocole, l'extrait sec de guanine est placé dans une coupelle fard à paupières, compacté à une pression de 100 bars puis mesuré à l'aide d'un spectrocolorimètre MINOLTA CM-2002 (D65/10°, mode composante spéculaire inclus). Les valeurs de L, C, a et b sont mesurées.

Résultats

Dosage de la matière minérale

Le taux de cendres du produit final est de 12%.

Profil en acides aminés

*Profil en acides aminés de la référence Bioingemar (**Figure 1A**)*

La Figure 1A montre que 2 pics principaux sont identifiés : le premier correspond à une élution à 1,61 minutes, et représente 90, 32% du produit, alors que le second correspond à une élution à 1,90 minutes et représente 9,68% du produit.

Le premier pic n'est pas un acide aminé, il s'agit vraisemblablement de la guanine. Le second pic (IS) est la norvaline (le standard interne). Il ne semble donc pas y avoir de traces d'acides aminés dans cet échantillon.

*Profil en acides aminés de l'échantillon obtenu par le procédé de l'exemple 1 (**Figure 1B**)*

La **Figure 1B** montre que, là encore, 2 pics sont identifiés. Dans cet échantillon, il ne semble pas qu'il y ait de traces d'acides aminés.

Analyse micro-spectrocopique RAMAN et microscopie électronique par balayage (FE-SEM)

La **Figure 2A** montre les spectres micro-RAMAN obtenus pour les guanines de référence (Bioingemar et SIGMA).

La **Figure 2B** montre le spectre micro-Raman de la guanine extraite des écailles et blanchie au peroxyde d'hydrogène selon le procédé de l'invention, en comparaison avec les échantillons de guanine de référence (Bioingemar et Sigma).

La **Figure 3A** est l'image FE-SEM de la guanine extraite des écailles qui montre que la présence de Sarkosyl change la morphologie des cristaux de guanine, ce qui peut perturber le spectre RAMAN mesuré ci-dessus. Afin d'éviter cette perturbation, la guanine extraite selon le procédé de l'invention a été lavée avec 10% d'acide citrique. Un nouveau spectre micro-Raman a alors été déterminé (**Figure 2C**) et une nouvelle image FE-SEM a été obtenue (**Figure 3B**).

Les analyses réalisées en micro-spectroscopie RAMAN et par microscopie électronique confirment la présence de cristaux de guanine dans les extraits obtenus par le procédé de l'invention.

Analyse de la blancheur

La blancheur de 5 lots de guanine extraite selon le procédé de l'invention (lots 1 à 5, procédé de l'exemple 1), et de deux guanines « témoin » (Bioingemar et Sigma) a été mesurée. Les résultats de cette mesure sont présentés dans le **Tableau 1** ci-dessous et dans la **Figure 4**.

Tableau 1 : Test de blancheur

	L	a	b
Lot 1	94,90	0,26	9,22
Lot 2	94,40	0,26	7,99
Lot 3	94,31	-0,26	6,91
Lot 4	94,47	-0,02	5,84
Lot 5	95,11	-0,44	3,66
Bioingemar	97,35	0,70	8,06
Sigma	99,36	-0,10	4,83

Comme le montrent le **Tableau 1** et la **Figure 4**, tous les lots obtenus par une extraction par le procédé de l'invention présentent une blancheur relativement équivalente à celle de l'échantillon Bioingemar et légèrement moindre que celle de la référence SIGMA.

Par ailleurs, on obtient des valeurs proches selon un autre protocole de mesure des paramètres colorimétriques dans lequel l'extrait sec de guanine est placé dans une coupelle fard à paupières, compacté à une pression de 100 bars puis mesuré à l'aide d'un spectrocolorimètre MINOLTA CM-2002 (D65/10°, mode composante spéculaire inclus). Les valeurs de L, C, a et b sont mesurées.

	Bioingemar	**guanine lot A**	**guanine lot B**	**guanine lot C**
L	**89,93**	**90,01**	**91,65**	**89,34**
a	**-1,18**	**-1,48**	**-0,35**	**-0,05**
b	**7,81**	**6,8**	**6,35**	**8,97**
C	**7,9**	**6,96**	**6,36**	**8,98**

On obtient également des valeurs de clarté L proche de 90 et équivalente à la référence (guanine Bioingemar).

