

PROJET P.RI.S.MA.-MED

"PLAN DÉCHETS ET DÉCHETS EN MER DE PÊCHE, D'AQUACULTURE ET DE LOISIRS EN MÉDITERRANÉE"

COMPOSANTE T3.1 "Bonnes pratiques"

"Schéma d'Acte du Protocole de Bonnes Pratiques Gestion Intégrée des Déchets Municipaux et Spéciaux"

Produit T3.1.1 - PARTIE II MODALITES POUR LA RÉUTILISATION DES SOUS-PRODUITS ET DES DECHETS DE LA PECHE ET DE L'AQUACULTURE - ECONOMIE CIRCULAIRE



Table des matières

Introduction	1
1. Rapport de caractérisation physico-chimique et biologique des résidus de pêche et d'aquaculture	4
1.1 Introduction et méthode de préparation des échantillons	4
1.2 Caractérisation microbiologique des matrices organiques	6
1.3 Caractérisation chimique des matrices organiques	10
1.4 Considérations finales	15
2. Étude de faisabilité pour la réutilisation des résidus organiques	17
2.1 Évaluation réglementaire de l'utilisation de "déchets" de la filière piscicole pour l'extraction de matières premières secondaires	17
2.1.1 Réglementation générale relative à l'obligation de débarquement et à l'utilisation des déchets	17
2.1.2 Obligations nationales en matière d'organisation pour le respect de l'obligation de débarquement et l'utilisation des déchets	18
2.1.3 Compétence des organisations de producteurs dans la gestion des déchets	19
2.1.4 Objet et objectif de la réglementation européenne : produits à d'autres fins que la consommation humaine	20
2.1.5 Interventions en faveur des activités de débarquement et d'utilisation des déchets	21
2.1.6 Règles applicables aux écarts	22
2.2 Déchets de la pêche : étude de l'état de la technique	22
2.2.1 Caractérisation des principaux types de pêche démersale et estimation des écarts	23
2.2.2 Gestion des déchets - aspects logistiques	27
2.3 Utilisation des déchets organiques : étude de l'état de la technique	27
2.3.1 Composés bioactifs	30
2.3.2 Options de gestion des déchets - collagène	32
2.4 Considérations	41
2.5 étude expérimentale	43

Introduction

Le présent document a pour but de résumer en un seul document ce qui a été développé dans le projet PRISMAMED en conclusion des actions pilotes spécifiques et sur la base des résultats obtenus, en lançant la dernière phase du projet, consistant à partager et à mettre en œuvre les *protocoles de bonnes pratiques* pour la gestion des déchets de la pêche, de l'aquaculture et des loisirs.

En particulier, telle action résulte considérable au fin d'assurer les governance des refus en domaine portuaire et, là où possible, leur réutilisation ; en particulier, l'élaboration d'un protocole de bonnes pratiques pour la gestion intégrée des déchets municipaux et spéciaux entre opérateurs/autorités locales/autorités portuaires/exploitants, qui :

- fournir aux entités gestionnaires des indications sur le dimensionnement et l'agencement corrects des points de collecte et de stockage des déchets organiques et spéciaux en fonction de leur type et de leur quantité, ainsi que sur les différentes modalités d'élimination de ces déchets, ainsi que de fournir aux opérateurs de la pêche et de l'aquaculture des modalités et des procédures adéquates pour leur élimination correcte.
- définir des modalités d'application pour lancer de nouvelles activités productives liées à la récupération des matières organiques résiduelles.

À cette fin, le document se compose de deux sections, développées comme indiqué dans le projet, qui se prêtent à la consultation des parties intéressées, et notamment :

SECTION I - GESTION DES DÉCHETS, elle-même divisée en :

- ***Rapport final de caractérisation des déchets assimilables urbains et spéciaux*** qui, à travers une analyse réglementaire minutieuse, a pour but de classer les déchets produits et collectés occasionnellement par les pêcheurs et les aquaculteurs opérant dans l'aire de coopération. Dans cette section sont également donnés **des** approfondissements spécifiques effectués à travers des spéciales campagnes de collecte des déchets, destinées à en définir typologie et quantité ;
- ***Lignes directrices pour l'aménagement de points*** de collecte de déchets urbains et spéciaux entre opérateurs/autorités locales/autorités portuaires/gestionnaires, dans laquelle sont définies les modalités et procédures de gestion et/ou de parcours alternatifs pour l'identification et le dimensionnement d'espaces physiques - adaptés à la qualité et à la quantité des déchets - à affecter à des points de collecte ou similaires à l'intérieur des ports, nécessaires pour la mise en place ultérieure ad hoc de points de dépôt et de stockage adaptés aux besoins. Les documents suivants peuvent être consultés en lien avec les lignes directrices et dans l'annexe :
 - o quatre modèles de **questionnaires élaborés** selon la catégorie de personnes interrogées, utiles lors du dimensionnement des points de collecte pour les pêcheurs, C'est-à-dire pour clarifier la qualité et la quantité des déchets produits et collectés dans la situation étudiée afin

de faire apparaître des besoins site-spécifiques des zones concernées. Les catégories concernées étaient les plaisanciers, les gestionnaires du service des déchets, les pêcheurs et les producteurs (conchyliculteurs, pisciculteurs, aquaculteurs),

- o un résumé du rapport final de suivi qualitatif et quantitatif sur les déchets produits et collectés, contenant les résultats des activités de suivi et de classification des déchets réalisées par l'administration des questionnaires visés au point précédent;

- ***Lignes directrices concernant l'autorisation des nouvelles installations de stockage de déchets.***

SECTION II - MODALITÉS DE RÉUTILISATION DES SOUS-PRODUITS ET DES DÉCHETS DE LA PÊCHE ET DE L'AQUACULTURE - ÉCONOMIE CIRCULAIRE, consacrée à l'exploration de nouvelles et innovantes modalités de réutilisation des produits résiduels de la pêche et de l'aquaculture dans une optique d'économie circulaire et articulée en :

- ***Relation de caractérisation physico-chimique et biologique des résidus de pêche et d'aquaculture;***
- ***Étude de faisabilité pour la réutilisation des résidus organiques***

La seconde section fait l'objet de la présente publication.

SECTION II - ÉCONOMIE CIRCULAIRE **MODALITÉS DE RÉUTILISATION DES SOUS-PRODUITS ET DÉCHETS DE** **LA PÊCHE ET DE L'AQUACULTURE**

1. Rapport de caractérisation physico-chimique et biologique des résidus de pêche et d'aquaculture

1.1 Introduction et méthode de préparation des échantillons

Activité fondamentale pour la définition de modalités d'application visant à lancer de nouvelles activités productives liées à la récupération des matières organiques - à travers la réutilisation directe comme aliment, ou pour la production de farines animales à utiliser comme aliment, ou encore pour des utilisations alternatives et novatrices - est la caractérisation des résidus organiques provenant de l'activité de pêche et de l'aquaculture : analyses de type microbiologique, chimique et physique par typologie de fraction organique, afin d'établir les propriétés intrinsèques de ce matériel et de suggérer sa gestion ultérieure.

Les analyses mentionnées ci-dessus, menées par l'Institut Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta (IZS PLV) à la demande de la Région Ligurie, ont porté *en premier lieu* sur l'obtention des échantillons biologiques sur lesquels ouvrir les enquêtes analytiques. En particulier :

- en ce qui concerne l'activité de pêche, 12 sous-échantillons ont été retrouvés à partir d'échantillonnages provenant des pêches commerciales de chalutiers professionnels de la marine de S. Margherita Ligure opérant dans le Golfe du Tigullio. Les spécimens pêchés appartiennent à des espèces d'eau profonde (OTB_DWS, Bottom Otter Trawl - Deep Water Species, n=6) et des espèces démersales (OTB_DES, Bottom Otter Trawl - Demersal Species, n=6) récoltées avec la technique du chalutage à deux niveaux de profondeur différents, par des navires de pêche le long de la plate-forme et de l'escarpement continentaux compris dans la zone située entre S. Margherita Ligure (GE) et Monterosso (SP). Les échantillons de déchets ont été collectés pendant l'activité de pêche, séparés du reste du poisson et stockés dans des caisses en polystyrène destinées à la récolte du poisson; Immédiatement après le débarquement, la matière organique a été classée et congelée à -20 degrés C en attendant la transformation suivante, préalable aux analyses chimiques et microbiologiques. Afin de vérifier les différences entre le poisson maintenu à température de réfrigération pendant 24-48 heures et celui conservé à -20 dB C, trois échantillons prélevés entre Décembre 2019 et Janvier 2020 ont été examinés si frais (maintenus à 4 dB C) qu'à 20 dB. C. Les échantillons décongelés (environ 10 à 15 jours après le prélèvement) ont fait l'objet d'un examen approprié et une partie de l'échantillon a été sélectionnée de manière à être représentative de l'échantillon de déchets organiques prélevé pendant toute la durée de la capture. Le matériau a été homogénéisé à l'aide d'un mélangeur et le composé obtenu a été partiellement analysé et partiellement congelé à -20 °C pour des études de laboratoire
- en ce qui concerne l'activité aquacole, l'on a recherché :
 - n. 1 échantillon de poissons, constitué principalement de produits d'éviscération et, dans une moindre mesure, de poissons morts; l'échantillon a été divisé en plusieurs aliquotes et congelé à -20 dB C en attendant l'analyse ultérieure.

- n. 1 échantillon de coquilles conchyliques, constitué principalement de coquilles vides de moules; l'échantillon a été pressé et broyé de manière à obtenir un hachage uniforme, partiellement analysé et partiellement congelé à -20 °C.

Au total, 14 échantillons décrits dans le tableau 1 ont été prélevés

N° Camp	ACC.	DATE	MATRICE	TYPE DE PÊCHE	PROFONDEUR (m.)	domaines	T° Champion
1	23514	26/02/2019	éviscéré	élevage	-	Tableau noir (GE)	-20°C
2	68650	31/05/2019	mollusques bivalves	élevage	-	Sardaigne	-20°C
3	68682	11/07/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DWS	540-660	S. Margherita - Monterosso; Escarpement continental	-20°C
4	68687	24/07/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DES	85-95	S. Margherita - Monterosso; Plateau continental	-20°C
5	68702	07/08/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DWS	540-610	S. Margherita - Monterosso; Escarpement continental	-20°C
6	69346	22/08/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DES	60-100	S. Margherita - Monterosso; Plateau continental	-20°C
7	78397	12/09/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DES	55-80	S. Margherita - Monterosso; Plateau continental	-20°C
8	78645	27/09/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DWS	510-670	S. Margherita - Monterosso; Escarpement continental	-20°C
9	97759	23/10/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DWS	510-635	S. Margherita - Monterosso; Escarpement continental	-20°C
10	97764	30/10/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DES	55-90	S. Margherita - Monterosso; Plateau continental	-20°C
11	98886	26/11/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_DES	55-90	S. Margherita - Monterosso; Plateau continental	-20°C
12	106594/1	19/12/2019	effectifs de pêche au chalut	OTB_MIX	110-630	S. Margherita - Monterosso; Plateau et talus continental	4°C
	106594/2	"	"	"	"	"	-20°C
13	10657/1	30/01/2020	effectifs de pêche au chalut	OTB_DES	52-62	S. Margherita - Monterosso; Plateau continental	4°C
	10657/2	"	"	"	"	"	-20°C
14	13090/1	06/02/2020	effectifs de pêche au chalut	OTB_DWS	540-610	S. Margherita - Monterosso; Escarpement continental	4°C
	13090/2	"	"	"	"	"	-20°C

Tableau 1. Liste des échantillons prélevés, type (OTB_DWS = Bottom Otter Trawl - Deep Water Species OTB_DES = Bottom Otter Trawl - Demersal Species) zone et profondeur de collecte et températures de réfrigération.

1.2 Caractérisation microbiologique des matrices organiques

Pour la caractérisation des échantillons prélevés et l'évaluation microbiologique qui en résulte, une série d'analyses ont été mises au point pour la détection de micro-organismes indicateurs dont la présence, à des concentrations définies, peut être utilisée pour évaluer la qualité microbiologique du produit. Les analyses microbiologiques menées portent à la fois sur la recherche des agents pathogènes les plus significatifs pour le type de matrice, tels que les salmonelles et la listériose, et sur les micro-organismes toxigènes (staphylocoques coagulases positifs et anaérobies sulfites réducteurs); l'évaluation des agents responsables de la détérioration a également été incluse. En particulier, le contrôle de la charge mésophile et psychophile peut être un indicateur important à la fois de la qualité des processus de production et/ou de manipulation et de la qualité de la matière première.

Le contrôle des températures est l'élément principal pour assurer la bonne conservation du matériel organique: conserver à des températures appropriées signifie réduire au minimum le risque microbiologique résultant de la multiplication bactérienne. Au cours du déroulement des essais, à la fin de la période T1-T3, il est apparu qu'il était nécessaire de recueillir des informations relatives à l'introduction de variables dans les modes de conservation des déchets organiques.

En ce qui concerne les échantillons issus de l'activité de pêche, la comparaison pratique avec les opérateurs du secteur a fait apparaître certaines difficultés liées au processus de collecte des échantillons de déchets de la pêche et à leur conservation à terre, portant sur la logistique du transport et la mise à disposition d'outils permettant de maintenir correctement la "chaîne du froid" (notamment les congélateurs); cette problématique a conduit à effectuer sur les échantillons prélevés une caractérisation du point de vue microbiologique, avant la congélation, avec conservation en milieu réfrigéré (2-8 heures C) pendant 24-72 heures et après congélation à -20 heures C.

Cette évaluation n'a pu être réalisée que sur les échantillons de déchets organiques collectés à partir du mois de décembre 2019, qui ont donc été identifiés avec double n. d'acceptation selon le mode de conservation (Tableau 1): 106594/1 (réfrigéré) et 106594/2 (congelé), 10657/1 (réfrigéré) et 10657/2 (congelé), 13050/1 (réfrigéré) et 13050/2 (congelé).

A l'exception du premier échantillon recueilli, auquel a été attribué le n des méthodes d'isolement ont été utilisées et compte selon les procédures traditionnelles décrites par la norme ISO, tous les autres échantillons ont été analysés en utilisant la méthode de comptage automatisée appelée TEMPO® (Biomérieux) Un test traditionnel de détection de bactéries anaérobies au sulfite réducteur et le test immunoenzymatique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) pour l'identification de certains antigènes somatiques de Salmonella et de Listeria ont été effectués en parallèle avec une procédure ISO.

Toutes les méthodes d'analyse utilisées présentent des caractéristiques de précision, de précision et de spécificité élevées et sont reconnues (ISO) et certifiées (AFNOR).

Voici la liste des tests effectués :

- Détection de **Salmonella spp;**
- Détection de **Listeria monocytogenes;**
- Détection de **Mésophiles Aérobie;**
- Détection de **Psicrofili Aerobi;**
- Détection d'**Enterobacteriaceae**
- Détection d'**Anaérobies Sulfite Réducteurs;**
- Détection de **staphylocoques**, représentés principalement par *S. aureus*, *S. intermedius* et certaines souches de *S. hyicus*.

A la fin des essais, les résultats du tableau 2 ont été relevés.

N° éch.	ACC.	T° échantillon	RÉSULTATS						
			Salmonella (ELFA)	Listeria (ELFA)	Charge Mésophile Total (TEMPO) UFC/g	Charge Psicrophile Total (TEMPO) UFC/g	Entérobactéries (TEMPO) UFC/g	Anaérobies Sulfite Réducteurs (ISO) UFC/g	Staphylocoques UFC/g
1	23514	-20°C	NEG	NEG	3.400.000 (ISO)	6.600.000 (ISO)	250000 (ISO)	320	<100 (ISO)
2	68650	-20°C	NEG	NEG	1.100.000	<100	3.850	70	200
3	68682	-20°C	NEG	NEG	570.000	<100	18.000	<10	<100
4	68687	-20°C	NEG	NEG	290.000	<100	29.000	<10	100
5	68702	-20°C	NEG	NEG	125.000	<10	57	<10	<10
6	69346	-20°C	NEG	NEG	52.000	<10	<10	<10	<10
7	78397	-20°C	NEG	NEG	12.000	<10	100	<10	<10
8	78645	-20°C	NEG	NEG	100	<10	<10	<10	<10
9	97759	-20°C	NEG	NEG	9.500	<10	<10	<10	<10
10	97764	-20°C	NEG	NEG	5.000	<10	21	<10	<10
11	98886	-20°C	NEG	NEG	2.400	<100	130	<10	<10
12	106594/1	4°C	NEG	-	-	-	26.000	-	10
	106594/2	-20°C	NEG	NEG	3.250	>490.000	<100	<10	<10
13	10657/1	4°C	NEG	POS	190.000 (ISO)	<10 (ISO)	<10 (ISO)	1.400	160 (ISO)
	10657/2	-20°C	NEG	NEG	2.100.000	>490.000	10.000	320	<10
14	13090/1	4°C	NEG	NEG	6.800.000	<10 (ISO)	290.000	<10	<10
	13090/2	-20°C	NEG	NEG	430.000	>490.000	<100	36	<10

Tableau 2 Résultats des analyses microbiologiques des 14 échantillons prélevés, les unités formant colonie (ufc) pour les analyses quantitatives et la présence/absence pour les analyses qualitatives sont indiquées.

