

PROJET
P.R.I.S.M.A.-MED
"PLAN DÉCHETS ET RESIDUS EN MER DE PÊCHE, D'AQUACULTURE ET DE
PLAISANCE
EN MÉDITERRANÉE"

COMPOSANTE T2.2 "Étude de faisabilité des résidus organiques -
économie circulaire"

Produit T2.2.3
"Étude expérimentale et analyse du cycle de vie (ACV)
de la filière d'extraction du collagène
des déchets organiques de la pêche"



Index

Premis	Errore. Il segnalibro non è definito.
Introduction	5
Techniques d'extraction "vertes"	6
Étude expérimentale : procédé innovant d'extraction du collagène	8
Protocole expérimental	9
Comparaison des méthodes d'extraction	14
Analyse du cycle de vie : méthodes d'extraction par comparaison	15
La méthodologie LCA	16
Objectif de l'étude	16
Champ d'application de l'étude	17
Analyse d'inventaire	18
Interprétation des résultats	25
Conclusions	35

Prémices

L'étude expérimentale et l'évaluation du cycle de vie d'un procédé innovant d'extraction de collagène à partir de matières organiques provenant des déchets de la pêche s'inscrit dans le cadre du "projet pilote déchets organiques - économie circulaire". Ce projet a pour objectif d'assurer la récupération des matières organiques par leur réutilisation en tant qu'aliments, la production de farines animales ou d'autres utilisations alternatives et innovantes (industrie cosmétique, nutraceutique et pharmaceutique) par la réalisation des activités suivantes :

1. Caractérisation des déchets organiques nécessaire pour définir, à partir de la variabilité du matériel de départ : quantités et volumes (si possible également à l'échelle du temps), qualité microbiologique et environnementale, afin de définir leur destination optimale;
2. Élaboration d'une étude de faisabilité visant à déterminer les exigences en matière d'installations de traitement des matières organiques provenant des déchets qui peuvent s'adapter aux types de matériaux qui sont fournis.

En particulier, l'étude expérimentale et l'analyse du cycle de vie constituent les bases de la deuxième activité. Les résultats de ces études peuvent notamment aider à identifier des scénarios d'amélioration environnementale de la filière étudiée, afin de la rendre également durable de ce point de vue.

L'analyse du cycle de vie (Life Cycle Assessment - LCA) a en effet eu pour but d'évaluer les impacts environnementaux potentiels liés à l'activité d'extraction de collagène à partir de déchets organiques étudiés au niveau expérimental.

Le produit actuel s'appuie sur les considérations des analyses précédentes concernant la caractérisation des déchets organiques (produit T2.2.1 - Rapport de caractérisation) et de l'étude précédente concernant la filière innovante de valorisation des déchets basée sur l'analyse de l'état de la technique et la réglementation en vigueur (produit T2.2.2 - Étude de faisabilité - économie circulaire).

Il ressort de ces constatations que :

- 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 fondamental **de valoriser cet écart** pour compenser **les coûts** dus à la gestion du règlement et d'établir sur le territoire un système garantissant en permanence le retrait et le stockage des déchets en faisant en sorte que celui-ci ne se transforme pas en déchet;
- La phase préliminaire de caractérisation a mis en évidence (surtout si la conservation du déchet se fait correctement) que, du point de vue microbiologique, il n'existe aucun obstacle à la réutilisation des déchets issus de l'aquaculture, de la pêche et de la conchyliculture en tant qu'engrais dans le domaine des aliments pour animaux ou comme engrais;
- La biomasse halieutique des déchets peut constituer une source **potentielle importante** de composés bioactifs, avec d'importantes propriétés fonctionnelles qui pourraient être isolées et concentrées, en leur donnant une valeur ajoutée sur les marchés de haut de gamme, comme la nutraceutiques et les cosmétiques.

Parmi les différents composés bioactifs extractibles, le collagène a été sélectionné car il représente une forte demande sur le marché, notamment de provenance marine;

- 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.

L'étude expérimentale a été commandée par le partenaire TICASS à MicamoS.r.l., en aval d'une procédure de sélection appropriée. De même, la réalisation de l'étude LCA a été commandée par le partenaire TICASS à Tetis Institute s.r.l.

Introduction

Dans le cadre du projet P.ri.S.Ma-MED, une étude expérimentale a été menée dans le but d'évaluer l'utilisation de procédés innovants, rentables et non nuisibles pour l'environnement, d'extraction de molécules bioactives à haute valeur ajoutée à partir de déchets de la pêche.

Ces procédés pourraient conduire à une utilisation vertueuse de ces déchets, avec pour résultat de réduire les déchets à éliminer et par conséquent les pratiques d'élimination négatives.

Depuis les années 2000, le problème de la gestion des déchets est devenu de plus en plus important dans le monde. L'augmentation de la population, l'augmentation de la consommation et l'urbanisation ont augmenté massivement la production de déchets et les problèmes liés à leur traitement ou leur stockage. Cette situation est aggravée par de mauvaises habitudes et des comportements irresponsables.

La production de résidus alimentaires est également en augmentation et, si l'on considère les résidus générés par les processus de production du secteur alimentaire dans le secteur de la pêche, on s'aperçoit que ceux-ci sont encore largement sous-utilisés et contiennent encore des substances précieuses et utilisables.

Habituellement, ces déchets "marins" sont mis en décharge, rejetés en mer, voir abandonnés. Tout cela a plusieurs impacts négatifs sur l'environnement, la biodiversité et la santé humaine.

Le rejet excessif de nutriments organiques dans le milieu marin peut entraîner, par l'action de décomposition de la matière par les bactéries aérobies présentes dans l'eau, une réduction de l'oxygène dissous en elle qui conduit à l'anoxie, une augmentation des concentrations d'ammoniac, une surcharge d'azote (N) et de phosphore (P) entraînant une croissance excessive des plantes, une variation du pH et une augmentation de la turbidité de l'eau.

Déverser en mer des déchets de la filière piscicole pourrait, en outre, entraîner la modification des habitats. Par exemple, dans certaines coquilles et carapaces, il se peut que des œufs de certains organismes soient restés dans les coquilles, qui sont rejetés dans une zone autre que la zone d'origine et peuvent introduire des espèces étrangères qui à leur tour, ils peuvent modifier l'écosystème et influencer également l'économie locale.

Selon le nouveau rapport de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), le développement durable de l'aquaculture et la gestion efficace des ressources halieutiques seront essentiels pour maintenir l'augmentation de la production halieutique mondiale.

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 poissons 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, pourvu que ces utilisations ne créent pas d'économie intéressante pour les pêcheurs.

Actuellement en Ligurie la gestion de ce matériel, qui avoisine les 350 ton/an comme indiqué dans la Fig.1, est décidément inefficace, même à cause du manque d'espaces pour le stockage et des modalités correctes pour la récupération et l'élimination. cela accroît encore les problèmes environnementaux.

Compartimento	Porto	Numero di m/p	kg/giorno	Ton/anno
Imperia	Bordighera	4	118.0	19.5
	Sanremo	9	265.5	43.8
	Imperia	8	236.0	38.9
Savona	Finale Ligure	1	29.5	4.9
	Savona	4	118.0	19.5
Genova	Genova	4	118.0	19.5
	Camogli	1	29.5	4.9
	Chiavari	1	29.5	4.9
	Lavagna	1	29.5	4.9
	Santa Margherita Ligure	16	472.0	77.9
	Sestri Levante	4	118.0	19.5
La Spezia	La Spezia	16	472.0	77.9
	Lerici	3	88.5	14.6
	Totale	72	2124	350.46

Figure 1. Production hypothétique de biomasse organique écartée de la pêche au chalut, subdivisée pour les différents ports de la Ligurie.

Ainsi, dans un souci de durabilité environnementale, la mise en place de méthodes efficaces et sûres pour extraire les nutriments des déchets de la transformation du poisson permettrait d'utiliser les ressources halieutiques de manière responsable et efficace en obtenant, outre des farines et des huiles, également des composés à plus forte valeur ajoutée tels que la chitine, le collagène, la gélatine, les peptides, les caroténoïdes et les éléments inorganiques qui peuvent être utilisés comme ingrédients nutraceutiques ou comme additifs dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Techniques d'extraction "vertes"

Outre les prises accessoires (UWC), on estime que les déchets provenant du traitement du poisson ont les proportions suivantes de poids relatif par rapport à celui du poisson entier : tête 9% -12%, peau 1% -3%, viscères 12% -18%, nageoires et arêtes 9% -15%, écailles env. 5%.

Ces sous-produits de transformation peuvent être classés en deux catégories : un premier groupe comprenant des produits facilement dégradables à forte teneur en enzymes, tels que les viscères et le sang, et un deuxième groupe comprenant les produits les moins périssables (nageoires et arêtes, tête et peau).

Il est inutile de souligner que la collecte en temps utile des déchets, ainsi que le traitement initial de stabilisation approprié, sont des étapes essentielles pour préserver leur qualité et les rendre récupérables en tant que matière première de produits à haute valeur ajoutée.

En outre, la sélection de méthodes d'extraction appropriées est une étape fondamentale pour obtenir des composants naturels à partir de ces sources marines avec toutes les exigences du marché telles que : bonnes propriétés organoleptiques, nutritionnelles, fonctionnelles/salutaires et si possible écologiques.

À ce jour, la transformation de cette biomasse comprend des techniques conventionnelles (par exemple 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 des acides gras de la série oméga-3.

Ces méthodes, bien que performantes, présentent certains désavantages importants, tels que la forte consommation d'énergie, la possible dégradation thermique des produits finaux (due aux températures élevées de traitement), l'utilisation de solvants organiques d'extraction (dont les résidus peuvent présenter des risques pour la santé humaine et l'environnement) et les longs délais de fabrication (Al Khawli et al., 2019, <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/12/689>).

Pour remédier à ces problèmes, de nombreuses technologies extractives "vertes" ont été utilisées ces dernières années 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 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, hygiéniques et sanitaires plus élevées, permettant même leur utilisation dans d'autres aliments.