En conclusion, les extraits de guanine naturelle obtenus selon le procédé de l'invention, à partir d'écailles de hareng, permet l'obtention d'une guanine présentant des caractéristiques propres à son utilisation, notamment dans le domaine de la cosmétologie.

Exemple 3 : Procédé de l'invention comprenant une étape de cristallisation et caractérisation du produit obtenu

L'extraction de guanine a été réalisée sur trois lots différents, selon les conditions suivantes :

	Lot # 1	Lot # 2	Lot #3
Étape extraction			
Concentration sarkosyl (% m/v)	1	1	1
Agitation	Forte	Forte	Forte
Durée (min)	30	30	30
Étape première centrifugation			
vitesse centrifugation 1 (x g)	11 000	11 000	11 000
débit centrifugation 1 (L/h)	100	100	100
Étape Blanchiment température ambiante			
concentration peroxyde d'hydrogène (% m/v)	1,5	1,5	1,5
durée traitement peroxyde (h)	16	20	2
agitation traitement peroxyde	vigoureuse	aucune agitation	faible
Étape deuxième centrifugation			
vitesse centrifugation 2 (x g)	11 000	NA	NA
débit centrifugation 2 (L/h)	100	NA	NA
Étape de cristallisation dans l'eau bouillante à 100°C			
durée traitement à l'eau bouillante (h)	0,5	0,75	1,5
agitation traitement à l'eau bouillante	faible	faible	faible
filtration 100 µm	oui	oui	oui
Étape Séchage			
séchage (°C)	50	50	50
Durée (heures)	16-24	16-24	16-24
poids sec (kg)	6,25	2,5	0,9
NA= Non applicable			

5

La caractérisation du produit obtenu a donné les résultats suivants :

Lot #	Contenant #	poids (kg)	L	a	b	H2O2 restant*
1	1	1,25	95,34	0,47	6,96	< 10 ppm
1	2	1,25	96,18	0,38	6,51	< 10 ppm
1	3	1,25	95,50	0,50	6,12	< 10 ppm
1	4	1,25	96,23	0,34	5,41	< 10 ppm
1	5	1,25	95,53	0,63	5,96	< 10 ppm
2	6	1,25	96,33	0,44	6,91	< 10 ppm
2	7	1,25	96,00	0,42	6,80	< 10 ppm
3	8	0,9	94,51	0,62	5,98	< 10 ppm

* ppm pour 100 mg de guanine/mL d'eau

Cet exemple montre que la présence d'une étape de cristallisation dans le procédé de l'invention permet d'augmenter la blancheur du produit obtenu.

Exemple 4 : Exemple comparatif (procédé de l'invention vs procédé décrit par Levy-Lior et al (Crystal growth & design ; 2008 ; 8(2) :507-11)

Méthodes

Test effectué selon le procédé Levy-Lior :

1) 1.0 kg d'écailles ont été rincées sur tamis avec de l'eau du robinet pendant environ 10 minutes.
2) Incubation des écailles dans 5.0L d'eau distillée (volume final) et mélange à 500-600 rpm pendant 15 minutes. L'extrait est ensuite tamisé par tamis métallique (mesh = 3mm) et tamis de nylon (mesh =100 um).
3) Centrifugation pendant 30 minutes à 10 600 rcf (débit de la pompe : 250 ml/min).
4) Les culots sont séchés dans une étuve dont la température est de 45°C pour une période de 12-18 heures.

Procédé selon l'invention :

1) 1.0 kg d'écailles ont été rincées sur tamis avec de l'eau du robinet pendant environ 10 minutes.

2) Incubation des écailles dans 5.0 L (volume final) d'une solution eau/sarkosyl 1% et mélange à 500 rpm pendant 15 minutes.
3) Centrifugation pendant 40 minutes à 7 000 rpm (débit de la pompe : entre 160 ml/min).
4) Les culots sont séchés dans une étuve dont la température est de 45°C pour une période de 12-18 heures.

Résultats

Avant séchage, le procédé de Levy-Lior permet l'obtention d'un culot de guanine de 29.4g. Le culot apparaît dense, avec une couche de résidu aqueux gris et une couche de résidu dense de couleur marron.

Le procédé selon l'invention permet lui l'obtention d'un culot de guanine de 103.6g. Le culot est de densité moyenne, avec une couche de résidu aqueux gris.

Après séchage, le procédé de Levy-Lior permet la récupération d'un culot sec de 12.9g, contre 68.4g pour le procédé selon l'invention.

