

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
05 décembre 2024 (05.12.2024)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2024/246346 A1

(51) Classification internationale des brevets :

A23L 33/18 (2016.01) A23J 1/04 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01) A23J 1/10 (2006.01)
C07K 14/78 (2006.01) C12M 1/06 (2006.01)
A23J 1/00 (2006.01)

(71) Déposant : APEX 1 [FR/FR] ; 24 rue Claude Lorrain,
75016 Paris (FR).

(72) Inventeurs : PETITPAS, Arnaud ; c/o APEX 1, 24 rue
Claude Lorrain, 75016 Paris (FR). DE LAURENS, Erik ;
c/o APEX 1, 24 rue Claude Lorrain, 75016 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/EP2024/065121

(74) Mandataire : LLR ; 2 rue Jean Lantier, 75001 PARIS (FR).

(22) Date de dépôt international :

31 mai 2024 (31.05.2024)

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG,
KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO,

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

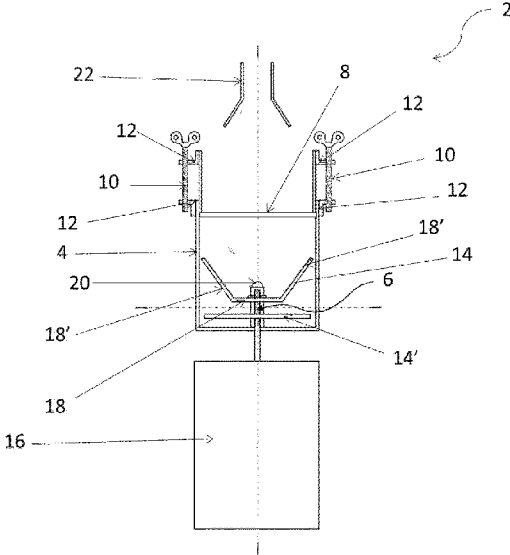
(30) Données relatives à la priorité :

FR2305559 02 juin 2023 (02.06.2023) FR

(54) Title: NATIVE COLLAGEN EXTRACTION FROM FISH SCALES

(54) Titre : EXTRACTION DE COLLAGÈNE NATIF D'ÉCAILLES DE POISSON

[Fig. 1]



(57) Abstract: The invention relates to a device (2) for mechanically extracting native collagen from dried fish scales, comprising:
- a tank (4) sized to receive a batch of fish scales, - an element (8) for closing the tank (4) placed at the top of the tank (4), - rotary
motorized blades (14, 14') arranged in the tank (4) and sized to defibrate the fish scales, and - mechanical separation means (22) for
separating the native collagen fibers from other parts of the fish scales produced by the defibration.

(57) Abrégé : L'invention concerne un dispositif d'extraction (2) mécanique de collagène natif à partir d'écailles de poisson séchées
comprenant : - une cuve (4) dimensionnée pour recevoir un lot d'écailles de poisson, - un organe de fermeture (8) de la cuve (4) placé
en haut de la cuve (4), - des pales motorisées (14, 14') rotatives disposées dans la cuve (4) et dimensionnées pour défibrer les écailles

RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS,
ZA, ZM, ZW.

(84) **États désignés** (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— *relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17(iii))*

Publiée:

— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

de poisson, et - des moyens de séparation mécanique (22) des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écailles de poisson issues du défibrage.

Description

Titre de l'invention : extraction de collagène natif d'écailles de poisson

- [0001] L'invention concerne l'extraction de collagène natif issu d'écailles de poisson.
- [0002] Les industries de la pêche et de l'aquaculture produisent de grandes quantités de déchets, dont les écailles de poisson sont un des co-produits les moins valorisés. Plusieurs centaines de milliers de tonnes d'écailles de poissons sont en effet générées chaque année par les industries de la pêche et de l'aquaculture. Aujourd'hui les écailles de poisson sont des coproduits très peu valorisés. Le collagène et l'hydroxyapatite qui composent l'écaille constituent pourtant des molécules d'intérêt à haute valeur ajoutée.
- [0003] Le collagène est le biopolymère le plus répandu dans le monde animal. Il s'agit d'une chaîne polypeptidique composée d'acides aminés, présente notamment dans la peau et les os. Les peaux et os d'origine porcine, ovine ou marine sont d'ailleurs les sources d'approvisionnement les plus communes de collagène et de sa forme hydrolysée, la gélatine. Ces composants sont très utiles pour l'industrie agro-alimentaire, où ils sont utilisés en tant que liant et agent texturant. La cosmétique et le nutraceutique sont également des marchés importants notamment grâce au caractère biocompatible du collagène. Cela est aussi vrai pour l'industrie biomédicale qui est aussi en demande croissante de collagène natif, à une échelle plus réduite cependant. L'hydroxyapatite est un biominéral également présent dans les structures minéralisées du monde animal. Il présente des propriétés intéressantes notamment pour les secteurs de la nutraceutique, du biomédical et de la cosmétique.
- [0004] Les écailles de poisson sont encore peu utilisées pour l'extraction de collagène natif, les peaux de poissons leur étant préférées. Le procédé conventionnel d'extraction de collagène issu d'écailles de poisson s'inspire directement des procédés d'extraction de collagène issu des peaux. Le collagène issu des écailles de poisson est donc aujourd'hui principalement extrait de manière chimique avec l'utilisation de solutions acides et basiques afin de déstructurer la matière naturelle et d'isoler les molécules ciblées.
- [0005] La technique d'extraction conventionnelle consiste en un prétraitement à l'aide d'une solution basique forte comme la soude, suivi d'un traitement à base d'acide acétique ou d'acide chlorhydrique. L'EDTA (pour « ethylenediaminetetraacetic acid » ou acide éthylènediaminetétraacétique en français), un agent chélatant complexant les métaux lourds, est souvent utilisé pour déminéraliser les écailles en amont de l'étape d'extraction. Les étapes d'extraction standards de collagène natif en laboratoire sont les suivantes :