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^o 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^o Principe - Utilisation de solvants alternatifs, principalement de l'eau ou des solvants agro-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^o Principe - Réduction de la consommation d'énergie grâce à l'optimisation des processus existants, la récupération de l'énergie libérée pendant le processus d'extraction, les éventuelles innovations de processus.
- 4^o Principe - Production de coproduits plutôt que de déchets.

- 5sanz Principe - Réduction des opérations unitaires par l'innovation technologique en favorisant des processus sûrs et contrôlés. La diminution du nombre de passages dans un processus industriel entraîne en effet une réduction des coûts et une meilleure efficacité énergétique.

Étude expérimentale : procédé innovant d'extraction du collagène

L'étude expérimentale menée dans le cadre de ce projet s'est concentrée sur l'extraction de collagène : protéine largement utilisée dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique et nutraceutique.

L'utilisation du collagène d'origine marine se développe rapidement grâce à ses propriétés uniques par rapport au collagène d'origine bovine et/ou porcine, 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.

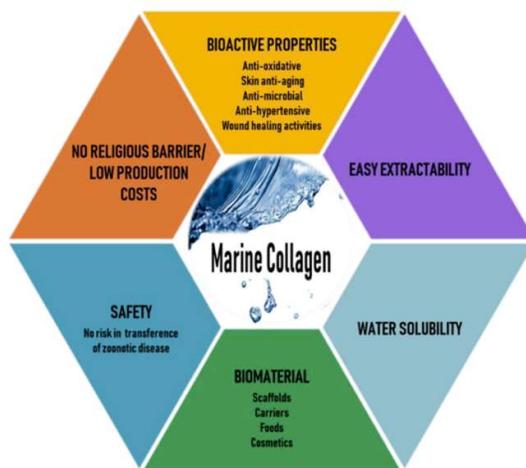


Figure 2. Avantages de l'utilisation du collagène marin.

(Sadowska, M.;Kolodziejska, I.; Niecikowska, C. Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chem.* 2003, 81, 257–262).

Dès le début de l'étude, il était clair qu'une action rapide était nécessaire pour arrêter les processus dégradants. Dans les déchets de poissons, il y a des micro-organismes qui, en présence d'eau, peuvent dégrader l'histidine présente en quantité, surtout dans certains types de poissons. Si l'histidine est dégradée, on produit de l'histamine qui s'avère être un grave problème car en ingérant des aliments riches en histamine on peut encourir une intoxication et un syndrome déboisé.

Dans la première phase de l'étude, on a donc comparé la réfrigération des déchets à une déshydratation rapide.

Par la suite, la phase d'extraction s'est concentrée et un procédé d'extraction du collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) a été mis au point en utilisant l'extraction pulsée par ultrasons (PUAE)), en le comparant à un protocole extractif conventionnel.

De nombreux essais ont été effectués et les données rapportées représentent la valeur moyenne obtenue dans l'extraction par ultrasons (Essais A) par rapport à la valeur moyenne obtenue avec l'extraction classique (Essais B).

Tous les tests ont été effectués à partir de peau de céphale congelée et conservée à -20 °C jusqu'à son utilisation dans un congélateur modèle Liebherr Medline LGEX 910 7082 273-00 (http://assi.lhg.liebherr.com/ServiceLine/b2b/bab2b/Media/Documents/BA/708227300_i.pdf). Le temps moyen avant le début du processus d'extraction était de 3 jours de congélation.

Protocole expérimental

Le protocole expérimental suivant est schématisé dans le Tableau 1 et décrit ci-après.

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	24 h, 3 cambi
3 - Neutralisation	lavage au H ₂ O	
4 - Élimination de la fraction lipidique	10% Alcool butylique : échantillon/solution 1:10 (w/v), en agitation	24 h, 3 cambi
5 - Lavage	lavage au H ₂ O	
6 - Extraction	0.5 M Acide acétique : échantillon/solution 1:10 (w/v), en agitation	3 g
	Essais A : extraction assistée par ultrasons en mode pulsé (PUAE). Essais B : Extraction conventionnelle, sans activation par ultrasons.	30 minutes
Surnageant		
7 - Centrifugation	18000 tours 4 C	1 h
8 - Précipitation	précipitation finale avec NaCl 2.3 M dans 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5)	18 h
9 - Centrifugation	18000 tours 4 C	1h
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	4 changements de 3 heures
12 - Congélation à -80 dB et		18 heures de

lyophilisation

congélation

24 heures de lyophilisation

Tableau 1. Protocole expérimental.

Step 1.

La peau congelée est rincée à l'eau courante et tamponnée sur du papier absorbant. Elle est ensuite manuellement broyée en morceaux d'environ 1 cm.

En utilisant une thermobalance, on évalue au préalable la teneur en humidité de la peau, qui est égale à 62.75% + 0.10.

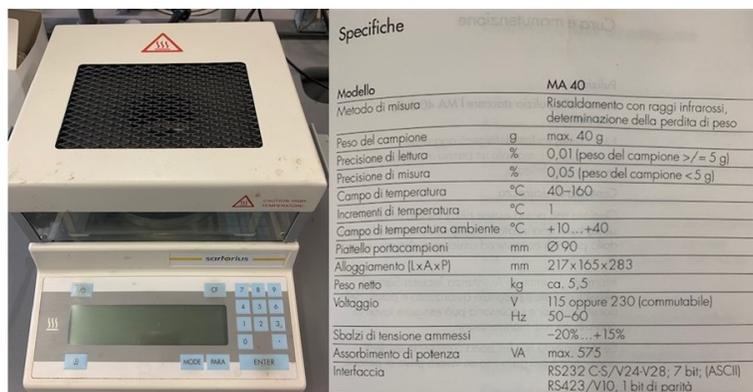


Figure 3. Thermobalance modèle MA40 Sartorius (Goettingen, Germany).

Step 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) pour cela il faut l'agiter continuellement pendant 24 heures, en procédant à un changement de solution toutes les 8 heures (voir figure 4).



Figure 4. Peau broyée en solution de NaOH 0.1 M sur agitateur magnétique chauffant modèle AREX F20500413 (ww.velp.com).

Step 3.

La solution est filtrée sur filtre Buchner, sous vide avec une pompe à vide Vacuumbrand, pendant environ 20 secondes puis lavée à l'eau (50 ml) jusqu'à obtention d'un pH neutre.

Step 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 heures, en procédant à un changement de solution toutes les 8 heures. Ensuite, la solution est filtrée et la peau est lavée à l'eau (50 ml) pour éliminer la phase butanolique.

Step 5.

L'extrait butanolique est séché en rotavapor et la teneur en lipides est déterminée par gravimétrie (teneur en lipides de 354 mg, soit 7%).

Step 6.

La peau est extraite par une solution d'acide acétique 0,5 M (rapport soluté/solvant= 1/10 w/v). Cette étape étant consacrée à l'extraction proprement dite, il a été procédé à une comparaison entre un procédé d'extraction écologique pour l'extraction du collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) (Essais A) et un protocole d'extraction conventionnel (Essais B).

Essais A : le procédé consiste en une extraction du collagène assistée par ultrasons en mode pulsé (PUAE) et prévoit donc l'utilisation d'un sonique ayant une fréquence de fonctionnement de 26 kHz, sortie de 200 W et muni d'un sonotrodo (probe) en titane de 7 mm. L'équipement qui a été utilisé est un puissant homogénéisateur à ultrasons de laboratoire (HielscherUltrasonics UP200 St - Germany).

Les conditions extractives utilisées sont indiquées à la figure 5.

	<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 5. 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 ont été 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 : le procédé conventionnel consiste à extraire 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.

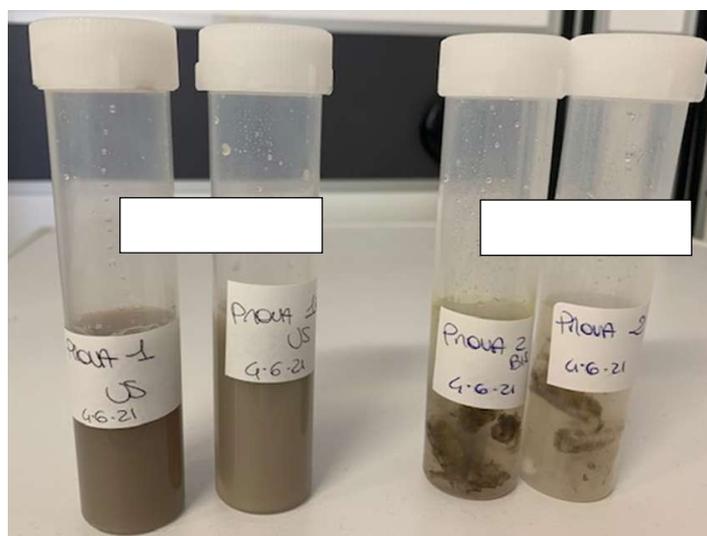


Figure 6. Extraits obtenus à la suite du Step 6.

Step 7.

Les extraits obtenus sont centrifugés à 18000 tours pour 1 h, en maintenant la température à 4 °C. Le modèle de centrifugeuse utilisé est Thermo Scientific™ Sorvall™ RC 6 Plus (www.fishersci.it)

Step 8.

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

Step 9.

Les extraits sont centrifugés à 18000 tours pendant 1 h, en maintenant la température à 4 °C (voir Figure 7).

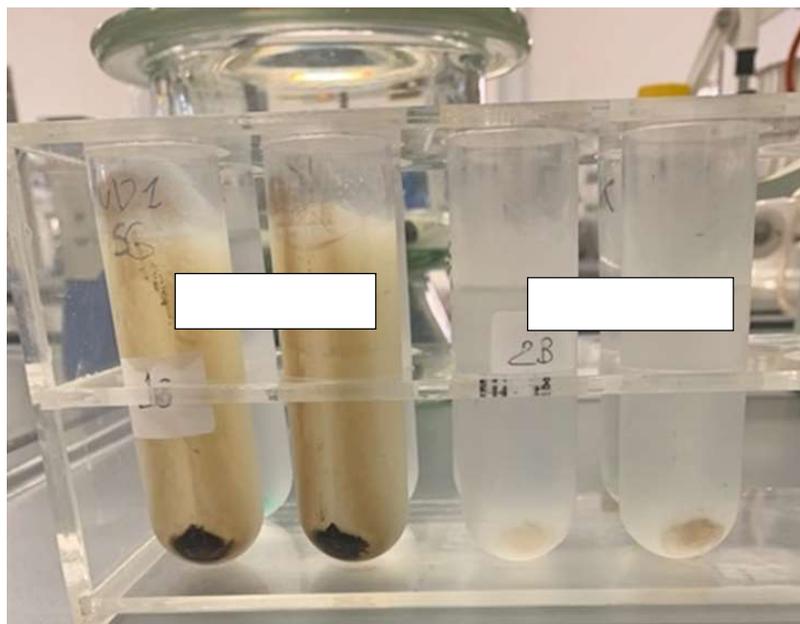


Figure 7. Extraits centrifugés : formation précipitée (Étape 9).

