
Développement de nouvelles méthodes pour quantifier le relargage aérien et direct de composés organiques volatils depuis des films alimentaires biodégradables contenant des huiles essentielles

Auteur : Anciaux, Diego

Promoteur(s) : Fauconnier, Marie-Laure

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée

Année académique : 2023-2024

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/20413>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES
MÉTHODES POUR QUANTIFIER LE
RELARGAGE AÉRIEN ET DIRECT DE
COMPOSÉS ORGANIQUES VOLATILS
DEPUIS DES FILMS ALIMENTAIRES
BIODÉGRADABLES CONTENANT DES
HUILES ESSENTIELLES**

DIEGO ANCIAUX

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2023-2024

PROMOTRICE: MARIE-LAURE FAUCONNIER

Copyright © *Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech.*

Le présent document n'engage que son auteur.

**DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES
MÉTHODES POUR QUANTIFIER LE
RELARGAGE AÉRIEN ET DIRECT DE
COMPOSÉS ORGANIQUES VOLATILS
DEPUIS DES FILMS ALIMENTAIRES
BIODÉGRADABLES CONTENANT DES
HUILES ESSENTIELLES**

DIEGO ANCIAUX

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2023-2024

PROMOTRICE: MARIE-LAURE FAUCONNIER

Remerciements

En premier lieu, je souhaiterais remercier ma promotrice, le professeur Marie-Laure Fauconnier, pour sa supervision bienveillante ainsi que pour sa confiance et ses conseils avisés. Je me suis toujours senti écouté, et mes suggestions d'expérimentations ont été accueillies avec beaucoup d'enthousiasme.

Ensuite, j'aimerais remercier l'entièreté de l'équipe du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles pour leur soutien technique ainsi que pour la joie et la bonne humeur qu'ils ont amené chaque jour dans les locaux. Manon, Gaëlle, Laura, Clément, Maxime, Leonel, Franck, Thomas et Adrien ont été une équipe en or que je n'oublierai pas de si tôt. Le café ne sera jamais aussi bon que ce qu'il a été à Noopyland !

Je tiens à également à remercier l'équipe des TFistes et des stagiaires, Anaïs, Charline, Annie, Eliott et Lia pour les nombreux services que nous nous sommes rendus ainsi que pour tous les éclats de rires et les moments de complicité que nous avons partagés.

Mes remerciements vont également au professeur Aurore Richel ainsi qu'à l'équipe du Laboratoire de Biomasse et Technologies Vertes pour la mise à disposition des appareils d'analyse ainsi que pour leur expertise concernant les biomatériaux.

J'aimerais remercier le professeur Christophe Blecker ainsi que l'équipe du Laboratoire de Science des Aliments et Formulation pour la mise à disposition de produits m'ayant grandement aidé dans la réalisation de mes expérimentations.

Je remercie le professeur Giorgia Purcaro ainsi que l'assistant Damien Eggermont pour leurs précieux conseils concernant les techniques de chimie analytique de mon travail.

Je remercie aussi Maëlle et Damien, que j'ai connus comme des compagnons de route gembloutois mais qui sont devenus des amis chers à mon cœur.

J'aimerais remercier ma famille pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements dans les moments difficiles mais aussi leur fierté partagée lors de mes petites victoires.

Finalement, je remercie tous les membres de mon jury d'évaluer mon travail de fin d'étude.

Résumé

Les emballages plastiques traditionnels, bien que très pratiques, présentent des problèmes liés entre autre à leur courte durée d'utilisation et à la pollution qu'ils engendrent. En réponse à cela, des emballages biodégradables se développent peu à peu; ces derniers permettent d'écarter le problème de la pollution. Parmi ces emballages biodégradables, on retrouve ceux dits « actifs », qui permettent une amélioration de la conservation du produit. Ce travail s'intéresse à la conception d'emballages biodégradables actifs ainsi qu'à l'étude des cinétiques de relargage des composés organiques volatils qu'ils renferment.

Le premier objectif a été l'élaboration et l'amélioration de films alimentaires biodégradables contenant de l'huile essentielle. Les polymères servant à réaliser le film sont le chitosan et la gélatine, et l'huile essentielle employée est celle de cannelle (*Cinnamomum verum* J. Presl). L'huile essentielle a été incluse avec succès dans des nanocapsules de zéine d'un diamètre de 353,4 nm avant d'être incorporée au mélange formant les films. La composition initiale du film a été revue pour substituer l'acide permettant la dissolution du chitosan: l'acide acétique a été écarté pour l'odeur dérangeante qu'il procurait au film au profit de l'acide tartrique. Le film a conservé de très bonnes propriétés mécaniques, n'a plus dégagé d'odeur indésirable et s'est opacifié.

Le second objectif de ce travail a été la mise au point de techniques permettant d'étudier la migration aérienne et directe des composés organiques volatils présents dans l'huile essentielle intégrée aux films. Le trans-cinnamaldéhyde (TCN) a été choisi comme composé de l'huile essentielle de cannelle pour la quantification. Pour l'étude de migration aérienne, un dispositif de *dynamic headspace* avec unité de désorption thermique (DHS-TDU) lié à un appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS) ont été employés sur des flacons contenant le film conçu. La méthode développée a présenté les avantages d'être très sensible et entièrement automatisée. Pour l'étude de migration directe, les films réalisés ont été placés au contact de morceaux de viande de porc avant d'être gardés au réfrigérateur pour une durée allant de un à trois jours. Ensuite, des tranches ont été coupées dans l'épaisseur de la viande avant d'être broyées dans de l'azote liquide et de subir une extraction par ultrasons dans l'hexane. L'analyse de l'hexane par GC-MS a permis de quantifier la teneur en TCN de la viande ainsi que sa progression dans l'épaisseur.

Les résultats pour la migration aérienne montrent que la teneur en maximale TCN obtenue a été de 13,16 ng/mL après trois jours d'incubation, ce qui n'est pas suffisant pour inhiber le développement de micro-organismes tels que *E. Coli* ou *S. Aureus* par fumigation sur un produit alimentaire. Pour la migration de contact, la concentration la plus haute en TCN obtenue a été de 2,62 µg/g pour le premier millimètre d'un morceau de viande resté

durant trois jours au contact du film. Cette concentration n'est pas non plus suffisante pour inhiber le développement des pathogènes susmentionnés dans la viande. Les méthodes développées dans le cadre de ce travail sont prometteuses, mais le produit fini sur lequel elles ont été appliquées nécessite encore du développement avant de constituer un emballage « actif » à proprement parler.

Mots-clés: emballage biodégradable, film, gélatine, chitosan, huile essentielle, cannelle, trans-cinnamaldéhyde, zéine, nanocapsules, DHS-TDU, GC-MS, viande de porc, cinétique, espace de tête, migration.

Abstract

Traditional plastic packagings, though very useful, exhibit problems because of their short lifespan and the pollution they induce. In response to this, biodegradable packagings are being developed more and more; they allow the removal of the pollution problem. Among these biodegradable packagings, we find the ones qualified as « active », which allow a better preservation of the product. This work focuses on the design of active biodegradable packaging as well as the release kinetics study of the organic volatile compounds they contain.

The first objective has been the elaboration and improvement of biodegradable films containing essential oils. The polymers used to build the film were chitosan and gelatin, and the chosen essential oil was cinnamon (*Cinnamomum verum* J. Presl). The essential oil has been successfully trapped in zein nanocapsules presenting a diameter of 353,4 nm before being incorporated in the mix forming the films. The initial composition of the film has been revised to substitute the acid allowing the dissolution of the chitosan: acetic acid has been discarded for its unpleasant odor for the benefit of tartaric acid. The film kept great mechanical properties, didn't release any undesirable odor and became more opaque.

The second objective of this work has been the development of techniques to study the aerial and direct migration of organic volatile compounds present in the essential oil incorporated in the films. Trans-cinnamaldehyde (TCN) has been chosen as the quantifying compound from the cinnamon essential oil. Regarding the aerial migration, a *dynamic headspace* device with a thermal desorption unit (DHS-TDU) linked to a gas chromatography device coupled with a mass spectrometer (GC-MS) have been used on vials containing the film. The method exhibited the advantages of being very sensitive and entirely automatized. Regarding the direct migration, films were placed in contact with chunks of pork meat before going to the refrigerator for a duration of one to three days. Afterwards, slices have been cut in the thickness of the meat then ground in liquid nitrogen before undergoing an ultrasonic extraction in hexane. The solvent analysis

through GC-MS allowed the quantification of the TCN content of the meat as well as its progression in depth.

The results concerning the aerial migration show that the highest TCN concentration of 13,16 ng/mL has been attained after a three days incubation period, which is not sufficient to inhibit the development of micro-organisms such as *E. coli* or *S. Aureus* by fumigation on a food product. Regarding the direct migration, the highest TCN content, which is 2,62 µg/g, has been attained in the first millimeter of a meat chunk which stayed in contact with the film for a three days period. This TCN content is not sufficient to inhibit the development of the above-mentioned pathogens in meat either. The methods developed in this work are promising, but the final product on which they have been tested still requires some development before being considered an « active » packaging properly speaking.

Key words: biodegradable packaging, films, gelatin, chitosan, essential oil, cinnamon, trans-cinnamaldehyde, zein, nanocapsules, DHS-TDU, GC-MS, pork meat, kinetics, headspace, migration.

Table des matières

1. Introduction	1
1.1. Les emballages plastiques traditionnels	1
1.2. Les polymères biodégradables	1
1.3. Huiles essentielles et emballages alimentaires.....	4
1.4. Encapsulation des huiles essentielles.....	5
1.5. Législation.....	9
1.6. Techniques existantes pour la quantification du relargage des composés organiques volatils	10
1.6.1. Méthodes exploitées dans le domaine des emballages	10
1.6.2. DHS-TDU.....	11
1.6.3. SHS.....	12
1.6.4. SPME quantitative.....	13
1.6.5. Développement d'une autre approche de DHS-TDU	14
2. Objectifs du travail	15
3. Matériel et méthodes	16
3.1 Réactifs et produits utilisés.....	16
3.2. Caractérisation de l'huile essentielle de cannelle	16
3.3. Préparation des nanocapsules de zéine contenant l'huile essentielle.....	17
3.4. Caractérisation de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle à l'aide de DLS	17
3.5. Calcul de l'efficacité de l'encapsulation (EE).....	18
3.6. Préparation des films alimentaires contenant les nanocapsules d'huile essentielle.....	19
3.7. Quantification du trans-cinnamaldéhyde dans les films après séchage.....	20
3.8. Quantification du passage en phase vapeur de l'huile essentielle à l'aide de DHS-TDU/GC-MS..	20
3.9. Absorption et adsorption de l'huile essentielle dans et sur de la viande de porc	22
3.10. Traitement des données	23
4. Résultats et discussion	24
4.1. Caractérisation de l'huile essentielle de cannelle	24
4.2. Caractérisation de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle par DLS.....	26
4.3. Calcul de l'efficacité de l'encapsulation (EE).....	28
4.4. Aspect général des films alimentaires.....	31
4.4.1. Utilisation d'acide acétique.....	32
4.4.2. Utilisation d'acide benzoïque	34
4.4.3. Utilisation d'acide malique.....	34
4.4.4. Utilisation d'acide citrique	35

4.4.5. Utilisation d'acide tartrique.....	35
4.5. Trans-cinnamaldéhyde résiduel dans les films après séchage	36
4.6. Quantification du passage en phase vapeur de l'huile essentielle à l'aide de DHS-TDU/GC-MS..	38
4.7. Absorption et adsorption de l'huile essentielle dans et sur de la viande de porc	42
5. Conclusion et perspectives.....	45
6. Bibliographie	46

Liste des figures

Fig. 1 : Structure chimique de la chitine et du chitosan (Younes & Rinaudo, 2015)	2
Fig. 2 : Structure chimique d'un polypeptide de gélatine (Thulliez et al., 2021)	3
Fig. 3 : Représentation schématique de l'encapsulation par spray drying (Mohammed et al., 2020).....	5
Fig. 4 : Schéma du fonctionnement de l'électrospinning (Kumar Sharma & Rachel James, 2023).....	6
Fig. 5: Représentation schématique de l'encapsulation par coacervation	7
Fig. 6: structure chimique de la zéine (Hasanzadeh et al., 2021)	8
Fig. 7: Fonctionnement du Dynamic Light Scattering (DLS) (Misono, 2019)	9
Fig. 8: Schéma du fonctionnement de la DHS-TDU (Gerstel®)	11
Fig. 9: Schéma du fonctionnement de l'échantillonnage en SHS	12
Fig. 10 : Dispositif expérimental pour l'étude de la migration de l'huile essentielle de cannelle dans et sur de la viande de porc	22
Fig. 11 : Chromatogramme de l'huile essentielle de cannelle et molécules majoritaires	24
Fig. 12 : Distribution de taille selon l'intensité de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle ..	26
Fig. 13 : Droite de calibrage pour le calcul de l'efficacité d'encapsulation ainsi que pour la teneur résiduelle en trans-cinnamaldéhyde dans les films.....	29
Fig. 14 : Film réalisé à l'aide d'acide acétique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage)	33
Fig. 15 : Film réalisé à l'aide d'acide malique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage).	34
Fig. 16 : Film réalisé à l'aide d'acide citrique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage) .	35
Fig. 17 : Film réalisé à l'aide d'acide tartrique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage)	36
Fig. 18 : Droite de calibrage pour le calcul de la migration aérienne et de contact du trans-cinnamaldéhyde.....	38
Fig. 19 : Variation de la concentration en trans-cinnamaldéhyde au cours du temps dans l'espace de tête de flacons hermétiques contenant le film alimentaire à 25 °C.....	38
Fig. 20 : Flacon hermétique contenant le film alimentaire pour l'étude du passage en phase vapeur de l'huile essentielle.....	39
Fig. 21: Chromatogramme analysé en Single Ion Monitoring pour l'étude du passage en phase vapeur du trans-cinnamaldéhyde.....	40
Fig. 22 : Variation de la teneur en trans-cinnamaldéhyde dans l'épaisseur de la viande de porc en fonction du temps de contact avec le film alimentaire à 4 °C.....	42
Fig. 23: Chromatogramme analysé en Single Ion Monitoring pour l'étude de la migration du trans-cinnamaldéhyde dans l'épaisseur de la viande	43

Liste des tables

Tableau 1 : Réactifs utilisés dans le cadre du TFE	16
Tableau 2 - Paramètres de la GC-MS et programme de température pour la caractérisation de l'huile essentielle de cannelle	17
Tableau 3 - Paramètres d'analyse par DLS de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle	18
Tableau 4 - Paramètres de la GC-MS et programme de température pour le calcul de l'efficacité de l'encapsulation	18
Tableau 5 - Paramètres de l'échantillonnage et de l'analyse par DHS-TDU/GC-MS pour la quantification du relargage aérien de l'huile essentielle de cannelle	21
Tableau 6 - Ions utilisés pour l'analyse en mode SIM des chromatogrammes issus des analyses par DHS-TDU et de migration de contact.	23
Tableau 7 - Chémotype de l'huile essentielle de cannelle	25
Tableau 8 - Calcul de l'efficacité de l'encapsulation	29
Tableau 9 - Détermination de la perte de masse des films après séchage	36
Tableau 10 - Détermination du trans-cinnamaldéhyde résiduel dans les films après séchage	37

Liste des abréviations

CHI-GLY	= Solution aqueuse à 1,5% de chitosan (w/v) ayant été additionnée de 20% de son volume total en dispersion de nanocapsules de zéine contenant de l'huile essentielle de cannelle à hauteur de 2% (v/v) ainsi que de l'équivalent de 40% de la masse de chitosan en glycérol
CHI-GLY-0	= Solution aqueuse à 1,5% de chitosan (w/v) additionnée de l'équivalent 40% de la masse de chitosan en glycérol
CIS	= <i>Cooled injection system</i> (système d'injection avec refroidissement)
DHS-TDU	= <i>Dynamic Headspace</i> avec unité de désorption thermique
DJA	= Dose journalière acceptable
DLS	= <i>Dynamic Light Scattering</i>
EE	= <i>Encapsulation efficiency</i> (efficacité d'encapsulation)
FHE	= Film alimentaire contenant de l'huile essentielle de cannelle
F0	= Film alimentaire ne contenant pas d'huile essentielle de cannelle
GC-MS	= Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse
GEL-GLY	= Solution aqueuse à 2% de gélatine (w/v) additionnée de l'équivalent de 40% de la masse de gélatine en glycérol
HS-SPME	= <i>Headspace Solid Phase Micro Extraction</i>
MBC	= <i>Minimum bactericidal concentration</i> (concentration minimale bactéricide)
MIC	= <i>Minimum inhibitory concentration</i> (concentration minimale d'inhibition)
Nano-HE	= Dispersion de nanocapsules de zéine contenant de l'huile essentielle de cannelle à hauteur de 2% (v/v)
PE	= Polyéthylène
PET	= Polytéréphtalate d'éthylène
PVC	= Polychlorure de vinyle
RI	= Indice de rétention
SHS	= <i>Static Headspace</i>
SLS	= <i>Static Light Scattering</i>
Standard P	= Solution de standard interne de 1-phényloctane dilué dans de l'hexane à hauteur de 5,91 mg/mL
TCN	= Trans-cinnamaldéhyde

1. Introduction

1.1. Les emballages plastiques traditionnels

Depuis la révolution industrielle, les emballages plastiques ont pris une importance considérable dans le quotidien de chacun. Leur production à l'échelle mondiale a été multipliée par un facteur 20 entre 1964 et 2018, et avec 350 à 380 millions de tonnes de plastiques produites annuellement, les emballages représentent à eux seuls 26% de l'utilisation totale des polymères (Mendes & Pedersen, 2021; Meskers et al., 2024). Au niveau des chaînes d'approvisionnement alimentaires, ces emballages sont d'une absolue nécessité pour assurer l'optimalité de la conservation et du transport (Kitz et al., 2022). En plus de ces deux critères primordiaux, les plastiques permettant d'emballer la nourriture se doivent de présenter des propriétés additionnelles dépendantes de leur utilisation prévue. Densité, perméabilité à l'air et à la vapeur d'eau, résistance à la traction ou encore chaleur de scellage thermique sont autant de paramètres à prendre en compte lors de l'utilisation d'un polymère (Teck Kim et al., 2014). Bien qu'il existe un vaste éventail de plastiques disponibles sur le marché, les plus connus restent le polytéréphtalate d'éthylène (PET), le polychlorure de vinyle (PVC) ainsi que le polyéthylène et ses dérivés (PE). Issus de la pétrochimie et produits en grandes quantités, ces derniers permettent de concevoir (entre autre) des films, des fils et des bouteilles (PET), des tuyaux et des profilés (PVC) ou des sacs, flacons et contenants (PE).

Parmi ces emballages plastiques, on retrouve ceux dits à « usage unique » ; ils n'ont pour fonction de n'être utilisés qu'une seule fois avant d'être jetés. Selon les chiffres de la fondation Ellen MacArthur, à eux seuls, ils représentent 95% des emballages plastiques et une dépense économique de 80 à 120 milliards d'euro par an¹. En Europe, on considère qu'environ 33% des plastiques sont efficacement recyclés et réinjectés dans un nouveau cycle de vie (Meskers et al., 2024). Cette disparité entre la proportion de plastique à usage unique et celle de plastique recyclé amène un problème conséquent : celui de la pollution plastique. Bien que cela dépende des conditions climatiques et du type de plastique étudié, le temps de dégradation de ces matériaux dans la nature s'étend sur des périodes allant de 10 à 1000 ans (Chamas et al., 2020). Malgré les efforts pour augmenter la proportion de plastique recyclé, l'accumulation de ces polymères dans les décharges et dans les espaces naturels représente un problème grandissant avec les années.

1.2. Les polymères biodégradables

Pour contrer le problème, les polymères biodégradables ont fait leur entrée sur le marché. Ils sont composés de molécules naturelles variées telles que la chitine, le chitosan, l'amidon, la cellulose, le collagène ou encore la gélatine (Shaikh et al., 2021). Ce n'est là qu'un échantillon des nombreux produits utilisables, sans compter la possibilité de combiner ces matériaux pour obtenir des polymères mixtes aux propriétés intéressantes.

Le vrai défi concernant l'incorporation de ces biopolymères dans les chaînes de production est de nature technologique ; leur concurrent, le plastique issu du pétrole, est un matériaux extrêmement polyvalent difficile à détrôner en raison de ses faibles coûts de production et de ses propriétés fonctionnelles (Vogt et al., 2021). Faisant d'une pierre deux coups, nombre de ces nouveaux emballages rentrent dans une autre catégorie que l'on nomme le « *smart packaging* ». Il s'agit d'un terme générique englobant deux types d'emballages : les emballages dits « intelligents » (*intelligent packaging*) qui permettent de monitorer la qualité d'un produit et d'informer le consommateur sur la qualité de celui-ci durant son transport et sa conservation, et les emballages dits « actifs » (*active packaging*) qui contribuent à la conservation du produit par absorption ou largage de substances, entrant en interaction avec le produit ou son environnement (Chen et al., 2020; Schaefer et Cheung, 2018; Biji et al., 2015). C'est sur ce deuxième type d'emballage, l'*active packaging*, que se concentrera ce travail.

La chitine est un polysaccharide azoté composant la structure des exosquelettes des crustacés et des insectes, mais aussi celle des parois cellulaires des champignons (Ogawa et al., 2004). Cette substance trouve de nombreuses utilisations médicales et industrielles pour ses propriétés biodégradables, anti-microbiennes ainsi que pour sa faible toxicité (Oladzadabbasabadi et al., 2022; Pillai et al., 2009). Résultat de la polymérisation en β -1,4 de N-acétylglucosamine, la chitine est insoluble dans la quasi-totalité des solvants classiques utilisés dans l'industrie, rendant sa valeur technologique compliquée à exploiter (Ogawa et al., 2004; Pillai et al., 2009; Tsurkan et al., 2021). Le chitosan, aussi appelé « chitosane », dérive de la chitine par N-désacétylation partielle de celle-ci. Il a été démontré que ce dérivé possédait les propriétés bénéfiques de la chitine en plus de montrer des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes (Aranaz et al., 2021). Ce changement de structure chimique confère au chitosan une très bonne solubilité dans les solutions aqueuses acides, tant minérales qu'organiques, tout en augmentant sa réactivité chimique par libération des groupements amines primaires (Ogawa et al., 2004; Aranaz et al., 2021). Il a été démontré que le chitosan acquérait sa solubilité au-delà d'une protonation de 50% des groupements acétamides présents dans la chitine, ce qui peut être mesuré par potentiométrie et conductimétrie (Rinaudc et al., 1999).

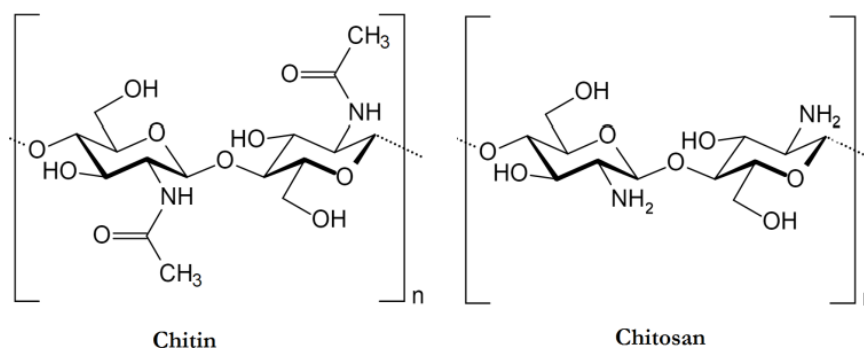


Fig. 1 : Structure chimique de la chitine et du chitosan (Younes & Rinaudo, 2015)

Le chitosan a déjà été employé dans la formulation de films alimentaires biodégradables avec des résultats très satisfaisants; malgré un faible blocage des rayons UV, les films ont été appréciés pour leur capacité à limiter les transferts d'air et à inhiber le développement des micro-organismes (Moalla et al., 2021; Van Den Broek et al., 2015; Zarandona et al., 2020).