Déchets de la pêche :

L'analyse des résultats montre que, dans un seul cas (1/12), un micro-organisme pathogène pour l'homme et les animaux (*Listeria monocytogenes*, échantillon n (n uma. acceptation 10657/1)). *L. monocytogenes* chez l'homme est transmis par les aliments par l'ingestion d'aliments contaminés, peut provoquer un tableau clinique asymptomatique, paucisintomatique ou sévère, avec des taux de mortalité élevés

surtout chez les sujets fragiles tels que les nouveau-nés, les personnes âgées, les femmes enceintes et les adultes immunodéprimés.

L. monocytogenes est une bactérie ubiquitaire, très répandue dans l'environnement et se trouve couramment dans le sol, l'eau, la végétation et les fèces de nombreuses espèces animales, sans que ceux-ci présentent des symptômes apparents. Il tolère les environnements salés, peut grandir et se reproduire à des températures variant de 0 à 45 °C, présente une bonne stabilité ambiante et une excellente résistance au froid. Étant donné que la bactérie persiste dans l'environnement pendant de longues périodes, sa présence indique généralement une contamination environnementale du produit ou due à une manipulation par des sujets asymptomatiques après l'échantillonnage.

Les *analyses effectuées* n'ont révélé aucun micro-organisme pathogène chez l'homme et l'animal appartenant au genre *Salmonella*, tandis que des souches entérotoxiques de staphylocoques, qui sont à l'origine des toxines alimentaires les plus courantes, ont été détectés dans trois échantillons de déchets organiques de la pêche (68687, 106594/1 et 10657/1), mais dans tous les cas il s'agissait d'une présence dans des UFC inférieure à celles que la législation actuelle tolère dans les produits alimentaires de la pêche destinés à la consommation humaine (produits décortiqués de crustacés et mollusques cuits ont des valeurs tolérées comprises entre 100 et 1000 UFC/g - RÈGLEMENT (CE) N. 2073/2005 et sm.i.).

La détection des entérobactériacés et des micro-organismes anaérobies sulfites réducteurs, très répandus dans l'eau et des indicateurs potentiels de contamination fécale, était tout à fait attendue compte tenu du type de matrices analysées, en raison de la présence des viscères et des viscères des poissons constituant le produit mis au rebut (échantillons constitués à la fois de muscles et de viscères pour les échantillons DWS et DES). Compte tenu de ce qui précède, le dénombrement des colonies d'entérobactériacés concernées peut être considéré comme acceptable, étant donné que les valeurs tolérées pour les aliments crus destinés à la consommation humaine ne dépassent pas 10000 ufc.

La détection de bactéries psychrophiles, normalement répandues dans le milieu marin en raison de leur capacité à se développer et à se multiplier à des températures comprises entre 0 et 20 °C, a été détectée avec des valeurs à prendre en compte dans la norme, bien qu'il n'existe pas de valeurs de référence pour les produits de la pêche destinés à la consommation.

Les échantillons tenus à 4 °C avant la congélation montrent en moyenne une augmentation des valeurs de contamination bactérienne. En effet, le processus d'analyse, dans ce cas, prévoit des temps prolongés de séjour à des températures inférieures à <20 °C avant congélation avec prolifération bactérienne relative. Cette augmentation souligne l'importance d'une conservation correcte des déchets organiques de pêche qui, en vue d'une utilisation ultérieure, doit être gelée dès que possible

après la récolte afin d'éviter des phénomènes de prolifération bactérienne; il est également nécessaire de prévoir un processus d'assainissement pendant la production du dérivé final.

En conclusion, la caractérisation des échantillons prélevés a donné des résultats satisfaisants (surtout s'ils sont correctement conservés) et a mis en évidence la présence de matières organiques qui, du point de vue microbiologique, ne rencontre aucun obstacle à sa réutilisation dans d'autres domaines, tels que les aliments pour animaux et l'engrais.

Parmi les utilisations de la biomasse halieutique de déchets normalement éliminée, une possibilité de réutilisation pour l'isolement de molécules biologiquement actives, comme le collagène, pour lequel il existe une forte demande du marché, a également été proposée.

À cette fin, dix échantillons (neuf échantillons provenant de la pêche et un échantillon d'éviscéré) ont été analysés pour le dosage du collagène à l'aide du Kit Sensitive Tissue Collagen (Quickzyme Bioscience). Le dosage mesure la quantité totale d'hydroxyproline, acide aminé qui, chez les mammifères, se trouve principalement dans le collagène, sans distinguer entre les différents types de collagène et entre le pro-collagène, le collagène mature et les produits de dégradation de la molécule. (Biochem., 1960, 1: 228-239).

Une quantité moyenne d'environ 695 **µg de collagène total/ml** a été relevée dans les échantillons de ressources halieutiques d'espèces d'eau profonde (Deep Water Species - DWS) et dans certains échantillons de sous-taille (Demersal Species - DES) (Tableau 3) a été détecté environ le double de la quantité, pour une moyenne de 1212 µg de collagène total /ml (tableau 3).

ID éch.	6868 2	6870 2	7864 5	23514	68687	6934 6	78397	9775 9	9776 4	9888 6
TYPE DE éch	DWS	DWS	DWS	Éviscéré	DES	DES	DES	DWS	DES	DES
Quantification (µg/ml)	784,3	651	614,3	754,3	1347,6	464,3	1144,3	731	2774	331

Tableau 3. Quantité totale de collagène détectée dans 10 des 14 échantillons prélevés.

Explorer des voies alternatives de recyclage des déchets de la pêche est l'un des objectifs principaux du projet Prisma-Med et la production de collagène par traitement des déchets de produits de la pêche a été proposée comme une alternative viable. Le collagène serait principalement utilisé dans les domaines cosmétique et pharmacologique. Les données recueillies, bien que très partielles et préliminaires, révèlent la possibilité de poursuivre également cette filière productive, qui permettrait de transformer l'écart, avec ses coûts d'élimination, en ressource de valeur commerciale, selon une conception d'économie circulaire.

Des évaluations des coûts/bénéfices de cette hypothèse sont actuellement en cours, y compris en ce qui concerne les quantités disponibles de déchets et les résultats économiques avantageux.

Déchets de l'aquaculture :

Aucun micro-organisme pathogène des genres *Salmonella* et *L. monocytogenes* n'a été détecté chez l'homme et l'*animal*; des souches entérotoxiques de staphylocoques ont été détectées dans l'échantillon constitué par le déchet de la conchyliculture (68650), mais avec une présence en UFC tolérée, conformément à la législation actuelle, également dans les produits de la pêche destinés à la consommation humaine.

Des entérobactériacés et des micro-organismes anaérobies sulfites réducteurs ont été retrouvés dans l'échantillon issu de la pisciculture (23514), mais cette présence était tout à fait attendue en raison du type de matrices analysées, constituées de viscères et de viscères des poissons. Compte tenu de ce qui précède, le dénombrement des colonies d'entérobactériacés concernées peut être considéré comme acceptable, étant donné que les valeurs tolérées pour les aliments crus destinés à la consommation humaine ne dépassent pas 10000 ufc.

La détection de bactéries psychrophiles, normalement répandues dans le milieu marin en raison de leur capacité à se développer et à se multiplier à des températures comprises entre 0 et 20 °C, n'a également été constatée que dans l'échantillon issu de la pisciculture (23514), mais, comme décrit ci-dessus, avec des valeurs à considérer dans la norme.

La caractérisation des échantillons prélevés dans le cadre d'activités aquacoles (pisciculture et conchyliculture) a donné des résultats satisfaisants, tout comme les sous-produits de la pêche, montrant la présence d'un déchet organique qui, du point de vue microbiologique, pourrait être réutilisé dans le domaine des aliments pour animaux, comme engrais et, pour ce qui est de la culture de la *ichthyococcine*, pour l'utilisation de molécules particulières telles que le collagène.

1.3 Caractérisation chimique des matrices organiques

Les contaminants chimiques évalués ont été :

- hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP),
- polychlorobiphényles (PCB),
- Mercurio,
- Plomb,
- Cadmio.

Par contre, le degré de dégradation des déchets a été évalué par l'analyse de l'histamine.

Les analyses utilisées pour la caractérisation des contaminants chimiques sont fondées sur des méthodes internes conformes à la norme ISO/IEC 17025 "Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essai".

Les techniques analytiques utilisées sont :

1. chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur fluorimètre (HPLC-FLD) pour la détermination des HAP;
2. système HPLC couplé à un détecteur UV-VIS (matrice de photodiodes) pour l'évaluation de l'histamine

3. spectroscopie d'absorption atomique avec four à graphite (GFAAS) pour le plomb et le cadmium;
4. analyseur automatique (TDA) pour le mercure;
5. chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) pour la détermination des PCB autres que ceux de type dioxine (NDL).

Le tableau 4 présente les résultats obtenus; Dans les figures 10 et 11, les résultats des analyses sont présentés sous forme graphique, les valeurs d'histamine et de HAP sont absentes, car elles présentent des niveaux non quantifiables pour la presque-totalité des échantillons.

Résultats de l'analyse chimique projet PRISMA-MED				Hydrocarbures aromatiques polycycliques		Métaux lourds			Biphényles Polychlorés	HISTAMINE
N° éch.	N°Ac c	Date retrait	Matrice	Benzo(a)pyrène (µg/kg)	Somma ⁽²⁾ (µg/Kg)	Pb mg/Kg	Cd mg/Kg	Hg ⁽⁴⁾ mg/Kg	NDL-PCB ⁽⁵⁾ (ng/g de poids à l'état frais)	Istamina (mg/Kg)
1	23514	26/2/19	Éviscéré de poissons	Non quantifiable ⁽¹⁾	2.2 ⁽³⁾	0.03	0.089	0.01	36,0 ⁽⁶⁾	26.7
2	68650	31/5/19	Mollusques bivalves	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.37	0.063	0.01	36,0 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
3	68682	11/7/19	Tableau des effectifs de pêche (DWS)	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.30⁽⁷⁾	0.105⁽⁷⁾	0.36	37,1 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
4	68687	24/7/19	Tableau des effectifs de pêche (DES)	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.17	0.032	0.21	55,5 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
5	68702	7/8/19	Tableau des effectifs de pêche (DWS)	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.23	0.089⁽⁷⁾	0.45	36,3 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
6	69346	22/8/19	Tableau des effectifs de pêche (DES)	0.7	1.4 ⁽³⁾	0.19	0.032	0.10	36,0 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
7	78397	12/9/19	Tableau des effectifs de pêche (DES)	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.52⁽⁷⁾	0.045	0.09	36,0 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
8	78645	27/9/19	Effectifs de pêche (DWS)	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.07	0.075⁽⁷⁾	0.25	36,0 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
9	97759	23/10/19	Tableau des effectifs de pêche (DWS)	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.15	0.040	0.29	39,6 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾
10	97764	30/10/19	Tableau des effectifs	Non quantifiable ⁽¹⁾	Non quantifiable ⁽³⁾	0.33⁽⁷⁾	0.017	0.10	71.3 ⁽⁶⁾	Non quantifiable ⁽⁸⁾

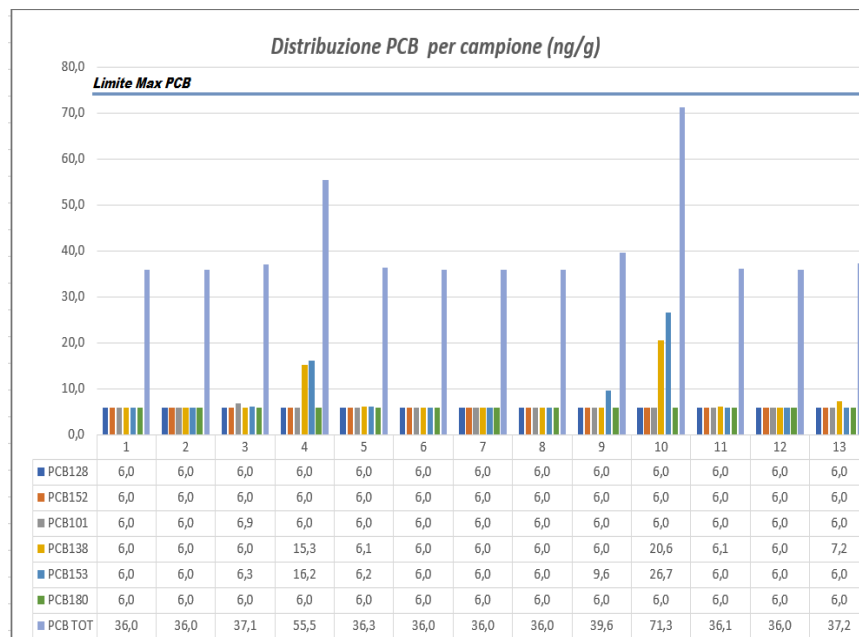


Figure 2. Distribution des valeurs (ng/kg) de PCB dans les 14 échantillons analysés, la valeur seuil légale est mise en évidence.

Selon combien prévu dans le projet Prismamed visé à l'implémentation d'une économie circulaire en domaine maritime, les refus organiques de la pêche, la conchyliculture et l'aquaculture pourraient être réutilisés comme aliments/compléments ou comme matières premières pour la production de farines animales, à utiliser en élevage. C'est la raison pour laquelle l'évaluation préliminaire de la caractérisation des déchets a été effectuée en comparant les valeurs de concentration trouvées par rapport aux limites imposées par la législation dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux.

Les teneurs maximales admissibles dans les aliments de certains composés indésirables, y compris les HAP, les PCB et les métaux lourds, sont des matrices dépendantes et indiquées dans le règlement (CE) no 1881/2006 et s.m.i.; Les teneurs maximales en histamine sont fixées dans le règlement (CE) no 2073/2005 et s.m. pour les produits de la pêche issus d'espèces de poissons à forte teneur en histidine.

En ce qui concerne les HAP, les teneurs maximales sont exprimées en fonction de la somme de quatre congénères tels que : Benzo[a]pyrène(Bap), Benzo[a]anthracène(Baa), Chrysène (CHR) et Benzo[b]fluoranthène (Bbfa) tout en maintenant une teneur maximale pour le benzo(a)pyrène, composé de référence classé par le CIRC comme cancérigène probable pour l'homme. Le règlement fixe la teneur maximale pour les mollusques frais, mais aucune limite de référence n'est fixée pour l'éviscération des poissons, des muscles de poisson et des produits de la pêche. Les limites ne sont définies pour le muscle de poisson que dans le cas où celui-ci a subi un processus de fumage. Compte tenu de l'absence de limites spécifiques, les teneurs indiquées par le règlement ont été retenues en les étendant aux matrices analysées pour l'évaluation préliminaire de l'état de contamination chimique des déchets organiques. Pour les mollusques bivalves, la teneur maximale autorisée est de

6,0 µg/kg pour le Bap et de 35,0 µg/kg pour la somme des quatre congénères. Pour les produits de la pêche fumés, la teneur maximale est de 2,0 µg/kg pour le Bap et de 12,0 µg/kg pour la somme des quatre congénères. La limite légale des PCB est de 75 ng/g de poids à l'état frais. La teneur maximale autorisée en histamine est de 100 mg/kg.

Le plomb et le cadmium dans les muscles de poisson ont une teneur maximale de respectivement 0,30 mg/kg et 0,050 mg/kg, tandis que dans les mollusques bivalves, 1,5 mg/kg et 1,0 mg/kg.

Le mercure dans les produits de la pêche a une limite de 0,50 mg/kg et 1,0 mg/kg selon l'espèce considérée.

Déchets de la pêche :

Les premiers résultats obtenus sur les **HAP** ne révèlent aucun **dépassement des limites proposées**. **La plupart des échantillons sont à une concentration non quantifiable. L'échantillon 69346 (déchet organique DES) présente une concentration inférieure à la moitié de la teneur maximale indiquée pour le benzo(a)pyrène. Par contre, la somme des quatre congénères est environ 9 fois inférieure à la limite légale en raison de la présence simultanée dans l'échantillon de 0,7 µg/kg de Bap et de 0,7 µg/kg de CHR. Dans aucun des échantillons, la concentration de la limite légale pour les PCB n'a été atteinte.**

Des quantités appréciables de cadmium et de plomb ont été déterminées dans les échantillons analysés. Il est signalé que les limites proposées associées à certains échantillons sont dépassées : l'échantillon n° 68682 (DWS) présente une concentration en **plomb** égale à la limite maximale autorisée de **0,30 mg/kg**. **Par contre, on n'observe pas de dépassement de la teneur maximale pour le plomb pour** les autres échantillons DWS. Tous les échantillons de déchets organiques de la pêche DES présentent des concentrations inférieures à la limite légale pour le plomb, à l'exclusion des échantillons n supérieure à la limite légale (0,30 mg/kg).