- prétraitement à la soude,
- déminéralisation des écailles à l'EDTA,
- extraction du collagène à 4°C à l'aide d'acide acétique,
- centrifugation,
- « salting out » (ou précipitation saline en français), pour purifier le collagène,
- Dialyse, et
- séchage par lyophilisateur.

[0006] Une étape d'hydrolyse enzymatique peut être ajoutée à, ou remplacer la phase d'extraction à l'acide acétique pour améliorer le rendement.

[0007] Cette méthode d'extraction présente plusieurs inconvénients. Tout d'abord, elle ne suit pas les préceptes de la chimie verte avec l'utilisation de nombreux agents chimiques. De plus, les diverses hydrolyses sont difficiles à contrôler, ce qui peut conduire à une dénaturation des molécules d'intérêt extraites. Les chaînes de collagène sont découpées de manière aléatoire, la nature des peptides produits étant dès lors donc difficile à prédire et à contrôler.

[0008] De plus, cette extraction prend plusieurs jours et présente un rendement limité. Enfin, elle est consommatrice d'une grande quantité d'eau, et l'utilisation d'un lyophilisateur en fin d'extraction consomme une quantité importante d'énergie (de l'ordre de 1500 à 2500 kWh par tonne d'eau évaporée). L'extraction est donc onéreuse et consommatrice d'énergie.

[0009] L'invention a donc pour but de fournir un dispositif d'extraction de collagène natif issu d'écailles de poisson qui soit plus rapide et moins énergivore que les procédés de l'art antérieur. L'invention permet également d'obtenir un rendement supérieur à l'art antérieur et un taux de pureté élevé. Enfin, l'invention permet d'obtenir des fibres de collagène natif conservant une structure naturelle.

[0010] A cet effet l'invention a pour objet un dispositif d'extraction mécanique de collagène natif à partir d'écailles de poisson séchées comprenant :

- une cuve dimensionnée pour recevoir un lot d'écailles de poisson,
- un organe de fermeture de la cuve placé en haut de la cuve,
- des pales motorisées rotatives disposées dans la cuve et dimensionnées pour défibrer les écailles de poisson, et
- des moyens de séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écailles de poisson issues du défibrage.

[0011] Ainsi, le dispositif d'extraction permet de se passer de produits chimiques et d'une solubilisation du collagène, ce qui évite de dénaturer les fibres de collagène extraites. Une telle extraction permet, en un temps variant entre 10 secondes et 3 minutes, d'obtenir un niveau de pureté de fibres de collagène natif optimal ne comprenant qu'un taux d'impuretés variant entre 0,3% et 20%. Enfin, l'extraction réalisée dans son

intégralité de manière mécanique limite considérablement l'utilisation d'eau et la consommation d'énergie.

[0012] Suivant d'autres caractéristiques optionnelles du dispositif d'extraction prises seules ou en combinaison :

- le dispositif d'extraction comprend des moyens de nettoyage et de séchage des écailles de poisson avant placement dans la cuve. On intègre dès lors les moyens de préparation des écailles de poisson au dispositif ;
- les moyens de nettoyage des écailles de poisson comprennent au moins un bain d'eau claire ;
- les moyens de séchage des écailles de poisson comprennent au moins une grille de support et au moins un souffleur à air chaud ;
- les moyens de séchage peuvent être alimentés en énergie par une source d'énergie renouvelable et/ou d'énergie fatale.
- la cuve est réalisée à partir d'un alliage de dureté supérieure à celle de l'hydroxyapatite. Cela limite la pollution des fibres de collagène natif par des particules d'acier ;
- la cuve est réalisée au moins en partie en acier inoxydable ;
- la cuve est disposée sur un axe de manière à pouvoir basculer. Cela facilite le vidage de la cuve ;
- le dispositif d'extraction comprend des moyens de réglage de la hauteur de l'organe de fermeture sur la cuve. Cela permet d'ajuster le volume de la cuve grâce au placement ajustable de l'organe de fermeture ;
- les moyens de réglage de la hauteur de l'organe de fermeture sur la cuve comprennent des vis de réglage et/ou des éléments de réglage à crans ;
- les pales motorisées sont portées par un axe lui-même relié à un moteur ;
- au moins une pale motorisée est formée par une barre métallique, par exemple de section droite rectangulaire, comprenant une portion centrale perforée reliée à l'axe et au moins une portion terminale formant un angle compris entre 30° et 70° avec la portion centrale ;
- au moins une pale motorisée est formée par une barre métallique, par exemple de section droite rectangulaire, plane ;
- le moteur est dimensionné pour permettre une rotation des pales motorisées entre 5 000 et 30 000 tours par minute ;
- le moteur est couplé à un variateur de vitesse. On règle ainsi la vitesse de rotation des pales motorisées en fonction du type et de la quantité d'écailles présentes dans la cuve ;
- l'axe est fileté. Cela permet une fixation aisée des pales motorisées sur l'axe ;
- l'axe est réalisé en acier inoxydable ;