Une autre substance pouvant constituer un film alimentaire biodégradable et attirant l'attention est la gélatine. Composée de 18 acides aminés différents, la gélatine est obtenue par hydrolyse des protéines de collagène, ce qui lui donne des propriétés très intéressantes (Alipal et al., 2021). L'hydrolyse peut être enzymatique, mais la gélatine est généralement obtenue par ébullition de substances contenant du collagène telles que la peau ou les os d'animaux d'élevage (Bello et al., 2020; Said & Sarbon, 2022). En termes de structure, ce polymère s'agence en chaînes alpha (α) et bêta (β) d'acides aminés et possède la faculté de se disperser sous la forme de colloïdes au-delà d'une température avoisinant celle du corps humain (i.e. température équivalente à 35-40 °C) (Alipal et al., 2021). Lorsque la température redescend en dessous de ce seuil, la gélatine acquiert la consistance d'un gel, ce qui la rend extrêmement intéressante pour une utilisation dans le domaine de l'alimentaire, de la cosmétique ou encore du pharmaceutique car la gélatine est comestible (Alipal et al., 2021; Bello et al., 2020; Mhd Sarbon et al., 2020; Said et Sarbon, 2022). La gélatine a été intégrée à de nombreux films alimentaires biodégradables, et bien que son hygroscopicité pose problème, elle a démontré de très bonnes propriétés d'extrusion, de transparence ainsi que de barrière vis-à-vis de la lumière et de l'oxygène (Said & Sarbon, 2020; Ramos et al., 2016; Said & Mhd Sarbon, 2021).

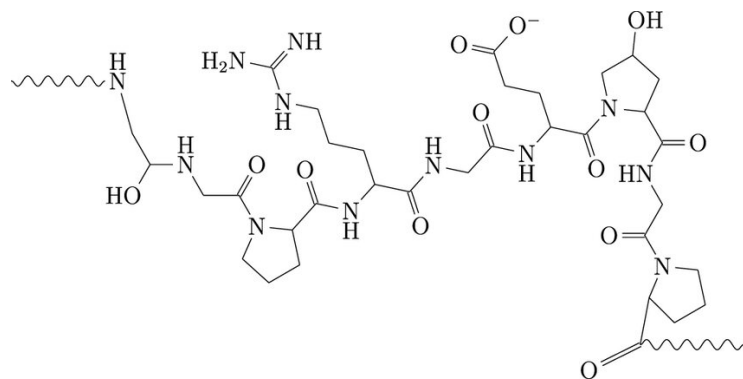


Fig. 2 : Structure chimique d'un polypeptide de gélatine (Thulliez et al., 2021)

Comme mentionné précédemment, il est possible de combiner diverses substances naturelles dans les films biodégradables pour en améliorer les propriétés ou même pour créer des synergies (Meng et al., 2019). Plusieurs études se sont penchées sur la combinaison du chitosan et de la gélatine dans cette optique et ont abouti aux conclusions suivantes : le film formé possède une structure homogène au niveau moléculaire, ce qui est dû à la formation de ponts hydrogènes ainsi qu'au haut niveau d'interaction entre les groupements cationiques du chitosan et anioniques de la gélatine (Jridi et al., 2014; Pereda

et al., 2011; Qiao et al., 2017). Ce film composite présente de très bonnes propriétés mécaniques, anti-bactériennes, ainsi qu'une stabilité thermique accrue (Jridi et al., 2014; Pereda et al., 2011). La comparaison des propriétés du film composite avec celles des films réalisés à partir des substances isolées a montré que l'interaction entre les deux polymères était bien à l'origine de ces améliorations (Wang et al., 2021). Dans un souci technologique, d'autres matériaux sont souvent ajoutés à ces films composites. On retrouve la plupart du temps un plastifiant comme le glycérol, qui forme des liaisons hydrogène avec les polymères, les empêchant ainsi d'en former « sur eux-mêmes » et de devenir cassants (Epure et al., 2011; Souza et Andrade, 2002).

1.3. Huiles essentielles et emballages alimentaires

De récents travaux se sont concentrés sur l'incorporation de substances additionnelles dans les emballages bio-dégradables afin de les rendre encore plus performants et d'en faire de véritables *active packaging*. L'attention semble s'être fortement portée sur les huiles essentielles à cet égard. Les huiles essentielles sont des mélanges de composés généralement volatils produits par les plantes, possédant un fort pouvoir aromatique et occupant le rôle de métabolite secondaire dans la biologie des végétaux (Mukurumbira et al., 2022; Ribeiros-Santos et al., 2017). Ces dernières présentent des propriétés anti-oxydantes, anti-microbiennes et anti-inflammatoires déjà largement exploitées dans le domaine de l'agriculture, de la cosmétique, de l'alimentaire et de la médecine (Andoğan et al., 2002; Dosoky et Setzer, 2018; Nahar et al., 2021). De nombreuses huiles essentielles ont déjà été intégrées à des emballages biodégradables et ont permis l'acquisition de propriétés nouvelles très intéressantes dans une optique de conservation de la nourriture (Sharma et al., 2021). Pour n'en citer que quelques unes, l'huile essentielle de cannelle a été intégrée à un film comestible de chitosan et de gomme arabique, et a permis l'amélioration du pouvoir anti-oxydant du film ainsi que sa résistance au passage de la vapeur d'eau (Xu et al., 2019). Cette même huile essentielle a également été incorporée à des films à base d'acide polylactique et a permis une réduction du développement de *Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* ainsi qu'une protection plus efficace des rayons UV, prolongeant ainsi la durée de conservation de viande de porc (Wen et al., 2016; Sharma et al., 2020b). L'huile essentielle de romarin a fait ses preuves comme agent anti-microbien (*S. aureus*) et comme barrière efficace au passage de la vapeur d'eau une fois intégrée à un film de carboxyméthyl cellulose d'amidon (Mohsenabadi et al., 2018). L'huile essentielle de clou de girofle présente des propriétés semblables à celle de cannelle; incorporée dans un film d'acide polylactique, cette dernière protège efficacement des rayons UV et inhibe la totalité du développement de *S. aureus* (Sharma et al., 2020a). Cependant, une autre étude utilisant l'huile essentielle de clou de girofle dans un film de β -cyclodextrine a révélé que cet ajout diminuait l'élasticité du film produit (Maestrello et al. 2017). L'huile essentielle de cannelle apparaissant comme la plus polyvalente, elle sera employée dans le cadre de ce travail.

1.4. Encapsulation des huiles essentielles

Il n'est pas tout à fait représentatif de comparer les huiles essentielles simplement sur base des propriétés finales de l'emballage auquel elles ont été incorporées. Effectivement, en plus d'avoir été intégrées à des emballages de compositions différentes, elles n'y ont pas été intégrées de la même façon. Il est peu courant que l'huile essentielle soit ajoutée « telle quelle » au mélange formant le film alimentaire, car sa nature hydrophobique provoque un déphasage avec les autres composés du film dissous dans une matrice aqueuse (Carpena et al., 2021). Elle fait généralement l'objet d'une préparation au préalable permettant de contrôler sa volatilité, sa stabilité et son hydrophobicité (Carlos Alberto Fuenmayor et al., 2013). Parmi ces préparations, on retrouve l'encapsulation, qui consiste à intégrer le produit d'intérêt dans des sphères de très petites dimensions. Cela se décline en trois tailles différentes: les macrocapsules (taille supérieure à 1000 μm), les microcapsules (taille comprise entre 1 et 1000 μm) et les nanocapsules (taille inférieure à 1 μm) (Carpena et al., 2021; Ribeiros-Santos et al., 2017). De nombreux produits peuvent servir à réaliser ces encapsulations, et le choix du polymère dépend souvent de l'application désirée et de la matrice dans laquelle la capsule va se retrouver.

Il existe de nombreuses façons de former ces capsules, mais trois techniques sont employées la majorité du temps. La première est le séchage par pulvérisation (*spray drying*). Le matériau constituant la capsule est d'abord dissous dans une solution, avant d'y disperser la substance à encapsuler. Après mélange et homogénéisation, la solution est pulvérisée en fines gouttelettes, permettant ainsi de réduire drastiquement le contenu en eau du produit grâce au séchage aérien que ce dernier va subir. Cette perte en eau va provoquer un réarrangement structural permettant la formation des capsules (Yang et al., 2023). Cette méthode permet d'obtenir rapidement des capsules utilisables mais nécessite un équipement de pulvérisation adapté.

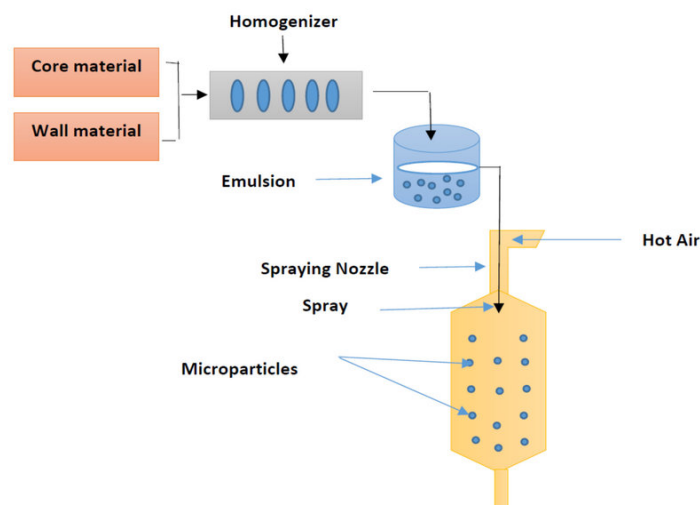


Fig. 3 : Représentation schématique de l'encapsulation par *spray drying* (Mohammed et al., 2020)

La seconde méthode est l'électrofilage (*electrospinning*). Comme pour la première méthode, une solution est préparée contenant le matériaux de capsule et le matériaux à encapsuler. Cette solution va ensuite être acheminée à travers une aiguille à l'aide d'une pompe, de sorte à former une goutte à l'extrémité de celle-ci. Cette aiguille pointe vers une plaque ou une bobine d'enroulement, appelée *collector plate*, qui va permettre de récupérer le produit. Une tension électrique de l'ordre de la dizaine de kilovolts est alors appliquée entre l'aiguille et la *collector plate*, et des charges commencent à s'accumuler à la surface de la goutte. Une fois le voltage critique atteint, les forces de répulsion électrostatiques dépassent les forces de tension de surface de la goutte, forçant celle-ci à adopter la forme d'un cône, appelé cône de Taylor. De ce cône va jaillir un fin filament de liquide en direction de la *collector plate*, le liquide va instantanément sécher et former une fibre sur la *collector plate* dont le diamètre est de l'ordre du nanomètre. Bien qu'elles ne ressemblent pas à proprement parler à des capsules, les nanofibres produites possèdent les caractéristiques technologiques requises pour assurer la préservation des huiles essentielles tout en permettant leur relargage dans le temps (Mele, 2020).

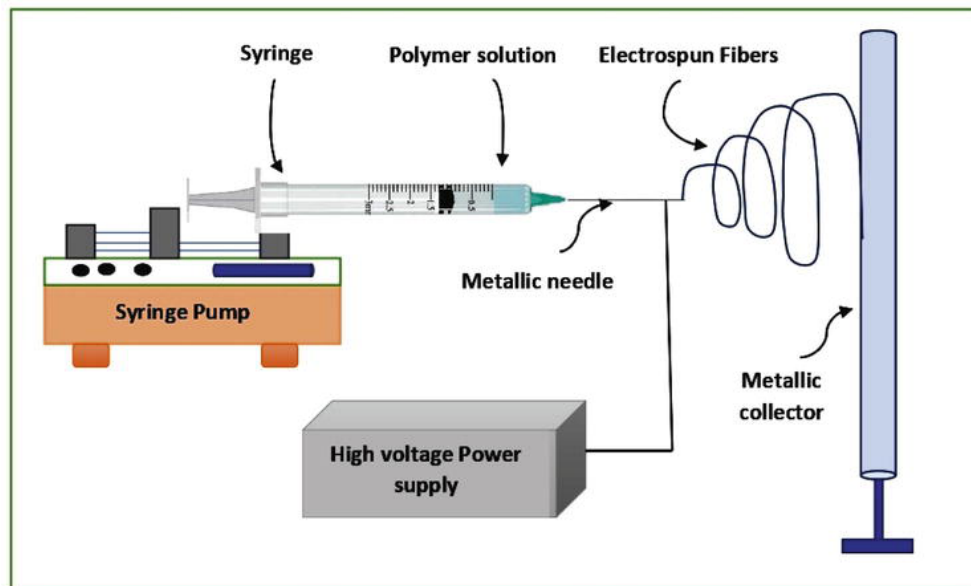


Fig. 4 : Schéma du fonctionnement de l'*electrospinning* (Kumar Sharma & Rachel James, 2023)

La dernière technique est la coacervation. En pratique, une phase aqueuse contient le polymère servant à l'encapsulation, et une phase organique contient le principe actif (ici, l'huile essentielle). Les deux phases sont émulsionnées à l'aide d'une agitation mécanique. Le temps ainsi que la vitesse de mélange des substances ont été identifiés comme étant deux paramètres ayant un impact significatif sur la qualité de l'encapsulation (Maes et al., 2021). Une substance additionnelle est ensuite ajoutée à l'émulsion afin de diminuer la solubilité du polymère; soit il s'agit d'une substance ayant une affinité pour l'eau plus importante que le polymère, soit il s'agit d'une substance qui va se complexer avec le polymère (la technique porte alors le nom de *complex coacervation*). Sa solubilité

étant diminuée, le polymère va spontanément se placer à l'interface des particules colloïdales organiques, formant ainsi la capsule. Si nécessaire, un séchage ou une lyophilisation permettent de se débarrasser de l'eau dans la solution, ne laissant alors que les capsules de polymère englobant la phase organique contenant le principe actif. Cette technique a démontré une grande efficacité d'encapsulation, et ne requiert qu'une faible concentration en polymère (Heckert Bastos et al., 2020).

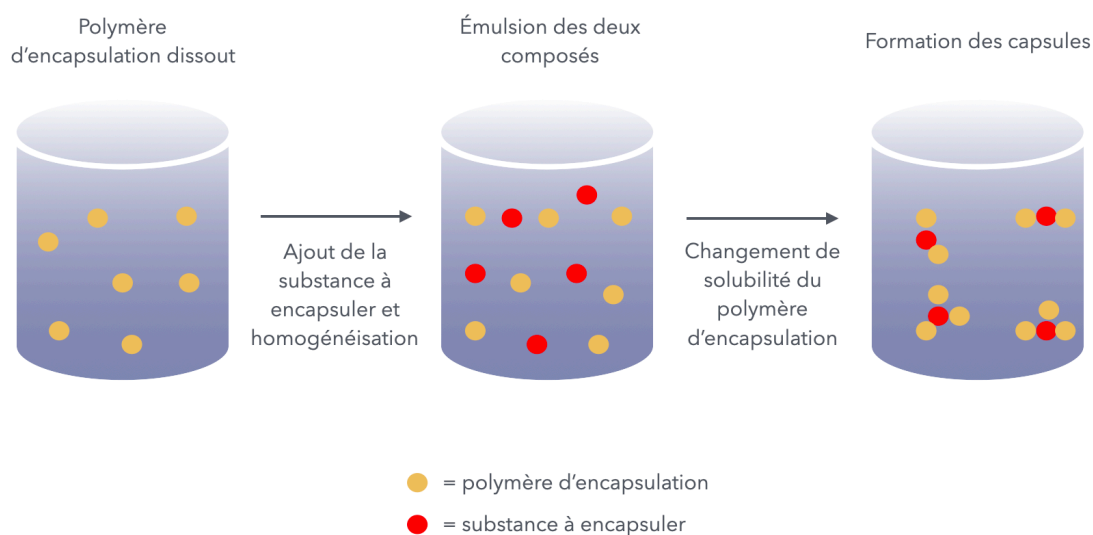


Fig. 5: Représentation schématique de l'encapsulation par coacervation

Silva et al. (2014) ont dressé une liste des matériaux utilisables en encapsulation en précisant les mécanismes par lesquels les substances pouvaient être relâchées dans la matrice. Parmi tous les matériaux présentés et dans une optique de biodégradabilité, il est possible d'utiliser des protéines comme la gélatine ou la caséine, de même que des polysaccharides comme la cellulose, l'amidon ou le chitosan qui relâchent leur contenu mécaniquement ou par dissolution. Aussi, l'on peut utiliser des lipides comme les cires naturelles ou les acides gras, et des gommages naturelles comme la gomme de xanthane ou la gomme arabique qui vont plutôt relâcher leur contenu par contrainte thermique.

Un polymère ayant gagné de l'intérêt au cours des dernières années dans le domaine de l'encapsulation est la zéine. Protéine hydrophobe isolée du maïs, elle est déjà utilisée dans le domaine des emballages biodégradables pour ses excellentes propriétés de biodégradabilité ainsi que de barrière vis à vis de l'air et de la vapeur d'eau (Bilenler et al., 2015). L'utilisation de la zéine dans la formation de capsules a déjà fait ses preuves en raison de sa propension à la dispersion dans l'alcool ainsi qu'à son hydrophobicité permettant d'englober des corps lipophiles comme les huiles essentielles (Chen et al., 2018). Les capsules à base de zéine peuvent être formées à l'aide des trois techniques présentées précédemment, mais la coacervation semble obtenir les capsules les plus

petites pour ce polymère, et donc les plus stables d'un point de vue physique (Fan et al., 2023; Hosseini et al., 2021; Xiao et al., 2011).

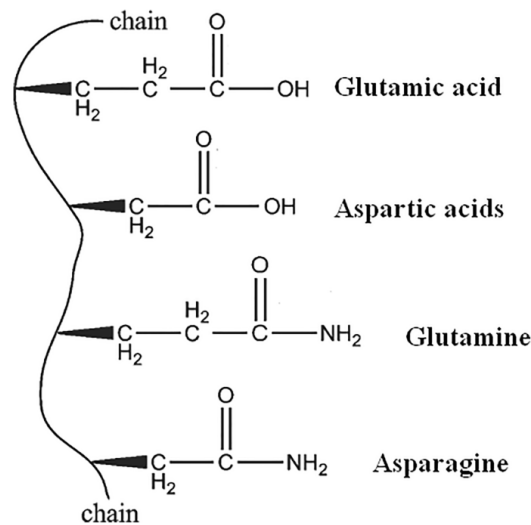


Fig. 6: structure chimique de la zéine (Hasanzadeh et al., 2021)

Il est important de déterminer la taille des capsules produites, car cette dernière va rendre compte de la stabilité et de la qualité de la dispersion. Une technique très employée dans le domaine de la caractérisation des tailles de capsules est la *Dynamic Light Scattering* (DLS). Cette dernière se base sur l'utilisation d'un laser monochromatique que l'on projette sur la dispersion, et donc, sur ses particules. Les particules ainsi illuminées vont diffuser la lumière tout autour d'elles, ce qui permettra une mesure de l'intensité lumineuse à 90 ° du laser incident, afin de ne mesurer que la lumière diffusée par les particules (Stetefeld et al., 2016). Cette mesure se réalise en continu sur une certaine durée, car l'intensité lumineuse résultant de la diffusion tend à varier à cause du mouvement Brownien régissant le déplacement des particules. Ces déplacements vont sans cesse engendrer des distanciations et des rapprochements des particules diffusant la lumière, ce qui va amener la formation d'interférences dans les ondes produites, fussent-elles destructives ou constructives (Pecora, 2000). La mesure de la variation d'intensité lumineuse au cours du temps donne une information sur la vitesse de déplacement des particules, et par extension, sur leurs dimensions. Ces mesures permettent d'établir une fonction d'autocorrélation, qui est une représentation graphique de la façon dont le signal varie avec le temps lorsqu'il est comparé à lui-même au fil d'intervalles de temps succincts et répétés (Kaszuba et al., 2008). Un temps caractéristiques de décroissance « τ » (aussi appelé temps de relaxation) peut être extrait de cette fonction. Il est lié au coefficient de diffusion des particules par la formule suivante (Stetefeld et al., 2016) :

$$\frac{1}{\tau} = 2Dq^2$$

Où « D » est le coefficient de diffusion et « q » est le vecteur d'onde. Le vecteur d'onde étant un paramètre connu si l'on dispose de la longueur d'onde du laser utilisé, l'équation nous donne la valeur du coefficient de diffusion. De là, l'équation de Stokes-Einstein permet de déduire le diamètre hydrodynamique des particules (Kaszuba et al., 2008) :

$$D_H = \frac{k_b T}{3\pi\eta_s D}$$

Avec « D_H » le diamètre hydrodynamique des particules, « k_b » la constante de Boltzmann, « T » la température et « η_s » la viscosité du fluide environnant. De nos jours, ce sont les appareils de mesure qui réalisent ces calculs, et les données parvenant à l'expérimentateur ne sont plus que des graphiques exprimant la répartition des tailles de particules.

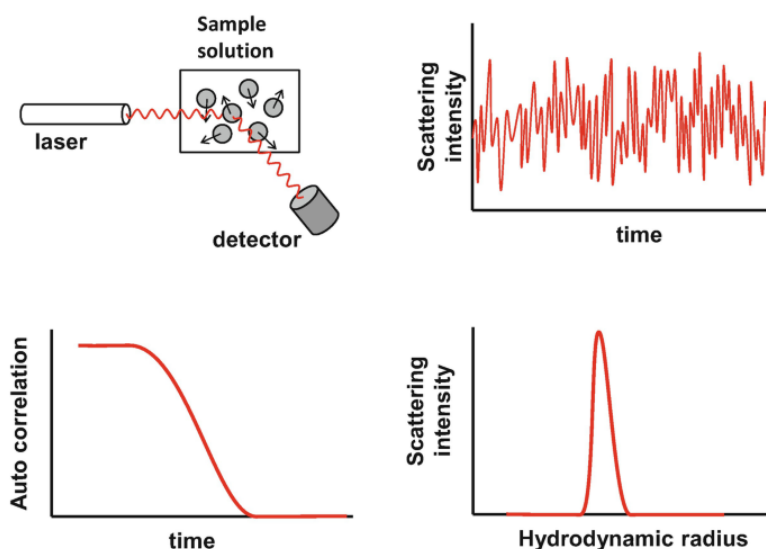


Fig. 7: Fonctionnement du *Dynamic Light Scattering* (DLS) (Misono, 2019)

1.5. Législation

Concernant l'aspect législatif de ces films alimentaires biodégradables, tout est dépendant de leur composition. Pour un film composé de gélatine, de chitosan, de zéine et d'huile essentielle de cannelle, la législation européenne n'expose aucun problème majeur en terme de contact avec les aliments. La gélatine n'est pas considérée comme un additif alimentaire mais bien comme une substance animale de consommation à part entière (CE N °1333/2008)². Un rapport de l'European Food Safety Authority (EFSA) (2009) commissionné par la Commission Européenne a approuvé l'utilisation de chitosan comme produit alimentaire en ne dépassant pas les 750 mg par jour. Il est raisonnable de penser que la migration de près d'un gramme de la substance ne surviendra pas lors de la conservation de l'aliment. L'Union Européenne ne s'est pas exprimée au sujet de la zéine,

mais cette dernière a été classée comme « GRAS » (*Generally Recognized As Safe*) par l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (FDA)³. L'huile essentielle de cannelle, notamment par la présence de trans-cinnamaldéhyde (TCN), représente un allergène dermique; en effet, le TCN est davantage retrouvé dans les cosmétiques où il est susceptible de provoquer une dermatite de contact allergique, mais peut aussi provoquer une réaction allergique par ingestion bien que cela n'ait été que peu reporté (Isaac-Renton, 2015). L'huile essentielle de cannelle peut donc faire l'objet d'une mention afin d'éviter de potentielles réactions allergiques, mais cela n'est pas obligatoire.