Step 10.

Le précipité obtenu à l'étape précédente est remis en suspension dans 10 ml d'acide acétique 0,5 M et conservé au réfrigérateur (Liebherr Medline FKEX 2600) jusqu'aux étapes analytiques suivantes (dialyse, lyophilisation et caractérisation).

Step 11.

Les 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) avec 5 L de 0,1 M acide acétique, à 4 C, sur agitateur magnétique (4 changements après un minimum de 3 h).

Step 12.

Les échantillons dialysés sont récupérés, congelés à -80 degrés C pendant 18 heures (Angelantoni PLATILA 500 V-3-STD) et puis lyophilisés à froid dans Freeze Dryer Edwards pendant 24 heures.

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

Comparaison des méthodes d'extraction

Afin de comparer les différentes méthodes d'extraction, un dosage quantitatif des collagènes extraits par l'utilisation du Sircol *Kit assay* a été effectué : limite de détection : 1,0 µg ; temps requis : 1,5 heure.

Le *kit d'essai* Sircol étant une procédure colorimétrique, les matériaux d'essai utilisés pour l'analyse doivent être exempts de matières particulaires telles que les débris et les fragments insolubles. L'échantillon, lui, doit être complètement transparent car la turbidité peut provoquer l'absorption et la dispersion de la lumière.

Étant donné que, dans certains cas, les échantillons issus des différentes expériences présentaient des particules ou des troubles et que les résultats obtenus faisaient apparaître une plus grande quantité de collagène lors d'essais par ultrasons, mais les données obtenues avec le Sircol Kit Assay n'étaient pas reproductibles si les tests étaient répétés. Pour évaluer la précision et l'exactitude des données, on a préféré insérer un autre test en dosant l'hydroxyproline.

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

Comme le montrent les figures 8 et 9, les tests effectués sur deux échantillons des essais A et deux échantillons des essais B montrent qu'il y a une augmentation en quantité de collagène extrait si l'on utilise la technologie innovante à ultrasons. Avec cette dernière méthode, en effet, l'extraction du collagène, en évaluant à parité de poids initiale (2,5 g), la quantité d'hydroxyproline présente passe de 3,7 mg à près de 6 mg.

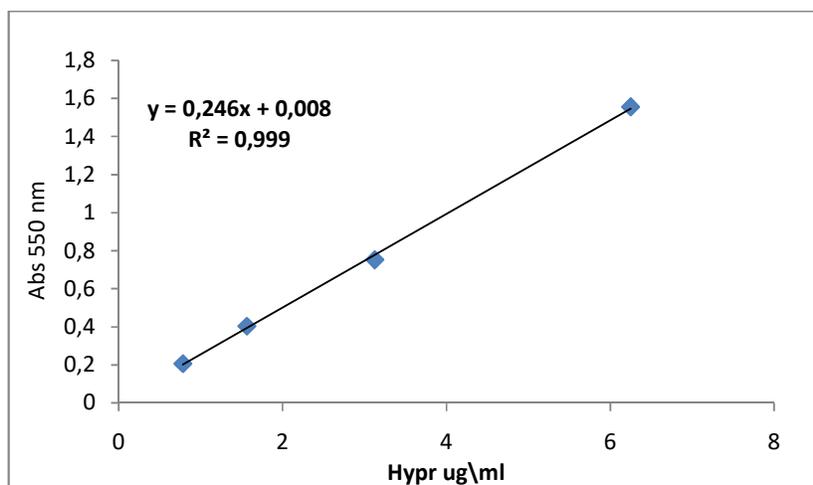


Figure 8. Évolution de l'absorbance à 550 nm par rapport à la quantité d'hydroxyproline.

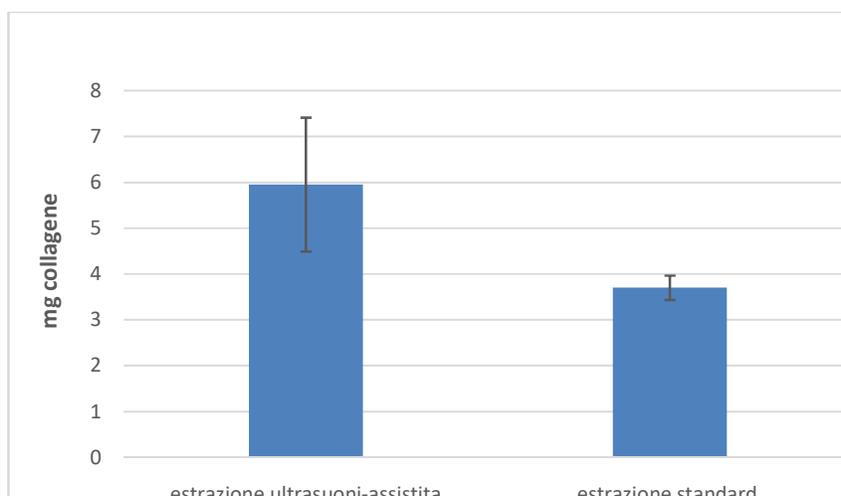


Figure 9. Quantité de collagène extrait selon la méthode d'extraction utilisée.

Le procédé innovant (essais A) permet donc d'extraire environ 6 mg de collagène pour 2,5 g de peau traitée avec un rendement environ 1,6 fois supérieur à celui du procédé traditionnel (essais B), ce qui permet d'extraire en moyenne 3,7 mg de collagène pour 2,5 g de peau traitée.

Analyse du cycle de vie : méthodes d'extraction par comparaison

La comparaison entre la méthode d'extraction innovante et la méthode traditionnelle a également été soutenue par une analyse du cycle de vie (Life Cycle Assessment - LCA) de ces processus.

L'étude ACV s'est donc concentrée sur l'évaluation comparative des impacts environnementaux potentiels liés à l'extraction de collagène marin à partir de la biomasse organique de la pêche écartée, en utilisant à la fois la technologie PUAE et le procédé d'extraction conventionnel.

Étant donné que le procédé innovant est actuellement mis en œuvre à l'échelle du laboratoire, le rendement, le type et le nombre de machines utilisées ne doivent pas être considérés comme représentatifs d'un processus potentiel à l'échelle semi-industrielle, de même que les impacts qui en résultent.

La méthodologie LCA

En matière de durabilité environnementale, l'Analyse du cycle de vie est l'instrument largement reconnu par la communauté scientifique pour mesurer en termes objectifs les coûts et les avantages des produits et services. L'élargissement de l'optique de conception permet de prendre en compte tous les aspects environnementaux tout au long de la chaîne de production, sans transférer les impacts environnementaux d'une phase à l'autre.

La méthodologie de l'ACV constitue un processus objectif d'évaluation des charges environnementales liées à un produit, un procédé ou une activité, à travers l'identification et la quantification de l'énergie et des matériaux utilisés et des déchets rejetés dans l'environnement afin d'évaluer leur impact et les diverses possibilités d'amélioration de l'environnement. La caractéristique fondamentale de cette technique, qui suit

pour les lignes générales les standards ISO 14040 et ISO 14044, est son côté innovant car elle aborde l'analyse des systèmes industriels : de l'approche typique de l'ingénierie traditionnelle, qui privilégie l'étude séparée des différents éléments, on passe à une vision globale du système productif, dans laquelle tous les processus de transformation, à partir de l'extraction des matières premières jusqu'à l'écoulement des produits en fin de vie, sont pris en considération.

L'ACV est un élément clé des politiques de l'UE telles que la politique intégrée des produits, la PIP (COM/2003/0302), la directive-cadre sur les déchets (directive 2008/98/CE), le plan d'action pour une consommation et une production durables (PCD) et la politique industrielle durable (PIS) (COM(2008) 397). En outre, les informations fournies par l'ACV peuvent également soutenir l'élaboration des politiques publiques en fournissant des critères d'écoconception, par exemple en contribuant à la réalisation des objectifs de performance du plan d'action en faveur des écotecnologies (ETAP - Environmental Technologies Action Plan) adopté par la Commission européenne le 28/01/2004.

L'étude des processus en optique "cycle de vie" permet ainsi d'obtenir le cadre global ayant intégré des effets sur l'environnement afin d'effectuer des évaluations comparatives entre les différentes routes alternatives en vue de réduire les impacts environnementaux potentiels, et en particulier les émissions de gaz à effet de serre.

Objectif de l'étude

L'objectif **de l'étude** est d'évaluer les principaux **impacts environnementaux associés au cycle de vie** de l'extraction de collagène marin de la peau de céphale en comparant les deux différents procédés :

- (A) une technologie innovante à ultrasons pulsés ;
- (B) une méthodologie d'extraction traditionnelle.

Champ d'application de l'étude

Unité fonctionnelle

Pour cette analyse, **un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) extrait a été considéré comme unité fonctionnelle.**

Frontières du système

Cette étude est appelée "du berceau à la porte" ("from-cradle-to-gate"), car elle prend en compte les phases d'approvisionnement en matières premières, en énergie ainsi que la production du produit final, l'exclusion des phases de distribution, d'utilisation et de fin de vie.

Les frontières du système sont représentées en rouge pointillé dans la Figure 1.

Les frontières du système comprennent généralement les trois phases suivantes du cycle de vie :

- Upstream processes (from cradle-to-gate).
- Core processes, manufacturing processes (from gate-to-gate).

- Downstream processes (from gate-to-grave).

Comme l'analyse présentée ici est de type "from cradle-to-gate", les processus descendants (from gate-to-grave) ne sont pas modélisés dans l'analyse du cycle de vie.

