Etude des transferts de petites molécules au travers des films comestibles encapsulant des substances actives (arômes)

Alicia Hambleton Hambleton Mercado

▶ **To cite this version:**

Alicia Hambleton Hambleton Mercado. Etude des transferts de petites molécules au travers des films comestibles encapsulant des substances actives (arômes). Alimentation et Nutrition. Université de Bourgogne, 2010. Français. NNT : 2010DIJOS019 . tel-00575633

HAL Id: tel-00575633

https://theses.hal.science/tel-00575633

Submitted on 10 Mar 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Equipe EMMA EA 581-IUVV Institut Jules Guyot

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Bourgogne

Discipline : Science des Aliments

par

Alicia HAMBLETON

Présentée et soutenue publiquement de 16 Septembre 2010 à Dijon

Etude des transferts des petites molécules au travers des films comestibles encapsulant des substances actives (arôme)

Directeur de Thèse :

Professeur Frédéric DEBEAUFORT.

JURY:

Madame Violette DUCRUET	INRA-Massy	Rapporteur
Monsieur Stéphane DESOBRY	ENSAIA – INPL. Nancy	Rapporteur
Monsieur Jesùs Alberto QUEZADA-GALLO	Univ. Ibero-Americana	Examinateur
Madame Andrée VOILLEY	AGROSUP Dijon	Examinateur
Monsieur David CHASSAGNE	Univ. Bourgogne	Président
Monsieur Frédéric DEBEAUFORT	Univ. Bourgogne	Directeur de Thèse

Résumé

Ce travail de thèse avait pour objectif de mieux comprendre l'influence de l'incorporation d'une molécule active (arôme) et/ou de particules lipides sur la structure et les propriétés physico-chimiques de matrices filmogènes à base d'iota-carraghènane ou d'alginate de sodium. La microstructure, la granulométrie de l'émulsion filmogène, les caractéristiques thermiques et mécaniques des films ont été étudiées en présence ou non de n-hexanal. Les propriétés de transfert de ces films ont été appréhendées grâce aux mesures de perméabilité à l'oxygène, à la vapeur d'eau et à l'eau liquide, au n-hexanal et au D limonène à l'état vapeur et liquide et à 6 autres composés d'aromes (esters d'éthyle, cétone et alcools).
L'ajout de n-hexanal dans la matrice d'iota-carraghènane modifie le processus de gélification ce qui induit la formation d'une microstructure plus homogène mais ayant une résistance mécanique moindre, augmente la perméabilité à la vapeur d'eau mais diminue légèrement celle de l'hexanal. Quant aux films d'alginate, ils sont peu sensibles à la présence de n-hexanal. Cette différence de comportement est attribuée aux interactions entre la fonction aldéhyde de l'arôme et les groupes OH et sulfate du carraghènane qui perturbent la formation des hélices lors de la gélification. L'organisation du gel d'alginate en boite à œuf lui confère une plus grande stabilité. L'ajout de lipide permet de diminuer la sorption et la perméabilité à la vapeur d'eau des matrices filmogène. En présence de la matière grasse, l'hexanal se comporte comme un émulsifiant et semble être localisé en surface des globules en augmentant la finesse et la stabilité des émulsions filmogènes. Les paramètres cinétique (diffusivité) et thermodynamique (sorption) ont été mesurés pour mieux caractériser les mécanismes impliqués dans le transfert Enfin, le paradoxe de Schroeder, correspondant à la différence de flux selon l'état physique de la molécule diffusante, a été observé et expliqué pour l'eau dans les films d'alginate et pour l'hexanal dans les films de carraghènanes.

Abstract

The aim of this work was a better understanding of the effect of the aroma and/or lipid particles incorporation on the structure and physico-chemical properties of film-forming matrices based on iota-carrageenan or sodium alginate. Microstructure, emulsion granulometry, thermal and mechanical properties were assessed as a function of n-hexanal and/or lipid presence. Barrier efficiencies to water, n-hexanal and D-limonene at liquid and vapour states, and to 6 other aroma vapours (ethyl esters, alcohols, keton) have been measured.
When n-hexanal is added in the carrageenan matrix, it modifies the gelation process which induces a more homogeneous structure but a lower mechanical resistance, a higher permeability to water and n-hexanal but slightly decreases that to oxygen. On the contrary, the aroma compound introduction does not affect so much the alginate film characteristics. This behaviour difference is due to the interaction between aldehyde group of the aroma compound and OH and sulphate groups of the carrageenans which disturbs the helix formation during gelation. The organisation of the alginate network as an "egg box" makes it more stable which explain it lower sensitivity to the aroma addition. When lipids are added, both sorption and water vapour permeability and the mechanical properties are reduced. The n-hexanal acts as an emulsifier by improving the emulsion droplet size and preventing the aggregation. Indeed, the aroma compound seems to be localised at the lipid particle surface. Kinetic (diffusivity) and thermodynamic (sorption coefficient) were measured or estimated to better characterise the aroma and moisture transfers through the hydrocolloid based films. Finally, discrepancy between liquid and vapour transfer rate measured for the same activity gradient (= Schroeder paradox), was observed for water through alginate films and for n-hexanal through carrageenan films. This was attributed to swelling and partial solubilisation of film components in the diffusing substance.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire Eau-Macromolécules-Molécules Actives (EMMA) de l'Université de Bourgogne. Ce doctorat a été possible grâce au soutien du Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologìa (CONACyT) du Mexique.

Tout d'abord je tiens à remercier Monsieur Philippe CAYOT, directeur du laboratoire EMMA, de m'avoir accueillie au sein de l'équipe.

De même, je remercie Madame Andrée VOILLEY, Professeur à Agrosup Dijon, de m'avoir acceptée dans son équipe (IMSAPS) en tant que directrice puis par la suite pour tous ses conseils, son expérience et surtout son enthousiasme qui on fait de cet apprentissage scientifique un apprentissage de vie.

J'adresse mes remerciements à Monsieur Frédéric DEBEAUFORT, Professeur à l'IUT, qui a encadré cette thèse, pour sa patience, sa bonne humeur, son sens de la responsabilité et son soutien permanent qui on fait de ce doctorat une expérience très enrichissante et qui a rendu possible la fin heureuse de mes études en France.

Je remercie, Madame Violette DUCRUET et Monsieur Stéphane DESOBRY pour avoir accepté de jugez ce travail en tant que rapporteurs.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur Jesùs Alberto QUEZADA-GALLO, Professeur à l'Universidad Iberoamericana du Mexique pour m'avoir initié et m'avoir accompagné du début à la fin dans cette aventure et qu'il sache l'honneur qu'il me fait d'examiner ce travail de thèse.

Je suis également très reconnaissant de Monsieur David CHASSAGNE, Professeur à l'Institut Universitaire de la Vigne et du Vin pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Mes remerciements s'adresse également à Mesdames Gaëlle ROUDAUT, Dominique CHAMPION, Bernadette ROLLIN qui ont collaboré aux études concernant l'analyse enthalpique différentielle et la mesure des isotherme d'eau et à Messieurs Thomas KARBOWIAK et Laurent BENEY qui m'ont aidé pour l'analyse de la Spectroscopie infrarouge.

Mes remerciements vont aussi à mes collègues thésardes, certains déjà docteurs et d'autres sur la bonne voie de le devenir et plus spécialement mes collègues espagnoles Ma.José, Nuria et Ruth pour leur amitiée, pour la bonne ambiance de travail et pour les bons moments partagées.

Finalmente pero no menos importante, quiero agradecer a mi familia : a mis papas, mis hermanas (Magos y Pau), mi hermano (Kike), mis sobrinas (mis princesas), mis sobrinos (mis principitos) y mis amigos que desde México han sido pacientes y me han dado su apoyo todos estos años, ainsi que ma petite famille « française » Claude, Elisabeth, Joe pour m'avoir accueilli avec un sourire et les bras grands ouvertes dés le première jour, et spécialement a Vince, mon ange, avec qui j'ai partagé les moments le plus importants ces dernières années. A tous, un très grand merci de tout mon cœur.

GRACIAS

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS I
RESUME – ABSTRACT II
SOMMAIRE
LISTE DES FIGURES VI
LISTE DES TABLEAUX X
LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS XII
LISTE DES ANNEXES XII

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE. 5
1.1 COMPOSES D'AROME 6
1.2. MICROENCAPSULATION DES COMPOSES D'AROME. 7
1.3 LES EMBALLAGES COMESTIBLES 8
1.4 COMPOSITION DES FILMS ET EMBALLAGES COMESTIBLES 9
1.4.1 Hydrocolloïdes. *9*
1.4.2 Les lipides. *13*
1.4.3 Autres composants. *13*
1.5 AGENTS FILMOGENES : IOTA-CARRAGHENANE ET ALGINATE DE SODIUM. 14
1.5.1 Iota-carraghènanes. *14*
1.5.2 Alginate de sodium. *16*
1.6. IOTA-CARRAGHENANE ET ALGINATE DE SODIUM COMME SUPPORT D'ENCAPSULATION 18
1.7. LES TRANSFERTS AU TRAVERS DES FILMS COMESTIBLES. 18
1.7.1 Coefficient de diffusion. *19*
1.7.2 Coefficient de sorption. *19*
1.7.3 Coefficient de perméabilité. *20*
1.8. LES PARAMETRES QUI AFFECTENT LES TRANSFERTS. 21
1.8.1 Nature et structure des films comestibles. *22*
1.8.2 Les propriétés de la molécule diffusant. *22*
1.8.3 Les paramètres externes aux films *23*

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES. 24
2.1 MATERIAL 25
2.1.1 Hydrocolloids *25*
2.1.2 Lipids and emulsifier *25*
2.1.3 Plasticizer *25*
2.1.4 Aroma compounds *25*
2.1.5 Other components *26*
2.2 METHODS 27
2.2.1 Edible films preparation *27*
2.2.2 Characterisation of edible films *28*
- *Film microstructure* *28*
- *Emulsions structure.* *28*
- *Mechanical properties* *29*
- *Thermal properties* *29*

2.2.3 Transfer measurements *30*
- *Moisture sorption isotherms* *30*
- *Water vapour transfer rate (WVTR)* *30*
- *Water liquid transfer rate (WLTR) and contact angle* *31*

- *Aroma Vapor sorption measurements. 33*
- *Aroma compound diffusion measurements by FTIR-ATR. 34*
- *Determination of the apparent diffusion coefficient from aroma vapour sorption kinetics. 34*
- *Diffusivity measured by the multilayer cell 35*
- *Aroma compound vapor permeability. 36*
- *Aroma compound absorption: liquid permeability. 38*
- *Oxygen Permeability (OP) 38*

2.2.4. Identification of physicochemical interaction by FTIR 38
2.2.5. Statistical analysis. 39

CHAPITRE 3 : EFFET DE L'INCORPORATION DU COMPOSE D'AROME ET/OU DU LIPIDE SUR LES PROPRIETES PHYSIQUES DES FILMS A BASE D'HYDROCOLLOIDES 40
3.1 THERMAL PROPERTIES (DSC) 41
3.2 FILM MICROSTRUCTURE 44
3.3 EMULSION STRUCTURE 52
3.4 MECHANICAL PROPERTIES. 53
3.5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 3 55

CHAPITRE 4 : EFFET DU NIVEAU D'HYDRATATION SUR LA STRUCTURE ET LES PROPRIETES DE TRANSFERT DE FILMS A BASE D'HYDROCOLLOÏDES. 57
4.1 SORPTION ISOTHERMS OF FILMS 58
4.2 MECHANICAL PROPERTIES AND RELATIVE HUMIDITY OF FILMS. 61
4.3 INFLUENCE OF WATER ON THERMAL PROPERTIES OF FILMS. 62
4.4 MOISTURE TRANSFER THROUGH EDIBLE FILMS. 64
4.5 WATER LIQUID TRANSFER RATE (WLTR) 68
4.6. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 4 70

CHAPITRE 5 : EFFET DE L'INCORPORATION DU COMPOSE D'AROME ET/OU DU LIPIDE SUR LES PROPRIETES DE TRANSFERT DE FILMS A BASE D'HYDROCOLLOÏDES. 71
5.1 OXYGEN PERMEABILITY. 72
5.2 SURFACE HYDROPHOBICITY AND WETTABILITY. 73
5.3 AROMA COMPOUND VAPOR SORPTION. 80
5.4 DIFFUSIVITY OF LIQUID AROMA COMPOUNDS IN FILMS. 82
5.5 DIFFUSIVITY MEASURE FROM MULTILAYER FILM CELL. 84
5.6 AROMA COMPOUND VAPOR PERMEABILITY 85
5.7 LIQUID PERMEABILITY ASSESS FROM PURE AROMA ABSORPTION KINETICS 91
5.8. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 5 93

CHAPITRE 6 : DISCUSSION GENERALE 95
6.1 IDENTIFICATION DES INTERACTIONS ENTRE L'AROME ET LES CONSTITUANTS DU SYSTEME 96
6.2 ROLE DES LIPIDES SUR LES INTERACTIONS ENTRE LE POLYMERE ET L'AROME 101
6.3 ROLE DE L'EAU SUR LES INTERACTIONS 102
6.4 INTERACTIONS ET SORPTION-DIFFUSION-PERMEABILITE 104
6.5 IMPACT DES INTERACTIONS SUR LA LIBERATION DE L'HEXANAL A PARTIR DES FILMS 106
6.6 ROLE DES INTERACTIONS SUR LA PROTECTION DES MOLECULES ACTIVES INTRODUITES DANS DES FILMS OU ENROBAGES 107

CONCLUSION ET PERSPECTIVES 110

BIBLIOGRAPHIE 113

ANNEXES (PUBLICATIONS) 123

Liste des figures

Figure 1.1. Modèle d'encapsulation 7

Figure 1.2. Films émulsionnés comme réseau polymérique d'encapsulation 8

Figure 1.3. Unité dimérique d'iota-carraghènane 15

Figure 1.4. Modèle de gélification des iota-carraghènanes 16

Figure 1.5. Structure de base des alginates. G = acide guluronique; M = acide mannuronique. 17

Figure 1.6. Modèle du mécanisme de la "boîte à œufs 17

Figure 1.7. Mécanisme de la perméation au travers du film 18

Figure 1.8. Flux de diffusion autour d'une fine membrane polymérique 20

Figure 2.1. Edible Films preparation 27

Figure 2.2. WVTR permeation cell 31

Figure 2.3. Micro-atmosphere technique model 33

Figure 2.4. FTIR-ATR reflection technique 34

Figure 2.5. Three layer diffusion cell 36

Figure 2.6. Aroma compound permeation cell 37

Figure 3.1. Heating thermogram of iota-carrageenan-based films without fat matter, with (wa:wof) and without aroma (woa:wof) compound, obtained after one heating cycle. 41

Figure 3.2. Heating thermogram of iota-carrageenan-based films with fat matter, with (wa:wf) and without aroma (woa:wf) compound, obtained after one heating cycle 42

Figure 3.3. Heating thermogram of sodium alginate-based films without fat matter, with (wa:wof) and without aroma (woa:wof) compound, obtained after one heating cycle 43

Figure 3.4. Heating thermogram of sodium alginate-based films with fat matter, with (wa:wf) and without aroma (woa:wf) compound, obtained after one heating cycle. 43

Figure 3.5. Micrograph of iota-carrageenan-based film without aroma without fat (woa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section. 44

Figure 3.6. Micrograph of iota-carrageenan-based film without aroma with fat (woa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section. 45

Figure 3.7. Micrograph of iota-carrageenan-based film with aroma without fat (wa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section 46

Figure 3.8 Micrograph of iota-carrageenan-based film with aroma with fat (wa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section. 47

Figure 3.9. Micrograph of sodium alginate-based film without aroma compound without fat: (woa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section 48

Figure 3.10. Micrograph of sodium alginate-based film without aroma compound with fat: (woa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section 49

Figure 3.11. Micrograph of sodium alginate-based film with aroma compound without fat: (wa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section. 50

Figure 3.12 Micrograph of sodium alginate-based film with aroma compound with fat: (wa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section 51

Figure 4.1. Sorption isotherms curves of iota-carrageenan-based films. Experimental values and GAB fitted model (lines) 59

Figure 4.2. Sorption isotherms curves of sodium alginate-based films. Experimental values and GAB fitted model (lines). 60

Figure 4.3. Iota-carrageenan-based films at three different relative humidities (0%, 43%, 84%) thermograms. 62

Figure 4.4 Sodium alginate-based films at three different relative humidities (0%, 43%, 84%) thermograms. 63

Figure 5.1. Kinetics of water droplet absorption ($\mu L/mm^2$) by the iota-carrageenan-based film surface at air-side (a) or support-side (s). 75

Figure 5.2. Contact angle images of water droplets on the air-side and support-side of iota-carrageenan films. 77

Figure 5.3. (a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films without aroma compound without fat. 78

Figure 5.4. (a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films without aroma compound with fat. 79

Figure 5.5. (a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films with aroma compound without fat. 79

Figure 5.6. (a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films with aroma compound with fat. 80

Figure 5.7. Sorption coefficient (S) ($g.m^{-3}.Pa^{-1}$) of n-hexanal and D-limonene aroma compounds in iota-carrageenan-based films, without fat (wof) and with fat (wf). 81

Figure 5.8. Sorption coefficient (S) ($g.m^{-3}.Pa^{-1}$) of n-hexanal and D-limonene aroma compounds in sodium alginate-based films, with out fat (wof) and with fat (wf). 81

Figure 6.1. Spectre infra-rouge du composé d'arôme (n-hexanal) et des films émulsionnés avec et sans arôme 97

Figure 6.2. Spectre infra-rouge du composé d'arôme (n-hexanal) et des films de carraghènane sans lipide contenant ou non l'arôme. 98

Figure 6.3. Représentation schématique des interactions supposées entre l'hexanal (groupes fonctionnels CH_2OH, OH et sulfate). 100

Figure 6.4 : Perméabilité à l'eau liquide et vapeur des films de carraghènane et d'alginate de sodium (ΔHR = 30-100%, 25°C) et comportement d'une goutte d'eau déposée sur la surface des films. 104

Figure 6.5 : Ordre de grandeur des coefficients de diffusion des composés d'arôme dans différents milieux gazeux, liquides ou solides 105

Figure 6.6. Rapport entre le log de la perméabilité d'esters d'éthyle et le contenu d'acide oléïque dans des films à base de caséïnate de sodium (Fabra et al., 2008 105

Figure 6.7. Coefficient de diffusion (Dapp) du n-hexanal dans des films de protéines de lactosérum contenant différents concentrations de cire d'abeille 106

Figure 6.8 : cinétique de libération en phase vapeur du n-hexanal à partir de film de protéines de soja sans arome et sans lipide (control) et dans des films de protéines de soja contenant 50% (de la matière sèche) d'un mélange de lipide ayant des proportions variables de cire d'abeille (BW) et d'acide oléique (OA) (d'après Monedero et al. 2010 – Publication 9 107

Figure 6.9 : cinétique de libération du D-limonène estimée à partir de la concentration retenue (C_t/C_0) dans les enrobages de lipides (GBS), ou dans les films à base de gluten de blé ou de iota-carraghènane contenant des globules de GBS (d'après Marcuzzo et al., 2010, publication) 108

Figure 6.10 : Concentration en phase vapeur de la carvone issue de l'oxydation du D-Limonène (d'après Marcuzzo et al., 2010) 108

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Applications alimentaires des films à base des hydrocolloïdes 11

Tableau 2.1. Physicochemical characteristics of aroma compounds 26

Tableau 2.2. Type of iota-carrageenan-based films and sodium alginate-based films studied 28

Tableau 3.1. Mean diameters (d 3,2) of fat particules in iota-carrageenan emulsified films with and without aroma compound 52

Tableau 3.2. Mean diameters (d 3,2) of fat particules in sodium alginate emulsified films with and without aroma compound 53

Tableau 3.3. Elastic modulus (EM), tensile strength (TS) and elongation (E) of iota-carrageenan-based (I) and sodium alginate-based (A) films 54

Tableau 4.1 Water content (We, dry basis) for iota-carrageenan-based films and sodium alginate-based films at different Aw 58

Tableau 4.2. Elastic modulus (EM), tensile strength (TS) and elongation (E) of iota-carrageenan-based control films (I) and sodium alginate-based control films (A), at three different relative humidities 61

Tableau 4.3. Water vapour permeability (WVP) of different types of iota-carrageenan-based films at 25 and 35 °C and at three humidity gradients (10^{-10} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$). 64

Tableau 4.4 Water vapor permeability (WVP) of sodium alginate-based films at 25°C and at three humidity gradients (10^{-10} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$). 66

Tableau 4.5. Water vapour transfer rate (WVTR) of all types of iota-carrageenan-based films and sodium alginate-based films at three humidity gradients (10^{-2} $g.m^{-2}.s^{-1}$). 67

Tableau 4.6. Liquid water transfer rate (WLTR) (10^{-2} $g.m^{-2}.s^{-1}$) and swelling index (%) of iota-carrageenan-based films 68

Tableau 5.1. Oxygen Permeability of iota-carrageenan-based edible films (10^{-11} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) 72

Tableau 5.2. Oxygen Permeability of sodium alginate-based edible films (10^{-10} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) 73

Tableau 5.3. Initial contact angle at time 0s ($\theta_{t=0}$) and at 40s ($\theta_{t=40}$), and absorption flux (Fabs) of water on iota-carrageenan-based film surface at 25°C. 74

Tableau 5.4. Contact angle at time 0s and estimation of the swelling index of sodium alginate-based films. 76

Tableau 5.5. n-hexanal and D-limonene diffusion coefficients (Dapp, $m^2.s^{-1}$) determined experimentally and from sorption kinetics, in iota-carrageenan (I) and sodium alginate-based (A) films without fat (wof) and with fat (wf). 83

Tableau 5.6. Diffusion coefficient and time lag of n-hexanal in iota-carrageenan and sodium alginate-based films at 43% RH. 84

Tableau 5.7. n-hexanal and d-limonene permeability ($g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) determined experimentally, in iota-carrageenan (I) and sodium alginate-based (A) films 85

Tableau 5.8. n-hexanal and D-limonene permeability ($g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) estimated from diffusion coefficient (experimental Dapp)and from sorption kinetics, in iota-carrageenan (I) and sodium alginate-based (A) films 86

Tableau 5.9. Aroma compounds vapour permeability (10^{-10} $g.m^{-1}.s-^{1}.Pa^{-1}$) of different iota-carrageenan-based films. 87

Tableau 5.10. Aroma compounds vapour permeability (10^{-10} $g.m^{-1}.s-^{1}.Pa^{-1}$) of different sodium alginate-based films 89

Tableau 5.11. n-Hexanal and D-limonene liquid absorption flux (Fabs) ($10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1}$)measured on the support side surface of iota-carrageenan-based films and vapour permeability flux (Fperm) ($10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1}$ 91

Tableau 5.12. n-Hexanal andD-limonene liquid absorption flux (Fabs) ($10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1}$)measured on both sides surface of sodium alginate-based films. 93

Tableau 6.1. Nombres d'onde (cm^{-1}) attribués à des liaisons dans les différents films de carraghènane analysés en spectrométrie infra-rouge à transformée de Fourier. 99

Tableau 6.2 : Teneur en eau de la couche monomoléculaire calculée à partir de l'équation GAB appliquée aux isothermes de sorption d'eau des films. 102

LISTE DES FIGURES 1
LISTE DES TABLEAUX 5

Liste des publications et communications

(données en annexes)

Publications relatives au travail de thèse :

1. Hambleton A., Debeaufort F., Beney L., Karbowiak T. & Voilley A (2008). Protection of active aroma compound against moisture and oxygen by encapsulation in biopolymeric emulsion-based edible films. Biomacromolecules. (9), 1058-1063.

2. Hambleton A., Fabra M.J., Debeaufort F., Dury-Brun C., Voilley A (2009). Interface and aroma barrier properties of iota-carrageenan emulsion-based films used for encapsulation of food active compounds. Journal of Food Engineering. (93), 80-88.

3. Hambleton A, Debeaufort F, Bonnotte A & Voilley A (2009). Influence of alginate emulsion-based films structure on its barrier properties and on its protection of microencapsulated aroma compound. Food Hydrocolloids. 23, 2116-2124.

4. Hambleton A, Debeaufort F & Voilley A (2010). Transport parameters for aroma compounds through i-carrageenan and sodium alginate-based edible films. Submitted to Food Hydrocolloids.

5. Hambleton A, Perpiñan-Saiz N, Fabra MJ, Debeaufort F & Voilley A (2010). The Schroeder paradox or how the state of water affects the moisture transfer. Submitted to Food Chemistry.

Publications issues des travaux en collaboration :

6. Fabra MJ, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2008). Aroma barrier properties of sodium caseinate-based films. Biomacromolecules. 1406-1410.

7. Fabra MJ, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2009). Influence of interactions on water and aroma permeabilities of i-carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavour encapsulation. Carbohydrate polymers. 76, 325-332.

8. Kokoszka S, Debeaufort F, Hambleton A, Lenart A & Voilley A (2010). Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based films. Innovative food science and emerging technologies. 11(3), 503-510.

9. Monedero FM, **Hambleton** A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2010). Study of the retention and release of n-hexanal incorporated into soy protein isolate-lipid composite films. Journal of food engineering. 100, 133-138.

10. Marcuzzo E, Debeaufort F, Sensidoni A, Tat L, Beney L, **Hambleton** A & Voilley A (2010). Influence of encapsulation of D-limonene in biopolymeric emulsion-based edible films to prevent its oxidation. Submitted to Biomacromolecules.

11. Fabra MJ, **Hambleton** A, Debeaufort F, Talens P & Chiralt A (2010). Effect of ferulic acid and **α**-tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. Submitted to International dairy journal.

Communications à des congrès (dont présentations orales #) :

1. **Hambleton** A, Debeaufort F & Voilley A. (Poster) Protection of active aroma compound against moisture and oxygen by encapsulation in biopolymeric emulsion-based edible fims. 2nd International symposium on: Delivery of functionality in complex food systems physically-inspired approaches from nanoscale to microscale. Amherst, Massachusets, Etats Unis, Octobre 2007.

2. **Hambleton** A, Debeaufort F, Chambin O & Voilley A. (Poster) Water, oxygen and aroma barrier properties of i-carrageenan-emulsion-based films used for encapsulation of active compounds. 6th World meeting on pharmaceutics, bio-pharmaceutics and pharmaceutical technology. Barcelone, Espagne, Avril 2008.

3. **Hambleton** A, Fabra MJ, Debeaufort F & Voilley A. (Poster) Aroma barrier properties of i-carrageenan emulsion-based films used for encapsulation of active aroma compounds. 12th Weurman flavour research symposium. Interlaken, Suisse, Juillet 2008.

4. Fabra MJ, **Hambleton** A, Debeaufort F, Talens P, Chiralt A & Voilley A. (Poster) Aroma barrier properties of sodium caseinate and i-carrageenan edible films, interaction between aroma and edible films. 12th Weurman flavour research symposium. Interlaken, Suisse, Juillet 2008.

5. **#Hambleton** A, Debeaufort F & Voilley A. Propriétés barrières aux composés d'arôme des films émulsionnés à base d'iota-carraghénane encapsulant des substances actives. Forum de jeunes chercheurs. Dijon, France, Juin 2009.

6. **Hambleton** A, Debeaufort F & Voilley A. (Poster) Influence of moisture on aroma transfers through iota-carrageenan-based edible films. 3rd International symposium on: Delivery of functionality in complex food systems. Wageningen, Pays bas, Octobre 2009.

7. **Hambleton** A, Debeaufort F & Voilley A. (Poster) Influence of the state of water on the moisture transfer through edible films. 1st International meeting on material-bioproduct interactions (MATBIM). Paris, France, Mars 2010.

8. **Hambleton** A, Perpiñan-Saiz N, Debeaufort F & Voilley A. (Poster) The Schroeder paradox or how the state of water affects the moisture transfer. 6th Eurofood water Conference. Reims, France, Mars 2010.

9. **#**Debeaufort F, **Hambleton** A & Voilley A. Physico-chemical properties of edible films and coatings affected by moisture and/or flavour compound interactions. 6th Eurofood water Conference. Reims, France, Mars 2010.

10. **Hambleton** A, Debeaufort F & Voilley A. (Poster) Sorption, permeability and diffusion of n-hexanal through i-carrageenan based edible films. Food colloids: On the road from interfaces to consumers. Grenade, Espagne, Mars 2010

INTRODUCTION

Dans notre société développée, les consommateurs sont de mieux en mieux informés en matière de nutrition et de protection de l'environnement. Ils cherchent donc des produits qui respectent l'environnement et qui couvrent les besoins nutritionnels. Les produits alimentaires sont des sources de nutrition et ont pour but de satisfaire les besoins biologiques, mais c'est l'arôme et la saveur du produit qui orientera le consommateur vers son choix définitif. C'est pour cela que la conservation des produits alimentaires requiert le maintien de leurs propriétés initiales en les protégeant du milieu extérieur et en limitant les transferts et pertes de matières. Ainsi, la plupart des produits commerciaux utilisent des emballages qui augmentent la durée de vie des produits alimentaires en les protégeant des agressions extérieures et plus particulièrement des transferts de gaz ou des pertes d'arômes principalement. L'arôme d'un aliment résulte de l'équilibre entre les différents composés volatils et va dépendre notamment de leur concentration et de la composition de la matrice alimentaire (Kinsella, 1989). La nature des composés d'arôme ainsi que la structure de la matrice qui le contient sont les principales caractéristiques influençant leur transfert. Les composés d'arôme, possèdent des caractéristiques physico-chimiques similaires à celles des solvants et peuvent donc modifier ou altérer les propriétés organoleptiques des aliments (Voilley & Etievant, 2006).

Afin d'éviter ces altérations, de nombreux emballages à base de matrices plastiques ont été commercialisés, mais la plupart d'entre eux ont une forte affinité pour les composés volatils (Moshonas, 1988). De plus, du point de vue de l'environnement, les matrices plastiques sont considérés comme non dégradables et actuellement souffrent d'un paradoxe : alors que cette industrie s'inscrit dans une chaîne de sous-produits de la pétrochimie et qu'elle représente quelques pour cent des débouchés du pétrole, elle est souvent associée à l'épuisement de cette ressource fossile (Stassin, 2009).

*Les polymères biodégradables sont connus depuis plusieurs décennies mais ont été ignorés en raison de leur coût élevé par rapport aux polymères synthétiques. Par contre, ces dernières années, l'utilisation de polymères naturels provenant de sources renouvelables a considérablement augmenté en raison de la surproduction des déchets, de la diminution des réserves de pétrole et de la conscience collective. Dans l'objectif de produire de matériaux plus respectueux de l'environnement, de nombreuses recherches ont été menées sur l'étude d'emballages biodégradables et/ou comestibles. Les emballages comestibles sont efficaces pour contrôler les transferts de solutés au sein même de l'aliment (Debeaufort *et al.* 1998).*

Un emballage comestible (film ou enrobage) a été défini comme étant : « un emballage sous la forme d'un film, d'un enrobage ou d'une couche mince protectrice qui fait partie intégrante de l'aliment ou qui peut être consommé comme tel » (Guilbert, 1986). Ils sont obtenus à partir de trois

catégories d'ingrédients : les hydrocolloïdes assurant la cohésion du film et l'imperméabilité aux gaz, les lipides barrière à l'eau et divers additifs qui améliorent les propriétés fonctionnelles du film. Le choix des composants du film va être fonction de l'application ou de l'utilité qu'on veut lui apporter, mais aussi de la règlementation. Les applications des emballages comestibles vont protéger les produits alimentaires, contrôler les transferts, réguler la libération des composés, ralentir la migration de lipides jusqu'à être support d'agents conservateurs ou agents d'encapsulation.
La conception d'emballages composites, associant hydrocolloïdes et matériaux hydrophobes, permet d'avoir des films comestibles offrant simultanément de bonnes propriétés mécaniques et barrières à l'oxygène et à l'eau. De plus, les films composites permettent également l'encapsulation de molécules actives au sein de la matrice. L'utilisation des microcapsules contenant des arômes, des vitamines, des aditifs dans les films comestibles leur confère le statut d'emballages « actifs »(Reineccius, 1994). La microencapsulation est habituellement réalisée avec des hydrocolloïdes et est utilisée pour contrôler la libération des ingrédients actifs dans des aliments ou dans des médicaments. Les enrobages jouent un rôle crucial dans l'industrie des arômes. Cette encapsulation permet de limiter la libération des arômes : il est proposé d'appliquer un enrobage en surface de l'aliment, à base par exemple de cires peu solubles (si cet enrobage ne doit pas être soluble), et dans lequel sont solubilisés les composés d'arôme (Quezada-Gallo *et al.* 2000a) dans le but, par exemple d'aromatiser la surface d'un aliment ou d'y retenir un composé fragile ou actif à une concentration élevée.

La maîtrise des propriétés barrières des emballages comestibles encapsulant des substances actives telles que les arômes ou d'autres petites molécules volatiles, implique la connaissance des différents paramètres intervenant lors du transfert de matière, ainsi que des propriétés physico-chimiques des petites molécules et des constituants des films. Très peu d'études concernent l'influence des composés actifs incorporés dans des films ou enrobages comestibles sur leurs structure et propriétés de transfert. Il est donc nécessaire qu'il y ait une meilleure compréhension des phénomènes mis en jeu.

L'objectif principal de cette étude est de mieux comprendre l'influence de l'incorporation ou « encapsulation » d'une molécule active (arôme) sur la structure de la matrice polyosidique du film, sur les transferts de petites molécules et sur sa capacité à protéger les substances actives encapsulées. Aussi nous tenterons de caractériser les phénomènes observés et d'identifier les interactions physico-chimiques qui s'établissent entre les molécules qui transfèrent et les biopolymères composant la matrice.

Le premier chapitre présentera une synthèse bibliographique sur l'incorporation ou la « microencapsulation » des composés d'arôme, suivie de la description des emballages comestibles

en détaillant leurs natures et leurs principales propriétés. Finalement nous donnerons les mécanismes du transfert de petites molécules au travers des emballages comestibles.

Le deuxième chapitre sera consacré à la description des matériels et des méthodes utilisés pour la préparation des films et leur caractérisation.

Les résultats sont présentés du chapitre trois au chapitre cinq; et concernent les propriétés physiques et/ou de transferts au travers de deux hydrocolloïdes : les iota-carrageenanes et les alginates de sodium. Ces résultats sont des extraits intégraux des publications acceptées et des deux publications soumises.

Le troisième chapitre discutera de l'impact de la molécule active incorporée dans la matrice sur ces propriétés thermiques, sa microstructure et ses propriétés mécaniques. Ces résultats nous permettrons de mieux définir le système d'étude et de faciliter à posteriori la compréhension du mécanisme de transfert des petites molécules dont les résultats seront décrits dans les chapitres qui suivent (publications *Biomacromol. 2008 (1), J Food Eng. 2009 (2) et Food hydrocoll. 2009 (3)*).

Le quatrième chapitre présentera les résultats de l'effet du niveau d'hydratation et de l'état physique de l'eau sur la structure des films (propriétés mécaniques et thermiques) et sur son transfert au travers des films contenant ou non la molécule active ou des particules lipidiques (Publication soumise à Food Chem.).

Dans le cinquième chapitre seront analysés les transferts des petites molécules (oxygène et composés d'arôme) en fonction des paramètres précédemment étudiés pour leur impact sur la structure et les propriétés physiques des systèmes. Une comparaison des paramètres de transfert mesurés expérimentalement ou estimés mathématiquement tels que : les coefficients de sorption, de diffusion et de perméabilité au travers des films sera abordée (publications *Biomacromol. 2008 (1), J Food Eng. 2009 (2), Food hydrocoll. 2009 (3) et* soumise *à Food Hydrocoll (4).*).

Le sixième chapitre présentera une discussion générale sur l'ensemble de résultats en tentant de mettre en relations les multiples phénomènes constatés avec les interactions physico-chimiques observées ou supposées, en s'appuyant sur d'autres travaux menés en parallèle de cette étude et sur des publications récentes, pour finir avec une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE 1.

Synthèse Bibliographique.

La fonction première des emballages comestibles repose sur leur capacité à prolonger la durée de conservation et à améliorer les qualités de l'aliment en les préservant des altérations résultant des migrations de liquides, de gaz ou d'autres petites molécules. Afin de maîtriser ces transferts de matière, une bonne compréhension des mécanismes à l'origine du transfert, une bonne connaissance de la composition de la matrice du film et de l'incorporation (ou « microencapsulation ») de substances actives telles que les composés d'arôme, s'impose. C'est sur cette question essentielle que s'ouvre ce chapitre, suivie de la description des emballages comestibles en détaillant la nature et la composition des films. Nous clôturerons ce chapitre par les mécanismes du transfert des petites molécules au travers des emballages comestibles.

1.1 Composés d'arôme.

Ce sont des molécules organiques de faible masse moléculaire (<400Da), dont la pression de vapeur saturante à pression atmosphérique et à température ambiante est suffisamment élevée pour qu'ils se trouvent en partie à l'état vapeur dans l'atmosphère gazeuse et puissent provoquer un stimulus au contact de la muqueuse olfactive (Richard, 1992). Ils sont de nature plutôt hydrophobe et possèdent des caractéristiques physico-chimiques différentes. La solubilité dans l'eau et l'hydrophobicité permettent d'évaluer la répartition du composé entre les phases organiques et aqueuses. L'hydrophobicité est représentée par le *logK* qui correspond au logarithme du coefficient de partage entre l'eau et le n-octanol. Les composés d'arôme possédant un *logK* inférieur où proche de 1 sont considérés comme polaires et sont en principe relativement solubles dans l'eau (Philippe *et al*, 2001b).

Les composés d'arôme sont présents dans les aliments en très faibles quantités, leurs concentrations varient de quelques milligrammes par tonnes (ppb) à quelques milligrammes par kilogramme (ppm). Par contre ils sont présents en très grand nombre et appartiennent à toutes les classes chimiques : hydrocarbures-terpènes (limonène), alcools (linalol), aldéhydes (n-hexanal), cétones (carvone), esters (butanoate d'éthyle), lactones (γ-décalactone), composés carbonylés (benzaldèhyde), phénols (vanilline), composés soufrés (thiols) et composés hétérocycliques (furanones) (Richard, 1992, Crouzet, 2001). Ils jouent un rôle primordial sur la satisfaction du consommateur et sur le choix du produit alimentaire. Ainsi la stabilité du composé d'arôme dans un produit est très importante, car elle est directement liée à l'acceptation du produit. Néanmoins il est très difficile de contrôler sa dégradation. La microencapsulation peut permettre de limiter cette dégradation ou les pertes pendant la fabrication ou le stockage d'un produit.

1.2. Microencapsulation des composés d'arôme.

La stabilité des composés d'arôme joue un rôle primordial sur la qualité des produits alimentaires, mais elle n'est pas facile à contrôler. L'encapsulation est souvent une méthode relativement efficace pour limiter leur dégradation pendant les procédés de transformation et le stockage du produit. L'encapsulation permet aussi de limiter ou empêcher les phénomènes indésirables, tels que, les interactions arôme-arôme et les réactions induites par la lumière et /ou oxygène. Le procédé d'encapsulation de substances sensibles consiste en deux étapes : la première est la réalisation d'une émulsion composée du couple « lipide-composé d'arôme » dans une solution dense d'un matériau qui forme la « paroi » telle que des polysaccharides ou des protéines. La deuxième est le séchage ou refroidissement de l'émulsion afin de stabiliser la capsule (Madène *et al.*, 2006). Ce sont la nature du « cœur », la nature de la « paroi », la méthode d'encapsulation, les interactions et les conditions de stockage qui vont affecter la stabilité du composé d'arôme encapsulé. La taille d'encapsulation peut varier des quelques millimètres à moins d'un micromètre ce qui lui confère le statut de « microencapsulation ».

La microencapsulation est une technique de plus en plus développée et amplement utilisée dans les industries pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (Heinzen, 2002). La microencapsulation consiste à enrober une substance active avec une couche continue homogène ou composite (Figure 1.1). Il existe plusieurs techniques de microencapsulation : chimiques (coacervation, co-cristallisation, inclusion moléculaire) et/ou mécaniques (spray drying, freeze drying, extrusion).

Les films, et plus particulièrement les films émulsionnés, peuvent être utilisés comme agents de microencapsulation pour les composés d'arôme, ceci leur confère le statut d'emballages « actifs » (Reineccius, 1994).

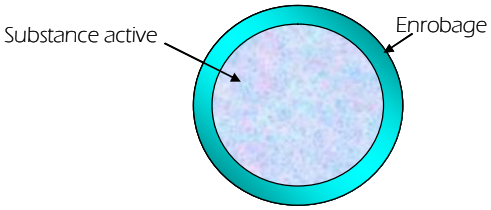


Figure 1.1. Modèle d'encapsulation.

Cette microencapsulation » dans les films comestibles permet d'éviter la libération des arômes et de les protéger de l'oxydation (Reineccius, 2009). Il y a peu de travaux sur ce sujet, Kim et Morr (1996) ont étudié l'encapsulation d'huile essentielle d'orange dans des films à base de caséïnate de sodium, de lactosérum et de protéine de soja. Ils ont trouvé que la protéine de soja était le plus performant pour retenir l'huile essentielle d'orange avec 87.7% de rétention, suivie du caséïnate de

sodium avec 81.5% de rétention et finalement les protéines du lactosérum étant le moins performant avec 72.7% de rétention. La rétention d'un arôme modèle dans des maltodextrines, de la gomme d'acacia, du sirop de maïs, de l'amidon modifié, des protéines de soja et de lactosérum a été proposée par Dronen (2004). Il s'avère que les maltodextrines avec la gomme d'acacia et l'amidon modifié sont les plus performant avec 55%, 55% et 51% respectivement et les moins efficaces sont le sirop de maïs, les protéines de lactosérum et de soja avec 40%, 25% et 13% respectivement. De même, la rétention de plusieurs composés d'arôme dans différentes matrices d'amidon a été étudiée par Boutboul *et al.* (2002). Ces auteurs ont trouvé que la rétention augmente avec la polarité du composé d'arôme (D-limonène < ethyl hexanoate < octanal < 1 hexanol) et que la teneur en amylose n'a pas d'influence. Les films homogènes constitués d'une seule substance ont de bonnes propriétés barrières ou de bonnes propriétés mécaniques, mais rarement les deux simultanément. Les films émulsionnés, pour lesquels les lipides sont dispersés dans une matrice continue d'hydrocolloïdes (Figure 1.2), présentent l'avantage de simplifier le procédé de fabrication et d'application (Martin-Polo *et al.* 1992b). C'est pourquoi les propriétés souhaitées sont souvent atteintes à partir de la combinaison de différents matériaux : les hydrocolloïdes forment des interactions intercaténaires pour créer un réseau responsable de la résistance mécanique et les lipides ont le rôle de barrière à l'eau ou de support d'encapsulation de composés volatils hydrophobes (Quezada-Gallo, 1999).