1.6. Techniques existantes pour la quantification du relargage des composés organiques volatils

1.6.1. Méthodes exploitées dans le domaine des emballages

Une fois les capsules formées et incorporées dans les emballages, il est nécessaire d'évaluer la cinétique de relargage des composés qu'elles englobent. Plusieurs techniques ont été explorées dans la littérature, mais toutes restent très semblables entre elles. Fan et al. (2023), Wang et al. (2019) et Alinaqi et al. (2021) ont immergé les emballages dans des solutions de concentrations variables en éthanol afin de simuler la présence d'aliments à teneur variable en graisse. Les emballages contenaient des nanocapsules de zéine renfermant de l'huile essentielle de cannelle, d'orange et de clou de girofle, respectivement. Des échantillons des solutions d'éthanol ont été pris à intervalles réguliers puis analysés au spectrophotomètre afin de mesurer leur teneur en composés aromatiques absorbant dans l'UV entre 250 et 290 nm. Cette approche, bien qu'intéressante et rapide, a présenté des défauts: l'immersion complète des films a provoqué un gonflement puis une déstructuration de ceux-ci, menant à des cinétiques de relargage biaisées (Fan et al., 2023). De plus, les longueurs d'onde comprises entre 250 et 290 nm ne sont que peu spécifiques des composés aromatiques contenus dans les huiles essentielles, et de nombreux autres composés sont susceptibles d'absorber dans cette plage. Une étude réalisée par Babayev et al. (2023) traitant également d'emballages biodégradables incorporés de nanocapsules de zéine aux huiles essentielles a exploré une méthode légèrement différente pour étudier la cinétique de relargage. Cette dernière a été réalisée en immergeant les emballages dans des solutions aqueuses contenant un tensioactif, le Tween 20 (à hauteur de 1%) et en échantillonnant la solution à intervalle régulier pour ensuite réaliser de la spectrophotométrie. Le tensioactif a eu pour rôle de faciliter le passage des huiles essentielles dans l'environnement aqueux.

Ces méthodes, bien que permettant de réaliser une approximation du relargage des composés dans la nourriture, ne couvrent pas l'étendue des applications des emballages alimentaires. De nombreux aliments dans le commerce possèdent un emballage dont seule une partie est scellée par un film alimentaire (contenants en carton ou en polystyrène scellés par un film). D'autres emballages n'ont qu'une partie de l'aliment en contact direct

avec le film (e.g. sachet de salade prédécoupée ou paquet de chips). Le film n'est donc pas toujours en contact avec le produit directement; le médium de contact est tantôt l'air, tantôt l'aliment. La littérature traitant de la migration en phase gazeuse des huiles essentielles encapsulées dans des polymères eux-mêmes intégrés à des emballages est mince. De plus, même pour l'étude de contact, l'utilisation d'éthanol à concentration variable n'est que peu représentative de la matrice complexe des aliments.

1.6.2. DHS-TDU

Afin d'étudier le passage en phase gazeuse des huiles essentielles depuis les emballages, il est nécessaire de s'intéresser à l'espace de tête du contenant que ces films referment. De nombreuses techniques permettent de quantifier plus ou moins précisément les composés se trouvant en phase gazeuse, mais quelques unes sortent du lot. Parmi elles, on retrouve la *dynamic headspace* (DHS). Cette technique se base sur un renouvellement continu ou périodique de gaz dans une enceinte contenant le produit d'intérêt à l'aide d'une pompe. Un tuyau amène du gaz inerte dans l'enceinte à l'aide d'une pompe, et une sortie contenant une cartouche adsorbante (comme une cartouche Tenax TA®) permet de retenir les composés contenus dans l'air. La cartouche est ensuite désorbée dans une unité de désorption thermique (TDU) et le contenu est injecté en chromatographie en phase gazeuse (GC). La DHS est une technique très prisée pour sa sensibilité et sa facilité de mise en place; en renouvelant en permanence l'espace de tête avec de l'air neuf, l'équilibre est poussé à chaque instant vers la volatilisation des composés et l'expérimentateur s'assure d'écarter le risque d'atteindre la saturation (Biniecka et Caroli, 2011). Bien qu'intéressante, cette méthode ne permet pas d'étudier une cinétique de relargage de composés en simulant l'environnement d'un emballage. En déplaçant continuellement (ou ponctuellement) l'équilibre, il n'est pas possible d'évaluer la quantité d'huile essentielle ayant migré dans un volume d'air non renouvelé.

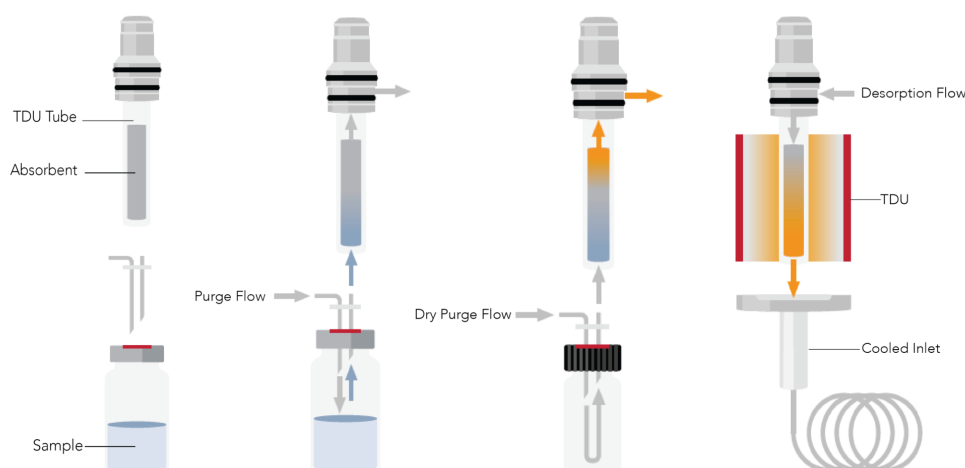


Fig. 8: Schéma du fonctionnement de la DHS-TDU (Gerstel®)

1.6.3. SHS

La méthode dénommée *static headspace sampling* (SHS) est encore plus simple à mettre en place que la DHS. Le principe est de prélever un échantillon d'air dans l'espace de tête d'un contenant dans lequel un produit aura été placé au préalable. Ceci peut être réalisé manuellement à l'aide d'une seringue à gaz, ou par un dispositif automatisé à l'aide d'un bras mécanique muni d'une aiguille; l'échantillon d'air ainsi prélevé est directement injecté en GC (Rodinkov et al., 2020). Cette technique présente l'avantage de se réaliser très rapidement, à moindre coût, et de ne nécessiter aucune infrastructure particulière autre qu'une seringue à gaz et une GC (Cavalli et al., 2003). De nombreuses études ont utilisé la SHS pour analyser des profils d'huiles essentielles, avec des résultats très concluants (Bahmanzadegan et al., 2017; Rodríguez-Maecker et al., 2017; Virgiliou et al., 2021). Parmi elles, quelques unes se sont concentrées sur l'aspect quantitatif de la SHS en étudiant le relargage d'huile essentielle encapsulées dans des matrices diverses. Il en est ressorti que cela était implémentable en pratique sans difficulté apparente tout en apportant d'excellents résultats pour des matrices liquides (Kfoury et al., 2015; Kfoury et al., 2017; Maes et al., 2022). Cette technique, qui ne requiert que très peu d'équipement, n'est cependant pas très sensible; Les volumes prélevés ne dépassent que rarement le millilitre, rendant très compliquée la quantification de molécules présentes à l'état de traces (Cavalli et al., 2003). A titre d'exemple, le système de prélèvement en SHS le plus volumineux du revendeur mondial PALSystem[®] ne dépasse pas les 5 mL en volume de prélèvement⁴. Ce problème est accentué si le relargage se réalise dans un environnement à basse température (e.g. température de réfrigérateur ou de congélateur), limitant grandement la volatilité des composés.

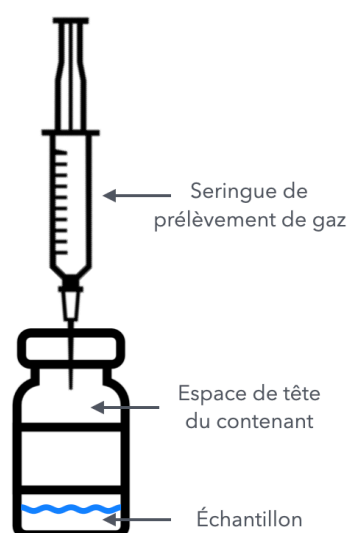


Fig. 9: Schéma du fonctionnement de l'échantillonnage en SHS

1.6.4. SPME quantitative

La dernière technique qui sera présentée ici est la *quantitative Solid Phase Micro Extraction* (SPME quantitative). Le principe se base sur l'utilisation d'une fibre solide recouverte d'une phase stationnaire (polydiméthylsiloxane, divinylbenzène, de nombreuses phases stationnaires existent) qui est exposée durant une durée donnée à l'espace de tête d'un contenant ou à un liquide. Une fois l'exposition de la fibre terminée, cette dernière est désorbée et son contenu est injecté en GC. Utilisée majoritairement de façon qualitative, cette technique présente l'avantage d'être très sensible, facile d'utilisation, reproductible et de ne nécessiter aucun solvant (Sun et al., 2021; Jeleń & Wieczorek, 2023). L'utilisation de *Headspace* SPME (HS-SPME) repose sur plusieurs équilibres: un premier entre le produit étudié et l'espace de tête, et un second entre l'espace de tête et la fibre adsorbante. Les fibres utilisées possèdent une surface spécifique faible (de l'ordre de 10 mm²) pouvant mener à une saturation rapide de la phase stationnaire. Ceci peut s'avérer problématique si le but est de réaliser une quantification, particulièrement avec des composés aussi volatiles que les huiles essentielles. En plus du risque de saturer la fibre, Un autre risque persiste, celui de saturer l'espace de tête en lui-même. Dans le cas d'une adsorption, un espace de tête saturé mènera invariablement à une quantification faussée, en raison de la compétition pour les sites actifs sur la fibre (Jeleń & Wieczorek, 2023). Des adaptations de la méthode ont vu le jour, telles que l'Arrow-SPME, afin d'augmenter la surface spécifique de la fibre, mais cette dernière requiert des adaptations de *l'inlet* de la GC et les coûts d'achat et de fonctionnement restent importants.

La DHS et la SPME ont déjà été largement mentionnées dans la littérature depuis plusieurs dizaines d'années pour analyser des huiles essentielles (Biniecka et Caroli, 2011; Teixeira & Rodrigues, 2014; Coleman & Lawrence, 1997), mais majoritairement de façon qualitative et non quantitative, en raison des points énoncés précédemment. Malgré cela, quelques applications de la HS-SPME quantitative et de la DHS ont été développées. Le principal facteur rendant la quantification à l'aide de HS-SPME si compliquée est l'effet de matrice de l'échantillon à analyser (Nolvachai et al., 2023). Dans le cas d'un emballage alimentaire contenant des capsules d'huiles essentielles, la matrice est d'une nature très spécifique et ne permet pas l'ajout d'un standard interne dans l'emballage. Pour pallier au problème des matrices complexes, Zhao et al. (2007) ont proposé une alternative en réalisant une standardisation directement sur la fibre (*in-fiber internal standardization*). Pour ce faire, la fibre de SPME est insérée dans un flacon hermétique contenant un standard volatile. Un équilibre s'établit entre la fibre et l'espace de tête du flacon, avant que cette dernière soit transférée au flacon contenant le produit d'intérêt. Un nouvel équilibre se met alors en place: une partie du standard se désorbe de la fibre et une partie de l'analyte étudié s'y adsorbe. Ce double phénomène est quantifiable à l'aide de divers facteurs tels que les coefficients de partition du standard et de l'analyte, mais aussi ceux des facultés d'adsorption de la fibre de SPME. Cette méthode a été appliquée dans une

étude consacrée à la quantification de composés volatils de diverses huiles d'olive et a présenté de très bons résultats, surtout au niveau de sa sensibilité et sa reproductibilité (MacCrehan et al., 2012). Le problème le plus conséquent reste les diverses approximations à réaliser pour permettre la quantification: coefficients d'adsorption des analytes sur la fibre, quantité de standard ayant été désorbée lors de l'analyse... Multiplier ces approximations peut mener à des erreurs dans la quantification. Il est possible de réaliser des droites de calibrage afin de quantifier le phénomène, mais cela reste très fastidieux à mettre en place. En mettant ces considérations mathématiques de côté, un problème persiste concernant l'utilisation de la HS-SPME. Dans le cas de l'étude d'une cinétique, le temps d'exposition de la fibre peut également grandement fausser les résultats. En admettant que la fibre reste exposée pour une durée d'une trentaine de minutes, la volatilisation des composés prenant place au cours de cette période ne sera pas visible avec précision sur la fibre, qui rendra une valeur intermédiaire dépendant des équilibres s'étant établis sur le laps de temps d'exposition (MacCrehan et al., 2012; Young et al., 2016). Cette incertitude vient s'ajouter aux précédentes, et rend l'utilisation de la HS-SPME peu adaptée à l'étude de la cinétique de volatilisation de composés provenant d'une matrice solide complexe.

1.6.5. Développement d'une autre approche de DHS-TDU

Une méthode reste cependant possible pour utiliser la DHS de façon quantitative pour l'application visée dans le cadre de ce travail. En multipliant le nombre d'échantillons, la DHS peut être réalisée sur chaque flacon une seule fois. De cette manière, il est possible de laisser l'équilibre s'établir pour une durée désirée, avant de réaliser une purge complète du flacon et de quantifier la quantité d'analyte retenue sur la cartouche d'adsorption. Mis à part le nombre élevé d'échantillons à préparer afin de disposer de suffisamment de répétitions, cette méthode présente les avantages d'être très sensible, précise et entièrement automatisée. Il est possible de réaliser une purge complète de flacon sur une durée très courte (de l'ordre de la minute) tout en apportant un flux d'air empêchant la formation d'une dépression qui viendrait forcer la volatilisation de composés. En réalité, cette application de la DHS s'apparente plutôt à de la SHS dont on aurait augmenté la sensibilité.

Ces diverses techniques d'échantillonnage, avec leurs avantages et inconvénients, montrent que de nouvelles méthodes d'étude des cinétiques de relargage doivent voir le jour pour prendre en compte l'utilisation de ces emballages biodégradables dans une gamme d'application plus large. Ce n'est qu'en comprenant le fonctionnement de ces films alimentaires qu'il sera possible d'implémenter ces innovations à une échelle plus conséquente.

2. Objectifs du travail

Les expérimentations réalisées dans le cadre de ce travail se diviseront en plusieurs sections. Premièrement viendra la conception de films alimentaires biodégradables à base de chitosan et de gélatine. Les formulations des films seront revues afin de les adapter à une utilisation pratique. En second lieu, l'huile essentielle de cannelle (préalablement caractérisée) sera encapsulée en utilisant la zéine comme polymère d'encapsulation. La dispersion de nanocapsules sera caractérisée avant d'être intégrée aux films afin de constituer des *active packaging* à proprement parler. Finalement, plusieurs méthodes d'étude des cinétiques de relargage seront développées afin de couvrir l'éventail d'utilisations des films alimentaires. Pour la cinétique de passage en phase gazeuse de l'huile essentielle, de la DHS-TDU sera mise en place. Cette dernière sera effectuée sur des flacons dans lesquels des films auront été coulés sur le fond, afin de simuler un emballage scellé par un film alimentaire. Pour la cinétique de migration directe de l'huile essentielle, des tranches de viande de porc ayant été en contact avec le film alimentaire seront broyées dans un solvant, lequel sera analysé en GC afin de déterminer la quantité d'huile essentielle ayant été absorbée ou adsorbée.

Le travail est donc d'une nature technologique (préparation des films alimentaires, adaptation de protocoles existants) mais aussi analytique (développement de nouvelles méthodes de quantification fiables et représentatives). Les films alimentaires conçus se veulent acceptés par le grand public, et les méthodes développées facilement reproductibles et novatrices. Le but final de ce travail est donc d'identifier les points forts et les points faibles des emballages et de les corriger dans la mesure du possible, tout en fournissant aux chercheurs travaillant sur ce type d'emballages des méthodes pertinentes pour évaluer la cinétique de relargage des composés organiques volatils.

3. Matériel et méthodes

3.1 Réactifs et produits utilisés

L'entièreté des réactifs et produits utilisés dans le cadre de ce travail est reprise dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Réactifs utilisés dans le cadre du TFE

Nom du produit	Numéro CAS	Revendeur	Caractéristiques techniques
Huile essentielle de cannelle	84649-98-9	Pranarom (Ghislenghien, Belgique)	Provenance: écorce de <i>Cinnamomum verum</i> J. Presl
Gélatine	9000-70-8	Sigma-Aldrich (St Louis, USA)	Degré Bloom : 300 Type A
Chitosan	9012-76-4	Sigma-Aldrich (St Louis, USA)	Masse moléculaire comprise entre 50kDa et 190kDa
Zéine	9010-66-6	Sigma-Aldrich (St Louis, USA)	Obtenue à 100% à partir de maïs
Acide citrique	77-92-9	VWR International (Leuven, Belgium)	Dosage sur substance anhydre : 100%
Acide acétique	64-19-7	Thermo Fisher Scientific (Fair Lawn, USA)	Pureté : 99,8%
Acide DL-malique	636-61-3 (+) 97-67-6 (-)	Merck (Hohenbrunn, Germany)	Dosage acidimétrique : 99%
Acide tartrique L(+)-	87-69-4	VWR International (Leuven, Belgium)	Aucune caractéristique technique fournie
Glycérol	56-81-5	VWR International (Leuven, Belgium)	Dosage sur substance anhydre : 100%
1-Phényloctane	2189-60-8	Sigma-Aldrich (St Louis, USA)	Pureté : 98%
Trans-cinnamaldéhyde	14371-10-9	Sigma-Aldrich (St Louis, USA)	Pureté : +99%

3.2. Caractérisation de l'huile essentielle de cannelle

L'huile essentielle de cannelle a été diluée d'un facteur 1000 dans de l'hexane et injectée en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) afin d'en obtenir le profil. Les paramètres de l'injection sont repris dans le Tableau 2. L'expérimentation a été réalisée en trois répétitions (n=3).

Tableau 2 - Paramètres de la GC-MS et programme de température pour la caractérisation de l'huile essentielle de cannelle

Appareils utilisés	GC (Agilent Technologies 7890B GC System) - MS (Agilent Technologies 5977B MSD)
Colonne	Carbowax (VF-WAXms 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
Volume et mode d'injection	1 µL - Splitless
Gaz vecteur	Hélium avec débit de 1,2 mL/min et vitesse de 39,723 cm/sec
Programme de température	40 °C durant 2 min - Augmentation de 5 °C/min jusqu'à 260 °C puis maintien durant 5 min
Durée du cycle	51 minutes
Énergie d'ionisation	70 eV

3.3. Préparation des nanocapsules de zéine contenant l'huile essentielle

La dissolution de la zéine ainsi que l'incorporation de l'huile essentielle ont été adaptées de protocoles existant dans la littérature (Mattice & Marangoni, 2020; Fan et al., 2023) avec de légères modifications. La zéine a été dissoute dans une solution d'acide acétique glacial afin de former des solutions à 50% de zéine (w/w), et a été placée au bain à ultrasons pour une durée de dix minutes afin d'assurer une dissolution complète de la zéine (35 kHz, 210 W) (Bandelin Sonorex, Berlin, Allemagne). Elle a ensuite été additionnée d'eau Milli-Q® sous l'effet d'un agitateur Ultra-Turrax T25 (Janke & Kunkel IKA®-Labortechnik) à 20 500 rpm durant cinq minutes afin de former la dispersion de nanocapsules (1%, w/v). L'huile essentielle a ensuite été ajoutée goutte à goutte, suivie d'un nouveau mélange dans les mêmes conditions. La concentration finale en huile essentielle de cannelle dans la préparation était de 2% (v/v); cette solution est appelée « Nano-HE ». Afin d'assurer la dispersion de tous les potentiels agglomérats de capsules, la solution Nano-HE a été placée 30 minutes au bain à ultrasons (35kHz, 210W).

3.4. Caractérisation de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle à l'aide de DLS

La dispersion de nanocapsules d'huile essentielle a été caractérisée par DLS à l'aide d'un Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Panalytical®) et les résultats ont été analysés avec le logiciel Zetasizer Software 7.13 (Malvern Panalytical®). Les paramètres de l'analyse sont repris dans le Tableau 3.

Tableau 3 - Paramètres d'analyse par DLS de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle

Matrice dispersante	Eau - Indice de réfraction : 1,330 - Viscosité : 0,8872 centipoises
Matériau des particules	Protéine (zéine) - Indice de réfraction : 1,450 - Absorption : 0,001
Température d'analyse et temps d'équilibrage	25 °C - 600 secondes
Angle de mesure	90 °
Nombre d'analyses	3

3.5. Calcul de l'efficacité de l'encapsulation (EE)

Dans un Eppendorf®, 2 mL de la solution Nano-HE ont été placés avant d'être centrifugés à 13000 rpm pour une durée de 30 minutes afin de sédimenter les nanocapsules dans le fond des tubes. 500 µL du surnageant ont été prélevés et placés dans un autre Eppendorf® contenant 500 µL d'hexane afin de procéder à une extraction liquide-liquide (agitation durant une minute). Une nouvelle centrifugation a pris place (13 000 rpm, dix minutes) afin de séparer la phase hexanique de la phase aqueuse. 2 µL de la phase hexanique ont été prélevés et dilués d'un facteur 100 dans de l'hexane avant d'être additionnés de 4 µL de standard interne. Le standard interne est une solution de 1-phényloctane dilué dans de l'hexane à hauteur de 5,91 mg/mL, appelée « Standard P ». Le 1-phényloctane a été choisi pour sa similarité avec le trans-cinnamaldéhyde (TCN) en terme de structure, de polarité, de solubilité dans l'hexane et surtout pour son absence dans les échantillons étudiés. La concentration finale en 1-phényloctane de l'échantillon était de 0,144 mg/mL. La préparation a été insérée en flacon pour quantification du TCN en GC-MS, dont les paramètres d'analyse sont repris dans le Tableau 4. Cette manipulation a été réalisée en trois répétitions (n=3).

Tableau 4 - Paramètres de la GC-MS et programme de température pour le calcul de l'efficacité de l'encapsulation

Appareils utilisés	GC (Agilent Technologies 7890B GC System) - MS (Agilent Technologies 5977B MSD)
Colonne	Carbowax (VF-WAXms 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
Volume et mode d'injection	3 µL - Splitless
Gaz vecteur	Hélium avec débit de 1,2 mL/min et vitesse de 39,723 cm/sec
Programme de température	40 °C durant 2 min - Augmentation de 5 °C/min jusqu'à 260 °C puis maintient durant 5 min
Durée du cycle	51 minutes
Énergie d'ionisation	70 eV

La proportion d'huile essentielle de cannelle effectivement encapsulée dans la zéine (*encapsulation efficiency* ou *EE*) a été déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$EE(\%) = \frac{\text{TCN initial} - \text{TCN libre}}{\text{TCN initial}} * 100$$

3.6. Préparation des films alimentaires contenant les nanocapsules d'huile essentielle

La préparation des films a été adaptée du protocole décrit par Fan et al. (2023) avec quelques modifications.

La gélatine a été dissoute dans de l'eau Milli-Q® à 50 °C durant 2h afin de constituer une solution à 2% (w/v). Une quantité de glycérol correspondant à 40% de la masse de gélatine utilisée a été ajoutée à la solution. Cette solution est appelée « GEL-GLY ».