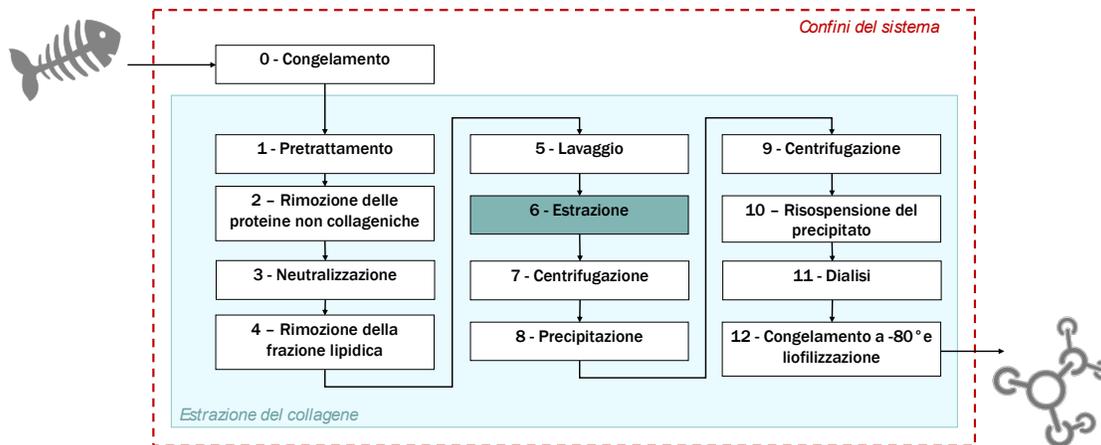


Figure 10. Schéma du processus d'extraction du collagène à partir de la biomasse organique éliminée de la filière de pêche, subdivisé en phases, et limites du système (indiquées en pointillés rouges).

Le schéma du processus considère les Upstream et Coreprocesses, en accord avec les normes ISO 14040-14044.

Analyse d'inventaire

L'analyse d'inventaire comprend la collecte des données et les processus de calcul permettant de quantifier les flux entrants et sortants du système. Les données recueillies se réfèrent au procédé d'extraction du collagène mis en œuvre à l'échelle de laboratoire et décrit ci-dessus. Les données portent sur l'année 2021.

Collecte de données

Le principal intrant pour la production de collagène est la peau **de céphale, obtenue à partir** des déchets de la filière des poissons. En plus de cela, les flux entrants dans le système comprennent l'eau, les produits chimiques nécessaires à certaines phases de traitement et l'énergie requise pour l'alimentation des machines utilisées. Voici les données collectées, réparties en eau, matériaux et énergie. Les données se réfèrent à **5 grammes de peau de céphale utilisés en entrée à l'ensemble du processus.**

Le procédé d'extraction du collagène à l'échelle du laboratoire prévoit l'utilisation d'eau, comme consommation directe, en quatre phases différentes : prétraitement, neutralisation, lavage et extraction (en cas d'extraction par ultrasons - procédé A). Les données relatives à la consommation d'eau, ventilées par phase, sont présentées dans le tableau suivant :

Fase	Quantità [ml]
0 - Congelamento	-
1 - Prétraitement	100
2 - Élimination des protéines non collagéniques	
3 - Neutralisation	50
4 - Élimination de la fraction lipidique	-
5 - Lavage	50
6 - Extraction (procédé A)	40.50
6 - Extraction (procédé B)	-
7 - Centrifugation	-
8 - Précipitation	-
9 - Centrifugation	-
10 - Remise en suspension du précipité	-
11 - Dialisi	-
12 - Congélation à -80 dB et lyophilisation	-

Tableau 2. Données relatives à la consommation directe d'eau, ventilées par étapes.

Le procédé d'extraction du collagène mis en œuvre nécessite l'utilisation d'une série de produits chimiques, nécessaires à six des douze phases de traitement, y compris la phase d'extraction proprement dite (pour les deux méthodes appliquées, avec ou sans ultrasons).

Les entrées relatives à l'utilisation de produits chimiques, par phase, sont indiquées dans le tableau 1 quantités indiquées (Tableau 1 de solution [ml]) se rapportent à la solution d'eau et à d'autres substances, dans les concentrations indiquées dans la colonne de l'annexe solution du tableau 3. **Tableau 1**

Fase	Solution	Quantité de solution [ml]
0 - Congelamento	-	-
1 - Prétraitement	-	-
2 - Élimination des protéines non collagéniques	Hydroxyde de sodium 0.1M	150
3 - Neutralisation	-	-
4 - Élimination de la fraction lipidique	Alcool butylique à 10%	50
5 - Lavage	-	-
6 - Extraction (procédé A)	Acide acétique 0.5 M	50
6 - Extraction (procédé B)	Acide acétique 0.5 M	50
7 - Centrifugation	-	-
8 - Précipitation	NaCl 2.3 M in tris-HCl	15
9 - Centrifugation	-	-

10 - Remise en suspension du précipité	Acide acétique 0.5 M	10
11 - Dialisi	Acide acétique 0.1 M	20,000
12 - Congélation à -80 dB et lyophilisation	-	-

Tableau1 Données d'entrée relatives à l'utilisation de substances chimiques, par étapes.

Le procédé d'extraction du collagène à l'échelle du laboratoire implique l'utilisation d'une série d'équipements électriques, dont les consommations, ventilées par phases, sont indiquées dans Tableau2

Phase	Machinerie	Temps de fonctionnement	Consommi
0 – Congelamento	congélateur	72 h	3.929 kWh
1 - Prétraitement	-	-	-
2 - Élimination des protéines non collagéniques	agitateur	24 h	15.12 kWh
3 - Neutralisation	pompe à vide	20 sec	1 Wh
4 - Élimination de la fraction lipidique	-	-	-
5 - Lavage	-	-	-
6 - Extraction (procédé A)	sonique	60 min	200 Wh
	agitateur	72 h	45.36 kWh
6 - Extraction (procédé B)	agitateur	72 h	45.36 kWh
7 - Centrifugation	centrifugeuse	1 h	6 kWh
8 - Précipitation	agitateur	18 h	11.34 kWh
9 - Centrifugation	centrifugeuse	1 h	6 kWh
10 - Remise en suspension du précipité	frigo	24 h	0.786 kWh
11 - Dialisi	agitateur magnétique	12 h	48 Wh
	frigo	12 h	0.573 kWh
	freezer	18 h	28.98 kWh
12 - Congélation à -80 dB et lyophilisation	lyophilisateur	24 h	46.08 kWh
	pompe à vide	24 h	4.32 kWh

Tableau2 Données relatives à la consommation d'électricité, ventilées par étapes.

En ce qui concerne le congélateur utilisé dans la phase 0, ainsi que le réfrigérateur utilisé dans les phases 10 et 11, les consommations indiquées dans le tableau ont ensuite été attribuées en tenant compte de la part de volume occupée par les tubes utilisés dans le processus d'extraction du collagène par rapport au volume total disponible. Ce choix repose sur l'hypothèse que ces équipements peuvent être utilisés simultanément pour d'autres usages que celui de l'extraction du collagène.

Évaluation de l'impact du cycle de vie

Catégories d'impact et indicateurs d'impact

Après avoir effectué l'analyse de l'inventaire, il est nécessaire d'imputer la consommation et les émissions obtenues à ce stade à des catégories d'impact spécifiques liés aux effets environnementaux connus (classification) et de quantifier, au moyen de méthodes de caractérisation appropriées, l'importance de la contribution globale du processus aux effets considérés.

Les catégories d'impact examinées dans l'étude actuelle sont les suivantes :

- **Impact sur le changement climatique** : potentiel de réchauffement planétaire (**PRP**), mesuré en kg_{équivalent} CO₂ ;
- **Consommation de ressources énergétiques : demande d'énergie cumulative (CED)**, mesurée en MJ ;
- **Consommation d'eau (Water use)**, mesurée en kg d'eau consommée.

Changement climatique : potentiel de réchauffement planétaire (PRP)

Le dioxyde de carbone est le principal gaz à effet de serre anthropique. Les autres gaz contribuant à l'effet de serre sont le méthane (CH₄), le protoxyde d'azote (N₂O), les chlorofluorocarbures (CFC) et les hydrochlorofluorocarbures (HCFC).

Le PRP (Global Warming Potential) d'une substance est donné par le rapport entre la contribution à l'absorption du rayonnement chaud qui est fournie par la libération instantanée de 1 kg de cette substance et celle fournie par l'émission de 1 kg de CO₂. Ces contributions sont évaluées pour une période de 100 ans de séjour des gaz dans l'atmosphère.

Pour le PRP, les facteurs IPCC 2013 ont été utilisés (Cinquième rapport d'évaluation - Changement climatique 2013 - GIEC, méthode CML v. 4.7 janvier 2016).

Changement climatique : potentiel de réchauffement planétaire (PRP)

La consommation de ressources comprend les ressources renouvelables et non renouvelables, tant énergétiques que matérielles (matières premières).

La consommation de ressources énergétiques, évaluée selon la méthode CED (Cumulative Energy Demand), constitue un indicateur spécifique des premières. Cet indicateur tient compte de la demande d'énergie primaire pour l'ensemble du cycle de vie du produit considéré, en tenant compte, par exemple, de la transformation des matières combustibles en énergie électrique. Cet indicateur est donc alimenté par les matériaux combustibles avec leur teneur en énergie primaire. Le facteur de caractérisation est dans ce cas le pouvoir calorifique du matériau considéré et l'indicateur est exprimé en MJ.

En ce qui concerne la consommation d'électricité directe et indirecte, pour toutes les matières premières et tous les processus qui se déroulent sur le territoire italien, il est fait référence dans cette étude à un mix électrique spécifique, se compose en partie de production intérieure et en partie d'énergie achetée à

l'étranger. Cette dernière, principalement achetée par la Suisse, s'avère être pour la plupart de l'énergie de type nucléaire.

Le mix électrique italien est illustré schématiquement dans la figure 11.