- au moins une entretoise est disposée sur l'axe entre deux pales motorisées successives ;
- les moyens de séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écailles de poisson issues du défibrage comprennent au moins un système d'aspiration du contenu de la cuve placé face à une ouverture de la cuve, la cuve comprenant des moyens agencés pour empêcher le passage de collagène natif et autoriser le passage d'hydroxyapatite et d'impuretés. On obtient dès lors une possibilité de séparation du collagène natif des autres produits issus du défibrage de manière concomitante au dit défibrage des écailles de poisson ;
- le dispositif d'extraction comprend un organe de mesure de la température à l'intérieur de la cuve. Cela permet d'identifier un éventuel échauffement de l'intérieur de la cuve pouvant dénaturer les fibres de collagène ;
- l'organe de mesure de la température à l'intérieur de la cuve est couplé à un organe d'abaissement de la température à l'intérieur de la cuve . Cela permet d'éviter un éventuel échauffement de l'intérieur de la cuve pouvant dénaturer les fibres de collagène ;
- l'organe d'abaissement de la température à l'intérieur de la cuve comprend au moins un élément choisi parmi : un système d'arrêt des pales motorisées, un système de limitation de la vitesse de rotation des pale motorisées ou un dispositif d'injection d'au moins un agent refroidissant, par exemple d'azote liquide.

[0013] L'invention a également pour objet un procédé d'extraction mécanique de collagène natif à partir d'écailles de poisson à l'aide d'un dispositif d'extraction selon l'invention, les étapes du procédé étant les suivantes :

- nettoyage et séchage des écailles,
- insertion d'écailles dans la cuve,
- défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées, et séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écailles de poisson issues du défibrage.

[0014] Suivant d'autres caractéristiques optionnelles du procédé d'extraction prises seules ou en combinaison :

- le nettoyage est choisi parmi un nettoyage à l'eau ou un nettoyage enzymatique ;
- la hauteur de l'organe de fermeture par rapport à la cuve est choisie en fonction du volume d'écailles de poisson dans la cuve ;
- la cuve est inclinée lors de l'étape de défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées ;

- les pales motorisées sont mises en rotation à une vitesse comprise entre 5 000 et 30 000 tours par minute, de préférence entre 15 000 et 25 000 tours par minute ;
- les pales motorisées sont mises en rotation pendant une période comprise entre 10 secondes et 3 minutes ;
- la vitesse de rotation des pales motorisées varie lors de l'étape de défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées ;
- un système d'aspiration aspire le contenu de la cuve lors de l'étape de défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales, la cuve comprenant des moyens empêchant la sortie des fibres de collagène natif et autorisant la sortie d'hydroxyapatite et d'impuretés ;
- la température à l'intérieur de la cuve est mesurée lors de l'étape de défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées ;
- la température à l'intérieur de la cuve est abaissée lors de l'étape de défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées ; et
- la température à l'intérieur de la cuve est abaissée lors de l'étape de défibrage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées par diminution de la vitesse de rotation des pales motorisées, par arrêt de la rotation des pales motorisées, ou par injection d'au moins un agent de refroidissement, par exemple de l'azote liquide.

Brève description des figures

- [0015] L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description qui va suivre donnée uniquement à titre d'exemple et faite en se référant aux dessins annexés dans lesquels :
- [0016] [Fig.1] est une vue en coupe d'un dispositif d'extraction mécanique de collagène natif d'écailles de poisson selon un mode de réalisation de l'invention, et
- [0017] [Fig.2] est une représentation schématique d'un procédé d'extraction mécanique de collagène natif d'écailles de poisson selon un mode de réalisation de l'invention.

Description détaillée

- [0018] On se réfère désormais à la [Fig.1] illustrant un dispositif d'extraction 2 mécanique de collagène natif à partir d'écailles de poisson séchées. On entend par collagène natif un collagène non dénaturé, ayant conservé sa conformation en triple hélice. On entend par « extraction mécanique » une extraction de collagène natif ne nécessitant pas l'utilisation de produits chimiques tels que ceux mentionnés précédemment, par exemple par bains successifs.
- [0019] Les écailles de poisson sont classiquement lavées puis séchées avant la phase d'extraction mécanique de collagène natif. Pour ce faire, il est possible que le dispositif d'extraction 2 comprenne des moyens de nettoyage et de séchage des écailles de

poisson avant extraction mécanique du collagène natif. Alternativement, le dispositif d'extraction peut recevoir des écailles de poisson déjà lavées et séchées.