REVENDICATIONS

1. Procédé d'extraction d'une purine par au moins un surfactant, de préférence par un surfactant anionique, un surfactant zwitterionique et/ou un surfactant non-ionique.

2. Procédé selon la revendication **1**, caractérisé en ce que ladite purine est la guanine, l'hypoxanthine ou un mélange de guanine et d'hypoxanthine.

3. Procédé selon la revendication **1** ou la revendication **2**, caractérisé en ce que ladite purine est sous forme cristalline.

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **3**, caractérisé en ce que la purine est extraite d'un matériau d'origine animale, de préférence d'écailles de poisson.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **4**, caractérisé en ce que le surfactant est un surfactant anionique, de préférence sélectionné parmi le sarkosyl, le disodium cocoyl glutamate ou dipalmitoylethyl hydroxyethylmonium methosulfate.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **5**, caractérisé en ce que le surfactant est un dérivé d'acide aminé, de préférence le surfactant est du sarkosyl.

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **6**, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape de blanchiment par un agent blanchissant, de préférence le peroxyde d'hydrogène.

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **7**, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape de digestion enzymatique, de préférence par une catalase.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **8**, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape de cristallisation, de préférence dans un solvant, plus préférentiellement dans l'eau.

10. Extrait de purine obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications **1** à **9**.

11. Utilisation d'un extrait de purine selon la revendication **10** comme agent colorant.

12. Composition comprenant l'extrait selon la revendication **10**.

13. Extrait de purine selon la revendication **10**, caractérisé en ce qu'il est pur à au moins 20%.

14. Extrait de purine selon la revendication **10** ou **13**, caractérisé en ce qu'il présente un taux de cendres inférieur à 20%; et/ou moins de 2% d'acides aminés en masse par rapport à la masse totale de l'extrait.

15. Extrait de purine selon l'une quelconque des revendications **10**, **13** et **14**, caractérisé en ce que sa couleur mesurée selon le modèle CIE Lab (aussi dénommé L*a*b) présente une composante L (clarté) supérieure ou égale à 85, de préférence supérieure ou égale à 90.

16. Extrait de purine selon l'une quelconque des revendications **10** et **13** à **15**, caractérisé en ce que sa couleur mesurée selon le modèle CIE Lab (aussi dénommé L*a*b) présente les caractéristiques suivantes :

- composante a (gamme de l'axe rouge-vert) variant de -1 à 1 ; et/ou
- composante b (gamme de l'axe jaune-bleu) variant de 0 à 15.

17. Extrait de purine selon l'une quelconque des revendications **10** et **13** à **16**, caractérisé en ce qu'il présente un taux de peroxyde d'hydrogène résiduel inférieur à 50 mg/L.