Le chitosan ne se dissolvant que dans des solutions aqueuse acides, plusieurs acides ont été étudiés : l'acide acétique (1,5%, v/v), l'acide citrique (2,5%, w/v), l'acide tartrique (2%, w/v) et l'acide malique (2%, w/v). Tous les pourcentages ont été ajustés empiriquement afin d'obtenir la plus faible concentration permettant la dissolution du chitosan. Le chitosan a été dissout dans les solutions aqueuses acides à 50 °C durant 2h afin de constituer des solutions à 1,5% (w/v). Comme pour la gélatine, une quantité de glycérol correspondant à 40% de la masse de chitosan utilisée a été ajoutée à la solution. De la solution Nano-HE a été ajoutée dans la solution contenant le chitosan et le glycérol à hauteur de 20% du volume total afin que la solution NanoHE représente un sixième du mélange. Cette solution est appelée « CHI-GLY ». Une partie du mélange de chitosan et de gélatine n'a pas reçu de Nano-HE afin de servir de blanc ultérieurement, cette solution se nomme « CHI-GLY-0 »

Les solutions de GEL-GLY et de CHI-GLY (ou de CHI-GLY-0) ont été mélangées dans des proportions 1:1. Ces mélanges ont été coulés dans des récipients de différentes dimensions suivant les paramètres étudiés. Pour l'étude de contact avec la viande, 50 ml de préparation ont été versés dans des boîtes en plastique carrées de 12 cm de côté. Pour l'étude du relargage aérien, 1 ml de préparation a été coulé dans des flacons de 20 ml en verre (2cm de diamètre). Tous les contenants utilisés ont été placés dans une étuve à 50 °C pour une durée de 18h. Après cette durée, les films des boîtes en plastique ont été mis en contact avec la viande (cf. § 3.9.) et les films des flacons ont été scellés à l'aide d'un capuchon possédant un septum en silicone hermétique (cf. § 3.8.). Les films contenant de l'huile essentielle sont appelés « FHE » et ceux n'en contenant pas sont appelés « F0 ».

3.7. Quantification du trans-cinnamaldéhyde dans les films après séchage

Les films alimentaires ayant été séchés à l'étuve, une partie de l'huile essentielle contenue dans les capsules s'est inévitablement évaporée durant le procédé. Il est donc nécessaire de procéder à une quantification d'un composé organique volatil dans le film afin d'évaluer la perte; le TCN se révèle être un excellent candidat à cette fin. Le choix de cet analyte a été orienté par ses propriétés bactéricides en alimentaire, par sa facilité d'utilisation en combinaison avec un standard interne et par sa prépondérance dans l'huile essentielle de cannelle extraite à partir d'écorce (Amalaradjou et al., 2010; Friedman, 2017; Kamaliroosta et al., 2012; Kim et al., 2015).

Dans des tubes en verre, 0,2 g de film ont été découpés en morceaux puis immergés dans 5 ml d'hexane. Un gramme de chlorure de sodium a été ajouté à chaque tube afin de déstabiliser la dispersion et d'engendrer un *salting out* des nanocapsules contenues dans les films. Le contenu des tubes a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur Ultra-Turrax T25 (Janke & Kunkel IKA®-Labortechnik) à 24 000 rpm durant cinq minutes. Le sel n'étant pas soluble dans l'hexane, ce dernier a eu pour rôle d'augmenter la force ionique du peu d'eau relâchée par le film durant son homogénéisation. Un millilitre du filtrat a été prélevé, filtré et inséré en flacon avant de recevoir 25 µL de Standard P. La concentration finale en 1-phényloctane était de 0,144 mg/mL. Le contenu du flacon a fait l'objet d'une injection en GC-MS, dont les paramètres sont repris dans le Tableau 4. Cette manipulation a été réalisée en trois répétitions (n=3). Une droite de calibrage a été réalisée en utilisant de l'hexane additionné de 1-phényloctane en concentration fixe (0,144 mg/mL) ainsi que de TCN en concentration variable (0,01 mg/mL - 0,045 mg/mL).

En parallèle de cette manipulation, la masse perdue par le film lors de son séchage a été calculée. Pour cela, 1 mL de film liquide a été pesé avant et après son séchage, pour un total de trois répétitions (n=3). La densité de l'huile essentielle de cannelle a également été calculée en déterminant la masse d'un volume de 1 mL.

3.8. Quantification du passage en phase vapeur de l'huile essentielle à l'aide de DHS-TDU/GC-MS

La quantification a été réalisée sur les flacons de 20 mL contenant 1 mL du mélange formant les films FHF et F0. Après le séchage, les flacons ont été ventilés cinq secondes à l'aide d'un flux d'air comprimé afin d'évacuer toute vapeur résiduelle qui aurait pu persister dans le flacon au moment du scellage. Cinq purges ont eu lieu à différents moments après la fermeture des flacons : 3h, 8h, 24h, 48h et 72h. Chaque flacon a servi une seule fois, afin d'obtenir une représentation fidèle de l'équilibre s'étant établi. Trois films F0 ont fait office de blanc et ont subi un échantillonnage après 3h, 8h, 24h, 48h et 72h. L'expérimentation a été réalisée en trois répétitions (n=3) à 25 °C afin de simuler un

emballage conservé à température ambiante (e.g. paquet de chips). Les paramètres de l'échantillonnage par DHS (*Dynamic Headspace DHS* Gerstel®) ainsi que ceux de l'analyse en GC/MS sont repris dans le Tableau 5.

Tableau 5 - Paramètres de l'échantillonnage et de l'analyse par DHS-TDU/GC-MS pour la quantification du relargage aérien de l'huile essentielle de cannelle

Appareils d'analyse utilisés		GC (Agilent Technologies 7890B GC System) - MS (Agilent Technologies 5977B MSD)
DHS	Température et durée d'incubation	25 °C - 3h / 8h / 24h / 48h / 72h
	Agitation	250 rpm
	Température de transfert	150 °C
	Cartouche d'adsorption	60 mg de Tenax TA® - OD 6.00 mm
	Volume et régime de purge	60 mL avec régime de 40 mL/min
TDU	Programme de température de la désorption	30 °C durant 30 s - Augmentation de 100 °C/min jusqu'à 260 °C puis maintient durant 5 min
	Injection de standard interne automatisée	1 µL d'une solution de 1-Phényloctane concentrée à hauteur de 1,689 mg/mL
CIS (<i>Cooled Injection System</i>)	Programme de température de l'injection	-20 °C durant 6 s - Augmentation de 10 °C/s jusqu'à 280 °C puis maintient durant 5 min
GC	Colonne	Carbowax (VF-WAXms 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
	Gaz vecteur	Hélium avec débit de 1,2 mL/min et vitesse de 39,723 cm/sec
	Programme de température du four	40 °C durant 2 min - Augmentation de 5 °C/min jusqu'à 260 °C puis maintient durant 5 min
	Durée du cycle	51 minutes
MS	Énergie d'ionisation	70 eV

Une seconde droite de calibration a dû être réalisée au vu des teneurs bien plus faibles en TCN obtenues au terme de ces manipulations. Cette dernière a été réalisée à l'aide de 1-phényloctane en concentration fixe (4,88 µg/mL) ainsi qu'à l'aide de TCN en concentration variable (0,05 µg/mL - 0,7 µg/mL).

3.9. Absorption et adsorption de l'huile essentielle dans et sur de la viande de porc

Des côtelettes de porc ont été achetées dans le supermarché Colruyt® (Gembloux, Belgique). Le choix de cette viande a été orienté par la capacité de l'huile essentielle de cannelle à inhiber le développement de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*, trois pathogènes participant à la dégradation de la viande de porc (Guan et al., 2023; Wen et al., 2016). À l'aide d'un emporte-pièce circulaire de 2,5 cm de diamètre, des morceaux de viande ont été découpés et posés à même la surface des films alimentaires dans des boîtes en plastique fermées par un couvercle (Fig. 10). La viande en contact avec les films a été placée au réfrigérateur à 4 °C pour une durée de 72h. Ce couple « temps-température » a été choisi afin d'étudier la migration de l'huile essentielle dans des conditions correspondant à celles dans lesquelles la viande est habituellement conservée.

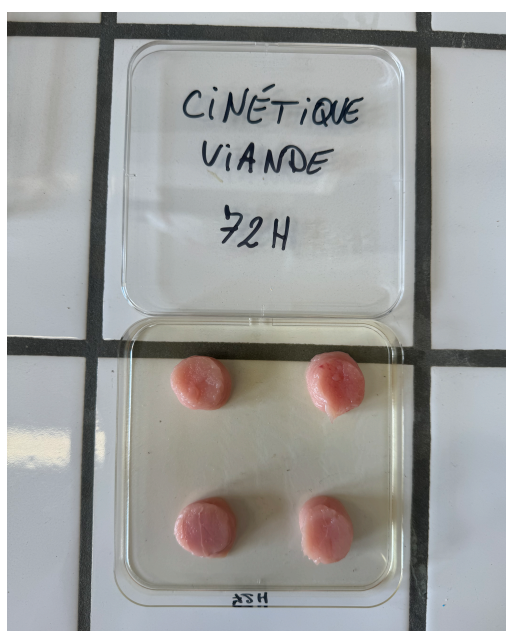


Fig. 10 : Dispositif expérimental pour l'étude de la migration de l'huile essentielle de cannelle dans et sur de la viande de porc

Un total de trois boîtes (dont le fond était recouvert de film) ont reçu chacune quatre morceaux de viande. Trois temps de migration ont été étudiés: 24h, 48h et 72h. Après chacune de ces durées, tous les morceaux de viande d'une boîte ont été retirés du contact avec le film avant d'être placés au surgélateur à -80 °C afin de rigidifier la viande tout en arrêtant la migration. Dû au délai d'acquisition de l'azote liquide, les morceaux de viande sont restés à -80 °C durant une semaine. Après cela, une tranche de 1 mm d'épaisseur du côté en contact avec le film a été découpée, suivie d'une autre tranche de 4 mm d'épaisseur afin d'étudier la migration plus en profondeur. Ces tranches ont été broyées séparément dans de l'azote liquide à l'aide d'un mortier et d'un pilon afin d'obtenir une

poudre, avant d'être transvasées dans un tube à essai. Les tubes ont été additionnés de 5 mL d'hexane pour les tranches de 1 mm d'épaisseur et de 10 mL d'hexane pour les tranches de 4 mm d'épaisseur avant de passer au bain à ultrasons (35 kHz, 210 W) pour une durée de 30 minutes. Afin d'éviter un échauffement des tubes, le bain a été refroidi tout au long de la sonication à l'aide de glace. Un millilitre de l'hexane a été prélevé et inséré en flacon à l'aide d'un filtre d'une porosité de 0,22 μm . La solution Standard P a été ajoutée au flacon afin d'obtenir une concentration en 1-phényloctane de 4,88 $\mu\text{g/mL}$. Le contenu du flacon a été injecté en GC-MS (selon les paramètres repris dans le Tableau 4) afin d'en déterminer la teneur en TCN.

3.10. Traitement des données

Les données numériques issues des expérimentations dans le cadre de ce travail ont été traitées via le tableur Numbers 14.0 (Apple Inc.®) et ont été exprimées sous la forme « moyenne \pm écart-type ». Tous les chromatogrammes issus des analyses ont été traités en mode « SCAN » à l'aide du logiciel MassHunter Unknowns Analysis (Agilent®), à l'exception de ceux issus des expérimentations concernant la DHS-TDU et la migration de contact. Les chromatogrammes issus de ces deux analyses ont été analysés en mode « SIM » (*Single Ion Monitoring*) à l'aide du logiciel MassHunter Qualitative Navigator B.08.00 (Agilent®) pour des raisons de sensibilité. Les ions utilisés pour l'analyse en mode SIM sont repris dans le Tableau 6.

Tableau 6 - Ions utilisés pour l'analyse en mode SIM des chromatogrammes issus des analyses par DHS-TDU et de migration de contact.

Trans-cinnamaldéhyde	m/z = 131 (utilisé pour identification et quantification) m/z = 103 (utilisé pour identification) m/z = 77 (utilisé pour identification)
1-Phényloctane	m/z = 190 (utilisé pour identification) m/z = 92 (utilisé pour identification et quantification)

4. Résultats et discussion

4.1. Caractérisation de l'huile essentielle de cannelle

Le chromatogramme résultant de l'analyse de l'huile essentielle de cannelle par GC-MS est repris à la Fig. 11. Le chémotype de l'huile essentielle de cannelle est repris dans le Tableau 7. Le facteur de réponse pour l'identification a été fixé à 1, et le calcul de la proportion de chaque composé dans l'huile essentielle a été effectué comme suit:

$$\text{Proportion du composé (\%)} = \frac{\text{Aire de pic du composé}}{\text{Aire totale des pics du chromatogramme}} * 100$$

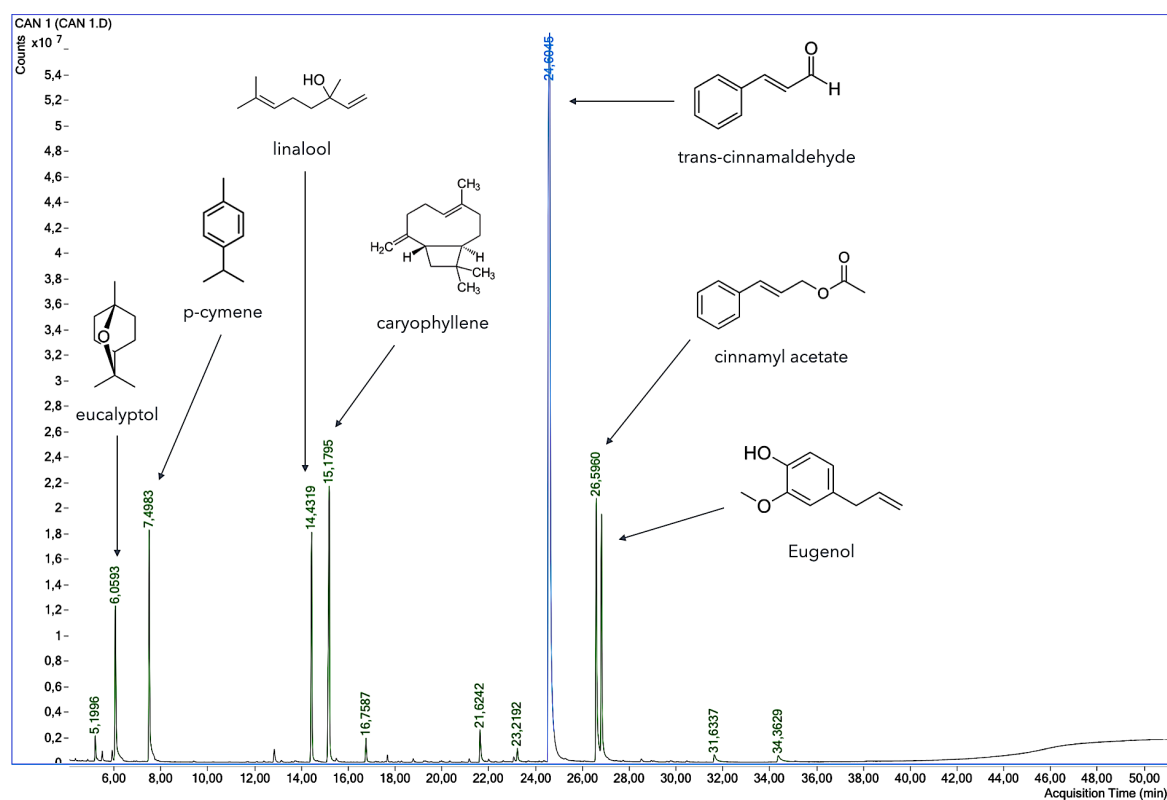


Fig. 11 : Chromatogramme de l'huile essentielle de cannelle et molécules majoritaires

Tableau 7 - Chémotype de l'huile essentielle de cannelle

Composé	CAS #	RT (min)	RI réel	RI ref.	Δ RI	Aire du composé	Proportion du composé (%)	Facteur de correspondance avec librairie NIST (%)	Référence pour RI (NIST)
α-Phellandrene	99-83-2	5,21	1146	1147	1	4890556	0,61 \pm 0,02	91	Yu et al., 2004
Eucalyptol	470-82-6	6,06	1188	1194	6	45304860	5,63 \pm 0,05	99	Varming, Petersen, et al., 2004
p-Cymene	99-87-6	7,50	1250	1245	-5	52329758	6,50 \pm 0,09	98,3	Bernhard, Shibamoto, et al., 1983
Linalool	78-70-6	14,43	1534	1540	6	49479880	6,15 \pm 0,07	99,2	Cho, Namgung, et al., 2008
Caryophyllene	87-44-5	15,18	1565	1562	-3	80376989	9,99 \pm 0,17	99,3	Berlinet, Ducruet, et al., 2005
Humulene	6753-98-6	16,76	1633	1644	11	5988397	0,74 \pm 0,01	97,1	Yu et al., 2004
Cinnamaldehyde, (Z)-	104-55-2	21,62	1857	1870	13	9784096	1,22 \pm 0,01	99,1	Möllenbeck, König, et al., 1997
Caryophyllene oxide	1139-30-6	23,22	1936	1938	2	4369903	0,54 \pm 0,00	97,8	Mondello, Zappia, et al., 2002
Cinnamaldehyde, (E)-	14371-10-9	24,60	2006	2015	9	401599579	49,92 \pm 0,06	99,1	Möllenbeck, König, et al., 1997
Cinnamyl acetate	103-54-8	26,59	2111	2102	-9	77446923	9,62 \pm 0,15	98,7	Stashenko, Torres, et al., 1995
Eugenol	97-53-0	26,81	2123	2130	7	62909980	7,82 \pm 0,15	99,2	Humpf and Schreier, 1991
2-Methoxycinnamaldehyde	1504-74-1	31,63	2399	2430	31	4864335	0,61 \pm 0,00	98,4	Vinogradov, 2004 ⁵
Benzyl Benzoate	120-51-4	34,36	2569	2570	1	5235865	0,65 \pm 0,01	97,7	Korhonen, 1986

L'analyte représentant la moitié de l'huile essentielle de cannelle utilisée est le TCN, à hauteur de 49,92% \pm 0,06. Cette teneur en TCN est plus faible que celles trouvables dans la littérature pour la même huile essentielle : 62,09% (Kamaliroosta et al., 2012), 64,49% (Kim et al., 2015) ou encore 60,41% (Ojagh et al., 2010). Cependant, d'autres valeurs plus

faibles ont été obtenues 45,13% (El-Baroty et al., 2010), ce qui confirme que la teneur en TCN de l'huile essentielle de cannelle reste très variable.

Les indices de rétention (RI) obtenus pour chacun des composés (mis à part le 2-méthoxycinnamaldéhyde) sont satisfaisants en regard de ce qui a été obtenu dans la littérature pour des conditions similaires ($\Delta RI < 10$). La raison de l'écart d'indice plus important pour le 2-méthoxycinnamaldéhyde ($\Delta RI = 31$) est que cet analyte a été très peu étudié en GC sur colonne polaire. Les données concernant son analyse dans ces conditions sont presque inexistantes dans la littérature ainsi que dans les bases de données (NIST chemistry WebBook, PubChem...), et l'indice de rétention sélectionné ici correspond à une colonne polaire (Carbowax 20M) dont le programme de température ainsi que les dimensions physiques n'ont pas été spécifiés. Ceci laisse place à une certaine marge d'erreur expliquant le décalage entre le RI obtenu et le RI théorique.

Le TCN sera utilisé pour réaliser toutes les mesures de quantification de ce travail en raison de sa prépondérance dans le mélange.

4.2. Caractérisation de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle par DLS

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 353.4	Peak 1: 393.0	88.0	206.5
Pdl: 0.343	Peak 2: 3766	12.0	1143
Intercept: 0.848	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			

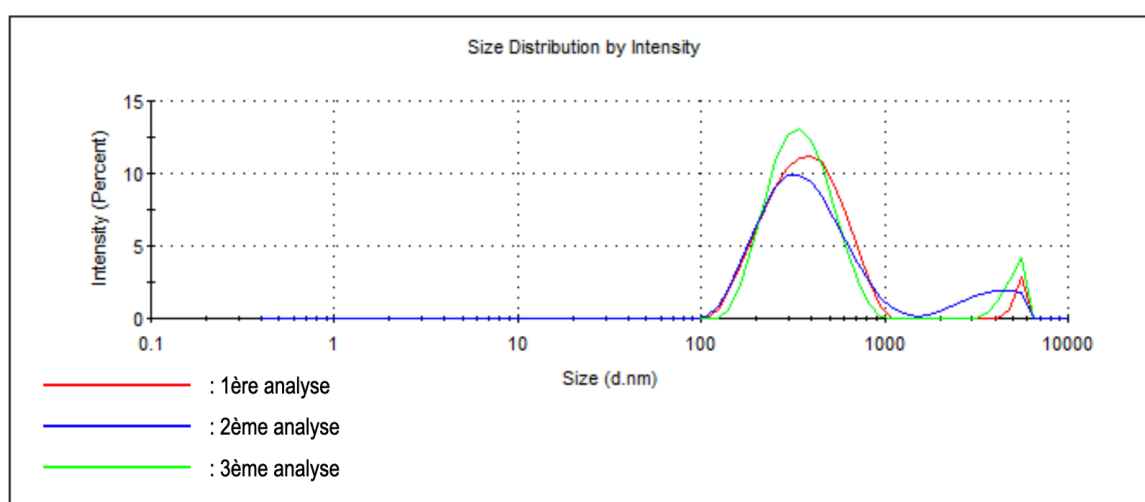


Fig. 12 : Distribution de taille selon l'intensité de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle

Les résultats de l'analyse par DLS de la dispersion de nanocapsules d'huile essentielle montrent que le diamètre moyen des particules (353,4 nm) est plus important que celui obtenu par les auteurs de l'article sur lequel s'est basé la préparation de la dispersion

(113,37 nm) (Fan et al., 2023). Ce résultat est de prime abord surprenant au vu des instruments utilisés: l'homogénéisateur tournait à 20 500 rpm contre 12 000 rpm dans le protocole dont s'est inspiré la préparation de la dispersion. De plus, un passage de 30 min au bain à ultrasons a été réalisé ici, ce qui n'avait pas été mis en place dans le protocole original. Les réactifs utilisés dans la réalisation de la dispersion étaient en tout point identiques à ceux utilisés par les auteurs de l'article. Cette différence de taille peut être expliquée par le moyen utilisé pour analyser la taille des particules : Fan et al. (2023) ont eu recours à la *Static Light Scattering* (SLS) et non pas à la DLS. La SLS est davantage utilisée pour caractériser la stabilité physique des solutions et déterminer la masse des particules, car la lumière mesurée par SLS augmente quand la masse moléculaire des particules augmente (e.g. quand les particules s'agglomèrent). La DLS, en contrepartie, se concentre sur la variation de la lumière diffusée par les particules au cours du temps suite à leur déplacement par mouvement brownien. Si l'objectif est une mesure de taille *sensu stricto*, la DLS apparaît comme la technique la plus adaptée à la quantification (Pecora, 2000). La technique peut donc présenter des différences de mesure avec la SLS.

La dispersion présente un indice de polydispersité faible (0,343) malgré un pic annexe au pic principal dont le diamètre des particules avoisine les 4 μm . Les résultats étant exprimés sous la forme de « distribution par intensité », il est nécessaire de noter que la comparaison se réalise sur base du rayon des particules à la puissance six (r^6). Cette technique met donc fortement en avant les particules ayant un diamètres plus important. Un pic de si petite taille pour le diamètre de 4 μm montre donc que la proportion de particules possédant cette taille est minime. L'application d'ultrasons a été réalisée dans le but de minimiser la polydispersité, en utilisant les ondes pour scinder les agglomérats et réduire encore davantage la taille des particules. Une étude portant sur les liposomes réalisée par Pereira-Lachataignerais et al. (2006) a analysé la décroissance de la taille des particules suite à l'application d'ultrasons à intensité et durée variable. Il en est ressorti que la décroissance de la taille des particules était bien liée à l'augmentation de ces deux facteurs, mais de façon exponentielle inverse. La taille des particules diminue fortement lors des premières augmentations d'intensité et de durée, mais semble rapidement atteindre un palier pour ne plus diminuer une fois des valeurs plus importantes atteintes. Dans le cas des liposomes, ce qui s'écarte quelque peu d'une matrice protéique, les chercheurs avaient identifié ces paliers comme étant une durée de 2200 secondes et une puissance de 91 W, leur permettant d'atteindre un diamètre de 138 nm à partir de particules présentant un rayon initial de 454 nm. Les paramètres de l'application d'ultrasons dans le cadre de ce travail ont été de 1800 secondes et de 210 W. La durée se rapproche fort du seuil établi par l'étude, et l'intensité est plus de deux fois plus importante. Malgré le fait que cette étude concerne les liposomes et non les capsules de zéine, il est raisonnable de penser que les ultrasons ont permis une réduction conséquente de la taille des particules, mais que d'autres facteurs non identifiés ont provoqué une légère polydispersité dans l'échantillon.