Dans les échantillons n toutes au-dessus de la limite maximale de 0,050 mg/kg. Le seul échantillon DWS avec des valeurs dans les limites est 97759 (0,04 mg/kg). Tous les échantillons de déchets organiques de la pêche DES présentent des concentrations inférieures à la limite légale.

La concentration de **mercure pour** tous les produits de la pêche analysés est inférieure à la teneur maximale autorisée de 0,5 mg/kg pour les poissons de petite taille et de 1,0 mg/kg pour les poissons de grande taille.

Aucun échantillon ne contient des concentrations d'**histamine supérieures** à ces limites (100 mg/kg).

L'évaluation de l'utilisation des matrices analysées comme matière première pour la production d'aliments pour animaux a été effectuée en tenant compte de la directive 2002/32/CE du 7 mai 2002 "Substances indésirables dans les aliments pour animaux". La directive définit comme non conformes les produits destinés aux aliments pour animaux dont la teneur en substances indésirables ne respecte pas les teneurs maximales fixées à l'annexe I. Il n'existe pas de teneurs maximales

autorisées pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). La teneur maximale autorisée en métaux de la matière première d'origine animale est de 2 mg/kg pour le cadmium, de 10 mg/kg pour le plomb et de 0,1 mg/kg pour le mercure. La teneur maximale en mercure est de 0,5 mg/kg lorsque la matière première utilisée est à base de poisson ou d'autres animaux aquatiques et de leurs produits. Il ressort donc d'une première évaluation que les matrices analysées sont aptes à être utilisées comme matière première pour la production des aliments pour animaux.

Par contre, les teneurs maximales en histamine sont indiquées dans le Reg. (UE) N. 1019/2013 modifiant l'annexe I du règlement (CE) n. 2073/2005 et sont définis pour les produits de la pêche issus d'espèces de poissons à forte teneur en histidine et notamment pour les espèces des familles Scombridae, Clupeidae, Engraulidae, Coryfenidae, Pomatomidae, Scombrosidae. Dans aucun des échantillons analysés la limite légale n'a été atteinte. Cette donnée est importante car la teneur en histamine définit l'état de dégradation de l'aliment et est un composé thermorésistant. Par conséquent, sa présence doit être testée en cas de consommation alimentaire et pour l'utilisation possible des déchets organiques de la pêche comme matière première pour la production de collagène dans l'industrie cosmétique.

Déchets de l'aquaculture :

L'échantillon 23514 (éviscéré de poisson de mer) présente une concentration totale des quatre congénères de 2,2 µg/kg en raison de la présence exclusive de Bbfa. Dans aucun des échantillons, la concentration de la limite légale pour les PCB n'a été atteinte.

Les deux échantillons (mollusques bivalves et éviscérés de poisson de mer) ont une concentration de **plomb dans** les limites autorisées.

La quantité de cadmium **dans l'échantillon** de pisciculture est de 0,089 mg/kg - supérieure à la limite légale; l'échantillon conchylicole présente une concentration dans les limites autorisées.

La concentration de **mercure pour** tous les produits analysés est inférieure à la teneur maximale autorisée, à l'instar des PCB et **de** l'histamine.

A la lumière des données obtenues, à l'instar des déchets de la pêche, il ressort d'une première évaluation que les matrices analysées sont aptes à être utilisées comme matière première pour la production d'aliments pour animaux ou pour la production de collagène dans l'industrie cosmétique (uniquement pour les produits de la culture de l'ichtyococcide); Toutefois, la faible quantité de déchets peut constituer un facteur limitant.

1.4 Considérations finales

Ce rapport - relatif à la fraction organique des sous-produits de la pêche et de l'aquaculture - a permis de faire la lumière sur des aspects particuliers relatifs à la récupération possible de cette fraction organique, actuellement de faible ou nulle valeur commerciale; en effet, il a permis de définir la

typologie, la quantité, le volume, la qualité microbiologique et environnementale des sous-produits des activités des pêcheurs professionnels et des aquaculteurs opérant dans l'aire concernée par le projet de coopération, afin de les réintégrer dans la chaîne de production.

En particulier, le rapport final contribue à la réalisation de l'objectif de récupération des matières organiques dans une optique d'économie circulaire, par la réutilisation comme aliment, ou par la production de farines animales, ou par d'autres utilisations alternatives et innovantes (industrie cosmétique, nutraceutique et pharmaceutique).

Il est important de souligner que les analyses qualitatives et quantitatives des déchets de la pêche et de l'aquaculture ont permis de dégager des résultats importants, qui sont résumés ci-après :

- **les matrices analysées issues de la pêche et de l'aquaculture sont propres à être utilisées comme matière première pour la production d'aliments pour animaux;**
- **les matrices analysées issues de la pêche et de l'aquaculture sont adaptées à une éventuelle utilisation comme matière première pour la production de collagène dans l'industrie cosmétique;**
- **en ce qui concerne les rejets de poissons, plusieurs facteurs peuvent contribuer à générer une grande variabilité dans l'estimation de ceux-ci, tels que la zone de pêche et sa profondeur, la période de l'année (la saisonnalité), la biologie des espèces (recrutement et/ou reproduction), l'effort de pêche (heures d'activité), ainsi que la capacité de pêche du bateau (tonnage et taille);**
- **la faible quantité de sous-produits organiques issus de l'aquaculture (éviscérés d'espèces de poissons élevées et de moules mortes) constitue un facteur limitant dans leur réutilisation possible dans une optique de circular économie.**

A partir des résultats obtenus, ainsi qu'en s'appuyant également sur les résultats de projets déjà menés en la matière, le présent rapport final apparaît comme le point de départ, basé sur des critères objectifs et réalistes, pour la réalisation d'une étude de faisabilité spécifique "circular economy" visant à tracer les exigences d'installations de traitement des sous-produits de l'activité de la pêche et de la conchyliculture, qui puisse s'adapter aux typologies du matériel analysé.

2. Étude de faisabilité pour la réutilisation des résidus organiques

L'étude de faisabilité, réalisée à partir des résultats issus de la caractérisation des déchets organiques de la filière halieutique illustrée au chapitre 4 ci-dessus, vise à tracer la filière de réutilisation de ces déchets, afin de vérifier la faisabilité technique en premier lieu.

Dans ce contexte, outre une première évaluation réglementaire, la présente analyse, fondée à la fois sur des données expérimentales concernant l'estimation de l'écart disponible et sur l'état de la technique pour la partie de transformation, a été réalisée avec les principaux objectifs suivants :

- Caractériser les principaux types de pêche démersale et les espèces qui "définissent" les pêcheries, concernées par les dispositions entrées en vigueur le 1er janvier 2017 et estimation du point de vue de la nature/de la quantité des rejets des espèces de taille minimale.
- Évaluer les aspects logistiques liés à la gestion des déchets à bord et sur les lieux de débarquement.
- Évaluer la faisabilité de procédés de transformation ou d'élimination des organismes soumis à l'obligation de débarquement.

Il est important de souligner que les analyses qualitatives et quantitatives des déchets de la pêche et de l'aquaculture ont permis de dégager des résultats importants, qui sont résumés ci-après :

- la pertinence des matrices analysées issues de la pêche et de l'aquaculture comme matière première pour la production d'aliments pour animaux;
- la pertinence des matrices analysées pour une éventuelle utilisation comme matière première pour la production de collagène dans l'industrie cosmétique;
- la variabilité dans l'estimation de l'écart de pêche, résultant de nombreux facteurs;
- la faible quantité de sous-produits organiques issus de l'aquaculture (éviscérés d'espèces de poissons élevées et de moules mortes) comme facteur limitant à la réutilisation dans une optique de circular economy.

À partir de ces résultats obtenus, ainsi qu'en s'appuyant également sur les résultats de projets déjà menés en la matière, il a été possible de réaliser une étude de faisabilité "circular economy" visant à tracer sur la base de l'analyse normative en vigueur, de la disponibilité du matériel et de l'état de l'art en tant que filière, il est possible de parcourir pour valoriser ce genre de déchet, qui a un grand potentiel de réutilisation.

2.1 Évaluation réglementaire de l'utilisation de "déchets" de la filière piscicole pour l'extraction de matières premières secondaires

2.1.1 Réglementation générale relative à l'obligation de débarquement et à l'utilisation des déchets

La possibilité d'utiliser les déchets de la pêche découle de l'obligation pour les exploitants du secteur alimentaire de débarquer les captures d'espèces de taille inférieure à la taille minimale de référence établie par le Reg. UE 1380/2013 et ensuite spécifiée par les règlements suivants de La mise en œuvre dépend de ce règlement et fait l'objet d'une mise à jour constante.

L'obligation de débarquement des espèces de taille inférieure à la taille minimale, avec comme conséquence des possibilités d'utilisation pour des usages autres que la consommation humaine, est sanctionnée par l'article 3 de la directive. La Cour déclare et arrête :

Art. 15.11 : Pour les espèces soumises à l'obligation de débarquement visée au paragraphe 1, l'utilisation des captures d'espèces de taille inférieure à la taille minimale de référence de conservation n'est autorisée qu'à des fins autres que la consommation humaine¹ directe, y compris la farine de poisson, l'huile de poisson, les aliments pour animaux, les additifs alimentaires, les produits pharmaceutiques et les produits cosmétiques 1.

2.1.2 Obligations nationales en matière d'organisation pour le respect de l'obligation de débarquement et l'utilisation des déchets

La responsabilité de garantir le débarquement de toutes les tailles des différentes espèces de poissons pêchées, de sanctionner le rejet non autorisé en mer et de construire un système d'organisation des déchets de la pêche permettant leur introduction dans un système d'économie circulaire, est sanctionné par le Reg. CE 1224/2009, tel que modifié par des règlements successifs qui en ont adapté le contenu à la nouvelle Organisation Commune des Marchés (Reg. UE 1380/2013).

L'Art. 56 du Règlement 1224 établit cette obligation comme suit :

Art. 56.1 : Chaque État membre est responsable, sur son territoire, du contrôle de l'application des règles de la politique commune de la pêche à tous les stades de la commercialisation des produits de la pêche et de l'aquaculture, de la première vente au détail, y compris le transport. En particulier, les États membres veillent à ce que l'utilisation de produits de la pêche de taille inférieure à la taille minimale de référence de conservation applicable soumis à l'obligation de débarquement prévue à l'article 15 du règlement (UE) n. 1380/2013 soit limitée à des fins autres que la consommation humaine directe.

En Italie, le récent Décret Ministériel MPAAF 17/6/2019 (publié en Supplément ordinaire au "Journal Officiel n. 156 du 5 juillet 2019 - Série générale) réaffirme l'obligation énoncée dans la dernière

¹ For the species subject to the landing obligation as specified in paragraph 1, the use of catches of species below the minimum conservation reference size shall be restricted to purposes other than direct human consumption, including fish meal, fish oil, pet food, food additives, pharmaceuticals and cosmetics.

disposition précitée et fournit une indication claire de la référence réglementaire dans laquelle trouver les espèces et tailles minimales de référence concernées par l'obligation de débarquement et l'interdiction de mise sur le marché pour la consommation humaine des les rejets correspondants de la pêche.

Voici ce qui est mentionné dans le décret susmentionné :

Pour les espèces soumises à l'obligation de débarquement, les captures de taille inférieure à la taille minimale de référence de conservation (figurant à l'annexe III du règ.(CE) 1967/2006) ne peuvent être utilisées qu'à des fins autres que la consommation humaine directe, Parmi ces utilisations figurent par exemple la farine de poisson, l'huile de poisson, les aliments pour animaux, les additifs alimentaires, les produits pharmaceutiques et cosmétiques.

Bien entendu, restent en dehors des espèces et des tailles couvertes par la réglementation européenne citée par le décret ministériel susmentionné tous les cas d'exemption de l'obligation de débarquement prévus par le Reg. EU 1380/2013, en particulier aux articles. 15.4 (b) et 15.5.

2.1.3 Compétence des organisations de producteurs dans la gestion des déchets

En plus de l'article 56 du règlement européen 1224/2009, qui prévoit que les États membres sont responsables de l'organisation d'un système garantissant la mise en œuvre du Reg. UE 1380/2013, le Reg. EU 1379/2013 établit des dispositions en matière de gestion des stocks de poisson inférieurs à la taille minimale normativement établie, en plaçant en chef aux Organisations de Producteurs (OP) cette particulière compétence.

Par conséquent, dans le cadre de l'organisation membre par Etat membre, on favorise le rôle des OP dans la gestion pratique du système, en tout cas dans le cadre de chaque discipline nationale.

L'art. 7 du Reg. 1379 cité ci-dessus établit formellement ce qui précède brièvement décrit, comme suit :

Art. 7.1 : Les organisations de producteurs du secteur de la pêche poursuivent les objectifs suivants : (...) b) éviter et réduire autant que possible les captures indésirées de stocks commerciaux et, le cas échéant, en faire le meilleur usage possible sans créer un marché pour ces captures qui sont inférieures à la taille minimale de référence de conservation, conformément à l'article 15 du règlement (UE) no 1380/2013. ;

Art. 34.2 : Tous les produits de la pêche débarqués, y compris ceux qui ne répondent pas aux normes communes de commercialisation, peuvent être utilisés à des fins autres que la consommation humaine directe, y compris la farine et l'huile de poisson, les additifs alimentaires, les aliments pour animaux familiers, produits pharmaceutiques ou cosmétiques.

En substance, étant donné qu'aucun remboursement des coûts supportés par le pêcheur pour le transport à terre des captures indésirées de poisson n'est codifié pour l'instant, en théorie, la combinaison d'un remboursement minimal et de coûts élevés pour le stockage et le traitement de ces

captures réduit l'incitation pour les pêcheurs à débarquer et/ou à signaler ces captures, en créant les conditions d'un contournement des obligations prévues par le règlement 1380 de l'UE.

Dans ce domaine, les organisations de producteurs ont un rôle crucial à jouer, car elles veulent lire l'intention du législateur européen, dans la mesure où une coopération plus étroite des pêcheurs et des OP avec les ports et les acteurs du marché disposant d'infrastructures existantes pour la collecte des déchets de poisson et d'autres matières premières pour la production de farine, huile de poisson et autres produits non destinés à la consommation humaine, pourrait potentiellement réduire la charge des coûts pour les opérateurs du secteur de la pêche dans la gestion de ces captures indésirables et augmenter la probabilité que les obligations prévues par les règlements européens soient remplies.

2.1.4 Objet et objectif de la réglementation européenne : produits à d'autres fins que la consommation humaine

Sur le plan de ce qui constitue effectivement un produit "à des fins autres que la consommation humaine", la Commission européenne (DG MARE) a été interrogée une première fois en 2015 par les adjudicataires d'un projet approuvé dans le cadre du programme Horizon 2020 et en référence aux modalités d'exécution de celui-ci.

Dans cette première occasion de clarification, la Commission a précisé à quelles fins les déchets de la pêche ne peuvent PAS être utilisés et à quelles fins économiques ils peuvent être réintroduits dans un système d'économie circulaire.

La DG MARE a en effet précisé que les déchets de la pêche doivent être utilisés à des fins industrielles - pour la production, entre autres, d'huile de poisson, d'aliments pour animaux, d'additifs alimentaires et de produits pharmaceutiques et cosmétiques - et jamais pour la consommation humaine directe.

À cette occasion, comme indiqué ci-dessus, la Commission a également précisé que l'esprit du Reg. 1380 est d'éviter la création d'un marché parallèle de rejets de la pêche, comme base pour une activité à caractère lucratif. En termes de destination et de valeur, le législateur n'entend donc en aucun cas comparer la pêche destinée au commerce pour la consommation humaine à l'utilisation des déchets de poissons de taille inférieure à la taille minimale autorisée.

Ce qui est permis par le règlement, selon l'interprétation de la Commission, c'est l'utilisation des déchets de la pêche dans des activités commerciales utiles pour couvrir les coûts du débarquement obligatoire.²

En 2017, il a été demandé à la Commission européenne si la liste d'utilisations des déchets de la pêche spécifiée à l'article 3 de la directive était applicable. 15.11 du règlement 1380 soit une liste positive - donc close - ou exemplative et donc ouverte à d'éventuelles utilisations ultérieures par rapport à celles qui y sont indiquées.