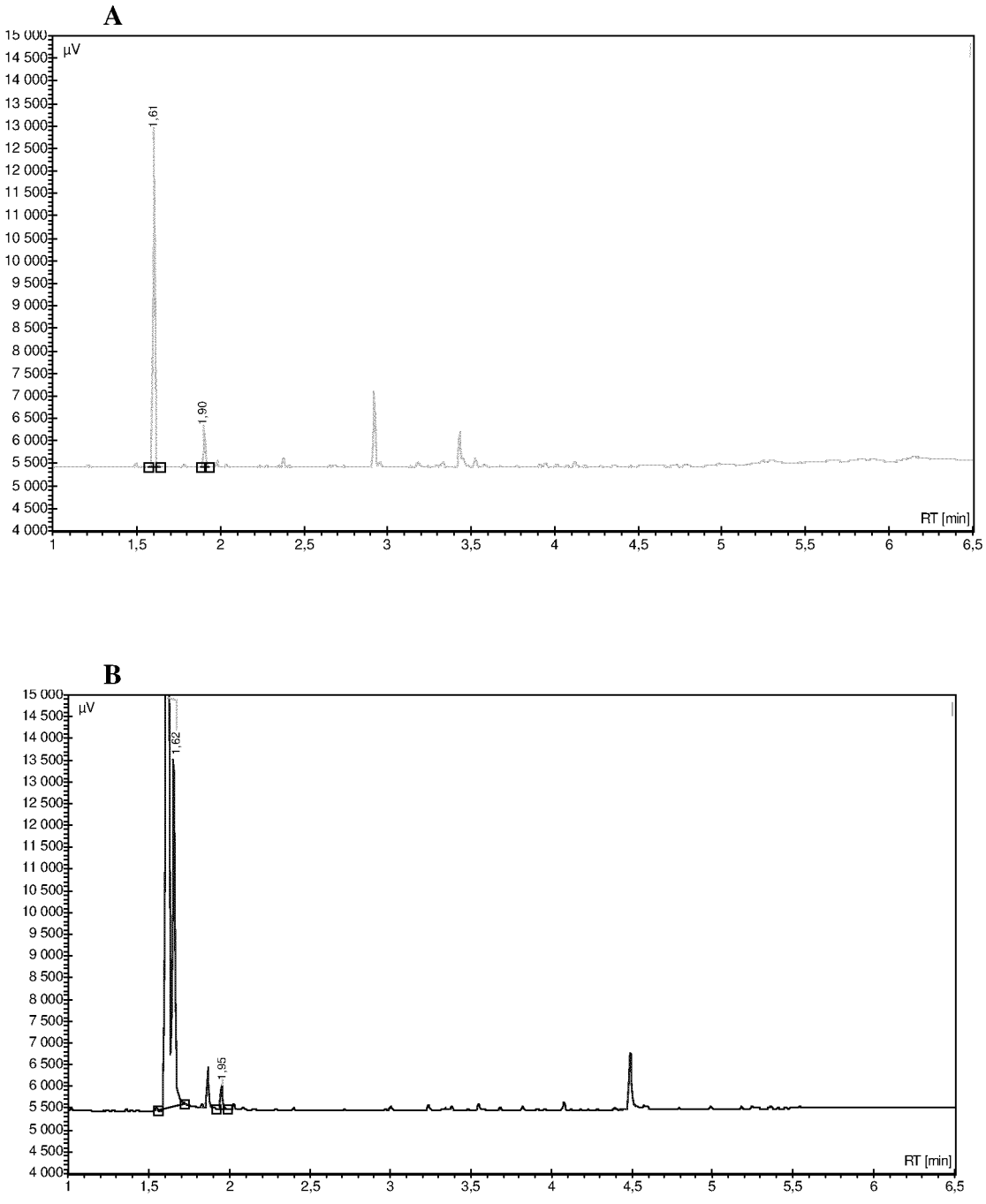


FIG. 1

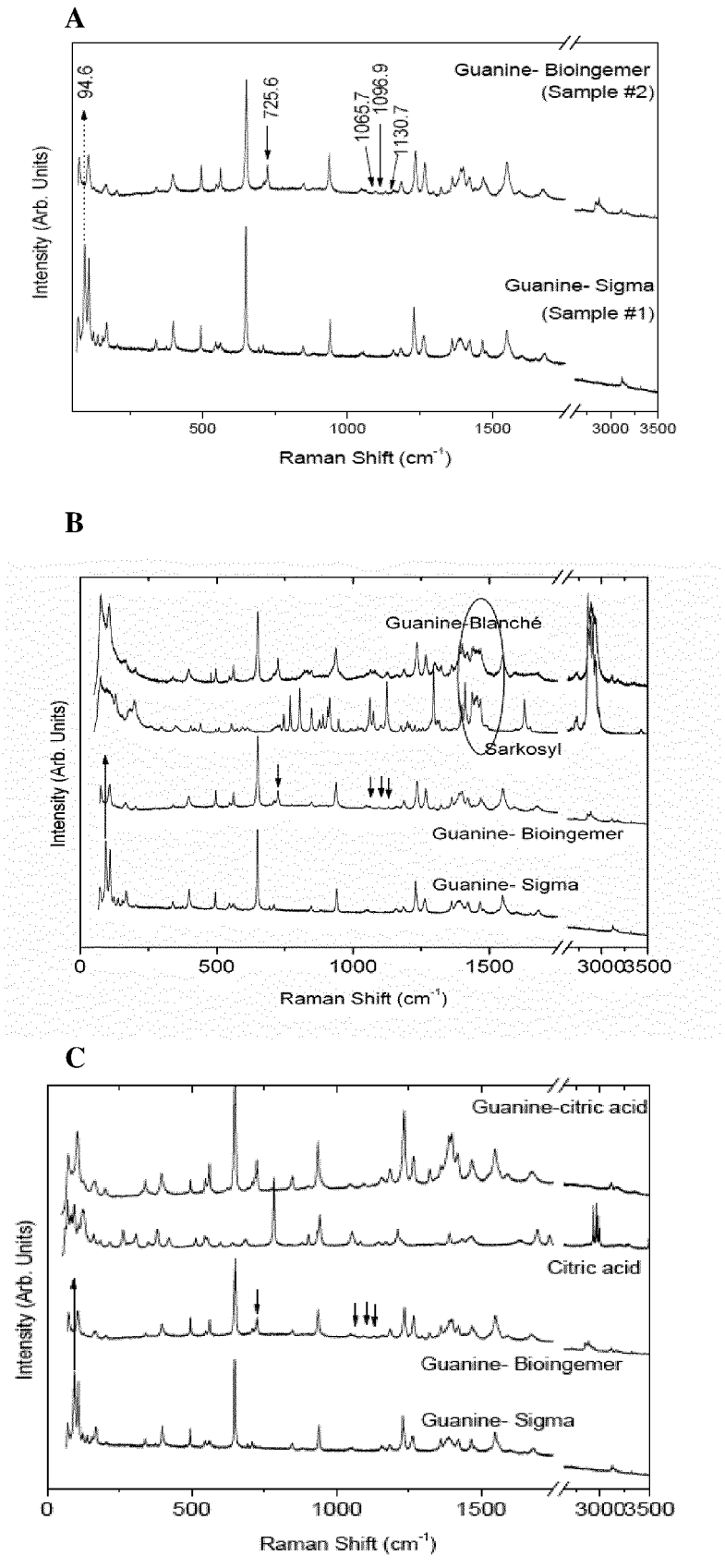
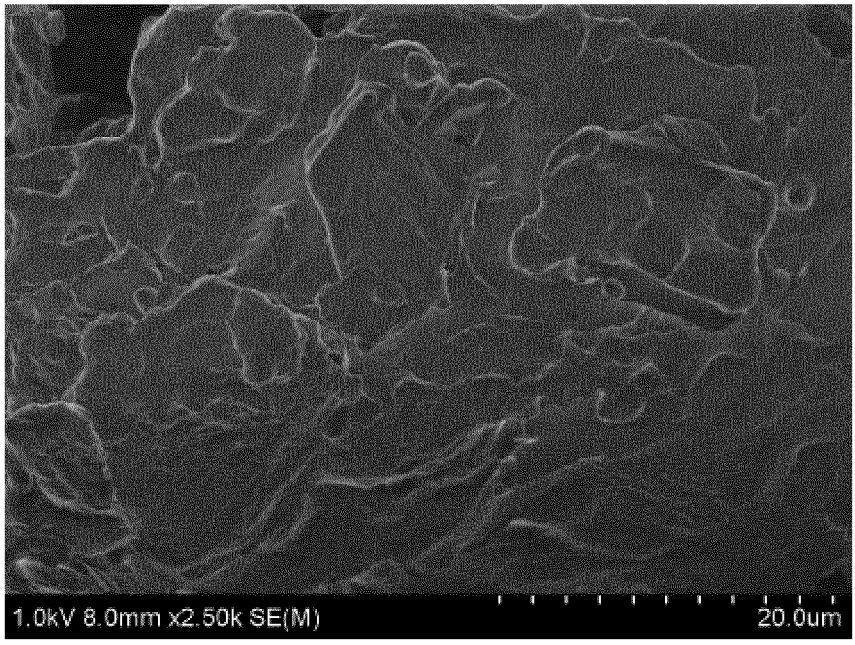

A
94.6
725.6
1065.7
1096.9
1130.7
Guanine- Bioingemer
(Sample #2)
Guanine- Sigma
(Sample #1)
Intensity (Arb. Units)
500
1000
1500
3000
3500
Raman Shift (cm-1)
B
Guanine-Blanché
Sarkosyl
Guanine- Bioingemer
Guanine- Sigma
Intensity (Arb. Units)
0
500
1000
1500
3000
3500
Raman Shift (cm-1)
C
Guanine-citric acid
Citric acid
Guanine- Bioingemer
Guanine- Sigma
Intensity (Arb. Units)
0
500
1000
1500
3000
3500
Raman Shift (cm-1)