D'autres études se penchant sur le sujet des ultrasons ont étudié le cas de nanoparticules de zéine permettant d'encapsuler du resvératrol. Ces études ont utilisé des ultrasons à fréquence variable, oscillant entre 20 kHz et 40 kHz. Les conclusions se sont rejointes en tout point en ce qui concerne l'application des ultrasons: les nanoparticules diminuent significativement en taille, la polydispersité diminue et l'on constate une augmentation des forces électrostatiques ainsi que des liaisons hydrogènes entre la zéine et le resvératrol (Liang et al., 2018; Liu et al., 2022).

Les autres études visant à utiliser la zéine comme polymère d'encapsulation dans le but de stabiliser de l'huile essentielle de cannelle montrent que les résultats obtenus dans le cadre de ce travail sont tout à fait satisfaisants. De Oliveira et al. (2019) ont obtenu des nanoparticules possédant un diamètre de 234 nm, ce qui se situe à mi-chemin entre la taille obtenue dans ce travail (353,5 nm) et la taille obtenue par les auteurs du protocole (113,37 nm). Cependant, la polydispersité obtenue pour leur dispersion est de 0,38 ce qui est légèrement supérieur à la valeur obtenue dans ce travail (0,34). Les résultats obtenus par ces chercheurs ont permis « non seulement une protection contre la dégradation mais aussi un relargage soutenu du principe actif au cours du temps » (De Oliveira et al., 2019). Une étude avec le même objectif et réalisée dans les mêmes conditions par Feng et al. (2020) a obtenu des particules dont le diamètre était de 3,92 μm , soit plus de dix fois le diamètre des particules obtenues dans ce travail. Leur indice de polydispersité était également plus élevé, avec une valeur de 0,45. Les différents tests réalisés dans l'étude ont montré que la dispersion présentait une stabilité correcte dans le temps. Ces études amènent à la conclusion que la taille des particules atteinte dans ce travail est très satisfaisante pour l'application visée, et permet de protéger l'huile essentielle tout en assurant son relargage progressif dans le mélange servant à former le film. L'objectif principal étant d'éviter une dégradation de l'huile et une évaporation trop rapide de celle-ci, des nanocapsules de 353,4 nm de diamètre s'avèrent amplement suffisantes pour se prémunir de ces problèmes.

4.3. Calcul de l'efficacité de l'encapsulation (EE)

Le calcul de la *encapsulation efficiency* (efficacité d'encapsulation ou EE) n'avait pas été réalisé par les auteurs de l'article sur lequel a été basé le protocole (Fan et al., 2023), c'est la raison pour laquelle ce calcul a été réalisé dans le cadre de ce travail. Les résultats sont présentés dans le Tableau 8 et la droite de calibrage ayant servi à la quantification est illustrée à la Fig. 13.

Tableau 8 - Calcul de l'efficacité de l'encapsulation

Concentration en trans-cinnamaldéhyde dans le surnageant (mg/mL)	Concentration en trans-cinnamaldéhyde dans la solution de Nano-HE (mg/mL)	Efficacité de l'encapsulation (%)	Moyenne (%)	Écart-type (%)
5,567	10,505	47,01	47,07	3,02
5,241		50,11		
5,874		44,08		

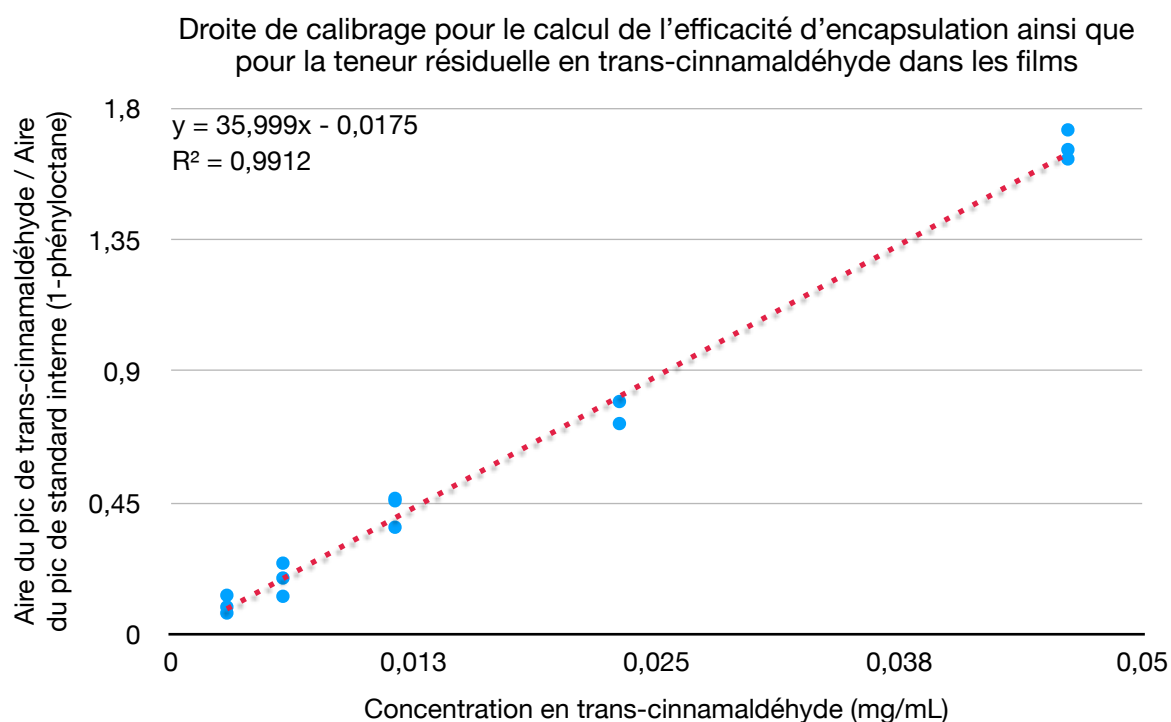


Fig. 13 : Droite de calibration pour le calcul de l'efficacité d'encapsulation ainsi que pour la teneur résiduelle en trans-cinnamaldéhyde dans les films

En se basant sur le postulat que le trans-cinnamaldéhyde a été encapsulé dans la même proportion que les autres composants de l'huile essentielle de cannelle, la EE se révèle être de $47,07\% \pm 3,02$. A titre de comparaison, une étude dont l'objectif était d'encapsuler simultanément du TCN et du géraniol dans des capsules de zéine a obtenu une EE de 97% pour le TCN (De Oliveira et al., 2019). Il est important de noter que les auteurs ont eu recours à un surfactant (1% Pluronic F68), ce qui vient sans aucun doute jouer un rôle dans l'obtention d'un résultat si élevé (efficacité plus de deux fois plus importante que celle atteinte dans le cadre de ce travail). Les études réalisant de l'encapsulation d'huile essentielle de cannelle à l'aide de zéine par coacervation sans surfactant étant peu nombreuses, il est possible de trouver des valeurs d'efficacité d'encapsulation pour d'autres huiles essentielles afin d'y comparer les résultats obtenus lors de ce travail. De Melo et al. (2019) ont encapsulé de l'huile essentielle de faux basilic (*Ocimum*

gratissimum) et de l'huile essentielle de piment couronné (*Pimenta racemosa*) dans des nanocapsules de zéine en suivant un protocole très similaire à celui employé dans ce travail et ont obtenu des EE de l'ordre de 67% pour le faux basilic et de 52% pour le piment couronné. Une autre étude utilisant la zéine pour encapsuler de l'huile essentielle de menthe poivrée a obtenu une EE de 53,6% pour leur protocole se rapprochant le plus de celui mis en place dans ce travail (Chen et Zhong, 2015). Ceci montre l'efficacité limitée de la technique d'encapsulation par coacervation sans surfactant, où ce dernier vient jouer un rôle crucial dans la proportion d'huile essentielle effectivement intégrée dans les capsules. Les autres techniques d'encapsulation présentées précédemment telles que le *spray drying* ou l'*electrospinning* montrent une meilleure efficacité globale (plus haut pourcentage de substance efficacement encapsulée) mais nécessitent un équipement plus particulier et onéreux que la coacervation (Mele, 2020; Yang et al., 2023).

Au-delà des points faibles de la technique, il est important de noter les adaptations protocolaires réalisées dans ce travail. La solution Nano-HE intégrée aux préparations servant à former les films était concentrée à hauteur de 2% en huile essentielle de cannelle, et a représenté un douzième du mélange total formant les films. Dans le protocole décrit par Fan et al. (2023), la solution d'huile essentielle était concentrée à hauteur de 1% et représentait un sixième du mélange formant les films. Cette adaptation a été réalisée suite à la constatation que les films utilisant les proportions décrites par Fan et al. (2023) étaient cassants et se décomposaient en petits morceaux suite à leur manipulation. En faisant varier plusieurs paramètres lors de la conception des films, il est apparu que réduire la quantité de Nano-HE intégrée aux films permettait à ces derniers d'exhiber des meilleures propriétés mécaniques; ils étaient effectivement plus souples et plus maniables. Il a donc été décidé de diviser par deux la quantité de Nano-HE intégrée aux films, tout en doublant la concentration en huile essentielle afin de ne pas réduire l'activité biocide visée. Aucun autre paramètre n'a été changé dans la solution de Nano-HE, pas même la quantité de zéine incorporée au mélange. Il est plus que probable que la modification du ratio entre la zéine et l'huile essentielle (originellement 1:1 avant de devenir 1:2) soit à l'origine de la « faible » EE. Ceci est corroboré par l'étude de Chen & Zhong (2015), qui ont fait varier le ratio entre la zéine et l'huile essentielle lors de leur encapsulation et qui ont vu l'efficacité de celle-ci diminuer au plus la proportion d'huile essentielle augmentait. Ils ont obtenu une EE de 53,6% pour un ratio zéine:huile essentielle de menthe poivrée de 1:1, 83,9% pour un ratio de 2:1 et 89,2% pour un ratio de 4:1. Un choix judicieux dans l'adaptation du protocole aurait donc été de doubler (au minimum) la concentration en zéine de la solution afin de permettre une meilleure encapsulation de l'huile essentielle de cannelle.

4.4. Aspect général des films alimentaires

Le seul facteur ayant varié durant la réalisation des films est la substance utilisée pour acidifier la solution permettant la dissolution du chitosan. Cette différence, bien que minime, a provoqué des changements notables, tant au niveau de l'aspect du film que de ses propriétés.

Avant toute autre considération, il est nécessaire de préciser que les acides n'ont pas été choisis au hasard et sont de grade alimentaire. Tous ces acides (à savoir l'acide acétique, benzoïque, citrique, malique et tartrique) sont retrouvés dans des aliments de la vie de tous les jours, ou sont utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme ingrédient ou additif:

- L'acide acétique est retrouvé dans de nombreux produits alimentaires suite à sa production par des bactéries (ubiquistes) capables de convertir les sucres en acide acétique (appelées *acetic acid bacteria* ou *AAB*) (Sengun & Karabiyikli, 2011). Lors du processus de fermentation de produits comme la kombucha, ce sont ces bactéries qui sont à l'œuvre, permettant d'obtenir des concentrations en acide acétique dans la boisson de l'ordre de 5-10 g/L (De Roos & De Vuyst, 2018; Kallel et al., 2012). D'autres produits comme la vinaigrette, où le vinaigre peut constituer un tiers de la préparation, en contiennent encore davantage. Pour un vinaigre culinaire à 6% en acide acétique, ceci représenterait une teneur en acide acétique de près de 20g/L pour une vinaigrette. Les quantités utilisées dans le cadre de la réalisation de films étant bien moindres que celles retrouvées dans la kombucha ou la vinaigrette, aucun risque sur la santé n'est à noter à l'égard de cette substance.
- L'acide benzoïque est un acide carboxylique naturellement présent dans de nombreux fruits, légumes et épices en concentrations variables. Avec de faibles teneurs dans les pommes (1 mg/kg), on en retrouve davantage dans les fraises (29 mg/kg) et en quantité bien plus importante dans la cannelle (336 mg/kg) (Del Olmo et al., 2017). L'acide benzoïque ayant la propriété d'inhiber le développement de micro-organismes pathogènes, il est utilisé comme additif dans l'industrie agro-alimentaire sous le nom de E210 avec une dose journalière acceptable (DJA) de 5 mg/kg/jour (Mao et al., 2019; Hazan et al., 2004). La substance est donc à doser avec parcimonie, car même une faible migration depuis un emballage alimentaire en contenant pourrait dépasser la DJA. Il reste cependant intéressant de réaliser un film avec cette substance comme agent acidifiant pour en étudier les propriétés technologiques.
- L'acide citrique est un acide tricarboxylique retrouvé comme son nom l'indique en grande quantité dans le citron, avec des teneurs de l'ordre de 50 mg/ml dans le jus de citron (Penniston et al., 2008). Utilisé abondamment dans l'agro-alimentaire sous le nom de E330, il présente des propriétés anti-bactériennes et acidifiantes qui rendent son utilisation très intéressante dans les boissons acidulées vendues dans le commerce

(Yoon et al., 2006). La molécule fait partie intégrante du cycle de Krebs, et ne présente pas de danger dans l'organisme à moins d'être ingérée directement sous forme de poudre à très grosse dose (DL50 calculée à 3000 mg/kg chez le rat)⁶.

- L'acide malique est un acide dicarboxylique retrouvé dans les pommes où il constitue 90% du pool d'acide du fruit, avec des teneurs allant de 2 à 19 mg/g de fruit frais (Ma et al., 2015; Li et al., 2021). Il est utilisé dans l'industrie agro-alimentaire en tant qu'additif (E296) comme régulateur d'acidité et exhausteur de goût. Il est également retrouvé en quantité non-négligeable dans le raisin et dans le vin, à hauteur de 2 à 6,5 g/L (Volschenk et al., 2017). Selon les données de l'ECHA⁷, des rats ayant consommé de la nourriture enrichie en acide malique à hauteur de 50.000 ppm en acide malique auraient commencé à présenter une perte de poids. La dose très élevée avant d'observer un effet négatif montre que le danger lié à la consommation d'acide malique est négligeable.
- L'acide tartrique est un acide dicarboxylique constituant l'acide principal des raisins et du vin, dans lesquels on peut le retrouver à hauteur de 5 à 10 g/L (Volschenk et al., 2017). Également utilisé comme antioxydant et régulateur de pH en agro-alimentaire (E334), l'utilisation de l'additif est autorisée *quantum satis* par la Commission Européenne⁸. Cette substance ne présente donc pas de danger pour la santé humaine, qu'elle soit présente naturellement dans un produit ou utilisée comme additif.

Mis à part l'acide benzoïque, aucun des acides utilisés ne présente de danger s'il est utilisé dans le cadre de la réalisation de films alimentaires.

4.4.1. Utilisation d'acide acétique

L'acide acétique est la substance utilisée par les auteurs de l'article dont s'est inspirée la conception des emballages (Fan et al., 2023). Avec sa miscibilité complète dans l'eau, ce dernier a permis une dissolution instantanée du chitosan. Les films ainsi formés sont presque parfaitement transparents, tout en gardant une bonne élasticité et résistance à la rupture (Fig. 14). D'un point de vue mécanique, ces derniers pourraient être comparés à des emballages de légumes prédécoupés disponibles dans le commerce. Les appréciations des propriétés mécaniques des films faites dans le cadre de ce TFE sont purement descriptives et n'ont fait appel à aucun équipement de laboratoire, car ces études ont déjà été réalisées en profondeur par Fan et al. (2023).

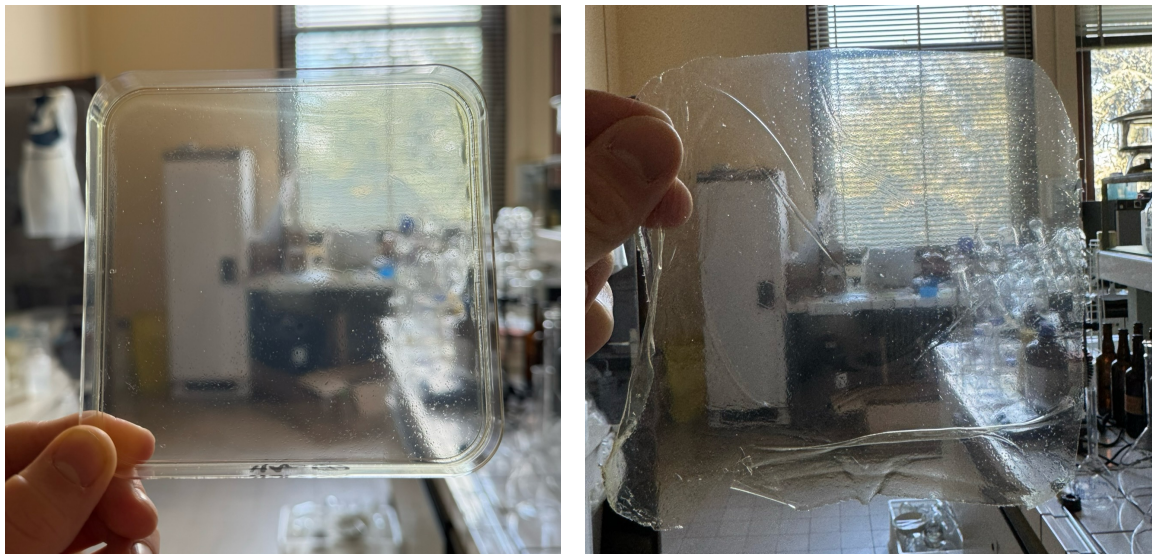


Fig. 14 : Film réalisé à l'aide d'acide acétique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage)

Malgré ses excellentes propriétés mécaniques, le film a tout de même présenté un défaut majeur : l'odeur de l'acide acétique a pris le dessus sur celle de la cannelle en dégageant une puissante odeur acre très désagréable. En laissant le film posé sur une table à un mètre de distance durant quelques heures, il était possible de sentir l'odeur dérangeante de l'acide acétique. Ceci est dû au seuil de détection très faible de la molécule, qui s'élève à seulement $0,4 \text{ mg/m}^3$ (Nielsen et al., 1998). C'est suite à cette constatation que d'autres acides ont été envisagés, afin d'obtenir un produit fonctionnel ne présentant pas de contrainte organoleptique empêchant son acceptation par les consommateurs.

Il est cependant important de noter que l'acide acétique en lui-même présente des propriétés biocides, ce qui a très certainement orienté son choix en tant que substance acidifiante par Fan et al. (2023). En effet, une concentration en acide acétique de seulement 0,5% dans l'environnement de nombreuses bactéries aérobies, moisissures et levures provoque leur mort par diminution du pH intracellulaire et perturbation du flux d'anions au sein de la cellule (Trček et al., 2015; Van Beilen et al., 2014). L'écartier de la préparation représente le retrait d'un agent biocide fonctionnant sans nul doute en synergie avec les composés présents dans l'huile essentielle. Malgré cela, conserver cette formulation n'était pas envisageable pour la raison de l'odeur dérangeante évoquée précédemment. L'objectif du développement d'un film acceptable par le consommateur a donc pris le dessus sur la conservation des propriétés biocides de l'acide acétique.

4.4.2. Utilisation d'acide benzoïque

L'acide benzoïque n'étant que très peu soluble dans l'eau (2,9 g/L à 25 °C)⁹, il n'a pas été possible de réaliser une solution permettant une acidification suffisante de la solution. Une solution aqueuse saturée en acide benzoïque a tout de même été préparée afin de vérifier sa capacité à dissoudre le chitosan. Après de vigoureux mélanges et deux heures à 50 °C, le chitosan ne s'est pas mis en solution, ne permettant donc pas de réaliser de film en utilisant cette substance. Ceci a permis par la même occasion d'écarter le problème de sécurité lié à la consommation de la substance.

4.4.3. Utilisation d'acide malique

L'acide malique possédant une très bonne solubilité dans l'eau, il a permis une dissolution instantanée du chitosan. Les films formés présentaient un aspect plus opaque que les films à base d'acide acétique, légèrement jaunâtre (Fig. 15).



Fig. 15 : Film réalisé à l'aide d'acide malique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage)

Au niveau de l'odeur, la cannelle prédominait tout en n'étant pas « dérangeante », rendant le film bien plus adapté à une utilisation alimentaire. Le problème accompagnant ce film est venu lors de son démoulage : à l'instar du cellophane, le film semblait « adhérer à sa propre surface ». Cependant, à l'inverse du cellophane, au moindre pli, il devenait impossible de désolidariser les deux surfaces, rendant sa manipulation et son utilisation très compliquée. Pour cette raison, cet acide a été écarté des choix envisageables pour la réalisation des films.

4.4.4. Utilisation d'acide citrique

L'utilisation de l'acide citrique a résulté en un film en tout point semblable à celui réalisé à partir d'acide malique : légère opacité, odeur de cannelle et forte propension à adhérer à sa propre surface. La conclusion a donc été la même : le plastique s'est avéré difficilement exploitable d'un point de vue technologique. De plus, des bulles et aspérités de l'ordre du demi millimètre à la surface du film lui donnaient un aspect et une texture rugueuse bien moins agréable que les autres films, tant à l'oeil qu'à la manipulation (Fig. 16).

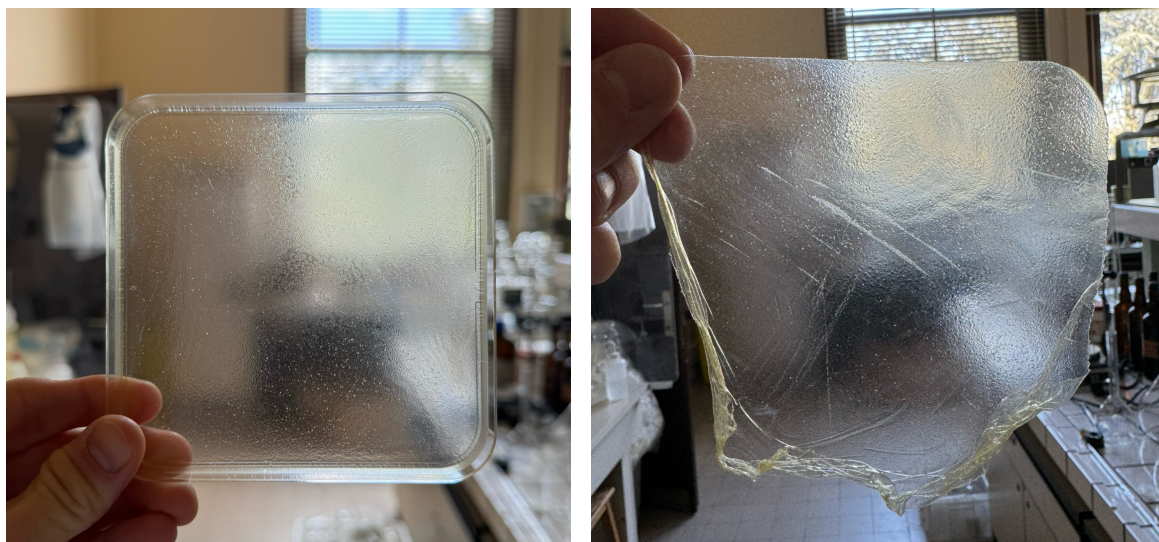


Fig. 16 : Film réalisé à l'aide d'acide citrique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage)

4.4.5. Utilisation d'acide tartrique

L'acide tartrique s'est avéré être le meilleur candidat pour la réalisation des films. Avec comme seul point négatif son opacité, les propriétés mécaniques se sont avérées aussi prometteuses que celles du film à base d'acide acétique tout en ne présentant aucune odeur dérangeante (Fig. 17). Cette formulation a représenté le meilleur compromis permettant de constituer un produit fonctionnel et accepté par les consommateurs.