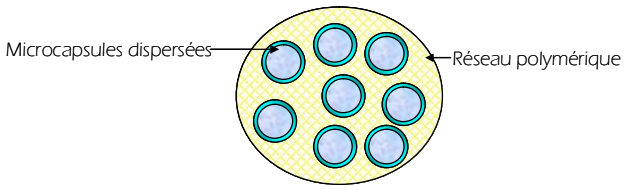


Figure 1.2. Films émulsionnés comme réseau polymérique d'encapsulation

Pour mieux comprendre ces interactions dans les films ou emballages comestibles il est nécessaire de décrire plus précisément leur nature et les différentes sources pour leur formulation.

1.3 Les emballages comestibles

Un emballage comestible (film ou enrobage) a été défini comme étant : « un emballage sous la forme d'un film, d'un enrobage ou d'une couche mince protectrice qui fait partie intégrante de l'aliment ou qui peut être consommé comme tel » (Guilbert, 1986). Ils constituent une barrière semi perméable et leur rôle est d'empêcher les transferts d'eau, oxygène, dioxyde de carbone, composés d'arômes, lipides, etc. mais aussi par exemple, la lumière. Ils protègent et améliorent l'intégrité structurale et mécanique des produits alimentaires (Nisperos-Carriedo & Shaw, 1990) et peuvent être support d'additifs alimentaires (e.g antioxydants, agents antimicrobiens, composés d'arômes).

La principale différence entre film et enrobage, c'est que le premier est une structure indépendante, tandis que le deuxième a déjà été appliqué sur la surface d'un aliment servant aussi de support mécanique (Gennadios, 2002).

Les premières applications connues sont très anciennes, utilisées en Chine dès les 12ème et 13ème siècles pour retarder la déshydratation des agrumes (Guilbert et Cuq, 1998). Dans l'Angleterre du 16ème siècle, les aliments, principalement les viandes étaient couvertes avec une couche de matière grasse, appelée « larding » pour éviter la perte d'humidité. Aux Etats-Unis vers 1930, des cires fondues ont été appliquées pour couvrir des agrumes et des émulsions huile dans l'eau sur les fruits et légumes. C'est à partir des années 50's que l'utilisation des films comestibles à base de polysacharides ont été suggerés pour protéger les pommes du blanchiment (Kester & Fennema, 1986).
Les emballages comestibles doivent posséder des caractéristiques organoleptiques acceptables ainsi que des stabilités biochimique, microbiologique et physico-chimique suffisantes. L'innocuité toxicologique est impérative et leur composition doit répondre à la réglementation concernant l'aliment visé (Debeaufort *et al.* 1994).

1.4 Composition des films et emballages comestibles

Les matériaux filmogènes utilisés, sont d'une part les hydrocolloïdes, les protéines et les polyosides, agents filmogènes responsables de la cohésion des films, des propriétés mécaniques et de l'imperméabilité aux gaz, aux arômes et aux matières grasses (Quezada *et al.* 2005), et d'autre part les matériaux hydrophobes apportant l'imperméabilité à l'eau. En plus de ceux-ci des additifs (plastifiants, surfactants, émulsifiants, etc.) peuvent être ajoutés afin d'améliorer leurs propriétés.

1.4.1 Hydrocolloïdes.

Les films à base d'hydrocolloides (polysaccharides et protéines) présentent des bonnes propriétés mécaniques, barrières à l'oxygène, au dioxyde de carbone et aux lipides. La plupart des hydrocolloïdes proviennent en réalité des sources naturelles et sont des molécules employées très fréquemment dans l'industrie agroalimentaire comme agents épaississants ou texturants.

1.4.1.1 Les polysaccharides

Les polysaccharides comprennent une variété considérable de molécules. De nature hydrophile, ce sont des agents filmogènes qui possèdent des bonnes propriétés mécaniques, des bonnes propriétés barrières aux gaz mais des faibles propriétés barrières à l'eau. Leur développement sert à la protection des fruits et légumes (Guilbert & Cuq, 1998).

Les polysaccharides les plus utilisées dans la formulation des films sont : les carraghènanes, les alginates, l'amidon, la pectine, le chitosan et la cellulose, (Baldwin *et al.* 1995b) et ses principales applications dans l'industrie alimentaire sont résumées dans le tableau 1.1.

Les **carraghènanes**, extraits d'algues rouges (*Rhodopycées*) sont très utilisés pour leurs propriétés gélifiantes et filmogènes. Il existe trois types de carraghènanes, kappa (**κ**), iota (**ι**) et lamda (**λ**) qui différent selon leur teneur en sulfate et en radicaux 3-6-anhydro-**α**-D-galactopyranose (Nisperos-Carriedo, 1994). La rigidité des gels est directement liée à la structure moléculaire et décroît quand la teneur en sulfate augmente. Les **λ** ne forment pas de gel et sont considérés comme des épaississants. Les principales applications des carraghènanes relèvent des domaines alimentaires (épaississant, texturant) et cosmétiques. Elles peuvent servir également d'agents d'encapsulation (Rinaudo, 2002).

Les **alginates,** extraits d'algues brunes (*Phaeopycées*) ; il peuvent être également extraits par voie bactérienne. Les sels de l'acide alginique, sodium, potassium, ammonium et calcium sont des épaississants en solvants aqueux. En présence des ions divalents, ils forment des gels forts. A faibles teneurs en ions divalents ou en milieux acides le gel peut être partiellement réversible. Leurs principales applications alimentaires sont comme agents texturants et couches protectrices limitant la déshydratation des viandes et poissons. Leur utilisation évolue vers la fonction d'agents d'encapsulation (levures, microorganismes) ou support pour le relargage des médicaments (Rinaudo, 2002).

Les **amidons** natifs, sont composés de 25% d'amylose et de 75% d'amylopectine. Ils sont traditionnellement utilisés pour la protection de nougats (Guilbert, 1986). Sous leur forme native, les amidons ont très peu d'applications comme enrobant dans l'industrie alimentaire, en raison de leur rapide hydratation et de leur viscosité (Nisperos-Carriedo, 1994). Les films à base d'amidon possèdent des bonnes propriétés mécaniques et organoleptiques. Néanmoins, ils sont hydrosolubles et possèdent de faibles propriétés barrières (Arvanitoyannis *et al.* 1994).

Les **pectines**, polymères d'acide D-galacturonique forment des gels en présence du calcium. C'est leur taux de méthylation qui détermine leur solubilité et leurs propriétés. La fonction des gels de pectine est de faire office de « réservoir » d'eau ce qui ralentit le dessèchement superficiel du produit alimentaire.

Le **chitosan** et la gomme produite par la dé acétylation de la chitine, composant de la carapace des crustacés. Ses qualités antimicrobiennes intrinsèques en font un film avec un caractère fongicide. Les films de chitosan contrôlent les transferts d'oxygène et de dioxide de carbone mais avec une légère diminution des propriétés organoleptiques (Yingyaud *et al.* 2006).

Tableau 1.1. Applications alimentaires des films à base des hydrocolloïdes.

Type d'hydrocolloïde	Application alimentaire
Carraghènanes	Limiter déshydratation de surface ainsi que la détérioration de l'aspect et du goût des fruits et fromages (Nussinovitch & Hershko, 1996) Agents d'encapsulation de substances actives (Torres & Karel, 1985, Rinaudo, 2002)
Alginates	Limiter déshydratation des viandes, poissons et fruits (Lazarus *et al.* 1976) Support des substances actives (Rinaudo, 2002)
Amidon	Réduire transferts gazeux de confiserie ou fruits (Brake & Fennema, 1993) Amélioration de la qualité organoleptique des fruits (Murray & Luft, 1973)
Pectine	Réduire transferts gazeux de confiserie ou fruits (Brake & Fennema, 1993) Amélioration de la qualité organoleptique des fruits (Murray & Luft, 1973)
Chitosan	Barrière à l'oxygène et antimicrobien pour des produits de la mer ou fruits (Yingyaud, 2006 ; El Ghaouth *et al.* 1991)
MC et HPMC	Libération contrôlée des composés sur une ample gamme des aliments (Nicholson & Morris, 1985)
HPC	Absorption d'huiles pour des produits frits (Garcìa *et al.* 2005)
Protéine de soja	Prévention des pertes d'eau dans le fromage (Kokoszka *et al.* 2010)
Zéine de maïs	Protéger de l'eau et de l'oxygène fruits secs (Krochta & De Mulder-Johnson, 1997)
Gluten	Préserver qualités des fruits et légumes (Tanada-Palmu & Grosso, 2005)
Protéines de lait	Protéger de l'eau et de l'oxygène fruits, légumes et produits carnés (Chen, 1995 ; Stuchell & Krochta, 1995)
Collagène-gélatine	Protéger viandes et produits de charcuterie (Gennadios, 1994)
Protéines myofibrillaires et ovalbumine	Renforcer adhésion aux morceaux de volaille (Suderman *et al.* 1981)

La **cellulose**, est un polysaccharide composé de chaînes linaires d'unités D-glucopyranose unies par des liaisons β-1,4-glucosidiques (Weil, 1990). La cellulose native n'est pas soluble, par estérification irréversible des groupes hydroxyles des carbones, des dérivés hydrosolubles sont obtenues, sous forme anionique, tels que la carboxyméthylcellulose (CMC), ou sous forme non-ionique, comme la méthylcellulose (MC), l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC), l'hydroxypropylcellulose (HPC) ou l'hydroxyéthylcellulose (HEC). Un dernier dérivé est la cellulose microcristalline mais celle-ci reste insoluble. La MC et l'HPMC peuvent former des gels réversibles par chauffage. Ce caractère réversible est la base de ses applications en alimentaire ainsi qu'en pharmacie, pour contrôler la

libération des composés. Les films présentent des bonnes propriétés barrière à l'oxygène et mécaniques.

1.4.1.2 Les protéines.

Les protéines d'origine végétale et animale ont été utilisées dans la fabrication de films comestibles depuis longtemps. Leur caractère hydrophile leur confère de bonnes propriétés barrières aux gaz en conditions sèches mais des faibles propriétés barrières à l'eau. Les propriétés filmogènes des protéines sont connues depuis longtemps (Gennadios, 2002), par contre, leur utilisation a des inconvénients, comme la détérioration des protéines en la présence d'enzymes protéolytiques dans les aliments et le risque de réactions allergiques.
Les protéines végétales les plus utilisées dans la formulation des films sont celles du soja, du gluten de blé et de la zéine de maïs. Pour les protéines d'origine animale on trouve le plus souvent les protéines du lait, le collagène et la kératine (Pérez-Gago & Krochta, 2001) et leurs principales applications dans l'industrie alimentaire sont résumées dans le tableau 1.1.

Les **protéines de soja**, sont obtenus à partir du surnageant apparaissant lors du chauffage du lait de soja. Ce sont des protéines très intéressantes pour la fabrication des films, du a leur propriétés émulsifiantes et filmogènes. Par contre elles sont de faibles barrières à l'eau (Cho & Rhee, 2004).
Le **gluten**, est la protéine de blé, protéine globulaire insoluble dans l'eau. Les films à base de gluten présentent des efficacités barrières à l'oxygène et au dioxyde de carbone (Pochat-Bohatier *et al.* 2006).
La **zéine de maïs**, ensemble des protéines insolubles dans l'eau, sont formés par séchage de solutions alcooliques. Les films possèdent des bonnes propriétés barrières à l'oxygène et à l'eau, mais des faibles propriétés organoleptiques (Dangaran *et al*. 2009).
Les **protéines de lait**, les principales protéines de lait sont la **caséine** et les **protéines de lactosérum**. Ces films présentent de bonnes propriétés mécaniques, barrières à la vapeur d'eau, barrières à l'oxygène et aux composés d'arôme (Dangaran *et al*. 2009).
Le **collagène**, et la protéine résultant de son hydrolyse, la **gélatine** comme la plupart des hydrocolloïdes ont de bonnes propriétés barrières aux gaz mais faibles à l'eau. Les films à base de collagène et gélatine ont été employés depuis longtemps principalement pour l'emballage des viandes et produits de charcuterie (Dangaran *et al*. 2009).
La **kératine,** protéines myofibrillaires et l'**ovalbumine** servent aussi à l'élaboration des films, seuls ou en mélange avec d'autres protéines (Dangaran *et al*. 2009).

1.4.2 Les lipides.

Les lipides, du fait de leur caractère hydrophobe, sont des barrières à l'eau très efficaces mais ils possèdent de mauvaises propriétés mécaniques. Les lipides les plus utilisés dans la formulation des films comestibles sont : les cires, les acétoglycérides, les résines et les agents tensioactifs.

Les **cires**, de synthèse chimique dérivées du pétrole (cire de paraffine ou cire microcristalline) ou de sources naturelles (cire d'abeille, cire de carnauba, cire de candelilla) constituent d'excellentes barrières à l'eau, sont malléables à température ambiante atteignant un point de fusion supérieur à 45°C. Souvent utilisées comme enrobage des fruits, des légumes et des confiseries, elles assurent une protection contre la déshydratation et ralentissent la diffusion de gaz (Debeaufort & Voilley, 2009).

Les **acetoglycérides**, ou esters de mono ou di-glycérides d'acides gras, sont flexibles à l'état solide et possèdent de bonnes propriétés barrières à l'eau (Debeaufort & Voilley, 2009). Le plus utilisés sont les acéto-palmitines, stéarines ou oléines. Souvent utilisées pour prévenir la déshydratation des fruits et de viandes.

Les **résines**, telles que la shellac provenant de la sécrétion de l'insecte Laccifer lacca, possèdent de très bonnes propriétés barrières à l'eau et améliorent l'aspect des produits. (Hernàndez, 1994).

Il existe des nombreuses **huiles alimentaires** d'origine végétale (huile d'arachide, de coprah, de palme) ainsi que les **matières grasses** d'origine animale (beurre, suif) qui peuvent servir a l'élaboration des emballages comestibles. Ils ont des bonnes propriétés barrières à l'eau, mais légèrement inférieures de celles de cires. Néanmoins ils permettent d'améliorer les propriétés organoleptiques en bouche.

1.4.3 Autres composants.

Dans la formulation des emballages comestibles, afin d'améliorer leurs propriétés mécaniques, de conservation et organoleptiques, des additifs sont ajoutés. Les principaux additifs utilisés sont : les plastifiants, les surfactants et émulsifiants et les agents antimicrobiens.

Les **plastifiants**, sont des substances ayant une masse molaire peu élevée et dont le but est de rendre plus souples et flexibles les réseaux polymériques, en diminuant les forces intermoléculaires présentes entre chaînes, diminuant ainsi les forces de cohésion et la transition vitreuse. Les films comestibles à base d'hydrocolloïdes requièrent une concentration d'entre 10 et 60% (base sèche) pour améliorer leurs propriétés mécaniques, par contre, les plastifiants diminuent significativement l'efficacité barrière à l'eau et aux gaz. Les principaux plastifiants utilisées dans la formulation des films comestibles sont les glycérol, sorbitol, mannitol, propylène glycol et polyéthylène glycol) sans oublier le plastifiant par excellence, qu'est l'eau.

Les **surfactants et émulsifiants**, contribuent à la formation des films et préviennent leur fracture en diminuant l'activité de l'eau et la vitesse de perte d'humidité du produit. Les plus utilisées dans la formulation des films comestibles sont, les matières grasses, les huiles et polyéthylène glycol (Baldwin *et al*. 1995a).
Les **agents antimicrobiens**, aident à retarder le développement de levures, de moisissures ou de bactéries. Les plus utilisées dans la formulation des films sont, l'acide benzoïque, le benzoate de sodium, l'acide ascorbique et le sorbate de potassium (Quezada-Gallo, 2009).

Plus récemment, quelques auteurs ont étudié l'effet des différents composants sur les propriétés des films comestibles. Les performances antimicrobiennes d'extraits d'origan, d'ail et du romarin introduits dans des films de lactosérum ont été étudiées par Seydim et Sarikus (2006). Ils sont observés que l'origan a la meilleure activité antimicrobienne, suivie de l'ail et du romarin. Atarés *et al*. (2010) ont étudié l'effet des huiles essentielles de la cannelle et du gingembre sur les propriétés mécaniques et barrière à l'eau de films de protéines de soja. Ils ont montré que l'incorporation de ces huiles essentielles rend les films moins résistants et moins flexibles, par contre la perméabilité à la vapeur d'eau n'est pas affectée. Imran *et al*. (2010) ont travaillé sur des films à base de HPMC contenant de la nisine (Nisapline). Cet antimicrobien modifie les propriétés mécaniques en augmentant l'élongation et les propriétés barrière à l'eau en diminuant la sorption, mais ces phénomènes sont surtout attribué à la teneur en sel de l'échantillon de Nisapline.

1.5 Agents Filmogènes : iota-carraghènane et alginate de sodium.

Bien que les propriétés des polysaccharides filmogènes aient été présentées antérieurement, une description plus détaillée des caractéristiques des carraghènanes et des alginates de sodium, retenus comme agent filmogène dans notre étude, est donnée.

1.5.1 Iota-carraghènanes.

La famille des carraghènanes se compose des polymères hydrosolubles constitués d'une chaîne linéaire d'unités galactose partiellement sulfatées, qui possèdent une forte potentialité comme matériau filmogène. Ces polysaccharides sulfatés sont recueillis de la paroi cellulaire de certaines espèces d'algues rouges (*Rhodophyceae*). Le nombre et la position des groupements sulfate sur l'unité de répétition disaccharidique (variant de 0 à 41% m/m) déterminent leur classification en trois classes majeures : kappa (**κ**), iota (**ι**) et lambda (**λ**), comprenant respectivement 20, 33 et 41% de teneur en sulfate (m/m).
Ils constituent une ressource renouvelable et une matière première peu coûteuse. Les iota-carraghènanes commercialisés sont souvent des mélanges de kappa et iota ou la présence d'iota

prédomine et lui confère ces caractéristiques particulières. Les principaux pays producteurs d'iota-carraghènanes sont les Philippines et l'Indonésie. La production mondiale de carraghènanes est de l'ordre de 16500 t/an (Rinaudo, *et al.* 2002).

Les iota-carraghènanes se composent d'unités alternées de α (1,3)-D-galactose-4-sulfate ou G4S et β (1,4)-3,6-anydro-D-galactose-2-sulfate ou DA2S (Knutsen *et al.* 1994), figure 1.3. Cette dernière forme est appelée «précurseur» et est soluble dans l'eau. Industriellement, on isole les polymères par diffusion et pressage des algues en suspension dans l'eau; suit ensuite un traitement alcalin pour transformer les précurseurs en anhydro-polymères qui, dès lors, présentent des propriétés gélifiantes dans des conditions contrôlées. Les polymères sont récupérés par précipitation à l'alcool (éthanol, isopropanol).

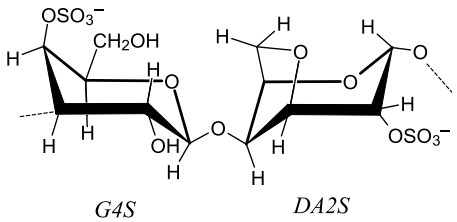


Figure 1.3. Unité dimérique d'iota-carraghènane.

En solution aqueuse, les iota-carraghènanes produisent un gel thermoréversible, au refroidissement en dessous de la température critique, qui s'accompagne d'un changement de conformation d'un état désorganisé de simples chaînes à la formation de doubles hélices de chaînes de carraghènanes (figure 1.4), et, par suite, d'un gel clair (Yuguchi *et al.* 2002). Le changement de phase est associé à un changement conformationnel. En effet, le gel ne se forme que par association de doubles hélices stabilisées à basse température ou en présence d'excès de sel (Rochas & Rinaudo, 1984). L'agrégation coopérative des doubles hélices, qui peut être assimilée à une microséparation de phase, forme ce que l'on appelle les zones de jonction qui sont les nœuds de réticulation du réseau ou gel (Rochas *et al.* 1990).

Leurs propriétés gélifiantes et épaississantes sont considérablement exploitées pour diverses applications, notamment comme additif alimentaire. Ils sont dénommés par la nomenclature Européenne E407.

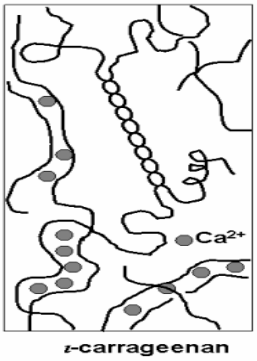


Figure 1.4. Modèle de gélification des iota-carraghènanes

Les iota-carraghènanes sont présents dans des produits alimentaires tels que, produits laitiers (épaississants, stabilisation d'émulsion), la bière (clarification), le pain, la viande (rétention d'eau), les soupes, les sauces (épaississants, texturants). Ils sont présents également dans des produits non-alimentaires, tels que le shampoing (gélifiant), dentifrice (stabilisation de l'émulsion), en biotechnologie (immobilisation de cellules ou d'enzymes) et en pharmaceutique (fabrication des capsules) (Bartkowiak & Hunkeler, 2001).

1.5.2 Alginate de sodium.

Les alginates, sont des polysaccharides, extraits des algues brunes; ils peuvent être également produits par voie bactérienne (Skjak-Braek *et al.* 1986). Les principales algues exploitées relèvent des espèces suivantes: Laminaria, Ascophyllum, Fucus. Ils constituent, comme pour les iota-carraghènanes, une ressource renouvelable et une matière première peu coûteuse. Les principaux pays producteurs d'alginate de sodium sont, la Norvège, l'Australie, le Japon, la France et l'Amérique du sud. La production mondiale d'alginates est de l'ordre de 25 à 30000 t/an (Rinaudo, *et al.* 2002).

Les alginates existent sous forme de sels de calcium insolubles dans l'algue. Après un pré- traitement acide qui sert à déplacer le calcium, le polymère est extrait par une solution alcaline. La soude conduit au sel de sodium de l'alginate qui est très soluble dans l'eau. On précipite ensuite le polymère par un alcool après filtration de l'extrait aqueux. Il s'agit d'un copolymère linéaire (ou d'une famille de copolymères) constitué de deux unités saccharidiques de base (acides **α**-L-guluronique, G, et **β**-D-mannuronique, M) dont le rapport M/G dépend de la variété de l'algue. Par ailleurs, la distribution de ces unités le long de la chaîne contrôle également directement les propriétés physico-chimiques. Les acides uroniques forment des blocs d'acide mannuronique liés en **β**-1→4, des blocs d'acide guluronique liés en **α**-1→4 ou des zones alternées ou irrégulières GM. Les

blocs d'acide L-guluronique sont essentiels dans le mécanisme de gélification par les ions calcium (Figure 1.5).

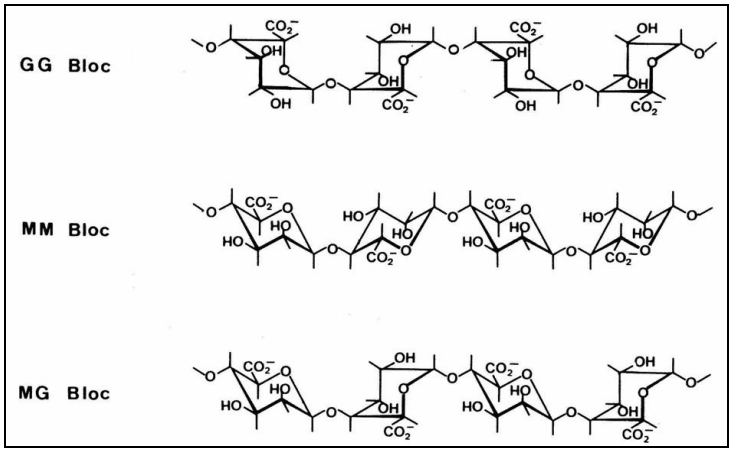


Figure 1.5. Structure de base des alginates.

G = acide guluronique; M = acide mannuronique.

Les alginates de sodium sont des épaississants en solvants aqueux; sa référence comme additif alimentaire est E401. En présence de calcium, ils forment des gels. En milieu acide ou pour des teneurs en calcium faibles, le gel peut être partiellement réversible. Au contraire, pour des teneurs en calcium plus élevées, on obtient des gels stables selon le mécanisme de la «boîte à œufs» représenté dans la Figure 1.6 (Morris *et al.* 1978).

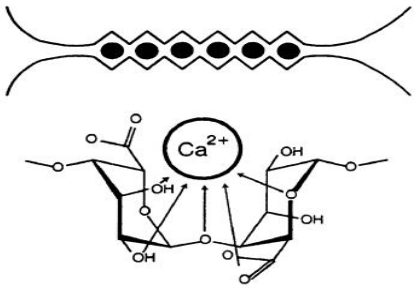


Figure 1.6. Modèle du mécanisme de la "boîte à œufs»

Pour les applications alimentaires, la texture se met en place instantanément en présence de sel de calcium soluble (chlorure ou acétate). L'alginate est un des polysaccharides le plus utilisés comme épaississant, stabilisant d'émulsion et surtout gélifiant. Une autre application importante est le moulage dentaire et le dentifrice. Des applications particulières des alginates de calcium sont la formation de filaments pour la fabrication de pansements, de billes permettant d'encapsuler des

levures ou des bactéries pour des applications en biotechnologie. Ces gels servent également de support pour le relargage contrôlé de médicaments (Fundueanu *et al.* 1999).

1.6. Iota-carraghènane et alginate de sodium comme support d'encapsulation.

S'agissant d'encapsulation, les carraghènanes et les alginates se révèlent indubitablement comme des excellents agents enrobants; leurs propriétés offriraient d'intéressantes applications à la protection de substances actives, ou bien encore à la création de films actifs devenant un support de composés d'arôme (Karbowiak, 2006). Il est proposé d'utiliser un enrobage à base par exemple de cires peu solubles si cet enrobage ne doit pas être soluble, et dans lequel sont solubilisés les composés d'arôme (Quezada-Gallo *et al.* 2000a).

1.7. Les transferts au travers des films comestibles.

Le transfert d'une molécule diffusant au travers du film polymérique est gouverné par le gradient, cette à dire de la concentration la plus élevée à la concentration la plus faible. Les transferts sont souvent décrits par trois étapes (Figure 1.7) : l'adsorption du perméant du côté du film où la concentration est la plus élevée, la diffusion du perméant au travers du film et la désorption du perméant de l'autre côté du film où la concentration est la plus faible.

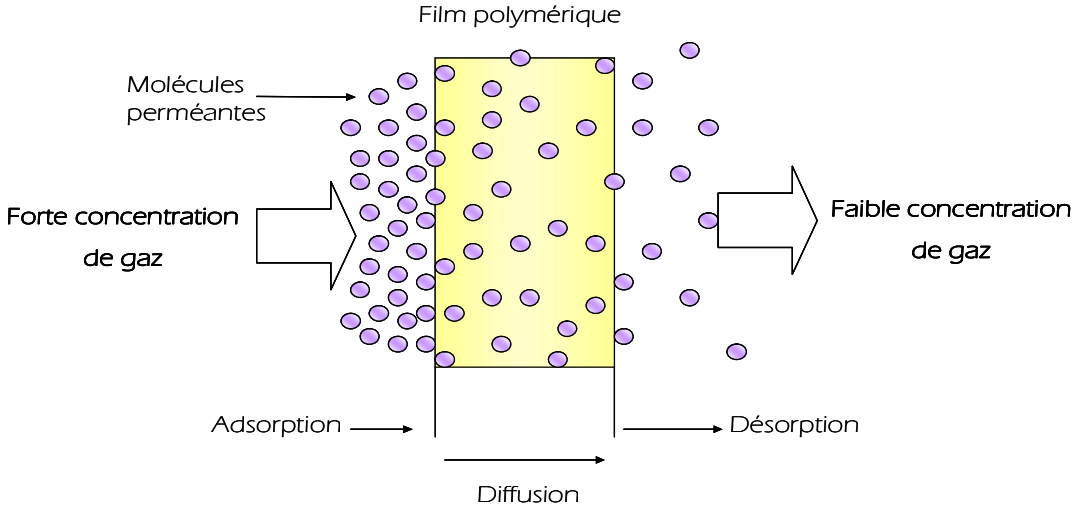


Figure 1.7. Mécanisme de la perméation au travers du film.

Dans le but de maîtriser l'encapsulation d'une molécule active dans une matrice il faut connaître les mécanismes de transfert. C'est en comprenant les transferts dans les films comestibles qu'un meilleur control « a posteriori » des substances actives encapsulées peut s'achever.

1.7.1 Coefficient de diffusion.

Le coefficient de diffusion décrit le mécanisme par lequel les molécules se déplacent dans un matériau sous l'effet d'un gradient de potentiel, par suite d'une succession de mouvements moléculaires aléatoires et dans toutes les directions de l'espace (Crank, 1975). La diffusion représente la propriété cinétique du système polymère-perméant.

La diffusion proposé par DiBenedetto en 1963 est décrit comme l'ouverture d'un espace vide entre les segments d'une chaîne polymérique due aux oscillations de ses segments (un état activé), suivie d'un mouvement translationnel du perméant dans l'espace vide avant que les segments de chaîne reviennent à leur « état normal ». Le coefficient de diffusion est défini par la première loi de Fick :

$$J = -D\frac{\partial C}{\partial x} \qquad (1.1)$$

où J ($g.m^{-2}.s^{-1}$) est le flux de diffusion, c'est-à-dire, la quantité transférée par unité de temps et par unité de surface, C ($g.m^{-3}$) la concentration du perméant, x (m) l'épaisseur du films et D ($m^2.s^{-1}$), le coefficient de diffusion.

Ils existent deux types de comportement pour la diffusion moléculaire dans le polymère : le comportement Fickien qui se caractérise par des coefficients de diffusion indépendants de la concentration. Ce comportement est souvent observé dans la diffusion des gaz comme l'oxygène dans des polymères synthétiques. Le comportement non-Fickien qui se caractérise par des coefficients de diffusion dépendants de la concentration ou du temps. Ce comportement est observé pour la vapeur d'eau ou des vapeurs organiques dans des polymères organiques (Sun-lee *et al.* 2009).

1.7.2 Coefficient de sorption.

Le processus de sorption est décrit comme la distribution du pénétrant entre deux ou plusieurs phases, et comprend l'adsorption, la désorption et l'incorporation dans les espaces vides, mais aussi la formation d'agrégats ou « clusters » et d'autres phénomènes de mélange (Roger, 1985). La sorption décrit la dissolution d'un perméant dans un polymère, et représente la propriété thermodynamique du système polymère-perméant. La sorption est gouvernée par la force des interactions entre perméant/perméant, perméant/polymère et polymère/polymère. La sorption « ideale » ou la plus simple est exprimé par la loi de Henry :

$$C = S \cdot p \qquad (1.2)$$

où p (Pa) est la pression de vapeur partielle du perméant, C ($g.m^{-3}$) la concentration du perméant et S ($g.m^{-3}.Pa^{-1}$) le coefficient de solubilité. S dépend de la température et varie avec la pression de vapeur du soluté. L'équation 1.2 présente un comportement idéal, qui peut être appliqué à l'adsorption et désorption des perméants quand les interactions perméant/perméant et perméant/polymère sont plus faibles que celles entre polymère/polymère.

1.7.3 Coefficient de perméabilité.

En terme de flux de diffusion, le bilan de matière autour d'une fine membrane polymérique peut être décrit comme suit (Figure 1.8) :

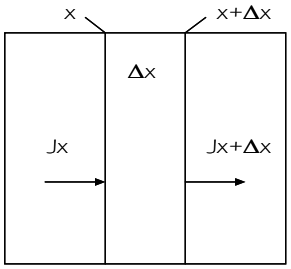


Figure 1.8. Flux de diffusion autour d'une fine membrane polymérique

Le taux de diffusion (ou flux) du perméant sur l'intervalle de distance Δx est égale au taux du perméant cumulé dans la membrane selon l'équation 1.3 :

$$J_x - J_{x+\Delta x} = \frac{d(C\Delta x)}{A.dt} \qquad (1.3)$$

Ou c c'est la concentration du perméant et A la surface du film, C Δx c'est la quantité du perméant dans la membrane selon la distance Δx en tout temps. Le terme à la droite de l'équation 1.3 représente le taux d'échange du perméant à l'intérieur de la membrane. En divisant l'équation 1.3 par A Δx et en prenant la limite de Δx proche à zero :

$$\lim_{\Delta x \to 0} = \frac{J_x - J_{x+\Delta x}}{\Delta x} = -\frac{\partial J}{\partial x} = \frac{\partial c}{\partial t} \qquad (1.4)$$

La substitution de J dans l'équation 1.4 et en supposant que D soit constant est la deuxième loi de Fick, cette équation décrit l'état non stationnaire du film:

$$D.\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} = \frac{\partial c}{\partial t} \qquad (1.5)$$

Le coefficient de perméabilité comprend à la fois les propriétés cinétiques et thermodynamiques du système polymère-perméant et implique trois étapes : l'adsorption (condensation) de la molécule diffusante sur la surface amont du matériau, la diffusion de la molécule à travers le matériau due à la différence de potentiel chimique et la désorption (évaporation) à la surface aval du matériau. Le coefficient de perméabilité est relié à D et S par :

$$P = D \cdot S \qquad (1.6)$$

lorsque D et S sont indépendants de la concentration et par conséquent :

$$J = P\frac{\partial p}{\partial x} \qquad (1.7)$$

En pratique, la perméabilité est définie à l'état stationnaire pour D et S constants par l'intégration des équations 1.1, 1.2 et 1.3 pour obtenir :

$$P = \frac{(dM/dt)}{A \cdot \Delta p} \cdot e \qquad (1.8)$$

Avec dM/dt mesuré à l'état stationnaire où M est la quantité de perméant (g), t (s) le temps, e (m) l'épaisseur du film, A (m^2) la surface d'échange du film exposée au transfert et Δp (Pa) la différence de pression partielle de part et d'autre du film.

1.8. Les paramètres qui affectent les transferts.

Les caractéristiques du transfert de petites molécules au travers de films comestibles sont influencées principalement par la composition et la structure du réseau, mais aussi par les conditions environnementales et par les propriétés de la molécule perméante. L'efficacité du film vis-à-vis des transferts dépend de la sorption et de la diffusion. La nature des films et des composés d'arôme doivent être prise en compte pour mieux expliquer le mécanisme du transfert. De plus, les caractéristiques physico-chimiques des composés volatils influence sur la perméabilité. La forme et la taille du composé d'arôme affectant sa diffusivité et sa solubilité, la perméabilité est donc dépendante de la nature, la polarité et la condensation des composés (Quezada-Gallo, 2009).

1.8.1 Nature et structure des films comestibles.

La structure chimique du polymère et la nature des groupes fonctionnels présents dans les films ont un effet prépondérant sur les transferts. La présence du plastifiant dans la formulation des films entraîne une diminution des forces intermoléculaires et une augmentation de l'espace libre et de la mobilité des chaînes, modifiant ainsi la rigidité et les propriétés barrières. L'addition du plastifiant dans les films augmente la diffusivité des petites molécules. L'incorporation de matières grasses modifie l'efficacité barrière, car elle se trouve fortement influencée par la longueur de la chaîne carbonée du lipide (Kester & Fennema, 1984a). Néanmoins l'état physique de la matière grasse ou sa fraction solide ne paraît pas influencer les transferts dans les films émulsionnés (Quezada-Gallo *et al.* 2000).

L'épaisseur du film affecte également les transferts dans les films comestibles. Des nombreux auteurs ont observé une diminution de type exponentiel inverse du coefficient de transfert lorsque l'épaisseur augmente. Cela conduit a une perméabilité d'autant plus élevée que l'épaisseur est grande, probablement due à un processus de gonflement des films (Debeaufort *et al.* 1993 ; Cuq *et al.* 1996).

Mayachiew *et al.* (2010) ont étudié des films à base de chitosane contenant de l'extrait de gingembre bleu. Ils ont montré que les propriétés fonctionnelles sont affectées par le séchage et par le gonflement des films, essentiellement causé par les interactions entre les fonctions amides du chitosan et les composés du gingembre. Des études sur la rétention d'acide sorbique dans des films d'agar et de gluten de blé contenant de la cire d'abeille ont été réalisées par Guillard *et al.* (2009). Les films d'agar et gluten sont moins performants car ils retiennent environ 10% d'acide sorbique, contrairement aux films contenant la cire d'abeille qui présente une rétention de 75%.

1.8.2 Les propriétés de la molécule diffusant.

Les molécules de transfert ont un effet sur les interactions polymère-perméant et sur l'aspect cinétique du transfert (Jasse *et al.* 1994).

La taille et la forme de la molécule de transfert affectent les valeurs de D et S. En général, une augmentation de taille augmente sa sorption en raison d'une augmentation du volume molaire qui augmente l'énergie d'évaporation ce qui facilite le processus de condensation-évaporation dans le film. La polarité de la molécule a un effet négatif sur la perméabilité aux composés polaires tels que l'eau mais positif sur le transfert des composés non-polaires (Quezada-Gallo *et al.* 1999)

Sànchez-Gonzàlez *et al.* (2009) ont montré que la taille des gouttelettes d'huile essentielle de thé dans des films de HPMC dépend de la concentration en huile, et que la stabilité du systeme augmente avec la concentration en arôme.

1.8.3 Les paramètres externes aux films.

La **température** affecte les phénomènes cinétiques et thermodynamiques, donc la sorption et la diffusion. Pour les gaz qui sont bien au-dessus de leur température critique (gaz non condensables), le coefficient de sorption augmente légèrement avec la température. En revanche, pour les vapeurs condensables et en absence de modifications structurales du polymère, le coefficient de sorption diminue avec la température. Par contre, l'effet de la température sur la diffusion est toujours positif (Rogers, 1985).

L'**humidité relative** modifie de façon positive la perméabilité des films. Ceci s'explique par la solubilisation des composés hydrophiles dans les films. Au cours de l'hydratation les molécules sont plus mobiles, la structure du film présente une perte de sa cohésion due à une plastification du réseau.

Plus récemment Flores et al. (2006) ont étudié l'effet de la fabrication des films à base d'amidon de tapioca sur ces propriétés physiques et sur sa capacité de retenir le sorbate du potassium. Ces résultats montrent que le procédé de fabrication (étalement+séchage) favorise la formation de zones amorphes et contribue à la relaxation de la matrice, diminuant ainsi la rétention de la substance active.

Les mesures de transferts permettent de mieux comprendre les effets inhérents à la nature et à la structure des constituants du film sur ses propriétés fonctionnelles. Relativement peu de publications traitent de la diffusion de composés d'arôme dans les films et de l'interaction entre le polymère et la molécule incorporé (Boutboul *et al.* 2000 ; Jouquand *et al.* 2005 ; Dury-Brun *et al.* 2007).

CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE. 5

1.1 COMPOSES D'AROME. 6
1.2. MICROENCAPSULATION DES COMPOSES D'AROME. 7
1.3 LES EMBALLAGES COMESTIBLES 8
1.4 COMPOSITION DES FILMS ET EMBALLAGES COMESTIBLES 9
1.4.1 Hydrocolloïdes. *9*
1.4.2 Les lipides. *13*
1.4.3 Autres composants. *13*
1.5 AGENTS FILMOGENES : IOTA-CARRAGHENANE ET ALGINATE DE SODIUM. 14
1.5.1 Iota-carraghènanes. *14*
1.5.2 Alginate de sodium. *16*
1.6. IOTA-CARRAGHENANE ET ALGINATE DE SODIUM COMME SUPPORT D'ENCAPSULATION. 18
1.7. LES TRANSFERTS AU TRAVERS DES FILMS COMESTIBLES. 18
1.7.1 Coefficient de diffusion. *19*
1.7.2 Coefficient de sorption. *19*
1.7.3 Coefficient de perméabilité. *20*
1.8. LES PARAMETRES QUI AFFECTENT LES TRANSFERTS. 21
1.8.1 Nature et structure des films comestibles. *22*
1.8.2 Les propriétés de la molécule diffusant. *22*
1.8.3 Les paramètres externes aux films. *23*

CHAPITRE 2.

Matériel et Méthodes.

Le chapitre Matériel et Méthodes est extrait des différentes publications relatives au travail de thèse, amendé de détails complémentaires et réorganisé pour en faciliter la lecture.

2.1 Material

2.1.1 Hydrocolloids.

Iota-carrageenan was supplied by Cargill (95% purity, Degussa Texturizing Systems, Baupte, France) it has a 33% sulphate content and a molecular weight of 690 000 Da and CAS number 9062-07-1. Sodium Alginate was also supplied by Cargill (95% purity, Degussa Texturizing Systems, Baupte, France) with a M/G ratio of 48,7/51,3 and a molecular weight of 170 000 Da and CAS number 9005-38-3.

2.1.2 Lipids and emulsifier

The fat used in this study, namely the GBS Grinsted Barrier System 2000 (Danisco Bradbrand, Denmark) is an acetic acid ester of mono and diglycerides blended with 20% w/w beeswax, having a melting point of 57 °C. The use of fat matter in edible films provides some advantages such as increasing the barrier properties to moisture and in some case allowing to improve mechanical properties by the lubrication process. However, fats often reduce shininess, film homogeneity and transparency.

Glycerol Monostearate (GMS) is the emulsifier mixed with GBS prior to film homogenization (99% purity, Prolabo Merck eurolab, France), its formula is $C_{21}H_{42}0_4$, having a melting point of 58°C, molecular weight of 358.57 $g.mol^{-1}$ a density of 0.97$g.mL^{-1}$, a hydrophilic-lipophilic balance (HLB) of 3.8 and CAS number 123-94-4.

2.1.3 Plasticizer

Anhydrous glycerol (98% purity, Fluka Chemical, Germany) acts as a plasticizer in order to improve mechanical properties of films, its formula is $C_3H_80_3$, having a melting point of 17.8°C and boiling point of 290°C, a molecular weight of 92.09 $g.mol^{-1}$, a density of 1.25$g.mL^{-1}$ and a CAS number 56-81-5;

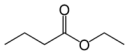
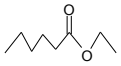
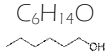
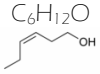
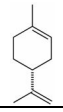
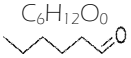
2.1.4 Aroma compounds

N-hexanal is the aroma compound selected for encapsulation in films, is a typical flavor present in many food products. N-hexanal (98% purity, Sigma-Aldrich, Germany) which characteristics are given in table 2.1.

The aroma compounds selected for permeabilities measurements are typical flavors present in some food products (Fenaroli, 1975) and were: ethyl acetate 99.5% purity (Aldrich Chemical Company,

Inc), ethyl butyrate 99% purity (Aldrich Chemical Company, Inc), ethyl hexanoate 98% purity (Aldrich Chemical Company, Inc), 2-hexanone 98% purity (Aldrich Chemical Company, Inc), n-hexanol 98% purity (Merck-Schuchardt), n-hexanal 98% purity (Sigma-Aldrich, Germany), cis-3-hexenol 98% purity (Aldrich Chemical Company, Inc) and d-limonene 99% (International Flavors and fragances). They were chosen because we can found them in different food products and because they allow us to compare different chemical groups and chain length. Their physicochemical characteristics are summarized in Table 2.1.

Tableau 2.1. Physicochemical characteristics of aroma compounds.