- [0020] Les moyens de nettoyage des écailles de poisson peuvent comprendre au moins un bain d'eau claire, de préférence légèrement acide, pour rincer les écailles de poisson. Il peut également s'agir d'un nettoyage par lavage enzymatique.
- [0021] Concernant les moyens de séchage des écailles de poisson, ils peuvent être formés par au moins une grille de support et au moins un souffleur à air chaud. Avantagusement, les moyens de séchage sont alimentés en énergie par une source d'énergie renouvelable et/ou d'énergie fatale.
- [0022] Le dispositif d'extraction 2 comprend une cuve 4 destinée à recevoir les écailles de poisson séchées. Cette dernière comprend au moins une ouverture d'introduction d'écailles de poisson.
- [0023] La cuve 4 est de préférence réalisée à partir d'un alliage de dureté supérieure à celle de l'hydroxyapatite. Cela limite la pollution des fibres de collagène natif par des particules d'acier. Par exemple, la cuve 4 peut être réalisée au moins en partie en acier inoxydable (cela facilite également le nettoyage de la cuve 4).
- [0024] La cuve 4 est disposée sur un axe 6 de manière à pouvoir basculer. Cette possibilité de basculement permet de simplifier la vidange de la cuve 4. De plus, une inclinaison de la cuve 4 permet également une séparation du collagène natif des autres composants issus des écailles de poisson. Pour permettre un tel basculement, la cuve 4 est positionnée sur un axe de bascule, facilitant la séparation des phases par gravité lors du process.
- [0025] Le volume de la cuve 4 peut être réglable, notamment en fonction du volume d'écailles de poisson introduit dans la cuve 4. En effet, il est préférable de limiter le mouvement des écailles de poisson dans la cuve 4 afin de faciliter le défibrage par cisaillement des écailles de poisson et donc l'extraction de collagène natif. Pour ce faire, il est possible de prévoir des moyens de réglage de la hauteur de l'organe de fermeture 8 sur la cuve 4. Ces moyens de réglage peuvent être formés par des vis de réglage 10 comme cela est visible sur la [Fig.1]. L'organe de fermeture peut dès lors adopter une section en U (il peut par exemple s'agir d'un cylindre ayant une paroi à une de ses extrémités si la cuve a une ouverture circulaire). Chaque vis de réglage 10 collaborent avec deux supports 12 traversés par des orifices filetés, un porté par la cuve 4 et l'autre par l'organe de fermeture 8. Le vissage relatif des vis de réglage 10 sur les supports 12 portés par l'organe de fermeture 8 par rapport à celui des vis de réglage 10 sur les supports portés par la cuve 4 permet de régler la hauteur de l'organe de fermeture 8 de la cuve 4 sur cette dernière. Alternativement à l'utilisation de vis de réglage 10, il est possible d'utiliser un élément de réglage à crans, par exemple à l'aide de couples de tiges crantées placées respectivement sur la cuve 4 et sur l'organe de

fermeture 8.

- [0026] Le dispositif d'extraction 2 comprend également des pales motorisées 14 et 14' rotatives, disposées dans la cuve 4 et dimensionnées pour défibrer les écailles de poisson. Ces dernières agissent comme des fléaux lorsqu'elles sont mises en rotation, ce qui permet le défibrage des écailles de poisson présentes dans la cuve 4.
- [0027] Les pales motorisées 14 et 14' sont mises en rotation par l'axe 6, relié directement ou indirectement à un moteur 16. Les pales motorisées 14 et 14' sont montées de manière amovible sur l'axe 6. Cela permet une maintenance aisée et une modularité du dispositif d'extraction 2 avec un remplacement de pales motorisées d'une forme donnée par d'autres pales motorisées d'une autre forme. Alternativement, les pales motorisées pourraient faire partie d'un bloc rotatif réalisé d'un seul tenant.
- [0028] Comme cela est représenté sur la [Fig.1], au moins une pale motorisée, ici la pale motorisée 14 peut être formée par une barre métallique, par exemple de section droite rectangulaire, comprenant une portion centrale 18 de préférence perforée (i.e. comprenant un orifice traversant) reliée à l'axe 6 et au moins une portion terminale, ici deux portions terminales 18', formant un angle compris entre 30° et 70° avec la portion centrale (l'angle est environ égal à 45° sur la [Fig.1]). Alternativement ou en complément, au moins une pale motorisée, ici la pale motorisée 14', peut être plane et de préférence perforée elle aussi.
- [0029] Avantagusement, la forme d'au moins une partie des pales motorisées permet d'éviter une stagnation des écailles de poisson dans la cuve 4. Dans l'exemple illustré, la pale motorisée 14' plane est placée en fond de cuve 4 pour éviter une telle stagnation.
- [0030] Comme expliqué ci-dessus, l'axe 6 est relié à un moteur 16. Ce moteur 16 peut être dimensionné pour permettre une rotation des pales motorisées 14 et 14' entre 5 000 et 30 000 tours par minute, de préférence entre 15 000 et 25 000 tours par minute, cette gamme de vitesse étant la plus adaptée. De manière générale, la vitesse de rotation des pales motorisées 14 et 14' est adaptée en fonction du type et de la quantité d'écailles dans la cuve 4.
- [0031] Le moteur est avantagusement couplé à un variateur de vitesse. Cela permet d'ajuster la vitesse de rotation d'une étape de défibrage à une autre pour différents lots d'écailles, ou encore pour faire varier la vitesse de rotation des pales motorisées 14 et 14' au cours d'une même étape de défibrage si cela est avantageux.
- [0032] L'axe 6 est de préférence réalisé en acier inoxydable, pour les mêmes raisons que la cuve 4. Il est de préférence fileté, comme c'est le cas sur la [Fig.1]. Cela peut permettre le vissage des pales motorisées 14 et 14' si l'orifice traversant des pales motorisées 14 et 14' est fileté. Le serrage peut dans ce cas être effectué grâce à un boulon de serrage 20.