² DG MARE (Ref. Ares(2015)4278639 - 14/10/2015) - (http://www.discardless.eu/media/results/East_Med_Year2.pdf)

En répondant à la question posée, la Commission européenne a précisé que les études menées lors de l'évaluation d'impact préalable à la formulation de l'article 15 du Reg. 1580 ont révélé que l'interdiction de mise sur le marché pour la consommation humaine des déchets de la pêche a une incidence directe sur la valeur marchande du produit pêché et incite à accroître sa sélectivité, conformément à l'un des objectifs clés de la nouvelle organisation commune du marché de la pêche : réduire au minimum les rejets.

Compte tenu de ce qui précède, malgré la position de certains exploitants du secteur alimentaire de la pêche - selon laquelle l'utilisation des déchets de la pêche pour la consommation humaine peut être plus profitable que celle à des fins autres que la consommation humaine - la Commission européenne n'est certainement pas modifier les dispositions du règlement 1380 de l'UE, en dehors de son domaine de compétence.

Au-delà de cette précision, la Commission a eu l'occasion de préciser que l'objectif législatif de l'Organisation Commune du Marché de la Pêche est de créer les conditions d'une meilleure utilisation des déchets de la pêche, tout en évitant de créer un environnement de marché et de profit pour ces écarts. Dans cet esprit, toute utilisation autre que la commercialisation pour la consommation humaine est autorisée, y compris l'utilisation dans le domaine biotechnologique, pour la production de produits à base de protéines et de gelées de poisson.³

Dans le droit fil de ce qui précède, le projet Discardless financé par l'Union⁴ européenne dans le cadre du programme Horizon 2020 a identifié 27 utilisations possibles des déchets de poisson, en décrivant pour chacun d'eux une fiche factuelle détaillée.

2.1.5 Interventions en faveur des activités de débarquement et d'utilisation des déchets

À l'instigation de certaines parties intéressées, en 2015 a été discutée au Parlement Européen la question de savoir quel sujet pourrait éventuellement intervenir à l'appui des pêcheurs pour favoriser la réalisation de l'obligation de débarquement et la réutilisation des déchets de la pêche, destinées à être utilisées à des fins autres que la consommation humaine.

La réponse de la Commission européenne au Parlement a consisté à préciser que le Fonds européen pour la conservation de la faune et de la pêche (FEAMP) a pour objectif d'aider les pêcheurs à remplir leur obligation de débarquement; En outre, le règlement 508/2014 offre un soutien économique visant à aider à l'élimination progressive des déchets de la pêche, qui de toute façon doivent être débarqués.

En conclusion, il est également précisé que le FEAMP peut soutenir des investissements, entre autres pour trouver de nouveaux marchés et améliorer les conditions de mise sur le marché des déchets

³ Q&A EU Parliament 19/6/2017
([https://www.europarl.europa.eu/RegData/questions/reponses_qe/2017/002297/P8_RE\(2017\)002297_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/questions/reponses_qe/2017/002297/P8_RE(2017)002297_EN.pdf))

⁴http://www.discardless.eu/valorisation_module

débarqués et leur transformation en vue de la préparation de produits non destinés à la consommation humaine.

2.1.6 Règles applicables aux écarts

En ce qui concerne les règles applicables aux déchets destinés à la commercialisation à des fins directement liées à la consommation humaine (par ex. production d'additifs alimentaires, extraction de protéines de poisson, production d'huile de poisson pour la consommation humaine), les déchets doivent être traités selon les règles européennes normales d'hygiène (EU Reg. 852/2004 et 853/2004) appliquées tout au long de la chaîne d'approvisionnement.

Les déchets destinés à être mis **sur** le marché à des fins non directement liées à la consommation humaine (par ex. aliments pour animaux, produits cosmétiques, produits pharmaceutiques, engrais) doivent respecter la réglementation européenne relative aux sous-produits animaux, sous-espèces les sous-produits relevant de la catégorie 3. Il en est de même pour les produits décrits à l'alinéa précédent, pour lesquels les règles générales d'hygiène n'ont pas été respectées ou qui n'ont pas trouvé d'acheteur pendant une période telle qu'ils ne seraient plus adaptés à la lumière des principes de bonnes pratiques de conservation et d'hygiène.

Les sources suivantes sont les réglementations européennes et nationales relatives à la réglementation générale des sous-produits animaux :

- Règl. CE 1069/2009
(<https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?uri=CELEX:02009R1069-20140101>) Lignes directrices nationales d'application du Reg. CE 1069/2009
(<http://www.reteambiente.it/normativa/18266/accordo-conferenza-unificata-7-febbo-2013/>)
- Reg. CE 142/2011
(<https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?uri=CELEX:02011R0142-20150223>) Lignes directrices d'application du Reg. CE 142/2011
(https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/animals-products-eu-rulesguidance_doc_r1_42_2011_7_1_2012_en.pdf)
- D. Lgs. 186/2012 (<https://www.gazzettaufficiale.fr/eli/id/2012/10/31/012G0206/sg>)

2.2 Déchets de la pêche : étude de l'état de la technique

Outre l'évaluation réglementaire, un rapport technique a été réalisé avec les principaux objectifs suivants :

1. Caractériser les principaux types de pêche démersale et les espèces qui "définissent" les fishery, concernées par les dispositions entrées en vigueur le 1er janvier 2017. et estimer les écarts du point de vue quels/quantités des espèces ayant une taille minimale,
3. évaluer les aspects logistiques liés à la gestion des déchets à bord et sur les lieux de débarquement,
4. Évaluer la faisabilité des processus de transformation des organismes soumis à l'obligation de débarquement.

2.2.1 Caractérisation des principaux types de pêche démersale et estimation des écarts

Pour évaluer l'état de l'art, de nombreuses études ont été examinées et des données bibliographiques ont été retenues sur les rejets de la pêche des espèces démersales en Italie et en Ligurie. Ces données biologiques et économiques sur la pêche démersale ont été recueillies dans le cadre du programme DCF.

Les données DCF ont été analysées pour deux finalités principales :

1) Caractérisation des principaux "fishery" et segments de pêche démersale des mers italiennes. Chaque fishery a été caractérisée en termes d'effort de pêche, débarqué et aspects socio-économiques. Pour chaque GSA ont été identifiées les espèces caractérisant les fisheries, définies comme les espèces qui ont contribué à 75% du pourcentage cumulé du débarqué, tant en termes de poids qu'en valeur économique.

2) Caractérisation, pour chaque GSA, de l'écart des principales pêcheries démersales pour les espèces soumises à l'obligation de débarquement. Pour chaque espèce, GSA et fishery, les calculs suivants ont été produits :

- a. Estimation du total des débarquements, du total des rejets et des rejets de spécimens inférieurs à la taille minimale de référence de conservation (MCRS).
- b. Estimations du pourcentage (en poids) d'écart total et d'écart de spécimens au-dessous de la taille minimale.
- c. Structure en taille de la fraction débarquée et de celle commercialisée et estimations de taille moyenne, taille modale et taille à laquelle 50% des spécimens capturés ont été écartés, par espèce, fishery ou engin.

L'étude a pris en considération chaque fishery caractérisée en termes de capacité (nombre de bateaux) et d'effort de pêche (nominal et GT*jours de pêche).

Pour mettre en évidence les espèces qui "définissent" les fisheries, c'est-à-dire les espèces cibles de chaque combinaison engin-métier, ont été identifiées les espèces qui ont contribué à former 75% du pourcentage cumulé, en volume comme en valeur économique, du débarqué.

Pour la pêche au chalut de fond (OTB), trois des espèces répertoriées jouent un rôle majeur dans toutes les GSA : le **merlu M. Merluccius**, le rouget de boue **M. barbatus**, la crevette rose **P. longirostris**.

Ces espèces ont une taille minimale de référence de conservation. Pour la pêche à l'aide d'engins maillants (trémail, GTR et filets maillants, GNS), bien que les informations soient plus fragmentaires, l'une des espèces qui "défini" le plus les fisheries dans les différentes GSA est le rouget **de roche, M. surmuletus**, en particulier pour le trémail; Cette espèce a une taille minimale. D'autres espèces cibles sont la seiche et le poulpe commun, qui cependant n'ont pas de taille minimale.

La **sole, S. solea**, espèce de taille minimale, est la principale espèce cible de la pêche de la GSA 17.

Estimations des rejets par espèce de taille minimale de référence de conservation (MCRS)

Les analyses des données DCF des espèces démersales effectuées par l'étude étudiée ont permis de caractériser l'écart pour les espèces soumises à taille minimale (MCRS), pour GSA, trimestre et fishery.

L'estimation de l'écart de **merlu et** de rouget de **boue** a produit des valeurs assez différentes dans les différentes GSA, bien que le pourcentage d'écart ait rarement dépassé 20% de la biomasse totale capturée.

L'écart de merlu en poids a varié de pourcentages non supérieurs à 5% dans les GSA 16, 19, 18 et 17, à 12% dans la GSA 10, à 21% dans la GSA 9 et enfin à environ 30% dans la GSA11. Dans tous les GSA, la quasi-totalité de l'écart est due à des spécimens inférieurs au MCRS.

Pour le rouget, une grande partie de la biomasse écartée est attribuée à des spécimens inférieurs au MCRS, à l'exception de la GSA 17, où l'écart semble être constitué essentiellement de spécimens supérieurs au MCRS.

Pour le pageot fraise, les estimations des écarts de l'étude étudiée, à l'exception du GSA16, se sont établies à des valeurs supérieures, entre 24 et 72% de la biomasse totale capturée. L'écart est donc principalement constitué de spécimens inférieurs à MCRS, mais dans certaines GSA même de spécimens supérieurs à la taille minimale, ce qui prouve que pour cette espèce ils ont un intérêt commercial seulement pour les grandes tailles.

Les deux chinchards, *T. trachurus* et *T. mediterraneus*, sont les espèces qui ont enregistré les estimations les plus élevées de rejets, en particulier le chinchard majeur, *T. trachurus*.

Pour cette espèce, l'écart a été compris entre 61 et 94% dans les différentes GSA. Les chinchards sont mis au rebut même s'ils sont plus gros que le MCRS, car ils n'ont généralement pas de valeur commerciale.

Au niveau de chaque GSA, des quantités importantes de rejets ont également été estimées pour des espèces telles que l'**anchois, E. encrasicolus**. Dans la GSA17, cette espèce est capturée accidentellement, mais en quantités considérables, par la flotte chalutière, mais n'a pas d'intérêt commercial.

Pour les espèces où des données de taille consistantes étaient présentes, on a estimé la taille moyenne et la taille modale des spécimens mis au rebut et la taille à laquelle 50% des spécimens capturés ont été écartés, pour chaque fishery ou engin.

On a étudié la structure en tailles de la fraction débarquée et de celle commercialisée, toujours pour les espèces avec les plus grandes données disponibles, pour GSA, fishery ou outil.

Des différences, parfois sensibles, entre les différentes GSA étudiées peuvent être relevées dans les estimations d'écart obtenues à partir de l'étude. Les facteurs qui peuvent contribuer à générer ces différences sont multiples; l'écart de la pêche au chalut est causé essentiellement par la valeur commerciale du produit et par la présence de spécimens de taille inférieure à la taille minimale. Ces facteurs peuvent présenter des différences, même importantes, en fonction de la zone et de la période de l'année. En effet, pour les espèces à pic temporel de recrutement, l'écart a montré des différences saisonnières sensibles.

Bien que la qualité des données se soit améliorée au fil des ans, les données disponibles contiennent encore des disparités spatiales et temporelles, ce qui peut avoir entraîné des différences dans les estimations des écarts entre GSA.

D'autres différences peuvent avoir été générées par différentes approches d'échantillonnage de l'écart ou par les procédures d'extension de l'échantillon à l'univers statistique de référence, même si les procédures de collecte et d'analyse des données suivent désormais un protocole standardisé.

Un autre élément qui peut avoir contribué à créer des différences dans les estimations de l'écart est la présence de spécimens inférieurs à la taille minimale lors du débarquement. Cet aspect, bien qu'avec une incidence différente selon les GSA, a été observé dans toutes les zones et fishery enquêtées et est décelable dans les analyses de la structure en taille du débarqué et du rebut.

Estimations des écarts par GSA

Selon l'étude étudiée, pour presque toutes les espèces soumises au Reg. 1380/2013, l'écart, lorsqu'il existe, est constitué principalement de spécimens inférieurs à la taille minimale. L'écart est dû au fait que, pour la plupart des espèces, la population dans les zones exploitées par la pêche est dominée par des spécimens de petite taille, inférieurs à la MCRS.

Il convient de noter que pour ces espèces la présence de spécimens inférieurs à la taille minimale dans les captures commerciales est inférieure à celle estimée dans la population en mer. La pêche commerciale opère donc une certaine sélection sur les populations exploitables, soit par la sélectivité des engins, soit en exploitant davantage des aires où les poissons de petite taille sont moins abondants.

Sur la base des données de l'étude étudiée, il apparaît que les taux d'écart sont restés stables ou ont légèrement augmenté dans le temps. Ces effets sont très probables en raison de l'entrée en vigueur

du règlement sur la taille minimale, qui a entraîné une réduction du pourcentage de poissons débarqués de petite taille.

Les données d'échantillonnages d'écart ont été élargies pour obtenir des estimations absolues de l'écart produit dans chaque GSA. Ces estimations, bien que caractérisées par une certaine variabilité et incertitude, peuvent fournir une indication utile sur l'importance des biomasses qui pourraient être gérées dans un avenir proche en raison du respect de l'obligation de débarquement. En comparant les quantités perçues d'écart rapportées par les interviews et celles estimées par les données collectées DCF, les valeurs apparaissent essentiellement comparables dans les différentes GSA, notamment en ce qui concerne la perception de l'écart des espèces de l'annexe III.

Certains travaux examinés montrent cependant qu'une connaissance non détaillée des nouveaux règlements n'est pas rarement apparue par les pêcheurs; Les opérateurs estimaient souvent que seules les espèces les plus abondantes et les plus importantes sur le plan commercial, telles que le merlu, le rouget, la crevette rose, étaient soumises à l'obligation de débarquement.

En ce qui concerne la pêche aux filets maillants de fond, les chiffres fournis par les pêcheurs correspondent pour l'essentiel à ceux estimés par les données DCF lorsqu'ils indiquent des quantités négligeables d'écart.

Dans les interviews d'études antérieures, les chalutiers ont indiqué comme raison principale de l'écart la faible ou nulle valeur commerciale du produit, suivie de la taille des poissons capturés. Parmi les principales causes, les petits pêcheurs signalaient les dommages causés aux poissons capturés. Il convient toutefois de noter que le manque de clarté du règlement sur les aspects pratiques des nouvelles règles et sur le contrôle et la gestion des débarquements est dénoncé parmi les opérateurs.

Estimation des écarts pour GSA9

Dans le cadre du projet PRISMAMED, une série d'échantillonnages ont été effectués auprès de la marine de Santa Margherita dont la flotte de pêche opère principalement dans le golfe du Tigullio (figure 3).

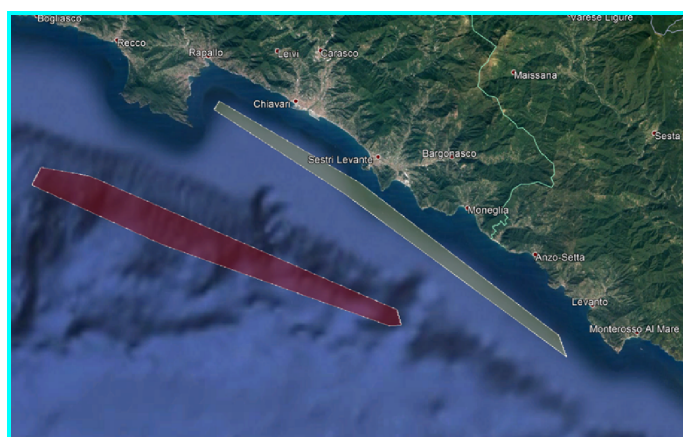


Figure 3. Principales zones de pêche surveillées au cours des échantillonnages : en jaune, la zone balayée par les navires de plate-forme (50-150 m), en rouge, la zone d'escarpement (500-700 m) de la pêche aux "crevettes rouges".

Il a été procédé à 9 échantillonnages de juillet à novembre 2019. sur lesquels ont été estimées les quantités du "déchet organique" (espèces écartées de la pêche parce qu'elles sont de sous-mesure ou de faible ou nulle valeur commerciale).

Une analyse préliminaire a montré que les écarts les plus importants sont principalement imputables à la pêche effectuée sur la plate-forme (OTB_DES), avec des taux d'écart variant entre 19% et 42% des captures totales.