Characteristic	Ethyl acetate	Ethyl butyrate	Ethyl hexanoate	2-Hexanone	1-Hexanol	Cis-3 hexenol	D-limonene	n-Hexanal
Odor [a]	Ether, pineapple	fruit, pineapple	Fruity, banana pineapple	Like acetone but more pungent	Green grass	Green fresh grass	Citrus	Fruity
Chemical formula	$C_4H_8O_2$	$C_6H_{12}O_2$ 	$C_8H_{16}O_2$ 	$C_6H_{12}O$	$C_6H_{14}O$ 	$C_6H_{12}O$ 	$C_{10}H_{16}$ 	$C_6H_{12}O_0$ 
molecular weight ($g\ mol^{-1}$)	88.1	116.2	144.2	100.1	102.18	100	136.24	100.16
density at 25 °C ($g\ mL^{-1}$)	0.897	0.878	0.87	0.812	0.818	0.792	0.842	0.813
$P_{vapor\ saturate}$ (Pa) at 25 °C	11356 [a]	1425 [a]	120 [a]	1550 [b]	10 [c]	139 [f]	267 [f]	1420 [a]
Solubility in water ($g.L^{-1}$)	80.8 [g]	5.6 [h]	0.52 [h]	16.4 [h]	6.03 [h]	19.9 [f]	0.0138 [f]	3.81 [a]
log K	0.73 [d]	1.88 [d]	3.62 [e]	1.38 [e]	2.03 [e]	1.34 [f]	5.50 [f]	1.97 [a]

[a] Fenaroli (1975), [b] Ambrose *et al.*(1975), [c] N'Guimbi *et al.* (1992), [d] Leo *et al.* (1971), [e] Rekker, (1977), [f] Philippe (2003), [g] Le Thanh *et al.* (1993), [h] Lamer (1993)

2.1.5 Other components

Three saturated salt solutions were used to control water activity (aw): sodium chloride 99.5% purity (Prolabo, France, CAS number 7647-14-5), giving a 0.75 water activity, potassium carbonate 99% purity (Prolabo, France, CAS number 584-08-7), giving a 0.43 water activity and potassium chloride 99% purity (Prolabo, France, CAS number 7447-40-7), for a 0.84 water activity at 25°C

Sodium Dodecyl sulfate (SDS) 98% purity (Prolabo Merck eurolab, France, CAS number 151-21-3) was used as an anionic surfactant that contributes to make the fat particules negatively charged and thus preventing particle aggregation or allows to desagregate particules during film sample preparation owing to disperse aggregates of fat globules after film solubilisation in water.

2.2 Methods

2.2.1 Edible films preparation

The iota-carrageenan film-forming solution was prepared by dispersing 6 g of iota-carrageenan powder in 200 mL of distilled water at 65 °C for 15 minutes under magnetic stirring. 1.8 g of glycerol was then added in the iota-carrageenan solution still under magnetic stirring. For the iota-carrageenan emulsified films (lwf) 2.4 g of melted fat was dispersed in the film-forming solution. For the films with encapsulated aroma compound 2g of n-hexanal (98% purity) was added. The mixture was then homogeneized at 24 000 rpm with an Ultra Turrax (T25 IKA) for 1 minute. The film-forming solution was poured onto smooth polymethylmethacrylate (Plexiglas®) plates.

In order to obtain a film, the water was removed by drying the film-forming solution in a ventilated climatic chamber (KBF 240 Binder, ODIL, France) for 8 hours with temperature and relative humidity fixed at 30 ± 1 °C and 40 ± 2 %, respectively (figure 2.1). Film thickness after drying was measured with an electronic gauge (SODEXIM, Multichek FE, France) and was about 50 µm ± 4 µm.

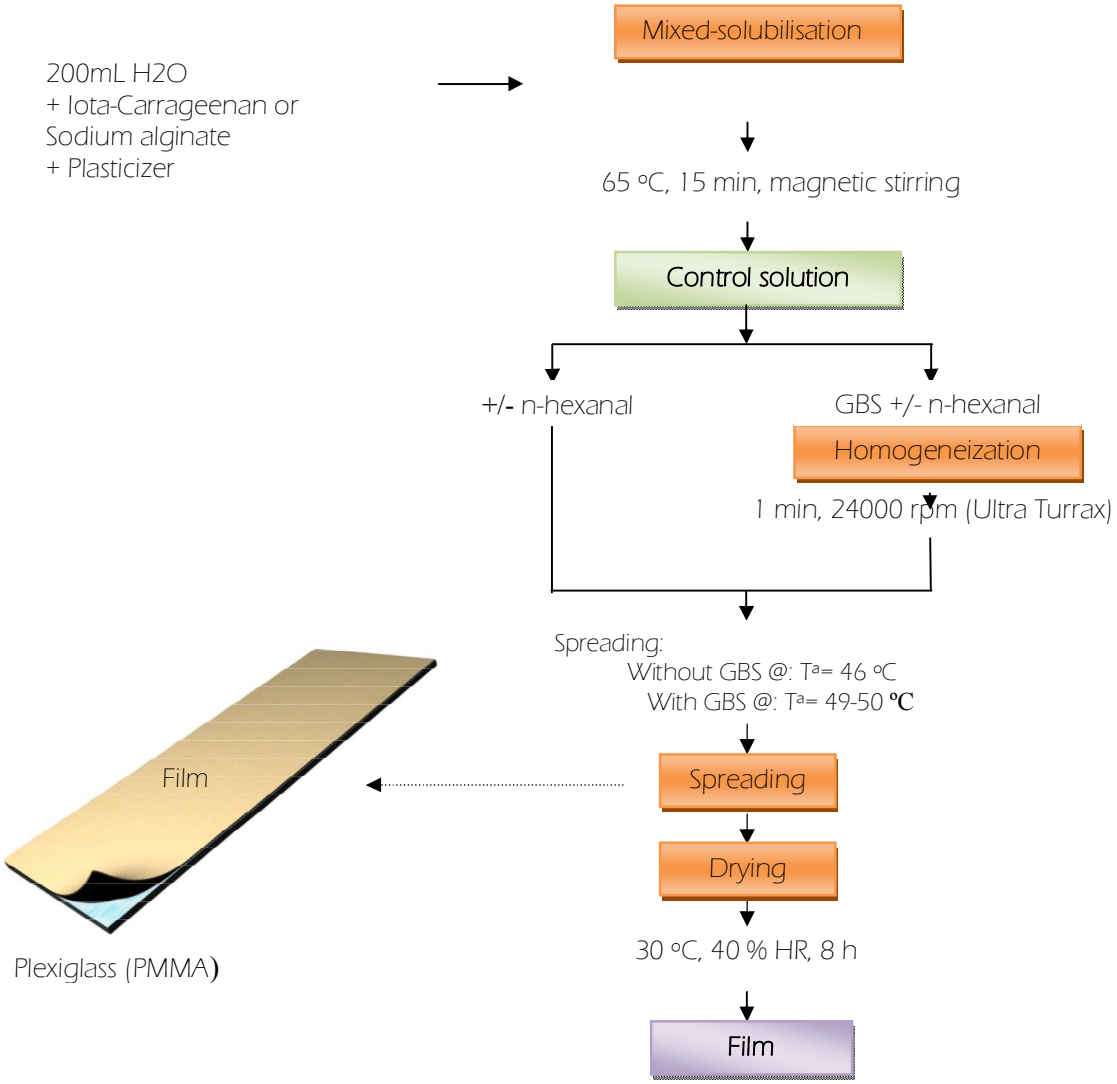


Figure 2.1. Edible Films preparation

A sodium alginate film-forming solution was prepared by dispersing 6 g of sodium alginate powder in 100 mL of distilled water at 65 °C for 15 minutes under magnetic stirring. 1.8 g of glycerol was then added in the sodium alginate solution still under magnetic stirring. For the sodium alginate emulsified films (Awf) 2.4 g of melted fat was dispersed in the film-forming solution. . For the films with encapsulated aroma compound 2g of n-hexanal (98% purity) was added. The next steps are the same as for iota-carrageenan based films.

Table 2.2 summarizes the types of films studied. Iota-carrageenan and sodium alginate based films equilibrated at 43% RH were analysed without fat (wof) and with fat (wf) in order to see the difference between emulsified and non-emulsified films. Also films with encapsulated n-hexanal (wa) and without encapsulated n-hexanal (woa) to study the impact of the aroma compound on the film properties. Finally control films, without fat and without encapsulated n-hexanal (woa-wof) were analysed at 0, 43 and 84% RH to better understand the influence of the relative humidity on the structure and barrier properties of films.

Tableau 2.2. Type of iota-carrageenan-based films and sodium alginate-based films studied.

Type of films	n-hexanal	Fat matter	Tested RH
woa-wof			0, 43, 84%
woa-wf		*	43%
wa-wof	*		43%
wa-wf	*	*	43%

woa-wa: without aroma compound - with aroma compound
wof-wf: without fat - with fat

2.2.2 Characterisation of edible films

- Film microstructure.

The film microstructure was observed by environmental scanning electron microscopy (ESEM, Phillips XL 30 ESEM, Japan). A 5x10 mm^2 film was fixed on the ESEM support using double side adhesive tape, with an angle of 90 ° to the surface, which allowed observing the film cross section. All films were cut with a razor to avoid morphologic damage. Films were observed at different magnifications from x100 up to x3000 with a voltage of 9.8 KV. Observations were carried out on the two sides (surfaces) of the film, the one in contact with the Plexiglas® support during film drying ("support side") and the other one in contact with the air during film drying ("air side").

- Emulsions structure.

The structure of the emulsions (film forming emulsion and emulsion-based films) was studied by laser light scattering. This technique is based on measuring the scattered light intensity caused by

the fat particles present within the sample. The diffraction angle is a function of the fat particle size, its shape and the wavelength of the incident light, and is inversely proportional to particle size. This allows measuring the distribution of the fat globules diameter in the emulsions.

The samples were prepared by dispersing 1g of dried film in 50mL of osmosed water at room temperature with moderate magnetic stirring, and measured using a Malvern Mastersizer Hydro 2000 SM (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK). To identify the incidence of fat globule aggregation, samples were also dispersed under moderate magnetic stirring in 50mL of a 0.1% (w/w) SDS solution at room temperature (Karbowiak T, Debeaufort F & Voilley A, 2007) Reproducibility was tested by carrying out three measurements of each replicate.

- Mechanical properties

A universal test Machine (TA.XT plus model, Stable MicroSystems, Haslemere, England) was used to determine tensile strength (TS), film elastic modulus (EM) and elongation (E) properties, according to ASTM standard method D882 (ASTM,1992). EM, TS and E properties were determined from stress –strain curves, estimated from force deformation data. Two samples of each film were selected for the tensile properties measurements. At least eight replicates of each type of film formulation were tested. The film samples had a rectangular section of 2.5 cm wide and 10 cm long. Before testing, all samples were equilibrated for 4 days at 0, 43 and 84%RH in a cabinet using silica gel, potassium carbonate and potassium chloride respectively at 25°C. Equilibrated film specimens were mounted in the film extension-grips of the testing machine and stretched at a rate of 50mm.min^{-1} until breaking. The relative humidity and temperature of the testing environment was controlled before and after each testing session with a thermohygrometer (testo 60 H2, Testo GmbH&Co., Lenzkirch, Germany) and was maintain for each relative humidity.

- Thermal properties

The thermal properties (phase transition, melting, etc.) was analysed by differential scanning calorimetry (DSC). This technique is based on measuring the energy necessary to establish a nearly zero temperature difference between the sample and an inert reference material. The energy required to preserve the same temperature is a measurement of enthalpy. Through the energy variation (endothermic if the energy is absorbed by the sample, exothermic if the energy is released by the sample) it is possible to study the phase transitions and other phenomenon inducing heat exchanges.

The differential scanning calorimetry was performed using a DSC Q20-084 (TA Instruments Ltd, Guyancourt, France). An empty capsule was used as an inert reference. Calibration of the DSC was done with indium. The heating and cooling rate was fixed at 10°C.min^{-1}. The following temperature program ranged between 20°C and 120°C was used to study the sol-gel transitions according:

heating from 20 to 120°C, cooling down to 25°C, heating again to 120°C, and finally cooling down to 20°C.

Samples were previously conditioned at 25°C and 30% of Relative Humidity (RH) for at least 7 day prior experiments. Reproducibility was tested by carrying out two measurements for each replicate. The following temperature program ranged between -120 and 200°C was used to study the phase transitions in films:

heating from 25 to 140°C, cooling down to -120°C, heating again to 140°C, cooling down to -120°C, heating again to 200°C and finally cooling down to 25°C.

Samples were previously conditioned at 25°C and 0, 43 and 84% of Relative Humidity (RH) for 4 days prior experiments. Reproducibility was tested by carrying out at least three measurements for each replicate.

2.2.3 Transfer measurements

- Moisture sorption isotherms

An Autosorp (Biosystems, Couternon, France) apparatus was used to determine the moisture sorption isotherms. To control humidity; HPLC grade water (Prolabo, France) was used. Triplicate film samples (250-300 mg), accurately weighed were placed into proper cells and previously conditioned at 25°C and 0% RH until constant weight. The desired RH conditions varied from 0 to 90% by steps of 10% RH. Samples were weighed periodically (0.01mg/hr variability) by triplicate with a time interval of 300 min until they attained a constant weight, then the equilibrium was assumed. The GAB model (Eq.1) was used to fit the curves for the wide range of aw values. The linear and polynomial regression analysis was carried out using Microsoft Excel.

$$W_e = \frac{W_c \cdot C \cdot k \cdot aw}{(1 - k \cdot aw) \cdot (1 + (C - 1) \cdot k \cdot aw)} \qquad (1)$$

where W_e is the equilibrium moisture content on dry basis (g water/g dry matter), W_c is the monolayer moisture value (e.g., monolayer value ± the amount of water required to coat all the primary binding sites), aw is water activity, C and k are the equation parameters, both are temperature dependent and related to the water sorption energy in the film.

- Water vapour transfer rate (WVTR)

The WVTR of films was measured gravimetrically. The method is based on the mass variation of the permeation cells over time. The WVTR equals to:

$$WVTR = \frac{\Delta m}{\Delta t \cdot \Delta p \cdot A} \cdot e \qquad (2)$$

Where $\Delta m/\Delta t$, is the weight of moisture loss per unit of time (g/s); A, the film area exposed to moisture transfer (m^2); e, the film thickness (m); and Δp, the water vapour pressure difference between the two sides of the film (Pa).

The samples were conditioned at 25°C and 30% of Relative Humidity (RH) for at least 7 days prior experiments. Film samples were placed between two teflon rings on the top of the glass cells containing the salt solutions (KCl RH=84%, NaCl RH=75%) or distilled water (RH=100%) (Figure 2.2). The measurements were done during 20 days at two different temperatures, 25°C and 35°C. Four replicates by each type of film were done.

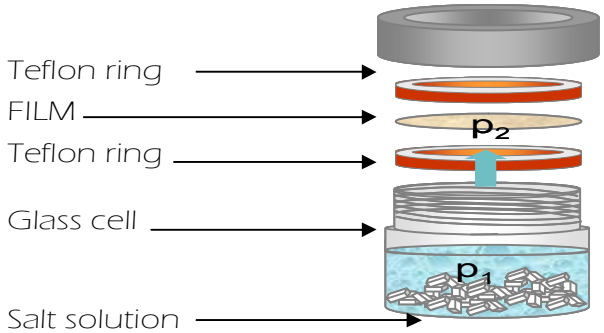


Figure 2.2. WVTR permeation cell

- Water liquid transfer rate (WLTR) and contact angle

The WLTR of films was assessed with a Digidrop DX goniometer (GBX, Romans, France) equipped with an image analysis software (dropshape analysis). This tool is used not only for contact angle and surface energy applications as usual, but also to measure the absorption or "liquid permeability". A water droplet (~1.5 µL) was deposited on the film surface with a precision syringe. Then, the method is based on image processing and curve fitting for contact angle measurement and droplet volume. Data experimentally acquired are the contact angle (θ), the droplet surface area exposed to air (*AS*), the droplet base area in contact with the film (*AB*) and the droplet volume (*V*) as function of time *t* (Quezada-Gallo, Debeaufort & Voilley, 2000). The effect of evaporation was evaluated on an impermeable reference surface: aluminum foil. Absorption flux (Fabs) was obtained from the drop volume kinetics taking into account the evaporation flux (Feva) according to Karbowiak, *et al.*, (2006a,). When a water drop is deposited onto a solid surface, two mechanisms are involved in the decrease over time of volume and contact angle: evaporation, due to the pressure difference between the water drop and the surrounding atmosphere, and absorption inside the film.

$$V(t) = V(0) - Veva(t) - Vabs(t) \qquad (3)$$

where *Veva* is the evaporated volume (µL) and *Vabs* is the absorbed volume (µL).

Considering absorption is negligible in aluminium foil, it was used as reference to estimate the evaporation flux *Feva* as follows:

$$Feva = \frac{Veva(t) - Veva(t + dt)}{AS(t) \cdot dt} = \frac{dVeva}{AS(t) \cdot dt} \quad (4)$$

where *AS* is the surface area of the water droplet on this reference material.

The volume absorbed by a hydrophilic material can therefore be calculated after the subtraction of the evaporated volume. The initial volume of the droplet as well as the contact area is dependant upon the measurement as they are controlled manually by accurate syringe. The absorbed volume at time *t* can be determined from the reference evaporation flux and the surface area of the droplet on the tested surface:

$$dVabs(t) = V(t) - V(t + dt) - dVeva(t) = dV(t) - dVeva(t) \quad (5)$$

$$dVabs(t) = dV(t) - Feva \cdot dt \cdot AS(t) \quad (6)$$

where *AS* is the surface area of the water drop on the tested surface.

The absorption flux *F*abs is thus the absorbed volume per base area unit (that corresponds to the interface liquid/solid) and per time unit:

$$Fabs = \frac{dVabs}{AB(t) \cdot dt} \quad (7)$$

where *AB* is the base area of the water drop on the tested surface.

When the droplet volume increases, Fabs cannot be estimated ant then a swelling index was calculated. The swelling index was obtained from the drop volume kinetics using the following equation:

$$swelling_{index} = \frac{\Delta V}{V_0} \cdot 100 = \frac{(V_2 - V_1)}{V_0} \cdot 100 \quad (8)$$

Where ΔV is the droplet volume variation (µL) during dt time (s) measured on the film sample. V_2 is the maximal volume (µL) of the droplet, V_1 is the minimal volume (µL) of the droplet and V_0 is the initial volume (µL) of the droplet.

All films were preconditioned in a chamber at 0, 43 and 84% RH. To avoid interferences due to competing moisture exchange at the surface around the droplet, the environment was also conditioned at the same relative humidity. All measurements were made on the two sides of the films, the "support side" and the "air side." The measurements of the contact angle and of the volume absorbed were made in the first 120 s of the test. At least six measurements per films were carried out.

- Aroma Vapor sorption measurements.

The method employed was the modified "micro-atmosphere" technique based on the vapor sorption kinetic for which the sorbed aroma compound was determined by GC after n-hexane extraction (Quezada-Gallo *et al.* 1999). Small pieces of films (±1 cm^2) were disposed in small baskets suspended in a flask chamber with an atmosphere continuously swept (5 mL/min) by a carrier gas (nitrogen) containing pure saturated aroma compound as previously determined by Quezada-Gallo (1999) (figure 2.3). The flasks were maintained at 25 °C in a thermostated water bath. At regular time intervals, film samples (0.3 g) were placed into small airtight vials containing n-hexane (extraction solvent).

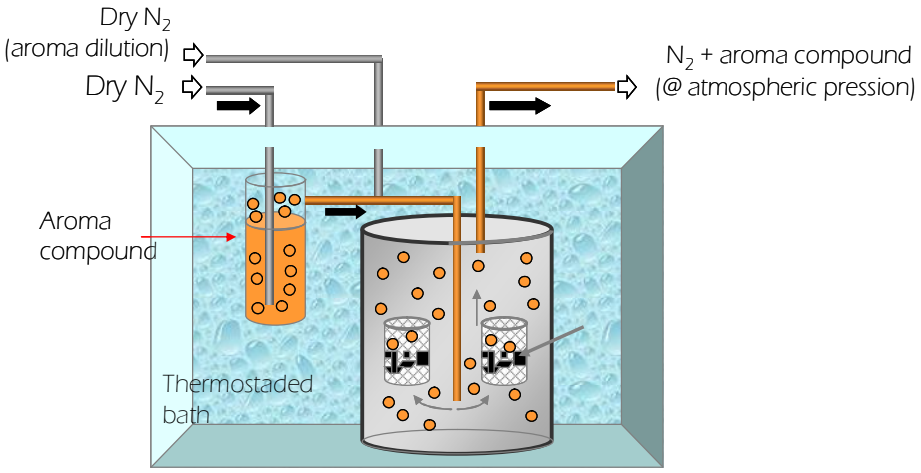


Figure 2.3. Micro-atmosphere technique model

The total amount of aroma compound sorbed until constant content (5-7 days) was extracted during 24 h. The extract was then analyzed by GC. The ratio between the amount of aroma compound in the extractive solvent with respect to the amount initially incorporated in the film just prior extraction system allowed to calculate the extraction yield (in percentage) for each type of film. The extraction yield was 94 % for iota-carrageenan films and 96 % for sodium alginate films.

The extract was injected (1.5 µL) in split less mode into the Chrompack CP 3800 GLC (Varian, France) equipped with a flame ionization detector (FID). A packed column (3 m length, 1.8 in tube diameter) coated with a stationary phase Carbowax (100/120 mesh) was used. Gas flow rates were: nitrogen (carrier gas) 30 mL/min, hydrogen 25 mL/min and air 250 mL/min. The analysis conditions were: oven temperature 140 °C, FID temperature 250 °C and injector temperature 240 °C. Each measurement was made at least in triplicate.

Aroma compounds sorption kinetic in the films was done, until the equilibrium was reached, this means until the total amount of aroma compound sorbed was constant M_∞ (5-7 days). Aroma compound solubility in the film was then calculated by Eq. (9)

$$s = M_{\infty} \times \frac{\rho}{p} \qquad (9)$$

where M_{∞} is the aroma amount sorbed theoretically after infinite time ($kg.kg^{-1}$), ρ is the film density ($kg.m^{-3}$) and p is the compound vapour partial pressure (Pa) above the film sample.

- Aroma compound diffusion measurements by FTIR-ATR.

The infrared spectroscopy explores the interactions between the atoms and their vibrations. The vibrational frequencies are determined by the shape, the mass of the atoms and eventually by the associated vibronic coupling.

Iota-carrageenan and sodium alginate film samples (with and without fat) were analysed in a Bruker Vector 22 spectrometer in attenuated total reflectance (ATR). The sampling technique of ATR is based upon contact between an infrared transparent crystal or an optical waveguide, and a surrounding medium of lower refractive index (Figure 2.4).

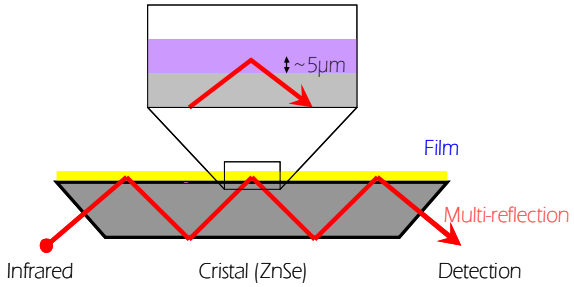


Figure 2.4. FTIR-ATR reflection technique

When a material, which selectively absorbs infrared radiation, is in close contact with the reflecting surface the radiation loses energy during each reflection in contact with the sample at the wavelength where the material absorbs. The resultant attenuated radiation is measured and an infrared spectrum of the material plotted. The magnitude of dp (penetration depth) depends upon the wavelength of the radiation,λ the refractive index of the ATR crystal, n_1, the refractive index of the surrounding medium, n_2, and the angle of the beam at the surface of the waveguide, α. The ATR device incorporated a zinc selenide crystal (refractive index, n_1=2.4), with angle of incidence, α=45. Data were accumulated from 10 scans with a resolution of 4 cm^{-1} in the range of 4000-900 cm^{-1}. Samples were cut with a surface of 6 cm^2, conditioned at 25 °C and 30% RH closely applied on the crystal surface. After subtraction of reference spectrum (films spectrum at initial time) the aroma compound was then added in solution covering the entire films surface and the diffusion was followed by the detection of the specific vibration peaks (n-hexanal, 1745 cm^{-1} and D-limonene, 888

cm^{-1}) during 15 min (sodium alginate films) and during 30 min (i-carrageenan films). Reproducibility was tested by carrying out three repetitions for each type of film. Identification of aroma compound diffusion coefficients were performed using MATLAB® software (The Mathworks Inc, Natick, MA, USA) according to Karbowiak *et al.*(2009).

- Determination of the apparent diffusion coefficient from aroma vapour sorption kinetics.

The diffusivity could be obtained from the sorption kinetic assuming the following hypothesis. When the apparent diffusivity D_{app} is constant and independent of the concentration, the transfer rate through a sheet of thickness 2L (m) immersed in an atmosphere of infinite volume with a constant concentration of diffusing substance (C_{eq}, $kg.m^{-3}$) and with an infinite mass convection coefficient can be expressed by the generalized second Fick's law Eq. (10) (Cranck, 1975).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \qquad (10)$$

The following initial and boundary conditions were considered, (Eqs. 11 to 14). Eq. (14) was obtained by integrating Eq. (10) for a sheet of 2L thickness (Crank, 1975),

$$C = C_0 = 0\,;\ 0 \geq x \geq L\,;\ t=0 \qquad (11)$$

$$C = C_e = C_{max}\,;\ x=L\,;\ t \geq 0 \qquad (12)$$

$$\partial C/\partial x = 0;\ x=0;\ t \geq 0 \qquad (13)$$

$$\frac{Mt}{M_\infty} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2+1)^2 \pi^2} \cdot \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4L^2} \cdot Dt\right] \qquad (14)$$

where t is the time (s) and M_t the total amount of vapour sorbed by the film at time t ($kg.kg^{-1}$). Aroma compound (n-hexanal and D-limonene) apparent diffusivity within the films was estimated by fitting Eq. (14) to the experimental sorption kinetic data using a pre-estimation of D using Excel. The equation was fit with n=3.

- Diffusivity measured by the multilayer cell.

The objective of this study is to consider the diffusion of the encapsulated aroma compound within the film. The following assumptions were took into account to simplify the diffusion problem as Feigenbaum et al (1997) did for diffusion of pollutant in recycled polymers. Some assumptions have been adopted as:

- The packaging consists of several layers of the same polymer in perfect contact between layers.

- There is no resistance to mass transfer at the interface between the layers.
- We consider the behavior of a single molecule. Initially, its concentration is uniform in the two external layers, while the internal layer is free from the diffusing molecule. In other words, the profile of concentration of the active molecule is supposed to be perpendicular at the film layers interface.
- The diffusivity of the active molecule is constant and identical in both film layers. This is not too far from reality since the two layers are made from the same polymer. The transport is unidirectional.
- The thickness of each layer remains constant. Swelling of the polymer is considered negligible since the concentration of the pollutant is expected to be very low.

The study of the diffusion cell consists in a three layer test, super-imposing three films, creating the geometry of a film barrier in order to reduce the time needed for the experiments and to obtain a better sensitivity, the test was carried out with an inner layer of a "virgin" film (without encapsulated aroma compound) and two outer "contaminated" (with encapsulated aroma compound) layers (figure 2.5).

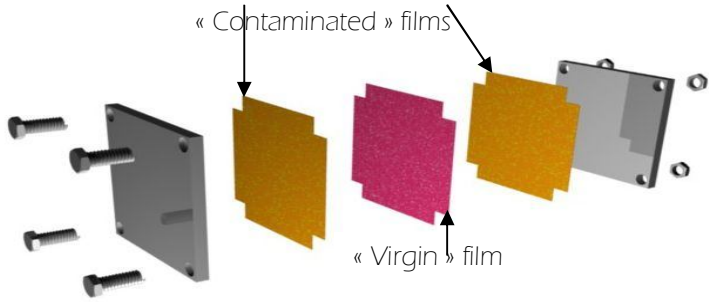


Figure 2.5. Three layer diffusion cell.

An intimate contact between layers is a fundamental condition. This intimate contact was achieved by putting the three layers into a metallic cell and applying a significant pressure. Three replicates for each type of film were made; this means three cells for each type of polymer (i-carrageenan and sodium alginate). All the cells were put into a chamber with controlled relative humidity at 43%. To follow the kinetics of diffusion a piece of 1cm^2 of the virgin film was taken, the first day every 5 hours and then once per day for seven days. All samples are stored in a chamber to maintain the humidity equilibrium. The aroma compound was then extracted in a vial with water until complete dissolution of the film. The extract was then analyzed by GC. The extract was injected (1.5 µL) into a Chrompack CP 9000 gas chromatograph with a flame ionizing detector (FID) and a stainless steel Carbowax 20W/AW column of 3m length and 1/8' internal diameter. The oven temperatures were isotherm at 90°C. The detection port (FID) and injection port temperatures were190°C. For each cell two replicates were made, having a total of six replicates for each type of film and for each kinetic point.

A major characteristic to take into account for the diffusion in multi-layers is the time lag. The concept of lag time is easy to understand with common sense. Before lag time, the small molecule diffuses through the barrier without reaching the surface meant to come in contact with food. After lag time, it may migrate into food. The more efficient the barrier, the longer the time lag. Nevertheless it is difficult to define time lag from a theoretical point of view since the concentration on the surface can always be calculated, even if it reaches very low values (Feigenbaum *et al.* 1997).

If $t_{0.5}$ is the time corresponding to $M_t/M_\infty = 0.5$, then for concentration-independent Fickian diffusion (Crank, 1975):

$$D = 0.04919\frac{h^2}{t_{0.5}} \qquad \text{plane sheet; sorption into both faces } 0 \le x \le h \qquad (15)$$

Of course time lag depends on the polymer, on the diffusing substance, and on the thicknesses of the layers.

- Aroma compound vapor permeability.

To carry on the aroma compound vapor permeability, we used a dynamic method set up by Debeaufort and Voilley (1994) measuring the aroma compound vapor fluxes through films installed in a permeation cell. The basis of the isobaric dynamic method is the aroma compound transfer in the vapour phase through the film. Analyses were carried out on a gas chromatograph (Chrompack, CP 9000, Middelburg, Netherlands) with a flame ionizing detector (FID) and a stainless steel Carbowax 20 W/AW column of 3 m length and 1/8 ' internal diameter. The permeation cell (Figure 2.6) was composed of two chambers divided by the film to be studied. The film area exposed to transfer was 15.9 cm^2.

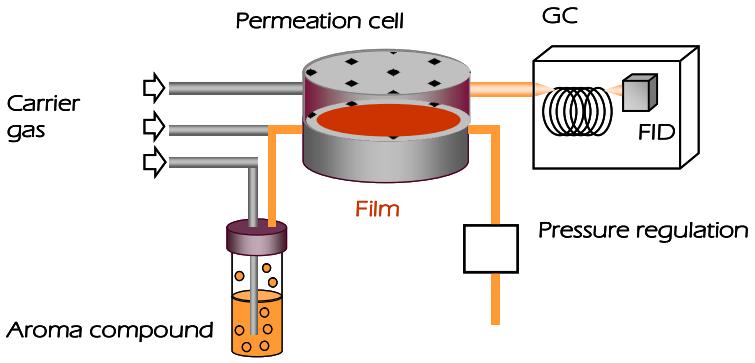


Figure 2.6. Aroma compound permeation cell.

For measures the support side of all type of films was always exposed to the atmosphere enriched by the aroma compound which permeability was studied. Operating conditions were as follows: the two chambers were continuously swept by a 30 mL min^{-1} dry nitrogen flow (carrier gas) in the

downside chamber and aroma compound flow (dry) in the upperside chamber at 25 °C according to Quezada-Gallo *et al.* (2000). The oven temperatures were
isotherm at 90 °C for the ethyl acetate, ethyl butyrate, ethyl hexanoate and D-limonene, 100 °C for the 2-hexanone, and 110 °C for the 1-hexanol and *cis*-3-hexenol. The FID and injection port temperature were fixed at 190 °C. The volatile compounds passing across the film were swept by a dry carrier gas (N_2) and carried out to an automatic injection valve through a transfer line heated at 100 °C to prevent adsorption. A total of 1 mL of the carrier gas was automatically injected at periodical time into the gas chromatograph.
Films were equilibrated at 30 and 43 % relative humidity at 25°C before permeability determinations. Aroma compound permeability was measured at ~0% and 43% relative humidity At least three replicates were made for each permeability measurement.

From sorption kinetics or from measured diffusion coefficients, aroma compounds permeability through both packaging films was estimated with the following equation and according to Eq. 15.

$$P = D \cdot S \qquad (16)$$

Aroma compounds permeability was also estimated with calculation from mean solubility (Eq. 9) and diffusivity coefficients from Eq.14.

- Aroma compound absorption: liquid permeability.

A liquid permeability of the films to the different aroma compounds was estimated from the drop volume variation measured by goniometry (GBX, France) as the same method previously described for water liquid transfer rate.

- Oxygen Permeability (OP)

In order to measure oxygen permability, the film was placed between two teflon rings, in a permeation cell which has two chambers using the same design that for aroma vapour permeability (figure 2.6). On one side of the film, air (20.9% O_2) was circulating whereas the other side of the film was continuously swept with a carrier gas (helium) and finally analysed with a chromatograph (Chrompack CP9000). The column was a 6m and 1/8' internal diameter of a molecular sieve of 5Å packing. The oven, injector and TCD (thermal conductimetry detector) temperatures were 80, 100 and 100°C respectively. The samples were conditioned at 25°C and 30% HR for at least 7 days prior experiments and the area exposed was 15,9 cm^2

2.2.4. Identification of physicochemical interaction by FTIR

The infrared spectroscopy explores the interactions between the atoms and their vibrations. The vibrational frequencies are determined by the shape, the mass of the atoms and eventually by the associated vibronic coupling. The same equipement (Bruker Vector 22 spectrometer) was used in

the same condition that for diffusivity of liquid aroma compounds measurements. But, the spectrum may be plotted, which shows at which wavelengths the sample absorbs the infrared, and allows an interpretation of which bonds are present. In the Fourier transform infrared spectroscopy in transmission, a beam of infrared light is passed through the sample, and the amount of energy absorbed at each wavelength is recorded. The samples were cut with a surface of $6cm^2$ and conditioned at 25°C and 30% of Relative Humidity (RH) for at least 7 days prior experiments. The spectra of film were obtained by transmission whereas that of pure n-hexanal was measured by Attenuated Total Reflectance (ATR). Reproducibility was tested by carring out three measurements for each sample.

2.2.5. Statistical analysis.

All data were analysed and compared using variance analysis (ANOVA) and Student-Neuman-Keuls t test to determine the significance of mean differences at a p level=0.05 using SAS stat (SAS Institute Inc, version 9.1, Cary, NC) or using XLSTAT (version 2010) at $p<0.05$ level with the Tukey test (HSD).

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES 24
2.1 MATERIAL 25
2.1.1 Hydrocolloids 25
2.1.2 Lipids and emulsifier 25
2.1.3 Plasticizer 25
2.1.4 Aroma compounds 25
2.1.5 Other components 26
2.2 METHODS 27
2.2.1 Edible films preparation 27
2.2.2 Characterisation of edible films 28
☐ Film microstructure. 28
☐ Emulsions structure 28
☐ Mechanical properties 29
☐ Thermal properties 29
2.2.3 Transfer measurements 30
☐ Moisture sorption isotherms 30
☐ Water vapour transfer rate (WVTR) 30
☐ Water liquid transfer rate (WLTR) and contact angle 31
☐ Aroma Vapor sorption measurements. 33
☐ Aroma compound diffusion measurements by FTIR-ATR. 34
☐ Determination of the apparent diffusion coefficient from aroma vapour sorption kinetics. 35
☐ Diffusivity measured by the multilayer cell. 35
☐ Aroma compound vapor permeability. 37
☐ Aroma compound absorption: liquid permeability. 38
☐ Oxygen Permeability (OP) 38
2.2.4. Identification of physicochemical interaction by FTIR 38
2.2.5. Statistical analysis. 39

CHAPITRE 3.

Effet de l'incorporation du composé d'arôme et/ou du lipide sur les propriétés physiques des films à base d'hydrocolloïdes.

Ce chapitre présente l'impact de l'incorporation d'une molécule active (n-hexanal) et/ou d'un lipide dans la matrice à base d'iota-carraghènane ou d'alginate de sodium sur ses propriétés physiques. Ces résultats sont extraits de différentes publications, ils ont été réorganisés pour une meilleure compréhension et pour éviter les redites.

3.1 Thermal properties (DSC).

The quantitative analyses of phase transitions can be assessed by differential scanning calorimetry which measures the heat energy exchanges. This technique allows to characterize physical state modifications of edible films such as the sol-gel transition temperature, the glass transition, the melting and the crystallization. Indeed the introduction of the aroma compound or lipid in the hydrocolloid matrix could induce structural changes able to be displayed by the DSC.

(Publication 1)

The aroma compound effect on the transition temperatures of iota-carrageenan films has been studied by DSC in order to observe the films modifications and their evolution according the temperature. The thermogram (Figure 3.1) displays how the aroma compound modifies the film structure increasing the supposed sol-gel transition temperature (Tsol-gel): without the aroma compound, the endothermic peak is at 50°C (onset) and with the aroma compound, the peak rise up to 85°C. The gelation mechanism of iota-carrageenans is based on the association in double helix of the chains of polymer in solution (Yuguchi et.al, 2002). The Tsol-gel temperature is shifted by the n-hexanal which the aldehyde fonction is very reactive and probably interacts with the lateral chains of iota-carrageenan and then disturbs the gelation process. The Tsol-gel enthalpy varies significantly after the aroma compound and/or fat matter are added.

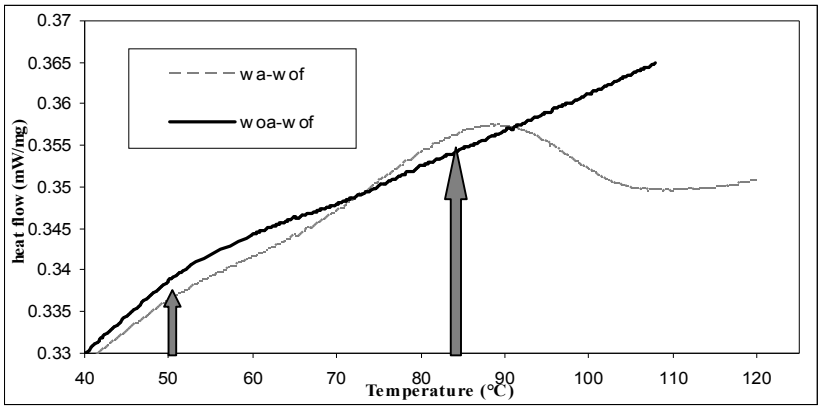


Figure 3.1. Heating thermogram of iota-carrageenan-based films without fat matter, with (wa:wof) and without aroma (woa:wof) compound, obtained after one heating cycle.

In the Figure 3.2 the melting temperature peak of fat matter is lower than that of the Tsol-gel of iota-carrageenans. When the aroma compound is added the range of Tsol-gel temperature is lightly shifted down from 32-46°C to 31-37°C and its activation energy decreases from 0.60 to 0.48 mW/mg. Due to its hydrophobic nature, the aroma compound is going to interact uppermost with the fat in the iota-carrageenan and fat matter mixture. This phenomenon has been observed by Quezada-Gallo (1998) who proposes to apply waxes as aromas compound coatings. Nevertheless, Wulff *et al.* (2004) have shown that small aroma compounds as n-hexanal have weaker associations constants with the polyosidic helix polymers and then the interactions are of low energy. Besides Rojas-Graü *et al.* (2007) showed that different aroma compounds (citral, cinnamaldehyde, carvacrol) or essential oils (oregano, cinnamon and lemongrass oils) increase elongation and decrease the tensile strenght of alginate-apple puree films. These authors suggested that a plasticization phenomenon of films occurs due to aroma compounds.

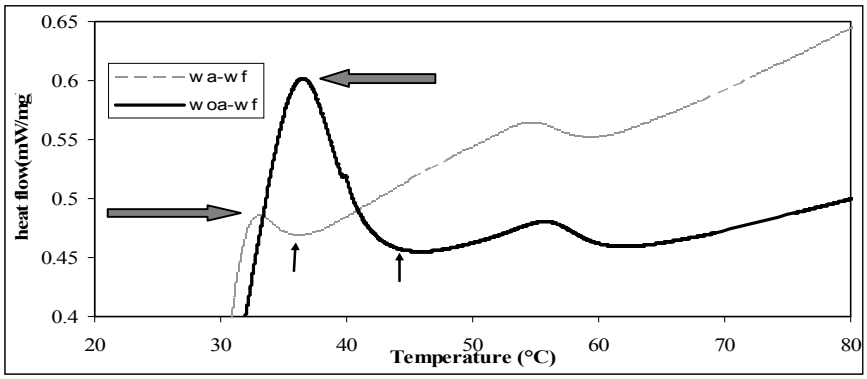


Figure 3.2. Heating thermogram of iota-carrageenan-based films with fat matter, with (wa:wf) and without aroma (woa:wf) compound, obtained after one heating cycle.

(Publication 3)

The encapsulated aroma compound effect on the transition temperatures of sodium alginate films has been studied by DSC in order to observe the film evolution according the temperature. The thermogram (Figure 3.3) shows how n-hexanal disturbs the film structure modifying the supposed sol-gel transition temperature (Tsol-gel); without encapsulated aroma compound the Tsol-gel peak of alginate films is at 55°C, with the n-hexanal presence the Tsol-gel peak is no longer at 55°C. This is probably due to the aldehyde group of the n-hexanal which is very reactive reactive and interacts with the hydroxyl group of the alginate molecule, leading to a modification of the egg box structure, reducing the chains mobility, at the gelation mechanism and improving cross-linking.

Studies carried out showed that the calcium ions bonded to the alginate molecules could be displaced by the aldehydes (Miura *et al.* 1999). Russo *et* al. (2007) showed that when the mobility of the matrix is altered, the Tsol-gel peak can increase. Usually with the introduction of the cross-linking points the Tg increases because of the reduce mobility of chain segments.

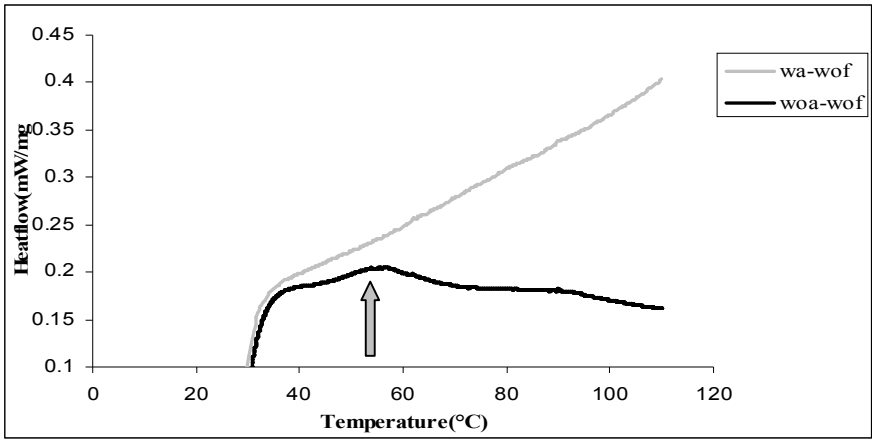


Figure 3.3. Heating thermogram of sodium alginate-based films without fat matter, with (wa:wof) and without aroma (woa:wof) compound, obtained after one heating cycle.