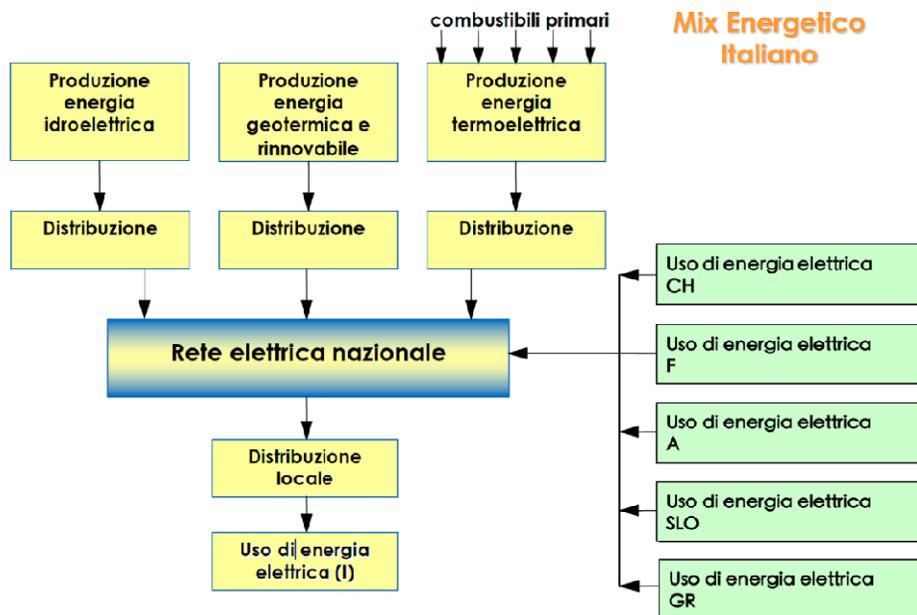


Figure 11. Schématisation des différentes composantes contribuant à la création du mix énergétique italien de référence.

La composition en pourcentage des différentes contributions est celle fournie par Ecoinvent pour l'année de référence 2014 et figure dans le Tableau 5.

Tableau3 aucune donnée postérieure à l'année 2014 n'apparaît dans la base de donnéesEcoinvent. Les données de 2014 peuvent être considérées comme représentatives du scénario énergétique actuel.

SOURCE	POURCENTAGE
Charbon	13.29%
Gaz naturel	25.52%
Fuel-oil	3.71%
Lignite	0.30%
Geotermico	1.87%
Hydroélectrique	19.40%
Éolien	4.95%
Biomassa	5.26%
Solaire	10.30%
Import da Austria	0.51%
Import de Suisse	8.04%
Import da Francia	5.11%
Importation en provenance de Grèce	0.04%
Import da Slovenia	1.70%

Tableau3 Composition en pourcentage du bouquet énergétique italien (source : Ecoinvent, 2014).

Un indicateur spécifique des ressources matérielles est constitué par toutes les matières premières utilisées tout au long du cycle de vie. Il n'existe pas pour cet indicateur de facteurs de caractérisation et chaque matière première utilisée, comprise comme matière extraite de la terre, est ajoutée aux autres simplement en tenant compte de la quantité consommée en masse. La consommation d'eau est indiquée séparément et exprimée en kg.

Résultats environnementaux

Les résultats ci-dessous concernent la quantification des indicateurs environnementaux associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagène, ACS) à l'aide de la technologie pulsée par ultrasons (Procédé A) (Tableau 4) et la méthode d'extraction traditionnelle (procédé B, Tableau 4. Résultats environnementaux associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagène, ACS) à l'aide de la technologie pulsée par ultrasons.). Les résultats sont présentés à la fois pour le processus complet et pour les différentes phases.

	<i>Indicateur</i> U.M.	GWP kg CO ₂ eq	CED MJ	Cons. hydrique kg eau
0 – Congelamento		0.000	0.003	0.003
1 - Prétraitement		0.000	0.000	0.008
2 - Élimination des protéines non collagéniques		0.524	10.919	10.201
3 - Neutralisation		0.000	0.001	0.005
4 - Élimination de la fraction lipidique		0.003	0.107	0.156
5 - Lavage		0.000	0.000	0.004
6 - Extraction		1.583	32.962	30.763
7 - Centrifugation		0.208	4.333	4.043
8 - Précipitation		0.393	8.192	7.646
9 - Centrifugation		0.208	4.333	4.043
10 - Remise en suspension du précipité		0.000	0.007	0.007
11 - Dialisi		0.020	0.572	2.172
12 - Congélation à -80 dB et lyophilisation		1.758	36.603	34.154
TOTALE		4.698	98.031	93.205

Tableau 4. Résultats environnementaux associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) à l'aide de la technologie pulsée par ultrasons.

	<i>Indicateur</i> U.M.	GWP kg CO ₂ eq	CED MJ	Cons. hydrique kg eau
0 – Congelamento		0.000	0.005	0.004
1 - Prétraitement		0.000	0.000	0.014
2 - Élimination des protéines non collagéniques		0.850	17.706	16.542
3 - Neutralisation		0.000	0.001	0.008
4 - Élimination de la fraction lipidique		0.005	0.173	0.253
5 - Lavage		0.000	0.000	0.007
6 - Extraction		2.551	53.126	49.577
7 - Centrifugation		0.337	7.026	6.556
8 - Précipitation		0.638	13.285	12.399
9 - Centrifugation		0.337	7.026	6.556
10 - Remise en suspension du précipité		0.001	0.011	0.012
11 - Dialisi		0.033	0.928	3.522
12 - Congélation à -80 dB et lyophilisation		2.850	59.356	55.384
TOTALE		7.603	158.642	150.833

Tableau 5. Résultats environnementaux associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) en utilisant la technologie d'extraction traditionnelle.

Interprétation des résultats

L'interprétation est la phase de l'étude au cours de laquelle les résultats de l'analyse d'inventaire et de l'évaluation du cycle de vie sont analysés conjointement afin de formuler des conclusions et des recommandations cohérentes avec l'objectif de l'étude.

La comparaison des résultats environnementaux associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) en utilisant la technologie ultrasonique innovante (Procédé A) et la méthodologie d'extraction traditionnelle (Procédé B) est présentée dans le Tableau 6

Indicateur	U.M.	Procédé A : Extraction par ultrasons pulsée	Procédé B : extraction traditionnelle
GWP	kg CO ₂ eq	4.698	7.603
CED	MJ	98.031	158.642
Cons. hydrique	kg eau	93.205	150.833

Tableau 6. Comparaison des résultats environnementaux associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) à l'aide de la technologie pulsée à ultrasons (Procédé A) et d'une technologie d'extraction traditionnelle (Procédé B).

Le procédé d'extraction de type A, qui implique l'utilisation d'une technologie innovante pulsée par ultrasons s'avère être nettement moins impactant qu'un procédé basé sur une méthode d'extraction traditionnelle (procédé B). En particulier, la méthodologie à ultrasons permet de réduire les impacts d'environ 38% pour les trois catégories (PRP, CED et consommation d'eau).

Si l'on examine plus en détail les raisons de cette réduction significative des impacts, on constate que la principale raison réside dans **l'efficacité** nettement plus élevée du procédé d'extraction par ultrasons par rapport au procédé traditionnel. Les deux procédés diffèrent en effet pour une seule phase, celle d'extraction (PHASE 6). L'utilisation de la technologie pulsée par ultrasons contribue à une augmentation des impacts, en termes absolus (à parité de peau traitée en input), qui peut être considérée comme effectivement négligeable (inférieure à 1% sur le total) Mais la production de collagène est 1.6 fois plus importante.

Afin d'analyser en détail les phases du cycle de vie du processus d'extraction du collagène (Figure 13. Comparaison des impacts en termes de CED en MJ) associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) PRP, Figure 14 : Comparaison des impacts en termes de consommation d'eau (en kg d'eau) associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans la figure 13 (pour le CED) et à la figure 14 (pour la consommation d'eau).

Les figures montrent que :

- Pour les trois indicateurs, les différentes phases contribuent en pourcentage aux impacts par rapport au total de manière analogue dans les deux processus A et B. Cela est dû au fait que les deux processus ont en commun 11 phases sur 12, tandis que pour la phase où ils diffèrent (phase 6 d'extraction), la différence en termes d'impacts est presque négligeable.
- Pour les trois indicateurs et pour les deux processus A et B, les **phases les plus impactantes** sont celles de l'extraction (phase 6) et de la congélation à $-80\ \mu$ et de la lyophilisation (phase 12).

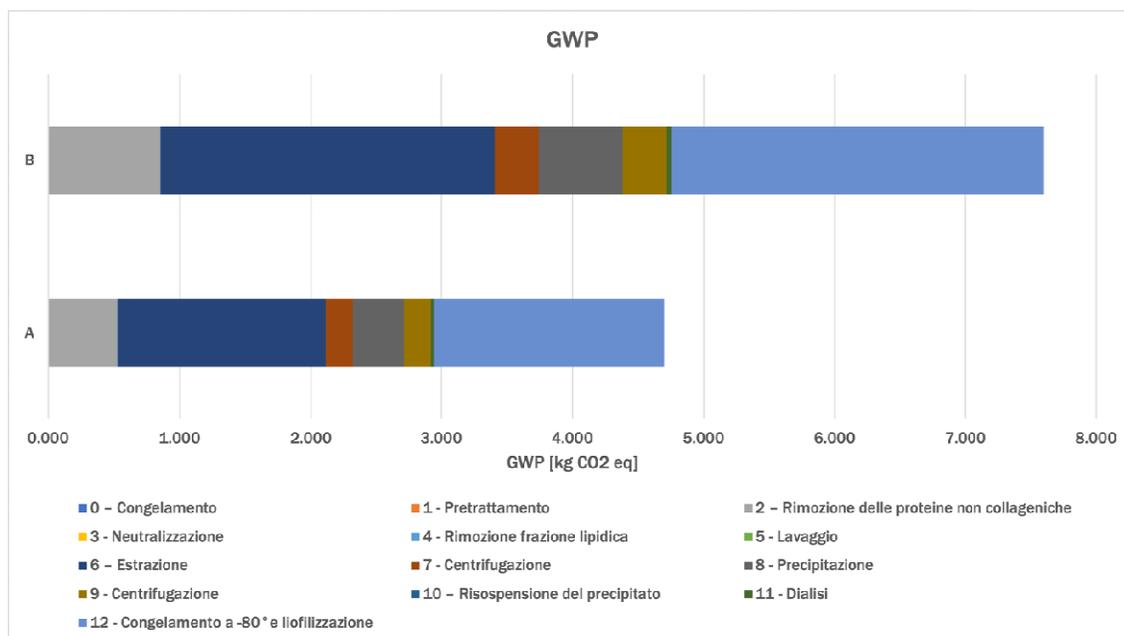


Figure 12. Comparaison des impacts en termes de PRP (en kg de CO₂ eq) associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collage, ACS) en utilisant la technologie pulsée par ultrasons (Procédé A) et une technologie d'extraction traditionnelle (Procédé B), répartis en différentes phases.