- [0033] Au moins une entretoise peut être placée entre les pales motorisées 14 et 14' successives. On peut dès lors ajuster la distance séparant les pales motorisées 14 et 14' et ainsi l'adapter au type et au volume d'écaillés présentes dans la cuve 4.
- [0034] Le dispositif d'extraction comprend en outre, et comme expliqué ci-dessus, un organe de fermeture 8 de la cuve 4 placé en haut de la cuve 4. Il peut par exemple s'agir d'une plaque pleine.
- [0035] Le dispositif d'extraction 2 comprend en outre des moyens de séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écaillés de poisson issues du défibrage.
- [0036] Dans l'exemple illustré à la [Fig.1], ces moyens de séparation mécanique comprennent au moins un système d'aspiration 22 placé face à une ouverture d'introduction d'écaillés de poisson de la cuve 4. Ce système d'aspiration 22 est dimensionné et placé de manière à aspirer le contenu de la cuve 4. Dans ce cas, la cuve 4 comprend des moyens agencés pour empêcher le passage de collagène natif et autoriser le passage d'hydroxyapatite et d'impuretés. La cuve 4 peut par exemple comprendre des ouvertures autorisant l'extraction de la cuve 4 de certains produits issus du défibrage des écaillés de poisson, tout en interdisant la sortie de la cuve 4 d'autres produits issus de ce défibrage. On retire dès lors de la cuve 4, de manière concomitante au défibrage par les pales motorisées 14, les autres composants issus du défibrage, tel que l'hydroxyapatite, afin de ne conserver dans la cuve 4 qu'un collagène natif le plus pur possible.
- [0037] Avantageusement, le dispositif d'extraction 2 peut comprendre un organe de mesure de la température à l'intérieur de la cuve 4, par exemple un capteur de température disposé dans la cuve 4. Cela permet d'identifier un éventuel échauffement de l'intérieur de la cuve 4 pouvant dénaturer les fibres de collagène. En effet, pour éviter tout risque de dénaturation du collagène natif, il est préférable de maintenir la température à l'intérieur de la cuve inférieure à 60°C.
- [0038] Dans cette même optique de contrôle de la température, il est possible de coupler l'organe de mesure de la température à l'intérieur de la cuve 4 à un organe d'abaissement de la température à l'intérieur de la cuve 4. Cela permet d'éviter un éventuel échauffement de l'intérieur de la cuve pouvant dénaturer les fibres de collagène. Avantageusement, l'organe d'abaissement de la température à l'intérieur de la cuve 4 comprend au moins un élément choisi parmi : un système d'arrêt de la rotation des pales motorisées 14 et 14', un système de limitation de la vitesse de rotation des pales motorisées 14 et 14', ou un dispositif d'injection d'au moins un agent refroidissant, par exemple d'azote liquide, par exemple tout autour de la cuve.
- [0039] En ce qui concerne le procédé d'extraction mécanique de collagène natif à partir d'écaillés de poisson à l'aide d'un dispositif d'extraction selon l'invention, la première

étape 24 peut être un nettoyage (à l'eau claire ou un nettoyage enzymatique) et un séchage des écailles de poisson à l'aide de moyens décrits plus haut.

[0040] Suite à cette étape, un volume d'écailles de poisson est placé à l'intérieur de la cuve 4 (étape 26). Il est ensuite possible de régler la hauteur de l'organe de fermeture 8 sur la cuve 4 comme expliqué plus haut, notamment en fonction du volume d'écailles de poisson introduit dans la cuve 4.

[0041] Une étape de défibrage 28 des écailles de poisson par mise en rotation des pales motorisées 14 et 14' est mise en œuvre. Comme expliqué plus haut, les pales motorisées 14 et 14' peuvent être mises en rotation à une vitesse comprise entre 5 000 et 30 000 tours par minute, de préférence entre 15 000 et 25 000 tours par minute, pendant une période variant de préférence 10 secondes à 3 minutes. La vitesse de rotation des pales motorisées peut varier lors de l'étape 28 de défibrage des écailles de poisson.

[0042] Lors de cette étape 28 de défibrage des écailles de poisson, la cuve 4 peut être inclinée afin de permettre la séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres éléments issus du défibrage.

[0043] Comme expliqué plus haut et illustré sur la [Fig.2], l'étape 30 de séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres éléments issus du défibrage peut se faire de manière concomitante à celle de défibrage des écailles de poisson. Elle peut être effectuée par le système d'aspiration 22 décrit ci-dessus. Alternativement, il est possible de séparer mécaniquement le collagène des autres éléments issus du défibrage après défibrage, par exemple par récupération des écailles défibrées puis passage sur un tamis vibrant.