The Tsol-gel varies significantly when the encapsulated aroma compound and the fat are present;. Figure 3.4 shows that the peak of the fat matter is lower than that of the Tsol-gel peak of the alginate alone. When the n-hexanal is added, the Tsol-gel peak is no longer affected, neither is the peak of the fat matter, but the activation energy increases from 0.15mW/mg to 0.3Mw/mg. A strong interaction is present among all the compounds inside the film matrix; this promotes stabilization since there are no changes on the peaks. Also the encapsulated aroma compound due to its fairly hydrophobic nature interacts more with the fat matter than with the alginate matrix. We have observed this phenomenon in i-carrageenan films) also Zinoviadou K, *et al.* (2009) showed that a change in the thermal properties of edible films could be due to a plasticizing action

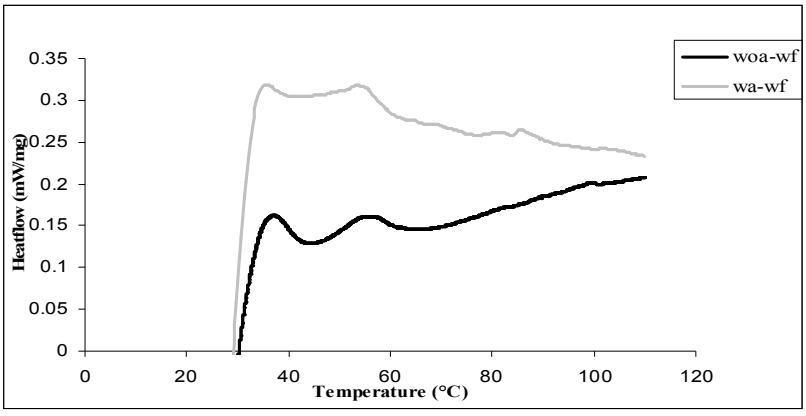


Figure 3.4. Heating thermogram of sodium alginate-based films with fat matter, with (wa:wf) and without aroma (woa:wf) compound, obtained after one heating cycle.

3.2 Film microstructure.

(Publication 2)

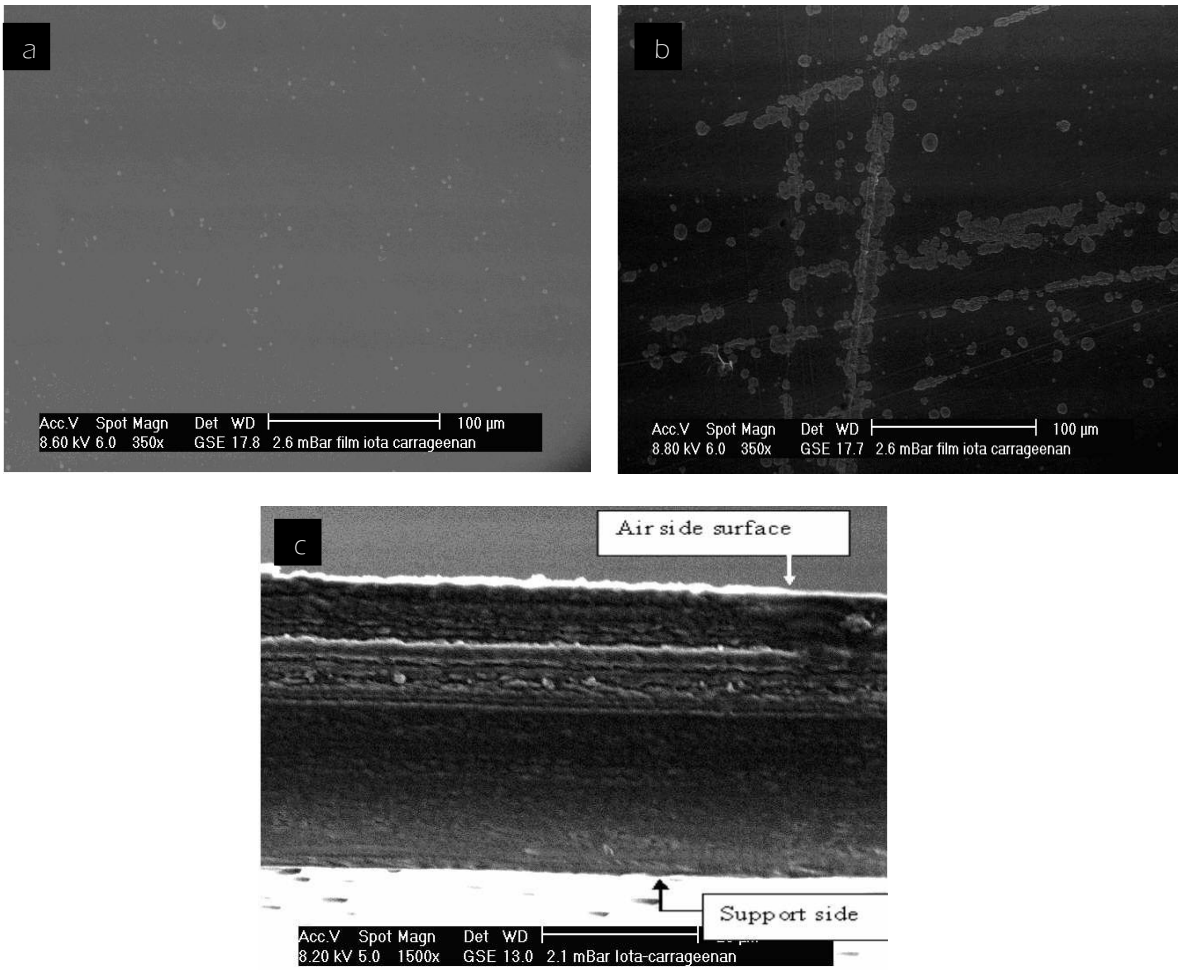


Figure 3.5. Micrograph of iota-carrageenan-based film without aroma without fat (woa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

The micrographs obtained from ESEM of the iota-carrageenan-based film without encapsulated aroma compound without fat (woa-wof) are given in Figures 3.5a, 3.5b and 3.5c. The structure of this film is homogeneous. The air side observation (Figure 3.5a) shows some spots of glycerol that went up to the surface. On the contrary, the figure 3.5b shows a more homogeneous surface on the "support side" except some defects caused by the Plexiglas surface. Cross section observation of woa-wof films displays some discontinuities like layers (Figure 3.5c). This is due to the film retraction during the drying step and iota-carrageenans strings arrangement as layered structure.

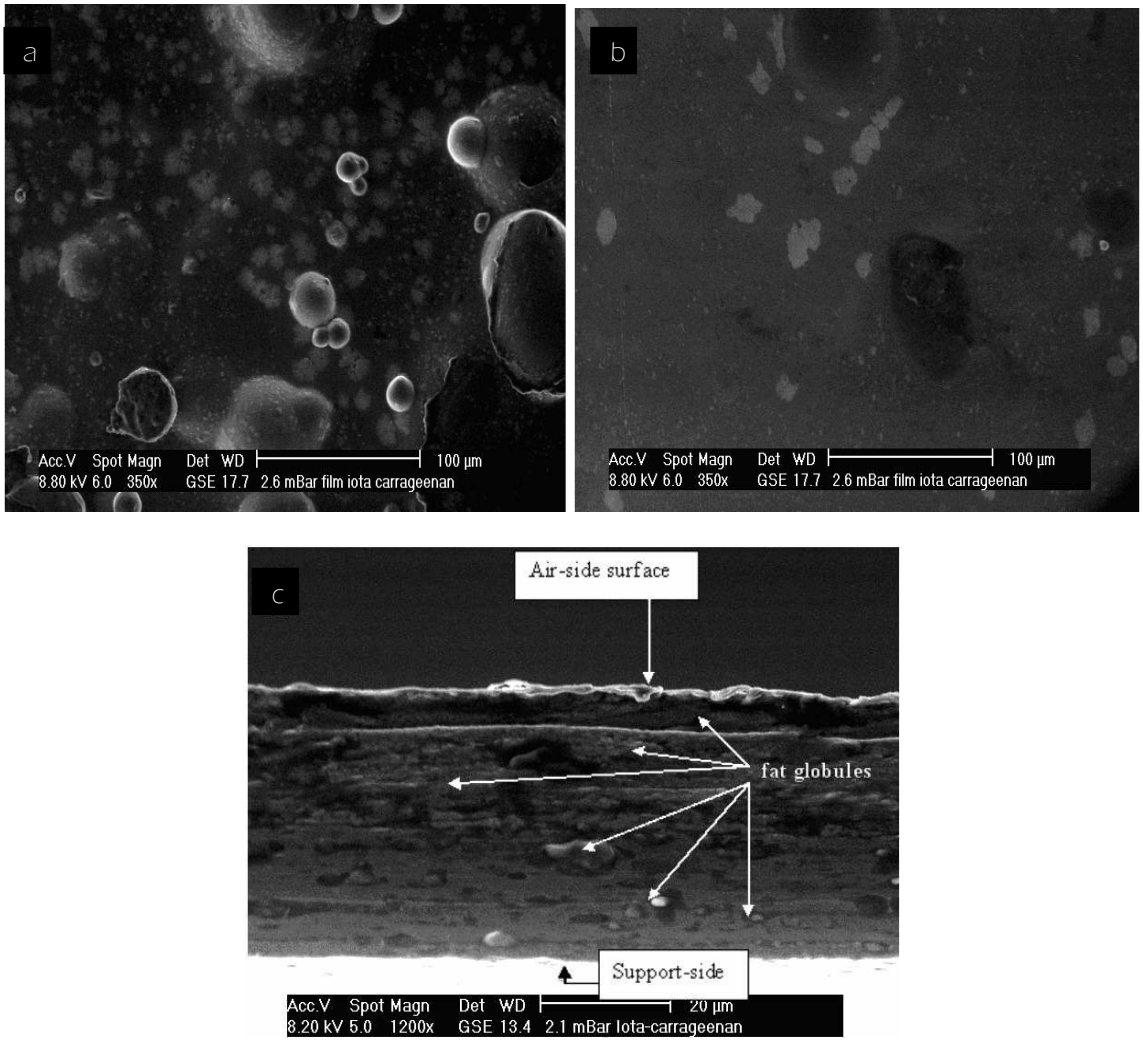


Figure 3.6. Micrograph of iota-carrageenan-based film without aroma with fat (woa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

For the iota-carrageenan-based films without encapsulated aroma compound with fat (woa-wf), the micrographs (Figures 3.6a, 3.6b, 3.6c) shows that the fat goes up to the air side of the film. The lipid globules migrate toward the air drying surface because of density difference between the iota-carrageenan solution and fat. Then fat globules concentration at the air drying surface favours aggregation and then aggregates.

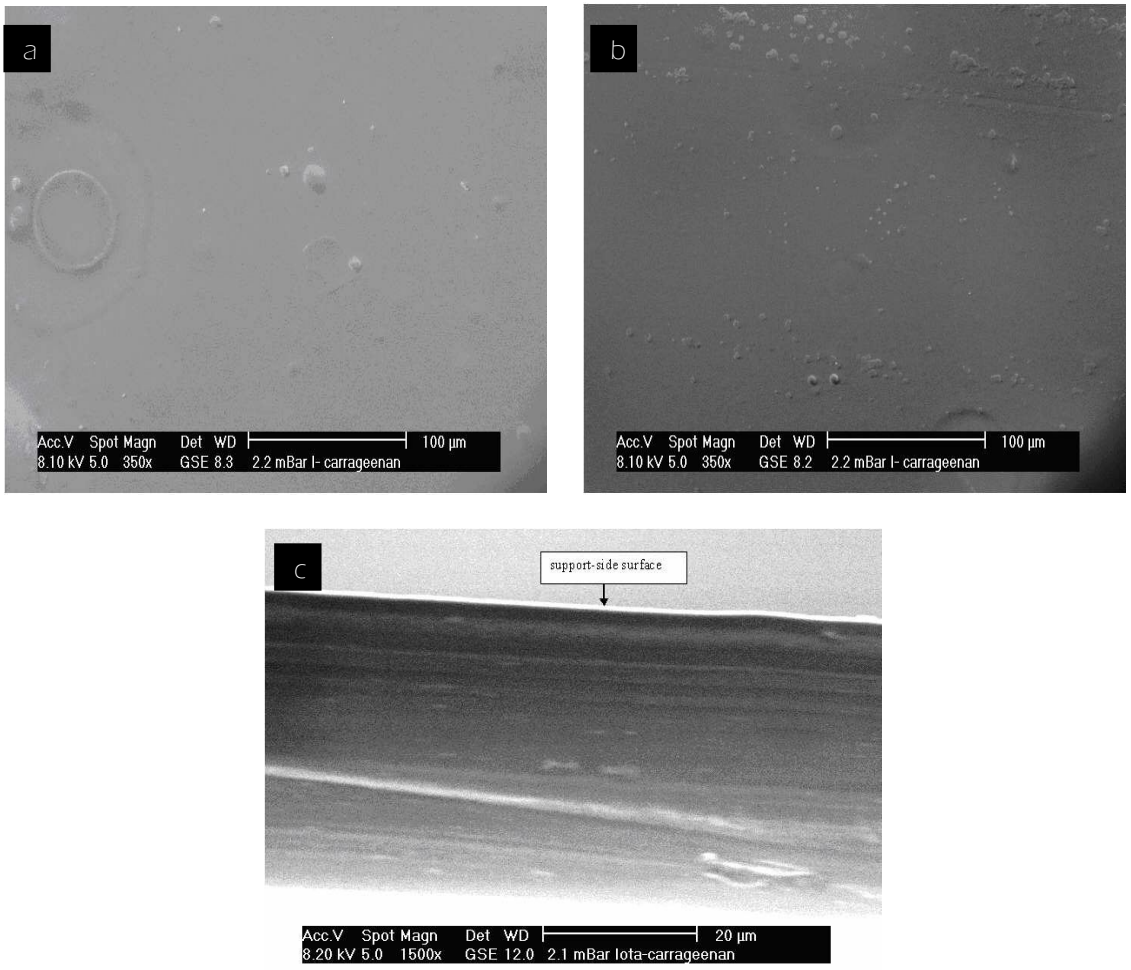


Figure 3.7. Micrograph of iota-carrageenan-based film with aroma without fat (wa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

In the iota-carrageenan-based film with encapsulated aroma compound without fat (wa-wof), figures 3.7a and 3.7b shows that the glycerol also goes up to the air side and also on the support side. The presence of the encapsulated aroma compound promotes a much more homogeneous structure within the film as observed for the cross section (Figure 3.7c). This is probably due to the amphipolar character of the aroma compound which plays a stabilizing role at the interface. Indeed, DSC measurement done on these films showed that double helices arrangement of iota-carrageenans does not occur in the presence of n-hexanal which strongly disturbs the network organization.

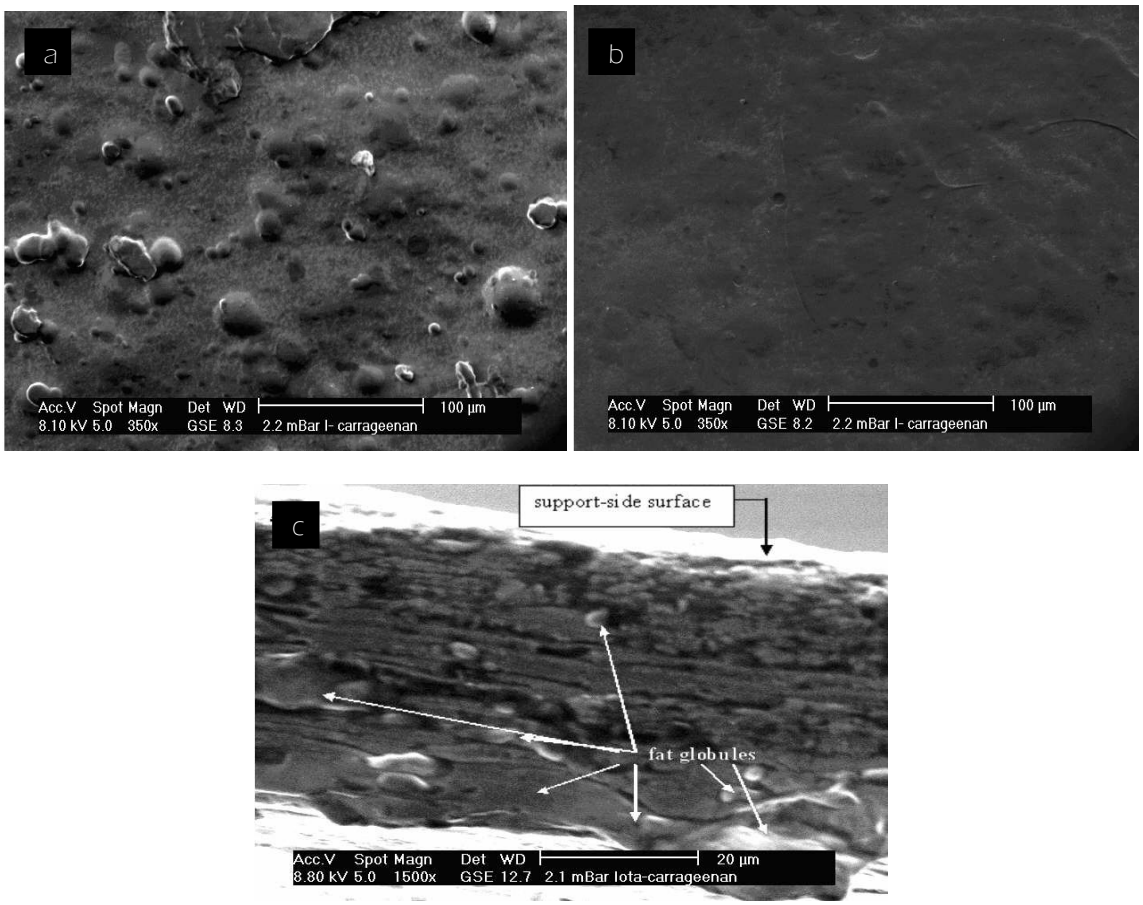


Figure 3.8 Micrograph of iota-carrageenan-based film with aroma with fat (wa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

On the contrary, figures 3.8a, 3.8b and 3.8c show that the iota-carrageenan-based film with encapsulated aroma compound with fat (wa wf), have a very heterogeneous structure. The fat still migrates to the air side even with the encapsulated n-hexanal aroma compound.

(Publication 3)

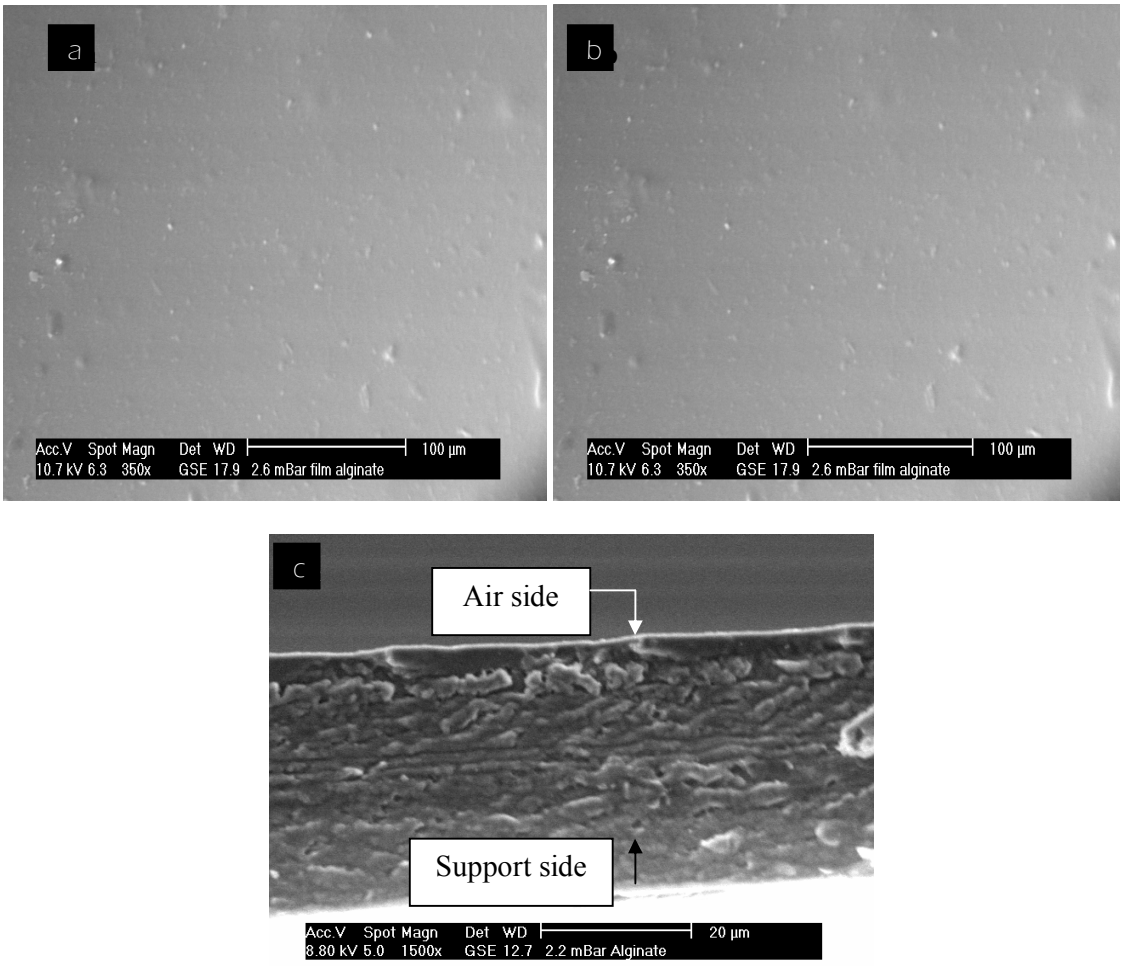


Figure 3.9. *Micrograph of sodium alginate-based film without aroma compound without fat: (woa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.*

Figure 3.9, presents the microscopy images of **sodium alginate**-based film without encapsulated aroma compound and without fat (woa-wof). The film surface is very homogeneous (Fig 3.9a). Nevertheless, there are some spots also distributed in a homogeneous way that could correspond to the plasticizer which goes up in the air side, probably because of a phase separation. The alginate films at the support side presents a surface which is quite homogeneous and very smooth (Fig 3.9b). This is corroborated by Figure 3.9c that shows the cross section of the film. The air side of the film is denser than the support side.

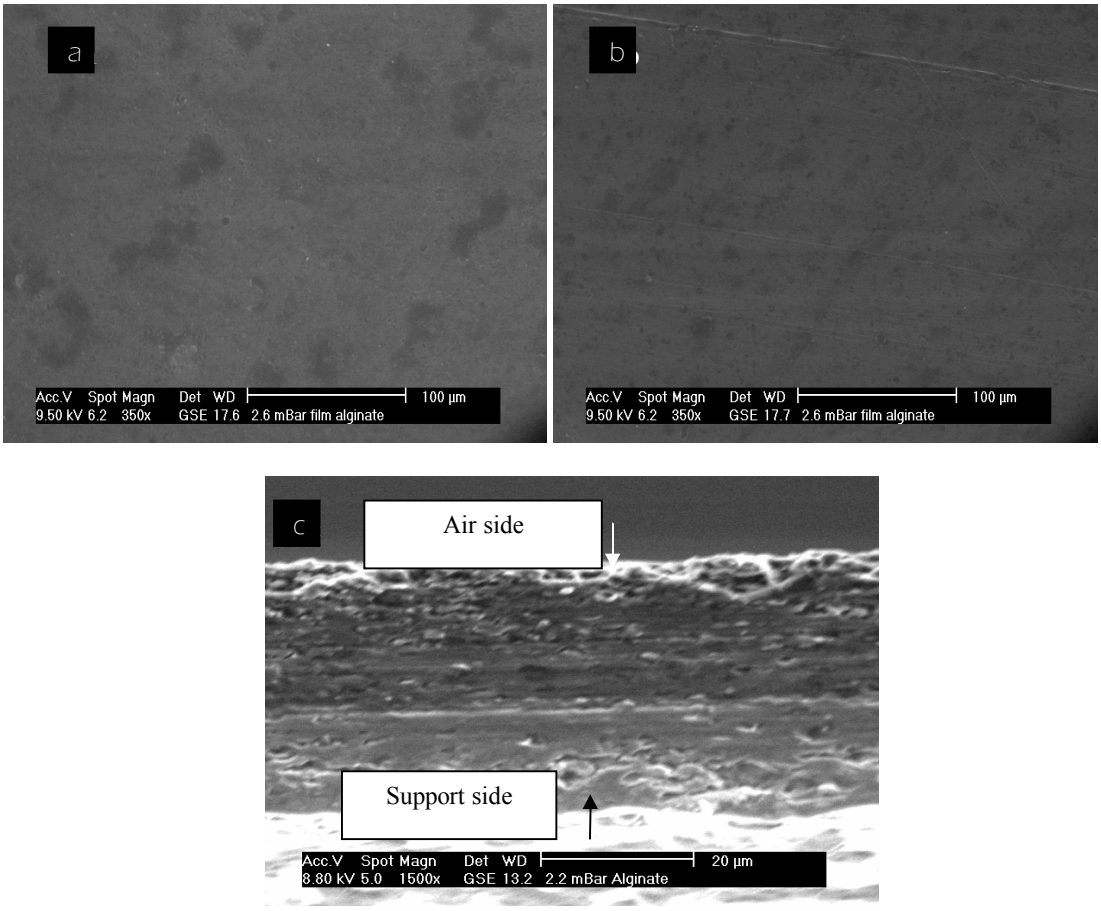


Figure 3.10. Micrograph of sodium alginate-based film without aroma compound with fat: (woa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

Figures 3.10a and 3.10b show the sodium alginate-based film without encapsulated aroma compound with fat (woa-wf), display dark marks all along the film that correspond to the fat matter. Fats are well distributed through the film, on both sides. But in Figure 3.10c, it appears that the fat matter is more concentrated at the air side, because during drying there is a film retraction that changes its structure, becoming denser thus the lipid migrates toward the air side. Indeed lipid density is lower than that of the alginate aqueous phase, and then fat tends to migrate toward the evaporated surface, as observed by Phan The *et al.* (2002abc).

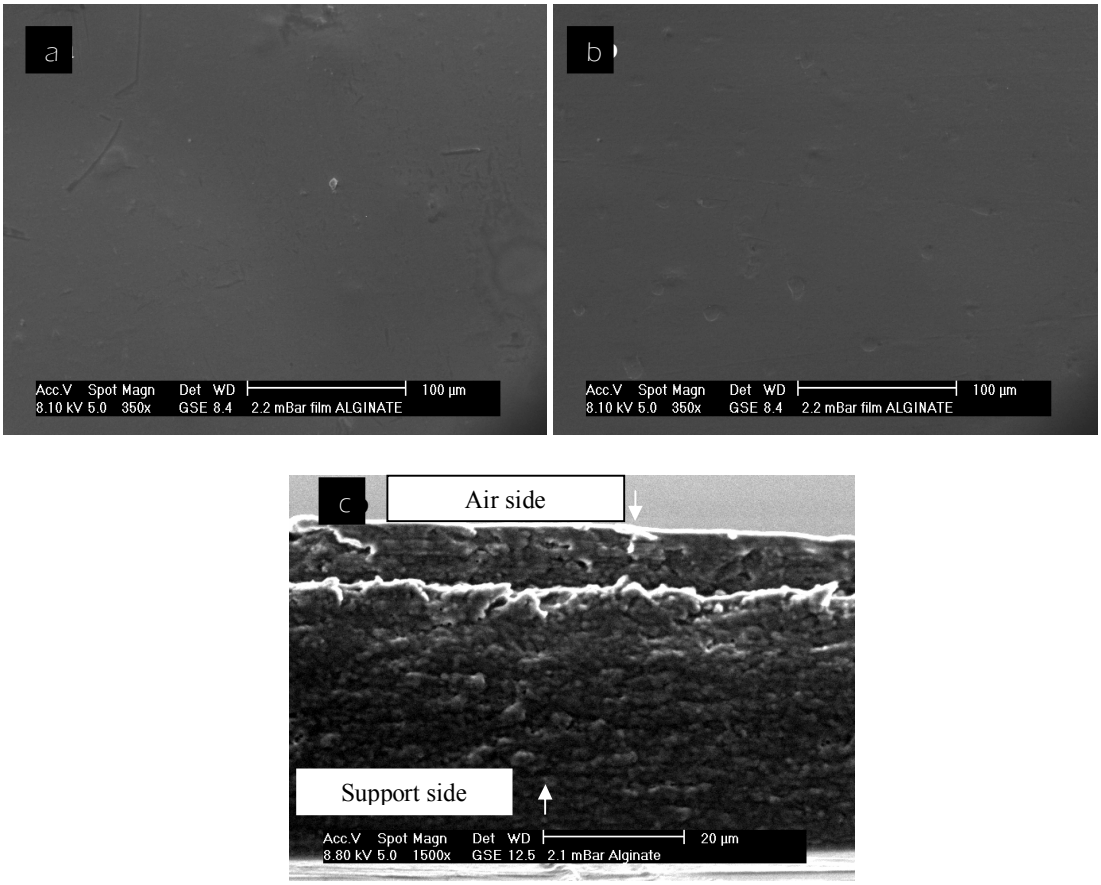


Figure 3.11. Micrograph of sodium alginate-based film with aroma compound without fat: (wa-wof): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

In the **sodium alginate**-based film with encapsulated aroma compound without fat (wa-wof), Figures 3.11a, b, c show that there is also glycerol spots which probably contains most of the aroma compound (n-hexanal). Indeed, glycerol is a polyol having a great affinity for flavour compounds and often used as a support for flavour preparations (Voilley & Etiévant, 2006). Cross section shows that the film structure has a different appearance but is quite homogeneous. The aroma compound probably promotes film stabilization (Fig 3.11c).

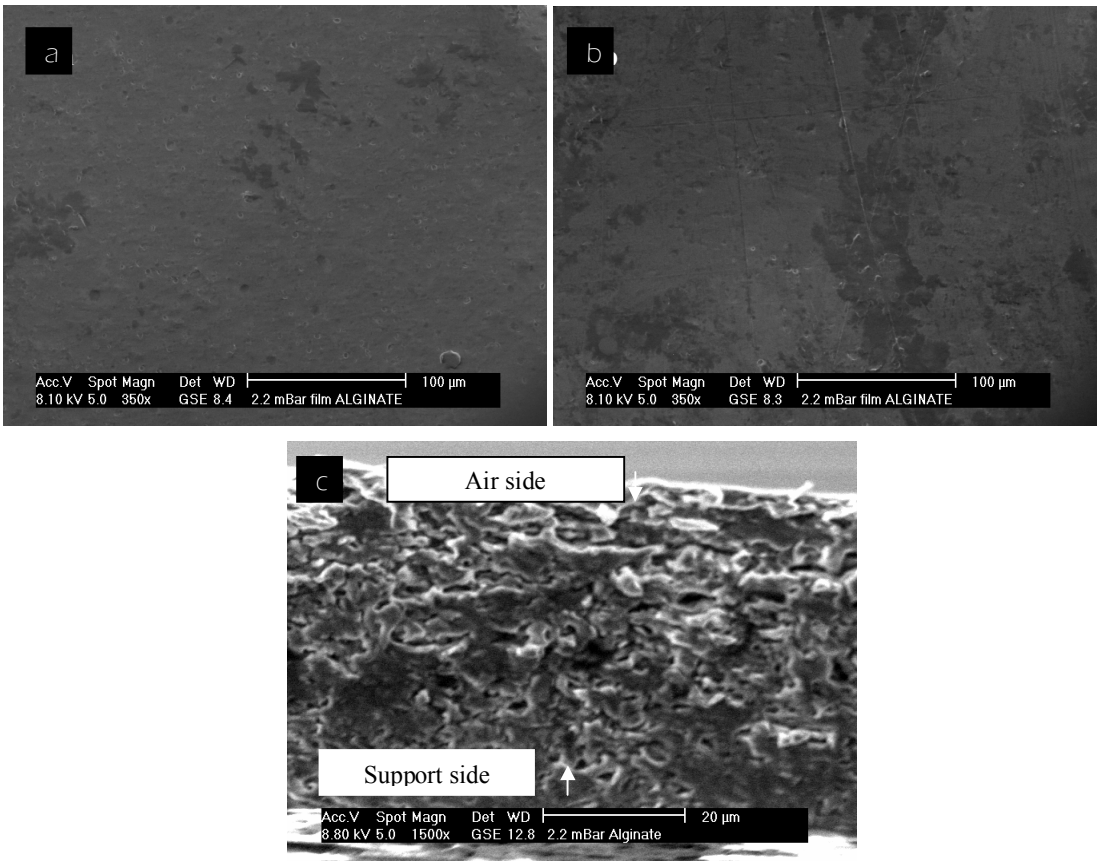


Figure 3.12 Micrograph of sodium alginate-based film with aroma compound with fat: (wa-wf): a) at air-side, b) at support-side and c) of the cross section.

In Figures 3.12a,b the micrographs of the sodium alginate-based film with encapsulated aroma compound with fat (wa-wf) shows that this film has a much more homogeneous structure, the repartition of both components, fat and glycerol, is balanced on both sides of the film. The micrograph 3.12c of the cross section displays a disturbed structure but more homogeneous than the other type of films. A similar behaviour was observed in a previous work for the film based on iota-carrageenan containing encapsulated aroma compound. Because of the amphipolar character of the n-hexanal that has a stabilizing role at the interface which favours a more homogeneous structure of the emulsion.

3.3 Emulsion structure.

The particle size distribution in the emulsified edible films was analyzed by laser light scattering granulometry. This study allows to characterize the destabilization phenomenon occurring during the film forming process or due to the aroma compound addition. Destabilization could be either coalescence or aggregation of fat particles. Using sodium dodecyl sulfate solutions permits to separate lipid globules of aggregates created during the drying step.

(Publication 1)

First, the structure of iota-carrageenan-based emulsion was carried on. Mean diameter of fat particules (d3, 2 for characterisation of small and spherical particles), specific surface and diameter of 50% volume (d0.5) of different types of films with or without SDS are presented in Table 3.1. The addition of n-hexanal modifies the emulsion characteristics of films with and without SDS. In aroma compound absence, the addition of SDS decreases the mean diameter of fat particules and increases the specific surface of the emulsion. This means that there is a great rate of fat particules aggregation in emulsified films, probably due to films retraction during the drying. Indeed the thickness varies from 2mm to 50µm during drying and favours aggregation, as shown by Phan *et al.* (2002a) for arabinoxylan-based films.

Table 3.1. Mean diameters (d 3,2) of fat particules in iota-carrageenan emulsified films with and without aroma compound.

Film type	D3,2 (µm) in water	D3,2 (µm) in SDS
Woa-wf	16.79 ± 0.47[a]	3.52 ± 0.42[c]
Wa-wf	11.85 ± 1.08[b]	10.26 ± 1.12[b]

a, ...c the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

woa : without aroma compound, wa : with aroma compound, wf : with fat.

The n-hexanal addition induced the formation of non aggregated globules: there is no diameter difference when dispersed in water or in SDS solution. However the mean diameter is greater with SDS around 10µm instead of 3.5µm. The aroma compound, thus, disturbs the structural organisation of emulsified films. This modification can be explained by the competitive affinities of both the emulsifier (GMS) and the aroma compound for the fat matter. Indeed the HLB of GMS is 3.8, which means that there are 3.8 times more GMS in the lipidic phase than in the aqueous phase. In addition, the log K of n-hexanal equals to 1.97, which is the partition coefficient of the

aroma compound between the water and n-octanol. It is considered as the parameter of hydrophobicity. The n-hexanal is less hydrophobic than the GMS. It is more amphiphilic and therefore it has more affinity for the interphase water/fat matter than for the emulsifier. Thus the n-hexanal hides the emulsion stabilizing effect of the GMS. There is a competition at the interface of the iota-carrageenan matrix / lipidic phase between the aroma compound and the emulsifier.

(Publication 3)

In the case of **sodium alginate**-based emulsion, mean diameter of fat particles (d3,2 for characterisation of small and spherical particles), of different types of films with and without SDS are presented in Table 3.2. In films without encapsulated aroma compound, the addition of SDS decreases the mean diameter of fat particles. This means that there is a great proportion of fat particles aggregation in emulsified films, probably favoured by the lipid migration toward the evaporation surface during drying and also by the retraction during the drying. This phenomenon was also observed in emulsified films of iota-carrrageenan. Phan The D *et al.* (2002) found that the thickness varies from 2000µm to 50µm during drying and favours the aggregation of fat globules in arabinoxylan-based films. The addition of n-hexanal induced the formation of less aggregated globules. There is a less marked difference between the water and the SDS solution. Indeed the d(3,2) in water varies from 15.59µm to 5.53µm when n-hexanal is added. This means that the presence of the n-hexanal stabilizes the alginate film forming emulsion because of its amphiphilic character.

Table 3.2. Mean diameters (d 3,2) of fat particules in sodium alginate emulsified films with and without aroma compound.

Film type	D3,2 (µm) in water	D3,2 (µm)in SDS
Woa-wf	15.59 ± 5.59^{a}	3.1 ± 0.10^{c}
Wa-wf	5.53 ± 0.12^{b}	2.90 ± 0.05^{c}

a, ...c the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

woa: without aroma compound, **wa** : with aroma compound, **wf** : with fat.

3.4 Mechanical properties.

Physical changes of the films induced by external (temperature, relative humidity) or internal (added compounds such as plasticizers, flavor compounds, lipid etc) factors could be observed through the mechanical properties analysis. So to better understand the effect of the n-hexanal and/or of the lipid on the mechanical properties of the films the tensile strength, elastic modulus and elongation were measured.

(Publication 5)

Table 3.3 displays the tensile properties, tensile strength (TS), elastic modulus (EM) and elongation (E) of iota-carrageenan-based films. TS represent the film resistance to elongation. EM indicates the stiffness of the material and E is a measure of the film's capacity for stretching. EM results were significantly ($p<0.05$) affected for all types of films, for the TS and E results there are no significant differences, nevertheless some trends are observed. The addition of incorporated n-hexanal tends to increase the EM and TS, this is probably due to the stabilizing effect of the aroma compound on the film matrix, as shown previously. N-hexanal interacts with iota-carrageenan's lateral chains and plays a stabilizing role in the interface due to its amphipolar character leading to a much more homogeneous structure that increases film's stiffness. Nevertheless the n-hexanal does not affect film's capacity of stretching as the E results are no significantly different to the control film results. The presence of the fat matter decreases significantly EM, a similar trend is observed for TS and increases E although if the results are no significantly different. Similar results were reported by Fabra, Talens and Chiralt (2008) for sodium caseinate films using beeswax as fat matter. This could be attributed to the disturbance introduced in to the film matrix. Actually fat matter increases particle size and induces an heterogeneous film structure due to the aggregations formed after film's drying, having a weakening effect on the film. Thus films with fat are less flexible but more deformable.

Table 3.3. Elastic modulus (EM), tensile strength (TS) and elongation (E) of iota-carrageenan-based (I) and sodium alginate-based (A) films.

Type of polymer	Type of film	EM (MPa)	TS (MPa)	E (%)
Iota-carrageenan	Iwoa-wof	95 (54)^{a}	8.8 (1.2)^{d}	1.2 (0.2)^{d}
	Iwoa-wf	927 (44)^{b}	10 (5)^{d}	2.6 (1.1)^{d}
	Iwa-wof	1259 (59)^{c}	15 (5)^{d}	1.6 (0.3)^{d}
	Iwa-wf	751 (19)^{d}	10 (3)^{d}	2.4 (0.9)^{d}
Sodium alginate	Awoa-wof	3280 (273)^{x}	55 (3)^{x}	4.7 (1.3)^{y}
	Awoa-wf	2320 (126)^{y}	31 (6)^{y}	2.1 (0.3)^{z}
	Awa-wof	2247 (245)^{y}	28 (4)^{y}	1.5 (0.2)^{z}
	Awa-wf	1605 (115)^{y}	20 (2)^{z}	1.9 (0.3)^{z}

a...d, x...z, the values with the same letter are not significantly different at the $p<0.05$,

Mean ± standard deviation

Table 3.3 also displays the tensile properties, tensile strength (TS), elastic modulus (EM) and elongation (E) of sodium alginate-based films, with and without fat (wf, wof) and with and without encapsulated n-hexanal (wa, woa).The presence of fat matter reduces significantly EM, E and TS, this is because as we previously explained, fat disturbs the structure of the film, lowering its stiffness and resistance to elongation. In the microstructure for the sodium alginate films, the fat matter is quite well distributed in to the film, but the structure became less homogeneous than in the control films. The addition of incorporated n-hexanal has the same effect than the presence of fat matter; it reduces the EM and TS. Contrarily to iota-carrageenan-based film. Incorporated aroma compound weakly interacts with the sodium alginate because this type of film have a quite well organized structure in egg box model stabilized by divalent ions form stronger gels and thus stronger films. But n-hexanal interacts with the other components of the film like glycerol that being a polyol has a great affinity for flavours in this type of films. These interactions lead to a reduction of the stiffness and on the film's resistance to elongation. The presence of both, n-hexanal and fat matter has a significantly effect, reducing EM and TS more than in the other type of films, probably because, the aroma compound interacts primary with the fat matter when this one is added in to the film.

The addition of n-hexanal does not disturbs the distribution of the fat matter, nevertheless the film structure becomes less homogeneous probably because the particle size the fat matter increases.
Table 3.3 also shows E results, and only for the control film there is a significant difference, having the higher capacity of stretching. Control film is the more homogeneous film, with the greatest stiffness, thus they are the more flexible and the more deformable. When adding fat matter or encapsulated aroma compound E decreases, meaning that interactions of these components decrease films flexibility. Fat matter and n-hexanal interacts between them, not with the well organized polymer, it could be that the free spaces of the polymer are occupied by the fat and n-hexanal reducing the mobility areas and thus reducing films flexibility. Moreover fat particles induce discontinuity that created preferential breaking zones.

3.5 Principales conclusions du chapitre 3

En résumé, la présence du composé d'arôme introduit dans la matrice à base d'iota-carraghènane induit une modification du processus de gélification puisque la plage températures de la transition sol-gel est déplacée, probablement dû à des interactions entre la fonction aldehyde très réactive de l'hexanal et les chaînes de carraghènane. Cette modification des propriétés structurales (organisation du gel) est confirmée par l'observation microscopique des films. L'introduction de l'arome semble conduire à une structure microscopique beaucoup plus homogène qui induisent une augmentation du module élastique et de la force à la rupture des films. Bien que l'hexanal

semble "gêner" l'organisation du réseau de carraghènanes, il joue un rôle de stabilisant de la structure.