FIG. 2

A



B

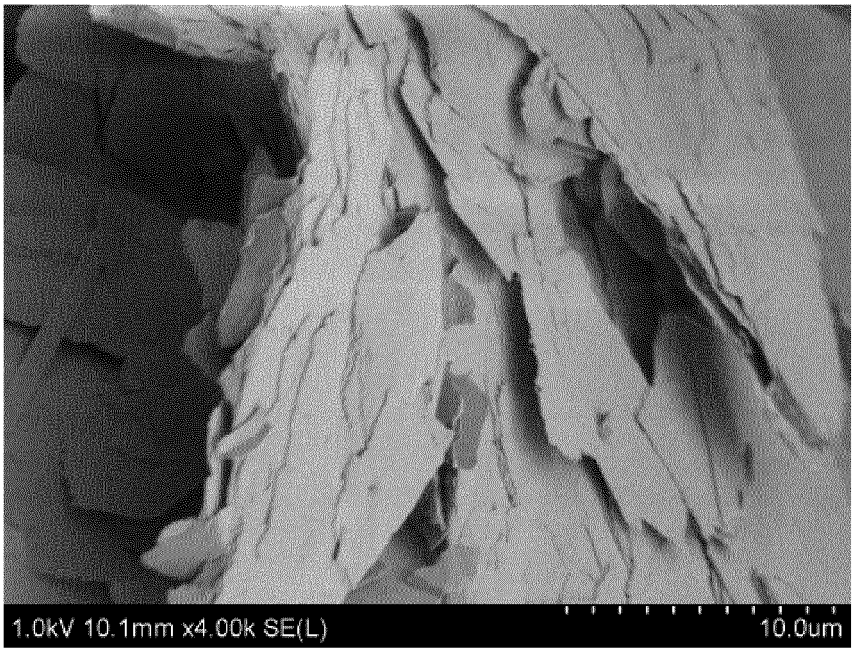


FIG. 3

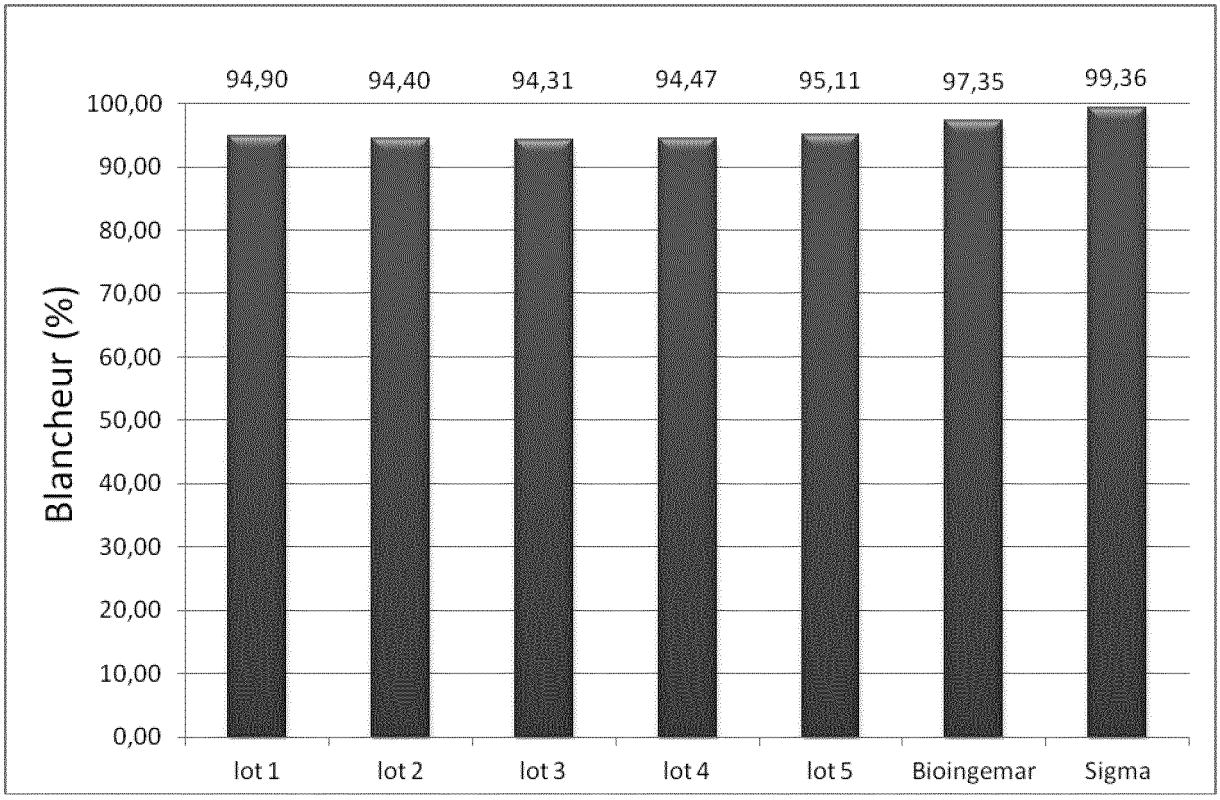

94,90
94,40
94,31
94,47
95,11
97,35
99,36
100,00
90,00
80,00
70,00
60,00
50,00
40,00
30,00
20,00
10,00
0,00
Blancheur (%)
lot 1
lot 2
lot 3
lot 4
lot 5
Bioingemar
Sigma