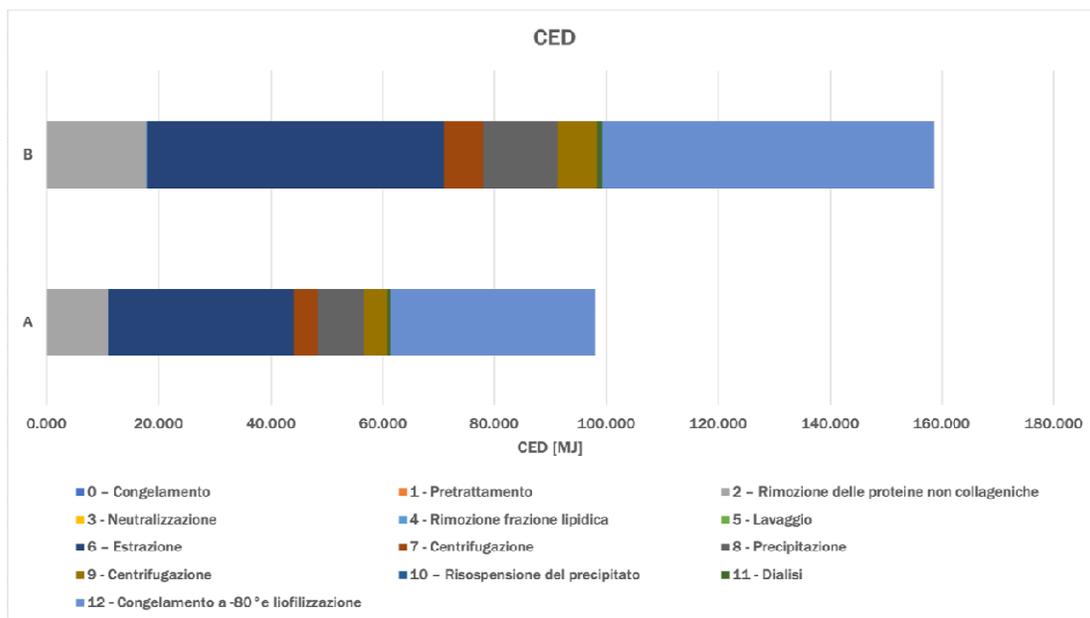


Figure 13. Comparaison des impacts en termes de CED (en MJ) associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) en utilisant la technologie pulsée par ultrasons (Procédé A) et une technologie d'extraction traditionnelle (Procédé B), répartis en différentes phases.

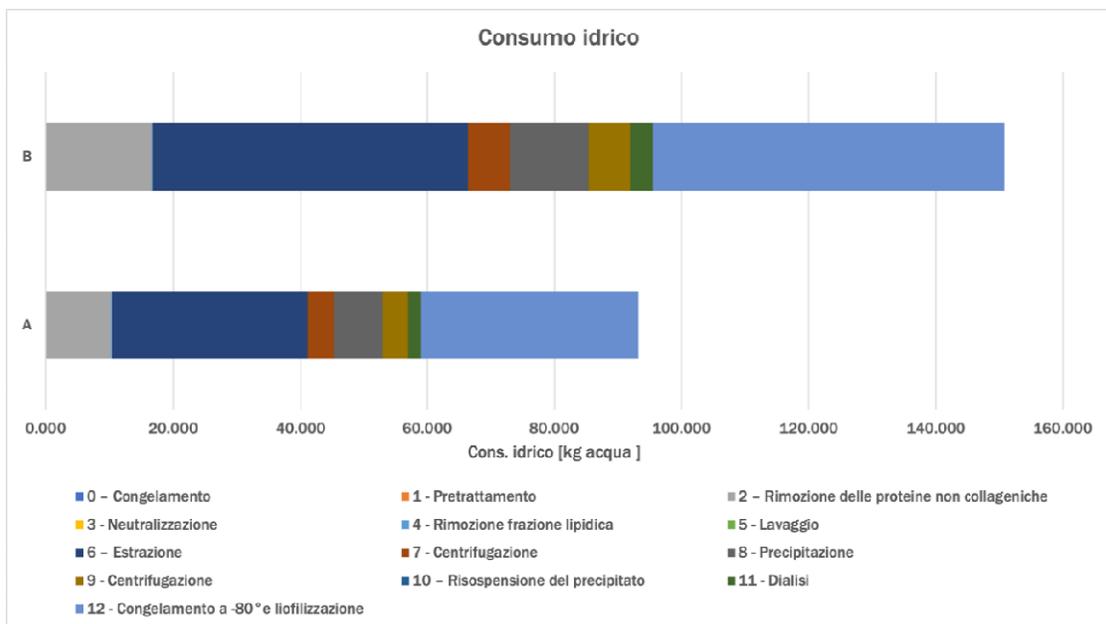


Figure 14. Comparaison des impacts en termes de consommation d'eau (en kg d'eau) associés à l'extraction d'un gramme de collagène soluble dans l'acide (Acid Soluble Collagen, ACS) en utilisant la technologie pulsée par ultrasons (Procédé A) et une technologie d'extraction traditionnelle (Procédé B), répartis en différentes phases.

Diagrammes en arborescence ci-dessous pour les deux processus A et B et pour les trois indicateurs d'impact (figures 15-20), illustrent comment la principale cause des impacts élevés associés à ces deux phases est imputable à la consommation électrique élevée requise pour l'alimentation des machines utilisées.

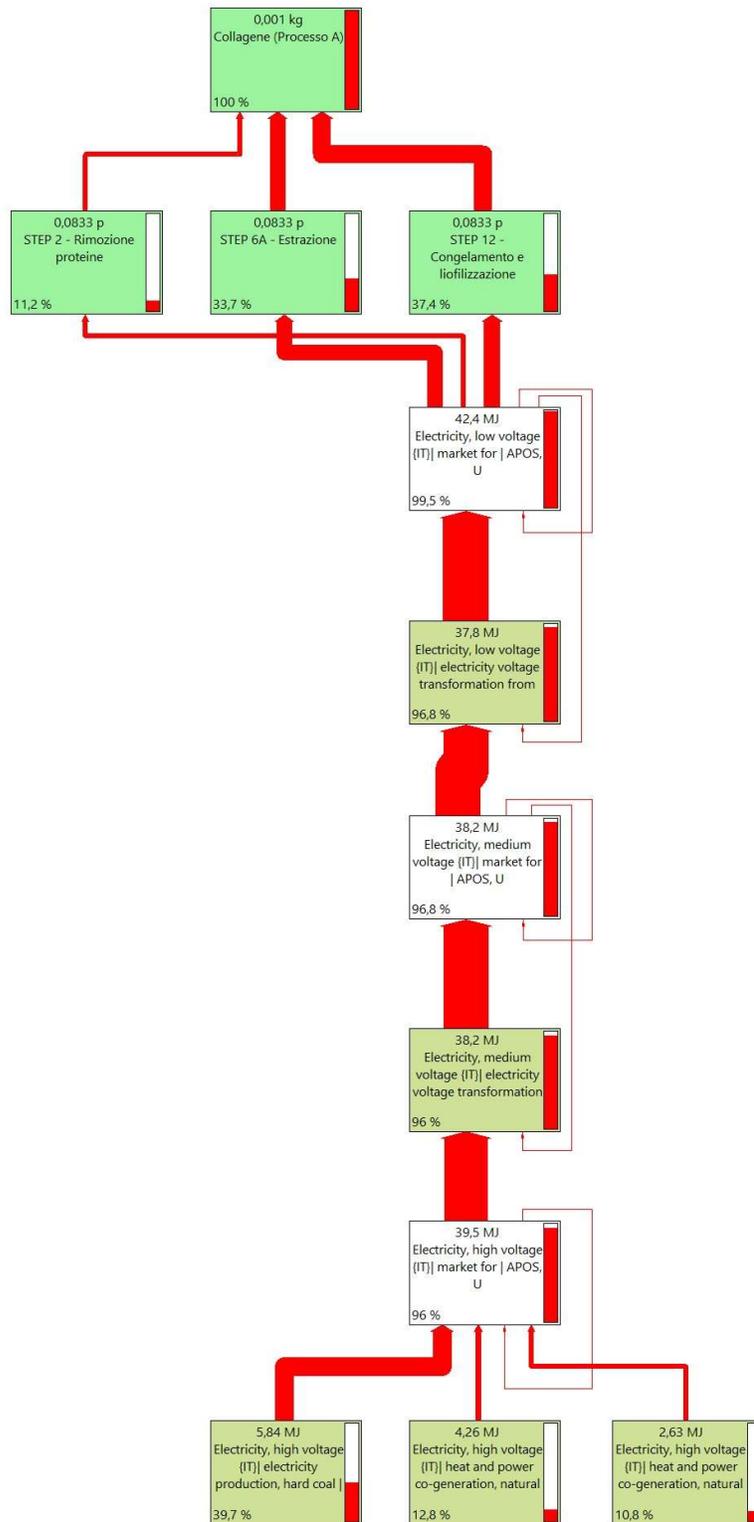


Figure 15. Arbre PRP - Procédé A.