Au contraire, l'incorporation d'un lipide perturbe le système en réduisant significativement ses propriétés mécaniques, les films étant plus fragiles (force à la rupture et un module d'élasticité plus faibles) et une déformabilité acrue, cette à dire a un effet opposé à celui du composé d'arôme. Cette perturbation est due principalement à la formation des agrégats lipidiques mesurés sur les courbe granulométriques des films émulsionnés et observés sur les images de la microstructure. La formation des agrégats diminue la rigidité du film et augmente sa flexibilité en créant des zones de rupture préférentielles mais aussi probablement par un effet lubrifiant du lipide.

Quand le composé d'arôme et le lipide sont associés avant d'être incorporés à la matrice, le composé d'arôme induit une augmentation de l'enthalpie de fusion de la matière grasse. Le n-hexanal ayant un log K de 1.97, il a légèrement plus d'affinité pour la phase lipidique que pour la phase aqueuse. Sa structure linéaire avec une tête plus polaire (fonction aldéhyde) et une queue plus hydrophobe (chaine carbonée aliphatique de 6 atomes) lui confère des propriétés amphipolaires jouant un rôle stabilisant des émulsions. Ceci est confirmé à la fois pas la structure de l'émulsion contenant le n-hexanal qui est plus fine et plus stable, mais aussi par les observations microscopiques des films.

Dans le cas des films à base d'alginate de sodium, l'incorporation du n-hexanal favorise l'homogénéité du système, tel qu'observé sur les images de la microstructure où le film apparaît plus lisse et régulier, et par l'analyse enthalpique différentielle où la Tsol-gel est moins modifiée que pour les films à base d'iota-carraghènanes. L'hexanal ne semble donc pas ou peu interagir avec l'alginate de sodium, par contre il semble réduire l'effet plastifiant du glycérol entraînant ainsi une nette diminution des caractéristiques mécaniques.Le lipide perturbe le système de la même façon que pour les films d'iota-carraghènanes, favorisant la formation des agrégats lipidiques qui créent des zones de rupture préférentielle, mais là encore, l'hexanal joue un rôle stabilisant de l'émulsion.

CHAPITRE 3 : EFFET DE L'INCORPORATION DU COMPOSE D'AROME ET/OU DU LIPIDE SUR LES PROPRIETES PHYSIQUES DES FILMS A BASE D'HYDROCOLLOÏDES. 40

3.1 THERMAL PROPERTIES (DSC). 41
3.2 FILM MICROSTRUCTURE. 44
3.3 EMULSION STRUCTURE. 52
3.4 MECHANICAL PROPERTIES. 53
3.5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 3 55

CHAPITRE 4.

Effet du niveau d'hydratation sur la structure et les propriétés de transfert de films à base d'hydrocolloïdes.

Ce chapitre présente l'impact du niveau d'hydratation de la matrice des films à base d'iota-carraghènane ou d'alginate de sodium. La plupart des mesures ont été réalisées sur les films reference ne contenant pas de lipides ni d'arôme encapsulé. L'objectif de ce chapitre est de mieux comprendre l'effet de l'eau sur les propriétés physico-chimiques du réseau polymérique et leurs incidences sur les propriétés de transfert. Les résultats sont extraits des publications et réorganisés pour en faciliter la lecture.

4.1 Sorption Isotherms of films

(Publication 5)

The equilibrium relationship between the water content and the water activity of food products is given by the sorption isotherms. When conformation modification or physical changes occurs during hydration or dehydration the sorption and desorption isotherms are not superimposed. This phenomenon is called hysteresis. So, the sorption and desorption isotherms of hydrocolloid based films containing or not the n-hexanal or the lipid had been done.

Sorption isotherms of **iota-carrageenan**-based films were carried on. Table 4.1 displays the values of the equilibrium moisture content (dry basis) for all types of iota-carrageenan films at two aw values. Figure. 4.1 displays the sorption isotherm curves (experimental points and GAB fitted model) where the influence of incorporated n-hexanal and fat matter on the water content–aw relationships can be observed.

Table 4.1 Water content (We, dry basis) for iota-carrageenan-based films and sodium alginate-based films at different Aw.

Type of polymer	Type of film	Aw 0.43	Aw 0.84
		We (db)	We (db)
Iota-carrageenan	Iwoa-wof	0.12	0.59
	Iwoa-wf	0.09	0.44
	Iwa-wof	0.11	0.50
	Iwa-wf	0.089	0.41
Sodium alginate	Awoa-wof	0.10	0.57
	Awoa-wf	0.09	0.50
	Awa-wof	0.08	0.54
	Awa-wf	0.10	0.52

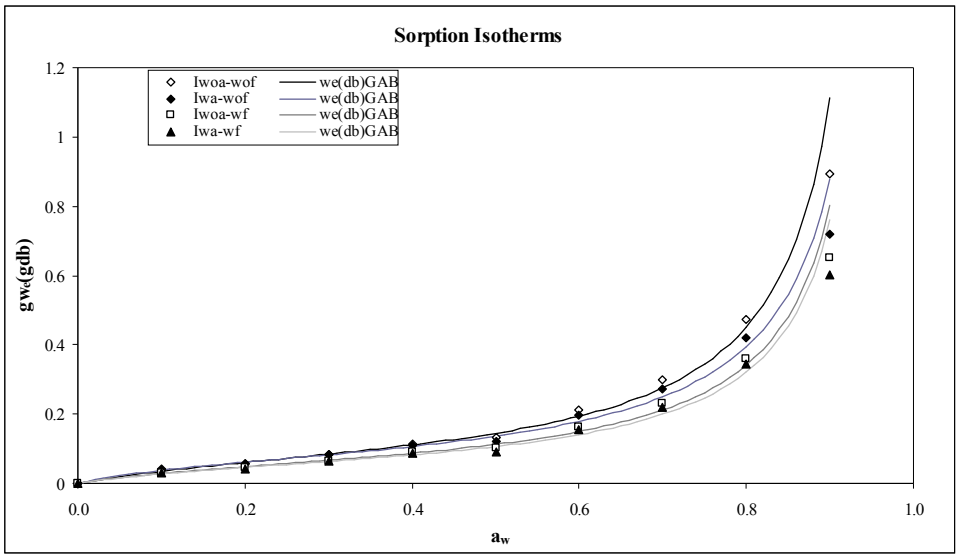


Figure 4.1. Sorption isotherms curves of iota-carrageenan-based films. Experimental values and GAB fitted model (lines)

All curves are characteristic of type II isotherms, which are typical of most biopolymer and food materials. The addition of fat matter into iota-carrageenan-based film reduced at all the water sorption. This is due to the hydrophobic nature introduced by the beeswax into the control film which is mainly hydrophilic and presents the highest water sorption capacity. Fabra, Talens & Chiralt (2010) found similar results for sodium caséinate films, indicating that beeswax inhibits the water sorption capacity of the protein films.

For the films with incorporated n-hexanal the water vapour uptake diminished. This can explained, on one hand to the relatively "hydrophobic" character of the aroma compound carbon chain, although if the n-hexanal has a low log k (1.97), and on the other hand because of interactions between the aldehyde group of the n-hexanal and the lateral chains of iota-carrageenan decreasing the available sites for hydrogen bonding. A synergistic effect of n-hexanal and fat was observed, leading to the lowest water vapour uptake. The addition of n-hexanal promotes a more homogeneous structure into the film, even in presence of the fat matter. These means that a better structuring of the polymeric matrix and an orderly polymer forming matrix could result in better functional film properties (Guilbert, 1986), reducing the water sorption uptake.

Sorption isotherms of sodium alginate-based films were also carried on. Table 4.1 displays the values of the equilibrium moisture content (dry basis) for all types of sodium alginate films at two aw values. Figure. 4.2 displays the sorption isotherm curves (experimental points and GAB fitted model)

where the influence of encapsulated n-hexanal and fat matter on the water content–aw relationships can be observed.

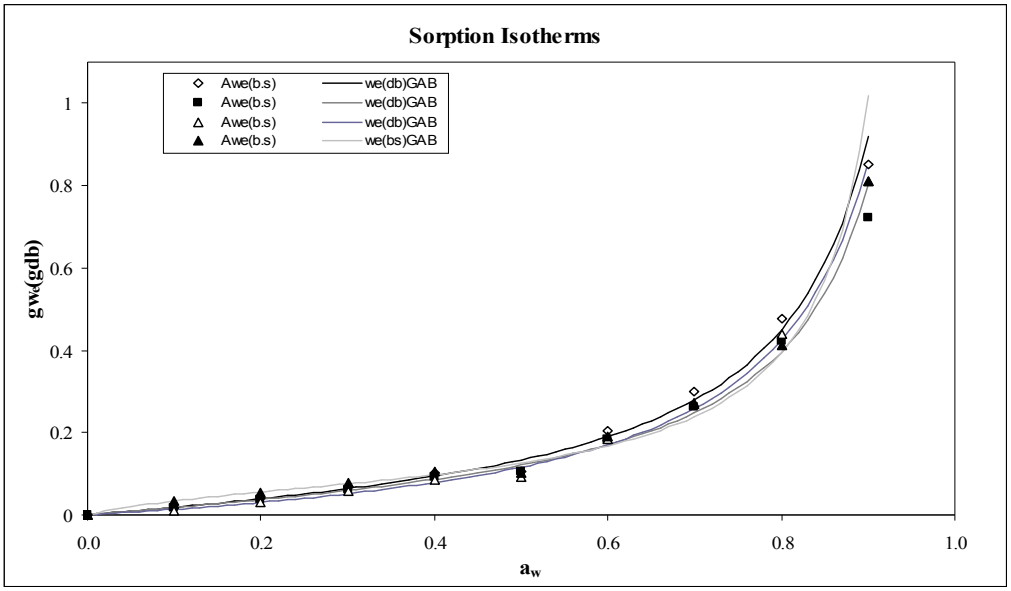


Figure 4.2. Sorption isotherms curves of sodium alginate-based films. Experimental values and GAB fitted model (lines).

The curves are also characteristic of type II isotherms. For the film with fat matter and the film with encapsulated n-hexanal at 0.43, the effect is mainly the same, both reduce the water sorption uptake with the same significance, and it does not change a lot when comparing to that of the control film. This means that the hydrophobic nature of fat matter and the hydrophobic character of n-hexanal affect in a similar way the polymer matrix as observed for carrageenan films. Actually when both are added at the same time the water sorption uptake is the same than that of the control film. This is probably due, to the well organized polymer structure in "egg box". The introduction of cross-links means to a better structuring of the polymeric matrix (Babin & Dickinson, 2001). So in regions of reduced water activity (0–0.43), there is a slight reduction in moisture at equilibrium as compared to the moisture content of the control film. However, at 0.84 the opposite behavior was observed. It could be related to the exposition of active sites favorable to the adsorption of water as a function of the swelling of the polymeric matrix (Lim, Mine & Tung, 1999).
De carvalho & Grosso (2004) presented a similar behavior on gelatin-based films with the addition of formaldehyde. As we observed the fitted GAB model gave us the monolayer moisture content of all type of films. The monolayer value indicates the amount of moisture that was adsorbed in a single layer by binding sites in the film (Table 4.1). The results were similar between the sodium alginate-based films and iota-carrageenan-based film. Only at higher Aw, the effect of the fat matter

and the incorporated aroma compound is more important for sodium alginate-based films whereas for iota-carrageenan-based film the behavior is the same at Aw 0.43 and 0.84.

4.2 Mechanical properties and relative humidity of films.

First, the tensile properties, tensile strength (TS), elastic modulus (EM) and elongation (E) of iota-carrageenan-based control films was carried on. Table 4.2 displays tensile properties results at different relative humidities. EM is significantly affected by increasing the relative humidity, EM decreases; similar trends are observed for TS results. E results are significantly different, but the relative humidity affected in the opposite way. E increases with relative humidity. Increasing moisture content results in an extensive plasticization of films. Water molecules increases intermolecular spaces and reduce mechanical strength of hydrophilic films. The three relative humidities studied have an important effect on film stiffness, but only the higher relative humidity (84%) has a significant effect on film's capacity of stretching.

Table 4.2. Elastic modulus (EM), tensile strength (TS) and elongation (E) of iota-carrageenan-based control films (I) and sodium alginate-based control films (A), at three different relative humidities.

Polymer	Relative Humidity (%)	EM (Mpa)	TS (MPa)	E (%)
Iota-carrageenan	0	1880 (242)^{a}	12 (9)^{a}	0.6 (0.2)^{a}
	43	954 (54)^{b}	8.8 (1.2)^{a}	1.2 (0.2)^{a}
	84	37.6 (2.2)^{c}	6.9 (0.5)^{a}	22 (5)^{b}
Sodium alginate	0	4058 (300)^{x}	70 (7)^{x}	1.9 (0.2)^{x}
	43	3280 (273)^{y}	55 (3)^{y}	4.7 (1.3)^{y}
	84	35 (5)^{z}	3.5 (0.7)^{z}	12 (2)^{z}

a...c ,x...z, the values with the same letter are not significantly different at the $p<0.05$, Mean ± standard deviation

Tensile properties, tensile strength (TS), elastic modulus (EM) and elongation (E) of sodium alginate-based films was carried on. Table 4.2 displays tensile properties results at different relative humidities. EM was significantly affected by the relative humidity, when increasing the relative humidity, EM decreases; similar trends were observed for TS results. E results are significantly different, but the relative humidity affects it in the opposite way. E increases with the relative humidity.

Increasing moisture content results in an extensive plasticization of films, as for iota-carrageenan films. Water molecules increases intermolecular spaces and reduce mechanical strength of hydrophilic films. The three relative humidities studied have an important effect on film stiffness, and

also on film's capacity of stretching. This means that sodium alginate films are highly sensitive to humidity changes.

4.3 Influence of water on thermal properties of films.

The differential scanning calorimetry was first carried on iota-carrageenan-based films. Figure 4.3 displays iota-carrageenan thermograms of films conditioned at 0, 43 and 84%. For the three films a transition is observed, for the film conditioned at 84% RH, the transition is located around -55°C, for the film conditioned at 43% the transition is observed at -40°C and for the film conditioned at 0% RH around -20°C. The transition observed changes with the relative humidity, let us think, that is possibly a glass transition.

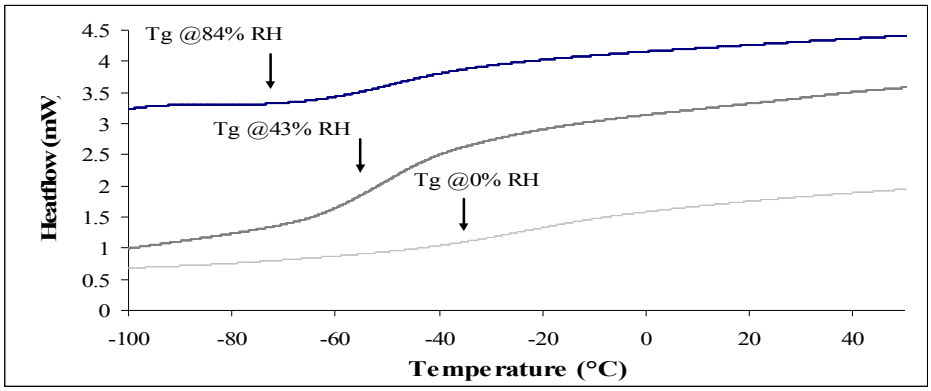


Figure 4.3. Iota-carrageenan-based films at three different relative humidities (0%, 43%, 84%) thermograms.

When the relative humidity increases, the Tg decreases and vice versa. The water molecules form hydrogen bonds with the hydroxyl residues on the polymer chains, interrupting the polymer–polymer interactions and allowing the polymer chains to come apart. Nevertheless the observed transition is no so marked, probably due to the presence of the plasticizer. The plasticizing action of the low molecular weight sugars is attributed to a strong reduction in molecular entanglements upon a shift of the 'apparent' molecular weight distribution to lower values (Kristos & Biliaderis, 2006). The great water binding capacity of glycerol limits the water interactions with the polymer chains and determines the final distribution of water in the system. One suggestion is that glycerol has two plasticizing effects; first as a result of its presence in the film and second because its intensely hygroscopic character tends to draw additional water into the matrix. This effect of the glycerol has already been observed by Fabra *et al.* (2010) on sodium caseinate-based films. The Tg of glycerol range between -50 and -80°C according to the water content (Claudy, Jabrane & Létoffé, 1997). So

even if a glycerol enriched phase or a phase separation occurred because of over plasticization. This phase separation phenomenon was observed in films of methylcellulose plasticized with polyethylene glycol 400 by Debeaufort and Voilley (1997). This phase separation means that there is not a homogeneous mixing between the plasticizer and the polymer as supposed from ESEM observations.

For the 43 - 84% relative humidity range, the sol-gel transition is not affected, remaining at a temperature of 65°C. Nevertheless, for the film at 0% relative humidity, the sol-gel transition temperature increases to about 100°C. This is probably due to the fact that there is not "free water" for polymer string mobility and then the gelation process needs more energy to be accomplished.

The thermal characterisation was also done for the sodium alginate-based films. Figure 4.4 shows sodium alginate thermograms of films conditioned at 0%, 43% and 84%. For these films, we observed a transition similar to that observed in iota-carrageenan films. This transition temperature also moves with the relative humidity. In sodium alginate films, the proportion of M-G blocks (48.7/51.3) has an influence on the mechanical and thermal properties of the films. When increasing the concentration of G-units, the water content decreases (less mass loss).

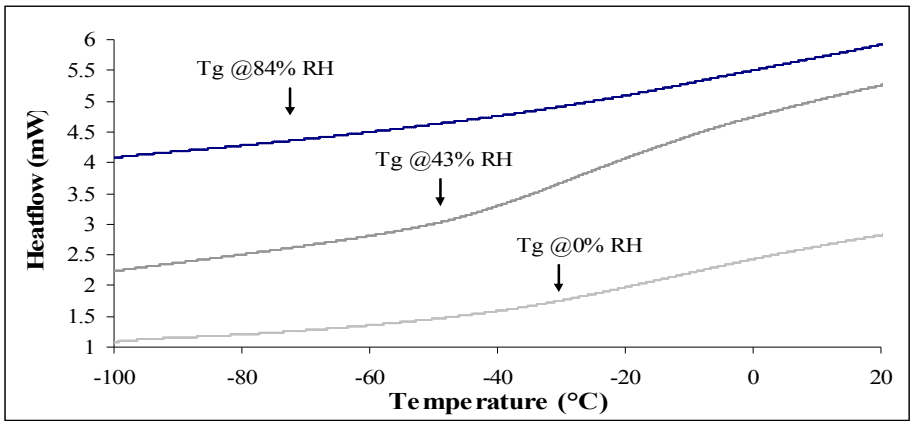


Figure 4.4 Sodium alginate-based films at three different relative humidities (0%, 43%, 84%) thermograms.

This can be due to the fact that, on increasing the concentration of G-units, the possibility for the G-segments to interact with each other increases. In this way the number of groups, potentially interacting with the molecules of water, decreases. The quantity of water absorbed increases with respect to the not cross-linked samples (Russo, Malinconico & Santagata, 2007). So the transition observed it is not necessarily a polymer glass transition. Besides, between 100°C and -150°C the elimination of free water and the glass transition occur. So, the glass transition on films with free water is not quite well detectable, because both endotherms could be covering themselves.

The transition sol-gel of the sodium alginate-based films are not markely observed between the three relative humidities, nevertheless this does not mean that there are no changes in the gelation of the polymer. The Tsol-gel of sodium alginate on thermograms is difficult to observe probably due to the polymer denaturation occurring during the first heating phase.

4.4 Moisture transfer through edible films.

Moisture transfer in and through edible films had been assessed from permeability measurements or estimations. This method allowed to display the effect of the moisture level on the hydrocolloid matrix and thus on its molecular mobility.

(Publication 1)

The water vapour permeability (WVP) allowed us to determine the water barrier effect of **iota-carrageenan**-based films with and without encapsulated aroma compound. The behaviour of edible films at two different temperatures and three different humidity gradients was studied. According to the results displayed in Table 4.3, there are significant differences of WVP between the different types of films.

Table 4.3. *Water vapour permeability (WVP) of different types of iota-carrageenan-based films at 25 and 35 °C and at three humidity gradients (10^{-10} g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}).*

Type of film	30-100% (25°C)	30-84% (25°C)	30-75% (25°C)	30-100% (35°C)	30-84% (35°C)	30-75% (35°C)
woa-wof	23.2±0.99^{bcd}	23.5±1.98^{bc}	15.5±0.40^{f}	1.65±0.0008^{bcd}	1.55±0.15^{bc}	1.18±0.03^{f}
wa-wof	25.4±0.40^{b}	29.0±1.86^{a}	20.0±2.67^{de}	0.85±0.002^{b}	1.63±0.37^{a}	1.37±0.10^{de}
woa-wf	23.7±0.64^{bc}	22.2±1.22^{bcd}	19.9±1.30^{de}	1.12±0.33^{bc}	1.32±0.09^{bcd}	1.23±0.49^{de}
wa-wf	21.2±0.11^{cde}	25.3±1.27^{b}	18.7±0.38^{ef}	1.47±0.001^{cde}	1.60±0.03^{b}	1.42±0.05^{ef}

a,b,c,d,e,f the values with the same letter are not significantly different at 5% for each temperature.
Mean ± standard deviation
woa : without aroma compound, w**of** : without fat, **wa** : with aroma compound, **wf** : with fat

First of all, for films with aroma compound without fat (wa:wof), the WVP is higher than in the films without aroma compound without fat (woa:wof). The WVP values of iota-carrageenan films without fat are close to that of the literature values. Karbowiak *et al.* (2007) found that the WVP of iota-carrageenan + glycerol films was 1.97 x10^{-10} g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}, and 1,80 x10^{-10} g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1} for the emulsified films containing 30% of fat dispersed (GBS), for a relative humidity gradient of 100-80% at 25°C.

The WVP of emulsified films composed of polysaccharides and lipids usually varies from 0.7 to 4.0 $x10^{-10}$ $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$ according to their nature and structure (Debeaufort *et al.* 2002).

The WVP significantly increases between the relative humidity gradients 30-75% and 30-84%. This can be explained by the plasticizing effect of water. Indeed some authors have shown that when the relative humidity increases the polysaccharide-base films are more permeable due to swelling or plasticization. This induces density or local viscosity decrease that promotes the diffusant molecules mobility (Karbowiak, *et al.* 2006). For the lowest gradient (30-75%), WVP increases with the hexanal addition. This suggests a plasticizing effect of n-hexanal, only noticeable for the lowest relative humidity gradient, because at the lower film water content, the plasticizing effect of water is less marked. This hypothesis is reinforced with the DSC results that display a modification in iota-carrageenans Tsol-gel. We can also assume that the n-hexanal is located between the iota-carregeenan lateral chains and then established low energy interactions, but strong enough to modify the film structure and to promote water transfer.

Quezada Gallo *et al.* (1998) have also observed for gluten and/or methylcellulose films a plasticization phenomenon caused by the methylketons (2heptanone, 2pentanone), leading to an increase of the WVP and aroma compounds permeability. Moreover, Miller and Krochta (1997) have observed modifications of the mechanical properties of whey protein films in presence of D-limonene. Rojas-Graü *et al.* (2007) have recently shown that the WVP of apple-puree alginate films increases significantly in the presence of aldehydes (cinnamaldehyde), but they did not observed any effect on the oxygen permeability.

(Publication 3)

The behaviour in WVP of sodium alginate-based edible films at three different humidity gradients was also studied. According to the results displayed in Table 4.4, there are significant differences of WVP between the different types of films.

Table 4.4 Water vapor permeability (WVP) of sodium alginate-based films at 25°C and at three humidity gradients (10^{-10} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$).

Type of film	30-100%	30-84%	30-75%
woa-wof	$2.46\pm0.14^{a,b}$	$2.13\pm0.44^{a,b}$	1.29 ± 0.29^{c}
woa-wf	$1.91\pm/.0.20^{b,c}$	$1.68\pm0.32^{b,c}$	1.15 ± 0.10^{c}
wa-wof	$2.58\pm0.26^{a,b}$	2.96 ± 0.10^{a}	1.67 ± 0.49^{c}
wa-wf	1.63 ± 0.63^{c}	1.21 ± 0.12^{c}	1.21 ± 0.64^{c}

woa : without aroma compound, w**of** : without fat, **wa** : with aroma compound, **wf** : with fat

a...c the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

The WVP values of alginate films without fat are in agreement with that of the literature values. Rhim *et al.* (2004) found that the WVP of sodium alginate films was 1.42±0.12 x10^{-9} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$ and Rojas-Graü *et al.* (2007) found values ranging from 1.21±0.12 x10^{-9} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$ to 1.45±0.11 x10^{-9} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$ as a function of essential oils incorporated. The water permeability values of alginate films are lower than those of i-carrageenan films previously studied. This is probably due to the ionic cross-linking in alginate films reducing polymer segmental mobility. Thus reducing WVP through the film matrix as Bifani *et al. (*2007) found with films of carboxymethylcellulose. The water vapor permeability is believed to be dependent upon the number of "available" polar (-OH) groups that the polymer hold. In the films with fat matter, the permeability values decrease for all the three humidity gradients. This agrees with the hydrophobic character that the fat matter confers to the alginate film.

WVP was higher for these films evaluated under a relative humidity (RH) of 30-100% compared to 30-84% and 30-75%, this is in accordance with Olivas & Barbosa-Cànovas (2008) who showed that as RH increases, the barrier capacity of alginate films against water vapor and gases decreases. The water plays the role of plasticizer in hydrophilic coatings and the density or local viscosity decrease promoting the diffusant molecules mobility. For the lowest gradient (30-75%), WVP increases with the hexanal addition but there is no significant differences.

This suggests a cumulative plasticizing effect of the n-hexanal, only noticeable for the lowest relative humidity gradient, because at the lower film water content, the plasticizing effect of water is less marked. This is confirmed by the DSC and the Microscopy that showed that the encapsulated n-hexanal modifies the alginate film structure. Pranoto Y et al, (2005) find similar behaviour on alginate films with garlic oil. Thus the encapsulated aroma compound contributes to extend intermolecular interactions of the structural matrix in alginate film; therefore, it enhances moisture passing through the edible film.

(Publication 5)

The water vapour transfer rate (WVTR) was also studied on **iota-carrageenan**-based and **sodium alginate**-based films as well. Table 4.5 displays the results of the WVTR at three different humidity gradients for iota-carrageenan and sodium alginate-based films.

Table 4.5. Water vapour transfer rate (WVTR) of all types of iota-carrageenan-based films and sodium alginate-based films at three humidity gradients (10^{-2} g.m^{-2}.s^{-1}).

Type of polymer	Type of film	30-100%	30-84%	30-75%
Iota-carrageenan	Iwoa-wof	0.98±0.07 ^{bcd}	0.76±0.10^{bc}	0.41v0.02^{f}
	Iwoa-wf	0.95±0.04^{b}	0.69±0.05^{a}	0.52v0.05^{d}
	Iwa-wof	1.08±0.02^{bc}	1.009v0.10^{bcd}	0.58±0.12^{de}
	Iwa-wf	0.86±0.009^{cde}	0.79±0.06^{b}	0.49±0.01^{ef}
Sodium alginate	Awoa-wof	1.25±0.05^{xy}	0.94±0.17^{xy}	0.47±-0.08^{y}
	Awoa-wf	1.04±0.09^{yz}	0.74±0.13^{yz}	0.43±-0.03^{y}
	Awa-wof	1.26±0.02^{xy}	1.22±0.04^{x}	0.65±0.15^{y}
	Awa-wf	0.82±-0.02^{z}	0.49±0.04^{y}	0.35±-0.01^{y}

a.....f, x....y the values with the same letter are not significantly different at 5% for each temperature. Mean ± standard deviation

First of all, for both type of polymers, when the humidity gradient increase the WVTR increases as well. The water plays the role of plasticizer in hydrophilic coatings and the density or local viscosity decrease promoting the diffusant molecules mobility. Indeed some authors have shown that when the relative humidity increases the polysaccharide-based films is more permeable due to swelling or plasticization. Results show also for the two polymers that the lowest gradient (30-75%), WVTR increases with the incorporated n-hexanal addition. This suggests a modification induced by n-hexanal which is only noticeable for the lowest relative humidity gradient, because at the lower film water content, the plasticizing effect of water is less marked. Thus the incorporated aroma compound contributes to extend intermolecular interactions of the structural matrix.

The decrease in WVTR could also be related to the decrease in free volume due to reticulation of the polymeric matrix. For both type of polymers the addition of fat decreases the WVTR at every high humidity gradient, as expected, this is due to the hydrophobic character induced by the lipid. Similar results were reported by Fabra *et al.* (2008) with the addition of beeswax in sodium caseinate films. Finally for the two polymers and for the three humidity gradients, the addition of fat matter and of incorporated n-hexanal diminished the most the WVTR, this is probably due as we previously commented to the reduction of the free volume of the film matrix. We have already

observed that the addition of incorporated n-hexanal and fat matter makes the structure more homogeneous, stabilizing the matrix and probably leading to a reduction of free spaces.

4.5 Water liquid transfer rate (WLTR)

The liquid water transfer rate (LWTR) was measured on **iota-carrageenan**-based films. Table 4.6 presents the LWTR results at 0, 43 and 84% for iota-carrageenan-based films on both sides. *i.e* on the film surface exposed to air during drying ("air side") and the film surface in contact to the plexiglass support during casting and drying ("support side").

Table 4.6. Liquid water transfer rate (WLTR) (10^{-2} $g.m^{-2}.s^{-1}$) and swelling index (%) of iota-carrageenan-based films.

Type of polymer	Type of film	Side of film	WLTR (10^{-2} $g.m^2.s$)	Swelling index (%)
Iota-carrageenan	Iwoa-wof 0%	Air	NA	23.8+/-3.8[b]
		Support	NA	38.6+/-2.5[b]
	Iwoa-wof 43%	Air	1.28+/-0.38[a]	NA
		Support	1.002+-0.35[a]	NA
	Iwoa-wof 84%	Air	1.8+/-0.81[a]	NA
		Support	1.08+/-0.42[a]	NA
Sodium alginate	Awoa-wof 0%	Air	NA	53.2+/-12.79[c]
		Support	NA	76.2+/-15.6[c]
	Awoa-wof 43%	Air	NA	24.3+/-9.09[c]
		Support	NA	53.8+/-15.16[c]
	Awoa-wof 84%	Air	NA	41.8+/-12.03[c]
		Support	NA	88.9+/-14.64[c]

a....c, the values with the same letter are not significantly different at 5% for each temperature. Mean ± standard deviation

NA: non available

The LWTR had only been measured on the iota-carrageenan films. Swelling occurs for all alginate films indicating a tremendous change of the surface composition or structure, for which the LWTR could not be determined. Indeed, after the swelling, the absorption rate was too fast to be accurately estimated. This suggests that the LWTR of alginate films is probably several order of magnitude higher than the WVTR.

The iota-carrageenan films equilibrated at 0% displayed also a swelling, but after swelling the absorption rate was of the same order of that obtained for iota-carrageenan films stored at 43 or 84% RH. For iota carrageenan-films, no significant difference between LWTR have been displayed whatever the RH value or the film side. At about 43% RH, saturation of the available sites to form hydrogen bonds are already attained as long as after swelling induced by liquid droplet contact on

the previously dried films. These allow to reach the plasticization limit of the film and leading to a similar transfer rate even at higher relative humidities. On the other hand there is a perfect contact of the liquid on the films surface, so the transfer equilibrium is reached very quickly at low relative humidities, and there is no resistance produced by the stagnant layer. Gennadios *et al.* (1994) has shown that the existence of a stagnant air layer on the surfaces of edible films could result in a significant resistance to water vapour transfers, leading to a slower transfer and to a slower saturation of the available sites to form hydrogen bonds. This can explain why in the WVTR there is a difference for each relative humidity. At 0% the WLTR is uneasily measurable because the film starts swelling on the both sides, so table 4.6 shows for this type of film the calculated swelling index. There is no significant difference between both sides of the film. Swelling phenomena at 0% (RH) is probably due to a partial solubilization of film components, especially hydrophilic components as the glycerol and the polymer itself. In previous work we found that during the drying step there was a film retraction, and probably a reorientation of film layers. So when conditioning the film at 0% of relative humidity, we are actually re-drying it and promoting once again these changes on the film.

The liquid water transfer rate was also measured for sodium alginate-based films. Table 4.6 also displays swelling index results for sodium alginate-based films at the three relative humidities and for both sides of the film (air and support). Actually for sodium alginate-based films, the WLTR was uneasily measurable due to the swelling capacity of the film at every relative humidity studied. This phenomenon has been already observed in cassava starch-based films (Phan *et al.,* 2005), in iota-carrageenan-based films (Karbowiak *et al.* 2006) and even in sodium alginate-based films. This swelling capacity of the film as we previously said is probably due to the same phenomenon as that observed for carrageenan films at 0%RH. Sodium alginate-based film solubilized partially in the water drop leading to a swelling whatever the relative humidity.

Although if there are not the same humidity gradients for both type of film polymers in WVTR and WLTR, result show a different behaviour in vapour and in liquid phase.

At humidity gradient 30-100% for WVTR and at 84% RH for WLTR, that are the highest gradients studied, results presents that for iota-carrageenan-based films there is no great difference between them. Nevertheless for 0% RH for iota-carrageenan-based films and for all relative humidities on sodium alginate-based films the WLTR results are completely different than for WVTR. This is in accordance with Schroeder's paradox. Indeed, for iota-carrageenan no important changes in the structure occurred that explain why WVTR and LWTR are similar, whereas the Schroeder paradox apply for alginate film which swelling always occurs when in contact with liquid water, even for pre-hydrated film. These study allows to better understand why water transfer are very often much

greater when edible films are applied in or on food that those measured from conventional water vapour permeability techniques. Indeed, this discrepancy is often attributed to stagnant layer when WVTR is measured, but in our study the stagnant layer were the same for both carrageenan and alginate film, and then cannot explain the inefficacy of these coating when applied in a wet food product. Then structural changes of the edible barrier must be taken into account..

4.6. Principales conclusions du chapitre 4.

En résumé, la nature du polymère influence très peu la sorption d'eau, puisque les isothermes de sorption des films à base d'iota-carraghènane ou à base d'alginate de sodium sont très similaires. Par contre, l'ajout de lipides réduit la quantité d'eau absorbée, comme attendu. Le composé d'arôme incorporé (n-hexanal) tend également à abaisser l'hygroscopie des films. Les autres propriétés physico-chimiques des deux types de films en fonction du niveau d'hydratation ont des évolutions similaires. L'augmentation du niveau d'hydratation affecte significativement les propriétés mécaniques en abaissant la force à la rupture et le module d'élasticité tout en augmentant le pourcentage de déformation. Ces modifications sont principalement dues au pouvoir plastifiant de l'eau, confirmé par un abaissement de la température de transition vitreuse, mais aussi de la transition sol-gel quand la teneur en eau augmente. Ces phénomènes induisent indubitablement un accroissement des transferts de vapeur d'eau au travers des films d'autant plus marqués en absence de lipide ou d'arôme incorporé. Toutefois, au contact de l'eau liquide, le comportement des deux hydrocolloïdes diffère très nettement. En effet, les films à base d'iota-carraghènane ont un comportement classique, c'est-à-dire que l'eau est absorbée par la surface de façon quasi linéaire. à 43 et 84% HR où les flux d'absorption ne sont pas différents. Par contre à 0%, les films ont tendance à gonfler, signe à la fois d'une déformation de la surface et/ou de la solubilisation dans la goutte d'eau des constituants très hygroscopiques tel que le glycerol. Les films à base d'alginates de sodium gonflent en surface très rapidement avant que l'eau liquide ne commence à pénétrer à l'intérieur. La structure des ces films est plus organisée grâce à l'entrecroisement des chaînes et leur structure en "boite à œufs" qui limite les sites disponibles pour absorber de l'eau et qui favorise la solubilisation partielle des composants des films. Par ailleurs ce comportement diffère selon la face du film concernée, probablement dû à l'état de surface (rugosité/porosité de surface) ou à un changement de la composition au niveau de la surface.

CHAPITRE 4 : EFFET DU NIVEAU D'HYDRATATION SUR LA STRUCTURE ET LES PROPRIETES DE TRANSFERT DE FILMS A BASE D'HYDROCOLLOÏDES. 57

4.1 SORPTION ISOTHERMS OF FILMS 58
4.2 MECHANICAL PROPERTIES AND RELATIVE HUMIDITY OF FILMS. 61
4.3 INFLUENCE OF WATER ON THERMAL PROPERTIES OF FILMS. 62
4.4 MOISTURE TRANSFER THROUGH EDIBLE FILMS. 64
4.5 WATER LIQUID TRANSFER RATE (WLTR) 68
4.6. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 4. 71

CHAPITRE 5.

Effet de l'incorporation du composé d'arôme et/ou du lipide sur les propriétés de transfert de films à base d'hydrocolloïdes.

L'étude de l'impact de l'incorporation d'un composé d'arôme et/ou d'un lipide dans la matrice sur les propriétés physiques et du niveau d'hydratation des films présentés dans les chapitres antérieurs donne l'information nécessaire pour comprendre leur rôle sur les propriétés de transfert.

5.1 Oxygen permeability.

The knowledge of the barrier properties is a key parameter for the set up of edible films for the active compound encapsulation and then for the control of their performances. So, oxygen permeability of films containing or not n-hexanal and/or lipid was measured by the isobaric dynamic method.

(Publication 1)

The oxygen permeability of iota-carrageenan-based films is not affected by the aroma compound presence (Table 5.1). Therefore the protective effect of iota-carrageenan layer against oxygen is maintained. The plasticization effect of n-hexanal is not visible, probably because the lateral chains gap of iota-carrageenan is not enough to promote the oxygen molecules diffusion. Any study has shown the plasticizing effect of aroma compounds on the oxygen permeability of edible films.

Table 5.1. Oxygen Permeability of iota-carrageenan-based edible films (10^{-11} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$)

Film	Oxygen Permeability
woa:wof	0.72 ± 0.28^{a}
wa:wof	0.53 ± 0.20^{a}
woa:wf	0.86 ± 0.22^{a}
wa:wf	1.05 ± 0.58^{a}

a, the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation

(Publication 3)

The oxygen permeability of sodium alginate-based films was also carried on. Table 5.2 presents the oxygen permeability of alginate films. The presence of fat matter increases the permeabilty values. This is due to its affinity for the oxygen compound. On the contrary, the presence of the encapsulated n-hexanal does not affect the permeability, probably the plasticization effect of n-hexanal is not visible, because the lateral chain gap of alginate is not sufficient to promote oxygen molecule diffusion. Indeed, the molecular diameter of O_2 is about 11 Å whereas that of water is

2.4 Å. Even if plasticization of alginate network occurs, maybe it is not enough to favour O_2 diffusion in free volume. We find as Rojas-Graü *et al.* (2007) in alginate films, that compared to the control films (woa-wof) the presence in the films of the n-hexanal (wa-wof) induces a slight decrease on the oxygen permeability, but there is no significant difference ($p<0.05$). More-over *Bifani et al.* (2007) displayed there weren't oxygen permeability changes of methylcellulose films when essential oils were added whereas WVP was modified.

Table 5.2. Oxygen Permeability of sodium alginate-based edible films (10^{-10} g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1})

Film	Oxygen Permeability
woa:wof	$0.94 \pm 0.44^{a,b}$
wa:wof	1.95 ± 0.66^{a}
woa:wf	0.27 ± 0.17^{b}
wa:wf	2.07 ± 0.90^{a}

a...b the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

5.2 Surface hydrophobicity and wettability.

The contact angle method usually measures the equilibrium forces between a liquid, the air and solid surfaces. The spreading of the droplet depends on the surface tension forces between each component, solid, liquid and gas. The wetting of the surface depends on the molecular strengths existing in the liquid (cohesive) and that between the liquid and the solid (adhesive). This technique was adapted to assess the permeability to liquids of hydrocolloids films. Then the liquid transfer rate was calculates from the drop volume kinetics.

(Publication 2)

The surface properties of iota-carrageenan-based films were first analyzed. The contact angle is dependent on the relative magnitude of cohesive and adhesive molecular forces that exist respectively within the liquid and between the liquid and the solid; the contact angle value θ, obtained after deposition of a water drop, indicates surface hydrophobicity. Practically, a large contact angle (or small cos θ) represents a hydrophobic surface, whereas a small contact angle (or large cos θ) implies a hydrophilic surface. The quantitative definition of the relative terms "hydrophobic" and "hydrophilic" surfaces has been done respectively for surfaces exhibiting a water contact angle θ >65° and θ <65 (Vogler, 1998). In the initial time after deposition of water, no apparent modification of the film surfaces occurred, such as solvatation, hydration or swelling,

whereas significant changes were observed at longer times, usually the metastable equilibrium occurs in the first 20 to 30 seconds.

Table 5.3 shows that the contact angle of woa-wof films diminished at the air side. This is probably because of the plasticizer presence in the recipe. In our case glycerol, interacts with the lateral chains of *i*-carrageenan, affects the film structure, reducing the polymer-polymer interactions and increasing the chains mobility. Thus, an excedent glycerol molecule moved to the surface of the air side as displayed by ESEM micrograph (Figure 3.5) and then it decreases the surface hydrophobicity.

Table 5.3. Initial contact angle at time 0s ($\theta_{t=0}$) and at 40s ($\theta_{t=40}$), and absorption flux (Fabs) of water on iota-carrageenan-based film surface at 25°C.

Film type	Surface side	$\theta_{t=0}$ (°)	$\theta_{t=40}$ (°)	Fabs (10^{-2} g.m^{-2}.s^{-1})
woa-wof	Air	103.5 ^{b,c}	135.1 ^{a}	0.89 ± 0.70 ^{a}
	Support	108.9 ^{b}	98.1 ^{b,c}	1.40 ± 0.10 ^{a}
woa-wf	Air	65.8 ^{b,c,d}	48.1 ^{c,d}	0.97 ± 0.40 ^{a}
	Support	81.9 ^{b,c,d}	58.9 ^{c,d}	0.84 ± 0.70 ^{a}
wa-wof	Air	126.8 ^{a}	76.6 ^{b,c,d}	0.61 ± 0.20 ^{a}
	Support	95.6 ^{b,c,d}	81.2 ^{b,c,d}	0.54 ± 0.20 ^{a}
wa-wf	Air	89.1 ^{b,c,d}	38.8 ^{d}	0.51 ± 0.10 ^{a}
	Support	125.7 ^{a}	51.1 ^{c,d}	0.55 ± 0.10 ^{a}

a, ...d the values with the same letter in a same column are not significantly different at 5%.
Mean ± standard deviation.

In the films with fat (woa-wf and wa-wf), the same behavior than that of the woa-wof film was observed although the fat is located at the air side (Figure 3.6). A hydrophobic behavior of this side of the film should be expected. But in the films with fat, there is also the emulsifier (GMS) which is amphiphilic and is usually placed at the fat globule surface to reduce their surface hydrophobicity and surface energy. This behavior could also be due, as Karbowiak *et al.* (2006a) explained, to the thee-dimensional helical structure of polymer molecules, with strong intra-molecular hydrogen bonding beneath the films surface and no orientation of polar groups at the surface.