[0044] Il est possible de prévoir une étape 32 de mesure de la température à l'intérieur de la cuve 4, pour les raisons évoquées plus haut, pendant l'étape de défibrage des écailles de poisson. En cas d'augmentation de la température dans la cuve 4 au-dessus d'une valeur seuil, une étape 34 d'abaissement de la température à l'intérieur de la cuve 4 peut être mise en œuvre par réduction de la vitesse de rotation des pales motorisées 14 et 14', par arrêt de la rotation des pales motorisées 14 et 14', ou encore par injection d'au moins un agent refroidissant tel que l'azote liquide.

[0045] Enfin, il est possible de prévoir une étape 36 de micronisation des fibres de collagène natif extraites, par exemple dans un broyeur à rotors, afin d'augmenter la solubilité du collagène dans l'acide.

[0046] Selon un exemple de mise en œuvre de l'invention, 20 grammes d'écailles sèches (taux d'humidité résiduelle autour de 11%) de tilapia (*Oreochromis niloticus*) sont placés dans la cuve 4 en inox de 14 centimètres de diamètre. Deux pales motorisées 14' plates et droites en inox, d'une longueur égale à 13,5cm, et une pale motorisée 14 de la forme décrite ci-dessus (d'une longueur de 6 centimètres et d'une hauteur de 2

centimètres) sont positionnés les uns à la suite des autres sur l'axe 6, le tout étant serré et sécurisé par un boulon de serrage 20.

[0047] Avec les vis de réglage 10, un organe de fermeture 8 est positionné de façon à ce que la hauteur de la chambre définie par la cuve 4 et l'organe de fermeture 8 soit de 7 centimètres.

[0048] Un système d'aspiration 22 est installé au niveau de la cuve 4 pour réaliser la séparation des produits issus du défibrage. Une entrée d'air dans la cuve 4 est prévue pour éviter de créer un vide. La vitesse des pales motorisées est fixée à 28 000 rotations par minute, et l'étape 28 de défibrage des écailles de poisson est de 1 minute et 30 secondes. Après défibrage des écailles de poisson et séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres éléments issus du défibrage, on récupère 6 grammes de collagène natif pur (le taux d'impuretés est inférieur à 2%) sous forme fibreuse.

[0049] Les analyses physico-chimiques effectuées démontrent que les propriétés de ce collagène sont celles d'un collagène natif ayant conservé sa conformation en triple hélice. Ce collagène peut ensuite être solubilisé dans un acide organique, ou inorganique, (conventionnellement de l'acide acétique) ou utilisé directement pour la formation de biofilms ou de biomatériaux, entre autres. Un sac d'aspiration du système d'aspiration 22 contient 14 grammes de résidu, majoritairement composé de minéral, avec un taux d'hydroxyapatite supérieur à 60%. L'opération peut ensuite être répétée instantanément en chargeant de nouveau la cuve 4 avec des écailles de poisson.

Liste de références

- [0050] 2 : dispositif d'extraction
- 4 : cuve
- [0051] 6 : axe
- [0052] 8 : organe de fermeture
- [0053] 10 : vis de réglage
- [0054] 12 : support
- [0055] 14, 14' : pales rotatives
- [0056] 16 : moteur
- [0057] 18 : portion centrale
- [0058] 18' : portions terminales
- [0059] 20 : boulon de serrage
- [0060] 22 : système d'aspiration
- [0061] 24 : nettoyage et séchage des écailles de poisson
- [0062] 26 : insertion des écailles de poisson dans la cuve
- [0063] 28 : défibrage des écailles de poisson
- [0064] 30 : séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres

éléments issus du défibrage

- [0065] 32 : mesure de la température à l'intérieur de la cuve
- [0066] 34 : abaissement de la température à l'intérieur de la cuve
- [0067] 36 : micronisation des fibres de collagène natif

Revendications

- [Revendication 1] Dispositif d'extraction (2) mécanique de collagène natif à partir d'écaillés de poisson séchées comprenant :
- une cuve (4) dimensionnée pour recevoir un lot d'écaillés de poisson,
 - un organe de fermeture (8) de la cuve (4) placé en haut de la cuve (4),
 - des pales motorisées (14, 14') rotatives disposées dans la cuve (4) et dimensionnées pour défibrer les écaillés de poisson, et
 - des moyens de séparation mécanique (22) des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écaillés de poisson issues du défilage.
- [Revendication 2] Dispositif d'extraction (2) selon la revendication 1, comprenant des moyens de nettoyage et de séchage des écaillés de poissons avant placement dans la cuve (4).
- [Revendication 3] Dispositif d'extraction (2) selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la cuve (4) est réalisée à partir d'un alliage de dureté supérieure à celle de l'hydroxyapatite.
- [Revendication 4] Dispositif d'extraction (2) selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant des moyens de réglage (10, 12) de la hauteur de l'organe de fermeture (8) sur la cuve (4).
- [Revendication 5] Dispositif d'extraction (2) selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant un axe (6) portant les pales motorisées et relié à un moteur (16) couplé à un variateur de vitesse.
- [Revendication 6] Dispositif d'extraction (2) selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel les moyens de séparation mécanique des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écaillés de poisson issues du défilage comprennent au moins un système d'aspiration (22) du contenu de la cuve (4) placé face à une ouverture de la cuve (4), la cuve (4) comprenant des moyens agencés pour empêcher le passage de collagène natif et autoriser le passage d'hydroxyapatite et d'impuretés.
- [Revendication 7] Dispositif d'extraction (2) selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant un organe de mesure de la température à l'intérieur de la cuve (4).
- [Revendication 8] Dispositif d'extraction (2) selon la revendication précédente, dans

lequel l'organe de mesure de la température à l'intérieur de la cuve (4) est couplé à un organe d'abaissement de la température à l'intérieur de la cuve (4).