Fig. 17 : Film réalisé à l'aide d'acide tartrique (à gauche, avant démoulage, à droite, après démoulage)

4.5. Trans-cinnamaldéhyde résiduel dans les films après séchage

La masse volumique de l'huile essentielle de cannelle a été calculée à partir d'une pesée d'un volume connu (1 mL) :

$$1 \text{ mL} = 1,0526 \text{ g} \longrightarrow \rho = 1,0526 \text{ g/cm}^3$$

Les résultats concernant la masse perdue par les films après leur séchage sont repris dans le Tableau 9.

Tableau 9 - Détermination de la perte de masse des films après séchage

Film avant séchage (g)	Film après séchage (g)	Masse perdue (%)	Moyenne (%)	Écart-type (%)
1,0599	0,0310	97,08	97,11	0,09
1,0148	0,0299	97,05		
1,0137	0,0283	97,21		

Les films perdent en moyenne $97,11\% \pm 0,09$ de leur masse après séchage.

La droite de calibration permettant la quantification du TCN résiduel dans les films est reprise dans la Fig. 13.

Chaque préparation destinée à réaliser un film alimentaire est composée à 1/12 de dispersion de nanocapsules, elle-même composée à 2% d'huile essentielle de cannelle. De par la réalisation du chénotype de l'huile essentielle, il est possible de connaître la proportion de TCN présente dans une masse donnée d'huile essentielle (49,9%).

En disposant de tous les éléments présentés dans cette section, il est possible de déterminer la quantité de TCN résiduelle dans les films après leur séchage (Tableau 10).

Tableau 10 - Détermination du trans-cinnamaldéhyde résiduel dans les films après séchage

Masse de film utilisée (g)	Volume liquide de film correspondant (mL)	Masse de trans-cinnamaldéhyde dans le film liquide (mg)	Masse de trans-cinnamaldéhyde dans l'échantillon après extraction (mg)	Trans-cinnamaldéhyde résiduel après séchage (%)	Moyenne et écart-type (%)
0,2051	19,92	0,0174	0,0108	61,93	62,64 ± 0,55
0,2002	19,44	0,0170	0,0107	62,73	
0,2045	19,86	0,0174	0,0110	63,26	

La quantité de TCN résiduelle dans les films après leur séchage (62,64% ± 0,55) est en adéquation avec ce qui était attendu au vu de l'efficacité de l'encapsulation de l'huile essentielle (47,07% ± 3,02). Ces résultats pourraient témoigner de la qualité de l'encapsulation; il est probable que l'encapsulation ait protégé près de la moitié de l'huile essentielle, et qu'une grande partie de l'huile essentielle non encapsulée se soit volatilisée durant le séchage, aboutissant à une teneur finale avoisinant les 60%. En admettant que l'encapsulation ait protégé la totalité de l'huile essentielle qu'elle contenait, on s'aperçoit que près de 70% de l'huile essentielle libre se serait évaporée. Ceci souligne l'importance de l'encapsulation de l'huile essentielle lors de la réalisation de films subissant une étape de séchage; sans encapsulation, la teneur en huile essentielle du film après séchage aurait pu être de 30% à la place de 62%. Il ne s'agit là que de spéculations, et des expérimentations plus poussées seraient nécessaires afin de déterminer à quel point l'encapsulation permet la protection de l'huile essentielle. Par exemple, la réalisation de films sans encapsulation de l'huile essentielle, ou encore la réalisation de films à l'aide de techniques permettant une encapsulation avoisinant les 100%.

4.6. Quantification du passage en phase vapeur de l'huile essentielle à l'aide de DHS-TDU/GC-MS

La droite de calibration ayant servi à la quantification est reprise à la Fig. 18 et les résultats de l'expérimentation sont repris à la Fig. 19.

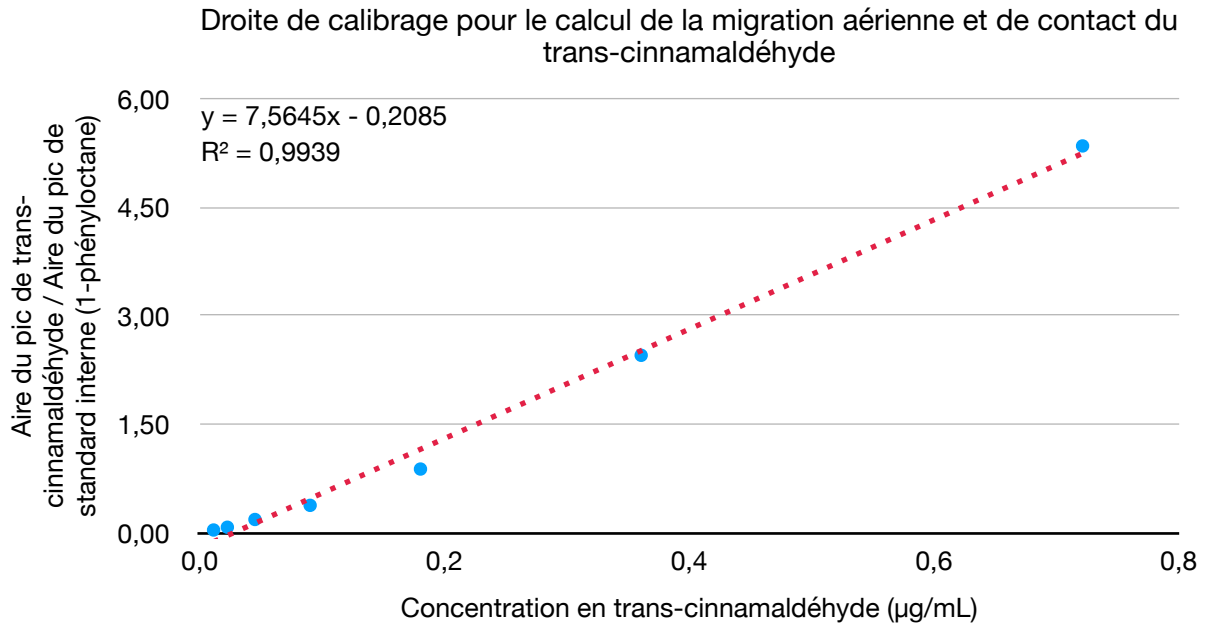


Fig. 18 : Droite de calibration pour le calcul de la migration aérienne et de contact du trans-cinnamaldéhyde

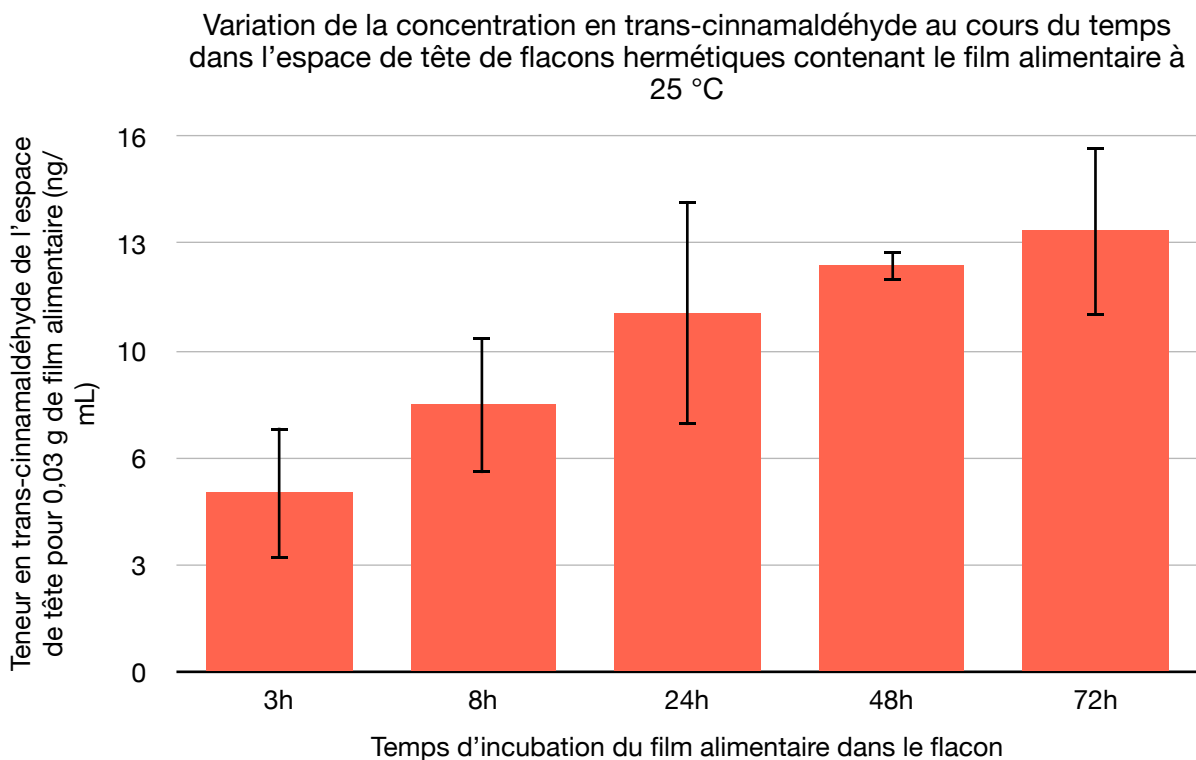


Fig. 19 : Variation de la concentration en trans-cinnamaldéhyde au cours du temps dans l'espace de tête de flacons hermétiques contenant le film alimentaire à 25 °C

Les résultats montrent une progression relativement importante de la concentration en TCN dans l'espace de tête durant le premier jour suivant le scellage du flacon (de 3h à 24h) pour ensuite augmenter plus modestement les jours qui suivent (de 24h à 72h). Il est probable que ceci montre l'établissement progressif d'un équilibre dans l'espace de tête, et qu'au terme de 24 ou 48 heures supplémentaires un palier soit atteint. L'hypothèse d'un épuisement du TCN du film a été écartée: 0,03 g de film contiennent près de 2,5 µg de trans-cinnamaldéhyde et le flacon avait un volume total de 20 mL. Or, la concentration s'écarte fortement des 125 ng/mL. La raison pour laquelle les résultats ont été exprimés par « 0,03 g de film alimentaire » et n'ont pas été rapportés à 1 g est que cela aurait pu masquer une potentielle saturation de l'espace de tête. Multiplier les concentrations obtenues par un facteur fixe pourrait amener à une conclusion erronée concernant la teneur en TCN atteinte dans l'espace de tête. De plus, il est fastidieux de calculer mathématiquement à quel point l'encapsulation de l'huile essentielle et l'intégration des capsules dans le film modifie la pression de vapeur du TCN. La raison de la masse de 0,03 g vient du fait que cela correspond à 1 mL de film liquide, ce qui a permis une excellente reproductibilité au cours des expérimentations tout en coulant de façon homogène le film dans le fond de chaque flacon. Ainsi, un seul côté du film était en contact avec l'espace de tête, mimant au mieux un emballage scellé (Fig. 20).

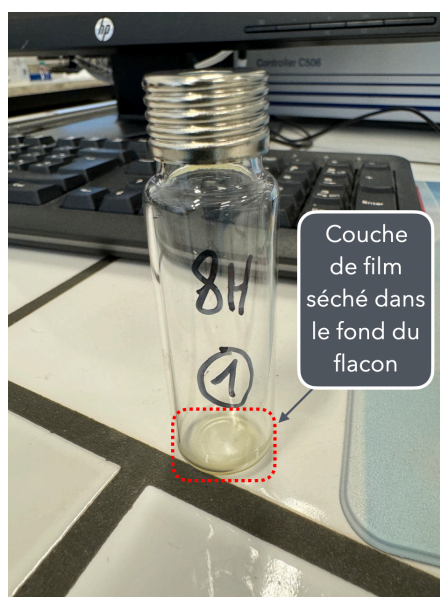


Fig. 20 : Flacon hermétique contenant le film alimentaire pour l'étude du passage en phase vapeur de l'huile essentielle

Concernant la technique en elle-même, il est possible de mettre en avant deux avantages principaux: Premièrement, la sensibilité. Les concentrations obtenues suite à ces manipulations sont de l'ordre du ng/mL, ce qui s'avère très pratique pour l'étude de composés dont la volatilité est limitée. Ensuite, l'automatisation complète. Une fois les flacons préparés, aucune intervention n'a été nécessaire jusqu'à la fin de l'analyse trois jours plus tard. La désorption de la cartouche dans la TDU a engendré des pics étroits et

bien définis grâce au *Cooled injection system* (CIS) qui a permis de concentrer les analytes avant leur injection en colonne (Fig. 21).

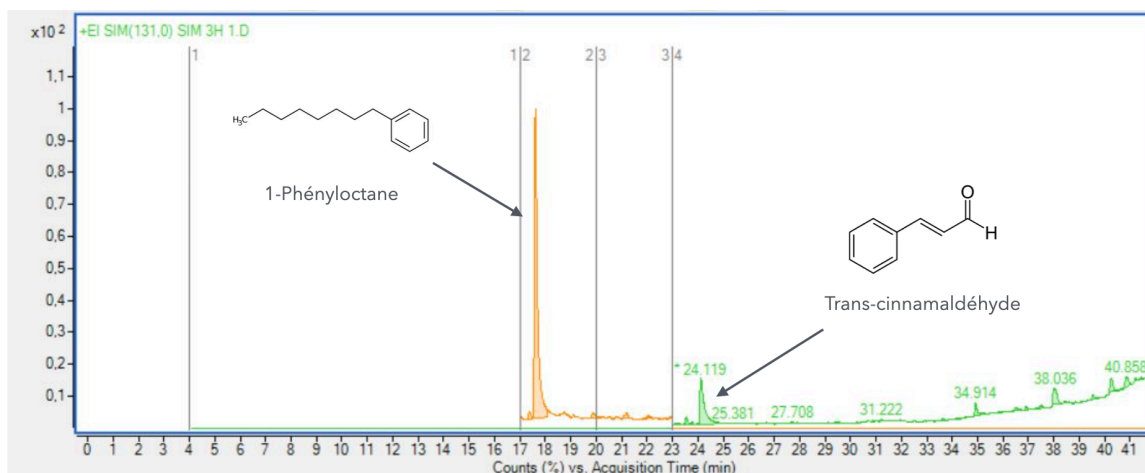


Fig. 21: Chromatogramme analysé en *Single Ion Monitoring* pour l'étude du passage en phase vapeur du trans-cinnamaldéhyde

Cette technique, bien que très efficace, requiert une installation conséquente. L'automatisation a été possible grâce au système de DHS Gerstel® directement compatible avec la GC/MS. De plus, le CIS qui a permis la concentration des analytes représente une dépense en lui-même, sans compter l'azote liquide nécessaire à son fonctionnement. Finalement, l'utilisation de cartouches (et leur conditionnement) pour l'adsorption des analytes est un coût à comptabiliser en surplus. Il est important de penser à la facilité d'implémentation des méthodes lors de leur développement, afin de ne pas passer de temps à développer des outils efficaces mais bien trop coûteux ou compliqués à mettre en œuvre.

Afin de déterminer si la concentration en TCN dans l'espace de tête est suffisante pour inhiber un développement de pathogènes, il faut s'intéresser aux données disponibles dans la littérature concernant la fumigation. La fumigation étant une technique dont l'objectif est d'introduire un gaz (ou une substance en produisant) dans un milieu afin de tuer des organismes nuisibles (Lembricht, 1990), il est approprié de s'y référer dans le cadre de cette expérimentation. Plusieurs études se sont penchées sur le sujet en réalisant de la fumigation à l'aide de TCN afin d'inhiber le développement de micro-organismes pathogènes. Les résultats de ces travaux ont montré que des concentrations aériennes de 0,25 $\mu\text{L/mL}$ de TCN permettaient une inhibition du développement de *E. coli* et *S. aureus* (*Minimum Inhibitory Concentration* ou *MIC*) et qu'une concentration aérienne de 0,5 $\mu\text{L/mL}$ permettait la destruction des deux pathogènes (*Minimum Bactericidal Concentration* ou *MBC*) (Duan et al., 2022; Huang et al., 2024). Ces concentrations ne sont pas retrouvées dans l'espace de tête des flacons contenant les films, qui contiennent près de 25 fois moins que la *MIC*. Aucune donnée concernant la tolérance à la fumigation au TCN du pathogène *L. monocytogenes* n'a pu être trouvée. Cependant, d'autres pathogènes tels que

Salmonella ou *P. aeruginosa* possèdent des MIC du même ordre de grandeur que celles des deux pathogènes évoqués précédemment, avec respectivement 0,125 µL/mL et 0,250 µL/mL.

La concentration atteinte dans l'espace de tête des flacons n'est pas suffisante pour inhiber le développement de *E. coli* et *S. aureus.*, mais aussi de *Salmonella* et *P. aeruginosa*. D'autres expérimentations seraient nécessaires en insérant de plus grandes quantités de film dans les flacons. Effectivement, il serait intéressant de connaître la valeur de saturation de l'espace de tête en TCN afin d'affirmer si oui ou non une MIC pour les pathogènes est atteignable dans un environnement fermé. Dans un emballage classique (de type paquet ou barquette scellée), une surface non négligeable de film se retrouverait en contact avec un environnement au volume assez restreint. Ceci pourrait permettre une nette augmentation de la quantité de TCN relâchée dans l'air. Afin de vérifier cette hypothèse, il pourrait être très intéressant de concevoir un emballage complet à partir du film alimentaire étudié, pour ensuite réaliser un échantillonnage par DHS de façon classique sur son contenu. L'automatisation ne serait alors plus envisageable, mais elle fournirait une information précieuse quant au réel équilibre s'établissant dans l'espace de tête du produit. Le modèle est donc encore à parfaire, mais il est en bonne voie et semble prometteur.

4.7. Absorption et adsorption de l'huile essentielle dans et sur de la viande de porc

La droite de calibration ayant servi à la quantification est reprise à la Fig. 18 et les résultats de l'expérimentation sont repris à la Fig. 22.

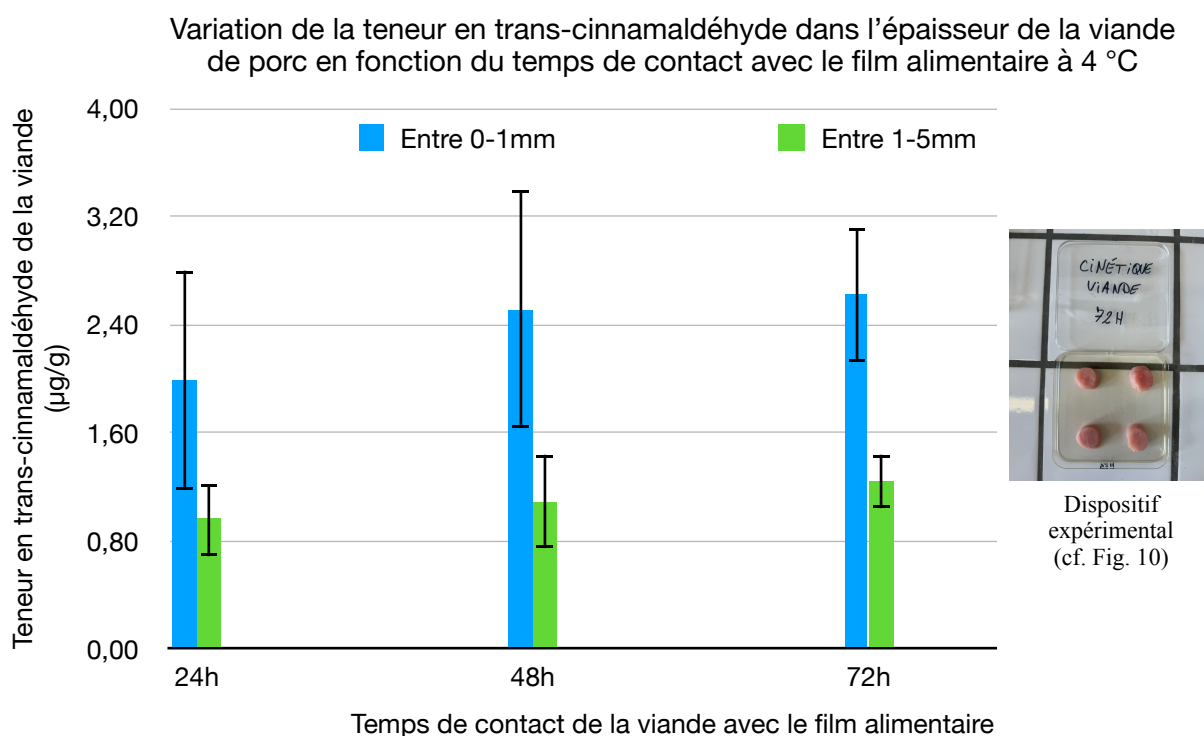


Fig. 22 : Variation de la teneur en trans-cinnamaldéhyde dans l'épaisseur de la viande de porc en fonction du temps de contact avec le film alimentaire à 4 °C

L'étude de la migration directe de l'huile essentielle de cannelle dans la viande de porc montre des résultats attendus: la migration est plus importante dans la région la plus proche du film alimentaire et tend à décroître plus l'on s'éloigne de celle-ci. De plus, la teneur en TCN montre une tendance à l'augmentation avec la durée de contact avec le film, que ce soit dans le premier millimètre d'épaisseur ou dans les quatre millimètres suivants, bien que cela ne soit pas statistiquement significatif ($p > 0,05$). Le fait de constater une migration tant en surface qu'en profondeur montre que le TCN est bien capable de pénétrer dans les tissus musculaires. Ceci est sans nul doute lié à la teneur en gras de la viande de porc, qui représente un milieu apolaire permettant la progression de différents composés organiques.

Le dispositif expérimental est très simple à mettre en oeuvre et ne requiert que très peu de matériel et de préparation (boîte en plastique et réfrigérateur). L'utilisation de la GC-MS à la place de la spectrophotométrie prend certes plus de temps, mais permet d'identifier et de quantifier avec précision les composés organiques (Fig. 23). Réaliser de multiples coupes dans l'épaisseur de la viande s'est avéré très intéressant, car cela a permis de

mettre en évidence une progression du trans-cinnamaldéhyde dans la profondeur de la viande.

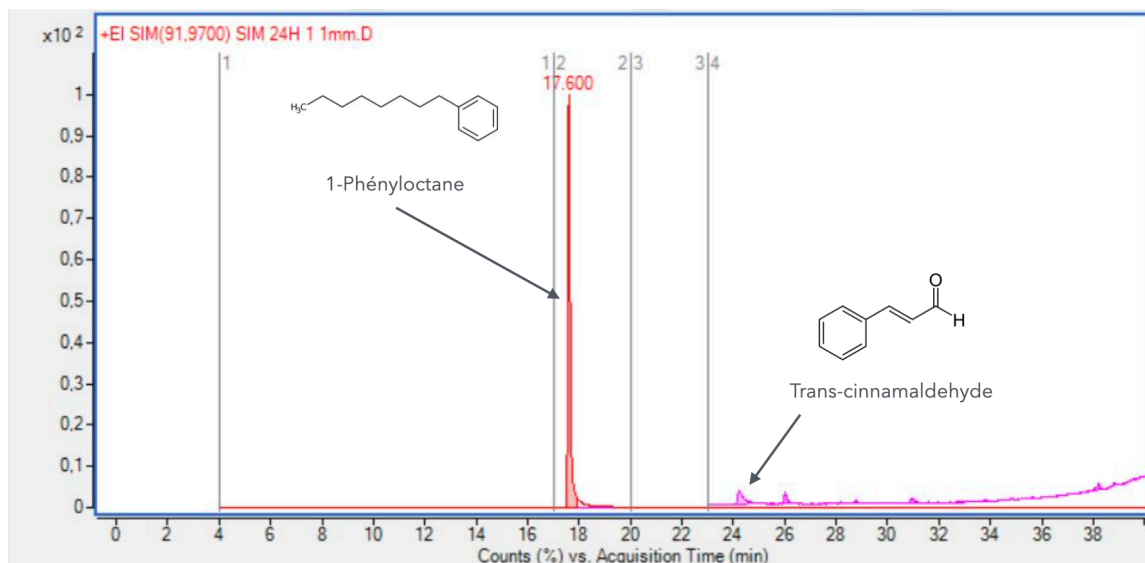


Fig. 23: Chromatogramme analysé en *Single Ion Monitoring* pour l'étude de la migration du trans-cinnamaldéhyde dans l'épaisseur de la viande

Une question persiste: cette teneur en TCN de la viande est-elle suffisante pour inhiber la croissance de micro-organismes pathogènes et ainsi jouer activement un rôle dans la conservation ? Un article traitant de l'inhibition de *L. monocytogenes* dans la viande de porc hachée s'est intéressé à l'utilisation du TCN afin de réduire la charge microbienne dans des échantillons additionnés du pathogène. Il en est ressorti qu'une concentration de 0,5% (v/w) en TCN dans la viande de porc hachée était nécessaire pour constater une diminution significative des cellules viables de *L. monocytogenes*, et qu'une concentration de 0,1% (v/w) ne provoquait aucun changement significatif dans la charge microbienne (Guan et al., 2023). Même en réalisant la conversion de la concentration volumique vers la concentration massique, les teneurs en TCN de la viande obtenues dans ce travail avoisinent les $10^{-4}\%$ (v/w), ce qui se révèle être bien trop faible pour engendrer une inhibition de *L. monocytogenes*.