On the contrary, only the film with encapsulated aroma compound without fat (wa-wof) shows an opposite behavior. The water contact angle is higher at the air side of the film due to the presence

of the n-hexanal at the support side of the film. The n-hexanal has an amphipolar character, therefore it has a great affinity for the interface water/fat matter, the n-hexanal thus hides the glycerol effect. Moreover it is highly soluble in the glycerol which induces a decrease of the glycerol hygroscopicity. In the wa-wf film, the effect of the n-hexanal is no longer present. This is due to the presence of the fat, which migrates with it the hexanal to the air side, so the hexanal interacts primary with the fat instead with the interface.

Figure 5.1 presents the water absorption flux (Fabs) calculated from the water drop volume kinetics when deposited on the film surfaces. Fabs is the absorbed volume per base area unit (that corresponds to the interface liquid/solid) and per time unit. There is no significant difference between all type of films, and between the different sides of films.

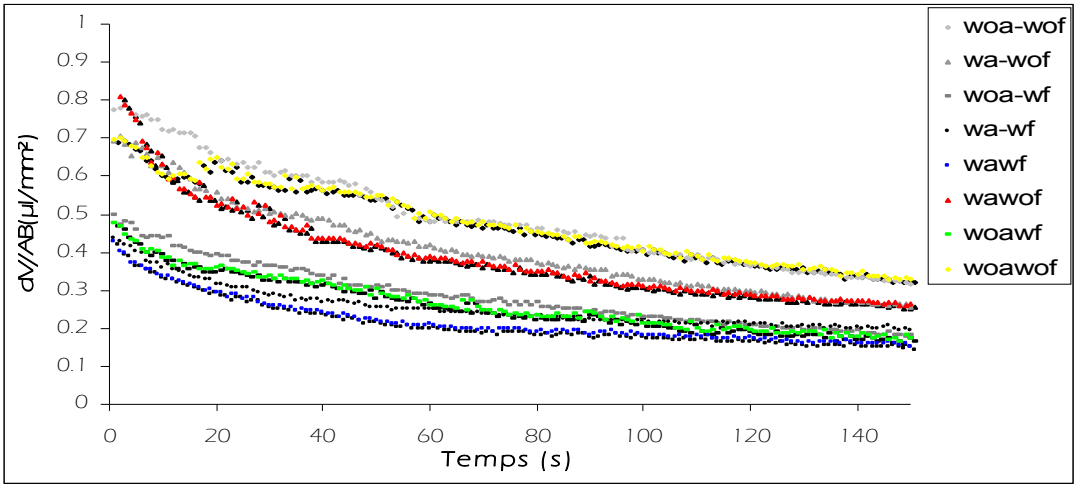


Figure 5.1. Kinetics of water droplet absorption (µL/mm^2) by the iota-carrageenan-based film surface at air-side (a) or support-side (s).

Nevertheless there is a tendency to diminish the absorption flux of the films with fat (Figure 5.2), it doesn't matter if there is encapsulated aroma compound or not, this is due to the film structure, with the presence of fat the structure of the film is really disturbed and heterogeneous, as observed on micrographs (Figures 3.6a and 3.8). Surface roughness is another phenomenon that could be implied through an increase of the surface contact with the basis of the droplet in proportion with surface heterogeneity (Karbowiak *et al.* 2006b). Thus, when the film surface is homogeneous and smooth, film capacity to absorb becomes more difficult compared to heterogeneous and rough surfaces for which capillarity forces favors water penetration.

(Publication 3)

The surface properties of **sodium-alginate**-based films were also carried on. The value of the contact angle θ with water indicates how hydrophobic the surface is. Practically, a large contact angle represents a hydrophobic surface, whereas a small contact angle implies a hydrophilic surface. The quantitative definition of the relative terms "hydrophobic" and "hydrophilic" surfaces has been done respectively for surfaces exhibiting a water contact angle θ >65° and θ <65 (Karbowiak *et al.* 2006a). Table 5.4 presents the initial water contact angle values of alginate films.

Table 5.4. *Contact angle at time 0s and estimation of the swelling index of sodium alginate-based films.*

Type of film	side	θ t0(°)	Swelling index (%)
woa-wof	air	85.83[a]	72.38±1.8[ab]
	support	69.91[a]	10.89±4.90[b]
woa-wf	air	88.6[a]	18.56±4.53[b]
	support	112.81[a]	32.60±6.55[b]
wa-wof	air	95.54[a]	97.09±37.88[a]
	support	87.83[a]	18.68±7.52[b]
wa-wf	air	85.65[a]	104.64±56.76[a]
	support	67.68[a]	65.89±39.90[ab]

woa : without aroma compound, **wof** : without fat, **wa** : with aroma compound, **wf** b: with fat

a, ...d the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

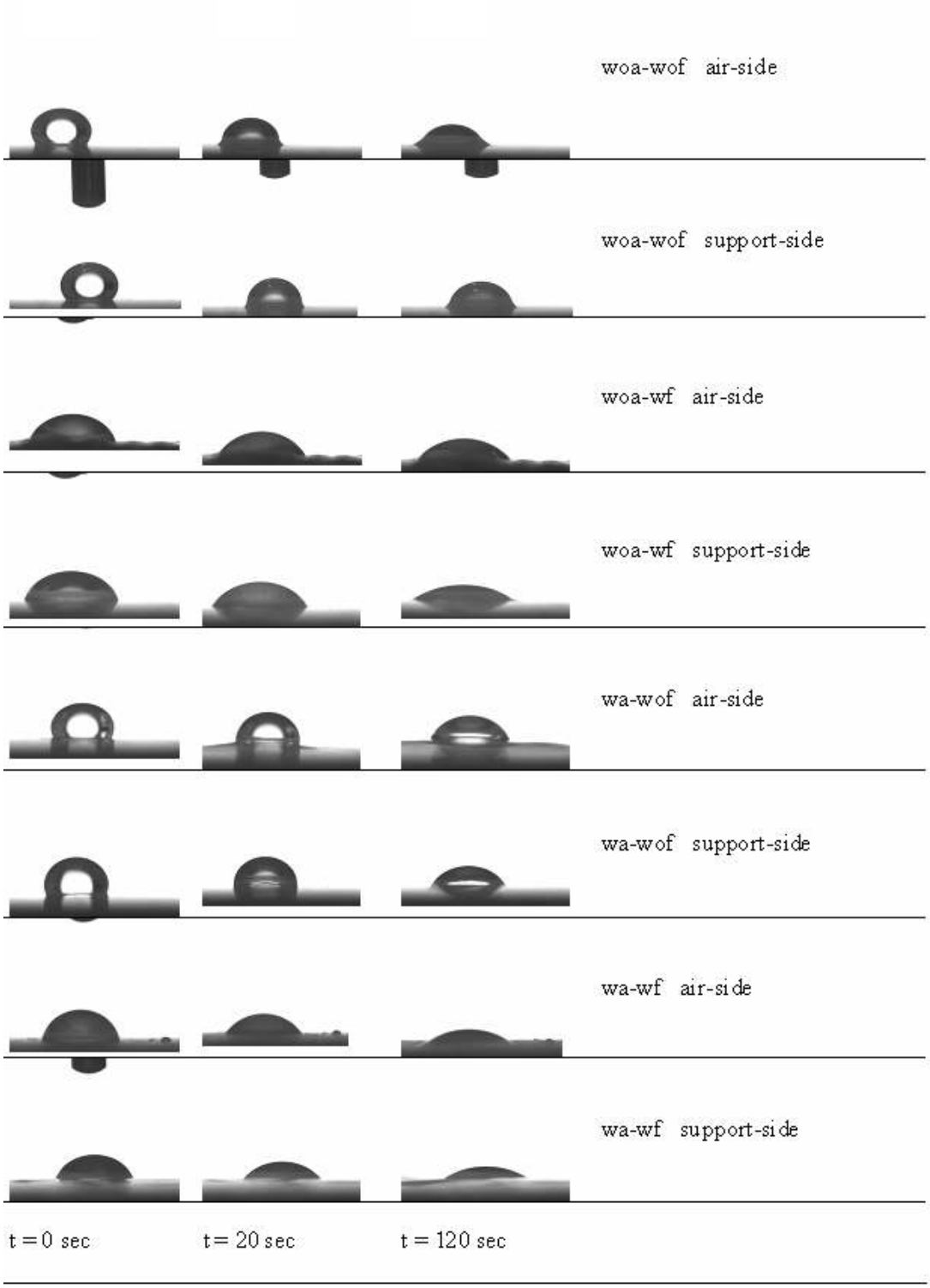


Figure 5.2. Contact angle images of water droplets on the air-side and support-side of iota-carrageenan films.

There are no significant differences between the films, neither between the two sides of the film (air and support). As observed by ESEM micrographs this is probably due to the film structure, although there is a tendency of the film components to go to one side or the other, the structure all along the films is quite homogeneous. Thus, the hydrophobicity is similar for all the films. In alginate films, the absorption flux is uneasily measureable, because the film starts to swell very rapidly. The swelling index was calculated for all types of films and for both sides as displayed on, Figures 5.3, 5.4, 5.5 and 5.6. There is a significant difference of the air side swelling of all types of films except for the film without encapsulated aroma compound with fat Figure 5.4 (woa-wf). The air side presents a higher swelling index. This is probably due to a partial solubilization of the film components in the droplet, principally of the hydrophilic and amphipolar components such as glycerol and n-hexanal. It could also be due to the reorientation of the polymer strings according to their affinities for the support after the film drying step. The highest swelling index is in emulsified films, this could be due to the hydrophobic nature of the films with fat matter. This phenomenon of swelling of edible films was already observed by Phan *et al.* (2005b) in films made of cassava starch, also by Karbowiak *et al.* (2006) for carrageenan films.

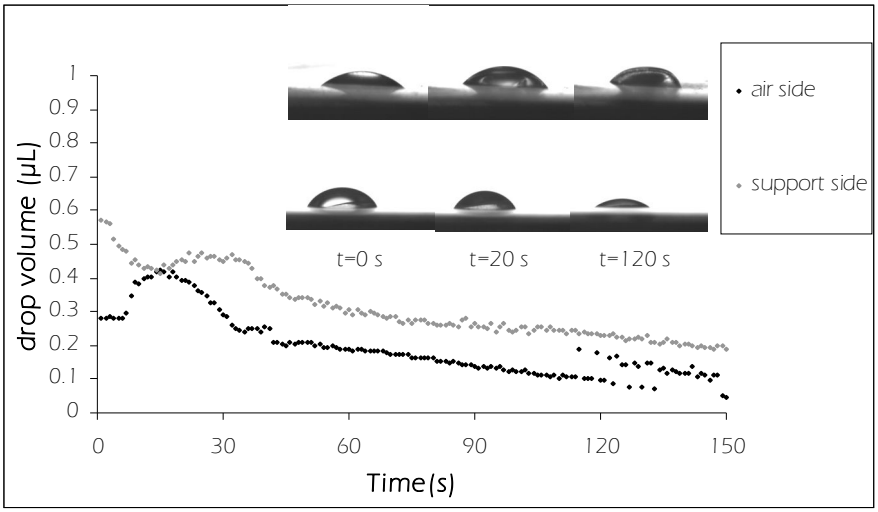


Figure 5.3. *(a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films without aroma compound without fat.*

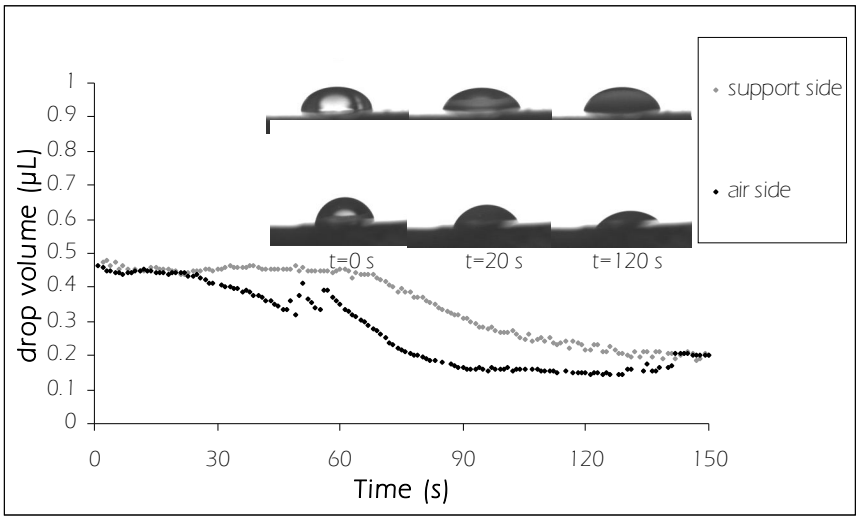


Figure 5.4. (a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films without aroma compound with fat.

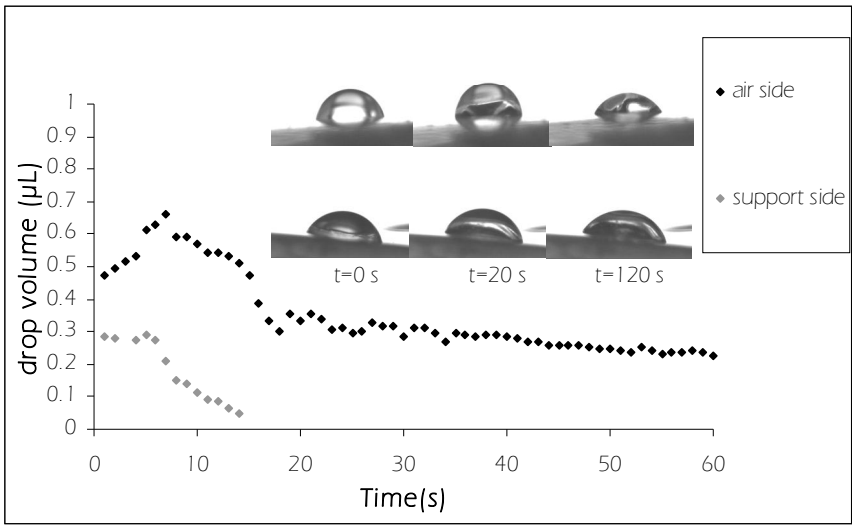


Figure 5.5. (a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films with aroma compound without fat.

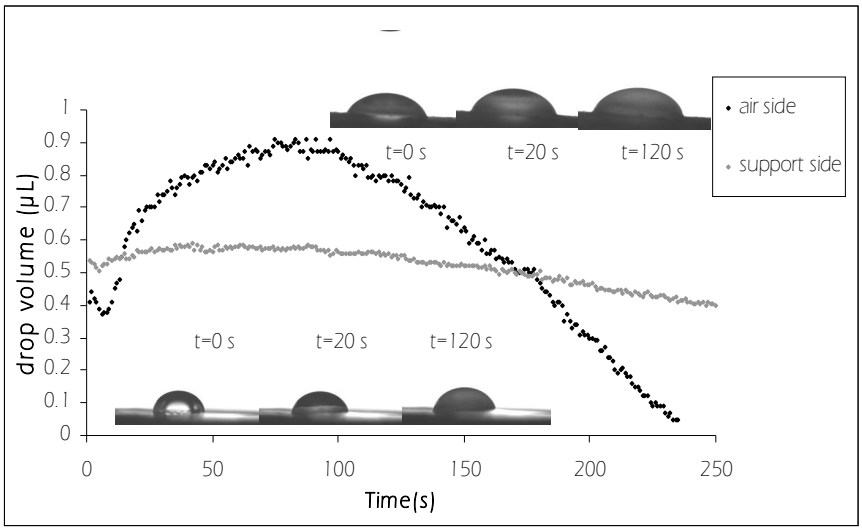


Figure 5.6. *(a) Water drop volume kinetics and goniometer pictures on the air side face and support side face of sodium alginate-based films with aroma compound with fat.*

5.3 Aroma compound vapor sorption.

(Publication 4))

The aroma compound vapor sorption of iota-carrageenan-based films was firstly carried on. The solubility coefficient (S) is the amount of the transferred molecule contained or dissolved in the film at equilibrium conditions. Sorption is measured as a function of sorbate concentration by a sorption equilibrium isotherm (Giacin, 1995) and in our case S was measured at saturation.

Figure 5.7 shows the sorption results of n-hexanal and D-limonene for iota-carrageenan films without fat (wof) or with fat (wf). There is no significant difference in the n-hexanal sorption for both types of films. For the D-limonene, sorption is higher in films with fat, this is due on the one hand to the greater hydrophobicity of the D-limonene which log K= 5.5 (Philippe *et al.* 2003) compared to that of n-hexanal equal to 1.97 (Fenaroli, 1975).

This means that D-limonene has more affinity for the hydrophobic substances than for the film matrix; its hydrophobicity enhances the sorption. For the n-hexanal, the log K is quite low, having similar affinities for both phases of films. Also, recent works (Wulff *et al.* 2005) showed that aldehyde group of n-hexanal, which is very reactive, interacts with the lateral chains of i-carrageenan, the film

structure has a tridimensional network, when this network is saturated with the aroma compound, the sorption does not necessarily increase even with the presence of fat. On the other hand the saturated vapour pressure of the aroma compound is related to its solubility (ability to condensate). When the saturated vapour pressure decreases the solubility increases as Quezada-Gallo *et al.* (1999) displayed. The saturated vapour pressure of D-limonene is of 267 Pa (Philippe et.al, 2003) is much lower than n-hexanal that is of 1420 Pa (Fenaroli, 1975), favouring its sorption in i-carrageenan's edible films.

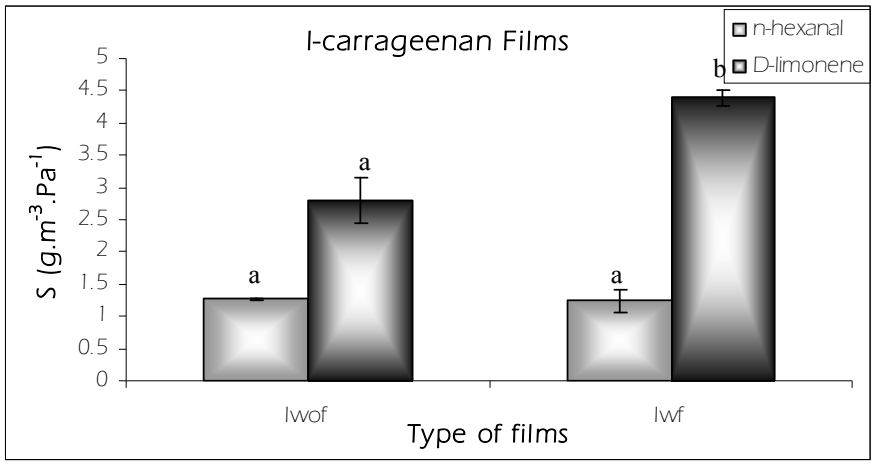


Figure 5.7. Sorption coefficient (S) ($g.m^{-3}.Pa^{-1}$) of n-hexanal and D-limonene aroma compounds in iota-carrageenan-based films, without fat (wof) and with fat (wf).

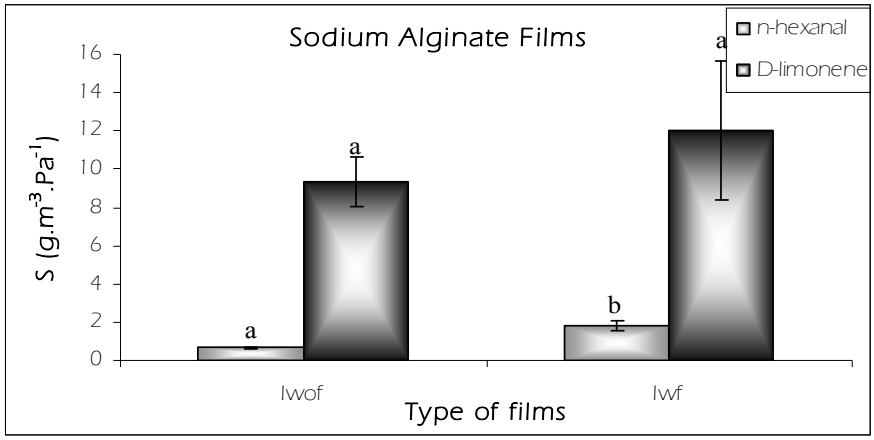


Figure 5.8. Sorption coefficient (S) ($g.m^{-3}.Pa^{-1}$) of n-hexanal and D-limonene aroma compounds in sodium alginate-based films, with out fat (wof) and with fat (wf).

For sodium alginate-based films, sorption results are presented in Figure 5.8. D-limonene sorption is higher than that of n-hexanal as observed for iota-carrageenan films. For both aroma compounds the sorption is higher in the films with fat. In the D-limonene case, the affinity to the film seems to be the main factor affecting the sorption, but for the n-hexanal the nature of the matrix of the film and their interactions seems to have more impact on the sorption. The egg-box structure of sodium alginate films has strong interactions between all the compounds inside the film promoting stabilization and decreasing interactions between the aldehyde group of n-hexanal and the film leading to a higher sorption in the presence of fat.

5.4 Diffusivity of liquid aroma compounds in films.

The Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR) is an analitical technique that allows to display modifications of chemical bounds (covalent) or weak energy interactions. The attenuated total reflexion mode permits to determine the diffusion coefficient of a compound which transfers through the film. This technique is based on the evolution of the relative intensity of the specifique bands of the diffusing compound.

The diffusivity of liquid aroma compound in iota-carrageenan-based films was carried on in first place. The diffusion coefficient is a measure of how rapidly penetrant molecules are advancing through the film (Giacin, 1995). The apparent diffusion coefficient (Dapp) of D-limonene and n-hexanal for both types of films measured experimentally by FTIR-ATR are given in table 5.5. Between all the results, there are no significant differences, this means that the mobility of the aroma compounds is similar in both matrices (iota-carrageenan and sodium alginate). Flaconnèche *et al.* (2001) reported that Dapp seems to depend strongly on the molecule size. Although if D-limonene and n-hexanal have different physico-chemical characteristics such as log K, solubility and saturated vapour pressure, they have the same order of molecular weights. D-limonene has a molecular weight of 136.24 $g.mol^{-1}$ and n-hexanal of 100.16 $g.mol^{-1}$, which can explain the weak difference in aroma compounds diffusivity.

Indeed, Dapp of D-limonene is slightly higher though it is a bigger molecule and with a non linear chemical structure. So, the polymer nature is also an important parameter, even if there are no significant differences in the results, it seems to be a tendency of the Dapp. For both types of films the diffusion of D-limonene is a little bit higher in the films with fat, and the diffusion of n-hexanal is a little bit higher in the films without fat. This is probably due to the respective affinities of the volatile compounds for the lipid or for the polymer matrix, as we previously explained.

Table 5.5 shows the results of the Dapp estimated from vapour sorption kinetics. For both aroma compounds and whatever the films, there are no significant differences.

Table 5.5. n-hexanal and D-limonene diffusion coefficients (Dapp, $m^2.s^{-1}$) determined experimentally and from sorption kinetics, in iota-carrageenan (I) and sodium alginate-based (A) films without fat (wof) and with fat (wf).

Aroma compound	Type of film	Experimental Dapp (FTIR) ($10^{-12}m^2.s^{-1}$)	Estimated Dapp (Kinetic of sorption) ($10^{-12}m^2.s^{-1}$)
n-hexanal	Iwof	1.46+/-0.087a	0.00024+/-0.000007a
	Iwf	1.11+/-0.29a	0.000325+/-0.0000353a
D-limonene	Iwof	1.57+/-0.33a	0.000195+/-0.0000212a
	Iwf	2.23+/-0.12a	0.000160+/-0.0000565a
n-hexanal	Awof	1.29+/-0.54a	0.00145+/-0.000777a
	Awf	1.21+/-0.40a	0.00135+/-0.000636a
D-limonene	Awof	2.23+/-0.45a	0.000605+/-0.000176a
	Awf	5.33+/-0.65a	0.000765+/-0.00019a

a,...,the values with the same letter are not significantly different at the $p<0.05$, Mean ± standard deviation

Nevertheless the Dapp values determined from sorption kinetics are 3 or 4 orders of magnitude lower than those determined experimentally, this is probably due to the air stagnant layer not taken into account in the model used. Dury-Brun *et al.* (2008) reported similar results of diffusivity values calculated using a simplified model with an infinite coefficient of mass convection (no external resistance). Gennadios *et al.* (1994) has shown that the existence of a stagnant air layer on the surfaces of edible films could result in a significant resistance to water vapour transfers. Debeaufort *et al.* (1994) reported that not a lot of works on the aroma permeability of plastic packaging take into account the limit layers and these have a strong effect on transfers cross packaging films. Dapp results from FTIR-ATR experiments do not present this resistance because of the perfect contact of the liquid aroma compounds on the film surface and an infinite source of aroma at the interface.

Nevertheless when Dapp is determined from sorption kinetics this resistance against transfer should be taken into account, because stagnant layers are present around films in vapour sorption and could not be neglected. Peychès-Bach *et al.* (2009) found also different diffusion coefficients between those determined experimentally and those determined from sorption kinetics. Quezada-Gallo *et al.* (1999) proposed another hypothesis: aroma compounds in high concentrations may

form clusters reducing diffusivity due to friction process between aroma molecules and polymer network.

5.5 Diffusivity measure from multilayer film cell.

Three layers of iota-carrageenan-based edible films were introduced in the diffusion cell, to the diffusion coefficient. The two external layers (films) contained the n-hexanal and the inner layer was a virgin film. A perfect contact between each layer was ensured by pressure considering no interface resistance for the diffusion. 5.6 show the results of the diffusion coefficient and time lag and Figure 5.9 presents the migration kinetics of iota-carrageenan-based and sodium alginate-based films for 43% of relative humidity. There are no significant differences between both types of films. Time lags are similar which means that both types of films are similar barriers when the transfer of the encapsulated aroma compound is in solid contact. Time lag not only depends on the nature of the polymer but also on the diffusant studied, in our case the encapsulated n-hexanal. Low molecular weights diffusants have the shortest time lag (Feigenbaum *et al.* 2008), for the n-hexanal its molecular weight is of 100.16 g/mol, this could possibly be the reason of a short time lag. Nevertheless there was a 43% of relative humidity, this means that probably both films were already plastified by the water molecule, opening the intramolecular spaces of the nets and becoming easier for the diffusant to pass through. Diffusion coefficients of both polymers are in the order of $10^{*-12,}$ this is in concordance with recent studies. Feigenbaum (2008) found for the chlorobenzene, which molecular weight is of 100 g/mol, similar to that of the n-hexanal, diffusion coefficients in films of HPDE and LPDE of the same order of magnitude that in our case. In spite of the different type of network of each type of film, the plasticizing effect of the water and the low molecular weight of the n-hexanal have a greater influence on the diffusion. Also the total relative error of the tree layer test is very high which diminishes the differences between both types of films. The faster time lag and the shorter diffusion coefficients makes the multilayer experience a very complex study, and as we previously said the diffusion measurement in polymers is already complex..

Table 5.6. Diffusion coefficient and time lag of n-hexanal in iota-carrageenan and sodium alginate-based films at 43% RH.

Type of film	Diffusion $*10^{-12}$ (m2/s)	Time lag (s)
Iota-carrageenan	1.02(20)[a]	119.5
Sodium alginate	1.58(26)[a]	112

a,...,the values with the same letter are not significantly different at the $p<0.05$, Mean (relative error)

This study help us to understand the diffusion in solid contact on different types of films; anyway for better understand the diffusion obtained with the multilayer test it would be interesting to try the same experience at different relative humidities to see the plasticizing effect of the water but also at different temperatures, because at higher temperatures the faster the diffusion and viceversa.

5.6 Aroma compound vapor permeability.

Aroma compound vapor permeability was measured with the isobaric dynamic method. The effect of n-hexanal and/or lipid incorporation was studied on the transfers of volatils compounds having different chain lengths and chemical functions.

5.6.1 Measured and/or estimated values of aroma vapour permeability at 43% RH.

Aroma compound vapour permeability was carried on for **iota-carrageenan**-based and **sodium alginate**-based films. Table 5.7 shows the permeability values determined experimentally for the aroma compounds and for all the films.

Table 5.7. *n-hexanal and d-limonene permeability ($g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) determined experimentally, in iota-carrageenan (I) and sodium alginate-based (A) films.*

Type of polymer	Aroma compound	Type of film	Experimental Permeability (10^{-12} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$)
Iota-carrageenan	n-hexanal	Iwof	1.89+/-0.63a
		Iwf	Under equipment threshold
	D-limonene	Iwof	0.0291+/-0.0016a
		Iwf	0.0803+/-0.0028a
Sodium alginate	n-hexanal	Awof	1.34+/-0.234a
		Awf	Under equipment threshold
	D-limonene	Awof	0.0338+/-0.0026a
		Awf	0.00535+/-0.00018b

a,...b,the values with the same letter are not significantly different at the $p<0.05$, Mean ± standard deviation.

For the n-hexanal in iota-carrageenan-based and sodium alginate-based with fat, the values are below the equipment threshold and for the films without fat, permeability values are not

significantly different, this is probably due to the affinity that the aroma compound has for the polymer matrices, as we previously noticed. The aldehyde group of the n-hexanal is very reactive and interacts preferentially with the polymer, decreasing its solubility with the fat matter. The n-hexanal has also a low log K which means that it has a more amphipolar character, leading to an increase of interactions with the polymer and decreasing its affinity for the fat. The D-limonene permeabilities are not different in whatever the films, except for the sodium alginate film containing fat for which the D-limonene permeability is lower. This could be explained because the D-limonene is highly hydrophobic and then is more soluble in films with fat. Moreover, the sodium alginate film structure as an egg-box makes more stable the matrix and provides a very homogeneous structure as displayed in previously.

Table 5.8 shows the permeability values calculated/estimated from measured diffusion coefficient and from sorption kinetics. No significant differences have been observed between all the estimated values and no specific trends can be observed.

Table 5.8. *n-hexanal and D-limonene permeability ($g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) estimated from diffusion coefficient (experimental Dapp)and from sorption kinetics, in iota-carrageenan (I) and sodium alginate-based (A) films.*

		Permeability ($10^{-12}g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$)	
Aroma compound	Type of film	Estimated from Dapp	Estimated from sorption
n-hexanal	Iwof	1.80+/-0.055a	0.000312+/-0.0000072a
	Iwf	1.34+/-0.320a	0.0004+/-0.0000113a
D-limonene	Iwof	4.47+/-1.50a	0.000546+/-0.0000108a
	Iwf	9.78+/-0.274a	0.000698+/-0.000227a
n-hexanal	Awof	1.06+/-0.063a	0.00943+/-0.000431a
	Awf	2.60+/-0.767a	0.00236+/-0.000833a
D-limonene	Awof	21.78+/-1.246a	0.00534+/-0.000552a
	Awf	59.77+/-7.137a	0.00905+/-0.00129a

a,...,the values with the same letter are not significantly different at the $p<0.05$, Mean ± standard deviation.

When we compare these values with permeability values determined experimentally, we found discrepancies. The permeability values determined experimentally are much lower than the values determined from the diffusion coefficient but have the same order of magnitude and 3 or 4 orders

of magnitude higher than the values determined from the sorption kinetics. Lagaron *et al.* (2001) and Nulman *et al.* (1998) found that sorption experiments gave values of permeability underestimated when compared to values assessed by permeation. According to Nulman *et al.* (1998), failure in the prediction of permeation data based on sorption experiments could be attributed to the solvent molecule inducing drastic changes in the properties of the polymeric material. Also Dury-Brun *et. al.* (2008) found large differences between calculated and measured permeability coefficients of ethyl hexanoate in plastic films by the dynamic permeation method. The measured permeability coefficient was higher than that estimated from sorption kinetics. However for both aroma compounds in all types of films, the sorption values were close, this means that the diffusion coefficient is the parameter that impacts the most the permeability results rather than the solubility. Thus, the permeability coefficient could not be estimated theoretically especially when these and the diffusion coefficient are determined by sorption kinetics because of the stagnant layer presence in the vapour sorption technique which has a strong effect on films permeability.

5.6.2 Measured and/or estimated values of aroma vapour permeability at 0% RH.

(Publication 2)

Aroma compound vapour permeability at 0% RH of iota-carrageenan-based films was firstly carried on. Table 5.9 shows the permeability of ethyl esters (ethyl acetate, ethyl butyrate and ethyl hexanoate), 2-hexanone, hexanol, hexanal, cis-3-hexenol and d-limonene of the studied films at 0% relative humidity. The effects of lipid and encapsulated aroma compound (n-hexanal) presence on aroma permeability were evaluated by a multifactor variance analysis.

Table 5.9. Aroma compounds vapour permeability (10^{-10} g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}) of different iota-carrageenan-based films.

Film Type	Ethyl acetate	Ethyl butyrate	Ethyl hexanoate	2-Hexanone	1-Hexanol	Cis-3 hexenol	D-limonene	n-Hexanal
woa-wof	4.6± 1.3 ^{a}	12.5± 0.7 ^{c}	<1.4^{a}	19.6± 3.6 ^{e}	<0.11^{a}	<1.2^{a}	14.2± 5.9 ^{e}	<1.2^{a}
woa-wf	2.2± 0.4 ^{b}	33 ± 8 ^{b}	<1.4^{a}	11.1± 9.1 ^{e}	<0.11^{a}	<1.2^{a}	8.0± 2.8 ^{e}	<1.2^{a}
wa-wof	1.8± 0.8 ^{b}	7.6± 0.1 ^{d}	<1.4^{a}	9.6± 5.3 ^{e}	<0.11^{a}	<1.2^{a}	2.4 ± 1.6 ^{f}	<1.2^{a}
wa-wf	0.9±0.001^{b}	2.0 ± 0.6 ^{b}	<1.4^{a}	8.2± 1 ^{e}	<0.11^{a}	<1.2^{a}	< 0.12	<1.2^{a}

a, ...f the values with the same letter in a column are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

The vapor permeability to ethyl hexanoate, 1-hexanol, *cis*-3-hexenol and n-hexanal cannot be determined because their value are lower than the detection threshold of the GC. In ethyl acetate case, the results showed that aroma permeabilities were significantly different ($p<0.05$) only between the film having no fat and no encapsulated n-hexanal (woa-wof) and the other films. As it has been shown in a recent works (Fabra *et al.* 2008b), the encapsulated n-hexanal interacts with CH_2OH and/or sulphated groups of iota-carrageenan lateral chains inducing a lower permeability. The addition of fat also induces the formation of aggregated globules which decreases the aroma permeability (Kabowiak *et al.* 2006b). Ethyl butyrate permeabilities are significantly different ($p<0.05$) between the films containing or without fat (wf and wof). This can be explained by the log K of the ethyl butyrate that equals to 1.88. Log K is the partition coefficient of the aroma compound between the water and n-octanol and is considered
as the parameter of hydrophobicity. Indeed, the higher is the log K, the greater is the hydrophobicity of the aroma compound, and thereby limits the ethyl butyrate solubility in the hydrophilic iota-carrageenan matrix. On the contrary, it promotes interactions with the fat. Ethyl butyrate is then more retained in fat globules. The films with fat are also less uniform, fat globules particle size increases and there is less open spaces in film structure to facilitate the aroma diffusivity. Therefore it limits the aroma compound transfer. In the films without fat (wof) there is either a plasticization effect or a solubilisation enhancement caused by the encapsulated aroma compound (n-hexanal) which induces an increase of the ethyl butyrate permeability. For the ethyl hexanoate case, the higher hydrophobic character (log K=3.62) probably limits its transfer through composite films due to the lower affinity for *i*-carrageenan films and promotes probably strong interactions with fat where it is retained. Then, ethyl hexanoate permeabilities values were lower than the equipment threshold, *i.e.* lower than 1.4×10^{-4} $g.mm.Pa^{-1}.m^{-2}.s^{-1}$.
Ethyl acetate and ethyl butyrate permeabilities of films with fat are not significantly different ($p>0.05$) despite the different log K, probably because of their great affinity for the fat phase which mask the effect of the n-hexanal encapsulation. Nevertheless, in films without fat, ethyl butyrate permeability is significantly higher. This is related to the saturated vapor pressure as Quezada-Gallo *et al.* (1999) explained. The lower the saturated vapor pressure of the aroma compound is, the higher the aroma compound sorption (solubility) in the film is. Thus, according to the solubility-diffusivity model the aroma compound permeability increases. The ethyl hexanoate permeability may significantly be different ($p<0.05$) to the other two esters having a so low value to be measured.
For the 2-hexanone, there is not significant difference ($p>0.05$) between the films. This is probably because the ketone group interacts with the iota-carrageenan OH group as Quezada-Gallo *et al.* (1999) have shown. Thus, interactions hide the fat and n-hexanal effect on the 2-hexanone permeability. In opposite to ethyl hexanoate behavior, 2-hexanone is much more soluble in water

because of its greater polarity which favors its solubility in the carrageenans matrix and thus its transfer.

The very low permeability of films to n-hexanol could probably be due to its higher hydrophobic character (log K=2.03) (Covarrubias-Cervantes *et al.* 2004) and potential interactions between the alcohol function and the lateral chains of iota-carrageenan such as hydrogen bonds. In the cis-3-hexenol case, the aroma permeabilities values were lower than the equipment threshold although it is hydrophilic. Interactions could also occur but the unsaturation has an effect on the molecule flexibility and then its diffusion in the network. For the hexanal, the permeabilities is under the equipment threshold, probably because of its very high saturated vapor pressure which limits its solubility in the film matrix, but because of strong interactions as presented previously. The presence of n-hexanal diminished the D-limonene permeability, probably like in ethyl acetate case, the interactions between n-hexanal and CH_2OH and/or sulphated groups of iota-carrageenan lateral chains reduce their permeability. Fat reduces the D-limonene permeability because of its hydrophobic character (logK=5.5). Finally when the two factors (n-hexanal and fat) are present in the film, the d-limonene permeability values are lower than the equipment threshold.

Comparing the behaviour of compounds having 6 carbon on the chain, the aroma permeabilities seems not depending on the chain length but on the functional group even if the log K is not so different (like in the case of 2-hexanone with the 1-hexanol).

(Publication 3)

Aroma compound vapour permeability at 0% RH of sodium alginate-based films was also carried on Table 5.10 shows the permeability of ethyl esters (ethyl acetate, ethyl butyrate and ethyl hexanoate), 2-hexanone, 1-hexanol, n-hexanal, cis-3-hexenol and D-limonene of the films at environment relative humidity. The effects of the presence of lipid and encapsulated aroma compound (n-hexanal) on aroma permeability were evaluated by a multifactor variance analysis.

Table 5.10. Aroma compounds vapour permeability (10^{-10} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) of different sodium alginate-based films

Film Type	Ethyl butyrate	Ethyl hexanoate	2-hexanone	d-limonene
woa-wof	$<1.2^{a}$	$<1.4^{a}$	$<0.11^{a}$	$<0.11^{a}$
woa-wf	$<1.2^{a}$	$<1.4^{a}$	43 ± 26^{b}	0.005 ± 0.0001^{b}
wa-wof	$<1.2^{a}$	$<1.4^{a}$	$<0.11^{a}$	$<0.11^{a}$
wa-wf	330 ± 34^{b}	$13\,425\pm374^{c}$	9.396 ± 0.248^{d}	1.450 ± 0.574^{b}

a...d the values with the same letter are not significantly different at 5%.

Mean ± standard deviation.

In ethyl ester cases, permeabilities were measured, for the ethyl butyrate and the ethyl hexanoate, only, for the films with encapsulated aroma compound with fat (wa-wf). In both cases the log K, 1.88 and 3.62, respectively (which is the partition coefficient of the aroma compound between the water and n-octanol and it is considered as the parameter of hydrophobicity) limits their solubility in the aqueous alginate matrix because of its hydrophilic nature. Therefore the aroma compound is going to interact preferentially with the fat matter. As shown previously the presence of the encapsulated aroma compound n-hexanal, acts as a plasticizer, promoting the matrix chains mobility and increasing the permeation of the aroma compound. The permeability values of these two aromas compounds are significantly different ($p<0.05$), the ethyl hexanoate value is higher, although it has a longer chain. On the one hand its log K=3.62 is higher than that of ethyl butyrate and promotes the interactions with the fat hydrophobic matter and on the other hand, its saturated vapor pressure is much lower than that of ethyl butyrate. With lower saturated vapor pressure, the solubility increases and thus the aroma compound permeability too (Quezada-Gallo JA *et al.* 2000).

In 2-hexanone and D-limonene case, there are permeability values only in the films with fat. In 2-hexanone case, although its saturated vapor pressure is elevated and its log K is lower than the log k of the other aroma compounds; its permeability values are much higher. This is probably due to the interactions of 2-hexanone keton groups with the alginate matrix. This increases the chains mobility and with it the aroma compound permeability. For the permeability of D-limonene, the higher hydrophobicity of the aroma compound (log K=5.50), allows it to interact with the fat matter, but this could also decrease the permeability value by a retention of the aroma compound in the film matrix. Also in both cases the presence of the n-hexanal encapsulated increases the permeability values because the encapsulated aroma compound disturbs the structural organization of emulsified films, due to the competitive affinities of lipid and the encapsulated aroma compound for the interface as Fabra *et al.* (2009) shown.

For the rest of the aroma compounds the permeability values were under the equipment threshold. This is probably due firstly to the aroma compound affinities for the alginate matrix and secondly to the homogeneity of the alginate film structure. As the microscopy images shows there are fewer free spaces for the transfer of the aroma compound.

5.7 Liquid permeability assess from pure aroma absorption kinetics

(Publication 2)

Aroma compound liquid permeability of **iota-carrageenan**-based films was carried on from the contact angle technique. Instead of using liquid water, pure aroma compounds were deposited on the film surface and the drop volume was followed according the time. Table 5.11 shows the n-hexanal and d-limonene absorption flux of the studied films. The effects of lipid and encapsulated aroma compound (n-hexanal) presence on aroma permeability were evaluated by a multifactor variance analysis.

Table 5.11. n-Hexanal and D-limonene liquid absorption flux (Fabs) (10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1})measured on the support side surface of iota-carrageenan-based films and vapour permeability flux (Fperm) (10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1})

Film Type	n-Hexanal		d-limonene	
	Fabs	Fperm	Fabs	Fperm
woa-wof	2.43 ± 0.20 ^{a}	n m	0.70 ± 0.04 ^{a}	67.96 ± 34.15 ^{c}
woa-wf	3.79 ± 1.90 ^{a}	n m	2.53± 0.90 ^{a}	37.47 ± 8.96 ^{c}
wa-wof	1.89 ± 0.60 ^{a}	n m	∞	17.34 ± 10.61 ^{b}
wa-wf	3.40 ± 1.10 ^{a}	n m	1.73 ± 0.10 ^{a}	n m

Mean ± standard deviation. **a,b,c** the values with the same letter are not significantly different at 5%.