[Revendication 9]

Procédé d'extraction mécanique de collagène natif à partir d'écailles de poisson à l'aide d'un dispositif d'extraction selon l'une quelconque des revendications précédentes, les étapes du procédé étant les suivantes :

- nettoyage et séchage (24) des écailles,
- insertion (26) d'écailles dans la cuve,
- défilage mécanique (28) des écailles par mise en rotation des pales, et
- séparation mécanique (30) des fibres de collagène natif par rapport à d'autres parties des écailles de poisson issues du défilage.

[Revendication 10]

Procédé d'extraction selon la revendication 9, dans lequel la hauteur de l'organe de fermeture (8) par rapport à la cuve (4) est choisie en fonction du volume d'écailles de poisson dans la cuve.

[Revendication 11]

Procédé d'extraction selon l'une quelconque des revendications 9 et 10, dans lequel un système d'aspiration (22) aspire le contenu de la cuve (4) lors de l'étape (28) de défilage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées (14, 14'), la cuve (4) comprenant des moyens empêchant la sortie des fibres de collagène natif et autorisant la sortie d'hydroxyapatite et d'impuretés.

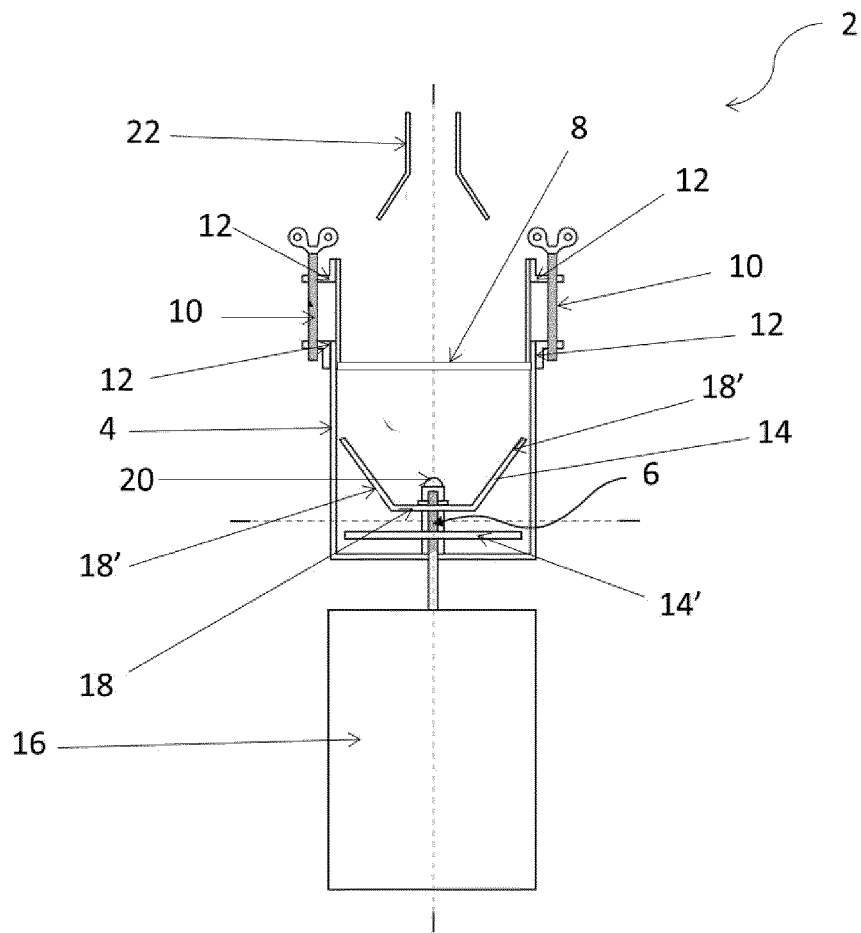
[Revendication 12]

Procédé d'extraction selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, dans lequel la température à l'intérieur de la cuve (4) est mesurée lors de l'étape (28) de défilage mécanique des écailles par mise en rotation des pales motorisées (14, 14').