Une étude ayant pour objectif la prolongation de la conservation de viande de porc s'est concentrée sur le développement de « pads » en β -cyclodextrine contenant du TCN afin de les appliquer au contact de la viande. Les pads ont exhibé un effet inhibiteur de *E. coli* et *S. aureus* à des concentrations en TCN de 1,2 mg/mL (Zhou et al., 2020). Il est cependant difficile de connaître la quantité réelle de TCN ayant migré vers la viande, étant donné que cette dernière a été mesurée à l'aide de la méthode présentée dans l'introduction de ce travail (cf. § 1.6.1), c'est à dire une substitution de la matrice de viande par une solution d'éthanol, qui est discutable au niveau de la représentativité. Les MIC auxquelles le TCN inhibe le développement des pathogènes *E. coli* et *S. aureus* dans des milieux de culture liquides sont respectivement de 0,5 mg/mL et 0,25 mg/mL (Chun et al., 2015). Ces

concentrations ne sont malheureusement pas transposables aux concentrations nécessaires pour inhiber ces pathogènes dans la viande de porc; effectivement, les nutriments variés présents dans la nourriture possèdent un effet protecteur sur les bactéries, ce qui modifie leur seuil de résistance par rapport à un milieu de culture liquide (Zhou et al., 2020; Zhu et al., 2021). La concentration en TCN la plus importante calculée dans les échantillons de viande dans ce travail était de 3,12 µg/g. Même en réalisant l'approximation qu'un millilitre de solution liquide équivaut à un gramme de viande, ceci représente une concentration près de 160 fois trop faible pour inhiber le pathogène le plus résistant, *E. coli*.

Au vu des concentrations nécessaires pour inhiber les différents pathogènes responsables de la dégradation de la viande, les films alimentaires conçus dans ce travail ne permettent pas de jouer un rôle actif dans la conservation de ce produit à l'aide du TCN qu'ils relâchent dans la viande au cours du temps. Des expérimentations additionnelles seraient nécessaires afin de déterminer les concentrations en TCN dans la viande de porc permettant une inhibition efficace des pathogènes *E. coli* et *S. aureus*. Il est cependant nécessaire de rappeler que la matrice d'intérêt est de nature biologique, ce qui la rend sujette à de nombreuses variations dans sa composition, rendant l'expression d'une gamme de concentrations d'inhibition encore plus complexe. L'emballage pourrait cependant convenir pour des produits présentant une propension moindre à la dégradation microbienne (i.e. avec une activité de l'eau moindre), mais des essais et recherches supplémentaires seraient nécessaires afin de déterminer lesquels feraient de bons candidats (chips, biscuits, légumes crus...).

Un autre problème est celui du produit fini: si la MIC (de *E. coli* par exemple) était atteinte dans la viande, l'arôme de la viande se verrait altéré. Le seuil de détection aromatique très faible du TCN, à savoir 0,1 mg/kg, est l'élément posant un problème ici (Gemert, 2011). Un goût de cannelle ne passerait pas inaperçu et pourrait être fortement dérangeant pour le consommateur. Cependant, la viande n'est bien souvent pas destinée à être consommée crue, et il est plus que probable que la concentration en TCN dans la viande diminue lors de la cuisson, mais ceci pourrait s'avérer être un frein pour les préparations telles que le tartare de boeuf ou le *carpaccio*.

5. Conclusion et perspectives

Les emballages alimentaires biodégradables sont des produits novateurs et porteurs d'avenir, mais il est nécessaire de se pencher sur leurs méthodes de conception ainsi que sur leurs conditions d'utilisations afin de les optimiser. Le protocole d'origine permettant la réalisation de films alimentaires décrit par Fan et al. (2023) a permis de concevoir des films transparents et mécaniquement très résistants, mais dont l'odeur d'acide acétique dérangeante les rendait difficilement exploitables. Après de nombreux essais pour remplacer l'acide acétique dans la préparation servant à former le film, l'acide tartrique est ressorti comme un excellent candidat. Bien qu'il rende le film plus opaque, ce dernier a permis l'obtention de très bonnes propriétés mécaniques et n'a plus présenté aucune odeur désagréable. Un panel encore plus large d'acides devrait être étudié afin d'en trouver un qui puisse écarter le problème de l'opacité. De cette façon, le produit serait d'autant mieux accepté par les consommateurs.

L'intégration de l'huile essentielle de cannelle dans les films a représenté une étape critique, tant au niveau de leur encapsulation qu'au niveau du choix de leur quantité dans le film. La formation de nanocapsules s'est avérée relativement efficace, bien que les adaptations du protocole de Fan et al. (2023) n'aient pas pris en compte certains éléments. Effectivement, L'augmentation de la proportion en huile essentielle dans la dispersion (de 1% à 2%) aurait dû être accompagnée d'une augmentation du polymère d'encapsulation (de 1% à 4 ou même 8%), comme cela a été corroboré par Chen & Zhong (2015). Ceci aurait très probablement permis une amélioration de l'efficacité de la EE. De plus, le choix de l'huile essentielle devrait aussi prendre en compte le seuil de détection olfactif afin de ne pas indisposer les consommateurs.

Concernant les techniques développées pour l'étude du passage en phase vapeur et de la migration de contact de l'huile essentielle de cannelle, les résultats sont plus mitigés. Les techniques à proprement parler ont montré leur efficacité et leur côté pratique; l'automatisation complète de la DHS-TDU/GC-MS rend la procédure facilement implémentable en routine de laboratoire, moyennant bien sûr l'obtention de l'équipement approprié. De façon générale, la GC-MS est un outil bien plus fiable pour réaliser une caractérisation et une quantification de composés organiques. Cependant, malgré l'efficacité de la méthode, les teneurs en TCN dans l'espace de tête et dans la viande se sont avérées trop faibles pour inhiber le développement de micro-organismes pathogènes courants tels que *E. coli* ou *S. aureus*: la concentration aérienne du TCN s'est avérée 25 fois trop faible, et la concentration dans la viande 160 fois trop faible.

L'objectif de la réalisation d'un emballage alimentaire biodégradable a donc été atteint, mais celui d'un *active packaging* participant à la conservation reste à travailler. Beaucoup de recherche reste à réaliser concernant ce type d'emballages alimentaires, tant sur le choix des matériaux que sur celui des huiles essentielles. Ce travail apporte sa pierre à

l'édifice en proposant des méthodes efficaces et reflétant la réalité permettant d'étudier le relargage de substances depuis les films au cours du temps.

6. Bibliographie

Alinaqi Z., Khezri A. & Rezaeinia H., 2021. Sustained release modeling of clove essential oil from the structure of starch-based bio-nanocomposite film reinforced by electrosprayed zein nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* **173**, 193–202, DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2021.01.118](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.118).

Alipal J., Mohd Pu'ad N.A.S., Lee T.C., Nayan N.H.M., Sahari N., Basri H., Idris M.I. & Abdullah H.Z., 2021. A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings* **42**, 240–250, DOI:[10.1016/j.matpr.2020.12.922](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922).

Amalaradjou M.A.R., Baskaran S.A., Ramanathan R., Johny A.K., Charles A.S., Valipe S.R., Mattson T., Schreiber D., Juneja V.K., Mancini R. & Venkitanarayanan K., 2010. Enhancing the thermal destruction of Escherichia coli O157:H7 in ground beef patties by trans-cinnamaldehyde. *Food Microbiology* **27**(6), 841–844, DOI:[10.1016/j.fm.2010.05.006](https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.006).

Andoğan B.C., Baydar H., Kaya S., Demirci M., Özbaşar D. & Mumcu E., 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Arch Pharm Res* **25**(6), 860–864, DOI:[10.1007/BF02977005](https://doi.org/10.1007/BF02977005).

Aranaz I., Alcántara A.R., Civera M.C., Arias C., Elorza B., Heras Caballero A. & Acosta N., 2021. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. *Polymers* **13**(19), 3256, DOI:[10.3390/polym13193256](https://doi.org/10.3390/polym13193256).

Babayev A., Spasojević L., Škrbić J., Bučko S., Kocić-Tanackov S., Bulut S., Fraj J., Petrović L., Milinković Budinčić J., Sharipova A., Aidarova S. & Katona J., 2023. Antimicrobial pseudolatex zein films with encapsulated carvacrol for sustainable food packaging. *Food Packaging and Shelf Life* **37**, 101076, DOI:[10.1016/j.fpsl.2023.101076](https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101076).

Bahmanzadegan A., Rowshan V. & Zareian F., 2017. Chemical Constituents of the Essential Oil, Static Headspace Analysis of Volatile Compounds, Polyphenolic Content and Antioxidative Capacity of *Trigonella elliptica* Boiss. Grown in Iran. *Analytical Chemistry Letters* **7**(2), 261–270, DOI:[10.1080/22297928.2017.1333038](https://doi.org/10.1080/22297928.2017.1333038).

Bello A.B., Kim D., Kim D., Park H. & Lee S.-H., 2020. Engineering and Functionalization of Gelatin Biomaterials: From Cell Culture to Medical Applications. *Tissue Engineering Part B: Reviews* **26**(2), 164–180, DOI:[10.1089/ten.teb.2019.0256](https://doi.org/10.1089/ten.teb.2019.0256).

Berlinet C., Ducruet V., Brillouet J.-M., Reynes M. & Brat P., 2005. Evolution of aroma compounds from orange juice stored in polyethylene terephthalate (PET). *Food Additives & Contaminants* **22**(2), 185–195, DOI:[10.1080/02652030500037860](https://doi.org/10.1080/02652030500037860).

Bernhard R.A., Shibamoto T., Yamaguchi K. & White E., 1983. The volatile constituents of *Schinus molle* L. *J. Agric. Food Chem.* **31**(2), 463–466, DOI:[10.1021/jf00116a075](https://doi.org/10.1021/jf00116a075).

Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Rubiolo P., Sgorbini B. & Sandra P., 2007. Sorptive tape extraction in the analysis of the volatile fraction emitted from biological solid matrices. *Journal of Chromatography A* **1148**(2), 137–144, DOI:[10.1016/j.chroma.2007.03.007](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.007).

Biji K.B., Ravishankar C.N., Mohan C.O. & Srinivasa Gopal T.K., 2015. Smart packaging systems for food applications: a review. *J Food Sci Technol* **52**(10), 6125–6135, DOI:[10.1007/s13197-015-1766-7](https://doi.org/10.1007/s13197-015-1766-7).

Bilenler T., Gokbulut I., Sislioglu K. & Karabulut I., 2015. Antioxidant and antimicrobial properties of thyme essential oil encapsulated in zein particles. *Flavour & Fragrance J* **30**(5), 392–398, DOI:[10.1002/ffj.3254](https://doi.org/10.1002/ffj.3254).

Biniecka M. & Caroli S., 2011. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **30**(11), 1756–1770, DOI:[10.1016/j.trac.2011.06.015](https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.015).

Carlos Alberto Fuenmayor, Erika Mascheroni, Maria Stella Cosio, Luciano Piergiovanni, Simona Benedetti, Alberto Schiraldi, & Saverio Mannino, 2013. Encapsulation of r-(+)-limonene in edible electrospun nanofibers. *Chemical Engineering Transactions* **32**, 1771–1776, DOI:[10.3303/CET1332296](https://doi.org/10.3303/CET1332296).

Carpaena M., Nuñez-Estevez B., Soria-Lopez A., Garcia-Oliveira P. & Prieto M.A., 2021. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. *Resources* **10**(1), 7, DOI:[10.3390/resources10010007](https://doi.org/10.3390/resources10010007).

Cavalli J.-F., Fernandez X., Lizzani-Cuvelier L. & Loiseau A.-M., 2003. Comparison of Static Headspace, Headspace Solid Phase Microextraction, Headspace Sorptive Extraction, and Direct Thermal Desorption Techniques on Chemical Composition of French Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.* **51**(26), 7709–7716, DOI:[10.1021/jf034834n](https://doi.org/10.1021/jf034834n).

Chamas A., Moon H., Zheng J., Qiu Y., Tabassum T., Jang J.H., Abu-Omar M., Scott S.L. & Suh S., 2020. Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **8**(9), 3494–3511, DOI:[10.1021/acssuschemeng.9b06635](https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06635).

- Chen H. & Zhong Q., 2015. A novel method of preparing stable zein nanoparticle dispersions for encapsulation of peppermint oil. *Food Hydrocolloids* **43**, 593–602, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2014.07.018](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.018).
- Chen S., Brahma S., Mackay J., Cao C. & Aliakbarian B., 2020. The role of smart packaging system in food supply chain. *Journal of Food Science* **85**(3), 517–525, DOI:[10.1111/1750-3841.15046](https://doi.org/10.1111/1750-3841.15046).
- Chen Y., Shu M., Yao X., Wu K., Zhang K., He Y., Nishinari K., Phillips G.O., Yao X. & Jiang F., 2018. Effect of zein-based microencapsules on the release and oxidation of loaded limonene. *Food Hydrocolloids* **84**, 330–336, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2018.05.049](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.049).
- Cho I.H., Namgung H.-J., Choi H.-K. & Kim Y.-S., 2008. Volatiles and key odorants in the pileus and stipe of pine-mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.). *Food Chemistry* **106**(1), 71–76, DOI:[10.1016/j.foodchem.2007.05.047](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.047).
- Chun J.-Y., Jo Y.-J., Bjrappa P., Choi M.-J. & Min S.-G., 2015. Antimicrobial Effect of α - or β -Cyclodextrin Complexes with *Trans* -Cinnamaldehyde Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Drying Technology* **33**(3), 377–383, DOI:[10.1080/07373937.2014.957388](https://doi.org/10.1080/07373937.2014.957388).
- Coleman W.M. & Lawrence B.M., 1997. A Comparison of Selected Analytical Approaches to the Analysis of an Essential Oil. *Flavour Fragr. J.* **12**(1), 1–8, DOI:[10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199701\)12:1<1::AID-FFJ603>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199701)12:1<1::AID-FFJ603>3.0.CO;2-L).
- De Melo A.P.Z., Da Rosa C.G., Sganzerla W.G., Nunes M.R., Noronha C.M., Brisola Maciel M.V.D.O., Villetti M.A., Bertoldi F.C. & Barreto P.L.M., 2019. Synthesis and characterization of zein nanoparticles loaded with essential oil of *Ocimum gratissimum* and *Pimenta racemosa*. *Mater. Res. Express* **6**(9), 095084, DOI:[10.1088/2053-1591/ab2fc1](https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab2fc1).
- De Oliveira J.L., Campos E.V.R., Germano-Costa T., Lima R., Vechia J.F.D., Soares S.T., De Andrade D.J., Gonçalves K.C., Do Nascimento J., Polanczyk R.A. & Fraceto L.F., 2019. Association of zein nanoparticles with botanical compounds for effective pest control systems. *Pest Management Science* **75**(7), 1855–1865, DOI:[10.1002/ps.5338](https://doi.org/10.1002/ps.5338).
- De Roos J. & De Vuyst L., 2018. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology* **49**, 115–119, DOI:[10.1016/j.copbio.2017.08.007](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007).

Del Olmo A., Calzada J. & Nuñez M., 2017. Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **57**(14), 3084–3103, DOI:[10.1080/10408398.2015.1087964](https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087964).

Dosoky N. & Setzer W., 2018. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Curcuma Species. *Nutrients* **10**(9), 1196, DOI:[10.3390/nu10091196](https://doi.org/10.3390/nu10091196).

Duan X., Qin D., Li H., Zhang T., Han Y., Huang Y.Q., He D., Wu K., Chai X. & Chen C., 2022. Study of antimicrobial activity and mechanism of vapor-phase cinnamaldehyde for killing *Escherichia coli* based on fumigation method. *Front. Nutr.* **9**, 1040152, DOI:[10.3389/fnut.2022.1040152](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1040152).

El-Baroty G.S., El-Baky H.H.A., Farag R.S. & Saleh M.A., 2010. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *African Journal of Biochemistry Research* **4**(6), 167–174.

Epure V., Griffon M., Pollet E. & Avérous L., 2011. Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. *Carbohydrate Polymers* **83**(2), 947–952, DOI:[10.1016/j.carbpol.2010.09.003](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.09.003).

European Food Safety Authority (EFSA), 2009. Opinion of the safety of glucosamine hydrochloride from *Aspergillus niger* as food ingredient. *EFSA* **7**(6), DOI:[10.2903/j.efsa.2009.1099](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1099).

Fan S., Wang D., Wen X., Li X., Fang F., Richel A., Xiao N., Fauconnier M.-L., Hou C. & Zhang D., 2023. Incorporation of cinnamon essential oil-loaded Pickering emulsion for improving antimicrobial properties and control release of chitosan/gelatin films. *Food Hydrocolloids* **138**, 108438, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2022.108438](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108438).

Feng X., Sun Y., Yang Y., Zhou X., Cen K., Yu C., Xu T. & Tang X., 2020. Zein nanoparticle stabilized Pickering emulsion enriched with cinnamon oil and its effects on pound cakes. *LWT* **122**, 109025, DOI:[10.1016/j.lwt.2020.109025](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109025).

Friedman M., 2017. Chemistry, Antimicrobial Mechanisms, and Antibiotic Activities of Cinnamaldehyde against Pathogenic Bacteria in Animal Feeds and Human Foods. *J. Agric. Food Chem.* **65**(48), 10406–10423, DOI:[10.1021/acs.jafc.7b04344](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04344).

Gemert L.J. van, 2011. *Flavour thresholds: compilations of flavour threshold values in water and other media*, Utrecht: Olieman.

Guan P., Wang X., Dong Z., Song M., Zhu H. & Suo B., 2023. Cinnamaldehyde inactivates *Listeria monocytogenes* at a low temperature in ground pork by disturbing the expression of stress regulatory genes. *Food Bioscience* **51**, 102277, DOI:[10.1016/j.fbio.2022.102277](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102277).

Hasanzadeh M., Farhadi K. & Tajik H., 2021. Zein film as a novel natural biopolymer membrane in electrochemical detections. *J Solid State Electrochem* **25**(4), 1327–1337, DOI:[10.1007/s10008-021-04910-4](https://doi.org/10.1007/s10008-021-04910-4).

Hazan R., Levine A. & Abeliovich H., 2004. Benzoic Acid, a Weak Organic Acid Food Preservative, Exerts Specific Effects on Intracellular Membrane Trafficking Pathways in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol* **70**(8), 4449–4457, DOI:[10.1128/AEM.70.8.4449-4457.2004](https://doi.org/10.1128/AEM.70.8.4449-4457.2004).

Heckert Bastos L.P., Vicente J., Corrêa Dos Santos C.H., Geraldo De Carvalho M. & Garcia-Rojas E.E., 2020. Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. *Food Hydrocolloids* **102**, 105605, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2019.105605](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105605).

Hosseini F., Miri M.A., Najafi M., Soleimanifard S. & Aran M., 2021. Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique. *Journal of Food Science* **86**(9), 4070–4086, DOI:[10.1111/1750-3841.15876](https://doi.org/10.1111/1750-3841.15876).

Huang Y., Zhang T., Hu H., Duan X., Wu K., Chai X. & He D., 2024. *Trans*-cinnamaldehyde fumigation inhibits *Escherichia coli* by affecting the mechanism of intracellular biological macromolecules. *Natural Product Research* 1–12, DOI:[10.1080/14786419.2024.2331611](https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2331611).

Humpf H.U. & Schreier P., 1991. Bound aroma compounds from the fruit and the leaves of blackberry (*Rubus laciniata* L.). *J. Agric. Food Chem.* **39**(10), 1830–1832, DOI:[10.1021/jf00010a028](https://doi.org/10.1021/jf00010a028).

Isaac-Renton M., Li M.K. & Parsons L.M., 2015. Cinnamon Spice and Everything Not Nice: Many Features of Intraoral Allergy to Cinnamic Aldehyde. *Dermatitis* **26**(3), 116–121, DOI:[10.1097/DER.000000000000112](https://doi.org/10.1097/DER.000000000000112).

Jeleń H.H. & Wiczorek M.N., 2023. Commentary: “Quantitative” vs quantitative Headspace Solid-Phase Microextraction (HS-SPME) in food volatile and flavor compounds analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* **115**, 104955, DOI:[10.1016/j.jfca.2022.104955](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104955).

Jridi M., Hajji S., Ayed H.B., Lassoued I., Mbarek A., Kammoun M., Souissi N. & Nasri M., 2014. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *International Journal of Biological Macromolecules* **67**, 373–379, DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2014.03.054](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.054).

Kallel L., Desseaux V., Hamdi M., Stocker P. & Ajandouz E.H., 2012. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International* **49**, 226–232.

Kamaliroosta L., Gharachorloo M., Kamaliroosta Z. & Alimohammad Zadeh K.H., 2012. Extraction of cinnamon essential oil and identification of its chemical compounds. *J. Med. Plants Res.* **6**(4), DOI:[10.5897/JMPR11.1215](https://doi.org/10.5897/JMPR11.1215).

Kaszuba M., McKnight D., Connah M.T., McNeil-Watson F.K. & Nobbmann U., 2008. Measuring sub nanometre sizes using dynamic light scattering. *J Nanopart Res* **10**(5), 823–829, DOI:[10.1007/s11051-007-9317-4](https://doi.org/10.1007/s11051-007-9317-4).

Kfoury M., Auezova L., Greige-Gerges H. & Fourmentin S., 2015. Promising applications of cyclodextrins in food: Improvement of essential oils retention, controlled release and antiradical activity. *Carbohydrate Polymers* **131**, 264–272, DOI:[10.1016/j.carbpol.2015.06.014](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.014).

Kfoury M., Pipkin J.D., Antle V. & Fourmentin S., 2017. Captisol®: an efficient carrier and solubilizing agent for essential oils and their components. *Flavour & Fragrance J* **32**(5), 340–346, DOI:[10.1002/ffj.3395](https://doi.org/10.1002/ffj.3395).

Kim Y.-G., Lee J.-H., Kim S.-I., Baek K.-H. & Lee J., 2015. Cinnamon bark oil and its components inhibit biofilm formation and toxin production. *International Journal of Food Microbiology* **195**, 30–39, DOI:[10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.028](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.028).

Kitz R., Walker T., Charlebois S. & Music J., 2022. Food packaging during the COVID-19 pandemic: Consumer perceptions. *Int J Consumer Studies* **46**(2), 434–448, DOI:[10.1111/ijcs.12691](https://doi.org/10.1111/ijcs.12691).

Korhonen I.O.O., 1986. Gas—liquid chromatographic analyses. *Journal of Chromatography A* **363**(2), 277–292, DOI:[10.1016/S0021-9673\(01\)83747-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)83747-X).

Kumar Sharma G. & Rachel James N., 2023. Electrospinning: The Technique and Applications. In: Khan, M., Jerold Samuel Chelladurai, S. eds. *Recent Developments in Nanofibers Research*. IntechOpen.