∞ : Immediate wetting, no measureable absorption flux (< 1 sec)

n m. : not measurable (value too low to be measured)

For both n-hexanal and D-limonene, the absorption fluxes could only be measured on the support side of all type of films because on the air side, the absorption was instantaneous (<1 sec). This means theoretically infinite rate of absorption. Different behaviors between the face can be explained by the effect of the support which induce a smoother and regular surface where the carrageenans molecular chains had more time to arrange whereas, at the evaporation air-side surface, the structure is more heterogeneous and more porous. This porosity favors a very rapid absorption because of capillarity force and because of a more hydrophobic character.

We have previously demonstrated that there is a retraction of iota-carrageenan network during drying and lipid aggregates as displayed by Fabra *et al.* (2008b). Lipids and glycerol tend to

migrates toward the evaporation surface. Indeed, the microscopy observations displayed the lipid aggregation and glycerol spots concentrated at the air side of the film. The absorption flux increases for both aroma compounds in the films with fat (wf), because of their affinities. The hydrophobic nature of the aroma compounds makes easier their absorption into the air-side surface of films.
A weaker absorption flux is obtained in the films with encapsulated n-hexanal without fat (wa-wof), because the aldehyde group of the aroma compound interacts with the *i*-carrageenan lateral chains involving to a more dense structure.reducing the free spaces in the film network matrix. This limits the absorption of the aroma compounds. The microscopy also showed that this type of film (wa-wof) has a very homogeneous structure; all the components are quite well distributed all along the film which reduces the absorption capacity of the film. Karbowiak *et al.* (2006b) find similar behavior for iota-carrageenan films.
The absorption of D-limonene is weaker than that of the n-hexanal because of its cyclic molecular structure, which makes harder its transfer through the film. The iota-carrageenan matrix also has a hydrophilic character which decreases the permeability of the hydrophobic D-limonene (log K= 5.5). Absorption flux could be related to an apparent liquid permeability and compared to the aroma vapor permeability expressed as aroma transfer rate or flux (F_{perm}), given in table 5.11. The only values obtained with the D-limonene did not permit to correlate aroma vapor transfers and the absorption flux obtained from goniometry measurements. But in both cases, we can note there is a strong influence of both fat and n-hexanal encapsulation on the vapor or liquid D-limonene transfer through the iota-carrageenans based edible films.

*(*Publication 3)

Aroma compound liquid permeability of sodium alginate-based films was also carried on Table 5.12 shows the absorption flux of the n-hexanal and D-limonene.. In the case of n-hexanal there are permeability values only in the films with fat. This is due to their hydrophobic character, and it increases the affinities between the aroma compound and the film matrix. In the films without encapsulated aroma compound and with fat (woa-wf), the permeability is greater for the n-hexanal at the air side because of the glycerol migration in the film during drying. Thus the group OH of the glycerol is available to interact as hydrogen bonds with the n-hexanal aldehyde group, which is very reactive, allowing the aroma compound permeation. On the contrary, films with encapsulated aroma compound and with fat (wa-wf) have a higher permeability at the support side, probably because the n-hexanal encapsulated has already interacted with the glycerol. In D-limonene case, there are permeability values for the films with fat on both sides of the film, and in films without fat, only on the support side. Nevertheless in the films with fat the permeability values are higher at the support side surface. This is probably due to the film structure. The microscopy shows that the fat matter and the glycerol have a tendency to go to the air side, disturbing and making denser the

structure, this makes more difficult the permeation of the aroma compound. In both cases, n-hexanal and D-limonene have a greater permeability at the support side of films with fat. There are more permeability values for the D-limonene aroma compound, but there are no significantly differences ($p<0.05$) between them probably, because of the homogeneity of the film structure.

Table 5.12. n-Hexanal andD-limonene liquid absorption flux (Fabs) ($10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1}$)measured on both sides surface of sodium alginate-based films.

Film type	Side	Fabs of n-hexanal ($10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1}$)	Fabs of D-limonene ($10^{-2}g.m^{-2}.s^{-1}$)
woa-wof	air	n m	n m
	support	n m	0.0642±0.011a
woa-wf	air	0.0489±00.014a	0.0264±0.005a
	support	0.0267±0.005a	0.0444±0.012a
wa-wof	air	n m	n m
	support	n m	0.0392±0.015a
wa-wf	air	0.0175±0.007a	0.0275±0.007a
	support	0.2333±0.001a	0.0313±0.011a

a, the values with the same letter are not significantly different at 5%.

n m. : not measurable (value too low to be measured)

Mean ± standard deviation.

5.8. Principales conclusions du chapitre 5.

En résumé, l'adition d'un compose d'arôme ou d'un lipide a des effets très importants sur les propriétés de transferts des films comestibles à base d'iota carraghènane ou à base d'alginates de sodium. Ainsi nous avons montré que la seule addition du n-hexanal permet de réduire la perméabilité des films d'iota-carraghènanes à l'oxygène de 30%, alors que l'ajout de lipide à un effet opposé, même en présence d'arôme. Au contraire, les films d'alginates présentent un comportement vis-à-vis de l'oxygène totalement opposé, l'introduction de l'arôme lui faisant perdre ses bonnes performances barrières vis-à-vis de l'oxygène. Le comportement au contact des liquides est plus complexe; la surface des films de carraghènanes ne semblent pas être modifiées puisque

l'absorption de l'eau ou de composés d'arômes est quasi linéaire ce qui permet de calculer un flux d'absorption analogue à une perméabilité aux liquides. Inversement, la surface des films à base d'alginate de sodium gonflent, suivi d'une très rapide absorption, et ne permettent pas de calculer une vitesse d'absorption, d'autant plus que ces phénomènes ne sont pas linéaires. L'addition du composé d'arôme dans la matrice accentue ces phénomènes. Seul l'ajout de lipide permet de limiter le gonflement des films d'alginates et permet d'estimer le flux d'absorption des l'hexanal et du D-limonène. Quelques soit la nature de l'hydrocolloïde, la perméabilité aux vapeurs d'arômes ne peut être attribuée ni à la nature du composé, si à sa taille, mais plutôt à son affinité pour la matrice. La présence de lipides est dans tous les cas néfaste puisqu'elle induit une augmentation de la perméabilité à l'exception du n'hexanol, seul composé non lipophile.

Les coefficients de transferts, solubilité et diffusivité ont été mesurés par différentes techniques, et estimé à partir de cinétiques de sorption. Ces résultats ont montré que les valeurs estimés sont très inférieures à celle mesurée, probablement aux biais liés à l'effet des couches limites en surface du film.

CHAPITRE 5 : EFFET DE L'INCORPORATION DU COMPOSE D'AROME ET/OU DU LIPIDE SUR LES PROPRIETES DE TRANSFERT DE FILMS A BASE D'HYDROCOLLOÏDES. 71

5.1 OXYGEN PERMEABILITY..... 72
5.2 SURFACE HYDROPHOBICITY AND WETTABILITY. 73
5.3 AROMA COMPOUND VAPOR SORPTION. 80
5.4 DIFFUSIVITY OF LIQUID AROMA COMPOUNDS IN FILMS. 82
5.5 DIFFUSIVITY MEASURE FROM MULTILAYER FILM CELL. 84
5.6 AROMA COMPOUND VAPOR PERMEABILITY. 85
5.7 LIQUID PERMEABILITY ASSESS FROM PURE AROMA ABSORPTION KINETICS 91
5.8. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 5. 93

Chapitre 6

Discussion générale.

Les films comestibles ne sont pas récents dans le sens historique du terme, ni d'un point de vue scientifique. On peut remarquer que plus de 150 brevets et de 300 publications scientifiques ont porté sur le sujet depuis les années 1970, en particulier beaucoup concernent des formulations à base d'hydrocolloïdes. La formulation, la technologie et l'application des films comestibles ont été passées en revue par plusieurs auteurs (krochta *et al.* 1994; Gennadios, 2002, Huber et Embuscados, 2009). Plus d'une centaine de ces travaux concernent leur efficacité à maîtriser les transferts de vapeur d'eau (Debeaufort *et al.*, 2002). Cependant, très peu d'études concernent directement les transferts d'autres petites molécules, en particulier des composés d'arôme, ainsi que l'incorporation des substances actives dans les films. La compréhension des transferts des petites molécules au travers de films comestibles à base d'hydrocolloïdes encapsulant des substances actives est très complexe car beaucoup de paramètres entrent en jeu.

L'incorporation d'un composé d'arôme et/ou d'un lipide dans les films comestibles à base d'hydrocolloïdes peut entraîner des modifications de leurs propriétés physico-chimiques (Mahdi Ojagh. *et al.* 2010). Ces modifications sont liés aux interactions entre les constituants du système : polymères, lipides, plastifiants, eau et composé d'arôme.

6.1 Identification des interactions entre l'arôme et les constituants du système.

A l'échelle moléculaire, les hydrocolloïdes peuvent interagir de plusieurs façons avec les composés d'arôme. Ces interactions moléculaires incluent les liaisons hydrogène qui résulte des interactions électrostatiques entre les atomes électronégatifs comme l'oxygène ou l'azote (récepteurs) et les atomes d'hydrogène (donneurs). Ces liaisons sont de faible énergie (25-40 $KJ.mol^{-1}$) et sont observés entre les fonctions carboxyle ou hydroxyle des hydrocolloïdes. Dans les polysaccharides, ces fonctions interagissent plus spécifiquement avec les groupes polaires des composés d'arôme (fonctions alcools, aldéhydes, cétones). Ainsi, Boutboul *et al.* (2000) ont trouvé une meilleure rétention des séries d'alcools et d'aldéhydes volatils par les matrices à base d'amidon. Les polysaccharides comme les alginates et les carraghènanes sont connues pour leurs bonnes propriétés gélifiantes en présence d'eau. Ces gels forment des réseaux macromoléculaires qui fixent l'eau et les composés d'arôme par un mécanisme d'interactions physiques. Hollowood *et al.* (2002), Rega *et al.* (2002) et Guichard *et al.* (1996) ont observé une diminution de la concentration du composé d'arôme dans l'espace de tête en présence d'hydrocolloïdes, en particulier avec l'addition de pectine dans de la confiture de fraises

.

Un autre mode d'interaction est l'inclusion moléculaire, ce type d'interaction est observé entre les composés d'arôme et les hydrocolloïdes qui forment une structure hélicoïdale dans laquelle le composé volatil peut être emprisonné tels que dans l'amylose ou dans les carraghènanes.

Jouquand *et al.* (2005) expliquent qu'il existe deux mécanismes d'inclusion moléculaire, l'un à l'intérieur de l'hélice où les molécules peuvent être retenues seulement dans la cavité hélicoïdale, l'autre, intra-inter-hélice où les molécules peuvent être piégées aussi entre les hélices.

Dans notre cas, nous n'avons pu identifier clairement les zones ou sites de fixation (intra ou intra-inter hélices) du n-hexanal dans le gel de carraghènane. Toutefois, l'analyse par spectrométrie infra-rouge à transformée de Fourier a permis d'identifier les groupes fonctionnels de l'hexanal et du carraghènane impliqués dans une interaction conjointe.

(Publication 1).

L'influence de l'encapsulation de l'hexanal dans les films en présence ou non du lipide sur la réorganisation du carraghènane a été analysée en transmission sur les films et comparé au spectre mesuré en ATR pour le composé d'arôme pur. En effet, à l'échelle des liaisons atomiques, la FTIR met en évidence les modifications structurale des films Les figures 6.1 and 6.2 présentent les spectres infra-rouge des films de carraghènane contenant ou non l'hexanal et/ou le lipide. Les différences entre les spectres sont résumées dans le tableau 6.1. Les nombres d'onde de chaque liaison sont détaillés et les déplacements sont significatifs à partir de 4cm^{-1}. Les mesures ont été réalisées sur les films encapsulant (wa) ou non l'hexanal (woa) et contenant (wf) ou non (wof) le lipide.

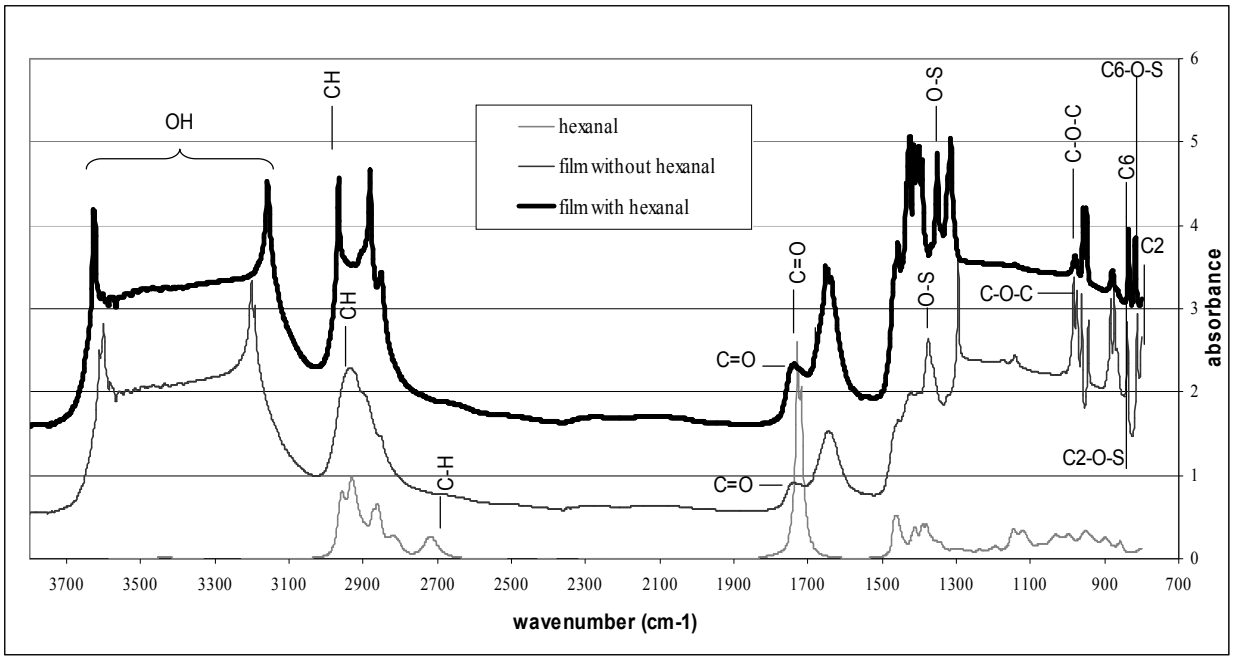


Figure 6.1. Spectre infra-rouge du composé d'arôme (n-hexanal) et des films émulsionnés avec et sans arôme

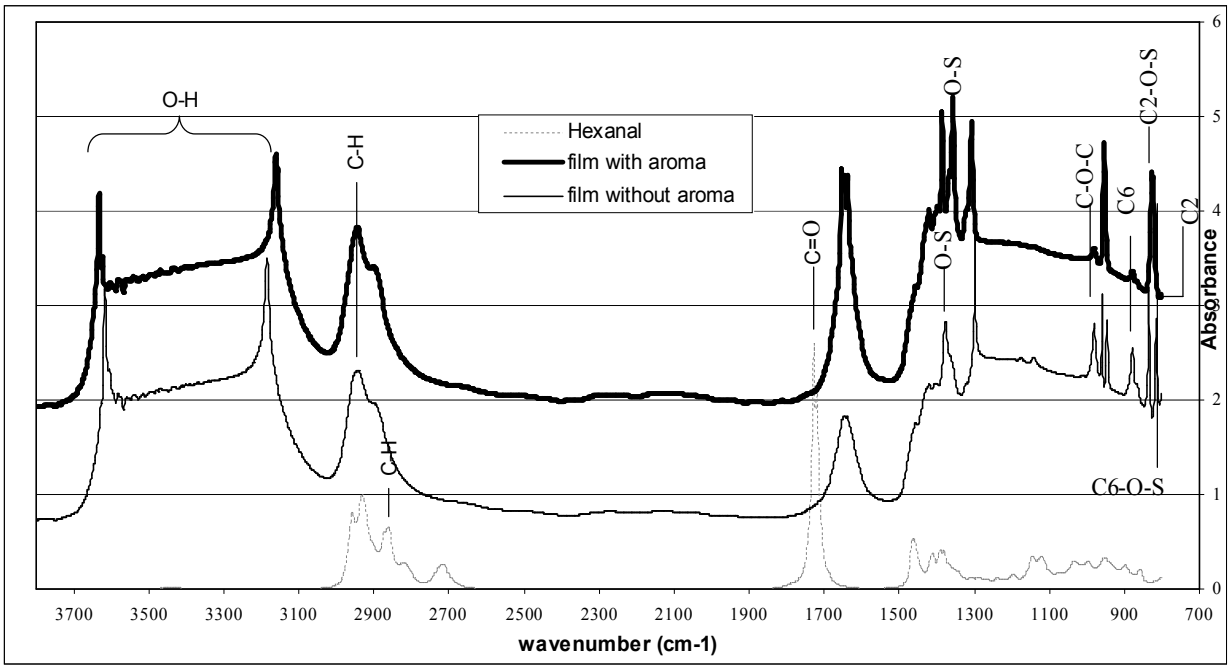


Figure 6.2. Spectre infra-rouge du composé d'arôme (n-hexanal) et des films de carraghènane sans lipide contenant ou non l'arôme.

Les groupes fonctionnels C-H et C=O (aldéhyde) de l'hexanal ne sont visibles sur aucun des films, probablement du fait d'une concentration en arôme dans les films trop faible pour être détectée. (0.4%). En présence de l'arôme, un déplacement du pic correspondant au groupe RCH_2-OH est observé, de 3616 cm^{-1} (woa:wof) à 3624cm^{-1}(wa:wof) dans les films sans lipides et de 3612 cm^{-1} (woa:wof) à 3624 cm^{-1} (wa:wof) dans les films émulsionnés. De même pour les pics relatifs aux liaisons OH, un déplacement de 3185 cm^{-1} (woa:wof) à 3161 cm^{-1} (wa:wof) et de 3192 cm^{-1} (woa:wof) à 3158 cm^{-1}(wa:wf) est constaté. Le tableau 6.1 donne aussi le déplacement des pics correspondant :

- aux groupes sulfates, de 1375 cm^{-1} (woa:wof) à 1366 cm^{-1}(wa:wof) et de 1375cm^{-1} (woa:wof) à 1350cm^{-1}(wa:wf),
- à la liaison C6-O-S, de 815cm^{-1} (woa:wof) à 822cm^{-1} (wa:wof) et de 812cm^{-1} (woa:wof) à 816 cm^{-1} (wa:wf).

Ces déplacements du nombre d'onde sont attribués à l'addition de l'hexanal dans la matrice de carraghènane, qu'il y ait ou non des lipides.

Table 6.1. Nombres d'onde (cm^{-1}) attribués à des liaisons dans les différents films de carraghènane analysés en spectrométrie infra-rouge à transformée de Fourier.

	Groupe fontionnel ou liaison	Film woa :wof	Film wa :wof	Film woa :wf	Film wa :wf	Hexanal pur
n-Hexanal	C-H	-	-	-	-	2716
n-Hexanal	C=O Aldehyde	-	-	-	-	1728
lipide	C=O Ester	-	-	1735	1735	-
iota-carraghènane	RCH_2-OH	3616	3624	3612	3624	-
iota-carraghènane	O-H	3185	3161	3192	3158	-
iota-carraghènane	C-H élongation	2941	2944	2937	2966	-
iota-carraghènane	O-S Sulfate	1375	1366	1375	1350	-
iota-carraghènane	C-O-C Glycosidique	980	981	984	980	-
iota-carraghènane	C6 β D galactose	878	878	874	878	-
iota-carraghènane	C2-O-S galactose	835	827	839	835	-
iota-carraghènane	C6-O-S elongation	815	822	812	816	-
iota-carraghènane	C2-O-S 3,6 anhydro-galactose	805	805	805	805	-

woa : without aroma compound, **wof** : without fat, **wa** : with aroma compound, **wf** : with fat

Ces résultats mettent en évidence l'existence d'interactions entre la fonction aldéhyde de l'hexanal et les groupes CH_2OH et/ou sulfates du carraghènane (Figure 6.3). Pour les groupes C2-O-S galactose, C2-O-S 3,6 anhydrogalactose et la liaison glycosidique (C-O-C), aucun changement n'a été montré, probablement parce que ces liaisons ont des niveaux d'énergie élevés. Par ailleurs, des déplacements des pic correspondant aux liaisons C-H n'ont été observés que lors de l'addition de la matière grasse. Cette interaction entre la matière grasse et les chaînes de carraghènane peut laisser supposer que le lipide est localisé dans les hélices de carraghènane. Ceci est aussi confirmé par la modification de la transition sol-gel révélée par l'analyse enthalpique.

Il est aussi important de remarquer qu'aucun pic à 1745cm^{-1}, pouvant être attribué à l'oxydation de l'hexanal, n'a été mis en évidence (Mul *et al.* 2004). Ceci montre que l'encapsulation de l'hexanal dans le lipide suivi de l'enrobage par l'hydrocolloïde est effective et assure une bonne protection contre l'oxygène.

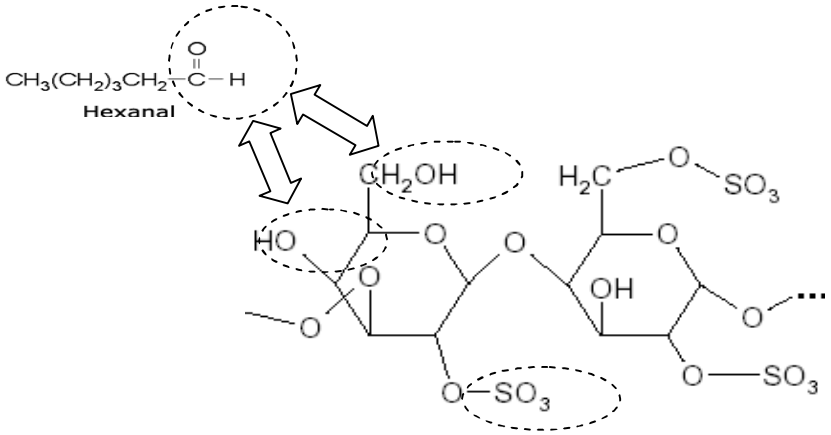


Figure 6.3. Représentation schématique des interactions supposées entre l'hexanal (groupes fonctionnels CH_2OH, OH et sulfate).

D'autres paramètres importants peuvent influencer les interactions polymère-composé d'arôme dont les propriétés physico-chimiques des composés d'arôme et l'état physique de la matrice. La volatilité, la fonction chimique et la taille du composé volatil sont des paramètres à considérer pour son transfert et ses interactions avec l'hydrocolloïde. La volatilité et la solubilité dépendent principalement de la taille et de la polarité de la molécule volatile. Une matrice polysaccharidique est souvent composée d'une phase cristalline et d'une phase amorphe. La phase cristalline est considérée comme inaccessible pour le composé d'arôme ou autre molécule diffusante car elle est très organisée et possède une structure rigide, bien que Gharsallaoui *et al.* (2008) a montré que les molécules d'eau peuvent être retenues au sein de cristaux de saccharose et/ou à s'intercaler entre les feuillets cristallins. Mais c'est généralement avec la phase amorphe que le composé d'arôme va interagir. C'est pour cette raison que l'encapsulation des composés d'arôme s'effectue principalement dans des matériaux amorphes comme les maltodextrines, les sirops de glucose, etc. Dans notre cas, les interactions entre l'arôme et la matrice polyosidique se produisent également dans la phase amorphe du polymère. En effet, les analyses calorimétriques n'ont pas mis en évidence de pic de cristallisation, et encore moins un effet du composé volatil sur la cristallinité. Ceci aurait éventuellement pu être observé par d'autres techniques telles que la diffraction des rayons X. Par contre, l'hexanal a modifié le processus de gélification qui a probablement conduit à une structure tridimensionnelle du gel de carraghènane différente, ce qui explique les changements de propriétés mécaniques et barrières.

Le changement d'état du polymère peut entraîner des changements dans la stabilité du composé d'arôme encapsulé, mais dans le cas des films de carraghènanes, ces modifications du réseau par le composé d'arôme ont accru l'effet protecteur du film vis-à-vis de l'oxygène.

6.2 Rôle des lipides sur les interactions entre le polymère et l'arôme.

L'addition des lipides dans les films comestibles a principalement pour but d'augmenter les propriétés barrières à l'humidité des films grâce à leur nature apolaire. Toutefois, nous avons montré que la présence de lipides avait un impact plutôt négatif sur les propriétés barrière des films et que la matière grasse modifie la répartition de l'arôme dans le film. L'hydrophobie du composé d'arôme conditionne son partage entre les phases aqueuse (hydrocolloïde) et lipidique. La plupart des arômes étant hydrophobes, nous avons ainsi constaté que l'ajout de lipide dans le film tend a accroitre leurs perméabilités aux composés d'arome, excepté pour ceux qui ont un log K inférieur ou égal à 1 (1-hexanol). Par ailleurs, la structure de l'émulsion filmogène est aussi dépendante de la présence ou non du composé d'arôme. En effet, lors de l'ajout du n-hexanal, nous avons constaté un effet stabilisant de l'émulsion grâce à une réduction de la taille des globules et du phénomène d'agrégation. Cela suppose que l'hexanal joue un rôle "d'émulsifiant" du fait de sa structure amphipolaire et que son interaction avec le lipide se fait principalement en surface des globules. Fabra *et al.* (2009) ont étudié les interactions dans les films à base d'iota-carraghènane-acide oléique-cire d'abeille contenant ou non du n-hexanal. Ces auteurs on montré que pour les films qui contenaient plus de cire d'abeille que d'acide oléique, le n-hexanal entrait en compétition avec l'émulsifiant et donc perturbe la stabilité de l'émulsion. Par contre quand la concentration de la cire diminue (<30% du mélange lipidique), l'effet du composé d'arôme était moins marquée car il se solubilise préférentiellement dans l'acide oléique plutôt que de se placer à la surface des cristaux de cire ou des particules de cire et d'acide oléique.
Non seulement la nature chimique du composé volatil joue sur son partage entre phase aqueuse et lipidique, mais elle conditionne aussi sa répartition géographique dans le film émulsionné. Etant encapsulé en surface des globules lipidiques, on peut s'attendre à un relargage presque aussi rapide du composé que lorsqu'il est encapsulé seulement dans la matrice d'hydrocolloïde. Cette hypothèse semble confirmée par les premiers résultats obtenus par MJ. Fabra, actuellement en post doctorat au laboratoire EMMA (résultats non publiés).

Dans la compréhension des modifications liées aux interactions polymère-composé d'arôme, polymère-lipide et lipide-composé d'arôme, le procédé de fabrication du film et plus spécifiquement le séchage, les affecte et entraîne des modifications des propriétés physiques et de transfert. En effet, pendant la déshydratation du film, les liaisons hydrogènes entre le polymère et l'eau sont graduellement substituées par des liaisons hydrogène entre les chaînes du polymère, voire des interactions hydrophobes, créant ainsi des microrégions amorphes où le composé d'arôme peut

être piégé (Delarue et Giampaoli, 2006). De plus, lors du séchage, il y a une rétraction du film (réduction de l'épaisseur d'un facteur 20 à 30) qui favorise la formation d'agrégats lipidiques et une migration de certains constituants (globules lipidiques, glycérol) du film vers la surface comme l'ont montré les micrographies. Cette modification de la surface des films modifie les propriétés interfaciales. Ainsi nous avons observé que la surface au contact de l'air de séchage est plus hydrophobe que celle au contact du support d'étalement pour les films sans arôme ni lipide, quelque soit la nature de l'hydrocolloïde. L'ajout du lipide inverse cette "polarité" alors que l'action de l'hexanal ne joue que sur le film de carraghènane en augmentant son hydrophobie. L'eau et le composé d'arôme ont donc des actions différentes mais simultanées sur l'organisation du réseau macromoléculaire.

Tableau 6.2 : Teneur en eau de la couche monomoléculaire calculée à partir de l'équation GAB appliquée aux isothermes de sorption d'eau des films.

Polymère	Type de film	W_0 (g eau/ g m.s)
Iota-carrageenan	Iwoa-wof	0,083
	Iwoa-wf	0,064
	Iwa-wof	0,076
	Iwa-wf	0,060
Sodium alginate	Awoa-wof	0,109
	Awoa-wf	0,094
	Awa-wof	0,116
	Awa-wf	0,069

6.3 Rôle de l'eau sur les interactions.

La présence de l'eau diminue les forces intramoléculaires dans les films. La molécule d'eau pénètre entre les chaînes du polymère, augmentant sa mobilité et facilitant la pénétration d'autres molécules comme les composés d'arôme (Whorton et Reineccius, 1995). Cet effet sur la structure des films est attribué à son action plastifiante. La force qui gouverne la migration de la vapeur d'eau au travers des films est la différence de potentiel chimique généralement exprimé en pressions partielles ou en activité. L'addition d'un lipide dans une matrice hydrophile leur confère un caractère plus hydrophobe et réduit la quantité d'eau nécessaire à la monocouche d'hydratation (W_0). En effet, nous avons observé une diminution de W_0 en présence du lipide, aussi bien dans les films de carraghènane que d'alginate (tableau 6.2). Le même résultat est constaté lors de l'ajout du n-hexanal, comme l'ont aussi montré Sanchez-Gonzales *et al.* (2009) lors de l'ajout d'huiles essentielles

de thé dans des films d'hydroxypropylméthylcellulose. Ces auteurs attribuent ce comportement à une compétition entre les molécules volatiles et la vapeur d'eau pour les sites de fixation, compétition favorisée par une concentration en composés d'arôme élevée (0,5 à 2 %).

Par ailleurs, une augmentation du gradient d'humidité relative induit un accroissement de la perméabilité, même en présence de quantité de matière grasse élevée (50% de la ms), comme l'ont montrés Fabra *et al.* (2009) dans des films à base d'iota-carraghènane-acide oléique et de cire d'abeille. Kokoszka *et al.* (2010) ont observé ce comportement uniquement pour les gradients d'HR et les teneurs en glycérol les plus élevés dans des films à base de protéines de lactosérum. Cette influence est souvent attribuée à la plastification ou au gonflement

Les transferts d'humidité dans les films comestibles dépendent donc non seulement de la nature des constituants du film (hydrophilie), de sa structure, mais semble-t-il, aussi de l'état physique du perméant. Peu d'auteurs ont considéré le contact direct de l'eau avec la surface des films comestibles, probablement du fait de la solubilité dans l'eau de la plupart des formulations de films à base de polyosides ou de protéines. Morillon *et al.* (1998) ont étudié l'effet de l'état physique de l'eau sur sa migration au travers des films lipidiques (analogues de chocolat), de cellophane et de polyéthylène. Ils ont ainsi montré que la perméabilité à la vapeur d'eau des films de chocolat était la même quelque soit l'état physique de l'eau tant que l'activité d'eau est inférieure à 0.85, que celle du polyéthylène n'était pas affectée, mais que celle de la cellophane augmente fortement au contact de l'eau liquide et ce pour tous les gradients d'activité de l'eau testés. A gradient d'activité identique, les discontinuités de la diffusion ou de la perméabilité des membranes ou films, quand l'état physique de la molécule diffusante diffère, sont habituellement appelés « paradoxe de Schroeder » (Vallières *et al.* 2006). Contrairement aux films d'alginate, le paradoxe de Schroeder ne semble pas s'appliquer aux films de carraghènanes puisque les flux d'eau liquide et vapeur ne sont pas significativement différents, y compris en présence du lipide (Figure 6.4). Ce phénomène est souvent lié à une modification de l'énergie nécessaire pour la diffusion des molécules mais aussi au contact direct de la molécule diffusant avec le film qui favorise le transfert en absence d'une couche limite. Dans notre cas, le paradoxe de Schroeder constaté sur les films d'alginate doit être attribué au gonflement de la surface. Dans le cas de la perméabilité liquide ou vapeur à l'hexanal, le paradoxe de Schroeder est observé pour les films de carraghènane. En effet le flux d'arome liquide est près de 1000 fois plus élevé que lorsqu'il est à l'état vapeur, contrairement aux films d'alginate pour lesquels les flux liquide et vapeur sont du même ordre de grandeur. Pour le composé d'arôme, il n'a pas été mis en évidence de phénomène de gonflement, mais au contraire une absorption quasi instantanée lors du contact liquide. Dans ce cas, on peut penser que l'affinité du composé d'arôme (coefficient de sorption) joue un rôle prépondérant.

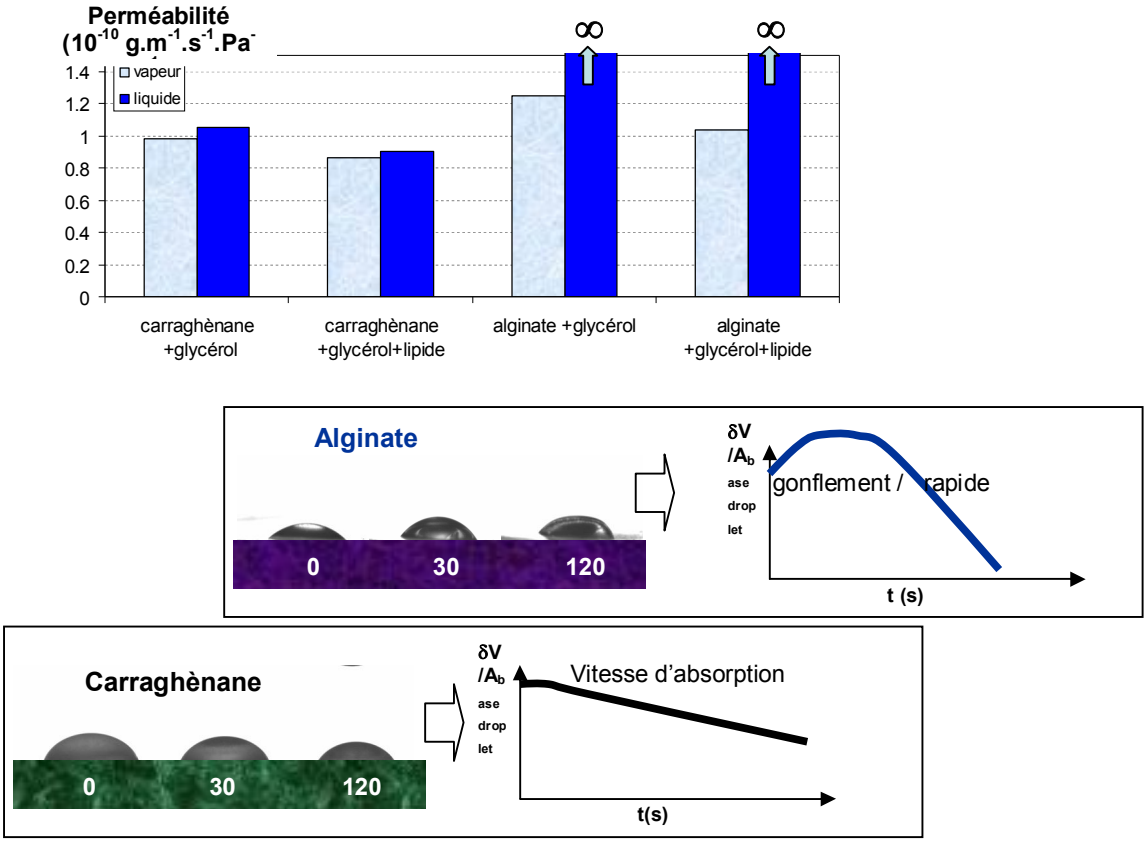


Figure 6.4 : Perméabilité à l'eau liquide et vapeur des films de carraghènane et d'alginate de sodium (ΔHR = 30-100%, 25°C) et comportement d'une goutte d'eau déposée sur la surface des films.

6.4 Interactions et sorption-diffusion-perméabilité.

Il existe plusieurs facteurs qui influencent les transferts des composés d'arôme au travers des films, précédemment décrits : interactions polymère-composé d'arôme, la nature du polymère, la nature du composé d'arôme, l'environnement, l'état physique du diffusant, etc. La diffusion des composés d'arôme a été étudiée dans des milieux variés et les valeurs sont présentées sur la figure 6.5

Plusieurs phénomènes sont impliqués dans la rétention des composés d'arôme dans des films polyosidiques. La diffusion dans la matrice augmente avec la température, avec la teneur en eau et diminue avec la taille ou la masse moléculaire du composé volatil. Par ailleurs, plus l'affinité du composé d'arôme pour le polymère est grande, plus il y a d'interactions et meilleure est la rétention.

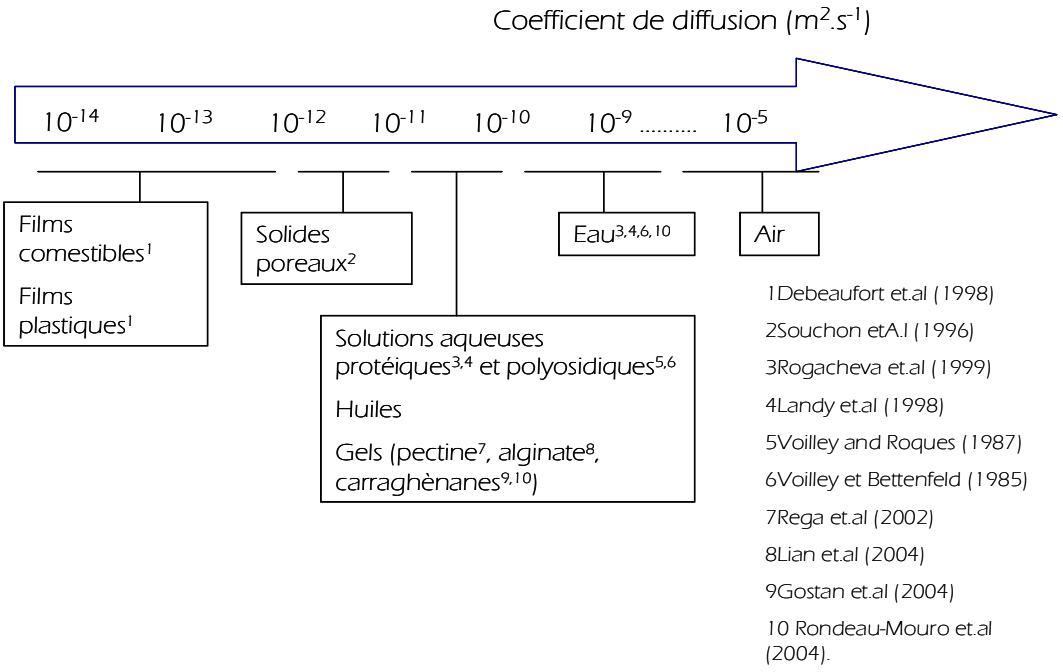


Figure 6.5 : Ordre de grandeur des coefficients de diffusion des composés d'arôme dans différents milieux gazeux, liquides ou solides

L'efficacité barrière des films comestibles dépend des coefficients de diffusion et de solubilité. Des travaux sur la perméabilité de plusieurs composés d'arôme dans des films à base de caséinate de sodium ou d'iota-carraghènane contenant un mélange de cire d'abeille et d'acide oléique à différentes concentrations ont été réalisés (Figure 6.6). Le transfert d'acétate d'éthyle, du butyrate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle est principalement contrôlé par le coefficient de sorption, donc par la solubilité du composé volatil dans le polymère.

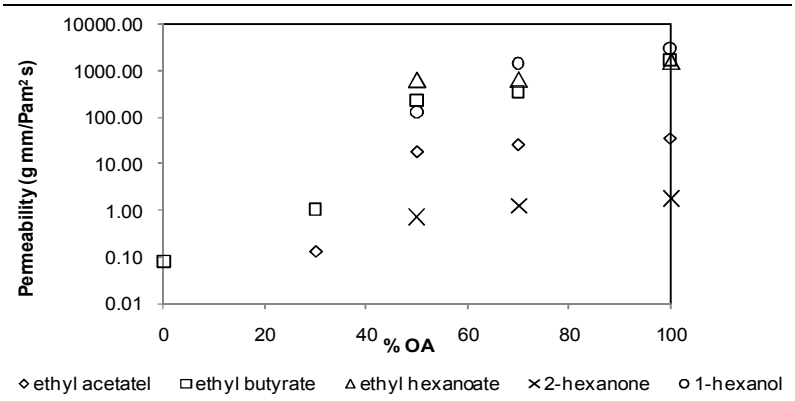


Figure 6.6. Rapport entre le log de la perméabilité d'esters d'éthyle et le contenu d'acide oléïque dans des films à base de caséïnate de sodium (Fabra et al., 2008).

La perméabilité des composés d'arôme dans des films émulsionnés dépend de la nature et de l'état physique du lipide, si le lipide est solide, comme pour les cires, la diffusion des composés d'arôme dans le film sera limitée, par contre elle est plus élevée dans des lipides liquides, qui de plus, peuvent avoir un rôle de plastifiant ou de lubrifiant de la matrice d'hydrocolloides (Figure 6.6). Ceci a également été observé par Martin-Polo *et al.* (1992a,b) pour des films contenant des mélanges d'alcanes ou des mélange de cire et huile de paraffine.

Monedero *et al.* (2010) ont montré que le coefficient de diffusion apparent dans des films de protéines de lactosérum contenant de la cire d'abeille est plus faible que dans les films contenant l'acide oléique (figure 6.7). Toutefois cet effet, est plus ou moins marqué selon la teneur en lipide du film protéique.

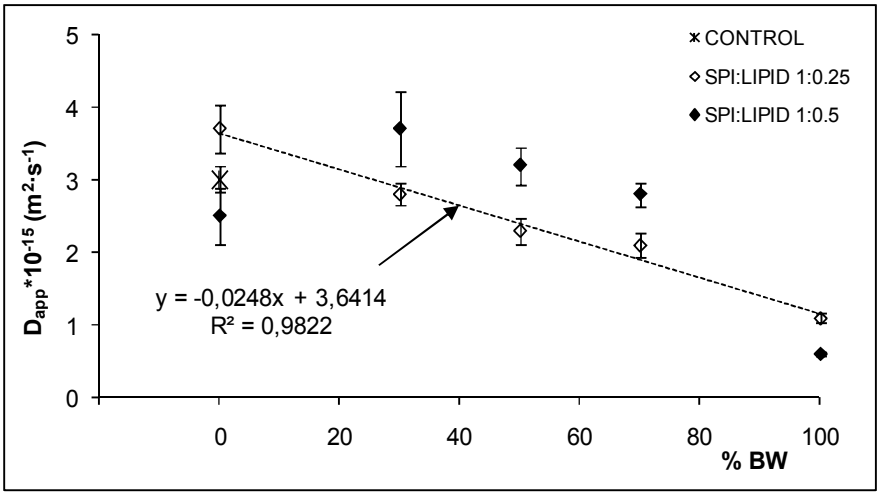


Figure 6.7. Coefficient de diffusion (Dapp) du n-hexanal dans des films de protéines de lactosérum contenant différents concentrations de cire d'abeille.