Compte tenu de l'ensemble des 9 jours de pêche surveillés, il est estimé qu'un chalutier de fond peut produire en moyenne 29,5 kg (dev.st. 34,5 kg) de rejets par journée de pêche, en grande partie (84%) constitué de poissons osseux.

Compte tenu du fait qu'en moyenne un chalutier de fond en Ligurie travaille environ 165 jours/an, valeur moyenne tirée d'une série historique de 12 ans (source IREPA, 2000-12), en supposant un écart d'environ 30 kg/jour (égal à la valeur moyenne tirée des 9 jours contrôlés), l'écart total estimé sur une année pour l'ensemble de la flotte ligure de chalutage (n=72 unités de pêche) pourrait être d'environ 350 tonnes.

2.2.2 Gestion des déchets - aspects logistiques

En outre, l'analyse des données économiques de la FBC, telle qu'elle a été étudiée et décrite dans le paragraphe précédent, a permis de dégager un cadre de connaissances de base pour les évaluations ultérieures des implications économiques de la mise en œuvre du règlement sur l'obligation de débarquement.

Des questionnaires et des entretiens ont été recueillis pour recueillir des informations sur les aspects logistiques (à bord, sur les sites de débarquement) liés à la gestion des déchets et sur les possibilités d'utilisation du matériel mis au rebut. Un questionnaire commun a été élaboré, qui se concentre sur la collecte d'informations sur les quantités, la répartition temporelle et spatiale et la gestion logistique des déchets, tant à bord des navires de pêche que sur les lieux de débarquement. Les questionnaires ont été soumis à des pêcheurs liguriens suivant un plan structuré par lieu et typologie de pêche.

Des interviews ont été réalisées avec des représentants de firmes opérant la transformation de matériel de pêche et avec différents stakeholder qui on a estimé qu'ils puissent avoir un rôle et une participation active dans la gestion des rejets suite aux futures dispositions du Reg. 1380/2013. La faisabilité de la construction d'une infrastructure de transformation des déchets a donc été évaluée.

Les effets économiques de l'obligation de débarquement ont également été pris en considération, étant donné que la gestion de la plus grande quantité de produits à conserver à bord et à débarquer ainsi que le travail nécessaire au tri et au stockage de ce produit, conduirait à déterminer

l'augmentation des coûts et du travail. Comme cela a déjà été souligné, cela pourrait entraîner le non-respect du Reg. UE 1380/2013.

Les interviews effectuées font ressortir une forte préoccupation au sujet de l'effusion et du traitement des déchets à terre, car il n'existe pas encore de logistique pour gérer ces aspects. La plus grande préoccupation, liée à la criticité de l'aspect gestion des déchets, a été l'absence d'infrastructures à terre aptes à accueillir et à stocker les volumes de rebut, bien que cycliques et saisonniers.

2.3 Utilisation des déchets organiques : étude de l'état de la technique

En 2017, la production mondiale de poisson avait été estimée à environ 175 millions de tonnes, mais des estimations récentes prévoient qu'elle atteindra 194 millions de tonnes d'ici 2026 (FAO, 2018).

Au cours de la même période, la pêche de capture a diminué de 92,4 à 90,9 MT tandis que la production aquacole a augmenté de 41,9 à 80,0 MT (FAO, 2018). Selon la FAO (2018), l'expansion de la transformation du poisson crée des quantités croissantes de "flux collatéraux de production" et de déchets de filière tels que : peau, têtes, écailles, viscères et déchets de découpe du filet du poisson. Ces sous-produits peuvent représenter jusqu'à 70% du poisson utilisé dans la transformation industrielle. En outre, la capture de poissons de faible valeur et les espèces de poissons sous-utilisées (que nous pouvons généralement définir comme "by-catches" ou "unwanted catches", abrégés par l'acronyme "UWC") constituent une autre source de sous-produits de la transformation des produits de la pêche qui a été estimée à 18,6% en moyenne du total des produits de la pêche.

Ces sous-produits (ou "flux collatéraux de production"), lorsqu'ils sont mis au rebut et "jetés" dans l'environnement, engendrent d'importants problèmes environnementaux et d'importants défis techniques et alimentaires en raison de leur forte charge enzymatique et microbienne, qui les rend susceptibles à une dégradation rapide s'ils ne sont pas traités correctement ou conservés dans des conditions appropriées. Au mieux, ils sont destinés à la formulation de produits à faible valeur commerciale, tels que les aliments pour animaux (par ex. les aliments pour l'aquaculture).

Arason et al. (2009) estiment que, dans la transformation industrielle du cabillaud, seuls 40 % de la matière première sont utilisés pour la production alimentaire et que les "flux collatéraux" représentent près de 60 % de la production totale (figure 4).

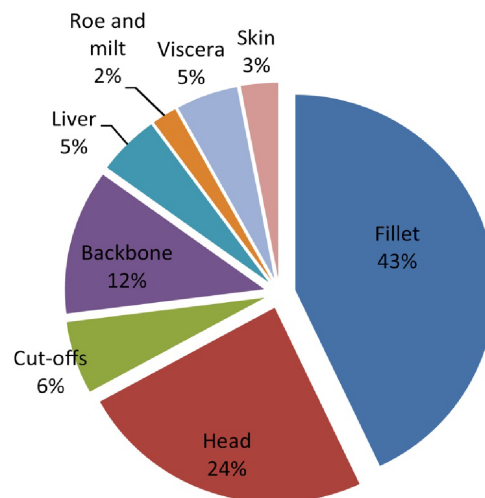


Figure 4. Produits et flux collatéraux de la filière "cabillaud transformé à terre" (adapté d'Arason, S. et al. (2009). Maximum Resource Utilisation - Value Added Fish Byproducts. Nordic innovation Centre, Oslo, Norvège

En 2019, Al Khawli et al. ont révisé ces chiffres en indiquant que, pour les différents secteurs de la pêche, les sous-produits non utilisés pour la consommation humaine directe sont estimés entre 30 et 85% du poids du poisson selon les différents types de captures. Ce pourcentage élevé est dû au fait que le rapport poisson/sous-produit varie en fonction de la zone de pêche, de la saison, de la taille et de l'espèce du poisson considéré.

Outre les prises accessoires (UWC), les sous-produits de la pêche et de l'aquaculture comprennent les déchets déjà cités qui ont été estimés avoir en moyenne les proportions suivantes : les têtes représentent 9% à 12%, les viscères 12% à 18%, la peau 1% -3%, les os 9% -15% et les écailles env. 5% en poids du poisson entier. La composition chimique du poisson varie en fonction du type d'espèce, du sexe, de l'âge, de l'état nutritionnel, de la période de l'année et de l'état de santé. Cependant, la plupart des poissons contiennent 15-30% de protéines, 0-25% de graisses et 50-80% d'humidité. Par exemple, les poissons blancs comme le cabillaud et le merlu sont des espèces maigres, contenant environ 20% de protéines, 80% d'eau et des niveaux de lipides assez faibles (0,5% à 3%), tandis que les poissons gras, comme le maquereau et le saumon, contiennent 20% de protéines, 10% à 18% de lipides et donc une teneur en eau inférieure (62% à 70%).

Les sous-produits de la pêche peuvent être classés en deux catégories : l'une qui comprend des produits facilement dégradables à forte teneur en enzymes, tels que les viscères et le sang, et l'autre qui comprend les produits les plus stables (os, tête et peau).

Il est inutile de souligner que leur collecte en temps utile ainsi que le traitement initial approprié en vue de leur stabilisation sont des étapes essentielles pour préserver leur qualité et les rendre réutilisables en tant que matière première de produits à haute valeur ajoutée. Il s'ensuit que, pour parvenir à utiliser les ressources halieutiques de manière responsable et efficace, il est indispensable

d'établir des méthodes efficaces et sûres pour l'extraction des nutriments et d'autres composés bioactifs cibles.

À ce jour, la transformation de cette biomasse comprend des techniques conventionnelles (par ex. des extractions à l'aide de solvants organiques, de solutions acides et basiques, etc.) déjà largement établies pour la production de farines et d'huiles de poisson ou de dérivés tels que les acides gras oméga-3 tels que : l'eicosapenténoïque (EPA) et le docosahexaénoïque (DHA). Ces méthodes, bien que performantes, présentent des inconvénients importants, tels que : une forte consommation d'énergie, le potentiel de dégradation thermique des produits finaux (en raison des températures de traitement élevées), l'utilisation de solvants organiques d'extraction (dont les résidus peuvent présenter des risques pour la santé humaine et l'environnement), temps de fabrication très longs.

L'utilisation des sous-produits de la pêche attire l'attention des chercheurs et des entreprises car, outre ceux déjà mentionnés (produits à faible valeur ajoutée tels que les farines et les huiles), d'autres composés à plus forte valeur ajoutée tels que : chitine, collagène, peptides, caroténoïdes et minéraux, peuvent être extraits et réutilisés comme ingrédients nutraceutiques ou additifs dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Elles peuvent également constituer une source prometteuse pour la production de biocarburants. La figure 5, extrapolée de la publication d'Al Khawli et al., résume en un schéma les possibles composés bioactifs extractibles des différents sous-produits de la transformation du poisson.

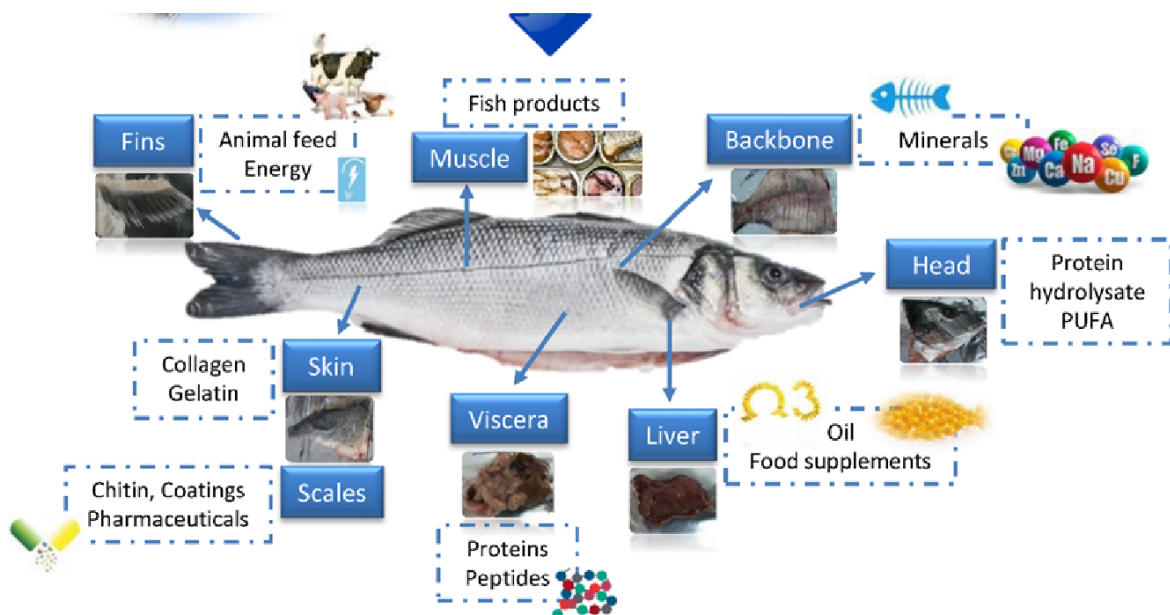


Figure 5. Possibilité d'obtenir des composés bioactifs à partir des sous-produits de la transformation du poisson

2.3.1 Composés bioactifs

Un aperçu plus détaillé des composés bioactifs pouvant être obtenus à partir des sous-produits de la pêche et des UWC ainsi que des domaines d'utilisation industrielle possibles est présenté ci-dessous.

1) Composti Azotati

a) Peptides bioactifs : hydrolyse enzymatique extensive des protéines du poisson. Certains sont dotés d'activités pharmacologiques (antihypertenseurs, antibactériennes, anticoagulants, anti-inflammatoires, antioxydants...). Valorisables dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire, cosmétique et alimentaire.

b) Protéases et enzymes protéolytiques : extraits principalement des viscères qui contiennent une quantité importante d'enzymes digestives ayant des fonctions spécifiques différentes. Ils sont actifs à de faibles valeurs de T rei. et pH, par ex. collagénase, trypsine, pepsine, chimotripsine, élastase, carboxypeptidase. Ils peuvent avoir des applications biotechnologiques et dans l'industrie alimentaire (food processing)

c) Collagène : il est obtenu par un traitement d'hydrolyse acide ou basique (extraction traditionnelle) à partir d'épines, d'écaillés et de peau. La teneur en acides aminés du collagène diffère des autres protéines en raison de sa teneur élevée en proline et en hydroxyproline. Le collagène est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique et comme supplément alimentaire.

d) Gélatine : elle est obtenue par hydrolyse partielle du collagène. Il existe deux principaux types de gélatines : le type A est obtenu par hydrolyse acide et le type B par hydrolyse alcaline. La gélatine est utilisée comme agent gélifiant dans les produits alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Les gélatines de poisson sont préférées pour les exigences de gélification à basse température.

e) Protamine : mélange purifié de protéines simples obtenues principalement à partir de sperme de saumon sauvage. Le sulfate de protamine est une protéine de faible poids moléculaire (autour de 4-5 kda) qui travaille pour maintenir et protéger l'ADN contre les dommages. Il est utilisé dans le domaine pharmaceutique comme médicament qui inverse les effets anticoagulants de l'héparine en se liant à elle (antidote antagoniste de l'héparine).

f) Peptones protéiques : produits par hydrolyse enzymatique contrôlée des protéines. Ils sont un mélange de polypeptides et d'acides aminés qui se forment lors de la dégradation enzymatique des protéines. Ils sont la principale source d'azote dans les sols organiques pour les cultures bactériennes. Ils sont utilisés dans la production de milieux de culture pour la microbiologie et la biotechnologie industrielle.

g) Insuline : extraite des viscères de divers poissons. C'est une hormone peptidique produite à partir des cellules bêta des îlots pancréatiques et du corps de Brockmann chez certains poissons téléostes. L'insuline est utilisée comme médicament pour traiter le diabète.

2) Composés lipidiques

a) Phospholipides (PL) : ils sont extraits de l'huile de poisson selon des procédures différentes. Les PL d'origine marine contiennent des PUFA oméga-3, dont certains ne sont présents que dans les sources marines. Les PL sont utilisés comme émulsifiants dans l'industrie alimentaire ou dans les cosmétiques ou comme excipients dans l'industrie pharmaceutique.

b) Squalène : hydrocarbure terpénique (isoprénoïde) intermédiaire dans la synthèse du cholestérol et d'autres hormones stéroïdiennes et de la vitamine D. Il est utilisé dans l'industrie alimentaire (supplément, la capacité présumée de protéger l'ADN, les protéines et les lipides contre le stress oxydatif, bien qu'à ce jour, aucune réclamation de santé n'ait été accordée par l'EFSA) et pharmaceutique (dans les vaccins).

c) Vitamine A : présente dans la nature sous différentes formes : comme rétinol ou autres composés analogues, appelés rétinoïdes (tous d'origine animale), ou sous forme de caroténoïdes (d'origine végétale), qui en représentent les précurseurs.

d) Vitamine D : peu présente dans les aliments (certains poissons gras, produits laitiers, œufs, foie et légumes verts). La seule exception est l'huile de foie de morue. Elle est en grande partie accumulée par notre organisme par l'exposition aux rayons du soleil et ne doit être intégrée que dans des situations particulières, liées à la croissance, à la grossesse et à l'allaitement.

3) Chitina e Chitosano

La chitine ou poly β - (1-4) N-acétyl-D-glucosamine est le deuxième polymère naturel le plus abondant sur terre après la cellulose, tandis que le chitosane (1-4) -2-amino-2-désoxy- β -D-glucane) est une molécule obtenue par désacétylation partielle de la chitine selon des méthodes chimiques ou biologiques. À l'état pur, la chitine est inodore, insipide, de couleur blanche ou jaunâtre. Les biomolécules de chitine et ses dérivés ont une excellente biodégradabilité et biocompatibilité dans le corps humain. En outre, ils ont montré de nombreuses propriétés biologiques (antimicrobiens, anticancéreux, anticoagulants, antioxydants, antimutagènes...). En raison de leurs différentes propriétés techno-fonctionnelles, la chitine et ses dérivés ont plusieurs domaines d'application. Dans l'application biomédicale, les dérivés de la chitine sont utilisés pour la reconstitution artificielle de certains tissus tels que la peau, les os et le cartilage. Elle est également utilisée dans l'industrie alimentaire pour la production de films biodégradables et l'encapsulation d'additifs et de compléments alimentaires. En outre, la chitine et ses dérivés sont également utilisés par les industries pharmaceutiques comme excipients pour les médicaments. Les sous-produits de la transformation du poisson, en particulier les crustacés (crevettes, crabes, homards et krill) sont les principales sources de chitine à usage commercial.