Lembright H.W., 1990. Soil fumigation: principles and application technology. *J Nematol* **22**(4S), 632–644.

Li Y., Sun H., Li J., Qin S., Yang W., Ma X., Qiao X. & Yang B., 2021. Effects of Genetic Background and Altitude on Sugars, Malic Acid and Ascorbic Acid in Fruits of Wild and Cultivated Apples (*Malus* sp.). *Foods* **10**(12), 2950, DOI:[10.3390/foods10122950](https://doi.org/10.3390/foods10122950).

Liang Q., Ren X., Zhang X., Hou T., Chalamaiah M., Ma H. & Xu B., 2018. Effect of ultrasound on the preparation of resveratrol-loaded zein particles. *Journal of Food Engineering* **221**, 88–94, DOI:[10.1016/j.jfoodeng.2017.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.10.002).

Liu Y., Liang Q., Liu X., Raza H., Ma H. & Ren X., 2022. Treatment with ultrasound improves the encapsulation efficiency of resveratrol in zein-gum Arabic complex coacervates. *LWT* **153**, 112331, DOI:[10.1016/j.lwt.2021.112331](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112331).

Ma B., Chen J., Zheng H., Fang T., Ogutu C., Li S., Han Y. & Wu B., 2015. Comparative assessment of sugar and malic acid composition in cultivated and wild apples. *Food Chemistry* **172**, 86–91, DOI:[10.1016/j.foodchem.2014.09.032](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.032).

MacCrehan W., Moore S. & Schantz M., 2012. Reproducible vapor–time profiles using solid-phase microextraction with an externally sampled internal standard. *Journal of Chromatography A* **1244**, 28–36, DOI:[10.1016/j.chroma.2012.04.068](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.068).

Maes C., Brostaux Y., Bouquillon S. & Fauconnier M.-L., 2021. Use of New Glycerol-Based Dendrimers for Essential Oils Encapsulation: Optimization of Stirring Time and Rate Using a Plackett–Burman Design and a Surface Response Methodology. *Foods* **10**(2), 207, DOI:[10.3390/foods10020207](https://doi.org/10.3390/foods10020207).

Maes C., Abir S., Jacquet P., De Clerck C., Blecker C., Bouquillon S. & Fauconnier M.-L., 2022. *Cinnamomum zeylanicum* Essential Oil Formulation with Poly(propylene imine) Dendrimers with Surface-Grafted Glycerol: Release Kinetics of *trans*-Cinnamaldehyde and Germination Inhibition Effects. *J. Agric. Food Chem.* **70**(16), 5177–5185, DOI:[10.1021/acs.jafc.1c07472](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07472).

Maestrello C., Tonon L., Madrona G. & Scapim M., 2017. Production and Characterization of Biodegradable Films Incorporated with Clove Essential Oil/ β -cyclodextrin Microcapsules. *Chemical Engineering Transactions* **57**, 1393–1398.

Mao X., Yang Q., Chen D., Yu B. & He J., 2019. Benzoic Acid Used as Food and Feed Additives Can Regulate Gut Functions. *BioMed Research International* **2019**, 1–6, DOI:[10.1155/2019/5721585](https://doi.org/10.1155/2019/5721585).

- Mattice K.D. & Marangoni A.G., 2020. Functionalizing zein through antisolvent precipitation from ethanol or acetic acid. *Food Chemistry* **313**, 126127, DOI:[10.1016/j.foodchem.2019.126127](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126127).
- Mele E., 2020. Electrospinning of Essential Oils. *Polymers* **12**(4), 908, DOI:[10.3390/polym12040908](https://doi.org/10.3390/polym12040908).
- Mendes A.C. & Pedersen G.A., 2021. Perspectives on sustainable food packaging:— is bio-based plastics a solution? *Trends in Food Science & Technology* **112**, 839–846, DOI:[10.1016/j.tifs.2021.03.049](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.049).
- Meng L., Xie F., Zhang B., Wang D.K. & Yu L., 2019. Natural Biopolymer Alloys with Superior Mechanical Properties. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **7**(2), 2792–2802, DOI:[10.1021/acssuschemeng.8b06009](https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b06009).
- Meskers C., Worrell E. & Reuter M.A. (Eds.), 2024. *Handbook of recycling: state-of-the-art for practitioners, analysts, and scientists*, Amsterdam Oxford Cambridge, MA: Elsevier, 738.
- Mhd Sarbon N., Badii F. & Howell N.K., 2013. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids* **30**(1), 143–151, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2012.05.009](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.009).
- Misono T., 2019. Dynamic Light Scattering (DLS). In: Abe, M. ed. *Measurement Techniques and Practices of Colloid and Interface Phenomena*. Singapore: Springer Singapore, 65–69.
- Moalla S., Ammar I., Fauconnier M.-L., Danthine S., Blecker C., Besbes S. & Attia H., 2021. Development and characterization of chitosan films carrying *Artemisia campestris* antioxidants for potential use as active food packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules* **183**, 254–266, DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2021.04.113](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.113).
- Mohammed N.K., Tan C.P., Manap Y.A., Muhialdin B.J. & Hussin A.S.M., 2020. Spray Drying for the Encapsulation of Oils—A Review. *Molecules* **25**(17), 3873, DOI:[10.3390/molecules25173873](https://doi.org/10.3390/molecules25173873).
- Mohsenabadi N., Rajaei A., Tabatabaei M. & Mohsenifar A., 2018. Physical and antimicrobial properties of starch-carboxy methyl cellulose film containing rosemary essential oils encapsulated in chitosan nanogel. *International Journal of Biological Macromolecules* **112**, 148–155, DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2018.01.034](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.034).

- Möllenbeck S., König T., Schreier P., Schwab W., Rajaonarivony J. & Ranarivelo L., 1997. Chemical Composition and Analyses of Enantiomers of Essential Oils from Madagascar. *Flavour Fragr. J.* **12**(2), 63–69, DOI:[10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199703\)12:2<63::AID-FFJ614>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199703)12:2<63::AID-FFJ614>3.0.CO;2-Z).
- Mondello L., Zappia G., Cotroneo A., Bonaccorsi I., Chowdhury J.U., Yusuf M. & Dugo G., 2002. Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type. *Flavour & Fragrance J* **17**(5), 335–340, DOI:[10.1002/ffj.1108](https://doi.org/10.1002/ffj.1108).
- Mukurumbira A.R., Shellie R.A., Keast R., Palombo E.A. & Jadhav S.R., 2022. Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. *Food Control* **136**, 108883, DOI:[10.1016/j.foodcont.2022.108883](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108883).
- Nahar L., El-Seedi H.R., Khalifa S.A.M., Mohammadhosseini M. & Sarker S.D., 2021. Ruta Essential Oils: Composition and Bioactivities. *Molecules* **26**(16), 4766, DOI:[10.3390/molecules26164766](https://doi.org/10.3390/molecules26164766).
- Nielsen G.D., Hansen L.F., Andersen B. & Poulsen N.A.O.M., 1998. Indoor Air Guideline Levels for Formic, Acetic, Propionic and Butyric Acid. *Indoor Air* **8**(S5), 8–24, DOI:[10.1111/j.1600-0668.1998.tb00028.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.1998.tb00028.x).
- Nolvachai Y., Amaral M.S.S., Herron R. & Marriott P.J., 2023. Solid phase microextraction for quantitative analysis – Expectations beyond design? *Green Analytical Chemistry* **4**, 100048, DOI:[10.1016/j.greeac.2022.100048](https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100048).
- Ogawa K., Yui T. & Okuyama K., 2004. Three D structures of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* **34**(1–2), 1–8, DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2003.11.002](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2003.11.002).
- Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H. & Hosseini S.M.H., 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry* **122**(1), 161–166, DOI:[10.1016/j.foodchem.2010.02.033](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.033).
- Oladzadabbasabadi N., Mohammadi Nafchi A., Ariffin F., Wijekoon M.M.J.O., Al-Hassan A.A., Dheyab M.A. & Ghasemlou M., 2022. Recent advances in extraction, modification, and application of chitosan in packaging industry. *Carbohydrate Polymers* **277**, 118876, DOI:[10.1016/j.carbpol.2021.118876](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118876).

- Pecora R., 2000. Dynamic Light Scattering Measurement of Nanometer Particles in Liquids. *Journal of Nanoparticle Research* **2**, 123–131.
- Penniston K.L., Nakada S.Y., Holmes R.P. & Assimos D.G., 2008. Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-Available Fruit Juice Products. *Journal of Endourology* **22**(3), 567–570, DOI:[10.1089/end.2007.0304](https://doi.org/10.1089/end.2007.0304).
- Pereda M., Ponce A.G., Marcovich N.E., Ruseckaite R.A. & Martucci J.F., 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids* **25**(5), 1372–1381, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2011.01.001](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.001).
- Pereira-Lachataignerais J., Pons R., Panizza P., Courbin L., Rouch J. & López O., 2006. Study and formation of vesicle systems with low polydispersity index by ultrasound method. *Chemistry and Physics of Lipids* **140**(1–2), 88–97, DOI:[10.1016/j.chemphyslip.2006.01.008](https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2006.01.008).
- Pillai C.K.S., Paul W. & Sharma C.P., 2009. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science* **34**(7), 641–678, DOI:[10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001](https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001).
- Qiao C., Ma X., Zhang J. & Yao J., 2017. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. *Food Chemistry* **235**, 45–50, DOI:[10.1016/j.foodchem.2017.05.045](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.045).
- Ramos M., Valdés A., Beltrán A. & Garrigós M., 2016. Gelatin-Based Films and Coatings for Food Packaging Applications. *Coatings* **6**(4), 41, DOI:[10.3390/coatings6040041](https://doi.org/10.3390/coatings6040041).
- Ribeiro-Santos R., Andrade M. & Sanches-Silva A., 2017. Application of encapsulated essential oils as antimicrobial agents in food packaging. *Current Opinion in Food Science* **14**, 78–84, DOI:[10.1016/j.cofs.2017.01.012](https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.012).
- Rinaude M., Pavlov G. & Desbrières J., 1999. Solubilization of Chitosan in Strong Acid Medium. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* **5**(3), 267–276, DOI:[10.1080/10236669908009742](https://doi.org/10.1080/10236669908009742).
- Rodinkov O.V., Bugaichenko A.S. & Moskvina L.N., 2020. Static Headspace Analysis and Its Current Status. *J Anal Chem* **75**(1), 1–17, DOI:[10.1134/S106193482001013X](https://doi.org/10.1134/S106193482001013X).
- Rodríguez-Maecker R., Vyhmeister E., Meisen S., Rosales Martinez A., Kuklya A. & Telgheder U., 2017. Identification of terpenes and essential oils by means of static headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **409**(28), 6595–6603, DOI:[10.1007/s00216-017-0613-2](https://doi.org/10.1007/s00216-017-0613-2).

Said N.S. & Mhd Sarbon N., 2021. A comparative study: Development and characterization of active biodegradable chicken skin and mammalian gelatin composite films incorporated with curcumin extracts. *J. Food Process. Preserv.* **45**(10), DOI:[10.1111/jfpp.15771](https://doi.org/10.1111/jfpp.15771).

Said N.S. & Sarbon N.M., 2020. Response surface methodology (RSM) of chicken skin gelatin based composite films with rice starch and curcumin incorporation. *Polymer Testing* **81**, 106161, DOI:[10.1016/j.polymertesting.2019.106161](https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.106161).

Said N.S. & Sarbon N.M., 2022. Physical and Mechanical Characteristics of Gelatin-Based Films as a Potential Food Packaging Material: A Review. *Membranes* **12**(5), 442, DOI:[10.3390/membranes12050442](https://doi.org/10.3390/membranes12050442).

Schaefer D. & Cheung W.M., 2018. Smart Packaging: Opportunities and Challenges. *Procedia CIRP* **72**, 1022–1027, DOI:[10.1016/j.procir.2018.03.240](https://doi.org/10.1016/j.procir.2018.03.240).

Sengun I.Y. & Karabiyikli S., 2011. Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control* **22**(5), 647–656, DOI:[10.1016/j.foodcont.2010.11.008](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.008).

Shaikh S., Yaqoob M. & Aggarwal P., 2021. An overview of biodegradable packaging in food industry. *Current Research in Food Science* **4**, 503–520, DOI:[10.1016/j.crfs.2021.07.005](https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.07.005).

a) Sharma S., Barkauskaite S., Duffy B., Jaiswal A.K. & Jaiswal S., 2020. Characterization and Antimicrobial Activity of Biodegradable Active Packaging Enriched with Clove and Thyme Essential Oil for Food Packaging Application. *Foods* **9**(8), 1117, DOI:[10.3390/foods9081117](https://doi.org/10.3390/foods9081117).

Sharma S., Barkauskaite S., Jaiswal A.K. & Jaiswal S., 2021. Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chemistry* **343**, 128403, DOI:[10.1016/j.foodchem.2020.128403](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403).

b) Sharma S., Barkauskaite S., Jaiswal S., Duffy B. & Jaiswal A.K., 2020. Development of Essential Oil Incorporated Active Film Based on Biodegradable Blends of Poly (Lactide)/ Poly (Butylene Adipate-co-Terephthalate) for Food Packaging Application. *J Package Technol Res* **4**(3), 235–245, DOI:[10.1007/s41783-020-00099-5](https://doi.org/10.1007/s41783-020-00099-5).

Shirey R.E., 2012. SPME Commercial Devices and Fibre Coatings. In: *Handbook of Solid Phase Microextraction*. Elsevier, 99–133.

Silva P.T.D., Fries L.L.M., Menezes C.R.D., Holkem A.T., Schwan C.L., Wigmann É.F., Bastos J.D.O. & Silva C.D.B.D., 2014. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Cienc. Rural* **44**(7), 1304–1311, DOI:[10.1590/0103-8478cr20130971](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130971).

Souza R.C.R. & Andrade C.T., 2002. Investigation of the gelatinization and extrusion processes of corn starch. *Adv Polym Technol* **21**(1), 17–24, DOI:[10.1002/adv.10007](https://doi.org/10.1002/adv.10007).

Stashenko E.E., Torres W. & Morales J.R.M., 1995. A study of the compositional variation of the essential oil of ylang-ylang (*Cananga odorata* Hook Fil. et Thomson, *formagenuina*) during flower development. *J. High Resol. Chromatogr.* **18**(2), 101–104, DOI:[10.1002/jhrc.1240180206](https://doi.org/10.1002/jhrc.1240180206).

Stetefeld J., McKenna S.A. & Patel T.R., 2016. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophys Rev* **8**(4), 409–427, DOI:[10.1007/s12551-016-0218-6](https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6).

Sun Z., Li J., Wu J., Zou X., Ho C.-T., Liang L., Yan X. & Zhou X., 2021. Rapid qualitative and quantitative analysis of strong aroma base liquor based on SPME-MS combined with chemometrics. *Food Science and Human Wellness* **10**(3), 362–369, DOI:[10.1016/j.fshw.2021.02.031](https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.02.031).

Teck Kim Y., Min B. & Won Kim K., 2014. General Characteristics of Packaging Materials for Food System. *In: Innovations in Food Packaging*. Elsevier, 13–35.

Teixeira M.A. & Rodrigues A.E., 2014. Coupled Extraction and Dynamic Headspace Techniques for the Characterization of Essential Oil and Aroma Fingerprint of *Thymus* Species. *Ind. Eng. Chem. Res.* **53**(23), 9875–9882, DOI:[10.1021/ie501301u](https://doi.org/10.1021/ie501301u).

Thulliez M., Bastin O., Nonclercq A., Delchambre A. & Reniers F., 2021. Gel models to assess distribution and diffusion of reactive species from cold atmospheric plasma: an overview for plasma medicine applications. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **54**(46), 463001, DOI:[10.1088/1361-6463/ac1623](https://doi.org/10.1088/1361-6463/ac1623).

Trček J., Mira N.P. & Jarboe L.R., 2015. Adaptation and tolerance of bacteria against acetic acid. *Appl Microbiol Biotechnol* **99**(15), 6215–6229, DOI:[10.1007/s00253-015-6762-3](https://doi.org/10.1007/s00253-015-6762-3).

Tsurkan M.V., Voronkina A., Khrunyk Y., Wysokowski M., Petrenko I. & Ehrlich H., 2021. Progress in chitin analytics. *Carbohydrate Polymers* **252**, 117204, DOI:[10.1016/j.carbpol.2020.117204](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117204).

- Van Beilen J.W.A., Teixeira De Mattos M.J., Hellingwerf K.J. & Brul S., 2014. Distinct Effects of Sorbic Acid and Acetic Acid on the Electrophysiology and Metabolism of *Bacillus subtilis*. *Appl Environ Microbiol* **80**(19), 5918–5926, DOI:[10.1128/AEM.01391-14](https://doi.org/10.1128/AEM.01391-14).
- Van Den Broek L.A.M., Knoop R.J.I., Kappen F.H.J. & Boeriu C.G., 2015. Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers* **116**, 237–242, DOI:[10.1016/j.carbpol.2014.07.039](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.039).
- Varming C., Petersen M.A. & Poll L., 2004. Comparison of Isolation Methods for the Determination of Important Aroma Compounds in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice, Using Nasal Impact Frequency Profiling. *J. Agric. Food Chem.* **52**(6), 1647–1652, DOI:[10.1021/jf035133t](https://doi.org/10.1021/jf035133t).
- Virgiliou C., Zisi C., Kontogiannopoulos K.N., Nakas A., Iakovakis A., Varsamis V., Gika H.G. & Assimopoulou A.N., 2021. Headspace gas chromatography-mass spectrometry in the analysis of lavender's essential oil: Optimization by response surface methodology. *Journal of Chromatography B* **1179**, 122852, DOI:[10.1016/j.jchromb.2021.122852](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122852).
- Vogt B.D., Stokes K.K. & Kumar S.K., 2021. Why is Recycling of Postconsumer Plastics so Challenging? *ACS Appl. Polym. Mater.* **3**(9), 4325–4346, DOI:[10.1021/acscpm.1c00648](https://doi.org/10.1021/acscpm.1c00648).
- Volschenk H., Van Vuuren H.J.J. & Viljoen-Bloom M., 2017. Malic Acid in Wine: Origin, Function and Metabolism during Vinification. *SAJEV* **27**(2), DOI:[10.21548/27-2-1613](https://doi.org/10.21548/27-2-1613).
- Wang H., Ding F., Ma L. & Zhang Y., 2021. Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application. *Food Bioscience* **40**, 100871, DOI:[10.1016/j.fbio.2020.100871](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100871).
- Wang Y., Zhang R., Ahmed S., Qin W. & Liu Y., 2019. Preparation and Characterization of Corn Starch Bio-Active Edible Packaging Films Based on Zein Incorporated with Orange-Peel Oil. *Antioxidants* **8**(9), 391, DOI:[10.3390/antiox8090391](https://doi.org/10.3390/antiox8090391).
- Wen P., Zhu D.-H., Feng K., Liu F.-J., Lou W.-Y., Li N., Zong M.-H. & Wu H., 2016. Fabrication of electrospun polylactic acid nanofilm incorporating cinnamon essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex for antimicrobial packaging. *Food Chemistry* **196**, 996–1004, DOI:[10.1016/j.foodchem.2015.10.043](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.043).
- Xiao D., Davidson P.M. & Zhong Q., 2011. Spray-Dried Zein Capsules with Coencapsulated Nisin and Thymol as Antimicrobial Delivery System for Enhanced

- Antilisterial Properties. *J. Agric. Food Chem.* **59**(13), 7393–7404, DOI:[10.1021/jf200774v](https://doi.org/10.1021/jf200774v).
- Xu T., Gao C., Feng X., Yang Y., Shen X. & Tang X., 2019. Structure, physical and antioxidant properties of chitosan-gum arabic edible films incorporated with cinnamon essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules* **134**, 230–236, DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2019.04.189](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.189).
- Yang T., Qin W., Zhang Q., Luo J., Lin D. & Chen H., 2023. Essential-oil capsule preparation and its application in food preservation: A review. *Food Reviews International* **39**(7), 4124–4158, DOI:[10.1080/87559129.2021.2021934](https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2021934).
- Yoon S., Chough S. & Park H., 2006. Properties of starch-based blend films using citric acid as additive. II. *J of Applied Polymer Sci* **100**(3), 2554–2560, DOI:[10.1002/app.23783](https://doi.org/10.1002/app.23783).
- Younes I. & Rinaudo M., 2015. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs* **13**(3), 1133–1174, DOI:[10.3390/md13031133](https://doi.org/10.3390/md13031133).
- Young M., Schantz M. & MacCrehan W., 2016. Improvements in the vapor-time profile analysis of explosive odorants using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* **1455**, 1–8, DOI:[10.1016/j.chroma.2016.05.009](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.05.009).
- Yu E.J., Kim T.H., Kim K.H. & Lee H.J., 2004. Characterization of aroma-active compounds of *Abies nephrolepis* (Khingan fir) needles using aroma extract dilution analysis. *Flavour & Fragrance J* **19**(1), 74–79, DOI:[10.1002/ffj.1314](https://doi.org/10.1002/ffj.1314).
- Zarandona I., Puertas A.I., Dueñas M.T., Guerrero P. & De La Caba K., 2020. Assessment of active chitosan films incorporated with gallic acid. *Food Hydrocolloids* **101**, 105486, DOI:[10.1016/j.foodhyd.2019.105486](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105486).
- Zhao W., Ouyang G. & Pawliszyn J., 2007. Preparation and application of in-fibre internal standardization solid-phase microextraction. *Analyst* **132**(3), 256, DOI:[10.1039/b612604a](https://doi.org/10.1039/b612604a).
- Zhou Z., Liu Y., Liu Z., Fan L., Dong T., Jin Y., Saldaña M.D.A. & Sun W., 2020. Sustained-release antibacterial pads based on nonwovens polyethylene terephthalate modified by β -cyclodextrin embedded with cinnamaldehyde for cold fresh pork preservation. *Food Packaging and Shelf Life* **26**, 100554, DOI:[10.1016/j.fpsl.2020.100554](https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100554).

Zhu Y., Li C., Cui H. & Lin L., 2021. Encapsulation strategies to enhance the antibacterial properties of essential oils in food system. *Food Control* **123**, 107856, DOI:[10.1016/j.foodcont.2020.107856](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107856).

Références supplémentaires :

¹ Ellen MacArthur Foundation, The New Plastics Economy: Rethinking the future of plastics & catalysing action (2017)

² Document légal : 32008R1333 ; Document consolidé : 02008R1333-20231029

³ *Code of Federal Regulations, Article 21CFR184.1984, Title 21, Volume 3*

⁴ [https://www.palsystem.com/en/products/pal-product-finder/product-details/pal3-th-
hs5000/](https://www.palsystem.com/en/products/pal-product-finder/product-details/pal3-th-hs5000/) (Site consulté le 29 mai 2024)

⁵ Vinogradov B.A., 2004. Production, composition, properties and application of essential oils. *Viness Narod*. <http://viness.narod.ru>, (Site consulté le 9 avril 2024)

⁶ Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape : [https://
hpnchemicals.oecd.org/ui/handler.axd?id=ff78c453-36c1-430d-9034-63e15899d24b](https://hpnchemicals.oecd.org/ui/handler.axd?id=ff78c453-36c1-430d-9034-63e15899d24b)
(consulté le 25 mars 2024)

⁷ ECHA on malic acid: [https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/
11511/7/6/1#:~:text=The%20chronic%20toxicity%20of%20malic,
%20Fkg%20body%20weight%2Fday](https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/11511/7/6/1#:~:text=The%20chronic%20toxicity%20of%20malic,%20Fkg%20body%20weight%2Fday) (consulté le 25 mars 2024)

⁸ Document légal : 32011R1129 - Document consolidé : 02011R1129-20131121

⁹ Fiche sécurité de l'acide benzoïque de l'INRS - [https://www.ilo.org/dyn/icsc/
showcard.display?p_lang=fr&p_card_id=0103](https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=fr&p_card_id=0103) (consulté le 25 mars 2024)