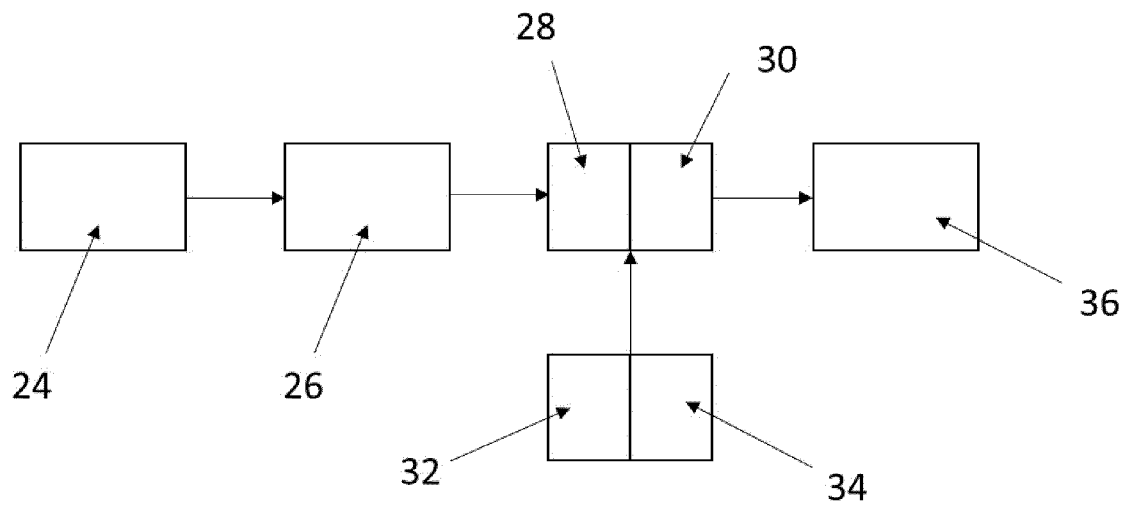
[Revendication 13]

Procédé d'extraction selon la revendication 12, dans lequel la température à l'intérieur de la cuve (4) est abaissée lors de l'étape (28) de défilage mécanique des écailles par mise en rotation des pales.

[Fig. 1]



[Fig. 2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2024/065121

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L 33/18(2016.01)i; **A61K 38/39**(2006.01)i; **C07K 14/78**(2006.01)i; **A23J 1/00**(2006.01)i; **A23J 1/04**(2006.01)i;
A23J 1/10(2006.01)i; **C12M 1/06**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L; C07K; A61K; C12M; A23J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 214554108 U (ZHONGRUN OCEAN QINGDAO BIOTECHNOLOGY CO LTD) 02 November 2021 (2021-11-02)	1-5,7-10,12,13
Y	the whole document	2
A		6,11
X	CN 103705976 B (SHANDONG FRESHWATER FISHERIES RES INST) 13 January 2016 (2016-01-13)	1,3,5,7,8
Y	the whole document	2
A		6,11
X	CN 216931675 U (MAPLE BEAST LIFE TECH WUXI CO LTD) 12 July 2022 (2022-07-12)	1-5,7-10,12,13
Y	the whole document	2
A		6,11
X	CN 217662813 U (FUJIAN MANLING FOOD CO LTD) 28 October 2022 (2022-10-28)	1,3,5,7-10,12,13
Y	the whole document	2
A		6,11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 August 2024

Date of mailing of the international search report

20 August 2024

Name and mailing address of the ISA/EP

European Patent Office
p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk
Netherlands (Kingdom of the)

Telephone No. (+31-70)340-2040

Facsimile No. (+31-70)340-3016

Authorized officer

Fiorenza, Francesca

Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 112827212 A (CRIMINAL INVESTIGATION POLICE UNIV OF CHINA) 25 May 2021 (2021-05-25)	1,3-5,7-10,12,13
Y	the whole document	2
A		6,11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/EP2024/065121

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	214554108	U	02 November 2021	NONE	
CN	103705976	B	13 January 2016	NONE	
CN	216931675	U	12 July 2022	NONE	
CN	217662813	U	28 October 2022	NONE	
CN	112827212	A	25 May 2021	NONE	

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE		
INV.	A23L33/18 A61K38/39 C07K14/78 A23J1/00 A23J1/04	
	A23J1/10 C12M1/06	
ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A23L C07K A61K C12M A23J		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CN 214 554 108 U (ZHONGRUN OCEAN QINGDAO BIOTECHNOLOGY CO LTD) 2 novembre 2021 (2021-11-02)	1 - 5, 7 - 10, 12, 13
Y	le document en entier	2
A		6, 11

X	CN 103 705 976 B (SHANDONG FRESHWATER FISHERIES RES INST) 13 janvier 2016 (2016-01-13)	1, 3, 5, 7, 8
Y	le document en entier	2
A		6, 11

X	CN 216 931 675 U (MAPLE BEAST LIFE TECH WUXI CO LTD) 12 juillet 2022 (2022-07-12)	1 - 5, 7 - 10, 12, 13
Y	le document en entier	2
A		6, 11

	- / - -	
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
6 août 2024		20/08/2024
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Fiorenza, Francesca

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CN 217 662 813 U (FUJIAN MANLING FOOD CO LTD) 28 octobre 2022 (2022-10-28)	1, 3, 5, 7-10, 12, 13
Y	le document en entier	2
A	-----	6, 11
X	CN 112 827 212 A (CRIMINAL INVESTIGATION POLICE UNIV OF CHINA) 25 mai 2021 (2021-05-25)	1, 3-5, 7-10, 12, 13
Y	le document en entier	2
A	-----	6, 11

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2024/065121

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
CN 214554108	U	02-11-2021	AUCUN	
CN 103705976	B	13-01-2016	AUCUN	
CN 216931675	U	12-07-2022	AUCUN	
CN 217662813	U	28-10-2022	AUCUN	
CN 112827212	A	25-05-2021	AUCUN	