4) Pigments naturels

Les caroténoïdes sont les principaux pigments liposolubles présents dans les poissons, les crustacés et les fruits de mer. L'astaxanthine (3,3-dihydroxy- β , β -carotène-4,4-Dione) est connue pour être le principal caroténoïde des poissons et représente 74 à 98% du total des pigments dans les coquilles

des crustacés. On le trouve dans les fruits de mer comme ester ou en forme libre. Sa structure contient des groupes fonctionnels cétoniques et hydroxyles et une chaîne de doubles liaisons conjuguées, responsables de ses excellentes propriétés antioxydantes.

Certaines études rapportent pour cette molécule une activité anticancéreuse et immunostimulante. L'astaxanthine est largement utilisée dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique comme précurseur de colorants, d'antioxydants et de vitamine A.

5) Éléments minéraux

Le découpage des poissons génère une énorme quantité d'arêtes. Les minéraux inorganiques constituent environ 60% des os de poisson (arêtes). Les arêtes sont une source importante d'hydroxyapatite, de calcium, de phosphate, de zinc, de sélénium et de fer. Le calcium, le phosphate, le zinc et le fer peuvent être utilisés comme compléments alimentaires. L'hydroxyapatite, présente dans l'arête des poissons, peut être extraite et utilisée dans les domaines médical et dentaire. Bien qu'il s'agisse d'un minéral assez rare, l'hydroxyapatite constitue le principal composant des os, en fait 99% du calcium présent dans l'organisme humain est stocké dans le tissu osseux sous cette forme. L'hydroxyapatite est également présente dans l'émail dentaire qui constitue le tissu le plus dur du corps humain. En effet, l'émail est constitué pour 96% environ d'hydroxyapatite, pour 1% de matrice organique et pour 3% d'eau.

2.3.2 Options de gestion des déchets - collagène

Rejeter le poisson représente donc un gaspillage évident de ressources marines qui pourraient être utilisées de manière productive, lorsque cela est économiquement possible et en tenant dûment compte de l'objectif écologique global visant à réduire au minimum les rejets dans les pêcheries européennes, conformément à l'article 4, paragraphe 1, de la directive. 15 du Reg. 1380/2013 et par la hiérarchie européenne des options possibles de gestion des déchets agro-alimentaires (Figure 6).

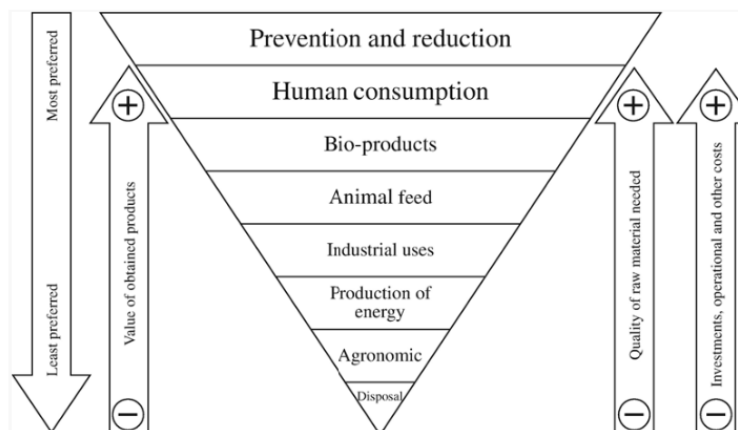


Figure 6. Options possibles de gestion des déchets agroalimentaires.

Par exemple, les captures non désirées pourraient être débarquées et traitées non seulement pour produire des farines de poisson, des huiles de poisson ou pour d'autres usages "traditionnels", mais aussi comme des matières premières destinées à d'autres usages pour les marchés "de niche" ce qui ajouterait de la valeur. Bien que, d'une part, il serait utile de poursuivre une pratique de pêche plus sélective afin de maximiser la production primaire, les méthodes de pêche hautement sélectives produisent également certaines prises accessoires ("captures non désirées" : UWC) qui, si elles sont utilisées de manière rationnelle, pourraient constituer une nouvelle opportunité économique durable pour la filière. Une stratégie rationnelle de traitement des UWC dans les eaux européennes méridionales, éventuellement combinée avec les débris, viscères et cotons résultant d'ouvrages intermédiaires, doit tenir compte des spécificités du territoire national, où la plupart des poissons sont débarqués frais pour la consommation humaine. Ce mode traditionnel prédominant de consommation de poisson, couplé au faible volume de production de poisson, a conduit historiquement à peu d'investissements productifs dans ce secteur de "recyclage vertueux", probablement parce qu'elle a besoin de surmonter d'importantes barrières liées à une absence perçue d'incitations pour le secteur de la pêche, le manque d'infrastructures suffisantes pour l'utilisation et les questions juridiques liées à la manipulation ou à l'élimination des sous-produits animaux (rappelons le caractère très périssable du point de vue hygiénique de ces produits).

Toutefois, ces sous-produits "poissons" représentent une source potentielle importante de composés bioactifs, avec d'importantes propriétés fonctionnelles qui pourraient être isolées et concentrées, leur conférant une valeur ajoutée sur les marchés haut de gamme, comme par exemple nutraceutiques et cosmétiques.

Cette valorisation des sous-produits du poisson est conforme à la prise de conscience croissante des consommateurs quant à la relation entre l'alimentation et la santé, qui recherchent dans les aliments non seulement une source de nutriments et des qualités organoleptiques élevées, mais ils s'intéressent de plus en plus aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles ainsi qu'aux propriétés éthiques et de durabilité des aliments qu'ils consomment.

Pour obtenir des composés naturels à partir de ces sources marines avec toutes les exigences utiles aux demandes du marché telles que : bonnes propriétés organoleptiques, nutritionnelles, fonctionnelles/salutaires et si possible éco-compatibles, la sélection de méthodes d'extraction appropriées est une étape fondamentale. A cet égard, au cours des dernières années, de nombreuses technologies extractives "vertes" ont été utilisées dans le domaine alimentaire, comme par exemple : l'extraction assistée par ultrasons (UAE), l'extraction par fluides supercritiques (SFE), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE), l'extraction par champs électriques pulsés, l'extraction assistée par haute pression, l'extraction par les fluides supercritiques (SFE), l'extraction par eau subcritique (SWE), la filtration par membrane, l'extraction enzymatique.

Ces technologies innovantes sont devenues une alternative plus sûre et plus efficace que les méthodes conventionnelles pour isoler les composés précieux des sous-produits et des déchets de

poissons et de mollusques. Elles présentent de nombreux avantages par rapport aux méthodes traditionnelles, en préservant et même en améliorant la qualité et l'efficacité d'extraction, et en minimisant les pertes de propriétés fonctionnelles des composés bioactifs extraits des sous-produits marins. Outre leurs activités biologiques, les composés bioactifs issus de technologies alternatives innovantes peuvent présenter des propriétés technologiques et hygiéniques et sanitaires plus élevées, permettant même leur utilisation dans d'autres aliments.

L'extraction de produits naturels a longtemps été considérée comme "propre" par rapport à d'autres procédés chimiques et industriels, mais en réalité, il a été récemment estimé que son impact sur l'environnement est beaucoup plus important qu'il ne l'était au départ. L'impact global sur l'environnement d'un cycle d'extraction n'est pas facile à estimer, mais on sait qu'il nécessite au moins 50% de l'énergie de l'ensemble du processus industriel; En outre, malgré la forte consommation d'énergie et l'utilisation de grandes quantités de solvants, le rendement est souvent faible.

De nos jours, il est presque impossible de trouver un processus de production dans le domaine alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique qui ne recoure pas à des techniques d'extraction telles que, par exemple, macération, distillation en courant de vapeur, pressage, percolation. Les tendances récentes dans les technologies extractives se sont concentrées en grande partie sur la recherche de solutions qui réduisent au minimum l'utilisation de solvants, permettant aussi l'augmentation de l'efficacité du processus et une production rentable d'extraits de haute qualité.

Ces nouvelles technologies sont basées sur les "Six Principes de l'Extraction Verte des Produits Naturels", décrits et proposés comme des étapes innovantes pour les industries :

- **1 chere. Principe - Utilisation de ressources renouvelables et non menacées d'extinction.** La demande croissante de produits et d'extraits naturels conduit à une surexploitation des ressources naturelles et donc à l'extinction de certaines espèces.
- **2 certe. Principe - Utilisation de solvants alternatifs et principalement** de l'eau ou des agrosolvants comme l'éthanol. Ceux-ci ont l'avantage d'être biodégradables, non toxiques et non inflammables, contrairement à la plupart des solvants organiques qui sont parmi les principales causes de la pollution de l'environnement.
- **3 À. Principe - Réduction de la consommation d'énergie par** l'optimisation des processus existants, la récupération de l'énergie libérée pendant le processus d'extraction, les innovations éventuelles de processus.
- **4 certe. Principe - Production de coproduits plutôt que de déchets.**
- **5 À5. Principe - Réduction des opérations unitaires** à travers l'innovation technologique en favorisant des processus sûrs et contrôlés. Réduire le nombre de passages (steps) dans un processus industriel implique en effet une réduction des coûts et une meilleure efficacité énergétique.
- **6 climat. Principe - Obtention d'un extrait thermiquement inaltéré, biodégradable** et sans contaminants résiduels.

Parmi les différents composés bioactifs extractibles, le collagène a été choisi comme objectif principal du projet. En latin, le collagène "*colla et genmen*" signifie produire de la colle. Le collagène représente la colle du corps. En d'autres termes, il représente le matériau et la colle qui maintient ensemble les tissus conjonctifs de notre corps (os, cartilage, muscles, tendons, ligaments, peau).

Extraction de collagène

Le collagène est la principale protéine fibreuse et structurale de la matrice extracellulaire des animaux et contribue aux fonctions physiologiques des tissus dans le cartilage, la peau, les os et les tendons. Le collagène est un terme général pour définir un groupe de protéines de poids moléculaire élevé abondantes chez les organismes invertébrés et vertébrés. Il s'agit d'une macromolécule fibreuse protéique, de forme hélicoïdale, constituée de trois chaînes α , chacune constituée d'une unité répétitive spécifique de glycine-proline-hydroxyproline. La gélatine est une macromolécule protéique obtenue par dénaturation thermique du collagène (Comme la plupart des protéines, si le collagène est chauffé, il perd complètement toutes ses structures à l'exception de la structure primaire, c'est-à-dire que la triple hélice se déroule et que les chaînes se séparent. Lorsque la masse de protéines dénaturées se refroidit, elle absorbe comme une éponge l'eau environnante, formant la gélatine. Ce processus de dénaturation par traitements thermiques ou par traitements chimiques est historiquement exploité pour la production de la "colle" d'où le nom de collagène). Les caractéristiques structurales et fonctionnelles du collagène en font un objectif primordial pour les industries alimentaires, pharmaceutiques, biomédicales, de maroquinerie, cosmétiques et d'ingénierie des matériaux. Il a un large éventail d'applications dans les domaines de la santé, à savoir l'industrie pharmaceutique et biomédicale (y compris la chirurgie plastique, orthopédie, ophtalmologie et l'art dentaire). Dans les secteurs non sanitaires, le collagène est largement utilisé en cosmétique, dans l'industrie alimentaire (comme additif et comme substance nutraceutique).

Il y a une forte demande dans l'industrie alimentaire pour le collagène et la gélatine également en raison de leurs propriétés fonctionnelles, telles que la capacité d'absorber l'eau, la capacité de former des gels et de stabiliser les émulsions.

La gélatine dérivée des fruits de mer dégage un arôme et une saveur particuliers et possède une digestibilité supérieure à celle de la gélatine animale d'origine porcine ou bovine. Dans le secteur biomédical et pharmaceutique, le collagène a plusieurs applications; est utilisé comme excipient pour les médicaments, dans le domaine biomédical pour la production de substituts de la peau humaine, des vaisseaux sanguins et des ligaments. Traditionnellement, le collagène et les produits dérivés du collagène proviennent principalement de sources bovines et porcines (chez les mammifères, le collagène représente jusqu'à 25% des protéines totales). À ce jour, 80 % de la gélatine alimentaire produite en Europe provient de la couenne de porc. 15% sont issus du bifide bovin, c'est-à-dire d'une

couche mince présente sous la peau. Les 5 % restants proviennent presque entièrement d'os de porcs et de bovins.

Cependant, le collagène porcin et bovin, bien que caractérisé par une stabilité thermique supérieure à celle du collagène marin, suscite des préoccupations religieuses et hygiéniques-sanitaires qui rendent intéressantes d'éventuelles alternatives comme celle d'origine marine.

L'incidence à grande échelle de l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) a conduit en conséquence à la méfiance des consommateurs à l'égard des produits à base de collagène provenant de bovins et de porcins; le monde entier est donc à la recherche de sources alternatives de collagène. Le collagène a une organisation structurale et hiérarchique complexe et jusqu'à présent plus de 28 types de collagènes différents ont été signalés en fonction de leur organisation spécifique dans des tissus distincts.

En effet, les différents types de collagènes sont distribués différemment dans les tissus animaux. La liste suivante donne des exemples de tissus présentant les types de collagène les plus abondants :

- Type I : os, derme, tendon, ligaments, cornée;
- Type II : cartilage, corps vitreux, noyau pulpeux;
- Type III : peau, paroi vasculaire, fibres réticulaires de la plupart des tissus (poumons, foie, rate, etc.);
- Tipo IV - membranes basales;
- Type V - se distribue souvent avec du collagène de type I dans la cornée.

Étant donné que ces types (collagènes I à V), les plus abondants (les 4 premiers types représentent environ 90% de tous les collagènes), sont aussi ceux qui sont le plus exploités au niveau commercial : en les isolant et en les purifiant, principalement à partir de tissus bovins et porcins, des processus de production conventionnels et à haut rendement, conduisant à des lots de collagène de haute qualité. Généralement, les collagènes sont formés de chaînes polypeptidiques composées de triplets répétés dont les plus courants sont Gly-Pro-X et Glyx-Hyp, où X est tout acide aminé autre que la glycine (Gly), la proline (Pro) ou l'hydroxyproline (Hyp).

Il existe une quantité variable de liaisons croisées entre les hélices des molécules de collagène. De cette façon, des agrégats bien organisés se forment, comme les fibrilles. Les fibrilles de collagène sont l'agrégation de plusieurs sous-unités, appelées tropocollagènes.

Ces fibrilles sont des agrégats semi-cristallins de molécules de collagène. Les fibres de collagène sont des faisceaux de fibrilles. Ces fibres sont un composant important de la matrice extracellulaire qui soutient la plupart des tissus et fournit la structure aux cellules de l'extérieur).

On entend par "collagène hydrolysé" (également appelé hydrolysate de collagène) un produit obtenu à partir de collagène par hydrolyse de la séquence acide aminée primaire. Et c'est la forme la plus fréquemment présente dans les produits commerciaux comme supplément alimentaire annoncés pour la santé des articulations dans la prévention de l'arthrose et de l'ostéoporose ainsi que comme traitement anti-âge au niveau de la peau.

Les collagènes marins peuvent être obtenus à partir de différentes sources. Les éponges, les méduses et les abats de poissons tels que les arêtes, la peau, les écailles et les nageoires peuvent servir de sources alternatives de collagène. Les collagènes marins sont fibrillaires et non fibrillaires, ont des températures de gélification et de fusion inférieures à celles du collagène des mammifères, mais des viscosités relativement plus élevées par rapport à des composés similaires de nature bovine. Le collagène de poisson est plus sensible à la chaleur en raison de liens croisés labiaux que celui des mammifères (donc plus facilement dénaturable). Plusieurs études dans la littérature scientifique se sont concentrées sur les collagènes marins, en particulier sur son extraction à partir de différentes sources, comme les poissons ou les invertébrés animaux marins, comme les éponges marines ou les méduses (Silva et al. 2014).

On obtient principalement du collagène de type I à partir de peau, de tendons, d'arêtes et de muscles (épimisium), qui est d'ailleurs le type le plus abondant de collagène.

Cependant, on peut également obtenir du collagène de type II si l'on utilise les cartilages de poissons comme sources principales.

La différence de solubilité du collagène dépend de l'âge des animaux : le collagène des animaux plus âgés ont un plus grand nombre de liaisons transversales, ce qui les rend plus difficiles à solubiliser que les collagènes des animaux plus jeunes. En outre, les poissons qui suivent une alimentation pauvre en nutriments semblent produire plus de collagène que les poissons bien nourris. En fonction des différentes sources de collagène, plusieurs techniques d'extraction ont été proposées.

Toutefois, il est possible de définir une méthodologie générale pour isoler le collagène des sous-produits de poissons et d'autres sources marines, qui comporte trois étapes importantes : préparation, extraction et récupération.