6.5 Impact des interactions sur la libération de l'hexanal à partir des films

La connaissance des interactions entre les constituants et des phénomènes qui en résultent doit permettre de mieux contrôler ou d'expliquer les mécanismes de libération des composés actifs par les films actifs à base d'hydrocolloïdes. Ainsi, en collaboration avec l'université Polytechnique de Valencia, nous avons étudié la libération de l'hexanal introduit dans les films de protéines de soja plastifié par du glycérol, ou présolubilisé dans des mélanges lipidiques de cire d'abeille et d'acide oléique (Figure 6.8) Monedero *et al.* 2010 (publication 9). Le logK de 1,97 de l'hexanal laisse supposer sa plus forte affinité pour les phases hydrophobes que pour la phase aqueuse protéique. De ce fait les films contenant les lipides devraient être plus efficaces à ralentir la libération du

composé volatil. Or, seul le film contenant la cire d'abeille a une rétention plus grande que le film de soja plastifié, contrairement à ce qui était supposé. Les travaux sur les films de carraghènanes nous ont permis d'expliquer le comportement des films de soja. En effet, les fonctions chimiques des protéines sont aussi plus propices à interagir avec l'hexanal que le lipide, grâce notamment à des liaisons hydrogène entre les groupes hydroxyles et la fonction aldéhyde. Par ailleurs, outre une diffusion plus rapide dans le lipide liquide (acide oléique) que dans la matrice sèche de protéine, on peut aussi supposer, comme pour le GBS, que l'hexanal est localisé à la surface des globules lipidiques et est donc plus facilement libéré.

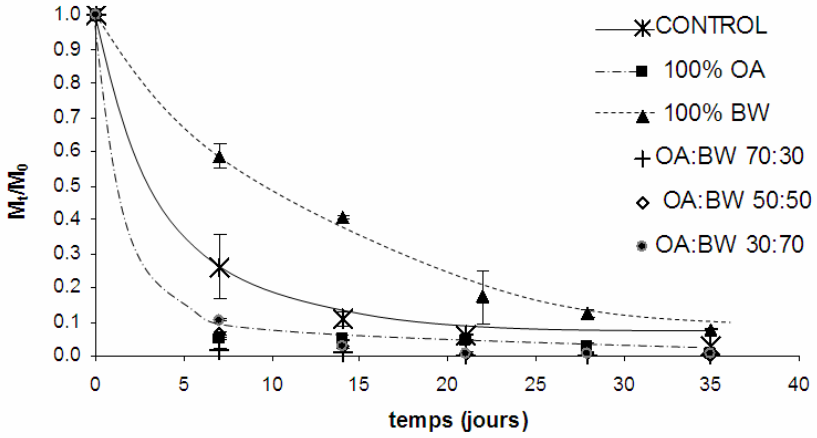


Figure 6.8 : cinétique de libération en phase vapeur du n-hexanal à partir de film de protéines de soja sans arome et sans lipide (control) et dans des films de protéines de soja contenant 50% (de la matière sèche) d'un mélange de lipide ayant des proportions variables de cire d'abeille (BW) et d'acide oléique (OA) (d'après Monedero *et al.* 2010 – Publication 9)

6.6 Rôle des interactions sur la protection des molécules actives introduites dans des films ou enrobages

Dans le cas d'un composé plus hydrophobe que l'hexanal, le lipide permet de retenir de façon beaucoup plus performante le composé volatil, tel que nous l'avons observé lors des travaux réalisés en collaboration avec Eva Marcuzzo (Publication 10). En effet, la libération est ralentie par l'enrobage de GBS et sa rétention lors de la fabrication du film accrue (Figure 6.9). La nature chimique et la polarité du composé à eux seul ne permettent pas d'expliquer les comportements observés. En effet, Marcuzzo *et al.* (2009) ont montré pour des séries d'esters d'éthyle que les cinétiques de libération sont d'ordre 1 (linéaire) avec des enrobages lipidiques, mettant en évidence une diffusion non limitante et uniquement un mécanisme de volatilisation, alors que dans les films à base d'hydrocolloïdes les cinétiques sont d'ordre 2, due à la fois à une diffusion prépondérante mais aussi à des interactions avec le polymère. Dans le cas du D-limonène, la cinétique est plus complexe.

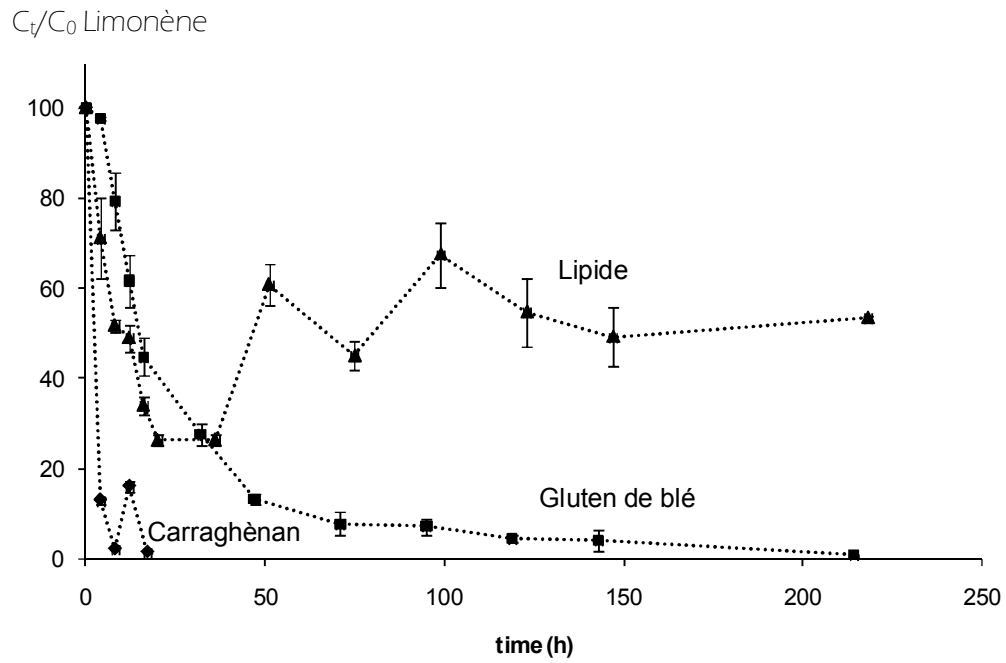


Figure 6.9 : cinétique de libération du D-limonène estimée à partir de la concentration retenue (C_t/C_0) dans les enrobages de lipides (GBS), ou dans les films à base de gluten de blé ou de iota-carraghènane contenant des globules de GBS (d'après Marcuzzo *et al.*, 2010, publication

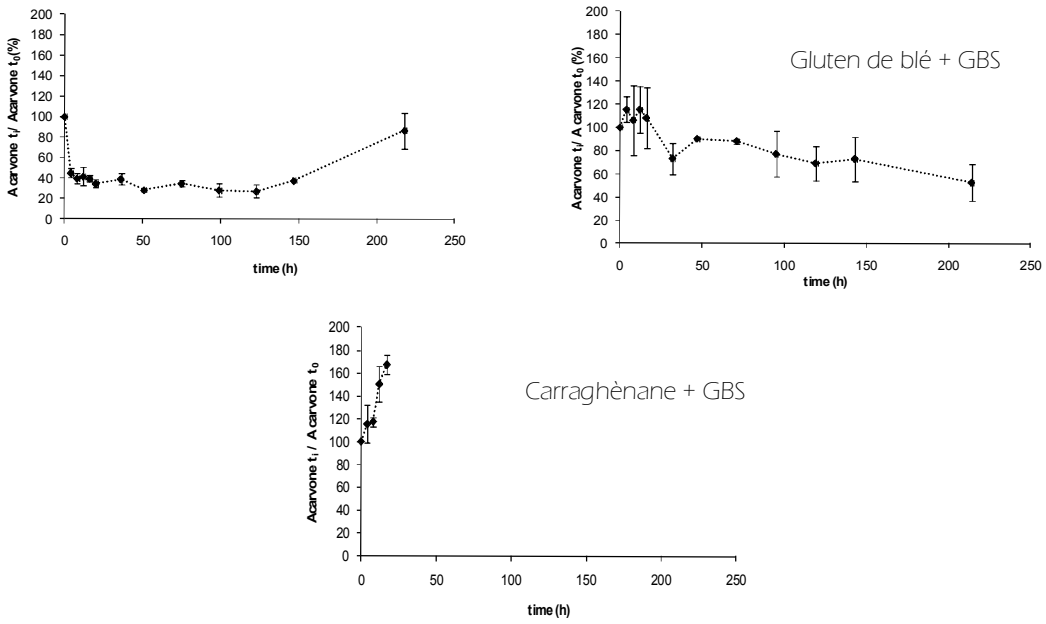


Figure 6.10 : Concentration en phase vapeur de la carvone issue de l'oxydation du D-Limonène (d'après Marcuzzo *et al.*, 2010)

Par ailleurs, l'analyse des composés issus de l'oxydation du D-limonène dont la carvone, montre que la cinétique d''oxydation est directement liée à la libération du composé dans l'air puisque la concentration en carvone évolue exactement en sens inverse de celle du D-limonène dans le film (figure 6.10). La cinétique de libération non "conventionnelle" du D-limonène dans le GBS s'explique par une dégradation (oxydation) du composé au sein même de la phase lipidique. En effet, l'analyse FTIR des films de GBS encapsulant le D-limonène montre la présence de la fonction cétone (900 cm^{-1}) caractéristique de la carvone. L'apparente efficacité de la rétention du limonène est toutefois à relativiser car cette matrice ne le protège pas de l'oxydation, ceci étant probablement du à la l'affinité et à la solubilité de l'oxygène dans les lipides. Au contraire, dans les films à base d'hydrocolloïdes, aucun pic pouvant être attribué à la carvone n'a pas été constaté par FTIR. Bien que les films à base de gluten ou de carraghènanes permettent une libération rapide du D-limonène, ce dernier est donc bien protégé de l'oxygène et ne s'oxyde pas tant qu'il est encapsulé dans les matrices à base d'hydrocolloïdes.

CHAPITRE 6 : DISCUSSION GENERALE 95

6.1 IDENTIFICATION DES INTERACTIONS ENTRE L'AROME ET LES CONSTITUANTS DU SYSTEME 96
6.2 ROLE DES LIPIDES SUR LES INTERACTIONS ENTRE LE POLYMERE ET L'AROME 101
6.3 ROLE DE L'EAU SUR LES INTERACTIONS 102
6.4 INTERACTIONS ET SORPTION-DIFFUSION-PERMEABILITE 104
6.5 IMPACT DES INTERACTIONS SUR LA LIBERATION DE L'HEXANAL A PARTIR DES FILMS 106
6.6 ROLE DES INTERACTIONS SUR LA PROTECTION DES MOLECULES ACTIVES INTRODUITES DANS DES FILMS OU ENROBAGES 107

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.

L'objectif général de ce travail de thèse était de mieux comprendre l'influence de l'incorporation ou « encapsulation » d'une molécule active (arôme) sur la structure de la matrice polyosidique du film, sur les transferts de petites molécules et sur sa capacité à protéger des substances actives encapsulées. L'hypothèse de départ est de considérer que l'introduction d'une petite molécule telle qu'un arôme dans une matrice polyosidique n'est pas sans conséquences sur les propriétés du système, contrairement à la démarche classiquement utilisée dans les études sur la microencapsulation. Nous avons pour cela étudié l'effet de l'ajout, soit d'un composé d'arôme (n-hexanal), soit de particules lipidiques, soit des deux, sur les propriétés physiques et de transfert de films à base d'iota-carraghènane ou d'alginate de sodium.

Nous avons ainsi montré que la présence de l'arôme dans la matrice peut modifier sa structure en perturbant le processus de gélification du carraghènane confirmé par un changement de la plage de températures de transition sol-gel. Les conséquences qui en découlent sont une microstructure apparemment plus homogène et une résistance aux contraintes mécaniques réduites. De plus, le composé d'arôme a également un rôle de plastifiant et entre en compétition avec l'eau pour former la monocouche d'absorption sur le polymère. L'ajout du n-hexanal accroit ainsi le transfert de vapeur d'eau mais il semble légèrement diminuer la perméabilité à l'oxygène des films. Son action sur la perméabilité des autres composés d'arôme est plus complexe puisqu'elle dépend aussi de leur solubilité dans les films, de leur volatilité, de leur fonction chimique et de leur hydrophobie (log K). Contrairement à ce qui est observé pour les films de carraghènane, le n-hexanal a peu d'influence sur les caractéristiques physico-chimiques des films d'alginate de sodium.

Quelque soit la nature du polymère, l'ajout de particules lipidiques dans la matrice crée des zones de rupture préférentielles qui fragilisent les films. Par contre, dans tous les cas, la présence de la matière grasse diminue la sorption et le transfert de vapeur d'eau au travers des films bien que l'hydrophobie de la surface ne soit pas significativement modifiée.

Les interactions entre le n-hexanal et le lipide augmentent l'enthalpie de fusion de la matière grasse et induisent des comportements des films très différents par rapport à leur action séparée. En effet, le n-hexanal tend à se placer à la surface des globules lipidiques et joue un rôle d'émulsifiant. Les émulsions filmogènes ainsi obtenues sont plus fines et plus stables (moins d'agrégation). De plus, leur association permet de réduire la sorption et la perméabilité à la vapeur d'eau. Ces phénomènes sont plus particulièrement marqués pour les films de carraghènanes. Seul l'ajout du lipide permet de limiter le gonflement des films d'alginate de sodium au contact du n-hexanal ou du D-limonène.

A gradients d'activité équivalents, les flux d'eau liquide et vapeur au travers des films de carraghènanes sont du même ordre de grandeur, alors qu'ils sont très différents pour les films

d'alginate de sodium (paradoxe de Schroeder). Cela est dû à la déformation de la surface de ces derniers (gonflement) suite à une absorption très rapide de l'eau liquide. Le phénomène exactement opposé est constaté lors du transfert du n-hexanal liquide ou vapeur. Ce comportement est attribué aux interactions entre la fonction aldéhyde du composé d'arôme et la chaîne de carraghènanes (démontré par FTIR), alors que le réseau d'alginate de sodium est peu sensible à l'hexanal.

L'ensemble de ces résultats nous permet de mieux comprendre le comportement du système observé lors de la libération des composés d'arôme, travaux menés en collaboration avec d'autres équipes. Mais ces études sur la libération contrôlée à partir de films comestibles ont été réalisées dans des conditions simples et maîtrisées (libération dans la phase vapeur et en atmosphère sèche). Il serait nécessaire de considérer non plus la molécule active et sa matrice filmogène, mais ce couple au contact de l'aliment. Une approche intégrée considérant à la fois l'emballage et son aliment apporterait une vision plus réaliste des possibilités d'application des emballages comestibles et actifs. Toutefois, travailler sur un système réel nécessitera la mise en œuvre de techniques d'analyse des transferts et d'identification des interactions plus fines et plus complexes comme les rayons x ou la RMN.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... 110

BIBLIOGRAPHIE

Ambrose, D., Ellender, J.H., Lees, E.B., Sprake, C.H.S. & .Townsend, R. (1975). Thermodynamic properties of organic oxygen compounds XXXVIII. Vapour pressures of some aliphatic ketones. The Journal of Chemical Thermodynamics, 7(5) , 453–472.

Anker M, Bensten J, Hermansson A & Stading M (2002). Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. Innovative Food Science & Emerging Technologies,, 3, 81-92.

Arvanitoyannis I, Kalichevsky M & Blanshard JMV. (1994). Study of diffusion and permeation of gases in undrawn and unaxially drawn films made from potato and rice starch conditioned at different relative humidities. Carbohydrate Polymers, 24, 1-15.

Atarés L, De Jesús C., Talens P. & Chiralt A., (2010) Characterization of SPI-based edible film incorporated with cinnamon or ginger essential oils Journal of Food Engineering 99 384–391

Babin, H & Dickinson, E (2001). Influence of transglutaminase treatment on the thermoreversible gelation of gelatin. Food hydrocolloids. 15 (3), 271-276.

Baldwin EA, Nisperos-Carriedo M, Shaw PE & Burns JK (1995b). Effect of coatings and polonged storage conditions on fresh orange flavor volatiles, degrees brix, and ascorbic acid levels. Journal of Agricultural and food chemistry, 43, 1321-1331.

Bartkowiak, A; & Hunkeler, D. (2001). Carrageenan–oligochitosan microcapsules: optimization of the formation process. Colloids Surf., B. Biointerfaces 21 pp. 285–298

Berthod, A & Schmitt, N. (1993). Water—organic solvent systems in countercurrent chromatography: Liquid stationary phase retention and solvent polarity Talanta, 40,1489-1498.

Bifani V, Ramìrez C, Ihl M, Rubilar M, Garcìa A, Zaritzky N (2007). Effects of murta (Ugni Molinae Turcz) extract on gas and water vapor permeability of carboximethyl-cellulose-based edible films. LWT. 40 1473-1481.

Boutboul A, Giampaoli P, Feigenbaum A & Ducruet V. (2002). Influence of the nature and treatment of starch on aroma retention. Carbohydrate polymers, 4, 73-82.

Brake NC & Fennema OR. (1993). Edible coatings to inhibit lipid migration on a confectionary product. Journal of food science, 58, 1422-1425;

Briassoulis. D (2006). Mechanical performance and design criteria of biodegradable low-tunnel films. Journal of polymers and the environment. 14 (3), 289-307.

Champagne CP & Fustier P (2007). Water—organic solvent systems in countercurrent chromatography: Liquid stationary phase retention and solvent polarityCurrent Opinion Biotechnology 18, 184-190

Chen H. (1995). Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. Journal of dairy science, 78, 2563-2583.

Cho SY & Rhee C. (2004). Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 37, 833-839.

Claudy P, Jabranes S & Létoffé J.M (1997). Annealing of glycerol glass: Enthalpy, fictive temperature and glass transition change with annealing parameters. Termochimica acta. 293, 1-11.

Covarrubias-Cervantes, M., Mokbel, I., Champion, D., Jacques, J. & Voilley, A. (2004). Saturated vapour pressure of aroma compounds at various temperatures. Food Chemistry. 85(2), 221-229.

Crank , J., 19751. Mathematics of diffusion. Oxford science publications. 2nd edition. p.p 44-68.

Crouzet J. (2001). Les arômes alimentaires. In Techniques de l'ingénieur. Christian R, Paris, France. Vol F4, pp 1001-1019.

Cuq B, Gontard N, Cuq JL & Guilbert S. (1996). Functional properties of myofibrillar protein-based biopackagings as affected by film thickness. Journal of food science, 61,1-15.

Dangaran K, Tomasula PM & Qi P. (2009). Structure and function of protein-based edible films and coatings. In edible films and coatings for food applications. Embuscado ME & Huber KC, Ed. Springer, London pp 25-56.

De Carvalho, R.A & Grosso, C.R.F (2004). Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. Food hydrocolloids. 18, 717-726.

De Iassus, P.T., 1994. Sorption and diffusion of flavours in plastic packaging, in: Mc Gorrin, R.J., Leland, J.V (Eds), Flavour-food interactions. American-chemical society. Washington DC. pp 152-161.

Debeaufort F, Martin-Polo M & Voilley A. (1994). Polarity, homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. Journal of food science, 58, 426-434.

Debeaufort, F & Voilley, A (1994). Aroma compound and water vapour permeability of edible films and polymeric packagings. Journal of agricultural and food chemistry. 42, 2871-2875

Debeaufort F & Voilley A (1997). Methylcellulose-based edible films and coatings: 2. Mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content. Journal of Agricultural and food chemistry. 45, 685-689.

Debeaufort F., Quezada-Gallo J.A. & Voilley A. (1998). Edible films and coatings: Tomorrow's packagings. A review. Critical reviews in food science. 38(4), 299-313.

Debeaufort, F., Voilley, A. & Guilbert, S. (2002). Les procédés de stabilisation des produits par des films "barrière" In L'eau dans les aliments. Tec&Doc Lavoisier, Paris pp 549-622.

Debeaufort F & Voilley A. (2009). Lipid-based edible films and coatings. In edible films and coatings for food applications. Embuscado ME & Huber KC, Ed. Springer, London pp 135-168.

Delarue J & Giampaoli P (2000) Study of interaction phenomena between aroma compounds and carbohydrate matrixes by inverse gas chromatography Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(6), 2372-2375

Dury- Brun, C., Chalier, P., Desobry, S., Voilley, A., (2007). Multiple mass transfers of small volatile molecules through flexible food packaging. Food reviews international. 23 (3), 199-255.

Dury-Brun, C., Chalier, P., Desorby, S. & Voilley, A. (2008). Properties of treated papers and plastic film influencing ethyl ester transfer. Journal of Food Engineering, 89(2), 217-226.

Dury-Brun, C., Hirata, Y., Guillard, V., Ducruet, V., Chalier, P., Voilley, A., (2008). Ethyl hexanoate transfer in paper and plastic food packaging by sorption and permeation experiment. Journal of food engineering. 89, 217-226.

El Ghaouth A, Arul J, Ponnampalam R & Boulet M. (1991). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. Journal of food science, 56, 1618-1620.

Embuscado ME & Huber KC (2009). Edible films and coatings for food applications. Springer, London, pp 1-391.

Fabra M.J, Talens P, Chiralt A. (2008). Effect of alginate and λ carrageenan on tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate-lipid based films. Carbohydrate Polymers. 74(3), 419-426.

Fabra, M.J., Talens, P. & Chiralt; A. (2008a). Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. Journal of Food Engineering, 85(3), 393-400.

Fabra, MJ., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., Chiralt, A. & Voilley A. (2008). Influence of interactions on water and aroma permeabilities of i-carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavor encapsulation. Carbohydrate Polymers, in press.

Fabra. M.J, Hambleton. A, Talens. P, Debeaufort. F, Chiralt. A, Voilley. A (2008). Aroma barrier properties of sodium caseinate-based films. Biomacromolecules. 9, 1406-1410.

Fabra, M.J, Talens, P & Chiralt, A (2010). Water sorption isotherms and phase transitions of sodium caseinate-lipid films as affected by lipid interactions. Food hydrocolloids. 24, 384-391.

Fenaroli G. (1975). Handbook of Flavor Ingredients. Eds.; CRC Press: Cleveland, OH. 2 pp 3-566.

Flaconnèche, B., Martin, J., Klopffer, M.H., (2001). Permeability, Diffusion and solubility of gases in polyethylene, polyamide 11 and poly (vinylidene fluoride). Oil and gas science and technology. 56 (3), 261-278.

Fundueanu G, Nastruzzi C & Carpov A, (1999) Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods. Biomaterials 20 (15), 1427-1435

Garcia MA, Ferreo C, Bertola N, Martino M & Zaritsky N. (2005). Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products. Innovative food science and emerging technologies, 3, 391-397.

Gennadios, A, Weller, C.L, Gooding, C.H (1994). Measurement errors in water vapor permeability of high permeable hydrophilic edible films. Journal of food engineering. 21 (4), 395-410.

Gennadios A. (2002). Protein-based films and coatings. CRC press. Boca raton, Florida, pp 1-639.

Gharsallaoui A., Rogé B & Mathlouthi M, (2008) Water–disaccharides interactions in saturated solution and the crystallisation conditions Food Chemistry, 106(4), 1329-1339

Giacin, J.R., (1995). Factors affecting permeation, sorption and migration process in package-product systems. in: Foods and packaging materials-chemical interactions. Edited by P. Ackerman, M. Jägerstad, T. Ohlson. The royal society of chemistry.

Gòmez-Dìaz, D & Navata, J.M (2004). Rheology of food stabilizers blend. Journal of food engineering. 64(2), 143-149.

Gontard N, Duchez C, Cuq JL, & Guilbert S (1993). Edible composite films of wheat gluten and lipids-water-vapor permeability and others physical properties. International Journal of Food Science and. Technology., , 29, 39-50.

Gostan T, Moreau C, Juteau A, Guichard E & Delsuc MA (2004). Measurement of aroma compound self diffusion in food models by DOSY. Magnetic resonance chemistry, 42, 496-499.

Guichard E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. Food review international, 18, 49-70.

Guilbert S. (1986). Food Packaging and Preservation. New York: Elsevier Applied Science Publishers, pp. 371-394.

Guilbert S. (1986). Technology and application of edible protective films. In M.Mathlouthi (Ed). Food packaging and preservation: theory and practice, Mathlouthi. Essex: Elsevier, p.p 371-394.

Guilbert S & Cuq B. (1998). In L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation. Multon J.L, Bureau G.; Eds. Tec&Doc, Paris ; pp472-530.

Hambleton, A, Debeaufort, F, Beney, L, Karbowiak, T & Voilley, A (2008). Protection of active aroma compounds against moisture and oxygen by encapsulation in biopolymeric emulsion-based edible films. Biomacromolecules .9, 1058-1063.

Hambleton, A, Debeaufort, F, Bonnotte, A & Voilley A (2009). Influence of alginate emulsion-based films structure on its barrier properties and on the protection of microencapsulated aroma compound. Food hydrocolloids. 23(8), 2116-2124.

Hambleton, A, Fabra, M.J, Debeaufort, F, Dury-Brun, C & Voilley A (2009). Interface and aroma barrier properties of iota-carrageenan emulsion-based films used for encapsulation of active food compounds. Journal of food engineering. 93, 80-88.

Heinzen C. (2002). Microencapsulation solve time dependent problems for foodmarker. European food and drink-review. 3, 27-30.

Hernandez H. (1994). Edible coatings from lipids and resins. In Edible coatings and films to improve food quality. Ed. Krochta JM, Baldwin EA & Nisperos-Carriedo M. Technomic publishing company, Lancaster, Pennsylvania, pp 279-304.

Imran M, El-Fahmy S, Revol-Junelles AM & Desobry S. (2010) Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films, Carbohydrate Polymers 81 219–225

Karbowiak T., Debeaufort F. & Voilley A (2006). Interest of Surface Tension Characterization for Food, Pharmaceutical and Packaging Products : a Review. Critical Review in Food Science and Nutrition, 46, 391-407,

Karbowiak T., Debeaufort F., Champion D & Voilley A (2006). Influence of thermal process on structure and functional properties of edible films, Food Hydrocolloids, 21(5-6), 879-888,

Karbowiak, T., Hervert, H., Leger, L., Champion, D., Debeaufort, F. & Voilley, A. (2006a). Effect of plasticizers (water and glycerol) on the diffusion of a small molecule in iota carrageenan biopolymer films for edible coating application. Biomacromolecules, 7, 2011-2019.

Karbowiak, T, Debeaufort, F, Champion, D & Voilley, A (2007). Wetting properties at the surface of iota-carrageenan based edible films. Journal of colloid and interface science. 294, 400-410.

Karbowiak, T, Gougeon, R.D, Rigolet, S, Delmotte, L, Debeaufort, F & Voilley, A (2008). Diffusion of small molecules in edible films: effect of water and interactions between diffusant and biopolymer. Food chemistry. 106, 1340-1349.

Karbowiak, T., Debeaufort, F., Voilley, A., Trystam, G., (2009). From macroscopic to molecular scale investigations of mass transfer of small molecules through edible packaging applied at interfaces of multiphase food products. Innovative food science and emerging technologies. 10, 116-127.

Karel, M. & Lund, DB. (2003). Protective packaging. In Physical Principles of food preservation. 2nd ed. Marcel Dekker. New York pp.514-592.

Kester, J. J. & Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings : a review. Food Technology, 54, 47-58.

King. A, (1983). Brown seaweed extracts (alginates). Food Hydrocolloids. 2, 115-188.

Kinsella JE. (1989). Flavor perception and binding to food components. In Flavor chemistry of lipid foods. Min, DB and Smouse, TH; Eds. American Oil Chemists Society Champaigh, IL, pp 376-403.

Knutsen SH, Myslabodski DE, Larsen B & Usov AI. (1994). A modified system of nomenclature for red algal galactans. Botanica marina, 37, 163-169.

Kokoszka S, Debeaufort F, Hambleton A, Lenart A & Voilley A (2010). Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based films. Innovative food science and emerging technologies. 11(3), 503-510.

Kristo E & Biliaderis CG (2006). Water sorption and thermo-mechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: caseinate-pullulan bilayers and blends. Food hydrocolloids. 20, 1057-1071.

Krochta JM (1994). Emulsion films on food products to control mass transfer. In food emulsion and foams: theory and practice. Ed. Wan P, Cavallo J, Saleeb F & Mc Carthy M. American institute of chemical engineers, New york. pp, 57-61.

Krochta JM & De Mulder-Johnson C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food technology, 51, 61-74.

Lagaron, J.M., Powell, A.K., Bonner, G. (2001). Permeation of water, methanol, fuel and alcohol-containing fuels in high-barrier-ethylene-vinyl alcohol copolymer. Polymer testing. 20, 569-577.

Lamer, T. (1993). Extraction de composés d'arôme par pervaporation. Relation entre les propriétés physico-chimiques des substances d'arôme et leurs transferts à travers des membranes à base de polydiméthylsiloxane. Thèse de doctorat, ENSBANA, Université de Bourgogne, Dijon.

Landy. P, Courthaudon. J.L, Dubois. C, Voilley. A (1996). Effect of interface in model food emulsions on the volatility aroma compounds. Journal of agricultural and food chemistry. 44(2), 526-530.

Le Thanh, M., Lamer, T., Voilley, A., & Jose, J. (1993). Pression de vapeur saturante de composés d'arômes. Journal de Chimie Physique. 90, 545-560.

Lefaux. R. (1972). Les matières plastiques dans l'industrie alimentaire. Publications Techniques associées. Groupe de la compagnie française d'édition. Paris, pp.74-382.

Lian G, Malone ME, Homan JE & Norton IT (2004). A mathematical model of volatile release in mouth from the dispersion of gelled emulsion particles. Journal of control release, 98, 139-155.

Lim, L.T, Mine, Y & Tung, A (1999). Barrier and tensile properties of transglutaminase cross-linked gelatin films as affect by relative humidity, temperature and glycerol content. Journal of food science, 64 (4), 616-622.

Madene A, Jacquot M, Scher J & Desobry S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release-a review. International journal of food science and technology, 41, 1-21.

Marcuzzo E, Debeaufort F, Sensidoni A, Tat L, Beney L, Hambleton A & Voilley A (2010). Influence of encapsulation of D-limonene in biopolymeric emulsion-based edible films to prevent its oxidation. Submitted to Biomacromolecules.

Martin-Polo M, Mauguin C & Voilley A. (1992a). Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 2. Influence of the physical state. Journal of agricultural and food chemistry, 40, 407-412.

Miller KS & Krochta JM (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review Trends in Food Science and Technology, 8(10), 228-237.

Moe. S.T, Draget. K.I, Skjak-Braek. G and Smidsnod.O (1995). Alginates. In food polysaccharides and their applications. pp.245-286, Marcel Decker Inc; New York, US.

Monedero FM, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2010). Study of the retention and release of n-hexanal incorporated into soy protein isolate-lipid composite films. Journal of food engineering. 100, 133-138.

Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M & Voilley, A. (2002). Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films : a review. Critical Review in Food Science and Nutrition, 42(1), 67-89.

Morris, E.R, Rees, D.A, Thom, D & Boyd, J (1978). Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific, primary dimerisation process in alginate gelation. Carbohydrate research. 66(1), 145-154.

Mul G, Hamminga GM & Moulijn JA (2004). Operando ATR-FTIR analysis of liquid-phase catalytic reactions: can heterogeneous catalysts be observed? Vibrational Spectroscopy,34, 109-121.

N'Guimbi, J., Kasehgari, H., Mokbel, I. & Jose, J. (1992). Tensions de vapeur d'alcools primaires dans le domaine 0,3 Pa à 1,5 kPa Thermochimica Acta, 196(2), 367–377.

Nisperos-Carriedo M. (1994). Edible coatings and films based on polysaccharides. In Edible coatings and films to improve food quality. Ed. Krochta JM, Baldwin EA & Nisperos-Carriedo M. Technomic publishing company , Lancaster, Pennsylvania, pp 305-336.

Nulman, M., Olejnik, A., Samus, M., Fead, E., Rossi, G., (1998). State of alternative fuel technologies. in: Paper 981360. Society of automotive engineer inc; Warrendale P.A.

Nussinovitch A & Hershko V. (1996). Gellan and alginate vegetable coatings. Carbohydrate polymers, 30, 185-192.

Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH & Hashem Hosseini SM, (2010) Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosane and cinnamon essential oil with low affinity toward water, Food Chemistry 122, 161–166

Olivas. G.I, Barbosa-Cànovas. G.V (2008). Alginate-calcium films: water vapor permeability and mechanical properties affected by plasticizer and relative humidity. LWT. 41, 359-366.

Ozdemir M, Floros JD (2008). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubillity and sensory characteristics. Journal of Food Engineering. 86, 215-224.

Perez-Gago MB & Krochta JM. (2001). Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. Journal of agricultural and food chemistry, 49, 996-1002.

Peychès-Bach, A., Moutounet, M., Peyron, S., Chalier, P., (2009). Factors determining the transport coefficients of aroma compounds through polyethylene films. Journal of food engineering. 95(1), 45-53.

Phan.The D, Debeaufort. F, Peroval. C, Despre. E, Courthaudon. J.L, Voilley. A (2002). Arabinoxylan-lipids-based edible films and coatings. 3. Influence of drying temperature on emulsion stability and on film structure and functional properties. Journal of agricultural food chemistry. 50, 2423-2428.

Phan The D, Debeaufort. F, Luu. D, Voilley. A (2005). Functional properties of edible agar-based and starch-based films for food quality preservation. Journal of agricultural food chemistry. 53 (4), 973-981.

Philippe, E. (2003). Etude de différents paramètres physico-chimiques sur la rétention des composés d'arôme par des matrices possédant un comportement rhéologique similaire. Ph.D. thesis, Université de Bourgogne, Dijon.

Pochat-Bohatier C., Sanchez J. & Gontard N. (2006) Influence of relative humidity on carbon dioxide sorption in wheat gluten films, Journal of Food Engineering, 77, 983-991

Pranoto. Y, Salokhe. V.M, Rakshit. S.K (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. Food research international. 38, 267-272.

Quezada-Gallo J.A., Debeaufort F.,& Voilley A. (1999) Interactions between aroma and edible films 1. Permeability of methylcellulose and low density polyethylene films to methylketones. Journal. Agricultural and Food Chemistry, 47(1), 108-113,

Quezada-Gallo, J.A., Debeaufort, F. & Voilley, A. (2000). Mechanism of aroma transport through edible and plastic packagings. In Food Packaging : Testing Methods and Applications. Risch S.J. (Ed.). ACS Symposium Series 753, Washington, USA, pp 125-140.

Quezada-Gallo JA, Debeaufort F & Voilley A. (2000a). In Food Packaging: testing methods and applications. Risch SJ; Eds. ACS Symposium Series, USA, pp 125-140.

Quezada Gallo J.A., Gramyn A., Pattyn C., Diaz Amaro M.R., Debeaufort F.& Voilley A. (2005) Biopolymers used as edible coating to limit water transfer, colour degradation and aroma compound 2-pentanone lost in mexican fruits, Acta Horticulturae, 682, 408-419

Quezada-Gallo JA. (2009). Delivery of food additives and antimicrobials using edible films and coatings. In edible films and coatings for food applications. Embuscado ME & Huber KC, Ed. Springer, London pp 315-334.

Rega B, Guichard E & Voilley A (2002). Flavor release from pectine gels: effects of texture molecular interactions and aroma compounds diffusion. Science des aliments, 22, 235-248.

Reineccius G. (1994). In Flavor Encapsulation in Edible Films to Improve Food Quality. Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO; Eds. Technomic Publishing Co.Inc, Basel, pp105.

Reineccius G. (2009). Edible films and coatings for flavor encapsulation. In edible films and coatings for food applications. Embuscado ME & Huber KC, Ed. Springer, London pp 269-294 .

Rekker, R. F. (1977). The hydrophobic fragmental constant. Elsevier, New York.

Rhim. J.W (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. Lebensm-Wiss u-Technology. 37, 323-330.

Richard H (1992). Connaissance de la nature des arômes. In Les arômes alimentaires. Richard, H and Multon JL, Tec & Doc-Lavoisier, Paris, pp 22-37.

Rinaudo M. (2002). Les alginates et les carraghènanes. L'actualité chimique. Novembre-decembre, pp 35-38.

Rochas C, Rinaudo M, & Landry S: (1990) Role of the molecular weight on the mechanical properties of kappa carrageenan gels, Carbohydrate Polymers, 12, 255-266

Rogacheva S, Espinoza-Diaz M & Voilley A (1999). Transfer of aroma compound in water lipid systems: binding tendency of beta-lactoglobulin. Journal of agricultural and food chemistry, 47, 259-263.

Roger, C.E., (1985). Permeation of gases and vapours in polymers. In: Polymer permeability. Comyn, J., (Ed), Elsevier applied science, New York, 11-75.

Rojas-Graü. M.A, Avena-Bustillos. R.J, Olsen. C, Friedman. M, Henika. P.R, Martin-Belloso. O, Pan. Z, McHugh. T.H (2007). Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. Journal of food engineering. 81, 634-641.

Rondeau-Mouro C, Zykwinska A, Durand S, Doublier JL & Buléon A (2004). NMR investigation of the 4-ethyl guaiacol self-diffusion in iota-carrageenan gel. Carbohydrate polymers, 57, 459-468.

Ruiz-Ramos. J.O, Perez-Orozco. J.P, Baez-Gonzalez. J.G, Bosques-Molina. E, Perez-Alonso. C, Vernon-Carter. E.J (2006). Interrelationship between the viscoelastic properties and effective moisture diffusivity of emulsions with the water vapor permeability of edible films stabilized by mesquite gum–chitosan complexe. Carbohydrate Polymers. 64, 355-363.

Russo R, Malinconico M & Santagata G (2007). Effect of cross-linking with calcium ions on the physical properties of alginate films. Biomacromolecules 8 (10), 3193-3197.

Sajilata, M.G., Savitha, K., Singhal, R.S., Kanetkar, V.R., (2007). Scarping of flavours in package food. Comprehensive reviews in food science and food safety. 6 (1), 17-35.

Sanchez-Gonzalez L, Vargas M., Gonzalez-Martınez C, Chiralt A & Chafer M (2009) Characterization of edible **fi**lms based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil, Food Hydrocolloids 23, 2102–2109.

Seydim AC & Sarikus G., (2006) Antimicrobial activity of whey protein based edible **fi**lms incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils, Food Research International 39, 639–644

Sibarooban T, Hettiarachchy NS, Johnson MG (2008). Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. Food Research International. Accepted April 2008.

Souchon I, Rojas JA, Voilley A & Grevillot G (1996). Trapping of aroma compounds by absorption o hydrophobic sorbents. Separation science technology, 31, 2473-2491.

Stassin F. (2009). Les bioplastiques : enjeux et perspectives. AgroFood Valley

Stuchell YM & Krochta JM. (1995). Edible coatings on frozen king salmon: effect on whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture loss and lipid oxidation. Journal of food science, 60, 28-31.

Suderman DR, Wikier J & Cunningham FE. (1981). Factors affecting adhesion of coating to poultry skin: effect of various proein and gum sources in the coating composition. Journal of food science, 46, 1010-1011.

Tanada-Palmu PS & Grosso CRF. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (Fragaria ananassa) quality. Postharvest biology and technology, 36, 199-208.

Tapia MS, Rojas-Graü MA, Carmona A, Rodrìguez FJ, Soliva-Fortuny R, Martìn-Belloso O (2008). Use of alginate and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. Food Hydrocolloids. 22, 1493-1503.

Torres JA & Karel M. (1985). Microbial stabilization of intermediate moisture food surfaces. III. Effects of surface preservative concentration and surface pH control on microbial stability of an intermediate moisture cheese analog. Journal of food processing and preservation, 9, 107-119.

Vallières, C, Winkelmann, D, Roizard, D, Favre, E, Scharfer, P & Kind, M (2006). On Schoeder paradox. Journal of membrane science. 278, 357-364.

Vogler, E.A. (1998). Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces Advances in Colloid and Interface Science, 74 (1-3) 69.

Voilley A & Roques MA (1987). Diffusivity of volatiles in water in the presence of a third substance. In Physical properties of foods. Ed. Jowitt R, Escher F, Kent M, Mc Kenna B & Roques M. Plenum press New York, USA, 109-121.

Voilley A & Etiévant P. (2006). Flavour in Food. Woodhead Plublishing Limited. CRC Press. Cambride England. pp 3-437.

Wulff, G., Avgenaki, G., Markus, S.P.G. (2005). Molecular encapsulation of flavours as helical inclusion of amilose. Journal of cereal science. 41, 239-249.

Yingyaud S, Ruamsin S, Reekprkhon D, Douglas S, Pongamphai S & Siripatrawan U. (2006). Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. Packaging technology and science, 19, 149-157.

Yuguchi, Y, Thuy, T.T., Urakawa, H & Kajiwara, K (2002). Structural characteristics of carrageenan gels: temperature and concentration dependence. Food hydrocolloids. 116, 515-522.

Publication 1.

Hambleton A., Debeaufort F., Beney L., Karbowiak T. & Voilley A (2008). Protection of active aroma compound against moisture and oxygen by encapsulation in biopolymeric emulsion-based edible films. Biomacromolecules. (9), 1058-1063.

Publication 2.

Hambleton A., Fabra M.J., Debeaufort F., Dury-Brun C., Voilley A (2009). Interface and aroma barrier properties of iota-carrageenan emulsion-based films used for encapsulation of food active compounds. Journal of Food Engineering. (93), 80-88.

Publication 3.

Hambleton A, Debeaufort F, Bonnotte A & Voilley A (2009). Influence of alginate emulsion-based films structure on its barrier properties and on its protection of microencapsulated aroma compound. Food Hydrocolloids. 23, 2116-2124.

Publication 4.

Hambleton A, Debeaufort F & Voilley A (2010). Transport parameters for aroma compounds through i-carrageenan and sodium alginate-based edible films. Submitted to Food Hydrocolloids.

Publication 5.

Hambleton A, Perpiñan-Saiz N, Fabra MJ, Debeaufort F & Voilley A (2010). The Schroeder paradox or how the state of water affects the moisture transfer. Submitted to Food Chemistry.

Publication 6.

Fabra MJ, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2008). Aroma barrier properties of sodium caseinate-based films. Biomacromolecules. 1406-1410.

Publication 7.

Fabra MJ, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2009). Influence of interactions on water and aroma permeabilities of i-carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavour encapsulation. Carbohydrate polymers. 76, 325-332.

Publication 8.

Kokoszka S, Debeaufort F, Hambleton A, Lenart A & Voilley A (2010). Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based films. Innovative food science and emerging technologies. 11(3), 503-510.

Publication 9.

Monedero FM, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A & Voilley A (2010). Study of the retention and release of n-hexanal incorporated into soy protein isolate-lipid composite films. Journal of food engineering. 100, 133-138.

Publication 10.

Marcuzzo E, Debeaufort F, Sensidoni A, Tat L, Beney L, Hambleton A & Voilley A (2010). Influence of encapsulation of D-limonene in biopolymeric emulsion-based edible films to prevent its oxidation. Submitted to Biomacromolecules.

Publication 11.

Fabra MJ, Hambleton A, Debeaufort F, Talens P & Chiralt A (2010). Effect of ferulic acid and **α**-tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. Submitted to International dairy journal.