FIG. 4

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 793934
FR 1362815

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	SU 899 611 A1 (ASTRAKH TI RYBNOJ PROMY [SU]; VNI BIOTEKH INST [SU]) 23 janvier 1982 (1982-01-23) * colonne 1, ligne 1 - colonne 4, ligne 52; revendications; exemples *	1-17	C09B61/00 C07D473/00 C07D473/18 A61K8/49 A61K8/98 A61Q1/02
X	US 2005/257718 A1 (UZUNIAN GABRIEL E [US] ET AL) 24 novembre 2005 (2005-11-24) * alinéas [0003], [0004], [0006], [0009], [0010], [0016] - [0022]; revendications; exemples *	1-17	A61Q5/06
X	US 2005/142083 A1 (SONG LEILA [US] ET AL) 30 juin 2005 (2005-06-30) * alinéas [0002] - [0004], [0016] - [0022]; revendications; exemples *	1-17	
X	US 2012/014885 A1 (COLLIER KATHERINE D [US] ET AL) 19 janvier 2012 (2012-01-19) * alinéas [0180] - [0182] *	10-17	
X	US 2006/246149 A1 (BUCHHOLZ HERWIG [DE] ET AL) 2 novembre 2006 (2006-11-02) * page 19, ligne 3, alinéas 165,166 *	10-17	
X	IWASAKA M ET AL: "Effect of 10-T magnetic fields on structural colors in guanine crystals of fish scales", JOURNAL OF APPLIED PHYSICS, AMERICAN INSTITUTE OF PHYSICS, US, vol. 111, no. 7, 1 avril 2012 (2012-04-01), pages 7B316-7B316, XP012158965, ISSN: 0021-8979, DOI: 10.1063/1.3675206 [extrait le 2012-03-01] * abrégé *	10-17	C09B
	-/--		

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

A61K
A61Q
C07D

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
10 octobre 2014	Butkowskyj-Walkiw, T

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

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 bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 793934
FR 1362815

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	RU 2 020 143 C1 (CHERTOVA ELENA N [RU]; TUTARINOV VYACHESLAV G [RU]; LUPOVA LYUDMILA M) 30 septembre 1994 (1994-09-30) * revendications; exemples * -----	10-17	

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
10 octobre 2014	Butkowskyj-Walkiw, T

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

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 bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1362815 FA 793934

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 10-10-2014
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
SU 899611 A1	23-01-1982	AUCUN	
US 2005257718 A1	24-11-2005	US 2005257718 A1	24-11-2005
		WO 2005113685 A1	01-12-2005
US 2005142083 A1	30-06-2005	AUCUN	
US 2012014885 A1	19-01-2012	AU 2006246425 A1	16-11-2006
		BR PI0613548 A2	18-01-2011
		CA 2607142 A1	16-11-2006
		CN 101278051 A	01-10-2008
		EP 1880007 A2	23-01-2008
		JP 5348749 B2	20-11-2013
		JP 2008540408 A	20-11-2008
		US 2012014885 A1	19-01-2012
		WO 2006121610 A2	16-11-2006
US 2006246149 A1	02-11-2006	AU 2004230567 A1	28-10-2004
		BR PI0409420 A	25-04-2006
		CN 1777653 A	24-05-2006
		CO 5660298 A2	31-07-2006
		EC SP056163 A	19-04-2006
		EP 1633818 A2	15-03-2006
		EP 1635771 A2	22-03-2006
		JP 2006523628 A	19-10-2006
		JP 2006523735 A	19-10-2006
		KR 20060015514 A	17-02-2006
		MX PA05011104 A	12-12-2005
		US 2006246149 A1	02-11-2006
		WO 2004091567 A2	28-10-2004
		WO 2004092283 A2	28-10-2004
RU 2020143 C1	30-09-1994	AUCUN	

EPO FORM P0465