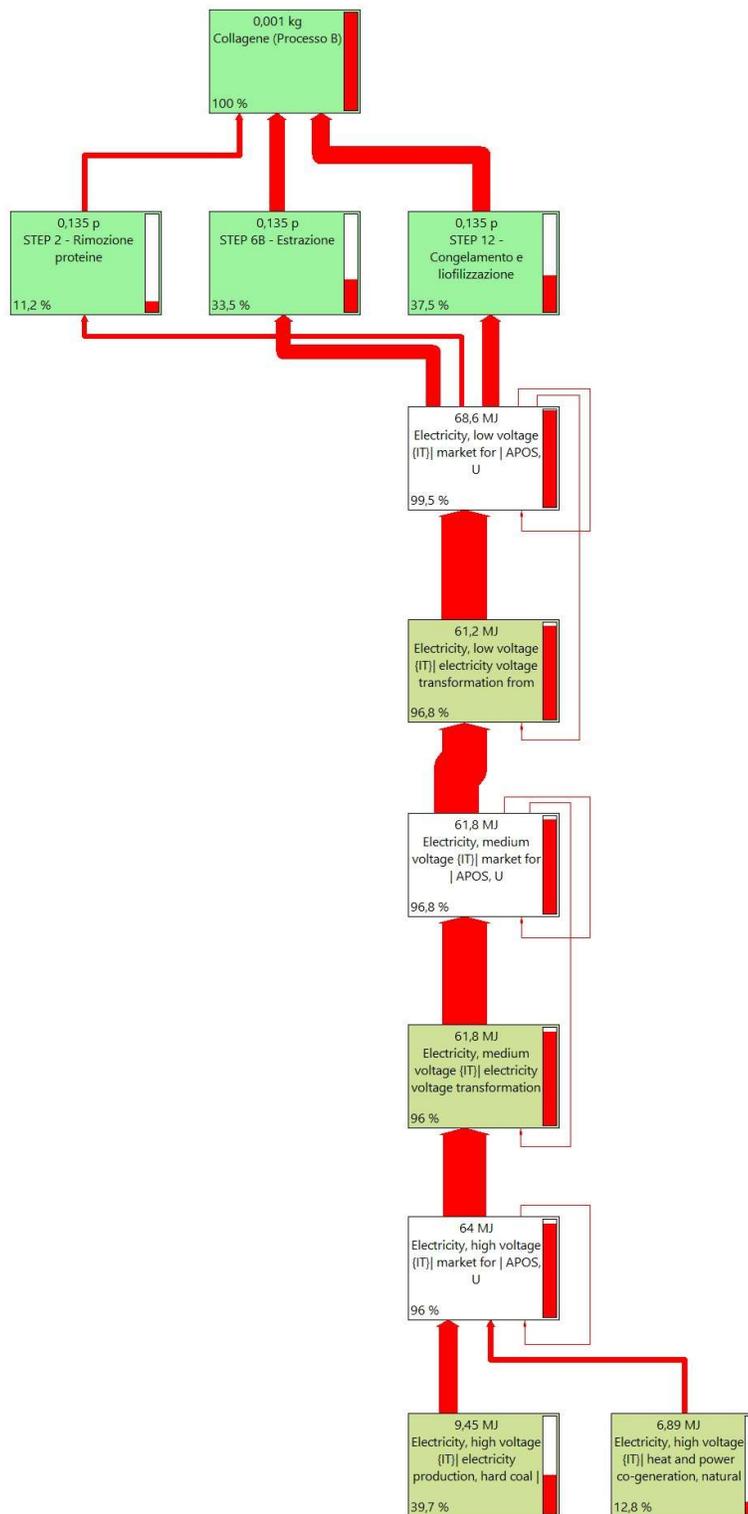


Figure 16. Arbre PRP - Procédé B.

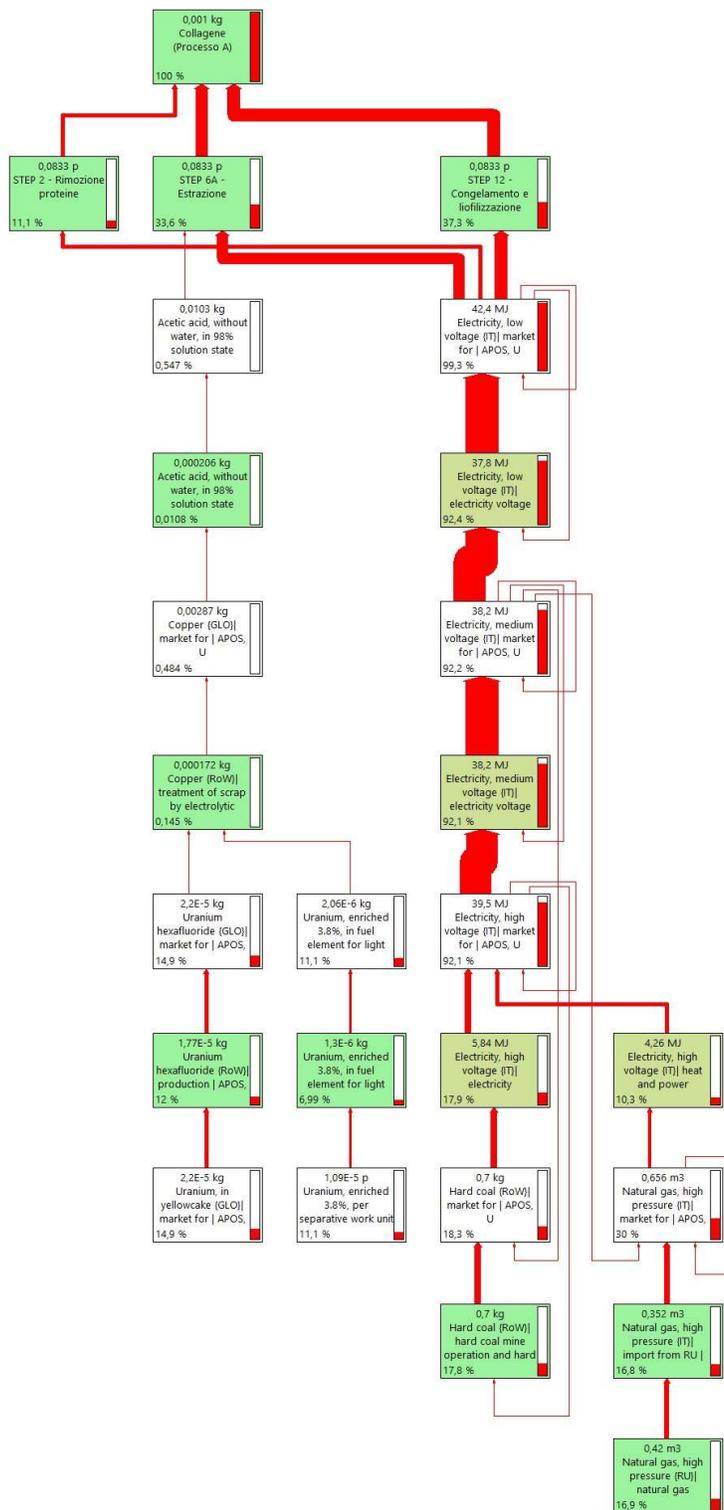


Figure 17. Arbre CED - Procédé A.

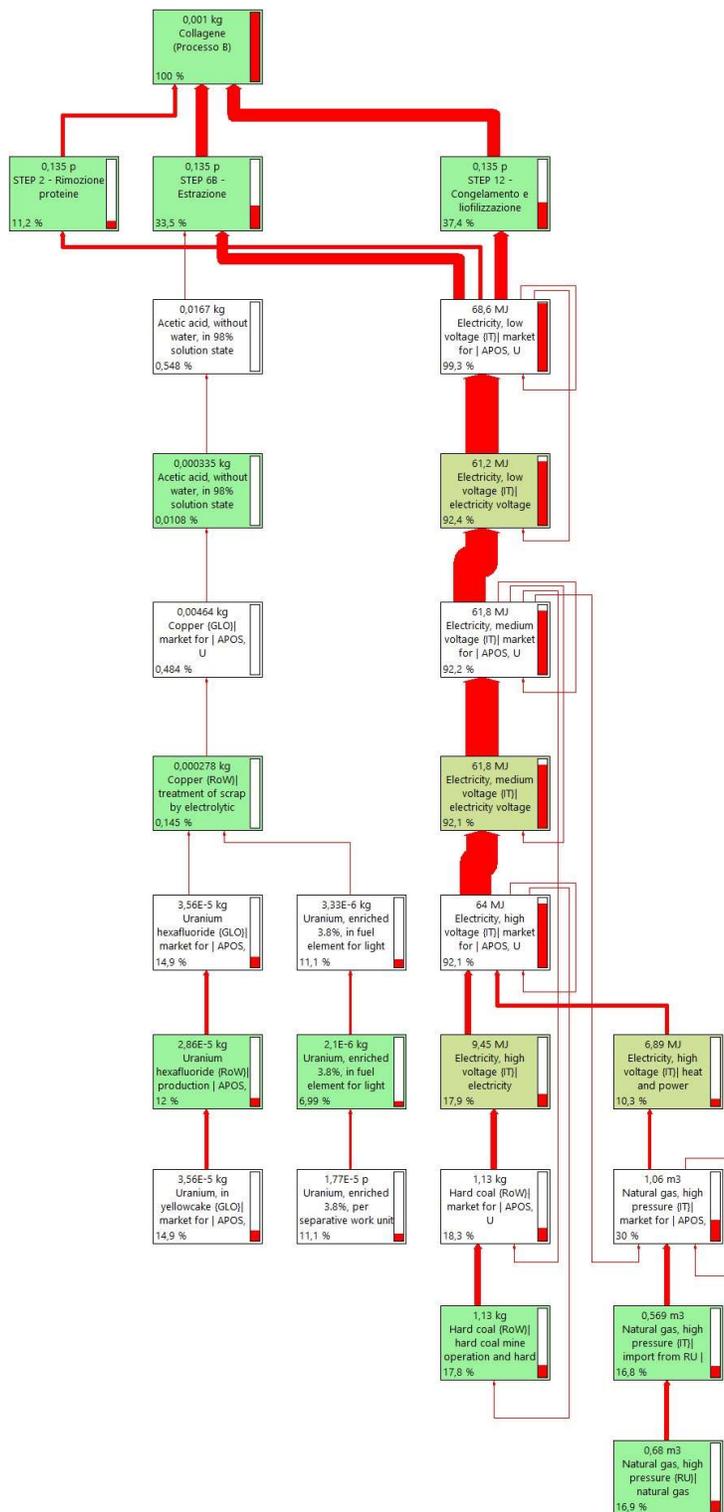


Figure 18. Arbre CED - Procédé B.