1) Préparation

La préparation des résidus de poisson comporte :

- le nettoyage
- la séparation des différentes parties animales;
- la réduction de la taille par découpe ou broyage des échantillons et un prétraitement chimique pour éliminer : les protéines autres que le collagène et la fraction lipidique.

Dans les méduses, par exemple, il est courant de séparer les tentacules du parapluie et de séparer celui-ci à son tour en mésoglée, exombrelle et subombrelle. Dans le cas des poissons, les peaux, les écailles, les nageoires et les arêtes de poisson sont divisées, car leur composition est différente et la méthode appliquée pour extraire le collagène doit prévoir ces étapes préparatoires supplémentaires.

Le broyage pour réduire la taille du matériau à traiter est une étape essentielle dans tous les cas. La méthode la plus courante pour éliminer les protéines autres que le collagène est l'utilisation de l'hydroxyde de sodium (Naoh).

L'efficacité de l'élimination dépend du temps, de la température et de la concentration de la solution de Naoh. Sadowska et al. ont également proposé l'utilisation de chlorure de sodium (NaCl), en plus du

Naoh, pour éliminer les protéines autres que le collagène de la peau de morue. Cependant, la solution de NaCl s'est avérée moins efficace pour éliminer les albumines et les globulines que le Naoh. L'élimination des lipides et des pigments peut être obtenue respectivement par l'utilisation d'alcools (alcool butylique ou éthanol) et de peroxyde d'oxygène. Pour les os/arêtes, les cartilages et les écailles, l'utilisation d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) est recommandée pour effectuer une déminéralisation préventive, en raison de son action chélatante sur les ions calcium, pour une meilleure extraction du collagène. Une hydrolyse acide avec HCl 1M peut également être utilisée à des fins de déminéralisation, avec des rapports d'environ 1 : 3 (p/v).

2) Extraction

Il existe plusieurs possibilités :

- Extraction acide : Une solution acide est utilisée pour la solubilisation du collagène; la fraction ainsi extraite est généralement appelée "Collagène soluble dans l'acide" (ASC). Skierka et Sadowska ont étudié l'effet de différents acides (y compris le chlorhydrique, le citrique, l'acétique et le lactique) sur le rendement d'extraction du collagène à partir de la peau de morue. L'étude a montré que les rendements de l'acide acétique et lactique sont supérieurs à ceux des autres acides testés. Cependant, le processus d'extraction du collagène par "solution acide" a normalement de faibles rendements d'extraction.
- Extraction enzymatique : Elle est réalisée en utilisant des enzymes protéolytiques non spécifiques au collagène pour aider au processus de solubilisation. Des enzymes telles que la trypsine, la pancréatine, la ficine, la broméline, la papaine ou la pepsine sont utilisées. La pepsine est le plus utilisé et le collagène extrait avec cette enzyme prend le nom de "Collagène soluble dans la pepsine" (PSC) ou atelo-collagène. Ce traitement est très utile, car il décompose le collagène en peptides spécifiquement dans la région telopeptidique du collagène, qui sont des extrémités non hélicoïdales et donc augmente la pureté du collagène ainsi obtenu. L'extraction est plus efficace et l'extrait a une plus grande solubilité.

Il existe également d'autres méthodes pour extraire le collagène.

Par exemple, le collagène de fruits de mer peut être extrait à l'aide d'une solution de NaCl et le collagène qui en résulte est appelé collagène solubilisé avec du sel (SSC). Cependant, la méthode de solubilisation du sel a rarement été utilisée pour l'extraction du collagène.

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente dans le domaine de l'extraction de produits alimentaires naturels. Elle exploite le phénomène de cavitation pour briser les membranes cellulaires et favoriser la fuite des contenus intracellulaires. Les ultrasons sont des ondes mécaniques qui nécessitent un moyen élastique pour se propager. La différence entre le son et les ultrasons est la fréquence de l'onde : les ondes sonores atteignent les fréquences perçues par l'oreille humaine (de 16 Hz à 16-20 kHz) tandis que les ultrasons ont des fréquences plus élevées, mais en dessous des fréquences des micro-ondes (de 20 kHz à 10 Mhz). Lorsqu'une onde sonore passe par un milieu

élastique, elle induit un déplacement longitudinal de particules qui se traduit par une succession de phases de compression et de raréfaction dans le milieu. Chaque milieu a une distance moléculaire critique : en dessous de cette valeur le liquide reste intact, mais au-dessus de cette distance il se casse et on peut générer des vides. Dans le cas des ultrasons, si le cycle de raréfaction est suffisamment fort, la distance entre les molécules voisines peut dépasser la distance moléculaire critique du liquide; les vides créés au milieu sont les bulles de cavitation qui répondent à l'effet ultrasonique. L'effondrement des bulles de cavitation à proximité de la surface solide génère des ondes de choc (microjets), à haute température et à haute pression, qui détruisent les parois cellulaires de la matrice, entraînant le passage de leur contenu dans le solvant d'extraction.

Kim, Kim, Park et Lee ont exploité l'UAE en 2013 pour extraire du collagène de sources marines. Les échantillons ont été prétraités par immersion dans de l'acide acétique pendant 12 heures. Par la suite, le collagène a été extrait à l'aide d'un processeur à ultrasons à sonde. Le rendement en collagène dépend des amplitudes et de la durée du traitement par ultrasons (les extractions UAE réduisent considérablement les temps d'extraction par rapport aux méthodes traditionnelles). Il est ressorti de ces travaux que l'UAE permet des rendements supérieurs aux procédés traditionnels décrits ci-dessus. En outre, les auteurs n'ont pas mis en évidence de changements dans les principaux composants du collagène après le traitement par ultrasons. Par conséquent, la méthode assistée par ultrasons pourrait offrir des applications pratiques prometteuses dans la production industrielle de collagène marin.

Parmi les technologies extractives innovantes, appliquées et rapportées dans la littérature scientifique à ce jour, on trouve, outre l'UAE, celles qui exploitent les **pressions élevées. Elles sont basées sur l'utilisation de solvants à hautes températures et pressions (50-200 µm C et 3,5-20 Mpa). Parfois, l'eau est utilisée comme solvant d'extraction; Cette méthode est donc aussi appelée extraction à l'eau subcritique, ou extraction à l'eau surchauffée, ou extraction à l'eau chaude pressurisée. C'est un processus rapide qui nécessite une faible quantité de solvant par rapport aux méthodes d'extraction traditionnelles. Cette méthode est capable de réduire considérablement la durée du processus et aussi de produire une gélatine de haute qualité. Cependant, ces procédés d'extraction conduisent facilement à l'extraction de gélatine et non de collagène, car les paramètres de procédé conduisent facilement à la transformation du collagène en gélatine.**

Il est à noter que les rendements les plus élevés sont obtenus en utilisant les méthodes en série et/ou en combinaison (par exemple en utilisant les ultrasons et les enzymes ensemble). Nombre de ces combinaisons de méthodes n'ont pas encore été explorées et pourront faire l'objet de la planification future.

3) Récupération

Pour la phase de récupération, le collagène doit être précipité, généralement obtenu par addition d'une solution saline tamponnée avec du Tris-HCl (pH 7,5). Le précipité qui en résulte est recueilli par centrifugation, re-dissous dans l'acide acétique 0,5 M, dialysé et lyophilisé.

Techniques Statistiques multivariées (chimométrie)

Il existe aujourd'hui des techniques statistiques multivariées qui pourraient jouer un rôle déterminant : du choix du bon plan expérimental au traitement final des données obtenues, à leur interprétation et à leur présentation (par des techniques d'exploration des données, de classification/modélisation et de régression). Ce n'est qu'en procédant selon cette logique rationnelle que les essais de laboratoire pourront fournir des indications claires sur la manière de procéder à l'échelle industrielle et permettre une indication économique a priori (viabilité économique).

Ces techniques pourraient être appliquées en détail :

1) dans la phase de définition du problème expérimental : le choix du procédé extractif (l'association en série ou en parallèle de plusieurs techniques extractives), le choix des facteurs influençant le/les processus/les extractifs/les (ex. temps, température, pH, etc.), dans quelle plage faire varier ces facteurs (ce qu'on appelle le domaine expérimental), quelles grandeurs on veut mesurer pour évaluer les expériences (réponse/essai, par exemple : rendement extractif, type de collagène obtenu, caractéristiques de type pureté, caractéristiques technologiques, antigénicité...), quels outils et méthodes peuvent être utilisés, quelles informations sont déjà disponibles, quelles sont les limites pratiques..). Pour ce faire, il sera nécessaire de choisir un plan expérimental et c'est à ce niveau que se situent les techniques de conception expérimentale qui permettent de concevoir rationnellement les "expériences" (essais) avec lesquelles optimiser le procédé extractif, en obtenant le maximum d'informations du système en question et en effectuant le moins d'essais possible. Dans un plan expérimental, toutes les variables (mentionnées ci-dessus) qui décrivent le système sont modifiées en même temps, de manière systématique. De cette façon, il est possible non seulement d'étudier l'effet individuel de chaque variable, mais aussi les interactions entre elles.

En d'autres termes, une conception expérimentale apparaît comme une matrice (ou séquence) d'essais expérimentaux à effectuer pour étudier et optimiser un système.

En général, le résultat de chaque expérience dépend de plusieurs facteurs agissant simultanément. Pour optimiser les conditions expérimentales, il faut donc considérer l'action de toutes ces variables et leurs interactions pour obtenir le résultat le plus favorable. Il est donc commode de concevoir une série d'expériences en utilisant la technique des matrices expérimentales qui permet de développer un ou plusieurs dessins expérimentaux adaptés à cet effet. Ces essais sont conçus de manière à obtenir le plus d'informations possible du système en question, afin d'en étudier les surfaces de réponse et d'effectuer le moins d'essais possible. Les surfaces de réponse sont la représentation

graphique de la réponse (ou de plusieurs réponses) d'un système, représentée en fonction du système lui-même.

Cette approche expérimentale diffère de l'approche classique (OVAT : one variable at the time), qui prévoit de varier une variable à la fois, en maintenant les autres fermes. La méthode classique, en plus d'être extrêmement long par rapport à Doe, ne conduira jamais à une connaissance complète du système, car l'information inhérente aux interactions entre variables expérimentales sera complètement perdue.

2) Après la réalisation des expériences conçues avec le Doe et réalisées en laboratoire (essais de laboratoire), la collecte des résultats et une analyse préliminaire des données seront effectuées. C'est à ce niveau que se situent les techniques chimiométriques exploratoires. Ces techniques visent à visualiser les informations obtenues par la série de données; mettre en évidence les anomalies et les erreurs; isoler des groupes d'objets (essais expérimentaux) et des variables similaires; établir une corrélation entre les différences entre les expériences ou entre les groupes d'expériences et certaines variables; sélectionner les variables les plus intéressantes.

2.4 Considérations

Des résultats satisfaisants ont été obtenus à la suite de la phase préliminaire de caractérisation décrite au chapitre 4, tant pour les déchets organiques issus de l'aquaculture et de la pêche que pour les déchets issus de la conchyliculture (surtout si la conservation des déchets se fait correctement), ce qui montre que, du point de vue microbiologique, il n'y a pas d'obstacle à la réutilisation des déchets ainsi caractérisés dans des domaines différents, Par exemple, les aliments pour animaux et comme engrais.

Parmi les utilisations de la biomasse halieutique de déchets, ces sous-produits "poissons" représentent une source potentielle importante de composés bioactifs, avec d'importantes propriétés fonctionnelles qui pourraient être isolées et concentrées, en leur conférant une valeur ajoutée sur les marchés haut de gamme, tels que les nutraceutiques et les cosmétiques. Dans ce contexte, un potentiel de réutilisation pour l'obtention de molécules biologiquement actives, telles que le collagène, a été proposé et analysé, **pour lequel** il existe une forte demande sur le marché, notamment d'origine marine.

Pour obtenir des composés naturels à partir de ces sources marines avec toutes les exigences utiles aux demandes du marché telles que: bonnes propriétés organoleptiques, nutritionnelles, fonctionnelles/salutaires et si possible éco-compatibles, la sélection de méthodes d'extraction appropriées est une étape fondamentale.

L'étude de la législation en vigueur et de l'état de la technique concernant les méthodes d'extraction applicables a mis en évidence les facteurs déterminants suivants, à prendre en considération dans l'analyse de faisabilité de la filière de réutilisation à laquelle on souhaite s'adresser :

- Le Règlement Communautaire **1380 de 2013** sur la réforme de la Politique Commune de la Pêche, à l'Article 15, prévoit **l'obligation pour les pêcheurs de débarquer les «déchets» des espèces** soumises à taille minimale (Reg. UE 1967/2006).
- Ces «déchets» ne pourront pas **être destinés à la** consommation humaine directe, **mais pourront être destinés à la production d'aliments pour animaux ou de produits similaires, ou devront être éliminés comme déchets**, à condition que ces utilisations ne créent pas une économie importante pour les pêcheurs.
- Selon les déclarations des opérateurs, le respect du nouveau règlement entraînera une charge de travail sûre à bord estimée à une augmentation moyenne de la charge de travail d'au moins 2 heures par jour pour effectuer les opérations supplémentaires de tri et de stockage des déchets destinés à être débarqués.
- Il est donc fondamental d'être en mesure de **valoriser le résidu** pour compenser **les coûts** dus à la gestion du Règlement et surtout il résulte fondamental **aménager sur le territoire un système qui garantisse avec continuité le retrait** et le stoccaggio des **déchets en faisant en que cela ne se transforme pas en REFUS**.
- L'examen de l'état de la technique a porté principalement sur des technologies d'extraction innovantes "vertes" qui constituent une alternative plus efficace en termes de meilleure préservation du produit de départ, meilleure qualité finale des extraits, plus grande efficacité d'extraction, minimisation des pertes de propriétés fonctionnelles des composés bioactifs extraits, propriétés technologiques et hygiéniques-sanitaires plus élevées que les produits obtenus.
- Parmi les différents composés bioactifs extractibles, le **COLLAGÈNE** a été choisi comme objectif principal du projet, pour lequel il existe une forte demande.
- Il y a une forte demande dans l'industrie alimentaire pour le collagène et la gélatine également en raison de leurs propriétés fonctionnelles, telles que la capacité à absorber l'eau, la capacité à former des gels et à stabiliser les émulsions et la provenance marine est plus appréciée pour diverses raisons.
- Il existe une méthodologie générale pour isoler le collagène des sous-produits de poissons et d'autres sources marines, qui prévoit trois étapes importantes : préparation, extraction et récupération.

Compte tenu de ce qui précède, une étude expérimentale a été menée pour comparer différentes méthodes d'extraction du collagène à partir de la même matière organique de départ, et d'évaluer également leurs incidences sur l'environnement et l'énergie, afin de vérifier la faisabilité technique et la viabilité environnementale de l'ensemble du processus intégré identifié.

2.5 étude expérimentale

L'utilisation du collagène d'origine marine se développe rapidement grâce à ses propriétés uniques par rapport au collagène d'origine animale, telles que l'absence de risque de transmission de maladies, son absorption facile par le corps humain, la biocompatibilité, un processus rentable et l'absence de liens religieux.

Dès la phase de conception, il est apparu clairement qu'une action rapide était nécessaire pour arrêter les processus dégradants. Des micro-organismes sont présents dans les déchets de poissons qui, en présence d'eau, peuvent dégrader l'histidine présente en quantité, surtout dans certains types de poissons. Si l'histidine est dégradée, on obtient de l'histamine et c'est un problème grave parce que l'ingestion d'aliments riches en histamine peut provoquer une intoxication et le syndrome déboisé.

La première phase du projet a donc opposé la réfrigération des déchets à une déshydratation rapide; Plusieurs méthodes extractives ont ensuite été évaluées pour obtenir des molécules de collagène, en évaluant les ultrasons et les micro-ondes, en les comparant avec l'extraction classique par enzymes hydrolytiques.

Le projet a évalué les différents rendements d'extraction de collagène réalisés avec des technologies extractives actuellement appliquées et rapportées dans la littérature scientifique.

En plus des méthodologies classiques, les UAE et celles qui exploitent les hautes pressions ont été évaluées comme des technologies innovantes, basées sur l'utilisation de solvants à haute température et à haute pression (50-200 C et 3,5-20 Mpa). L'eau utilisée comme solvant d'extraction fait que cette méthode est appelée extraction à l'eau subcritique, ou extraction à l'eau surchauffée, ou extraction à l'eau chaude pressurisée. C'est un processus rapide qui nécessite une faible quantité de solvant par rapport aux méthodes d'extraction traditionnelles; cette méthode a été en mesure de réduire considérablement la durée du processus et aussi de produire une gélatine de haute qualité. Cependant, ces procédés d'extraction conduisent facilement à l'extraction de gélatine et non de collagène, car les paramètres de procédé conduisent facilement à la transformation du collagène en gélatine.

Par contre, la recherche s'est concentrée sur la mise au point d'un procédé d'extraction extractif écologique pour l'extraction du collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS), en utilisant l'extraction pulsée par ultrasons (Pulsed Ultrasound-Assisted Extraction, PUAE) et en comparant cette méthode à un protocole d'extraction conventionnel. De nombreux essais ont été effectués et les données présentées montrent la moyenne de l'extraction par ultrasons (ESSAIS A) par rapport à la moyenne de l'extraction classique (ESSAIS B).

Tous les tests ont commencé avec de la peau de céphale congelée et conservée à -20 ° C jusqu'à son utilisation ultérieure.

Le protocole expérimental suivi est schématisé dans le Tableau 5 :

Extraction Acide Soluble Collagène (ACS) de la peau de céphale		
Step	Solvant Traitement	Temps
0	Congelamento	3 jours
1	Prétraitement	lavage par H ₂ O, broyage
2	Élimination des protéines non collagéniques	0.1 M Naoh : échantillon/solution 1:10 (w/v), en agitation
3	Neutralisation	lavage au H ₂ O
4	Élimination de la fraction lipidique	10% Alcool butylique : échantillon/solution 1:10 (w/v), en agitation
5	Lavage	lavage au H ₂ O
6	Extraction	0.5 M Acide acétique : échantillon/solution 1:10 (w/v), en agitation
		ESSAI A : Extraction assistée par ultrasons en mode pulsé (PUAE). ESSAI B : Extraction conventionnelle, sans activation par ultrasons.
7	Centrifugation	18.000 X g 4 °C
		Surnageant
8	Précipitation	précipitation finale avec Nacl 2.3 M dans 0.05 M Tris-Hcl (pH 7.5)
9	Centrifugation	18.000 X g 4 °C
10	Remise en suspension du précipité	Le culot est remis en suspension dans 10 ml d'acide acétique 0,5 M
11	Dialisi	Tubes de dialyse : Merck, # D6191, Dialysis Sacks Avg. flat width 25 mm (1.0 in.), MWCO 12,000 Da) contre 5 L de 0,1 M acide acétique à 4 C
12	Congélation à -80 hl et lyophilisation	18 heures de compétition 24 heures de lyophilisation

Tableau 5 : Protocole expérimental.

DESCRIPTION DU PROTOCOLE

Étape 1 - La peau congelée est rincée sous l'eau courante et tamponnée sur du papier absorbant. Il est ensuite manuellement broyé en morceaux d'environ 1 cm.

La teneur en humidité de la peau a été préalablement évaluée à l'aide d'une thermobalance, qui s'est avérée égale à 62.75% + 0.10.

Étape 2 - La peau broyée (5 g) est traitée avec une solution de Naoh 0.1 M (50 ml) afin d'éliminer les protéines non collagéniques (rapport soluté:solvant= 1/10 w/v) en agitation continue pendant 24 heures, en procédant à un changement de solution toutes les 8 heures (voir Figure 2).

Étape 3 - La solution est filtrée sur Buchner (sous vide, temps requis environ 20 secondes) et un lavage avec H₂O (50 ml) jusqu'à pH neutre est effectué.

Étape 4 - La peau est traitée avec une solution d'alcool butylique à 10% afin d'éliminer la fraction lipidique (rapport soluté:solvant= 1/10 w/v) en agitation continue pendant 24 h, en effectuant un changement de solution toutes les 8 h.

Étape 5 - Ensuite, la solution est filtrée et on procède à un lavage avec H₂O (50 ml) de la peau pour éliminer la phase butanolique. L'extrait butanolique est séché en rotavapor et la teneur en lipides est déterminée par gravimétrie (teneur en lipides de 354 mg, soit 7%).

Étape 6 - Extraire la peau avec une solution d'acide acétique 0,5 M (rapport soluté:solvant= 1/10 w/v). Un procédé d'extraction de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) (ESSAIS A) est comparé à un protocole d'extraction conventionnel (ESSAIS B) :

Essais A : extraction du collagène assisté par ultrasons en mode pulsé (PUAE).

Essais B : extraction du collagène sans activation par ultrasons.

Essais A : L'extraction nécessite l'utilisation d'un sonotrodo (probe) en titane de 7 mm et d'un sonotrodo de 26 kHz de sortie de 200 W. Les conditions extractives utilisées sont indiquées à la figure 7 :

	<i>Condizioni sperimentali</i>
<i>Solvente estrattivo</i>	CH ₃ COOH 0.5 M
<i>Tempo di estrazione</i>	30 minuti
<i>Rapporto solido/solvente</i>	1:10 w/v
<i>Amplitude</i>	80%
<i>Duty cycle</i>	50%
<i>Temperatura</i>	Max 30°C



Figure 7. Conditions expérimentales PUAE.

L'extraction par ultrasons est effectuée dans un bain de glace, afin de contrôler l'élévation de la température et de la maintenir tout au long du processus en dessous de 30 °C (6 glaçons sont utilisés pour chaque extraction).

Une fois le processus de sonication terminé, l'extrait obtenu est maintenu en agitation continue pendant 3 jours avant les étapes suivantes.

Essais B : La peau est extraite avec une solution d'acide acétique 0,5 M (rapport soluté:solvant= 1/10 w/v), en agitation continue pendant 3 jours (sans utilisation d'ultrasons). La figure 8 compare les extraits obtenus respectivement des ESSAIS A et B à la fin de l'étape 6 :

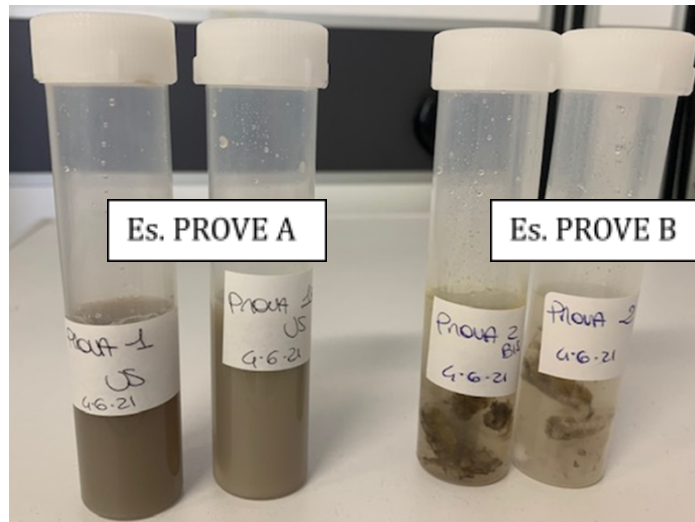


Figure 8 : Extraits obtenus à la suite du Step 6.

Étape 7 - Les extraits obtenus sont centrifugés à 18000 g X pendant 1 h, en maintenant la température à 4 dB C.

Étape 8 - La phase liquide (surnageante), qui se sépare après la centrifugation (Étape 7), est précipitée avec une solution de NaCl 2.3 M dans 0.05 M Tris-Hcl (pH 7.5) et agitée pendant 18 heures avant la centrifugation suivante (Étape 9).

Étape 9 - Les extraits sont centrifugés à 18000 g X pendant 1 h, en maintenant la température à 4 dB C (voir Figure 7).

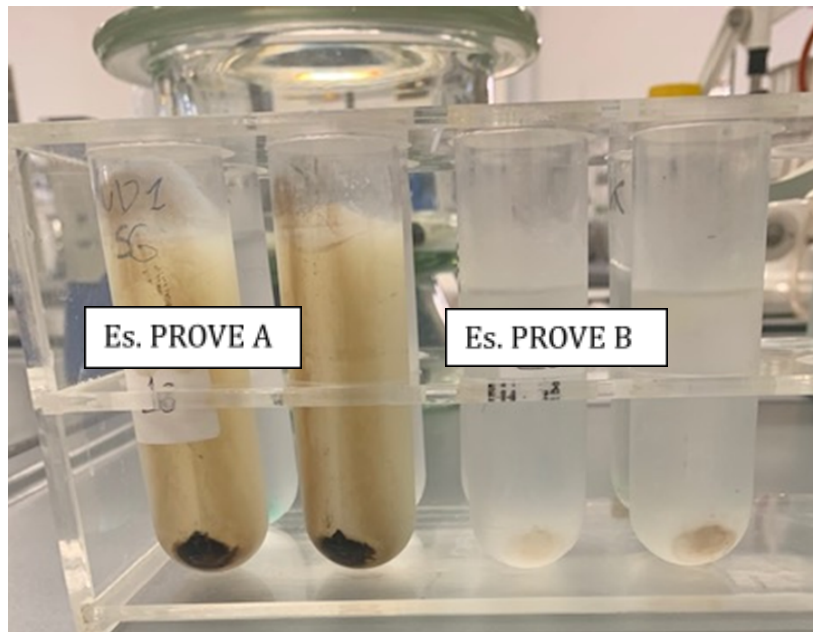


Figura 5.

Étape 10 - Le précipité obtenu à l'étape précédente (figure 5) est remis en suspension dans 10 ml d'acide acétique 0.5 M et conservé au réfrigérateur jusqu'aux étapes analytiques suivantes (dialyse, lyophilisation et caractérisation).

Étape 11 - Les 4 suspensions de collagène obtenues à l'étape 10 sont dialysées (Tubes de dialyse : Merck, # D6191, Dialysis Sacks Avg. flat width 25 mm (1.0 in.), MWCO 12,000 Da) contre 5 L de 0,1 M acide acétique, à 4 µ C, sur agitateur magnétique (Quatre changements sont effectués après un minimum de 3 heures).

Étape 12 - À la fin, les échantillons dialysés sont récupérés, congelés à -80 degrés C pendant 18 heures (Angelantoni PLATILA 500 V-3-STD), puis lyophilisés à froid dans Freeze Dryer Edwards pendant 24 heures.

Les poussières obtenues sont ensuite pesées sur balance analytique (Gibertini Europe 60) pour le calcul du rendement, puis conservées à 4 dB C.

.....

Pour comparer les différentes méthodes, on a ensuite effectué un dosage quantitatif des collagènes extraits à l'aide du Sircol Kit Assay. Limite de détection : 1,0 µg. Temps requis : 1,5 heure

Le test Sircol étant une procédure colorimétrique, les matériaux d'essai utilisés pour l'analyse doivent être exempts de particules telles que les débris et les fragments insolubles, En outre, l'échantillon doit être totalement transparent, car la turbidité peut entraîner l'absorption et la dispersion de la lumière.

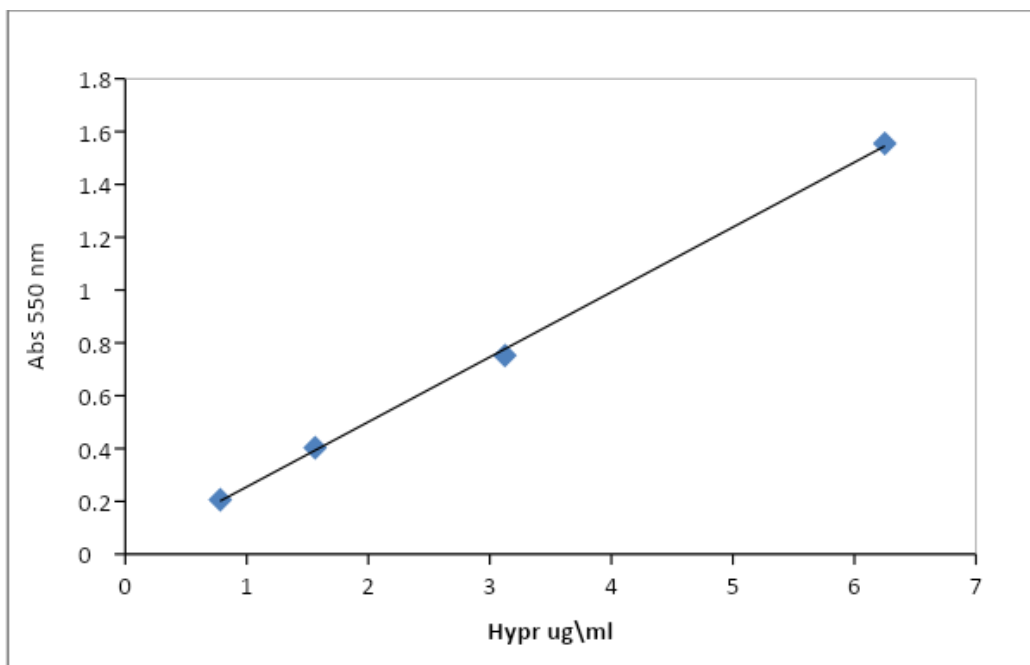
Les échantillons provenant des différentes expériences, solubilisés dans une solution d'acide acétique dilué, ont parfois été caractérisées par des particules ou une turbidité, de sorte que les résultats

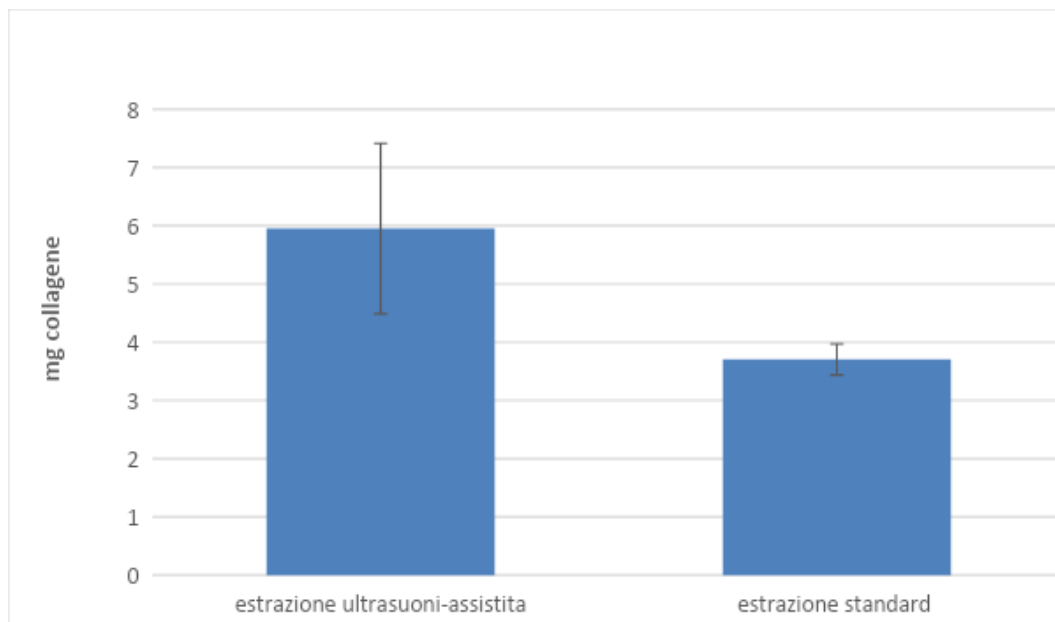
obtenus ont montré une plus grande quantité de collagène lors des essais aux ultrasons, mais que les données obtenues avec le SIRCOL n'étaient pas reproductibles si des essais répétés étaient effectués pour évaluer précision et exactitude des données.

C'est pourquoi il a été préférable d'ajouter un test supplémentaire en dosant l'hydroxyproline.

L'hydroxyproline est un acide aminé non standard, composant du collagène et se trouve presque exclusivement dans cette protéine; Selon l'espèce étudiée, elle en représente environ 11 à 14%. Dans le collagène, les ponts hydrogène entre les groupes hydroxydriliques de l'hydroxyproline et de l'hydroxylysine stabilisent la structure.

Comme le montrent clairement les figures ci-dessous, les tests effectués sur deux échantillons des essais A et deux échantillons des essais B ont montré qu'il y a certainement une augmentation de la quantité de collagène extrait si l'on utilise la technologie ultrasonique.





Avec la méthode aux ultrasons, l'extraction du collagène - en évaluant à égalité de perte initiale 2,5 g, la quantité d'hydroxyproline présente - passe de 3,7 mg à **presque 6 mg**.

En plus des rendements d'extraction du collagène, il conviendra à l'avenir de déterminer les modifications induites par les différentes techniques d'extraction sur la qualité finale du produit obtenu : par exemple, il faudra évaluer le degré d'hydrolyse du collagène obtenu par les différentes méthodes.

Ensuite, il sera important d'évaluer le degré de pureté et les propriétés technologiques, etc.).

Pour parvenir à un véritable produit final, il sera donc très important d'évaluer la reproductibilité des lots de collagène marin extrait, il sera donc nécessaire d'analyser pour garantir l'identité/(sous-type) de collagène, le poids moléculaire et la présence de produits d'hydrolyse.