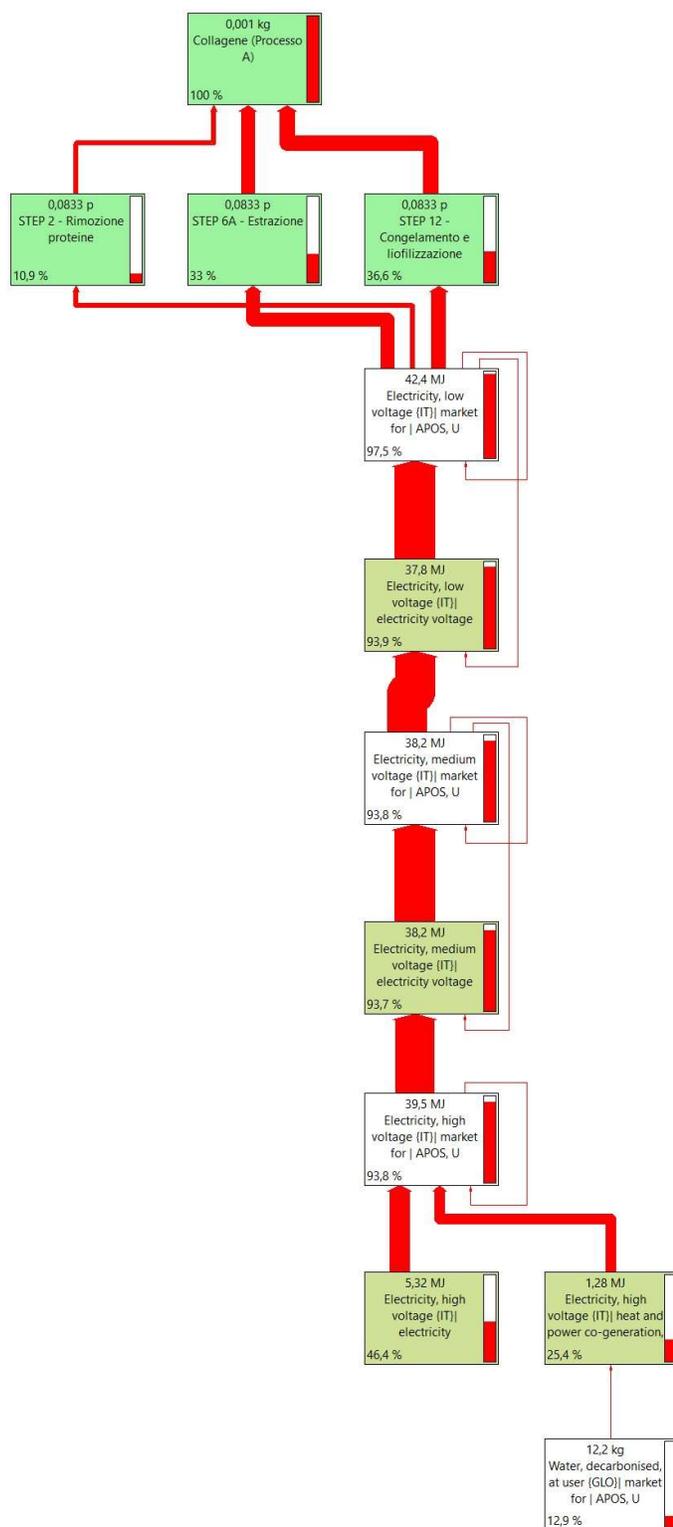


Figura . Arbre consommation d'eau - Procédé A.

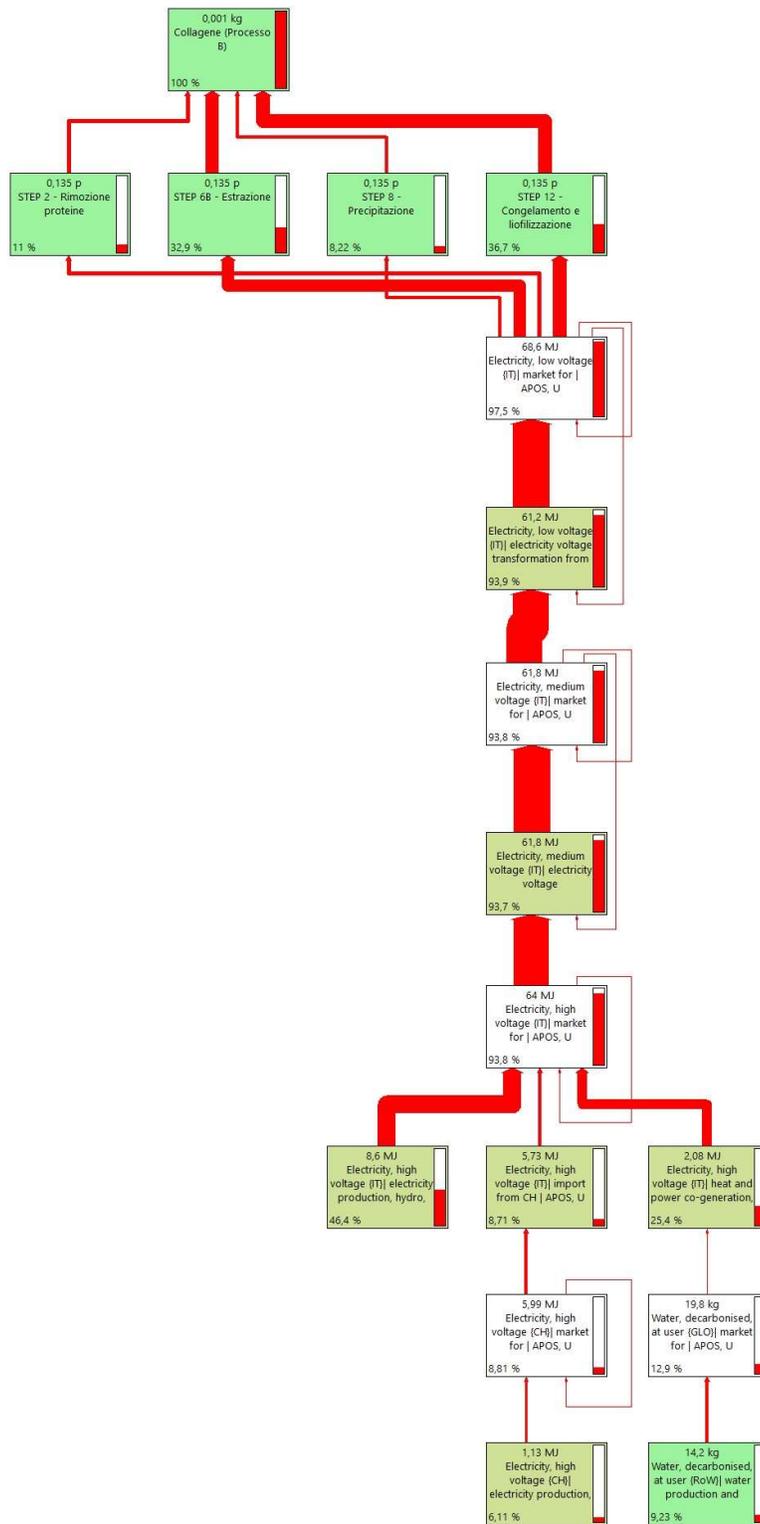


Figure 20. Arbre consommation d'eau - Procédé B.

Conclusions

L'étude expérimentale, menée dans le but d'évaluer l'utilisation de procédés innovants d'extraction de molécules bioactives à haute valeur ajoutée à partir de déchets de la pêche, a démontré que la technologie innovante d'extraction pulsée par ultrasons permet une production de collagène 1.6 fois supérieure à celle obtenue avec le procédé d'extraction traditionnel à égalité de peau de céphale traitée : 6 mg de collagène extrait pour 2,5 g de peau traitée dans le processus innovant contre 3,7 mg de collagène extrait dans le processus traditionnel.

L'application de la méthodologie ACV a permis d'évaluer les impacts environnementaux potentiels du processus et d'évaluer également la durabilité environnementale de cette technologie innovante.

La comparaison des impacts entre les deux différents processus analysés (extraction par ultrasons et extraction traditionnelle) a montré que la méthodologie à ultrasons permet de réduire les impacts d'environ 38% pour les trois catégories d'impact considérées (impact sur le changement climatique, consommation de ressources énergétiques, consommation d'eau) à quantité égale de collagène produit. Ceci est dû au fait que la technologie pulsée à ultrasons présente un rendement significativement plus élevé, bien qu'il contribue à une augmentation des impacts en termes absolus (i.e. à parité de peau traitée en input) d'un peu moins de 1% sur le total.

Les phases du cycle de vie du processus d'extraction du collagène les plus impactantes, pour les deux processus, sont celles de l'extraction et de la congélation à -80 µ et de la lyophilisation. La principale cause des impacts élevés associés à ces deux phases est imputable à la consommation électrique élevée requise pour l'alimentation des machines utilisées.

La limitation majeure actuelle de cette étude est liée au fait que le processus analysé est mis en œuvre à l'échelle de laboratoire. La mise en œuvre à l'échelle du laboratoire n'est pas optimisée, car la plupart des équipements utilisés ne sont pas exploités au maximum de leur capacité. Par conséquent, un grand nombre des consommations d'électricité déclarées (qui sont plus responsables des impacts environnementaux du processus) pourraient potentiellement être exploitées pour obtenir une plus grande quantité de collagène, réduisant ainsi de manière significative les impacts par unité fonctionnelle (par gramme de collagène extrait).

Enfin, dans le but d'obtenir un véritable produit final, il sera important d'évaluer les aspects suivants à l'avenir :

- Les modifications induites par les différentes techniques extractives sur la qualité finale du produit obtenu, par exemple le degré d'hydrolyse du collagène ;
- Le degré de pureté et les propriétés technologiques du collagène ;
- La reproductibilité des lots de collagène marin extrait : nécessité des analyses garantissant l'identité/(sous-type) du collagène, la masse moléculaire et la présence de produits d'hydrolyse.